

Gene *tnaA*: bactérias resistentes “altruístas” socorrem vizinhas menos resistentes



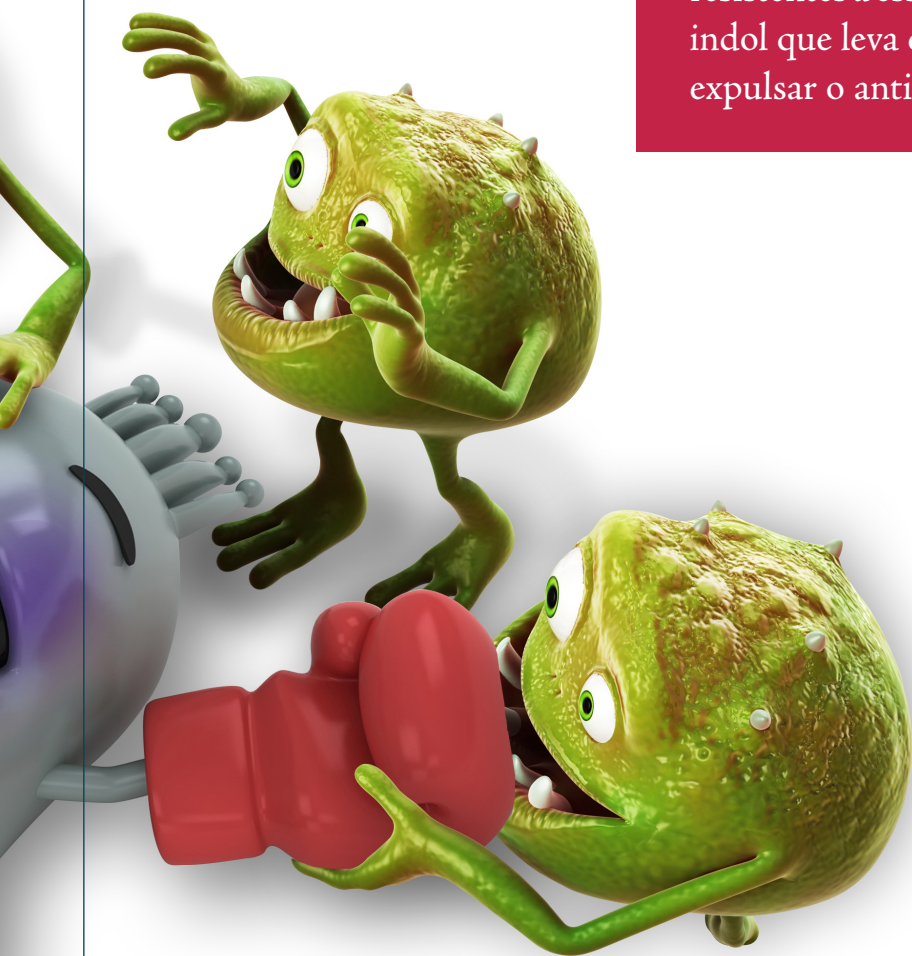
Sergio Olavo Pinto da Costa

Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, USP, São Paulo

Autor para correspondência: sopdcost@usp.br

Palavras-chave: gene *tnaA*, bactérias resistentes altruístas

Bactérias com alto nível de resistência a um dado antibiótico podem, curiosamente, ajudar altruisticamente bactérias vizinhas, menos resistentes a esse antibiótico, graças à produção de indol que leva estas bactérias menos resistentes a expulsar o antibiótico de seu interior.



A SURPREENDENTE ESTÓRIA DAS BACTÉRIAS CARIDOSAS

Recentemente, pesquisadores analisando como uma população bacteriana se comporta quando cultivada na presença de um dado antibiótico se surpreenderam ao verificar que as bactérias mais resistentes ajudavam a sobrevivência das suas vizinhas menos resistentes. Essas bactérias “altruístas” assim agem ao liberar uma substância sinalizadora, o **indol**, que leva as bactérias menos resistentes expulsar o antibiótico de seu interior.

