

GÁCSEK ATTILA

# Rejtőzködő gyilkosok

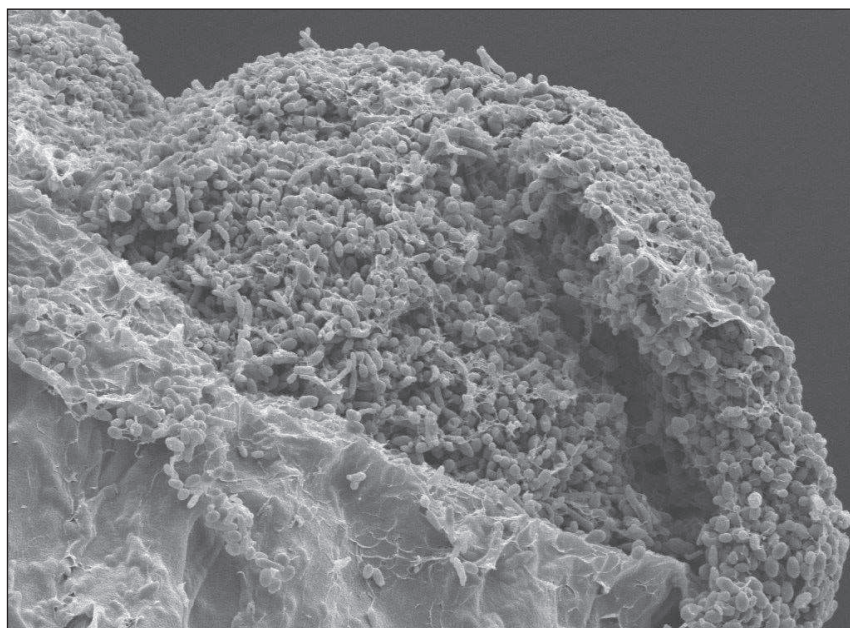
## A Candida-gombák

Napjainkban egyre többet hallani a *Candida*-fajok által kiváltott megbetegedésekről. Talán a mikroszkopikus gombaeredetű betegségek közül a *Candida*-fertőzésekkel kapcsolatos kérdésekkel találkozhatunk leggyakrabban a női magazinok kérdezz-felelek oldalán, de igen gyakran olvashatunk különböző bulvárújságokban az éppen aktuális, minden bajra megoldást nyújtó *Candida*-ellenes csodadiétákról is. Mindez arra utal, hogy olyan témáról van szó, ami sokakat érint és érdekel.

Egyes adatok szerint évente mintegy 300 millió ember szenved valamilyen gombafertőzésben és sajnálatos módon hozzávetőlegesen 1,3 millió haláleset köthető az ilyen típusú betegségekhez. Viszonyításként a rettegett TBC (tuberkulózis) 1,5 millió emberéletet követel egy év leforgása alatt. Mindezek ellenére meglehetősen keveset tudunk ezekről a mikrobákról, különösen arról, hogyan képesek bennünket megbetegíteni és akár hosszú éveken keresztül jelentősen rontani életminőségünket, vagy akár a legrosszabb esetben halálos kimenetelű fertőzést okozni.

A Candidák okozhatnak felületi, elsősorban a bőrt, körmöket vagy a hajas fejbőrt érintő betegségeket, a száj vagy a nemi szervek nyálkahártyáját érintő fertőzéseket vagy az emésztőszervrendszert károsító folyamatokat stb. Az egész szervezetet érintő fertőzések során kialakulhat az ízületeket, a szívet vagy akár a központi idegrendszert, elsősorban az agyat érintő fertőzés. Ez utóbbiak rendkívül nehezen kezelhetők, sokszor halállal végződő kórfolyamatok. Ahhoz, hogy megértsük, miért is ilyen nehéz és összetett a gombaeredetű fertőzések diagnózisa és gyógyítása, mindenekelött a kórokozóról kell beszélnünk.

