

# LÉKAŘSKÁ MYKOLOGIE

## INTRO



Vit Hubka, M.D., MSc., Ph.D.  
Charles University

# Co je to Lékařská Mykologie?

- relativně mladá subdisciplína lékařské mikrobiologie
- zabývá se **všemi aspekty onemocnění člověka a živočichů působených houbami** (a jim podobnými organismy), tj. mechanismy patogeneze, klinický obraz infekcí, diagnostika, léčba, prevence, epidemiologie, atp.
- institucionalizace většinou až v období po 2. svět. válce
- klinici (lékaři), laboratorní pracovníci a výzkumníci sami sebe většinou neoznačují jako „lékařští mykologové“ (dermatologové, patologové, bakteriologové, mikrobiologové, atd.)



# Dělení mykóz - dle lokalizace / patologie

## POVRCHOVÉ MYKÓZY

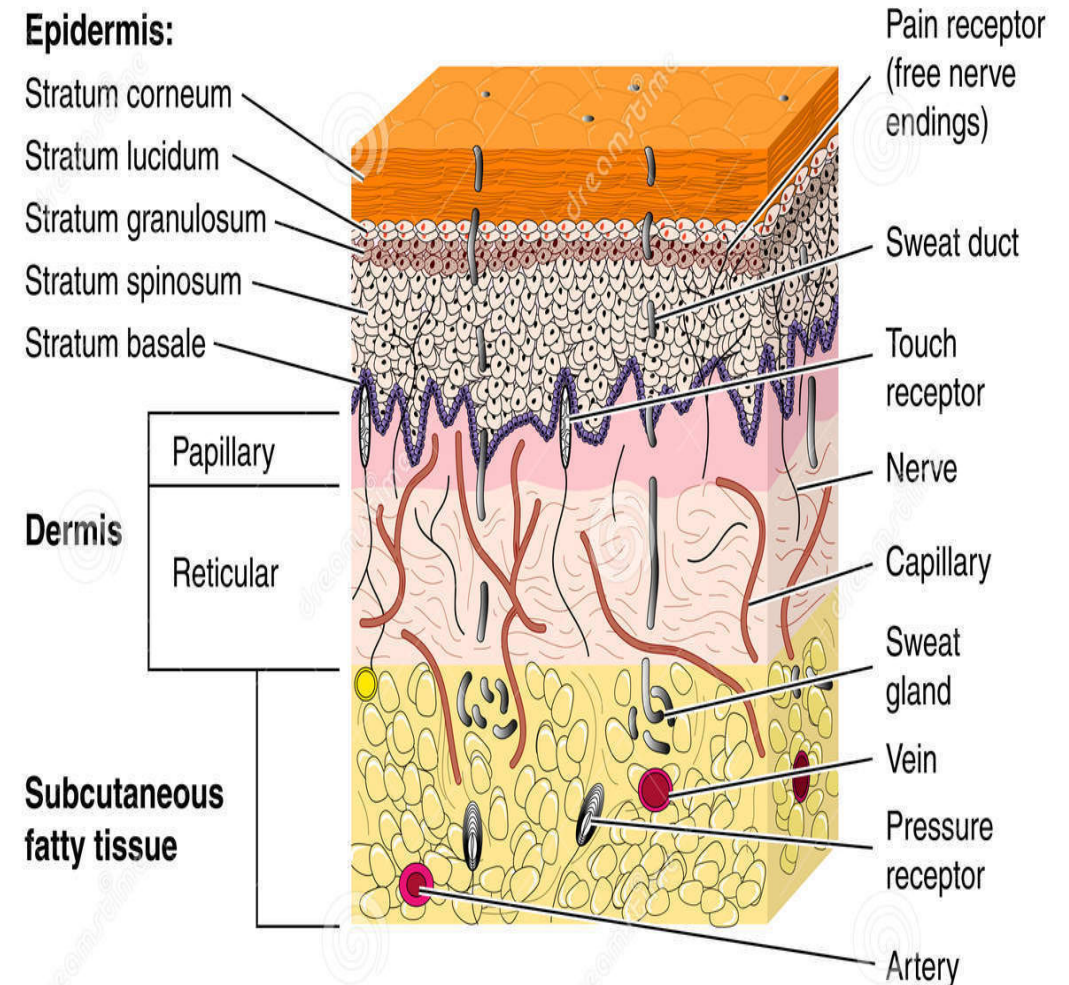
- **kožní** (nepronikají do dermis kůže)
- **slizniční** (nejč. povrchové kandidózy)

## PODKOŽNÍ MYKÓZY, KERATOMYKÓZY

traumatická implantace

## HLUBOKÉ MYKÓZY

- **primární patogeni, endemické mykózy**  
napadají i zdravého hostitele, geografické omezení na endemické oblasti
- **sekundární (oportunní), systémové mykózy**  
imunokompromitovaný hostitel



# Proč je Lékařská Mykologie důležitá?

povrchové mykózy



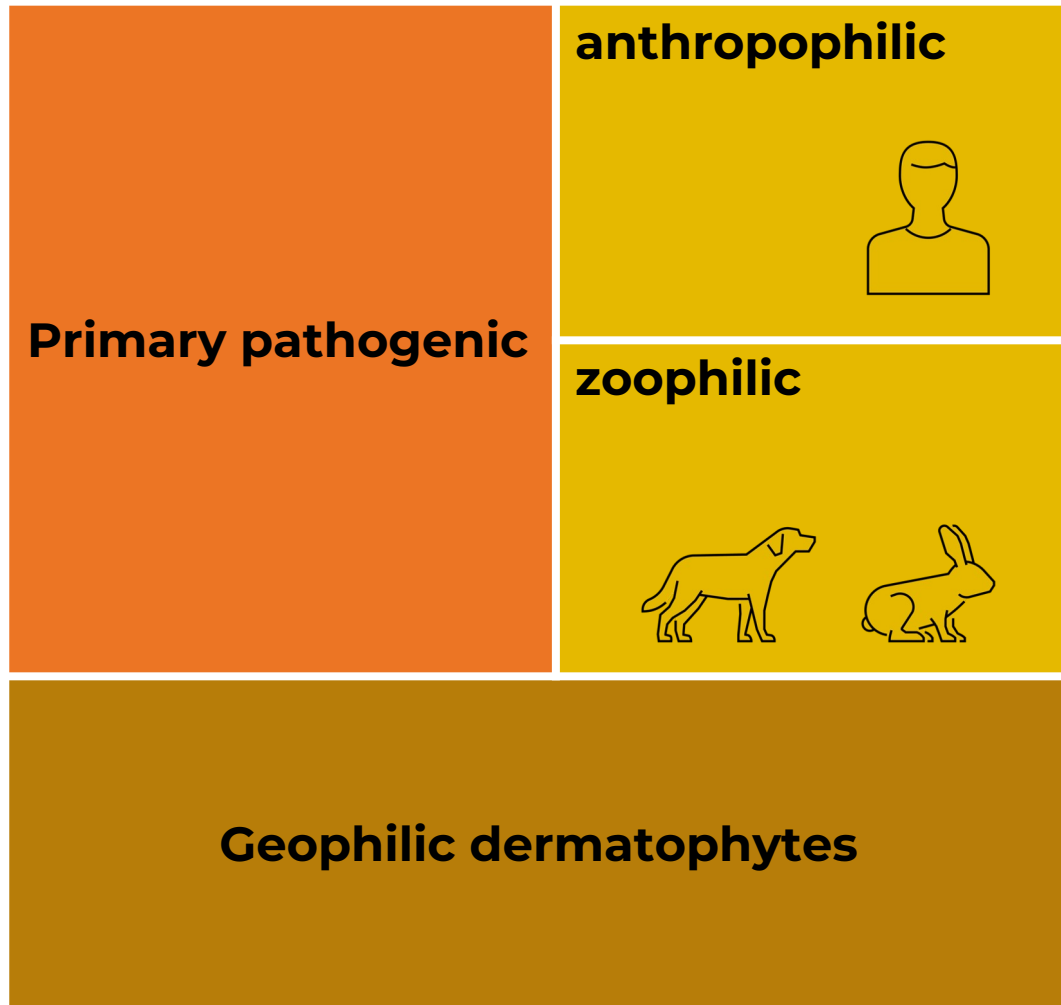
Faculty of Science  
CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE



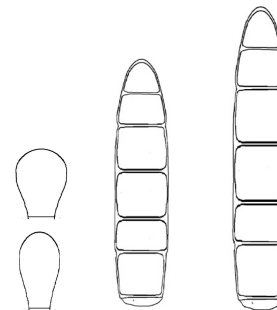
- ekologicky a fylogeneticky příbuzné druhy
- řád Onygenales, čeleď *Arthrodermataceae*

# DERMATOFYTY.

Ekologie



**TINEA** (DERMATOFYTÓZA, RINGWORM)





# KLINICKÁ MANIFESTACE.

INFEKCE ZPŮSOBENÉ  
ANTROPOFILNÍMI DERMATOFYTY



- obvykle **mírné** ale často se **opakující** infekce
- dlouhá koevoluce a adaptace na hlavního hostitele



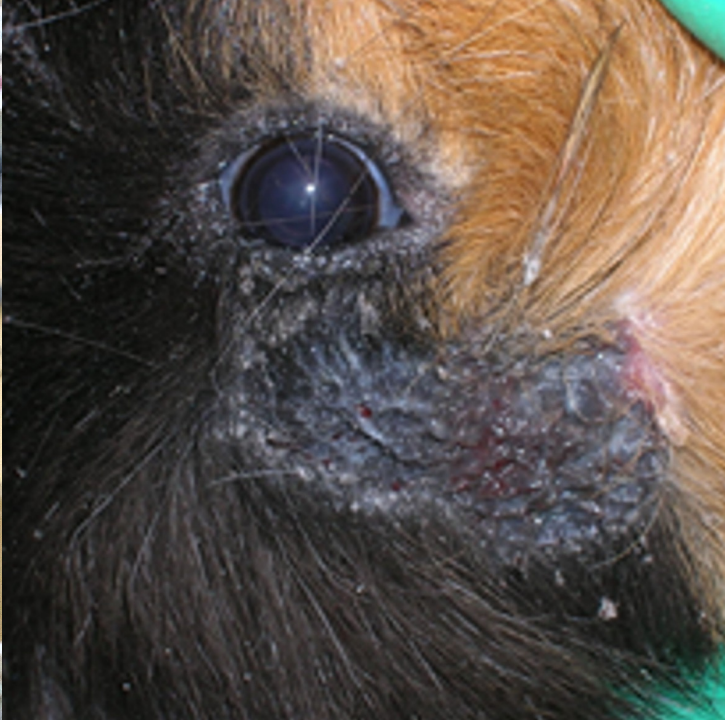


# KLINICKÁ MANIFESTACE.

## ZOONOTICKÉ INFEKCE

- obvykle **silně zánětlivé**
- tendence k „samoúzdavě“
- **děti >> dospělí**
- ženy > muži





# KLINICKÁ MANIFESTACE.

## INFEKCE ZPŮSOBENÉ ZOOFILNÍMI DRUHY U ZVÍŘAT

- obvykle **mírné symptomy u hlavního hostitele**
- častá „**asymptomatická**“ zvířata
- závažnost závisí na věku, imunologickém stavu zvířete, stresorech, apod.

# Slizniční mykózy

## VULVOVAGINÁLNÍ KANDIDÓZA (VVC)

- prodělá **50–75% žen ve fertilním věku**
- odhadem **5–8 % žen trpí recidivující VVC každý rok**

## SOOR (kvasinková infekce dutiny ústní)

- v krajinách s **↑HIV** – soor a jícnové kandidózy
- relativně častý výskyt u jedinců se **zubními protézami**, při užívání **inhalačních kortikosteroidů** (astma), **chemoterapie, ozařování** oblasti hlavy a krku
- časté u **malých dětí**

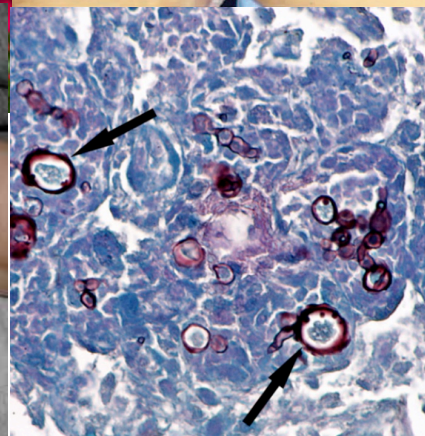
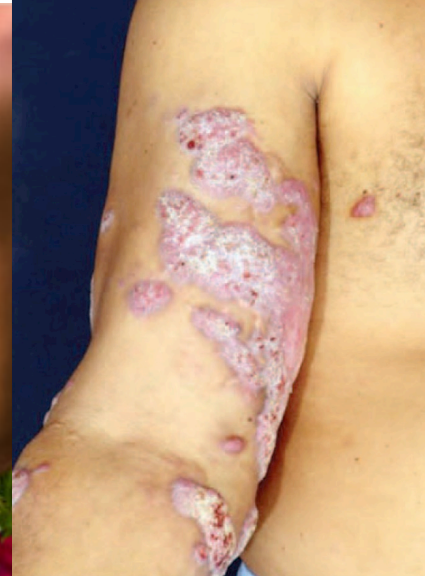
více viz lekce zaměřená na „**kvasinkové infekce**“





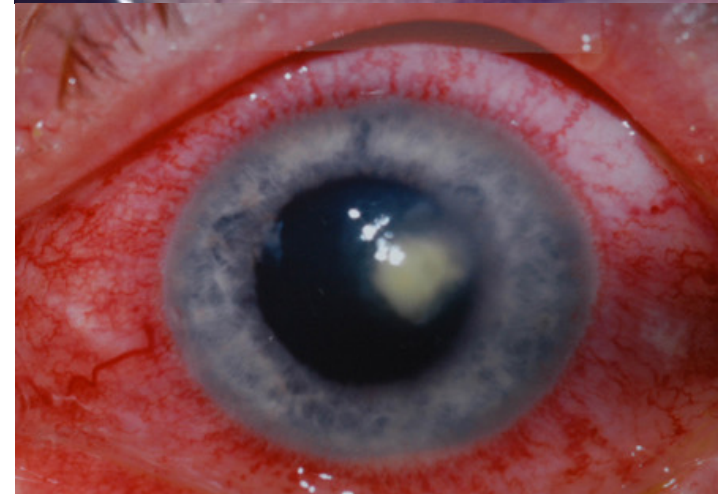
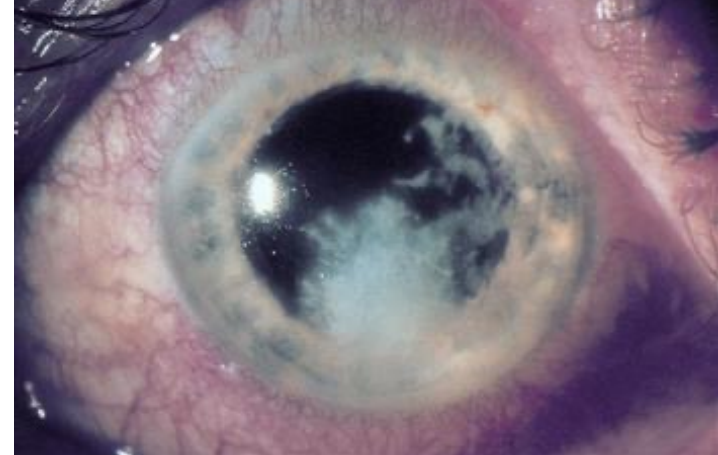
# Podkožní mykózy

