

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Autor(es): HADISON SANTOS NOGUEIRA, GABRIEL ATAIDE MONÇÃO, ADRIANA AMARAL CARVALHO, MAURO APARECIDO DE SOUSA XAVIER, ALESSANDRA REJANE ERICSSON DE OLIVEIRA XAVIER

Polimixinas: a última linha de defesa sob ameaça

Resumo: A resistência a múltiplos fármacos em patógenos é uma ameaça cada vez mais significativa para saúde humana e, conseqüentemente, limita as escolhas para a terapia clínica antimicrobiana. Em muitos desses casos, as polimixinas são a última opção disponível, embora seu uso aumente o risco de desenvolver cepas resistentes. Esta revisão tem como objetivo principal discutir os avanços no desvendamento dos mecanismos de atividade antibacteriana de polimixinas e tolerância bacteriana. Para tal, fontes primárias e secundárias de dados nacionais e internacionais foram consultadas. Espera-se que esta revisão contribua como referência atualizada, enfatizando a necessidade urgente de uma ação global coordenada a fim de otimizar o uso clínico de polimixinas e com desenvolvimento mínimo de resistência.

Palavras-chave: Polimixina, resistência, colistina

Introdução

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é considerada uma das ameaças globais mais graves a saúde humana no século XXI. Atualmente, com a crescente disseminação de micro-organismo multidrogas-resistentes, as opções terapêuticas estão cada vez mais restritas, caracterizando uma crise global e uma catástrofe iminente de um retorno à era pré-antibiótico. Esta crise foi catalisada pelo rápido aumento das enzimas expressas pelas *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemases, tais como KPC-2 (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-2) e NDM-1 (New Delhi metallo- β -lactamase-1) (Liu *et al*, 2016; Baron *et al*, 2016).

As polimixinas foram introduzidas na década de 1950 para o tratamento de infecções causadas por organismos gram-negativos, mas caiu em desuso na década 1970 por causa de altas taxas de nefrotoxicidade e neurotoxicidade e o advento de alternativas menos tóxicas. Contudo, a partir da década de 1990 as polimixinas foram reintroduzidas na prática clínica, não por causa de um perfil de segurança clínica reforçada, mas sim como antimicrobianos de último recurso no combate de bactérias resistentes aos carbapenêmicos (Yu *et al*, 2015).

O aumento global das *Enterobacteriaceae* produtoras de carbapenemases resultou em maior uso de polimixinas e, conseqüentemente, um risco inevitável de resistência emergente. Esse delicado equilíbrio entre necessidade clínica e prevenção de resistência é ainda mais comprometido pelo uso agrícola de antibióticos humanos, onde alguns países têm-se utilizado ativamente este fármaco na produção animal (Lui *et al*, 2016). Este trabalho visa principalmente resumir e discutir a compreensão atual dos mecanismos antibacterianos da polimixina e da resistência bacteriana correspondente, contribuindo como referência atualizada e enfatizando a necessidade urgente de uma ação global coordenada na luta contra bactérias Gram-negativas multidrogas-resistentes.

Material e métodos

O presente trabalho de revisão é produto de pesquisa bibliográfica, qualitativa e exploratória dos dados obtidos em livros e bases de dados eletrônicas nacionais e internacionais como Scielo, Science Direct e Pubmed publicados entre 2010 e 2016. Para tal estudo foram utilizados os seguintes descritores em português e em inglês: polymyxin (polimixinas), antibiotic resistance (resistência a antibióticos), polymyxin resistance (resistência a polimixinas). Os critérios de seleção foram aqueles que atenderam aos objetivos da pesquisa no período acima mencionado. Foram excluídos artigos sem disponibilidade integral do conteúdo e artigos duplicados.

Resultados e discussão

A. Estrutura Química

As polimixinas são detergentes de polipeptídios cíclicos, carregados positivamente catiônicos com pesos moleculares superiores ou iguais a 1000 Daltons. A colistina (também conhecida como polimixina E) e a polimixina B são quase idênticas estruturalmente, diferindo apenas por um aminoácido na posição seis (Figura 1). Ambas as polimixinas são produtos de fermentação (a polimixina B produzida pelo *Bacillus polymyxa* e a colistina pelo *Bacillus colistinus*) e, portanto, são misturas multicomponentes. A colistina é composta principalmente por dois polipeptídios, colistina A e colistina B, e a polimixina B é composta principalmente por polimixina B₁ e polimixina B₂ que diferem ligeiramente no ácido graxo N-terminal. As polimixinas são moléculas anfipáticas, constituídas por regiões hidrofílicas e hidrofóbicas e estas propriedades são essenciais para a sua atividade antimicrobiana (Satlin e Jenkins, 2016; Tran *et al*, 2016).



