



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

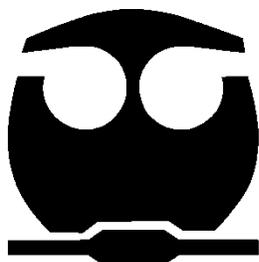
**“POSIBLE PAPEL ECOLÓGICO DE LOS ANTIBIÓTICOS”**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**JOAN SUSANA JANO ITO**



**MÉXICO, D.F.**

**2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: AIDA NAVAS PÉREZ

**VOCAL:** Profesor: JESÚS FERNANDO MONTIEL AGUIRRE

**SECRETARIO:** Profesor: ADRIANA GUADALUPE MEJÍA CHÁVEZ

**1er. SUPLENTE:** Profesor: RAQUEL ORTEGA MUÑOZ

**2° SUPLENTE:** Profesor: NORMA ANGÉLICA CASTELLANOS CHÁVEZ

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:** Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Biología, Edificio A, Facultad de Química, UNAM.

**ASESOR DEL TEMA:**

-----

**Jesús Fernando Montiel Aguirre**

**SUSTENTANTE:**

-----

**Joan Susana Jano Ito**

## **Agradecimientos**

A mis papás, que gracias a ellos, a su apoyo, su confianza, estoy aquí y he logrado ser lo que soy. Por todas las palabras de aliento en momentos de decisiones difíciles y todos los consejos que me han dado durante toda mi vida.

A mi hermano, que siempre ha sido un gran ejemplo, que siempre me ha cuidado y me ha dado apoyo incondicional.

A mi abuelita que siempre cuidó de nosotros y es parte de una infancia y adolescencia muy feliz.

Al Dr. Fernando Montiel, mi asesor de tesis, por guiarme, por todos los consejos, por todo el apoyo y tiempo que me ha brindado durante toda la carrera.

A Jaime, por todos los momentos. Gracias por el cariño, las risas, los consejos; todo lo aprendido siempre lo llevaré conmigo.

Al Dr. Castillo, al Dr. Lira y a la maestra Alicia, que siempre me abrieron las puertas de sus laboratorios y compartieron momentos muy especiales conmigo.

A los Pandas, por ser incondicionales, por enseñarme lo increíble de la vida y a disfrutar de lo maravilloso de los pequeños y sencillos momentos; también por enseñarme a no perder el niño que todos llevamos dentro.

A Marco, por ser un gran apoyo, ayudarme en momentos de crisis, escucharme en los buenos y malos momentos, simplemente por estar ahí siempre y ser un gran amigo.

A Marco “greñas”, Pau y Oscarin, por ayudarme siempre que lo necesitaba, resolverme mil y un dudas, confiar en mí, y ser increíbles personas y amigos.

A Kary, Jacobo, Christian, Karim, Gabriel, Lucoa, Iván, Pao, Memo, Emi, Servando, Ricardo, Ara, Chiva, Sandy, Gustavo, Daniel, Tania, Cynthia, Sergio, a los Oscars, por compartir momentos geniales conmigo, y hacer que cada uno de estos fuera único e inolvidable.

A los ingenieros, que también han sido parte de mi y tenemos grandes anécdotas juntos.

A todas las personas que creyeron en mí, que con una sonrisa dejaron huella y fueron parte de toda mi formación, GRACIAS.

**Dedicado a mis papás, a mi hermano y a mi abuelita**

## Índice

Justificación.....	1
Introducción.....	2
Metodología.....	5
I. Definición de antibiótico.....	6
II. Descubrimiento de los antibióticos. ....	8
III. Tipos de antibióticos: Efecto bacteriostático y bactericida. ....	10
IV. Mecanismos de acción de los antibióticos. ....	13
V. Antibióticos y estrés oxidante. ....	20
VI. Comunicación celular en procariontes. Quorum sensing. ....	27
VII. Moléculas participantes en la comunicación celular procarionte.....	34
VII.I. Comunicación entre células procariontes y células eucariontes. ....	43
VIII. Los antibióticos como posibles moléculas implicadas en la comunicación celular procarionte.....	45
IX. Efecto de los antibióticos a niveles subfarmacológicos en las células procariontes. ....	49
X. Los antibióticos como moléculas fisiológicas reguladoras de la expresión génica en procariontes.....	57
XI. El futuro: moléculas utilizadas en la comunicación celular procarionte con posible actividad antibiótica. ....	63
Conclusiones.....	68
Bibliografía .....	70

## **Justificación**

Para poder comprender el éxito y fracaso de los antibióticos, se deben entender sus orígenes farmacológicos, historia, evolución y los mecanismos por los cuales han desempeñado un papel muy importante en la salud humana. De este modo, se puede estar en posibilidad de entender nuevas estrategias para encontrar nuevos antibióticos y retrasar la resistencia a antibióticos ya existentes.<sup>28</sup>

Teniendo en cuenta que al día de hoy se han comenzado a realizar investigaciones sobre la posible comunicación bacteriana por medio de moléculas de señalización y de la modulación de genes por antibióticos a concentraciones subinhibitorias, este podría ser un camino por el cual pudieran generarse nuevas alternativas terapéuticas.

## **Introducción.**

Los antibióticos han sido considerados a lo largo de los años como sustancias producidas por microorganismos que pueden eliminar o inhibir el crecimiento de otros microorganismos afectando diferentes funciones celulares. Sin embargo, actualmente se tiene evidencia que sugiere que pueden servir como herramientas de comunicación entre ellos, por lo que se están convirtiendo en nuevos modelos de investigación extremadamente importantes.

En la actualidad se necesita de nuevos antibióticos; sin embargo, el desarrollo de nuevos fármacos de este tipo es un proceso muy lento. La mayor parte de los antibióticos de primera generación utilizados para tratar infecciones son producidos por microorganismos en su medio ambiente. Las generaciones sucesivas de estos, por lo general conservan la misma estructura química base sufriendo modificaciones químicas en la periferia, manteniendo su actividad, pero mejorando algunas propiedades de los compuestos.<sup>1</sup>

Por otra parte, muchos años las bacterias han sido consideradas como organismos autónomos unicelulares con una pequeña capacidad de asociación colectiva; sin embargo en la actualidad se sabe que las células bacterianas son altamente comunicativas.<sup>14</sup>

Entender el verdadero papel de los antibióticos en los sistemas biológicos naturales es muy importante para entender y manejar el problema de resistencia a antibióticos y para poder descubrir nuevas moléculas que puedan combatir a los microorganismos patógenos posiblemente por medio de otros compuestos

bioactivos producidos naturalmente por los microorganismos para fines de señalización. Ahora sabemos que existe una gran comunicación química entre los microorganismos por medio de secreciones a bajas concentraciones de moléculas que pueden activar o desactivar genes de otros microorganismos y así interactuar en el medio.<sup>2</sup>

Se sabe que uno de los principales mecanismos para controlar todas las funciones celulares es la regulación de la transcripción y se ha demostrado que a concentraciones subinhibitorias, prácticamente cualquier antibiótico natural aumenta o disminuye la expresión de un gran número de genes en diferentes bacterias, muchos de los cuales determinan interacciones ambientales.<sup>3</sup>

Al analizar secuencias de nucleótidos experimentalmente, se ha observado que muchos genes relacionados a transporte, virulencia, reparación de ADN y otras funciones indefinidas, son activados o inactivados bajo la influencia de concentraciones subinhibitorias de antibióticos.<sup>5</sup>

Como es sabido, existen moléculas que pueden poseer efectos contrastantes a bajas y altas concentraciones, fenómeno al que se le conoce como hormesis. En el caso de los antibióticos, el efecto a bajas concentraciones puede resultar muy relevante.<sup>4</sup> Estos efectos contrastantes pueden deberse a efectos en el metabolismo bacteriano, alterando patrones de transcripción o por la inhibición de crecimiento, afectando funciones celulares específicas.<sup>5</sup>

Se ha demostrado experimentalmente que las señales de moléculas pequeñas pueden afectar muchas características celulares, como morfología

microbiana, producción de compuestos, pigmentos, entre otros. Por ello, es probable que las redes de señalización química operen para mantener la estabilidad metabólica de las comunidades bacterianas de diferentes maneras.

Las moléculas pequeñas son una gran familia de determinantes biológicos que influyen en las respuestas celulares en todas las condiciones y pueden tener interacciones específicas con muchos receptores macromoleculares.<sup>3</sup>

Por ello, la naturaleza de las interacciones químicas es muy importante para conocer cómo reaccionan las bacterias a sustancias químicas que son producidas por otros microorganismos, ya que las bacterias son capaces de producir muchos metabolitos secundarios y pueden responder de múltiples formas a muchas sustancias presentes en su medio.<sup>4</sup>

Por lo tanto es evidente que un análisis genético, bioquímico y ecológico en el rol de estas moléculas implicadas en la regulación y comunicación de las células, podría generar grandes beneficios a la medicina y a la salud.<sup>3</sup>

Este trabajo tiene como propósito investigar el posible comportamiento ecológico de los antibióticos en las comunidades bacterianas y conocer algunas moléculas sintetizadas por diversos microorganismos, las cuales debido a sus características y propiedades podrían representar una posible alternativa para las terapias farmacológicas.

## **Metodología**

Para el desarrollo de este trabajo monográfico de actualización, se contó con diferentes herramientas bibliográficas y electrónicas.

Primero se definió un tema actual y de gran interés para poder identificar, analizar y generar posibles nuevas alternativas de investigación para una problemática de gran actualidad en el campo de la salud.

Esto se realizó mediante un proceso de búsqueda, análisis y síntesis de información para obtener una amplia panorámica del problema y posteriormente realizar una discusión en base a la información recopilada así como tomando en cuenta todos los conocimientos adquiridos a lo largo de la carrera.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología Molecular del Departamento de Biología de la Facultad de Química dentro de la línea de investigación “Bioquímica y Biología Molecular de la Resistencia a los Antibióticos”.

## I. Definición de antibiótico.

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por diversas especies de microorganismos como bacterias y hongos. Estos tienen la capacidad de inhibir el crecimiento o matar microorganismos dentro de los que existen gran variedad de patógenos, es por ello que son utilizados para tratar enfermedades infecciosas.<sup>7</sup>

Por lo general alteran procesos o estructuras microbianas diferentes a las del hospedero.

Con el paso del tiempo se ha ampliado el término, de modo que se incluyen antibacterianos sintéticos como las sulfonamidas y las quinolonas, los cuales no son sintetizados por microorganismos.

La muerte celular mediada por antibióticos, es un proceso complejo que comienza por medio de una interacción física entre el fármaco y las bacterias que les genera alteraciones a niveles bioquímicos, moleculares y estructurales.<sup>13</sup>

Los antibióticos muestran diferencias notables en sus propiedades físicas, químicas y farmacológicas, así como en sus espectros antibacterianos y en sus mecanismos de acción.<sup>6</sup>

Estos deben tener una toxicidad selectiva, para que no se dañe a las células humanas y únicamente a los microorganismos patógenos. El grado de toxicidad selectiva puede expresarse en términos de dosis terapéutica, que muestra el nivel de fármaco requerido para un tratamiento clínico de una infección particular y la

dosis tóxica, que muestra el nivel de fármaco al cual este resulta tóxico también para el hospedero.<sup>7</sup>

Como ya se mencionó, recientemente se ha descubierto que los antibióticos, dependiendo de su concentración, pueden actuar como un factor ecológico muy importante en el medio ambiente, funcionando aparentemente como moléculas de señalización y de este modo afectar a las características de las comunidades microbianas.<sup>16</sup>

Por otra parte, al día de hoy la evolución de la resistencia a antibióticos en humanos por importantes patógenos, ha generado que los antibióticos naturales y las nuevas generaciones de antibióticos se hayan vuelto ineficaces y si no se encuentran nuevas moléculas, la edad de oro de los antibióticos podría llegar a su fin.

## II. Descubrimiento de los antibióticos.

El nacimiento de la quimioterapia moderna se acredita a los esfuerzos de Paul Ehrlich (1854-1915) en Alemania. Él pensaba que un químico con toxicidad selectiva que afectara a patógenos y no a células humanas, podría ser efectivo para tratar enfermedades, por lo que esperaba encontrar una molécula que funcionara como “bala mágica”, la cual se uniera específicamente a patógenos y los destruyera.

En 1904 encontró que un colorante denominado rojo tripan era activo contra tripanosoma, el cual causa la enfermedad del sueño en África y se podía utilizar terapéuticamente. Posteriormente, Ehrlich, junto con un investigador japonés llamado Sahachiro Hata, probaron una gran variedad de compuestos arsenicales en conejos infectados con sífilis y encontraron que la arsfenamina era activa contra la espiroqueta que causa la enfermedad. Esta fue comercializada en 1910 bajo el nombre de Salvarsan.

El descubrimiento y desarrollo de la penicilina, como el primer antibiótico utilizado terapéuticamente data de 1896, año en el cual fue descubierta por un estudiante de medicina francés llamado Ernest Duchesne. Desafortunadamente su trabajo fue olvidado y retomado por Alexander Fleming en 1928, quien observó que el crecimiento de *Staphylococcus aureus* era inhibido en una caja de Petri contaminada con *Penicillium notatum*. Posteriormente, al aislar el compuesto activo, se le denominó penicilina.<sup>7,8</sup>

En 1939 Howard Florey trabajó para determinar las condiciones adecuadas para obtener penicilina purificada la cual fue probada en ratones infectados con estafilococos y estreptococos. Prácticamente todos los animales sobrevivieron. Al reportar este trabajo, Fleming, Florey y Chain recibieron el premio Nobel en 1945.

El descubrimiento de la penicilina estimuló la búsqueda de otros antibióticos. En 1944 Selman Waksman anunció que él y sus colaboradores encontraron otro antibiótico, la estreptomina, producida por un actinomiceto llamado *Streptomyces griseus*. Waksman recibió el premio Nobel en 1952.

En 1953 fueron aislados microorganismos productores de cloranfenicol, neomicina, terramicina y tetraciclina.<sup>8</sup>

El descubrimiento de agentes quimioterapéuticos y el desarrollo de nuevos fármacos ha transformado a la medicina moderna.<sup>7</sup>

Por lo tanto, desde el descubrimiento de la penicilina en 1929, se han descubierto y desarrollado muchos otros antibióticos muy efectivos por procedimientos como puede ser la modificación química de las moléculas de estos.<sup>13</sup>

### III. Tipos de antibióticos: Efecto bacteriostático y bactericida.

Los antibióticos pueden ser clasificados de acuerdo al componente celular o sistema al que afectan, tomando en cuenta si inducen la muerte celular (bactericidas) o si inhiben el crecimiento bacteriano (bacteriostáticos), dependiendo de su concentración.

Para ello es importante conocer la concentración mínima inhibitoria, la cual es la concentración más baja a la que el antibiótico inhibe el crecimiento bacteriano y la concentración mínima bactericida, la cual es la concentración más baja necesaria para matar a las bacterias.

Los antibióticos bactericidas son aquellos que la concentración alcanzable en sangre, esta excede la concentración mínima bactericida de los microorganismos patógenos mientras que los bacteriostáticos son aquellos cuya concentración en sangre es mayor que la concentración mínima inhibitoria, pero que no sobrepasa la concentración mínima bactericida.<sup>15</sup>

Los antibióticos bactericidas pueden matar a los patógenos de manera concentración-dependiente como pueden ser los aminoglicósidos y fluoroquinolonas o tiempo-dependiente como pueden ser los  $\beta$ -lactámicos y glicopéptidos. Estos por lo general inhiben la síntesis de proteínas, pared celular, DNA y RNA.<sup>13</sup> (Tabla 1).

Sin embargo esta clasificación depende de cada microorganismo y el antibiótico del que se trate.

