

# Bakteriální toxiny

**Působením či rozpadem** bakterií dochází k uvolnění toxických látek (toxinů) do okolního prostředí. Takové látky jsou schopny poškodit, v některých případech dokonce usmrtit hostitele. Schopnost poškozovat hostitele se nazývá **toxická** a je součástí patogenity. Buď působí přímo, nebo přispívá k dalším faktorům patogenity.

## Toxiny obecně

Chemicky jsou toxiny **antigenní bílkoviny**, které jsou v lidském organismu neutralizovány (blokovány) specifickými protilátkami. Také je možná inaktivace varem, jsou tzv. **termolabilní**. Toxiny také mohou být změněny v toxoidy, které se využívají k aktivní imunizaci.

Toxická bakteriálních toxinů vytvořených uvnitř organismu **závisí na jejich koncentraci a vnímavosti** hostitele. Toxiny mohou být do organismu zaneseny i z vnějšího prostředí (např. v jídle – botulotoxiny, enterotoxiny). U těchto toxinů záleží nejen na jejich koncentraci, ale také na jejich **vstřebávání a rezistenci vůči trávicím enzymům**.

Způsob toxického působení je charakteristický pro jednotlivé toxiny (difterie, tetanus, botulismus, cholera). Příznaky klinického onemocnění toxiny se obecně nazývají **toxinozy**.

Bakteriální toxiny působí na hostitele dvěma způsoby. Prvním je **reakce s membránami eukaryotických buněk**, které poškodí. Od toho se tato skupina toxinů označuje jako cytolytické. Druhým způsobem je **navázání toxinu na specifický receptor** na buňce. Vazbou dojde k proniknutí toxinu do cytoplazmy, kde ovlivňuje fyziologické mechanismy.

**Dle cílových orgánů můžeme toxiny dělit na:**

- neurotoxiny (botulotoxin, tetanospasmin);
- enterotoxiny (choleragen, toxiny *E. coli*);
- dermonekrotoxiny (difterický, stafylokokový alfa toxin);
- cytotoxiny (*Clostridium difficile*);
- kardiotoxiny (difterický, streptolysin O);
- kapilarotoxiny (*B. anthracis*);
- hemolysiny, leukocidiny;
- toxiny s vlastností superantigenů (streptokokové pyrogenní, stafylokokový toxický šok).

## Exotoxiny

Toxické bakteriální proteiny, secernovány do okolí producenta. Uplatňují se v onemocněních vyvolaných **G+ bakteriemi**. Exotoxiny jsou z bakterií uvolňovány do okolního prostředí **v průběhu jejich růstu**.

Geny pro exotoxiny jsou uloženy především **na plazmidech** nebo na temperovaných bakteriofázích. Z toho vyplývá, že nejsou pro život bakterie nezbytné, ale jsou užitečné pro jejich přežití a šíření.

## Mechanismy účinku exotoxinů

### Průnikové enzymy (faktory)

Hydrolytické enzymy **rozrušující mezibuněčnou hmotu**. Slouží k invazi (tzv. faktor invazivity), k získání živin a energie. Mezi tyto enzymy patří například hyaluronidáza, elastáza, DNáza, streptokináza (rozpouští krevní sraženiny).

### Cytolytické enzymy (cytolysiny)

Toxiny reagují s membránami eukaryotických buněk, které poškozují. Chemicky se jedná o **fosfolipázy**. K narušení membrány toxinu může dojít i **tvorbou pórů**.

**Hydrolyzou fosfolipidů fosfolipázami C a D** dochází k odnímání polární skupiny z fosfolipidů. Tím dojde k destabilizaci membrány a lýze buněk. Příkladem takových bakterií je například *Clostridium perfringens*, jehož alfa-toxinem je fosfolipáza C. Způsobuje intravaskulární hemolýzu při myonekroze či intravaskulární koagulopatii. Dalším příkladem je sfingomyelináza (beta-hemolysin) u *Staphylococcus aureus*.

