

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN
SCIENZE BIOLOGICHE



MECCANISMO D'AZIONE DEI CHINOLONI E MECCANISMI DI RESISTENZA NEI BATTERI GRAM-POSITIVI E GRAM-NEGATIVI

Laureando
Michele Machi

Relatore
Prof.ssa Carla Vignaroli

*Gli antibiotici chinolonici rappresentano una delle classi più importanti di agenti anti-infettivi e il loro utilizzo, sebbene ancora clinicamente valido, è stato compromesso dalla crescente comparsa di ceppi resistenti, divenendo un problema clinico molto diffuso. I **chinoloni** agiscono inibendo l'attività della **DNA girasi** e della **topoisomerasi IV**, due essenziali enzimi batterici che modulano il superavvolgimento cromosomico richiesto per i processi critici degli acidi nucleici. L'acquisizione della resistenza ai chinoloni è riconosciuta come multifattoriale e complessa.*

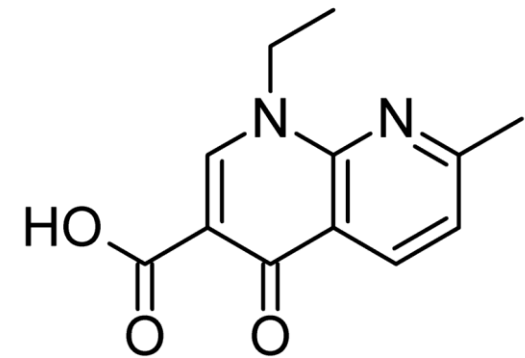
Il principale meccanismo di resistenza consiste in una, o in una combinazione, di mutazioni geniche del sito bersaglio che alterano l'affinità di legame degli enzimi bersaglio. Tuttavia, è noto che altri meccanismi contribuiscono in modo additivo alla resistenza ai chinoloni. Tra questi vi sono le mutazioni che portano ad una riduzione delle concentrazioni intracellulari di farmaco, mediante una diminuzione dell'assorbimento o un aumento dell'efflusso di antibiotico. Anche geni di resistenza plasmidici che codificano: i) proteine di protezione bersaglio, ii) enzimi in grado di modificare il farmaco o iii) pompe di efflusso a molteplicità di substrato possono rappresentare ulteriori meccanismi di resistenza ai chinoloni.

La comprensione di questi diversi meccanismi di resistenza è migliorata notevolmente negli ultimi anni; tuttavia, molti dettagli restano ancora da chiarire e il contributo di meccanismi meno studiati deve ancora essere chiarito maggiormente per comprendere appieno questo fenotipo.

I CHINOLONI

I chinoloni sono una classe di agenti antibatterici di grande rilevanza clinica il cui composto capostipite è l'acido nalidixico.

- **Tipo d'azione:** battericida
- **Spettro d'azione:**
 - I. **Prima generazione (es. *acido nalidixico*):** ristretto
Attivi contro i **gram-negativi** poco resistenti, ad eccezione dello *P. Aeruginosa*; utilizzati per trattare le infezioni del tratto urinario non complicate (UTI)
 - II. **Seconda generazione (es. *acido pipemidico*):** medio
Attivi contro i **gram-negativi**, compreso *P. Aeruginosa*; utilizzati per trattare UTI e in alcuni casi le infezioni sistemiche.
 - III. **Terza generazione (es. *ciprofloxacina*, *norfloxacina*):** ampio
Attivi contro i **gram-negativi** e **gram-positivi**, utilizzati per le infezioni del tratto urinario ma principalmente contro le infezioni sistemiche; ad esempio per le infezioni, della pelle e dei tessuti molli, delle ossa e delle articolazioni, infezioni intra-addominali, malattie a trasmissione sessuale



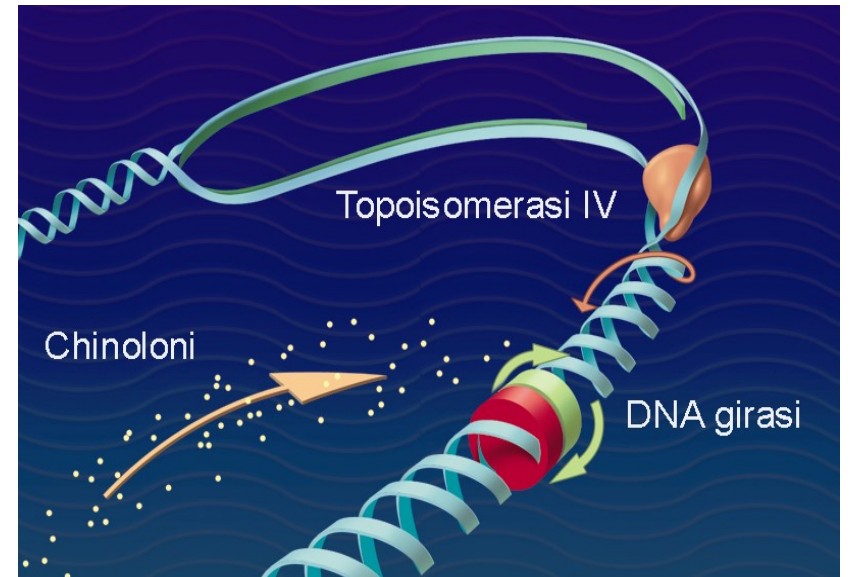
Struttura dell'acido nalidixico
(fonte: <https://it.wikipedia.org/wiki/Chinoloni>)

MECCANISMO D'AZIONE DEI CHINOLONI

Inibizione dell'attività della DNA girasi (principalmente Gram-negativi) e dalla topoisomerasi IV (principalmente Gram-positivi), coinvolte nella modulazione del superavvolgimento cromosomico necessario per la sintesi del DNA, la trascrizione e la divisione cellulare.