A mikroszkopikus gombák heterotróf, eukarióta élőlények, és így eltérően a prokarióta baktériumoktól, sokkal inkább hasonlítanak az emberre molekuláris felépítésüket tekintve. Emiatt az ellenük történő hatékony védekezés is meglehetősen nehéz. Egyes becslések szerint a környezetben mintegy 1,5–5 millió különböző gombafaj létezhet. Látható, hogy óriási bizonytalanság van még abban is, hogy egyáltalán hány gombafaj létezhet



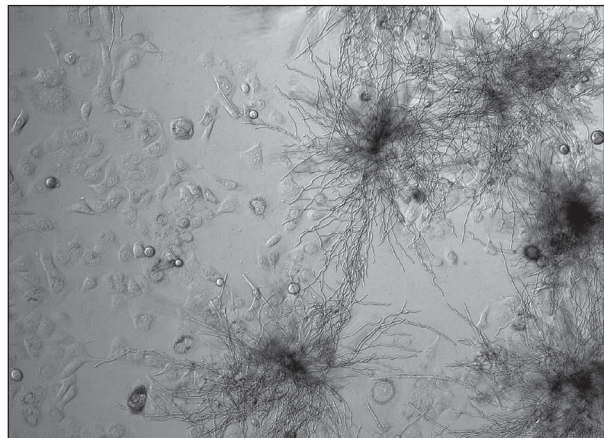
Táptalajon növesztett *Candida parapsilosis* sejtjei pásztázó elektronmikroszkópos felvételen, 700x-os nagyításban (Németh Tibor, Petkovits Tamás és Gácsér Attila felvétele)

a világon, az viszont tény, hogy ezeknek nagy részét még csak nem is azonosították. Meglepő lehet, hogy a milliós nagyságrendű fajszám ellenére csupán néhány száz gombafaj képes betegséget okozni emberben, és ezek közül is csak néhány tucat az, amely komoly problémát okoz. Ennek valószínűleg evolúciós okai lehetnek, hiszen az emberi immunrendszer fejlődése során folyamatos kapcsolatban volt a mikrobiális környezettel, így olyan mechanizmusok alakulhattak ki benne, amelyek hatékonyan képesek megvédeni a szervezetet a betolakodók ellen. Az emlősökben kialakult állandó testhőmérséklet az egyik legfontosabb komponense lehet az invazív gombafertőzések elleni védelmi rendszernek. Ennek oka az, hogy viszonylag csekély számú gomba képes az emlősök testhőmérsékletén növekedni. Az immunrendszer továbbá olyan védelmi vonalakat épített ki, mint például a bőr vagy a nyálkahártya-felszínek, amelyek fizikai határvonalakat képeznek a külvilág felé és megakadályozzák a mikrobiális kórokozók szervezetbe jutását. Mindeze-

ket figyelembe véve, az emberi szervezetet parazitálni meglehetősen bonyolult feladat. Egy olyan gombának, amely erre alkalmas lehet, minimum négy feltételnek kell megfelelnie: 1. mindenképpen képesnek kell lennie a 37 Celsius-fokon történő növekedésre; 2. le kell küzdenie az immunrendszer fizikai védelmi vonalait vagy azáltal, hogy áttöri azokat, vagy azzal, hogy kisméretű képleteket hoz létre, amelyek képesek bejutni például a tüdőbe; 3. képesnek kell lennie az alapvető tápanyagok lebontására és felvételére az emberi szervezetben; 4. ellen kell állnia az emberi immunrendszernek. Azokat a képességeket, amelyek egy gombát felruháznak ezekkel a tulajdonságokkal, röviden virulencia-faktoroknak nevezzük. Az emberi testhőmérsékletéhez történő alkalmazkodás mellett a gombasejt morfológiájának megváltoztatása szintén fontos, a fertőzőképességgel összefüggésbe hozható tulajdonság. Számos patogén gomba képes egysejtes, ún. élesztőszerű növekedés mellett megnyúlt képletek létrehozására, amelyet hifának nevezünk. Ez utóbbi képes

lehet az immunrendszer védelmi vonalainak áttörésére elsősorban fizikai behatások révén, egészen egyszerűen, a hifavégek növekedésük révén áthatolhatnak a nyálkahártyán. Számos megbetegedést okozó gomba képes továbbá olyan kisméretű képletek létrehozására, amelyek könnyen bejutnak a tüdő alveolusaiba és ott megtapadva képesek fertőzést kiváltani.