B. Mecanismo de Ação

Os mecanismos exatos pelos quais as polimixinas atuam na morte celular bacteriana ainda não estão completamente elucidados, sendo a lise da membrana o mecanismo mais descrito. O alvo inicial da polimixina são lipopolissacarídeos (LPS) da membrana externa (ME) onde estes fármacos podem se ligar seletivamente. Os LPS são compostos por três domínios: lipídio A mais interno, a região do núcleo oligossacarídeo mais central e a cadeia do antígeno O mais externa. O lipídio A, componente do LPS, serve como uma âncora hidrofóbica auxiliando na inserção da polimixina A na membrana celular bacteriana. A interação eletrostática através dos resíduos de ácido diaminobutírico (Dab), positivamente carregados da polimixina e os grupos de fosfato carregados negativamente na porção lipídica A do LPS conduz ao deslocamento de cátions Ca^{2+} e Mg^{2+} desestabilizando, assim, a ME. Este evento permite que a polimixina insira as suas regiões hidrofóbicas (a cauda do ácido graxo e os aminoácidos das posições seis e sete) na membrana externa bacteriana para interagir com as cadeias de ácidos graxos do lipídio A. Esta interação hidrofóbica provoca uma perturbação adicional da ME, que promove a absorção da polimixina e induz assim a expansão da monocamada da membrana celular. Eventualmente, isto facilita a formação de áreas desestabilizadas pelas quais a polimixina cruzará. Finalmente, a polimixina destruirá a integridade física da bicamada fosfolipídica através do desbaste da membrana levando à lise e morte celular (Kaye *et al*, 2016; Tran *et al*, 2016).

Um mecanismo alternativo, chamado contato folheto-folheto, também tem sido proposto. Após transitar a membrana externa, as polimixinas medeiam a fusão do folheto interno da membrana externa com o folheto externo da membrana citoplasmática, o que induz a troca de fosfolipídios e provoca desequilíbrio osmótico que resulta em morte celular. Recentemente, um novo estudo demonstrou que a polimixina pode induzir a morte celular rápida através do acúmulo de radicais hidroxilas ($\bullet OH$). Esta hipótese é baseada no estresse oxidativo devido à formação de espécies reativas de oxigênio, incluindo superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e $\bullet OH$ induzidas pela polimixina. Tem-se a hipótese de que O_2^- é induzido quando as moléculas de polimixina entram e atravessam a ME e MI. Em seguida, o O_2^- será convertido em H_2O_2 pela enzima superóxido dismutase presente nas células. Subsequente, H_2O_2 oxidará ferro ferroso (Fe^{2+}) ao ferro férrico (Fe^{3+}), junto com a formação de $\bullet OH$, que é chamada a reação de Fenton. Quando a concentração de $\bullet OH$ atinge níveis incontroláveis, resulta em dano oxidativo ao DNA, lipídios e proteínas e eventualmente causará a morte celular (Yu *et al*, 2015).

C. Mecanismo de Resistência

A ME geralmente serve como uma barreira de permeabilidade para proteger bactérias gram-negativas de vários antibióticos e produtos químicos. A célula bacteriana é capaz de reduzir a atração eletrostática inicial através da redução da carga negativa líquida de ME através da modificação do lipídio A, aumentando assim a resistência à polimixina. O mecanismo de resistência à polimixina mais comum é atribuído à blindagem de fosfatos no lipídio A com grupos carregados positivamente, como fosfoetanolamina (pEtN) e L-4-aminoarabinose (L-Ara4N), que é mediada por um sistema de duas proteínas, PhoP-PhoQ, codificado pelo locus *phoP* (Chin *et al*, 2015; Girardello *et al*, 2016).

A perda completa de LPS é outro mecanismo de resistência descrito em *Acinetobacter sp.* Uma mutação que ocorre em um dos três primeiros genes envolvidos na via de biossíntese do lipídio A (*lpxA*, *lpxB* ou *lpxC*) termina a biossíntese de lipídios A e formação de LPS. Uma mutação em *LptD*, uma proteína da ME que permite a translocação final de LPS recém-sintetizado, também levou a uma completa perda de LPS. Os mecanismos de bomba de efluxo têm sido frequentemente sugeridos como tendo um papel na resistência à colistina. Várias bombas de efluxo ou reguladores de bombas de efluxo foram relatados em muitas espécies, tais como proteínas Sap (peptídeos antimicrobianos sensíveis), BrlR, KpnEF ou o complexo AcrAB-TolC. Geralmente, a ativação dessas bombas leva a um aumento da resistência a vários antibióticos ao mesmo tempo, incluindo a colistina (Olaitan *et al*, 2014; Baron *et al*, 2016).

A resistência à colistina sempre esteve ligada a um mecanismo relacionado com os cromossomos, sem possibilidade de transferência horizontal. Contudo, recentemente, o gene MCR-1, mediado por plasmídeos, foi detectado principalmente em cepas de *E. coli* de porcos, carne e humanos na China. O MCR-1 é um membro da família das enzimas transferases da fosfoetanolamina, com expressão em *E. coli*, resultando na adição de pEtN ao lipídio A. Mais intrigante, apenas dentro de alguns meses após a primeira notificação, o gene MCR-1 de resistência plasmidiada já foi detectado em vários países, abrangendo Europa, Ásia, América do Sul, América do Norte e África (Baron *et al*, 2016; Liu *et al*, 2016).

