

Horizontální přenos genetické informace a jeho význam pro vznik antibiotické rezistence

Vladimír Bencko¹, Petr Šíma²

¹Ústav hygieny a epidemiologie 1. LF UK a VFN, Praha

²Laboratoř imunoterapie, Mikrobiologický ústav, v. v. i. AV ČR, Praha

Adresa pro korespondenci:

Prof. MUDr. Vladimír Bencko, DrSc.

Ústav hygieny a epidemiologie, 1. LF UK a VFN

Studničkova 7, Praha 2 128 00

vladimir.bencko@lf1.cuni.cz

SOUHRN:

Genetická informace se mezi organismy přenáší dvěma cestami. Vertikálně tj. z generace na generaci (z rodičů na potomky) a horizontálně (laterálně), přímou výměnou genetického materiálu přes druhové bariéry. Jsou to především prokaryota, u nichž je výměna genů nebo celých genových úseků horizontálním přenosem zcela běžná. Mohou tak dynamicky a v relativně krátkém čase vznikat vysoce rozmanité genomy, což vertikální přenos neumožňuje. Díky tomu mohou prokaryota rychle nabývat nové vlastnosti včetně virulence a patogenity, a také rezistence na toxiny včetně antibiotik, které zvyšují jejich adaptabilitu. Proto jsou reinfekce rezistentními mikroorganismy vždy obtížněji léčitelné, než infekce vyvolané nerezistentními bakteriemi.

Antibiotická rezistence dnes představuje globální problém zdravotnictví. Nejenže se zvyšuje incidence onemocnění vyvolaných rezistentními patogenními kmeny bakterií, ale také neúměrně stoupají náklady na léčbu, prodlužuje se doba hospitalizace a nezřídka narůstá i úmrtnost. Proto je třeba při indikaci antibiotické terapie mít stále na paměti, že nadužívání, či zneužívání antibiotik přispívá k šíření genů, jež antibiotickou rezistenci kódují. Stejně to tak platí pro aplikace antibiotik ve veterinární medicíně, zemědělství včetně akvakultur, nebo v potravinářském průmyslu.

KLÍČOVÁ SLOVA

horizontální přenos genetické informace – endosymbióza - rezistence na antibiotika - rizika vzniku a šíření antibiotická rezistence - možnosti prevence antibiotické rezistence

SUMMARY

Bencko V., Šíma P.: A horizontal transmission of genetic information and its importance for development of antibiotics resistance

Genetic information is transmitted through two pathways among organisms. Vertically, from generation to generation (from parents to progeny) and horizontally (laterally), by direct exchange of genetic material across species barriers. These are primarily prokaryotes, in which the exchange of genes or whole gene segments by horizontal transmission is quite common. They can dynamically and in a relatively short time generate highly diverse genomes, which does not allow the vertical transmission. As a result, prokaryotes can rapidly acquire new properties such as virulence and pathogenicity, as well as resistance to toxins, including antibiotics, by which they increase their adaptability. Therefore, reinfection-resistant microorganisms are always more difficult to treat than infections caused by non-resistant bacteria.

Antibiotic resistance today is a global problem of health care service. Not only does the number of diseases caused by resistant pathogenic strains of bacteria increase, but also the cost of treatment increases disproportionately, the length of hospitalization is prolonged, and mortality is often rising. Therefore, when indicating antibiotic therapy, it is important to keep in mind that both overuse and abuse of antibiotics contribute to the spread of antibiotic resistance genes. This is equally true for antibiotic applications in veterinary medicine, agriculture, including aquacultures, or in the food industry.

KEYWORDS

horizontal transmission of genetic information - endosymbiosis - antibiotic resistance - risks of the emergence and spread of antibiotic resistance - prevention of antibiotic resistance

HISTORIE POZNÁVÁNÍ HORIZONTÁLNÍHO PŘENOSU GENETICKÉ INFORMACE (HGT, Horizontal Gene Transport)

