

La resistencia de las bacterias a los antibióticos —¿un ejemplo apropiado de cambio evolutivo?

Kevin L. Anderson, Ph. D.

CRSQ Vol. 41 No 4, pp. 318-326 Marzo 2005

Resumen

Los evolucionistas presentan con frecuencia la adquisición por parte de las bacterias de resistencia a los antibióticos como una demostración de cambio evolutivo. Sin embargo, el análisis molecular de los mecanismos genéticos que llevan a la resistencia a los antibióticos no da soporte a esta suposición tan extendida. Muchas bacterias se convierten en resistentes por la adquisición de genes procedentes de plásmidos o de transposones mediante transferencia horizontal de genes. Sin embargo, la transferencia horizontal no explica el origen de los genes de resistencia, solo su difusión entre las bacterias. Las mutaciones, por su parte, pueden explicar el surgimiento de la resistencia a los antibióticos dentro del mundo bacteriano, pero implican procesos mutacionales que son contrarios a las predicciones de la evolución. Lo que hacen estas mutaciones es reducir o eliminar la función de las proteínas de transporte o de las porinas, las afinidades de enlace de las proteínas, las actividades de los enzimas, la fuerza motriz protónica, o de los sistemas de control y regulación. En tanto que dichas mutaciones pueden considerarse como «beneficiosas» en cuanto que aumentan la tasa de supervivencia de las bacterias en presencia del antibiótico, implican procesos de mutación que no proporcionan un mecanismo genético para una «descendencia común con modificación». Asimismo, es frecuente que con estas mutaciones esté asociado algún coste de «capacidad relativa», aunque las mutaciones inversas pueden en su momento recuperar la mayor parte del coste, si no todo, en el caso de algunas bacterias. Pero se da un verdadero coste biológico con la pérdida de sistemas o funciones celulares preexistentes. Esta pérdida de actividad celular no puede presentarse de forma legítima como un medio genético de prueba de evolución.

Introducción

Debido a su gran velocidad de reproducción, facilidad de análisis en laboratorio y la amplia diversidad que se puede obtener de mutantes generados en laboratorio, las bacterias se han descrito como un excelente modelo para estudiar el proceso de la evolución (Mortlock, 1984). La adquisición de resistencia a un antibiótico específico proporciona un evidente beneficio a la bacteria cuando se expone a dicho antibiótico. De modo que la adquisición de resistencia a los antibióticos se cita generalmente como ejemplo de «cambio evolutivo», y ha llegado a ser un ejemplo popular de lo que se denomina «evolución en una cápsula de Petri». Miller (1999) se refiere al desarrollo de la resistencia a los antibióticos como un ejemplo de la «fuerza creadora» de la evolución. Barlow y Hall (2002) se refieren a ella como «la singular oportunidad de observar procesos evolutivos a lo largo de unas pocas décadas en lugar de los varios milenios que son generalmente necesarios para estos procesos» (p. 314).

Con frecuencia la evolución se describe meramente como «cambio» o «cambio en frecuencia de los genes a lo largo del tiempo» (Dillon, 1978; Johnson, 2000; Patterson, 1978), y los evolucionistas han mantenido casi universalmente que cualquier cambio en el genotipo (o incluso en el fenotipo) es un «cambio evolutivo». Como tal, cualquier cambio biológico en un organismo, incluyendo la resistencia a los antibióticos, concordaría con esta definición. Sin embargo, el mero cambio biológico también es congruente con un modelo de creación, y por ello esta definición «todo terreno» no es fácilmente distinguible del concepto creacionista. Esta definición tampoco define la clase de cambio (como deletéreo frente a beneficioso), y por ello no proporciona ningún valor predictivo a la teoría.

Además, cualquier cambio que parezca proporcionar una adaptación pretendidamente «beneficiosa» se considera generalmente como una fuerza impulsora de evolución. Desde luego, hay mutaciones, como la resistencia a los antibióticos, que pueden ser beneficiosas porque pueden dar al organismo una mayor capacidad para sobrevivir bajo condiciones

medioambientales muy específicas. Así, por lo general, los evolucionistas concluyen que los ejemplos genéticos de «cambio evolutivo» son abundantes, y que los creacionistas se ven obligados a negar esta evidencia tan ampliamente observada.

Sin embargo, la teoría de la evolución propone que toda la vida en la tierra tuvo un origen común. De ahí, toda la vida comparte un ancestro evolutivo común del que ha descendido, esto es, la «descendencia común» de toda la vida. En una declaración a modo de resumen, Darwin (1936) dice que «la teoría de la descendencia con modificación abarca a todos los miembros de la misma clase principal o reino ... todos los animales y plantas descienden de algún prototipo» (p. 370). Por tanto, mediante esta «descendencia con modificación» global y común, la teoría de la evolución pretende dar cuenta del origen y de la diversidad de todo el desarrollo biológico en la tierra. Así, la «descendencia común con modificación» proporciona una definición más apropiada y funcional de la teoría de la evolución, y este artículo se refiere a la evolución en este contexto. Esta definición implica también varias «predicciones» respecto a las clases de cambio genético necesario para una descendencia evolutiva común (predicciones que contrastan acusadamente con las predicciones de un «modelo creacionista»). Estos cambios han de proporcionar algo más que meros cambios en el fenotipo; han de proporcionar un mecanismo genético que explique el origen de las funciones y actividades celulares (esto es, sistemas de regulación, sistemas de transporte, especificidad enzimática, afinidad de enlaces de las proteínas, etc.).

Los cambios genéticos que reducen o eliminan alguno de estos sistemas celulares no proporcionan un mecanismo genético para la «descendencia común con modificación». Al contrario, estos cambios son en realidad contrarios a tal descendencia, al reducir o eliminar un sistema preexistente de complejidad biológica (una inversión del «descenso con modificación»). Por ello, estos cambios genéticos no sirven como ejemplo de un mecanismo genético para la adquisición «evolutiva» del vuelo por parte de organismos no voladores, de conocimiento por parte de organismos no cognoscitivos, de fotosíntesis por parte de organismos no fotosintetizadores, etc. En cambio, la teoría de la evolución necesita que se hayan dado estos acontecimientos, y necesita unas mutaciones capaces de producir estos cambios genéticos. Por ello, las predicciones de la evolución precisan de ciertos tipos específicos de cambios, no meramente las mutaciones conocidas como «beneficiosas». Así, a pesar de las grandes pretensiones que hacen, es imprescindible plantear si la adquisición de la resistencia a los antibióticos es un ejemplo válido de cambio evolutivo que dé sustento a las predicciones de la teoría evolucionista (esto es, la teoría de «descendencia común con modificación»).