- **feohyfomykóza** (phaeohyphomycosis)
  - **hyalohyfomykóza** (hyalohyphomycosis)
  - **chromoblastomykóza** (chromoblastomycosis)
  - **sporotrichóza** (sporotrichosis)
  - **eumycetom** (eumycetoma)
- obvykle **traumatická implantace** - trn, tříška (rostlinní patogeni), poranění v domácnosti (extremofilní černé kvasinky), škrábnutí zvířetem



# Keratomykózy (mykotické keratitidy)

- traumatická implantace nebo následek nošení kontaktních čoček
- po domácku vyráběné roztoky, nedostatečná hygiena, nošení čoček po expiraci)





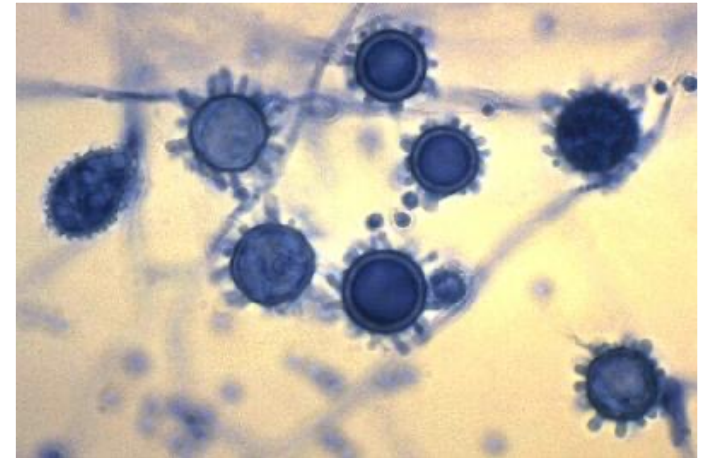
# Endemické mykózy

## dimorfní houby

- **primární i oportunní patogeni**
- **rezervoár půda** => vdechnutí spor nebo fragmentů mycelia, poranění => komplexní syndromy (plicní, kožní, aj.)
- **obtížná (i riziková) diagnostika** (kultivační, imunologická, molekulární - dostupnost v ČR?)
- **BSL-3 organismy**



endemické oblasti rozšíření *Histoplasma capsulatum*



↑ makrokonidie *H. capsulatum*; guánová kupa ↓

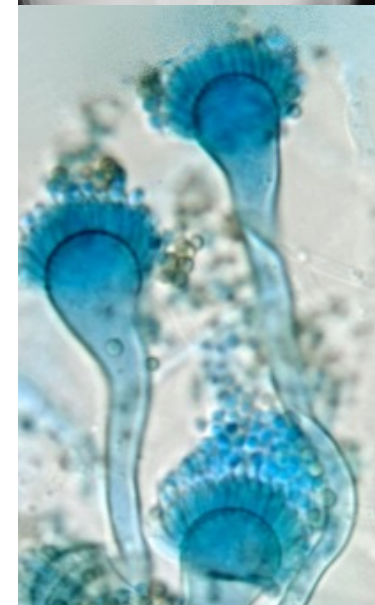
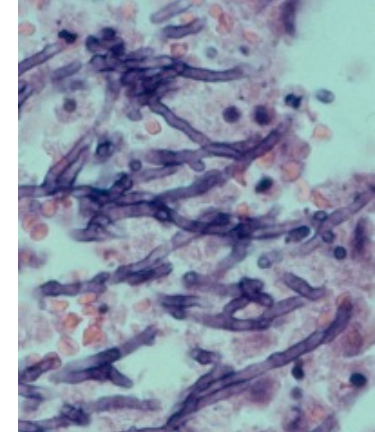




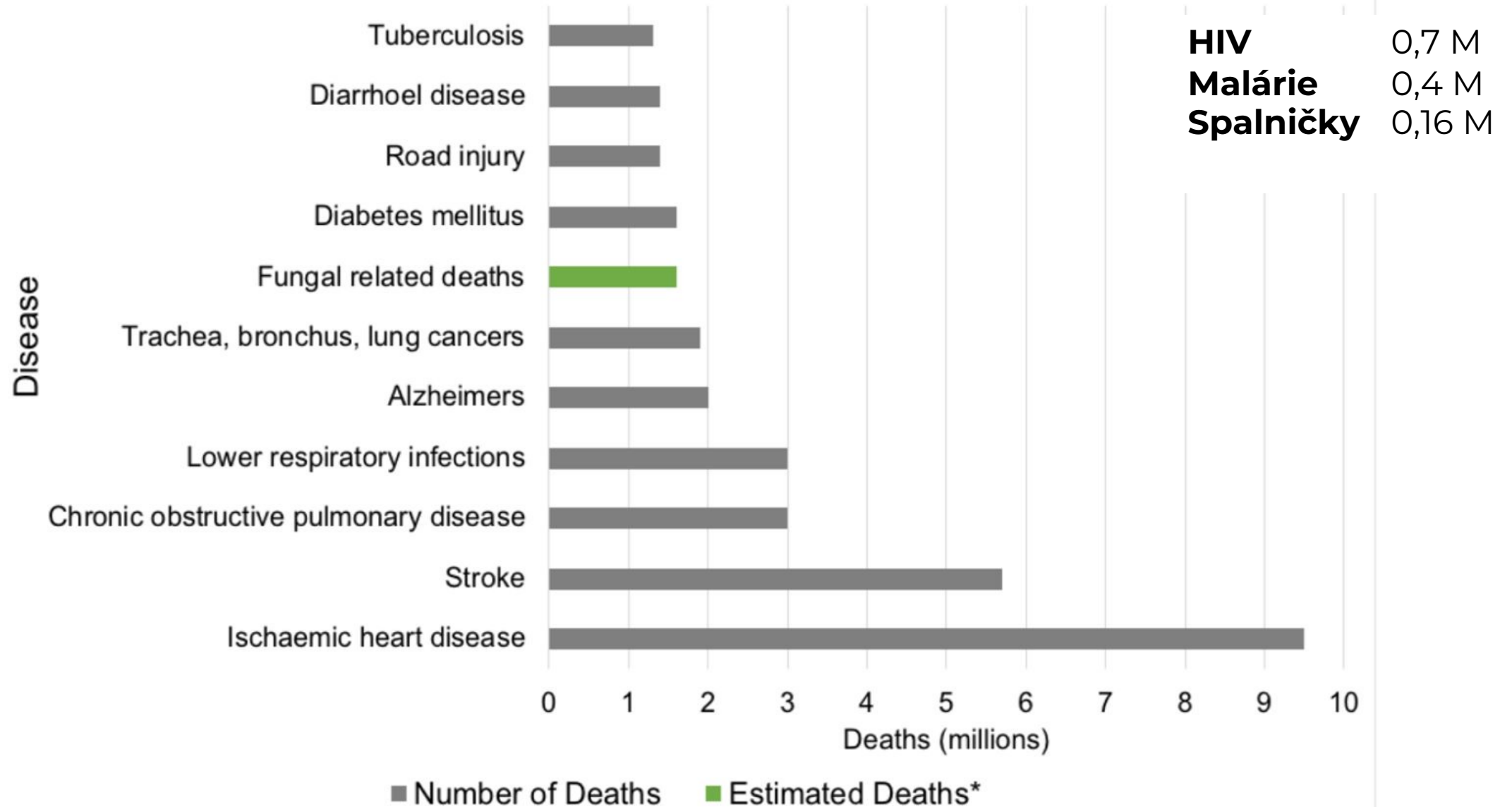
# Systemové mykózy

Invazivní oportunní infekce

- diagnóza stanovená na základě **rizikových faktorů na straně hostitele** (imunokompromitovaný), klinického obrazu, a potvrzení histologií nebo kultivací (EORTC+MSG kritéria)
- postihuje **jakýkoliv orgán, může diseminovat**
- **výrazně méně případů v porovnání s povrchovými**
- **velmi vysoká mortalita: cca 50 % (~1,5-2 mil. úmrtí/rok)**
- **90%** případů rody *Cryptococcus*, *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis* // TBC 1,3 mil †/rok; malárie 0,8 mil †/rok



# WHO top 10 global causes of deaths, 2016



**Table 1. Statistics of the 10 most significant invasive fungal infections.**

Disease (most common species)	Location	Estimated life-threatening infections/ year at that location*	Mortality rates (% in infected populations)*
Opportunistic invasive mycoses			
Aspergillosis ( <i>Aspergillus fumigatus</i> )	Worldwide	>200,000	30–95
Candidiasis ( <i>Candida albicans</i> )	Worldwide	>400,000	46–75
Cryptococcosis ( <i>Cryptococcus neoformans</i> )	Worldwide	>1,000,000	20–70
Mucormycosis ( <i>Rhizopus oryzae</i> )	Worldwide	>10,000	30–90
Pneumocystis ( <i>Pneumocystis jirovecii</i> )	Worldwide	>400,000	20–80
Endemic dimorphic mycoses*†			
Blastomycosis ( <i>Blastomyces dermatitidis</i> )	Midwestern and Atlantic United States	~3,000	<2–68
Coccidioidomycosis ( <i>Coccidioides immitis</i> )	Southwestern United States	~25,000	<1–70
Histoplasmosis ( <i>Histoplasma capsulatum</i> )	Midwestern United States	~25,000	28–50
Paracoccidioidomycosis ( <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> )	Brazil	~4,000	5–27
Penicilliosis ( <i>Penicillium marneffeii</i> )	Southeast Asia	>8,000	2–75

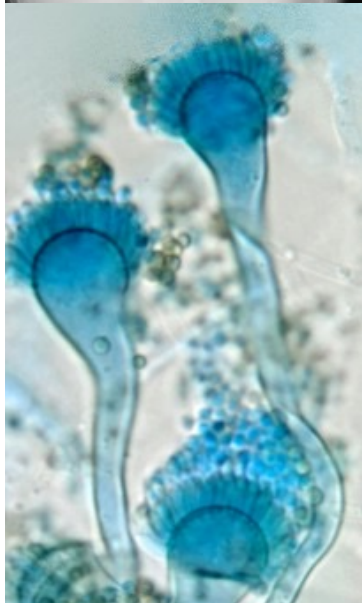
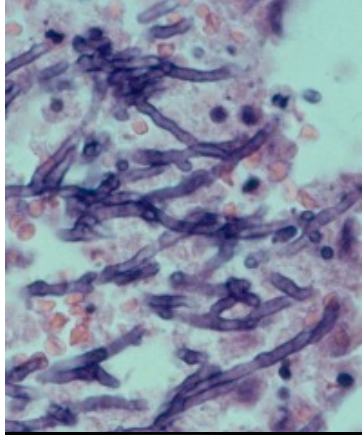
\*Most of these figures are estimates based on available data, and the logic behind these estimates can be found in the text and in the Supplementary Materials. †Endemic dimorphic mycoses can occur at many locations throughout the world. However, data for most of those locations are severely limited. For these mycoses, we have estimated the infections per year and the mortality at a specific location, where the most data are available.



# Systemové mykózy

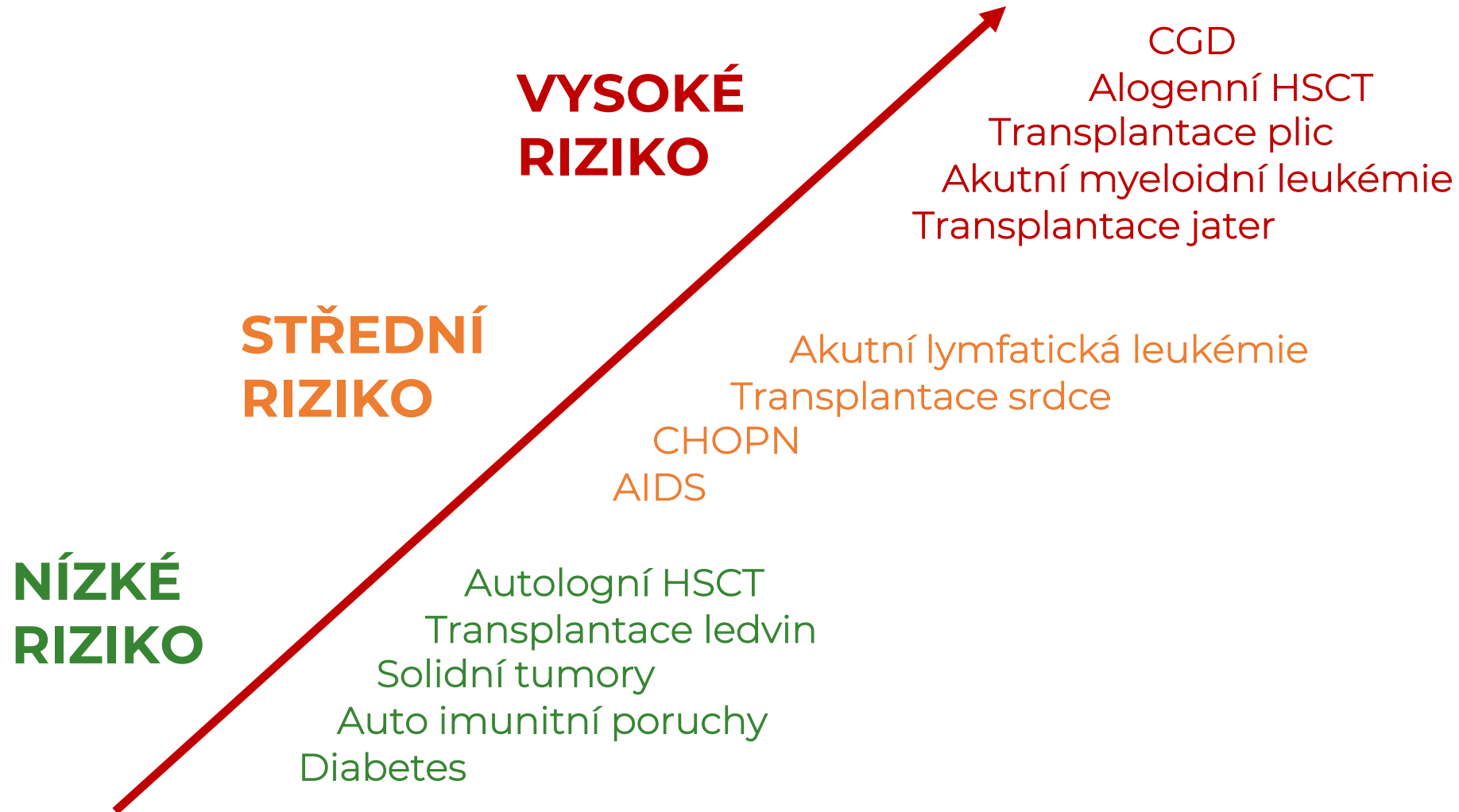
Invazivní oportunní infekce

- **důležitější jsou rizikové faktory na straně hostitele** než faktory virulence houby
- **časná diagnostika zvyšuje výrazně šanci na přežití pacientů** - ATM terapie, chirurgická excize
- problémem v léčbě může být multirezistence k ATM