Miután egy kórokozó bejutott a szervezetbe, a növekedéséhez szükséges tápanyagok felvételét kell megoldania. Az ehhez szükséges ún. szekretált hidrolitikus enzimek (pl. fehérjék lebontására alkalmas proteázok vagy a lipideket hidrolizáló lipázok) termelése tehát szintén fontos komponense a megbetegítő képességnek. A gazdaszervezet makromolekuláinak lebontása után szükség van hatékony transzportrendszerekre, amelyek lehetővé teszik a létfontosságú nitrogén- és szénforrások hasznosítását, azonban mindezek mellett rendkívüli jelentősége van a mikroelemek (mint a vas vagy a cink) felvételének is. Ez utóbbiak ugyan nagyon kis mennyiségben szükségesek, de hiányukban alapvető fiziológiai, illetve enzimátikus folyamatok válnak lehetetlenné. Miután a gazdaszervezetnek is szüksége van ezekre a mikroelemekre, folyamatos versengés



**Humán pikkelysejtes karcinóma epitelsejt vonal *Candida albicans* fertőzésének fénymikroszkopos képe 10x nagyítással objektívvel (Szenzenstein Judit, Papp Csaba, Gácsér Attila felvétele)**

alakul ki a patogénnel. Az emberi immunrendszer összetettsége és kifinomult védelmi mechanizmusa még a fenti képességekkel rendelkező gombák nagy részét is képes kordában tartani, illetve a komolyabb fertőzést megakadályozni. Naponta több száz gombaspórát lélegzünk be, a bőrünkön keletkező mikrosérülések révén számos gombasejt kerül a szövetünkbe, hajszálereinkbe. Az esti-reggeli fogmosás is apró sérülések sokaságát okozza a száj nyálkahártyáján, amely kaput nyit a mikrobák számára. Mindezek ellenére, szerencsére ritkán alakul ki komoly gombafertőzés egészséges immun-

rendszerű emberekben.

Más a helyzet, ha ez a lenyűgözően kifinomult védelmi rendszer megsérül, vagy a működésében hiba lép fel. Az immunvédekezésben legyengült páciensek körében rendkívül gyakran alakulnak ki gombafertőzések, amelyek sajnos sokszor végződnek halállal. Különösen veszélyesek ilyen szempontból azok a mikroszkopikus gombák, amelyek alkalmazkodtak az emberi szervezet körülményeihez és a normál mikrobiális flóra tagjaként velünk élnek. Ezek a gombák ugyanis, eltérően a környezetben előforduló társaiktól, már képesek magasabb hőmérsékleten növekedni és minden további tulajdonságuk ahhoz alkalmazkodott, hogy az emberi szervezetet mint életteret felhasználják. Ahhoz, hogy ne okozzanak károsodást a szervezetben, az szükséges, hogy folyamatos és nagyon szigorú felügyelet alatt álljanak, amelyet az immunrendszer valósít meg. A fentiekből következők, hogy a leggyakoribb és legveszélyesebb invazív gombafertőzések nem a környezetből származnak, hanem ezektől az ún. kommenzalista gombáktól, amelyek közé a *Candida*-fajok is tartoznak. Az ilyen típusú, tehát a normális emberi mikrobiális flóra tagjai által okozott megbetegedéseket nevezük opportunista fertőzéseknek, az azokat kiváltó mikrobákat pedig opportunista patogéneknek.