Transferencia horizontal de genes

Un medio por el que las bacterias pueden adquirir resistencia a los antibióticos es por la transferencia horizontal de genes resistentes a los antibióticos. Esta transferencia de genes de resistencia es frecuente (Gómez, 1998; Top et al., 2000), y da cuenta de muchos casos de resistencia en las bacterias. Sin

embargo, la transferencia horizontal involucra meramente la transferencia de genes de resistencia que ya existen en el mundo de las bacterias.

En tanto que la adquisición horizontal de genes de resistencia es «beneficiosa» para las bacterias expuestas a un antibiótico determinado, esta transferencia de genes no da cuenta del origen de la diversa variedad de estos genes. Como tal, no proporciona un mecanismo genético para el origen de ninguno de los genes de resistencia a los antibióticos existentes en el mundo biológico. La evolución predice que por medio del proceso de la «descendencia común con modificación» puede explicar el origen y la diversidad de la vida sobre la tierra; sin embargo, la mera transferencia de genes preexistentes entre organismos mediante transferencia genética no proporciona el necesario mecanismo genético para satisfacer esta predicción. Tampoco puede explicar satisfactoriamente el desarrollo simultáneo de ambas cosas, la biosíntesis de los antibióticos y los genes de resistencia —lo cual constituye un enigma evolutivo (Penrose, 1998). De modo que la transferencia horizontal de los genes de resistencia no puede presentarse como un ejemplo apropiado de «evolución en la cápsula de Petri».

Mutaciones

Las mutaciones, que se definen como cualquier cambio en la secuencia del ADN (Snyder y Champness, 2003), proporcionan el único mecanismo genético conocido para la producción de nuevas actividades y funciones genéticas en el mundo biológico. A la luz de esto, solo las mutaciones tienen el potencial de proporcionar un mecanismo para la evolución que explique el origen de la resistencia a los antibióticos. Así, solo aquella resistencia que resulte de una mutación constituye un ejemplo potencial de «evolución en acción» (esto es, de «descendencia común con modificación»).

En presencia de un antibiótico determinado (o de otros microbicidas), cualquier mutación que proteja a la bacteria de la cualidad letal de dicho compuesto presenta evidentemente un fenotipo «beneficioso». La selección natural seleccionará de manera enérgica y bastante precisa aquellos mutantes resistentes, lo que se ajusta al marco de una respuesta adaptativa. Pero el análisis molecular de dichas mutaciones revela una gran incongruencia entre la verdadera naturaleza de la mutación y las demandas de la teoría de la evolución (Tabla I).

La resistencia bacteriana al antibiótico rifampina puede resultar de una mutación común. La rifampina inhibe la transcripción bacteriana interfiriendo con la actividad normal de la ARN-polimerasa (Gale et al., 1981; Levin y Hatfull, 1993). Las bacterias pueden adquirir resistencia por una mutación puntual de la subunidad β de la ARN-polimerasa, que está codificada por el gen *rpoB* (Enright et al., 1998; Taniguchi et al., 1996; Wang et al., 2001; Williams et al., 1998). Esta mutación altera de forma suficiente la estructura de la subunidad β de modo que pierde especificidad para la molécula de la rifampina. Como resultado, la ARN-polimerasa deja de tener afinidad por la rifampina, y ya no queda afectada por el efecto inhibitor del antibiótico.

De hecho, el nivel de resistencia a la rifampina que puede adquirir una bacteria de forma espontánea puede ser sumamente elevado. En mi laboratorio obtenemos rutinariamente estirpes

Tabla I. Fenotipos resultado de mutaciones conducentes a resistencias a antibióticos específicos

Antibiótico	Fenotipo que proporciona la resistencia
Actinonina	Pérdida de actividad enzimática
Ampicilina	Respuesta SOS que detiene la división celular
Azitromicina	Pérdida de una proteína reguladora
Cloranfenicol	Reducción de la formación de una porina o de una proteína reguladora
Ciprofloxacina	Pérdida de una porina o pérdida de una proteína reguladora
Eritromicina	Reducción de afinidad a ARNr 23S o pérdida de una proteína reguladora
Fluoroquinolonas	Pérdida de afinidad a la girasa
Imioenema	Reducción de la formación de una porina
Kanamicina	Reducción de la formación de una proteína de transporte
Acido nalidíxico	Pérdida o desactivación de una proteína reguladora
Rifampina	Pérdida de afinidad a la ARN-polimerasa
Estreptomicina	Afinidad reducida al ARNr 16S o reducción de la actividad de transporte
Tetraciclina	Formación reducida de una porina o de una proteína reguladora
Zwittermicina A	Pérdida de fuerza motriz del protón

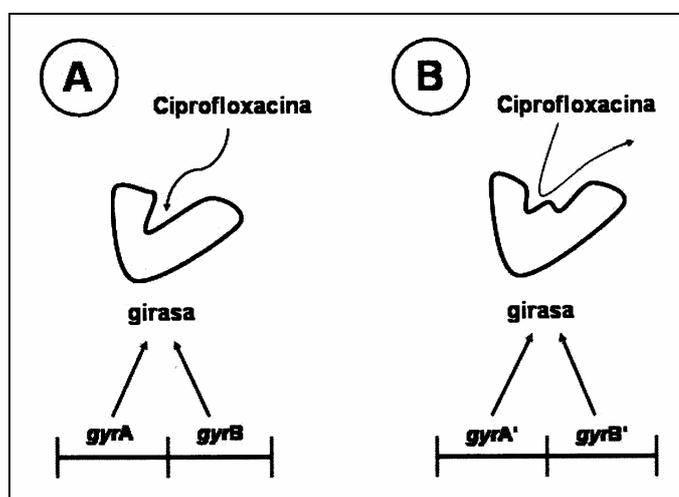


Figura 1. Mecanismo de la resistencia a la ciprofloxacina. (A) La ciprofloxacina interactúa con la girasa, e inhibe su actividad enzimática. (B) Una mutación en cualquiera de ambos genes, *gyrA* o *gyrB*, puede cambiar la estructura que conforma la girasa y reducir la afinidad del enzima por la ciprofloxacina. Esto resulta en una incapacidad del antibiótico para inhibir la girasa, y la célula se vuelve resistente al antibiótico.