Considerações finais

As bactérias são normalmente capazes de desenvolver diferentes estratégias para detectar, responder e se adaptar a agentes antimicrobianos, incluindo a polimixina. Até agora, a resistência à polimixinas ocorria por meio de mutações cromossômicas e, embora tenham sido relatados surtos clonais, a resistência é frequentemente instável, impõe um custo



de aptidão para a bactéria e é incapaz de se espalhar para outras bactérias. A rápida disseminação de mecanismos de resistência anteriores (por exemplo, NDM-1) indica que, com o advento da resistência à colistina transmissível, a progressão de *Enterobacteriaceae* de resistência extensiva a múltiplos fármacos é inevitável e acabará por se tornar global. Neste contexto, a emergência de receptores transmissíveis, a resistência à colistina na forma de MCR-1 é um achado de significância global, sendo altamente desejáveis novos derivados de polimixina com menos toxicidade e maior atividade bactericida.

Agradecimentos

Ao programa de mestrado em Biotecnologia da Unimontes, ao programa de Iniciação Científica (PIBIC) da Unimontes e a FAPEMIG pelo fomento ao projeto que originou este trabalho de revisão.

Referências bibliográficas

- BARON, S. *et al.* Molecular mechanisms of polymyxin resistance: knowns and unknowns. *International Journal of Antimicrobial Agents*. v. 8579, n. 16, ago. 2016.
- CHIN, C. Y. *et al.* A PmrB-Regulated Deacetylase Required for Lipid A Modification and Polymyxin Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. v. 59, n. 12, p. 7911-4, dec. 2015.
- GIRARDELLO, R. *et al.* Diversity of polymyxin resistance mechanisms among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. v. 8893, n. 16, out. 2016.
- KAYE, K. S. *et al.* Agents of Last Resort: Polymyxin Resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*. v. 30, n. 2, p. 391-414, jun. 2016.
- LIU, Y. Y. *et al.* Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*. v. 16, n. 2, p. 161-8, fev. 2016.
- OLAITAN, A. O.; MORAND, S.; ROLAIN, J. M. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in Microbiology*. v. 5, n. 643, nov. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25505462>>. Acesso em: 01 nov. 2016.
- SATLIN, M. J.; JENKINS, S. G. Polymyxins. In: COHEN, J.; POWDERLY, W. G.; OPAL, S. M. (ORG.). *Infectious Diseases*. Philadelphia: Elsevier, 2016. p. 1285-8.
- TRAN, T. B. *et al.* Pharmacokinetics/pharmacodynamics of colistin and polymyxin B: are we there yet?. *International Journal of Antimicrobial Agents*. out. 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857916302825>>. Acesso em: 01 nov. 2016.
- YU, Z. *et al.* Antibacterial Mechanisms of Polymyxin and Bacterial Resistance. *BioMed Research International*. v. 2015, 2015. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/679109/>>. Acesso em: 31 out. 2016.

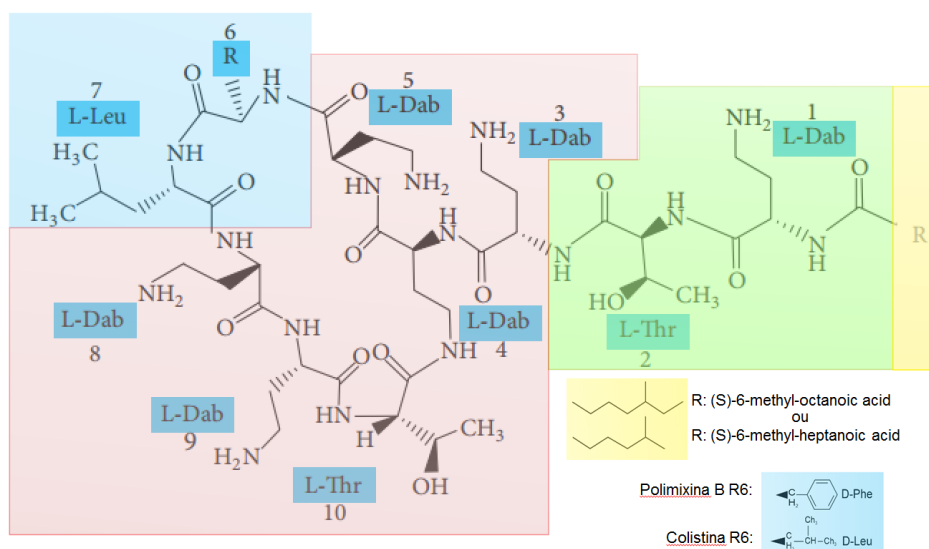


Figura 1. Estruturas químicas da polimixina B e colistina. Os segmentos funcionais das polimixinas são coloridos como se segue: amarelo, cadeia de ácido graxo; verde, segmento tripeptídico linear; vermelho, os resíduos polares do heptapeptídeo; azul, região hidrofóbica dentro do anel heptapeptídico. Thr: treonina; Phe: fenilalanina; Leu: leucina; Dab: ácido diaminobutírico. Adaptado de Kaye *et al.*, 2016 e Yu *et al.*, 2015.