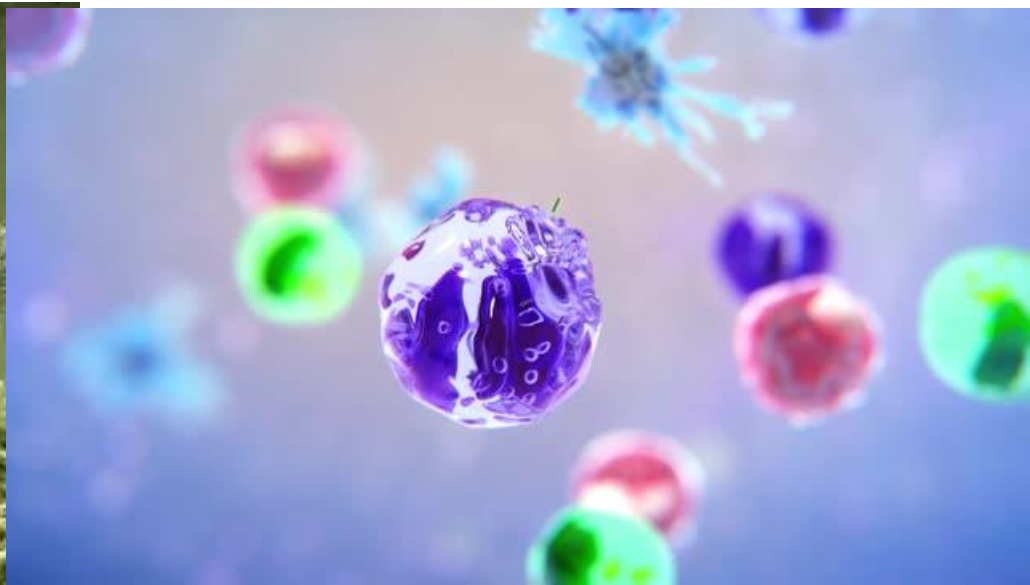
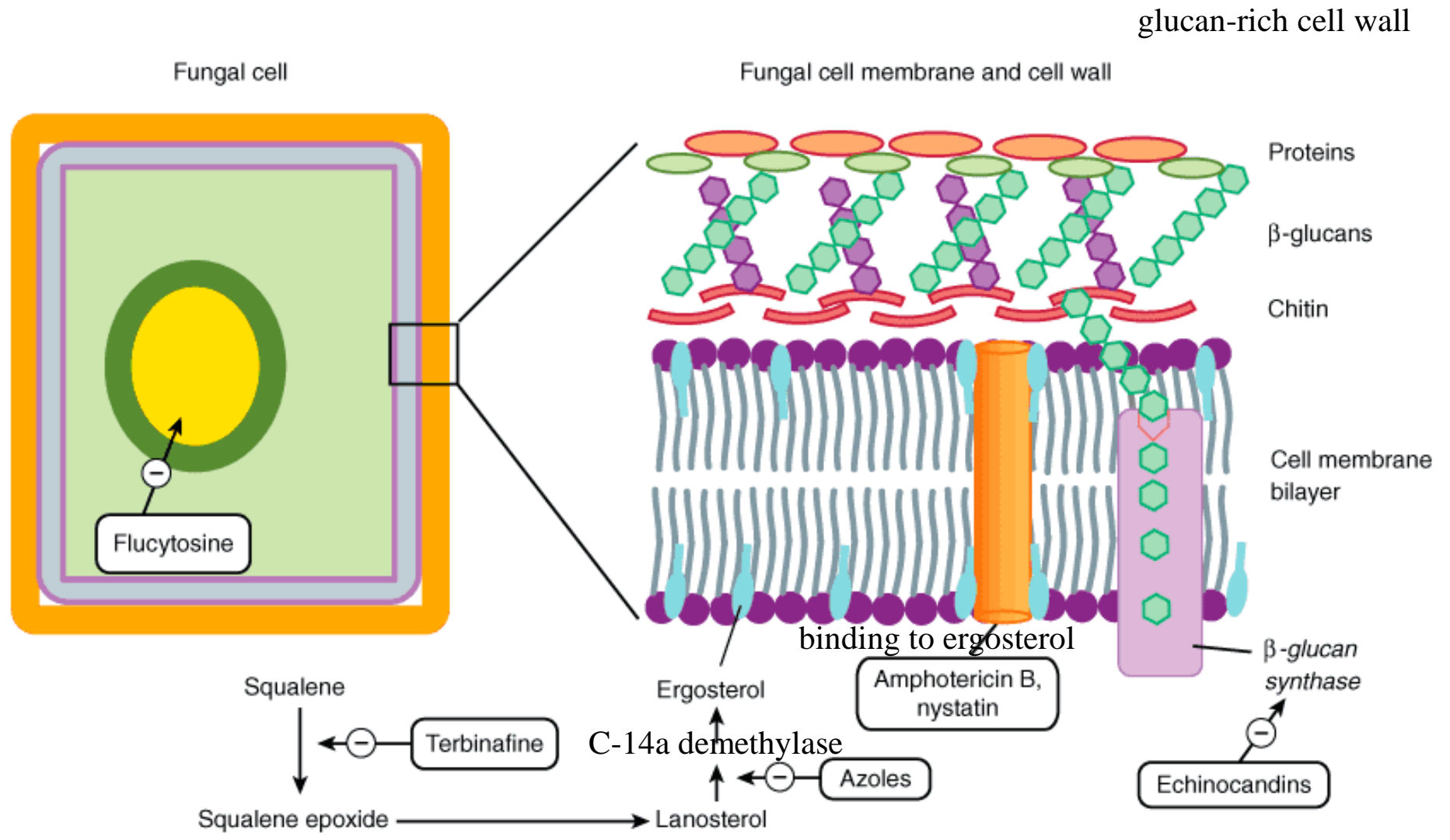


