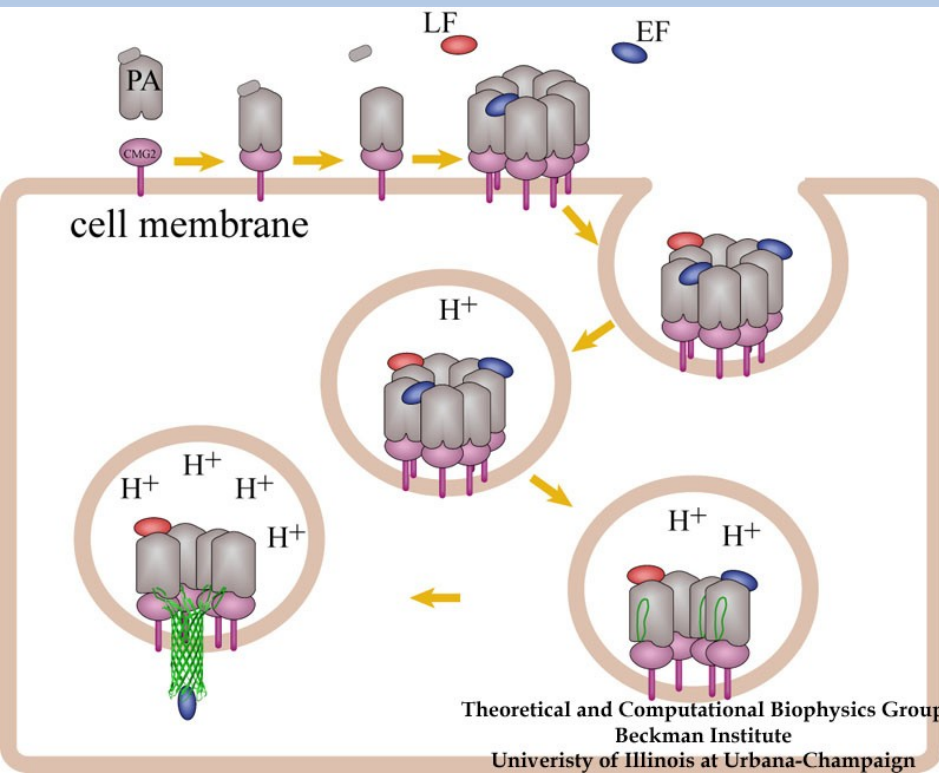


Struktury vybraných bakteriálních toxinů

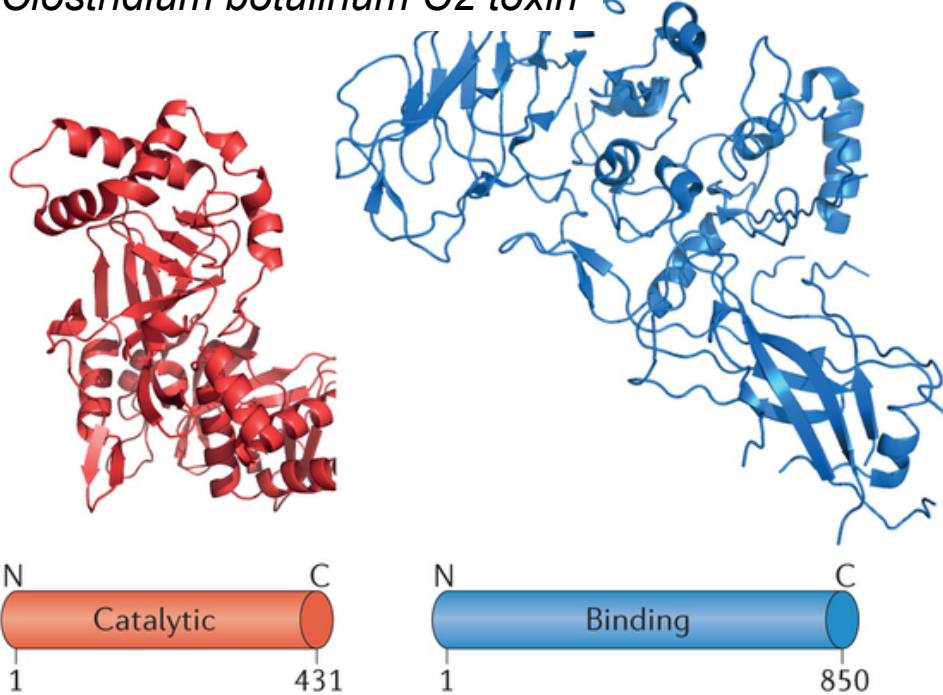
zodpovědné za toxicitu a invazivitu

Enzymy; peptidy způsobující póry v membráně; superantigeny

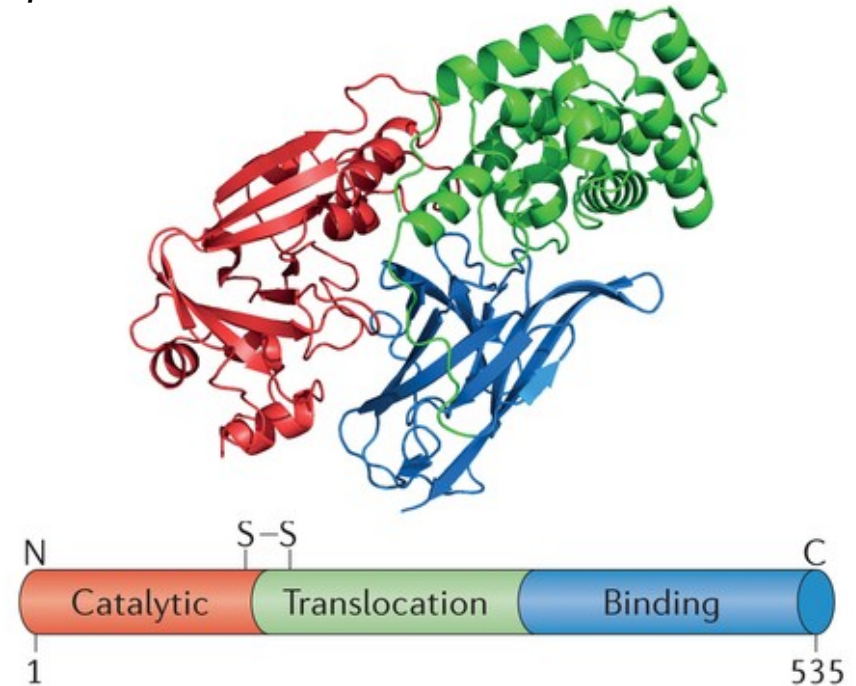


A a B doména

Clostridium botulinum C2 toxin



diphtheria toxin



A..... Katalytická fce - modifikace proteinů hostitele 
B..... Vazebná doména



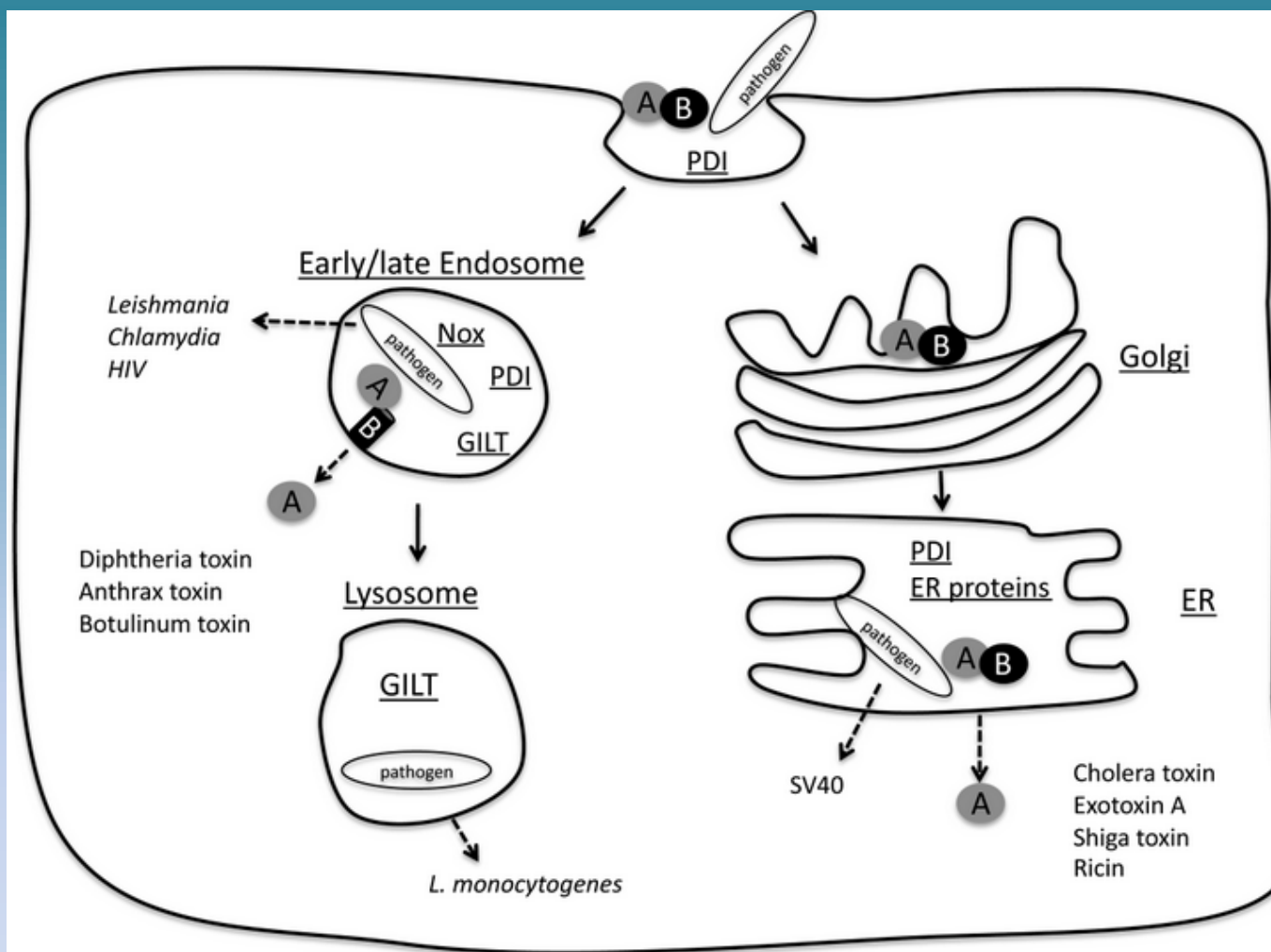
Vstup toxinů do cílové buňky

- Dva mechanismy vstupu přes membránu:
 - 1) přímý vstup po vazbě B jednotky na **receptor** a vytvoření **póru** v membráně pro transport A podjednotky do CPL
 - 2) vazba A+B komplexu na receptor, ten zprostředkuje **endocytózu**. Uvnitř endozomu přibývá H⁺ iontů a okyseluje se, to vede k oddělení jednotek. B podjednotka následně napomáhá průniku A jednotky
- Některé toxiny vstupují oběma cestami.
- Podobná enzymatická fce nemusí znamenat stejnou cestu vstupu (př. anthrax a adenylát cykláza *Bordetella pertusis* - obojí katalyzují produkci cAMP z rezerv ATP, ale anthrax vstupuje receptorem)

Roles of Cellular Redox Factors in Pathogen and Toxin Entry in the Endocytic Pathways

Jianjun Sun

[1] Department of Biological Sciences, University of Texas at El Paso, El Paso, TX, USA