Clase de Antibiótico	Ejemplo	Gram-positivo	Gram-negativo	Acción Bactericida	Acción Bacteriostática
Aminoglicósidos	Kanamicina		X	X	
	Estreptomina				
β-lactámicos	Amoxicilina	X	(X)	X	
	Ampicilina				
	Bencilpenicilina				
	Penicilina				
Glicopéptidos	Vancomicina	X		X	
Macrólidos	Eritromicina	X			X
	Tilosina				
Polipéptidos	Bacitracina	X	(X)	X	
	Colistina		X	X	
	Polimixina B		X	X	
Quinolonas	Ciprofloxacina	(X)	X	X	
	Flumequina				
	Ofloxacina				
	Acido Oxonílico				
Sulfonamidas	Sulfaclopiridacina	X	X		X
	Sulfadiazina				
	Sulfametoxazol				
	Sufapiridina				
Tetraciclinas	Clotetraciclina	X	X		X
	Doxiciclina				
	Oxitetraciclina				
	Tetraciclina				
Otros	Cloranfenicol	X	X		X
	Clindamicina	X	(X)		X
	Lincomicina	X	(X)		X
	Novobiocina	X	(X)		X

**Tabla 1.** Resumen del espectro de diferentes tipos de antibióticos.<sup>15</sup>

Entre los antibióticos que inhiben la función de los ribosomas, los aminoglicósidos son la única clase que funciona como bactericida. Los macrólidos, estreptograminas, espectinomicina y cloranfenicol, funcionan generalmente como bacteriostáticos. Sin embargo, dependiendo del tratamiento, pueden funcionar como bactericidas.<sup>13</sup>

En el caso de las tetraciclinas, se trata de antibióticos bacteriostáticos y presentan actividad contra una amplia gama de microorganismos aerobios y anaerobios Gram positivos y Gram negativos.

La eritromicina, perteneciente al grupo de los macrólidos, usualmente es un bacteriostático, pero puede utilizarse como bactericida a altas concentraciones contra organismos muy susceptibles.<sup>6</sup>

Esta clasificación de antibióticos en ocasiones no es muy precisa, ya que puede verse afectada dependiendo de la dosis administrada en cada terapia.

#### IV. Mecanismos de acción de los antibióticos.

Dentro de los diferentes mecanismos de acción de los antibióticos, se conocen los siguientes: agentes que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana, agentes que actúan directamente en la membrana celular de los microorganismos, agentes que interrumpen la función de las subunidades 50S y 30S de los ribosomas inhibiendo reversiblemente la síntesis de proteínas, agentes que alteran el metabolismo de ácidos nucleicos y los antimetabolitos.

Como agentes que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana, se encuentran los  $\beta$ -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenems, monobactams e inhibidores de  $\beta$ -lactamasas), y los glicopéptidos, dentro de los cuales se encuentran la vancomicina y teicoplanina.<sup>6</sup>

Las penicilinas y cefalosporinas constituyen unos de los grupos más importantes de antibióticos.

La pared celular de las bacterias es esencial para su crecimiento y desarrollo normal. El peptidoglicano es un componente de la pared celular compuesto de cadenas de glucanos (N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico) unidos por medio de cadenas peptídicas. La unión es catalizada por una transpeptidasa la cual es inhibida por penicilinas, cefalosporinas y cefamicina. (Figura 1).<sup>13</sup>

Las penicilinas pueden clasificarse como penicilinas estándar, penicilinas antiestafilocóccicas, aminopenicilinas y penicilinas antipseudomonales.

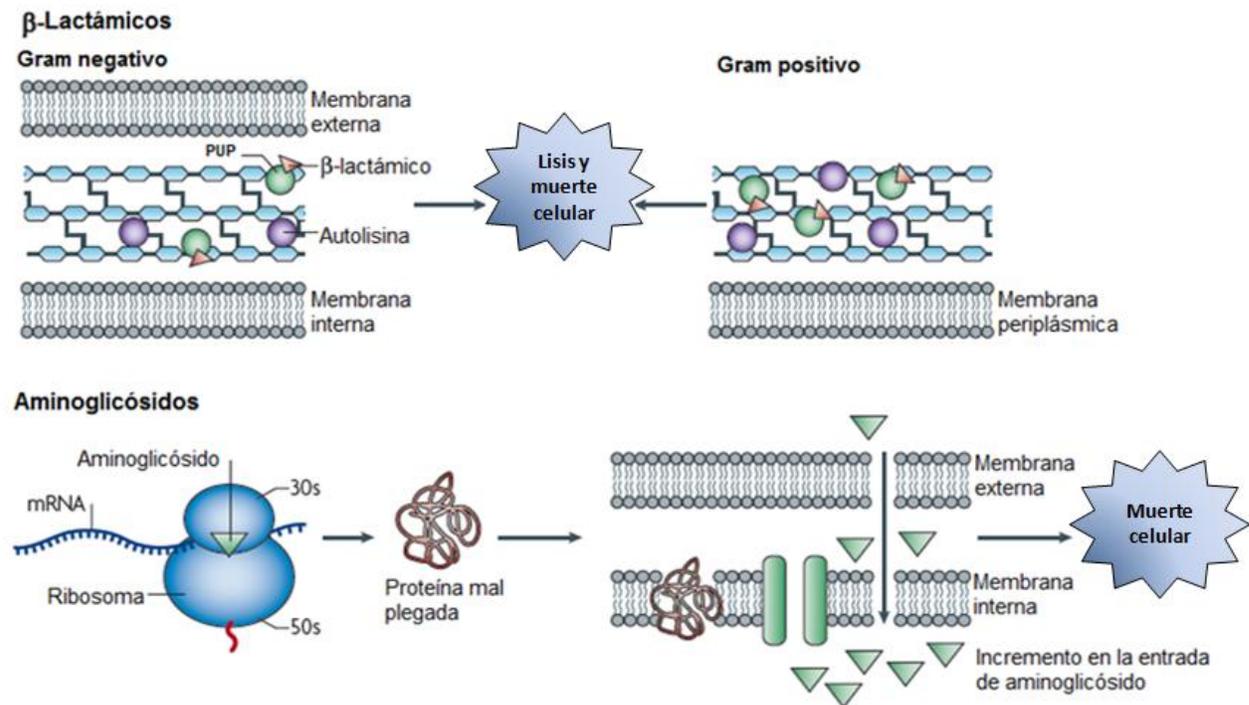
Dentro de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos también se encuentran los carbapenems. Estos tienen un espectro más amplio que los mencionados anteriormente del mismo grupo y generalmente son estables a  $\beta$ -lactamasas. Dentro de los más utilizados se encuentran el imipenem y el meropenem. El imipenem es degradado por la enzima dihidropeptidasa-1 la cual es una  $\beta$ -lactamasa humana producida en el riñón que al interactuar con el imipenem hace que se generen metabolitos tóxicos, por lo que este antibiótico debe administrarse con un inhibidor de las  $\beta$ -lactamasas renales llamado cilastatina.<sup>37</sup>

La actividad de los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas se ejerce a través de que estos se unen covalentemente a las  $\beta$ -lactamasas e impiden su acción.

La vancomicina pertenece a los glicopéptidos; inhibe la síntesis de la pared celular impidiendo la elongación de la cadena de peptidoglicano, al unirse a las cadenas peptídicas laterales. Esta no penetra a través de la membrana externa de bacterias Gram negativas, por lo que únicamente son activos contra microorganismos Gram positivos. Dentro del grupo de los glicopéptidos también se encuentra la teicoplanina.<sup>59</sup>

Los aminoglicósidos son antibióticos utilizados generalmente para tratar infecciones causadas por bacterias aerobias Gram negativas. Estos difunden a través de porinas (proteínas que se encuentran en la membrana externa de bacterias Gram negativas) y se unen irreversiblemente al ribosoma bacteriano para generar la inhibición de síntesis de proteínas. Pueden causar daño a la membrana celular, lo que genera mayor permeabilidad y por ello permitir mayor

ingreso del fármaco. (Figura 1).<sup>13</sup> Estos antibióticos están considerados dentro de los antibióticos que generan más toxicidad en especial si son utilizados por tiempos prolongados.



**Figura 1.** Se muestra el mecanismo de acción de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos al inhibir la transpeptidación por medio de su unión a las proteínas de unión a penicilinas (PUP) en el peptidoglicano. La disminución en la síntesis de peptidoglicano y un aumento de autolisinas generan la lisis y muerte celular. En el caso de los aminoglicósidos, estos se unen a la subunidad 30S del ribosoma por lo que no se da una incorporación correcta de los aminoácidos en la elongación de los péptidos, esto genera un plegamiento incorrecto de las proteínas, el cual al unirse a la membrana celular genera un incremento en la entrada del antibiótico, lo que genera la muerte celular.<sup>13</sup>

Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos y presentan actividad contra una amplia gama de microorganismos aerobios y anaerobios Gram positivos y Gram negativos, incluso son efectivos contra microorganismos que son resistentes a los antibióticos activos contra la pared celular de estos. El mecanismo de acción de las tetraciclinas es inhibir la síntesis proteica bacteriana por medio de su unión

a la subunidad 30S del ribosoma previniendo la unión del aminoacil tRNA al sitio aceptor en el complejo mRNA-ribosoma.<sup>60</sup>

Estos antibióticos penetran a las bacterias Gram negativas por difusión pasiva por medio de canales hidrofílicos formados por porinas de la membrana celular externa y por medio de transporte activo por un sistema dependiente de energía se bombea a las tetraciclinas a través de la membrana citoplásmica. El mecanismo para penetrar en las bacterias Gram positivas requiere de energía, sin embargo aún no se comprende en su totalidad. Dentro de las más utilizadas se encuentran la tetraciclina, doxicilina y minociclina.

El cloranfenicol es un antibiótico reservado para las infecciones que representen un alto riesgo para la vida, debido a su alta toxicidad. Tiene como mecanismo de acción inhibir la síntesis proteica en bacterias y en un menor grado en células eucariontes. Este posiblemente penetra rápidamente por difusión facilitada. Actúa uniéndose reversiblemente a la subunidad ribosomal 50S, en el sitio de la peptidiltransferasa e inhibe la reacción de transpeptidación. Se une cerca del sitio de unión de antibióticos como macrólidos y lincosamidas. También puede inhibir la síntesis de proteínas mitocondriales en células de mamíferos, tal vez por la semejanza entre el ribosoma bacteriano y el ribosoma mitocondrial. Si es administrado conjuntamente con quinolonas, el cloranfenicol inhibe la habilidad de las quinolonas para matar a las bacterias.<sup>38</sup>

Los linezólidos son antibióticos sintéticos de la clase de las oxazolidinonas, su mecanismo de acción es por medio de su unión a la subunidad ribosomal 50S,

impidiendo la unión de la subunidad 30S, por lo que impide la síntesis de proteínas.<sup>61</sup>

Los macrólidos como eritromicina, claritromicina y azitromicina, son antibióticos que inhiben la síntesis proteica por la unión reversible a la subunidad ribosomal 50S de microorganismos sensibles, bloqueando el movimiento de translocación sobre el mRNA.

La eritromicina no inhibe la formación del enlace peptídico por sí mismo, pero inhibe el paso de translocación en donde una nueva molécula peptídica de tRNA sintetizada se mueve del sitio aceptor del ribosoma al sitio donador peptídico, este fármaco puede causar efectos adversos intestinales importantes.<sup>62</sup>

La clindamicina pertenece a las lincosamidas y su mecanismo de acción es similar al de los macrólidos, se une exclusivamente a la subunidad 50S ribosomal y suprime la síntesis proteica. Es útil para tratamiento de infecciones múltiples de microorganismos aerobios y anaerobios.

Aunque la clindamicina, eritromicina y clofanfenicol no están estructuralmente relacionados, actúan en sitios muy próximos y al darse la unión de cualquiera de estos con el ribosoma inhibirá la interacción de los otros.

Las quinolonas son antibióticos sintéticos derivados del ácido nalidíxico. Dentro de ellas se encuentran la ciprofloxacina, levofloxacina, gemifloxacina y las fluoroquinolonas. Su mecanismo de acción se genera inhibiendo la replicación del DNA, debido a que interfieren con la conservación de la topología cromosomal,

teniendo como blanco a las enzimas topoisomerasa II y IV. Estas enzimas son capturadas en el estado de separación del DNA y no permiten la reestructuración de las hebras.<sup>39</sup>

Se ha observado que existe diferente susceptibilidad a las quinolonas dependiendo de las especies, como puede observarse en las cepas de bacterias Gram positivas como el caso de *Streptococcus pneumoniae* que su primer blanco es la topoisomerasa IV mientras que en el caso de bacterias Gram negativas como son *Escherichia coli* y *Neisseria gonorrhoea*, su blanco principal es la topoisomerasa II.<sup>13</sup>

Los nitroimidazoles son activos contra microorganismos anaerobios ya que estos poseen una nitrorreductasa bacteriana, la cual puede reducir a estos compuestos y generar intermediarios los cuales se unen al DNA y de este modo inhiben su síntesis. En este grupo se encuentra el metronidazol.

También existen las rifamicinas; estas pertenecen a la clase de antibióticos bactericidas semisintéticos de amplio espectro que inhiben la síntesis de RNA.

Actúan inhibiendo la transcripción del DNA, estas se unen de manera estable con la subunidad  $\beta$  de la enzima RNA polimerasa, inhibiendo el proceso de transcripción. La subunidad  $\beta$  se encuentra localizada en el canal que está formado por el conjunto de la RNA- polimerasa y el DNA, a partir de la cual, en condiciones normales sin el antibiótico, se genera la nueva cadena de RNA. En este grupo se encuentran el rifampin, rifabutina y rifapentina.<sup>63</sup>

Dentro del grupo de los antifolatos, se encuentran las sulfonamidas, sulfonas e inhibidores de la dihidrofolato reductasa. Las sulfonamidas y las sulfonas tienen como mecanismo de acción la inhibición de la síntesis de folato ya que las sulfonamidas y sulfonas se unen a la dihidropteroato sintetasa, y por ello no permiten que el ácido para-aminobenzóico se una a esta, compuesto necesario para la síntesis de purinas y DNA. Los inhibidores de la dihidrofolato reductasa inhiben la síntesis de folatos al unirse con dicha enzima, entre ellos se encuentran el trimetoprim, pirimetamina y trimetrexato.<sup>13</sup>

## V. Antibióticos y estrés oxidante.

Puede generarse estrés en el medio ambiente para los microorganismos si la temperatura, la osmolaridad y pH no son óptimos, o si hay presencia de especies reactivas de oxígeno y radiaciones.<sup>18</sup>

Para ello las bacterias tienen una compleja red de sistemas regulatorios que aseguran una respuesta coordinada y efectiva a diferentes tipos de estrés. Estas respuestas pueden generar cambios en el factor de expresión de la virulencia.<sup>17</sup>

Por ejemplo, en el caso de *E. coli* se sabe que más de 30 sistemas de dos componentes detectan el entorno y generan cambios en la expresión de un gran número de genes.<sup>35</sup>

La respuesta bacteriana a estrés, puede ser definida como una cascada de alteraciones en la expresión de genes y la actividad de proteínas con el propósito de sobrevivir a cambios extremos, rápidos y a condiciones de daño percibidas por las bacterias, cuyos resultados en las células pueden resultar en generar resistencia a estrés, eliminación de los agentes causantes de estrés y/o reparación del daño celular.<sup>17</sup>

Los procesos de oxidación celular están presentes en todo momento en los organismos, ya que muchos procesos biológicos dependen de oxígeno, sin embargo existen también defensas antioxidantes naturales, que son generadas para aminorar el daño.

El estrés oxidante se genera cuando hay una sobreproducción de anión superóxido y peróxido de hidrógeno, lo cual genera un desequilibrio oxidación/antioxidación en la célula.