Indol

é um composto orgânico aromático heterocíclico que pode ser produzido por diversas espécies de bactérias como um produto da degradação do aminoácido triptofano.

ANTIBIÓTICOS FORAM FEITOS PARA MATAR EFICIENTEMENTE BACTÉRIAS

Quando o primeiro e muito poderoso antibiótico - a penicilina - passou a ser usado, quase no final da Segunda Grande Guerra Mundial deu o início a uma nova era no tratamento de infecções causadas por certos microrganismos, principalmente o conhecido **estafilococo**. Realmente, os primeiros anos que se sucederam, foram suficientes para demonstrar o valor dessa droga, tida na época, como milagrosa por salvar milhares de vítimas da guerra.

Para o desaponto geral esse milagre durou pouco e no esforço para substituir essa droga foi realizado um grande empreendimento mundial para se isolar novos antibióticos. Mas por qual razão a tão poderosa penicilina deixou de ser eficiente na destruição de bactérias, antes tão sensíveis a ela?

Foi, realmente, bastante desapontador para o mundo quando nos primeiros anos de uso da penicilina se verificou um considerável aumento de bactérias resistentes a esse antibiótico, principalmente no caso, o estafilococo, que se tornou insensível, ou resistente, a qualquer quantidade dessa droga nos hospitais ingleses. O pior é que a frequência dessa resistência foi aumentada de tal jeito que em poucos anos a grande maioria desses germes, tornaram-se totalmente resistentes à penicilina.

O HOMEM APERFEIÇA RATOEIRA E A NATUREZA ADESTRA O RATO

Durante os primeiros anos da década de 1950, outros antibióticos foram introduzidos, incluindo os hoje bem conhecidos estreptomicina, cloranfenicol, tetraciclina, eritromicina e novobiocina. Mais uma vez, o fenômeno da resistência bacteriana ocorreu igualmente em pouco tempo de administração desses novos compostos.

A subsequente introdução, a partir de 1960, de dezenas de outros poderosos agentes antimicrobianos, não ofereceu um controle permanente da infecção e, mais uma vez, ocorreu a emergência de linhagens resistentes a todos eles. Esse fenômeno tem se repetido

não somente com o estafilococo. Inúmeras bactérias patogênicas estão reagindo dessa mesma forma aos mais recentes antimicrobianos produzidos.

Cerca de setenta anos após a introdução da antibioticoterapia, contamos hoje com mais de 160 antibióticos, o que corresponde a mais de 10 antibióticos para cada bactéria importante em clínica e, a cada dia se depara com bactérias que apresentam resistência a todos os novos antibióticos. Pelo andar da carruagem corre-se o risco de ter-se que voltar, em futuro próximo, ao período pré-antibiótico para o tratamento das doenças infecciosas. Isso não parece nada animador!

AS DROGAS MILAGROSAS FORAM SUPERADAS PELOS ORGANISMOS MAIS ANTIGOS DA TERRA

Estima-se que as bactérias tenham surgido na Terra há cerca de 3,5 bilhões de anos. Durante todo esse tempo elas têm superado os mais diversos ambientes: temperaturas altas, radiações ultravioleta, diferentes nutrientes, fontes de energia, etc. A causa primária da resistência a drogas é a capacidade extraordinária de **adaptação** ao meio graças à variabilidade genética. Sua eficiente evolução está associada à estrutura genômica que garante mutações cromossômicas, trocas e rearranjos de genes dentro e entre as bactérias e, principalmente, bactérias portadoras de pequenos elementos de DNA extra-cromossômicos (plasmídeos) que carregam genes responsáveis pela resistência múltipla aos antimicrobianos. Em outras palavras, as causas desse malogro decorrem das próprias leis da natureza genética bacteriana que tiraram proveito do uso extensivo e indiscriminado de antibióticos.

Bactérias que apresentam resistência cromossômica podem possuir o sistema de resistência multidroga (MDR) também conhecido por **bomba de efluxo** ou expulsão. O sistema de efluxo chama atenção pelo fato de um único mecanismo de resistência diminuir a suscetibilidade da bactéria a um número de diferentes drogas o que permite a sua convivência em diferentes nichos ecológicos.