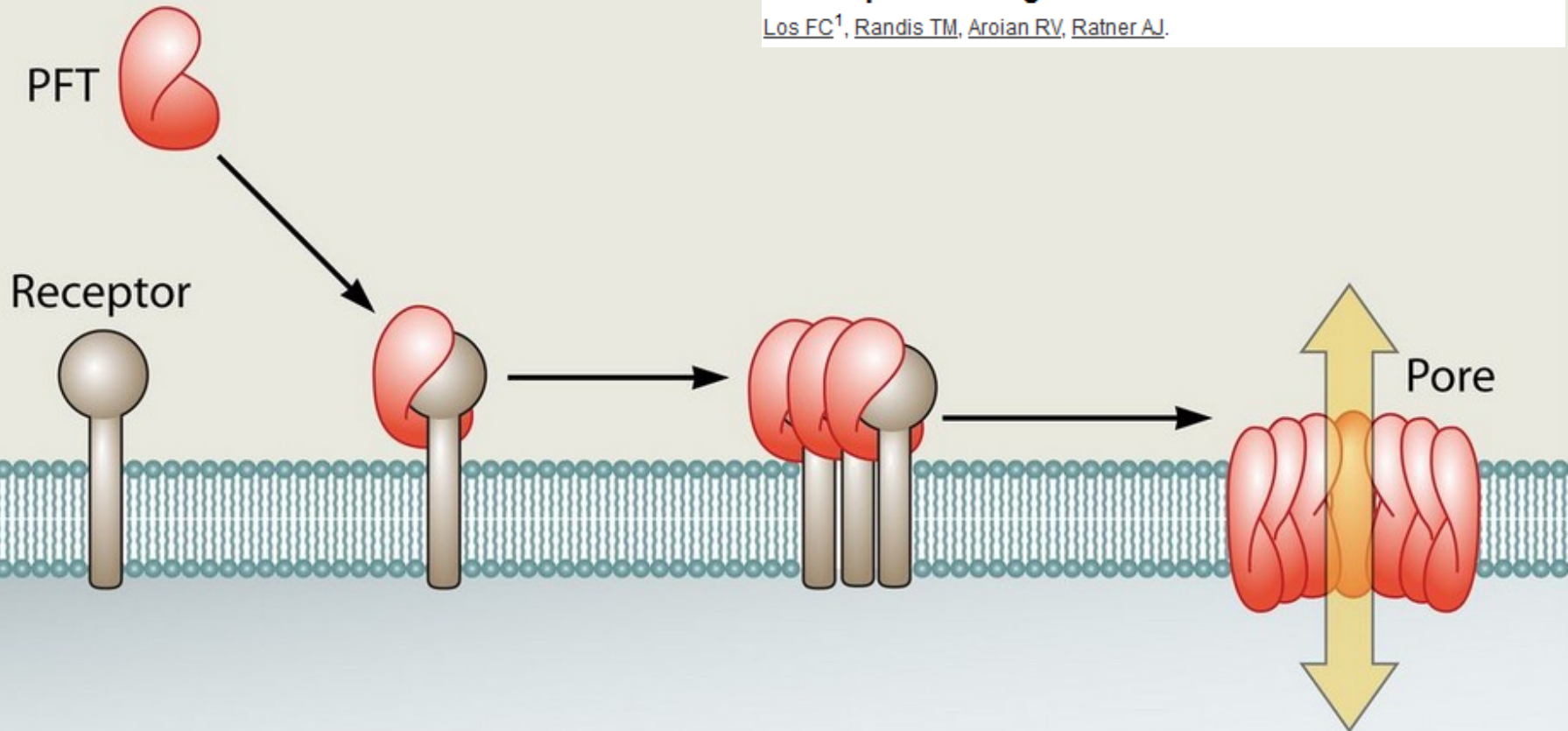
účasť redoxných faktorů: PDI - protein disulfide isomerase
 GILT - γ -interferon inducible lysosomal thiol reductase
 Nox - NADPH oxidase

Póry formující toxiny



Role of pore-forming toxins in bacterial infectious diseases.

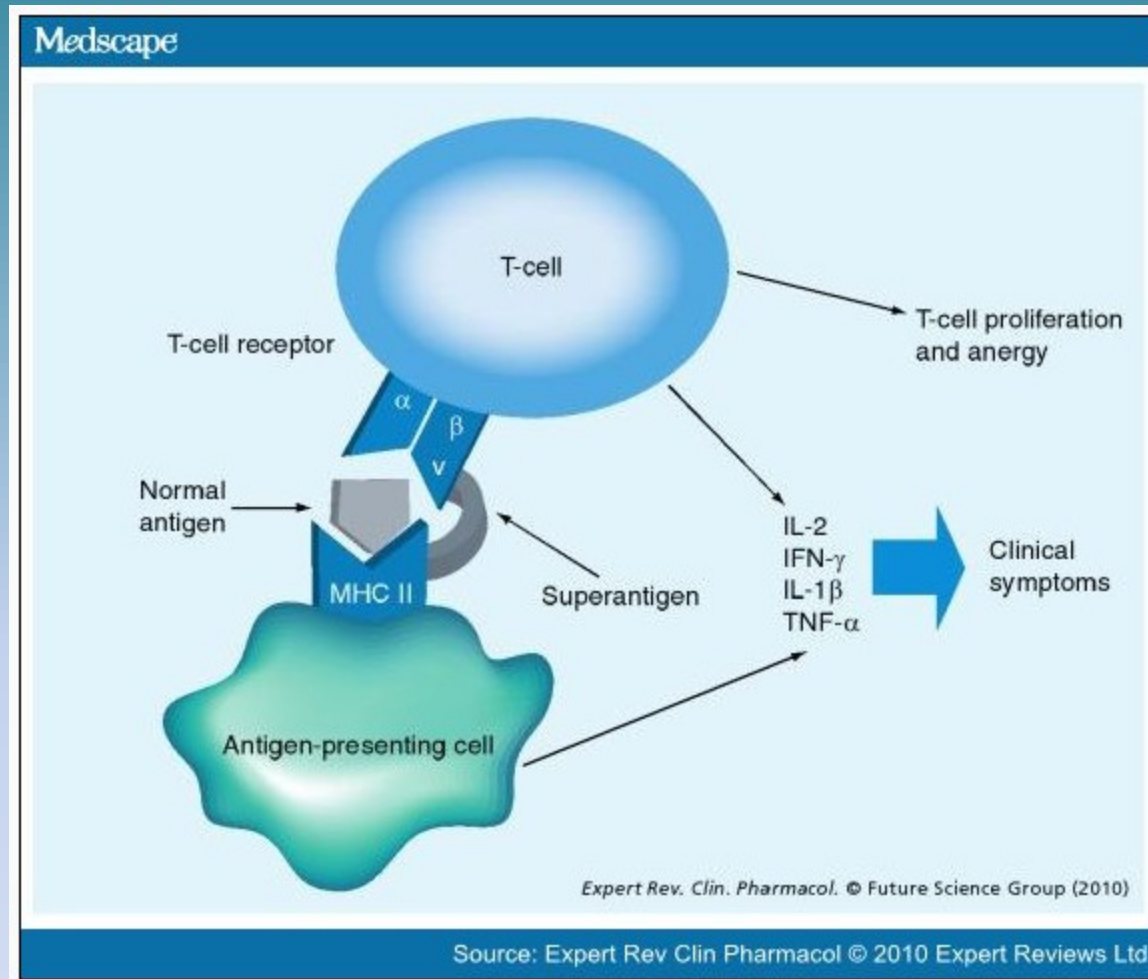
Los FC¹, Randis TM, Aroian RV, Ratner AJ.