Diversas sustancias producidas durante procesos oxidantes, afectan las especies reactivas de oxígeno.<sup>11</sup>

El anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, y el radical hidroxilo se forman como intermediarios en el proceso de reducción de una molécula de oxígeno a agua. El anión superóxido puede transformarse en peróxido de hidrógeno por medio de la enzima superóxido dismutasa. El peróxido de hidrógeno puede formarse espontáneamente y reaccionar con el anión superóxido en presencia de metales de transición como son el hierro y el cobre, para generar al radical hidroxilo. Estas moléculas pueden producirse en el crecimiento bacteriano aerobio por medio de la auto-oxidación de componentes de la cadena respiratoria, por varias actividades endógenas o por agentes exógenos.<sup>47</sup>

Existen otras especies oxidantes que no son radicales libres como es el caso del oxígeno singulete, que se forma por la inversión en el spin de uno de los electrones desapareados de la molécula de oxígeno. Dentro de las especies que generan estrés oxidante, el oxígeno singulete también es una de las especies más dañinas, ya que puede destruir biomoléculas, microorganismos y otras células.<sup>44</sup>

Algunos estudios han demostrado que diversos antibióticos pueden generar un incremento del anión superóxido en bacterias de diferentes especies; sólo las cepas sensibles a estos antibióticos presentan estrés oxidante. Tal es el caso de

*Staphylococcus aureus*, que sufre estrés oxidante en presencia de ciprofloxacina con un estímulo de la enzima superóxido dismutasa. Sin embargo se ha observado que por medio del mecanismo de quorum sensing los microorganismos pueden controlar la formación de defensas contra sustancias que estimulan el estrés oxidante.<sup>64</sup>

Las bacterias unidas recientemente en biopelículas generan más especies reactivas de oxígeno que las biopelículas viejas; también los antibióticos generan menor estrés oxidante cuando las bacterias reducen el metabolismo oxidativo.<sup>11</sup>

Las bacterias se adaptan a la presencia de especies reactivas de oxígeno aumentando la expresión de enzimas de detoxificación y proteínas y por funciones de reparación de DNA. Estas múltiples enzimas pueden diferir en su tiempo de expresión, regulación o localización. Por ejemplo, muchas bacterias inducen la expresión de la catalasa u otras enzimas protectoras durante la transición de la fase de crecimiento a la fase estacionaria, probablemente como una adaptación para proteger al genoma y otros componentes celulares esenciales contra la oxidación durante una fase prolongada sin crecimiento.

Existen mecanismos de detección de peróxido por tres familias de proteínas, las cuales participan en respuestas inducibles a estrés por este, la familia OxyR, PerR y OhrR. Estos sistemas utilizan residuos de cisteína, para detectar la presencia de peróxidos, lo que muestra que estas familias de proteínas pueden modular con facilidad la actividad redox y se encuentran en gran variedad de bacterias Gram positivas y negativas.<sup>19</sup>

OxyR en *Escherichia coli* fue el primer factor de transcripción relacionado con genes de detección de peróxido bien caracterizado.<sup>42</sup> Este regulón incluye genes involucrados con el metabolismo y protección de peróxido, equilibrio redox e importantes reguladores, como es el caso de limitar la disponibilidad de Fe<sup>2+</sup> para minimizar la ocurrencia de la reacción de Fenton.<sup>44</sup>

PerR ha sido identificado como el mejor regulador de la respuesta inducible a estrés por peróxido de hidrógeno en *Bacillus subtilis* y es el prototipo de un grupo relacionado a represores de sensores de peróxido en bacterias Gram positivas y Gram negativas. El gen *perR* se descubrió como represor del gen *mgrA* el cual se regula por iones metálicos como el hierro y el manganeso.<sup>43</sup>

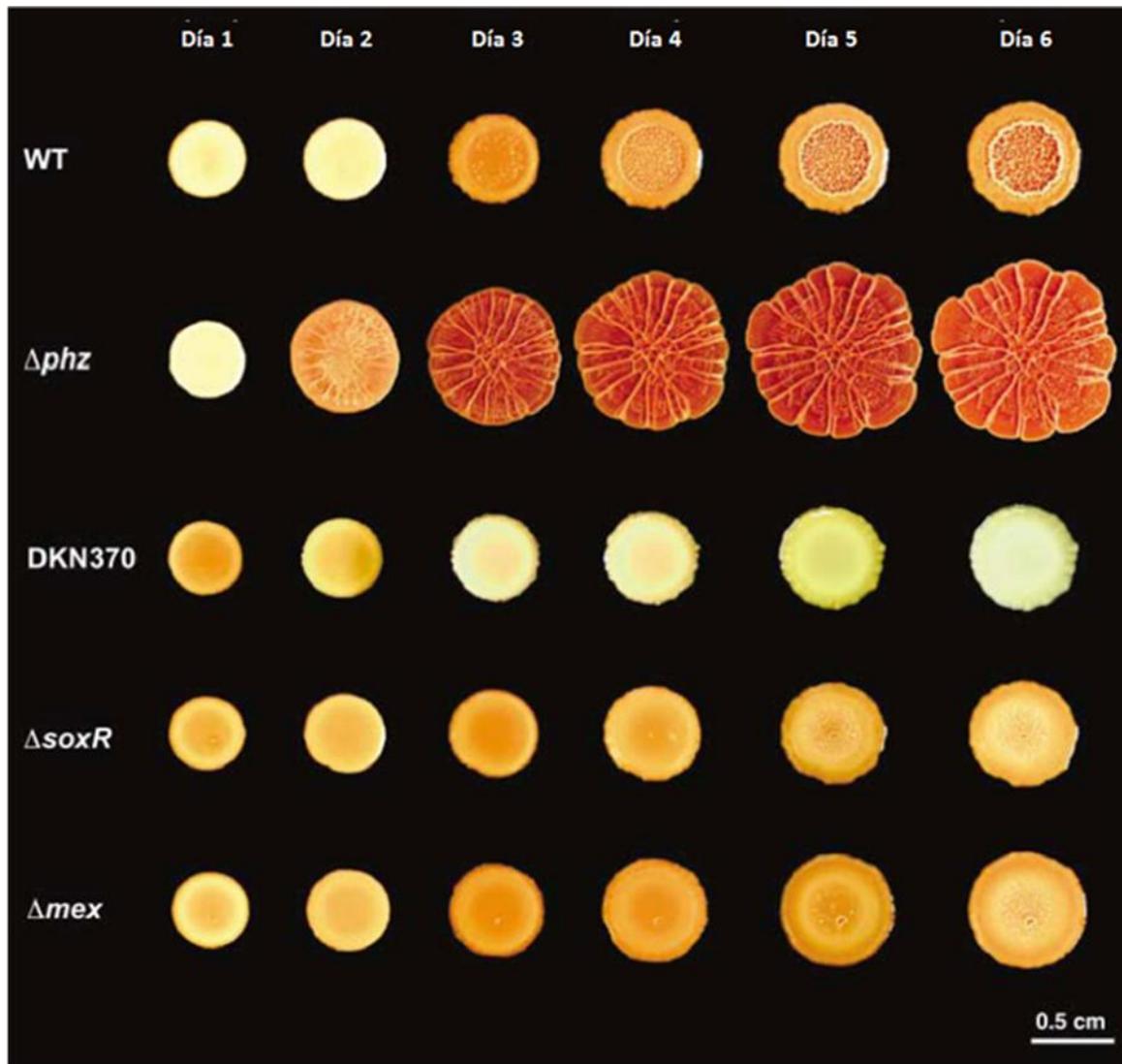
La familia ohrR pertenece a un grupo de proteínas antioxidantes que se encuentran en una gran cantidad de bacterias y cuentan con un residuo conservado de cisteína, requerido para la detección de peróxido.<sup>19</sup>

Se sabe que las bacterias secretan pigmentos activos redox como antibióticos para inhibir a competidores.

*Pseudomonas aeruginosa* libera fenazinas, que son antibióticos redox, dentro de las que se encuentra la piocianina. Esta, activa el factor de transcripción SoxR, en *Escherichia coli*, que regula la respuesta al estrés por superóxido.<sup>21</sup>

En las enterobacterias SoxR activa el factor de transcripción SoxS, quien controla genes involucrados en la eliminación del anión superóxido y óxido nítrico

y que protegen contra solventes orgánicos y antibióticos.<sup>21</sup> También participa en la reparación del DNA.<sup>44</sup>



**Figura 2.** La producción de fenazinas modula la morfología de las colonias en *Pseudomonas aeruginosa* PA14. La cepa sin fenazina ( $\Delta phz$ ) comienzan a visualizarse rugosas en el día 2, mientras que la cepa silvestre (wt) en el día 3 y las cepas con la supresión de los genes *soxR* y *mexGHl-ompD* comenzaron a verse rugosas en el día 5 y la cepa con sobreproducción de piocianina (DKN370) permanecieron lisas y blancas durante más de 6 días.<sup>21</sup>

Las fenazinas son un gran número de compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno, producidos por varios microorganismos. Estos compuestos

presentan diferentes funciones como donadores o aceptores de electrones, modifican estados redox celulares, actúan como señales celulares que regulan patrones de expresión de genes y contribuyen a la formación de biopelículas, entre otros, particularmente bajo condiciones limitadas de oxígeno. Se ha demostrado que estas también pueden controlar el tamaño y la estructura de las colonias bacterianas.<sup>22</sup>

La piocianina afecta la expresión de al menos 35 genes diferentes que se encuentran en el regulón SoxR y tiene grandes efectos en la fisiología celular. Estos pigmentos influyen la regulación transcripcional y modulan características físicas de comunidades durante su desarrollo. (Figura 2).<sup>21</sup>

Los efectos de la piocianina han demostrado ser dependientes de dos mecanismos, uno de los cuales se encuentra involucrando con un homólogo de *E. coli* SoxR.

En *E. coli*, este gen regula la expresión de regulones involucrados en la respuesta a estrés por superóxido en conjunto con otro regulador, SoxS.<sup>22</sup> También se ha observado que la actividad letal de una variedad de agentes antimicrobianos, como el caso de la norfloxacin que pertenece al grupo de las fluoroquinolonas, se acompaña de un aumento del radical hidroxilo; dicha actividad letal se ve reducida tratando a las células de *E. coli* con agentes que bloquean la acumulación del radical hidroxilo, observando que si se genera una eliminación en los genes de la superóxido dismutasa se reduce la letalidad de la norfloxacin.<sup>35</sup>

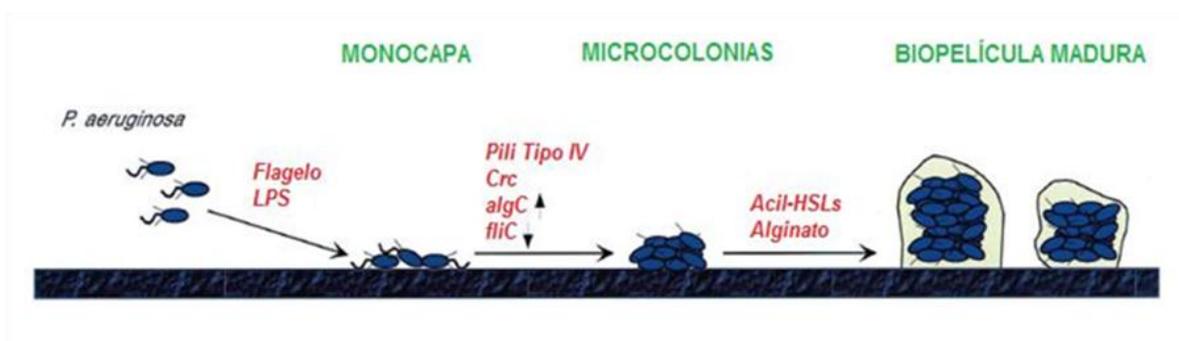
En *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptomyces coelicolor* muchos de los regulones SoxR identificados carecen de genes involucrados con la respuesta a estrés por superóxido, pero cuentan con genes involucrados con el transporte de moléculas pequeñas.<sup>22</sup>

El estrés oxidante puede generar daños en las células y cambios de transcripción de diversos genes en las cepas bacterianas. Dicho estrés puede generarse por diversos factores, entre los que se encuentran los antibióticos. Por ello, es un factor importante para conocer con mayor exactitud el comportamiento y reacción de las células bacterianas y así buscar nuevas alternativas como tratamientos en infecciones bacterianas.

## VI. Comunicación celular en procariontes. Quorum sensing.

Actualmente se sabe que las bacterias son muy interactivas y muestran una gran cantidad de comportamientos que las relacionan entre ellas, como pueden ser motilidad, conjugación por transferencia de plásmidos, resistencia a antibióticos y formación de biopelículas y virulencia. (Figura 3).

Las bacterias pueden alterar su morfología celular, generar nuevos tipos de células, sintetizar pigmentos y construir matrices extracelulares como un resultado natural al crecimiento y a sus necesidades.<sup>53</sup>



**Figura 3.** Ejemplo del desarrollo de biopelículas en microorganismos Gram negativos. Se muestra el modelo de la formación en *Pseudomonas aeruginosa*, bacteria que requiere de flagelo y del lipopolisacárido para que se lleve a cabo la interacción. Una vez que estos microorganismos se encuentran en la superficie en una monocapa, es necesario el pilus de tipo IV para que se agreguen en microcolonias, de este modo se genera un cambio en la expresión de genes que regulan a la alta la biosíntesis de alginato y a la baja la síntesis flagelar. Por lo que son necesarias las homoserin lactonas y el alginato para formar una biopelícula madura.<sup>81</sup>

Muchos de estos comportamientos son regulados por diversos sistemas de quorum sensing que se encuentran en bacterias Gram positivas y Gram negativas.<sup>9</sup>

Para lograr una verdadera comunicación, se requiere principalmente de uno o varios individuos que produzcan una señal, la cual pueda ser percibida por otros individuos y que los individuos que reciben la señal alteren su comportamiento en respuesta a la señal. Por lo tanto, la comunicación entre dos partes permanecerá estable, sólo si ambas partes se benefician de la transferencia de información que se transmite por la señal.<sup>4</sup>

La señalización juega un papel muy importante en los procesos de desarrollo celular y muchas de estas señales se encuentran involucradas en el desarrollo. Frecuentemente, son metabolitos secundarios, los cuales no son esenciales para el crecimiento básico y la reproducción de los microorganismos, pero pueden ser instrumentos críticos para la diferenciación celular.<sup>53</sup>

Sin embargo puede generarse un cambio importante en el comportamiento bacteriano sin una comunicación directa, como es el caso cuando las bacterias utilizan información de compuestos químicos que son producidos con propósitos diferentes a dicha comunicación o cuando existe manipulación química por otras bacterias que se encuentran en el mismo ambiente.<sup>4</sup>

La señalización entre células resulta de la producción de moléculas producidas por una célula emisora y la acumulación de estas en su medio ambiente. (Figura 4).<sup>4</sup> La información generada por estas moléculas es crítica para sincronizar la actividad de grandes grupos de células.<sup>34</sup>

En algunos umbrales de concentración las moléculas de señalización se unen con receptores membranales o dentro de la célula, llevando a cambios en la expresión de genes de la célula receptora. Las moléculas de señalización generalmente son metabolitos secundarios y por lo general actúan a bajas concentraciones por lo que estas, no se encuentran involucradas en el metabolismo primario.<sup>4</sup>

Es importante entender las condiciones bajo las cuales puede evolucionar un comportamiento que favorece a unos microorganismos a expensas de otros.<sup>13</sup>

