

Shrnutí vzniku a mechanismu rezistence vůči těžkým kovům

Matěj Sklenář^a, Dagmar Chudobová^a, Kristýna Číhalová^a, Marie Konečná^{a,b}, Vojtěch Adam^{a,b}, René Kizek^{a,b}

^a Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

^b Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Technická 10, 616 00 Brno, Česká republika

REVIEW: General Mechanisms of Microbial resistance to metals

In this review is presented general mechanism of bacterial resistance against metals. Bacteria was adapting to outer conditions during the evolution. Ability of resistance is carried by genetic informations in DNA which may be located in different parts of cell. According to character of resistance there are different localization of genetic information where metal resistance is coded. It depends on the fact if the metal is essential or non-essential (plasmid, chromosome, transposome). There are six postulated mechanisms of metal resistance in microorganisms, metal exclusion by permeability barrier, active transport of metal away from the cell, intracellular sequestration of the metal by protein binding, extracellular sequestration, enzymatic detoxification to less toxic form, reduction in metal sensitivity of cellular targets.

Přijato k publikování: 27. 2. 2014

Klíčová slova: bakteriální rezistence, mechanismus rezistence, těžké kovy, toxicita kovů

Úvod

Bakteriální rezistence představuje závažný globální problém pro lidskou populaci, nejvíce v oblasti zdravotnictví¹. Týká se všech hlavních bakteriálních patogenů, které se snadno šíří pomocí kapénkové infekce². V dnešní době se napříč odbornou zdravotnickou veřejností diskutuje o antibiotické rezistenci jako o zásadním problému. V posledních letech probíhá výzkum léčiv alternativních k dosud využívaným antibiotikům³. Antimikrobiální účinky kovů jsou známy již z minulosti a díky moderním technikám na bázi nanotechnologie je možné vytvářet jejich nanočástice, čímž je dosaženo zvýšené antimikrobiální aktivity⁴. Nanočástice se díky svým velmi malým rozměrům a velkou aktivní plochou ve srovnání s běžnými částicemi kovů snáze distribuují v lidském organismu⁵. Pro udržení funkčnosti těchto léčiv po co nejdéle dobu je nutné zahájit výzkum zabývající se vznikem bakteriální rezistence vůči iontům těžkých kovů. Výzkum vychází ze základních poznatků, jako princip vstupu kovu do buňky a mechanismus, kterým kov buňku eliminuje⁶. Dalším cenným zdrojem informací jsou poznatky z oboru ekologie, kde bylo vynaloženo velkých prostředků na výzkum bakteriálních kmenů v oblastech znečištěných těžbou kovů apod. Antibiotická i kovová rezistence jsou obě geneticky podmíněné, jejich informace je uložena v některé z buněčných částí. Geny uložené v chromosomech, plasmidech nebo transpozomech kódují rezistenci vůči

specifickému kovu⁷. Většina kovů však esenciálních není a jsou pro bakterie potenciálně toxické. Při vysoké koncentraci jsou i esenciální kovy pro buňku toxické a mohou narušovat cytoplazmatickou membránu⁸.

Přítomnost kovů v půdě vytváří stresové podmínky pro bakteriální kmeny. Tento proces vede k postupnému vývoji rezistence k téměř všem toxickým kovům⁹. Bakteriální rezistence vůči kovům je heterogenní jak v biochemické, tak genetické podstatě. Od 70. let minulého století bylo identifikováno několik mikroorganismů rezistentních vůči kovům. Tyto studie se týkaly především aerobních bakterií *Staphylococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Bacillus sp.*¹⁰⁻¹⁴. Systém kovové rezistence se pravděpodobně vyvinul krátce po vzniku prokaryotického života a v současnosti se nachází téměř u všech bakteriálních druhů¹⁵. Kovová rezistence v mnoha případech spojena s antibiotickou^{10,16-18}. Tyto dvě rezistence jsou distribuovány mezi jinými populacemi konjugací nebo transdukci¹².

Mechanismus toxicity kovu a vstup kovu do buňky

Mechanismus toxicity kovů v buňce je dán interakcí konkrétního kovu se specifickým biologickým druhem⁹. Kovy vstupují do buňky dvěma způsoby¹⁹. Prvním způsobem, skrze nesespecifické transportéry, se do buňky dostávají nejen esenciální, ale i těžké kovy²⁰. Tato cesta umožňuje rychlý transport kovů do

