

# Kan vi kombinere os ud af resistensproblemet?



Antibiotikaresistens er et stigende problem, og der er hårdt brug for nye behandlingsstrategier. "Hjælpestoffer", der sensitiverer de resistente bakterier, kan være vejen frem.

Af Mette Thorsing, ph.d., Institut for Biokemi og Molekylær Biologi, SDU og Janne K. Klitgaard, ph.d., Klinisk Institut, SDU

Anvendelsen af antibiotika har forbedret vores livskvalitet betydeligt, og mange af de behandlingstilbud, vi nu forbinder med et moderne sundhedssystem, er afhængige af effektive antimikrobielle medikamenter til forebyggelse og behandling af livstruende bakterielle infektioner. Udviklingen og spredningen af resistente bakterier udgør derfor et alvorligt problem og er af WHO udråbt som den tredjestørste trussel for vores sundhed. Kombinationsbehandlinger, hvor effekten af eksisterende antibiotika potenseres vha. et hjælpestof, udgør et lovende supplement til udviklingen af nye antimikrobielle forbindelser.

## MRSA

MRSA (methicillin-resistent *Staphylococcus aureus*) er resistente overfor stort set alle  $\beta$ -lactam-antibiotika, hvilket komplicerer behandlingen af de infektioner, bakterierne forårsager. Yderst er *S. aureus* beskyttet af en tyk cellevæg, hvoraf ca. halvdelen af materialet udgøres af peptidoglykan (et netværk af glykankæder, der er forbundet på kryds og tværs via peptider), som giver cellevæggen dens styrke og fleksibilitet.  $\beta$ -lactam-antibiotika hæmmer de enzymer (PBPer), der står for dannelsen af krydsbindingerne i peptidoglykanet, hvilket hos sensitive bakterier vil resultere i en svækkelse af cellevægsstrukturen og i yderste konsekvens føre til lysis. Resistensen hos MRSA

skyldes, at de bærer et gen, der koder for et modificeret enzym (PBP2a), som ikke hæmmes af  $\beta$ -lactamer – PBP2a vil derfor sikre det minimum af krydsbindinger, der er nødvendige for cellens integritet, når andre PBPer er hæmmet af antibiotika.

## Resensivering af MRSA

Inden for de seneste år er flere forbindelser blevet beskrevet, der potenserer effekten af  $\beta$ -lactam-antibiotika - selv mod MRSA. Disse stoffer inhiberer typisk andre targets end peptidoglykansyntesen, men indirekte forstyrres syntesen af byggestenene eller lokaliseringen af de enzymer, der er involveret. Et eksempel er phenothiazinerne thioridazin og chlorpromazin (figur 1), som i psykiatrien er blevet anvendt til behandling af bl.a. skizofreni og mani, men som desuden har en svag antibakteriel aktivitet overfor især Gram-positive bakterier. Det har i længere tid være kendt, at subinhibitoriske koncentrationer af phenothiazinerne gør MRSA sensitive overfor  $\beta$ -lactam-antibiotika [1], men den molekylære mekanisme, der ligger til grund for disse observationer, har længe været uklar.

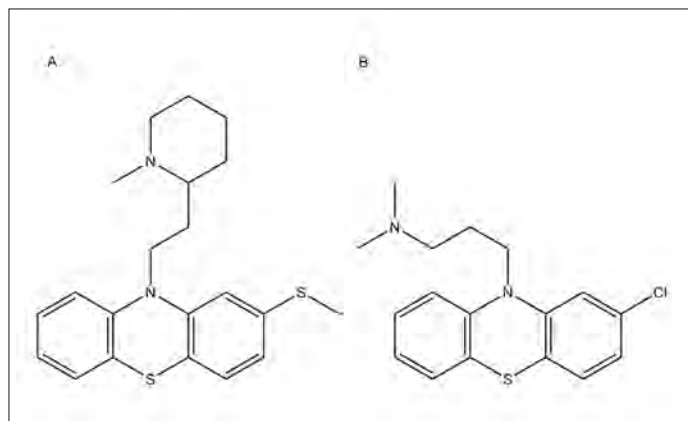
## Thioridazin ændrer cellevæggen

Vores forskningsgruppe har for nylig vist, at thioridazin i sig selv har en stor effekt på stafylokokkernes cellevæg, hvilket ses direkte på ultrastrukturen (figur 2). Forsøg, der er publiceret i PLoS ONE [2], indikerer at dette skyldes en ændring i peptidoglykanets byggesten, hvor mangel på aminosyren glycine medfører, at byggestenenes evne til at indgå i krydsbindinger

### Faktaboks

Forskningsgruppen består af forskere fra Institut for Biokemi og Molekylær Biologi samt Forskningsenheden for Klinisk Mikrobiologi, Klinisk Institut ved Syddansk Universitet. Som led i en ny behandlingsstrategi for infektioner forårsaget af multiresistente bakterier undersøger forskningsgruppen, hvordan hjælpestoffer sammen med antibiotika påvirker bakterier til gavn for de mange patienter, der årligt rammes af problematiske infektioner.

