

GÁCSER ATTILA  
PAPP TAMÁS

# HUMÁNPATOGÉN GOMBÁK BIOLÓGIÁJA

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM



SZEGED, 2015.

SZÉCHENYI 2020



Európai Unió  
Európai Szociális  
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE

Szegedi Tudományegyetem

## HUMÁNPATOGÉN GOMBÁK BIOLÓGIÁJA

SZERZŐK:

**Gácsér Attila**

**Papp Tamás**

LEKTORÁLTA:

**Majoros László**

ÁBRÁK:

**Gácsér Attila**

**Papp Tamás**

**Kocsubé Sándor**

Szeged, 2015.

A tananyag az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával készült, a TÁMOP-4.1.1.C-13/1/KONV-2014-0001 azonosítószámú, „Az élettudományi-klinikai felsőoktatás gyakorlatorientált és hallgatóbarát korszerűsítése a vidéki képzőhelyek nemzetközi versenyképességének erősítésére.” című projekt keretében.

A tananyag semmilyen formában nem árusítható!

## TARTALOMJEGYZÉK

Bevezetés .....	6
Alapfogalmak .....	7
Legfontosabb humánpatogén gombacsoportok .....	10
Elsődleges patogének .....	10
Opportunista patogének .....	10
A humánpatogén gombák gyakorisága .....	11
A humánpatogén gombák taxonómiája .....	12
Patogenitás és virulencia .....	15
Mi a patogenitás? .....	15
Mikroorganizmus vagy gazda központú szemlélet? .....	17
A patogenitás és a virulencia újraértelmezése: .....	19
A virulencia faktor fogalma .....	21
Miért fontos a virulencia faktorok vizsgálata? .....	22
A gombafertőzés folyamata .....	23
Bejutás a gazdaszervezetbe .....	23
Adaptáció és terjedés .....	24
A gombafertőzés folyamatának általános sémája .....	25
Növekedés fiziológiás és magasabb hőmérsékleten .....	27
A sejtfal .....	28
A gombasejtfal felépítése .....	29
Tokképzés .....	31
Melanin .....	34
A humánpatogén gombákban előforduló melaninvegyületek főbb típusai.....	35
A melanin szintézisben szerepet játszó legfontosabb enzimek .....	36
A melanin szerepe a patogenitásban.....	37
Az adhézióban szerepet játszó faktorok .....	38
Az adhezinek.....	39
<i>Candida albicans</i> adhezinek .....	41

<i>Candida glabrata</i> adhezinek .....	43
Egyéb adhezinek .....	43
A hidrofobinok .....	44
Hidrolitikus enzimek .....	45
Szekretált lipázok .....	45
Szekretált aszpartil proteinázok .....	48
Foszfolipázok .....	53
Egyéb a virulenciát befolyásoló tényezők .....	54
A vasfelvételi rendszerek .....	54
<i>Aspergillus</i> fertőzések .....	62
Az aspergillózisok megjelenési formái .....	62
Lokális, felszíni fertőzések .....	62
Aspergillóma .....	63
Krónikus tüdő aspergillózis .....	64
Krónikus nekrotizáló aspergillózis .....	64
Invazív aspergillózis .....	65
Allergiás bronchopulmonáris aspergillózis .....	65
<i>Aspergillus fumigatus</i> , mint opportunista patogén gomba .....	65
Járomspórás gombák által okozott fertőzések .....	69
Entomophthoromikózisok .....	69
Mucormikózisok .....	70
Mucormikózist okozó gombafajok .....	70
Klinikai manifesztációk .....	72
Hajlamosító tényezők .....	74
Mucormikózisok terápiája .....	75
A <i>Candida</i> genus és a <i>Candida parapsilosis</i> jelentősége .....	76
A <i>Candida</i> spp. előfordulásai a klinikumban .....	79
Fungémia .....	79
Endocarditis (szívbelhártya gyulladás) .....	79
Meningitis (agyhártyagyulladás) .....	80
Peritonitis (hashártya gyulladás) .....	80
Arthritis (ízületi gyulladás) .....	81

Endophthalmitis és keratitis (belső szem- és szaruhártya-gyulladás) .....	81
Vulvovaginitis (hüvelygyulladás).....	81
Gombaellenes szerek, hatásmód és rezisztencia .....	82
Membránkárosító szerek – poliének.....	82
Ergoszterin szintézis gátlók.....	84
Azolok .....	84
Allilaminok, tiokarbamátok, morfolinok.....	89
Glükán szintézis gátlók – echinocandinok .....	90
5-Fluorocitozin.....	91
Griseofulvin.....	93
A gombák ellen kialakuló immunválasz .....	94
Patogén gombák elleni természetes immunitás .....	95
Mintázatfelismerő receptorok.....	95
Toll-szerű receptorok .....	95
RIG-I-szerű receptorok.....	98
C-típusú lektin receptorok .....	99
NOD-szerű receptorok (NLR).....	100
Az inflammaszómák.....	101
Az IL-1 $\beta$ élettani szerepe .....	102
Az inflammaszóma aktiváció szerepe a gombák elleni immunválaszban .....	103
A természetes immunitás effektor sejtjei .....	103
A gombák ellen kialakuló adaptív immunválasz .....	105
T-sejtes immunválasz.....	105
Th1 sejtek .....	106
Th2 sejtek .....	106
Th17 sejtek .....	106
Treg sejtek.....	107
CD8 <sup>+</sup> T-sejtek .....	108
$\gamma\delta$ T-sejtek.....	108
B-sejtes immunválasz .....	108
Ajánlott irodalom.....	109

## BEVEZETÉS

A gombák által okozott megbetegedések napjainkban az egyik legnehezebben kezelhető kórfolyamatok közé tartoznak. Egyes gombafajok képesek egészséges emberi szervezetben is betegséget kiváltani, azonban a leggyakrabban súlyos betegségben szenvedő páciensek fertőződnek gomba kórokozókkal veszélyeztetve akár a legújabb tumorterápiás módszerek sikerét, a szerv vagy csontvelő transzplantált betegek gyógyulását, alacsony születés súlyú csecsemők fejlődését vagy sebészeti beavatkozáson átesett egyének felépülését. Sokszor éppen a rohamosan fejlődő orvostudomány nyit lehetőséget bizonyos opportunista fertőzések számára. Ilyen új feltételek lehetnek a protézisek alkalmazása, a különböző katéterek és egyéb invazív eszközök felhasználása, vagy az antibiotikumok széleskörű használata. A fenti tények ismeretében meglepőnek hathat, hogy a Földön előforduló mintegy 1,5–5 millió gombafaj közül mindössze néhány száz képes embereket megbetegíteni és ezek közül is csupán elenyészően kevés faj képes egészséges immunrendszerű egyénekben kórfolyamatot kiváltani. A növényvilágban és az alacsonyabb rendű állatok körében jelentősen nagyobb számú gombapatogén azonosítható. Casadevall és munkatársai (2010) elmélete alapján az állandó testhőmérséklet kialakulása jelentősen hozzájárult a gombaellenes immunitás kialakulásához és mindmáig létfontosságú határvonalként funkcionál a gomba patogénnel szemben. Egy érdekes elmélet alapján az emlősök szárazföldi elterjedéséhez is hozzájárulhattak a gombák, elsősorban a kréta kor végén kialakult úgynevezett „gomba-szűrő” hatás következtében. A teória szerint a dinoszauruszok és egyéb változó testhőmérsékletű állatok kihalásához is vezető kisbolygó becsapódást követően bekövetkezett drasztikus klimatikus változások ideális körülményeket teremthettek az elsősorban szaprofita életmódot folytató gombafajok robbanásszerű elterjedéséhez. A gigantikus ütközés következtében elpusztuló növények és páfrányok óriási tömege megfelelő életteret biztosíthatott számos gomba számára, amelyek így hatalmas tömegben szaporodhattak el. A dinoszauruszok és egyéb nem állandó testhőmérsékletű élőlények szervezetében elszaporodhattak a gomba spórák, betegségeket kiváltva, míg az állandó magas testhőmérséklettel rendelkező, kistestű emlősök bonyolult immunrendszere védelmet biztosíthatott ezen kórokozókkal szemben.

A fentiek alapján egy gomba számára az emberi szervezet messze nem ideális környezet. Egy sikeres gomba patogénnek minimum négy kritériumnak kell megfelelnie ahhoz, hogy sikerrel szaporodhasson a szervezetben: 1. Képesnek kell lennie a 37 °C vagy a fölötti növekedésre. 2. Képesnek kell lennie bejutni a szervezetbe, vagy úgy hogy az immunrendszer határvonalait (epitélium, bőr, stb.) áttöri, vagy úgy hogy kisméretű túlélőképleteket hoz létre, amelyekkel pl. a tüdő alveolusaiba juthat be. 3. Képesnek kell lennie az alapvető tápanyagok felvételére az emberi szövetek között. 4. Illetve, természetesen rendelkezni kell bizonyos védekező mechanizmusokkal az emberi immunrendszerrel szemben. A klasszikus értelmezés alapján azokat a fiziológiai képességeket, amelyek egy gombát képessé tesznek a fenti 4 kritérium kielégítésére, virulencia faktoroknak nevezük. Ezeket a képességeket a jegyzet egy későbbi fejezetében részletesen tárgyalni fogjuk.

## ALAPFOGALMAK

A gombák heterotróf, eukarióta szervezetek; szaprofita, szimbióta, parazita, vagy hiperparazita élőlények egyaránt előfordulnak köztük. Kilotróf táplálkozásúak, ami azt jelenti, hogy biodegradáló extracelluláris enzimeket (pl. proteázokat, lipázokat, szénhidrátbontó enzimeket) termelnek és szekretálnak a környezetükbe, majd a biomolekulák lebontásából származó egyszerűbb anyagokat abszorbív úton veszik fel.

Telepes szerveződésűek. A fonalas gombák telepe (*tallusz*) osztatlan (*cönocitikus*), vagy válaszfalakkal (*szeptum*) tagolt, elágazó gombafonalakból (*hifák*) álló *micélium*. Az élesztőgombák egysejtű eukarióta mikroorganizmusoknak tekinthetők, többségük ivartalan szaporodása sarjadzással megy végbe. Egyes élesztőgombák meghatározott környezeti feltételek esetén pszeudomicéliumot képeznek – az ovális élesztősejtek megnyúlnak, hifaszerű képleteket hoznak létre. Ugyanakkor ez nem tekinthető valódi fonalas szerveződésnek, a pszeudomicéliumot alkotó sejtek (pszeudohifák) sarjadzással keletkeznek és inkább „sejtláncolatoknak tekinthetők”.

Számos gomba képes ugyanakkor dimorfizmusra, azaz a környezeti feltételektől, illetve a tenyésztési körülményektől függően, egyszer fonalas, másszor pedig élesztő, vagy élesztőszerű formában képes nőni. A járomspórás gombák számos faja (pl. *Mucor circinelloides*, *Mucor rouxii*), amennyiben, nem légzéssel, hanem fermentatív úton állítja elő az energiát, élesztőszerű növekedést mutat. E gombák tehát általában fonalas szerveződésűek, de bizonyos körülmények közt, pl. anaerob viszonyok, emelt CO<sub>2</sub> és/vagy magas hexóz koncentráció esetén, élesztőszerű növekedésre váltanak. A dimorfizmus képessége sok esetben fontos tulajdonság a patogenitás szempontjából. Ezzel kapcsolatban feltétlenül meg kell említeni a szisztémás mikózisokat okozó dimorf gombákat (pl. *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*), melyeknél a morfológiai váltás bizonyos hőmérsékleten következik be („*thermal dimorphism*”). Az ilyen fajok szobahőmérsékleten fonalas szerveződésűek, magasabb hőmérsékleten (pl. 37 °C-on) viszont élesztő formában növekednek.

A gombák szaporodása történhet ivartalan vagy ivaros úton. Az ivartalanul képződő szaporító képletek elsősorban a terjedést szolgálják. A patogenitás szempontjából fontos szerepe van az ivartalanul képződő spóráknak. Ezek képződhetnek endogén sporangiumokban (pl. járomspórás gombák sporangiospórái), vagy exogén úton (pl. az aszkuszos gombák konídiumai). Ivaros úton jönnek létre az egyes gombacsoportokra jellemző zigo- (járomspórás gombák), aszko- (aszkuszos gombák) és a bazídiospórák (bazídiumos gombák).

A gombák által okozott, vagy hozzájuk köthető megbetegedéseknek alapvetően négy fajtáját szoktuk megkülönböztetni, melyek a következők:

- gombafertőzések következtében kialakult betegségek, azaz a mikózisok;
- allergiás tünetek, melyeket egyes gombák, elsősorban nagy tömegben termelt spóráik által, okoznak;
- mikotoxinokkal, azaz gombák által termelt és a környezetükbe kiválasztott különböző másodlagos anyagcseretermékekkel szennyezett étel, vagy takarmány fogyasztása következtében kialakult mikotoxikózisok;
- gombamérgezések (micetizmus), melyeket a méreganyagot termelő és felhalmozó gombatermőtest fogyasztása vált ki.

Jelen jegyzetünkben az első csoporttal, azaz a gombafertőzések biológiai hátterével fogunk foglalkozni.

A mikózisok tehát gombafertőzések következtében kialakult megbetegedések. A fertőzés gazdaszervezetben történő terjedése szempontjából beszélhetünk:

- helyi (lokális) mikózisról, ha a gomba a fertőzés helyéről nem terjed át mélyebben fekvő szövetekre;
- invazív mikózisról, ha a fertőzés átterjed a környező szövetekre, eléri a mélyebb rétegeket és egyes belső szerveket is;
- valamint disszeminált mikózisról, ha a fertőzés generalizálódik és a kórokozó, leggyakrabban a vérárammal, eljut a szervezet különböző részeibe, aminek következtében egyszerre számos szerv érintett lehet.

A fertőzés helyétől függően megkülönböztetünk felszíni, kután, szubkután és szisztémás mikózisokat is. A felszíni fertőzések csak a kültakaró legkülső rétegét, míg a kután mikózisok a bőr több rétegét is érintik. A mélyebben fekvő és a bőr alatti rétegeket (irha, bőr alatti kötőszövet, izom) is elérő fertőzéseket nevezzük szubkután mikózisoknak. A szisztémás mikózisok a belső szerveket érintik, ilyenkor a fertőzés valamilyen elsődlegesen fertőzött szervből (pl. légutak és tüdő) szétterjedve több szervet, illetve szervrendszert is érinthet. Mivel a gombák egyik természetes terjedési módja a spórákkal történő szaporodás, a szisztémás mikózisok egyik gyakori kiindulási pontját képezik a légutak, elsősorban a tüdő és az orrüreg, illetve az orrmelléküregek. Egyes gombák szisztémás, illetve disszeminált mikózisok során hajlamot mutatnak a központi idegrendszer fertőzésére. Az ilyen fertőzések egyik jellegzetes csoportja a rhinocerebrális, vagy rhino-orbito-cerebrális mikózis, amikor a fertőzés az orrmelléküregekről kiindulva, a szemet, illetve a körülötte lévő szöveteket és az agy egyes területeit is érinti.



Az emberi fertőzést okozó gombákat két alapvető csoportra szokás felosztani:

- (1) a valódi, vagy elsődleges és
- (2) az ún. opportunisták kórokozó gombák csoportjára.

A valódi kórokozók egészséges szervezetben is képesek betegséget okozni. Ilyenek a felszíni és kután fertőzéseket okozó dermatofita gombák (bőrgombák) és a szisztémás mikózisokat okozó dimorf gombák.

Az opportunisták fajok elsődlegesen szaprotróf gombák, melyek az immunrendszer károsodása, valamilyen alapbetegség, sérülés, vagy gyógyszeres kezelés következtében legyengült, vagy fogékonyra vált szervezetben képesek betegséget okozni. A gombafertőzés kialakulását elősegítő hajlamosító tényezők (rizikófaktorok) lehetnek pl. a cukorbetegség, alkoholizmus, leukémia, AIDS, cukorbetegség, egyes gyógyszeres kezelések (pl. immunterápia, széles spektrumú antibiotikum terápia, antibiotikum profilaxis), hosszantartó kórházi ápolás, sebészeti beavatkozások, éhezés következtében történő legyengülés, égési sérülések, stb.

Egyes opportunisták fajok egészséges immunrendszerű egyéneknél is képesek lokális fertőzéseket kiváltani. Ezek leggyakrabban valamilyen bőrsérülést követően kialakult kután, vagy szubkután fertőzések, az orrnyálkahártyát (szinuszitisz), vagy a szem szaruhártyáját érintő fertőzések (keratitisz). Ezen felül az orrnyálkahártya és a légutak kolonizációja allergiás tüneteket is kiválthat.

## LEGFONTOSABB HUMÁNPATOGÉN GOMBACSOPORTOK

### ELSŐDLEGES PATOGÉNEK

#### Dermatofita gombák („bőrgombák”)

Keratinhasznosító fonalas gombák, melyek lokális felszíni és kután mikózisokat okoznak (bőrfelszín, bőr, köröm, haj gombás fertőzése). Ide tartoznak pl. a *Trichophyton*, *Microsporum* és *Epidermophyton* nemzetségek tagjai.

#### Szisztémás mikózisokat okozó dimorf gombák

A környezet hőmérsékleti viszonyaitól függően fonalas és élesztő formában is képesek növekedni. Az emberi szervezetben élesztő formában növekednek, ez a patogén forma. A legtöbb faj bizonyos földrajzi területeken (különösen Észak- és Dél-Amerikában) endemikus. Szisztémás, illetve egyes fajok szubkután, fertőzéseket okozhatnak egészséges emberekben is. Legismertebbek a *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides*, *Sporothrix* nemzetségek tagjai.

### OPPORTUNISTA PATOGÉNEK

Az ide tartozó gombák elsődlegesen szaprotrófok. Egészséges immunrendszerű egyéneknél legfőképpen lokális fertőzések (pl. micetómák, kután mikózisok, faringitisz, vulvovaginitisz) kialakítására képesek. Invazív, illetve szisztémás fertőzést pedig csak legyengült, vagy fogékonyra vált szervezetben okoznak.

A legismertebb opportunistáknak a *Candida albicans*, az *Aspergillus fumigatus*, a *Cryptococcus neoformans* és az ún. járomspórás gombák (az egykori Zygomycetes osztály egyes tagjai). Ezeknél túlmenően egyre növekszik az egyéb opportunistáknak azonosított gombaszervezetek száma. Az ilyen új és felbukkanó (*emerging*) patogének közé tartozik számos nem-*albicans* és nem-*fumigatus* *Candida* (pl. *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*) és *Aspergillus* (pl. *A. flavus*) faj, a *Fusarium*, *Scedosporium*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Scopulariopsis* és egyéb nemzetségek képviselői, valamint számos melanintermelő fonalas gomba.

Az irodalomban meg szokták különböztetni a melanint, azaz sötét színanyagot termelő gombák („*dematiaceous fungi*”) által okozott fertőzéseket. Az ilyen mikózisokra a fertőzés helyének sötét elszíneződése jellemző. A „*chromoblastomycosis*” megnevezés egyes pigment termelő gombák (pl. *Fonsecea*, *Phialophora*, *Cladosporium* fajok) által okozott krónikus, lokalizált kután és szubkután mikózisokra vonatkozik, melynek során a bőrön karfiolra emlékeztető léziók, fekélyek alakulnak ki. A „*phaeohyphomycosis*” kifejezés gyűjtőfogalom, mely melanin termelő élesztők, vagy fonalások által okozott felszíni, kután, szubkután és szisztémás fertőzésekre utal (pl. *Bipolaris*, *Exserohilum*, *Curvularia*, *Alternaria*). Az utóbbi csoportba tartozik számos szemfertőzést okozó gomba is (pl. *Bipolaris*, *Curvularia*). A nem-melanintermelő fonalás gombák által okozott fertőzésekre néha a „*hyalohyphomycosis*” kifejezést használják (*hyalo* – üvegszerű).

## A HUMÁNPATOGÉN GOMBÁK GYAKORISÁGA

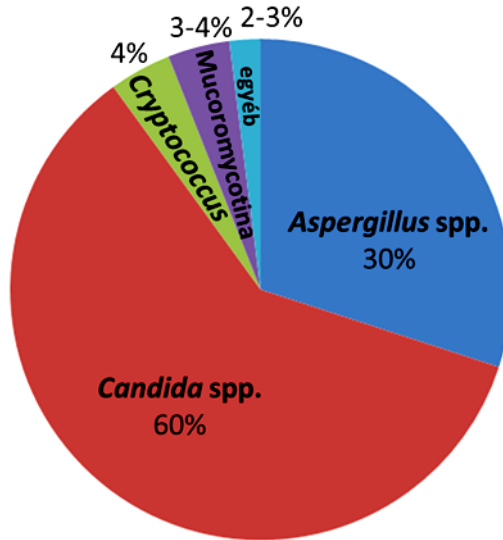
A bőr gombás fertőzése meglehetősen gyakori és a társadalom széles rétegeit érinti. Ugyanakkor ezek a fertőzések lokális jellegűek és viszonylag könnyen kezelhetők.

A dimorf gombák által okozott szisztémás fertőzések bizonyos földrajzi területekre korlátozódnak (USA). Endémiás területen a fertőzöttek száma magas lehet, ugyanakkor klinikailag is észlelhető fertőzés, fajtól függően, csak elenyésző számban (10–50%) figyelhető meg. Ritkán, súlyos, a tüdőt és egyéb belső szerveket érintő megbetegedések is előfordulhatnak.

Az utóbbi néhány évtizedben az opportunistá gombák által okozott megbetegedések esetszáma folyamatosan emelkedett. Ez a folyamat ma is tart, sőt évről évre új opportunistá fajok felbukkasásáról adnak hírt. Az esetszám növekedésének egyik fő oka a veszélyeztetett populáció folyamatos bővülése, pl. a szervátültetésen átesett, a hosszantartó kórházi ápolásban részesült betegek, valamint a cukorbetegségben szenvedők számának növekedése következtében, továbbá az immun-suppresszív és antimikrobiális szerek széleskörű alkalmazása miatt. A gombaellenes hatóanyagok használatának terjedésével növekszik a jelenleg alkalmazott szerekkel szemben rezisztens gombatorzsek aránya is. Végül meg kell jegyezni, hogy részben az érzékenyebb diagnosztikai módszereknek köszönhetően is növekszik az igazolt gombafertőzések száma.

Az 1. ábra azt mutatja, hogy a főbb opportunistá gombacsoportok, általában milyen gyakorisággal fordulnak elő a szisztémás mikózisok okozóiként. Meg kell azonban jegyezni, hogy az ábra erősen általánosító jellegű, hisz az egyes gombacsoportok megoszlása erősen függ a rizikófaktoroktól, illetve a hajlamosító

alapbetegségtől is. Tehát más az egyes patogének gyakorisága pl. a szervtranszplantáltak vagy a HIV fertőzöttek között.



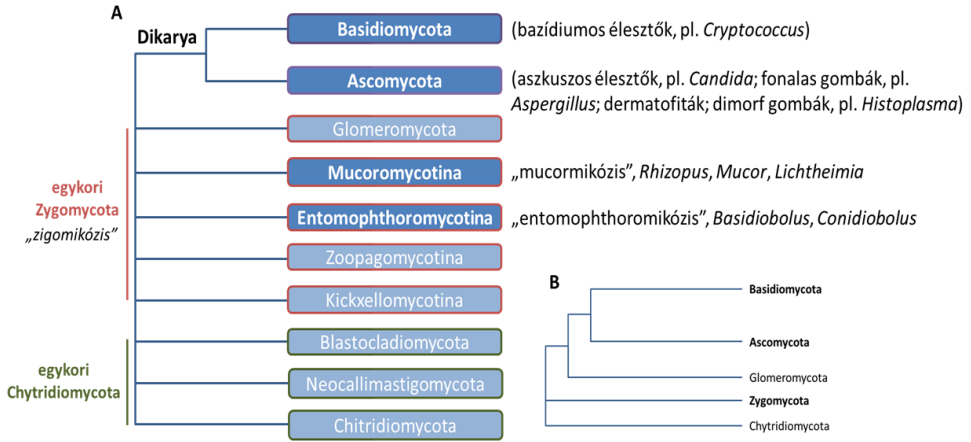
**1. ábra.** Az egyes opportunistagombacsoportok megoszlása a szisztémás mikózisok kórokozói közt.

A legjelentősebb opportunistagombacsoportokat tehát a *Candida* és *Aspergillus* nemzetségek tagjai alkotják. Az összes nosokomiális (azaz kórházi) vérárami fertőzés (BSI, *blood stream infections*), mintegy 8–10%-át *Candida* fajok okozzák. A tüdő transzplantáltak körülbelül 15–25%-ában alakulnak ki gombafertőzések, melyek közt a *Candida* és *Aspergillus* fajok megoszlása 45–50 és 30–35%. Máj transzplantáltak körében a kialakuló tüdőgyulladások 37%-a, míg vese transzplantáltak esetén a fertőzések következtében jelentkező komplikációk 2–14%-a vezethető vissza gombafertőzésekre. A HIV pozitív és AIDS beteg személyek kb. 20%-a esetében diagnosztizálnak valamilyen opportunistagombafertőzést és jellemzően magas köztük a *Cryptococcus neoformans* és a *Pneumocystis jirovecii* fertőzések aránya. A tisztás fibrózisos betegek 5–9%-a esetében figyeltek meg *Scedosporium* fertőzést.

## A HUMÁNPATOGÉN GOMBÁK TAXONÓMIÁJA

A gombák (Kingdom Fungi; 2. ábra) csoportjába mintegy 120.000 ismert faj tartozik (kb. másfél millióra becsülik a még nem ismert fajok számát), közülük azonban csak százas nagyságrendű az olyan fajok aránya, amelyek, klinikai jelentőséggel bírnak, mint elsődleges, vagy opportunistagombák. (Jegyzetünkben csak a

valódi gombákkal, tehát a Kingdom Fungi csoportba tartozó élőlényekkel foglalkozunk.)



**2. ábra.** A valódi gombák jelenleg elfogadott fő csoportjai (A), valamint a korábbi rendszertanokban használt gombatörzsek (B). Vastagon, sötét háttérrel szedtük azokat a csoportokat, amelyek képviselői közt humánpatogén szervezetek is vannak.

Az elmúlt években a gombák taxonómiája, mely hagyományosan a Basidiomycota, Ascomycota, Glomeromycota, Zygomycota és Chytridiomycota törzseket foglalta magában (2. ábra), elsősorban a kiterjedt molekuláris filogenetikai kutatásoknak köszönhetően jelentős változásokon esett át. Némely törzsek megmaradtak, ugyanakkor a korai gombacsoportok több törzsre, illetve – egyelőre bizonytalan helyzetű (*incerte sedis*) – altörzsekre estek szét (2. ábra). A jelenleg elfogadott csoportok közül a Basidiomycota, Ascomycota, Mucoromycotina és az Entomophthoromycotina tartalmaz humánpatogénként számon tartott fajokat. A Mucoromycotina és az Entomophthoromycotina altörzsek a gombák úgynevezett bazális csoportjai, képviselőik a legősibb valódi szárazföldi gombák közé tartoznak. Az ide sorolt szervezetek ún. járomspórás gombák, jellemző rájuk a kitin-kitozán sejtfal, a cönocitikus micélium és a járomspóra (más néven) zigospóra képzés, ivartalanul sporangiospórákkal szaporodnak.

A legtöbb humánpatogén gomba az Ascomycota törzsbe tartozik, melyek közt mind élesztő (pl. *Candida*), mind fonalas (pl. *Aspergillus*) szerveződésű megtalálható, változatos rendszertani csoportokban. A Basidiomycota törzsbe viszonylag kevés olyan faj található, melyek humánpatogénként is ismertek. Ezek többsége bazídiumos élesztő szervezet (pl. *Cryptococcus*). Az 1. táblázat a fontosabb humánpatogénként (is) számon tartott gombák rendszertani helyzetét mutatja be.

1. táblázat. A legfontosabb humánpatogén gombákat tartalmazó nemzetségek rendszertani helyzete.

Törzs/altörzs	Osztály	Rend	Nemzetség	Megjegyzés
<b>Mucoromycotina</b>	–	Mucorales	<i>Apophysomyces</i> , <i>Cokeromyces</i> , <i>Cunninghamella</i> , <i>Lichtheimia</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizomucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Saksanea</i> , <i>Syncephalastrum</i>	Járomspórás gombák; korábban a Zygomycetes osztályba sorolták őket, ezért az általuk okozott megbetegedést nevezik zigomikózisnak is. A csoport tagjai által okozott megbetegedésekre ma már inkább a mucormikózis kifejezést használják.
<b>Entomophthoromycotina</b>	–	Entomophthorales	<i>Basidiobolus</i> , <i>Conidiobolus</i>	Járomspórás gombák; Az általuk okozott megbetegedések az entomophthoromikózisok.
<b>Ascomycota</b>	Pneumocystidomycetes	Pneumocystidales	<i>Pneumocystis</i>	Élesztőszerű gombák. A <i>P. jirovecii</i> ( <i>carinii</i> ) opportunistá patogén, tüdőgyulladást okoz.
	Saccharomycetes	Saccharomyetales	<i>Candida</i> , <i>Saccharomyces</i>	Ascomycota élesztők.
	Dothideomycetes	Capnodiales	<i>Cladosporium</i>	Pigmentált fonalas gombák, ritkán felszíni fertőzéseket okoznak (chromoblastomycosis).
		Pleosporales	<i>Curvularia</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Exserohilum</i>	Phaeohyphomycosis-okat okozó (melanin termelő) fonalas gombák.
	Eurotiomycetes	Chaetothyriales	<i>Fonsecea</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Cladophialophora</i>	Chromoblastomycosis-okat, phaeohyphomycosis-okat okozó gombák.
		Eurotiales	<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Paecilomyces</i>	Fonalas gombák.
		Onygenales	<i>Trichophyton</i> , <i>Microsporum</i> , <i>Epidermophyton</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Blastomyces</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Paracoccidioides</i>	Elsődleges patogének. Dermatofita gombák. Szisztémás mikózisokat okozó dimorf gombák.

<b>Ascomycota</b>	Sordariomycetes	Hypocreales	<i>Acremonium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i>	Hyalohyphomycosis-okat okozó fonalas gombák.
		Microascales	<i>Scedosporium</i> , <i>Scopulariopsis</i>	Fonalas gombák.
		Ophiostomatales	<i>Sporothrix</i>	<i>Sporothrix schenckii</i> dímorf gomba.
		Sordariales	<i>Madurella</i>	Micetómákat okozó pigmentált fonalas gombák.
<b>Basidiomycota</b>	Cystobasidiomycetes	Cystobasidiales	<i>Rhodotorula</i>	Bazídiumos élesztők.
		<i>incertae sedis</i>	Malasseziales	<i>Malassesia</i>
	Tremellomycetes	Filobasidiales	<i>Cryptococcus</i>	Bazídiumos élesztők.
		Tremellales	<i>Trichosporon</i>	Bazídiumos élesztők.

## PATOGENITÁS ÉS VIRULENCIA

### MI A PATOGENITÁS?

A patogenitás, jelentését tekintve, a betegség kialakulása és annak lefolyása. A patogén fogalma az előbbi definíció szerint: egy organizmus, amely betegség kiváltására képes. Ez a meghatározás logikusnak és elegendően egyszerűnek tűnik ahhoz, hogy igaz legyen. A kérdés azonban ennél sokkal bonyolultabb.

Az alapvető probléma miszerint miért csak egyes mikroorganizmusok képesek megbetegedéseket okozni, illetve hogy miért csak bizonyos gazdában virulensek gyakorlatilag a 19. század óta foglalkoztatja a mikrobiológusokat. Robert Koch és Louis Pasteur óta tudjuk, hogy a betegségek kiváltásában mikroorganizmusok is szerepet játszhatnak, tulajdonképpen a kórokozó teória felállításával nyert értelmet a virulencia és a patogenitás fogalma. Az elmélet alapvetése az, hogy a patogén és nem patogén mikroorganizmusok között valami alapvető különbségnek kell lennie, amely meghatározza a gazdában okozott károsodás mértékét. Ezt a megközelítést támasztja alá az a megfigyelés, miszerint egyes patogén mikroorganizmusok speciális faktorokat igényelnek (pl.: toxinokat, speciális burkot, stb.) ahhoz hogy állati gazdát tudjanak megbetegíteni. Jóllehet ezt a megközelítést szinte megszületése óta számos kritika érte. A mikrobiológia fejlődésével bebizonyosodott, hogy a virulencia nem egy változatlan tulajdonság. A patogén mikroorganizmusok állati gazdáról *in vitro* körülmények közé kerülése megváltoztat számos olyan tulajdonságot, amelyek a virulenciában is szerepet játszhatnak, bizonyítva, hogy maga a virulencia

nem egy statikus jelleg. A 20. században azután számos eddig kommenzalistának, avirulensnek hitt mikrobáról bizonyosodott be hogy megbetegedéseket képes kiváltani. A *Candida albicans* illetve a *Staphylococcus epidermis* mint klinikailag releváns kórokozók esete bizonyítja, hogy a virulencia, mint tulajdonság dinamikus és többek között a gazda immunrendszerének állapotától függ.

Nagyon valószínű, hogy a gazda-mikroba interakciók már azóta léteznek, mióta az élet sejtjes formát öltött a Földön (2. táblázat). Az ilyen kölcsönhatások egyike lehetett, amikor egy ősi „gazdasejt” és egy „ősbaktérium” interakciójából kialakult a ma ismert eukarióta sejtek őse. A kölcsönhatások eredménye lehet a mikroorganizmus, a gazda vagy mindkét fél számára előnyös vagy káros. A mutualizmus vagy a kommenzalizmus példa a mindkét résztvevő számára hasznos interakcióra. Amikor egy mikroba a gazdán belül szaporodik akkor a gazda pusztulása a mikroba további replikációját teheti lehetetlenné, végső esetben akár a mikroorganizmus halálát kiváltva. Ugyan a mikrobiális szaporodás képes a gazda károsodását okozni, akár betegséget kiváltani ebben a tekintetben a károsodás és a betegség nem esszenciális feltétele a mikrobiális túlélésnek a gazdán belül. Azt gondolnánk, hogy a patogenitás az élő mikroba által okozott gazdakárosodás. Erre cáfol rá a *cysticercosis* vagy borsókakór, amely a sertésgalandféreg a *Taenia solium* lárvájára adott gyulladáshoz vezető válasz során kialakuló betegség. A kórkép kialakulása a parazita féreg pusztulásával a peték kiszabadulásával illetve a kikelő lárvák agyba kerülésével kezdődik. Egyes klinikai megfigyelések arra utalnak, hogy a féregellenes terápiák megnövelik a *cysticercosis* veszélyét. Ez utóbbi extrém példája lehet mind a mikroorganizmus mind a gazda számára negatív következménnyel járó kölcsönhatásra. Azok a gazda-mikroba interakciók, ahol a szervezet kontrollálni vagy eliminálni képes a mikrobát alapul szolgálnak mind a vakcináláson mind pedig az immunválasz erősítésén nyugvó terápiás módszerek számára.

A gazda válasza is okozhat azonban sejt vagy szövetkárosodást, betegséget vagy akár halált is. Amikor a gazda számára káros hatást figyelhetünk meg, akkor beszélünk mikrobiális fertőzésről, mikroba által okozott megbetegedésről - ebben az értelemben tehát függetlenül attól, hogy a károsodást a mikroba vagy a gazda válasza okozta. A kölcsönhatások elemzését tovább bonyolíthatja a gazda és mikroba közötti megkülönböztetés nehézsége. Bizonyos mikroorganizmusokat egyes amőbák előszeretettel kebeleznek be és azokat, mint tápanyagokat hasznosítják. Így számukra ez a kölcsönhatás hasznos. Más esetekben azonban bizonyos mikroorganizmusok, mint pl. a *Legionella pneumophila* vagy a *Cryptococcus neoformans* akár az őket bekebelező amőba az *Acanthamoebae castellanii* pusztulását is okozhatják. Itt a gazda (amőba) számára káros hatású kölcsönhatásról beszélhetünk. Ugyanez az amőba ugyanakkor egy másik kölcsönhatásban lehet mikroorganizmus, ahol amőbás keratitiszt válthat ki. Így okozva a gazda (ember) károsodását.



**2. Táblázat.** A gazda-mikroba kölcsönhatások lehetséges kimenetei

Gazda számára hasznos	Mikroba számára hasznos	Példa
igen	nem	Gomba vagy baktérium sejtek amőbák általi bekebelezése táplálékként
igen	igen	Az emberi bélrendszer baktérium flórája, K vitamin szintézis a gazda számára és élettér illetve tápanyagok biztosítása a mikroorganizmus számára
nem	igen	Kölcsönhatás amely mikrobiális patogenezist eredményezhet
nem	nem	

**MIKROORGANIZMUS VAGY GAZDA KÖZPONTÚ SZEMLÉLET?**

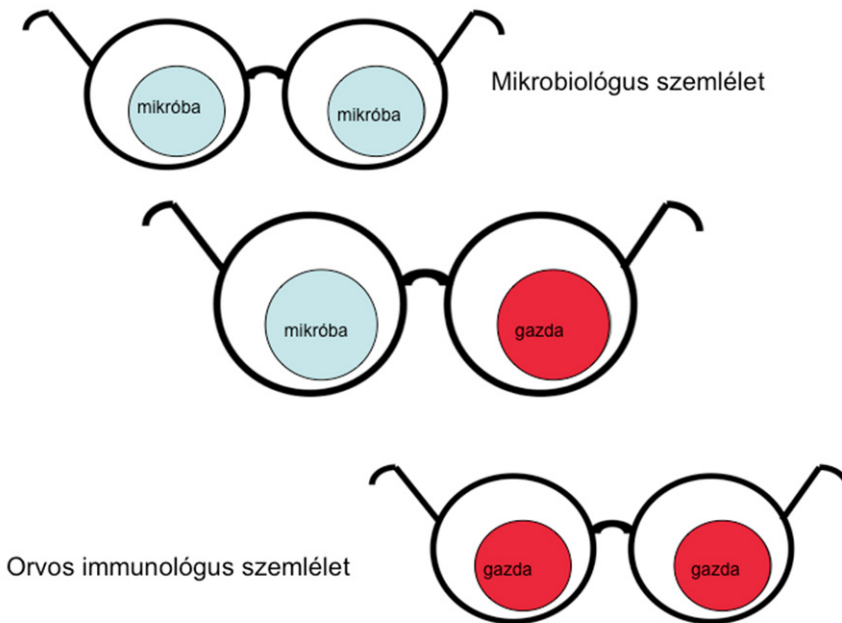
Annak ellenére, hogy a gazda-mikroorganizmus kapcsolatok esetében a patogenezis a gazdát károsítja, gyakran találkozunk, az úgynevezett „mikroorganizmus központú” patogenezis szemlélettel. Ezen elmélet hívei, a megbetegítő képességet és a virulenciát elsősorban mikrobiális gének működésével és aktivitásával hozzák összefüggésbe. Az elmélet szerint egyes mikroorganizmusok hordoznak olyan tulajdonságokat, amelyek patogénné teszik őket, míg másokból hiányoznak ezek a jellemzők így azok nem patogének.

A mikroorganizmus központú szemlélet intellektuális bázisát a századforduló óta tett úttörő megfigyelésekben kell keresnünk. A virulineknak, vagy más néven agresszinek, vagyis a patogének megbetegítő képességét elősegítő tulajdonságok (toxinok, enzimek, tok, stb.) felfedezése, a patogenitással összekapcsolható gének megismerése a „patogenitás-szigetek” azonosítása mind-mind a mikroorganizmus központú szemléletet erősítették. Olyan mikrobiális faktorok léte, amelyek a virulenciában bizonyítottan szerepet játszanak, mint pl. a poliszacharid tok (*Cryptococcus neoformans*) vagy toxinok (*Bacillus anthracis*), alátámasztották azt, hogy géntermékek meghatározhatják a patogenitást. Nehéz azonban ezzel a szemlélettel magyarázni, bizonyos gyakori kórokozók, mint pl., a *Candida albicans* vagy a *Staphylococcus aureus* patogenitását. Ugyanis a beteg, vagy a tüneteket nem mutató, de a mikroorganizmust hordozó egyedből izolált mikroorganizmus tulajdonságai nem vagy alig térnek el. Így a fenti szemlélettel nem magyarázható hogy az egyik miért patogén és a másik miért nem.

A gazda központú szemlélet alapja a fentiekkel szemben az, hogy a gazda védekező rendszerének hibája teszi lehetővé bizonyos mikroorganizmusoknak betegség kialakítását, végső soron tehát a gazda immunállapota határozza meg azok patogenitását.

Az elmélet alapja az a tény hogy a populáció nem minden tagja betegszik meg egy patogén mikroorganizmussal történő találkozás után. További megerősítés az, hogy az immunhiányos állapot elősegíti egyes fertőző betegségek kialakulását. amelyet un. „gyenge” vagy „kevésbé virulens” kórokozók váltanak ki. A mikrobiális oppor-  
tunizmushoz hasonlóan a gazda a gazdaszemléletű teória hívei a modern orvostu-  
domány vívmányainak következményeivel magyarázzák egyes, korábban ritkán izo-  
lált kórokozók előretörését. A magyarázat abban áll, hogy a gyenge, nem megfelelő  
immunműködésű betegek is életben tarthatóak, azonban ezáltal lehetségessé válik  
bizonyos kórokozók elszaporodása. Ez a magyarázat azonban nem ad választ arra az  
esetre, amikor egyes kórokozók „egészséges” immunrendszerű gazdában is képesek  
megbetegedést kiváltani, mégsem betegszik meg a populáció minden tagja, így az  
opportunizmus, mint fogalom ebben a tekintetben is relatív marad.