# Αντιμυκητιασικά και ανοσοτροποποίηση

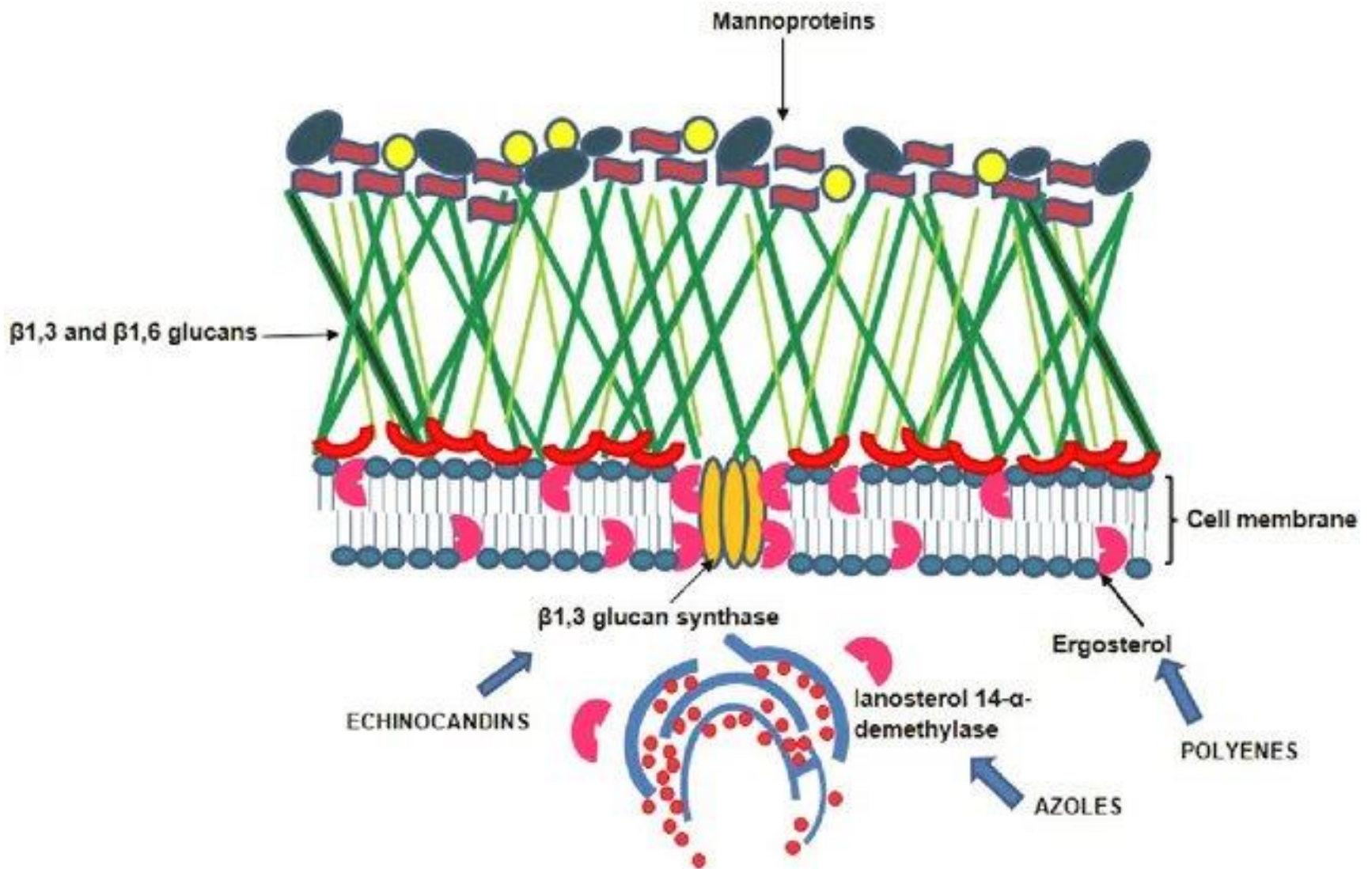
Σαμπατάκου Ελένη



# Τρόπος δράσης αντιμυκητιακών φαρμάκων



# Τρόπος δράσης αντιμυκητιακών φαρμάκων



# Μυκητιακές λοιμώξεις. Η σημασία της ανοσολογικής απόκρισης

- Η ανοσοανεπάρκεια που σχετίζεται με συστηματικές μυκητιάσεις (IFI) περιλαμβάνει σοβαρού βαθμού και μεγάλης διάρκειας ουδετεροπενία, αλλογενή μεταμόσχευση και μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων, υψηλές δόσεις κορτικοστεροειδών ( ειδικά σε ασθενείς με graft-versus-host disease) και HIV λοίμωξη
- Η έκβαση των IFI σε βαρεια ανοσοκατασταλμένους παραμένει δυσμενής, παρά την διαθεσιμότητα νέων αντιμυκητιακών.
- Ως εκ τούτου, η στόχευση της ανοσολογικής απόκρισης με ανοσοθεραπεία, πέραν της αντιμυκητιακής αγωγής, αποτελεί το πλέον αποτελεσματικό και σύγχρονο πεδίο έρευνας.

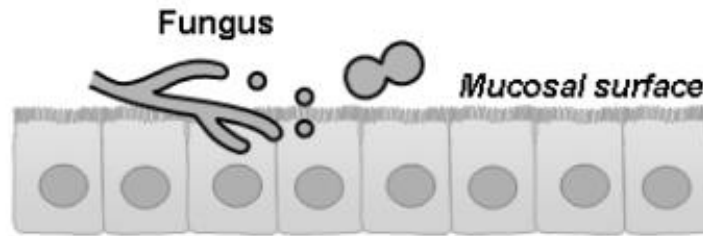
# Έμμεση δράση αντιμυκητιασικών

- Πέραν της *in vitro* μυκητοστατικής ή μυκητοκτόνου δράσης τους, τα αντιμυκητιακά επιδρούν *in vivo* στις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος.