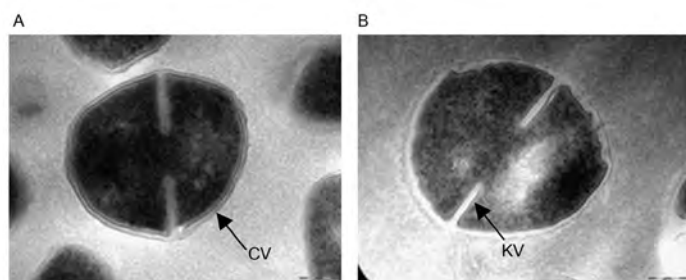
reduceres. Ændringerne påvirker ikke stafylokokkernes vækst, hvilket viser, at bakteriens normale PBPer i tilstrækkelig grad kan anvende disse ændrede byggesten som substrat og derved opretholde styrken i cellevæggen. PBP2a er derimod kendt for at være mere kræsen ift. sit substrat, så dette enzym vil antageligvis ikke kunne krydsbinde de ændrede peptidoglykan byggesten. Vi mener, at dette er en del af forklaringen på, at thioridazin og  $\beta$ -lactam-antibiotika tilsammen danner en dødelig cocktail mod MRSA.



Figur 1. Kemiske strukturer af hjælpestofferne A) thioridazin og B) chlorpromazin.

### Spiller på flere tangenter

Årsagen til at thioridazin påvirker glycinmængden i cellevæggen kendes endnu ikke, men resultaterne indikerer, at optagelsen af aminosyren fra omgivelserne kan være forstyrret. Ud over denne effekt har vi tidligere vist, at tilstedeværelsen af thioridazin sammen med  $\beta$ -lactam-antibiotika fører til et lavere niveau af PBP2a protein, hvilket i sig selv også bidrager til



Figur 2. Elektronmikroskopibilleder af *Staphylococcus aureus*, A) ubehandlet og B) behandlet med hjælpestoffet thioridazin. CV: cellevæg, KV: krydsvæg (hvor celledelingen finder sted).

effekten af kombinationsbehandlingen [3,4]. Grunden til at thioridazin sensitiverer MRSA overfor  $\beta$ -lactamerne ser altså ud til at være multifaktoriel, og yderligere undersøgelser vil muligvis afsløre flere faktorer, der bidrager til den samlede virkning.

### Videreudvikling af thioridazin

Tanken bag eksperimenterne med thioridazin er naturligvis ikke, at personer uden en psykisk lidelse fremover skal behandles med psykofarmaka, når de får en bakteriel infektion. Men ved at identificere det molekylære target eller den proces, der påvirkes af thioridazin, er vejen banet for et mere rationelt design af medikamentet. Derved er det vores håb, at thioridazins antidopaminerge virkning kan mindskes og/eller den antimikrobielle aktivitet forstærkes.

### Udsigt til flere kombinationsbehandlinger?

Det er ikke ualmindelig at kombinere flere lægemidler i forbindelse med behandling af f.eks. HIV eller cancer, mens der længe har været tradition for at behandle en bakteriel infektion med et enkelt virksomt middel. Ved at anvende en kombination kan udviklingen af resistens forsinkes, og vi kan derfor kun opfordre til, at flere tager denne strategi til sig. På den anden side er det ikke helt problemfrit at kombinere lægemidler, og der skal bl.a. tages højde for drug-drug-interaktioner.

Et godt udgangspunkt for at identificere flere forbindelser, der ligesom thioridazin kan sensitivere MRSA og andre resistente bakteriearter overfor antibiotika, er at screene lægemidler, der er godkendt til et andet formål, da disse medikamenters toksikologiske og farmakologiske profil på forhånd er velkarakteriseret. Denne fremgangsmåde er bl.a. anvendt til at vise, at trombocytfunctions hæmmeren ticlopidin (Ticlid®) potenserer aktiviteten af visse  $\beta$ -lactam-antibiotika overfor MRSA ved at inhibere syntesen af teichoinsyrer, som er en anden vigtig bestanddel af cellevæggen [5]. Selvom thioridazin og ticlopidin påvirker MRSA på forskellig vis, har de således den samme effekt på bakteriernes resistens. Ved at opbygge et arsenal af hjælpestoffer, der virker gennem forskellige mekanismer, kan vi skifte imellem dem og dermed forlænge levetiden af vores antibiotika.

E-mail

Janne Klitgaard: jkklitgaard@health.sdu.dk

### Referencer

1. Kristiansen et al. 2003, Int J Antimicrob Agents 22: 250
2. Thorsing et al. 2013, PLoS One 8: e64518
3. Klitgaard et al. 2008, J Antimicrob Chemother 62: 1215
4. Poulsen et al. 2013, Res Microbiol 164: 181
5. Farha et al. 2013, ACS Chem Biol 8: 226

Kilder

Worthington & Melander, 2013, Trends Biotechnol 31: 177



# Pipetteservice

Akkrediteret kalibrering  
Reparation • Vedligeholdelse

**Gilson Center of Excellence • Certificerede teknikere • 20 års erfaring**  
**• Alle førende fabrikater • Elektroniske certifikater • Serviceaftaler**



**Biolab A/S,**  
Sindalsvej 29, DK-8240 Risskov,  
Tlf: 8621 2866 Fax: 8621 2301  
E-mail: pipetteservice@biolab.dk  
www.biolab.dk



**DANAK**  
Cal. Reg. Nr. 482