A mikrobiális patogenezis definíciójának problémája talán az e témával foglal-  
kozó két tudományág a mikrobiológia és az immunológia hagyományosan eltérő  
megközelítési módjában keresendő. A mikrobiológia elsősorban mikroorganizmus  
központú szemlélettel, míg az immunológia gazda központú szemlélettel közelít a  
kérdéshez. Talán az a megközelítés vezethetne megoldásra ahol a mikroba-gazda  
kölsönhatásban résztvevő feleket, mint egységes rendszert vizsgálnánk, azaz egy  
mikrobiológus-immunológus megközelítés. (3. ábra)



3. ábra. A gazda-mikroba kapcsolatok megközelítési módjai

A rendszerelvű megközelítés kiküszöbölheti azokat a korlátokat, amelyeket a csak mikrobiológus, illetve a csak immunológus szemlélet magában hordoz. A mikroba központú vizsgálatok alapja a patogén molekuláris manipulációja (mutációk létrehozása), majd ezen változások virulenciára gyakorolt hatásának vizsgálata, úgy hogy közben a kölcsönhatás másik tagja a gazda konstans állapotú, sokszor úgy hogy immunológiailag legyengített vagy beltenyészett. Az orvos-immunológus szemlélet éppen fordítva a patogént tartja konstansnak, változatlan tényezőnek és a gazda immunrendszerének manipulálásával vonja le a következtetéseket, például összehasonlítva egy normál (vad típusú) és egy deficiens (knock-out) egér reakcióját egy patogénre.

Kétségtelen, hogy mind a két szemléletmód hozzájárul és hozzájárult a mikrobiális patogének elleni védekezés hatékonyabbá tételéhez, azonban egyenként egyik sem alkalmas a mikrobiális patogenitás szimulálására ahol a gazda immunrendszere és a mikroba fitnesze egyaránt szerepet játszik a kölcsönhatásban.

## A PATOGENITÁS ÉS A VIRULENCIA ÚJRAÉRTELMEZÉSE

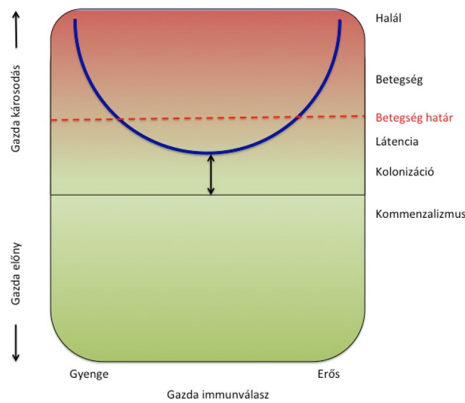
A fentiek alapján Casadevall és Pirofski (2003) létrehozta a károsodás-válasz rendszert és megfogalmazta a patogén és a virulencia fogalmát. Elméletük szerint a patogén olyan mikroorganizmus, amely a gazdában károsodást képes okozni. Ez a definíció lehetővé teszi a megbetegedést kiváltó vagy azt nem okozó mikroorganizmusok csoportosítására korábban használt terminusok, mint pl. a kommenzalista, szaprofita, nem-patogén, opportunist, primer-patogén, egyértelműbb értelmezését is.

Ez a meghatározás a mikroorganizmus által létrehozott károsodás mértékét tekinti a patogenitás definíciójának. A modell mindezek mellett alkalmas a mikroba-gazda kölcsönhatások különböző fázisainak leírására is. Korábban sokan sokféleképpen definiálták a kolonizáció, kommenzalizmus vagy a látencia fogalmát. A károsodás-válasz rendszer ehhez is segítséget nyújthat azáltal, hogy a különböző típusú kölcsönhatásokat a gazdában kiváltott károsodással jellemzi. Könnyen érthető, hogy a kolonizáció illetve a kommenzalista állapot a gazda számára minimális károsodással jár, azonban ez az állapot nem zárja ki annak lehetőségét, hogy a mikroba betegségét okozzon egy későbbi időpontban.

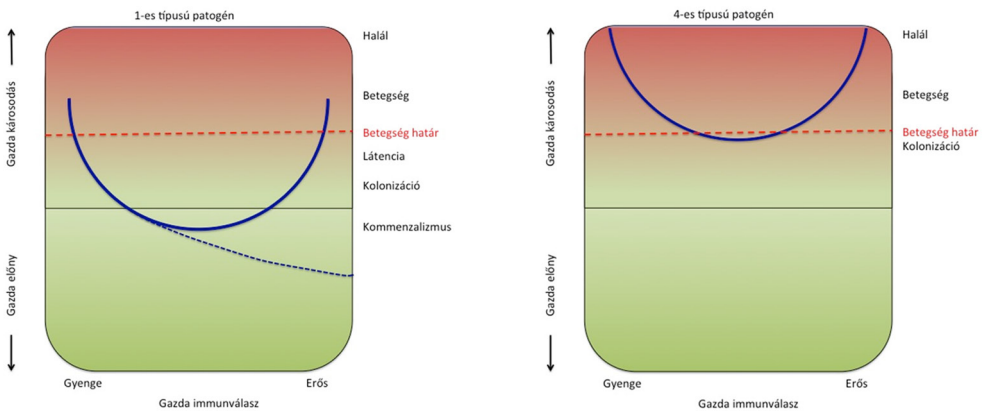
Természetesen az is elképzelhető hogy ugyanazon mikrobának két eltérő azonban egy időben a gazdában jelenlévő formája is megfigyelhető, így pl. egy *Candida albicans* által kiváltott orális candidiázis nem zárja ki annak lehetőségét, hogy a szervezet egy másik területén pl. a bőrön, ugyanez a mikroba kolonizáljon. A károsodás-válasz rendszer központi tézise szerint a patogenitást a gazda-mikroba kölcsönhatás során kiváltott károsodás mértéke határozza meg. A patogének besorolását egy U alakú görbe teszi lehetővé (4. ábra) ahol az x tengelyen a gazda

immunválaszának állapota kerül ábrázolása a gyenge immunválasztól a túlzottan erősig, míg az y tengelyen a gazdát ért károsodás mértéke látható. A görbe U alakja jól illusztrálja, hogy károsodás mind elégtelen, mind pedig túlzott immunválasz során kialakulhat. Jobban érthetővé téve pl. az allergia okozta mikrobiális megbetegedéseket. Az ábrán látható az is, hogy megfelelően működő immunrendszer mellett a legalacsonyabb a károsodás mértéke.

Az ábrázolás flexibilitása lehetővé teszi, hogy egymástól jelentősen eltérő patogének károsító képességét is modellezhessük, ezt jelzi a kétirányú fekete nyíl, amely a kolonizáció fázisát jelöli ki. Attól függően, hogy milyen típusú patogénnel állunk szemben, a károsodás mértéke már a kolonizáció alatt is elérheti a betegség határt, míg más esetekben ugyanez a folyamat csak a nem megfelelően működő immunválasz (főként gyenge) esetén éri el a betegség szintjét (5. ábra).



4. ábra. Károsodás-válasz parabola Casadeval és Pirofski után (magyarázat a szövegben).



5. ábra. A kolonizáció különböző típusai a károsodás válasz rendszerben.

A károsodás-válasz rendszeren alapuló elmélet a gazda-mikroba kölcsönhatások különböző fázisait (kommenzalizmus, kolonizáció, betegség, látencia) egy folyamatosan egymásba oda-vissza átalakulni képes mikroba megjelenési formának tekinti, ahol a különbség az egyes fázisok között csupán a kiváltott károsodás mértékében van. Így válik érthetővé, hogy ugyanazon mikroba hogyan okozhat teljesen eltérő károsodást különböző gazdáiban, vagy egy gazdában hogyan lehet jelen ugyanazon mikroba különböző fázisokban (pl. a *C. albicans* a bőrön lehet kommenzalista, a vaginális epithélium sejteken kolonizálhat miközben a köröm területén már betegséget is kiválthat ugyanazon páciens esetében). A fentiek alapján könnyebb megértenünk, hogy a virulencia nem lehet egyedi tulajdonság, nem csupán a gazda vagy a mikroba képességeitől függ, hanem egy bonyolultabb összetettebb rendszertől, amely a kölcsönhatáson alapszik. A fentiek ellenére, természetesen léteznek olyan képességek, tulajdonságok, amelyek elengedhetetlenül szükségesek a gazda-patogén kölcsönhatások során. A továbbiakban ezeket az alapvetően szükséges tulajdonságokat vesszük számba.

## A VIRULENCIA FAKTOR FOGALMA

Klasszikus értelemben tehát, virulencia faktornak nevezzük a gomba minden olyan tulajdonságát, mely lehetővé teszi, vagy fokozza a fertőzőképességet. Ez általában olyan élettani vagy morfológiai tulajdonság, amely szelektív előnyt jelent a gazda-patogén kölcsönhatások során és elősegíti a betegség terjedését, serkenti a patogén szaporodását, vagy gyengíti a megtámadott szervezet ellenálló képességét. Ilyen virulencia faktor lehet például valamilyen extracelluláris enzim, vagy anyagcseretermék (metabolit) termelésének képessége, illetve ezek képződését lehetővé tevő gének.

Egyes alapvető tulajdonságok nyilvánvalóan szükségesek a fertőzőképesség szempontjából. Ilyen pl. a 37 °C-on és fiziológiás pH-n való növekedés képessége az invazív mikózisokat okozó gombák esetében, vagy a spórák, konidiumok mérete a légutakat és a tüdőt fertőző gombáknál. Sokkal összetettebb feladat az olyan tényezők meghatározása, amelyek segítségével pl. a gomba kikerüli, vagy kijátszza a gazdaszervezet immunválaszát.

A virulencia faktorok vizsgálatára a legmegfelelőbb eszköz, ha összehasonlítjuk a gomba fertőzőképességét és patogenitását, az adott faktor megléte, vagy hiánya esetén. A legmeggyőzőbb bizonyíték, hogy egy feltételezett faktornak valóban fontos szerepe van a patogenitás kialakításában, az, ha az adott faktor elvesztése a patogenitás elvesztésével, vagy szignifikáns csökkenésével, a visszanyerése, pedig annak helyreállításával jár együtt. Az ilyen összehasonlításokra hagyományosan olyan mutánsokat használnak, illetve állítanak elő, amelyekben a feltételezett virulencia faktor génjét elrontották. A mutánsokat elő lehet állítani kémiai vagy UV mutagenezissel, genetikai transzformációval és természetesen előforduló

mutánsok szelektálásával. A random mutagenézis komoly hátránya, hogy a mutáns törzsek esetleg több tulajdonságban is eltérhetnek a vad (patogén) törzstől. Azaz, mivel potenciálisan többféle mutációt is hordozhatnak, a mutáns törzs virulenciájának csökkenése nem köthető kizárólag a vizsgálni szándékozott faktorhoz. Virulencia faktorok elemzésekor ezért a legelőnyösebb, irányított mutagenézissel létrehozott izogénikus törzseket használni. Az ilyen törzsek csak egyetlen, a vizsgálni kívánt lokuszban térnek el egymástól. A rekombináns és egyéb molekuláris biológiai technikák alkalmazásával ez ma már megoldható. A genetikai transzformáció különböző módszereivel lehetőség van az adott gén irányított kiütésére („*knock-out*” mutánsok), vagy kifejeződésének módosítására, vagy éppen arra is, hogy a vizsgálni kívánt gént egy másik, pl. nem patogén, törzsben kifejeztessük.

A virulencia faktorok tanulmányozásának másik kulcskérdése, hogy a teszteket milyen kísérleti modellrendszerben végezzük el (pl. egy intravénás modell nyilvánvalóan nem a legjobb választás, ha a gombának a tüdő alveolusokban való megtelepedését és túlélését akarjuk vizsgálni).

A gombák közt viszonylag kevés a valódi kórokozó. Opportunista kórokozónál a patogenitásban szerepet játszó folyamatok, a gomba-gazda interakciók nagyon összetettek lehetnek és a legtöbb esetben egyetlen feltételezett virulencia faktor megléte önmagában nem biztos, hogy patogénné teszi az adott gombát. E gombák többsége az evolúció során elsődlegesen a szaprotróf életmódhoz alkalmazkodott és az emlős szervezet fertőzésének képessége tulajdonképpen nem szükséges a fennmaradásukhoz. Mindezek miatt az opportunistá patogén gombák esetében sok tulajdonság csak mintegy „másodlagosan” nevezhető virulencia faktornak, amennyiben az adott tulajdonság megléte nem annak következménye, hogy a gomba afelé fejlődött volna, hogy növelje virulenciáját az emlős gazdában, vagy emberben, hanem, hogy mint szaprotróf, vagy növénypatogén növelje a túlélési esélyeit. Ezért viszonylag kevés olyan faktor van, amelyről azt mondhatnánk, hogy általánosan és abszolút szükséges ahhoz, hogy egy gomba patogén legyen. Ilyen tulajdonság a pl. növekedési hőmérséklet, a spórák mérete, vagy a szisztémás fertőzést okozó gombáknál a dimorfizmus jelensége.

## MIÉRT FONTOS A VIRULENCIA FAKTOROK VIZSGÁLATA?

A gomba patogenitás megértéséhez szükség van a virulencia faktorok azonosítására, valamint azok genetikai és funkcionális elemzésére. Az „új” patogén fajok egyre gyakoribb felbukkanása és a „régiek” újra megjelenése, továbbá a gombaellenes szerekkel szemben rezisztens törzsek elterjedése, mind sürgetik a gomba patogenitás genetikai, molekuláris és fiziológiai hátterének feltárását és annak az igen érdekes kérdésnek a megválaszolását, hogy tulajdonképpen mi tesz egy elsődlegesen szaprotróf

életmódhoz alkalmazkodott élőlényt képessé arra, hogy az emberben túléljen, és ott betegséget okozzon? Röviden, mitől lesz patogén egy szaprotróf gomba?

A virulencia faktorok a patogén gomba speciális és jellemző tulajdonságai. Tanulmányozásuk gyakorlati jelentősége, hogy lehetőséget teremt új terápiás célpontok azonosítására, valamint új, hatékonyabb gombaellenes szerek és eljárások kidolgozására. Egy nemzetségen belül nem minden faj, egy fajon belül pedig nem minden törzs „virulens”, az egyes törzseknek eltérő lehet a fertőzőképessége és a gombaellenes szerekkel szembeni érzékenysége. Ezért, a patogenitási faktorok elemzése lehetővé teszi új diagnosztikai és törzstipizálási eljárások kifejlesztését. Ezek az eljárások, alapulhatnak hagyományos mikrobiológiai módszereken (pl. növekedési hőmérséklet tesztelése, bizonyos metabolitok kimutatása), vagy különböző molekuláris technikákon, mint a DNS kimutatáson alapuló (pl. virulencia gének kimutatása), vagy a szerológiai (antitest kimutatás) diagnosztikák.

## A GOMBAFERTŐZÉS FOLYAMATA

Hasonlóan más mikrobiális patogénekhez, a gombák által okozott fertőzések során is elkülöníthetünk néhány alapvető fázist. Ezek a következők: (1) bejutás a gazdaszervezetbe és megtapadás a gazda szöveteken, (2) penetráció a felszíni szövetekbe, (3) sokszorozódás és átterjedés a mélyebb szövetrétegekbe, (4) az immunválasz „kikerülése”, véráramba jutás, disszemináció, (5) újabb szervek, szövetek károsítása.

### Bejutás a gazdaszervezetbe

Egyes gombák kommenzalistaként jelen lehetnek a bőr felszínén (pl. *Malassezia*, *Candida*), illetve egyéb felületeken, pl. a szájüregben, a gasztrointesztinális traktus felső és alsó szakaszán, vagy a hüvely nyálkahártyáján (pl. *Candida*). Egyes *Candida* fajok már a szülés során a szülőcsatornában bejuthatnak az újszülöttek szervezetébe és kolonizálhatják az említett területeket. Az ilyen kommenzalista szervezetek jelen lehetnek az egészséges szervezetben és csak valamilyen predisponáló faktor jelenlétében válnak ki kóros folyamatokat. Meg kell jegyezni, hogy e szervezetek esetében is a véráramba, illetve a szervezet steril helyeire való bejutás súlyos fertőzésekhez vezet. Mint korábban említettük, a nozokomiális vérárami fertőzések kb. 10%-át *Candida* fajok okozzák. Ilyen fertőzések közvetítői lehetnek pl. a kórházi kezelések során alkalmazott katéterek.

Számos szaprotróf gomba általánosan jelen van a talajban és bomló, korhadó növényi anyagokon. Az ilyen gombák általában nagy mennyiségű konídiumot,

spórát termelnek, melyek elsősorban a felső légutakon és a tüdőn keresztül juthatnak az emberi szervezetbe. Az ilyen levegővel terjedő (*airborne*) gombák által okozott fertőzések jellemzően az orrüreg és az orrmelléküregek (szinuszok) nyálkahártyáját, vagy a tüdőt érintik először. Az így terjedő gombák közt vannak elsődleges (pl. *Histoplasma*) és opportunistá patogének egyaránt (pl. *Aspergillus*, *Rhizopus*).

A gombák (elsősorban spórák és konídiumok) bejuthatnak a bőr és egyéb felszínnek sérüléseire (pl. bőrsérülések, nyílt sebek, vagy égési sérülések) keresztül is. Az ilyen fertőzések immunkárosodott betegekben invazív szisztémás mikózisokhoz vezethetnek, de egészséges immunrendszerű egyéneket is érinthetnek, ahol lokális kútnál, szubkután fertőzés, esetleg micetómák alakulnak ki. Utóbbi esetben az opportunistá patogén gombák általában nem képesek a mélyebb rétegekbe penetrálni, a bőrben, vagy a bőr alatt növekedve nagy mennyiségű, hifatómeget képezhetnek, ami granulómák, duzzanatok formájában jelentkeznek.

## Adaptáció és terjedés

Ahhoz, hogy a gomba egy új élőhelyen túlélhessen, alkalmazkodnia kell a megváltozott életkörülményekhez. Amikor a gomba a szaprotróf módon a szabadban él, általában szobahőmérséklethez közeli viszonyok közt növekszik, ahol megfelelő szén- és nitrogénforrások, fémionok és egyéb tápanyagok állnak rendelkezésre, a széndioxid és az oxigén pedig atmoszférikus koncentrációban van jelen. Amikor viszont a gomba az emberi gazdaszervezetben kezd növekedni, ezek a környezeti faktorok drámaian megváltoznak, sőt a gazdaszervezet különböző helyein is nagyon eltérő lehet a tápanyag összetétel, a pH, vagy az oxigén tenzió.

Az egyik legjellemzőbb változást az emberi szervezet magasabb hőmérséklete jelenti. A patogén gombatörzsek általában jobban növekednek 37 °C-on, mint az apatogén törzsek. A gazdaszervezetben való terjedéshez, alkalmazkodni kell a változó pH viszonyokhoz is, pl. amikor a gomba a nyálkahártya felületek savas közegéből áttér a vér és a szövetek neutrális, vagy enyhén lúgos közegébe. A változó pH viszonyokra adott egyik válasz olyan transzkripciós faktorok aktiválódása, amelyek aztán számos gén működését szabályozzák. Ilyen, a pH szabályozásban központi szerepet játszó transzkripciós faktorok pl. a PacC az *Aspergillus nidulans*, vagy a Rim101 a *Candida albicans* esetében. Tipikus változás a szabadban történő túléléshez képest a fémionok, különösen a vas elérhetősége. A vas ionok a gazdaszervezetben általában hordozó fehérjékhez vannak lekötve, ezért csak nagyon korlátozottan hozzáférhetőek a gomba számára. A vashiányos közegből történő vasfelvételre a mikroorganizmusok, így egyes gombafajok is sokféle alternatív eljárást (pl. sziderofórok termelése és használata, nagy affinitású vas transzporterek jelenléte) fejlesztettek ki. Az ilyen vasfelvételt segítő faktorok jelenléte pl. a vérárammal



és az erekben való terjedés szempontjából különösen fontos lehet. A gazdaszervezetben terjedő gombának a szövetekben uralkodó magasabb széndioxid koncentrációhoz és hipoxiás viszonyokhoz is alkalmazkodnia kell. *Candida albicans* esetében a hipoxiára adott válaszul specifikus transzkripciós faktorok aktiválódnak. Ilyen az Ace2 faktor, mely az oxidatív metabolikus folyamatokat represszálja és elősegíti a fonalas növekedést. Az ilyen adaptációs mechanizmusok segítik a gomba terjedését és az eltérő mikro-környezetekhez való alkalmazkodását.

Kilotróf táplálkozásuknak megfelelően a gombák sokféle extracelluláris enzimet termelnek. A keratinázok, kollagenázok, savas proteázok, foszfolipázok és lipázok termelése szerepet játszhat a tápanyag felvételben, a megtapadásban, a szövetek közötti áttörésében (a gazdaszervezet inváziójában), a szövetekben való terjedésben és a disszeminációban, ezért az ilyen enzimeket kódoló és a szabályozásukban szerepet játszó gének virulenciában betöltött szerepe régóta intenzíven kutatott terület.

## A gombafertőzés folyamatának általános sémája

A fertőzés főbb eseményei a következők:

### 1. Kolonizáció, adhézió

Megtapadás az epitél- és egyéb sejteken, tápanyagfelvétel

Fontosabb faktorok: – adhezinek,  
– hidrolitikus enzimek,  
– fenotípus váltás (pl. *Candida* „switching”)

### 2. Felszíni fertőzés

Penetráció a hámrétegbe, gazdafehérjék degradációja

Fontosabb faktorok: – hidrolitikus enzimek  
– hifaképzés, dimorfizmus

### 3. Mélyfertőzés

Szöveti penetráció, behatolás az erek falán, immunválasz kikerülése

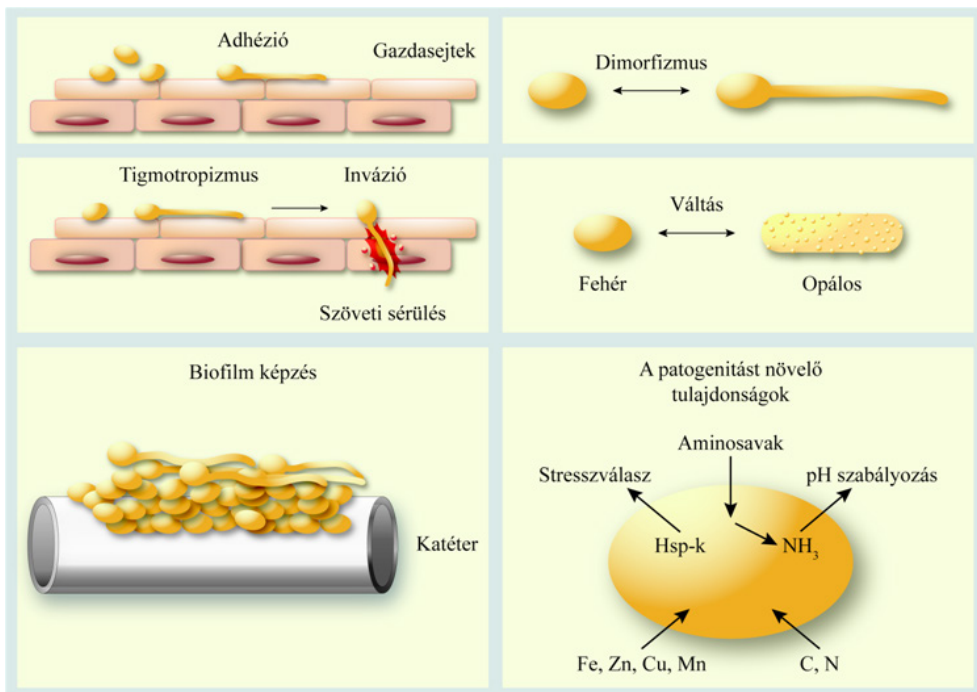
Fontosabb faktorok: – hidrolitikus enzimek  
– tápanyagfelvétel  
– hifaképzés, dimorfizmus  
– immunomodulálás

### 4. Disszeminált fertőzés

Véráramba kerülés, újabb szövetek, szervek fertőzése

Fontosabb faktorok: – hidrolitikus enzimek  
– adhezinek  
– hifaképzés, dimorfizmus  
– véralvadási folyamatok befolyásolása  
– immunomodulálás

A gombafertőzés és a patogenezis folyamatait a 6. ábra foglalja össze. Az ábrán az opportunistá gomba fertőzések egy általános folyamata látható. A fertőzés előfeltétele a gazda szövetein történő megtapadás (adhézió). Ezt követi az invázió (gyakran szöveti sérülés mentén). Bizonyos gombafajok képesek különböző felületeken összetapadva egybefüggő rétegek, azaz biofilmek képzésére (ilyen biofilmek képződhetnek egyes orvosi eszközök, pl. katéterek felszínén). A biofilmet alkotó mikroorganizmusok ellenállóbbak lehetnek az antimikrobiális kezelésekkel szemben. A morfológiai plaszticitás (hifa-élesztő átmenet, vagy a „white”- „opaque” váltás) szintén a fertőzési folyamat része lehet. A gombasejt számos fiziológiai folyamata hozzájárulhat a patogenitáshoz, így pl. a mikroelemek felvétele (Zn, Fe stb., részletesen lásd később), a különböző pH viszonyokhoz történő alkalmazkodás, oxidatív és egyéb stressz körülményekre adott válasz, stb.)



**6. ábra.** A gomba patogenezis folyamata.

Az alábbiakban kiemelünk néhány olyan tulajdonságot, fiziológiai, biokémiai, és molekuláris faktort, melyek a gombák patogenitáshoz megértését célzó vizsgálatok fontos célpontjai, természetesen a teljesség igénye nélkül, inkább csak az ezzel kapcsolatos kutatások főbb csapásirányait érzékeltetve.

## NÖVEKEDÉS FIZIOLÓGIÁS ÉS MAGASABB HŐMÉRSÉKLETEN

A testhőmérsékleten (37 °C), vagy a láz hőmérsékleti tartományában (37–42°C) való növekedés képessége nyilvánvalóan alapkövetelménye az invazív szisztémás fertőzésre való képességnek. A magasabb hőmérsékleten való növekedés képességét meghatározó gének elvesztése általában csökkent virulenciával jár együtt.

Az alapvetően nem patogén *Saccharomyces cerevisiae* esetében találtak olyan törzseket, melyek képesek fiziológias hőmérsékleten, sőt 42 °C-on is, növekedni és pszeudomicéliumot képezni. Az ilyen törzsekkel sikerült egereket fertőzni és a gombák fenn is tudtak maradni az állatokban. Ez a fertőzőképesség nagymértékben korrelált a magasabb hőmérséklet elviselésének képességével. *Cryptococcus neoformans*-ban a 37 °C-on való növekedés képessége kalcineurin (jelátviteli folyamatokban résztvevő  $\text{Ca}^{2+}$  függő protein foszfatáz) függőnek bizonyult. Kalcineurin-gátló vegyületek (pl. ciklosporin, FK506) adagolása esetén a gomba, ugyan szobahőmérsékleten normál növekedést mutatott, viszont érzékeny volt a 37 °C-os hőmérsékletre. Hasonlóképpen, a kalcineurin katalitikus alegységét kódoló génszakasz elrontása azt eredményezte, hogy a gomba nem tudott testhőmérsékleten növekedni és ezek a törzsek egyben avirulensnek is bizonyultak *Cryptococcus* okozta agyhártyagyulladás állatmodelljében.

A patogenitás mellett, de attól egyáltalán nem függetlenül, a hőmérséklet számos egyéb folyamat szabályozására is hatással van. Említettük már a hőmérséklet és a morfológia között szoros kapcsolatát a dimorf gombák esetében. A hőmérséklet más gombák esetében is hat a morfológia szabályozására, pl. a *Candida albicans* esetében, ahol a szobahőmérséklet inkább az élesztő, míg a magasabb hőmérséklet a fonalas növekedésnek kedvez.

A magasabb hőmérséklethez való alkalmazkodás komplex folyamat, mely különböző stressz válasz és jelátviteli útvonalakat foglal magában. A kalmodulin/kalcineurin jelátviteli útvonal szerepét már említettük. Ennél fontosabb folyamatok a nem vagy nem megfelelően feltekeredett (*unfolded* vagy *misfolded*) fehérjék jelenté-  
rőre adott válaszok és a membrán fluiditás megváltozása.

A hőmérséklet szignifikáns emelkedése stressz választ vált ki a különböző organizmusokban, amit hősokk (*heat-shock*) válasznak neveznek. A hősokk válasz legfontosabb elemei baktériumoktól az emberig erősen konzerváltak és fő szerepe a fehérjék magasabb hőmérsékleten bekövetkező denaturációja elleni védekezés. Az élőlények a hőmérséklet megemelkedésére speciális, ún. hősokk fehérjék (Hsp, *heat-shock protein*) termelésével válaszolnak, melyek képződését a Hsf1 hősokk transzkripciós faktor indukálja. Az így termelődő fehérjék egyik fontos csoportját chaperonok alkotják, melyek a denaturálódott fehérjék stabilizálásában és újra-feltekeredésében (*refolding*) segítenek. Ezt a folyamatot gombákban legalaposabban *Saccharomyces cerevisiae*-ben és *Cryptococcus neoformans*-ban tanulmányozták.

Az „*unfolded*” fehérjék jelenléte az endoplazmatikus retikulumban (ER) ER stresszt vált ki és aktiválódnak az ún. UPR (*unfolded protein response*) és ERAD (*ER-associated degradation*) útvonalak, melyek a nem megfelelő szerkezetű fehérjék újra-feltékeréséhez, illetve degradációjához vezetnek. Ugyanakkor a citoszolban jelenlévő dentaurálódnak és nem megfelelő szerkezetű fehérjék a citoszol hőszokk válaszában szerepet játszó chaperonjait és a klasszikus hőszokk választ indukálják.

A hőmérséklet jelentős megemelkedése a membrán fluiditás növekedéséhez és így a membrán szerkezet molekuláris rendezettségének csökkenéséhez vezet. *Histoplasma capsulatum* esetében a hőmérséklet emelésével párhuzamosan adagolt telített zsírsavak emelték, míg a telítetlen zsírsavak adagolása csökkentette a hőszokk fehérje gének transzkripcióját. *Saccharomyces cerevisiae*-ben a zsírsav deszaturáz gének manipulálásával, olyan mutáns törzseket hoztak létre, melyek citoplazma membránja eltérő telített és telítetlen zsírsav összetétellel rendelkezett. E mutánsokban a hőszokk fehérje gének expressziója eltérő küszöb hőmérsékleteknél indukálódott.

A hőszokk választ élesztőben a Hsf1 fehérje regulálja. A hőmérséklet emelkedésekor a Hsf1 foszforiláció útján aktiválódik. *Candida albicans*-ban a Hsf1 foszforiláció gyors, 30–42 °C-on akár 1 percen belül végbemegy. Ez a válasz azonban átmeneti, a sejt adaptálódásával a Hsf1 alulregulációja következik be, amelyben a Hsp90 és Hsp70 fehérjék vesznek részt.

## A SEJTFAL

Noha általánosságban nyilván nem tekinthetjük a sejtfalat virulencia faktornak, mégis, mivel sokféle módon működhet közre a patogenitásban, szükségesnek látszik bővebben tárgyalni.

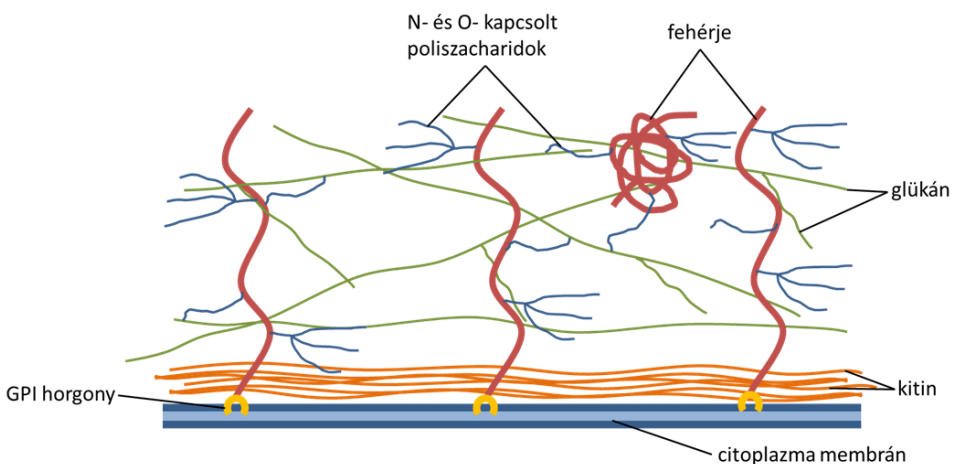
A sejtfal egy dinamikus struktúra, mely sokféle alapvető fontosságú biológiai folyamatban vesz részt. Egyrészt szilárdnak és erősnek kell lennie, hogy biztosítsa a sejt alakját és megfelelő ozmotikus és mechanikai védelmet nyújtson. Ugyanakkor meg kell őriznie a sejtnövekedéshez, sejtosztódáshoz és a különféle sejtípusok kialakításához szükséges plaszticitását is. Fő funkciói a sejt alakjának és integritásának fenntartása, valamint alapvető részvétel a környezettel való interakcióban. A sejtfal részt vesz az adhézis folyamatokban, azaz egy másik sejten, vagy a szubszt ráton történő megtapadásban. Továbbá, mintegy „jelzőközpontként” is működik, azaz itt történik a sejt belseje felé a jelátviteli utak aktivációja. A sejtfal szerkezet sérülése, vagy roncsolása súlyos következményekkel jár a sejtnövekedésre és a morfológiára nézve és végső soron a sejt pusztulását is okozhatja. Mivel sejtfal szerepe alapvető a gomba életfolyamataiban, régóta fontos célpontja a gombaellenes szerek kifejlesztését célzó kutatásoknak. A sejtfal alkotórészei antigénként is hatnak, ezért

fontos szerepük van az immunfolyamatok aktiválásában és az immunrendszer működésének befolyásolásában is. A sejtfa antigének és a velük szemben termelődő ellenanyagok a gombafertőzések kimutatását célzó kutatások fontos objektumai.

## A gombasejtfa felépítése

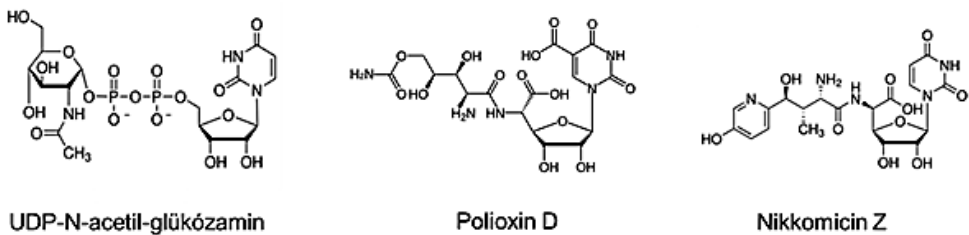
A gombák sejtfa (7. ábra) tulajdonképpen egy poliszacharid mátrix, gombacsoporttól, illetve fajtól függően mintegy 80–90%-ban poliszacharidokból (főként glükánból és kitinből), 3–20%-ban pedig fehérjékből (elsősorban glikoproteinekből) áll, továbbá kis mennyiségben (1–7%) lipideket is tartalmazhat.

A glükán komponensek közül meghatározó a  $\beta$ -1,3-glükán, amelyet  $\beta$ -1,3 kötésekkel összekapcsolt hosszú lineáris glükóz láncok alkotnak és a sejtfa fő szerkezeti vázát alkotja. Fajtól és sejtípustól függően, egyéb kötésekkel (pl.  $\alpha$ -1,3; -1,4;  $\beta$ -1,6) kapcsolt glükózból felépülő és elágazó glükánok is előfordulhatnak a sejtfalban. A kitin komponens  $\beta$ -1,4 kötésekkel összekapcsolt N-acetil-glükózaminból felépülő lineáris homopolimer. Általában kevesebb van belőle, mint a glükán komponensből, keresztkötések hoz létre a glükán vázban, szerepe van a szilárdság és ellenállóság biztosításában, a szeptum képzésben és élesztőknél a sarj képződés és leválás során. Meg kell jegyezni, hogy a járomspórás gombák (*Mucoromycotina*) esetében a többi gombánál előforduló glükán-kitin sejtfa helyett a kitin-kitozán ( $\beta$ -1,4-glükózamin homopolimer) összetétel a jellemző. A sejtfalban található fehérjék N- és O-glikozidos kötésekkel kapcsolt szénhidrát (mannán) oldalláncokat hordoznak, gyakran glikozil-foszfatidil-inozitol (GPI) horgonnyal a sejt membránjához kapcsolódnak.



**7. ábra.** A gomba sejtfa szerkezetének általános sémája.

A sejtfal kitintartalma általában a szárazanyag tartalomnak csak 1–20%-át teszi ki. A kitin mikrofibrillumokat hidrogénkötések kapcsolják össze. Ez a polimer alapvető szerepet játszik a sejt integritásának fenntartásában; a kitinszintézis zavara a sejtfal rendezettségének megszűnéséhez, a sejt alakjának deformálódásához és ozmotikus instabilitáshoz vezet. A kitin szintézisét a kitin szintáz, egy a citoplazma membránhoz kötődő enzim katalizálja. A kitin szintáz végzi az N-acetil-glükózamin felszabadítását az uridin-difoszfát (UDP)-N-acetil-glükózaminból és az előbbi hozzákapcsolását a szintetizálódó kitin polimerhez. Mivel a kitinszintézis meghatározó a sejt integritása szempontjából, kiváló célpontnak tartják gombaellenes terápiák kifejlesztéséhez. A legismertebb kitin szintézis gátlók az UDP-N-acetil-glükózamin analóg polioxinok és nikkomicinek (8. ábra).



**8. ábra.** Az UDP-N-acetil-glükózamin, a polioxin D és a nikkomicin Z szerkezete.

A nikkomicin Z hatásosnak bizonyult dimorf gombákkal (pl. *Coccidioides immitis* és *Histoplasma capsulatum*) szemben, ugyanakkor hatástalan volt *Candida*-val és *Aspergillus*-szal szemben. Noha ez idáig nem bizonyultak egyértelműen mikózi-sok kezelésére alkalmas szereknek, szintetikus változataik gombaellenes hatását és e szerek más antifungális szerekkel való együttes alkalmazását intenzíven kutatják.

A gomba sejtfal fő strukturális poliszacharidjai a glükánok (különösen a  $\beta$ -1,3-glükán), melyek a sejtfal szárazanyag tartalmának 50–60%-át teszik ki. A  $\beta$ -1,3-glükán fontos antigén, az immunrendszer sejtjei által felismert patogén asszociált molekuláris mintázat (*pathogen associated molecular pattern*, PAMP), mely a veleszületett immunrendszer erős, gyulladással járó választ váltja ki. Felismerésben elsősorban a monociták és a makrofágok dektin-1 és C-típusú lektin receptorai játszanak szerepet. A glükán szintézist, a kitin szintézishez hasonlóan, a hifa növekedés, illetve sarjadzás területén a citoplazma membránba ágyazódó és az extracelluláris térbe nyúló enzimkomplexek végzik. A glükán szintáz komplex katalitikus alegységeit az *FKS* gének, a szabályozásban résztvevő GTPáz alegységet a *RHO1* gén kódolja. E gének erősen konzerváltak, számos fonalas gomba és élesztő esetében izolálták és jellemezték őket, megfelelő működésük általában esszenciális a gomba túléléséhez. A  $\beta$ -1,3-glükán szintézis ugyancsak fontos célpontja a gombaellenes terápiáknak. Az echinocandin típusú, klinikumban is alkalmazott gombaellenes szerek (pl. caspofungin, anidulafungin, micafungin) a  $\beta$ -1,3-glükán szintézis nem-kompetitív gátlószerei.

A sejtfal fehérjetartalma élesztők (30–50%) és fonalas gombák (15–30%) esetében jelentősen eltér. E fehérjék túlnyomó többsége glikoprotein, a hozzájuk kapcsolódó oligoszacharid láncok összetétel és száma az egyes gombafajok esetében eltérő. Az élesztők (pl. *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*) sejtfala főként manoproteineket tartalmaz, melyek glikozil oldalláncai főként mannózból állnak, sok fonalas gomba esetében (pl. *Neurospora crassa*, *Aspergillus fumigatus*) a glikoproteinek a galaktózból és mannózból felépülő galaktomannán láncok jellemzőek. A legtöbb glikoprotein rendelkezik GPI horgonnyal, ez részt vesz a fehérjének a plazma membránhoz történő irányításában, illetve rögzítheti is azt a membránban. A glikoproteinek szénhidrát oldalláncai kovalens keresztkötéseket képezhetnek a sejtfal poliszacharidokkal, azaz a glükán és kitin polimerekkel.