Endosymbióza

Myšlenka o možnosti symbiózy dvou nebo více nepříbuzných organismů, dokonce prokaryontního a eukaryontního, při níž, jak se předpokládalo, musí docházet k obousměrné výměně genetické informace, se objevila už daleko dříve. V roce 1867 publikoval S. Schwendener hypotézu o soužití houby a řasy v rámci jednoho organismu, lišejníku (1). Později H. A. de Bary (1879) zavedl a definoval pojem symbiózy (2). V prvním decenniu 20. století publikoval C. S. Merežkovskij studie, v nichž vyslovil názor, že chloroplasty vznikly endosymbiózou sinic (3,4). Na základě svých dalších pozorování později definoval teorii o endosymbióze organismů (5). Ještě později přisoudil symbióze klíčovou úlohu při

vzniku druhů I. E. Wallin (6,7). V roce 1977 publikovali C. R. Woese a G. E. Fox své nálezy, potvrzující že mitochondriální a chloroplastová rRNA je více bakteriální než eukaryotická (8,9). Na základě dalších publikovaných prací různých autorů a hlavně na základě svých výzkumů uveřejnila v roce 1967 L. Margulisová (ještě pod jménem Saganová) práci o původu mitotické buňky (10), a v r. 1993 svou definitivní teorii, podle níž mnohobuněčné organismy vznikly asi před 1,5 miliardou let splynutím původně různých, zcela nepříbuzných organismů (11). Dnes je díky srovnávacímu studiu genomů zcela přesvědčivě prokázáno, že nejenže např. mitochondrie, plastidy (chloroplasty) a jiné nitrobuňčné organely byly některou endosymbiotickou událostí vřazeny do eukaryotických buněk, ale také, že cizí geny, nebo celé sekvence genů se podobnými mechanismy inkorporovaly do jaderného genomu příjemce.

Nukleové kyseliny jako nositelky dědičnosti

V r. 1869 izoloval J. F. Miescher z jader leukocytů látku, kterou nazval nuklein. V podstatě to byla směs RNA a DNA, jejichž struktura, či funkce mu sice nebyla známa, ale tušil, že by nuklein mohl hrát úlohy v dědičnosti (12,13). Trvalo tři čtvrtiny století, než práce Averyho výzkumné skupiny v roce 1944 přinesly důkaz, že dědičnost je zakódována v DNA (14). Jejich závěry nebyly vůbec brány na vědomí, protože se podle tehdejší tetranukleotidové hypotézy myslelo, že nukleové kyseliny jsou tvořeny stále se opakujícími sekvencemi čtyř bází, kterým se nepřisuzovaly žádné genetické funkce, a za geny jako nositele dědičnosti byly považovány proteiny.

První průkazy horizontální genetické transformace (HGT)

Výzkumy Averyho navazovaly na starší Griffithovy práce (15), dnes známé jako „Griffithův experiment“*, které prokázaly s definitivní platností, že bakterie přijímají cizorodý genetický materiál z okolního prostředí, nebo od jiných, dokonce taxonomicky nepříbuzných organismů. a vestavují jej do svého genomu. Do té doby byli mikrobiologové přesvědčeni, že bakterie jsou geneticky stabilní, že se z jedné generace na druhou nemění, a tudíž nemohou měnit ani své vlastnosti (patogenitu, virulenci). Griffithův pokus tedy představoval v podstatě jeden z prvních průkazů HGT, který se tradičně označuje jako transformace (viz níže). Přestože Griffithovy a Averyho experimenty znamenaly revoluční obrat v interpretaci nových poznatků o dědičnosti, byly ve své době naprosto ignorovány. Že transformace probíhá také u eukaryot, bylo prokázáno až více jak za půl století (16). Dnes víme, že k HGT dochází u organismů všech tří domén: *Archaea*, *Bacteria* a *Eukaryota* (17,18). Koncept HGT rovněž přispěl k objasnění a lepšímu pochopení různých

způsobů jak je získávána a přenášena rezistence vůči antibiotickým látkám, která se vždycky v přírodě vyskytovala, a která se stala relevantní zejména po objevení penicilinu a dalších antibiotik (19).

