

Országos „Frédéric Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugár-egészségügyi Kutató Intézet (OSSKI)

## A bakteriális endotoxinok és a természetes ellenálló képesség

### I. Endotoxinok és hatásaik. Szemleciikk

Bertók Loránd dr.\*, az orvostudomány doktora

A Gram-negatív baktériumok sejtfa­la tartalmaz egy olyan lipopoliszacharid jellegű anyagot, az endotoxint, mely csak a baktériumsejt elpusztulása után szabadul ki, és erősen mérgező hatású a magasabbrendű szervezetekre (lásd *ábra*). A bélbaktériumok által termelt endotoxin a bél üregéből kerül a véráramba, és endotoxaemiát, pontosabban enteroendotoxaemiát válthat ki. Számos betegség (újszülött borjak és malacok ún. colihashmenése, sertések oedemabetegsége, lovak kólikás megbetegedései, kutyák parvovírusos bélgulladás, emberben és állatokban kialakuló, ún. sebészi sokk és szepszis, égési sokk stb.) kórfejlődésében fontos szerepe van az endotoxaemiának. Az endotoxinérzékenység bizonyos törzsfajlódásbeli összefüggést mutat (lásd *táblázat*). Legérzékenyebb az ember, hasznos háziállataink közül pedig a szarvasmarha. Az endotoxinhatás mechanizmusában rendkívül fontos szerepet játszanak a vérlemezkék, a fehérvérsejtek és a falósejtek, melyek különféle mediátorokat és faktorokat (tumornecrosis-faktor, citokinek, leukotrinek stb.) termelnek. Ezek hatására alakul ki a súlyos klinikai tünetekben megnyilvánuló endotoxinsokk.

*Bertók, L.: BACTERIAL ENDOTOXINS AND NATURAL RESISTANCE. I. ENDOTOXINS AND THEIR EFFECTS. Review article*

Cell-wall of Gram-negative bacteria contains a lipopolysaccharide-like matter, an endotoxin, that will be released only after the death of bacteriumcell. The endotoxin is highly toxic for the higher organisms (*Figure*). The endotoxin produced by the enterobacteria gets into the blood stream from the lumen of intestines and may cause endotoxaemia, or rather, enteroendotoxaemia. Endotoxaemia has an important role in the pathogenesis of several diseases (so-called coli enterotoxaemia of newborn calves, piglets, edemadisease of pigs, colic diseases of horses, parvovirus enteritis in dogs, so-called surgical shock and sepsis, developing in men and animals, thermal injury, etc). The endotoxin sensibility shows certain phylogenetic relations (*Ta-*

*ble*). The most sensitive species is the man and — of the farm animals — the cattle. Thrombocytes, leukocytes and phagocytes play a role of greatest importance in the mechanism of endotoxin effect that produce different mediators and factors (tumornecrosis-factor = TNF, cytokins, leukotriens, etc). These cause the endotoxin-shock, manifesting in severe clinical symptoms.

*Bertók, L.: BAKTERIELLE ENDOTOXINE UND NATÜRLICHE WIDERSTANDSFÄHIGKEIT. I. ENDOTOXINE UND DEREN WIRKUNGEN. Sammelreferat*

Endotoxine — in der Zellmembran gramnegativer Bakterien befindliche Lipopolysaccharide — sind stark toxisch wirkende Substanzen, sie spielen eine wichtige Rolle in der Pathologie der Endotoxämie, genauer gesagt: der Enteroendotoxämie. Die höchste Empfindlichkeit dem Endotoxin gegenüber weist der Mensch, und unter den Nutztierarten das Rind auf. In der Ausbildung von Endotoxinschock kommt den Blutplättchen, den Leukozyten und den Phagozyten eine wichtige Rolle zu. Unter den Mediator-Substanzen, deren Freisetzung durch das Endotoxin gefördert wird, ist der Tumornekrose-Faktor (TNF) an erster Stelle zu erwähnen.

*Берток, Л.: БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОТОКСИНЫ И ЕСТЕСТВЕННАЯ СОПРОТИВЛЯЕМОСТЬ. I. ЭНДОТОКСИНЫ И ИХ ДЕЙСТВИЯ. Обзорная статья*

Эндотоксин — липополисахарид в клеточной стенке Грам-положительных бактерий — сильно токсичное вещество. Эндотоксемия, точнее энтероэндотоксемия играет важную роль в патогенезе многих заболеваний. К эндотоксину наиболее чувствителен человек, а среди домашних животных крупный рогатый скот. В возникновении эндотоксического шока важную роль играют тромбоциты, лейкоциты и фагоциты. Среди медиаторных веществ, освобождающихся в силу эндотоксина, наиболее значительным является опухолевонекротический фактор.