Os **estafilococos** são bactérias esféricas (cocos), imóveis e piogênicas (produzem infecção purulenta) por excelência. São coradas em roxo pela coloração diferencial de Gram (Gram-positivas) e crescem em forma de cachos de uva.

Adaptação é a resposta de células ao estresse fisiológico ou a estímulos patológicos.

Bomba de efluxo é o bombeamento ativo de antimicrobianos do meio intracelular para o extracelular, comandado pela indução de um grupo de genes exportadores tornando a célula bacteriana menos sensível a um grupo de antibióticos.

Biorreator

refere-se a um recipiente utilizado para a cultura aeróbica contínua de células, no caso bacterianas, que se duplicam em constante fase exponencial de crescimento.

A coloração de Gram permite diferenciar bactérias com diferentes estruturas de parede celular a partir das colorações que estas adquirem após tratamento com agentes químicos específicos. As bactérias que adquirem a coloração azul violeta são chamadas de **Gram-positivas** e aquelas que adquirem a coloração vermelha são chamadas de **Gram-negativas**.

Biofilmes

são complexos ecossistemas microbianos embebidos numa matriz de exopolissacarídeo aderidos a uma superfície. No biofilme os microrganismos tornam-se mais resistentes a ação de agentes químicos e físicos.

UM GESTO ALTRUÍSTICO ENTRE BACTÉRIAS

Tudo começou, recentemente quando pesquisadores americanos decidiram conhecer a dinâmica da resistência populacional de uma conhecida bactéria que frequenta o nosso corpo, *Escherichia coli*, quando submetida ao crescimento contínuo em **biorreator** (nesse sistema as bactérias estão sempre em crescimento exuberante) em presença de níveis crescentes de um conhecido antibiótico, norfloxacina. Verificaram, esses pesquisadores, que a grande maioria dos isolados era menos resistentes que a população como um todo. Mais ainda, algumas poucas bactérias mutantes, altamente resistentes (cerca de 1%), melhoraram a sobrevivência da população menos resistente, em parte, por produzirem indol, um velho conhecido composto excretado por diferentes espécies bacterianas. Verificaram ainda, que o indol produzido pelas

células bacterianas mais resistentes serve para ativar um conjunto de genes (existem cerca de 20 diferentes genes), os xenobióticos exportadores, responsáveis pela expulsão do antibiótico pela bomba de efluxo.

A MOLÉCULA DE INDOL É UMA GRANDE CONTROLADORA CELULAR

Muitas bactérias **Gram-negativas** e **Gram-positivas** codificam uma única cópia do gene *tnaA* em seu cromossomo, responsável pela síntese da enzima triptofanase. O indol é sintetizado a partir da quebra do triptofano pela triptofanase. É uma molécula sinalizadora envolvida na tolerância ao estresse em *E.coli*. Como uma molécula sinalizadora intercelular, ela controla diversos aspectos da fisiologia celular, como a formação de esporos, formação de **biofilmes**, controle da virulência, e resistência a drogas.



O GENE *tnaA* DA TRIPTOFANASE

O gene *tnaA* codifica um peptídeo com 471 aminoácidos, mas a triptofanase ativa é formada por 4 dessas unidades peptídicas. Este gene está localizado num ponto específico do mapa cromossômico (83.8 min.) da *E. coli* e faz parte de um **operon**, estrutura constituída por três genes: gene estrutural *tnaA*,

responsável pela síntese da triptofanase, gene *tnaB* que codifica para uma permease e o gene *tnaC* que codifica um peptídeo líder. Esse operon é induzido pelo triptofano que é o substrato da triptofanase. A estrutura desse operon revela que ele deve ter sido introduzido no cromossomo da *E. coli* há milhões de anos atrás como um **elemento genético móvel**, via **transferência genética horizontal** (ou lateral).