*) Griffith ve svém experimentu použil dvě formy bakterií pneumokoků (*Streptococcus pneumoniae*), které jsou patogenní pro myši: S formu, která byla pro zvířata virulentní, a R formu, která byla nevirulentní. Baktérie S produkují polysacharidovou kapsuli, která bakterie ochraňuje před imunitním systémem hostitele, což vede k jeho usmrcení, zatímco forma R kapsuli nevytváří a je z těla eliminována. Griffith S baktérie tepelně usmrtil a přidal je k živým R bakteriím. Mrtvé S baktérie myším samy neublížily, ale směs mrtvých S a živých R bakterií je zabíjela. Usmrcené S formy injikované myším nějakým způsobem transformovaly neškodné R baktérie na virulentní S formy. Z krve usmrcených myší pak izoloval živé S i R formy. Transformace byla trvalá, potomstvo transformovaných mikrobů bylo rovněž v S formě. Prokázal také, že transformaci lze provést i *in vitro* smícháním živých bakterií R s bezbuněčným extraktem z S forem. Vyslovil hypotézu, že při kultivaci mrtvých S se živými R došlo k přeměně avirulentního R kmene na virulentní S kmen za pomoci nějakého faktoru. Dnes víme, že Griffithův faktor je DNA bakterií S, kterou vyšší teplota na rozdíl od proteinů bakteriální buňky nepoškodila, a která se při kokultivaci usmrcených S forem s živými R bakteriemi inkorporovala prostřednictvím HGT do jejich genomu.

CO JE HGT

Obecně se za HGT považuje přenesení nebo výměna genetického materiálu z jednoho nebo více taxonomicky nepříbuzných organismů na jednoho nebo více taxonomicky nepříbuzných organismů, resp. vzájemně mezi nimi (20). HGT přes druhové bariéry je zprostředkován buď splýváním celých genomů dvou či více organismů nebo vkládáním rozsáhlejších genomových oblastí neboli genových kazet. Anebo jde jen o jednotlivé geny či jejich části (jednotlivé nukleotidové báze). V tomto případě jsou vektorem viry (bakteriofágy) a konjugační plasmidy, což jsou extrachromozomální DNA sekvence, nebo mobilní genetické elementy jako jsou genomické ostrovy (21) a jejich podmnožiny, ostrůvky patogenity (22), DNA transpozóny, retrotranspozóny (19, 23) a integróny, které jsou zvláště odpovědné za šíření rezistence vůči antibiotikům (24,25).

HGT se uskutečňuje čtyřmi základními mechanismy, transformací, konjugací, transdukcí a transpozicí.

Transformace: je přenos genetického materiálu z okolního prostředí do buňky. U bakterií je běžná (15,14). Transformace je aktivní proces, který vyžaduje expresi membránových markerů nutných pro přenos DNA (26). Často se používá při genetických *in vitro* manipulacích.

Konjugace: je přenos genetického materiálu prostřednictvím plasmidu nebo jiného mobilního elementu, který do příjemcovské buňky přechází proteinovým vláknem (pilus) z dárcovské buňky při vzájemném kontaktu. Poprvé byla popsána v roce 1946 (27, 28). Jde o přenos analogický sexuálnímu spojení, ale nesplývají při něm pohlavní buňky. Konjugace je považována za hlavní mechanismus při přenosu virulence a hlavně rezistence vůči antibiotikům (23,29).

Transdukce: je přenos genetického materiálu z jedné bakterie do druhé prostřednictvím bakteriofágů. Na začátku padesátých let minulého století ji popsali N. D. Zinder a J. Lederberg (30). Gen dárcovské buňky je sbalen dovnitř viru a přenesen do příjemcovské buňky (26).

Transpozice: je přenos genetického materiálu na jiné místo genomu, buď autonomně, nebo pomocí mobilních elementů (transpozonů). Vyvolává změny genové exprese (aktivace, inaktivace) a mutace popsána B. McClintockovou v r. 1938 (31). (viz níže).

Z dnešního pohledu se může pro neodborníka jevit mechanismus asexuálního přenosu genetické informace, tedy HGT, prostřednictvím mobilních genetických sekvencí poněkud komplikovaný. V době, kdy se objevily první zmínky o možné existenci tohoto fenoménu, a kdy byla všeobecně a bez výjimek přijímána Morganova hypotéza, že se geny na chromozomech nacházejí v přesně definovaných a neměnných pozicích, bylo nemyslitelné,

že by některé fenotypické vlastnosti mohly být kódovány volnými geny nevázanými v jaderné DNA. Za objevitelku mobilních genetických elementů, transpozonů, neboli „skákájících genů“ je považována B. McClintocková, která vysvětlila nepravidelné barevné odlišnosti kukuřičných zrn pomocí tzv. transpozice (31, 32). Její práce nebyly vůbec brány vážně, až teprve další molekulárně genetické experimenty tyto objevy plně potvrdily. Postupně se ukázalo, že transpozony nemají jen rostliny, ale i bakterie a živočichové.

