



## Resistance na antibiotika se nevyvinula

Zkombinováno z :

**1) Antibiotic Resistance did not evolve, Brian Thomas, M.S.,** Institute of Creation Research, 5/2011, [www.icr.org](http://www.icr.org)

**2) Antibiotic Resistance, Sean D. Pitman M.D.,** 12/2004, [www.detectingdesign.com](http://www.detectingdesign.com)

Určité skupiny antibiotik už nejsou schopné zlikvidovat některé resistantní kmeny bakterií, např. stafylokoky. Tyto nové kmeny mohou u oslabeného jedince způsobit infekci, pokud se pomnoží v důsledku vybití ostatních, citlivých bakterií antibiotikem. Přestože někteří pozorovatelé vznik bakteriální resistance na antibiotika prezentují jako důkaz evoluce, hloubková analýza dává překvapivé výsledky: naznačuje, že bakterie byly navrženy tak, aby byly schopny se přizpůsobit, a evoluce s tím nemá nic do činění.

Všechny živé buňky musí být schopny vyrábět bílkoviny, a k tomuto používají továrny na bílkoviny zvané ribosomy. Ribosom je v porovnání s ostatními biomolekulami velká struktura, složená z bílkovin a nukleových kyselin. Běžné, na antibiotika citlivé bakterie, které byly zkoumány, produkují enzym zvaný RlmN, který zprovožňuje ribozom přidáním metylové skupiny na uhlík číslo dvě 2503. nukleové kyseliny ribosomu. Antibiotikum zvané methicilin zabíjí bakterie obsazením právě tohoto místa, což jim znemožní výrobu bílkovin.

Resistentní kmeny bakterií jsou namísto enzymem RlmN vybaveny enzymem Cfr. Tento velmi podobný enzym aktivuje ribozom přidáním metylové skupiny na uhlík číslo 8 2503. nukleové kyseliny ribosomu. Cfr tedy vykonává takřka tu samou úlohu jako RlmN, avšak tento nepatrný rozdíl (methylace uhlíku číslo 8 namísto uhlíku číslo 2) umožňuje bakterii přežít v moři methicilinového jedu. Za zmínku též stojí, že tato změna sníží celkovou výkonnost ribozomu resistantní bakterie.

Stal se z enzymu RlmN náhodnými mutacemi a přírodním výběrem enzym Cfr, nebo se tato změna udála skrze předem naprogramované mechanismy?

Biochemici vedeni Penn State's Squire Bookerem pečlivě analyzovali tyto dva enzymy. Jejich studie, publikovaná v Science Express 28. dubna 2011 uvádí, že struktura enzymu Cfr je důsledkem evoluce, která přispívá ke vzniku resistance bakterií na antibiotika (A). Avšak stejní autoři přiznávají, že Cfr enzym vypadá, jako by byl produkován pomocí předem navržených adaptačních mechanismů. To by ovšem znamenalo, že se nevyvinul náhodně.

Jak enzym RlmN, tak Cfr využívají k provedení své přesné chemické reakce (přidání metylové skupiny na ribozom) soustavu čtyř atomů síry navázaných na čtyři atomy železa, uspořádané jakoby v rozích miniaturní krabičky. Autoři studie uvádí, že toto uspořádání je zcela nezbytné, jinak

by ribozom nebyl funkční a buňka by nemohla vyrábět nové bílkoviny.(A). Bez tohoto přesného uspořádání výše zmíněných atomů v místě, které se nazývá „aktivní místo“ enzymu, by buňka zemřela.

Výzkumníci vykreslují scénář, ve kterém se měl enzym RlmN vyvinout do enzymu Cfr. Avšak změny potřebné k přeměně RlmN na Cfr zahrnují ztrátu informace! Genetický kód RlmN v populaci původních, neodolných bakterií, obsahuje proměnné oblasti, které Cfr postrádá. Vypadá to, že RlmN ztratil tyto oblasti a tak se stal enzymem Cfr.