A glükán, a mannán és a galaktomannán a gombákra jellemző és erősen immunogén sejtfal komponensek, ezért a mikózisok, különösen az invazív fertőzések kimutatásában diagnosztikai értékük van. Detektálásukat az ellenük termeltetett antitestekkel, valamilyen szerológiai (azaz specifikus antigén-antitest reakción alapuló) módszer alkalmazásával végzik. A kereskedelmi forgalomban kapható szerológiai módszerek közé tartoznak többek közt az agglutinációs és az immunprecipitációs próbák, melyek az antigén-antitest komplexek létrejöttét detektálják és az *immunoassay* eljárások, melyek az antigén jelenlétét és/vagy koncentrációját valamilyen módon jelölt ellenanyagokkal határozzák meg. Utóbbi módszerek közül leggyakrabban az ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) módszert alkalmazzák. E módszer lényege, hogy az antitesteket valamilyen enzimmel jelölik, a detektálás pedig az enzim szubsztlátjának hozzáadásával történik. Az enzimaktivitás színreakciót, vagy fluoreszcens jelet eredményez, melynek intenzitása mérhető, így nemcsak kvalitatív, hanem kvantitatív meghatározás is lehetséges. Ezen eljárásoknak elsősorban az invazív fertőzések esetén a vérben cirkuláló glükán, mannán, illetve galaktomannán kimutatásában van jelentősége.

## TOKKÉPZÉS

Egyes gombák képesek maguk körül a baktériumtokhoz némileg hasonló poliszacharid tokot (kapszulát) képezni. Az opportunistá patogén gombák közül a *Cryptococcus neoformans* bazídiomos élesztő képes erre. Kapszulája a sejtet körülvevő vastag, viszkózus poliszacharid réteg, melyet főleg glükuronoxilomannán (90–95%), galaktosilomannán (5–8%) és manoproteinek (<1%) alkotnak. A tok poliszacharidok aránya és összetétele, illetve a tokanyag komplex szerkezete némileg eltérő a gomba különböző szerotípusaiban (9. ábra), sőt az életciklus, illetve a fertőzés különböző szakaszaiban is mutathat különbségeket. A tok szerológiai tulajdonságai alapján, *C. neoformans* esetében ötféle szerotípust különböztetnek meg (A, B, C, D és AD). Az A szerotípus *C. neoformans* var. *grubii*, míg a D és AD szerotípusok a

*C. neoformans* var. *neoformans* változatoknak felelnek meg. A B és C szerotípusokat (korábban *C. neoformans* var. *gattii*) újabban külön fajba sorolják *Cryptococcus gattii* néven, mely szintén okozhat humán fertőzéseket.

A tokképzés képessége elsődlegesen a gomba környezeti változásokhoz való alkalmazkodását szolgálja. Ha például elegendő tápanyag és víz áll rendelkezésre, akkor a tokképzés gátolt, ezzel szemben a környezet nedvesség- vagy nitrogéntartalmanak csökkenése serkenti a szintézisét. Arid körülmények közt a hidrofil tok védi a sejtet a kiszáradástól. A környezet jellemzőitől, a jelenlévő anyagoktól függően a tok állaga lazul vagy kompaktabbá válik.

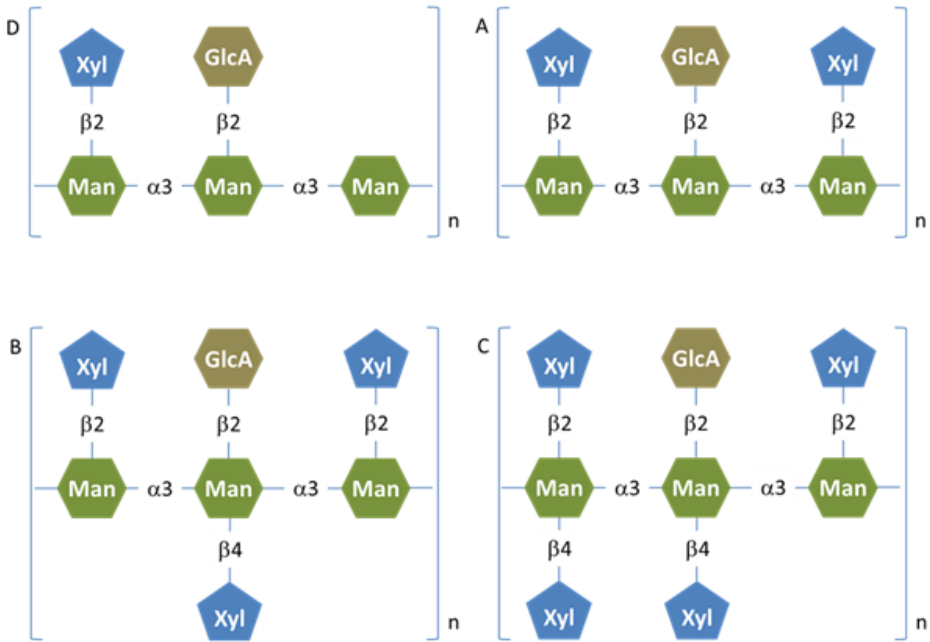
Mindezek mellett a tokképzés fontos virulencia faktor is. A természetesen előforduló, vagy mutagenézissel előállított tokképzésre nem képes törzsek lényegében avirulensek.

Emlős szövetekben, pl. a tüdőben, a *C. neoformans* sejtek általában vastag tokot képeznek maguk köré. A fiziológiás bikarbonátion, illetve CO<sub>2</sub> koncentráció, valamint a vasszegény közeg stimulálja a tok szintézisét. A tokkal borított *Cryptococcus* sejtek általában a tüdőn keresztül kerülnek be a szervezetbe. A természetes állapotban vékony tok, a tüdőbe kerülve gyorsan megvastagszik a sejtek körül (elsősorban a tüdő magasabb CO<sub>2</sub> koncentrációjának következtében); a tüdőből a fertőzés a véráramon keresztül áttevődhet elsődlegesen az agyba, ahol agyhártyagyulladás okozhat, de más szervekbe is eljuthat. A tok poliszacharidoknak fontos szerepe van a disszeminációban, például az epitél és endotél sejtekhez való kapcsolódás és e sejtekbe való bejutás, vagy a vér-agy gáton való áthaladás során.

A patogenitás szempontjából a tok egyik fő funkciója, hogy elfedi a sejtfelszínt a gazda fagocitái elől. A tok nélküli izolátumok sejtjeit a fagociták könnyen felismerik (valószínűleg mannóz és glükán receptorokon keresztül) és bekebelezik. Ugyanakkor a tokkal rendelkező sejtek viszonylag ellenállóak a fagocitózissal szemben. E rezisztenciában a fő tényezőnek a glükuronoxilomannánt tartják, mivel tok nélküli sejtek a tisztított poliszacharid hozzáadásával újra rezisztenssé tehetőek. A fagocitózis gátlásán keresztül a tok a fagocitózissal összefüggő folyamatokat is gátolja. Például a csökkent fagocitózis csökkenti a T-sejt proliferációt és a makrofágok antigén bemutatását és végső soron akadályozza a megfelelő T-sejtes választ.



## Glükuronoxilomannán



## Galaktoxilomannán



9. ábra. A *Cryptococcus neoformans* tok glükuronoxilomannán (A-D szerótípusok) és galaktoxilomannán komponenseinek felépítése.

A tokkal borított sejtekhez (megfelelő opszoninok hiányában) tehát a legtöbb fagocita populáció nem kötődik. Ugyanakkor a *Cryptococcus* fertőzések során mégis történik bizonyos mértékű fagocitózis. Ezt alapvetően kétfajta opszonin indukálhatja: a glükuronoxilomannánnal szemben termelődő ellenanyagok, valamint a komplement rendszer fehérjéi. A tok hatékony aktivátora az alternatív komplement útvonalnak. A komplement rendszer C3 komponensének hasítási termékei a tok felszínén felhalmozódnak és opszonizálják azt. Ezért a komplement rendszer csökkent működése fontos rizikófaktora a *Cryptococcus* fertőzéseknek (pl. HIV fertőzöttekben). A központi idegrendszerben a komplement szint alacsonyabb, ami közrejátszhat abban, hogy ez a gomba különösen hajlamos azt fertőzni.

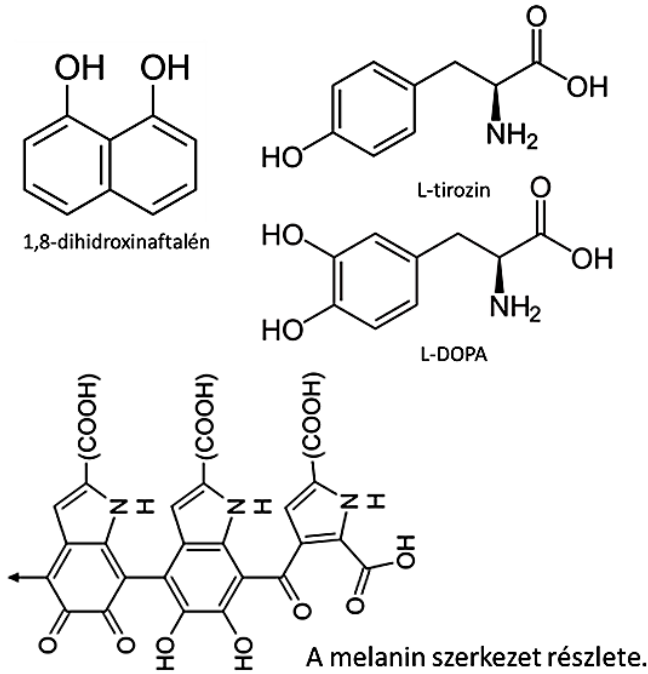
Fagocitózis esetén a tokkal rendelkező *Cryptococcus* sejtek hatékonyan tudják kivédeni az ölést a fagocitáló sejtek belsejében. A *C. neoformans* képes túlélni a makrofágok és más sejtek belsejében, képes onnan kitörni, vagy éppen sejtről sejtre terjedni, ami miatt egyes szerzők fakultatív intracelluláris patogénnek is tekintik. Ebben a túlélésben a toknak alapvető szerepe van. A tok nélküli sejtek nem képesek a makrofágokban túlélni. Az ilyen sejtek fertőzést megelőző glükuronoxilomannán kezelése helyre állítja az öléssel szembeni rezisztenciát. A glükuronoxilomannán sokféle módon befolyásolja a makrofágok működését, pl. gátolja a nitrogén-monoxid képződését, védelmet nyújt a reaktív oxigénfajtákkal és a gombaellenes defenzinokkal szemben. Korábban egyébként egyes baktériumok tokanyagával kapcsolatban is feltártak hasonló funkciókat.

Mindezeken túl a tokképzés érdekes kölcsönhatásban van a HIV fertőzéssel. Nem véletlen, hogy a cryptococcosis a HIV fertőzöttek egyik leggyakoribb opportunista fertőzése. Mind a tisztított tok poliszacharidról, mind az egész élesztő sejtről kimutatták, hogy serkenti a HIV-1 infekciót és replikációt bizonyos sejtekben. Ezt a hatást elsősorban egyes, a tokanyagban előforduló mannoпротеineknek tulajdonítják, melyek bizonyos sejtípusok, pl. a humán perifériás vér mononukleáris sejtek (PBMC), proliferációját is indukálják, illetve fokozzák a HIV replikációt ugyanezen sejtekben. A monociták, makrofágok és limfociták vírusinfekciója természetesen csökkenti ezek *Cryptococcus* elleni hatását is.

## MELANIN

A melaninok az élővilágban széles körben elterjedt, nagy molekulású pigmentek, melyek fenolos vegyületek oxidatív polimerizációjával képződnek. Általában *orto*-dihidroxifenol származékok konjugált polimerjei, ennek megfelelően monomerjeik két *orto*-helyzetű oxigént tartalmaznak (10. ábra). A melaninok a legellenállóbb, legstabilabb és legnehezebben oldható biokémiai vegyületek közé tartoznak. Jelmező, hogy a melanint, az általánosan használt módszer szerint, úgy tisztítják ki a

sejtekből, a lipideket különböző oldószerekkel extrahálják, majd erős savak alkalmazásával az egyéb polimereket is degradálják. A sejtfalban található polimerizált melanin a sejtfal drasztikus hidrolízise után is megtartja a sejt alakját, ez az ún. „*melanin-ghost*” jelenség a melanint nem termelő sejteknél nem figyelhető meg.



**10. ábra.** A melaninok legfontosabb prekurzorainak szerkezete és az eumelanin egy részlete.

## A humánpatogén gombákban előforduló melaninvegyületek főbb típusai

A melaninoknak hagyományosan három nagy csoportját különböztetik meg, melyek a következők:

*Eumelaninok.* Fekete vagy barna színűek, tirozinból szintetizálódnak dihidroxifenilalaninon (DOPA) keresztül.

*Pheomelaninok.* Sárga – vörös színűek, az eumelaninokhoz hasonlóan képződnek, viszont a DOPA itt ciszteinizálódik és ciszteinil-DOPA képződik.

*Allomelaninok.* Heterogén csoport, di-, vagy tetrahidroxinaftalénből polimerizálódnak. Egyes komponensek (pl. pyomelanin) tirozinból is képződhetnek.

Szintézisüket, illetve prekursoraikat tekintve megkülönböztetünk tirozin, illetve DOPA melaninokat és DHN melaninokat (11. ábra).

### Tirozin és DOPA melaninok

Ennél a típusnál a prekursor molekulák tirozinból származó gyűrűt tartalmaznak. A prekursor lehet maga a tirozin, vagy DOPA, sőt dopamin is (melyet a gomba a gazdaszervezetből is beszerezhet). Mivel a DOPA és dopakinon oxidált származékai képesek ciklizációval 5,6-dihidroxiindol gyűrűt létrehozni, a tirozin és DOPA melaninok általában indol gyűrűket tartalmaznak. A legfontosabb ilyen típusú melanint termelő patogén gomba a *C. neoformans*. E gombának a szubsztrátban megfelelő prekursorok (pl. L-DOPA) jelenlétére van szükség a melanin termeléshez.

### DHN melaninok

A melanin ebben az esetben 1,8-dihidroxinaftalén (DHN) prekursorból szintetizálódik. A DHN képződése a poliketid bioszintézis úton történik és főleg aszkuszos gombákra jellemző. Ilyen DHN melanint termelő humánpatogén gombafajok, melyek a melanin prekursorukat a poliketid úton szintetizálják, többek közt az *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium carionii*, *Wangiella dermatitidis*, valamint különböző *Curvularia*, *Exophiala*, *Fonsecaea*, *Phialophora* és *Xylohypha* fajok.

### Poliketidek

A poliketidek másodlagos metabolitok, ciklikus, vagy aciklikus vegyületek, rendkívül változatos szerkezetű és biológiai aktivitású vegyületcsoport. Változatosságuk ellenére azonos módon képződnek: rövid karboxisavak koenzim A (KoA) tioésztereinek (pl. acetyl-KoA és malonyl-KoA) kondenzációjával, a zsírsav bioszintézishez hasonló módon. A poliketid szintetázok (PKS) nagy multifunkciós enzimek, melyek a vegyület alapvázának létrehozásához szükséges összes aktivitással rendelkeznek. A moduláris szerkezetű enzim felépítésébe mintegy bele van kódolva a vegyület szerkezete. Az egyes modulok végzik az egymást követő kondenzációs és egyéb enzimikus lépéseket. A poliketidek szintéziséért felelős gének általában csoportokat, génklasztereket alkotnak. A génklaszterek a PKS-en kívül tartalmazhatják az elsődleges termék módosításáért, az oldalláncok szintéziséért felelős géneket is.

## A melanin szintézisben szerepet játszó legfontosabb enzimek

A melanin szintézis során a difenol prekursorokból enzimátikus oxidációval kinonok keletkeznek, majd az oxidációs termékek spontán módon polimerizálódnak. A dihidroxifenolokat kinonokká alakító, polifenoloxidázoknak, vagy lakkázoknak nevezett, enzimek tehát, egyúttal a polimerizációért is felelősek. Lényegében ugyanez a szerepük a melaninszintézis során a tirzonázoknak is, melyek a tirozin

egy- vagy kétlépéses oxidációját katalizálják. Mivel, ellentétben a legtöbb biopolimer szintézisével, a melaninok polimerizációja nem egy szigorúan meghatározott minta szerint zajlik, a polimerizálódott melanin szerkezete gyakran igen bonyolult lehet.

## A melanin szerepe a patogenitásban

Ugyan számos melanintermelő gomba (az irodalomban gyakran „*dematiaceous fungi*” néven emlegetik ezt a csoportot) okozhat megbetegedéseket, nyilvánvalóan nem minden patogén melanintermelő. Egy melanintermelésre képes faj melanizált törzsei azonban általában nagyobb patogenitást mutatnak a természetesen előforduló, vagy mutagenezissel létrehozott nem-melanintermelő törzseknél. Ezt a sajátos viszonyt több gombánál (pl. *C. neoformans*, *A. fumigatus*, *Wangiella dermatitidis*) is igazolták.

A melanin többféle módon is előnyhöz juttathatja a gombát a gazdaszervezetben. Ezen funkciók közül legfontosabbak a következők:

### Keresztkötések létrehozása a sejtfalban

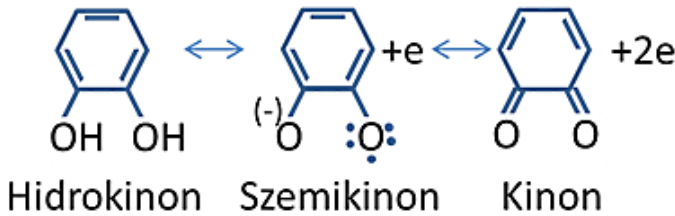
A sejtfalban keresztkötéseket létrehozó, polimerizálódott melanin nagyfokú szilárdságot és ellenállóságot biztosít a sejtnek, melyet a korábban már említett „*melanin-ghost*”, azaz a sejt agresszív hidrolízise után visszamaradó, melanin polimerből álló sejtfal-váz is mutat.

Az ellenállóságon kívül a falszerkezet sajátosságainak szerepe lehet a sejtbe jutás, illetve a szöveti penetráció során. Növénypatogén gombáknál a DHN-melaninok fontos alkotói az appresszóriumok (ezek olyan specializálódott hifák, melyek arra szolgálnak, hogy turgor nyomás segítségével a növényi kutikulát áttörjék) sejtfalának. Ugyan állati szöveteket fertőző gombáknál nincsenek appresszóriumok, de itt is fontos szerepe van a fal szerkezetének és az ozmotikus sajátosságoknak. Mindenesetre a melanizált hifák ozmotikus szilárdsága nagyobb és gyorsabban képesek nőni a szubsztrátban, mint a melanint nem tartalmazók. A DHN-melanin inhibitor triciklázol lelassítja a hifanövekedést, míg a melaninszintézisben mutáns törzseknek a megfelelő, a bioszintézishez hiányzó köztiterméket adva a növekedés újra felgyorsítható.

### A melanin, mint redox puffer

A polimerizált melaninban nagy mennyiségben található hidrokinon, mely többféle oxidációs állapotban fordulhat elő: a hidrokinon a teljesen redukált forma, de a melaninban jelen van az egyszeresen oxidált szemikinin (ez tulajdonképpen egy szabadgyök) és a kétszeresen oxidált kinon forma is (11. ábra), melyek aránya általában

egyensúlyban van. A többféle oxidációs állapotnak, valamint a melanin polimerben jelen lévő kiterjedt konjugált, illetve aromás szerkezeteknek köszönhetően a melanin szabad elektronokat ejtethet csapdába, továbbá redox pufferként működhet közre elektronátadással járó reakciókban. (Lényegében a szabadgyök szemikinin az, ami mint intermedier részt vesz az oxido-redukciós folyamatokban). A melanin ezért hatékony antioxidáns, védelmet biztosíthat a gomba számára a gazda immunrendszerének sejtjei által termelt különböző szabadgyökökkel és reaktív oxigénfélésekkel szemben.



**11. ábra.** A melanin kinon komponensének oxidációs állapotai, azaz a hidrokinon, a szabadgyök szemikinin és a kinon.

### A melanin interakciója fehérjékkel

A melanizált gombák általában ellenállóbbak a hidrolitikus enzimekkel szemben, mint a melanint nem tartalmazók. Ennek egyik lehetséges oka, hogy a melanin megköti az enzimeket, még mielőtt azok a sejtmembránt elérnék. A másik, hogy a melanin a sejtfalat alkotó molekulákkal kereszt kötéseket képez, illetve lefedi az enzimek elől a lehetséges támadási felületeket.

## AZ ADHÉZIÓBAN SZEREPET JÁTSZÓ FAKTOROK

Az adhézio, azaz a mikroorganizmusok megtapadása a gazda szöveteken előfeltétele a fertőzésnek és a szöveti invázióknak. Ezért a spórák, sejtek megtapadása, kötődése a gazdaszervezet különböző felületein (pl. hámsejteken, nyálkahártyákon, különböző szöveteken), valamint, hogy a gomba ellenálljon a gazdaszervezet fizikai tisztulási folyamatainak (pl. a légutakban) fontos feltétele a kórokozó képességnek. A légutak és a tüdő nagyon hatékonyan tisztul az idegen partikuláktól, ezért az ilyen úton fertőző gombáknak (pl. *Cryptococcus neoformans*, különböző *Aspergillus* fajok, vagy a dimorf gombák közé tartozó *Coccidioides immitis* és *Histoplasma capsulatum*) ki kell kerülniük ezt a mechanizmust.

A gazdaszervezetben kommenzalistaként jelenlévő gombák, mint a *Candida albicans*, szintén sokféle felszínen képesek megtapadni.

Élesztők, illetve *Candida* fajok esetében, nemcsak a gomba- és gazdasejtek között, hanem a gomba és a gazdaszervezetben jelenlévő egyéb mikrobák között is létrejöhetnek interakciók és aggregációk (*flokkuláció*). Ez az aggregáció (egy vagy több faj sejtjeiből álló) mikrobaközösségek, biofilmek kialakulásához vezethet. Az ilyen aggregátumok, illetve biofilmek belsejébe a gombaellenes hatóanyagok kevésbé jutnak el, ami a patogén gombaellenes szerekkel szembeni érzékenységének csökkenéséhez vezet komoly problémákat okozva a klinikai kezeléseknél.

Ugyancsak a *Candida* fajokra jellemző, hogy erősen kötődhetnek inert, abiotikus felszínhez, pl. katéterek, protézisek felületéhez, ahol biofilmet is kialakíthatnak és invazív kórházi fertőzések kiindulópontjai lehetnek.

## Az adhezinek

A sejtek adhézis képességének tehát alapvető szerepe van a gombasejtek közti interakciókban, a fejlődésben, a szimbiotikus kapcsolatokban és a patogénitási folyamatokban. Ebből a szempontból meghatározó szerepük van az adhezineknek, melyek a sejtfelszíni fehérjék egy diverz csoportját alkotják (agglutinineknek, vagy flokkulinoknak is nevezik őket) és a korábbiakban említett glikoproteinek közé tartoznak. Az adhezinek a sejtfal külső felszínéhez kapcsolódva a sejtek egymás közötti, valamint a sejtek és a külvilág közötti interakciók során a sejtek felismerésében és összekapcsolódásában játszanak szerepet. Részt vesznek a párosodási folyamatokban, a telepmorfológia kialakításában és megváltozásában, a különböző szubsztrátokon történő biofilm- és telepképzésben, a termőtest létrehozásában, valamint az állati és növényi sejtekkel létesített interakciókban. Patogén gombák esetében a gazdasejtek felismerésében és az azokon való megtapadásban, illetve számos esetben a gazdasejtek és szövetek inváziójában is szerepet játszanak.

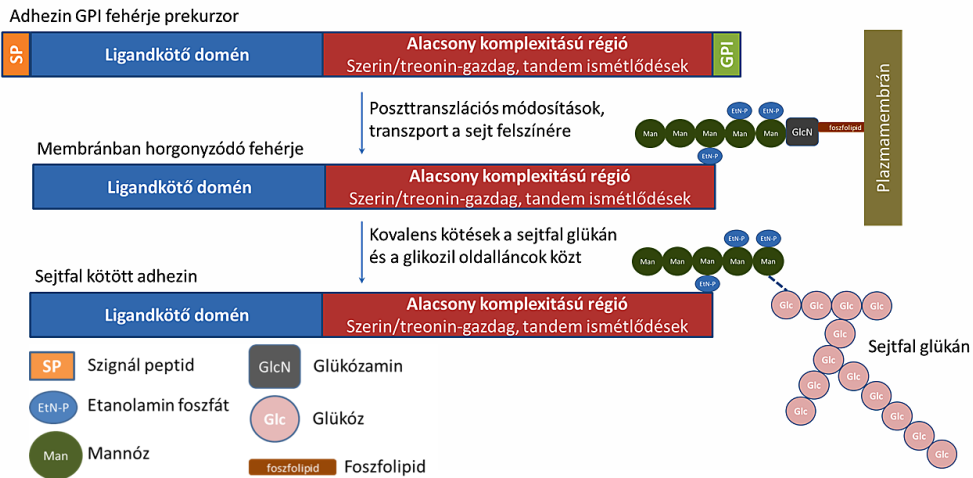
Az utóbbi években számos adhezint írtak le különböző gombákból, ilyenek pl. a *S. cerevisiae* Flo (*flocculin*), a *Candida albicans* Als (*agglutinin-like sequence*), a *Candida glabrata* Epa (*epithelial adhesion*), a *Pneumocystis carinii* Msg (*major surface glycoprotein*), a *Blastomyces dermatitidis* Bad-1 (WI-1) és a *Cryptococcus neoformans* Cfl1 (*cell flocculin 1*) fehérjéi. A legtöbb ismeret a *Saccharomyces cerevisiae* agglutininekről és flokkulinokról, valamint a *C. albicans* Als fehérjéről áll rendelkezésre.

A legtöbb gomba adhezin GPI-t tartalmazó glikoprotein. A GPI-horgonyt tartalmazó adhezinek több eltérő funkciójú doménből épülnek fel (12. ábra). Ezek sorrendje és szerkezete konzervált, ami lehetővé teszi, hogy nukleotid, illetve aminosav szekvencia alapján, bioinformatikai eszközökkel feltételezett adhezineket azonosítsunk.

Az adhezin prekursorok N-végükön szignál peptiddel rendelkeznek, ami az endoplazmatikus retikulumba történő bejutást szolgálja. Ezt a 20-30 aminosav hosszú szekvenciát az érés során egy megfelelő szignál proteáz lehasítja. A prekursorok a C-végükön GPI molekulát hordoznak, mely ugyancsak az endoplazmatikus retikulum, illetve a plazma membránba való kihorgonyozást teszi lehetővé. A GPI horgony szintén eltávolításra kerül. Az érett adhezinek az és egyes más sejtfal fehérjék elvesztik kapcsolatukat a membránnal, ehelyett a glikozil oldalláncaik kovalens kötésekkel a sejtfal glükánhoz kapcsolódnak.

Az érett adhezineknek tehát nincsenek transzmembrán doménjeik. A legtöbb adhezin viszonylag nagyméretű molekula (rendszerint >800 aminosav) és moduláris felépítésű.

N-végükön egy nagy komplexitású, vagy más néven ligandkötő domént hordoznak. Ez a szakasz felelős a különböző, pl. fehérje-fehérje, fehérje-cukor, fehérje-egyéb ligand interakciókért. Erről a doménról úgy gondolják, hogy nagymértékben meghatározza a gazda sejtfelszíni fehérjékhez és szénhidrátokhoz való kötődést.



12. ábra. A GPI-horgonyt tartalmazó adhezinek általános szerkezete (magyarázat a szövegben).

Az adhezinek C-terminális szakaszát egy, általában szerinben és treoninban gazdag és tandem ismétlődő szekvenciákat tartalmazó alacsony komplexitású domén alkotja. A domén a szerin és treonin aminosavak általában O-glikoziláltak. Az alacsony komplexitású domén, illetve azon belül a tandem ismétlődő szakaszok szerepe, hogy a szubsztrátkötő domének számára elegendő helyet biztosítsanak, kiemelve azokat a sejtfal felszíne fölé. Ez a szakasz erősen variábilis, az egyes törzsek ezért nagy változatosságot mutatnak a tandem ismétlődések számában és így



az adhezinek hosszában (*hossz polimorfizmus*). Az adhéziós és aggregáló hatás általában arányos a tandem ismétlődések számával. A rövidebb ismétlődő szakaszok kisebb adhéziót tesznek lehetővé, feltételezhetően azért, mert nem emelik ki megfelelően a ligandkötő szakaszokat a sejtfalból.

A diploid *Candida* fajok ALS génjeinek középső régiója például 108 bázispárnyi tandem ismétlődő szekvenciákat tartalmaz, mely nagyfokú allélikus variabilitást mutat. Az ismétlődések száma ezért egy adott ALS gén alléljeiben nagy eltérést mutathat és az egyes változatok eltérő adhéziós képességgel rendelkeznek.

### *Candida albicans* adhezinek

Ugyan egyéb fehérjék génjeiben is találtak szekvencia és szerkezeti hasonlóságokat az ismert adhezinekkel, *Candida* esetében mégis alapvetően három géncsalád, az ALS, HWP és IFF/HYR gének által kódolt fehérjéket vizsgálták alaposabban. Mindhárom csoportba tartozó fehérjék mutatják az adhezinek azon általános tulajdonságait, melyeket a korábbiakban bemutattunk.

### Als adhezinek

Ezek az adhezinek bizonyos fehérjékhez kötődnek és hasonlóságot mutatnak a *S. cerevisiae*  $\alpha$ -agglutininjével (Sag1p). Részt vesznek a *Candida* sejtek aggregációjában és a biofilm-képzésben, valamint a gazdasejteken való megtapadásban. N-terminális végükön immunglobulin (Ig)-szerű ismétlődő szakaszokat tartalmaznak, amelyeknek szerepük van az emlősfehérjékhez való kapcsolódásban. Az ALS géncsalád 8 nagyméretű adhezin fehérjét kódol, az Als1-7 fehérjéket és az Als9-et.

A különböző sejtfelszínekhez való kapcsolódáshoz az N-terminális globuláris domén jelenléte szükséges, az Als fehérjék szubsztrát specificitása széles, sokféle fehérjéhez képesek kötődni. A csoport leggyakrabban termelő tagja az Als1p fehérje, mely képes kötődni mind az epitél, mind az endotél sejtek felszínén. Az Als5p fehérje szintén képes az utóbbi sejtípushoz kapcsolódni, míg az Als3p fehérje szerepét a biofilm képzésben és a száj epitél sejtek károsításában mutatták ki.

Az Als adhezineket kódoló géncsalád tagjai 8 különböző lokuszon helyezkednek el, az egyes gének kifejeződése eltérést mutat a növekedés, a morfológiai állapot és a fertőzés eltérő fázisaiban, pl. az ALS1 gén legerősebben az új táptalajra való kioltást követően fejeződik ki, míg az ALS3 expresszió akkor a legerőteljesebb, amikor a csíratömlők már mikroszkóposan megfigyelhetők. Az ALS gének expressziója kimutatható a klinikai mintákban és a különböző candidiázisok állatmodelljeiben is. Ugyan az ilyen vizsgálatokban mindegyik gén átíródása megfigyelhető volt, a leggyakrabban mégis az ALS1, ALS3, és az ALS9 termékeit detektálták.

Disszeminált candidiázis egérmódeljében, a *Candida* sejtek felszínén a legnagyobb tömegben az Als1p és az Als3p mutatható ki, míg a többi fehérje sokkal alacsonyabb mennyiségben termelődik. A *S. cerevisiae* flokkulinjaihoz hasonlóan az Als fehérjék is képesek összekapcsolni (aggregálni) azokat a sejteket, amelyekben termelődnek.

### Hwp adhezinek

Ebbe az adhezin családba olyan fehérjék tartoznak, melyek egy erősen konzervált 42 aminosavból álló ismétlődő szekvenciát tartalmaznak. Ilyen adhezinek a Hwp1, Hwp2 (*hyphal wall protein*), a Rbt1 (*repressed by Tup1*), vagy az Eap1 (*enhanced adherence to polystyrene*).

Hwp1, Hwp2 és Rbt1 fehérjék szerepet játszanak a gazdasejtek felszíni fehérjéihez való adhéziónban, a biofilm képzésben, a sejt-sejt aggregációban és a párosodási folyamatokban. A Hwp1 fehérje egyedi sajátossága, hogy glutaminban gazdag N-terminális része szubsztrátként szolgálhat az epitel sejtek transzglutamináz enzimeinek, melyek kovalensen kötik a Hwp1-et az epitel sejtek extracelluláris mátrix (ECM) fehérjéihez. Az így létrejövő hálózat jól ellenáll a különböző nyíróerőknek. Ilyen interakciók állnak pl. azon megfigyelés háttérében, hogy a *C. albicans* szájaratban kialakult telepei lekaparással nem, vagy csak nagyon kevésé távolíthatóak el.

Az Eap1 adhezin szerepet játszik a biofilm képzésben, az epitel sejtekhez és műanyag felületekhez történő adhéziónban, valamint a sejt-sejt kapcsolódásban, különösen a *mating* folyamatok során. Mivel lehetővé teszi a műanyag, polisztirol felületekhez való kötődést, szerepet játszhat a katéter és protézis indukálta candidémiák és szívbelhártya gyulladás (endocarditis) kialakulásában. A sejt-sejt kapcsolatok kialakításában és az emlísejtekhez való kapcsolódásban elsősorban az N-terminális ligandkötő domén vesz részt, míg a polisztirol adhéziónban a szerin/treonin-gazdag ismétlődő szakaszoknak van meghatározó szerepe.

Az adhezinek szerepet játszhatnak más a gazdaszervezetben előforduló mikrobákhoz való kapcsolódásban is. Így például az Als3, Hwp1 és Eap1 elősegítheti a szájúreget kolonizáló *Streptococcus gordonii* baktériumhoz való kötődést.

### Az Iff/Hyr adhezinek

Az IFF/HYR (*IPF family F/hyphally upregulated protein*) géncsalád 12 fehérjét kódol, melyek N-terminális doménje nagy szekvencia hasonlóságot mutat. Az egyes fehérjék szerepe mindazonáltal eltérő és viszonylag kevésé ismert. Az IFF4-nek feltételezhetően szerepe van a patogenitásban, a fehérjét kódoló gén deléciója ugyanis csökkent virulenciájú törzseket eredményezett, túlműködtetése viszont növelte az adhéziót műanyag felületekhez és az epitel sejtekhez.

## *Candida glabrata* adhezinek

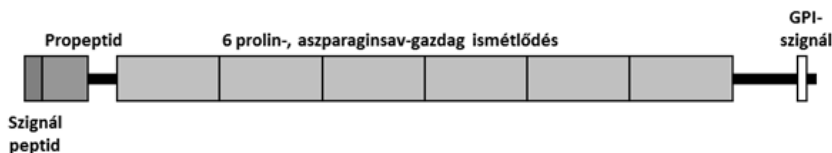
A *Candida glabrata* EPA géncsaládja számos adhezint kódol. Közülük legalaposabban az Epa1, Epa6 és Epa7 fehérjéket vizsgálták, mivel szerepet játszanak a gazda epitél és endotél sejtekhez való kötődésben. Ezen adhezinek ligandkötő doménje lektin sajátosságokat mutat, azaz olyan fehérjerészt tartalmaznak, amelyek szénhidrát szubsztráthoz kötődnek. Az Epa1, Epa6 és Epa7 olyan oligoszacharidokhoz kötődnek, melyek terminális galaktóz egységekkel rendelkeznek (így a cukorkötő fehérjék galektin csoportjába tartoznak). Ilyen oligoszacharidok előfordulnak a mucin-típusú O-glikozidokban is, ami megerősíti azt az elgondolást, hogy ezek az adhezinek felelősek a gazda sejtfelszíni glikoproteinekhez való kapcsolódásért.

Egérmodellben az *EPA1*, *EPA6* és *EPA7* gének működése specifikus volt a vizeletkiválasztó rendszerre nézve, lehetővé téve a húgyhólyag kolonizációját. *In vitro* kísérletekben az *EPA6* gén terméke a biofilm képzésben játszott szerepet.

## Egyéb adhezinek

### A *Coccidioides immitis* SOWgp adhezinjé

A *Coccidioides immitis* egy szisztémás mikózist okozó dimorf gomba, az amerikai kontinens egyes részein endemikus. Fonalas szaprofita formája a talajban fordul elő és levegővel terjedő artrokonídiumokat (a hifa feldarabolódásával létrejövő vegetatív spórák) képez. Ezek a tüdőbe jutva, nagy kerek, sok magvú, élesztőszerű sejtekké alakulnak (parazita fázis). Ezeket a sejteket szferuláknak is nevezik. A szferulák egyik sejt felszíni glikoproteinje az adhezin jellegű SOWgp (*spherule outer wall glycoprotein*) fehérje. Ez a sejt felszíni fehérje csak a szferulákban termelődik, tehát specifikus a parazita fázisra. A SOWgp egy GPI adhezin, mely prolinban és aszparaginsavban gazdag tandem ismétlődéseket tartalmaz (13. ábra) és az emlős extracelluláris mátrix (ECM) fehérjeihez (pl. laminin, fibronectin, IV-es típusú kollagén) képes kötődni. A SOWgp gén szerepet játszik a virulenciában, deléciójának következményeként a szferulák elvesztik adhéziós képességüket az ECM fehérjékhez, és jelentősen csökken a gomba virulenciája.



13. ábra. A *Coccidioides immitis* SOWgp adhezin prekursor fehérje felépítése.

### *Blastomyces dermatitidis* Bad1 (WI-1) fehérje

A *Blastomyces dermatitidis* ugyancsak szisztémás mikózist okozó dimorf gomba. A BAD1 fehérje (eredetileg WI-1 antigénként írták le) termelődése szükséges a virulenciához. A fehérje a parazita fázis élesztősejtjeiben termelődik és  $\text{Ca}^{2+}$  dependens módon kötődhet az élesztősejtfal kitinjéhez (lektin). A fehérje egy 25 aminosavból álló ismétlődő szekvenciát tartalmaz, mely nagyfokú homológiát mutat a *Yersinia* fajok *invasin* nevű adhezinjével. Mint adhezin szerepet játszik a virulenciában, a sejtfelszínhez asszociálódott BAD1 képes kapcsolódni a gazda fagociták CR3 és CD14 receptoraihoz. Adhezin funkcióján túlmenően immunomoduláló hatása is van, mivel gátolja TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor*) képződését. Az utóbbi egy fontos, a gyulladásos folyamatokban részt vevő, citokin, mely főként a makrofágokban (de más sejtekben is) termelődik és a gazda gombafertőzéssel szembeni védekezésében fontos szerepet játszik. Ez az immunomoduláló hatás nem igényli a kitinkötő domént és a fehérje élesztősejthez való asszociálódását.

A BAD1 homológja *Histoplasma capsulatum*-ban is megtalálható (YPS3 adhezin), ahol termelődése ugyancsak specifikus az élesztő fázisra.

### *Aspergillus fumigatus*

*Aspergillus fumigatus* esetében csak kevés adhezint jellemeztek eddig. A konídiumok specifikusan kapcsolódhatnak bizonyos gazdafehérjékhez (melyek lehetnek szabadon cirkulálók, vagy membránhoz kötődők pl. fibrinogén, laminin, fibronectin, albumin, immunoglobulinok, kollagén, és különböző sejtfelszíni fehérjék) nem-specifikus fizikokémiai interakciók és/vagy specifikus receptor-ligand felismerés útján. Nemrég egy sejtfal fehérjét, a CspA-t (*cell surface protein A*) azonosították, mint feltételezett adhezint. E fehérje is tartalmaz GPI-t, valamint tandem ismétlődő szakaszokat, melyek száma törzstől függően változó. A CspA a konídiumok csírázása során jelenik meg és a hifa növekedés során expresszálódik. Deléciója csökkent adhézióhoz vezet humán alveoláris sejtek extracelluláris mátrix fehérjeihez. Mivel a deléciós mutánsok sejtfala károsodott, a CspA gén túlműködtetése viszont ellenállóbbá tette a sejtet a sejtfal degradáló enzimekkel szemben, feltételezik, hogy a sejtfal integritásának fenntartásában is fontos szerepe van.

### A hidrofobinok

A hidrofobinok aszkuszos és bazídiumos gombák által termelt kis molekulású (kb. 100 aminosavból álló), ciszteinben gazdag fehérjék, melyek a konídiumokon és a hifák felületén egy hidrofób réteget alkotnak. Hidrofil-hidrofób határfelületeken (pl. víz-levegő) képesek spontán egy összefüggő réteggé szerveződni. Jellemző rájuk, hogy extrém ellenállóak a kémiai degradációval szemben. A hidrofobinok részt vesznek a gombasejt és a környezete közti különböző interakciókban, a

morfogenezis és a szexuális differenciálódás folyamataiban, valamint szerepük van a szubsztrátból való kiemelkedésben és a légmicélium képzésben.

Minden lélegzetvétellel gomba spórák, konídiumok ezreit lélegezzük be. Noha ezen spórák és konídiumok sokféle antigént és allergén hatású anyagot tartalmaznak, általában mégsem aktiválják az immunrendszert, amikor belélegezzük őket. Ennek fő oka a nyugvó konídiumok felszínét borító hidrofób réteg (*rodlet layer*), mely elfedi a sejtfelszínt és megakadályozza, hogy az immunrendszer felismerje azt. A „*rodlet layer*” elnevezés (*rodlet* = pálcika) a konídium felszínén a hidrofobinok által alkotott apró fibrillumokra utal.