**Toxiny tvořící póry** v membráně jsou podlouhlé molekuly. Včlenění se do membrány, čímž dojde ke vzniku kanálků, kterými proniká voda. Toto narušení membrány je neenzymatické. Příkladem je alfa-toxin *Staphylococcus aureus*. Další je například streptolysin O, který produkuje *Streptococcus pyogenes*. Streptolysin naruší membránu granul uvnitř neutrofilů. Dalším toxinem tvořícím póry je listeriolysin O, tvořený bakterií *Listeria monocytogenes*, jenž napomáhá bakterii uniknout z fagozomu.

### Toxiny ovlivňující fyziologii buněk

Nezabíjejí buňky přímo, **modifikují jejich funkce**. Dochází k vazbě ADP-ribózy na regulační složky adenylátcyklázy, která zvýší koncentraci cAMP. Zvýšená koncentrace cAMP způsobí sekreci  $\text{Cl}^-$  a vody a zábranu absorpce  $\text{Na}^+$ . Tím dojde k úniku tekutin. Toxiny tedy **způsobují průjmy** (cholerový toxin, termolabilní enterotoxin E. coli). Dalším příkladem je pertusový toxin *Bordetella pertussis*. Ovlivní hladinu cAMP v neutrofilech. Tím dojde k **omezení chemotaxe a pohyblivosti**.

## Zástava proteosyntézy

Intracelulárně působící toxiny, které způsobují následnou smrt buňky. Toxin má dvě složky. A (*active*) složka působí toxicky, B (*binding*) složka se váže na specifický receptor buněčné membrány. Navázání umožní endocytózu toxinu do buňky. Uvnitř buňky dojde k enzymatické aktivaci. Toxiny způsobí přenos adenosindifosfátribosylové skupiny z NAD na cílovou molekulu (elongační faktor 2 – záškrťový toxin). Tím dojde k zástavě proteosyntézy, která způsobí smrt buněk.

## Neurotoxiny

Fungují jako peptidázy. Působí **v nervových synapsích** na bílkoviny, které jsou odpovědné za uvolňování neurotransmiterů. Jedná se o tetanický toxin a botulotoxin.

**Tetanický toxin** (tetanospasmin) je toxin, který tvoří *Clostridium tetani*. Bakterie jsou přítomny v trávicím traktu zvířat. S trusem těchto živočichů se dostanou do půdy, kde sporulují. Do lidského organismu se spory dostanou při kontaktu infikované zeminy s otevřenou ranou (nejčastěji hluboká zranění). Spory v ráně vyklíčí (ideální podmínky – teplo, vlhko, anaerobní prostředí). Bakterie začnou produkovat toxiny. Ty pronikají krví a lymfou do nervových buněk. Podél jejich axonů se mohou dostat **až do CNS** (motorické neurony). V CNS mohou porušit přenos na inhibičních neuronech, kde **inhibují uvolňování GABA** neurotransmiteru. Kontinuální stimulace excitačními neurotransmitery způsobí svalové křeče, potažmo zástavu dýchání, selhání srdeční činnosti a následně smrt jedince.

**Botulotoxin** je toxin *Clostridium botulinum*. Je to asi **nejúčinnější známý jed** –  $\text{LD}_{50}$  činí 10 ng/kg. Bakterie se množí v tepelně neupravené potravě. Tepelná úprava samotnou bakterii zničí, ale toxin zůstává. Většinou způsobí vážnou fatální otravu. Nejčastěji bývá přítomen u potravin v konzervě (bakterie tvoří plyny → vypouklá konzerva), především masa (klobásový jed).

Ze střevní sliznice se dostává **krví do PNS**. Působí na nervosvalových ploténkách, kde blokuje uvolňování acetylcholinu. Vyvolává **obrný**. Pokud napadne dýchací svaly (bránice), může dojít ke smrti udušením.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Botulismus.*

## Superantigeny

Podskupina exotoxinů, které jsou schopny vyvolat polyklonální aktivaci T-lymfocytů (mitogeny). Vážou se na T-lymfocyty a makrofágy. Po vazbě indukují celkovou obrannou reakci (uvolnění velkého množství cytokinů). Tím se podílejí na vzniku autoimunitních onemocnění. Zvyšují citlivost k účinku endotoxinů G– bakterií. Příkladem mohou být stafylokokové enterotoxiny (otravy z potravin) a superantigeny *Streptococcus pyogenes* (pyrogenní toxiny způsobující horečky).