A Candidák az aszkomikóták közé tartozó mikroszkopikus gombák, amelyek – ahogyan említettük – az egészséges emberi mikrobiális közösség tagjai. Leggyakrabban a nyálkahártya-felzínekről, illetve az emésztőtraktusból izolálhatóak. Viszonylag ritkán fordulnak elő a környezetben, bár talajban, vízben vagy növények felszínén is megtalálhatóak. Kevésbé ismert, hogy a több mint 150 különböző *Candida*-faj közül csupán néhány alkalmazkodott az emberhez mint környezethez. Ezek közül is a legfontosabbak a *Candida albicans*, a *Candida glabrata*, a *Candida parapsilosis*, a *Candida tropicalis* és a *Candida krusei*. A sorrend az adott fajok által kiváltott meg-

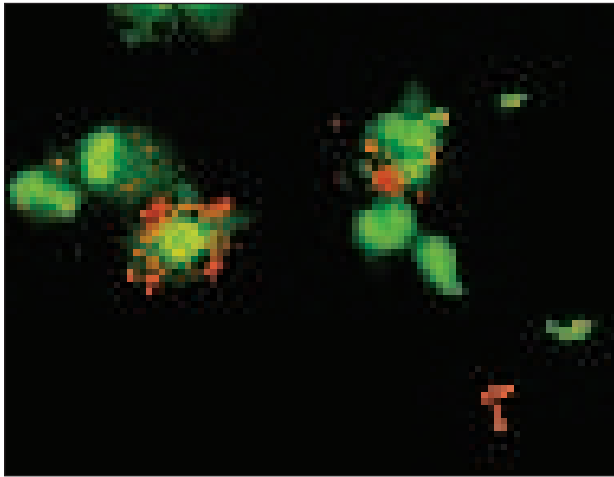


***Candida parapsilosis* pseudohifa képzése. 63x nagyítással objektívvel (Tóth Renáta és Gácsér Attila felvétele)**

betegedések gyakoriságát is jelenti. Az általában okozott betegségek igen változatosak lehetnek, a felületi bőr-, köröm- vagy nyálkahártya-fertőzések mellett a súlyos, egész szervezetet érintő ún. invazív candidiázis kialakulásáig terjedhetnek, elsősorban annak függvényében, hogy milyen mértékben sérült a páciens immunvédekezése. Az ún. immunszuppresszió mellett a különböző orvosi segédeszközök, mint a katéterek, protézisek használata vagy a sebészeti beavatkozások növelhetik az ilyen típusú fertőzések előfordulásának esélyét. Ezek a patogének rendelkeznek minden olyan tulajdonsággal, amely lehetővé teszi számukra, hogy hatékony patogének legyenek. Egyrészt kitűnően növekednek 37–40 Celsius-fokos hőmérsékleten, képesek egysejtű élesztőként éppúgy, mint fonalas formában növekedni. Olyan enzimeket termelnek, amelyek a gazdaszervezetben elérhető tápanyagokat számukra hasznosítható formává alakítják. Kialakultak azok a molekuláris mechanizmusai, amellyel az immunrendszer egyes komponenseinek támadása ellen védekezni tudnak. Az alapvető feladata, hogy ezeket a folyamatokat minél behatóbban tanulmányozza, és molekuláris hátterét felderítse.

A gombapatogének megbetegítő képességének, a gazdával történő kölcsönhatásának jobb megismerése vezethet el bennünket odáig, hogy sokmillió ember életét megmentjük és további milliók gyorsabb gyógyulását segítjük. Természetesen az alapvető célja végső soron az eredmények társadalmi hasznosítása kell, hogy legyen. Ezért nagyon fontos, hogy a klinikai tapasztalattal rendelkező orvosok és az alapvető kutatást végző tudósok megosszák tapasztalataikat. Jelenleg legfontosabb feladataink közé tartozik a diagnózis fejlesztése, illetve olyan új célpontok felderítése, amelyekre specifikus gombaellenes szerek akár fajspecifikus védelmet nyújthatnak egyes gombapatogénnel szemben.