Os **elementos genéticos móveis** são segmentos do genoma podem mudar de posição no cromossomo ou se transferirem para outro cromossomo.

Transferência horizontal de genes

ou transferência lateral de genes é um processo em que um organismo transfere material genético para outra célula que não é sua descendente.

Os genes de bactérias estão organizados em **operons**, conjuntos de genes que são co-regulados. Além de estarem fisicamente próximos os genes que compõem um operon estão sob o controle de uma única região promotora ou promotor, que fornece um local para ligação da RNA polimerase. Assim sendo, todos os genes de um operon são ligados (ou transcritos) ou desligados (ausência de transcrição) juntos. O agrupamento de genes relacionados sob um controle regulatório comum possibilita respostas rápidas às mudanças do ambiente como, por exemplo, das fontes de carbono e de outros nutrientes.

PRODUZIR INDOL SAÍ CARO PARA AS BACTÉRIAS PRODUTORAS, MAS COMPENSA

O admirável é que a energia gasta pelas células mais resistente para produzir esses mecanismos que fortalecem as bactérias vizinhas, menos resistentes, evitando a sua morte, tem um custo adicional para essas bactérias que se manifesta por um crescimento menor. Por outro lado, dá para entender o comportamento das bactérias generosas, mais resistentes, ao ajudar a população mais numerosa e menos resistente, como compensação biológica: sem a ajuda das mais fortes, a população poderia ser reduzida a um nível crítico, o que facilitaria um contra-ataque das defesas do organismo contra as bactérias. Obviamente, para quem toma antibiótico, não é bom negócio essa generosidade entre bactérias. É provável que futuramente

o tratamento por antibióticos poderá ser facilitado em menores doses se a ação do indol fosse impedida.