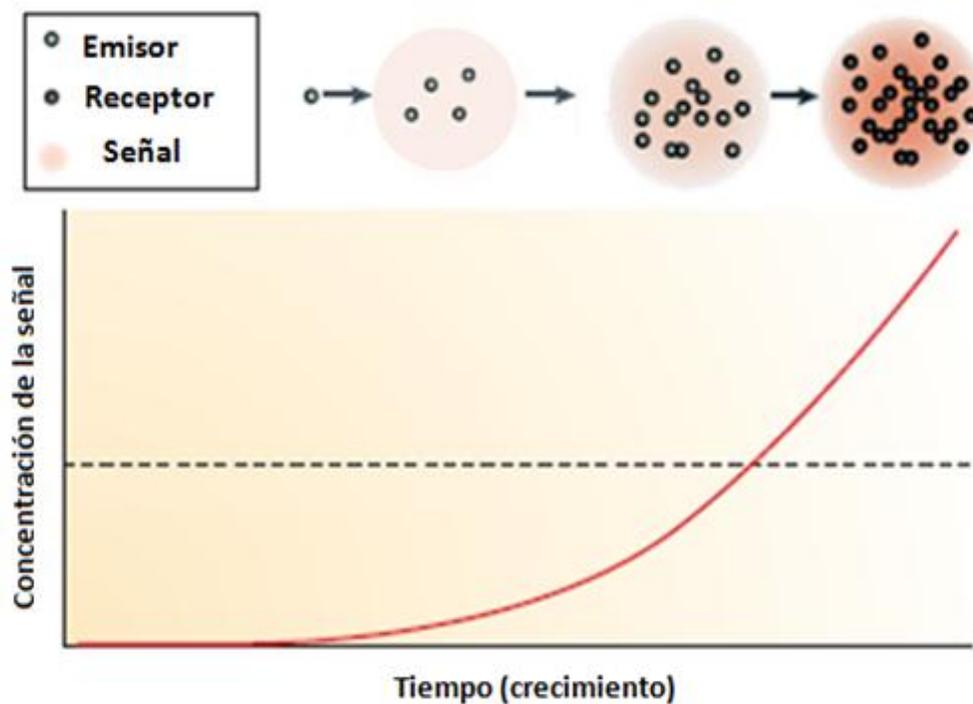


Figura 4 . Esquema general de quorum sensing.<sup>40</sup>

Esta señalización que sincroniza los patrones de expresión de genes bacterianos y coordina el comportamiento dentro de una población, actualmente se ha observado en todas las clases de bacterias estudiadas.<sup>12</sup>

Quorum sensing se refiere a un fenómeno por el cual la acumulación de moléculas de señalización en el medio permite a una célula “percatarse” de la densidad celular y entonces poder generar una respuesta coordinada.<sup>34</sup>

El fenómeno de quorum sensing fue descrito por primera vez en la regulación de la bioluminiscencia en cepas de *Vibrio fischeri* y *Vibrio harveyi* y desde entonces ha mostrado ser un mecanismo de regulación de genes en bacterias.<sup>56</sup>

Al día de hoy, se sabe que es un fenómeno que regula un gran número de diversos fenotipos incluyendo la producción de antibióticos y la esporulación, entre otros como puede ser la formación de biopelículas. Estas estructuras contienen frecuentemente canales para la importación de nutrientes y la disposición de productos de desecho.

Los sistemas de comunicación de quorum sensing se caracterizan por el uso de metabolitos, hormonas, antibióticos o compuestos volátiles como señales para conocer la densidad celular de la población de microorganismos en general.<sup>26</sup>

Por ello la mayoría de los procesos que son controlados por quorum sensing son intrascendentes en bacterias individuales, pero resultan de gran beneficio cuando se llevan a cabo por un gran número de células asociadas entre sí.<sup>34</sup>

Se ha demostrado que este fenómeno es necesario para la completa virulencia de algunos microorganismos patógenos incluidos *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia cenocepacia* y *Vibrio cholerae*. En el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, el quorum sensing regula la producción de un gran número de factores determinantes de virulencia, incluyendo elastasa, piocianina y lectinas.<sup>9</sup>

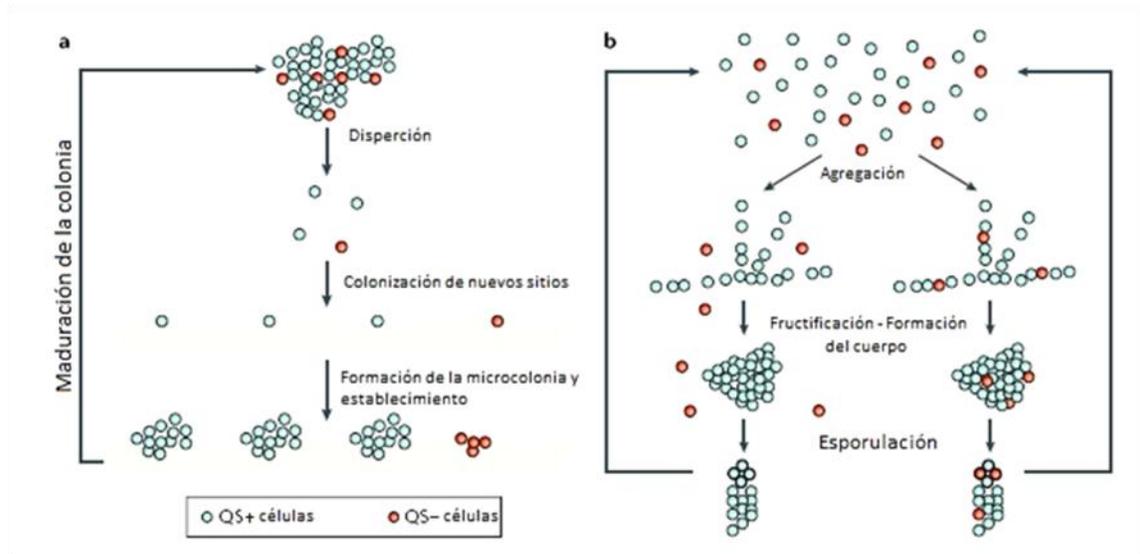
Adicionalmente, dentro de las moléculas participantes en la comunicación celular, se conoce que las bacterias también pueden detectar moléculas señalizadoras liberadas por el organismo al que infectan.<sup>12</sup>

Debido a que las bacterias pueden detectar la acumulación de un umbral de concentración mínimo de los autoinductores y modificar la expresión de genes pueden, por lo tanto pueden alterar su comportamiento como respuesta a ello.<sup>34</sup>

En especies que carecen de habilidades cognitivas complejas, la única fuerza selectiva que promueve la cooperación durante las interacciones intraespecíficas es la selección por parentesco. Esta tiene como principio que actos altruistas que son dirigidos hacia parientes, producen una compensación reproductiva. Al mejorar la reproducción de los parientes, indirectamente los genes pueden propagar copias de ellos en los demás parientes.<sup>4</sup> (Figura 5).

En bacterias, los tres factores que conducen a una comunicación intraespecífica son: 1. que estas se encuentren altamente relacionadas entre ellas, 2. el bajo costo metabólico en la producción de una señal y 3. que se genere un alto beneficio para que las bacterias se comporten de manera coordinada. Inversamente, la comunicación debe ser menos común cuando cepas múltiples de

la misma especie de bacterias se encuentran mezcladas, cuando la producción de la señal es costosa o cuando los beneficios de un comportamiento coordinado están limitados.<sup>41</sup>



**Figura 5. Relación clonal y señalización intraespecies.**

a) La señalización intercelular célula-célula predomina en poblaciones de células clonales. Se cree que la señalización se puede dar con mayor rapidez si se colonizan nuevos sitios. Las microcolonias se formarán de células individuales y las células QS+ las formarán con mayor eficacia.

b) En el caso de bacterias que generan un cuerpo fructífero y esporulan, las colonias se forman comenzando por la agregación dentro de un área local, seguido de la formación del cuerpo fructífero, el cual requiere de una señal dependiente de contacto que genere la esporulación que llevará a la nueva generación de células.<sup>4</sup>

QS: Quorum sensing

Un grupo de bacterias en el que la señalización bacteriana parece ser particularmente prevalente es en las bacterias patógenas. Estas frecuentemente forman microcolonias con individuos clonales cuando hay una colonización local dentro del hospedero y por ello proporcionan las condiciones necesarias para que se desarrolle la señalización. En este caso, la expresión coordinada de los determinantes de virulencia sería más ventajosa cuando el número de células alcanza el umbral crítico.<sup>4</sup>

La interrupción del quorum sensing ha demostrado que puede reducir la virulencia en varios hospederos. Se ha establecido su importancia en varias comunidades bacterianas, como es en el caso de los sistemas de transducción de señales de dos componentes que, al inhibirlos, se pueden controlar los factores de virulencia como biopelículas y quorum sensing sin necesidad de matar a los microorganismos patógenos.<sup>48</sup> Estos sistemas de transducción de señales responden a una variedad de cambios en el medio ambiente, cada sistema responde a señales específicas como pueden ser cambios en el pH, niveles de nutrientes, presión osmótica, señales de quorum sensing, estado de oxidación de las moléculas y presencia de antibióticos.<sup>50</sup>

Los sistemas de señalización de quorum sensing son muy vulnerables y pueden ser inactivados por otras bacterias, células eucariontes u organismos multicelulares.<sup>12</sup>

La naturaleza de las interacciones a través de químicos por medio de quorum sensing no es una simple comunicación cooperativa, si no que implica otras interacciones como señales y manipulación química entre microorganismos de la misma especie y entre diferentes especies.<sup>4</sup>

Este fenómeno es muy importante para poder comprender la relación que puede existir entre las moléculas de señalización y las nuevas alternativas terapéuticas, ya sea para encontrar nuevas moléculas que puedan funcionar como antibióticos o bien maneras de inhibición del quorum sensing para reducir la virulencia de cepas patógenas.

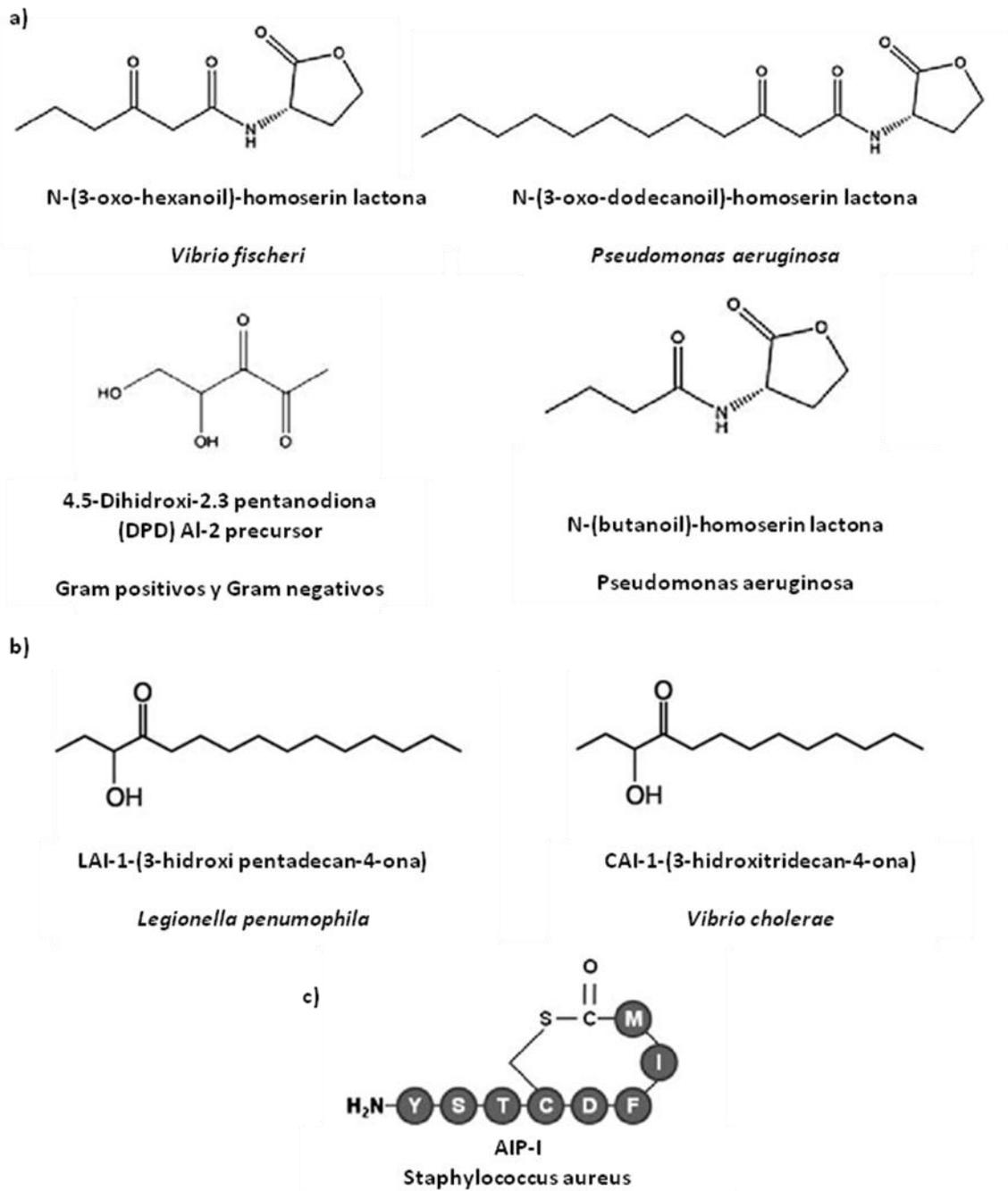
## VII. Moléculas participantes en la comunicación celular procarionte.

Para que una molécula se pueda clasificar como señal para la comunicación celular procarionte, debe cumplir con ciertas características, como son, que la producción de las señales se debe de producir en etapas específicas del crecimiento o en respuesta a cambios ambientales particulares; estas señales deben acumularse extracelularmente y ser reconocidas por un receptor específico; la respuesta celular se puede extender más allá de los cambios fisiológicos requeridos para metabolizar y detoxificar a estas moléculas.<sup>9</sup>

Hay tres clases de moléculas bien definidas que sirven para la señalización química en bacterias, las cuales son oligopéptidos, N-acil homoserina lactonas y las de clase LuxS.<sup>26</sup> (Figura 6).

Las señales producidas por oligopéptidos son señales predominantes en bacterias Gram positivas; estos son péptidos autoinductores en un rango de 5 a 34 aminoácidos de longitud.

Existen tres familias de péptidos autoinductores que han sido estudiadas a mayor profundidad, los oligopéptidos lantibióticos, péptidos de tiolactona y péptidos de triptófano.<sup>13</sup>



**Figura 6.** Estructuras de algunas moléculas de señalización bacteriana.<sup>26, 57</sup>

5a) Homoserin lactonas producidas por microorganismos Gram negativos y el precursor del Autoinductor-2 por microorganismos Gram positivos y Gram negativos.

5b)  $\alpha$ -hidroxicetonas producidas por microorganismos Gram negativos.

5c) Péptido de tiolactona cuyo péptido se encuentra compuesto por 8 aminoácidos, esta molécula de señalización es de mayor tamaño que las mostradas en los incisos anteriores, sin embargo sigue siendo pequeña.

Los lantibióticos, incluyendo a la nisina que es producida por *Lactococcus lactis*, y muestran gran actividad bactericida contra un amplio espectro de microorganismos Gram positivo. Este sistema es único por la biosíntesis de una molécula señalizadora altamente nociva para los microorganismos. Por ejemplo la síntesis de nisina requiere de un grupo de 11 genes y es un sistema auto-inducible que involucra un sistema regulatorio de dos componentes NisK-NisR, los cuales controlan la expresión de proteínas involucradas en la biosíntesis de nisina e inmunidad.<sup>65</sup>

En el caso de los péptidos de triptófano, como es el autoinductor ComX en *Bacillus subtilis*, este es percibido por un sistema de dos componentes ComP-ComA, que regula la expresión de varios genes. Se generan modificaciones post-traduccionales en los péptidos de triptófano modificados por un grupo isoprenilo, que son muy importantes para generar una actividad biológica y son clave para la interacción de ComX con su receptor ComP.<sup>65</sup>

Los péptidos de tiolactona son la vía más estudiada. Esta familia está caracterizada por el octapéptido AI-1 empleado por *Staphylococcus aureus*. (Figura 6c). Estos se derivan por la acción de un locus policistrónico, *agrBDCA* que comprende los genes requeridos para la síntesis de péptidos autoinductores (*agrBD*) y péptidos autoinductores de respuesta (*agrAC*).<sup>66</sup>

Estos péptidos de tiolactona generados por bacterias Gram positivas son muy específicos teniendo un rol para un comportamiento coordinado y cooperativo. Algunas veces estos péptidos pueden generar diferentes señales dentro de cepas

de las mismas especies de microorganismos. Esto puede observarse en cepas de *Staphylococcus aureus*, las cuales han sido clasificadas de acuerdo a las señales de oligopéptidos que producen.