Póry formující toxiny

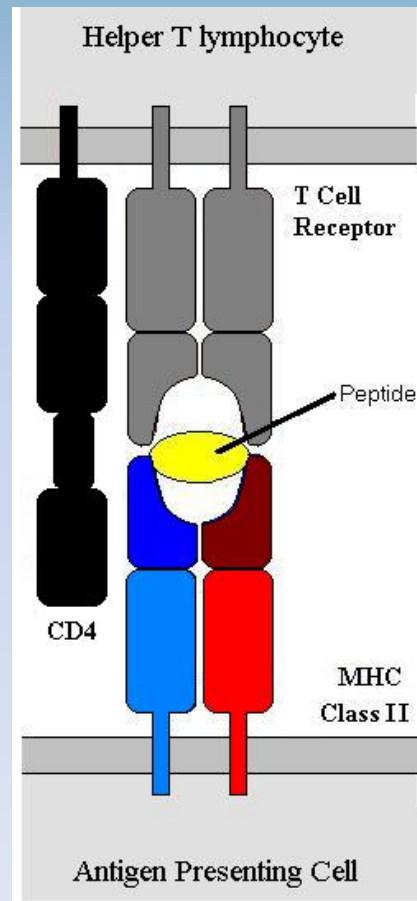
Toxin	species	prostup	nemoc
perfringiolysin O	<i>Clostridium perfringens</i>	cholesterol	gas gangrene
hemolysin	<i>Escherichia coli</i>	cell membrane	UTI
listeriolysin	<i>Listeria monocytogenes</i>	cholesterol	systemic; meningitis
anthrax EF	<i>Bacillus anthracis</i>	cell membrane	anthrax (edema)
alpha toxin	<i>Staphylococcus aureus</i>	cell membrane	abcesses
pneumolysin	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	cholesterol	pneumonia; otitis media
streptolysin O	<i>Streptococcus pyogenes</i>	cholesterol	strep throat
leukocidin	<i>Staphylococcus aureus</i>	phagocyte membrane	pyogenic infections

Superantigeny



Superantigen mechanism of action. Superantigens bind to MHC class II molecules of antigen presenting cells (i.e., macrophages) and Vβ region of T-cell receptor in a non-antigen-specific manner, which leads to massive release of cytokines and chemokines, as well as the clonal expansion of certain clonal types of T cells.

- rezistentní k proteázám a denaturaci teplem
- nespecificky se vážou na molekuly MHC II → aktivace T lymfocytů (jejich proliferace a diferenciaci) → produkce zvýšeného množství prozánětlivých faktorů (TNF- α , IL-2, IFN- γ)






Bakteriální exotoxiny

- Vylučovány **živými buňkami v exp. fázi**
- Produkovány **G+ i G-** bakteriemi
- **Proteiny, málo polypeptidy** (př: enzymy)
- Vážou se obvykle na **specifické receptory** – GP, sialoglykosidy (G proteiny)
- Kódovány geny **plazmidů**
- **Termolabilní**; inaktivovány při 60 °C

- Produkovány: *V. cholerae*, enterotoxigenní *E. coli* (ETEC), některé kmeny *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*, *Y. enterocolitica*, *Aeromonas* sp., *Cl. perfringens*

Bakteriální exotoxiny a makroorganismus

- **Vysoce toxické**, pro zvířata letální i v malých dávkách 
- Vysoce **antigenní**, stimulují vznik antitoxinu
- Spojené s **průjmovými onemocněními a otravami z potravin**
- Většinou působí v místě vzdáleném bráně vstupu (**invazivní**)
 - botulin, tetanospazmin
- Specificky toxické – botulin, tetanospazmin – neurony
- Nespecificky toxické - pro celou řadu cílových buněk, nekróza
 - kolagenáza, hyaluronidáza, streptokináza, fosfolipáza, lecitináza, hemolyziny, leukocidiny
- Neindukují horečnaté stavy; zvyšují hladinu nitrobuněčného cAMP (choleratoxin stimuluje kinázu A); inhibují syntézu proteinů (difterický toxin), mají afinitu k nervovým vláknům