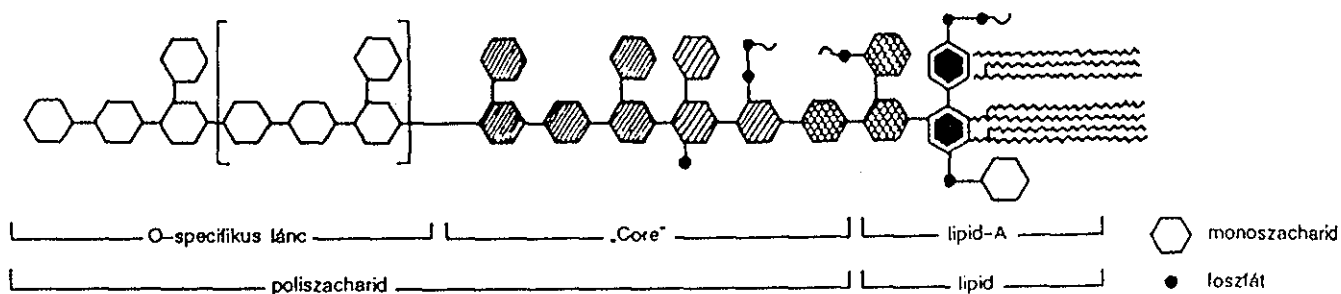
\* Address for correspondence: OSSKI  
 P. O. Box 101  
 Budapest—Budafok  
 H-1775

## Mi az endotoxin?

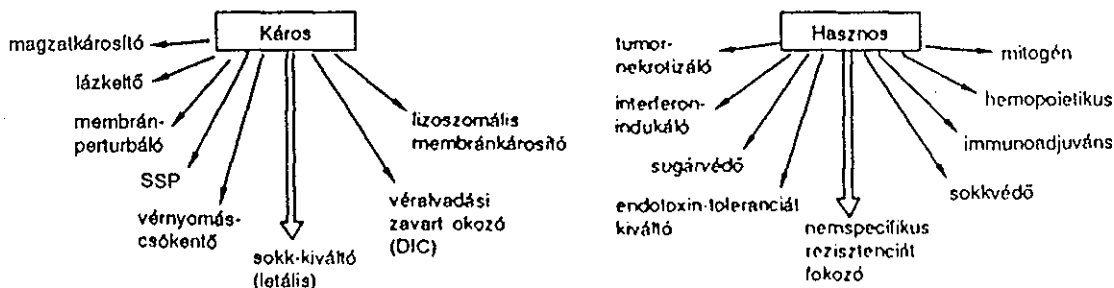
A mikrobák és némelyikük egyértelmű kórokozó képességének felfedezése, valamint az ellenük való védekezés immunológiai módszereinek (aktív és passzív immunizálás) kidolgozása a kutatókban azt a hitet keltette, hogy csak idő kérdése valamennyi fertőző betegség kórokozójának megtalálása és a megfelelő fajlagos védekező eljárás kidolgozása. Kiderült azonban, hogy az ellenálló képesség csökkenése esetén sokszor olyan baktériumok is váltanak ki megbetegedést, amelyek egyébként nem jelentenek veszélyt a szervezetre (ún. alkalmi kórokozók). Arra is többen felfigyeltek, hogy bizonyos baktériumfajok, elsősorban egyes, a Gram-féle festési eljárással nem festődő, ún. Gram-negatív fajok ellen nem sikerül a már bevált immunológiai módszerekkel gyakorlati szempontból is megfelelő hatásokkal védekezni. Így terelődött a kutatók figyelme a Gram-negatív baktériumok vizsgálatára. Megállapították azt is, hogy e baktériumfajok mind hasonló hatású mérgező anyagot állítanak elő, amely sejtfaluk fontos alkotórésze. E baktériumfajok környezetünkben bárhol megtalálhatók, de egyes fajaik a bélesatornáknak is állandó lakói. Egészséges egyedekben ezek semmiféle betegség-