HGT U PROKARYOT

Prokaryota jsou genetickými inženýry už stamiliony let. Rozstřihávají, přestavují a spojují geny, genové kazety i celé genomy. Pro tyto vysoce promiskuitní organismy znamená sex a infekce totéž: tok genetické informace. HGT probíhá bez jakéhokoliv imunitního

rozpoznávání a je u nich univerzálním prostředkem jak reorganizovat své genomy, aby získaly nové metabolické reakce, nové vlastnosti jako patogenitu a virulenci, a také rezistenci na různé chemické látky vyskytující se v prostředí, včetně antibiotik.

HGT U EUKARYOT

Eukaryota vyměňují geny endosymbioticky mezi jadernou DNA a DNA mitochondrií, chloroplastů a jiných organel (viz výše). Jaderné buňky téměř všech mnohobuněčných organismů, živočichů i rostlin včleňují cizorodé geny do své DNA velmi účinně prostřednictvím svých DNA provirů, o nichž se předpokládá, že to jsou pozůstatky virových genomů infekčních virů, které buňky nakazily. Ovšem pravděpodobnost, že se tyto geny stanou trvalou součástí vlastního genomu je malá, protože tyto cizorodé genové sekvence jsou neutralizovány (metylací), nebo jinak inaktivovány a vystřiženy z genomu. Vektorem přenosu cizích genů do eukaryotních organismů jsou často retroviry, které se dnes používají v genovém inženýrství pro arteficiální vnášení genů. Jako ilustraci integrace bakteriálních genů lze připomenout jeden z nejpočetnějších taxonů hmyzu, brouky (*Coleoptera*), kteří tvoří kolem 60% všech druhů hmyzu a neuvěřitelných 20% všech dodnes známých druhů živočichů. Brouci vestavěli do svých genomů bakteriální geny v obzvláště mimořádném rozsahu. Nacházejí se prakticky ve všech jejich tkáních a jsou dalším generacím předávány z rodičů na potomstvo, tedy vertikálně. Na začátku 21. století identifikovala N. Kondoová 11 genů bakterie rodu *Wolbachia* v genomu brouka *Callosobruchus chinensis*, která je také endosymbiotem jiných druhů hmyzu (33). To byl přímý průkaz HGT z prokaryotního symbionta do jaderné DNA eukaryotického hostitele. Zdá se tedy, že právě HGT přispěl převažující měrou k ohromné druhové variabilitě brouků.

ZDROJE GENETICKÉ INFORMACE

Bakteriální i eukaryotické buňky nejenže geny přijímají a vestavují, ale i naopak, vlastní nukleové kyseliny vylučují, nebo se do prostředí dostávají z mrtvých buněk. Celé molekuly nukleových kyselin, jejich části i jednotlivé nukleotidy se ve vysokých koncentracích vyskytují ve vodním prostředí a v půdě, kde nejen žije, ale i umírá ohromné množství prokaryotních i eukaryotních organismů. Cizí motivy nukleových kyselin tak mohou přetrvávat jako samostatné sekvence genů ve formě výše zmíněných různých formách mobilních genetických elementů po dlouhé časové úseky.

Genetický materiál, tedy nukleové kyseliny jsou také přijímány ve formě potravy jako tzv. dietární nukleotidy (dNT) (34, 35). V trávicím ústrojí živočichů se nacházejí enzymy,

keré nutriční nukleoproteiny a dNT štěpí na oligonukleotidy a jednotlivé nukleotidy (nukleozidy). Přes buňky zažívacího ústrojí pak přecházejí do krevního a mízního oběhu a jsou roznášeny po těle, kde jsou využívány pro růst a obnovu veškerých tkání. Protože se dNT při mitóze vestavují do jaderné DNA replikující se buňky, je vysoce pravděpodobné, že se jimi může přenášet i genetická informace, včetně genů antibiotické rezistence.