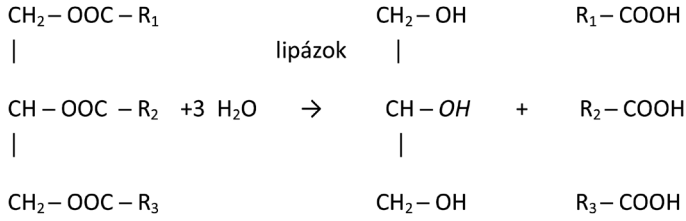
*Aspergillus fumigatus* esetében, a konídiumokon a RodA fehérje képezi ezt a külső bevonatot. A tisztított fehérje dendritikus sejtekkel és makrofágokkal végzett *in vitro* tesztekben, valamint *in vivo* egérmodellben immunológiailag inertnek bizonyult: nem indukálta sem a dendritikus sejteket, sem az alveoláris makrofágok érését, vagy aktivációját, valamint nem váltotta ki a segítő T-sejtek immunválaszt sem. Ugyanakkor a hidrofobin bevonat eltávolítása, akár kémiai (pl. hidrofluorsav kezelés), akár genetikai (*rodA* deléciós mutánsok), akár biológiai (konídiumok csíráztatása) úton, az immunrendszer aktiválódását eredményezte. A RodA fehérjének szerepe van az adhézióban is. A *rodA* diszrupciója csökkent adhéziót eredményezett kollagénnel és marha szérum albuminhoz, ugyanakkor nem okozott változást a pneumocitákhoz, a fibrinogénhez és lamininhoz való kötődésben.

## HIDROLÍTIKUS ENZIMEK

A gombák számos különböző szekretált komponenssel rendelkeznek, amelyek szerepet játszhatnak a gazda-patogén kölcsönhatások során. Fontos megemlíteni, hogy egyre több információ áll rendelkezésünkre abban a tekintetben, hogy ezek a komponensek nem csupán a gazdaszervezet makromolekuláinak (proteinek, foszfolipidek, lipidek) lebontásával segítik a mikroba gazdaszervezeten belüli túlélését, hanem aktívan képesek közreműködni a gazda védekezési mechanizmusainak kikerülésében.

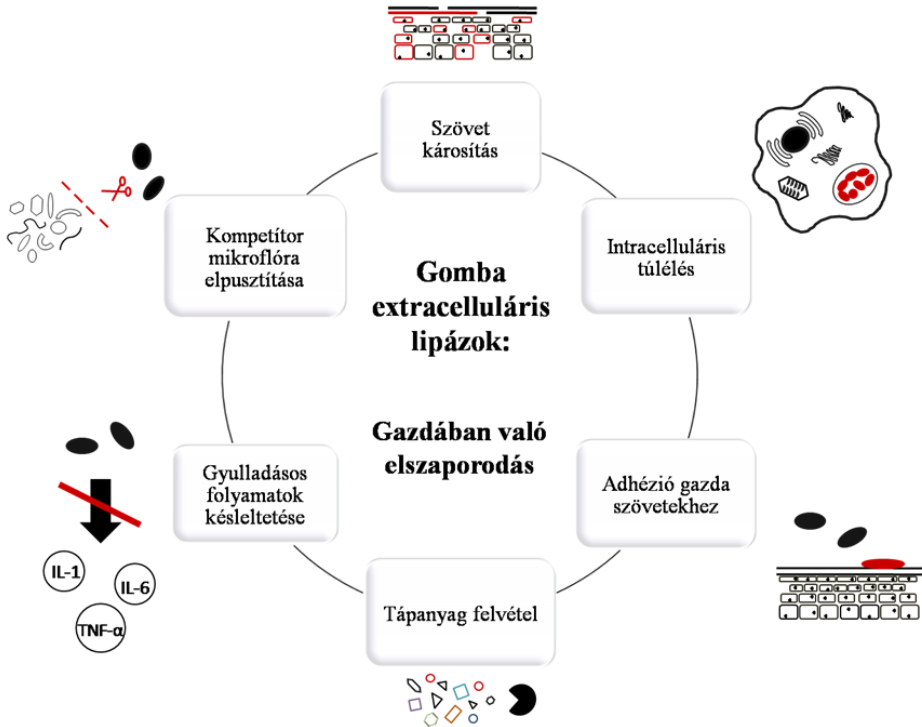
### Szekretált lipázok

A szekretált lipázok, a triacil-gliceridek hidrolízisét végzik szabad zsírsavakra és glicerolra. A hidrolitikus aktivitás mellett észter kötések kialakítására is képesek így a lipidek szintézisében is részt vehetnek (14. ábra).



**14. ábra.** A lipázok katalitikus aktivitása

Jellemző rájuk a proteolízissel szembeni rezisztencia, a magas hő stabilitás és szerves oldószerekben a magas enantioszelektivitás. A lipázokat az oxianion vályat alapján 3 fő csoportba sorolhatjuk, így megkülönböztetünk GGGX, GX és Y típusú lipázokat, amelyeket azután a szubsztrátkötő hely konzervált pentapeptidjei alapján további alosztályokba sorolhatunk. A *C. albicans* extracelluláris lipázai a GX típus GYSGG konzervált pentapeptid alcsoportba tartozó enzimek. Napjainkra egyre nyilvánvalóbbá válik, hogy a mikrobiális extracelluláris lipázoknak sokrétű és több szintű szerepe van a gazda-patogén kölcsönhatások során. Korábban azt gondoltuk, hogy elsődleges szerepük a lipidek hidrolízise, így azok szénforrásként való hasznosítása. Ezen az alapvető funkción kívül azonban a szekretált lipázok szerepet játszanak a mikroba gazda szövetein való megtapadás folyamatában, az úgynevezett adhézióban, az immunfolyamatok beindításában, azaz a gyulladós folyamatok kiváltásában, illetve még inkább azok modulálásában, valamint szerepet játszanak a mikroba védekezésében azáltal, hogy az esetlegesen kompetítorként jelen levő mikroflóra szaporodását gátolják (15. ábra). *C. albicans* esetén tíz szekretált lipáz gént azonosítottak (*LIP1-LIP10*). A lipázok fertőzésben betöltött szerepére utal, hogy emlős szisztémás fertőzési modellben a különböző lipáz gének eltérő expressziós mintázatot mutatnak. Egyes lipázok szerv-, mások időspecifikus kifejeződést mutattak, utalva a különböző gének fertőzés közbeni különböző feladataira. A korai fázisban a *C. albicans* *LIP8* génje mutatott megemelkedett transzkripciósi szintet. A vad típusú törzsből származtatott  $\Delta/\Delta lip8$  deléciós mutáns törzsszel elvégzett fertőzési kísérletekben a vad típusú törzshöz képest jelentős virulencia csökkenés volt tapasztalható, bizonyítva a gén fertőzőképesség kialakításában betöltött szerepét.



**15. ábra.** A gomba szekretált lipázok szerepe a virulenciában és patogenezisben.

Más oportunistá gombák is rendelkeznek extracelluláris lipáz aktivitással, *Aspergillus flavus* esetében kimutatták, hogy a LipA fehérje szükséges a kolonizáció és a tápanyagfelvétel folyamataihoz. Kísérletek igazolták továbbá, hogy *C. neoformans* és *M. globosa* esetében a szekretált lipázok segítik a biofilm képzést és a szöveteken történő megtapadást. A *C. parapsilosis*-szal végzett kísérletek igazolták, humán rekonstruált szöveten végzett *in vitro* fertőzőes modellben, a fertőzés során lipáz inhibitor alkalmazva a szöveti károsodás mértéke szignifikánsan kisebb volt, összevetve a gátlószert nem tartalmazó kísérleti rendszerrel. A homozigóta  $\Delta/\Delta$ Cp-LIP1- $\Delta/\Delta$ CpLIP2 (lipáz deficiens) *C. parapsilosis* törzs vizsgálata során megállapították, hogy a mutáns törzs kevésbé komplex biofilm kialakítására képes, mint a vad típusú törzs, lipid gazdag tápközegben a növekedése csökkent mértékű a vad típusú törzssel összevetve. Ezen felül makrofág sejtek jóval eredményesebben fagocitálják és eliminálják ezen mutáns törzs sejtjeit *in vitro* fertőzőes kísérletek során, valamint csökkent virulenciát mutatnak *in vivo* állatkísérletek során. A lipáz negatív törzsen végzett megfigyelések rendkívüli fontossággal bírnak, hiszen a *C. parapsilosis* által okozott fertőzések különösen nagy gyakorisággal fordulnak elő olyan alacsony születési súllyal rendelkező újszülöttek körében, akik lipid gazdag táplálásban részesülnek.

## Szekretált aszpartil proteinázok

Minden proteináz alapvető feladata a peptid kötések hidrolízise, bár a specificitás tekintetében jelentős különbségek mutathatók ki. A proteinázok családja hatásmechanizmusuk alapján négy típusra oszthatóak: szerin, cisztein, metallo és aszpartil proteinázok. Szerin proteinázokra példa a tripszin, kimotripszin és szubtilizin alcsaládok, a cisztein proteinázok között találjuk a *Streptococcus* fajok proteinázait, valamint a papaint, míg a metalloproteinázok körébe tartoznak a kollagenázok és a mikrovillus proteinázok. Az aszpartil proteinázok széles körben elterjedtek és számos biokémiai reakció katalizálásért felelősek. Jól ismert aszpartil proteinázok a HIV aszpartil proteináza, a humán pepszin és renin.

Élesztők körében az aszpartil proteinázok családján belül két nagyobb csoportot különböztetünk meg: az első csoportba az úgynevezett élesztő aszpartil proteinázok (*yeast aspartyl proteinase/yapsin*; Yap/Yps) tartoznak, míg a második csoportot a szekretált aszpartil proteinázok (*secreted aspartyl proteinase*; Sap) képezik.

A yapszin fehérjék alapvető funkciója a sejtfa integritásának megőrzése, valamint szerepük van a sejt-sejt közötti interakciókban is. Szintézisük során, hasonlóan más aszpartil proteinázokhoz, a yapszin fehérjék szintén inaktív zimogénként szintetizálódnak. A zimogénen belül az aktív centrumot egy prozsegmens fedi el. Ez a prozsegmens egy sóhid által stabilizálódik, amely a zimogén propeptidjének lizin és a katalitikus diád aszparaginsav maradéka közt található. Savas környezetben az aszparaginsav aminosav protonálódása a sóhid felbomlásához vezet, melynek során a zimogén aktiválódása elkezdődik. Az aktiválódás két lépésből áll: elsőként a propeptid egy intramolekuláris reakció során hasítódik, majd második lépésként a prozsegmens vágódik le az érett enzimről. A yapszin család fehérjéi között a katalitikus domén a leginkább konzervált régió. Az aktív centrumban két aszparaginsav fedezhető fel, egy erősen konzervált szekvencia motívumon belül. A központi motívum: Xaa-Xaa-Asp-Xbb-Gly-Xbb, ahol az Xaa valamilyen hidrofób aminosav maradék, az Xbb pedig szerin vagy treonin. Struktúrájukat tekintve az aszpartil proteinázok „kétkarú” enzimek, ahol egy-egy karon, az aktív centrum árkáiban található a katalitikus aszparaginsav maradékok. További jellegzetességük, hogy ellentétben a szekretált aszpartil proteinázokkal, a yapszin fehérjék nagymértékben glikoziláltak. A glikoziláció fehérjétől függően lehet O és N jellegű is. A yapszin fehérjékre jellemző, hogy C-terminális végükön glikozilfoszfatidilinozitol (GPI) módosítás játszódik le az érés folyamán, melynek eredményeképpen ezen fehérjék a sejtfaiba képesek rögzülni.

Érdekes módon a *Candida* fajok közül az un. CUG kládon kívül eső *C. glabrata* esetén, amely filogenetikailag a *Saccharomyces cerevisiae*-hez áll közel, más szekretált aszpartil proteinázt nem találunk, csupán yapszin típusú fehérjét. *C. glabrata* esetén tizenegy yapszin fehérjét kódoló gént találunk. Virulenciában betöltött



szerepükre utal, hogy J774A.1 eger makrofág-szerű sejtvonallal végzett koinkubáció során az *YPS1* és *YPS7* gének kivételével az összes többi *YPS* gén jelentősen emelkedett transzkripciós szintet mutatott, összehasonlítva a kontrollként alkalmazott, csak a fagocita sejtek tápközegében nevelt élesztők *YPS* génjeihez képest. A sejtfal integritásának fenntartásában betöltött szerepükre utal, hogy az *yps(1-11)*  $\Delta$  deléciós törzs növekedési rátája jóval elmaradt a vad típusú törzs növekedéséhez képest, ozmotikus, valamint sejtfalli stresszorok alkalmazása esetén. *In vivo* egérkísérlet során sikerült kimutatni továbbá, hogy az *yps(1-11)* $\Delta$  deléciós törzs lényegesen kisebb virulenciával bír, mint a vad típusú törzs.

A CUG kládba tartozó *Candida* fajok körében a *C. albicans* Sap9 és Sap10 fehérjéit azonosították, mint yapszin-szerű fehérjéket. Ezen fehérjék, hasonlóan a yapszin típusú fehérjékhez szintén C-terminális részükön egy glikozilfoszfatidilinozitol csoport megkötésére képes helyet tartalmaznak. Ezen kívül, ellentétben a többi *C. albicans* Sap fehérjével ez a két fehérje gazdagon N glikozilált, a Sap9 esetén öt, míg a Sap10 esetén tíz ilyen helyet találunk. Ezidáig a CUG kládba tartozó fajok közül csupán a *C. albicans* ezen két fehérjeje, amely bizonyítottan GPI-kötött fehérje, ezáltal a yapsin fehérjékhez hasonló szerkezetű. A CUG kládon belül a *C. albicans*-on kívül számos más patogén faj is termel szekretált aszpartil proteinázokat. *C. albicans* esetén tíz (*SAP1-SAP10*) szekretált aszpartil proteináz gént találunk, amely egy géncsaládot alkot. Aminosav sorrendjük homológiái alapján a géncsalád kisebb alcshaládokra osztható [*SAP1-3*, *SAP4-6*, *SAP9-10* (a *SAP7* és *SAP8* gének divergenssek, nem tartoznak egyetlen alcshaládba sem)]. A klinikailag releváns nem-*albicans* fajokban is nagy számban jelen vannak ezen aszpartil proteináz gének ortológjai. *C. tropicalis* esetén négy (*SAPT1-SAPT4*), *C. dubliniensis* esetén nyolc (*SAPCD1-SAPCD4*, *SAPCD7-SAPCD10*), valamint *C. parapsilosis* esetén három (*SAPP1-SAPP3*) szekretált aszpartil proteináz gént találunk. Fontos megjegyezni, hogy az összes klinikailag releváns *Candida* faj szekretált proteázai egységesen az aszpartil proteinázok családjába tartoznak, szerin, cisztein és metalloproteinázokat nem azonosítottak ezen fajokban. Minden szekretált aszpartil proteináz fehérje preproenzimként szintetizálódik a durva felszínű endoplazmatikus retikulumban. Ezen a helyen a szignál peptidet egy szignál peptidáz lehasítja. A proenzim ezután transzportálódik a Golgi apparátusba, ahol egy membrán kötött Kex2 nevű proteináz általi hasítással alakul ki az érett fehérje. *C. parapsilosis* esetén kimutatták, hogy a Sapp1 fehérje aktiválódása a Kex2 fehérje nélkül, autokatalitikusan is végbemehet. Miután az érett fehérje kialakult, szekretorikus vezikulákba kerül, amely a plazma membránhoz szállítja azt. Itt, amennyiben glikozilfoszfatidilinozitol köt a fehérje (Sap9, Sap10 esetén), úgy az enzim sejtfalhoz kötötten marad, míg, ha ilyen poszttranszlációs módosítás nem történik, úgy az extracelluláris térbe jut a fehérje. Tudjuk, hogy *in vitro* rendszerben a Sap9 és Sap10 fehérjék képesek a mikroba saját, sejtfalhoz kötött fehérjeinek a hasítására, melyek mind a biofilm képzésben, mind a mikroba sejtfalának szintézisében fontos szerepet játszanak.

*C. parapsilosis* esetén a Sapp1 fehérje a sejt falon történő áthaladás során nem kovalens kötésekkel kötődik a sejt fal komponentekhez, valamint sejt falhoz asszociált fehérjékhez. Elsőként az érett fehérje aktív centruma az, amely áthalad a sejt falon, így a fehérje már a sejt falhoz asszociáltan is funkcióképes. *Candida* fajok szekretált aszpartil proteináz izoenzim mérete 35 és 50 kDa között változik, *C. parapsilosis* esetén mind a Sapp1, mind a Sapp2 fehérje 37 kDa tömegűek. A szekretált aszpartil proteináz izoenzim pH optimuma a savas tartományba esik, amely *C. albicans* esetén pH 2 és pH 7 közé esik, míg *C. parapsilosis* esetén mind a Sapp1, mind a Sapp2 izoenzim pH optimuma 4 körül található.

A szekretált aszpartil proteinázok termelése és *Candida* fajok virulenciája közt korreláció fedezhető fel. A *C. albicans*, *C. tropicalis* és *C. parapsilosis* fajok *in vitro* jóval több proteinázt termelnek, mint a klinikailag kevésbé jelentős fajok, például a *C. kefyr* vagy a *C. guilliermondii*. Számos *Candida* faj genomjában találhatunk aszpartil proteináz géneket. Monod és munkatársai a *C. albicans* *SAP1* génjét, mint jelölt próbát alkalmazva *EcoRI* emésztett *C. guilliermondii* genomi DNS-én végzett RFLP analízise alapján négy fragmentumot azonosított, habár *in vitro* BSA (*bovine serum albumin*) tartalmú tápközegben proteináz termelés nem volt kimutatható. A szekretált aszpartil proteinázok virulenciában betöltött szerepéről a legtöbb információ *C. albicans*-on végzett vizsgálatokból áll rendelkezésünkre.

*C. albicans* által okozott vaginális kandidiázisban szenvedő betegekről izolált törzsek proteináz termelése kétszerese volt, a tünet nélküli *C. albicans*-t hordozó egyénekről izolált törzsekkel összehasonlítva. Továbbá a vaginitiszben szenvedő, HIV pozitív, női páciensből származó izolátumok négyszer nagyobb mennyiségű Sap fehérjét termeltek, mint 7 HIV pozitív, ám vaginitiszben nem szenvedő, vagy 31 HIV negatív, de kandidiális vaginitiszben szenvedő páciensből származó izolátumok.

A *C. albicans* faj tíz *SAP* génje az élesztő életciklusától, valamint a fertőzés helyétől és súlyosságától függően meghatározott rendben expresszálódik. Induktív körülmények közt a *SAP2* gén mutatja a legnagyobb mértékű expressziót, míg a *SAP1* és *SAP3* gének, hasonlóan a *SAP4-SAP6* alcsaládnak, az élesztő – hifa átmenete során mutatnak magas szintű expressziót. A *SAP7* és *SAP8* gének jellemzően hőmérséklet által regulált gének. A *SAP9* és *SAP10* gének konstitutívan expresszálódnak csaknem minden környezeti helyzet esetén, mind a mikroba élesztő, mind hifa alakjában. Rekonstruált humán epiteliális modell esetén a fertőzés során a *SAP* gének expressziója szorosan koordinált (*SAP1*, *SAP3* > *SAP6* > *SAP2* > *SAP8*). Ez esetben a Sap4, Sap5 és Sap6 termelődése nem okozott szöveti károsodást. A Sap2 fehérje a *C. albicans* által legnagyobb mennyiségben szekretált aszpartil proteináz. A fehérjéről tudjuk, hogy számos, gazdaszervezet által termelt antimikrobiális fehérje bontására képes. Ezen fehérjék közt találjuk a mucint, amely a száj nyálkahártya felszínét védi, valamint a szekretorikus IgA fehérjét. Összevetve más típusú

immunglobulinokkal, az IgA jóval rezisztensebb proteolitikus emésztésekkel szemben, valamint a szekretorikus IgA számos toxint és enzimet képes semlegesíteni. A *C. albicans* Sap2 fehérjéje képes az IgA bontására, ezáltal elősegítve a mikroba bukális epiteliális sejtekhez való tapadását, valamint terjedését. A *C. albicans* proteínázok képesek voltak elbontani humán endoteliális sejtek mind szolubilis, mind az immobilizált extracelluláris mátrix proteinjeit, ami arra enged következtetni, hogy ezen fehérjék elősegítik a *C. albicans* disszeminációját. Ezen túlmenően a *C. albicans* Sap fehérjék, széles szubsztrát specifitásuknak köszönhetően eredményesen bontják a gazdaszervezet antimikrobiális fehérjéit, mint például a laktoferrint, laktoperoxidázt, katepszin D fehérjét, valamint a komplement rendszer komponenseit. Figyelemkeltő a proinflammatorikus interleukin-1 $\beta$  prekursorából történő aktiválódása, a *C. albicans* Sap2 hatására. Ez arra utal, hogy a Sap2 fehérjének szerepe van a gyulladáshoz vezető válasz kialakulásában és fenntartásában.

Széles körben tanulmányozott a szekretált aszpartil proteínázok, valamint egyéb virulencia faktorok közti kapcsolatot. *In vitro* rendszerben epiteliális sejtekhez tapadt élesztő sejtek jóval nagyobb proteínáz termelést mutattak az epiteliális sejtekhez nem tapadt élesztő sejtekkel összevetve. *C. parapsilosis* esetén *in vitro* humán epiteliális modellt alkalmazva a *SAPP* gének nagyobb mértékű expressziót mutatnak az epiteliális szövethez tapadt élesztő sejtek esetén.

Régóta tudott, hogy szoros korreláció áll fenn *C. albicans* esetén a *SAP4* és *SAP6* gének expressziója és a mikroba élesztő – hifa átmenete között. A *SAP4* és *SAP6* gének promóter régiójának analízise során a *Tec1* transzkripció faktor kötőhelyének konszenzus szekvenciáját fedezték fel [CATTC(A/C)]. A homozigóta deléciós  $\Delta/\Delta$  *tec1* *C. albicans* mutáns törzs esetén a törzs hifa képzésre és a *SAP4* és *SAP6* gének expressziójára *in vivo* egyaránt képtelen, ami a hifa képzés valamint a proteínáz termelés közötti szoros összefüggésre utal, azok útvonalai szorosan kapcsolatosak. A  $\Delta/\Delta$  *cyp1* (egy mitogén aktivált protein kináz foszfatáz) deléciós mutáns törzs hiperfilamentációs fenotípust, valamint megnövekedett *SAP4* és *SAP6* expressziót mutatott. További bizonyítékul szolgált, hogy rágcsáló szisztémás peritoneális modellt alkalmazva a  $\Delta/\Delta$  *efg1* törzs jóval kisebb mértékű hifa képzést és *SAP4*, *SAP6* expressziót mutatott, valamint ebből kifolyólag jóval kevésbé volt képes károsítani a parenhimális szerveket. Érdekes módon, a  $\Delta/\Delta$  *sap4*- $\Delta/\Delta$  *sap5*- $\Delta/\Delta$  *sap6* deléciós törzs esetén szisztémás modellben csökkent inváziós képességet tapasztaltak, ám ezen törzs hifa képzésre képes volt. A *SAP5* gén expressziója nem függ a hifa képzéstől, ám a két fő hifaképzéshez szükséges fehérje jelenléte (*Cph1* és *Efg1*) szükséges volt a *SAP5* gén expressziójához. Összességében ezen tények azt mutatják, hogy nem csak a proteínáz termelés és a hifaképzés szabályozása mutat szoros korrelációt, hanem a *C. albicans* hifasejteknek szükségük van a proteínáz termelésre, annak érdekében, hogy a mikroba invazív vá váljon *in vivo*. A *C. albicans* WO-1 törzse esetén a *white* – *opaque* átmenet vizsgálata kimutatta, hogy ezen átmenet számos celluláris változás eredménye, melyek érintik a proteínáz termelést is. Ezzel egyidőben mind a

WO-1, mind a *C. albicans* 3153A jelű törzsek fenotipikus változása és proteáz termelése között kapcsolat van. Mindkét törzs esetén a *SAP1* expressziója nagymértékű növekedést mutatott a fenotipikus váltás során, míg a *SAP2* gén aktiválódását mindkét stádiumban megfigyelték, ám csupán exogén protein hozzáadása során.

A Sap fehérjék képesek a gazda adaptív immunválaszára közvetlenül hatni, első sorban immunglobulin termelés beindításával. Macdonald és Odds voltak az elsők, akik proteináz – specifikus IgG antitest termelését mutatták ki szisztémás candidiázis során. Száj-garatüregi kandidiázisban szenvedő HIV pozitív paciensek esetén, emelkedett mennyiségű Sap1, Sap2 és Sap6 ellen termelődött IgA antitest volt detektálható, a HIV pozitív, de kandidiázisban nem szenvedő, valamint a teljesen egészséges kontroll csoportokkal összevetve. Rágcsáló vaginitisz modell esetén a *C. albicans* Sap2 elleni immunizálás, vagy a fehérje ellen termeltetett monoklonális antitest alkalmazása részben meggátolta a kandidiális vaginitisz kialakulását. Ez volt a legelső eset, melyben kimutatták az anti-Sap antitestek védő hatását. Ezek a kísérletek vezettek odáig, hogy a Sap2 fehérjét potenciális Candida ellenes vakcinának gondolják és az ere irányuló klinikai kísérletek folyamatban vannak.

A *C. albicans* által termelt proteinázok elleni lehetséges védekezés lehet bizonyos proteináz inhibitorok használata. Ismert, hogy a mucin Sap proteinázok általi degradációja *in vivo* gátlódik pepstatin jelenlétében. Humán epitéliális sejtvonal által termelt szolubilis, valamint immobilizált fehérjék Sap fehérjék általi bontását *in vitro* szintén sikerült gátolni pepstatint alkalmazva. *In vivo* egér peritonitisz modellben 1 mg/kg koncentrációban alkalmazott pepstatin adagolása szignifikánsan csökkentette a lép és hasnyálmirigy szöveti károsodását. Ezzel szemben, *in vivo* intravénás egér modell fertőzése során a pepstatin alkalmazása nem váltott ki ilyen jellegű védő hatást, amely arra enged következtetni, hogy bár a fertőzés kezdeti stádiumában pepstatin alkalmazása eredményesen gátolja a mikroba kolonizációját, ám a mikroba terjedését meggátolni már nem képes. *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* és *C. metapsilosis in vitro* rekonstruált humán epitéliális szöveti fertőzés esetén pepstatin A alkalmazása során szintén kisebb mértékű szöveti károsodás volt megfigyelhető.

A HIV vírus által termelt proteináz szintén az aszpartil proteázok közé tartozik, így a pepstatin A proteináz inhibitoron kívül a HIV proteinázok inhibitorait is vizsgálták, mint lehetséges terápiás szereket. Négy HIV proteináz inhibitor (ritonavir, saquinavir, indinavir és nelfinavir) vizsgálata során a ritonavir bizonyult a legeredményesebb *C. albicans* Sap2 proteáz inhibitornak ( $K_i=0,34 \mu\text{M}$ ). A négy proteináz inhibitor közül csak a ritonavir és a saquinavir volt képes gátolni a *C. lusitanae*-ból, *C. parapsilosis*-ból *C. tropicalis*-ból és a *C. albicans*-ból tisztított Sap proteázok aktivitását. *In vitro* rekonstruált humán epitéliális modellt alkalmazva a saquinavir képes volt a *C. albicans* által okozott szöveti károsodást mérsékelni míg *in vivo* patkány vaginitisz modellt alkalmazva a ritonavir és indinavir a flukonazollal összevethető mértékű antifungális hatás kiváltására volt képes.

*In vivo* egér kísérletben a Sap2 alkalmazása akár intakt, akár denaturált formában védő hatást váltott ki intraperitoneális *C. albicans* fertőzés esetén. Minden esetben megfigyelhető volt a szérumban jelenlévő anti-Sap2 antitest, valamint annak passzív transzportja nagymértékben képes volt csökkenteni a gomba által vesében okozott gyulladást.

## Foszfolipázok

A foszfolipázok egy heterogén enzimcsoport, melynek tagjai a foszfolipidek észter kötéseit hidrolizálják. A foszfolipázok közt, aszerint, hogy milyen kötéseket bontanak, négy alcsoportot különböztetnek meg. Ezek a foszfolipáz A (PLA), B (PLB), C (PLC) és D (PLD), az általuk katalizált reakciók a következők:

A PLA enzimek a foszfogliceridek észter kötéseit bontják, a zsírsav lehasadásával lizofoszfolipid és szabad zsírsav keletkezik.

A PLB enzimek ugyancsak az észter kötéseket hasítják, melynek során lizofoszfolipid és szabad zsírsav keletkezik. Emellett ezek az enzimek rendelkeznek lizofoszfolipáz (a lizofoszfolipidek észter kötésének bontása) és lizofoszfolipid transzpileráz (azaz szabad zsírsavakat képesek a lizofoszfolipidekhez kapcsolni, melynek során foszfolipid keletkezik) aktivitással is.

A PLC enzimek az első foszfodiészter kötést hasítják, így 1,2-diacilglicerol és foszfatidil-kolin/foszfatidil-etanolamin/stb. keletkezik.

A PLD enzimek a második foszfodiészter kötést hasítják és foszfatidsav, valamint kolin/etanolamin/stb. keletkezik a foszfolipid fajtától függően.

Mivel a foszfolipideket bontják, feltételezzük, hogy a foszfolipázoknak szerepük lehet a citoplazma membrán degradációjában és a különböző sejteken, szöveteken történő megtapadásban, valamint a szöveti invázióban. Ezt a funkciót különösen a foszfolipáz B esetében több patogén mikroorganizmusnál (elsősorban baktériumok esetében) igazolták is.

Jellemző, hogy a gombafajok közt, de egy adott fajon belül az egyes törzsek közt is, jelentős eltérés mutatkozik a tekintetben, hogy milyen foszfolipáz aktivitással rendelkezik az adott gomba. *Candida albicans* és *Cryptococcus neoformans* esetében a foszfolipáz aktivitás legnagyobb részét a PLB adja, *Aspergillus fumigatus* esetében azonban mind a négyféle foszfolipáz aktivitás kimutatható a fertőzés során is.

*C. albicans* esetében a foszfolipáz B termelés bizonyos korrelációt mutat a virulenciával: azok a törzsek, melyek jobb adhézións képességgel rendelkeznek az epitél

sejtekhez és nagyobb letalitást mutattak egérmodellben, általában nagyobb PLB aktivitással rendelkeztek. A *C. albicans* két PLB génnel rendelkezik, melyek termékei közül a PLB aktivitás 80-90%-áért a PLB1 felelős. Szisztémás candidiázisban szenvedő betegek szérumból kimutathatók a *Candida* PLB1 ellen termelődött antitestek, ami azt mutatja, hogy ez az enzim termelődik a humán fertőzés során. A PLB1 null-mutáns törzs egérmodellben csökkent virulenciát mutatott mind disszeminált candidiázis, mind orális, illetve tápcsatornán keresztüli fertőzés egér modelljében. A PLB deficiens törzsek a vad típushoz képest gyengébben voltak képesek megtelepedni a tápcsatorna falán, nehezebben tudtak a szövetek közé hatolni és csökkent gyomor-, máj- és vesekolonizáló képességet mutattak. A szekretált PLB enzimek mellett a *C. albicans* rendelkezik egy membránkötött PLD enzimmal is.

## EGYÉB A VIRULENCIÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK

### A vasszabályozás

A vas az élő szervezet számára alapvető mikroelem, amely például az oxidoredukciós folyamatok kofaktoraként fontos szerepet játszik a sejtek anyagcseréjében. Ugyanakkor a szabad vas jelenléte a sejtben toxikus, reaktív oxigénformák képződéséhez vezet. Mivel a vas egyszerre esszenciális és toxikus, az élőlények általában hatékony rendszereket fejlesztettek ki a vas megszerzésére és biztonságos tárolására, valamint e folyamatok szabályozására.

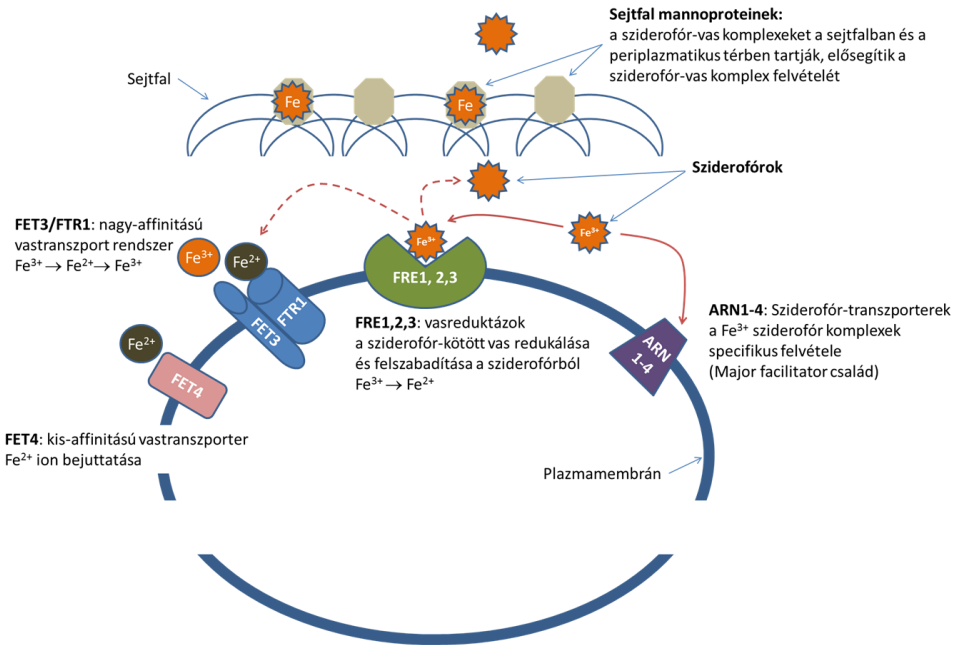
A vas a vérérszékben elsősorban szállítófehérjékhez kötve, a sejtekben pedig raktározott formában található meg. Az állati és emberi szervezetben a vas olyan fehérjékhez kötődik, mint a transferrin, laktoferrin, hem és ferritin. Ezért a szervezetbe kerülő mikroorganizmusok számára a szabadon felvehető vas mennyisége kifejezetten alacsony. A vérérszékben a legfontosabb vaskötő fehérje a transferrin. Egészséges emberben azonban a transferrineknek csak körülbelül egyharmada telített. Fertőzés esetén a nem-specifikus védekezési rendszer hatására, a transferrin fehérjék újabb vasionok megkötésével csökkentik a szérumból elérhető szabad vas mennyiségét, ami gátolja a patogén mikroorganizmusok növekedését.

Mindezek miatt a mikrobiális vasszabályozási rendszerek fontos szerepet játszanak a mikrobiális fertőzések során. A patogén mikroorganizmusok ugyanakkor számos különböző mechanizmust fejlesztettek ki, hogy a környezetükben jelenlévő vasat elérhetővé tegyék és felvehessék. A vasszabályozási rendszereket, illetve ezek genetikai hátterét baktériumokban jobban, mikroszkopikus gombákban kevésbé jellemezték.

A gombák vasszabályozási mechanizmusairól rendelkezésre álló információink többsége a *Saccharomyces cerevisiae* tanulmányozásából származik (16. ábra).

A különböző gombafajok többféle vasszerző mechanizmust is kifejlesztettek, melyek a következők lehetnek:

1. Kis affinitású vas permeázok: a citoplazma membránban található permeázok; közvetlenül képesek a  $Fe^{2+}$  felvételére, általában akkor működnek, ha elegendő felvehető vas áll rendelkezésre. Ilyen permeázok pl. a *S. cerevisiae* FET4 és SMF1 fehérjéi.
2. Vasreduktázok:  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$  átalakulást katalizálnak, illetve siderofór-  $Fe^{3+}$  komplexekből a  $Fe^{2+}$  iont szabadíthatnak fel. A  $Fe^{2+}$  a sejtmembránon keresztül kis affinitással bejuthat a sejtekbe, a siderofórokból felszabadított vas pedig a nagy affinitású rendszeren keresztül kerülhet felvételre. Ilyen vasreduktázok pl. a FRE1,2,3 fehérjék, melyek szintén a citoplazmában találhatók.



**16. ábra.** A *Saccharomyces cerevisiae* vasszervező rendszerei (további magyarázat a szövegben).

3. Nagy affinitású vas transzport (FTR/FET), más néven reduktív asszimilációs rendszer: metalloreduktázok működése által a  $Fe^{3+}$   $Fe^{2+}$  ionná alakul, majd a sejtmembránon keresztül bejut a sejtekbe a nagy affinitású vas permeáz/oxidáz (FTR/FET) rendszer segítségével. E rendszernek tipikusan akkor van jelentősége, amikor nincs elegendő felvehető vas a gomba környezetében, így pl. a gazdaszervezetben való növekedés során.

4. Vasfelvétel sziderofórok segítségével: a sziderofórok kis molekulásúvú vaskelőző vegyületek, melyek segítik a vas környezetből történő kinyerését, illetve hozzáférhetővé teszik a vasat a mikroba számára. Számos baktérium és gomba termel és választ ki sziderofórokot, sok mikroba pedig képes használni a más mikroba által termelt vaskötő vegyületeket is (ezeket xenoxiderofóroknak nevezük). A sziderofórok által megkötött vas felvétele alapvetően két úton történhet:

- a) specifikus sziderofór transzporterekkel (pl. a *S. cerevisiae* ARN transzporterei), ilyenkor a sziderofór-vas komplex bekerül a sejtbe;
- b) a vas a sejtben kívül felszabadul a sziderofór-vas komplexből és a nagy affinitású vas permeáz/oxidáz rendszer segítségével kerül a sejtbe.

Ennek a rendszernek fontos összetevői egyes sejtfaal mannoproteinek, melyek a sziderofór-vas komplexeket megkötik és a sejtfaalban, illetve a periplazmatikus térben tartják, elősegítve ezzel a komplex, vagy a vas transzportját.

5. Vasfelvétel különböző enzimek segítségével: egyes gombák enzimek segítségével képesek a vas felszabadítására a gazda egyes vaskötő fehérjéiből is (pl. hemin, hemoglobint). Az ebben szerepet játszó hem-oxigenáz kódoló géneket azonosították és jellemezték többek között *Candida albicans*-ban és *Cryptococcus neoformans*-ban is.

6. Nem-enzimátikus  $Fe^{3+}$  redukció: egyes gombáknál (pl. *C. neoformans*) a redukció kis molekulásúvú fenolos vegyületek segítségével is végbemehet.

7. A környezet pH-jának csökkentése: vannak olyan gombafajok, melyek szerves savak (pl. citromsav) szekretálásával a környezet savanyodását érik el, amely vasfelhalmozást eredményez a sejtfaalban.

A kis affinitású vastranszport és a nem enzimátikus  $Fe^{3+}$  redukció csak olyan környezetben működik, ahol elegendő vas áll rendelkezésre. Mivel a humán szérumban a szabadon elérhető vas mennyisége nagyon alacsony, így e mechanizmusok a patogén folyamatokban valószínűleg nem játszanak lényeges szerepet.

A patogén folyamatokban szerepet játszó vasfelvételi mechanizmusok közül az egyik legfontosabb a nagy affinitású vastranszport rendszer. Itt a  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$  átalakulást sejtfaalszíni membránkötött metalloreduktázok (*S. cerevisiae*-ben FRE1 és FRE2) katalizálják, a  $Fe^{2+}$  átjutása a sejtmembránon pedig nagy affinitású vastranszporttal történik. A nagy affinitású vastranszport rendszer két komponensből tevődik össze: egy specifikus permeázból (*S. cerevisiae*-ben FTR1) és egy rézfüggő  $Fe^{2+}$ -oxidázból (*S. cerevisiae*-ben FET3), mely szintén egy membrán fehérje, mely rendelkezik egy extracelluláris réztartalmú oxidáz doménnel. A rézfüggő



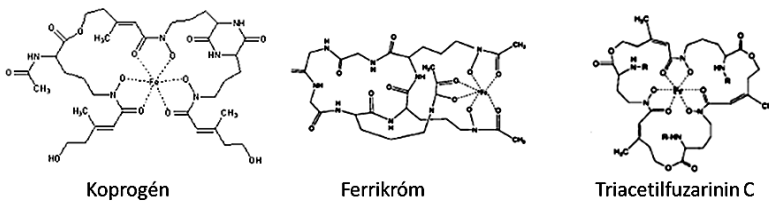
$\text{Fe}^{2+}$ -oxidáz a metalloreduktáz által átalakított  $\text{Fe}^{2+}$ -t visszaoxidálja, majd a permeáz bejuttatja a  $\text{Fe}^{3+}$  iont a sejtbe. Meg kell jegyezni, hogy a  $\text{Fe}^{2+}$ -oxidáz aktivitás hiányában a  $\text{Fe}^{2+}$  direkt transzportja is lehetséges, de ez csak a kis affinitású rendszer segítségével történhet.

Alacsony vastartalmú közegben egy másik lehetséges vasfelvételi mechanizmus teljes sziderofór-vas komplexek bejuttatása a gombasejtekbe. Ez membránkött, specifikus sziderofór transzportereken keresztül valósulhat meg. *S. cerevisiae*-ben az ilyen transzportereket az *ARN* gének kódolják. Számos gomba nemcsak a saját maga, hanem más mikrobák által termelt sziderofórokat is képes hasznosítani.