mutantes con un nivel de resistencia varias magnitudes mayor que el de la estirpe silvestre. Cuando hay rifampina presente, esta mutación proporciona una clara ventaja para la supervivencia en comparación con las células que carecen de estas mutaciones específicas. Pero cada una de estas mutaciones elimina la afinidad de la ARN-polimerasa por la rifampina. Como tales, estas mutaciones no proporcionan un mecanismo que expliquen el origen de la afinidad, sino solo su pérdida.

La resistencia espontánea a las fluoroquinolonas (como la ciprofloxacina o la norfloxacina) es también una mutación frecuente en algunas bacterias. La diana primaria del antibiótico es el enzima ADN-girasa, que está formado por dos proteínas codificadas por los genes *gyrA* y *gyrB* (Hooper y Wolfson,

1993). El análisis genético ha descubierto que la resistencia a esta clase de antibióticos puede ser resultado de una mutación puntual en cualquiera de estos genes (Barnard y Maxwell, 2001; Griggs et al., 1996; Heddle y Maxwell, 2002; Heisig et al., 1993, Willmott y Maxwell, 1993). Estas mutaciones de las subunidades de la girasa parecen ser causa de un cambio de conformación suficiente de la girasa de modo que reduce o pierde su afinidad por las fluoroquinolonas (Figura 1). Una vez más, a pesar de su naturaleza «beneficiosa», estas mutaciones no proporcionan un modelo útil que explique el origen de la afinidad de la girasa por las fluoroquinolonas.

También la resistencia a la estreptomina puede proceder de mutaciones bacterianas espontáneas. En este caso, la estreptomina bloquea la síntesis de proteína de la bacteria aparentemente uniéndose con el segmento del ARNr 16S del ribosoma e interfiriendo con la actividad del ribosoma (Carter et al., 2000; Leclerc et al., 1991). La resistencia al antibiótico puede surgir por mutaciones en el gen ARNr 16S, que reduce la afinidad de la estreptomina para la molécula 16S (Springer et al., 2001). La reducción de unas actividades de transporte específicas de oligopéptidos lleva también a una resistencia espontánea frente a diversos antibióticos, incluyendo la estreptomina (Kashiwagi et al., 1998). En estos ejemplos, la resistencia surgió como resultado de la pérdida de un componente o actividad funcionales.

La pérdida de actividad enzimática puede dar como resultado la resistencia al metronidazol. El metronidazol intracelular se tiene que activar mediante enzimas antes que pueda servir como agente antimicrobiano. Esta activación se consigue mediante el enzima nitrorreductasa NADPH (Figura 2). Si el metronidazol no es activado no ejerce un efecto inhibitor sobre la bacteria. Por ello, si no hay actividad de nitrorreductasa NADPH en la célula, el metronidazol permanece inactivo. Puede haber pérdida de la actividad de la reductasa por mutaciones terminadoras o de delección en *rdxA* (Debets-Ossenkopp et al., 1999; Goodwin et al., 1998; Tankovic et al., 2000). Además, la actividad de la nitrorreductasa NADPH se puede reducir a causa de una sola mutación de aminoácido (un solo cambio de aminoácido), que reduce su capacidad para activar el metronidazol (Paul et al.,

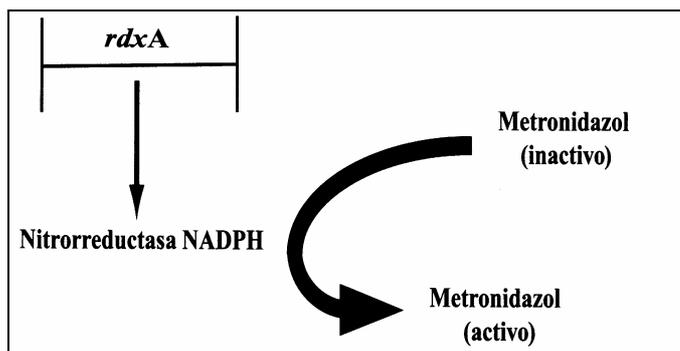


Figura 2. La activación del agente antimicrobiano, el metronidazol. Después de ser transportado al interior de la célula, el metronidazol necesita una modificación estructural para adquirir su forma activa, antimicrobiana. Esta activación se logra por la acción del enzima nitrorreductasa NADPH, que es producto del gen *rdxA*. Las mutaciones del *rdxA* pueden impedir la síntesis de una nitrorreductasa NADPH con actividad funcional, lo que impide la activación del metronidazol.

2001). Todas estas mutaciones resultan en la pérdida de la actividad enzimática necesaria para que el fármaco sea efectivo en la célula, y por ello la célula se vuelve resistente al metronidazol. Pero la pérdida de actividad enzimática no da ningún ejemplo genético de cómo «evolucionó» originalmente dicho enzima. Por ello, las mutaciones que proporcionan resistencia frente al metronidazol no pueden presentarse como verdaderos ejemplos de «evolución en una cápsula de Petri».

Una diversidad de bacterias, incluyendo la *Escherichia coli*, construyen una bomba de eflujo de resistencia múltiple a los antibióticos (MAR) que proporciona a la bacteria una resistencia a múltiples tipos de antibióticos, incluyendo la eritromicina, la tetraciclina, la ampicilina y el ácido nalidíxico. Esta bomba expulsa el antibiótico del citoplasma de la célula, lo que ayuda a mantener los niveles intracelulares por debajo de una concentración letal (Grkovic et al., 2002; Okusu et al., 1996) (Figura 3). La bomba para MAR está compuesta de las proteínas MarA y MarB, la síntesis de las cuales resulta inhibida por la proteína reguladora, MarR (Aleksun y Levy, 1999; Poole, 2000) (Figura 3). Las mutaciones que reducen o eliminan el control de la represión de MarR resultan en una sobreproducción de la bomba de eflujo MarAB, lo que posibilita a la célula expulsar mayores concentraciones de antibióticos o de otros agentes bactericidas (Oethinger et al., 1998; Poole, 2000; Zarantonelli et al., 1999).