ANTIBIOTIKA

Nebude zcela neúčelné připomenout si krátce historii antibiotik. Jakmile byla ke konci 19. století všeobecně přijata teorie původu nakažlivých nemocí bylo zřejmé, že přežití či nepřežití infekce je dáno vrozenými obrannými schopnostmi organismu, které dnes zahrnujeme pod pojmem imunita, ale tento termín se objevil v Index Medicus až v roce 1910. Protože ne vždy došlo k samovolnému, spontánnímu vyléčení, začaly se hledat léky, které by infekční mikroorganismy usmrcovaly. To, že živé organismy produkují látky, které umožňují jejich přežití tím, že zabíjejí jiné, invazivní organismy, si jako jeden z prvních uvědomil J. P. Vuillemin, který v roce 1889 tento fenomén pojmenoval „antibióza“ (36). Termín „antibiotikum“ však zavedl objevitel streptomycinu S. A. Waksman až v r. 1941, který jej navrhl pro označení látek vykazujících antimikrobiální účinky (37). Ovšem je třeba přiznat, že antibiotika byla užívána již do starověku, aniž se vědělo o jejich účincích. Např. stopy tetracyklinu byly identifikovány už v egyptských a peruánských mumiiích, a ve středověku se léčily hnisající rány plesnivým chlebem nebo se obvazy impregnovaly různými bylinnými extrakty. Geny rezistence vůči celé řadě moderních antibiotik včetně penicilinu, teracyklinu, vankomycinu, chloramfenikolu, makrolidům a dalším byly identifikovány ve 30 000 let starých sedimentech, i ve střevech a v ústní dutině mumií (38, 39, 40).

Prvním antibiotikem, které bylo užito pro léčbu bakteriálních onemocnění byla pyocyanáza, která zabíjela patogenní původce antraxu, tyfu, záškrty a moru. Byla izolována z kultur *Bacillus pyocaneus* (dnes *Pseudomonas aeruginosa*) a po klinických zkouškách v r. 1889 uvedena do klinické praxe (41). Měla však vedlejší toxické účinky a přesto se používala až do r. 1913. Málo se ví, že více jak třicet let před objevem penicilinu byly detailně popsány látky z plísní, které vykazovaly velmi podobné antibiotické účinky (42).

Penicilin byl objeven A. Flemingem v r. 1928, ale jeho purifikace a příprava pro průmyslovou výrobu zpozdila jeho užití v klinické praxi až do počátku čtyřicátých let (43). Ukázalo se, že nově zavedený lék má překvapující léčebné vlastnosti. Už jeho relativně nízké dávky rychle potlačovaly bakteriální infekce. Navíc neměl vedlejší negativní účinky,

ani nepoškozoval tkáň. Věřilo se, že penicilin znamená průlom v léčení infekčních chorob a že jeho všeobecné zavedení povede k vymizení těchto onemocnění a zbaví lidstvo hrozby vracejících se epidemií a pandemií. Avšak tato optimistická očekávání se nesplnila.

Postupně se zázračný penicilin stával méně účinným díky jeho masovému užívání často i na léčbu virových infekcí, což se ukázalo kontraproduktivní, protože dnes víme, že antibiotika virocidní účinky mít nemohou. Nejen toto nadužívání, ale také terapie nízkými dávkami vedly ke vzniku bakteriálních kmenů rezistentních antibiotikům. Varoval před tím už Fleming sám, když v interview pro The New York Times z 26. 6. 1945 prohlásil, že *„největším zlem samovolné terapie je užívání nízkých dávek, jehož následkem se mikroby místo zdolání infekce natrénují jak penicilinu vzdorovat, v těle se pak pomnoží, přejdou na další jedince, od nich zase na další, až nakonec u některého vyvolají sepsi nebo pneumonii, kterou už penicilin nebude schopn vyléčit.“*

REZISTENCE NA ANTIBIOTIKA

V průběhu léčby antibiotiky dochází k vzniku rezistentních, zejména střevních bakterií, které se dostávají do vnějšího prostředí, kde předávají geny rezistence dalším bakteriálním druhům. O rychlosti šíření antibiotické rezistence si lze udělat představu z údajů, které shromažďuje mezinárodní síť národních systémů surveillance antibiotické rezistence (v Evropě např. EARS-Net, European Antimicrobial Surveillance Network). Příklad jednoho z nejrozsáhlejšího epidemického šíření plasmidů popsali T. O'Brien se spolupracovníky v roce 1985 (44), kteří zjistili vzájemnou podobnost multirezistentního plasmidu izolovaného z jednoho z jejich pacientů s jiným plasmidem, který byl detegován pět let před tím v Seattlu (Washington) a který se mezitím dostal do dalších devíti amerických států a dokonce byl vysledován až v Caracasu ve Venezuele.