buňky přes cytoplazmatickou membránu, je řízena chemoosmotickým gradientem buňky²¹. K transportu kovu do buňky však dochází i ve stavu přebytku kovu v buňce. Tento systém se nazývá „open gate“, při tomto transportu může dojít k průniku těžkého kovu do buňky a oškodit ji. Druhý způsob, specifický transport iontů, který je oproti prvně jmenovanému pomalejší, spotřebovává energii a probíhá pouze v situaci potřeby, jako je nedostatek výživy či jiných esenciálních látek²². Hlavním mechanismem toxicity je lipidová peroxidace, kdy probíhá přímá reakce kyslíku s vícenenasycenými mastnými kyselinami, částmi lipidové membrány, vedoucí k tvorbě radikálových meziproduktů. Tyto radikály snadno reagují s orgány buňky a dochází k jejich poškození. Železo nebo měď mohou fungovat jako katalyzátory reakcí, při kterých dochází k tvorbě radikálů. Ve výsledku dochází k tvorbě vysoce toxických hydroxylových radikálů. Tyto radikály jsou vysoce reaktivní a interagují s jakýmkoliv biologickými molekulami v bezprostředním okolí. Kovové ionty snižují nebo zvyšují enzymatickou aktivitu nebo mění enzymovou specifitu pomocí indukční konformace.

Regulace esenciálních a neesenciálních kovů rozdílnými způsoby

Některé kovy jsou důležité pro výživu buňky, nazýváme je esenciální, v nadbytku však mohou být toxické¹⁵. Působení kovu na buňku tedy není pouze negativní. Esenciální kovy (např. kobalt, měď a nikl) fungují ve stopovém množství jako redoxní činidla k stabilizaci molekul nebo při elektrostatické interakci jako součást enzymů pro regulaci osmotického tlaku. Mezi rezistencí zprostředkovanou chromosomy a plasmidy jsou značné rozdíly. Gen rezistence na chromosomu obvykle zodpovídá za regulaci nadbytku esenciálních kovů a mechanismus je složitější než u plasmidu. Gen rezistence obsažený v plasmidu pak odpovídá za ochranu před ionty neesenciálních toxických kovů, jedná se o efluxní mechanismus. Efluxní mechanismus přenášený plasmidem zajišťuje snadnou mobilitu v buňce a přenos mezi jednotlivými jedinci, zároveň pro buňku neznamenají zátěž v podobě dalších genů a jsou použity pouze v případech potřeby²³. Mechanismy rezistence nesené pomocí DNA plasmidu jsou nejběžnější, velmi specifické a byly nalezeny u téměř všech studovaných skupin eubakterií^{24,25}. Rezistence vůči kovu a zároveň antibiotiku může být zprostředkována jedním plasmidem¹⁰.

Způsoby ochrany buňky

Buňka se stává rezistentní za účelem ochrany citlivých míst své struktury, toho docílí různými způsoby. Rezistence v buňce může mít různý rozsah, to závisí na následujících faktorech: počet a druh systémů, kterými je kov přijímán¹⁵, způsob interakce kovu v metabolickém systému buňky, funkce kovu v buňce (esenciální x neesenciální) a také schopnost kazety genové rezistence plně se projevit²³. Počet faktorů ovlivní způsob a stupeň ochrany.

Obecné mechanismy rezistence

Je zprostředkována jedním nebo více geny kódovanými chromosomy, plasmidy nebo transposomy. Buňka zajišťuje rezistenci vůči kovům zabráněním nebo omezením přístupu kovu k citlivým částem buňky nebo snížením citlivosti daných částí buňky.

Je stanoveno 6 obecných biochemických mechanismů, které se podílejí na výsledné rezistenci bakterií^{9,23}. Jedná se o vyloučení kovu pomocí propustné bariéry; vyloučení kovu pomocí aktivního transportu z buňky; vnitrobuněčné fyzické odloučení kovu pomocí obalení kovu proteinem, vedoucí k zabránění narušení části buňky, které jsou vůči kovům citlivé; mimobuněčná sekvestrace (vyloučení); průběh chemické reakce, v níž se toxická aktivita kovu sníží a v neposlední řadě snížení citlivosti cílových orgánů buňky, které jsou náchylné vůči působení kovů. Chemická reakce vedoucí ke snížení toxicity dané buňky probíhá zvýšením aktivity alternativní (přepínací) metabolické cesty, která zajišťuje relativní rezistenci vůči kovům. Různé mechanismy rezistence mohou působit samostatně nebo mohou participovat na rezistenci vůči různým kovům v jednom druhu²⁶. Specifická obrana těchto citlivých buněk může být dosažena čtyřmi způsoby: mutací citlivých částí buňky vedoucí k snížení senzitivity bez výrazného ovlivnění jejich běžné funkce; navýšením množství struktur náchylných na kov, buňka tak vytvoří prostor, kde toxická aktivita působí, ale nezničí prostor celý; opravou buněčných komponent, v praxi možné pouze pro DNA²⁷ nebo upravením metabolické cesty za využití plasmidu obsahujícího genetickou informaci pro rezistenci, tak aby toxická aktivita nepůsobila na chromosomální složku, jež odpovídá za slabost buňky²⁸. Tento mechanismus je analogický antibiotické rezistenci proti trimetoprimu.