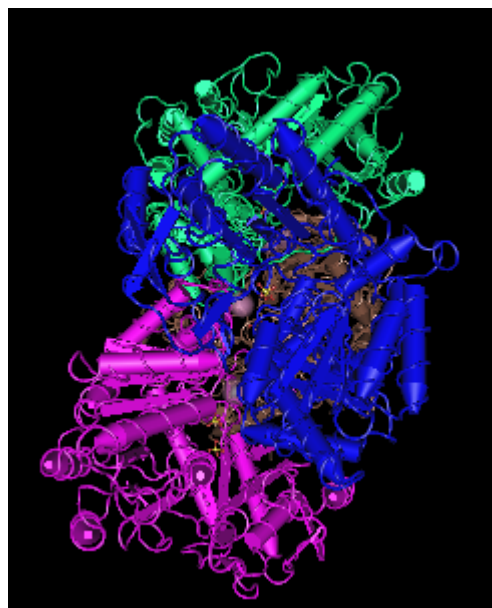
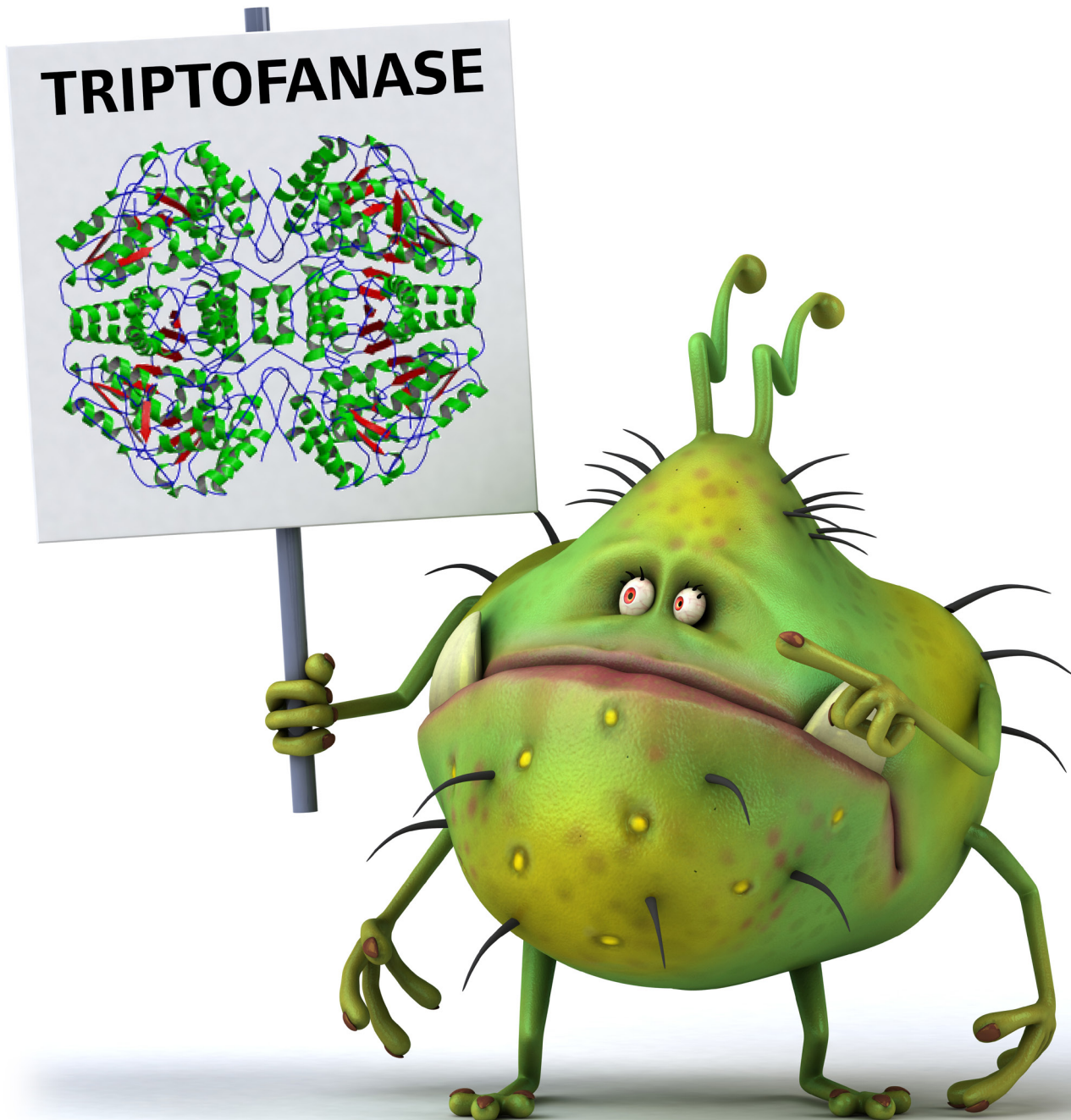


Figura 1.
Estrutura da triptofanase.



TRIPTOFANASE

PARA SABER MAIS

1. Obra Geral.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. Resistência bacteriana. São Paulo. Atheneu. 2005. 118 pp.

2. “Altruísmo” bacteriano, indol e genes xenobióticos exportadores.

HIRAKAWA, H.; INAZUMI, Y.; MASAKI, T.; HIRATA, T.; YAMAGUCHI, A. Indol induces the expression of multidrug exporter genes in *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology* v.55, n(4), p. 1113-1126, 2005.

JIN-HYUNG, L.; JINTAE, L. Indol as intercellular signal in microbial communities. *FEMS Microbial Rev.* v 34, p 462-444, 2010.

LEE, H. H.; MOLLA, M.; CANTOR, C. R.; COLLINS, J. J. Bacterial charity work leads to population-wide resistance. *Nature* v. 467, n 7311, p 82-85, 2010.

MARTIN, K.; MORLIN, G.; NORDYKE, A.; EISENSTARK, A.; GOLOMB, M. The tryptophanase gene cluster of *Hemophilus influenzae* type B: evidence for horizontal gene transfer. *J. Bacteriol.* v 180, n.1, p 107-118, 1998.

NIKAIDO, H. Multidrug efflux pumps in gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.* v. 178, n. 20, p 5853-5859, 1996.