# Riziko vzniku systémové mykózy

stratifikace pacientů



# Systemové mykózy

zdroje infekce

## ENDOGENNÍ

- běžná flóra pacienta (GIT, kožní)
- porušení bariér, pomnožení v GIT a porušení mukózy střeva

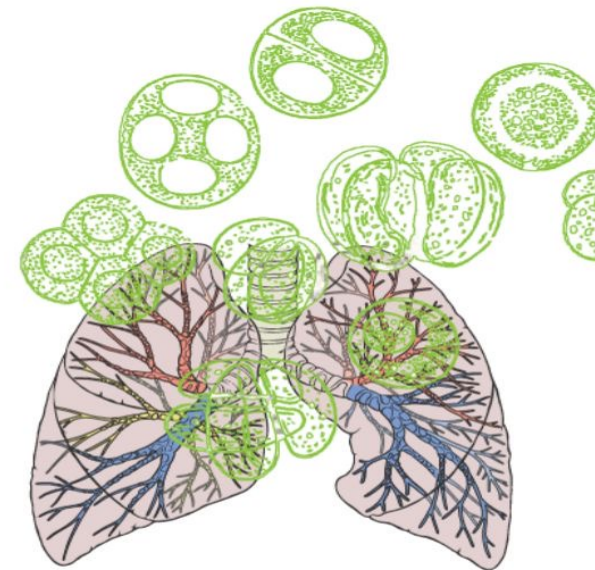


# Systemové mykózy

zdroje infekce

## EXOGENNÍ / IATROGENNÍ

- vdechnutí spor - většinou drobné nepohlavní spory (konidie)
- poranění, popáleniny, předchozí nedoléčená infekce
- ruce zdravotnického personálu
- kontaminované roztoky a roztoky pro parenterální výživu
- srdeční chlopně, umělé materiály, tkáně a náhrady
- intravenózní katétry, drény, parenterální výživa
- chemoterapie - mukositida
- umělá plicní ventilace
- dialýza
- operace, hospitalizace (zejména JIP)



**Člověk inhaluje 1000  
až bilion spor každý  
den**

# PATOGENI BEZOBRATLÝCH

- řada ekonomicky nebo ekologicky extrémně významných druhů
- velká část zatím neobjevena



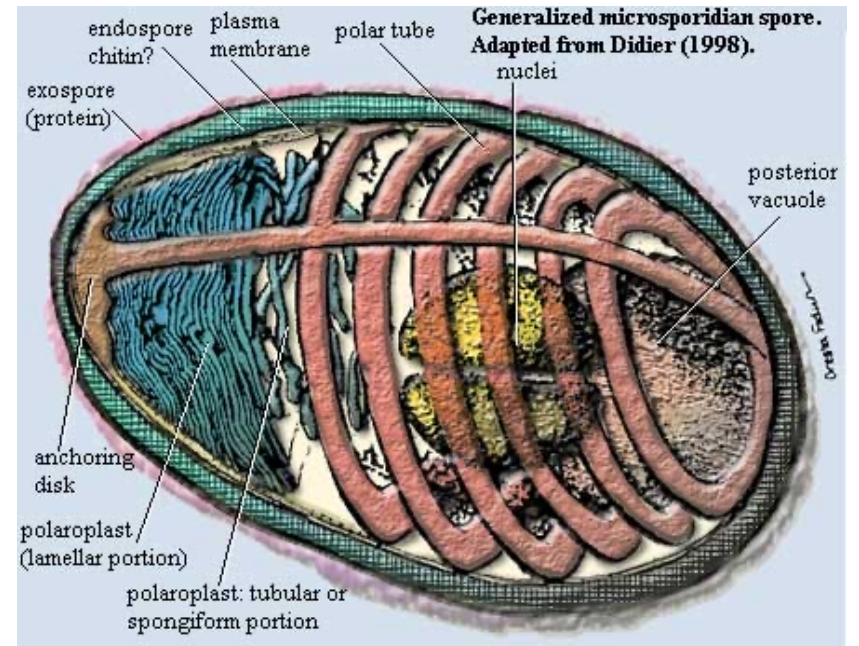


# Entomopatogenní houby

mikrosporidie: *Nosema apis*, *N. ceranae*

**NOSEMÓZA** (střevního onemocnění včel)

- ***N. apis*** (hmyzomorka včelí) - průjmovité onemocnění, malátné pohyby, úhyn
- ***N. ceranae*** - nový druh z Asie, rychlejší hynutí, bez výrazných klin. příznaků
- **symptom zhroucení včelstva** (colony collapse disorder), rychlý pokles počtu jedinců ve včelstvu, vymření celého včelstev
- nutná karanténa kolem ohniska 5 km a likvidace včelstev



# Entomopatogenní houby

- ***Beauveria*** - patogenní pro řadu druhů hmyzu, včetně bource morušového
- ***Paecilomyces*** - široké spektrum hostitelů, různá vývojová stádia
- ***Coelomomyces*** - larvy komárů
- ***Entomophthorales*** – mouchy

## VYVINUTÉ BIOPREPARÁTY - v ČR již zakázány

- na bázi *Lecanicillium lecanii* - proti mšicím
- na bázi *Beauveria bassiana* - proti mandelinkám, zavíječům, obalečům, chroustům
- na bázi *Metarhizium anisopliae*





# Ophiocordyceps

manipulace s hostitelem, zejména popsáno u mravenců

## How to make a zombie ant

*Ophiocordyceps unilateralis*, a fungus found in the tropical rainforests of Thailand, survives by controlling carpenter ants.



### 1. INFECTION

A foraging carpenter ant walks through an area of the rainforest floor infested with microscopic spores dropped by a mature fungus. The spore excretes an enzyme that eats through the ant's exterior shell.



### 2. DEATH GRIP

After two days, the ant leaves its tree colony and climbs down to a spot where humidity and temperature are optimal for the fungus to grow. The ant crawls onto a stem or the underside of a leaf and bites into its main middle vein so it won't fall. Then it dies.



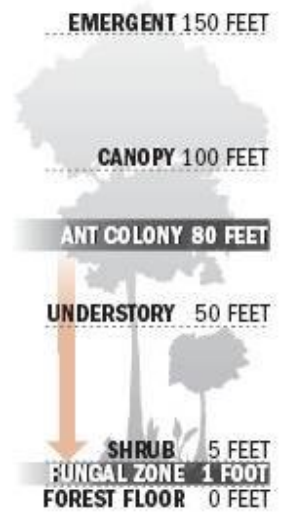
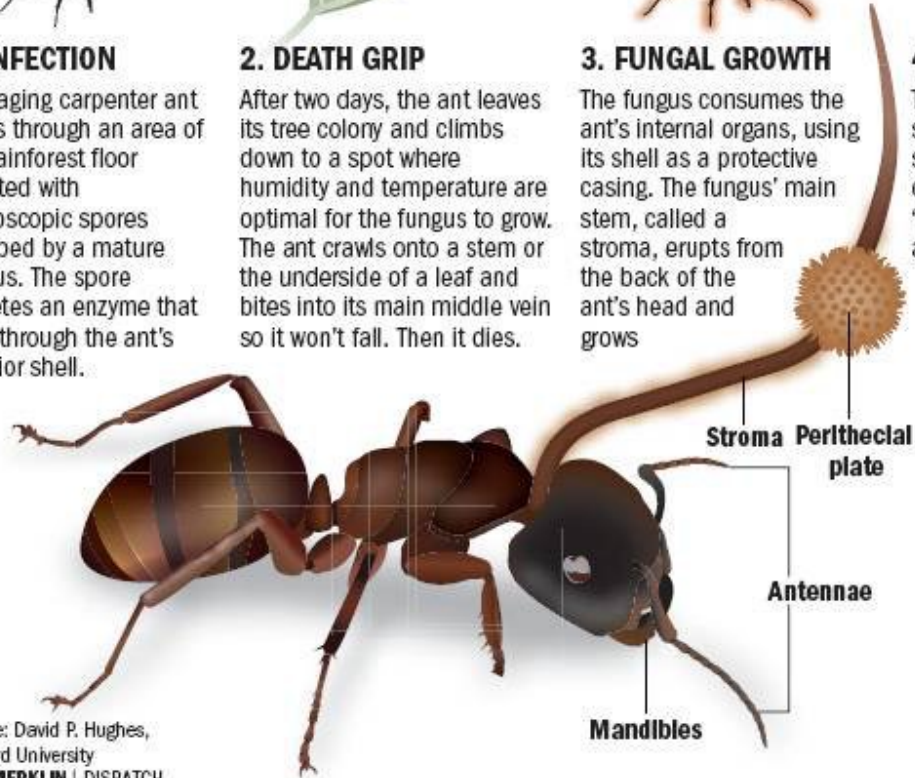
### 3. FUNGAL GROWTH

The fungus consumes the ant's internal organs, using its shell as a protective casing. The fungus' main stem, called a stroma, erupts from the back of the ant's head and grows



### 4. "KILLING ZONE"

The mature fungus releases spores from its stroma. The spores fall to the ground, creating a 10-square-foot "killing zone," which will attack new ants.



Source: David P. Hughes, Harvard University  
LISA MERKLIN | DISPATCH

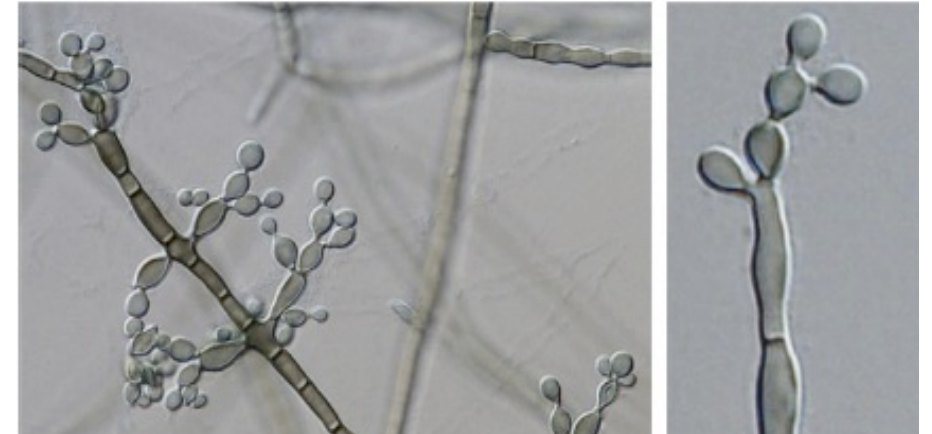
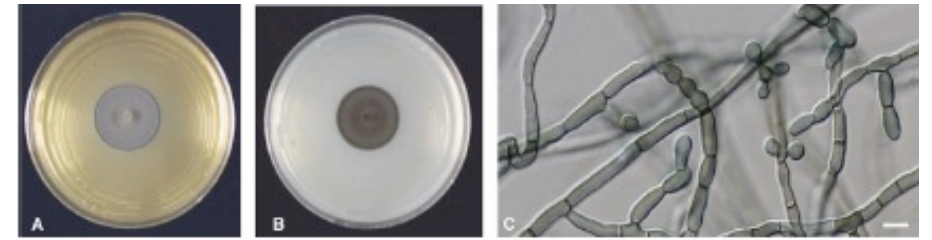


Vit Hubka, M.D., MSc., Ph.D.  
Charles University

# Lethargic Crab Disease

*Exophiala cancerae*, *Fonsecaea brasiliensis*

- nazváno dle pomalých pohybů krabů
- výrazné **snížení populace suchozemských krabů** (*Ucides cordatus*) žijících **v mangrovových porostech** podél brazilského pobřeží krab lokálně významný pro obživu obyvatel
- původci onemocnění ze skupiny tzv. „černých kvasinek“ (Chaetothyriales)





# Aspergilóza mořských korálů

*Aspergillus sydowii*

- **infekční aspergilóza** některých karibských korálů, **podíl na tzv. „bělení korálů“**
- **první velká epidemie popsána v roce 1995**
- zvýšená teplota a zvýšený přísun živin do moře patří mezi stresory a podílí se na vzniku epidemií v oblasti

Devastace korálů (*Gorgonia* spp.) způsobená druhem *Aspergillus sydowii*



# EMERGING PATOGENI OBROTLOVCŮ

hrozba extinkce nebo výrazného poklesu populací  
některých druhů



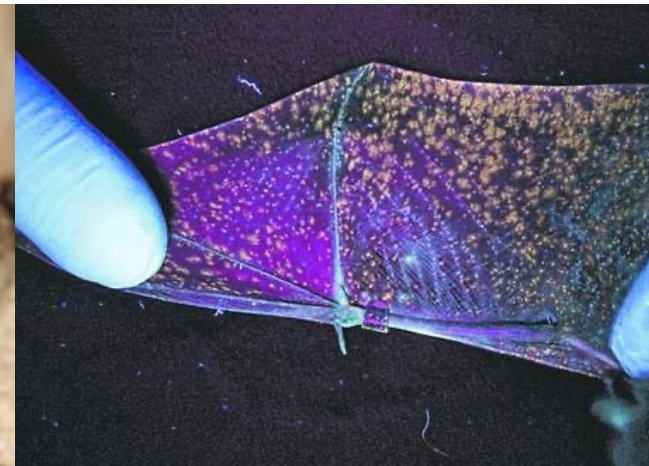
Faculty of Science  
CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE



# white nose syndrom

*Pseudogymnoascus destructans*

- nárůsty houby na čenichu a létací bláně během hibernace → oslabení jedinců
- **2007 - iniciální epidemie**, hromadné úhyny netopýrů v NY (USA) → rozšíření po celé S. Americe do několika let
- **populace některých druhů sníženy o >70%**, přinejmenším u druhu *Myotis lucifugus* je šance kolem 99%, že bude lokálně vyhuben do cca 15 let - důsledky pro jeskynní ekosystémy