### A sziderofórok

A sziderofórok olyan vaskelátoló kismolekulák, melyek a  $\text{Fe}^{3+}$  iont nagy affinitással és specifikusan képesek megkötni. Bioszintézisüket és a vassal képzett komplexeik felvételét a környezet vas koncentrációja szabályozza. Elsősorban alacsony vas-koncentrációjú közegben termelődnek. A mikrobiális vaskötő molekulák többsége katekolát, vagy hidroxamát típusú vegyület. A gombák által termelt sziderofórok többsége az utóbbi csoportba tartozik.

A hidroxamát típusú sziderofórok ún. nem-riboszómális peptidek. Az N-acil-N-hidroxiornitin, mint szerkezeti alapegység, ismételt kondenzációjával képződnek, de a végleges molekulába egyéb aminosavak is beépülhetnek. A gomba sziderofórokat szerkezetük alapján három csoportba szokták sorolni: fusarini- nek (monomerek, lineáris di- és trimerek, valamint ciklikus trimerek), koprogének (fuzarinin egységekből felépülő, lineáris di- és trihidroxamátok) és ferrikrómok (többségük ciklikus hexapeptid) (17. ábra).



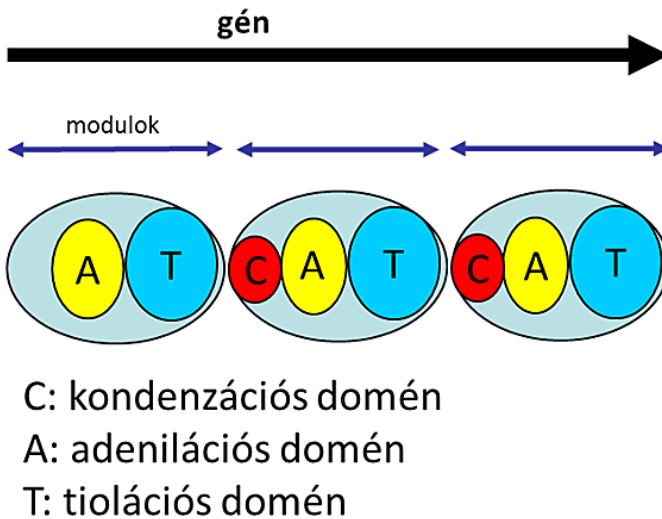
**17. ábra.** Néhány gombák által termelt siderofór szerkezete.

A sziderofór bioszintézisben szerepet játszó nem-riboszómális peptid szintetázokat (NRPS) több gombában is azonosították és jellemezték.

### Nem-riboszómális peptid szintézis

A nem-riboszómális peptidek (NRP) szintézise nem a riboszómális úton történik, hanem nagy moduláris felépítésű enzimkomplexek által. Sokféle baktérium és gomba metabolik képződik ezen az úton (pl.  $\beta$ -laktám antibiotikumok, hidroxamát

sziderofórok, gliotoxin, ciklosporinok, echinocandinok, stb.). A nem-riboszómális peptidok gyakran ciklikusak, vagy elágazók, fehérjékre nem jellemző aminosavakat (pl. ornitint, D-aminosavakat) és nem-peptid jellegű (pl. lipid) oldalláncokat tartalmazhatnak. A NRP-k aminosav sorrendjét és ezen keresztül a szerkezetét nem közvetlenül a mRNS határozza meg, hanem (némileg a poliketid szintázokhoz hasonlóan) a nem-riboszómális peptid szintetáz (NRPS) enzim moduláris szerkezete (18. ábra).

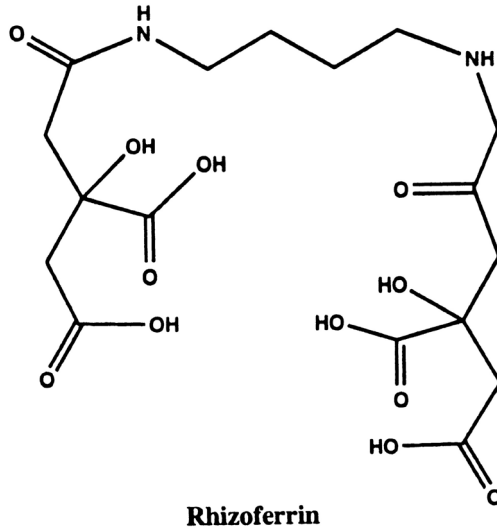


**18. ábra.** Az NRPS enzimek moduláris felépítése.

Az NRPS moduljainak száma és sorrendje megfelel a beépítendő aminosavak számának és sorrendjének, minden modul egy-egy aminosav beépítésért felelős. Minden modul 3 domént tartalmaz: egy aktivációs domént (adenilát képző domén, ez felel az aminosavak aktivációjáért) egy peptidil-carrier domént (ez felel tioészter képződésért, az aminosav egy tioészter kötással kapcsolódik az enzimhez) és egy kondenzációs vagy elongációs domént (mely az aminosavak összekapcsolódásáért felelős). Egyes modulok esetenként egyéb doméneket is hordozhatnak, pl. metil transzferázt, mely a peptid kötések metilációját végzi, vagy epimerizációs domént, mely az L és D aminosavformák közti konverziót katalizálja. Ciklikus peptidok szintézise esetén az egyik modulban a kondenzációs domén helyett egy ciklizációs domén található, mely egyes aminosavak intramolekuláris heterociklizációját végzi. A szintézist befejező terminációs modul egy extra tioészterázt is tartalmaz.

Az NRPS és a metabolit prekursorainak (pl. oldalláncok, aminosavak) bioszintéziséért felelős enzimek génjei (a poliketid bioszintézis génekhez hasonlóan) általában génklaszterekben helyezkednek el.

Egyes járomspórás gombák polikarboxilsav jellegű sziderofórokat termelnek, ilyen a *Rhizopus* fajok által termelt rhizoferrin (19. ábra). A járomspórás gombák által termelt sziderofóroknak elhanyagolható szerepet tulajdonítanak a virulenciában. A rhizoferrin által kötött vas képes a szérumban lévő transzport fehérjékhez (pl. transferrin) kapcsolódni és így a gombák számára hozzáférhetetlenné válni.



**19. ábra.** Rhizoferrin (két citromsav molekula és egy diaminobután kapcsolódik benne össze).

### A sziderofór-vas komplexek felvétele

A sziderofórokkal történő vasfelvétel egyik módja, hogy a gomba sziderofór permeázok segítségével felveszi a komplexet, amiből a vas sejten belül szabadul fel. A sziderofór-permeázok az MFS (*major facilitator superfamily*) típusú transzporterek közé tartoznak. A mikrobák többsége az eltérő típusú sziderofórokat különböző transzporterek segítségével hasznosítja. Számos faj rendelkezik olyan sziderofór transzporterekkel, amelyek xenosziderofórok felvételét biztosítják. Ilyen a *S. cerevisiae* is, amely maga nem képes sziderofórok szintézisére, mégis hatékonyan képes azokat felvenni. *S. cerevisiae*-ben négy sziderofór-transzportert azonosítottak (SIT1/ARN3, ARN2, ARN4 és ARN1), amelyek eltérő szubsztrát specifitással rendelkeznek. A sziderofór bioszintézis és a sziderofór-kötött vas felvétele a vas koncentráció által regulált folyamat. A *Saccharomyces*-hez hasonlóan, a *C. neoformans* és a *C. albicans* sem képes sziderofórokat termelni, de rendelkeznek xenosziderofórok felvételéhez szükséges permeázokkal (pl. SIT1, ARN1).

*S. cerevisiae* esetében a sziderofór transzporterek többsége endoszómaszerű vezikulumokban, míg a nagy affinitású rendszer mindkét komponense a plazmamembránban lokalizálható. *C. albicans*-nál ezzel ellentétben az ARN1 proteinek többsége

a plazmamembránban helyezkedik el és csak egy kisebb hányaduk található a citoplazmában. A szabad sziderofórok feltételezhetően intracelluláris vezikulumokban tárolódnak, a vasfelvétel mellett fontos szerepet játszanak a sejten belüli vasraktározásban is.

A sziderofórok által kötött vas felvételének másik módja, hogy a vasat a gomba a sejten kívül felszabadítja a komplexből és a nagy affinitású vas transzport rendszer segítségével juttatja be a sejtbe. Egyes opportunistá patogének, pl. az *A. fumigatus* és a *R. oryzae* is, ezt a mechanizmust preferálják.

Egyes patogének képesek a hemoglobint, illetve annak degradációs származékait is vasforrásként felhasználni. E vasfelvételi mechanizmust patogén baktériumok esetében részletesebben tanulmányozták. *S. cerevisiae* nem tudja a hemet vasforrásként hasznosítani, viszont a *C. albicans* és néhány más patogén élesztő képes növekedni hem vagy hemoglobin tartalmú tápközegben. A *C. albicans* egy hem-oxigenáz segítségével szabadítja fel a  $Fe^{3+}$  iont a vastartalmú hemoglobin degradációs termékekből, mely aztán szubsztrátként szolgál a vasreduktázok számára. *In vitro* kísérletekben a *C. neoformans* is képes volt a hemoglobin és a hem vasforrásként történő hasznosítására, bár a mechanizmus molekuláris háttere még nem teljesen ismert.

## A vasfelvétel patogenitásban betöltött szerepének vizsgálata

### *Candida albicans*

*Candida albicans* esetében a vasszerzés az epitél sejtek és a nyálkahártya penetrációja során elsősorban sziderofórokkal történik, míg vérben és a belső szervekben a nagy affinitású vas permeáz működése szükséges a szisztémás fertőzés kialakításához. Egérmodellben az *FTR1* null-mutáns, humán szájnálkahártyát modellező epitél szövetben, az *ARN1* deléció mutáns mutatott csökkent virulenciát. A vérben a *C. albicans* egyik fő vasforrása a transferrin, melyből a gomba képes a vasat felszabadítani. A transferrinből származó vas felvétele szintén a nagy affinitású vastranszport rendszer segítségével történik. A *C. albicans* a heminből, illetve a hemoglobinból is nyerhet ki vasat, aminek szintén szerepe van az invazív fertőzések során.

Mivel az elérhető vas (alacsony vagy magas) koncentrációja több száz gén kifejeződésére hatással van, egyes feltételezések szerint a vasnak szerepe lehet a kommenzalista-patogén váltásban is. A környezet alacsony vaskoncentrációja ugyanis szignálként szolgálhat a *C. albicans* számára a pszeudohifa képzésre és a különböző virulencia faktorok kifejeződésére.

### *Cryptococcus neoformans*

*C. neoformans* esetében is a nagy affinitású vas permeáz gazdaszervezetből történő vasfelvétel fő eleme, mely a *C. albicans*-hoz hasonlóan, itt is nélkülözhetetlen a transzferrinből történő vasfelvételhez. A transzferrin az egyetlen a szervezet vas-kötő fehérjéi közül, amely képes a vér-agy gáton átjutni, így az agyi szöveteket fertőző *C. neoformans* számára fontos vasforrás lehet.

A *C. neoformans* patogenitásában fontos szerepet játszó tok méretét és a sejtfal melanin tartalmát a környezet vastartalma jelentősen befolyásolhatja. A tok poliszacharidok glükuronsav komponensei kapcsolatba léphetnek  $\text{Fe}^{2+}$  ionokkal. A vasmegkötésnek szerepe van a vas sejt felszín közeli felhalmozásában.

A *C. neoformans* vasfelvételének szabályozásában a CIR1 fehérje szerepét tanulmányozták behatóbban. Ezek a kísérletek a vasfelvétel szabályozásának a patogenitásban betöltött alapvető jelentőségére is rámutattak. A CIR1 egy GATA típusú, „cink ujj” domént tartalmazó transzkripciós faktor, ami a vasszerzésben szerepet játszó gén kifejeződését szabályozza és a nagy affinitású vastranszport rendszer negatív, míg a sziderofór transzport rendszer pozitív regulátoraként működik. Emellett fontos szerepe van a virulenciával kapcsolatos jelátviteli útvonalak és a gomba számos virulencia faktornak tekintett tulajdonságának – tok képzés, a melanin szintézisben szerepet játszó lakkáz enzim kifejeződése, a melanin termelés fokozása – szabályozásában is. A CIR1 deléciós mutánsok nem reagáltak a sejten kívüli vas koncentráció változásaira és csökkent virulenciát mutattak állatkísérletekben.

### *Aspergillus fumigatus*

Az előzőektől eltérően, *A. fumigatus* esetében a sziderofór termelésnek tulajdonítanak fontosabb szerepet a patogenitásban. Az L-ornithin- $\text{N}^5$ -monooxigenáz enzimet kódoló *sidA* gén deléciója olyan törzset eredményezett, mely csökkent virulenciát mutatott invazív aspergillózist modellező egér kísérletekben. Ezzel szemben a nagy affinitású vas permeázt kódoló *ptrA* génben deficiens törzs patogenitása nem különbözött a vad típusétól.

### *Rhizopus oryzae*

A szérum vaskoncentrációjának megemelkedése, pl. a különböző hematológiai rendellenességek terápiája során alkalmazott gyakori transzfúzió miatt, vagy cukorbetegség esetén fellépő ketoacidózis következtében, rizikófaktora lehet a járomspórás gombák által okozott fertőzéseknek. Ketoacidózis során a vér savasodik, emiatt csökken a transzferrin vas-kötő képessége, ami a szabad vas koncentrációjának emelkedéséhez vezet. A mucormikózisok egyik legjellemzőbb megnyilvánulási formája a rhinocerebrális mikózis, melynek aránya éppen a ketoacidózissal párosuló cukorbetegségben szenvedők közt a leggyakoribb (az összes mucormikózisok 36–88%-a).

A vasfelvételt és annak patogenitásban betöltött szerepét járomspórás gombák közül *R. oryzae* esetében tanulmányozták részletesen. E gomba esetében, az emberi szervezetből (pl. vérből) történő vasfelvételben a nagy affinitású vas transzport játszik meghatározó szerepet. A *R. oryzae* nagy affinitású vas permeázát (FTR1) részletesen jellemezték. Igazolták azt is, hogy amennyiben a gomba a gazdaszervezetben sziderofórt használ, a vasat a felvétel alatt abból felszabadítja és azt is az FTR1 segítségével juttatja a sejtbe.

## ASPERGILLUS FERTŐZÉSEK

Az *Aspergillus* fajok által okozott mikózisokat összefoglalóan aspergillózisoknak nevezzük. A candidiázisok után ez a második leggyakoribb opportunista gombafertőzés csoport, a fonalas gombák közül pedig az *Aspergillus*-ok okozzák a legtöbb szisztémás fertőzést.

A mintegy 190 *Aspergillus* faj közül, körülbelül 20–30 olyan van, amelyet klinikai mintákból izoláltak. Mélyfertőzéseket olyan fajok okoznak, amelyek képesek az emberi testhőmérsékleten is növekedni.

Az aspergillózisok túlnyomó többségét *A. fumigatus* törzsek okozzák. Ez a faj a leggyakoribb opportunistá patogén fonalas gomba. Klinikai mintákban a második leggyakoribb *Aspergillus* faj, az *A. flavus*, ezt követi számos ritkább, különböző gyakorisággal felbukkanó faj, pl. *A. terreus*, vagy *A. niger*. A legtöbb ismeret az *A. fumigatus* patogenitásával kapcsolatban áll rendelkezésre.

## AZ ASPERGILLÓZISOK MEGJELENÉSI FORMÁI

Az *Aspergillus*-ok a természetben, illetve környezetünkben igen elterjedtek, a szervezetünk, pl. a légutakon keresztül, a levegőben terjedő konidiumaikkal nap, mint nap találkozunk. Tipikus opportunistá patogének, egészséges emberben nem okoznak betegséget.

### Lokális, felszíni fertőzések

Az aspergillózisoknak sokféle megjelenési formája lehetséges, a különböző lokális fertőzésektől, a tüdőmikózisokon át, az invazív aspergillózisokig. Az olyan nem invazív, lokális fertőzések, mint a szinuszitisz (a szinuszok allergiás, vagy nem

allergiás fertőződése), az otomikózis (a fül fertőzése), a keratitisz (szem, illetve szaruhártya fertőzése), vagy a köröm fertőzések (onitomikózis) könnyebben gyógyíthatók, mint a tüdőmikózisok. Esetenként előfordulhat *Aspergillus* okozta hörghurut (bronchitisz), mely az antifungális kezelésre szintén viszonylag jól válaszol. Ilyenkor a gomba jelenléte kimutatható, de a tüdő szövetét a fertőzés nem érinti, a légutakban lokális kolonizációk előfordulhatnak. Az ilyen esetekre jellemző, hogy a betegség felfedezése előtt a betegek visszatérő légúti fertőzésekkel küzdenek, illetve hosszasan és sikertelenül kezelték őket, pl. antibiotikumokkal.

A fertőzések túlnyomó többsége ugyanakkor a levegővel terjedő (*airborne*) konídiumok belélegzésével, a tüdőből indul ki (tüdőmikózisok). A tüdőfertőzéseknek van invazív és nem invazív formája. Invazív aspergillózisról (IA) akkor beszélünk, ha a gombafonalak nemcsak lokálisan vannak jelen, illetve valamilyen a testben található üreget töltenek ki, hanem a mélyebb szövetekbe is behatolnak. Nem invazív tüdőmikózisok általában valamilyen tüdőt érintő alapbetegség, IA pedig immunkárosodás esetén fordul elő. Utóbbi esetben jelentős a kockázata annak, hogy a fertőzés disszemináltá válik, azaz a vérárammal a szervezet egyéb részeibe is eljut. A tüdő aspergillózisok főbb csoportjait a 3. táblázat mutatja be.

**3. táblázat.** A tüdő aspergillózis főbb megjelenési formái és az ezek hátterében álló predisponáló tényezők.

Alapbetegség – hajlamosító tényező	Az <i>Aspergillus</i> fertőzés megnyilvánulási formája
Üregképződéssel járó tüdőbetegségek	Aspergillóma
Krónikus tüdőbetegségek és/vagy enyhe immunkárosodás	Krónikus tüdő aspergillózis (CPA), Krónikus nekrotizáló aspergillózis (CNA)
Immunkárosodás, immunszuppresszív állapot	Invazív aspergillózis (IA)
Allergia, asztma, cisztás fibrózis	Allergiás bronchopulmonáris aspergillózis (ABPA)

## Aspergillóma

Aspergillóma (*fungus ball*) üregképződéssel járó tüdőbetegségek esetén, pl. tuberkulózis során kialakuló üregekben, daganatok helyén, tüdőtágulat területén, tályogok, ciszták üregeiben alakul ki. Ilyenkor a tüdőbe jutott konídiumból kifejlődik a micélium és a gombafonalak egy idő után teljesen kitöltik az üreget, meglehetősen sűrű szövedéket alkotva. Az aspergillóma mérete ritkán nő tovább és általában a

hifák nem árasztják el a környező szöveteket, vagy a vérereket (nem invazív). A betegek jellemző a láz, elesettség, fogyás, köhögés, gyakran jelentkezik vércöpes is. A leggyakoribb predisponáló tényező a tüdő tuberkulózis. (Meg kell jegyezni, hogy *fungus ball* kialakulása jellemző egyes felbukkanó patogénekre is, pl. *Scedosporium*, *Fusarium*, *Rhizopus* fajokra.) Előfordulhat az aspergillóma bakteriális felületfertőződése, tüdővérzés és tüdőgyulladás kialakulása is. Ha igazolódik az aspergillóma jelenléte, az üreget a micéliummal együtt sebészetiileg eltávolítják.

### Krónikus tüdő aspergillózis

A krónikus tüdő aspergillózis (*chronic pulmonary aspergillosis*; CPA) szinte mindig valamilyen krónikus tüdőbetegséghez társulva fordul elő, különösen, ha az üregképződéssel is együtt jár. Az aspergillómához hasonlóan a legfontosabb predisponáló tényező itt is a tüdő tuberkulózis, de társulhat atipikus *Mycobacterium* fertőzéshez, krónikus obstruktív tüdőbetegséghez (COPD), kezelt tüdőrákhoz, sarcoidosis-hoz, légmellhez, vagy allergiás bronchopulmonáris aspergillózishoz is. Sok CPA-ban szenvedő beteg többféle predisponáló tényezővel is rendelkezik. A CPA egyik megnyilvánulási formája a krónikus ürgeedéssel járó tüdő aspergillózis (*chronic cavitary pulmonary aspergillosis*; CCPA). A CCPA lassan (általában több hónapig) előrehaladó betegség, a tüdőben levő üregekben terjed, együtt járhat aspergillóma kialakulásával is, de nem feltétlenül.

### Krónikus nekrotizáló aspergillózis

Amennyiben valamilyen fokú immunkárosodás is fennáll (pl. AIDS, kortikoszteroid kezelés, cukorbetegség, alkoholizmus, krónikus májbetegség következtében) a CPA a valamivel gyorsabb lefolyású krónikus nekrotizáló aspergillózissá (*chronic necrotising aspergillosis*; CNA), vagy más néven szubakut invazív aspergillózissá (*subacute invasive aspergillosis*; SAIA) alakulhat. Ez a CPA-hoz hasonló, lassan (több hét alatt) előrehaladó betegség. Kialakulásához nem feltétlenül van szükség a tüdőben előzőleg kialakult üregekre, de azokból is kiindulhat, aspergillóma is megjelenhet, de nem szükségszerűen. CNA esetén az üregek, illetve a fertőzés helye mentén, a tüdő szövetét is érintő lokális inváziók alakulnak ki, ugyanakkor az invazív aspergillózisokra jellemző angioinvázió (az erek fertőzése, illetve elárasztása), valamint a disszemináció nem jellemző. Kezelésére amfotericin B-t, vagy azolokat (elsősorban itraconazolt, vagy voriconazolt) használnak.



## Invazív aspergillózis

Az invazív aspergillózis (IA) leggyakrabban szintén a tüdőből indul ki, de ritkán egyéb szervekből is pl. a szinuszokból, a gasztrointesztinális traktusból, vagy a bőrből. Az IA előfordulási aránya a kemoterápiás és immunszuppresszív kezelések terjedésével folyamatosan emelkedik. Legfőbb predisponáló tényezői a neutropéniával (amikor kórosan alacsony a neutrofil sejtek száma a vérben) együtt járó immunkárosodás, vérképző őssejt (*hematopoietic stem cell transplantation*; HSCT) és szervtranszplantáció, elhúzódó és nagy dózisú kortikoszteroid kezelés, vérképzőszervi daganatok, citotoxikus terápia, és krónikus granulomatózus betegség (*chronic granulomatous disease*; CGD). Krónikus tüdőbetegségeknél, viszonylag ritkán, de előfordulhat, hogy a krónikus tüdőfertőzés fajul el invazív aspergillózássá. Az IA a véráram útján disszeminálódhat egyéb szervekbe pl. a vesékbe, a májba, a bőrbé, vagy akár az agyba is. Az antifungális kezelések ellenére, részben azért is, mert az alapbetegség miatt a betegek eleve veszélyeztetettek, az IA mortalitása nagyon magas. A halálozási arány IA esetén, neutropéniás betegek közt meghaladja az 50, vérképző őssejt transzplantáltak között a 90%-ot. Amint az IA gyanúja felmerül, meg kell kezdeni a gombaellenes terápiát. Amfotericin B, vagy újabban voriconazol a legfontosabb IA esetén használt antifungális szer. A voriconazolt egyes intézményekben profilaktikus, megelőző céllal is alkalmazzák.

## Allergiás bronchopulmonáris aspergillózis

Allergiás bronchopulmonáris aspergillózis (*allergic bronchopulmonary aspergillosis*; ABPA) az *Aspergillus* (elsősorban *A. fumigatus*) antigénekkal szembeni hiperszenzitizáció következtében alakul ki. Az esetek többsége asztmás és cisztás fibrózisos betegeket érinti. Becslések szerint az utóbbi körben, a betegek 1-15%-ánál fejlődhet ki ABPA. ABPA esetén jellemző a magas *Aspergillus*-specifikus IgE szint és a pozitív *Aspergillus* bőrteszt, tünetként asztma, vérköpés, fokozott váladéktermelés jelentkezhet. Ha a betegséget nem kezelik súlyos és maradandó tüdőkárosodást okozhat.

## *Aspergillus fumigatus*, mint opportunistá patogén gomba

Az *A. fumigatus* a leggyakoribb *air borne* patogén gomba, az általa okozott megbetegedések közül a legsúlyosabb az IA. Az olyan kérdések, hogy mi teszi képessé ezt a gombát az emberi szervezetben való túlélésre és a betegség kialakítására, miben különbözik a nem patogén *Aspergillus*-októl, valamint, hogy milyen gazda-patogén interakciók játszódnak le a fertőzés során, intenzív kutatások tárgya, aminek következtében az *A. fumigatus* az egyik legrészletesebben jellemzett modellorganizmus a fonális gombák közül.

Nincs egy, vagy néhány jól definiált virulencia faktor, ami kizárólagosan képessé teszi a gombát a patogenitásra. Az *A. fumigatus* alapvetően szaprotróf szervezet, amely elsősorban bomló szerves anyagokon, komposztban, talajban való növekedéshez evolválódott. Számos faktor, illetve a gazdaszervezet különböző elemei vesznek részt a virulencia kialakításában.

A *A. fumigatus*, mint már többször említettük, *air borne*, azaz levegővel terjedő gomba. Konídiumainak kis mérete is szerepet játszik abban, hogy a légutakon keresztül a tüdő légzési zónáiba is el tud jutni. A melanintartalom (csak a konídiumokban található melanin, a hifákban nem) és a vastag fal ellenállóságot biztosít a konídiumoknak, a melanin egyéb sejtfal alkotókkal együtt részt vesz az immunrendszer aktiválásában és modulálásában is.

A tüdő alveolusokba jutó konídiumokat a tüdő epitél sejtek endocitózissal felveszik, ahol azok kicsíráznak. Az invazív hifák károsítják az endotél sejteket, bejutnak a véerekbe, ahonnan disszeminálódhatnak. A leszakadó hifa darabok, a sejtfalról származó galaktomannán és a gomba által termelt egyéb metabolitok befolyásolják az immunrendszer működését. A hifák által termelt hidrofobinok és a *rodlet layer* szerepéről már korábban szóltunk az „Adhézióban szerepet játszó faktorok” című fejezetben.

Az *A. fumigatus* jellegzetesen termotoleráns gomba, optimális növekedési hőmérséklete 37 és 42 °C között van, de képes túlélni akár 55 °C-on is. A termotoleranciához kapcsolódó és az azokkal együtt fejlődött stressz válasz folyamatoknak fontos szerepe lehet a virulencia szempontjából is.

A fertőzés során a gomba számára szükséges, hogy tápanyagokat szerezzen a gazdaszervezetből. Az *A. fumigatus* sokféle extracelluláris proteázt termel a gazda szövetek, sejtek fehérjéinek lebontására. Úgy tűnik, hogy a proteín degradáció kulcsfontosságú nemcsak a szöveti gátak lebontásához, de a tápanyagigény kielégítéséhez is. Utóbbi fedezésére a gomba valószínűleg a gazda fehérjék lebontásából származó aminosavakat használja. Egyes aminosavak (p. valin, metionin és izoleucin) degradációja toxikus propionil-CoA képződéséhez vezet. Gombákban és néhány baktériumban a propionil-CoA lebontása az ún. metilcitrát ciklusban történik, aminek egyik kulcsenzime a metilcitrát szintáz enzim. A metilcitrát szintáz génben mutáns *A. fumigatus* törzsek csökkent fertőzőképességűek, ami ugyancsak jelzi a fehérjelebontás jelentőségét és intenzív voltát az invazív fertőzési folyamatok során. A nitrogén metabolizmust szintén kapcsolatba hozzák az *A. fumigatus* virulenciájával. A nitrát és az aminosavak transzportjával és hasznosításával kapcsolatos gének transzkripcióis faktora az *AreA*. Az *areA* génre deléciós törzsek csökkent növekedést mutattak tüdőszövetben. Az aminosav metabolizmusért felelős egyik gén (az aminosav hiányos környezetben kifejeződő és az aminosav bioszintézist és hasznosítást szabályozó ún. *Cross-Pathway Control* rendszerért felelős *cpcA*) deléciója ugyancsak csökkent virulenciát mutató törzseket eredményezett.

A protein degradáció szempontjából alapvető fontossággal bírnak a tüdő mátrix anyagát alkotó kollagént és elasztint bontó enzimek. Az *A. fumigatus* különösen sok ilyen aktivitású szekretált enzimmel rendelkezik. Ezek egyik csoportját a szerin alkalikus proteázok alkotják. Ezek közül az egyik a szubtilizin családba tartozó enzim (Alp), mely kollagén, elasztin, fibrinogén és kazein bontó képességgel rendelkezik és megfelel az Asp f 13 allergénnek. Egy másik szerin proteáz a vakuolumban található és az Asp f 18 allergénnek felel meg. A gomba rendelkezik egy szekretált metalloproteázzal is, melynek szintén elasztin és kollagén bontó aktivitása van (Asp f 5 allergén). Számos más metalloproteázt is azonosítottak, köztük olyanokat, amelyek a kisebb peptidek sejten belüli bontását katalizálják. Az extracelluláris proteázok egy másik csoportját aszpartát proteázok alkotják; ezeket aspergillopepszineknek is nevezik, melyek közt van szekretált (Asp f 10 allergén) és sejtfallkötött is (Pep2). Újabban a dipeptidil peptidázok (Dpp) családjába tartozó DppIV és DppV enzimekről igazolták, hogy képesek a kollagénnel, bizonyos hormonokhoz és citokinekhez kapcsolódni és degradálni azokat. Ezen enzimek T-sejt aktiválásában betöltött szerepét ugyancsak leírták.

Az *A. fumigatus* többféle foszfolipáz enzimet is termel, amelyeknek szintén szerepük lehet a szöveti gátak áttörésében és a sejtmembrán bontásában. Foszfolipáz A, B, C és D aktivitást egyaránt kimutattak. A gomba háromféle foszfolipáz B génnel rendelkezik (*plb1-3*), melyek közül a *plb2* és *plb3* gének által kódolt enzimek szekretáltak.

Más patogénekhez hasonlóan a gazdaszervezetből történő vasfelvétel az *A. fumigatus* esetében is esszenciális. Vashiányos környezetben ez a gomba alapvetően két úton tud vasat szerezni, a nagy affinitású vastranszport rendszeren (FtrA/FetC rendszer; lényegében megfelel a *S. cerevisiae* FTR1/FET3 rendszernek) keresztül, vagy sziderofór közvetítette vasfelvétellel. Mivel a nagy affinitású FtrA vas permeáz inaktíválása, illetve génjének delécioja nem eredményezett csökkent virulenciát, azt gondolják, hogy ez a rendszer nem játszik lényeges szerepet az *A. fumigatus* patogenitásában. Ugyanakkor a *sidA* gén abszolút esszenciálisnak bizonyult a patogenitás szempontjából. Ez a gén a sziderofór bioszintézis egyik alapvető lépését, az L-ornitin hidroxilációját katalizáló enzimet kódolja. Az *A. fumigatus* legalább négyféle sziderofórt termel, melyek alapvetően két típusba sorolhatók. A fusarinin C és a triacetyl-fusarinin C szekretált sziderofórok és a vasfelvételben játszanak szerepet, a ferricrocin és a hidroxiferricrocin ezzel szemben intracellulárisak és a vas sejten belüli raktározása a feladatuk. Mindkét típus termelésének gátlása, illetve a bioszintézis génjeinek delécioja csökkent virulenciájú törzseket eredményezett. Mivel az emberi sejtekben nincs ilyen útvonal, a sziderofór bioszintézist, illetve hasznosítást lehetséges célpontnak tartják új antifungális szerek, vagy eljárások fejlesztéséhez.

A gombafertőzéssel szembeni védekezés fontos elemei a makrofágok és a neutrofil sejtek által termelt reaktív oxigénfajták (ROS). A melaninnal és a hidrofobinokkal

kapcsolatban már említettük, hogy szerepük van a ROS-sal szembeni védekezésben. Az *A. fumigatus* emellett számos olyan enzimet termel, amely részt vesz a ROS-sal és az oxidatív stresszel szembeni védekezésben. A gomba ötféle katalázzal, négyféle szuperoxid dizmutázzal és háromféle glutation transzferázzal rendelkezik. A melanin szintézis egyes génjeinek elrontása, illetve a *cat1* és *cat2* gének (a hifákban kifejeződő katalázok génjei) együttes deléciója hipovirulens törzseket eredményez.

Az *Aspergillus* fajok ismertek arról, hogy rendkívül sokféle másodlagos metabolitot, köztük számos mikotoxint képesek termelni. Ez alól az *A. fumigatus* sem kivétel. A másodlagos metabolit bioszintézis globális regulátora a *laeA* gén terméke, mely az *A. fumigatus* gének kb. 10%-ának kifejeződését szabályozza. A *laeA* deléciója szinte az összes másodlagos metabolit termelődését blokkolja és az *e* génben deficiens mutánsok hipovirulensnek bizonyultak neutropeniás egérmodellben. Ugyanezen mutánsok elvesztették a melanin termelő képességüket is, konídiumaik pedig érzékenyebbek voltak a makrofágok fagocitózisával szemben, mint a vad típusú törzs konídiumai. Az *A. fumigatus* mikotoxinjai közül a patogenitás szempontjából a legfontosabbnak a gliotoxint tartják. A gliotoxin egy, a nem-riboszómális peptidok közé tartozó, immunszuppresszív hatású másodlagos metabolit. A toxin többek közt gátolja a makrofágok általi fagocitózist, a mitogén aktiválta T-sejt proliferációt és a citotoxikus T-sejteket, valamint a neutrofil sejtek több funkcióját, pl. a ROS termelést és a fagocitózist, károsítja továbbá az epiteliális sejteket. Mind állatmodellben, mind emberi invazív aspergillózis során igazolták a toxin termelődését. A toxin bioszintézise szempontjából alapvető nem-riboszómális peptid szintetáz génjének (*gliP*) és a bioszintézis transzkripciós regulátorának (*gliZ*) deléciója olyan törzseket eredményezett, melyek nem neutropeniás állatokban mutattak csökkent virulenciát, azt jelezve, hogy a gliotoxinnak elsősorban nem neutropeniás immundeficiens betegeket érintő invazív aspergillózis esetén van fontosabb szerepe a patogenitásban.

Az *A. fumigatus* képes ún. ribotoxinok termelésére, ezek erősen specifikus ribonukleázok, melyek a nagy riboszómális alegység 28S rRNS-ének hasításával inaktíválják a riboszómák működését. Az egyik legismertebb *Aspergillus* ribotoxin a mitogillin, amelynek, emellett, hogy erős toxikus hatása van az emberi sejtekre, allergén hatása is van (Asp f 1), sőt egyike az allergiás aspergillózisokban közrejátszó legfontosabb antigéneknek. Az Asp f 1 szerológiai kimutatását az *A. fumigatus* diagnosztikájában is felhasználják, illetve ilyen irányú fejlesztések is folyamatban vannak.

## JÁROMSPÓRÁS GOMBÁK ÁLTAL OKOZOTT FERTŐZÉSEK

A járomspórás gombákat korábban egységesen a Zygomycota törzsbe sorolták. Ez, mint egységes törzs, a gombák egyik ősi csoportját reprezentálta, melybe az első valódi szárazföldi gombafajok tartoztak. A csoport a nevét a jellegzetes alakú ivaros spórákról kapta, a két ellentétes párosodási típusba tartozó hifa konjugációja, járomra emlékeztető képletet hoz létre (a görög *zygosz* szó jármot jelent). Az elmúlt közel tíz évben, a DNS szekvencia alapú, molekuláris filogenetikai vizsgálatoknak köszönhetően a járomspórás gombák rendszertana átalakulóban van. Az egységes Zygomycota törzset több, feltehetően eltérő eredetű csoportra bontották szét (lásd a 2. ábrát). Az emberi megbetegedéseket is okozó fajok, melyeket korábban a Zygomycota törzs, Zygomycetes osztályába soroltak, ma két külön, *incerte sedis* (rendszerint bizonytalan helyzetű) altörzsben, (Mucoromycotina és Entomophthoromycotina) található. Ennek megfelelően az ilyen gombák által okozott megbetegedéseket jelenleg mucormikózisoknak, vagy entomophthoromikózisoknak nevezzük. (Meg kell jegyezni, hogy a rendszertani előzményekből adódóan még ma is viszonylag gyakran használják a nem egészen pontos zigomikózis elnevezést is.)

### ENTOMOPHTHOROMIKÓZISOK

A csoport az Entomophthorales rendről kapta a nevét. Az elnevezés „rovar romboló” jelent, és arra utal, hogy e gombák elsősorban rovarok parazitáiként ismertek. A csoport két olyan nemzetséget tartalmaz, melynek egyes fajait humánpatogénként is számon tartják, ezek a *Basidiobolus* és *Conidiobolus* nemzetségek. Közülük jelentőségüket tekintve a *B. ranarum* és *C. coronatus* fajok emelkednek ki.

E gombákra jellemző, hogy egészséges immunrendszerű személyekben is képesek fertőzést kialakítani. Ezek lokális kután vagy szubkután fertőzések, ahol a gomba rovarcsípéssel, illetve bőrsérüléssel kerül az emberi szervezetbe. Ilyenkor jellegzetes bőr alatti duzzanatok jelennek meg. Az entomophthoromikózisok egyik súlyosabb megnyilvánulási formája a krónikus gyulladással granulomatózis, szubkután granulómákkal. Míg egészséges emberben csak lokális fertőzéseket képesek kialakítani, immundeficiens betegekben okozhatnak invazív szisztémás fertőzéseket is.

Entomophthoromikózisok főként trópusi, szubtrópusi területeken fordulnak elő. Az invazív fertőzések ritkák, felbukkanó (*emerging*) jellegűek, ugyanakkor rendkívül súlyosak lehetnek. E csoportra is jellemző a rhinocrebrális mikózis, azaz az orrüreg és a szinuszok nyálkahártyájáról kiinduló fertőzés, mely az agyat is érinti.

A *Basidiobolus* és *Conidiobolus* fajok telep morfológiája jellegzetes: egy központi telep körül apró szatellit telepek jelennek meg. Szöveti mintákon hasonló képet

mutatnak a mucormikózisokhoz (lásd ott), kivéve, hogy a hifák szeptáltak (válaszfalakat tartalmaznak) és kevésbé fordul elő a mucormikózisokra nagyon jellegzetes angioinvázió, azaz a vérerek fertőzése és elárasztása.

## MUCORMIKÓZISOK

A Mucoromycotina altörzsbe tartozó gombák közül a Mucorales rend egyes tagjainak van klinikai jelentősége. E gombákra jellemző a cönocitikus micélium. Ez azt jelenti, hogy a gombafonalak nem tartalmaznak válaszfalakat. Amennyiben szeptumok mégis előfordulnak, azok megjelenése rendszertelen, illetve bizonyos hifákra (pl. reproduktív hifák) korlátozódnak. Az ide tartozó fajok többsége talajban, bomló szerves anyagokon élő, szaprotróf szervezet. Jellemző rájuk a gyors telepkezés és növekedés, humán szervezetben is agresszív, gyorsan előrehaladó fertőzéseket okoznak. Sejtfaluk összetétele eltér az aszkuszos és bazídiumos gombákétól, főként kitin és kitozán alkotja. Ivartalanul sporangiospórákkal (sporangiumokban fejlődő vegetatív spórák) és klamidospórákkal (a hifákból szeptumokkal lehatárolódó ivartalan szaporító képletek), ivaros úton járomspórákkal, vagy más néven zigospórákkal (vastagfalú kitartóképlet) szaporodnak. Az ide tartozó fajok többsége heterotalikus, azaz az ivaros folyamatok nem egy telepen belül, hanem két ellentétes párosodási típusú (ezeket plusszal és mínusszal jelöljük) törzs között zajlanak le (párosodás, *mating*). A gombacsoportra jellemző a párosodási folyamatokat indukáló szexferomon-szerű vegyület a trispórsav (ez lényegében egy karotinszármazék) termelése. A patogén folyamatok szempontjából a nagy mennyiségben képződő és levegőben terjedő (*air-borne*) sporangiospóráknak van jelentősége.