La proteína MarA actúa también como un regulador positivo estimulando una mayor producción de las proteínas MarA y MarB (Aleksun y Levy, 1999) [Figura 3]. Además, la proteína MarA inhibe indirectamente la producción de la porina, OmpF, un canal en la membrana que permite la entrada de algunos antibióticos en la célula (Cohen et al., 1988). Por ello, la expresión aumentada de MarA aumenta la expulsión de antibióticos de la célula, y reduce el transporte de algunos antibióticos al interior de la célula (Figura 3). Las mutaciones de *marR* que reducen la expresión o la actividad de la proteína MarR posibilitarán así una expresión excesiva de la bomba de eflujo MarAB (Linde et al., 2000; Okusu et al., 1996), y proporcionarán una mayor resistencia de la bacteria a diversos

antibióticos (Eaves et al., 2004; Hans-Jorg et al., 2000; Notka et al., 2002) [Figura 3]. Los mutantes defectuosos de MarR presentan también una mayor tolerancia bacteriana a algunos agentes químicos orgánicos, como el ciclohexano (Aono et al., 1998).

Las mutaciones que aumentan la producción de esta bomba de eflujo hacen posible que estas bacterias sobrevivan la exposición a diversos antibióticos. Como tal, esta es una mutación beneficiosa cuando el antibiótico está presente en el medio. Sin embargo, una mutación que es causa de una pérdida de control de regulación (en este caso de la proteína represora, MarR) no ofrece un mecanismo genético que pueda dar cuenta del origen de este control regulador.

En otros ejemplos, la resistencia a la eritromicina puede también originarse debido a la pérdida de un segmento de once pares de bases del gen ARNr 23S (Douthwaite et al., 1985), o por una mutación que altera la conformación del ARNr 23S—lo que reduce la afinidad del ribosoma hacia el antibiótico (Gregory

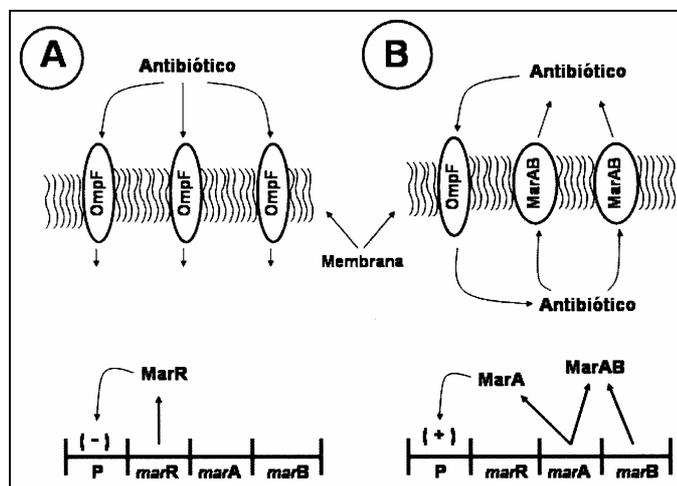


Figura 3. Bomba de eflujo para resistencia a múltiples fármacos. (A) Bacteria sensible a antibióticos. Los antibióticos entran en la célula a través de diversos portales, incluyendo la porina OmpF. La expresión del gen *marP* produce la proteína reguladora, MarR. Esta proteína se une al promotor (rotulado como P) del operón de resistencia múltiple a los fármacos, inhibiendo la expresión de los genes *marA* y *marB*. (B) Bacteria resistente a los antibióticos. Una mutación de *marR* que reduce la actividad de MarR hace posible que el promotor funcione constitutivamente. Ahora se expresan *marA* y *marB*. Estas dos proteínas forman una bomba de eflujo, que transporta las moléculas de antibiótico fuera del citoplasma de la célula. MarM también se une al promotor (rotulado como P) y aumenta la velocidad de transcripción del operón, lo que aumenta la producción tanto de MarA como de MarB. Además, la producción de MarA reduce de forma indirecta la síntesis de la porina OmpF, con lo que se reduce la cantidad de estas porinas en la membrana, lo que reduce el transporte de un antibiótico al interior de la célula, y el aumento de la cantidad de bombas de eflujo que eliminan el antibiótico de la célula, proporciona a la bacteria una mayor tolerancia a diversos antibióticos.

y Dahlberg, 1999; Vannuffel et al., 1992). La resistencia alcloranfenicol se obtuvo por delección de una región de 12 pares de bases en el dominio II del gen de la peptidiltransferasa (Douthwaite, 1992). La resistencia a las cefalosporinas se ha vinculado con una gran alteración de la cinética del transporte en membranas que es semejante a las estirpes deficientes en porinas (Chevalier et al., 1999). La resistencia a la actinonina en el *Staphylococcus aureus* resulta de mutaciones que eliminan la expresión del gen *fnt* (Margolis et al., 2000). La resistencia a la zwittermicina A en la *E. coli* está asociada con la pérdida de fuerza motriz protónica (Stabb y Handelsman, 1998). En el caso del *Streptococcus gordonii*, la tolerancia a la penicilina puede involucrar la pérdida del control regulador del operón *arc* (Caldelari et al., 2000). Y la *E. coli* puede sobrevivir a la presencia de las β -lactamas, como la ampicilina, deteniendo la división celular, lo que hace a la célula menos sensible al efecto letal del antibiótico (Miller et al., 2004).

Estas mutaciones resistentes que se describen aquí llevan a la pérdida de un sistema biológico preexistente, incluyendo la división celular y la fuerza motriz protónica. Aunque la supervivencia frente al antibiótico sea un fenotipo «beneficioso», estas mutaciones no pueden ser un ejemplo genético de cómo se originó cada uno de estos sistemas. Como tales, no proporcionan ningún medio genético para cumplir las predicciones de «descendencia con modificación».