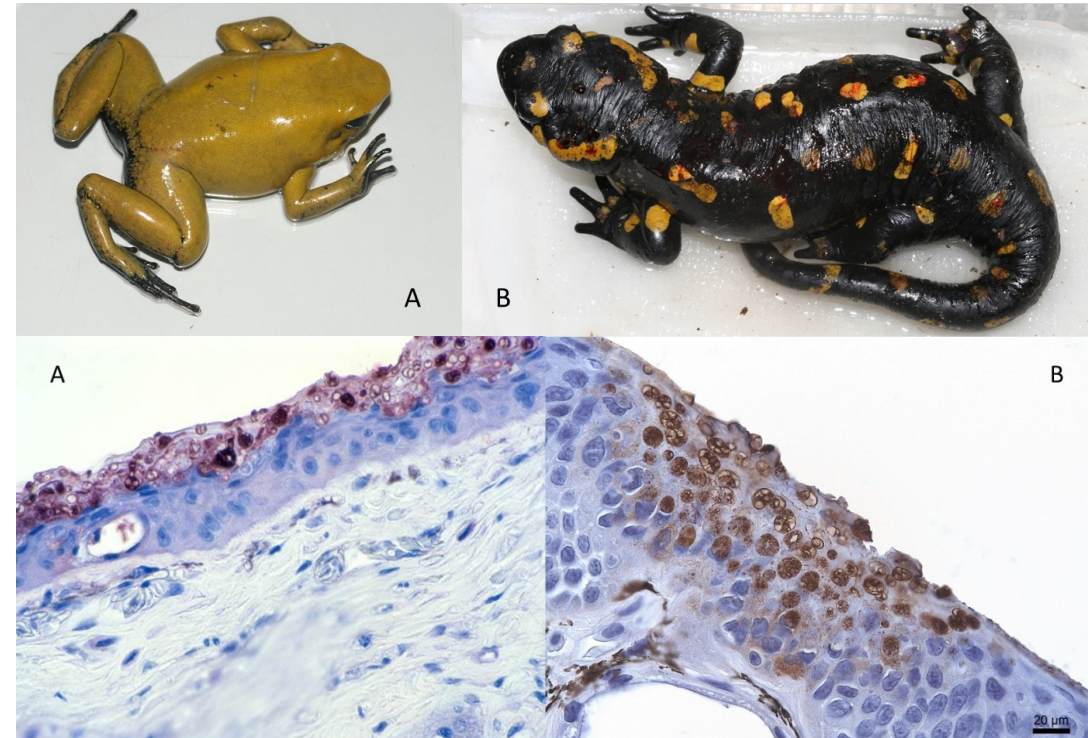


Akumulace vitamínu B2 při růstu houby se využívá k diagnostice (oranžová fluorescence pod UV); podílí se také na patogenезi WNS

# chytridiomykóza

*Batrachochytrium*

- **onemocnění obojživelníků**
- populace obojživelníků v Americe a Austrálii klesají od 70. let, výrazněji od 90. let
- **devastace populací, nebo vyhubení více než 200 druhů** (asi více - slabý monitoring, kryptická diverzita); některé oblasti Střední Ameriky ztratily přes 40% druhů obojživelníků
- **v současnosti šíření v Evropě**





# snake fungal disease

*Ophidiomyces ophiodiicola*

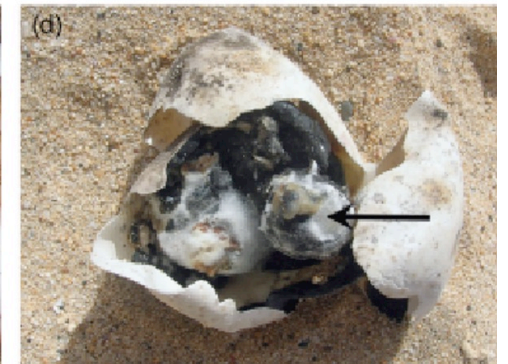
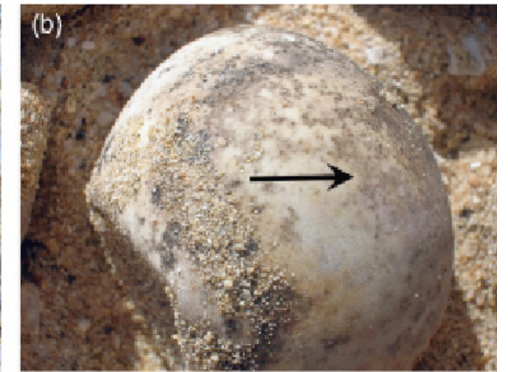
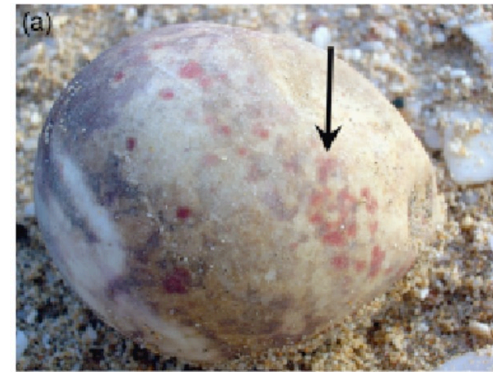
- významný nárůst případů popisovaný cca od roku 2006
- **až 50% úbytek lokálních populací** některých druhů (důsledky pro ekosystém - kontrola populace hlodavců)
- **ohrožené hlavně malé, izolované populace** hibernující při vyšších teplotách
- globální trend poklesu populací hadů (úbytek a fragmentace životního prostředí, nedostatek kořisti, klimatické změny)
- **analogie s „white-nose syndromem“ netopýrů**: hromadná společná hibernace různých
- druhů v podzemních prostorech, imunitní systém je oslaben během hibernace,
- patogen dovede napadnout více hostitelů a přežívat v prostředí nezávisle na nich



# *Fusarium solani* vs. *kareta obecná* (*Caretta caretta*)

- běžná půdní houba, dnes **odpovědná za pokles vylíhnutých a přežívajících mladých jedinců**; spolu s mnoha dalšími faktory ohrožuje přežití výrazně ohroženého druhu...

... a že jich je dost: utonutí v sítích, znečištění oblastí výskytu, požití plastů, predace v průběhu kladení vajec a devastace hnízd nepůvodními druhy predátorů, pokles míst ke kladení vajec, plenění hnízd člověkem, nadměrné srážky, přílivové zaplavení, další patogeni...



# FAKTORY VIRULENCE

## LÉKAŘSKÁ MYKOLOGIE



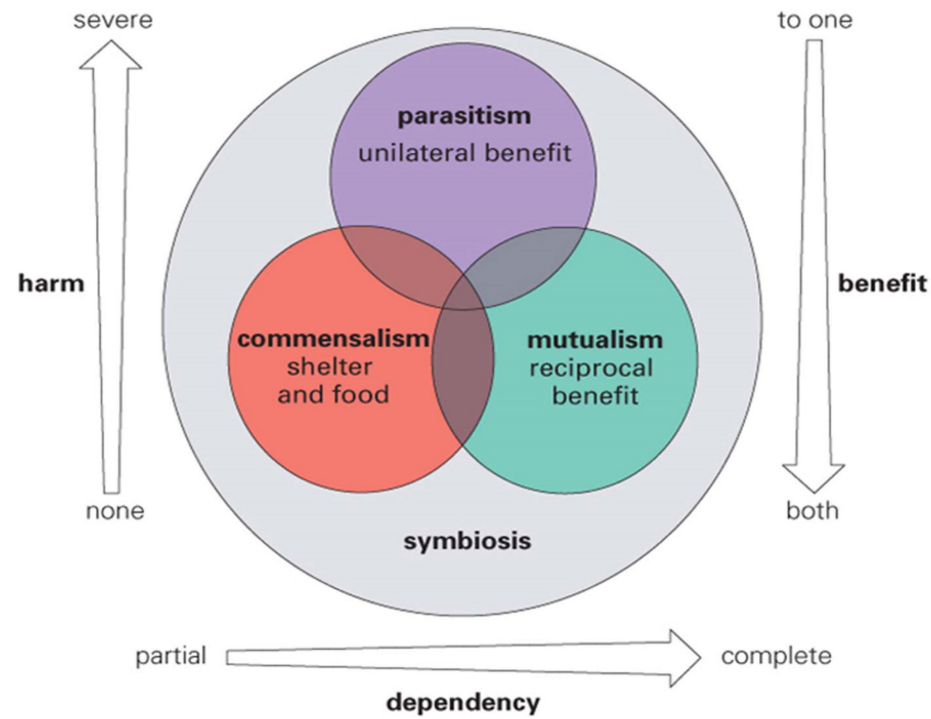
Vit Hubka, M.D., MSc., Ph.D.  
Charles University

*„umožňují mikroorganismům  
efektivně kolonizovat  
hostitelské tkáně, proniknout  
do hostitele a poškozovat ho,  
množit se v „nepříznivých“  
podmínkách těla hostitele“*

# PATOGENITA



**Schopnost poškozovat  
hostitele a vyvolat u něj  
onemocnění.**

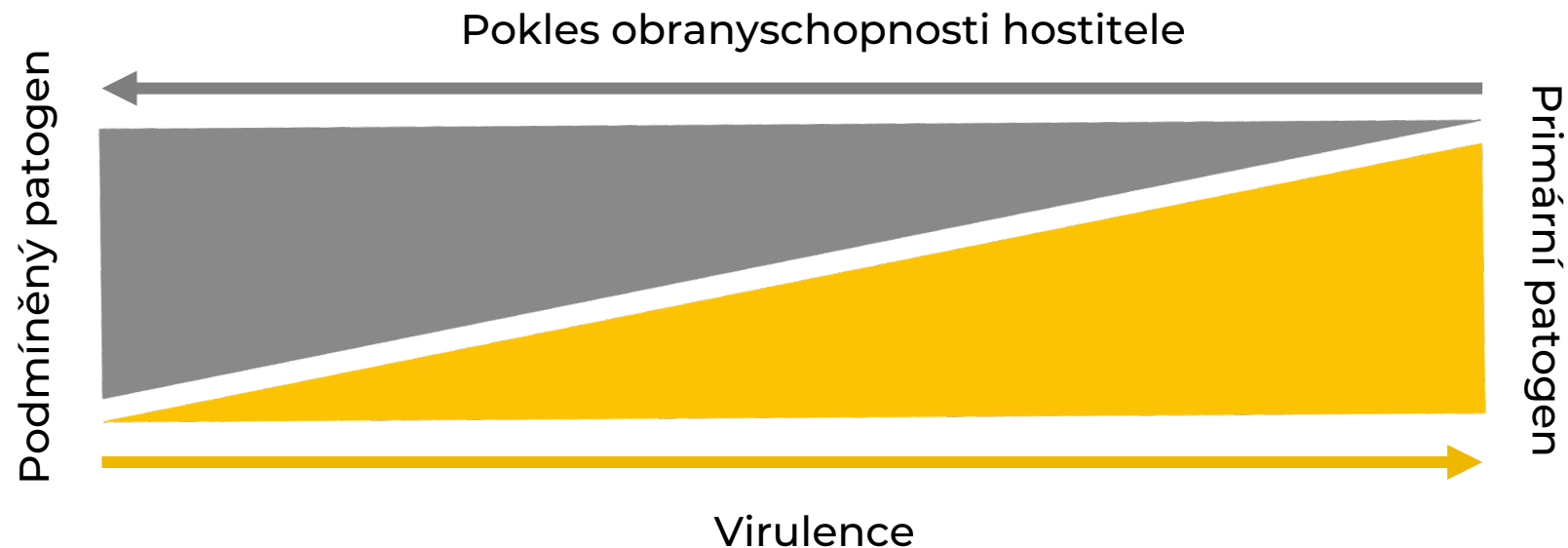


- zahrnuje schopnost **proniknout** do organismu, **udržet se** v něm (odolávat obranným mechanismům hostitele) a **získávat živiny**
- dána **vnímavostí hostitele a virulencí patogena**
- **dynamický stav** – patogen se snaží množit a hostitel se ho snaží zbavit
- poměrně vzácná vlastnost u hub vzhledem jejich celkovému známému počtu
- organismy **nepatogenní a patogenní**



# PATOGENNÍ HOUBY

- **obligátně patogenní**
- **oportunně patogenní**  
(podmíněně, fakultativně)



# PATOGENEZE STUPŇOVITÝ PROCES



Faktory virulence působí na různých úrovních.

## ADHEZE KOLONIZACE INVAZE

**neadherované mikroorganismy odstraňovány** proudem moče, pohybem trávicího traktu, pohybem řasinek, deskvamací buněk

**předpokladem kolonizace** povrchů (sliznice) **je adherence** (dočasná nebo trvalá); kolonizace asymptomatická; předchází invazi a infekci (eventuálně diseminaci) se vznikem symptomů

## DISEMINACE

invaze do tkání → **generalizace infekce diseminací**

poškození tkání, fungémie (přítomnost v krvi), šíření lymfou, ascendentní šíření (z urogenitálního traktu), původce nalézán daleko od místa vstupu do organismu

## INKUBAČNÍ ČAS

**asymptomatická** perioda mezi momentem infekce (často neznámý) **a objevením příznaků** onemocnění (dny až roky)

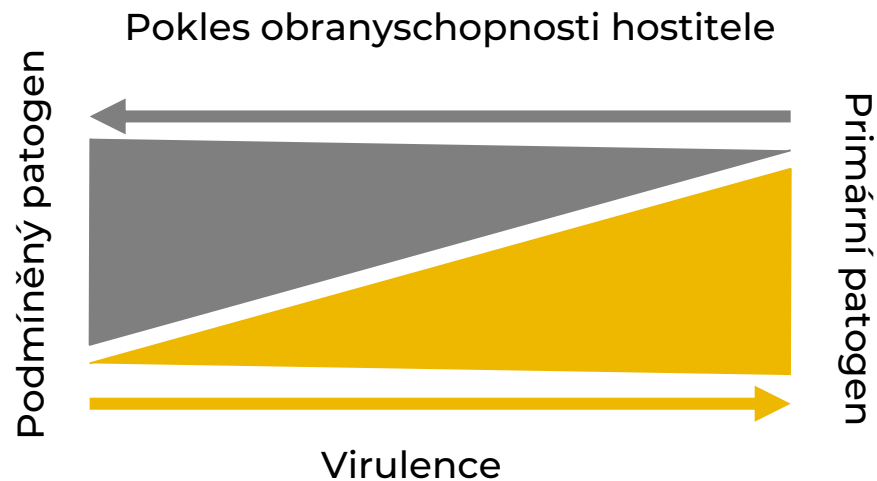


# VIRULENCE



## Vyjadřuje míru patogenity

(kvantitativní vyjádření patogenity  
nebo srovnání vůči jinému patogenu)



- **individuální vlastnost určitého kmenu/druhu**
- vysoce virulentní kmen snadno proniká do organismu a poškozuje jej i při malé infekční dávce
- celková virulence dána množstvím faktorů virulence, které patogen vytváří
- selekcí je možné **virulenci zvyšovat** (pasáž na vnímavých zvířatech, mutace, GMO vč. bioterorismu) nebo **snižovat = atenuovat** (pěstování za nepříznivých podmínek – některé vakcíny, mutace, GMO)

# SLOŽKY VIRULENCE



## KONTAGIOZITA PŘENOSNOST

- závisí na počtu vylučovaných mikrobů, infekční dávce, chování hostitele (změna chování - škrábání, kašel, kýchání, průjem, ...)

## TOXICITA

- **poškození přímé** (buněčná smrt – toxiny, mech. poškození, intracelulární množení, mikrobiálně indukovaná apoptóza), postižení metabolismu toxiny, mechanické příčiny (paraziti, záškrty)  
- **poškození nepřímé** (obrannou reakcí hostitele)

## INVAZIVITA

- **adherence, penetrace** (produkce enzymů)  
- **přežití a množení** (rezistence k fagocytóze, potlačení imunity, změna v prezentaci antigenu, vyrovnání se nedostatkem Fe, aj.)