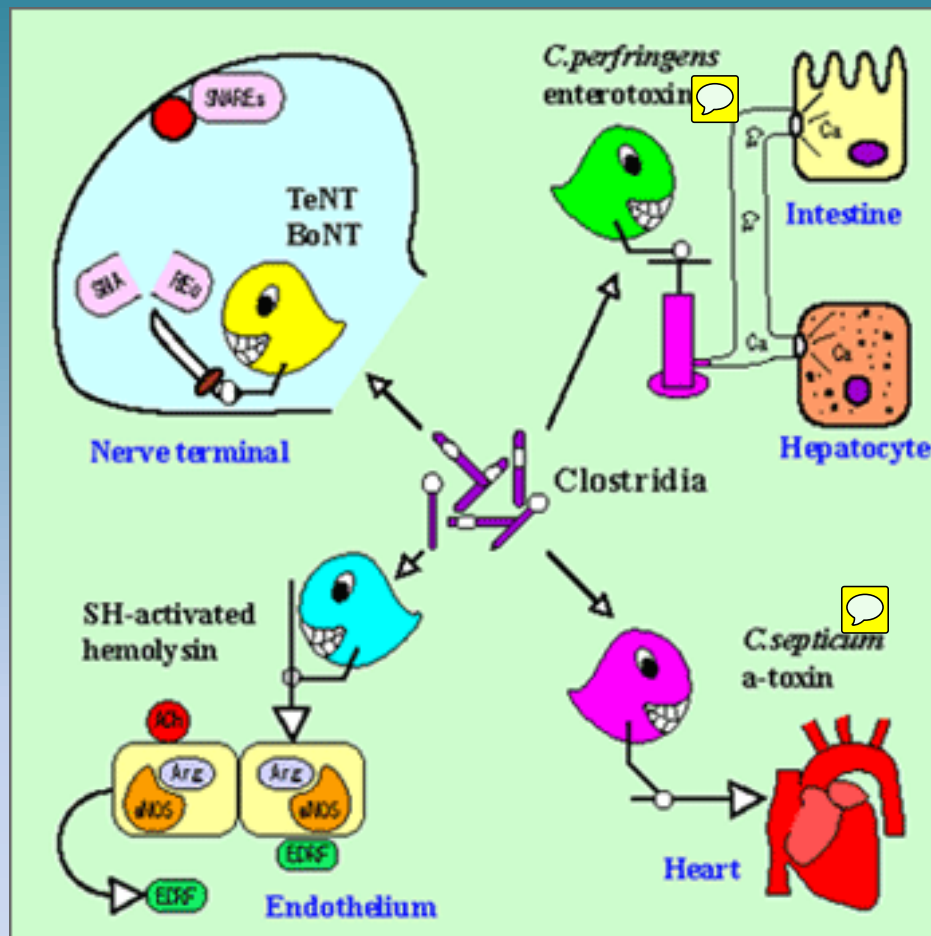
Bakteriální exotoxiny jako vakcíny



- **Konvertovatelné na toxoidy** – modifikované toxiny
 - Agens pro imunizaci
- nejsou toxické, pouze antigenní, použití ve vakcínách (př: difterický toxoid, tetanový o.)
- konverze exotoxinů do toxoidů např. působením formalinu, jodu, kys. askorbové, pepsinu, ketonů (směs: 37 °C, v rozmezí pH 6 – 9; několik dnů)

Letalita bakteriálních exotoxinů

Toxin	Toxic Dose (mg)	Host	Lethal toxicity	compared with:	
			Strychnine	Endotoxin (LPS)	Snake Venom
Botulinum toxin	0.8×10^{-8}	Mouse	3×10^6	3×10^7	3×10^5
Tetanus toxin	4×10^{-8}	Mouse	1×10^6	1×10^7	1×10^5
Shiga toxin	2.3×10^{-6}	Rabbit	1×10^6	1×10^7	1×10^5
Diphtheria toxin	6×10^{-5}	Guinea pig	2×10^3	2×10^4	2×10^2



Clostridium tetani, *Clostridium botulinum* – SNARE proteiny (hrají zásadní roli ve splývání membránových váčků v buňkách)

Clostridium perfringens - poškození epiteliální buněčné vrstvy


Clostridium septicum - srdce

Bakteriální endotoxiny

- **Endotoxiny** – součásti buněčné stěny G- bakterií, lipopolysacharid
- uvolnitelné lyzí buňky
- Nemají specifický receptor
- Mírně toxické; ve větších dávkách letální pro zvířata
- Termostabilní; toxicita zachována často i při vícehodinovém působení 60 °C
- Slabě antigenní
- Nekonvertovatelné na toxoid
- Syntéza řízena geny nukleoidu

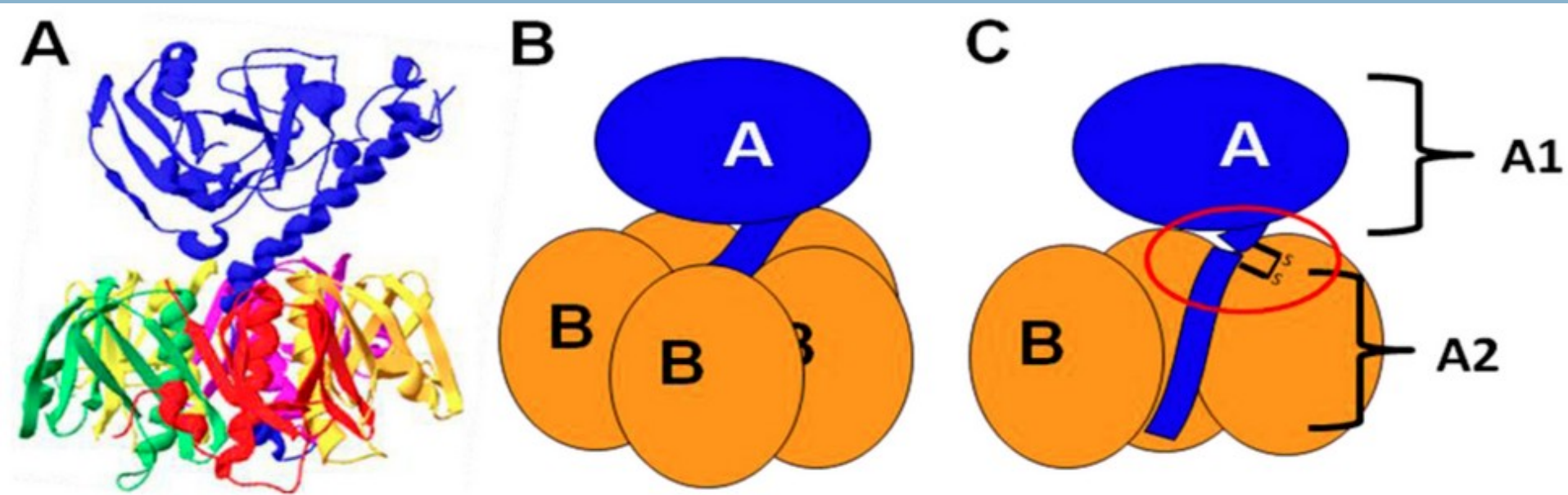


Bakteriální endotoxiny a makroorganismus

- **Účinky endotoxinů** – shodují se u většiny G- bakterií 
 - horečka – působí na makrofágy, uvolňuje se IL-1, působí na centrum termoregulace
 - leukopenie – může být následována leukocytózou
 - hypoglykémie – LPS způsobuje glykolýzu v buňkách různého typu a vede k hypoglykémii
 - septický šok – při bakteriémii
 - diseminovaná intravaskulární koagulace DIC – iniciováno aktivací koagulační kaskády, která vede ke konverzi fibrinogenu na fibrin; endotoxin způsobí adhezi destiček na endotelium cév, aktivuje přeměnu plazminogenu na plazmin
 - smrt (septický šok; DIC)