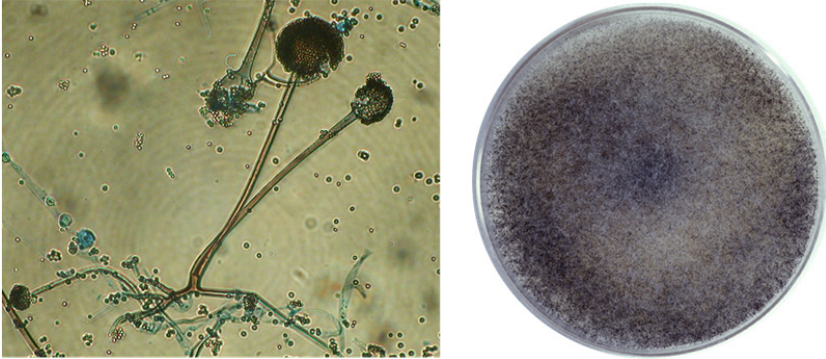
### Mucormikózt okozó gombafajok

A fonalas gombák által okozott megbetegedések közül, az aspergillózisok után a mucormikózisok alkotják a második leggyakoribb csoportot. A Mucorales rend esetében a következő gombafajokat írták már le oportunistá patogénként:

- Cunninghamellaceae: *Cunninghamella elegans*
- Lichtheimiaceae: *Lichtheimia corymbifera* (korábban *Absidia corymbifera*)
- Mucoraceae: *Actinomucor elegans*, *Apophysomyces elegans*, *Mucor circinelloides*, *Mucor hiemalis*, *Mucor indicus*, *Mucor irregularis* (korábban *Rhizomucor variabilis*), *Mucor ramosissimus*, *Rhizomucor pusillus* (korábban *Mucor pusillus*), *Rhizopus oryzae* (*R. arrhizus*-ként is előfordul egyes publikációkban),

*Rhizopus homothallicus*, *Rhizopus microsporus* (*R. rhizopodiformis*/*R. azygosporus*), *Rhizopus schipperae*

- Saksenaeaceae: *Saksenaea vasiformis*
- Syncephalastraceae: *Syncephalastrum racemosum*
- Thamniaceae: *Cokeromyces recurvatus*

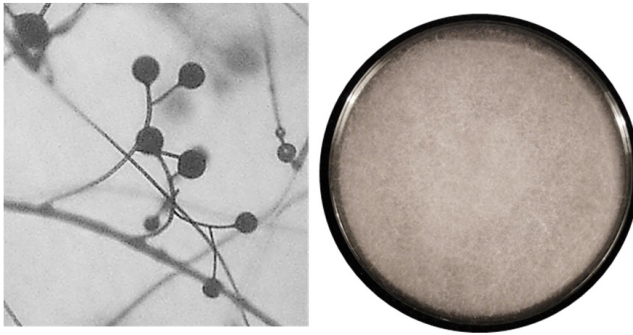


**20. ábra.** A *Rhizopus oryzae* mikro- és makromorfológiája.

Ezek a gombák tipikus opportunistáknak, azaz szisztémás fertőzést csak legyengült szervezetű, vagy károsodott immunrendszerű egyénekben képesek okozni. Meg kell említeni, hogy néhány faj elsősorban lokális, kután/szubkután fertőzéseket okoz, akár egészséges emberekben. Ilyen a Kínában endemikus *Mucor irregularis*, vagy az elsősorban trópusi, szubtrópusi területeken előforduló *Saksanea vasiformis*. Ezek az entomophthoromikózisokhoz hasonlóan, általában bőrsérüléseken keresztül jutnak a szervezetbe. Ugyan lokális fertőzéseket okoznak, mivel gyors és agresszív növekedésük, valamint a véregek károsítása a szövetek nekrozisához vezet, ezek a felszíni fertőzések is meglehetősen súlyosak lehetnek.

Szisztémás mucormikózisokból leggyakrabban a *Rhizopus oryzae*-t izolálják (20. ábra), ez a gomba okozza az ilyen esetek 80–90%-át. A járomspórás gombák patogénitásának mechanizmusáról és genetikai hátteréről ezen gomba esetében áll rendelkezésre a legtöbb információ.

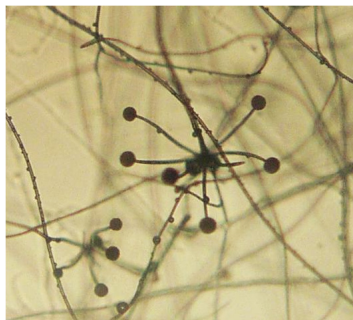
Egyes fajok, pl. *Lichtheimia corymbifera* (21. ábra), *Rhizopus microsporus* és *Syncephalastrum racemosum* világszerte előfordulnak és szórványosan okoznak megbetegedéseket. A *L. corymbifera*-t Európában és hazánkban is többször izolálták már mucormikózisokból.



**21. ábra.** A *Lichtheimia corymbifera* mikro- és makromorfológiája.

Más fajok elsősorban bizonyos földrajzi területeken jellemzőek. Például az *Apophysomyces elegans* által okozott fertőzések főleg Indiában, Közép-Amerikában és Észak-Amerika déli részén fordulnak elő, a *Cokeromyces recurvatus* klinikai izolátumai Észak-Amerikából ismertek.

Bizonyos fajok extrém ritkák. Ilyen a *Rhizopus schipperae* (22. ábra), melynek mindössze két törzse ismert, mindkettőt az USA-ban, humán disszeminált mikózból izolálták.



**22. ábra.** A *Rhizopus schipperae* micéliuma és jellegzetes egy pontból kiinduló sporangiumtartói.

## Klinikai manifesztációk

### Rhinocerebrális mucormikózis

A mucormikózisok jellemző és egyik leggyakoribb formája (az összes eset kb. 40%-ában ez a forma manifesztálódik). Az orrüregben és az orrmelléküregekben (szinuszok) a levegővel terjedő sporangiospórákból indul ki a fertőzés, mely



érintheti a szájpadot is és gyorsan áttérjedhet a szemkörnyéki szövetekre, illetve az agy egyes részeire. Gyorsan terjedő, fájdalommal, látásvesztéssel, a megtámadott szövetek nekrozisával együtt járó fertőzés. Különösen ketoacidózissal együtt járó cukorbetegség és újabban az injekciós droghasználat jellemző hajlamosító tényező. A betegség mortalitása igen magas, 30-80%, az alapbetegség súlyosságától, a beteg állapotától és a kezeléstől függően.

### Tüdőfertőzés

Tüdőmikózis az összes mucormikózisok kb. 25%-ában alakul ki. Jellemző kísérői a köhögés, láz, fájdalom, valamint a tüdőben keletkező léziók, üregek. Gyakoribb szerv és csontvelő átültetetteknél, valamint egyes daganatos betegségekben szenvedők esetében, mint más rizikócsoportokban. Neutropénia esetén ez a leggyakoribb megnyilvánulási forma.

### Kután, szubkután fertőzések

A lokális, a bőrt és a bőr alatti szöveteket érintő fertőzések az összes mucormikózisok kb. 20%-át teszik ki. Gyakran nincs ismert alapbetegség. A fertőzés általában bőrsérülések, égési sérülések nyomán alakul ki és áttérjedhet a bőr alatti kötőszövetre, sőt az izmokra is.

### Gasztro-intesztinális mikózis

Nagyon ritka, felbukkanó jellegű megnyilvánulási forma, általában cukorbetegség, vagy extrém alultápláltság, egyéb szisztémás fertőzések esetén jelentkezik. Igen magas mortalitás jellemzi (85%).

### Disszeminált/generalizált mucormikózis

A disszemináció bármely szervet érintheti, a rhinocerebrális mucormikózisok kb. 50%-ában, kután fertőzések kb. 40%-ában, tüdő mikózisok esetén pedig mintegy 20%-os gyakorisággal alakul ki. A disszeminált fertőzések szintén igen magas mortalitásúak (95%).

A mucormikózisok ugyan viszonylag ritkák, ám hagyományosan igen magas mortalitásúak. A mortalitás ugyanakkor az 1950-es évek (84%) óta csökkenő tendenciát mutat (jelenleg 40–60%) és nagyon függ a beteg állapotától, a betegséget okozó gombától, valamint a kezelés idejétől és hatékonyságától. Kezelés nélkül minimális a túlélés valószínűsége (kb. 3%). Megfelelő antifungális kezelés és a fertőzött, illetve nekrotizálódott szöveteket eltávolító agresszív sebészi beavatkozás együttes alkalmazása esetén a túlélés valószínűsége kb. 70%-ra emelhető. Mivel a járomspórás gombák által okozott mikózisok gyors lefolyásúak, az eredményes kezeléshez szükséges a gyors diagnózis és a kezelés mielőbbi megkezdése.

A szövettani mintákban a járomspórás gombákat szeptumok nélküli, vagy rendszertelenül szeptált, változó vastagságú (4–10 µm), de jellemzően vastag,

szalagszerű hifáikról, a jellegzetes „üresnek tűnő” hifarészekről ismerhetők fel. A hifaelágazások széles alappal, 90° körüli szögben véletlenszerűen fordulnak elő. A mucormikózisokra jellemző még a gombafonalak extenzív angioinváziója (azaz a erek elárasztása). Ilyenkor az erek tele vannak hifaelemekkel, a hifák körül pedig rendszerint rengeteg fehérvérsejt, főleg neutrofil sejtek, láthatók.

## Hajlamosító tényezők

**Cukorbetegség, különösen ketoacidózissal együtt járó diabétesz** – a mucormikózisok egyik leggyakoribb rizikófaktora, mely leggyakrabban rhinocerebrális formában jelentkezik. A fejlett országokban csökkenő tendenciát mutat, ami a cukorbetegség hatékonyabb kezelésével hozható összefüggésbe. Más országokban, pl. Indiában ugyanakkor folyamatosan növekszik az ilyen esetek száma (pl. India; 1990-1999: kb. 13 eset/év, 2000-2004: 36 eset/év, 2006-2007: 50 eset/év). A vasfelvétel lehetősége fontos faktor a mucormikózisok kialakulása szempontjából. A ketoacidózissal együtt járó savasodás miatt csökken a transferrin vaskötő képessége, ami miatt a vérben megemelkedik a gomba számára felvehető vas koncentrációja.

**Szövet- és szervátültetés, illetve az ezzel együtt járó immunszuppresszió** – a fejlett országokban a különféle transzplantáción átesettek közt növekszik a mucormikózisok gyakorisága. Az ilyen betegekben a leggyakoribb forma a tüdőmikózis. Külön figyelmet érdemelnek a vérképző őssejt-transzplantáción (*hematopoietic stem cell transplantation*; HSCT) átesettek. Egy az USA-ban végzett felmérés szerint, míg a szervátültetésben részesültek között kb. 2%-os, a HSCT kezelést kaptak közt 9% a mucormikózisok (általában *R. oryzae* fertőzések) aránya.

**Voriconazol profilaxis** – szervátültetésen átesetteknél, daganatos betegségek kezelése során alkalmazzák a gombafertőzések megelőzésére. Mivel a járomspórás gombák a legtöbb azol-típusú gombaellenes szerrel szemben rezisztensek, előretörésüket kapcsolatba hozzák az azolok rutinszerű alkalmazásával. A voriconazol esetében egyes vizsgálatok azt sugallják, hogy növeli a *R. oryzae* virulenciáját. Legalábbis állatmodellben – a voriconazzal előkezelt *Rhizopus*-szal végzett fertőzés – kisebb arányú túlélést és erősebb tüneteket eredményezett, mint a kezeletlen gombával végzett fertőzés.

**Daganatos megbetegedések és kezelésük** – leggyakoribb forma: tüdőmikózis.

**Deferoxamin kezelés** – a deferoxamint elsősorban vesedialízisben részesült betegeknek alkalmazták vas túltengés kezelésére. Mivel a *R. oryzae* képes a deferoxamint xenosziderofórként hasznosítani, alkalmazása rizikófaktort jelentett a mucormikózisok esetleges kialakulása szempontjából (lásd „A vasfelvételi rendszerek” című

fejezetben). Az ilyen fertőzésekre jellemző volt a disszeminált forma kialakulásának magasabb kockázata, ami közel 100%-os halálozással járt. Az ilyen esetek főként az 1980-as években fordultak elő, később a számuk radikálisan csökkent.

**Injekciós droghasználat** – az 1980-as évektől vannak esetleírások, azóta az esetek száma folyamatos emelkedést mutat; az ilyen fertőzések esetén a rhinocerebrális forma a leggyakoribb.

## Mucormikózisok terápiája

A hatékony kezelés feltétele a korai diagnózis, ha lehetséges az alapbetegség (pl. ketoacidózis) megszüntetése (ez természetesen általában nem teljesül), megfelelő gombaellenes szer alkalmazása és szintén amennyiben lehetséges, sebészi beavatkozás. Utóbbi a fertőzött szervek, szövetek (szinuszok, szem, központi idegrendszer, tüdő) érintett részeinek eltávolítását jelenti, tehát egy meglehetősen agresszív kezelést jelent.

A járomspórás gombák jól ismert tulajdonsága, hogy a legtöbb gombaellenes szerrel és antibiotikummal szemben rezisztensek. Így a gombaellenes terápiákban rutinszerűen alkalmazott azolok nem használhatók a mucormikózisok kezelésére. A megfelelő terápia megválasztásához tehát nagyon fontos, hogy a megfelelő diagnózis.

A járomspórás gombákkal szemben leghatékonyabban és legáltalánosabban használt szerek az amfotericin B (AmB) és ennek lipid formulái (ezek hatásmódját lásd a „Gombaellenes szerek, hatásmód és rezisztencia” című fejezetben). Az amfotericin B-t hagyományosan AmB-deoxikolát formában oldatos infúzióban adják, általában 0,5–1 mg/kg/nap dózisban. Az ilyen kezelés hátránya, hogy az AmB-nek meglehetősen erős mellékhatásai (pl. vesekárosító hatás) vannak, különösen hosszantartó kezeléseknél. Az AmB-deoxikolátnál jóval drágább, különböző AmB lipid formulák, azaz az AmB-lipid komplex (ABLC), az AmB kolloid diszperzió (ABCD) és a liposzómális AmB (L-AmB) nagyobb dózist (általában 3–5 mg/kg/nap, de egyes esetekben akár 10–15 mg/kg/nap is lehet) és hosszabb kezelést tesznek lehetővé, valamint kisebb mértékűek a vesekárosító mellékhatások. Egyes tanulmányok szerint azonban nincs lényeges eltérés a kétféle szer alkalmazása esetén a túlélési gyakoriságban.

Az azolok közül egyedül a triazolok közé tartozó posaconazol bizonyult hatásosnak a mucormikózisokkal szemben (hatásmódját lásd a „Gombaellenes szerek, hatásmód és rezisztencia” című fejezetben). Ezt a szert a 2000-es évek közepétől kezdték el szélesebb körben használni. A gyógyszer szájon át adható

szuszpenzióban és, 2014-től, intravénás formában is hozzáférhető. Meglehetősen magas dózis (800 mg/nap) is adható belőle. A posaconazol kezelést gyakran kombinálják AmB kezeléssel, vagy a rövidebb ideig tartó AmB kezelést váltják fel egy hosszabb posaconazol terápiával. A szer egyik komoly előnye, hogy az eddigi vizsgálatok szerint alkalmasnak tűnik profilaktikus, megelőző kezelésre is.

Az echinokandinok önmagukban hatástalanok a járomspórás gombákkal szemben. Ugyanakkor az echinocandinokat (elsősorban caspofungint) AmB lipid komplexszel és liposzómális AmB-vel kombinálva jobb eredményt lehetett elérni az antifungális kezelés során, mint az AmB lipid formulák egyedüli alkalmazása során. E szinergista hatásnak a pontos oka nem ismert, lehetséges, hogy az echinocandinok  $\beta$ -glükán szintézis gátló hatása elősegíti az AmB hozzáférését a gombasejt membránjához, de felmerült az előbbieket immunomoduláló hatásának szerepe is.

## A CANDIDA GENUS ÉS A CANDIDA PARAPSILOSIS JELENTŐSÉGE

A *Candida* nemzetség tagjai kiemelkedően magas számú megbetegedést okoznak évente és az egyik legjelentősebb humánpatogén gombacsoportot alkotják. Ahogyan a 4. táblázat mutatja, az opportunisták gombafertőzések leggyakoribb okozói.

**4. táblázat:** Opportunista mikóizisok képviselői

Organizmus(ok)	Esetek száma/millió/év	Átlagos halálozási %
Élesztők		
<i>Candida</i> fajok	72,8	40
<i>C. albicans</i>		
<i>C. glabrata</i>		
<i>C. parapsilosis</i>		
<i>C. tropicalis</i>		
<i>C. krusei</i>		
<i>C. lusitaniae</i>		
<i>C. rugosa</i>		
<i>C. guilliermondii</i>		
<i>C. inconspicua</i>		
<i>C. norvegensis</i>		
<i>Cryptococcus</i> fajok	65,5	20
<i>Aspergillus</i> fajok	12,4	60–70
Zygomycoták	1,7	70–80

Fontos megemlíteni, hogy a *Cryptococcus* nemzetség tagjai által okozott megbetegedések száma csak 7,3 eset/millió fő/évvel marad le a *Candidák* által okozott megbetegedések számától, azonban a 20%-os halálozási arány meg sem közelíti a *Candida* fajok 40%-os halálozási arányát. A *Candida* nemzetség jelentőségére utal továbbá, hogy a különböző patogén zygomicoták által okozott megbetegedések 70-80 %-os halálozási aránya a *Candida* fajok 40%-os halálozási arányát jóval meghaladja, azonban a 1,7 eset/millió fő/éves megbetegedési szám elhanyagolható a *Candidák* által okozott 72,8 eset/millió fő/éves megbetegedési számhoz képest. (4. táblázat).

**5. táblázat:** IC esetek fajok szerinti megoszlása

Fajok	Az összes eset %-a					
	1997–1998	1999	2000	2001	2002	2003
<i>C. albicans</i>	73,3	69,8	68,1	65,4	61,4	62,3
<i>C. glabrata</i>	11	9,7	9,5	11,1	10,7	12
<i>C. tropicalis</i>	4,6	5,3	7,2	7,5	7,4	7,5
<i>C. parapsilosis</i>	4,2	4,9	5,6	6,9	6,6	7,3
<i>C. krusei</i>	1,7	2,2	3,2	2,5	2,6	2,7
<i>C. guilliermondii</i>	0,5	0,8	0,8	0,7	1	0,8
<i>C. lusitaniae</i>	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,6
<i>C. kefyr</i>	0,2	0,4	0,5	0,4	0,4	0,5
<i>C. rugosa</i>	0,03	0,03	0,2	0,7	0,6	0,4
<i>C. famata</i>	0,08	0,2	0,5	0,2	0,4	0,3
<i>C. inconspicua</i>			0,08	0,1	0,2	0,3
<i>C. norvegensis</i>			0,08	0,1	0,07	0,1
<i>C. dubliniensis</i>			0,01	0,08	0,1	0,05
<i>C. lipolytica</i>			0,06	0,06	0,06	0,08
<i>C. zeylanoides</i>			0,03	0,08	0,02	0,04
<i>C. pelliculosa</i>				0,06	0,05	0,04
<i>Candida</i> spp.*	3,9	6	3,7	3,3	7,9	4,9
Összes eset	22533	20998	11698	21804	24680	33002

\* eltérő eredménnyel azonosított *Candida* fajok

A különböző *Candida* fajok azonban nem mind okoznak betegségeket és a megbetegedéseket okozó fajok sem ugyan olyan gyakorisággal felelősek ezekért a fertőzésekért. Néhány évvel ezelőtt a *Candida* fertőzéssel diagnosztizált páciensek 70–80%-ából a *Candida albicans* volt kimutatható. Az elmúlt két évtized során azonban más nem-*albicans* *Candida* fajok is növekvő mértékben kimutathatóak voltak a *Candidával* fertőzött betegekből, ilyen fajok a *C. glabrata*, *C. parapsilosis* és *C. tropicalis*. A *C. albicans* által okozott invazív candidiázisos (IC) esetek részaránya az összes IC estekhez képest 1997-től 2003-ig csökkenő tendenciát mutat, míg más nem-*albicans* fajok – mint a *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* – részaránya növekszik, ahogy azt az ARTEMIS DISK Surveillance Program adatai is mutatják (5. táblázat).

A *Candida* fajok nem obligát humán patogének, számos fajuk nem kizárólag emberi bőrfelületről izolálható, hanem például házi állatokról, rovarokról, talajból, sőt még tengeri környezetből is. Több *Candida* faj normális esetben kommenzalista, az egészséges humán mikrobiális flóra részét képezik.

Amíg a *C. albicans* és a *C. tropicalis* által okozott invazív megbetegedések korai kolonizáció továbbterjedéséből alakulnak ki és e gombák transzmissziója vertikálisan történik – például anyáról gyermekre a születés körüli időszakban –, addig más fajoknak mint pl. a *C. parapsilosis*-nak nincs szüksége korai kolonizállódásra és a transzmissziója is főként horizontálisan történik fertőzött felszínekről, pl. egészségügyben használatos eszközökről vagy folyadékokról, illetve egészségügyi dolgozók kezéről, művégtagokról és katéterekről. Komoly klinikai következményekkel járó invazív *Candida* fertőzés főként immunológiailag legyengült személyek (AIDS-ben szenvedő betegek, leukémiás betegek, kemoterápiás kezelésben részesülő páciensek, stb.), kórházak intenzív osztályán lévő betegek – különösen, akik központi vénás katéterrel ellátottak – és alacsony születési súlyú újszülöttek körében figyelhetők meg. Számos esetben a legfőbb vektorok az egészségügyi dolgozók, akiknek a kezén nagy gyakorisággal fordulnak elő egyes *Candida* fajok, mint az egészséges bőrön élő kommenzalista gombák.

## A CANDIDA SPP. ELŐFORDULÁSAI A KLINIKUMBAN

Ahogy említettük a *Candida* fajok opportunistá patogének, amelyek többféle megbetegedésért felelősek a szájpenésztől kezdve az invazív betekéségig, mint a fungémia, endocarditis, peritonitis, meningitis, arthritis.

### Fungémia

A véráramot érintő *Candida* fertőzést candidémiának nevezük (*Candida* okozta fungémia). Érdekes módon *Candida* okozta fungémiák bizonyos szervekben a gombasejtek elszaporodásához vezethetnek, aminek következtében mélyebb fertőzések alakulhatnak ki és magas halálozási rátával járó (akár 45%) megbetegedést okozhatnak. Fontos kockázati tényező lehet a keresztfertőzés egészségügyi dolgozók és a páciensek érintkezése során, ezt a típusú fertőzést nevezük nozokómiális fertőzésnek.

### Krónikus disszeminált kandidiázis

Nevezik máj-lép érintettséggel járó (hepatosplenális) kandidázisnak is. Tipikusan neutropéniás betegekben, a neutropéniából való visszatérés után (azaz, a fehérvérsejtek számának növekedése esetén) tapasztalható. A májon, a lépen kívül egyéb belső szervek (pl. vesék) is érintettek lehetnek. Kezelése akár 6–12 hónapig is tarthat, mert a gomba eliminálása a belső szervekből mindig nehezebb a megfelelő terápiás koncentráció elérése miatt.

### Endocarditis (szívbelhártya gyulladás)

Az összes szívbelhártya gyulladás mintegy 1,3–6% át teszik ki a gombák által okozott endocarditis-es esetek. Ezeknek az eseteknek 94,1%-áért valamilyen *Candida* faj tehető felelőssé. Jelenleg a leginkább hajlamosító tényezők a mesterséges szívbillentyű beültetése (57,4%), intravénás droghasználat (20%), vénán keresztüli mesterséges táplálás (6,9%), abdominális sebészeti beavatkozás (6,9%), legyengített immunválasz (6,4%), széles-spektrumú antibiotikum kezelés (5,6%), és korábbi szívbillentyű betegségek (4,8%). A szív szöveteinek legnagyobb gyakorisággal fertőződő része az aorta félhold alakú billentyűi (56,9%), ezt követi a bal pitvart a bal kamrától elválasztó kétkegyű billentyű vagy mitrális billentyű (29,1%), majd a jobb pitvart a jobb kamrától elválasztó háromkegyű billentyű (4,1%), a kamrafala (2,8%) és a tüdőverőér billentyűi (1,4%). A *C. albicans* és a *C. parapsilosis sensu stricto* a leggyakrabban izolálható fajok endocarditis esetén.

## Meningitis (agyhártyagyulladás)

A központi idegrendszer gombák általi fertőzése életveszélyes kockázatot jelent. A meningitises megbetegedések kialakítására számos opportunistá gomba képes. Ezek közül a *Candida* fajok viszonylag kevés megbetegedésért felelősek. A betegség tünetei közé tartoznak a fejfájás, a fényérzékenység, a nyakszirti izmok merevsége, láz és delírium.

A *Candida* fajok kimondottan akut neutrofil meningitist okoznak. Több invazív candidiázisban elhunyt felnőtt beteg boncolási tanulmánya rámutatott, hogy e betegeknek csak kevesebb, mint 15%-a volt érintett valamilyen *Candida* faj által okozott meningeális megbetegedésben. Másrészt, bizonyított, hogy az invazív candidiázisban elhunyt csecsemők 64% érintett volt központi idegrendszeri fertőzésben. A *Candida* fajok által okozott meningitises megbetegedések 1966 és 1994 közt 116 esetben voltak a *C. albicans*-nak tulajdoníthatók, ami az esetek 90,1%-át jelenti, ezzel a leggyakoribb *Candida* fajnak bizonyultak.

## Peritonitis (hashártya gyulladás)

A gombák okozta peritonitises megbetegedések száma igen magas és a halálozási ráta eléri a 44%-ot. Ezek a megbetegedések 3-10%-ban, olyan betegeknél fordulnak elő, akik végső-stádiumú vesebetegségük miatt folyamatos ambuláns hasüregi dialízisben (continuous ambulatory peritoneal dialysis, továbbiakban CAPD) részesülnek. A *Candida* fajok közül a *C. albicans* mellett a *C. parapsilosis* mára uralkodó patogén ágensé vált a gombák okozta peritoneális fertőzések körében. E faj képes arra, hogy magas glükóz koncentrációjú közegben szaporodjon, könnyedén megtapadjon különböző mesterséges felületeken, mint pl. a mesterséges tápláláskor alkalmazott katéterek felülete. Éppen ezért a dializáló folyadék magas glükóz tartalma és a hasüregi katéter behelyezése miatt a legelterjedtebb peritonitist okozó gomba azoknak a körében, akik CAPD kezelést kapnak. A leglényegesebb hajlamosító tényező az, ha a beteg korábban bakteriális peritonitisben szenvedett és ezt antibiotikumokkal kezelték, ami feltételezések szerint a gomba túlnövekedéséhez vezet. A *Candida* fertőzésből eredő peritonitishoz köthető tünetek a zavaros dializátum, hasi fájdalom, láz és bélelzáródás.

A *C. parapsilosis* okozta peritonitis jóval gyakrabban okoz komplikációkat, mint bármelyik más peritonitist okozó *Candida* faj, ugyanis tályog képződést von maga után és még a hasüregi katéter eltávolítása után is hashártyagyulladást okoz. A komplikációk kockázata még magasabb, ha a beteg *C. parapsilosis* okozta hashártyagyulladás mellett monoterápiás fuconazol kezelésben részesül, mintha a gyulladást más *Candida* faj okozná az előbb említett antifungális kezelés mellett. Ilyen esetekben fokozottan intenzív szisztémás antifungális kezelés szükséges.



## Arthritis (ízületi gyulladás)

A gombák az ízületi gyulladásoknak nem gyakori okozói, a mégis előforduló esetek legtöbbszörében azonban a *Candida* genus valamely tagja a kiváltó ágens. Az esetek többsége az ízület direkt fertőzése miatt következik be, kiváltképpen idősebb betegeknél. Ennek ellenére, ritkábban az is előfordul, hogy szétterjedő candidiázis szövődményeként alakul ki az ízületi gyulladás, ez főként immunszuppresszált egyénekre jellemző, sajnos esetükben a betegség lefolyásának prognózisa rosszabb, mint azon betegeknél, ahol az arthritis kialakulása az ízületi felületet érintő közvetlen fertőzés miatt következett be.

Az esetek többsége olyan ízületi területeken azonosítható, ahol mesterséges ízületet helyeztek el vagy ahol valamilyen beavatkozást végeztek ízületi panaszok miatt.

## Endophthalmitis és keratitis (belső szem- és szaruhártya-gyulladás)

A *Candida* miatti endophthalmitis főként candidémia során jön létre, de lehetséges kialakulása a műtét utáni fertőzésekből is. Bizonyos esetekben cataract eltávolítás után, lencse beültetését követően és kortikoszteroid tartalmú szemcsepp használata során alakul ki edophthalmitis.

*Candida* fertőzésekben érintett keratitiszes megbetegedések igen ritkák. Tünete a szem vörössége, fényérzékenység, fájdalom, csökkenő látásélesség, sárgás-fehéres szivárgás és szemszárazság.

## Vulvovaginitis (hüvelygyulladás)

A nyálkahártyák *Candida* általi fertőzése elsősorban a száj és a hüvely nyálkahártyáin jellemző. Ezek a fertőzések viszonylag gyakran fordulnak elő és nagyon jelentős számú páciens életminőségét rontják hosszú időre. A Candidák okozta vaginitisben érintettek 80–90%-a *C. albicans* által fertőződött személy. Annak ellenére, hogy növekvő tendencia figyelhető meg a más, ún. nem-*albicans* fajok (főleg *C. glabrata*) okozta vaginitis esetek számában is, az ilyen fertőzések nem túl gyakoriak.

## GOMBAELLENES SZEREK, HATÁSMÓD ÉS REZISZTENCIA

Ahhoz, hogy egy anyagot gombaellenes szerként alkalmazni lehessen fontos, hogy megfelelően gátolja a gombát, tehát ne csak sztatikus, de lehetőleg cidikus (mikrobaölő) hatást is el lehessen vele érni olyan koncentrációban, ami a humán szervezetben elérhető. Arra is ügyelni kell, hogy az adott szer megfelelően széles spektrumú, azaz lehetőleg több gombacsoporttal szemben is hatásos legyen, ugyanakkor ne károsítsa az emberi szervezetet. Mivel a gombák hozzánk hasonlóan eukarióta élőlények és ezért számos folyamat (pl. a fehérjeszintézis) molekuláris szinten hasonlóan zajlik le, megfelelően különböző célpontokat nem is olyan egyszerű találni. Ilyen lehetséges célpontok lehetnek a sejtfal, vagy a membránok egyes komponensei. Utóbbiak közül az ergoszterin a legfontosabb, mivel e molekula az állati és az emberi sejtek membránjaiban nem fordul elő (ott ugyanazt a szerepet a koleszterin tölti be).

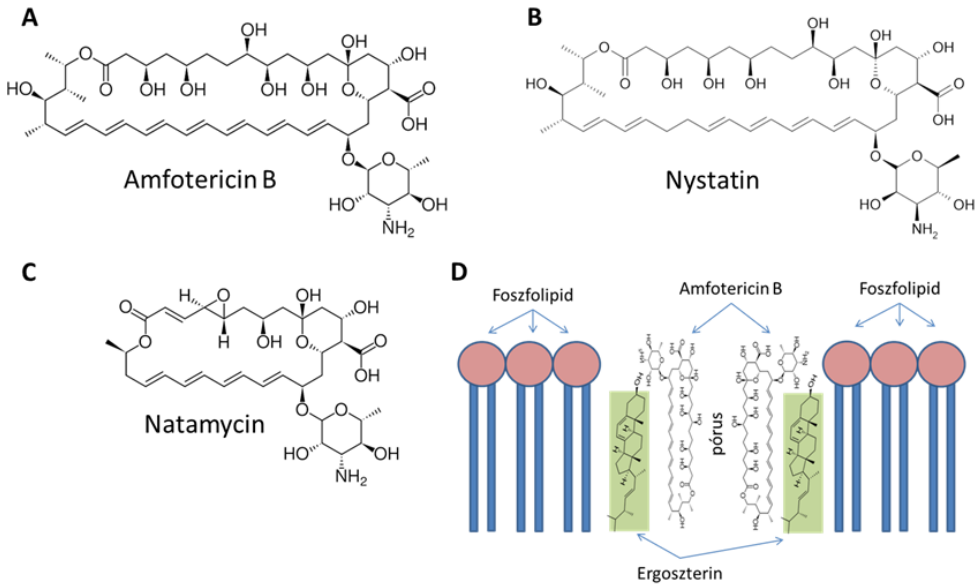
A gombaellenes szereket csoportosíthatjuk hatásmódjuk szerint. Így vannak közöttük membránkárosítók (amfotericin B, nystatin, natamycin), ergoszterin szintézis gátló anyagok (azolok, allilaminok, morfolinok), glükán szintézis gátlók (echinocandinok), nukleinsav és fehérje szintézis gátlók (5-flucitozin), anti-mitotikus szerek (griseofulvin). (A kitin szintézis gátló polioxinokról, és nikkomicinekről már volt szó „A gombasejtfal felépítése” című fejezetben.)

### MEMBRÁNKÁROSÍTÓ SZEREK – POLIÉNEK

Az ide tartozó amfotericin B, nystatin és natamycin ciklikus polién vegyületek amino-glükozidjai (23. ábra). Mindhárom vegyületet *Streptomyces* fajok termelik. Amfipatikus molekulák, gyűrűik egyik oldala számos hidroxil csoportot tartalmaz, ennek megfelelően hidrofíl, a másik oldaluk ezzel szemben hidrofób jellegű, konjugált kettős kötések tartalmazó szénlánc. Ennek következtében e molekulák hidrofób oldalukkal képesek a membránban található ergoszterinnel komplexet képezve a membránba interkalálódni és úgy elrendeződni, hogy hidrofíl oldalaik pórust alakítsanak ki (23. ábra/D). Az így megnyíló pórusokon keresztül a citoplazma membrán két oldala közt kialakult ionegyensúly megbomlik, ami a sejt pusztulásához vezet.

Annak ellenére, hogy az amfotericin B (AmB) a legrégebben alkalmazott gombaellenes szerek közé tartozik (az 1950-es évek óta használják a gyógyászatban), napjainkban is ez a szisztémás mikózisok elleni egyik leghatásosabb és legáltalánosabban használt vegyület. Különösen azolrezisztens fajok, illetve gombatorzsek által okozott mikózisok esetén van nagy jelentősége. Vízben oldhatatlan, ezért AmB-deoxikolát formában adagolják, intravénásan. Hátránya, hogy erősen toxikus, vesekárosító. AmB-vel szemben viszonylag ritkán alakul ki rezisztencia, ha mégis, akkor

annak háttérében általában az ergoszterin tartalom lecsökkenése, vagy az ergoszterin bioszintézis egyes enzimeinek (pl. C-8 szterol izomeráz) és így a keletkező szterol vegyületnek a megváltozása áll. Meg kell említeni, hogy néhány gomba (pl. *Candida lusitanae*, *Aspergillus flavus*, *Scedosporium (Pseudallescheria) spp.*, *Curvularia spp.*, *Fusarium, spp.*, valamint egyes *Trichosporon* fajok), illetve ezek egyes törzsei eleve kevésbé érzékenyek az AmB-vel szemben.



**23. ábra.** Az amfotericin B, nystatin és natamycin szerkezete (A-C), valamint az amfotericin B beépülése a gomba membránba (D).

Az utóbbi évtizedekben elterjedtek az AmB különböző, lipidekkel kombinált formái. Ilyen az AmB-lipid komplex (ABLK), az AmB kolloid diszperzió (ABCD) és a liposzómális AmB (L-AmB). Az AmB-lipid kombinációk ugyanolyan hatásosak, vagy éppen hatásosabbak, mint az AmB-deoxikolát, viszont vesekárosító hatásuk szignifikánsan gyengébb annál. A csökkent toxicitás mellett előnyük, hogy nagyobb dózisban alkalmazhatók, mint az AmB-deoxikolát. A L-AmB-t emellett a makrofágok szelektív módon felveszik, megtartják és fokozatosan, a fertőzés helyén szabadítják fel, ami növeli a szelektivitást és a hatékonyságot. Ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy az AmB rezisztens izolátumok ellen a lipid-asszociált változatok sem hatásosak.

A nystatin ugyancsak hatásos gombaellenes szer. Ugyanakkor mivel rendkívül toxikus, csak topikális szerként alkalmazzák, pl. szájpenész, vagy hüvelyi fertőzések kezelésére. Mivel a bélből nem szívódik fel, bélfertőzések esetén, orálisan is adható. Szisztémás szerként nem alkalmazzák.

A natamycin ugyancsak topikális szer, elsősorban gombák által okozott szemfertőzések kezelésére használják kenőcs, vagy szemcsepp formában. A nystatin-hoz hasonlóan az emésztőrendszeren keresztül nem szívódik fel, így annak kezelésére orálisan is adható. Egyes országokban élelmiszerek (pl. tejtermékek, sajtok, húskészítmények) tartósítására, penészesedésének gátlására is használják.

## ERGOSZTERIN SZINTÉZIS GÁTLÓK

Az ergoszterin szintézis gátló anyagok (pl. azolok, allilaminok, morfolinok), a bioszintézis út egyes lépéseit gátló vegyületek (6. táblázat).

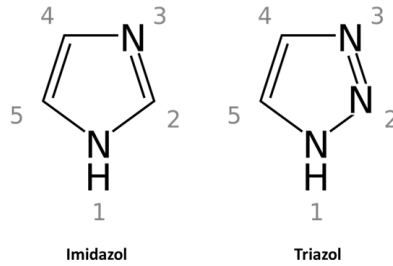
**6. táblázat.** Az ergoszterin bioszintézis főbb lépései, az egyes lépéseket katalizáló enzimek és géneik elnevezése *Candida albicans*-ban, valamint az egyes gátlószerek támadáspontjai.

Gén neve	Enzim	A bioszintézis közti-, vagy végterméke	Gátlószerek
		Szkvalén	
<i>ERG1</i>	Szkvalén epoxidáz	↓	Allilaminok Tiokarbamátok
		2,3-Oxidoszkvalén	
<i>ERG7</i>	Lanoszterol szintáz	↓	
		Lanoszterol	
<i>ERG11</i>	Lanoszterol (C-14) demetiláz	↓	Azolok
<i>ERG24</i>	C-14 Szterol reduktáz	↓	Morfolinok
<i>ERG25, ERGX, Y</i>	C-4 Szterol demetilázok	↓	
		Zimoszterol	
<i>ERG6</i>	C-24 Szterol metiltranszferáz	↓	
		Fekoszterol	
<i>ERG2</i>	C-8 Szterol izomeráz	↓	Morfolinok
		Episzterol	
<i>ERG3</i>	C-5 Szterol deszaturáz	↓	
<i>ERG5</i>	C-22 Szterol deszaturáz	↓	
<i>ERG4</i>	C-24 Szterol reduktáz	↓	
		Ergoszterol	

### Azolok

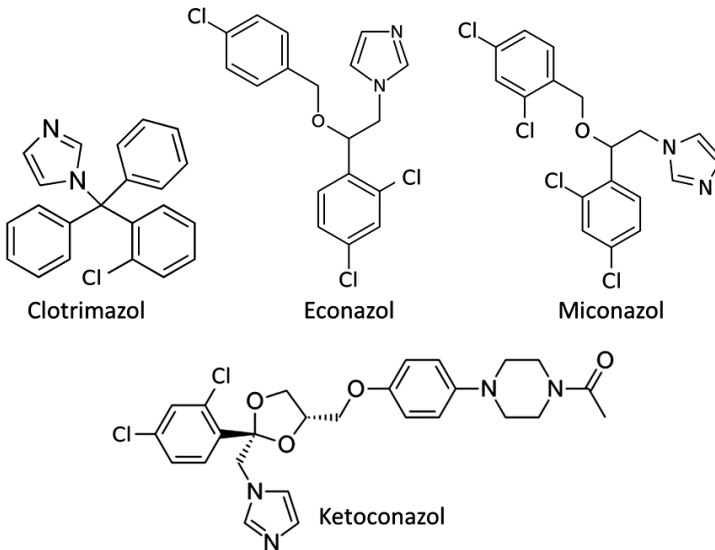
Az antifungális szerként alkalmazott azolok olyan öttagú gyűrűket tartalmazó vegyületek, melyekben két (imidazolok) vagy három (triazolok) nitrogénatom található (24. ábra). Hatásuk az ergoszterin szintézis gátlásán alapul, a bioszintézisben résztvevő lanoszterin 14- $\alpha$ -demetiláz enzimet gátolják (6. táblázat). Ez az enzim a citokróm P450 enzimes család tagja, *Candida*-ban az *ERG11* gén kódolja. A bioszintézis

zavara miatt az ergoszterin szint csökken, a toxikus szterol prekursorok felszaporodása miatt megváltozik a membrán fluiditása és károsodik a membránköttött enzimek működése, ami fungisztatikus (gomba növekedést gátló) hatást eredményez.



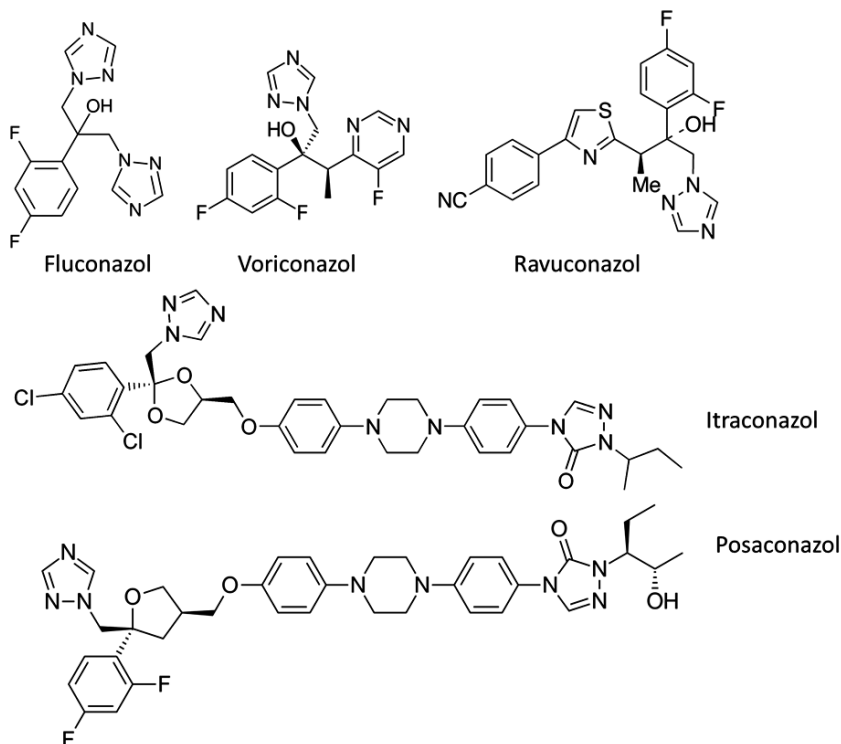
**24. ábra.** Az imidazol és a triazol gyűrűk általános szerkezete.