El costo bioquímico para su síntesis es relativamente alto, incluso para péptidos pequeños. La estructura química de estos es definida por su secuencia de aminoácidos, la cual puede ser modificada como en el caso del anillo de tiolactona en los péptidos de señalización de *Staphylococcus aureus*.<sup>14</sup>

También se pueden generar señales por péptidos que actúen como inhibidores de señales en otros grupos.

El mecanismo de señalización por medio de acil-homoserina lactonas (AHL), se presenta por lo general en bacterias Gram negativas; sin embargo, algunos patógenos Gram negativos como son el caso de *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Helicobacter pylori*, no producen AHLs y aunque muchos miembros de Enterobacteriaceae producen AHLs, no es el caso de *Escherichia coli* o *Salmonella sp.*

La cadena acilo de las AHLs, puede variar en su longitud, nivel de saturación y estado de oxidación. Estos sustratos tienen una carga metabólica asociada para su síntesis y tienen un costo metabólico intermedio asociado con su producción. Este sistema tiene una especificidad moderada, en la cual una proteína de la familia LuxI creará una AHL predominante y otra u otras en menor cantidad, como es el caso de la AHL sintasa LasI de *Pseudomonas aeruginosa* que crea la 3-oxo-dodecanoil-homoserin lactona y la 3-oxo-hexanoil-homoserin lactona (Figura 6a).

La señal de AHL es detectada por un miembro de los reguladores transcripcionales de la familia LuxR. En la actualidad se conocen más de 100 diferentes homólogos de LuxI.<sup>67</sup>

En el caso de la 3-oxo-dodecanoil-homoserin lactona producida por *Pseudomonas aeruginosa*, esta tiene gran actividad biológica, ya sea inhibiendo el crecimiento y quorum sensing mediado por *agr* en *S. aureus*, inhibiendo la formación de pseudohifas de *Candida albicans* y, dependiendo de su concentración y el modelo utilizado, provoca respuestas inflamatorias o antiinflamatorias.<sup>14</sup> (Tabla 2).

El sistema de señalización por el camino de LuxS/AI-2 se encuentra tanto en bacterias Gram positivas como en bacterias Gram negativas y se refiere a una familia de compuestos de furanona interconvertibles.<sup>14</sup> La señal que se produce por todas las cepas está generada por el mismo producto que es 4,5- dihidroxi-2,3-pentanodiona<sup>14</sup>. (Figura 6a).

La clase LuxS se refiere a un gen conservado que se encuentra en bacterias Gram positivas y Gram negativas, el cual modula la producción del autoinductor 2. Este camino de señalización no es muy específico, por lo que no brinda información muy precisa. Esta señal se genera por la degradación de la molécula S-adenosil homocisteína.<sup>4</sup> La cual es removida por mecanismos que involucran a enzimas como Pfs y LuxS, para generar homocisteína. Esta vía también conduce a la formación de 4,5-dihidroxi-2,3-pentadiona la cual se cicla espontáneamente para formar furanonas que constituyen al autoinductor 2.

Este sistema se ha estudiado detalladamente en *Vibrio spp.*, en especial en *V. harveyi* y *V. cholerae*. La molécula AI-2 reconocida por estas especies es un furanosil borato diéster.<sup>14</sup>

Las bacteriocinas o microcinas son consideradas como otras moléculas de señalización, las cuales son pequeñas moléculas que presentan diferentes estructuras químicas y que pueden ser potentes inhibidores del crecimiento de algunas cepas bacterianas y pueden ser de gran interés para su desarrollo como agentes terapéuticos.

Algunas de estas son producidas por enterobacterias y son consideradas importantes para el control de la población bacteriana en el tracto gastrointestinal. Muchos de estos se derivan de pequeños péptidos producidos por el proceso normal de la síntesis proteica ribosomal que padece una extensiva modificación post traduccional.

Las bacteriocinas han sido clasificadas en diferentes grupos de acuerdo a sus propiedades bioquímicas y genéticas. Son péptidos sintetizados generalmente en el ribosoma, producidos y excretados por bacterias Gram positivas y negativas.<sup>33</sup>

Las microcinas son codificadas por los genes bacterianos más pequeños identificados, estas han demostrado actividad antimicrobiana, presentan hormesis y una gran modulación transcripcional al ser probadas en concentraciones subinhibitorias.<sup>3</sup>

<b>Organismo</b>	<b>Mayor AHL(s)</b>	<b>LuxR</b>	<b>LuxI</b>	<b>Fenotipos</b>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	C4-HSL	AhyR	Ahyl	Biopelículas y exoproteasas
<i>Aeromonas salmonicida</i>	C4-HSL	AsaR	Asal	Exoproteasas
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	3-oxo-C8-HSL	TraR	Tral	Conjugación por plásmido
<i>Agrobacterium vitiae</i>	C14:1-HSL, 3-oxo-C16:1-HSL	AvsR	Avsl	Virulencia
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	C6-HSL, C8-HSL	CepR, CciR	Cepl, Ccil	Exoenzimas, formación de biopelículas, motilidad en swarming, sideróforo, virulencia
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	C6-HSL, C10-HSL, 3-hidroxi-C8-HSL, 3-hidroxi-C10-HSL, 3-hidroxi-C13HSL	PmlTR1, BpmR2, BpmR3	PmlI1, PmlI2, PmlI3	Virulencia, exoproteasas
<i>Burkholderia mallei</i>	C8-HSL, C10-HSL	BmaR1, BmaR3, BmaR4, BmaR5	BmaI1, BmaI3	Virulencia
<i>Chromobacterium violaceum</i>	C6-HSL	CviR	Cvil	Exoenzimas, pigmento, cianuro
<i>Erwinia carotovora ssp. carotovora</i>	3-oxo-C6-HSL	ExpR/CarR	CarI (Expl)	Carbapenem, exoenzimas, virulencia
<i>Pantoea (Erwinia) stewartii</i>	3-oxo-C6-HSL	EsaR	Esal	Exopolisacárido
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	C4-HSL; 3-oxo-C12-HSL	LasR, RhlR, QscR, VqsR	LasI, RhII	Exoenzimas, secreción, HCN, biopelículas
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	C6-HSL	PhzR, CsaR	PhzI, CsaI	Fenacinas, proteasas, morfología de la colonia, agregación
<i>Pseudomonas putida</i>	3-oxo-C10-HSL, 3-oxo-C12-HSL	PpuR	Ppul	Formación de biopelículas
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	C6-HSL	PhzR	PhzI, CsaI	Fenacina-1-carboxamida
<i>Pseudomonas syringae</i>	3-oxo-C6-HSL	AhIR	AhII	Exopolisacárido, motilidad, virulencia
<i>Rhizobium leguminosarum bv viciae</i>	7-cis-C14-HSL/C6-HSL/C7-HSL/C8-HSL, 3-oxo-C8-HSL, 3-hidroxi-C8-HSL	CinR, RhiR, RaiR, TraR, BisR, TriR	CinI, Rhil, Rail	Transferencia de plásmido, inhibición de crecimiento, adaptación a la fase estacionaria

Organismo	Mayor AHL(s)	LuxR	LuxI	Fenotipos
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	7-cis-C14-HSL	CerR	CerI	Agregación
<i>Serratia spp. ATCC 39006</i>	C4-HSL	SmaR	SmaI	Antibiótico, pigmento, exoenzimas
<i>Serratia liquefaciens MG1</i>	C4-HSL	SwrR	SwrI	Motilidad en swarming, exoproteasa, desarrollo de biopelículas, biosurfactante
<i>Serratia marcescens SS-1</i>	C6-HSL, 3-oxo-C6-HSL	SpnR	SpnI	Motilidad, biosurfactante, pigmento, nucleasa, frecuencia de transposición
<i>Serratia proteomaculans B5a</i>	3-oxo-C6-HSL	SpnR	SpnI	Exoenzimas
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	C8-HSL, C12-HSL, 3-oxo-C14-HSL, 3-oxo-C16:1-HSL, C16:1-HSL, C18-HSL	SinR, ExpR, TraR	SinI	Nodulación/simbiosis
<i>Vibrio fischeri</i>	3-oxo-C6-HSL	LuxR	LuxI	Bioluminiscencia
<i>Yersinia enterocolitica</i>	C6-HSL, 3-oxo-C6-HSL, 3-oxo-C10-HSL, 3-oxo-C12-HSL, 3-oxo-C14-HSL	YenR, YenR2	YenI	Motilidad
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	C6-HSL, 3-oxo-C6-HSL, C8-HSL	YpsR, YtbR	YpsI, YtbI	Motilidad, agregación

**Tabla 2.** Ejemplos de sistemas de quorum sensing dependientes de LuxR/LuxI/AHL en bacterias Gram negativas.<sup>14</sup>

Las que pertenecen a la clase IIa, producidas por bacterias ácido lácticas, son uno de los grupos de mayor interés para la conservación de alimentos y en medicina como antibióticos complementarios para tratar enfermedades infecciosas o agentes antivirales, ya que estos péptidos inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos como es el caso de *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, y *Listeria monocytogenes*.<sup>32</sup>

También se conocen las bacteriocinas de la clase IIb, las cuales se forman por dos péptidos diferentes, cuyos genes se encuentran juntos en el mismo operón.

Para generar su actividad antibacteriana, se requiere de ambos péptidos en cantidades iguales. Este tipo de bacteriocinas hacen que la membrana celular de bacterias sensibles, sean permeables a un grupo de iones selectos, lo que indica que estas forman o inducen la formación de poros que muestran especificidad con respecto al transporte de moléculas y por medio de estos pueden generar fugas en la membrana las cuales posteriormente generan la muerte celular.<sup>55</sup>

Existen también las  $\alpha$  – hidroxicetonas, que han sido descubiertas recientemente en microorganismos patógenos Gram negativos como *Legionella pneumophila* y *Vibrio cholerae*. Estas señales regulan las interacciones patógeno-huésped, virulencia bacteriana, formación de biopelículas o filamentos extracelulares y la expresión de islas genómicas. Los componentes necesarios para la señalización de estas moléculas, se encuentran codificados por los grupos de genes *lqs* y *cqs* respectivamente. Estos genes codifican para los autoinductores: (LAI)-1 (3-hidroxipentadecan-4-ona) en el caso de *Legionella pneumophila* y (CAI)-1 (3-hidroxitridecan-4-ona) en el caso de *Vibrio cholerae*, para las sintasas homólogas de los autoinductores LqsA/CqsA y las cinasas de los sensores LqsS/CqsS.<sup>58</sup> (Figura 6b).

Los grupos de genes *lqs/cqs* se presentan en una gran cantidad de bacterias que se encuentran en el medio ambiente, por ello se cree que estas moléculas son utilizadas ampliamente como moléculas de señalización entre células.<sup>57</sup>

Las señales generadas por los autoinductores, que son pequeñas moléculas de señalización, representan un importante camino en la regulación fenotípica bacteriana por medio de la expresión de genes.<sup>10</sup>

### VII.I. Comunicación entre células procariontes y células eucariontes.

Se han observado moléculas participantes en la comunicación celular procarionte que pueden recibir señales de células eucariontes, como es el caso del receptor bacteriano conocido como QsecC, el cual normalmente es un receptor del autoinductor 3 (AI 3), pero que también se activa por las hormonas adrenalina y noradrenalina presentes en mamíferos, los cuales son capaces de promover la expresión de genes de virulencia de *E. coli*, por lo que se ha llegado a pensar que las hormonas humanas y el autoinductor presentan estructuras similares que permiten unirse al mismo receptor.<sup>68</sup>

El mensajero microbiano C12 es una señal que coordina la expresión de genes de virulencia de *Pseudomonas aeruginosa*. Este fue probado con ratones, donde se encontró que inhibe a NF-kB, el cual es muy importante en la generación de la respuesta inmune; estudios realizados en células humanas indicaron lo mismo.<sup>69</sup>

De la misma manera, se han realizado investigaciones con moléculas del hospedero, como es el caso de la apolipoproteína B (APOB), la cual ayuda a transportar el colesterol en el torrente sanguíneo y se observó que interfiere con una molécula llamada péptido autoinductor 1, (la cual participa en el quorum

sensing de *Staphylococcus aureus*) y de este modo corta la línea de comunicación utilizada para coordinar el inicio de la virulencia en este microorganismo.

Estudios en ratones manipulados química y genéticamente para la ausencia de APOB demuestran que estos son más susceptibles a infecciones. Sin embargo, en este caso de ratones con ausencia de APOB, se ha observado que se generan beneficios tanto para el hospedero como para el patógeno y únicamente cuando el equilibrio hospedero-patógeno se rompe debido a factores como la edad, otras enfermedades o que el paciente se encuentre inmunocomprometido, la infección aumenta. Estudios clínicos han demostrado que los niveles de APOB son menores en pacientes con enfermedades críticas que en individuos sanos, lo que podría explicar parcialmente por qué estos pacientes son más vulnerables a infecciones por *Staphylococcus aureus*.<sup>12</sup>

## VIII. Los antibióticos como posibles moléculas implicadas en la comunicación celular procarionte.

El hombre ha manipulado a las bacterias para producir grandes cantidades de moléculas que pueden utilizarse contra infecciones. Sin embargo, es importante preguntarse si las concentraciones inhibitorias de antibióticos se logran alcanzar naturalmente en el medio ambiente y si los antibióticos podrían ser mejor considerados como moléculas de comunicación bacteriana.<sup>30</sup>

Las moléculas pequeñas están involucradas en las interacciones entre célula y célula. Por ello debe existir un gran número de compuestos bioactivos producidos naturalmente por la mayoría de los organismos si bien sólo algunos de ellos han podido ser identificados hasta ahora.<sup>14</sup>

De estas moléculas pequeñas, que son productos naturales, la mayor parte de las identificadas son clasificadas como antibióticos y probablemente son los metabolitos secundarios mejor conocidos.<sup>31</sup>

Los antibióticos poseen muchas características de las moléculas que funcionan como señales de quorum sensing, como son: que estas moléculas generan las señales para quorum sensing en determinadas etapas del crecimiento bacteriano, que la señal se acumula en el medio extracelular y es reconocida por un receptor bacteriano específico, que la concentración de la señal a un umbral crítico de la señal genere una respuesta concertada y que la respuesta celular se extienda

más allá de cambios fisiológicos requeridos para metabolizar o detoxificar a las moléculas.<sup>14</sup>

La estructura de las comunidades bacterianas puede verse afectada si son expuestas a antibióticos. Esto es debido a que los antibióticos en general presentan efectos selectivos en varios grupos de microorganismos. Por lo tanto, estos pueden alterar la abundancia relativa de especies microbianas, e interferir con las interacciones entre diferentes especies.<sup>16</sup>

Por todo esto, se ha sugerido que en la naturaleza los antibióticos funcionan como señales intermicrobianas, en lugar de moléculas de defensa o ataque contra otros organismos o competencia por nutrientes. Esto podría resultar en una explicación del por qué los antibióticos son capaces de interferir con la expresión de genes controlada por quorum sensing.<sup>29</sup>

Se han reportado muchos ejemplos de fenotipos asociados a la modulación transcripcional inducida por antibióticos.