La resistencia a otros antibióticos, como la kanamicina, puede resultar de la pérdida o reducción de síntesis de una proteína transportadora (OppA) [Kashiwagi et al., 1998]. La resistencia a la ciprofloxacina y a la imipenem puede resultar, al menos en parte, de una disminución en la formación de la porina de la membrana exterior, *OmpF* (Armand-Lefèvre et al., 2003; Hooper et al., 1987; Yigit et al., 2002). Un aumento en la resistencia al meropenem y a la cefepima va también asociado a la pérdida de *OmpF* y de otra porina, *OmpC* (Yigit et al., 2002). Y el *Enterobacter aerogenes* puede llegar a hacerse resistente a diversos antibióticos cuando una mutación reduce en gran proporción la conductancia de una porina de membrana (Dé et al., 2001).

Cada una de las resistencias que se describen en el párrafo anterior resulta de la reducción o de la pérdida de un sistema de transporte. Sin embargo, los mecanismos genéticos necesarios para la evolución tendrían que dar cuenta del origen de estos diversos sistemas de transporte. Así, estas mutaciones originadoras de la resistencia a los antibióticos no proporcionan los cambios genéticos precisos para la «descendencia común». Al contrario, son genéticamente incongruentes con las necesidades de la evolución, siendo que cada una de ellas involucra la pérdida de una actividad de transporte preexistente.

Como grupo, las mutaciones asociadas con la resistencia a los antibióticos involucran la pérdida o reducción de una función o actividad celular preexistente, esto es, la molécula diana ha perdido una afinidad hacia el antibiótico, el sistema de transporte de antibióticos ha quedado reducido o eliminado, ha habido reducción o eliminación de un sistema regulador o de una actividad enzimática, etc. (Tabla I). Estas no son mutaciones que puedan dar cuenta del origen de dichos sistemas y actividades celulares. Aunque estas mutaciones pueden ciertamente considerarse como «beneficiosas» para la supervivencia de la bacteria cuando está presente un antibiótico en el medio ambiente, este beneficio tiene lugar a expensas de

una función previamente existente. Esto es análogo a eliminar una pared interior de una casa para conseguir un comedor más grande. Aunque este comedor mayor pueda ser deseable (esto es, beneficioso), el mecanismo de derribo de esta pared no puede ofrecerse de manera legítima como un ejemplo de cómo se construyó originalmente esta pared interior. Igualmente, el beneficio de la supervivencia de una mutación es solo una parte de los rasgos genéticos necesarios para que las mutaciones puedan dar la «evolución en una cápsula de Petri». Estas mutaciones también pueden proporcionar la base genética para una «descendencia común con modificación». Aunque esto contradice de forma directa las pretensiones hechas por muchos proponentes de la evolución, los datos moleculares acerca de la resistencia a los antibióticos son muy claros.

Estas mutaciones tampoco pueden proporcionar un mecanismo que siga «evolucionando» el nivel de especificidad o de actividad de las proteínas que se necesitan para la normal función celular. Aunque estas mutaciones constituyen unos excelentes ejemplos de adaptación bacteriana, son en realidad lo directamente contrario de los cambios por mutación necesarios para la evolución. Sin embargo, estos son precisamente los ejemplos que los evolucionistas presentan como demostraciones verificables del «cambio evolutivo». Cosa irónica, estas mutaciones son en realidad ejemplos verificables de un modelo creacionista—una complejidad inicial que pasa por mutación a un nivel de mayor simplicidad.

La adquisición espontánea de resistencia a los antibióticos es designada con frecuencia como una «ganancia» de resistencia, pero es más apropiado identificarlo como una pérdida de sensibilidad. Así, la resistencia a los antibióticos es resultado de la pérdida de sistemas previamente existentes en la célula bacteriana. Está claro que estos cambios no proporcionan ningún mecanismo genético para el origen de características celulares como la especificidad enzimática, la actividad de transporte, la actividad reguladora, o la afinidad de las proteínas. Sin embargo, los evolucionistas afirman insistentemente que las mutaciones proporcionan un mecanismo genético para el origen de la actividad biológica y de una «descendencia común con modificación», y presentan repetidamente los tipos de mutación que se acaban de describir como ejemplos de evolución en acción.

Costes en la vitalidad debido a la resistencia a los antibióticos

Aunque las mutaciones que proporcionan resistencia a un antibiótico se pueden considerar «beneficiosas», a menudo comportan un coste fisiológico (Andersson y Levin, 1999; Maisnier-Patin et al., 2002). De hecho, Björkman et al. (2000) llegan a la conclusión de que la mayoría de los tipos de resistencia a los antibióticos impartirán algún coste biológico al organismo. Por ejemplo, la resistencia a la rifampina del *Mycobacterium tuberculosis* (Billington et al., 1999), de la *E. coli* (Reynolds, 2000), y del *Staphylococcus aureus* (Wichelhaus et al., 2002) se debían a mutaciones de la ARN-polimerasa que también redujeron la capacidad relativa de la mayoría de las estirpes mutantes. Aunque el coste biológico comunicado por estos investigadores no era por lo general muy grave, era discernible.

Las mutaciones resultantes en una resistencia a la claritromicina en el *Helicobacter pylori* reducen la capacidad relativa del organismo (Björkholm et al., 2001). La resistencia a elevados niveles de fluoroquinolona por parte de la *Salmonella enterica* involucra mutaciones que imparten un elevado coste biológico al organismo (Giraud et al., 2003). Y las mutaciones de *fusA* que proporcionan resistencia al ácido fusídico al *Staphylococcus* sp. imponen una significativa pérdida de «capacidad relativa» (Gustafsson et al., 2003; MacVanin et al., 2000). La resistencia a la actinonina por parte del *S. aureus* va también acompañada de una grave pérdida de «capacidad» que da como resultado una disminución considerable en el crecimiento (Margolis et al., 2000). La resistencia de la *E. coli* a la estreptomycinina puede reducir enormemente la velocidad de biosíntesis de las proteínas (Zengel et al., 1977). Y algunas bacterias suspenden la división celular para minimizar su sensibilidad a la ampicilina (Miller et al., 2004), lo que evidentemente reduce la capacidad global del organismo.