Az imidazolok meglehetősen toxikusak, ma már főként csak topikális szerként alkalmazzák őket. Ebbe a csoportba tartozik a clotrimazol, a miconazol, az econazol és a ketoconazol. A clotrimazol (pl. Canesten) és a miconazol gyakran használt topikális szerek a bőr és nyálkahártya gombás fertőzése (pl. bőr- és láb gombásodás, vagy hüvelyi fertőzés) kezelésére. A ketoconazolt szintén a bőr, nyálkahártya, hajás fejbőr gombásodása ellen alkalmazzák krém, gél, vagy akár sampon formában (pl. Nizoral). Elsősorban a dermatofiták és *Candida* ellen hatásos. Zsíroldékony, a zsírszövetekben felhalmozódik. Ez volt az első orálisan adható azol, eleinte szisztémás fertőzések ellen is alkalmazták, de ma már más kevésbé toxikus és hatásosabb szerekkel váltották fel.



**25. ábra.** Az antifungális szerként alkalmazott imidazolok szerkezete.

Az újabb fejlesztésű, szintetikus triazolok előnye, hogy kevésbé toxikusak és viszonylag kevés és enyhe mellékhatásuk van. Emiatt szisztémás mikózisok kezelésére alkalmazhatók. Az első generációs triazolokat (fluconazol és itraconazol) az 1990-es évek elejétől használják a gyógyászatban, az újabb generációs szereket (pl. posaconazol és voriconazol) a 2000-es évek eleje óta alkalmazzák.



**26. ábra.** Néhány gombaellenes szerként alkalmazott triazol szerkezete.

Az azolok alkalmazásának hátrányai közé tartozik, hogy némely szernek nem elég széles a hatásspektruma (bizonyos gombákkal, vagy gombacsoportokkal szemben nem hatásosak), illetve egyes szerekekkel, vagy egyes gombákkal szemben csak sztatikus hatás érhető el. Egyes gombacsoportokban viszonylag könnyen kiszelektálódhatnak azolrezisztens törzsek. Az azolokra jellemző továbbá, hogy olyan hatóanyagokkal együtt alkalmazva, amelyek ugyanazon (citokróm P450) májenzimeken keresztül metabolizálódnak, erős toxicitás lép fel, ezért bizonyos gyógyszerekkel (pl. egyes daganatos betegségek kezelésére használt, vagy immunszuppresszív anyagok) együtt nem használhatók.

A fluconazol a legrégebben és a leggyakrabban használt triazol, elérhető intravénás, tablettá és orálisan adható szuszpenzió formában is. Előnye, hogy lassan ürül ki a szervezetből, átjut a cerebrospinális folyadékba is, így a központi idegrendszer

támadó fertőzések (pl. cryptococcózisok) ellen is használható volt. Kevésbé toxikus, ezért gyakran alkalmazták. Ugyanakkor nem túl széles spektrumú és gyakran csak sztatikus hatás érhető el vele. Rezisztencia könnyen kialakul vele szemben, sőt ma már a gombatörzsek nagy része rezisztens, így alkalmazásának jelentősége az utóbbi években erősen csökkent. Az újabb generációs fluconazol analógok közül a voriconazol alkalmazása a legelterjedtebb. A fluconazalnál hatásosabb és szélesebb spektrumú (alkalmazható pl. *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Fusarium* fajok ellen), profilaktikus, megelőző céllal is alkalmazzák, pl. immunoszuppresszív terápia esetén. Rezisztencia ez esetben is kialakulhat.

Az itraconazol ugyancsak első generációs triazol (1992), szintén elérhető intravénás, tok és oldat formában. Szélesebb spektrumú, mint a fluconazol és ma is a leghatásosabb szerek közé tartozik. Ugyanakkor a legtöbb azolhoz hasonlóan járomspórás gombák ellen ez sem alkalmazható. Nem megy át a cerebrospinális folyadékba, így a központi idegrendszer fertőzése esetén nem hatásos. Az itraconazol analógok közül a posaconazol az egyik legújabb (2006) és legígéretesebb. Ez az előbbi fluor tartalmú és hidroxilált analógja. Széles spektrumú, alkalmazható azolrezisztens *Candida* törzsek, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Coccidioides* fertőzések esetén is. Az eddigi vizsgálatok alapján az egyetlen olyan azol, ami járomspórás gombák ellen is hatásos.

Az azol antifungális anyagok szisztémás szerként való rutinszerű alkalmazása akár mikózisok kezelésére, akár megelőző, profilaktikus célból, maga után vonja a rezisztens gombatörzsek megjelenését. Egyes azolokkal szemben könnyebben kialakulhat rezisztencia, ilyen a fluconazol, melyre a klinikailag releváns gombatörzsek többsége ma már kevésbé érzékeny. Az antimikrobiális szerekkel szembeni rezisztencia többféle mechanizmuson keresztül is kialakulhat. A hatóanyag-rezisztencia kialakulásának legfontosabb, lehetséges molekuláris mechanizmusai a következők:

- a sejt hatóanyag felvételének megváltozása,
- a hatóanyag sejten belüli módosítása, vagy lebontása,
- a hatóanyag célpontjának megváltozása (ez jelentheti a target enzim termelődésének, aktivitásának, vagy a hatóanyag enzimhez való kötődésének megváltozását),
- más az adott bioszintetikus útban résztvevő enzimek megváltozása,
- a hatóanyag sejtől való eltávolításának (drog efflux) hatékonysága megnő.

Egyes fajok, pl. *Candida krusei*, *Cryptococcus neoformans* és *Saccharomyces cerevisiae* esetében feltételezik, hogy az azolrezisztenciában, a drogfelvételi

mechanizmusok defektusa is állhat. Ugyanakkor a gombák azolfelvételi mechanizmusai viszonylag kevésbé ismertek. Újabb eredmények szerint az azolvegyületek egy pH és ATP független facilitált diffúziós mechanizmussal kerülnek a sejtbe. Ez a transzport mechanizmus pedig meglehetősen konzerváltnak tűnik a különböző gombacsoportok közt.

Az antimikrobiális anyagok módosítása és degradációja jól ismert és fontos rezisztencia mechanizmus számos baktérium és eukarióta esetében. Ugyanakkor gombák-nál erre vonatkozóan kevés adat áll rendelkezésre. *Candida albicans* esetében mindenesetre azt figyelték meg, hogy az élesztő nem metabolizálja az azolvegyületeket.

Gombák esetében az azolrezisztencia hátterében leggyakrabban a target enzim (ERG11, lanoszterol (C-14) demetiláz) megváltozása, a bioszintetikus út egyéb enzimeinek módosulása és alternatív útvonalak megjelenése, valamint a drog efflux fokozódása áll.

A lanoszterol demetiláz megváltozása egyrészt jelentheti az azolkötő hely módosulását, másrészt az enzim túltermelődését, vagy túlműködését. Az *ERG11* gén megfelelő nukleotid pozícióiban bekövetkező mutációk miatt, a keletkező módosult enzim aktív helye elvesztheti azolkötő képességét. Az *ERG11* gén túlműködését okozhatja a gén kópiaszámának emelkedése (pl. kromoszóma duplikáció következtében), illetve a transzkripció szint növekedése (pl. transzkripció faktorok, vagy transzkripció faktor kötő helyek megváltozása miatt). Mindez azt eredményezheti, hogy az enzim nagyobb mennyiségben lesz jelen a sejtben és ezt a megnövekedett enzim szintet a terápiás koncentrációban alkalmazott azol már nem képes inaktíválni.

Az ergoszterin bioszintézis egyéb enzimeinek megváltozása olyan alternatív bioszintetikus utakat nyithatnak, amelyek kikerülik az azolok támadását. Az azolok a lanoszterol demetiláz gátlásával csökkentik az ergoszterin mennyiségét, ami helyett egy toxikus termék, a 14 $\alpha$ -metil-3,6-diol, képződik. Az *ERG3* (C-5 szterol deszaturáz) génben bekövetkező bizonyos mutációk azonban olyan enzim termelődéséhez vezethetnek, aminek működése megakadályozza a 14 $\alpha$ -metil-3,6-diol képződését. Helyette 14 $\alpha$ -metil-fekoszterol halmozódik fel és ez épül be a gomba membránba is. Mivel ez a szterol képes az ergoszterin funkcióját átvenni, a gomba kikerüli azolok gátló hatását. Az *ERG3* mutáns *Candida* törzsek egyébként poliénekre is rezisztensek, hiszen a membránjukban nem található ergoszterin.

A leggyakoribb és legjobban tanulmányozott rezisztencia mechanizmus a gombaellenes hatóanyag eltávolítása a sejtből. A gombaellenes szerek eltávolítását drog efflux pumpáknak nevezett transzporter fehérjék végzik. *Candida*-ban a drog efflux pumpákat két géncsalád kódolja. A *CDR* (*Candida drug resistance*) gének termékei az *ABC* (*ATP-binding cassette*) transzporterek, míg az *MDR* (*multidrug resistance*) gének által kódolt fehérjék az *MF* (*major facilitator*) családba tartoznak. Az *ABC* transzporterek



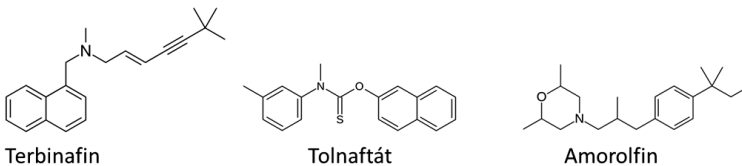
ATP-t használnak a transzporthoz energiaforrásként, az MF pupák viszont a membránon keresztüli  $H^+$  gradienst használják a különböző anyagok kijuttatásához ( $H^+$ /drog antiport). Leglaposabban a *C. albicans* *CDR1*, *CDR2* és *MDR1* gének kifejeződését, illetve az ezek által kódolt fehérjék működését tanulmányozták. *C. albicans*-ban azonosítottak egy további, az MF családba tartozó pumpát is, melyet FLU1-nek (*fluconazole resistance*) neveztek el. Hasonló ABC és MF transzportereket más gombák (pl. *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*) esetében is azonosítottak.

Mindezen efflux pumpák feladata különböző, a sejtre káros, toxikus anyagok eltávolítása. A rezisztens törzsekben egy- vagy többféle efflux pumpa túlműködik, minek következtében a transzporterek száma nagyobb, mint az érzékeny törzsek esetében. A túlműködés hátterében itt is állhat a kópiaszám emelkedése, illetve a transzkripció regulációjának megváltozása. Utóbbiban nagy szerepe van a megfelelő transzkripciós faktoroknak. Ezek közül már többet jellemeztek, pl. a *CDR1* és *CDR2* kifejeződésében a TAC1, az *MDR1* transzkripciójában pedig az MRR1 és a CAP1 transzkripciós faktoroknak van fontos szerepe.

Az *MDR1* és a *FLU1* ugyan számos vegyület transzportjéért felelős. Az *MDR1* számos eltérő hatású és szerkezetű anyaggal (pl. cikloheximid, benzotriazolok, 4-nitrokinolin-N-oxid, szulfometuron metil) szembeni rezisztencia kialakításában részt vesz. Ennek ellenére mindkét transzporter a gombaellenes szerként használt azolok közül csak a fluconazol képes eltávolítani és túlműködésük csak ezen azollal szemben biztosít védeltséget. Ezzel szemben a *CDR* gének termékei többféle azolt is képesek kiszállítani a sejtből. A *C. albicans* *CDR1* null mutáns törzsek hiperszenzitívnek bizonyultak az összes tesztelt azollal, valamint terbinafinnal (allilamin) és amorolifinnel (morfolin) szemben.

### Allilaminok, tiokarbamátok, morfolinok

Az allilaminok és a tiokarbamátok a szkvalén epoxidáz enzim működését gátolják. Ez az enzim, melyet *Candida*-ban az *ERG1* gén kódol, katalizálja az ergoszterin bioszintézis egyik korai lépését, a szkvalén átalakulását 2,3-oxidoszkvalénné. A morfolinok két enzimet a C-14 szterol redukált és a C-8 szterol izomerált gátolják (xxx. táblázat).



27. ábra. A terbinafin, a tolnaftát és az amorolfín szerkezete.

Az allilaminok ismert képviselője a terbinafin (pl. Lamisil), mely főként dermatofiták és *Candida* ellen használt szintetikus gombaellenes szer (xxx. ábra). Alkalmazzák krém formában, topikálisan felületi bőrfertőzések kezelésére. Körömfertőzések kezelésére tabletta formában is rendelkezésre áll. Lipofil, felhalmozódik a bőrben, körömben és a zsírszövetekben. *In vitro* számos fonalas gomba és azolre-zisztens *Candida*-k ellen is hatásosnak bizonyult.

Szintén topikális szer a tiokarbamátok közé tartozó tolnaftát (pl. Chinofungin), mely elérhető por, krém, spray formában is, szintén dermatofiták és *Candida*-k által okozott felületi fertőzések kezelésére (xxx. ábra).

A morfolinok közé tartozó amorolfint elsősorban körömgombásodás ellen alkalmazzák, pl. körömlakk formájában (xxx. ábra).

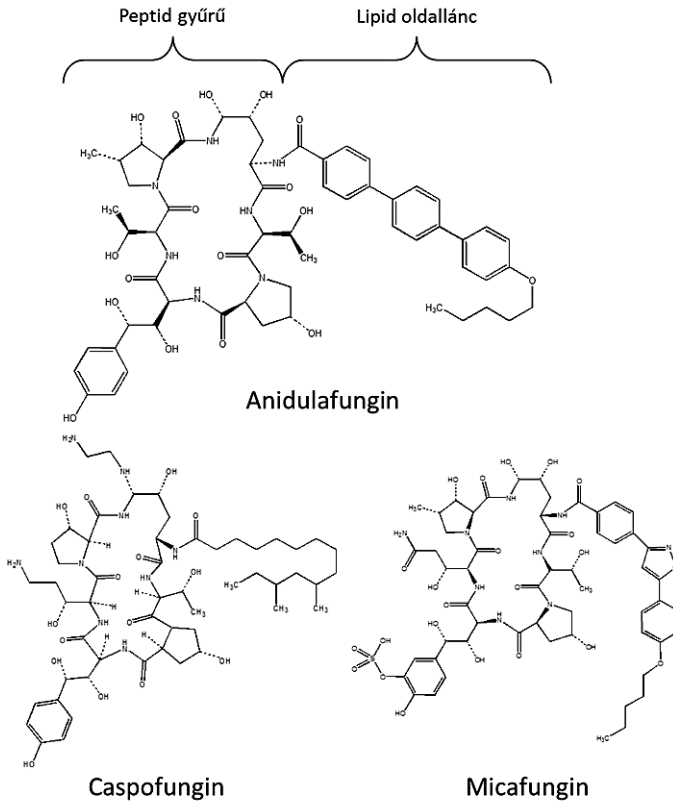
## GLÜKÁN SZINTÉZIS GÁTLÓK – ECHINOCANDINOK

Az echinocandinok a gomba sejtfa szintézisét zavarják, az 1,3- $\beta$ -glükán szintáz specifikus, nem-kompetitív gátlószerei. Hatásukra a sejtfa szerkezet és morfológia megváltozik, a gombasejtek ozmotikusan érzékenyek lesznek. Fonalasoknál jellemző a sűrűn elágazó hifák, duzzadt hifavégék megjelenése, élesztőknél a sarjsejtek nem képesek leválni az anyasejtekről.

Az echinocandinok ciklikus hexapeptidok, illetve mivel a peptid gyűrűn lipid oldallánc található lipopeptideknek is nevezhetők. A természetes echinocandinokat fonalas gombák termelik, szintézisük nem-riboszómális peptid szintézissel történik (lásd a nem-riboszómális peptid szintézis leírását „A vasfelvételi rendszerek” című fejezetben). Az elsőként felfedezett természetes echinocandin, az *Aspergillus* fajok (*A. nidulans* és *A. rugulosus*) által termelt echinocandin B volt. Bár ígéretes gombaellenes vegyületnek bizonyult, toxikus, hemolízist okozó hatása miatt a gyógyászatban nem alkalmazzák. Egy másik természetes candint, a pneumocandin B-t a *Glarea lozoyensis* (*Zalerion arboricola*) nevű gombából izolálták. A gyógyászatban használt candinok a természetes peptidok félszintetikus származékai. Ilyen a klinikumban használt candinok az anidulafungin (echinocandin B származék), a caspofungin (pneumocandin B származék) és a micafungin (a *Coleophoma impetri* gomba által termelt FR901379 peptid származéka).

Mivel ezek a peptidok specifikusan a gomba sejtfalra hatnak kevésbé toxikusak. Elsősorban *Candida* és *Aspergillus* fajok által okozott szisztémás fertőzések kezelésére használják őket, intravénás formában, megelőző, profilaktikus kezelésekre is alkalmasak. Jelenleg elsőként ajánlott szerek invazív *Candida* fertőzések empirikus kezelésére. Hatástalanok ugyanakkor a *Fusarium* fajok képviselőivel és járomspórás

gombákkal szemben (pl. *Rhizopus*), a *Cryptococcus neoformans* törzsek szintén általában kevésbé érzékenyek rájuk.



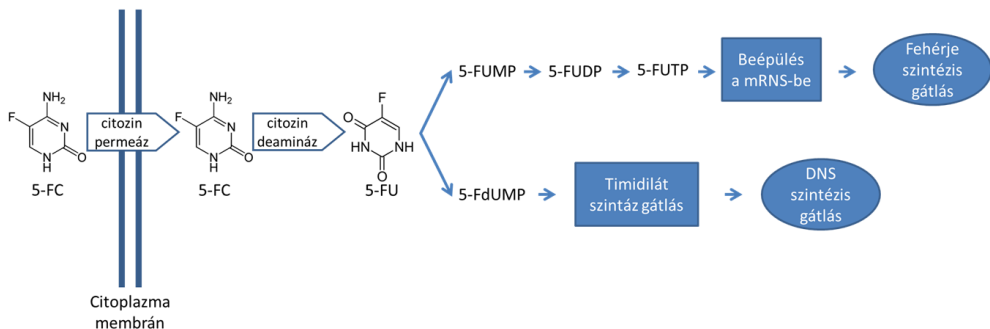
**28. ábra.** A klinikumban, szisztémás mikózisok kezelésére használt echinocandinok szerkezete.

## 5-FLUOROCITIZIN

Az 5-fluorocitozin, vagy röviden csak flucitozin (5-FC) egy szintetikus fluor tartalmú pirimidin analóg (xxx. ábra), mely a DNS és a fehérje szintézis akadályozásán keresztül gátolja a gombákat. Az egyik legrégebb (1957-ben fedezték fel) szisztémás mikózisok kezelésére használt gombaellenes szer. A flucitozinnak közvetlenül nincs antimikotikus hatása. A gombasejtbe a citozin permeáz enzim segítségével jut be, ahol citozin deamináz segítségével 5-fluorouracillá (5-FU) alakul (xxx. ábra).

Ez utóbbi az, ami a nukleinsav és a fehérje szintézis zavarát okozza. Ugyanakkor az 5-FU közvetlenül nem használható gombaellenes szerként, mert erősen toxikus mind a gomba, mind az emlős sejtekre (citosztatikumként használják a rákellenes kemoterápiában). A specificitás hordozója tehát az 5-FC – 5-FU átalakulás. Az 5-FC azért specifikus a gombákra, mert az emlősöknek általában nincs citozin deaminázuk. Ennek megfelelően az olyan gombák, amelyek szintén nem rendelkeznek ezzel az enzimmal, ugyancsak nem érzékenyek a flucitozinra.

A gombaellenes hatás tehát az 5-FU fehérje és DNS szintézis gátlásán alapul (xxx. ábra). Az első esetben az 5-FU, 5-fluorouridin monofoszfáton (5-FUMP) és 5-fluorouridin difoszfáton (5-FUDP) keresztül, 5-fluorouridin trifoszfáttá (5-FUTP) alakul. Ez utóbbi képes beépülni az mRNS-ekbe (uridin helyett), ami által gátolja a fehérjeszintézist. A második esetben az 5-FU-ból képződő 5-FUMP az uridin monofoszfát pirofoszforiláz enzim segítségével 5-fluorodeoxuridin monofoszfáttá (5-FdUMP) alakul. Az 5-FdUMP pedig igen erős gátlószere a DNS szintézis egyik kulcsenzimének, a timidilát szintáznak. Az 5-FU citotoxikus hatása is elsősorban a DNS szintézis gátlásnak a következménye.



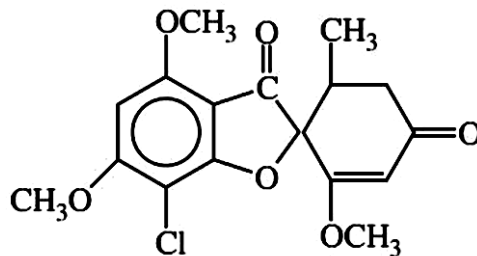
**29. ábra.** Az 5-fluorocitozin (5-FC) és az 5-fluorouracil (5-FU) szerkezete, valamint gombaellenes hatásuk mechanizmusa. További rövidítések: 5-FUMP: 5-fluorouridin monofoszfát; 5-FUDP: 5-fluorouridin difoszfát; 5-FUTP, 5-fluorouridin trifoszfát; 5-FdUMP, 5-fluorodeoxiuridin monofoszfát.

Az 5-FC tableta és infúzió formájában is elérhető, elsősorban *Candida* és mivel átjut a központi idegrendszerbe is, *Cryptococcus* fertőzések, valamint chromoblastomycosis-ok kezelésére használják. Mivel nagyon könnyen kialakul vele szemben a rezisztencia, életet veszélyeztető szisztémás mikózisok esetén nem alkalmazzák egyedüli gombaellenes szerként. Ilyenkor amfotericin B-vel, vagy egyes azolokkal, pl. fluconazollal, vagy itraconazollal kombinálják. Önállóan ritkán alkalmazzák, pl. húgyúti fertőzések esetén. Mellékhatásként jelentkezhet enyhébb esetben hányás, szédülés, súlyosabb esetben csontvelő- és májtoxicitás.

A könnyen kialakuló rezisztencia, illetve a rezisztens gombatörzsek elterjedtsége beszűkíti az 5-FC gombaellenes szerként való alkalmazásának lehetőségeit. Rezisztencia alapvetően két módon alakul ki vele szemben: (i) az 5-FC sejtbe jutását és átalakulását katalizáló enzimek (pl. citozin permeáz, citozin deamináz, uridin monofoszfát pirofoszforiláz) génjeiben bekövetkező mutációk következményeként, vagy (ii) az endogén pirimidin szintézis hatékonyságának emelkedése következtében. Az első esetben, ha a bekövetkező mutációk az egyes enzimek defektusához vezetnek az 5-FC nem képes kifejteni a hatását. A gombasejtek szerzett rezisztenciáját legtöbbször az uridin monofoszfát pirofoszforiláz génjében bekövetkező mutációk okozzák. A második esetben megemelkedik a pirimidin szint, mely, mivel kompetícióban van az 5-FC származékokkal, csökkenti az utóbbiak antimikotikus hatását.

## GRISEOFULVIN

A griseofulvin a *Penicillium griseofulvum* és más *Penicillium* fajok által termelt poliketid (ciklikus heptaketid) típusú, antimikotikus hatású metabolit (xxx. ábra).



**30. ábra.** A griseofulvin szerkezete.

A griseofulvin az egyik legrégebb orálisan is adható gombaellenes szer (1950-es évektől alkalmazzák). Vízben oldhatatlan, orálisan adható mikrogranulált és szuszpenzió formában is elérhető. Gombaellenes hatása azon alapul, hogy a tubulin-interakcióba lépve (a mitotikus orsó tönkretételével) a mitózist gátolja. Mivel a keratinhoz is képes kapcsolódni, a bőrben, hajban, körömben felhalmozódik. Csak fonalas dermatofiták (pl. *Epidermophyton*, *Trichophyton*, *Microsporum*) ellen határos, az élesztők és a legtöbb fonalas gomba rezisztens vele szemben. Jelentősége a korszerűbb, hatékonyabb szerek megjelenésével csökkent. Ma már főként csak a hajás fejbőr gombás fertőzésének (*tinea capitis*; leggyakrabban gyerekeknél fordul elő) kezelésére használják. Magyarországon jelenleg nem elérhető.

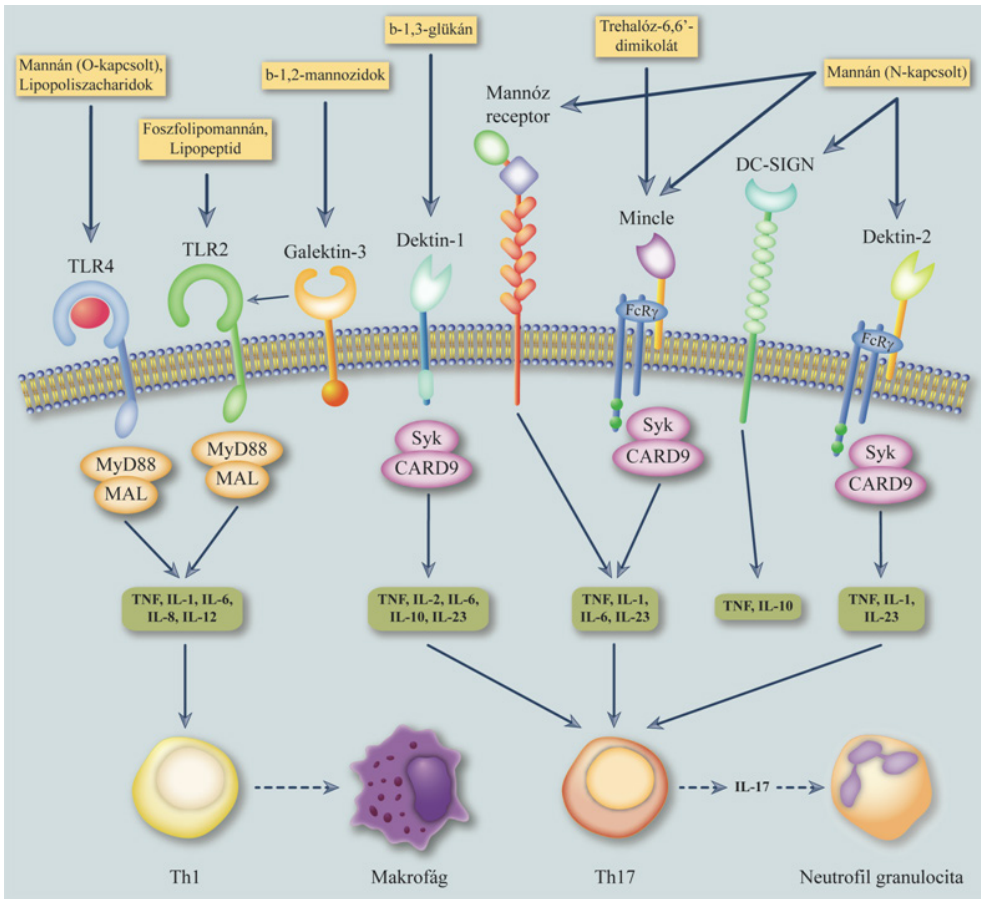
## A GOMBÁK ELLEN KIALAKULÓ IMMUNVÁLASZ

Az emberi mikroflóra normál tagjaiként az opportunistá patogén gombák különleges viszonyban állnak az ember immunrendszerével. Számos faj viszonylag ártalmatlan kommenzalistaként van jelen a szervezetben, és normál körülmények között semmilyen károsító hatással sincs a gazdára. Ezt a hatékony felügyeltet, kontrollt a hosszú evolúciós együttfejlődés tette lehetővé. Egyrészt az immunrendszer szigorúan szabályozza a mikroba populációk nagyságát a szervezetben, addig a kommenzalista gombák értelemszerűen különböző túlélési mechanizmusok egész tárházát fejlesztették ki azért, hogy életben maradhassanak az emberi szervezetben. A gazdaszervezethez ilyen módon való adaptáció egy igen érzékeny egyensúlyi állapot kialakulásához vezetett, amely normál körülmények között lehetővé teszi egy olyan állapot kialakulását ahol a gazda károsodása minimális mértékű, így kialakulhat a klasszikus értelemben vett kommenzalista együttélés. Az orvostudomány robbanásszerű fejlődésével azonban számos olyan beavatkozás vált rutin eljárássá, amely az immunrendszer működésének megváltoztatásával jár együtt (pl. szervátültetést kísérő immunszuppresszív terápia), ez az érzékeny egyensúly könnyen felborulhat, ami a gombák túlzott elszaporodásához vezethet a szervezetben. Hatékony immunválasz hiányában pedig a kialakuló fertőzés a gazdára nézve akár végzetes is lehet.

A fertőzésre adott gazdaválasz azonban egy kétélű fegyver, sok esetben éppen a túlzott gyulladási reakció az, ami a legnagyobb károsodást okozza a szervezetben. A patogének elszaporodása miatt az immunrendszer szabályozó mechanizmusai felborulhatnak, ami kontrollálhatatlan gyulladás, végső soron pedig szepszis kialakulásához vezethet. Ilyen esetekben a kóros immunfolyamatok megfékezése, azaz a gyulladás csökkentése éppolyan fontos lehet, mint a patogének eliminációját célzó antifungális terápia.

A gombás fertőzések immunológiai hátterének kutatása az elmúlt két évtized során kezdődött meg igazán intenzíven. Nagy áttörést jelentett például a különböző mintázatfelismerő receptorok (*pattern recognition receptor*; PRR), köztük a Dectin-1 (C típusú lektin receptor, azaz olyan felismerő receptor, amely a gomba sejtfalának szénhidrát komponenseit képes felismerni, részletes leírását lásd később), mint fő  $\beta$ -glükán receptor azonosítása. Ugyanakkor rohamosan bővülni kezdtek ismereteink a gombák ellen kialakuló adaptív immunválaszról is, nyilvánvalóvá vált például a Th17 (T helper 17, egy specifikus helper T sejt alpopuláció, részletes szerepéről lásd később) sejtek esszenciális szerepe a gombák elleni védekezésben. Ma már tudjuk, hogy a patogének PRR-ek általi felismerése szorosan összefügg a kiváltott adaptív immunválasz effektor funkcióival; a Dectin-1 aktivációja például elősegíti a Th17 sejtek differenciációját, vagyis a két immunrendszer folyamatosan kommunikál és egymás funkcióit felerősíteni képes.

Mára tehát világossá vált, hogy a gombák elleni védekezésben mind a természetes (veleszületett), mind az adaptív (szerzett) immunitás elemei fontos szerepet játszanak. A természetes immunitás effektor sejtjei (monociták, makrofágok, dendritikus sejtek, neutrofil granulociták stb.) számos mintázatfelismerő receptort hordoznak, amelyek lehetővé teszik a patogének érzékelését a vérben és a szövetek között egyaránt xxx ábra. Az idegen molekuláris mintázatok felismerése a receptor típusától, illetve sejttípustól függően különböző gyulladásos mediátorok termeléséhez vezet, illetve indukálja a patogén közvetlen eliminációját. Ugyanakkor a patogének antigén prezentáló sejtek (*antigen presenting cell*; APC), például dendritikus sejtek általi bekebelezése az adaptív immunválasz iniciációjában játszik kulcsszerepet. A fejezet további részében a gombafertőzések elleni immunválasz specifikus elemeit tekintjük át.



**31. ábra.** A természetes immunitás sejtjeinek és receptorainak kölcsönhatása az adaptív immunválasz komponenseivel

## PATOGÉN GOMBÁK ELLENI TERMÉSZETES IMMUNITÁS

### Mintázatfelismerő receptorok

A mintázatfelismerő receptor (*pattern recognition receptor*; PRR) fogalmát Janeway vezette be 1989-ben. Definíciója szerint a PRR-ek olyan, evolúciósan konzervált receptorok, amelyek képesek különböző patogén-asszociált molekuláris mintázatok (*pathogen associated molecular patterns*; PAMPs) felismerésére. Az elgondolás szerint a PRR-ek az immunológiai felismerés primitívebb változatát képviselik, amely evolúciósan megelőzte a T- és B-limfociták egyedi specificitású antigénkötő receptorainak kialakulását.

Mára hatalmas ismeretanyag gyűlt össze a PRR-ekről, és világossá vált, hogy igen komplex szerepet töltenek be az immunválasz különböző folyamataiban. Jelenleg a PRR-ek négy nagy családját különíthetjük el, ezek a Toll-szerű receptorok (*Toll-like receptors*, TLRs), C-típusú lektin receptorok (*C-type lectin receptors*, CLRs), RIG-I-szerű receptorok (*RIG-I-like receptors*, RLRs), valamint a NOD-szerű receptorok (*NOD-like receptors*, NLRs). A gombák felismerésében részt vevő fontosabb receptorok a 31. ábrán láthatóak.

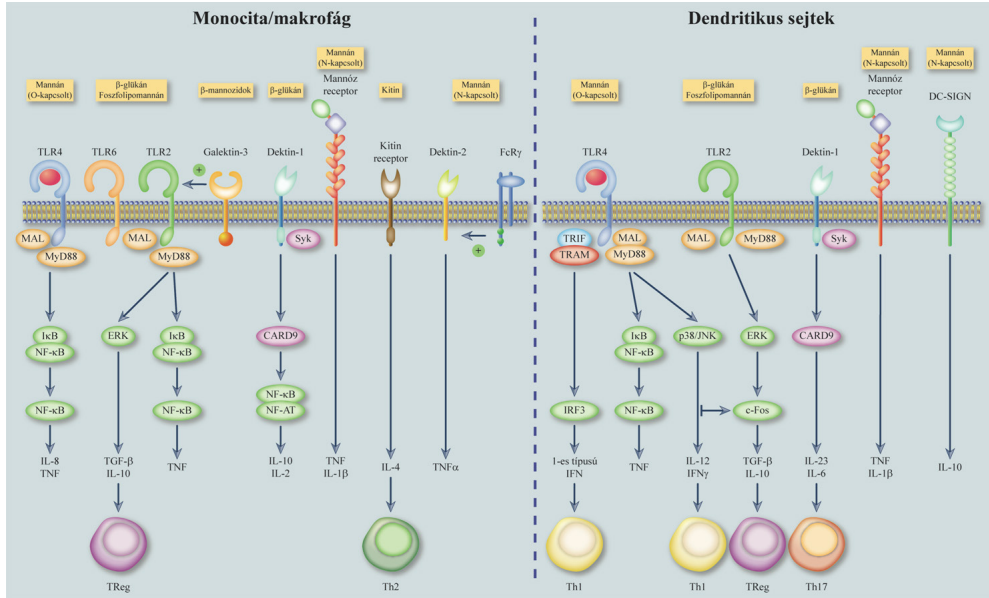
### Toll-szerű receptorok

A PRR-ek közül a Toll-szerű receptorok családja a legjobban tanulmányozott és jellemzett.

A múlt század végén fedezték fel, hogy a *Drosophila melanogaster* Toll gén szerepet játszik a patogének elleni védekezésben (a mutáns gént hordozó legyek fogékonyabbak voltak gombás fertőzésekre). Később azonosították a Toll receptorok emlős homológjait (Toll-szerű receptorok) is: egérben a család 12 (TLR1-9 és TLR 11-13), míg emberben 10 (TLR1-10) funkcióképes tagját írták le. Míg a TLR1-9 mind egérben, mind emberben megtalálható, a TLR10 rágcsálókban, a TLR11 pedig humán sejtekben nem expresszálódik, génjeik ugyanis korai stop kodont tartalmaznak. A TLR-ek I-es típusú transzmembrán proteinek, amelyeknek az extracelluláris doménje a patogén felismerésben fontos szerepet játszó leucin-gazdag ismétlődéseket (*leucin rich repeats*, LRR), citoplazmatikus régiója pedig TIR (Toll/interleukin-1 receptor) domént tartalmaz. Az egyes TLR-ek sejten belüli lokalizációja és eltérő: míg a TLR 1, 2, 4, 5, 6 és 10 a sejtfelszínen expresszálódik, a TLR 3, 7, 8 és 9 endoszómális elhelyezkedésű. A TLR-ek egyedi ligand specificitással rendelkeznek: a TLR 1, 2, 4, 5, 6 többnyire a bakteriális komponensek (lipopeptidek, peptidoglikán, lipopoliszacharid, flagellin) felismerésében játszik fontos szerepet, míg az endoszómális TLR-ek különösen a vírus nukleinsavak felismeréséhez szükségesek.



Az újonnan felfedezett TLR ligandok, ezzel együtt pedig a receptorok által felismert patogének listája ugyanakkor évről évre bővül.



32. ábra. A gombák felismerésében részt vevő legfontosabb mintázatfelismerő receptorok.

A TLR-ek által közvetített szignalizációban kulcsszerepe van a MyD88 (*myeloid differentiation primary response protein 88*) adaptor molekulának, amely a receptorok aktivációját követően a TIR doménhez kapcsolódik (egyedül a TLR3 és TLR4 képes a MyD88-tól függetlenül is jeltovábbítást indukálni). Ezt követően a MyD88 fehérje interleukin-1 receptor-asszociált kinázokat (IRAK1 és IRAK4) toboroz a receptorhoz, majd ezen kinázok foszforilációja a TRAF6 (*tumor necrosis factor receptor-associated factor 6*) aktivációjához vezet. A jelátvitel további lépései a TAK1 (*transforming growth factor-β-activated protein kinase 1*), majd az IKK (IκB kinase) komplex aktivációja, ami végül az NFκB (*nuclear factor κ B*) transzkripció faktor aktivációjához vezet. Az NFκB számos gyulladáshoz vezető transzkripciós faktor aktivációját szabályozza, aktivációja többek között különböző gyulladáshoz vezető citokinek szintézisét indukálja. Ugyanakkor a TAK1 foszforilálja az MKK3 (*MAP kinase kinase 3*)-at és MKK6 (*MAP kinase kinase 6*)-ot is, ami a JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) és a p38 MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) aktivációját eredményezi. Az ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) MAP kináz szintén aktiválódhat a TLR-ek stimulációját követően, ennek az útvonalnak a részletei azonban kevésbé tisztázottak. A MAP kinázok az AP-1 (activator protein 1) transzkripciós faktort aktiválják. Az AP-1 faktort különböző, főként a c-Jun és c-Fos fehérjecsaládokba tartozó proteinek dimerjei alkotják, és aktivációja különböző növekedési faktorok, citokinek és

kemokinek termelődését indukálja. A TLR3 és TLR4 MyD88-tól független szignalizációt is kiválthat, ekkor a TRIF (*TIR domain-containing adapter inducing IFN $\beta$* ) adaptor aktivációja az I-es típusú interferonok, főként IFN $\beta$  (interferon  $\beta$ ) termeléséhez vezet.

Ugyan mára bebizonyosodott, hogy a gombák felismerésében a C-típusú lektin receptorok játsszák a legfontosabb szerepet, bizonyos TLR-ek is kiemelkedő jelentőséggel bírnak. Ezt támasztja alá az, hogy a *myd88*<sup>-/-</sup> egerek fogékonyabbak a *C. albicans* és *A. fumigatus* fertőzésre, mint a vad típusú állatok. A TLR-ek közül idáig a TLR2-ről, TLR4-ről, TLR6-ról, TLR7-ről és TLR9-ről bizonyították, hogy szerepet játszanak a *C. albicans* elleni védekezésben. A TLR4 az egyik legjobban tanulmányozott Toll-szerű receptor, kulcsszerepet játszik a Gram-negatív baktériumok sejtfalában található lipopoliszacharid (LPS) felismerésében. Képes azonban érzékelni a *C. albicans* sejtfalában található O-mannán-t is. Egy korábbi tanulmányban megállapították, hogy *tlr4*<sup>-/-</sup> egerek fogékonyabbak a disszeminált candidiázisra, ami a kemokin termelés defektjével volt magyarázható. Ugyanakkor fontos kiemelni, hogy a TLR4 nem minden *C. albicans* törzs felismerésében játszik szerepet. A TLR2 többek között a bakteriális peptidoglikán felismerésében játszik fontos szerepet, de számos más ligandja is ismert. A TLR2 *C. albicans* elleni védekezés során betöltött szerepével kapcsolatban szintén felmerültek bizonyos ellentmondások. Ezeket azonban némileg feloldotta az a felfedezés, hogy a TLR2 több más PRR-ral (pl. Dectin-1) is képes együttműködni, és a kölcsönhatások függvényében specifikus citokin választ kiváltani. A TLR2 a TLR6-tal együttműködve valószínűleg a *C. albicans* foszfolipomannánt ismeri fel. A TLR7 és TLR9 szerepe az antifungális immunitásban kevésbé tisztázott, de mindkettőt kapcsolatba hozták a *C. albicans* felismerésével.

Összességében elmondható, hogy ugyan a Toll-szerű receptorok sok esetben redundáns szerepet töltenek be a gombák elleni védekezésben, más receptorokkal együttműködve fontos szerepük van az immunválasz finomhangolásában.