Para microorganismos Gram positivos y Gram negativos, los tratamientos de antibióticos a concentraciones subinhibitorias pueden estimular la producción de exopolisacáridos, como es el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, que al estar en contacto con niveles subinhibitorios del antibiótico  $\beta$ -lactámico imipenem, aumenta la producción de alginato y conduce a un aumento en la formación de biopelículas.<sup>45</sup>

La concentración subinhibitoria de aminoglicósidos y en algunos casos de amikacina, estreptomina y gentamicina, pueden inducir la formación de biopelículas en *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*; en el caso de la rifampicina, esta regula la transcripción de genes de virulencia y motilidad.<sup>3</sup>

En el caso de la azitromicina que es un agente inhibidor de la síntesis proteica, es uno de los pocos antibióticos que mejora a los pacientes con fibrosis quística infectados por *Pseudomonas aeruginosa*; se ha mostrado que la azitromicina, ceftazidima y ciprofloxacina, también afectan al mecanismo de quorum sensing, posiblemente alterando la permeabilidad de la membrana y afectando el flujo de homoserin lactonas. De cualquier manera, estos antibióticos siguen teniendo actividad bactericida y bacteriostática, que generan resistencia a antibióticos, por lo que se ha sugerido que los antibióticos juegan un papel importante de señalización en la naturaleza, e identificar inhibidores de quorum sensing, puede ser un gran avance, para atenuar la virulencia sin afectar necesariamente a los procesos bacterianos esenciales.<sup>79</sup>

Se han encontrado moléculas como la cerulenina, inhibidor de la síntesis de ácidos grasos, la cual a concentración subinhibitoria bloquea la producción de exoproteínas interfiriendo con niveles de transcritos específicos.<sup>80</sup>

Los efectos de los antibióticos en el ecosistema se encuentran relacionados con su concentración, biodisponibilidad, tiempo de exposición y los sustratos presentes.<sup>16</sup> Sin embargo se ha observado que las células bacterianas dentro de biopelículas son altamente resistentes a antibióticos, incluso cuando se ha

determinado en la fase de crecimiento microbiano una concentración mínima inhibitoria muy baja, por medio de la cual podría predecirse alta susceptibilidad al agente antimicrobiano.<sup>51</sup>

IX. Efecto de los antibióticos a niveles subfarmacológicos en las células procariontes.

Aunque a lo largo del tiempo se había sospechado que los antibióticos podrían tener múltiples efectos en las células bacterianas a bajas concentraciones, no fue hasta que comenzaron los análisis de transcripción del genoma, que estas actividades pudieron ser analizadas a nivel del metabolismo celular.<sup>20</sup>

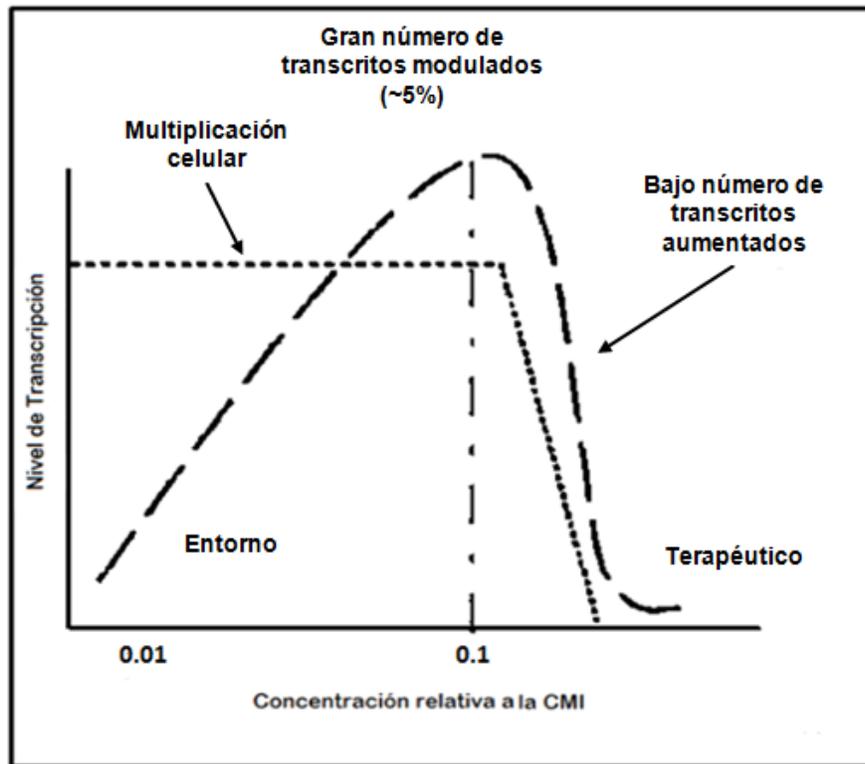
Se ha demostrado que a concentraciones subinhibitorias, prácticamente cualquier antibiótico aumenta o disminuye la expresión de un gran número de transcritos en diferentes bacterias, muchos de los cuales determinan interacciones ambientales.<sup>3</sup>

Bajas concentraciones de antibióticos pueden, por lo tanto, afectar a la flora normal humana debido a esta modulación transcripcional. Estas moléculas ejercen sus efectos transcripcionales uniéndose a blancos intracelulares específicos. (Figura 7).

El efecto de moléculas pequeñas a bajas concentraciones en cuanto a transcripción, puede proveer las bases para nuevos acercamientos para la identificación de moléculas pequeñas biológicamente activas de fuentes naturales para uso como agentes farmacéuticos.<sup>3</sup>

Por ello se han examinado las concentraciones subinhibitorias para mostrar su habilidad para causar cambios globales en la transcripción de genes.<sup>20</sup>

Los antibióticos obtenidos naturalmente afectan la transcripción de muchas funciones celulares a concentraciones subinhibitorias. También algunos antibióticos obtenidos sintéticamente como el caso del trimetoprim y las fluoroquinolonas han demostrado tener propiedades para modular la transcripción las cuales son dependientes de la concentración.



**Figura 7.** Cambios en la traducción global relacionada a inhibición de crecimiento conforme la concentración de antibióticos aumenta, de subinhibitoria a inhibitoria.<sup>20</sup>

De la misma manera, la transferencia horizontal de genes se ve generalmente aumentada por concentraciones subinhibitorias de algunos antibióticos como es el caso de la tetraciclina.<sup>3</sup>

Se han realizado varios estudios en diferentes genes a concentraciones subinhibitorias y se ha observado, por ejemplo, que la polimixina B ha mostrado regulación a la baja de genes flagelares y de invasión y regulación a la alta de genes involucrados en biosíntesis de exopolisacáridos en *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium. Pero en el caso de la rifampicina, que es un inhibidor de la RNA polimerasa, se muestra regulación a la baja de genes flagelares y de invasión, pero regulación a la alta de genes involucrados en crecimiento intracelular y sobrevivencia; en general, muchos genes afectados por la rifampicina en parte corresponden al regulón del sistema de transducción de señales de dos componentes PhoPQ.<sup>20</sup>

En este microorganismo, varios genes flagelares y de motilidad como el caso de *flicC*, *fliD*, *motA* y *motB*, se inducen a concentraciones subinhibitorias de tetraciclina. Estos genes son parte de los operones flagelares de clase III, que se encuentran bajo el control de *fliA* y son expresados únicamente al término de la biosíntesis del flagelo.<sup>77</sup>

El gen *fur* es un regulador de adquisición de hierro y es importante para la sobrevivencia dentro del hospedero cuando el hierro se encuentra limitado. También está involucrado en la tolerancia a ácido, lo cual es importante para *Salmonella* para sobrevivir a las condiciones en el tracto gastrointestinal del hospedero. Recientemente se ha mostrado que este gen induce en general la expresión de *hilA* y SPI-1. De manera de que el aumento en la expresión del gen *fur* en las cepas tratadas con tetraciclina representa un factor adicional que al

expresarse, induce la expresión de los genes *hilA* y SPI-1, los cuales son responsables en parte del aumento en su capacidad de invadir, observada en los medios de cultivo. Este gen es responsable de una amplia variedad de efectos en virulencia, y puede inducir la expresión de otros genes como *parA*, el cual se sabe que presenta regulación a la alta en presencia de tetraciclina.<sup>76</sup>

En *Pseudomonas aeruginosa*, el antibiótico imipenem que es un inhibidor de la síntesis de la pared celular, ha mostrado inducir genes para  $\beta$ -lactamasa, biosíntesis de alginato y biosíntesis de peptidoglicano. Sin embargo, reprime genes relacionados a biosíntesis de flagelo y pili.<sup>23</sup>

Se cree que las fenazinas, a concentraciones subinhibitorias, son señales capaces de alterar patrones de expresión de genes. *Pseudomonas aeruginosa*, libera al menos cuatro tipos de fenazinas: 1-hidroxifenanzina, fenazina-1-carboxamida y la piocianina, los cuales se derivan de un mismo precursor ácido fenazina-1-carboxílico.<sup>70</sup>

Por ello en un estudio realizado con una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, que es una cepa mutante, se eliminaron los dos genes involucrados en biosíntesis de fenazinas, y se pudo observar una alteración alrededor de 51 genes de los cuales al adicionar piocianina, 8 de 22 genes se encontraron regulados a la alta, los cuales codifican para los transportadores involucrados en mecanismos de expulsión para la eliminación de antibióticos y 7 de 29 genes involucrados con captación de hierro, se encontraron regulados a la baja. El grupo de genes

PA5498-5500 regulado a la baja, codifica el regulador transcripcional np20 y proteínas similares a los transportadores de zinc.<sup>40</sup>

Se reportó que una mutación en el regulador np20 anula las señales por quinolonas de este microorganismo, de este modo se concluyó que la piocianina es una señal que modula la fisiología de *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>73</sup>

En la misma cepa PA01 de *Pseudomonas aeruginosa*, también se pudo observar susceptibilidad a concentraciones subinhibitorias de tobramicina, que es un aminoglicósido utilizado para afecciones crónicas causadas por bacterias Gram negativas. Este induce la producción de homoserin lactonas, swarming (comportamiento de enjambre) y formación de biopelículas.<sup>45</sup>

Para este género, también se han reportado estudios con azitromicina a concentraciones subinhibitorias, en los cuales se ha mostrado que este antibiótico puede suprimir la expresión del gen *lasB*, el cual controla el quorum sensing, la inhibición de la virulencia generada por quorum sensing y la producción de alginato. La azitromicina también hace que esta bacteria pueda eliminarse en la fase estacionaria del crecimiento bacteriano y sea sensible al peróxido de hidrógeno.<sup>52</sup>

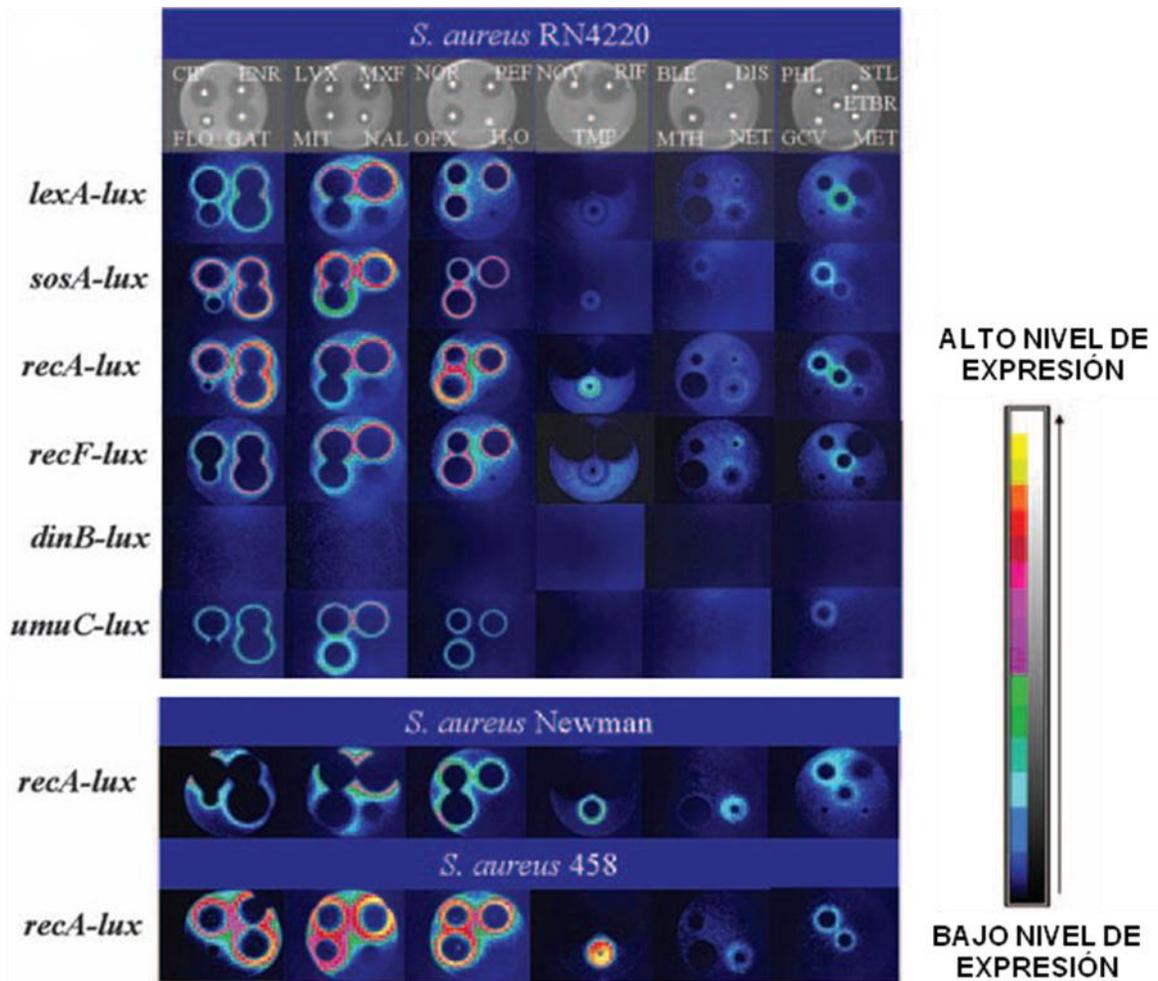
En *Pseudomonas aeruginosa* muchos de los regulones SoxR identificados contienen genes involucrados con el transporte de moléculas pequeñas. En el caso de *Escherichia coli*, SoxR regula la expresión de regulones de respuesta a estrés por superóxido.<sup>22</sup>

Para *Escherichia coli* O157 la norfloxacin, inhibidor de la enzima girasa, muestra regulación a la alta de genes relacionados con toxinas y regulación a la baja de genes de virulencia.<sup>24</sup>

Se ha observado que las cepa de *E. coli* enterohemorrágica presentan como mayor factor de patogenicidad a la toxina shiga, cuyos genes se codifican en profagos. Esta toxina es responsable de muchos de los daños que se generan en las células eucariontes. La producción de esta toxina por cepas que *E. coli* puede ser modulada por antibióticos a concentraciones subinhibitorias.<sup>71</sup>

Las concentraciones subinhibitorias de algunos antibióticos, en particular de aquellos que su mecanismo de acción principal es el daño al DNA, afectan los rangos de mutaciones en las bacterias, lo que puede ser resultado de cambios transcripcionales en genes responsables de la reparación y preservación del DNA, como podría ser el mecanismo SOS.<sup>72</sup>

La expresión de factores de virulencia como toxinas, adhesinas, y formación de biopelículas en *Staphylococcus aureus* se ven afectados al exponerse a concentraciones subinhibitorias de antibióticos. Se han realizado estudios con antibióticos de diferentes clases y mecanismos de acción sobre *lexA* y *recA* que son los principales mediadores del mecanismo SOS en *Staphylococcus aureus*. También se han examinado genes como *umuC*, *sosA*, *dinB* y *recF*.



**Figura 8.** El efecto de los antibióticos en la expresión de genes en el mecanismo de respuesta SOS en las cepas RN4220, Newman y 458 de *Staphylococcus aureus*. En la primera línea se muestran las zonas de inhibición en ensayos de difusión en discos representativos después de 20 horas, las siguientes líneas muestran el efecto de los antibióticos en las cepas mencionadas, las cuales se observaron con un luminógrafo, posteriormente convertidas en la escala de color mostrada a la derecha en un rango de alto y bajo nivel de expresión.