# KVANTIFIKACE VIRULENCE



**Kvantifikuje se např. jako počet choroboplodných zárodků (dávka), který za standardních podmínek indukuje ...**

**ID<sub>50</sub>**

INFEKČNÍ DÁVKA

**... indukuje nemoc u 50% hostitelů**

(např. u citlivého experimentálního zvířete)

**ID<sub>90</sub>, ID<sub>100</sub>**

**LD<sub>50</sub>**

LETÁLNÍ DÁVKA

**... způsobí smrt u 50% hostitelů**

**LD<sub>90</sub>, LD<sub>100</sub>**

**TCID<sub>50</sub>**

TISSUE CULTURE INFECTING DOSE

**... poškodí 50% tkáňových kultur**

KVALITATIVNĚ

**vysoká virulence ↔ nízká v. ↔ avirulence**



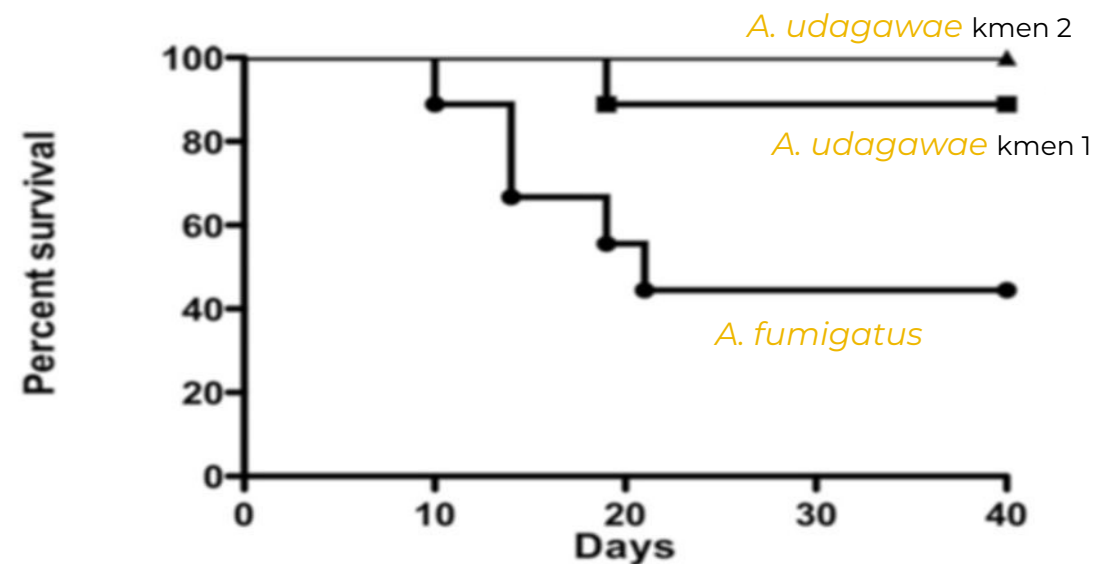
# KVANTIFIKACE VIRULENCE PŘÍKLAD

**Porovnání virulence** (laboratorní model – myš)  
**mezi *Aspergillus fumigatus*\* a blízce příbuzného  
druhu *A. udagawae*\*\* , který je méně virulentní**

\* původce zejména invazivní aspergilózy s vysokou letalitou

\*\* působí spíše chronické plicní infekce

**Popis experimentu:** 18 myší inokulováno  $5 \times 10^3$   
konidiami a byly sledovány po 40 dní .  
Hodnota  $5 \times 10^3$  odpovídá zhruba LD<sub>50</sub> u *A. fumigatus*;  
LD<sub>50</sub> pro *A. udagawae* bude daleko vyšší



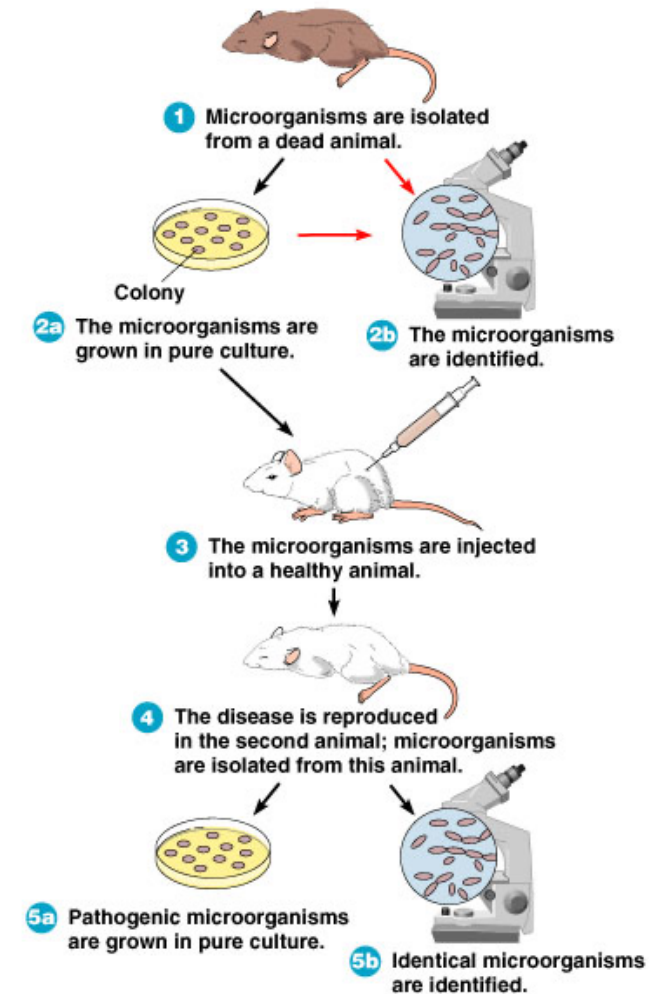
- B-5233 *A. fumigatus*
- M31 *A. udagawae* (kmen 1 – více virulentní než kmen 2)
- ▲ CBS114218 *A. udagawae* (kmen 2)

# KOCHOVY POSTULÁTY



## Soubor pravidel a postupů pro prokázání příčinné souvislosti mezi patogenem a nemocí.

1. mikroorganismus pozorován u všech nemocných jedinců a v žádném zdravém
2. musí být izolován z nemocného jedince a vypěstován v čisté kultuře
3. zdravý pokusný objekt musí po naočkování dostatečného počtu jedinců z čisté kultury patogena onemocnět a vykazovat stejné příznaky onemocnění
4. z nemocného pokusného objektu musí být izolován mikroorganismus identický s tím, který byl pozorován a izolován z původního nemocného jedince



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



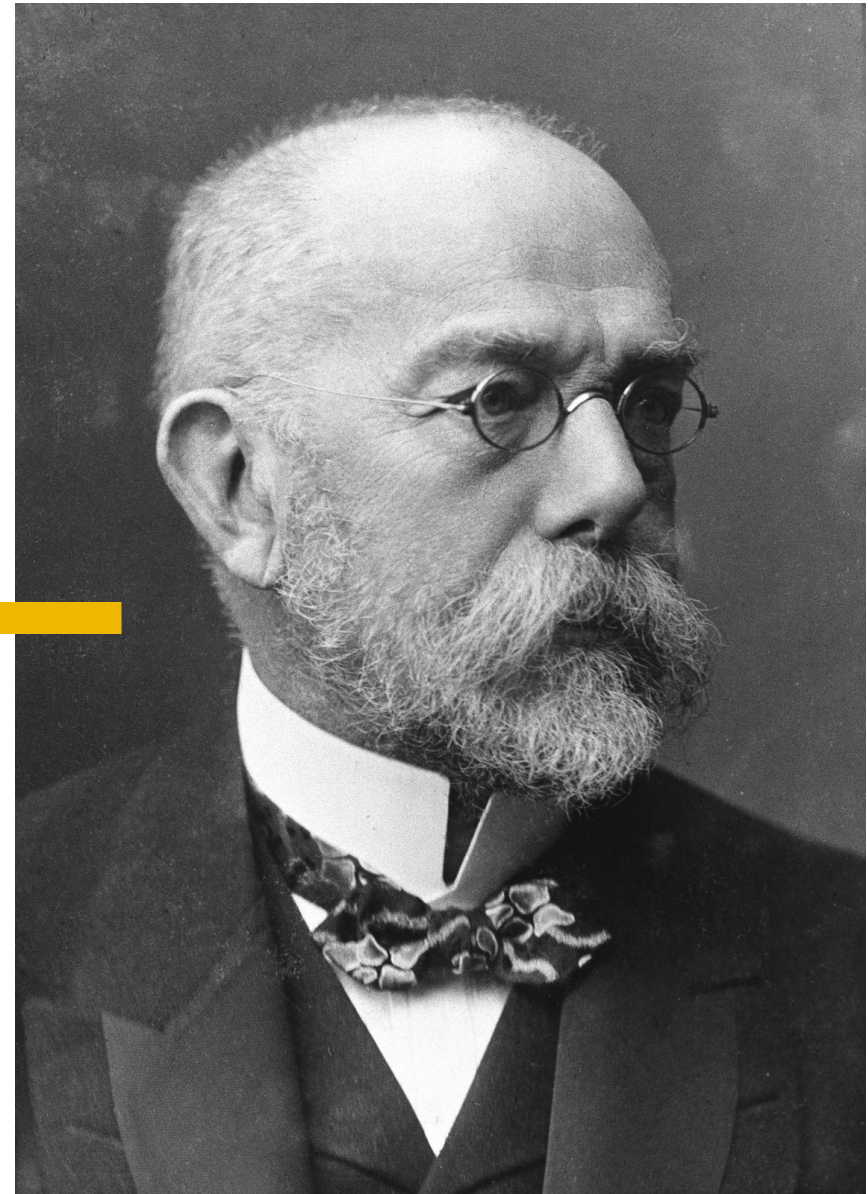
# ROBERT KOCH

1843–1910

Německý lékař a mikrobiolog, zakladatel bakteriologie a nositel Nobelovy ceny za fyziologii a lékařství (1905).

Objevil původce TBC a cholery.

Jako první prokázal, že *Bacillus anthracis* je původcem anthraxu (1876) a vypracoval tzv. Kochovy postuláty.



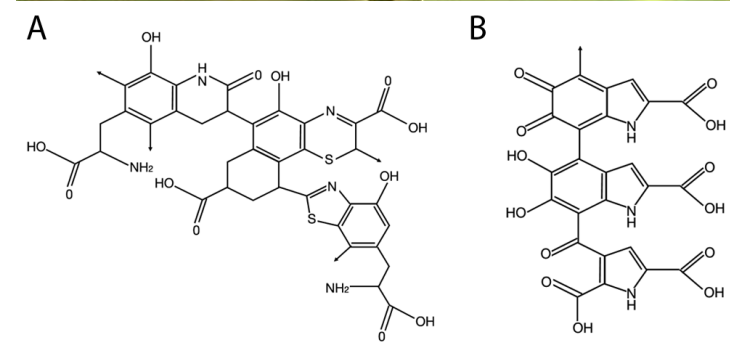
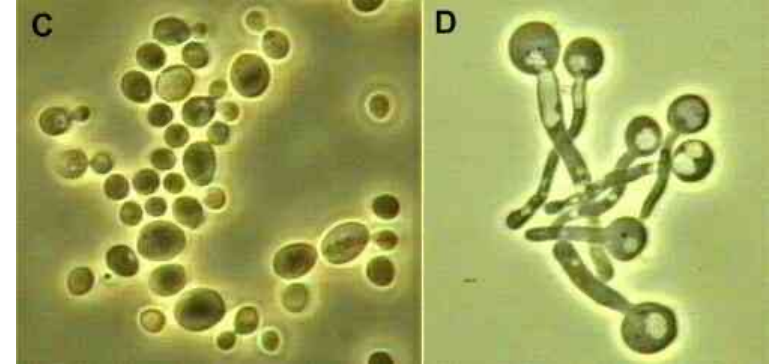
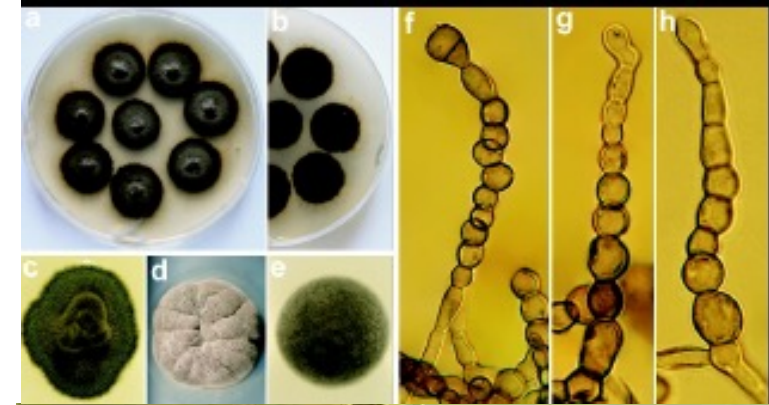
# KOCHOVY POSTULÁTY VÝJIMKY



- **oportunistické patogeny, fyziologická flóra** - způsobují chorobu jen za určitých okolností
  - např. některé druhy *Candida*, které tvoří běžnou mikroflóru GIT, mohou za určitých okolností způsobit onemocnění
- **nekultivovatelní / obligátní intracelulární patogeni** (mikrosporidie, *Lacazia loboi*)
  - někdy možnost kultivace na tkáňových kulturách / inokulace z hostitele přímo na jiného hostitele
- onemocnění je současně způsobeno synergií **více patogenních mikroorganismů**

# Faktory virulence

- schopnost růstu při 37 °C
- kvasinkové stádium
- **povrchové antigeny** (polysacharidy, např. glukany): maskování před imunitou, rezistence k fagocytóze, destrukce imunitních bb.
- **hydrolytické enzymy**: proteázy, lipázy, fosfolipázy
- **melanizace**
- **nenáročnost na živiny** - extrémofilní houby (extrémně slané či kyselé prostředí, růst na povrchu kamenů)

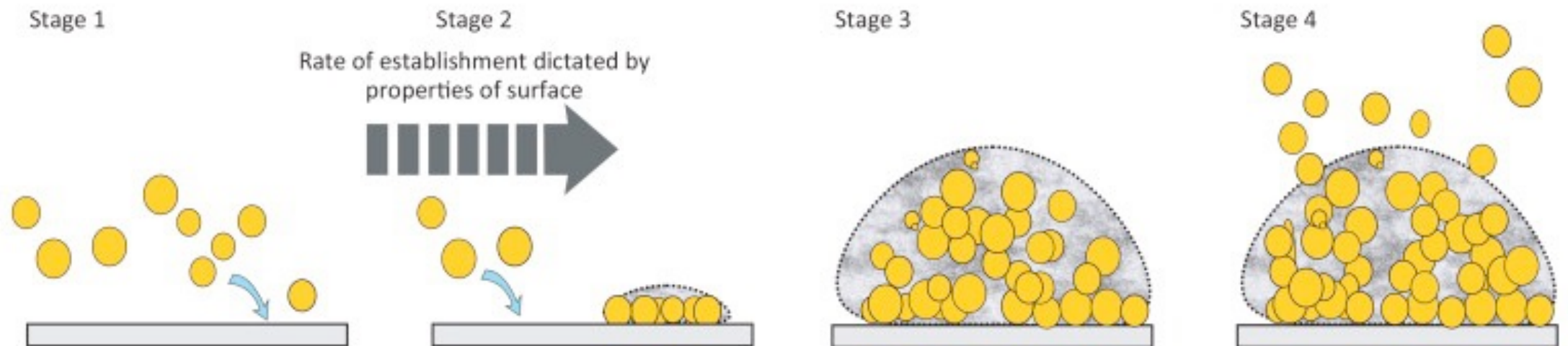




# Faktory virulence

více viz příští lekce zaměřená na  
„faktory virulence“

- schopnost **tvorby biofilmu**
- produkce **sideroforů**
- produkce **antioxidantů**
- produkce **mykotoxinů** (gliotoxin, trichoteceny, fumonisiny, aj.)
- a další