Este coste de la «capacidad relativa» parece variar considerablemente, dependiendo tanto del organismo como del antibiótico. Pero muchos de los mutantes resistentes que han sido objeto de estudio, incluyendo algunos de los que se han mencionado anteriormente, pueden posteriormente eliminar algo o mucho del coste sobre la capacidad biológica mediante retromutaciones o mutaciones supresoras, que también estabilizan la mutación (Andersson y Levin, 1999; Lenski, 1998; Massey et al., 2001). El grado en que una retromutación restaura la capacidad biológica depende probablemente del emplazamiento de la mutación y de si una sola mutación puede restaurar algo o todo de la «capacidad» del tipo silvestre.

Es evidente que la capacidad de algunas estirpes mutantes queda reducida de forma permanente (algunas veces de forma grave), y los evolucionistas, por lo general, han pasado por alto estos efectos en su precipitación por promover la resistencia a los antibióticos como «evolución en la cápsula de Petri». De hecho, a menudo someten a ensayo la capacidad relativa de estos mutantes bajo unos parámetros de cultivo muy rigurosos, que minimizan la pérdida detectable de capacidad para una mutación determinada. Por otra parte, la pérdida de capacidad de algunos mutantes es despreciable (especialmente después de retromutaciones). De modo que el efecto de la resistencia espontánea sobre la capacidad biológica bacteriana parece variar de mutante en mutante. Sin embargo, las mutaciones resistentes imponen desde luego un coste biológico por la pérdida de sistemas y actividades celulares preexistentes. Este coste biológico no queda compensado por las retromutaciones o por las mutaciones supresoras. Aunque dichas mutaciones no siempre presenten niveles detectables de reducción de «capacidad», se levantan como la antítesis de la «descendencia común con modificación».

Sumario

Con frecuencia se afirma que la resistencia a los antibióticos y a otros microbicidas es una clara demostración de «evolución en una cápsula de Petri». Sin embargo, el análisis de los acontecimientos genéticos que causan esta resistencia revela que no son congruentes con los acontecimientos genéticos necesarios para la evolución (definida como «descendencia

común con modificación»). En lugar de esto, la resistencia que resulta de la transferencia horizontal de genes proporciona meramente un mecanismo para la transferencia de genes de resistencia previamente existentes. La transferencia horizontal no proporciona un mecanismo para el origen de estos genes. La mutación espontánea sí que ofrece un potencial mecanismo genético para el origen de estos genes, pero este origen nunca se ha podido demostrar. Al contrario, todos los ejemplos conocidos de adquisición de resistencia a los antibióticos debida a mutación son incongruentes con los requisitos genéticos para la evolución. Estas mutaciones dan como resultado la pérdida de sistemas o actividades celulares preexistentes, como porinas y otros sistemas de transporte, sistemas de regulación, actividades enzimáticas y uniones de proteínas. La resistencia a los antibióticos puede también ocasionar alguna disminución de la «capacidad relativa» (grave en algunos casos), aunque en el caso de muchos mutantes esto quede compensado por una reversión. Sin embargo, el verdadero coste biológico es la pérdida de sistemas y actividades preexistentes. Estas pérdidas nunca quedan compensadas, a no ser que se pierda la resistencia, y no se pueden presentar de forma legítima como ejemplos de un cambio evolutivo verdadero.

Referencias

- Andersson, D.I., y B.R. Levin. 1999. The biological cost of antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology* 2:489–493.
- Aono, R., N. Tsukagoshi, y M. Yamamoto. 1998. Involvement of outer membrane protein TolC, a possible member of the *mar-sox* regulon, in maintenance and improvement of organic solvent tolerance of *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology* 180:938–944.
- Alekshun, M.N., y S.B. Levy. 1999. The *mar* regulon: multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals. *Trends in Microbiology* 7:410–412.
- Armand-Lefèvre, L., V. Le-on-Guibout, J. Bredin, F. Barguelli, A. Amor, J.M. Pagès, y M.-H. Nicolas-Chanoine. 2003. Imipenem resistance in *Salmonella enterica* serovar wien related to porin loss and CMY-4 β -lactamase production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47:1165–1168.
- Barlow, M., y B.G. Hall. 2002. Phylogenetic analysis shows that the OXA β -lactamase genes have been on plasmids for millions of years. *Journal of Molecular Evolution* 55:314–321.
- Barnard, F.M., y A. Maxwell. 2001. Interaction between DNA gyrase and quinolones: effects of alanine mutations at GryA subunit residues Ser83 and Asp87. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45:1994–2000.
- Billington, O.J., T.D. McHugh, y S.H. Gillespie. 1999. Physiological cost of rifampin induced in vitro in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43:1866–1869.
- Björkholm, B., I. Nagaev, O.G. Berg, D. Hughes, y D.I. Andersson. 2000. Effects of environment on compensatory mutations to ameliorate costs of antibiotic resistance. *Science* 287:1479–1482.
- Björkholm, B., M. Sjölund, P. G. Falk, O.G. Berg, L. Engstrand, y D.I. Andersson. 2001. Mutation frequency and biological cost of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Proceedings of the National Academy of Science* 98:14607–14612.
- Caldelari, I., B. Loeliger, H. Langen, M. P. Glauser, y P. Moreillon. 2000. Deregulation of the arginine deiminase (*arc*) operon in penicillin-tolerant mutants of *Streptococcus gordonii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44:2802–2810.
- Carter, A.P., W. M. Clemmons, D.E. Brodersen, R.J. Morgan-Warren, B.T. Wimberly, y V. Ramakrishnan. 2000. Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interaction with antibiotics. *Nature* 407:340–348.
- Chevalier, J., J.-M. Pagès, y M. Malléa. 1999. *In vivo* modification of porin activity conferring antibiotic resistance to *Enterobacter aerogenes*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 266:248–251.
- Cohen, S.P., L. M. McMurry, y S.B. Levy. 1988. *marA* locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple-antibiotic-resistant (Mar) mutants of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 170:5416–5422.