Jako ilustraci rychlosti šíření rezistence k penicilinu jen v nemocničním prostředí lze uvést bakterii *Staphylococcus aureus*. Na začátku 40. let minulého století bylo v Anglii identifikováno méně než 1% rezistentních kmenů *S. aureus*, v roce 1946 už jejich počet vzrostl na 60% (45). Rovněž uvedení streptomycinu, tetracyklinu, chloramfenikolu a erytromycinu jako léčby infekcí způsobených penicilin-rezistentními stafylokoky, bylo téměř bezprostředně následováno objevením se rezistentních kmenů *S. aureus* k těmto antibiotikům (46).

RIZIKA VZNIKU A ŠÍŘENÍ REZISTENCE

Nejvíce podporuje šíření rezistence nejen na penicilin, ale v podstatě také na všechna dnes používaná antibiotika jejich nesprávné předepisování, paradoxně jak v nízkých, tak ve

vysokých dávkách, anebo příliš dlouhá nebo naopak krátká doba jejich užívání. Rovněž v zemích, kde lze antibiotika koupit bez lékařského předpisu, nebo kde neexistují standardní léčebné postupy, bývají antibiotika zbytečně aplikována třeba i na banální případy, a často nadměrně zneužívána. Samozřejmě že k tomu nikoliv nemalou měrou přispívá i nekontrolovatelné používání antibiotik v potravinářském průmyslu a zejména ve veterinární medicíně a zemědělství. Geny rezistence byly zachyceny i v hnoji hospodářských zvířat (47).

Geny, které kódují rezistenci, se vyskytovaly v biosféře daleko dříve, než se dostaly do bakterií patogenních pro člověka. S největší pravděpodobností vznikly z genů půdních mikroorganismů, které pro zvýšení své adaptability produkovaly látky nesoucí antibiotické vlastnosti. Pravděpodobnost, že by geny rezistence vznikaly *de novo* mutacemi, je téměř mizivá, protože jedna mutace nastává asi na 10^6 dělení, takže by se šířily velmi pomalu. Je to právě HGT, která je příčinou téměř okamžitého šíření rezistence, díky čemuž si bakterie mezi sebou vyměňují plastidy a jiné mobilní genetické elementy nesoucí geny rezistence, aby se chránily před antibiotiky vytvářenými jinými mikroorganismy.

PREVENCE A KONTROLA

Objev antibiotik byl jedním z největších lékařských inovací v dějinách lidstva, ale jejich zneužívání může vést k návratu dříve běžných infekčních nemocí a dokonce k opětovnému šíření nevladatelných epidemií. Proto je zapotřebí, aby se celosvětově změnil způsob, jakým se antibiotika předepisují a precizně definovaly jejich aplikace a nejen to. Protože antibiotická rezistence bude stále přetrvávat, i když se vyvinou nové léky, musí se přijmout účinnější opatření k omezení šíření infekcí vyvolaných bakteriemi, což zahrnuje zavedení ještě účinnějších hygienických a protiepidemických opatření včetně plošné vakcinační strategie proti infekcím, u kterých jsou k dispozici účinné vakcíny.

Řešení problematiky rezistence na antibiotika je prioritou SZO. V roce 2015 schválila „Globální akční plán v oblasti antimikrobiální rezistence“, v němž jsou zahrnuty následující strategické cíle:

- Zlepšit informovanost a porozumění v problematice antimikrobiální rezistence
- Posílit preventivní snahy a výzkum v oblasti antimikrobiální rezistence
- Snížit incidenci infekčních onemocnění
- Optimalizovat používání antimikrobiálních léků
- Zajistit udržitelné investice pro boj proti antimikrobiální rezistenci

(Antibiotic resistance. World Health Organization, [www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/.](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/))

Z hlediska podpory adaptivní, přirozené imunity stojí za pozornost, že současné snahy o výchovu dětí v nadměrné čistotě v až „semi-sterilním prostředí“ jsou kontraproduktivní, nejen z hlediska výskytu alergií a problémů s atopiemi, ale také odolnosti proti běžným infekcím (49).

ZÁVĚR

V současné době představuje antibiotická rezistence globální hrozbu pro zdraví člověka. Zásadní význam pro nové strategie jak rezistenci omezit je detailní objasnění mechanismů HGT, které jsou především odpovědné za její vzniku a šíření. Je zřejmé, že HGT nelze žádným způsobem omezit, či zcela potlačit. Nejenže na naší planetě existuje po miliardy let, ale je také nezbytný pro evoluci nových druhů jak pro- tak eukaryot, takže jej lze považovat za jeden z dalších atributů života (48). Na druhé straně však slibně se rozvíjející genové inženýrství jistě nalezne možnost, jak geny rezistence z mobilních genetických elementů vystříhnout, nebo je nahradit geny neškodnými, či snížit propustnost bakteriálních membrán pro HGT rezistentních genů.