E célok elérése érdekében hoztuk létre a Szegedi Tudományegyetem Mikrobiológiai Tanszékén a „Candida Kutatócsoportot”. Célunk az alapkutatási ismeretek bővítésével lehetőséget teremteni egy hatékonyabban működő diagnosztikai eljárás kidolgozására, illetve a gazda és a patogén közötti kapcsolatok részletesebb felderítésével új terápiás célpontok azonosítása. Vizsgálataink elsősorban a már korábban említett *Candida* nemzetségre fókuszálnak, ezek közül is leginkább a *Candida parapsilosis* fajjal foglalkozunk.



***Candida parapsilosis* fagocitózisa J774.2 makrofágszerű sejtekkel, akridin narancs/ kristályibolya festést követően. Az akridin narancs a kettős szálú DNS-hez kötődve zöld (élő sejtek), míg egyes szálú DNS-hez kötődve piros fluoreszcenciát mutat (elpusztult sejtek). 63x nagyítású objektívvel (Papp Csaba és Gácsér Attila felvétele)**

A *Candida* génusz egy ún. polifiletikus csoport, vagyis az egyes fajok viszonylag távoli rokonságban állnak egymással. Hogy egy szemléletes példával éljek, az ember és a csimpánz DNS-e mintegy 98,8%-ban azonos, de az egér örökítő anyagával is 90%-os a hasonlóság, mégsem gondoljuk, hogy minden biológiai tulajdonságunkban megegyeznének a főemlősökkel vagy a rágcsálókkal. A kutatók által leginkább tanulmányozott *Candida albicans* DNS-e csupán kb. 60%-ban mutat azonosságot a *Candida parapsilosis*-ével, ami olyan összevetést jelent, mint ha minden a halaknál szerzett tudásunkat változtatás és kritika nélkül fogadnánk el igaznak az emberre. Könnyű belátni, hogy ez számos ponton félrevezető lenne. A fenti eszmefuttatás csupán annak alátámasztását szolgálja, hogy annak ellenére, hogy egy patogént a *Candida* névvel illetünk, az nem feltétlenül jelenti azt, hogy elegendő egyetlen fajjal kapcsolatban szerzett információt általánosítva elfogadni.

A filozofikus eszmefuttatást klinikai tények is alátámasztják. Érdekes megfigyelés, hogy egyes *Candida*-fajok külön-

böző gyakorisággal fordulnak elő különböző korú páncienszek körében. Kórházi felmérések kimutatták, hogy míg a *Candida albicans* kétségtelenül a leggyakrabban izolált faj minden korcsoportban, a *Candida glabrata* gyakrabban okoz fertőzést idősebb betegekben, míg például a *Candida parapsilosis* előfordulási száma a gyermekek körében magasabb a felnőttekben általuk okozott megbetegedésekhez képest. Különösen igaz ez a két év alatti kisgyermekes esetekben, illetve az alacsony születési súllyal világra jött csecsemőknel.

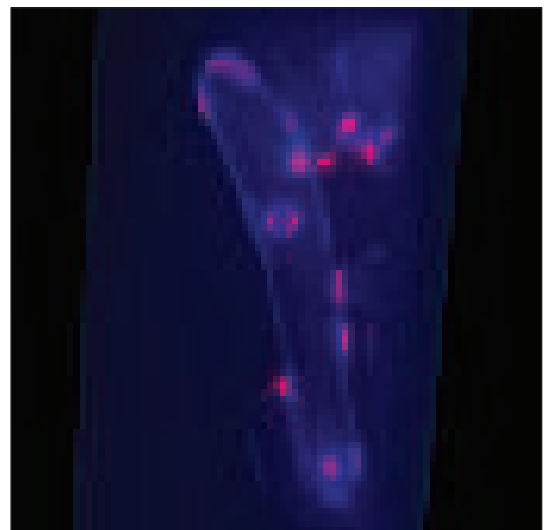
A változt tények háttérében a különböző fajoknak a gazda immunrendszerével történő kölcsönhatásának különbsége húzódik meg. A pontos molekuláris mechanizmusok azonban nem ismertek. Ahhoz, hogy ezeket a folyamatokat tanulmányozni tudjuk, mindenekelőtt egy hatékony és jól használható modellrendszer kell kifejleszteni. Ez az „eszköz” teljesen hiányzott a *Candida parapsilosis* fertőzéseinek esetében. Egyik legfontosabb célkitűzésünk volt munkánk elején, hogy kidolgozzuk azokat a vizsgálati módszereket, amelyekkel egyáltalán elkezdhetjük a kölcsönhatások fel-