Toto ovšem vůbec nezapadá do velkého obrazu evoluce, který nedokáže vysvětlit, odkud se vzala původní přesná prostorová orientace a elektrostatický povrchový potenciál v těchto životně důležitých enzymech bez dodání informace inteligentním designérem.(A) Evoluci by podporovalo, pokud by organismy vykazovaly neustálé získávání nové (genetické) informace. Avšak změny, které dávají bakteriím nové vlastnosti, jako odolnost na antibiotika nebo schopnost metabolizovat nylon, zahrnují naopak právě ztrátu informace.(B)

Autoři studie uvedli na závěr šokující tvrzení:

Jestliže ztráta těchto motivů (proměnných oblastí) umožňuje Cfr měnit jiné cílové místo (uhlík číslo 8 namísto uhlíku č.2), stojí za povšimnutí vzdálenost tohoto cílového místa od aktivního místa. Je tedy pravděpodobné, že komplex enzym/substrát využívá širší interakční plochu k přesnému řízení vazby substrátu na ribozom a selektivitu vazebného místa.(A)

Jinými slovy, nic se neztratilo z jádra enzymu, které je kritické pro chemickou reakci. Změny proběhly jinde. Jakákoli změna v aktivním místě enzymu by enzym vyřadila z činnosti a nenávratně bakterii poškodila. Namísto toho byly odstraněny jen proměnné oblasti. Takováto změny by nebyla překvapivá u stroje, který byl navržen se schopností úpravy své činnosti bez toho, aniž by byla narušena jeho hlavní funkce. Šance, že by se taková změna udála náhodou, je tak nepatrná, že to ukazuje na záměrný návrh - design.

Zdá se, že enzym RlmN byl naprogramován se schopností upravovat svou funkci dle potřeby, aniž by tato funkce byla narušena. Za schopnost bakterií přežít v prostředí methicilinu je tedy zodpovědné adaptivní naprogramování, ne evoluce. Pokud další výzkum potvrdí tuto schopnost adaptace genetického kódu, bude tento pozoruhodný adaptivní design vysvětlitelný jen geniálním Stvořitelem.

iným příkladem může být resistance na makrolidová antibiotika. Bakterie se stávají na makrolidy (erytromycin, azitromycin aj.) resistantní tak, že je vypumpovávají ven z buňky. Enzymová pumpa dokáže antibiotikum pumpovat ven rychleji, než se antibiotikum v buňce stihá hromadit. Celou operaci má na starost MefE gen. Tento gen kóduje transmembránovou pumpu, která makrolidy pumpuje z buňky ven. Ve skutečnosti je pumpou MefE vybaveno až 85 procent erytromycin-resistantních pneumokoků.(2,7). Jak pumpa MefE, tak i jiné efluxní pumpy, jako např. MtrC-MtrD-MtrE bakterie *Neisseria gonorrhoeae* (tyto Mtr pumpy jsou kódovány mtrRCDE operonem) se už v genomu bakterií nacházely dávno před tím, než člověk vůbec věděl, co jsou to antibiotika. Úkolem mtrCDE pump je exportovat z buňky hydrofobní molekuly, například barviva jako krystalickou violet a další molekuly. Makrolidová antibiotika do této skupiny spadají. Resistance na ně tedy není důsledkem žádné de novo evoluce efluxní pumpy, ale ztrátou regulace exprese mtrCDE v důsledku bodové mutace represoru MtrR regionu, která zvýší množství efluxní pumpy vyráběné bakterií natolik, že bakterie stihá vypumpovat antibiotikum ven dříve, než ji stihne ublížit.(8)

Podobně vzniká resistance na tetracyklinová antibiotika - tetracykliny nedosáhnou v bakteriální buňce potřebné koncentrace, protože jsou buď pumpovány rychle ven, nebo obtížně do buňky pronikají. Oba mechanismy jsou zprostředkovány geny přítomnými na plazmidu.(1) Plazmid je malá negenomová DNA (čili DNA, která není součástí základní DNA bakteriální buňky). Bakterie si dokáží plazmidy předávat navzájem. Opět tedy nejde o vznik nové informace z ničeho, ale pouhý horizontální přenos informace. Ani resistance na tetracykliny tedy není důkazem evoluce.

Rovněž jeden ze dvou mechanismů resistance an sulfonamidová antibiotika je zprostředkován

plazmidem. Plazmid kóduje transportní systém, který antibiotikum vyhazuje ven z buňky. Druhý mechanismus zahrnuje bodovou mutaci genů, které kódují cílové enzymy antibiotika - dihydropteroát syntetázu a dihydrofolát reduktázu. Mutace těchto enzymů snižuje schopnost antibiotika se na ně vázat(1).