Nové technologie genetické manipulace v tomto smyslu jistě ovlivní konstrukce a vývoj nových, bezpečnějších antibiotik, jejichž modifikované molekuly už nebudou mít schopnost vyvolat vznik genů rezistence. Současná doporučení SZO nabádající omezit užívání antibiotik, zvýšit úroveň hygieny sídlišť a hygienu výživy (tzn. prosazovat optimální nutriční skladbu matky odpovídající metabolickým požadavkům člověka tak, jak se ustálily za dobu jeho evoluce, ale také respektující stravovací kulturní návyky), nebo hledat nové možnosti prevence a terapie infekčních chorob, jsou dnes sice nezbytné, ale z hlediska rozvíjejícího se genového inženýrství se v blízké budoucnosti mohou jevit jen jako doplňkové.

Referát byl vypracován v rámci aktivit podporovaných grantem RVO 61388971 a výzkumným záměrem PROGRES Q29/LF1

Literatura

1. Ainsworth GC. Introduction of the history of mycology, Cambridge University Press, Cambridge, London, New York, Melbourne, 1976.
2. de Bary HA. Die Erscheinung der Symbiose. Strasbourg 1879.
3. Mereschkowski C. Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. Biol Centralbl 25; 1905: 593–604.
4. Mereschkowsky C. Theorie der zwei Plasmaarten als Grundlage der Symbiogenesis, einer neuen Lehre von der Entstehung der Organismen. Biol Centralbl 1910; 30: 353-367.

5. Merezhkovsky KS. La plante considérée comme un complexe symbiotique. Bull Soc Sci Natur l'Quest France 1920; 6:17-98.
6. Wallin IE. Symbioticism and the origin of species. In: Bailliere, Tindall and Cox, London 1927; pp. 171.
7. Wallin IE. Origin of mitochondria from bacterial endosymbionts. In: Symbioticism and the Origin of Species 1927.
8. Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. Proc Natl Acad Sci USA. 1977;74: 5088-5090.
9. Woese CR, Fox GE. The concept of cellular evolution. J Mol Evol 10; 1977:1-6.
10. Sagan L. On the origin of mitosing cells. J Theoret Biol 1967; 14: 225-274.
11. Margulis L. Symbiosis in cell evolution. Freeman WH, New York,1993.
12. James J. Miescher's discoveries of 1869. A centenary of nuclear chemistry. J Histochem Cytochem 1970;18: 217-219.
13. Dahm R. Friedrich Miescher and the discovery of DNA. Dev Biol 2005; 278: 274-288.
14. Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. J Exp Med 1944; 79: 137-158.
15. Griffith F. The significance of pneumococcal types. J Hyg 1928; 27: 113-159.
16. Brinster, RL, Braun RE, Lo D, Avarbock MR, Oram F, Palmiter RD. Targeted correction of a major histocompatibility class II E alpha gene by DNA microinjected into mouse eggs. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 7087-7091.
17. Choi I-G, Kim S-H. Global extent of horizontal gene transfer. Proc Nat Acad Sci USA 2007; 104: DOI: 10.1073/pna.0611557104.
18. Li Z-W, ShenY-H, Xiang Z-H, Zhang Z. Pathogen-origin horizontally transferred genes contribute to the evolution of lepidopteran insects. BMC Evol Biol 2011; 11: DOI: 10.1186/1471-2148-11-356.
19. Lorenz MG, Wackernagel W. Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. Microbiol Rev. 1994; 58: 563-602.
20. Ochman H, Lerat E, Daubin V. Examining bacterial species under the specter of gene transfer and exchange. Proc Natl Acad Sci USA; 2005 102: 6595- 6599.
21. Fernández-Gómez B, Fernández-Guerra A, Casamayor EO, González JM, Pedrós-Alió C, Acinas SG. Patterns and architecture of genomic islands in marine bacteria. BMC Genomics 2012; 13: DOI: 10.1186/1471-2164-13-347.
22. Hacker J., Blum-Oehler G, Mühldorfer I, Tschäpe H. Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. Mol Microbiol 1997; 23: DOI: 10.1046/j.1365-2958.1997.3101672.x.
23. Davidson J. Genetic exchange between bacteria in the environment. Plasmid 1999; 42: 73–91.
24. Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol Microbiol 1995;15: 593-600.
25. Hall R, Collis C, Partridge S, Recchia G, Stokes H. Mobile gene cassettes and integrons in evolution. Ann NY Acad Sci 1999; 870: 68-80.
26. Vogan AA, Higgs PG. The advantages and disadvantages of horizontal gene transfer and the emergence of the first species. Biol Direct 2011; 6: DOI: 10.1186/1745-6150-6-1.
27. Lederberg J, Tatum EL. Gene recombination in Escherichia coli. Nature 1946;158: 558.
28. Tatum EL, Lederberg J. Gene recombination in the bacterium Escherichia coli. J Bacteriol 1947; 53: 673-684.
29. Burrus V, Waldor MK. Shaping bacterial genomes with integrative and conjugative elements. Res Microbiol 2004; 155: 376-386.
30. Zinder ND, Lederberg J. Genetic exchange in Salmonella. J Bacteriol 1952; 64: 679–699.
31. McClintock B. The production of homozygous deficient tissues with mutant characteristics by means of the aberrant mitotic behavior of ring-shaped chromosomes. Genetics 1938; 23: 315–376.
32. McClintock B. The stability of broken ends of chromosomes in Zea mays. Genetics1941; 26: 234-282.