derítését. Létrehoztunk olyan fertőzési rendszereket, ahol az immunrendszer egyes komponenseinek kölcsönhatását elemezhetjük.

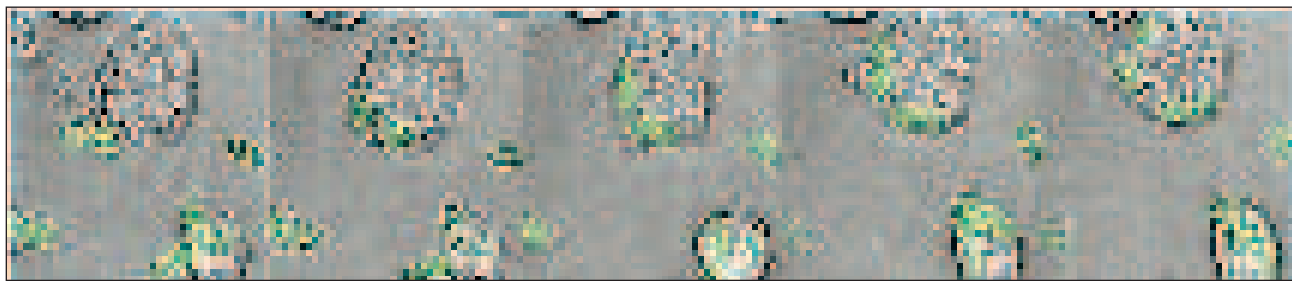
A szervezet védelmi rendszerének kulcsszereplői az ún. fálósejtek vagy makrofágok. Ezek a sejtek felelősek egyrészt a patogének felismeréséért, bekebelezéséért (fagocitózis) és végső soron azok elpusztításáért is. Ma már tudjuk azonban, hogy ezeknek a sejteknek kulcsfontosságú szerepe van az immunválasz egészének szabályozásában is, mondhatjuk, hogy ők az immunválasz „karmesterei”. Ezért különösen fontosnak találtuk egy makrofágokat felhasználó fertőzési modell kifejlesztését. Kísérleteink eredményeként ma már rutinszerűen használhatunk rágcsáló eredetű vagy emberi eredetű fagocita-sejte-

ket *Candida parapsilosis*-fertőzések vizsgálatára. Ezzel a módszerrel sikerült bizonyítanunk, hogy a *Candida albicans*hoz hasonlóan, a *Candida parapsilosis* is rendelkezik olyan hidrolitikus enzimekkel, amelyek a gazda-patogén kölcsönhatások során elengedhetetlenül szükségesek a túléléshez. Azonosítottunk fehérje- és lipidszerű anyagokat bontó enzimeket, amelyek termelésével a patogén túlélhet a gazdaszervezetben. Meglepő felfedezésünk volt, hogy ezek az enzimek nem csupán a tápanyagforrások előállításában segítik a mikrobát, hanem az immunrendszer egyes szabályozó elemeire is hatással vannak, úgy befolyásolják azok működését, hogy csökkentsek a gazda immunválaszának hatékonyságát. Elsőként sikerült igazolnunk, hogy a lipidbontó enzimek (lipázok) termelése fontos virulenciafaktor lehet, mivel annak elvesztése jelentősen csökkentette a gomba fertőzőképességét. Igazoltuk, hogy lipázok hiányában a makrofágok hatékonyabban pusztították el a gombasejteket, amelynek háttérében ezeknek a sejteknek a gyorsabb és magasabb szintű aktivációja állhat.