get nem okoznak, noha sejtfaluk az említett toxikus terméket, az ún. endotoxint, mindig tartalmazza. Bizonyos körülmények között azonban az endotoxinok a bélből a keringésbe kerülhetnek (enteroendotoxaemia) és súlyos, nemegyszer halálos sokkot válthatnak ki. Az endotoxin elnevezés egyébként onnan származik, hogy e baktériumokból csak akkor szabadul ki az endotoxin, ha ezek a baktériumsejtek elpusztulnak, szemben az ún. exotoxint termelő baktériumokkal, melyek kiválasztják magukból a fehérje természetű toxinokat (pl. tetanustoxin). Ezért javasolta e baktériummérgek elnevezésére Pfeiffer 1892-ben az endotoxin elnevezést (4, 5). Az endotoxinkutatás azonban tulajdonképpen csak akkor indult meg tudományos alapon, amikor Boivin és Mesrobeanu a párizsi Pasteur Intézetből 1937-ben közölték, hogy triklór-esetsavas kivonással sikerült viszonylag tiszta endotoxint előállítaniuk, amely igen kis mennyiségben is lázkeltő és mérgező hatású (7). További jelentős lépés volt, amikor Freiburgban Westphal, Lüderitz és Bister bevezették a fenol-vizes eljárást az endotoxin kivonására, és megállapították, hogy a bakteriális endotoxin egy lipopoliszacharid makromolekula, amely három fő részből (poliszacharidból, lipid-A-ból és egy kevés polipeptidből) áll (lásd az

Az endotoxin felépítése



Fontosabb hatásai:



Az endotoxin felépítése és fontosabb hatásai

The building up and the more important effects of the endotoxin

ábrát), és molekulatömege 1 millió és 10 millió Dalton között van (18). Nagy a valószínűsége annak, hogy ezek a biológiailag igen aktív hatású óriásmolekulák valamilyen „makroaggregátszerű” térszerkezetűek. Általánosan elfogadott, hogy az endotoxinok mérgező voltáért a lipidrész, az ún. lipid-A a felelős, amely hosszú láncú zsírsavakból, keto-dezoxioktansavból és ezekhez kötött kevés foszforból áll. A poliszacharid rész tulajdonképpen nem mérgező, és gyakorlatilag azonos a Gram-negatív baktériumok (pl. *Escherichia coli*) O-specifikus antigénjével. A molekulában, ill. a készítményekben található kevés peptidnek nincs mérgező hatása, de valószínűleg szerepe lehet az endotoxinok immunogén hatásában.

#### Az endotoxinok kórtani jelentősége

Az endotoxinok iránt több évtizede megnyilvánuló és nem csökkenő érdeklődésnek több oka van. Az egyik, s talán a legrégebbi, a láz kiváltásában felismert fontos szerepe. Tulajdonképpen ennek vizsgálata indította el az endotoxin kutatást (19). A másik ok az endotoxinoknak a Gram-negatív baktériumokkal való fertőzések és a különféle sokkok (széptikus sokk, égési sokk stb.), valamint a sugárbetegség (különösen annak ún. bélszindrómája) kórfejlődésében részben bizonyított, részben feltételezett szerepe (9, 10, 12, 17). Ez utóbbi kérdés gyakorlati fontosságát bizonyítja, hogy még napjainkban, a széles hatású antibiotikumok használata ellenére is, csak az USA-ban évente 300 000 ember betegszik meg Gram-negatív baktériumok okozta fertőzésekben, ill. endotoxaemiában és ebből 100 000 meg is hal. Ha ehhez még hozzászámoljuk háziállatainkban (sertés, szarvasmarha, ló, kutya) előforduló olyan kórformákat, melyekben az endotoxinoknak szerepe lehet (sertés oedemabetegsége, újszülött malacok és borjak ún. colihammenése, lovak kólikás megbetegedései, kutyák parvovírusos bélgyulladás stb.), érthető e „kórok” iránti érdeklődés (2, 3, 8, 13). Újabban az endotoxinoknak biológiai mintákban való kimutatására alkalmas módszer az ún. LAL, mely a *Limulus polyphemus* nevű tengeri élőlény amoebocytái lizátumának endotoxin általi megalvasztásán alapul (11), egyre inkább lehetővé teszi egyes kórképekben az endotoxin szerepének bizonyítását.

Az endotoxinhatás különböző fajokban némileg eltérő tünetekben nyilvánul meg. Vannak igen érzékeny, közepesen érzékeny, és teljesen közömbös fajok, amint azt a táblázat mutatja (1). Némi törzsfajlódási összefüggést lehet az összehasonlító táblázatból kiolvasni. Érdeemes megjegyezni, hogy az ember endotoxinérzékenysége még a szarvasmarháénál is nagyobb (5).