- Darwin, C. 1936. *Origin of Species and The Descent of Man* (Modern Library Reprint Edition) Random House, New York.
- De, E., A. Baslé, M. Jaquinod, N. Saint, M. Malléa, G. Molle, y J.-M. Pagès. 2001. A new mechanism of antibiotic resistance in Enterobacteriaceae induced by a structural modification of the major porin. *Molecular Microbiology* 41:189–198.
- Debets-Ossenkopp, Y.J., R.G.J. Pot, D.J. van Westerloo, A. Goddwin, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls, D.E. Berg, P.S. Hoffman, y J.G. Kusters. 1999. Insertion of mini-IS605 and deletion of adjacent sequences in the nitroreductase (*rdxA*) gene causes metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* NCTC11637. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43:2657–2662.
- Dillon, L.S. 1978. *Evolution: concepts and consequences*, C.V. Mosby, St. Louis, MO.
- Douthwaite, S. 1992. Functional interactions within 23S rRNA involving the peptidyltransferase center. *Journal of Bacteriology* 174:1333–1338.
- Douthwaite, S., J.B. Prince, y H.F. Noller. 1985. Evidence for functional interaction between domains II and V of 23S ribosomal RNA from an erythromycin-resistant mutant. *Proceedings of the National Academy of Science* 82:8330–8334.
- Enright, M., P. Zawadzki, P. Pickerill, y C.G. Dowson. 1998. Molecular evolution of rifampicin resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbial Drug Resistance* 4:65–70.
- Eaves, D.J., V. Ricci, y L.J.V. Piddock. 2004. Expression of *acrB*, *acrF*, *acrD*, *marA*, and *soxS* in *Salmonella enterica* serovar typhimurium: role in multiple antibiotic resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48:1145–1150.
- Gale, E.F., E. Cundliffe, P.E. Reynolds, M.H. Richmond, y M.J. Waring. 1981. *The Molecular Basis of Antibiotic Action*. John Wiley & Sons, New York.
- Giraud, E., A. Cloeckaert, S. Baucheron, C. Moulina, y E. Chaslus-Dancla. 2003. Fitness cost of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Medical Microbiology* 52:697–703.
- Gómez, L.R. 1998. Evolution of bacterial resistance to antibiotics during the last three decades. *International Microbiology* 1:279–284.
- Goodwin, A., D. Kersulyte, G. Sisson, S.J.O.V. van Zanten, D.E. Berg, y P.S. Hoffman. 1998. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* is due to null mutations in a gene (*rdxA*) that encodes an oxygen-insensitive NADPH nitroreductase. *Molecular Microbiology* 28:383–393.
- Gregory, S.T., y A.E. Dahlberg. 1999. Erythromycin resistance mutations in ribosomal proteins L22 and L4 perturb the higher order structure of 23 S ribosomal RNA. *Journal of Molecular Biology* 289:827–834.
- Griggs, D.J., K. Gensberg, y L.J. Piddock. 1996. Mutations in *gyrA* gene of quinolone-resistant *Salmonella* serotypes isolated from humans and animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40:1009–1013.
- Grkovic, S., M.H. Brown, y R.A. Skurray. 2002. Regulation of bacterial drug export systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66:671–701.
- Gustafsson, I., O. Cars, y D.I. Andersson. 2003. Fitness of antibiotic resistant *Staphylococcus epidermidis* assessed by competition on the skin of human volunteers. *Journal of Antimicrobials and Chemotherapy* 52:258–263.
- Hans-Jörg, L., F. Notka, M. Metz, B. Kochanowski, P. Heisig, y N. Lehn. 2000. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44:1865–1868.
- Hedde, J., y A. Maxwell. 2002. Quinolone-binding pocket of DNAgyrase: role of GryB. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46:1805–1815.
- Heisig, P., H. Schedletzky, y H. Falkenstein-Paul. 1993. Mutations in the *gyrA* gene of a highly fluoroquinolone-resistant clinical isolate of *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37:696–701.
- Hooper, D.C., y J.S. Wolfson. 1993. *Quinolone Antimicrobial Agents*. ASM Press, Washington, DC.
- Hooper, D.C., J.S. Wolfson, E. Y. Ng, y M. N. Swartz. 1987. Mechanisms of action and resistance to ciprofloxacin. *American Journal of Medicine* 82:4A:12–20.
- Johnson, G.B. 2000. *The Living World*. McGraw-Hill, New York.
- Kashiwagi, K., M.H. Tshako, K. Sakata, T. Saisho, A. Igarashi, S.O.P. daCosta, y K. Igarashi. 1998. Relationship between spontaneous aminoglycoside resistance in *Escherichia coli* and a decrease in oligopeptide binding protein. *Journal of Bacteriology* 180:5484–5488.
- Leclerc, D., P. Melancon, y L. Brakier-Gingras. 1991. Mutations in the 915 region of *Escherichia coli* 16S ribosomal RNA reduce the binding of streptomycin to the ribosome. *Nucleic Acid Research* 19:3973–3977.
- Linde, H.-J., F. Notka, M. Metz, B. Kochanowski, P. Heisig, y N. Lehn. 2000. In vivo increased resistance to Ciprofloxacin in *Escherichia coli* associated with deletion of the C-terminal part of MarR. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44:1865–1868.
- Lenski, R.E. 1998. Bacterial evolution and the cost of antibiotic resistance. *International Microbiology* 1:265–270.
- Levin, M.E., y G. F. Hatfull. 1993. *Mycobacterium smegmatis* RNA polymerase: DNA supercoiling, action of rifampicin and mechanism of rifampicin resistance. *Molecular Microbiology* 8:277–285.
- MacVanin, M., U. Johanson, M. Ehrenberg, y D. Hughes. 2000. Fusidic acid-resistant EF-G perturbs the accumulation of ppGpp. *Molecular Microbiology* 37:98–107.
- Maisnier-Patin, S., O.G. Berg, L. Liljas, y D.I. Andersson. 2002. Compensatory adaptation to the deleterious effects of antibiotic resistance in *Salmonella typhimurium*. *Molecular Microbiology* 46:355–366.
- Margolis, P.S., C.J. Hackbarth, D.C. Young, W. Wang, D. Chen, Z. Yuan, R. White, y J. Trias. 2000. Peptide deformylase in *Staphylococcus aureus*: resistance to inhibition is mediated by mutations in the formyltran-ferase gene. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44:1825–1831.
- Massey, R.C., A. Buckling, y S.J. Peacock. 2001. Phenotypic switching of antibiotic resistance circumvents permanent costs in *Staphylococcus aureus*. *Current Biology* 11:1810–1814.
- Miller, C., L.E. Thomsen, C. Gaggero, R. Mosseri, H. Ingmer, S.N. Cohen. 2004. SOS response induction by β -lactams and bacterial defense against antibiotic lethality. *Science* 305:1629–1631.
- Miller, K.R. 1999. *Finding Darwin's God*. Harper Collins, New York.
- Mortlock, R.P. 1984. *Microorganisms as Model Systems for Studying Evolution*. Plenum Press, New York.
- Notka, F., H.-J. Linde, A. Dankesreiter, H.-H. Niller, y N. Lehn. 2002. A C-terminal 18 amino acid deletion in MarR in a clinical isolate of *Escherichia coli* reduces MarR binding properties and increases the MIC of ciprofloxacin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 49:41–47.
- Oethinger, M., I. Podglajen, W.V. Kern, y S.T. Levy. 1998. Overexpression of the *marA* and *soxS* regulatory gene in clinical topoisomerase mutants of *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42:2089–2094.
- Okusu, H., D. Ma, y H. Nikaido. 1996. AcrAB efflux pump plays a major role in the antibiotic resistance phenotype of *Escherichia coli* multiple-resistance (Mar) mutants. *Journal of Bacteriology* 178:306–308.
- Patterson, C. 1978. *Evolution*. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Paul, R., S. Postius, K. Melchers, y K.P. Schäfer. 2001. Mutations of the *Helicobacter pylori* genes *rdxA* and *pbp1* cause resistance against metronidazole and amoxicillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45:962–965.
- Penrose, E. 1998. Bacterial resistance to antibiotics—a case of un-natural selection. *Creation Research Society Quarterly* 35:76–83.
- Poole, K. 2000. Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44:2233–2241.
- Reynolds, M.G. 2000. Compensatory evolution in rifampin-resistant *Escherichia coli*. *Genetics* 156:1471–1481.
- Springer, B., Y.G. Kidan, T. Prammananan, K. Ellrott, E. C. Böttger, y P. Sander. 2001. Mechanisms of streptomycin resistance: selection of mutations in the 16S rRNA gene conferring resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45:2877–2884.
- Stabb, E.V., y J. Handelsman. 1998. Genetic analysis of zwittermicin A resistance in *Escherichia coli*: effects on membrane potential and RNA polymerase. *Molecular Microbiology* 27:311–322.
- Snyder, L., y W. Champness. 2003. *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, Washington, DC.
- Taniguchi, H. H. Aramaki, Y. Nikaido, Y. Mizuguchi, M. Naka-mura, T. Koga, y S. Yoshida. 1996. Rifampicin resistance and mutation of the *rpoB* gene in *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS Microbiological Letters* 144:103–108.
- Tankovic, J., D. Lamarque, J.-C. Delchier, C.-J. Soussy, A. Labigne, y P.J. Jenks. 2000. Frequent association between alteration of the *rdxA* gene and metronidazole resistance in French and North African isolates *Helicobacter pylori*. *Anti-microbial Agents and Chemotherapy* 44:608–613.
- Top, E.M., Y. Moëne-Loccoz, T. Pembroke, y C.M. Thomas. 2000. Phenotypic traits conferred by plasmids. In Thomas, C.M. (editor), *The Horizontal Gen Pool*, pp. 249–285. Harwood Academic, Amsterdam, The Netherlands.
- Vannuffel, P., M. Di Giambattista, E.A. Morgan, y C. Cocito. 1992. Identification of a single base change in ribosomal RNA leading to erythromycin resistance. *Journal of Biological Chemistry* 267:8377–8382.
- Wang, G., T. J. M. Wilson, Q. Jiang, y D.E. Taylor. 2001. Spontaneous mutations that confer antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45:727–733.
- Wichelhaus, T.A., B. Böddinghaus, S. Besier, V. Schäfer, V. Brade, y A. Ludwig. 2002. Biological cost of rifampin from the perspective of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46:3381–3385.
- Williams, D.L., L. Spring, L. Collins, L.P. Miller, L.B. Heifets, P.R.J. Gangadharam, y T.P. Gillis. 1998. Contribution of *rhoB* mutations to development of rifampin cross-resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42:1853–1857.
- Willmott, C.J.R., y A. Maxwell. 1993. A single point mutation in the DNA

