

# Endotoxin

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

## Charakteristika

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

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

## Složení

Lipopolysacharid se skládá ze 3 částí:

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

**Lipid A** – tvoří lipidovou složku endotoxinu zodpovědnou za toxicitu gramnegativních bakterií. Díky své hydrofobní povaze (glykolipid) se kotví v její vnější membráně. I přes svůj toxický efekt je však rozpoznání lipidu A lidským imunitním systémem klíčové pro zahájení imunitní reakce a její následné zvládnutí. Aktivuje zejména monocyty a makrofágy, k čemuž stačí koncentrace v řádu pikogramů na mililitr krve. Pokud se v lidském těle nachází ve vysokých koncentracích, je možné, že způsobí endotoxický šok, který může skončit smrtí.

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

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

## Uvolnění endotoxinu

K uvolnění endotoxinu může dojít:

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

## Biologické účinky

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

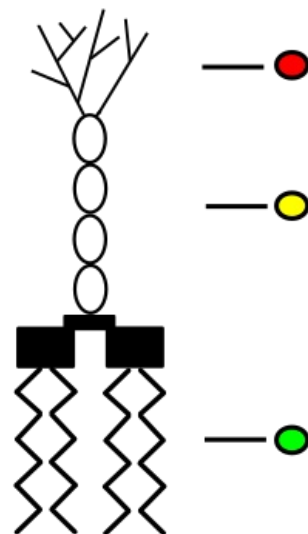
Stimuluje odpověď imunitního systému – aktivace makrofágů, neutrofilů, lymfocytů B. Dochází ke vzniku lokální zánětlivé reakce. Při vyšších koncentracích může dojít ke vzniku endotoxického šoku.

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

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

## Endotoxický šok

- Hypotenze,



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

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

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

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

## Kontaminace endotoxiny

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

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

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

## Možné využití

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

## Odkazy

### Související články

- Bakteriální toxiny
- Bakterie
- Gramovo barvení
- Pseudomembranózní enterokolitida

### Zdroj

- JANSKÝ, Petr. *Zpracované otázky z mikrobiologie* [online]. [cit. 2012-01-30]. <[https://www.yammer.com/wikiskripta.eu/uploaded\\_files/3804405](https://www.yammer.com/wikiskripta.eu/uploaded_files/3804405)>.
- VOTAVA, Miroslav, et al. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. vydání. Brno : Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
- Foca A, Liberto MC, Quirino A, Matera G: Lipopolysaccharides: From Erinyes to Charites, Mediators of Inflammation, Volume 2012 (2012), Article ID 684274, 6 pages
- Lerner KL, Lerner BW: World of Microbiology and Immunology, Gale, Farmington Hills, 2003, s. 351-352