#### Különféle fajok endotoxinérzékenysége

#### The endotoxin sensibility of the different animal species

Faj	n	Testtömeg g	kg	LD <sub>50</sub> mg/kg
Szarvasmarha (borjú)	4		50	0,025—0,10
Nyúl	15		3 ± 1	3,0
Sertés	40		10—25	2,0—5,0
Kutya	6		10 ± 5	40,0
Tengerimalac	20	450 + 50		10,0
Macska	6		2,5 ± 0,5	15,0
Patkány	200	100—300		20—60
Egér	400	18 ± 4		25—60
Kocapatkány	38	70—100		28,0
Csincsilla	11	300—400		40,0
Sündisznó	6	500		50,0
Galamb	49	300—400		> 50,0
Tyúk	30		1 ± 0,2	> 50,0
Béka	70	40 ± 10		> 100,0
Hal	10	110 ± 10		> 200,0
Gyík	10	20		> 200,0

#### Az endotoxinok hatása

Az endotoxinérzékeny fajokban endotoxin hatására kialakuló sokk fajonkénti kifestő különbözősége valószínűleg az egyes „mediátorok” (1. később) felszabadulásának némi különbözőségéből ered (1, 4). A kialakuló kórtani képre azonban végső soron minden fajban a súlyos keringési változások (vérnyomásesés, a portalis nyomás növekedése, lép-máj bővérűsége, a tüdőerek ellenállásának növekedése, vemhes állatok esetében vetélés stb.) és gyomor-bél tünetek (hányás, hasmenés stb.) a jellemzők (5, 14). A tüdőelváltozások a ló, a kérészdzök, a sertés és a macska esetében, míg a bélelváltozások a kutya esetében jellegzetesebbek (1, 8). Csaknem minden endotoxinérzékeny fajban kialakulnak véralvadási zavarok, sőt az ún. diszszeminált intravasculáris coagulatio (DIC) is. A szívkeringési változások mellett — ha az állat túléli a sokkot — minden állatfajban thrombocytopenia, leucopenia alakul ki, melyet leucocytosis követ. Az endotoxinok mérgező, de hasznos hatásai is a sejtek és ezek szubcelluláris membránjain végbemenő folyamatok eredményei (5, 8, 9, 10, 12, 17).

Mai ismereteink szerint magasabbrendű szervezetben nincsenek az endotoxinoknak fajlagos célsejtjei. Valószínűleg nincsenek — bár többször leírták — a sejtfelületeken endotoxinra fajlagos kötőhelyek (receptorok) sem. Közvetlen sejt hatásuk csak a vérlemezkék (aggregáció) és az ondósejtek (agglutináció) esetében mutatható ki (5). Ennek ellenére általános membránkárosítást okoznak, és ezáltal váltják ki hatásukat. Könnyen elképzelhető azonban, hogy az endotoxinok éppen membránkárosító hatásuk miatt zavarhatják a különféle hormonok kötődését (15, 16). Károsítják a lizozomális membránokat is, és a lizo-

szómákból hidrolitikus (autolitikus) enzimeket szabadítanak fel (béta-glukoronidáz, katepszin-D, RNáz), de a mikroszomális membránokat sem kímélik, és így jelentősen csökkentik vagy bénítják az ún. kevert funkciójú oxigenáz, az ún. adaptív (induktív) enzimrendszert is, mely a szervezet védekezőrendszerében fontos szerepet játszik (6). Az endotoxinoknak a membránokhoz való kötődését, mely fizikokémiai folyamat, követi a makromolekula belépése a foszfolipid kettős rétegbe, ami a membrán destabilizációját okozza. Ez a folyamat „beindítja” a ciklikus AMP-rendszert, és ezzel párhuzamosan létrejön a membrán ún. „perturbációja” (15).

Az endotoxin iránt megnyilvánuló széles körű érdeklődésnek köszönhetően ma már az endotoxinok számos hatását ismerjük, amint ez az ábrán látható. E hatások többsége természetesen káros, de van néhány olyan is, mely kísérleti körülmények között bizonyítottan hasznos. A hatások okait vizsgálva megállapítható, hogy ezek nagy része bizonyos sejtekhez (fehérvérsejtek, vérlemezkék, falósejtek, endothelsejtek, RES-sejtek) kötött. Az endotoxin hatására különböző mediátoranyagok (ún. citokinek; daganatlehalást előidéző faktor, interleukinek, vérlemezke-aktiváló faktor, leukotrinek, prosztaglandinok, lizoszomális membránkárosító anyag stb.) szabadulnak fel (8). Legjobban a falósejtek által termelt anyagokat és ezek hatását ismerjük. Mai ismereteink alapján a legfontosabb mediátor a már régebben kachektin néven is leírt tumornekrózis-faktor (TNF) lehet, mert az ellene termelt monoklonális ellenanyaggal az endotoxin mérgező hatásainak jelentős részét gátolni lehet.