- Formazione del complesso ternario chinolone-topoisomerasi-DNA che provoca l'arresto del meccanismo di replicazione del DNA in corrispondenza della forcella replicativa, quindi l'arresto della crescita e la morte cellulare

La collisione della forcella di replicazione con i complessi ternari, provoca rotture cromosomiche permanenti innescando la risposta allo stress del DNA batterico, determinando l'attivazione della proteina RecA. Ciò promuove l'auto-scissione del repressore LexA dereprimando l'espressione dei geni SOS.



(tratta da <https://slideplayer.it/slide/979243/>)

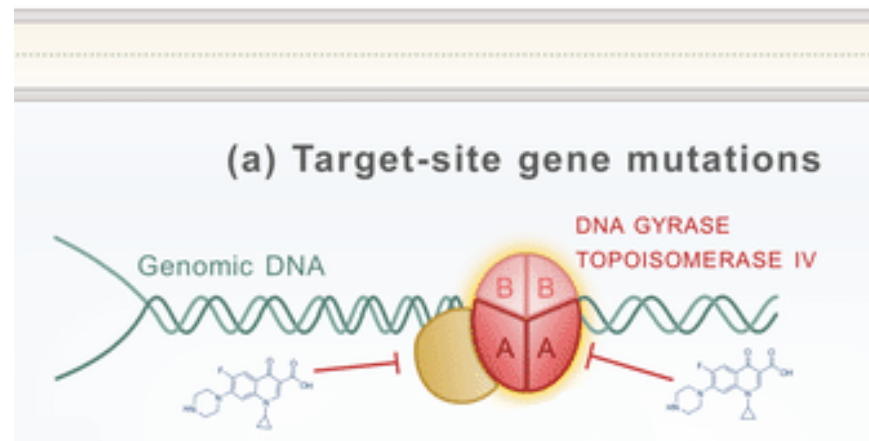
MECCANISMI DI RESISTENZA AI CHINOLONI

La resistenza ai chinoloni può essere associata a tre tipi di meccanismi:

A. MUTAZIONI GENICHE DEL SITO BERSAGLIO NELLE TOPOISOMERASI DI TIPO II

Mutazioni di almeno uno dei due geni che codificano le topoisomerasi di tipo II (*gyrA* e *gyrB*, *parC* e *parE*), localizzate all'interno delle QRDR (*Quinolone Resistance Determining Regions*).

Provocano la sostituzione di amminoacidi modificando l'affinità di legame tra farmaco e proteina bersaglio.



MECCANISMI DI RESISTENZA AI CHINOLONI

Alcune mutazioni rilevate nei geni DNA girasi e topoisomerasi IV in E. coli

gyrA	Codone	Amminoacido originario	Mutazione
	78	Gly	Cys
	83	Ser	Ala/Ile/Leu/Trp/Tyr

gyrB	Codone	Amminoacido originario	Mutazione
	426	Asp	Asn
	447	Lys	Glu

parC	Codone	Amminoacido originario	Mutazione
	78	Gly	Asp
	107	Cys	Trp

parE	Codone	Amminoacido originario	Mutazione
	444	Ile	Phe
	529	Ile	Leu

MECCANISMI DI RESISTENZA AI CHINOLONI

B. RIDOTTO ACCUMULO DEL FARMACO

La riduzione della concentrazione del farmaco intracellulare può verificarsi per:

- **Diminuzione uptake** dovuto a:

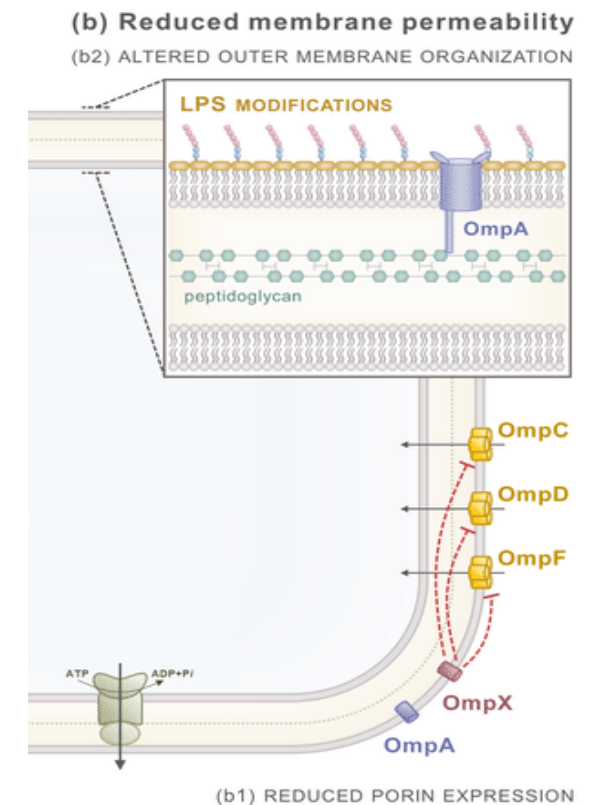
Ridotta permeabilità della membrana esterna (diminuzione dell'espressione di porine)