További vizsgálatainkban keressük az immunrendszer azon komponenseit, amelyek célpontjai lehetnek a mikrobiális lipázoknak. Tudjuk, hogy az immunrendszer működésében meghatározó szerepet töltenek be a 20 szénatomos zsírsavból ciklooxigenázok segítségével létrejövő lipidszerű szabályozó molekulák, az ún. prosztaglandinok. Ezek a molekulák kulcsfontosságú szerepet töltenek be a gyulladások kialakításában, lefolyásának szabályozásában. Emiatt a jövőben részletesen tanulmányozni fogjuk, hogy milyen kap-



**Hiperfilamentáló *Candida parapsilosis* mutáns sejtek 3D z-stack modellje. Sejtfalösszetétel kimutatására alkalmazott festékek: kék: Calcofluor white – kitin polimer; piros: WGA-TRITC – kitin oligomer (Papp Csaba és Gácsér Attila felvétele)**

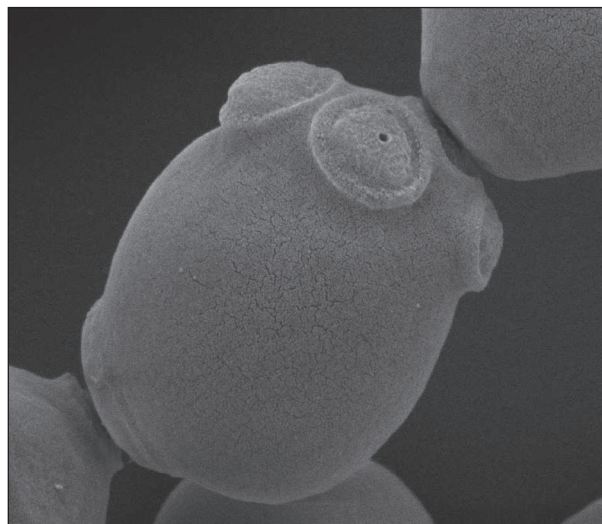


**A *Candida parapsilosis* sejtjeinek sejten belüli sarjadzása J774-sejtek fagoszómáiban. 100x nagyítású objektívvel**  
(Papp Csaba és Gácsér Attila felvétele)

csolat lehet a mikrobiális lipidbontó enzimek és a gazda prosztaglandin-rendszere között. Kutatásaink során a gazda-patógén kölcsönhatásokat nem csupán a gomba oldaláról vizsgáltuk, mert fontosnak tartottuk megfigyelni a szervezet immunválaszát is. Tudjuk, hogy a szervezet védekezési válaszában vannak általánosan lejátszódó folyamatok, azonban az is ismeretes, hogy a különböző patogének speciális választ indukálnak. Igaz ez a gombák esetében is, így a különböző *Candida*-fajokra különböző

eredményeink szerint hatékonyan működik a felnőttek immunrendszerénél, azonban nem megfelelő a csecsemőknél. Ez lehet az oka az újszülöttek körében előforduló gyakoribb fertőzésnek. Ennek a feltételezésnek a részletes igazolása még a jövőbeni feladataink közé tartozik, számos a bizonytalanság, és ha úgy tetszik, rengeteg fehér folt vár még felderítésre.

Eredményeink azért fontosak, mert rávilágítanak a pontos diagnózis fontosságára. Természetesen a munka kezdetén vagyunk, egyelőre azoknak az eszközrendszereknek a kidolgozását hajtjuk végre, amelyekkel a vizsgálatainkat elkezdhetjük. Fogalmazzhatunk úgy is, hogy a „szerszámok” végre rendelkezésre állnak, így elkezdődhet a valódi munka. Reményeink szerint hamarosan sikerül olyan eredményeket elérni, amelyek a gyakorlatban hasznosítható módon járulhatnak hozzá a *C. parapsilosis* Sensu Lato Species elleni védekezés kutatása nagyon fontos határterülete a mikrobiológiának, molekuláris biológiának és az orvostudománynak. †



***Candida albicans* élesztő scanning elektronmikroszkópos felvétele 60 000x nagyítással**  
(Papp Csaba és Gácsér Attila felvétele)

immunreakció érkezik. Az előbbi tény ellenére szinte semmilyen információval nem rendelkezünk a *Candida parapsilosis* által indukált specifikus immunválaszról.