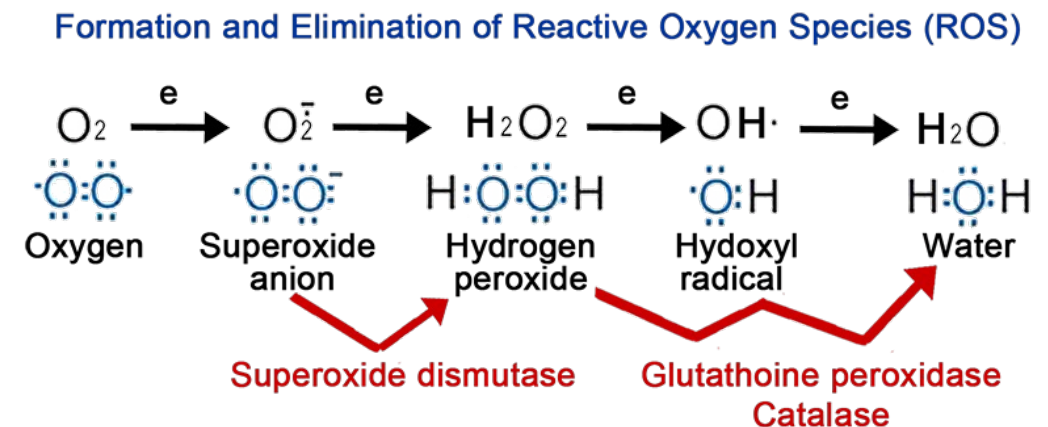
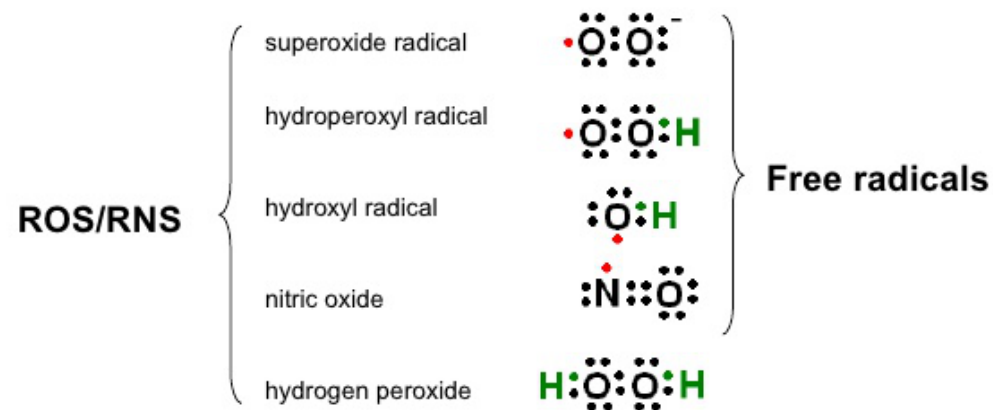


# TERMOTOLERANCE



Oproti běžným podmínkám, je pro růst při vysokých teplotách pro houbu zásadní:

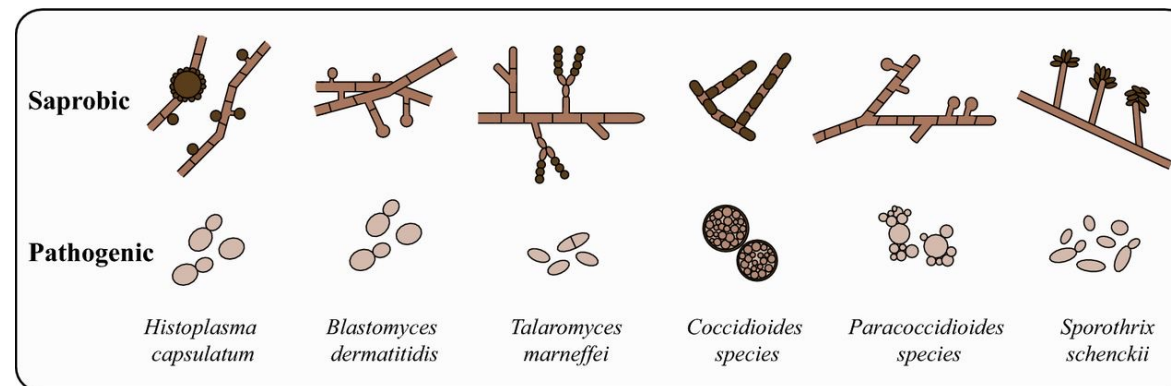
- udržet enzymy a jiné proteiny ve správné konfiguraci (chaperony, včetně heat shock proteinů)
- přežít zvýšený oxidativní stres (RONS - reaktivní kyslíkové a dusíkové radikály) - společně i s obranou proti imunitě hostitele → antioxidanty a enzymy zneškodňujících radikály
- udržení fluidity (s teplotou se zvyšuje) a propustnosti membrány na přijatelné úrovni (změny v množství syntetizovaného ergosterolu a integrálních proteinů)
- změny v signálních kaskádách jsou logickým důsledkem změny exprese řady výše uvedených genů



# DIMORFISMUS / POLYMORFISMUS



- má se za to, že i malé změny v toleranci vyšších teplot významně ovlivňují virulenci mikroorganismů a také průběh onemocnění u hostitele
- přechod do parazitické patogenní formy má zásadní význam pro virulenci dimorfních hub - **nejen změna tvarová**, ale i **metabolická** (preference jiných substrátů, produkce melaninu), mění se **složení stěny, membrány a antigenicita** [zásadní zastoupení  $\alpha$ -(1,3)-glukanu], zvyšuje se **obranyschopnost patogena proti imunitě** (zabití neutrofilů, monocytů a makrofágů) a možnosti **diseminace**
- zásadní i **rychlost změny**: nízké virulentní kmeny *Histoplasma capsulatum* potřebují více času na přechod z myceliální do kvasinkové fáze při 37°C



# PRODUKCE SIDEROFORŮ

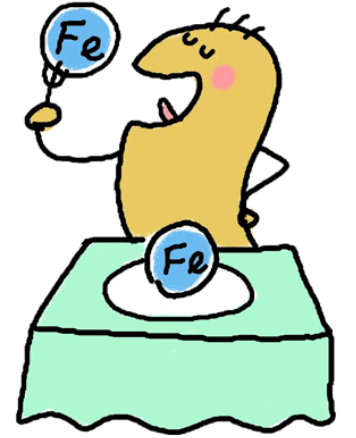


**siderofory** - látky schopné s vysokou afinitou vázat železo

**chelátory** - obecnější pojem pro látky vázající kovy

**železo** = esenciální prvek téměř všech prokaryotických i eukaryotických organismů

- 4. nejč. prvek zemské kůry, v oxid. stavech -2 až +6
- **u člověka jako +2 (železnatý) nebo +3 (železitý kation)**
- **živočišná strava: hemové Fe** (proteiny obsahující hem) - vnitřnosti (např. játra): krev (hemoglobin); svalová tkáň (myoglobin); **nehemové Fe** (zásobní a transportní)
- **rostlinná strava - fytáty**, Fe v málo dostupné formě, obs. i další látky snižující absorpci Fe × vit. C vstřebávání Fe zvyšuje



## Formy a funkce železa v lidském organismu:

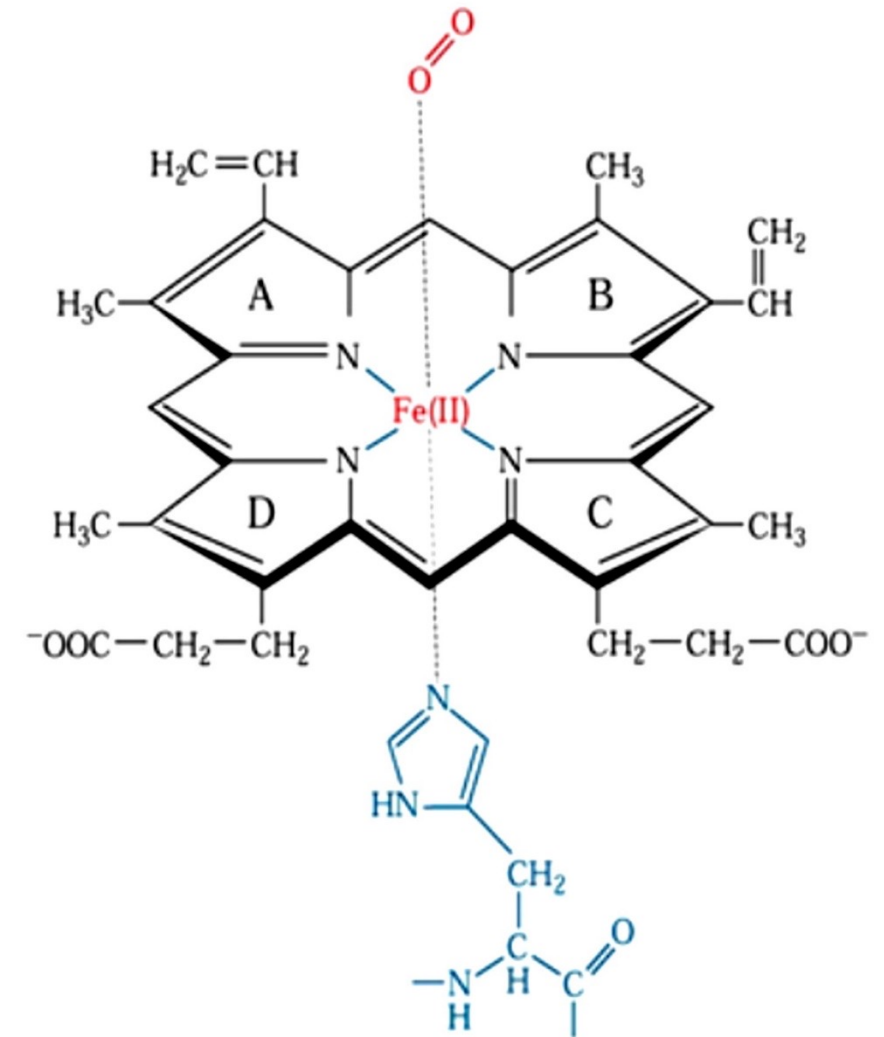
Forma	Funkce	Protein
Aktivní železo	transport kyslíku	hemoglobin, myoglobin
	přenos elektronů	cytochromy a-c, cytochromoxidáza
	rozklad peroxidu vodíku	kataláza, myeloperoxidáza
Zásobní železo		ferritin, hemosiderin
Transportní železo		transferin



# STRUKTURA HEMU U ČLOVĚKA



- **hemoglobin: hem** (metaloporfyrin, cyklický tetrapyrrol) + **globin** (bílkovina)
- **konjugovaný systém dvojných vazeb:**  
-C=C-C=C-
- **4 atomy dusíku**
- **železnatý kation (Fe<sup>2+</sup>)** - uprostřed tetrapyrrolového skeletu
- **vazba kyslíku**

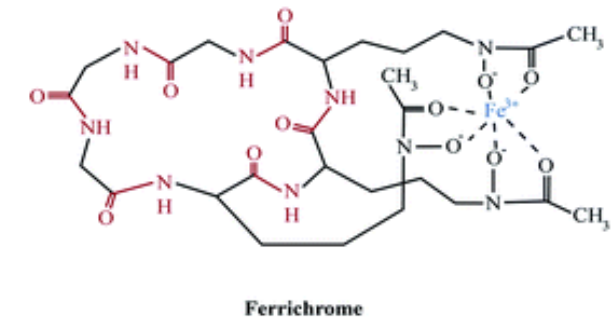
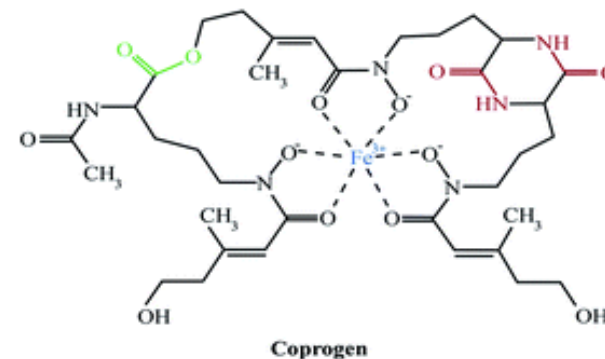
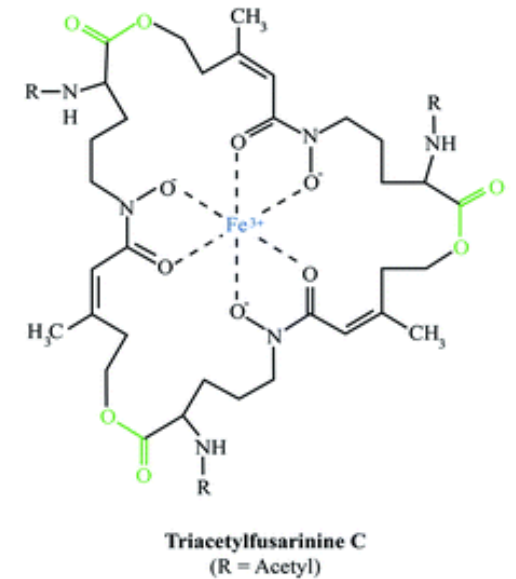
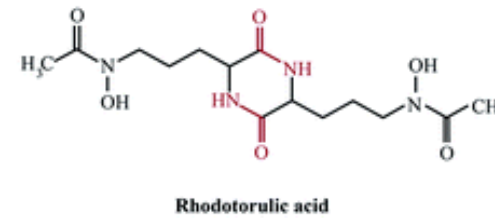


# SIDEROFORY - NÁSTROJE PRO „KRADENÍ“ Fe



4 hlavní chemické skupiny sideroforů u hub

- **fuzarininy**
- **koprogeny**
- **ferrichromy**
- **rhodotorulová kyselina**
  
- jejich cyklizace zlepšuje stabilitu
- mají společnou tzv. hydroxamovou skupinu



# JAK SI LIDSKÝ ORGANISMUS „HLÍDÁ“ FE PŘED MIKROORGANISMY?



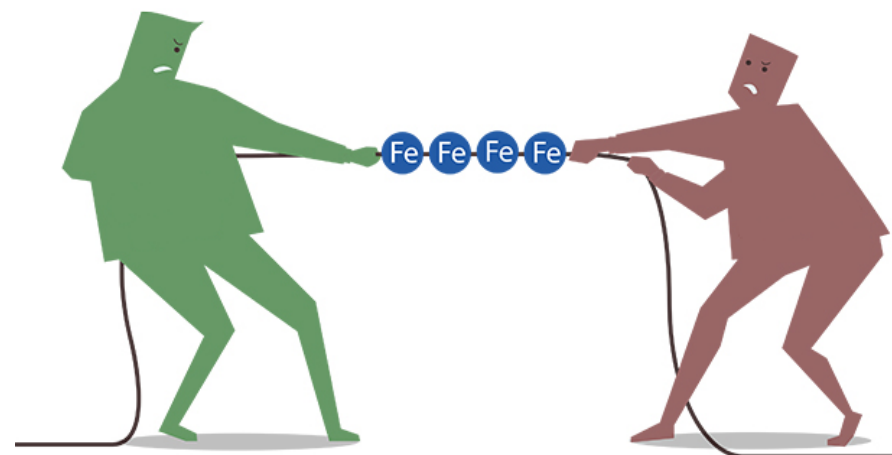
**LAKTOFERIN** - bílkovina vážící Fe uvolňována z leukocytů a buněk, přítomná v sekretech, slzách a mléce