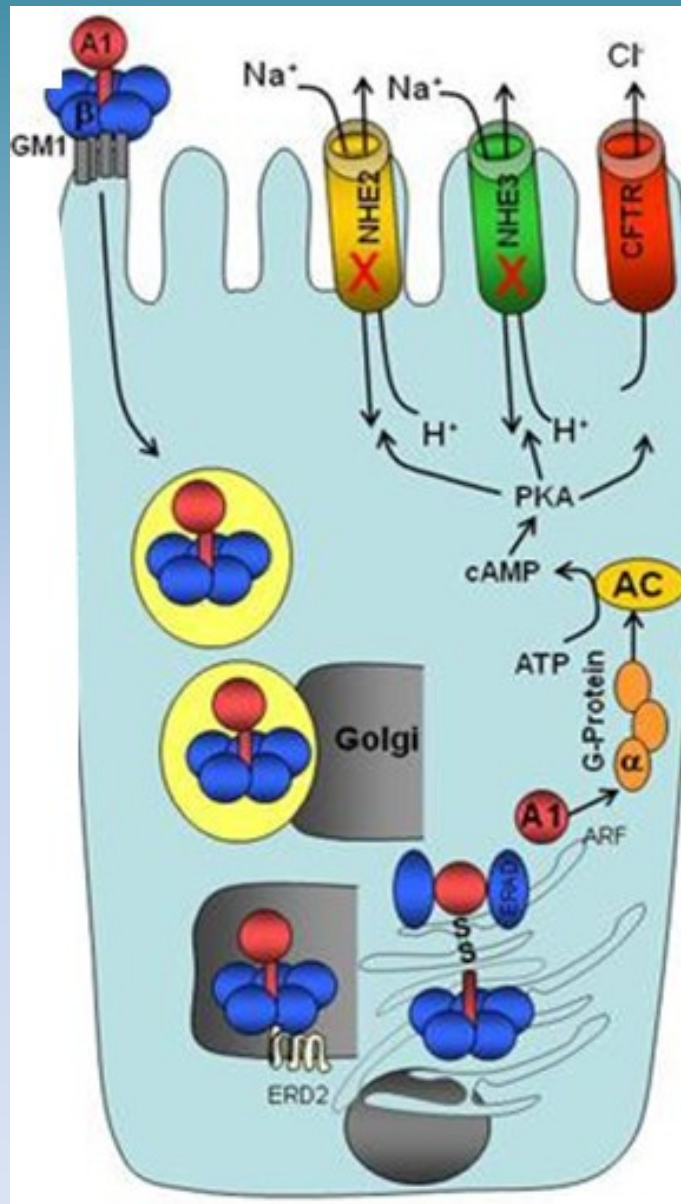
Enterotoxigenní *E. coli*

a) Tepelně labilní enterotoxin – dvě skupiny (LT-I, LT-II), jedna podjednotka A, pět podjednotek B



Heat-Labile Enterotoxin: Beyond G_{M1} Binding

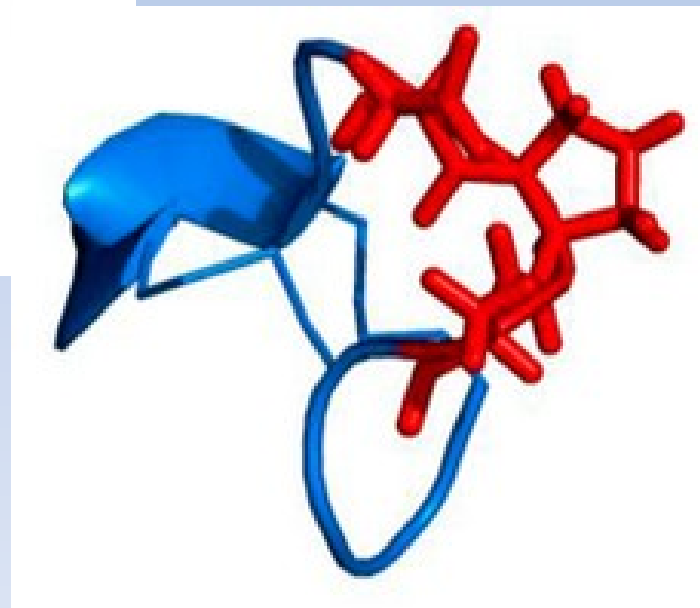
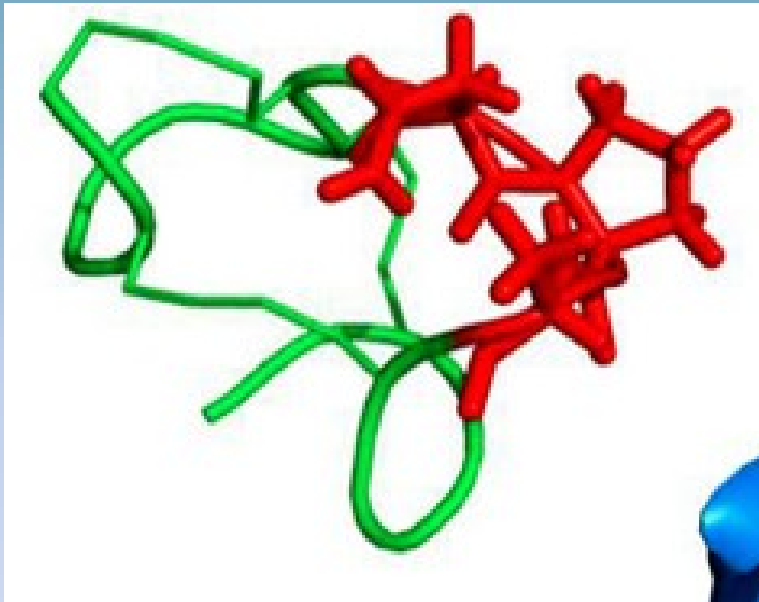
Benjamin Mudrak¹ and Meta J. Kuehn^{2,*}