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Superantigen.*

## Endotoxin

Endotoxin je lipopolysacharidový komplex (LPS), který je součástí buněčné stěny gramnegativních bakterií.

### Charakteristika

Pojem endotoxin byl zaveden jako kontrast k exotoxinu, což je toxin uvolňovaný bakteriemi do okolí (endotoxin je uvolněn až po zániku buněčné stěny bakterie). Dnes je pojem **endotoxin** synonymem pro **lipopolysacharid** (LPS), který je důležitou součástí vnější membrány gramnegativních bakterií.

Lipopolysacharidy však nejsou pouze škodlivými látkami. Mají důležitou roli i pro bakterii samotnou – přispívají ke strukturní stabilitě a chrání membránu před některými chemickými útoky. Vzhledem k důležitosti lipopolysacharidu pro bakteriální buňku se tato molekula stala terčem výzkumu baktericidních látek.

### Složení

Lipopolysacharid se skládá ze 3 částí:

1. lipid A,
2. oligosacharidové jádro,
3. O-antigen.

**Lipid A** – tvoří lipidovou složku endotoxinu zodpovědnou za toxicitu gramnegativních bakterií. Díky své hydrofobní povaze (glykolipid) se kotví v jejich vnější membráně. I přes svůj toxický efekt je však rozpoznání lipidu A lidským imunitním systémem klíčové pro zahájení imunitní reakce a její následné zvládnutí. Aktivuje zejména monocyty a

makrofágy, k čemuž stačí koncentrace v řádu pikogramů na mililitr krve. Pokud se v lidském těle nachází ve vysokých koncentracích, je možné, že způsobí endotoxický šok, který může skončit smrtí.

**Oligosacharidové jádro** – je tvořeno krátkým řetězcem sacharidových zbytků (často heptózy, vyskytuje se i ketodeoxyoktulosonová kyselina) a spojuje lipid A s O-antigenem.

**O-antigen** – tvoří opakující se oligosacharidové jednotky. Nachází se nejzevněji, jedním koncem je připojen k oligosacharidovému jádru a vyčnívá z povrchu mikroba. Je nositelem největší variability a určuje antigenní specifitu. Pokud má lipopolysacharid kompletní O-řetězec, vypadají kolonie při kultivaci na pevném růstovém médiu jako hladké a vlhké. Jestliže má však O-řetězec zkrácený, pak kolonie vypadají drsné a suše. Takové bakterie mají často zranitelnější membrány hydrofobními antibiotiky. Polysacharidový řetězec je velmi variabilní mezi různými bakteriemi a určuje jejich sérotyp. Cukerné řetězce hladkých lipopolysacharidů mohou překrýt proteiny vnější membrány a zamaskovat je tak před imunitním systémem hostitele.

## Uvolnění endotoxinu

K uvolnění endotoxinu může dojít:

- po **fagocytóze** a intracelulární destrukci bakterie;
- při rozpadu bakterií účinkem vlastních **autolytických** enzymů;
- v důsledku cytolýzy **komplementem**;
- účinkem membránově působících **antibiotik**.

## Biologické účinky

Působí jako pyrogen (zvýšení teploty). Toxin stimuluje mononukleární fagocyty k produkci endogenních pyrogenů (interleukin-1 a TNF) – vyvolává horečku a vazodilataci. Aktivuje komplementový systém (alternativní dráhou). Důsledkem je cytolýza buňky spojená s dalším uvolňováním toxinu.

Stimuluje odpověď imunitního systému – aktivace makrofágů, neutrofilů, lymfocytů B. Dochází ke vzniku lokální zánětlivé reakce. Při vyšších koncentracích může dojít ke vzniku endotoxického šoku.

Může způsobit poruchy srážlivosti. Aktivuje f. XII – spouští srážecí kaskádu. Ovlivňuje krevní destičky – uvolnění obsahu granúl (degranulace trombocytů). Ovlivňuje neutrofile – uvolnění bílkovin stabilizujících fibrinové sraženiny. Ovlivňuje endotelie.

Působí chemotakticky na polymorfonukleáry. Při velkých koncentracích může vzniknout **endotoxémie** (přítomnost endotoxinu v krvi) – sepse vyvolané G– bakteriemi. Nízká hladina endotoxinu v organismu působí **pozitivně** (stimulace imunity). Ve velké koncentraci nastává riziko toxického šoku a DIC (často končí smrtí).