- jeden z mechanismů nespecifické imunity
- vyvázání Fe vede k jeho nedostatku pro mikroorganismy → narušuje jejich metabolismus a množení

**HAPTOGLOBIN** - vychytává volný hemoglobin uvolněný hemolýzou erytrocytů, jeho konc. v plazmě zvyšuje při infekci

**FERRITIN** - váže zásobní Fe v játrech, slezině, kostní dřeni a střevu

- zvýšená syntéza při zánětu → snížení dostupnosti Fe pro mikroby



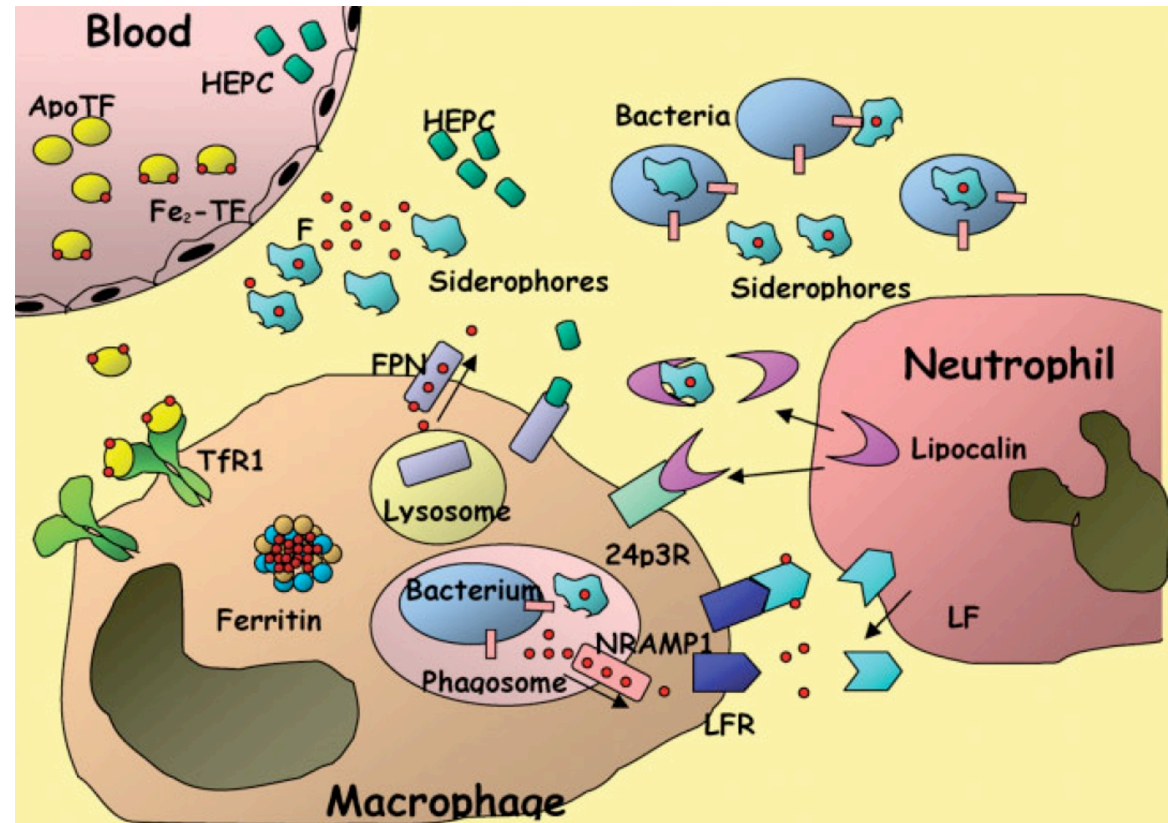
# JAK SI LIDSKÝ ORGANISMUS „HLÍDÁ“ FE PŘED MIKROORGANISMY?



**HEPCIDIN** (hormon) - vysoká hladina působí zadržení Fe v buňkách střeva a makrofázích

**FERROPORTIN** - snižuje uvolňování Fe z buněk, regulován hepcidinem (vysoká hladina při zánětu)

**LIPOKALIN** - glykoprotein neutrofilů, váže siderofory mikroorganismů





# ADHEZE A TVORBA BIOFILMU



první krok předcházející kolonizaci, invazi a případné diseminaci patogena v hostiteli

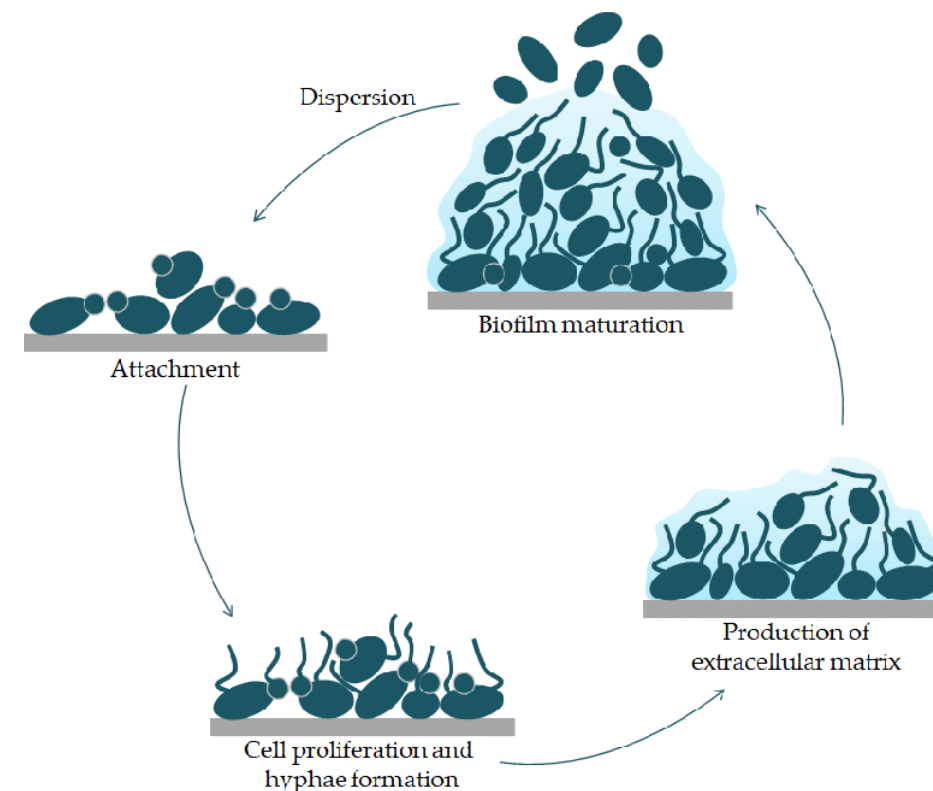
- **buňka ↔ buňka; buňka ↔ extracelulární matrix**
- na buněčné stěně, nebo kapsuli patogena přítomny **adhezivní molekuly** (receptory) rozpoznávající jiné molekuly na epitelu, endotelu, sérových proteinech, extracelulární matrix
- např. *glycoprotein gp43* - váže se k lamininu - adheze k bazální membráně a dalším komponentám extracelulární matrix (mimo jiné také hraje roli v diseminaci maligních tumorů)



# TVORBA BIOFILMU



- **biofilm = nejčastější forma mikrobiálního růstu v přírodě**
- tvořen **buňkami a extracelulární matrix** („lepidlo“)
- ochranné 3-rozměrné prostředí - **adheze k povrchu + koheze mezi buňkami**
- **řízené uvolňování buněk** z matrix a výživa buněk
- fyzikální vlastnosti: **ochrana proti imunitě a pronikání ATM**
- s biofilmem spojené infekce *C. albicans* jsou 4. nejastější příčinou mortality mezi nozokomiálními infekcemi
- **katetrové sepse, slizniční a ranné infekce, osidlování umělých materiálů**, aj.
- biofilm tvoří i další houby - *Aspergillus*, *Cryptococcus*, aj.



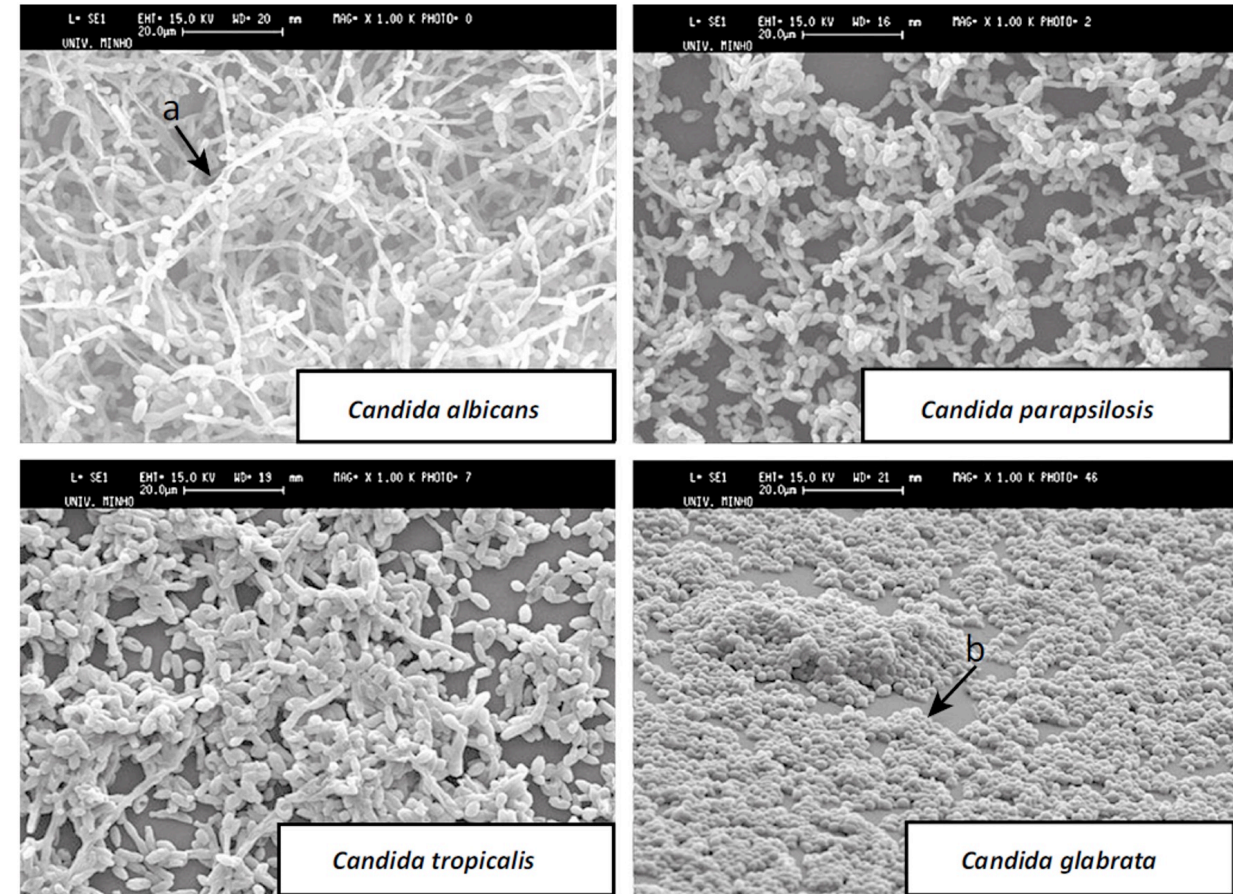
Talapko et al. (2021) J Fungi 7: 79



# SLOŽENÍ BIOFILMU



- **polysacharidy > proteiny > lipidy, nukleové kyseliny**
- složení z velké části **podobné složení buněčné stěny**
- **největší rozdíly** mezi druhy **na úrovni proteinů**
- časté modifikace sítě až po jejím vytvoření (např. pomocí extracelulárních enzymů)
- *in-vivo* je významná část matrix tvořena proteiny hostitele (hemoglobin, albumin, globuliny, fibrinogen, keratin, aj.)



Araujo et al. (2016) Trends Microbiol 25: 62-75



# PRODUKCE MELANINU



- **melaniny = negativně nabité, hydrofobní, černě nebo hnědě pigmentované polymery fenolických sloučenin**
- **výskyt melaninu:** mycelium, stěna spór, sklerócia, plodnice

## VLASTNOSTI A FUNKCE

- strukturální pevnost
- ochrana × **UV záření, volným radikálům a oxidativnímu stresu**
- ochrana × **enzymům degradujícím BS**
- ochrana × **suchu, salinitě a změnám osmolarity**
- ochrana × **toxicitě těžkých kovů**
- často vysoká produkce u extremofilních organismů





# PRODUKCE MELANINU



## FUNKCE V PATOGENEZI

- antioxidační vlastnosti **neutralizují oxidační produkty imunitního systému** vč. volných radikálů
- **přežití fagocytózy** neutrofily/makrofágy
- ochrana × **účinkům některých ATM**