From *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin to mammalian endogenous guanylin hormones

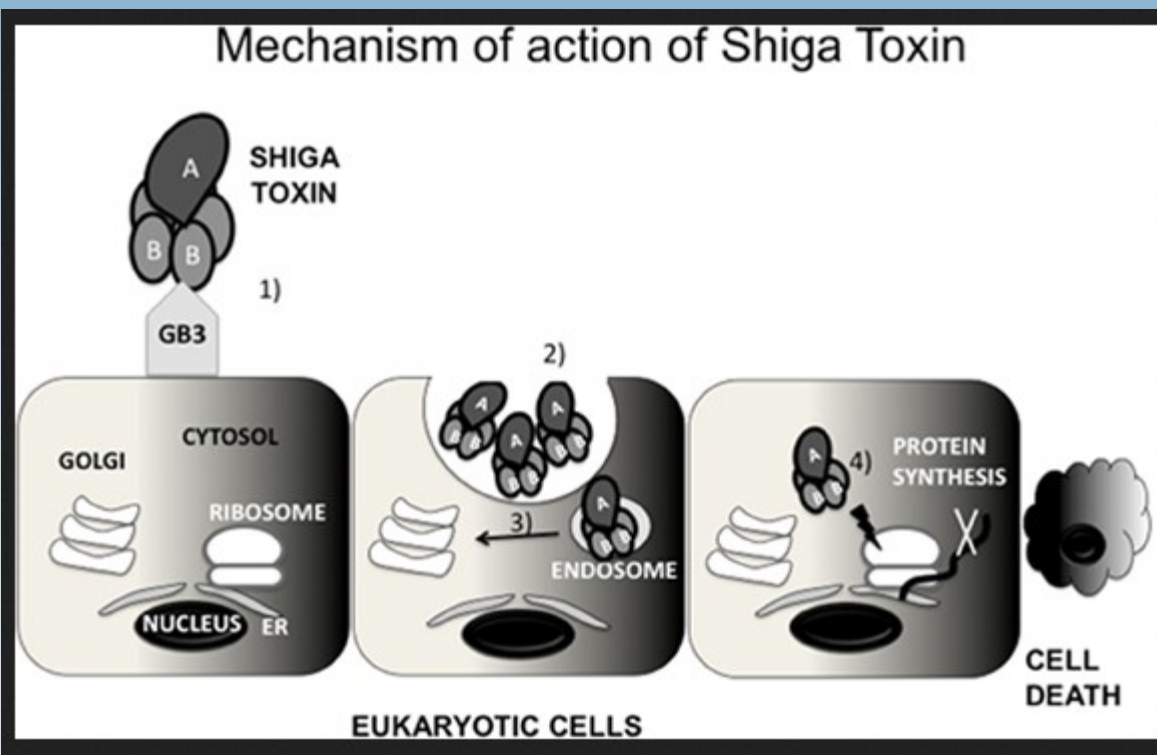
A.A.M. Lima¹, M.C. Fonteles^{1 2}


b) Tepelně stabilní enterotoxin – malé monomery s mnoha cysteinovými zbytky, pospojovaných disulfidickými můstky (stabilita), dvě skupiny STa a STb



Enterohemoragická/Shigatoxigenní *E. coli*

shigatoxin 1, shigatoxin 2

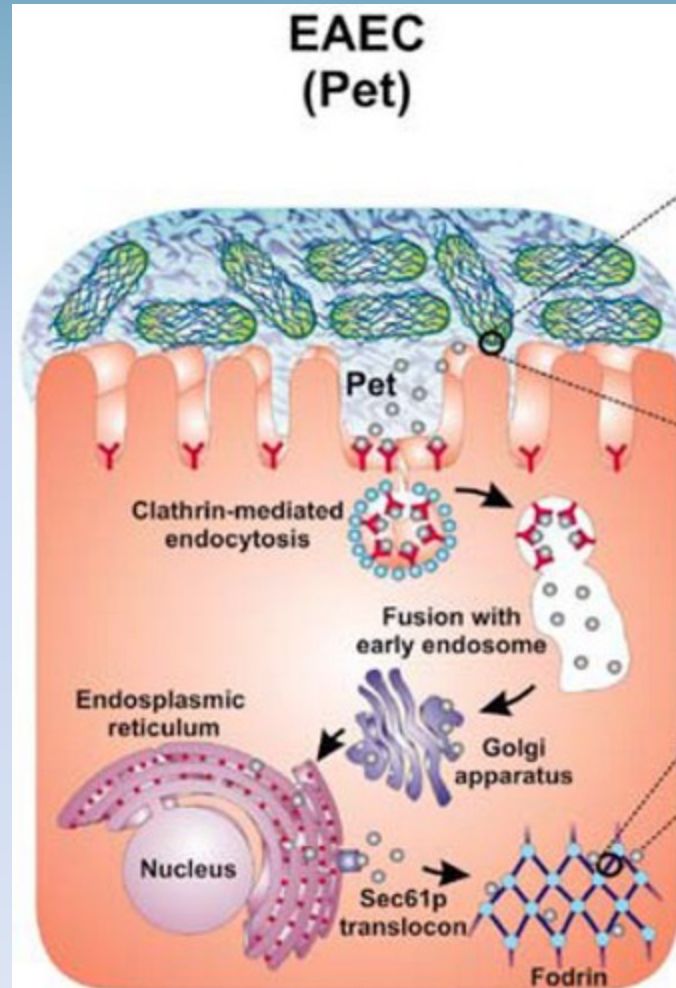


- Hemoragická kolitida 
- Hemolyticko-uremický syndrom
- Trombotická trombocytopenická purpura


Shiga toxin in enterohemorrhagic *E.coli*: regulation and novel anti-virulence strategies

Enteroagregativní *E. coli*

tepelně stabilní enterotoxin EAST1 a Pet toxin.