## RIG-I-szerű receptorok

A citoplazmatikus lokalizációjú RIG-I-szerű receptorok (RIG-I, MDA5, LGP2) elsődleges szerepe a virális RNS felismerése, ami különböző citokinek és interferonok termelődését indukálja. Egy közelmúltban készült tanulmány szerint azonban az MDA5 receptornak szerepe lehet a *C. albicans* elleni védekezésben is; a gén mutációja ugyanis kapcsolatba hozható a *Candida* fertőzésre való fogékonysággal, az *mda5*<sup>-/-</sup> egerek pedig megváltozott citokin termelést mutatnak *C. albicans* fertőzés esetén a vad típusú egerekhez képest.

## C-típusú lektin receptorok

A C-típusú lektin receptorok a mintázatfelismerő recetorok igen heterogén családját alkotják. A család számos tagja szénhidrát felismerő domént (*carbohydrate recognition domain*, CRD) tartalmaz, ami a különböző szénhidrát komponensek megkötéséért felelős. A C-típusú lektin receptorokra jellemző CRD-t C-típusú lektin doménnek (*C-type lectin domain*, CTLD) is nevezzük. Ezzel szemben számos CLR C-típusú lektin-szerű domént tartalmaz (*C-type lectin-like domain*), amely nemcsak szénhidrátok, hanem lipidek és fehérjék felismerésére is képes. A CLR-ek esszenciális szerepet játszanak a gombák elleni védekezésben. A CLR-ek legnagyobb számban myeloid sejteken, úgymint makrofágokon és dendritikus sejteken expresszálódnak, de megtalálhatóak limfocitákon, granulocitákon és epitélissejteken is.

A Dectin-1 az egyik legjobban jellemzett CLR, amely számos, különböző szerkezetű  $\beta$ -glükán molekula felismerésére képes. A Dectin-1 receptor szerepét különböző gombás fertőzések során számos *in vivo* és *in vitro* tanulmány támasztja alá; a Dectin-1 deficiens egerek többek között csökkent rezisztenciát mutatnak *C. albicans*, *A. fumigatus* és *P. carinii* fertőzéssel szemben. Érdekes módon a Dectin-1 receptor nem minden *C. albicans* törzs felismerésében játszik szerepet, ami többek között a különböző törzsek eltérő adaptációs képességével (a sejtfal összetétel *in vivo* körülmények közötti megváltozásával) magyarázható. A Dectin-1 hiánya emberben is fokozza a gombás fertőzésekre való fogékonyságot, többek között krónikus *Candida* bőr- és nyálkahártya fertőzésekhez (chronic mucocutaneous candidiasis, CMC) vezet. A Dectin-1 receptor extracellulárisan egyetlen CTLD-t tartalmaz, míg intracelluláris doménjében ITAM (immunoreceptor tirozin-alapú aktivációs motívum)-szerű motívum (ITAM-like motif, *immunoreceptor tyrosine-based activation motif-like motif*) található, amely a szignalizáció elindításáért felelős. A receptor aktivációja az ITAM-szerű motívumok foszforilációjához vezet, ami a Syk kinázt (*spleen tyrosine kinase*, lép tirozin kináz) toborozza a receptorhoz. A Syk kináz foszforilálja PLC $\gamma$ 2-t (foszfolipáz Cy2), ami több lépésen keresztül PKC $\delta$  (protein kinase C $\delta$ ) aktivációhoz vezet. A PKC $\delta$  aktivációja egyrészt ROS termelést és inflammaszóma aktivációt indukál az ERK foszforilációján keresztül, másrészt a CARD9-Bcl10-Malt1 komplex aktivációjához vezet. A CARD9 (*caspase recruitment domain-containing protein 9*)-Bcl10 (*B cell lymphoma 10*)-Malt1 (*mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1*) fehérje komplex aktivációja végső soron NF $\kappa$ B aktivációhoz és így különböző citokinek és kemokinek (többek között TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-10, IL-6, IL-23, CCL2, CXCL1, CXCL2) termeléséhez vezet. A Dectin-1/Syk szignalizáció a MAP kinázok (p38, ERK, JNK) aktivációját is kiváltja, ám ennek az útvonalnak a pontos lépései még nem teljesen tisztázottak. A Dectin-1 aktivációja fagocitózist, ROS termelést és inflammaszóma aktivációt (ld. később) is indukál, továbbá az adaptív immunválasz (különösen a Th17 sejtek differenciációjának) szabályozásában (ld. később) is fontos szerepe van. A Dectin-1 receptor számos TLR-rel képes együttműködni a patogének felismerése során,

kimutatták például, hogy a Dectin-1 expressziója fokozza a TLR2 által indukált NFκB aktivációt és citokin termelést.

A Dectin-2 receptor szintén egyetlen CTLD-t tartalmaz, azonban nem β-glükán, hanem mannóz tartalmú struktúrák aktiválják. Számos gombafaj, többek között a *C. albicans*, *A. fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *C. neoformans* és *Histoplasma capsulatum* felismerésében részt vesz; ezen kívül allergiás folyamatokban is szerepet játszik. A Dectin-2 receptor szintén a Syk kinázt aktiválja, azonban – mivel intracelluláris doménje nem tartalmaz ITAM-ot – a jeltovábbításhoz szükség van a receptor FcRγ adapterrel való asszociációjára. A szignalizáció további lépései hasonlóak a Dectin-1 receptor esetében leírtakkal; fontos különbség azonban, hogy a Dectin-2 a Dectin-1-gyel ellentétben nem képes minden NFκB alegységet aktiválni, ami eltérő celluláris válaszhoz vezet. A Dectin-2 receptor is szerepet játszik azonban a Th17 válasz szabályozásában.

A mannóz receptor (MR) egyike a legkorábban azonosított CLR-eknek; nyolc extracelluláris CTLD-t tartalmaz, amelyek segítségével mannóz-, fukóz-, valamint N-acetil glükózamin-tartalmú struktúrákat ismer fel. A mannóz receptor többek között felismeri a *C. albicans*-t, *C. neoformans*-t és *P. carinii*-t, és szerepet játszik a *C. albicans* által indukált Th17-differenciációban. Ugyanakkor a MR deficiens egek csak a *C. neoformans* fertőzéssel szemben mutatnak csökkent rezisztenciát, *C. albicans*-szal és *P. carinii*-vel szemben nem.

Számos további CLR-ről kimutatták, hogy szerepet játszanak a gombák elleni immunválaszban. A Mincle receptor a Dectin-2-höz hasonlóan a Syk kinázt aktiválja FcRγ adapteren keresztül; és ugyan elsődleges szerepe a *Mycobacterium* fajok felismerése, *Candida*, *Malassezia* és *Fonsecaea* fajok is képesek aktiválni. A DC-SIGN többek között *C. albicans*, *A. fumigatus* és *Mycobacterium* fajok felismerésére képes, és a ligand természetétől függően különféle szignalizációs útvonalakat aktiválhat. Több CLR-rel is képes együttműködni, és azok aktivációját szabályozva pro- vagy antiinflammatorikus választ kiváltani. A Galectin-3 ugyan nem a C-típusú, hanem az S-típusú lektin receptorok közé tartozik, azonban fontos szerepe van a *C. albicans* felismerésében. Kimutatták, hogy a makrofágok Galectin-3 segítségével felismerik a *C. albicans* β-1,2-mannánt, a *S. cerevisiae*-t azonban nem. Továbbá, a galectin-3 szerepet játszik szisztémás *C. albicans* és *C. parapsilosis* fertőzés esetén is.

## NOD-szerű receptorok (NLR)

Az intracelluláris lokalizációjú NOD-szerű receptorok családja emberben 23, egérben 34 tagot számlál. A receptorok általános felépítésére jellemző, hogy három doménből állnak: a C-terminális domén leucin gazdag ismétlődéseket tartalmaz,

ezt tartják felelősnek a mikrobiális PAMP-ek felismeréséért; a centrális domén az ún. NOD (*nucleotide-binding and oligomerization domain*) vagy NACHT domén, amely a receptorok oligomerizációjához, és így az aktív receptorkomplex kialakulásához szükséges; míg az N-terminálison az effektor domén helyezkedik el. A NLR-okat N-terminális doménjük alapján négy alcsoportba sorolják: (1) NLRA (*Class II transactivator*, CIITA domén), (2) NLRB (baculovirus inhibitor of apoptosis protein repeat, BIR domén), (3) NLRC (*caspase-recruitment domain*, CARD), (4) NLRP (*pyrin domain*, PYD). A két legjobban jellemzett NLR az NLRC alcsoportba tartozó NOD1 és NOD2, amelyek bakteriális komponensek érzékelésében játszanak szerepet, és NF $\kappa$ B, valamint MAPK aktivációt indukálnak. A gombák elleni immunválaszban azonban azoknak a NLR-oknak van kiemelkedő szerepe, amelyek az inflammaszómák kialakításában vesznek részt.

## Az inflammaszómák

Az inflammaszómák olyan intracelluláris multiprotein komplexek, amelyek az IL-1 családba tartozó gyulladáshoz vezető citokinek (IL-1 $\beta$ , IL-18) érett formájának kialakításáért felelősek. Általános felépítésükre jellemző, hogy tartalmaznak valamilyen (többnyire az NLR családba tartozó) szenzor fehérjét, amelyhez az ASC (*apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD*) adapteren keresztül pro-kaspáz-1 kapcsolódik. Az ASC adapter két doménből áll, N-terminálisan PYD, C-terminálisan CARD helyezkedik el. A pro-kaspáz-1 szintén CARD domént tartalmaz, így az inflammaszóma összeszerelődésekor a fehérjék PYD-PYD és CARD-CARD interakciókon keresztül kapcsolódnak egymáshoz. A legújabb kutatási eredmények szerint az ASC-tartalmú inflammaszómák filamentáris szerkezetűek: a szenzor fehérjék oligomerizációját ASC filamentumok kialakulása követi, ami a pro-kaspáz-1 multimer kialakulásához szolgál bázisul. A komplex aktivációja során az inaktív pro-kaspáz-1 elhasad, aktív kaspáz-1 enzimet eredményezve, amely a pro-IL-1 $\beta$  és pro-IL-18 elhasításával létrehozza a citokinek bioaktív formáját. Hagyományosan az inflammaszómáknak négy típusát (NLRP1, NLRP3, NLRC4 és AIM2) különböztetjük meg, azonban a közelmúltban újabb komplexeket (pl. NLRP6, NLRP12) is felfedeztek. A legelsőként leírt NLRP1 inflammaszóma NLRP1, ASC, valamint kaspáz-1 és kaspáz-5 fehérjék komplexe. Míg a komplexet egerekben az anthrax letális toxin aktiválja, a kissé eltérő szerkezetű humán NLRP1 inflammaszóma a muramil dipeptidok felismeréséért felelős. Az AIM2 (*absent in melanoma 2*) fehérje a PYHIN fehérjecsaládba tartozik, és PYD doménjén keresztül képes kapcsolódni az ASC-hez, kialakítva így az AIM2 inflammaszómát. A komplexet bakteriális és virális dsDNS aktiválja, és többek között *Listeria monocytogenes* és *Streptococcus pneumoniae* felismerésében játszik szerepet. Az NLRC4 inflammaszómát szintén főként bakteriális kórokozók aktiválják, például *Shigella flexneri* vagy *Salmonella typhimurium*. Ugyan a pro-kaspáz-1 CARD doménjén keresztül közvetlenül is képes az NLRC4-hez kapcsolódni, a kaspáz aktivációhoz szükség van az

ASC adapterre is. Jelenleg az NLRP3 inflammaszómáról van a legtöbb ismeretünk. Az NLRP3 (másik nevén cryopyrin), ASC és pro-kaspáz-1 fehérjékből álló komplexet számos endogén és exogén stimulus aktiválhatja, amelyek lehetnek oldott és partikuláris természetűek is (4. ábra). Gyakran említett aktivátorok például az ATP, nátrium-urát kristályok, alumínium és nigericin. Patogének közül számos baktérium (pl. *Staphylococcus*, *Streptococcus*), vírus (pl. influenza vírus) és gomba (pl. *C. albicans*, ld. később) képes aktiválni az NLRP3 inflammaszómát. A jelenlegi elképzelés szerint ezek az aktivátorok nem közvetlenül az NLRP3 szenzorral lépnek kapcsolatba, hanem bizonyos celluláris eseményeket indukálnak, amelyeket az inflammaszóma érzékeltetni képes. Az inflammaszóma aktivációval leggyakrabban kapcsolatba hozott „veszély” szignálok az intracelluláris  $K^+$  koncentráció csökkenése, reaktív oxigénradikálok képződése, illetve a lizoszóma membrán károsodása. Bár egyre nagyobb ismeretanyag halmozódik fel az inflammaszómákról, aktivációjuk pontos mechanizmusa továbbra sem tisztázott. Számos mechanizmust, illetve molekulát azonosítottak azonban, amelyek az inflammaszóma aktivációt szabályozzák. Az NLRP3 inflammaszóma negatív regulációjában fontos szerepet játszanak többek között az I-es típusú interferonok, a TRIM fehérjék, a nitrogén-monoxid, bizonyos endogén mikroRNS-ek és az autofágia, de a  $CD4^+$  T-sejtekről is kimutatták, hogy gátolhatják az inflammaszóma aktivációt.

## Az IL-1 $\beta$ élettani szerepe

Az IL-1 $\beta$  az egyik legjelentősebb pro-inflammatorikus citokin, amelynek steril gyulladások és mikrobiális fertőzések során is igen fontos szerepe van. Az IL-1 $\beta$ -t főként monociták, makrofágok és dendritikus sejtek termelik, de egyéb sejtípusok is szekretálják. Az IL-1 $\beta$  inaktív formában termelődik (pro-IL-1 $\beta$ ), és proteolitikus hasítást követően alakul ki az érett, bioaktív formája. Noha bizonyos szerin proteázok (pl. proteináz-3, kimotripszin, elasztáz) is képesek az IL-1 $\beta$  érett formájának kialakítására, a legjelentősebb a pro-IL-1 $\beta$  kaspáz-1 általi hasítása inflammaszóma aktivációt követően. Az IL-1 $\beta$  funkciója igen sokrétű; többek között fokozza egyéb gyulladáshoz vezető mediátorok (TNF $\alpha$ , IL-6, kemokinek) termelését, fokozza az NK sejtek aktivációját, serkenti a fagocitózist, valamint hozzájárul a dendritikus sejtek éréséhez és a Th17 sejtek differenciációjához. Ezen kívül hatással van a központi idegrendszerre is, fontos szerepet játszik a lázzal, aluszékonysággal és étvágytalansággal járó az akut-fázis reakció kiváltásában különböző fertőzések során. Fontos kiemelni, hogy az IL-1 $\beta$  túlzott mértékű termelődése krónikus gyulladás kialakulásához vezethet. Számos ún. auto-inflammatorikus szindrómát leírtak, amelyek során súlyos ízületi gyulladás, láz és bőr léziók figyelhetők meg, a tünetek azonban IL-1Ra (IL-1 receptor antagonist) kezelés hatására jelentősen javulnak. Ebbe a betegcsoportba tartoznak az ún. cryopyrin-asszociált periodikus szindrómák (*cryopyrin-associated periodic syndromes*, CAPS), amikor NLRP3 mutáció miatt inflammaszóma hiperaktiváció figyelhető meg.

## Az inflammaszóma aktiváció szerepe a gombák elleni immunválaszban

Több patogén gombáról (*C. albicans*, *A. fumigatus*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *C. neoformans*) is kimutatták, hogy képes aktiválni az NLRP3 inflammaszómát. *C. albicans* fertőzés esetén az inflammaszóma aktivációt fontos szerepet játszik a szervezet védelmében; kimutatták, hogy a kaszpáz-1-, ASC- és NLRP3-deficiens egerek sokkal kevésbé ellenállóak a *C. albicans* fertőzéssel szemben, mint a vad típusú állatok.

Az NLRP3 inflammaszóma aktivációja makrofágokban és dendritikus sejtekben kétlépéses folyamat: elsőként az NLRP3 és pro-IL-1 $\beta$  fehérjék expressziójára van szükség, amelyet mikrobiális fertőzés esetén a PRR-ok aktivációja indukál, majd második lépésben összeszerelődik az inflammaszóma és aktiválódik a kaszpáz-1. A Dectin-1/Syk útvonal különösen fontos szerepet játszik a *C. albicans* által indukált inflammaszóma aktivációban; kimutatták, hogy dendritikus sejtekben a Syk kináz szükséges mind a pro-IL-1 $\beta$  expresszióhoz, mind az inflammaszóma aktivációjához. Míg dendritikus sejtekben a TLR-ek által indukált MyD88 aktiváció nem szükséges az inflammaszóma aktivációhoz, makrofágokban a *C. albicans* által indukált IL-1 $\beta$  termelés TLR2- és Dectin-1-függő. Különböző tanulmányok kimutatták, hogy a fagocitózis, katepszin B aktivitás, ROS termelés és K<sup>+</sup> efflux mind kapcsolatba hozható a *C. albicans* által indukált inflammaszóma aktivációval, azonban ezen mechanizmusok pontos szerepe továbbra sem tisztázott, ráadásul sejttípusonként is eltérő lehet. A hifaképzés szerepe a *C. albicans* által indukált inflammaszóma aktivációban szintén kissé ellentmondásos; míg bizonyos tanulmányok szerint az élesztő-hifa átalakulás esszenciális az aktivációhoz, mások arra a következtetésre jutottak, hogy bizonyos, csak élesztőszerű növekedésre képes *C. albicans* mutánsok is képesek inflammaszóma aktivációt kiváltani, ugyanakkor más mutánsok esetében fonalas növekedés mellett sem történik IL-1 $\beta$  szekréció. Ezen eredmények alapján úgy tűnik, hogy nem a hifák fizikai jelenléte, hanem bizonyos, a fonalas növekedéshez köthető faktorok megváltozott expressziója szükséges az inflammaszóma aktivációjához. A többi inflammaszóma (AIM2, NLRP1, NLRC4) szerepéről gombás fertőzések esetén kevés ismeretünk van; kimutatták azonban, hogy az NLRC4 inflammaszóma szerepet játszik a mukóza védelmében orális candidiázis esetén. Ezzel ellentétben *in vitro* tanulmányok szerint makrofágokban és dendritikus sejtekben a *C. albicans* által indukált IL-1 $\beta$  szekréció független az NLRC4-től.

## A természetes immunitás effektor sejtjei

A természetes immunrendszer effektor sejtjei (neutrofil granulociták, monociták, makrofágok, dendritikus sejtek) kulcsszerepet töltenek be a patogén gombák elleni védekezésben. A neutrofilek szerepét a szervezet védelmében legjobban a neutropéniában szenvedő betegek gombás fertőzésekre való fogékonysága jelzi.

Ezen sejtek legfőbb funkciója a patogének bekebelezése és közvetlen elpusztítása. A neutrofil granulociták általában viszonylag alacsony szinten expresszálják a TLR-eket, viszont membránjukon igen nagy számban találhatóak fagocitotikus recepto-  
 rok, különösen CR3 (*complement receptor 3*) és Fc $\gamma$  receptorok. A neutrofilek igen hatékonyak a gombák szaporodásának megfékezésében; kimutatták például, hogy drasztikus transzkripciós változásokat indukálnak a *C. albicans* sejtjeiben, ami a hifaképzés repressziójához vezet. A neutrofilek mind intracelluláris, mind extracelluláris mechanizmusok segítségével képesek eliminálni a különböző kórokozókat. Fagocitózist követően a bekebelezett patogént tartalmazó fagoszómák lizoszómákkal fuzionálnak, majd különböző hidrolitikus enzimek, antimikrobiális peptidek és reaktív oxigéngyökök segítségével megtörténik a patogén elpusztítása. A reaktív oxigéngyökök képződésében igen fontos szerepet játszik a NADPH-oxidáz, egy több alegységből álló enzimkomplex, amely aktivációt követően szerelődik össze a fagoszóma membránjában. A NADPH-oxidáz a molekuláris oxigént szuperoxiddá alakítja, majd ebből további reaktív intermedierek (hidrogén-peroxid, hidroxil gyök) képződnek. A neutrofilek képesek a *Candida* sejteket ún. extracelluláris csapdák (*neutrophil extracellular trap*, NET) segítségével is elpusztítani.

Ugyan a monociták és makrofágok általában alacsonyabb fungicid aktivitással rendelkeznek, mint a neutrofilek, nagyon fontos szerepük van a patogének elleni gyulladási válasz kialakításában. A monocitákra magas szintű TLR és közepes szintű LR expresszió jellemző, míg makrofággá való differenciációjuk során megőrzi magas TLR expressziójukat, ugyanakkor megnövelik lectin receptoraik számát is. Meg kell azonban jegyezni, hogy a PRR-ok megjelenését a sejt felszínén a sejtek aktivációs állapota, illetve a citokin környezet is nagyban befolyásolja. A *Candida* sejtek felismerése monocitákban és makrofágokban a gyulladási citokin (főként TNF $\alpha$  (*tumor necrosis factor  $\alpha$* ), IL-1 $\beta$  (*interleukin-1 $\beta$* ), IL-6 (*interleukin-6*)) gének megemelkedett expressziójához és intenzív citokin termeléshez vezet. Ezeknek a fehérjéknek egyrészt kulcsszerepük van a fagociták antimikrobiális aktivitásának fokozásában, másrészt fontos szerepet játszanak a CD4<sup>+</sup> T-sejtek polarizációjában is. A gyulladási citokinek protektív szerepét bizonyítja az is, hogy az *il6*<sup>-/-</sup>, *tnfa*<sup>-/-</sup>, és *il1r*<sup>-/-</sup> egerek csökkent rezisztenciát mutatnak az invazív *Candida* fertőzéssel szemben a vad típusú állatokhoz képest.

A dendritikus sejtek mintegy hidat képeznek a természetes és adaptív immunitás között. Dendritikus sejtek különösen nagy számban fordulnak elő a nyálkahártyával borított felszín közelében és a bőrben, ahol hatékony védelmet biztosítanak patogén mikroorganizmusokkal szemben. Különösen nagyszámú mintázatfelismerő receptort hordoznak, a kórokozók fagocitózist követően pedig fontos szerepük van az antigének prezentálásában, és így az adaptív immunválasz elindításában. A dendritikus sejtek is számtalan különféle citokin termelésére képesek, amelyek egyrészt hozzájárulnak a gyulladási válasz kialakításához, másrészt meghatározzák a T-sejtes immunválasz irányát.



A fent említett sejtípusokon kívül az ún. ILC sejtek (*innate lymphoid cells*) is fontos szerepet játszanak a gombák elleni immunválaszban. Ezen sejtek közös jellemzője, hogy limfoid eredetűek, de nem hordoznak antigén-specifikus receptort. Különösen fontos, hogy több ILC populáció is képes IL-17 termelésre, ami fontos szerepet játszik a *C. albicans* elleni immunválaszban.

## A GOMBÁK ELLEN KIALAKULÓ ADAPTÍV IMMUNVÁLASZ

### T-sejtes immunválasz

A fertőzések során kialakuló adaptív immunválasz szorosan összekapcsolódik a természetes immunitással. A szerzett immunitás legfontosabb effektorai a B- és T-limfociták, amelyek rendre a humorális, illetve celluláris immunitás kialakításáért felelősek. A T-limfociták között megkülönböztetünk  $CD4^+$  Th, valamint  $CD8^+$  citotoxikus T-sejteket. Míg a  $CD8^+$  T-sejtek a vírusfertőzött, illetve tumoros sejtek közvetlen eliminációjában játszanak fontos szerepet, a  $CD4^+$  limfociták más immunsejtek (makrofágok, B-limfociták,  $CD8^+$  T-sejtek), illetve egyéb sejtípusok aktivációját és effektor funkcióit szabályozzák. A  $CD4^+$  Th sejtek különösen fontos szerepet játszanak a gombák elleni immunválaszban, amit egyértelműen jelez az AIDS-es betegek (akiknél drasztikusan lecsökkent  $CD4^+$  sejtszám figyelhető meg) fokozott érzékenysége *C. albicans*, *A. fumigatus*, *C. neoformans* és *P. jirovecii* fertőzéssel szemben. A  $CD^+$  Th sejteket funkcióik és citokin profiljuk alapján különböző populációkra oszthatjuk. Míg hagyományosan a Th sejtek két nagy csoportját (Th1 és Th2) különítették el, később felfedezték a  $CD4^+$   $CD25^+$  regulátoros T-sejteket (Treg), majd a Th17 populációt (5. ábra). A naiv T limfociták effektor sejtekké történő differenciálódásának első lépése a T-sejt receptor (TCR) aktivációja az APC által MHC I vagy MHC II molekulákon prezentált antigénekkal való kölcsönhatás következtében. A Th polarizációt (a Th1, Th2, Th17, Treg vonalak kialakulását) sok faktor szabályozza, többek között a citokin környezet, az antigén koncentrációja, az APC típusa, illetve a kostimulációs molekulák jelenléte. Mivel a különböző PRR-ek aktivációja meghatározza az APC által szekretált citokinek spektrumát, ezek a receptorok kulcsszerepet játszanak a Th sejtek differenciációjának szabályozásában. Míg az antigén stimulus megszűnése (a fertőző ágens eliminációja) után az effektor T-sejtek túlnyomó többsége elpusztul, a sejtek néhány százaléka hosszú életű  $T_{CM}$  (*T central memory*) és  $T_{EM}$  (*T effector memory*) memóriasejtekké differenciálódik.

## Th1 sejtek

A Th1 sejtek differenciálódásához szükséges legfontosabb citokin az antigén prezentáló sejtek által termelt IL-12. A Th1 sejtek nagy mennyiségben termelnek IFN $\gamma$ -t, ami a fagociták aktivációjának fokozása által kulcsszerepet játszik az intracelluláris patogének elleni védelemben. Továbbá, a Th1 sejtek indukálják az opszonizáló antitestek szintézisét, ami szintén hozzájárul a hatékony fagocitózishoz. A Th1 irányú differenciálódást számos transzkripciós faktor szabályozza, azonban a T-bet-nek van a legfontosabb szerepe. A T-bet expresszió nagyban fokozza az IFN $\gamma$  termelést, ugyanakkor szuppresszív hatással van a Th2 és Th17 vonalak fejlődésére. Számos példa bizonyítja, hogy gombás fertőzések esetén a Th1 irányú differenciáció szükséges a patogének hatékony eliminációjához. Az IFN $\gamma$  szerepét jelzi például, hogy az IFN $\gamma$  deficiens egerek sokkal fogékonyabbak az invazív candidiázis-ra, mint a vad típusú állatok. A Th1 válasz pro-tekív szerepét továbbá *H. capsulatum* és *A. fumigatus* fertőzés esetén is bizonyították.

## Th2 sejtek

A Th2 sejtek az extracelluláris paraziták elleni védelemben, valamint allergiás folyamatokban játszanak fontos szerepet. A Th2 sejtek differenciációjához IL-4-re és a GATA-3 transzkripciós faktor expressziójára van szükség; a Th2 sejtek által termelt legfontosabb citokinek az IL-4, IL-5, IL-13 és IL-10. A Th2 irányú válasz általában hátrányosnak tekinthető a gombás fertőzések kimenetele szempontjából. A Th2 sejtek csökkentik a Th1 sejtek antimikrobiális effektor funkcióit, valamint alternatív makrofág aktivációt indukálnak, ami a patogének eliminációja helyett a fertőzés perzisztenciáját segíti elő. A Th2 irányú válasz negatív hatását jól példázza az a tanulmány, amelyben bemutatták, hogy a vad típusú állatokhoz képest a GATA-3 overexpresszáló egerek csökkent túlélést mutatnak a szisztémás candidiázis esetén. Ezekben az egerekben a makrofágok aktivációja nem volt megfelelő, exogén IFN $\gamma$  adása azonban visszaállította a normál fagocita funkciókat és jelentősen fokozta az állatok túlélését. Humán betegekben is megfigyelték, hogy a krónikus gombás fertőzések (pl. *C. neoformans*, *H. capsulatum*) esetében többnyire Th2-domináns válasz mutatható ki. *C. albicans* esetén kimutatták, hogy míg az élesztő formát felismerő dendritikus sejtek Th1 irányú választ indukálnak, a hifákkal kapcsolatba került fagociták a Th2-domináns válasz kialakulását segítik elő. Ennek hátterében az áll, hogy a hifák sejtfalában a  $\beta$ -glükán nem hozzáférhető a Dectin-1 számára, ami egyfajta túlélési stratégia a patogén részéről.

## Th17 sejtek

A Th17 populáció kiemelkedő szerepét gombás fertőzések során mintegy tíz évvel ezelőtt fedezték fel, és azóta igen jelentős ismeretanyag halmozódott fel róluk. A Th17 sejtek fejlődésükhöz TGF $\beta$ -t, IL-6-ot, IL-1 $\beta$ -t és IL-23-at igényelnek; fő

szabályozó transzkripció faktoruk a ROR $\gamma$ t. Legfontosabb effektor citokinjeik a az IL-17, IL-21 és IL-22. Az IL-17 intenzív gyulladásos választ indukál, számos citokin (pl. IL-6, GM-CSF) és kemokin (pl. KC, IL-8, RANTES) termelését serkenti, kulcsszerepet játszik a neutrofilek fertőzés helyére történő vándorlásának szabályozásában. Az IL-22 szintén lehet pro-inflammatorikus hatású (számos sejt típusban fokozza különböző citokinek és kemokinek szintézisét), ugyanakkor fontos szerepet játszik a mukóza védelmében különböző gyulladáscsökkentő antimikrobiális peptidok (S100A8, S100A9) szekréciójának fokozása által. Az első tanulmány, amely az IL-17 gombás fertőzések elleni védő szerepét bizonyította, 2004-ben készült: ebben kimutatták, hogy az IL-17R (IL-17 receptor) mutáns egerek fokozott érzékenységet mutatnak szisztémás *C. albicans* fertőzéssel szemben a vad típusú állatokhoz képest. Azóta a Th17 populáció, illetve az IL-17 kritikus szerepét gombás fertőzések során számos tanulmány megerősítette. Kimutatták, hogy a Th17 populáció fontos szerepet játszik orális candidiázis elleni védelemben is, a Th17 deficiens egerek ugyanis fogékonyabbak erre a fertőzésre. Megfigyelték továbbá, hogy a CMC-ban szenvedő betegek perifériás véréből származó mononukleáris sejtek *C. albicans*-szal való stimulációt követően szignifikánsan kevesebb IL-17-et és IL-22-t termelnek, mint az egészséges donorokból származó sejtek; továbbá, az IL-17R mutációt a CMC egyik lehetséges kiváltó okaként azonosították. A Th17 differenciációban több CLR (Dectin-1, Dectin-2, mannóz receptor) is fontos szerepet játszik. A Dectin-1 vagy CARD9 mutációt hordozó betegek szintén fogékonyak a CMC-ra, aminek a hátterében a defektív IL-17 válasz áll. A Th17 populáció szerepét azonban nemcsak *C. albicans*, hanem *C. neoformans*, *H. capsulatum* és *P. braziliensis* fertőzés esetén is bizonyították. A Th17 differenciációban az inflammaszóma aktivációnak is fontos szerepe van; a kaszpáz-1 vagy ASC deficiens egerekből származó splenociták drasztikusan csökkent IL-17 termelést mutatnak.

## Treg sejtek

A regulátoros T-sejtek anti-inflammatorikus funkcióik révén fontos szerepet játszanak a gyulladásos válasz szabályozásában. Többek között IL-10-et és TGF $\beta$ -t termelnek, amelyeknek fontos szerepe van a gyulladásos folyamatok gátlásában, és így a szöveti károsodás megelőzésében. A fertőzés jellegétől függően azonban a Treg-ek jelenléte egyaránt lehet protektív vagy hátrányos. Míg a Treg hiányos egerek rezisztenciája jelentősen megemelkedik *H. capsulatum* és disszeminált *C. albicans* fertőzéssel szemben, *Pneumocystis* fertőzés esetén a Treg-ek jelenléte jelentősen csökkenti a tüdőben kialakuló gyulladást és szöveti károsodást, így pozitív hatású a betegség kimenetele szempontjából. Továbbá, fiziológias körülmények között a Treg-ek által termelt IL-10-re szükség van a normál mikrobiális egyensúly és tolerancia fenntartásához.

## CD8<sup>+</sup> T-sejtek

A citotoxikus T-limfocitáknak általában kisebb szerepet tulajdonítanak a gombák elleni védekezésben, mint a Th populációnak, azonban több tanulmány is megerősíti, hogy fontosak lehetnek a gombaellenes immunválaszban. Kimutatták például, hogy a CD8<sup>+</sup> sejtek képesek gátolni a *C. albicans* hifák növekedését *in vitro*. Orális candidiázisban szenvedő HIV fertőzöttekben a CD8<sup>+</sup> sejtek infiltrációja mutatható ki a szájnyálkahártyában, jelezve ezen sejtek szerepét az immunválaszban. CD4<sup>+</sup> T-sejt hiányos egér modellben a CD8<sup>+</sup> sejtek fontos szerepet játszanak az orális candidiázis elleni védelemben. *H. capsulatum* fertőzés esetén leírták, hogy a dendritikus sejtek képesek az extracelluláris antigéneket MHC I molekuláikon prezentálni (krossz-prezentáció) és így hatékony CD8<sup>+</sup> választ kiváltani. Ezen túlmenően a CD8<sup>+</sup> sejtek protektív szerepét *C. neoformans* és *P. carinii* fertőzés esetén is kimutatták.

## γδT-sejtek

A kis diverzitású γδTCR-rel rendelkező γδT-sejtek a természetes és adaptív immunitás határán helyezkednek el, mert egyrészt képesek antigén-specifikus adaptív választ kiváltani, másrészt bizonyos stimulusok által közvetlenül is aktiválhatók. A γδT-sejtek főleg a perifériás szövetekben lokalizálódnak, és intenzív IL-17 termelésre képesek. Az utóbbi években, több tanulmányban is kimutatták a γδT-sejtek szerepét a *C. albicans* fertőzés elleni immunválaszban. Dejima és munkatársai kimutatták, hogy szisztémás candidiázis esetén a γδT-sejtek által termelt IL-17 a tüdőben nélkülözhetetlen a neutrofil infiltrációhoz. Egy másik tanulmány arról számol be, hogy orális candidiázis esetén a helyileg termelődő IL-17 túlnyomórészt γδT-sejtekből és ún. természetes Th17 sejtekből (nTh17) származik. A γδT-sejtek tehát fontos szerepet játszanak candidiázis esetén a mukóza védelmében.

## B-sejtes immunválasz

Noha gombás fertőzések során sok esetben kimutathatóak a vérből antigén-specifikus immunglobulinok, ezek tényleges protektív szerepére minimális bizonyíték van. Ugyanakkor számos tanulmányban kimutatták, hogy gomba antigének ellen termeltetett monoklonális antitestek védelmet biztosítanak *C. albicans*, *C. neoformans* és *H. capsulatum* fertőzés ellen. A jövőben azonban mindenképpen további kutatásokra lesz szükség a B-sejtes immunválasz gombás fertőzések során játszott szerepének megértéséhez.

## AJÁNLOTT IRODALOM

Abad A, Fernández-Molina JV, Bikandi J, Ramírez A, Margareto J, Sendino J, Hernando FL, Pontón J, Garaizar J, Rementeria, A. (2010) What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved in invasive aspergillosis. *Rev Iber Micol* 27, 155-182.

Brown, G. D., Gordon, S. (2001). "Immune recognition. A new receptor for beta-glucans." *Nature* 413 6851, 36-37.

Butler, G., Rasmussen, M. D., Lin, M. F., Santos, M. A., Sakthikumar, S., Munro, C. A., . . . Cuomo, C. A. (2009). "Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes." *Nature* 459 7247, 657-662.

De Bernardis, F., Agatensi L, Ross IK, Emerson GW, Lorenzini R, Sullivan PA, Casone A. (1990) Evidence for a role for secreted aspartate proteinase of *Candida albicans* in vulvovaginal candidiasis. *J Infect Dis* 161 6, 1276-83.

de Groot PW, Bader O, de Boer AD, Weig M, Chauhan N (2013) Adhesins in human fungal pathogens: glue with plenty of stick. *Eukaryotic Cell* 12, 470-481.

Gacser, A., Salomon, S., Schafer, W. (2005). "Direct transformation of a clinical isolate of *Candida parapsilosis* using a dominant selection marker." *FEMS Microbiol Lett* 245 1, 117-121.

Gacser, A., Trofa, D., Schafer, W., Nosanchuk, J. D. (2007b). "Targeted gene deletion in *Candida parapsilosis* demonstrates the role of secreted lipase in virulence." *J Clin Invest* 117 10, 3049-3058.

Ghannoum MA (2000) Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 13, 122-143.

Gomes MZ, Lewis RE, Kontoyiannis DP (2011) Mucormycosis caused by unusual mucormycetes, non-*Rhizopus*, -*Mucor*, and -*Lichtheimia* species. *Clin Microbiol Rev* 24, 411-445.

Heinekamp T, Thywißen A, Macheleidt J, Keller S, Valiante V, Brakhage AA (2012) *Aspergillus fumigatus* melanins: interference with the host endocytosis pathway and impact on virulence. *Front Microbiol* 3, 440.

Howard DH (2002) *Pathogenic fungi in humans and animals*. CRC Press.

Horváth P (2014) *Candida parapsilosis* szekretált aszpartil proteinázok virulenciában betöltött szerepének vizsgálata. Doktori Értekezés; Témavezető: Dr. Gácsér Attila SZTE Biológia Doktori Iskola, Szeged,

<http://doktori.bibl.u-szeged.hu/2183/1/Doktori%20disszertacio%20HP.pdf>

Hube, B., J. Naglik (2001) *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. *Microbiology* 147 Pt 8, 1997-2005.

Ibrahim AS, Gebremariam T, Lin L, Luo G, Husseiny MI, Skory CD, Fu Y, French SW, Edwards JE, Spellberg B (2010) The high affinity iron permease is a key virulence factor required for *Rhizopus oryzae* pathogenesis. *Mol Microbiol* 77, 587-604.

Ibrahim AS, Spellberg B, Walsh TJ, Kontoyiannis DP (2012) Pathogenesis of mucormycosis. *Clin Infect Dis* 54(S1), S16-S22.

Jacobson ES (2000) Pathogenic roles for fungal melanins. *Clin Microbiol Rev* 13, 708-717.

Kanafani ZA, Perfect JR (2008) Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis* 46, 120-128.

Kędzierska A, Kochan P, Pietrzyk A, Kędzierska J (2007) Current status of fungal cell wall components in the immunodiagnostics of invasive fungal infections in humans: galactomannan, mannan and (1→3)-β-D-glucan antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26, 755-766.

Kosmidis C, Denning DW (2015) The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Thorax*, 70, 270-277.

Kousha M, Tadi R, Soubani AO (2011) Pulmonary aspergillosis: a clinical review. *Eur Resp Rev* 20, 156-174.

Kwon-Chung KJ (2012) Taxonomy of fungi causing mucormycosis and entomophthoromycosis (zygomycosis) and nomenclature of the disease: molecular mycologic perspectives. *Clin Infect Dis* 54(S1), S8-S15.

Leach MD, Cowen LE (2013) Surviving the heat of the moment: a fungal pathogens perspective. *PLoS Pathog* 9, e1003163.

Liu D (2011) *Molecular detection of human fungal pathogens*. CRC Press.

McCormick A, Loeffler J, Ebel F (2010) *Aspergillus fumigatus*: contours of an opportunistic human pathogen. *Cell Microbiol* 12, 1535-1543.

Morschhäuser J (2010) Regulation of multidrug resistance in pathogenic fungi. *Fungal Genet Biol* 47, 94-106.

Nyilasi I (2008) A vasfelvételben szerepet játszó gének molekuláris jellemzése opportunista patogén járomspórás gombákban. Doktori Értekezés; Témavezetők: Dr. Vágvolgyi Csaba, Dr. Papp Tamás; SZTE Biológia Doktori Iskola, Szeged, [http://www2.sci.u-szeged.hu/fokozatok/PDF/Nyilasi\\_Ildiko/doktori\\_disszertacio\\_Nyilasi\\_Ildiko.pdf](http://www2.sci.u-szeged.hu/fokozatok/PDF/Nyilasi_Ildiko/doktori_disszertacio_Nyilasi_Ildiko.pdf)

Philpott CC (2006) Iron uptake in fungi: a system for every source. *Biochim Biophys Acta* 1763, 636-645.

Prabhu RM, Patel R (2004) Mucormycosis and entomophthoromycosis: a review of the clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Infect* 10(S1), 31-47.

Tóth A (2015) Az opportunista humánpatogén *Candida parapsilosis* élesztőgomba elleni természetes és adaptív immunválasz vizsgálata Doktori Értekezés; Témavezető: Dr. Gácsér Attila SZTE Biológia Doktori Iskola, Szeged, [http://doktori.bibl.u-szeged.hu/2592/1/Doktori%20értekezés\\_Tóth%20Adél.pdf](http://doktori.bibl.u-szeged.hu/2592/1/Doktori%20értekezés_Tóth%20Adél.pdf)

Revankar SG, Sutton DA (2010) Melanized fungi in human disease. *Clin Microbiol Rev* 23, 884-928.

Ribes JA, Vanover-Sams CL, Baker DJ (2000) Zygomycetes in human disease. *Clin Microbiol Rev* 13, 236-301.

Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, Knudsen TA, Sarkisova TA, Schaufele RL, Sein M, Sein T, Chiou CC, Chu JH, Kontoyiannis DP, Walsh TJ (2005) Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. *Clin Infect Dis* 41, 634-653.