CIP: ciprofloxacina	ENR: enrofloxacina	FLO: florofloxacina	GAT: gatifloxacina
LCX: levofloxacina	MXF: moxifloxacina	MIT: mitomicina	NAL: ácido nalidíxico
NOR: norfloxacina	PEF: pefloxacina	OFX: ofloxacina	NOV: novobiocina
RIF: rifampin	TMP: trimetoprim	BLE: bleomicina	DIS: distamicina
MTH: mitramicina	NET: netropsina	PHL: pleomicina	STL: estreptolidigina
GCV: ganciclovir	MET: metotrexato	ETBR: bromuro de etidio	

Se observó que en el caso de la expresión de los genes *umuC*, *recA*, *sosA*, esta fue activada en presencia de ciprofloxacina. El antibiótico trimetoprim activa la

expresión de *recA* y en el caso de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos como la penicilina G, estos no presentan ningún efecto en la transcripción de los genes involucrados con el mecanismo de respuesta SOS. Los efectos de las concentraciones subinhibitorias sobre la expresión de *recA* en las cepas de *Staphylococcus aureus* Newman y 458, cepas clínicas, presentaron un efecto similar a la cepa RN4220, sin embargo en el caso de la netropsina, el nivel de inducción de la expresión de *recA* en la cepa Newman fue más alto que en las cepas RN4220 y 458. (Figura 8). Por lo tanto se cree que este mecanismo de respuesta es dependiente de la concentración de los antibióticos.<sup>25</sup>

X. Los antibióticos como moléculas fisiológicas reguladoras de la expresión génica en procariontes.

Como ya se ha señalado, ahora sabemos que los antibióticos a concentraciones subinhibitorias, son potentes moduladores de la expresión génica.<sup>14</sup>

En la mayoría de los casos, los sistemas de quorum sensing controlan la expresión de genes y desarrollo de biopelículas, rasgos que son importantes para la interacción y colonización de los hospederos eucariontes y la supervivencia y proliferación celular. Esto incluye la regulación de factores de virulencia en microorganismos patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Yersinia pseudotuberculosis* y factores de virulencia en bacterias patógenas en plantas como el caso de *Erwinia carotovora*.<sup>36</sup>

Teniendo en cuenta que los antibióticos tienen diferente estructura química y mecanismos de acción, como se ha mencionado anteriormente, se han realizado estudios para poder observar la activación o desactivación de diferentes promotores génicos en cepas de diferentes microorganismos, como es el caso de *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Se ha observado que estos compuestos pueden ejercer efectos en la transcripción bacteriana a concentraciones subinhibitorias, por lo que parece que muchos antibióticos utilizados naturalmente a bajas concentraciones, tienen en

común la habilidad de activar o reprimir la expresión génica, que es una actividad radicalmente diferente a la que ejercen a concentraciones inhibitorias.

La respuesta de los microorganismos ya sea a altas o bajas concentraciones de antibióticos, surgen al darse la unión entre el antibiótico con la molécula blanco normal. Sin embargo si los microorganismos han sufrido mutaciones, pueden afectar a la unión con las células blanco y reducir la respuesta significativamente.<sup>5</sup>

Por ello se puede observar que incluso teniendo diferentes estructuras y actividad inhibitoria, los antibióticos al ponerse en contacto con un microorganismo, pueden generar la estimulación de un gran número de promotores de genes, incluyendo algunos genes involucrados con virulencia, metabolismo y funciones adaptativas.

Los antibióticos provocan respuestas específicas y estas pueden ser mediadas por las vías de transducción de señales clásicas, dentro de las que se encuentra el quorum sensing. El efecto de inhibidores traduccionales en la transcripción bacteriana ha demostrado que los ribosomas ejercen un rol central en la modulación de respuestas transcripcionales específicas.<sup>27</sup>

Los mecanismos por los cuales los antibióticos provocan respuestas transcripcionales son la respuesta SOS y la respuesta a estrés, entre otros. La modulación transcripcional de las bacterias como respuesta a la presencia de antibióticos es altamente específica y puede ser mediada por vías clásicas de traducción de señales, como los sistemas de transducción de señales de dos componentes (sensor/regulador) y quorum sensing.<sup>15</sup>

El daño del DNA provoca una respuesta SOS que involucra un cambio en la expresión de varios genes bacterianos. Antibióticos como las quinolonas, que interfieren con el metabolismo del DNA y algunos  $\beta$ -lactámicos, provocan esta respuesta.

Se ha sugerido que los sensores transmembranales están involucrados en la respuesta de Gram positivos a glicopéptidos, mediados por VanRS. Por ejemplo, en el caso de la respuesta a antibióticos que actúan sobre la pared celular de *Listeria monocytogenes*, se encuentra involucrado el sistema de transducción de dos componentes CesRK.<sup>46</sup>

Algunos sistemas de transducción de señales de dos componentes controlan grupos de genes los cuales contribuyen al crecimiento celular, virulencia y quorum sensing, por lo que aquellos fármacos que tengan una función anti-sistemas de transducción de señales de dos componentes, podrían ser una alternativa a los antibióticos para cepas que presentan resistencia a ellos. Estos sistemas se encuentran también presentes en microorganismos eucariontes.<sup>48</sup>

Los sistemas de transducción de señales de dos componentes consisten en un sensor de una histidina cinasa y un regulador de respuesta afín al sensor. Una característica en común en estos sistemas es que un dímero de histidina cinasa sufre una autofosforilación dependiente a ATP en un residuo específico de histidina y posteriormente transfiere el grupo fosforilo a un residuo de aspartato en un regulador de respuesta afín, modificando sus propiedades transcripcionales enzimáticas o mecánicas.<sup>78</sup>

Existen sistemas de transducción de señales de dos componentes que son esenciales para el crecimiento celular como el caso de los sistemas *Walk/WalR*, *YhcS/YhcR81*, *HP165/HP166*, *MtrB/MtrA*. En particular el sistema *Walk/WalR*, ha demostrado ser indispensable en varias especies Gram positivas incluyendo *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus pyogenes*.<sup>74</sup>

Entre los sistemas de transducción de señales que tienen un efecto sobre la virulencia, se encuentran los sistemas *Qsec/QseB*, *AgrC/AgrA*, *FsrC/FsrA*, *GacS/GacA*, *PhoQ/PhoP*, *CorS/CorR*.<sup>49</sup>

Cada uno responde a señales específicas como en el caso del sistema *Qsec/QseB*, que responde a señales del autoinductor-3, epinefrina y norepinefrina en *Escherichia coli* enterohemorrágica. Existen homólogos de este sistema en al menos 25 especies bacterianas que son patógenas en humanos y plantas.<sup>79</sup>

El sistema *AgrC/AgrA* se encuentra en *Staphylococcus aureus* y responde a señales de péptidos de tiolactona. En el caso del sistema *PhoQ/PhoP* este se encuentra en *Salmonella* y su sensor detecta la concentración de  $Mg^{2+}$  extracelular y se estima que modifica la expresión de un 3% de los genes vía su regulador de respuesta. Se considera que este sistema regula las habilidades del microorganismo para invadir células epiteliales y para ser resistentes a péptidos antimicrobianos.<sup>49</sup>

Las bacterias perciben su entorno por medio de señales y vías de regulación de la transcripción que incluyen sensores y sistemas de transducción de señales

de dos componentes. Ese es el caso de las biopelículas inducidas por aminoglicósidos en *Pseudomonas aeruginosa*, mediante la presencia del sensor transmembranal *Arr* cuyo dominio citoplásmico regula los niveles del segundo mensajero diguanilato cíclico, que es utilizado como señal de transducción.<sup>45</sup>

Es importante conocer el mecanismo de estos sistemas de transducción de señales de dos componentes, ya que al estar involucrados con la virulencia de las cepas, se podría pensar en alternativas terapéuticas que inhiban la activación de estos sistemas y generar nuevas posibilidades de fármacos contra cepas multirresistentes.

En el caso del efecto de los inhibidores traduccionales en la expresión de genes, este se debe a la unión de los antibióticos con el ribosoma. Debido a que diferentes antibióticos se unen a diferentes sitios del ribosoma, esto puede ser una causa de la especificidad de la respuesta bacteriana a los antibióticos. Por ejemplo, se ha demostrado que los macrólidos inhiben la respuesta de quorum sensing de *Pseudomonas aeruginosa* debido a la interacción del antibiótico con el ribosoma y no por interferencia con la red de señales de quorum sensing.

Se ha estudiado la producción de pirocianina por *Pseudomonas aeruginosa*, dado que si esta es una señal fisiológica que regula la expresión de genes, se esperaría que los genes a los cuales esta molécula activa se expresaran en la presencia de fenazinas, las cuales se secretan en fase estacionaria. Para ello se realizó un estudio en el cual se eliminaron los operones *phz* en la cepa PA14 y de este modo se previno la producción de fenazinas, comparando posteriormente

esta cepa con la cepa silvestre en la fase estacionaria. Se observó que los genes *mexG*, *mexH* y *PA2275* fueron regulados a la alta en la fase estacionaria y sus niveles relativos de expresión correspondieron a la respuesta de las cepas con piocianina adicionada de manera exógena. En contraste, en la ausencia de piocianina, no se observó el aumento de la expresión de los genes *mexG*, *mexH* y *PA2275*. Estos estudios también se realizaron con cepas sin el gen *PhzM*, el cual codifica para la enzima necesaria para la biosíntesis de piocianina, por lo que de este modo se concluyó que las fenazinas son necesarias para la inducción fisiológica de genes en *Pseudomonas aeruginosa* y el mecanismo de quorum sensing.<sup>40</sup>

XI. El futuro: moléculas utilizadas en la comunicación celular procarionte con posible actividad antibiótica.

Los microorganismos son los organismos que pueden cambiar con mayor facilidad y los más adaptables en la Tierra. Las bacterias se han encontrado en lugares donde los animales y las plantas no pueden sobrevivir y llevan a cabo muchas funciones para responder a los cambios en el medio ambiente.<sup>49</sup>

Actualmente existen muchos problemas relacionados a multiresistencia de antibióticos, como puede ser el caso de las infecciones adquiridas en hospitales. Esto puede deberse a que una de las fallas de los antibióticos actuales es que su eficiencia para matar microorganismos conduce a una rápida evolución de la resistencia a antibióticos.<sup>12</sup> Por ello, el problema de resistencia a antibióticos ha sido afrontado con el desarrollo de nuevos compuestos que tienen una potencia incrementada.<sup>35</sup>

Dado lo anterior, resulta de gran importancia entender los mecanismos por los cuales las bacterias pueden ser dañadas y generar nuevas terapias alternativas.<sup>13</sup>

También se ha prestado poca atención al contexto ecológico del por qué las bacterias producen moléculas de señalización y responden a estas señales, pero es claro que las moléculas que producen los microorganismos y a las cuales también responden para adaptarse a su medio, van en aumento.<sup>4</sup>

Dado el gran número de metabolitos extracelulares, la diversidad química entre las moléculas de señalización relacionadas a quorum sensing conocidas en la actualidad seguramente representa una mínima parte de las que podrían existir.

La mayoría de las moléculas orgánicas de bajo peso molecular creadas y secretadas por microorganismos, pueden funcionar como moléculas de señalización celular que modulan la actividad metabólica de las comunidades microbianas naturales.<sup>14</sup>

El rol natural de las moléculas pequeñas en el campo de la biología no ha sido explorado suficientemente, por lo que es un campo que puede servir como una amplia gama de investigación. Esto debido a que estas moléculas son una gran familia de efectores biológicos que influyen en las respuestas celulares bajo cualquier condición y tienen interacciones específicas con muchos tipos de receptores macromoleculares.<sup>3</sup>

Indudablemente, las moléculas derivadas de bacterias pueden ser una parte muy importante para una ecología dinámica y deben tener roles específicos como las señales de quorum sensing.<sup>4</sup>

En las últimas décadas se ha tratado de manipular el quorum sensing para poder crear fármacos antibacterianos, desafortunadamente, no se ha tenido mucho éxito. Por ello, uno de los mayores retos para la microbiología implica prestar atención a comportamientos como el quorum sensing y las moléculas implicadas en éste, para encontrar nuevas alternativas de fármacos que puedan dañar las células bacterianas patógenas.<sup>9</sup>

Uno de los problemas para llevar a cabo esto, puede deberse a la falta de conocimiento sobre las interacciones entre las señales bacterianas y las señales de los hospederos. Sin embargo dado que se ha observado que las bacterias responden a señales químicas que los hospederos utilizan para su propia comunicación interna y que también los hospederos infectados pueden interceptar señales que las bacterias mandan entre ellas, se cree que por medio de la búsqueda de nuevas pequeñas moléculas podrían encontrarse nuevos antibacterianos.<sup>12</sup>

Muchos de los promotores bacterianos identificados en diversos estudios, regulan genes con función desconocida y es posible que un gran número de estos se encuentre asociado con procesos que podrían ser importantes bajo condiciones de laboratorio y clínicas.<sup>4</sup>

Los pigmentos excretados por muchas bacterias se han considerado como metabolitos secundarios o productos de desecho, sin embargo muchos de estos compuestos redox presentan actividad antibiótica hacia células competitivas.<sup>21</sup>

Algunos de estos metabolitos son moléculas como las fenazinas que pueden servir como moléculas de señalización, alterando patrones de expresión de genes en bacterias. Sin embargo, los genes específicos pueden variar en diferentes especies, por lo que se puede tener una amplia área de investigación con los diferentes tipos de fenazinas, observando la manera en que afectan la expresión de genes conservados y cómo afectan el comportamiento bacteriano.<sup>22</sup>

Se ha demostrado que las bacterias pueden percibir la presencia de diferentes cepas y que cambios en la relación general tendrán un efecto en el crecimiento y sobrevivencia de la población bacteriana.<sup>4</sup>

También existen moléculas como las bacteriocinas, las cuales han mostrado un gran acercamiento para poder funcionar como agentes antimicrobianos ya que no son tóxicas para los mamíferos.<sup>33</sup> Estas moléculas, debido a sus propiedades, podrían ser una buena opción para generar en el futuro nuevas aplicaciones médicas y biotecnológicas para ser utilizadas en tratamientos para infecciones o conservadores de alimentos.<sup>55</sup>

Han existido intentos para encontrar moléculas inhibidoras de quorum sensing, ya que este puede ser importante para llegar a establecer infecciones, sin embargo la terapia con estas moléculas únicamente podría utilizarse antes de que la infección haya comenzado. Estas moléculas no matan a las bacterias, sólo disminuyen su virulencia y aumentan la probabilidad de que al recibir una terapia adicional con antibióticos estos, con ayuda del sistema inmune, puedan eliminar la infección con mayor facilidad.<sup>12</sup>

Otra alternativa, podrían ser las moléculas inhibidoras de los sistemas de transducción de señales de dos componentes, ya que estos sistemas regulan funciones importantes como el metabolismo de la pared celular, crecimiento bacteriano, virulencia y quorum sensing, entre otros. Por ello, podrían ser utilizados como nuevos fármacos contra bacterias resistentes.<sup>50</sup>

Por lo tanto, nuevos fármacos que interfieran con la virulencia microbiana y la formación de biopelículas podrían significar una alternativa terapéutica muy prometedora contra microorganismos patógenos resistentes a antibióticos.<sup>54</sup>

La naturaleza de las interacciones químicas es importante para tener en cuenta cuándo estudiar el por qué y cómo las bacterias reaccionan a sustancias químicas producidas por otras bacterias o sus hospederos.<sup>4</sup>

## Conclusiones

Debido a que el fenómeno de quorum sensing día a día genera grandes expectativas, es importante conocer más a fondo las moléculas que participan en él, sus propiedades y los mecanismos de acción por los cuales se encuentran implicadas en la comunicación celular, y por este medio se podrían generar nuevas alternativas de fármacos para las cepas que presentan resistencia a antibióticos.

Dado lo anterior, es de gran trascendencia estudiar el papel ecológico de los antibióticos y conocer las acciones que estos pueden ejercer sobre los microorganismos, como es el caso de la modulación en la expresión de diversos genes y las funciones que estos pueden alterar en las diferentes cepas bacterianas.