Isoniazid - antibiotikum používané proti mykobakteriím, narušuje biosyntézu mykolových kyselin tak, že blokuje inhA enzym (enoyl-ACP reduktázu). Tento enzym je nezbytný pro syntézu dlouhých řetězců mastných kyselin a tudíž mykolové kyseliny. Ovšem dříve, než může isoniazid začít účinkovat, musí být aktivován kataláza-peroxidázovým systémem kódovaným KatG genem. Jakmile je aktivován, naváže se isoniazid na cílové místo inhA enzymu a zablokuje jej. Resistance na isoniazid je tak důsledkem bodové mutace inhA genu, ke které dochází záměnou serinu na 94. pozici enzymu za alanin. Tato změna pětinašobně sníží afinitu enzymu k molekule NADH. Antibiotikum isoniazid se váže na molekulu NADH v aktivním místě enoyl-ACP reduktázy. Pokud molekula NADH ve vazebném místě nedrží pevně, vazba isoniazidu ji „vytrhne“, isoniazid s molekulou NADH odpadá od enzymu a enzym může nerušeně pracovat. Bakterie tím získává resistenci. Stejná mutace je odpovědná za resistenci na strukturální analog isoniazidu, ethionamid. (6)

Avšak pokračujme dál. Některé bakteriální druhy, jako např. enterokoky, se staly resistantní na vankomycin, kterému se též přezdívá antibiotikum poslední záchrany. Bakterie získává odolnost na vankomycin pomocí pětigenového operonu, který se nachází na transpozonu (transpozon je mobilní skupina genů, která se v rámci genomu může přemísťovat). Součástí této pětigenové skupiny jsou tři strukturální geny - vanH, vanA a vanX.(4) VanH mění pyruvát na D-laktát. VanA tento D-Laktát odebírá a vyrábí z něj D-Ala-D-Laktát. VanX selektivně ničí všechny D-Ala-D-Ala molekuly, která buňka přirozeně produkuje. Vankomycin totiž napadá peptidoglykanové molekuly. Pro syntézu peptidoglykanu jsou za normálních okolností využívány D-Ala-D-Ala. Takovýto peptidoglykan je vankomycinem zranitelný. Pokud ovšem v buňce žádné D-Ala-D-Ala molekuly nejsou, a naopak je tam dostatek D-Ala-D-laktátu, syntetizuje se peptidoglykan z něj. Takovýto peptidoglykan je ovšem vankomycinem nezranitelný a bakterie se stává resistantní.(5) Za povšimnutí stojí i zbylé dva geny van-operonu - vanS a vanR. VanS je senzorová kináza a vanR reguluje transkripci. Jakmile vanS zjistí přítomnost vankomycinu, signalizuje to pomocí autofosforylace a transferu fosforylové skupiny genu vanR. VanR následně zvýší aktivitu ostatních tří genů, takže stoupne produkce D-Ala-D-laktátu.(3,5) Když toto shrneme, můžeme říct, že resistance na vankomycin se nevyvinula. Geny, podmiňující resistenci na vankomycin se už v bakteriálním genomu nacházely odedávna a nevznikly v průběhu oněch patnácti let, co se vankomycin používá. A protože podobné geny se nachází v genomu i ostatních bakterií, např. i stafylokoků a E.coli, můžeme se oprávněně domnívat, že resistance na vankomycin vzniká i u nich obdobným způsobem.

Mohli bychom klidně pokračovat s dalšími příklady, avšak myslím, že výše uvedené stačí, aby bylo zřejmé, že resistance na antibiotika je důsledkem přítomnosti již přítomných genů a/nebo jejich bodových mutací. Nikdy nebyl pozorován vývoj nového genu. Někdy proevoluční vědci prezentují kroky, které mohly vést k hypotetické evoluci penicilinázy (enzym odpovědný za vznik resistance na penicilinová antibiotika). Tento postup však nikdy nebyl experimentálně potvrzen a zůstává jen hypotézou. Ve skutečnosti je v něm několik neutrálních kroků (mutací), které by bakterii nepřinesly žádnou výhodu. Podle evoluční nauky by takováto „bezvýhodová bakterie“ neměla o nic vyšší šanci přežít než její nezmutované kolegyně. Přírodní výběr přece vybírá jedince, kteří jsou schopni lépe přežít, kteří jsou lépe adaptovaní na své prostředí. Je také fakt, že odolnost na penicilin by bakterii dala až poslední mutace z oné hypotetické série kroků. Jak bakterie přežila působení penicilinu po těch několika (desítek) generacích, když nebyl odolná? A před zavedením penicilinu by zase teoreticky nemělo k těmto krokům dojít, protože v prostředí bez penicilinu nemá bakterie vybavená penicilinázou žádnou výhodu, naopak, její růst je pomalejší než ostatních, nezmutovaných bakterií. Takovýto kmen by měl být podle evoluční teorie přírodním výběrem potlačen.