Az endotoxin hatásának sejtszintű tanulmányozásában sokat segített, de sok zavart is okozott a C3H/HeJ jelű beltenyésztett egértörzs egyedének valószínűleg örökletesen meghatározott csökkent endotoxinérzékenységének felfedezése. Az ilyen törzsbeli egér csak akkor lesz a szokásost megközelítő mértékben érzékeny az endotoxinra, ha besugárzás után endotoxinérzékeny egérből (C3H/HeN) származó csontvelő- vagy lépsejteket kap intravénásan (8, 9, 10).

Az endotoxin által kiváltott jellegzetes kétfázisú láz kialakulásában fontos szerepe van az interleukin-1 (IL-1; régebben endogén pirogén) nevű anyagnak. Az IL-1-nek lázon kívül még sok más hatása is van az endotoxinsok kórfejlődésében (8).

Az endotoxinhatásban tehát számos „mediátornak” és „faktornak” van részben bizonyított, részben feltételezett szerepe. Így a vérlemezke-aktiváló faktor

(PAF), a prosztaglandinok, eikaszanoidok, a leukotrinek (LT), a hisztamin, a szerotonin, a vazopresszin, az angiotenzin, a katekolaminok és a különböző véralvadási faktorok, valamint a szabad gyökök szerepe képezte és képezi ma is vizsgálat tárgyát (8, 12). A sokféle megközelítésből természetesen sok újabb adat születik. Egyelőre elég nehéz a rengeteg adatból kiválogatni azokat, melyek az endotoxinok által kiváltott sok kórfejlődésének jobb megértése szempontjából fontosak. Mai ismereteink alapján azonban remélhető, hogy az endotoxinhatás, ill. az endotoxinsok további tanulmányozása nemcsak a kórtani-immunológiai kutatások fontos modelljeként fog jelentős eredményeket hozni, hanem a közvetlen gyakorlati (klinikai) használhatóság területén is.

#### IRODALOM

1. *Berczi I.—Bertók L.—Berezsnai T.*: Kísérl. Orvostud., 1967. 19. 669.
2. *Bertók, L.*: Veterinarstvi, 1965. 15. 298.
3. *Bertók, L.*: Persp. Biol. Med., 1980. 24. 61.
4. *Bertók L.*: Bakteriális endotoxinok és a természetes ellenálló képesség. In: *Csaba Gy.* (szerk.): A biológia aktuális problémái. 29. kötet, 9—54. Medicina, Budapest, 1983.
5. *Bertók L.*: A bakteriális endotoxinok és a természetes ellenálló képesség. MTA-doktori ért. Budapest, 1983.
6. *Bertók, L.—Szeberényi, Sz.*: Immunopharmacology, 1983. 6. 1.
7. *Boivin, A.—Mesrobian, L.*: C. R. Soc. Biol., 1933. 112. 611.
8. *Hardie, E. M.—Krise-Elliott, K.*: J. Vet. Int. Med., 1990. 4. 258.
9. *Hinshaw, L. B.*: Pathophysiology of Endotoxin. Vol. 2. (ed: *Proctor, R. A.*) Handbook of Endotoxin, Elsevier, Amsterdam—New York—Oxford, 1985.
10. *Kadis, S.—Weinbaum, G.—Ajl, S. J.*: Microbial toxins. Vol. V. Acad. Press. New York—London, 1971.
11. *Livine, J.—Bang, F. B.*: Bull. John Hopkins Hosp., 1964. 115. 265.
12. *Majde, J. A.—Pearson, R. J.* (eds): Pathophysiological effect of endotoxins at the cellular level. Alan R. Liss Inc. New York, 1981.
13. *Szanió F.—Bertók L.*: Magy. Állatorv. Lapja, 1990. 45. 109.
14. *Szűcs Gy.—Csondás T.—Bertók L.*: Magy. Nőorv. Lapja, 1990. 53. 197.
15. *Takács, A.—Borsos, B.—Bertók, L.*: Acta Biochim. Biophys. Hung., 1989. 23. 191.
16. *U. Nagy, Zt.—Bertók, L.*: Acta Physiol. Hung., 1990. 76. 137.
17. *Urbaschek, B.—Urbaschek, R.—Neter, E.*: Gram-negativ bacterial infections. Springer-Verlag. Wien—New York, 1975.
18. *Westphal, O.—Lüderitz, O.—Bister, F.*: Z. Naturforsch., 1952. 7b. 148.
19. *Westphal, O.—Westphal, U.—Sommer, Th.*: The history of pyrogen research. In: *Schlessinger, D.* (ed): Microbiology Am. Soc. Microbiol., Washington D. C., 1977. p. 226.