## Endotoxický šok

- Hypotenze,
- diseminovaná intravaskulární koagulopatie (DIC),
- vazodilatace,
- snížený výkon myokardu (poruchy oxidace).

25–40 % těchto případů končí smrtí. Neexistuje efektivní léčba na zvrácení toxické aktivity lipidu A. U infekcí gramnegativními bakteriemi jsou endotoxiny z velké části zodpovědné za závažné klinické projevy. Například u meningokokových infekcí a Waterhouse-Friderichsenova syndromu (selhání nadledvin z důvodu krvácení) způsobených převážně bakterií *Neisseria meningitidis*.

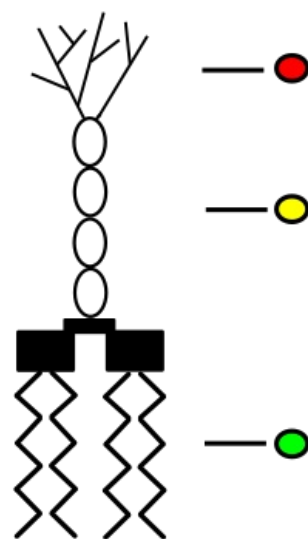
Endotoxin působí také jako silný mitogen B-lymfocytů a aktivátor polyklonálních B-lymfocytů, což hraje roli v rozvoji odpovídající chronické imunitní odpovědi, pokud nebyla bakterie zničena v akutní fázi.

## Kontaminace endotoxiny

Endotoxiny mohou často kontaminovat látky, se kterými je prováděn výzkum, nebo se jinak medicínsky využívají. To se může týkat například plasmidové DNA pro využití v genové terapii, ovalbuminu ve výzkumu nebo laboratorních pomůcek.

Jedna bakterie *Escherichia Coli* obsahuje kolem 2 milionů molekul lipopolysacharidu. Endotoxiny jsou navíc velmi tepelně stabilní (nedají se zničit běžnými sterilizačními metodami ani autoklávováním). Díky své hydrofobicitě vykazují velkou afinitu k dalším hydrofobním materiálům, jako jsou například plasty. Pokud by se kontaminace ponechala a došlo by k přenosu do lidského organismu, propukla by zánětlivá reakce, která by mohla být nebezpečná nebo by mohla narušit výsledky testů. Je proto nezbytné endotoxiny odstranit. K tomu se využívá **depyrogenace**. Tato metoda spočívá v zahřátí až na 250–300 °C na 30 minut, což endotoxiny bezpečně zničí.

Velmi citlivá zkouška na přítomnost endotoxinu se nazývá Limulus test, který je založen na principu koagulace krve ostreopa. Ta se v přítomnosti i malého množství lipopolysacharidu srazí díky velmi silnému amplifikačnímu efektu na enzymy koagulační kaskády.



Červeně – O-antigen, žlutě – střední polysacharidová část, zeleně – lipid A

## Možné využití

Enzymy zapojené v biosyntéze nebo modifikaci lipidů A mohou poskytnout přístup nejen k novým derivátům lipidů A, které mohou být užitečné jako adjuvans nebo antagonisté endotoxinů, ale mohou být využity i pro nové bakteriální vakcíny. Monofosforylovaný lipid A získaný z bakterie *Salmonella minnesota* se využívá jako adjuvans v kombinaci s kamencem a byl nedávno schválen jako vakcína pro lidský papillomavirus a virovou hepatitidu B.

## Odkazy

### Související články

- Bakterie
- Gramovo barvení
- Pseudomembranózní enterokolitida

### Zdroj

- JANSKÝ, Petr. *Zpracované otázky z mikrobiologie* [online]. [cit. 2012-01-30]. <[https://www.yammer.com/wikiskripta.eu/uploaded\\_files/3804405](https://www.yammer.com/wikiskripta.eu/uploaded_files/3804405)>.
- BEDNÁŘ, Marek, et al. *Lékařská mikrobiologie : Bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vydání. Praha : Marvil, 1996. 558 s. ISBN 8023802976.
- VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno : Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.