Bodové mutace genů, které v resistenci bakterií vůči antibiotikům hrají velkou roli, nejsou důkazem evoluce. Jde o tzv. mikroevoluci, jejíž existenci nikdo nepopírá. Oproti tomu makroevoluce, tj.

změna jednoho živočišného druhu v jiný, vznik nové, plnohodnotné DNA, nových genů (tedy věci nezbytné pro vznik a vývoj života na Zemi, jak jej evoluční teorie prezentuje), nebyla nikdy pozorována v přírodě ani provedena v laboratoři. Vzpomeňme například na mouchu octomilku - v laboratoři vyrostly už statisíce generací octomilek, na které bylo záměrně působeno mutagennímu vlivy. Výsledkem byly octomilky s jinou barvou očí, jinými křídly, více končetinami, ale pořád to byla moucha octomilka. Toto, i všechny výše zmíněné údaje o resistenci bakterií na antibiotika, mne vedou k závěru, že mutace nejsou schopny překročit rámec druhu a tudíž mechanismus, podle kterého se měly z primitivní jednobuněčné bakterie vyvinout postupně všechny složité formy života, které dnes pozorujeme, je nepravdivý.

### Odkazy:

**(A)** Boal, A. K. et al. Structural Basis for Methyl Transfer by a Radical SAM Enzyme. Science Express. Posted on sciencemag.org April 28, 2011, accessed April 28, 2011.

**(B)** Konkrétně jde o to, že některé enzymy ztrácí vyhraněnou substrátovou specifitu. Ačkoli toto může vyústit ve schopnost enzymu katalyzovat širší spektrum reakcí, mutované enzymy ztrácí svou výkonnost (reakční rychlost). Žádná z těchto změn nepomáhá vysvětlit, odkud se původní, vysoce výkonný a substrátově přesný enzym vzal - jeho měnění vede jen ke ztrátě výkonu. Pro bližší informace: Anderson, K. L. and G. Purdom. 2008. A Creationist Perspective of Beneficial Mutations in Bacteria. In Proceedings of the Sixth International Conference on Creationism. Snelling, A. A., ed. Pittsburgh, PA: Creation Science Fellowship and Dallas, TX: Institute for Creation Research, 73-86.

**(C)** Pro obecný přehled o důvodech, proč je pravděpodobnost nových a užitečných změn bílkovin Darwinistickou evolucí nemožně nízká, viz Axe, D. D. 2010. The Case Against a Darwinian Origin of Protein Folds. Bio-Complexity. 1: 1-12.

1. Livinson, W.E., Jawetz, E., Medical Microbiology and Immunology 3rd Ed. Appleton & Lange, 1994.

2. Weisblum, B. Gram-positive Pathogens pp. 694-710. V.A. Fischetti et al. (eds), Am. Soc. Microbiol., Washington, D.C. 2000.

3. Fraimow, H. S.; Courvalin, P. In Gram-positive Pathogens pp. 621-634. V.A., Fischetti et al. (eds), Am. Soc. Microbiol., Washington, D.C., 2000.

4. Walsh, C. T.; Fisher, S. L.; Park, I. S.; Prahalad, M.; Wu, Z. Chem. Biol., 3, 21-28, 1996.

5. Lessard, I. A.; Walsh, C. T. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 11028-11032, 1999.

6. Quemard, A.; Sacchettini, J. C.; Dessen, A.; Vilcheze, C.; Bittman, R.; Jacobs, W. R.; Blanchard, J. S. Biochemistry, 34, 8235-8241, 1995.

7. Tait-Kamradt, A.; Clancy, J.; Cronan, M.; Dib-Hajj, F.; Wondrack, L.; Yuan, W.; Sutcliffe, J. Antimicrob. Agents Chemother., 41, 2251-2255, 1997.

8. Lai-King Ng, Irene Martin, Gary Liu, and Louis Bryden, Mutation in 23S rRNA Associated with Macrolide Resistance in Neisseria gonorrhoeae, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September 2002, p. 3020-3025, Vol. 46, No. 9 ( <http://aac.asm.org/cgi/content/full/46/9/3020>)