33. Kondo N, Ijichi N, Shimada M, Fukatsu T. Prevailing triple infection with *Wolbachia* in *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Mol Ecol* 2002 11: 167-180.
34. Grimble GK. Why are dietary nucleotides essential nutrients, *Brit J Nutr* 1996; 76: 475-478.
35. Šíma P. Význam nukleotidů jako složky výživy pro růst, regeneraci a imunitu, *Interní Medicina* 2008; 10: 555-557.
36. Vuillemin P. Antibiose et symbiose. *C R Assoc Fr Acad Sci* 1889; 2: 525-543.
37. Waksman SA. The microbiology of soil and the antibiotics. In: *The impact of the antibiotics on medicine and society*. International Universities Press, Inc, New York, Gladston I (ed.); 1958.
38. D'Costa VM, King CE, Kalan L, Morar M, Sung WW, Schwarz C, Froese D, Zazula G, Calmels F, Debruyne R, Golding GB, Poinar HN, Wright GD. Antibiotic resistance is ancient. *Nature* 2011; 477: 457-461.
39. Wright GD, Poinar H. Antibiotic resistance is ancient: implications for drug discovery. *Trends Microbiol* 2012; 20(4):157–159.
40. Santiago-Rodriguez TM, Fornaciari G, Luciani S, Dowd SE, Toranzos GA, Marota I, Cano RJ. Gut Microbiome of an 11th Century A.D. Pre-columbian andean mummy. *PLoS1* 2015; 10: e0138135. DOI: 10.1371/journal.pone.0138135.
41. Emmerich R, Löw O. Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infektionskrankheiten durch dieselben. *Zeitschr Hyg* 1899; 31: 1–65.
42. Tiberio V. Sugli estratti di alcune muffe. *Ann Igiene Speriment* 1895; 5: 91-103.
43. Fleming A. Penicillin: The Robert Campbell Oration. *Ulster Med J* 1944; 13: 95-122.
44. O'Brien TF, del Pilar Pla M, Mayer KH, Kishi H, Gilleece E, Syvanen M, Hopkins JD. Intercontinental spread of a new antibiotic resistance gene on an eedemic plasmid. *Science* 1985; 230: 67-88.
45. Barber M, Rozwadovska-Dowzenko M. Infection by penicillin-resistant staphylococci. *Lancet* 1948; 255: 641-644.
46. Shanson DC. Short-course treatment of streptococcal endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 1981; 8: DOI: 10.1093/jac/8.6.427.
47. Jing C, Michel Jr FC, Sreevatsan S, Morrison M, Zhongtang Y. Occurrence and persistence of erythromycin resistance genes (ERM) and tetracycline resistance genes (TET) in waste treatment systems on swine farms. *Microbial Ecol* 2010; 60: 479-486.
48. Kaplan T. The role of horizontal gene transfer in antibiotic resistance. *Eukaryon* 2014;10: 80-81.
49. Bencko V, Šíma P. .: Incidence of allergy and atopic disorders and Hygiene Hypothesis. *Clin.Oncol.*2017;2:1 Article 1244 <http://clinicsinoncology.com>