Egy általunk kidolgozott modellrendszer segítségével sikerült igazolnunk, hogy nem csupán a felismerésben, de a kiváltott immunválaszban is eltérések vannak a *Candida albicans* és a *Candida parapsilosis* között. Úgy látjuk, hogy az immunrendszer az evolúció során „megtanulta” veszélyes kórokozónak azonosítani a *Candida albicans*-t, míg a *Candida parapsilosis* esetében a veszélyes leadásához sokkal több gombasejtre van szükség. Ez a módszer eddigi

Gácsér, A.–Tislavicz, Z.–Németh, T.–Seprényi, G.–Mándi, Y.: Induction of human defensins by intestinal Caco-2 cells after interactions with opportunistic *Candida* species. *Microbes and infection* 16:(1) pp. 80–85. (2014)

Tóth, R.–Tóth, A.–Papp, C.–Jankovics, F.–Vágvolgyi, C.–Alonso, MF.–Bain, JM.–Erwig, LP.–Gácsér, A.: Kinetic studies of *Candida parapsilosis* phagocytosis by macrophages and detection of intracellular survival mechanisms. *Frontiers in microbiology* 2014 Nov 20;5:633. eCollection 2014.

Pryszcz, LP.–Németh, T.–Gácsér, A.\*–Gabaldón, T.\*: Genome comparison of *Candida orthopsilosis* clinical strains reveals the existence of hybrids between two distinct species. *Genome biology and evolution* (2014)

Toth, A.–Csonka, K.–Jacobs, C.–Vagvolgyi, C.–Nosanchuk, JD.–Netea, MG.–Gacsér, A.: *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* Induce Different T-Cell Responses in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Journal of infectious diseases* 208:(4) pp. 690–698. (2013)

Németh, T.–Tóth, A.–Szenzenstein, J.–Horváth, P.–Nosanchuk, JD.–Grózer, Z.–Tóth, R.–Papp, C.–Hamari, Z.–Vágvolgyi, C.–Gácsér, A.: Characterization of Virulence Properties in the *C. parapsilosis* Sensu Lato Species. *Plos one* 8:(7) p. e68704. (2013)

Horvath, P.–Nosanchuk, JD.–Hamari, Z.–Vagvolgyi, C.–Gacsér, A.: The Identification of Gene Duplication and the Role of Secreted Aspartyl Proteinase 1 in *Candida parapsilosis* Virulence. *Journal of infectious diseases* 205:(6) pp. 923–933. (2012)

Trofa, D.–Gácsér, A.–Nosanchuk, JD.: *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clinical microbiology reviews* 21:(4) pp. 606–625. (2008)

Gácsér, A.–Trofa, D.–Schäfer, W.–Nosanchuk, JD.: Targeted gene deletion in *Candida parapsilosis* demonstrates the role of secreted lipase in virulence. *Journal of clinical investigation* 117:(10) pp. 3049–3058. (2007)

A bemutatott kutatást az OTKA NN100374 számú pályázata támogatta.

## Irodalom

- Tóth, A.–Németh, T.–Csonka, K.–Horváth, P.–Vágvolgyi, Cs.–Izler, Cs.–Nosanchuk, JD.–Gácsér, A.: Secreted lipases supply fatty acids for yeast growth in the absence of de novo fatty acid synthesis. *Virulence* (2015)
- Singaravelu, K.–Gácsér, A.–Nosanchuk, JD.: Genetic determinants of virulence - *Candida parapsilosis*. *Revista iberoamericana de micología* 31:(1) pp. 16–21. (2014)