## FEOHYFOMYKÓZA

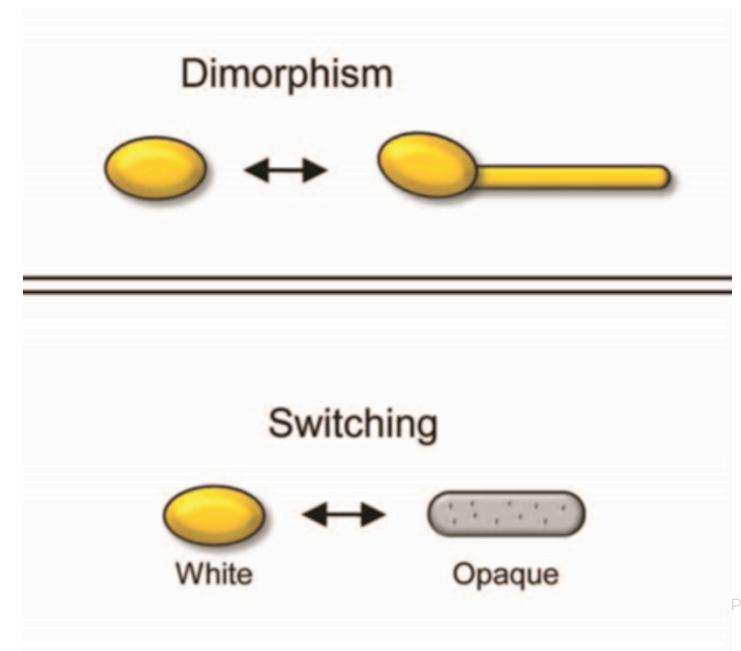
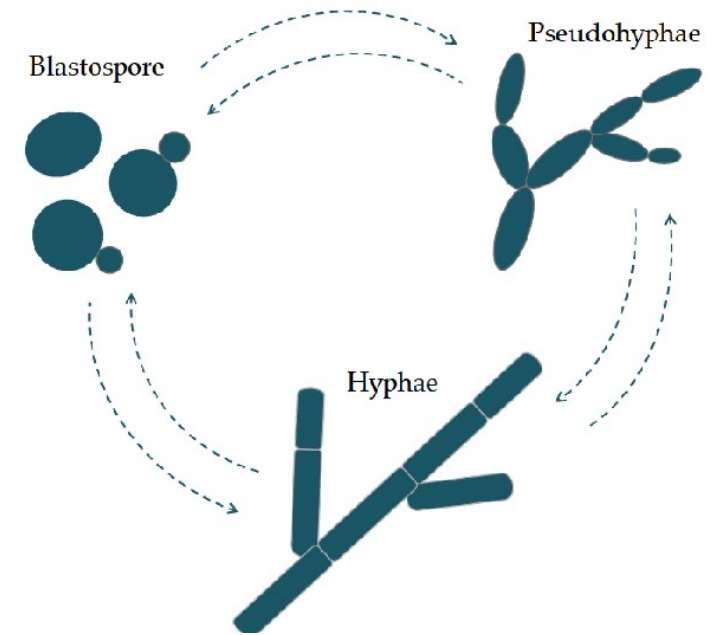


# POLYMORFISMUS

## CANDIDA ALBICANS

*C. albicans* může růst ve více formách – kvasinkové bb. a mycelium mají různé role v patogenezi

- **kvasinkové pučící buňky (diseminace)**
- **pravé mycelium (více invazivní)**
- **pseudohyfy**
- **chlamydospory**
- **neprůsvitné bb. (opaque cells)**

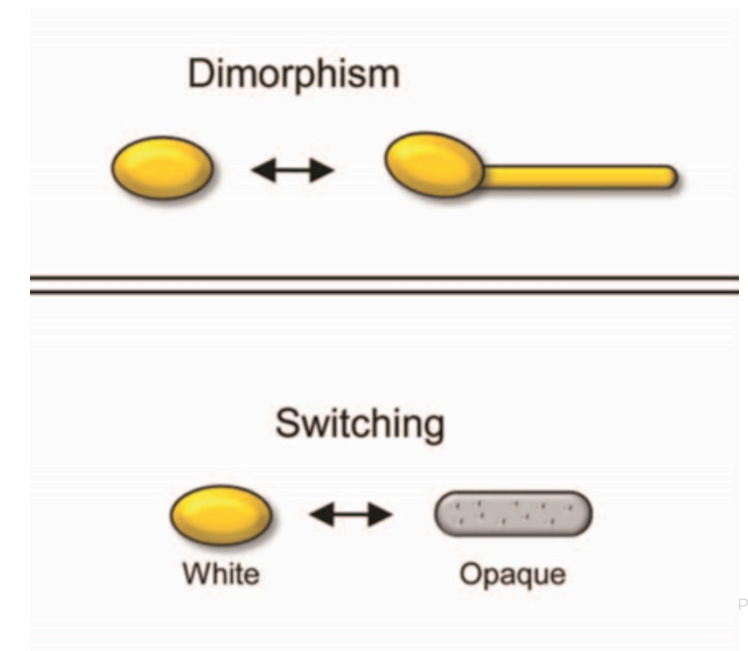
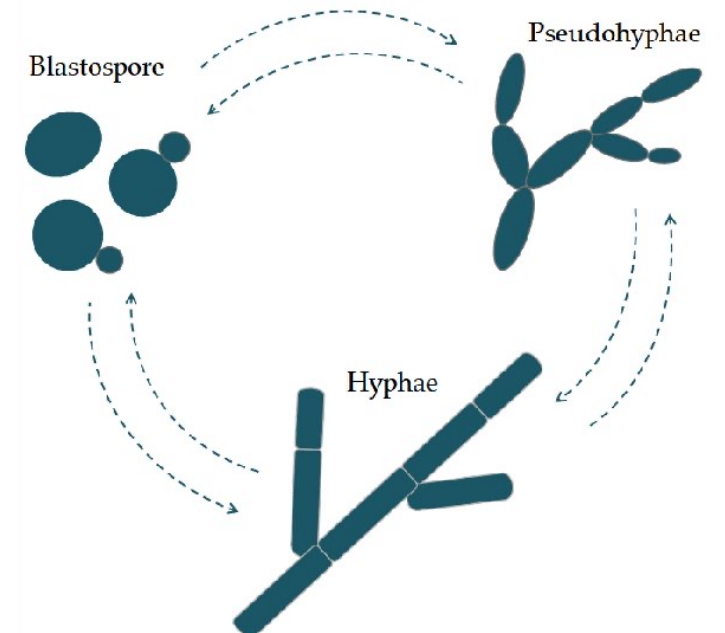


Pozn. opaque cells méně viditelné pro imunitu

# POLYMORFISMUS

## CANDIDA ALBICANS

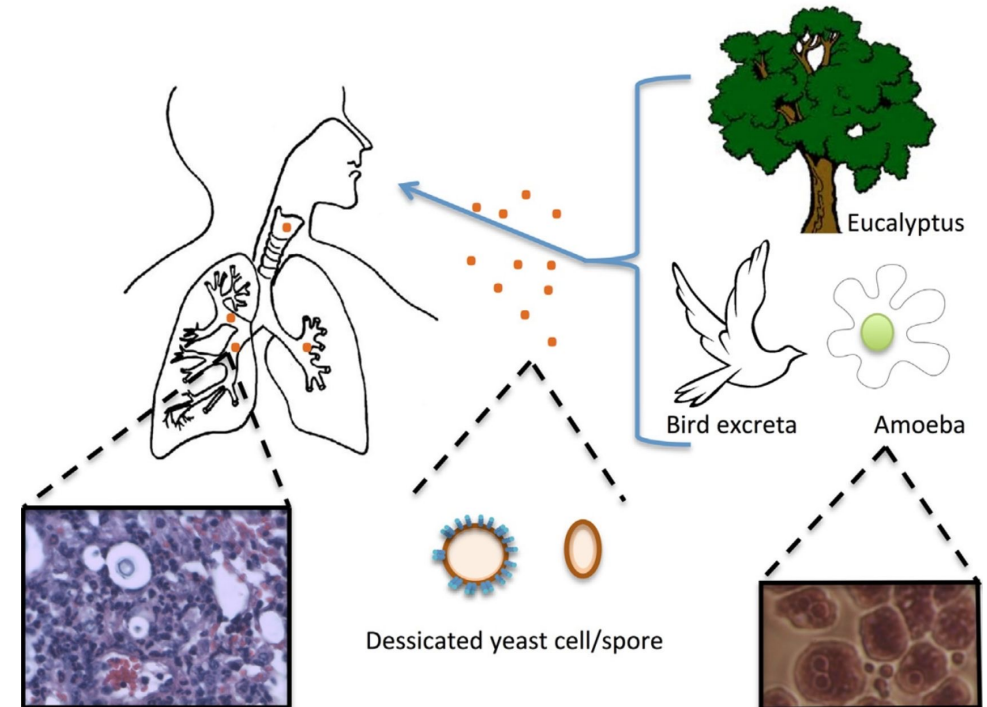
- **nízké pH** (< 6): převažuje **kvasinková** forma (vagína: pH 4-5)
- **vyšší pH** (> 7) převažuje **hyfální** forma (pH plasmy ca 7,4)
- **mezibuněčná komunikace** (farnesol, tyrosol, dodecanol) - vysoké buněčné density (>  $10^7$  bb. ml<sup>-1</sup>) indukují kvasinkovou formu × nízké density hyfální formu



# FV *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*



- **původce plicních infekcí a následných meningoencefalitid**
- **přírozený výskyt:** *Eucalyptus*, půda, ptačí exkrementy; tropy a subtropy celosvětově (Mediterrán), mírný pás Severní Ameriky
- kryptokokové meningoencefalitidy jsou ve světovém měřítku nejčastější invazivní mykózy u AIDS pacientů (zodpovědné za 15% úmrtí spojených s AIDS)
- celosvětově působí 7-8% invazivních mykóz u pacientů po transplantaci solidních orgánů



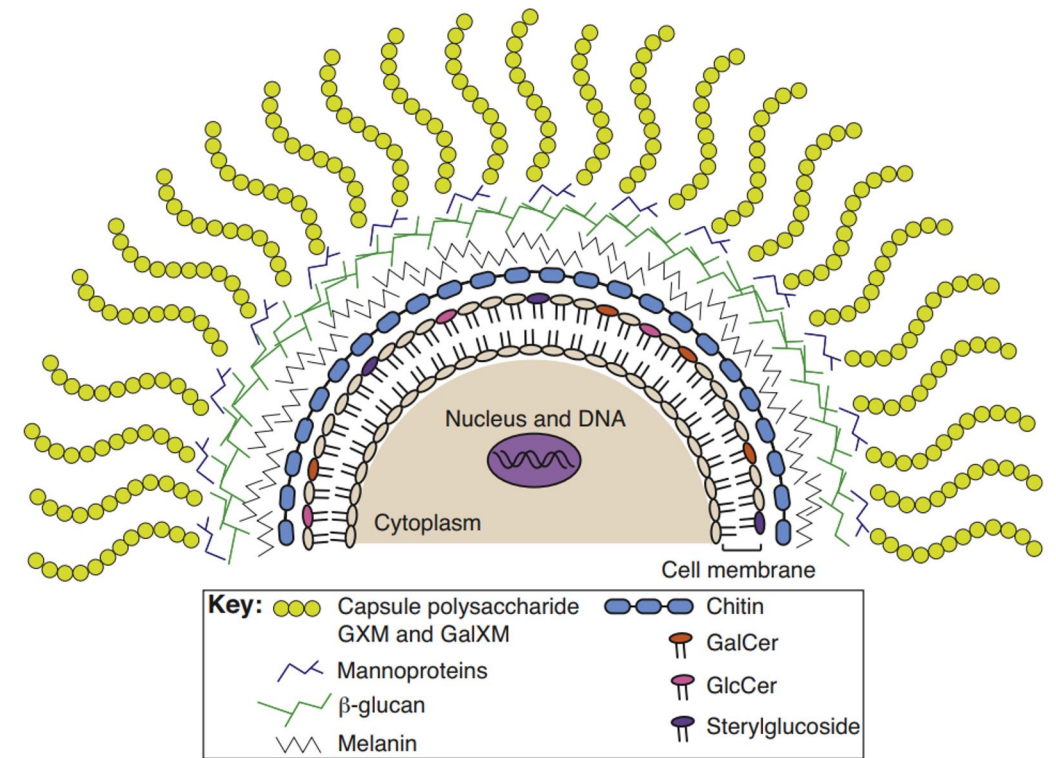
Coelho et al. (2014) Adv Appl Microbiol 87: 2-28

# FV CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS



## POUZDRO (KAPSULA)

- vyvinulo se jako obrana × stresovým podmínkám v prostředí, útoku améb apod.
- **za příznivých podmínek v prostředí se netvoří, ale pravidelně nalézáno u klinických kmenů**
- **glukuronoxylomanan (GXM)**, rozšiřuje BS, **heteropolymer** - nevětvené řetězce  $\alpha$ -1,3 vazbami spojených **manóz** substituovaných **xyložou** a **glukuronovou kyselinou**
- struktura GXM se mírně liší dle sérotypu patogena



Caballero et al. (2018) Trends Microbiol 26: 436-446

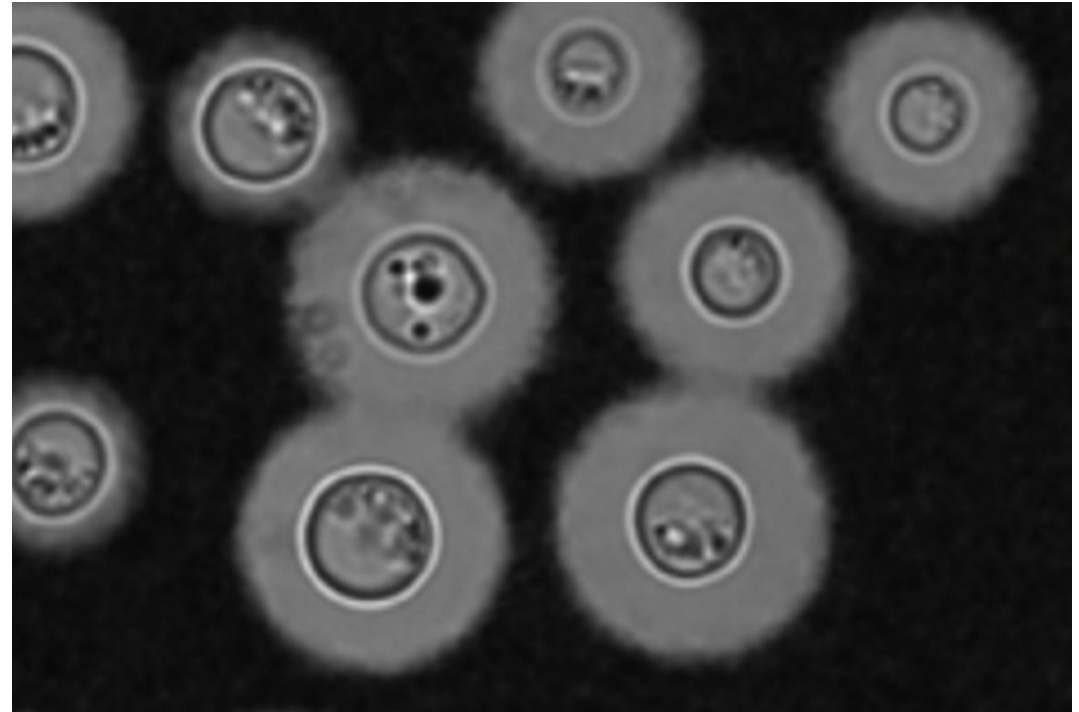


# FV *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*



## VÝZNAM POUZDRA PRO PATOGENEZI

- **významné pro invazi**, usnadňuje rozvoj infekce
- **negativní náboj** - ochrana před fagocytózou a zničením neutrofilů, monocytů a makrofágů
- zodpovídá také za **zneškodnění kyslíkových radikálů, antimikrobiálních látek, komplementu, neefektivitu protilátek, a dysregulaci sekrece cytokinů** monocytů a makrofágů (např.  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$  a  $\text{IL-6}$ )



Coelho et al. (2014) Adv Appl Microbiol 87: 2-28



příští téma

# MYKOLOGICKÉ VYŠETŘOVACÍ METODY A ZPRACOVÁNÍ MATERIÁLU

## LÉKAŘSKÁ MYKOLOGIE



Vit Hubka, M.D., MSc., Ph.D.  
Charles University