Závěr

Bakteriální rezistence vzniká přizpůsobením mikroorganismu stresovým podmínkám okolí. Pro úspěšné zavedení kovů nebo jejich nanočástic jako antiseptického činidla místo antibiotik v boji proti bakteriím je nutné znát přesný mechanismus rezistence. Pro stanovení typu mechanismu rezistence by bylo nutné sledovat přímý vývoj tohoto mechanismu. Z teoretických poznatků zmíněných v tomto příspěvku lze odvodit, že pokud by byla sledována genetická informace kultury, která není rezistentní vůči kovu a kultury vystavené umělým stresovým podmínkám v podobě přídatku malé koncentrace kovu v pravidelných intervalech, mělo by docházet u této „stresované“ kultury k tvorbě rezistence, a tudíž genovým změnám. V případě zkoumání kovu esenciálního pro bakterie by docházelo ke změnám na chromosomální DNA a v případě neesenciálních kovů v kruhové DNA plasmidu. Sledováním změn v sekvenci nukleových kyselin odpovědných za rezistenci by bylo možné zcela pochopit její mechanismus.

Tato práce byla podpořena grantem NanoCeva TA ČR TA01010088.

Literatura

- Paterson G. K., Harrison E. M., Holmes M. A.: Trends in Microbiology, 22, 42 (2014).
- O'Grady K. A. F., Whiley D. M., Torzillo P. J., Sloots T. P., Lambert S. B.: BMC Infectious Diseases, 13, (2013).
- Rasool R., Hasnain S., Nishat N.: Designed Monomers and Polymers, 17, 217 (2014).
- Magdolenova Z., Collins A., Kumar A., Dhawan A., Stone V., Dusinska M.: Nanotoxicology, 8, 233 (2014).
- Kanmani P., Rhim J. W.: Food Chemistry, 148, 162 (2014).
- Passow H., Rothstein A.: Journal of General Physiology, 43, 621 (1960).
- Altimira F., Yanez C., Bravo G., Gonzalez M., Rojas L. A., Seeger M.: BMC Microbiology, 12, (2012).
- Gutteridge J. M. C., Halliwell B.: Trends in Biochemical Sciences, 15, 129 (1990).
- Rouch D. A., Lee B. T. O., Morby A. P.: Journal of Industrial Microbiology, 14, 132 (1995).
- Nakahara H., Ishikawa T., Sarai Y., Kondo I., Kozukue H., Silver S.: Applied and Environmental Microbiology, 33, 975 (1977).
- Marques A. M., Congregado F., Simonpujol D. M.: Journal of Applied Bacteriology, 47, 347 (1979).
- Harnett N. M., Gyles C. L.: Applied and Environmental Microbiology, 48, 930 (1984).
- Belliveau B. H., Starodub M. E., Trevors J. T.: Canadian Journal of Microbiology, 37, 513 (1991).
- Wang Y. T., Shen H.: Journal of Industrial Microbiology, 14, 159 (1995).
- Silver S., Ji G. G.: Environmental Health Perspectives, 102, 107 (1994).
- Harnett N. M., Gyles C. L.: Applied and Environmental Microbiology, 48, 930 (1984).
- McEntee J. D., Woodrow J. R., Quirk A. V.: Applied and Environmental Microbiology, 51, 515 (1986).
- Schwarz S., Blobel H.: Journal of Veterinary Medicine Series B-Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health, 36, 669 (1989).
- Nies D. H., Silver S.: Journal of Industrial Microbiology, 14, 186 (1995).
- Schreurs W. J. A., Rosenberg H.: Journal of Bacteriology, 152, 7 (1982).
- Nieboer E., Richardson D. H. S.: Environmental Pollution Series B-Chemical and Physical, 1, 3 (1980).
- Nies D. H.: Applied Microbiology and Biotechnology, 51, 730 (1999).
- Silver S., Walderhaug M.: Microbiological Reviews, 56, 195 (1992).
- Misra T. K., Brown N. L., Fritzinger D. C., Pridmore R. D., Barnes W. M., Haberstroh L., Silver S.: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences, 81, 5975 (1984).
- Ji G. Y., Silver S.: Journal of Industrial Microbiology, 14, 61 (1995).
- Bagg A., Neilands J. B.: Biochemistry, 26, 5471 (1987).
- Braun V., Gunter K., Hantke K.: Biology of Metals, 4, 14 (1991).
- Cervantes C., Silver S., Inorganic cation and anion transport-systems of Pseudomonas, Amer Soc Microbiology, Washington, 1990.



Článek je volně šiřitelný pod licencí Creative Commons (BY-NC-ND).

Musí však být uveden autor a dokument nelze měnit a používat pro komerční účely.