El efecto de los antibióticos en la expresión de genes en bacterias puede ser generalizada, pero es dependiente de la combinación bacteria-antibiótico y la dosis de antibiótico. Ya estudios previos habían demostrado que agentes antimicrobianos pueden afectar específicamente la expresión de genes de virulencia en bacterias.<sup>75</sup>

Por ello es importante conocer la manera en la que los antibióticos y otras moléculas de señalización pueden regular la expresión génica, ya que de este modo se pueden conocer los cambios en la expresión de genes, ya sea que se activen o desactiven y así poder obtener las propiedades deseadas en las cepas para que estos puedan ser utilizados como nuevas alternativas terapéuticas.

Es importante generar un vínculo entre la microbiología y el campo de evolución ecológica para poder generar un progreso en el entendimiento de quorum sensing y desarrollar bacterias como organismos modelo en la evolución ecológica.<sup>4</sup>

## Bibliografía

1. Fischbach, M. A., Walsh, C. T. (2009) Antibiotics for emerging pathogens. *Science*. 325, 1089-1093.
2. Mlot, C. (2009) Antibiotics in nature: Beyond Biological Warfare. *Science*. 324, 1637-1639.
3. Yim, G., Wang, H. H., Davies, J. (2007) Antibiotics as signaling molecules. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 362 (1483),1195-2000.
4. Keller, L., Surette, M. G. (2006) Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. *Nature Reviews Microbiology*. 4, 249-258.
5. Goh, E., Yim, G., Tsui, W., McClure, J., Surette, M., Davies, J. (2002) Transcriptional modulation of bacterial gene expression by subinhibitory concentrations of antibiotics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America*. 99 (26), 17025-17030.
6. Brunton, L., Parker, K., Lazo, J. S. (2006) *Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw-Hill. 1095-1173.
7. Prescott L., Harley J., Klein D. *Microbiology*. 6<sup>th</sup> edition, McGraw-Hill, NY. 780-785.
8. Tortora, Funke, Case. (2007) *Microbiology, an Introduction*. Pearson. 582,587.
9. Diggle, S. P., Crusz, S. A., Cámara, M. (2007) Quorum Sensing. *Current Biology*. 17 (21), 907-910.

10. Müller, J., Kuttler, C., Hense, B. A. (2008) Sensitivity of the quorum sensing system is achieved by low pass filtering. *BioSystems*. 92, 76-81.
11. Albesa, I., Becerra, M. C., Battán, P. C., Páez, P. L. (2004) Oxidative Stress involved in the antibacterial action of different antibiotics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 317, 605-609.
12. Mullard, A. (2009) Tinker bacteria, eukaryote, spy. *Nature*. 459, 159-161.
13. Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., Collins, J. J. (2010) How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*. 8, 423-435.
14. Williams, P., Winzer, K., Chan, W. C., Cámara, M. (2007) Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 362, 1119-1134.
15. Fajardo, A., Martínez, J. (2008) Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. *Current Opinion in Microbiology*. 11, 161-167.
16. Ding, C., He, J. (2010) Effect of antibiotics in the environment on microbial population. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 87 (3), 925-941.
17. Giuliadori, A. M., Gualerzi, C.O., Soto, S., Vila, J., Tavío, M. M. (2007) Review on bacterial stress topics. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1113, 95-104.
18. Ferenci, T., Spira, B. (2007) Variation in Stress Responses within a Bacterial Species and the Indirect Cost of Stress Resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1113, 105-113.

19. Mongkolsuk, S., Helmann, J. D. (2002) Regulation of inducible peroxide stress responses. *Molecular Microbiology*. 45 (1), 9-15.
20. Davies, J., Spiegelman, G. B., Yim, G. (2006) The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Current Opinion in Microbiology*. 9, 445-453.
21. Dietrich, L. E. P., Teal, T. K., Price-Whelan, A., Newman, D. K. (2008) Redox-Active Antibiotics Control Gene Expression and Community Behavior in Divergent Bacteria. *Science*. 321, 1203-1206.
22. Pierson III, L. S., Pierson, E. A. (2010) Metabolism and function of phenazines in bacteria: impacts on the behavior of bacteria in the environment and biotechnological processes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 86, 1659-1670.
23. Bagge, N., Schuster, M., Hentzer, M., Ciofu, O., Givskov, M., Greenberg, E. P., Hoiby, N. (2004) *Pseudomonas aeruginosa* biofilms exposed to imipenem exhibit changes in global gene expression and beta-lactamase and alginate production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 48,1175-1187.
24. Herold, S., Siebert, J., Huber, A., Schmidt, H. (2005) Global expression of prophage genes in *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL933 in response to norfloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49, 931-944.
25. Mesak, L. R., Miao, V., Davies, J. (2008) Effects of Subinhibitory Concentrations of Antibiotics on SOS and DNA Repair Gene Expression in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52 (9), 3394-3397.

26. Choudhary, S., Schmidt-Dannert, C. (2010) Applications of quorum sensing in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 86, 1267-1279.
27. Linares, J. F., Gustafsson, I., Baquero, F., Martínez, J. F. (2006) Antibiotics as intermicrobial signaling agents instead of weapons. *Proceedings of the National Academy of Science of The United States of America*. 103 (51), 19484-19489.
28. Clardy, J., Fischbach, M., Currie, C. (2009) The Natural history of antibiotics. *Current Biology*. 19 (11), 437-441.
29. Skindersoe, M. E., Alhede, M., Phipps, R., Yang, L., Jensen, P. O., Rasmussen, T. B., Bjarnsholt, T., Tolker-Nielsen, T., Hoiby, N., Givskov, M. (2008) Effects of Antibiotics on Quorum Sensing In *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52 (10), 3648-3663.
30. Schertzer, J. W., Boulette, M. L., Whiteley, M. (2009) More than a signal: non-signaling properties of quorum sensing molecules. *Trends in Microbiology*. 17, 189-195.
31. Shank, E. A., Kolter, R. (2009) New Developments in microbial interspecies signaling. *Current Opinion in Microbiology*. 12, 205-214.
32. Drider, D., Fimland, G., Héchard, Y., McMullen, L. M., Prévost, H. (2006) The Continuing Story of Class IIa Bacteriocins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 70 (2), 564-582.
33. Sit, C. S., Verderas, J. C. (2008) Approaches to the discovery of new antibacterial agents based on bacteriocins. *Biochemistry and cell Biology*. 86, 116-123.

34. Waters, C. M., Bassler, B. L. (2005) Quorum sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 21 (3), 319-346.
35. Han, X., Dorsey-Oresto, A., Malik, M., Wang, J., Drlica, K., Zhao, X., Lu, T. (2010) *Escherichia coli* genes that reduce the lethal effects of stress. *BCM Microbiology*. 10 (35).
36. Koch, B., Liljefors, T., Persson, T., Nielsen, J., Kjelleberg, S., Givskov, M. (2005) The LuxR receptor: the sites of interaction with quorum-sensing signals and inhibitors. *Microbiology*. 151, 3589-3602.
37. Kattan, J. N., Villegas M. V., Quinn, J. P. (2008) New developments in carbapenems. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 14, 1102-1111.
38. Chen, C. R., Malik, M., Snyder, M., Drlica, K. (1996) DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: quinolone-induced DNA cleavage. *Journal of molecular biology*. 258 (4), 627-637.
39. Drlica, K., Malik, M., Kerns, R. J., Zhao, X. (2008) Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 52 (2), 385-392.
40. Dietrich, L. E., Price-Whelan, A., Petersen, A., Whiteley, M., Newman, D. K. (2006) The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*. 61, 1308-1321.

41. Griffin, A. S., West, S. A., Buckling, A. (2004) Cooperation and competition in pathogenic bacteria. *Nature*. 430 (7003), 1024-1027.
42. Storz, G., Zheng, M. (2000) Oxidative stress. In *Bacterial Stress Responses*. American Society of Microbiology Press. 47-59.
43. Fuangthong, M., Herbig, A. F., Bsat, N., Helmann, J. D. (2002) Regulation of the *Bacillus subtilis fur* and *perR* genes by PerR: not all members of the PerR regulon are peroxide-inducible. *Journal of Bacteriology*. 184, 3276-3286.
44. Ziegelhoffer, E. C., Donohue, T. J. (2009) Bacterial responses to photo-oxidative stress. *Nature Reviews Microbiology*. 7 (12), 856-863.
45. Hoffman, L. R., D'Argenio, D. A., MacCoss, M. J., Zhang, Z., Jones, R. A., Miller, S. I. (2005) Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature*. 436, 1171-1175.
46. Kallipolitis, B. H., Ingmer, H., Gahan, C. G., Hill, C., Sogaard-Andersen, L. (2003) CesRK, a two-component signal transduction system in *Lysteria monocytogenes*, responds to the presence of cell wall acting antibiotics and affects beta-lactam resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47, 3421-3429.
47. Halliwell, B. (2006) Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*. 141 (2), 312-322.
48. Cegelski, L., Marshall, G. R., Eldridge, G. R., Hultgren, S. J. (2008) The biology and future prospects of antivirulence therapies. *Nature Reviews Microbiology*. 6, 17-27.

49. Gotoh, Y., Eguchi, Y., Watanabe, T., Okamoto, S., Doi, A., Utsumi, R. (2010) Two-component signal transduction as potential drug targets in pathogenic bacteria. *Current Opinion in Microbiology*. 13, 232-239.
50. Mitrophanov, A. Y., Groisman, E. A. (2008) Signal integration in bacterial two-component regulatory system. *Genes Development Journal*. 22, 2601-2611.
51. Presterl, E., Hajdu, S., Lassnigg, A. M., Hirschl, A. M., Holinka, J., Graninger, W. (2009) Effects of azithromycin in combination with vancomycin, daptomycin, fosfomycin, tigecyclin, and ceftriaxone on *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 53 (8), 3205-3210.
52. Hoffmann, N., Lee, B., Hentzer, M., Rasmussen, T. B., Song, Z., Johansen, H. K., Givskov, M., Hoiby, N. (2007) Azithromycin blocks quorum sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa* and attenuates chronic *P. aeruginosa* lung infection in *Cftr*<sup>-/-</sup> mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51 (10), 3677-3687.
53. Straight, P. D., Kolter, R. (2009) Interspecies chemical communication in bacterial development. *Annual Review of Microbiology*. 63, 99-118.
54. Asad, S., Opal, S. M. (2008) Bench-to-bedside review: Quorum sensing and the role of cell-to-cell communication during invasive bacterial infection. *Critical care*. 12 (6), 236-246.

55. Nissen-Meyer, J., Oppegard, C., Rogne, P., Haugen, H. S., Kristiansen, P. E. (2010) Structure and mode of action of the Two-Peptide (Class IIb) Bacteriocins. *Probiotics and antimicrobial proteins*. 2, 52-60.
56. Reading, N. C., Sperandio, V. (2005) Quorum Sensing: the many languages of bacteria. *FEMS Microbiology Letters*. 254 (2006), 1-11.
57. Taden, A., Spirig, T., Hilbi, H. (2010) Bacterial gene regulation by  $\alpha$ -Hydroxyketone signaling. *Trends in Microbiology*. 18 (7), 288-297.
58. Spirig, T., Taden, A., Kiefer, P., Buchrieser, C., Vorholt, J. A., Hilbi, H. (2008) The *Legionella* Autoinducer Synthase LqsA produces an  $\alpha$ -Hydroxyketone signaling molecule. *The Journal of Biological Chemistry*. 283 (26), 18113-18123.
59. Kahne, D., Leimkuhler, C., Lu, W., Walsh, C. (2005) Glycopeptide and lipoglycopeptide antibiotics. *Chemical reviews*. 105 (2), 425-448.
60. Chopra, I., Roberts, M. (2001) Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 65 (2), 232-260.
61. Mukhtar, T. A., Wright, G. D. (2005) Streptogramins, oxazolidinones, and other inhibitors of bacterial protein synthesis. *Chemical Reviews*. 105 (2), 529-542.
62. Katz, L., Ashley, G. W. (2005) Translation and protein synthesis: macrolides. *Chemical Reviews*. 105 (2), 499- 528.

63. Campbell, E. A., Korzheva, N., Mustaev, A., Murakami, K., Nair, S., Goldfarb, A., Darst, S. A. (2001) Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. *Cell*. 104 (6), 901-912.
64. Becerra, M. C., Albesa, I. (2002) Oxidative stress induced by ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 297 (4), 1003-1007.
65. Okada, M., Sato, I., Cho, S. J., Iwata, H., Nishio, T., Dubnau, D., Sakagami, Y. (2005) Structure of the *Bacillus subtilis* quorum-sensing peptide pheromone ComX. *Nature Chemical Biology*. 1, 23-24.
66. Zhang, L., Lin, J., Ji, G. (2004) Membrane anchoring of the AgrD-terminal amphipatic region is required for its processing to produce a quorum sensing pheromone in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biological Chemistry*. 279, 19448-19456.
67. Fuqua, C., Parsek, M. R., Greenberg, E. P. (2001) Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing. *Annual Review of Genetics*. 35, 439-468.
68. Clarke, M. B., Hughes, D. T., Zhu, C., Boedeker, E. C., Sperandio, V. (2006) The QseC sensor kinase: A bacterial adrenergic receptor. *Proceedings of the National Academy of Science*. 103 (27), 10421-10425.
69. Gibbs, K. A., Urbanowski, M. L., Greenberg, E. P. (2008) Genetic determinants of self identity and social recognition in bacteria. *Science*. 321 (5886), 256-259.

70. Price-Whelan, A., Dietrich, L. E. P., Newman, D. K. (2006) Rethinking “secondary” metabolism: physiological roles for phenazines antibiotics. *Nature Chemical Biology*. 2 (2), 71-78.
71. McGannon, C. M., Fuller, C. A., Weiss, A. A. (2010) Different Classes of Antibiotics Differentially Influence Shiga Toxin Production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 54 (9), 3790-3798.
72. Gillespie, S. H., Basu, S., Dickens, A. L., O’Sullivan, D.M., McHugh, T.D. (2005) Effect of subinhibitory concentrations of ciprofloxacin on *Mycobacterium fortuitum* mutation rates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 56, 344-348.
73. Gallagher, L. A., Mcknight, S. L., Kuznetsova, M. S., Pesci, E. C., Manoil, C. (2002) Functions required for extracellular quinolone signaling by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*. 184, 6472-6480.
74. Dubrac, S., Bisicchia, P., Devine, K. M., Msadek, T. (2008) A matter of life and death: cell wall homeostasis and the WalkR (YycGF) essential signal transduction pathway. *Molecular Microbiology*. 70, 1307-1322.
75. Yim, G., de la Cruz, F., Spiegelman, G. B., Davies, J. (2006) Transcription modulation of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* promoters by sub-MIC levels of rifampin. *Journal of Bacteriology*. 188, 7988-7991.
76. Weir, E. K., Martin, L. C., Poppe, C., Coombes, B. K., Boerlin, P. (2008) Subinhibitory concentrations of tetracycline affect virulence gene expression in a multi-resistant *Salmonella* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* DT104. *Microbes and Infection*. 10 (8), 901-907.

77. Apel, D., Surette, M. G. (2008) Bringing order to a complex molecular machine: the assembly of the bacterial flagella. *Biochimica et biophysica acta*. 1778 (9), 1851-1858.
78. Khorchid, A., Ikura, M. (2006) Bacterial histidine kinase as signal sensor and transducer. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 38, 307-312.
79. Njoroge, J., Sperandio, V. (2009) Jamming bacterial communication: new approaches for the treatment of infectious diseases. *EMBO Molecular Medicine*. 1 (4), 201-210.
80. Adhikari, R. P., Novick, R. P. (2005) Subinhibitory cerulenin inhibits staphylococcal exoprotein production by blocking transcription rather than by blocking secretion. *Microbiology*. 151, 3059-3069.
81. Davey, M. E., O'Toole, G. A. (2000) Microbial Biofilms: from ecology to Molecular Genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64 (4), 847-867.