Modificazioni nell'organizzazione della membrana esterna, principalmente nel LPS

- **Mutazioni che portano ad una iper-espressione delle pompe di efflusso**

Tra le pompe di efflusso, nei batteri Gram-positivi, troviamo ad esempio *NorA*, *NorB* e *NorC* (in *Staphylococcus aureus*); *SatAB* (in *Streptococcus suis*).

Nei batteri Gram-negativi, invece, *AcrAB-TolC* (in *E. coli*); *MexAB-OprM* (in *P. aeruginosa*)



MECCANISMI DI RESISTENZA AI CHINOLONI

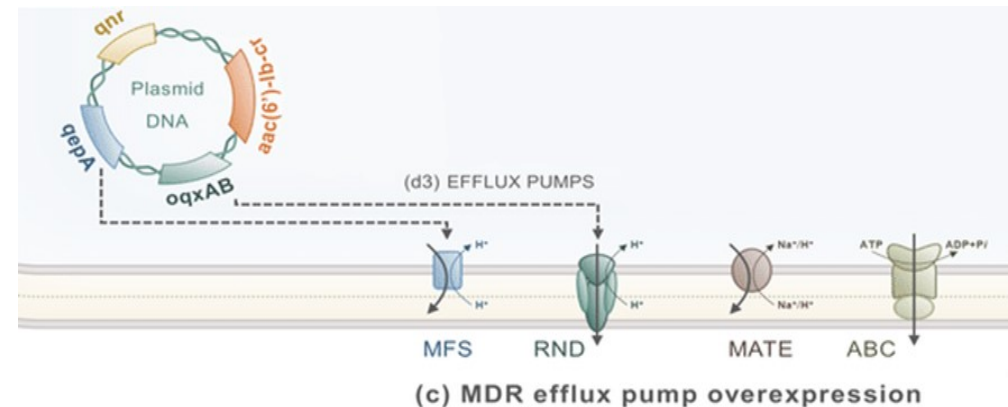
C. PMQR: RESISTENZA AI CHINOLONI MEDIATA DA PLASMIDI

- Resistenza acquisita dovuta alla presenza di *Qnr* (proteine di resistenza ai chinoloni), codificate da geni trasmissibili attraverso plasmidi.
Le *Qnr* proteggono fisicamente la DNA girasi e la topoisomerasi IV dall'azione dei chinoloni.

Nuovi meccanismi di resistenza:

Inattivazione per acetilazione
a causa di una modifica dell'enzima *AAC(6')-Ib-cr* (2006)

Pompe di efflusso *QepA* e *OqxAB*
che estrudono attivamente i chinoloni



WHERE DO WE STAND?

A conclusione di quanto esaminato precedentemente, è possibile dedurre che la resistenza ai chinoloni sia un fenomeno estremamente complesso nel quale interviene ed agisce un coacervo di fattori. Nella conoscenza dei chinoloni sono stati di certo realizzati numerosi progressi e passi in avanti; se precedentemente le mutazioni nei geni che codificano gli enzimi target di tipo II sembravano essere l'unico meccanismo con il quale la resistenza potesse essere acquisita, nuove conoscenze hanno invece evidenziato anche l'esistenza di un'ulteriore resistenza acquisita ai chinoloni mediata da plasmidi. Ciò, testimonia dunque che lo studio sui chinoloni ed i loro meccanismi sia uno studio ancora in divenire che necessita di ulteriori osservazioni ed approfondimenti per scoprire aspetti che restano ancora oggi a noi sconosciuti.



Tratta da: <https://ilbolive.unipd.it/it/news/scienza-non-certezza-ricerca>

RIFERIMENTI

S. Correia, P. Poeta, M. Hébraud, J. L. Capelo, G. Igrejas, Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand?, in "Journal of Medical Microbiology" 2017, 66:551-559

A. Fàbrega, S. Madurga, E. Giralt, J. Vila, Mechanisms of action and resistance to quinolones. Microb Biotechnol 2009; 2: 40-61

LS. Redgrave, SB Sutton, MA. Webber, LJ Piddock. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. Trends Microbiol 2014;22:438-445

<https://it.wikipedia.org/wiki/Chinoloni>

<https://slideplayer.it/slide/979243/>

<https://ilbolive.unipd.it/it/news/scienza-non-certezza-ricerca>

<https://www.microbiologiaitalia.it/batteriologia/antibiotici-chinolonici-che-cosa-sono-e-perche-ema-ed-aifa-ne-hanno-ristretto-lutilizzo/>