Toxiny u *Staphylococcus aureus*

a) Superantigeny – toxin syndromu toxického šoku (TSST-1) a stafylokokové enterotoxiny (SE) 

Diagnostická kritéria syndromu toxického šoku: 

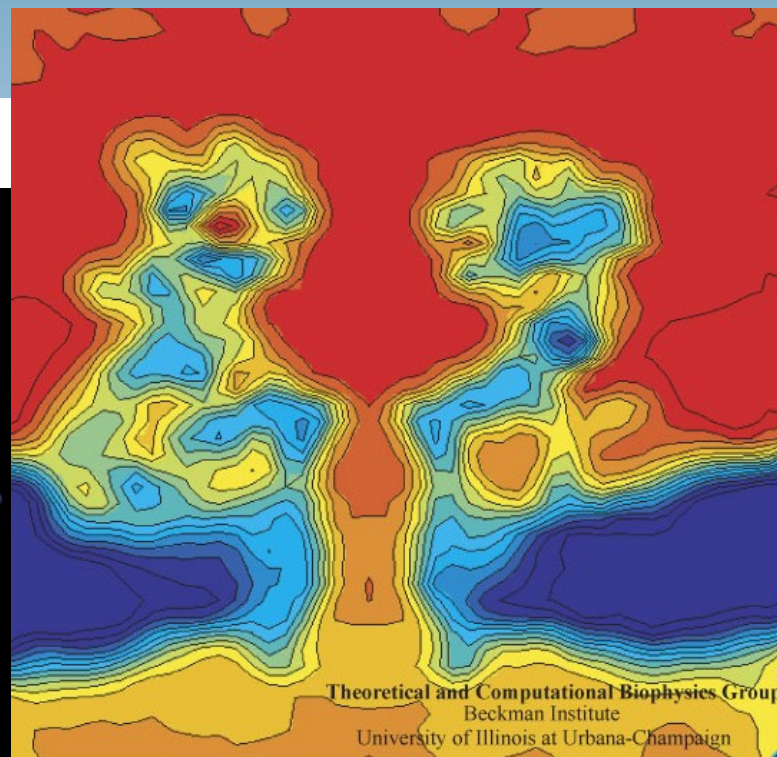
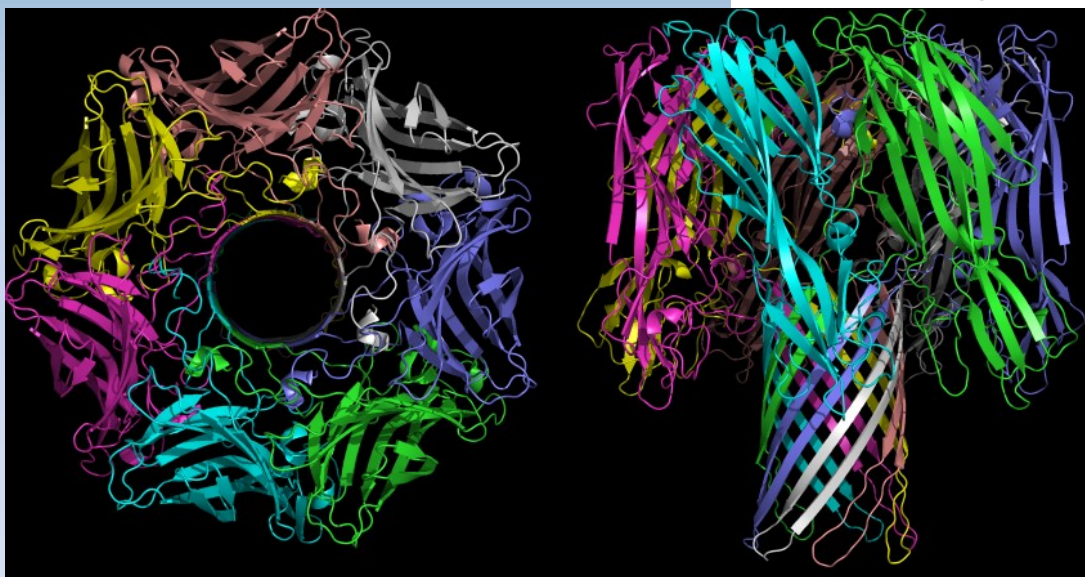
- vysoká teplota (nad 38,9 °C)
- vyrážka
- pokles krevního tlaku
- 1-2 týdny po počátku onemocnění olupování pokožky na dlaních a ploskách
- zvracení
- průjem
- bolest svalů

Různé kombinace těchto příznaků mohou znesnadňovat určení správné diagnózy!

b) Toxiny tvořící póry v buněčné stěně – dvě podskupiny: leukotoxiny a α -hemolyzin



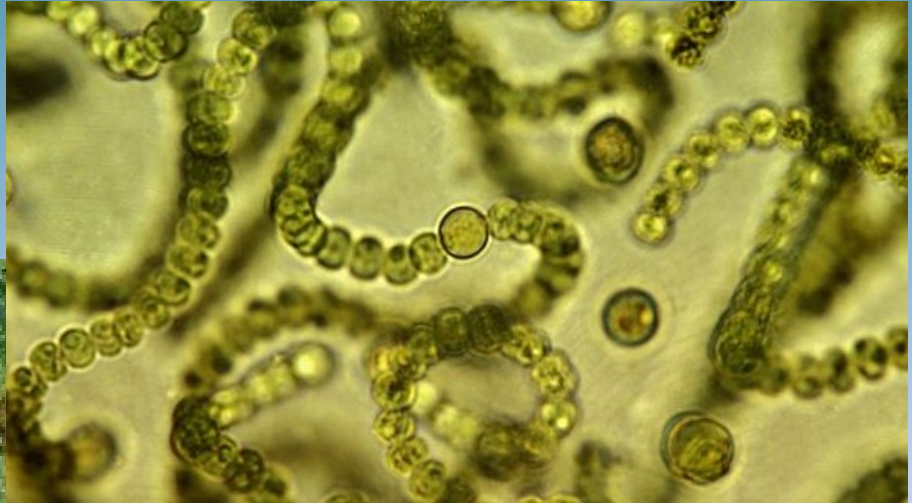
α -hemolyzin



c) Toxiny vyznačující se proteolytickou aktivitou – **exfoliativní** toxiny a toxiny způsobující epidermolytické infekce



Cyanotoxiny





Rozdělení

a) chemické

b) dle toxikologických vlastností

a) peptidy, alkaloidy,
lipopolysacharidy

b) hepatocyty, cytotoxiny,
neurotoxiny, dermatotoxiny