gyrase A protein greatly reduces the binding of fluoroquinolones to the gyrase-DNA complex. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37:126–127.
Yigit, H., G. J. Anderson, J. W. Biddle, C. D. Steward, J. K. Rasheed, L.L. Valera, J.E. McGowan, y F.C. Tenover. 2002. Carbapenem resistance in a clinical isolate of *Enterobacter aerogenes* is associated with decreased expression of OmpF and OmpC porin analogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46:3187–3822.

Zarantonelli, L., G. Borthagaray, E.-H. Lee, y W. M. Shafer. 1999. Decreased azithromycin susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* due to *mtrR* mutations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43:2468–2472.

Zengel, J.M., R. Young, P.P. Dennis, y M. Nomura. 1977. Role of ribosomal protein S12 in peptide chain elongation: analysis of pleiotropic, streptomycin-resistant mutants of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 129:1320–1329.

Título: *La resistencia de las bacterias a los antibióticos —¿un ejemplo apropiado de cambio evolutivo?*
Título original: *Is Bacterial Resistance to Antibiotics an Appropriate Example of Evolutionary Change?*

Autor: Kevin L. Anderson, Ph. D.

Fuente: *Creation Research Society Quarterly*, Vol. 41(4)318-326, marzo de 2005

© Copyright 2005, Creation Research Society

6801 N. Highway 89

Chino Valley, AZ 86323 - EE. UU.

Traducción del inglés: Santiago Escuin

© Copyright 2005, SEDIN - todos los derechos reservados.

SEDIN-Servicio Evangélico / Documentación / Información

Apartado 126

17244 Cassà de la Selva

(Girona) ESPAÑA

**Se puede reproducir en todo o en parte para usos no comerciales,
a condición de que se cite la procedencia reproduciendo íntegramente lo anterior y esta nota.**