- Το είδος της ανοσοτροποποίησης ποικίλει και εξαρτάται από το αντιμυκητιακό, την ανοσολογική κατάσταση του ξενιστή και το είδος του μύκητα. Με δεδομένο τον πρωτεύοντα ρόλο της ανοσιακής απάντησης του ξενιστή στην επιτυχή αντιμετώπιση συστηματικών μυκητιάσεων, η ανοσοτροποποιητική δράση των αντιμυκητιασικών μπορεί να αποδειχθεί κλινικά σημαντική.
- Η γνώση της ανοσοφαρμακολογίας αυτών των φαρμάκων μπορεί να συμβάλει στο σχεδιασμό θεραπευτικών στρατηγικών σε διάφορες κλινικές περιπτώσεις ανοσιακής δυσλειτουργίας.

# Εγγενής, φυσική ανοσία (innate immunity)

- Η πρώτη γραμμή φυσική ανοσία περιλαμβάνει φαγοκύτταρα (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και δενδριτικά κύτταρα) και διαλυτούς παράγοντες (συμπλήρωμα, κολλεκτίνες και defensins)
- Η ανοσία αυτή είναι ικανή να αναγνωρίσει και να καταστρέψει ταχέως μύκητες μέσω υποδοχέων αναγνώρισης ( pattern recognition receptors- PRRs), αντιγόνων των μυκήτων, των αποκαλούμενων “pathogen-associated molecular patterns PAMPs”

# Η ανοσιακή απάντηση σε διηθητική μυκητίαση εγγενής και επίκτητη ανοσία



Antibodies  
Pentraxins  
Opsonins



Neutrophils



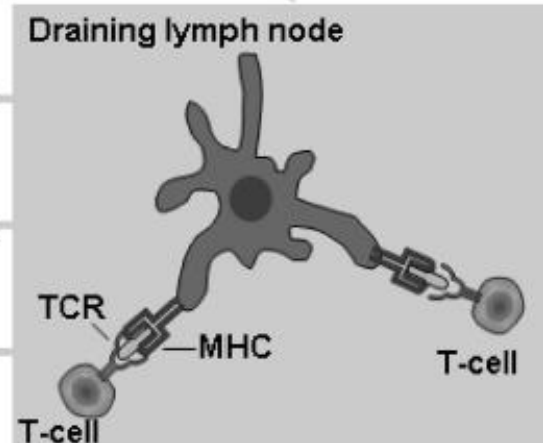
Macrophages



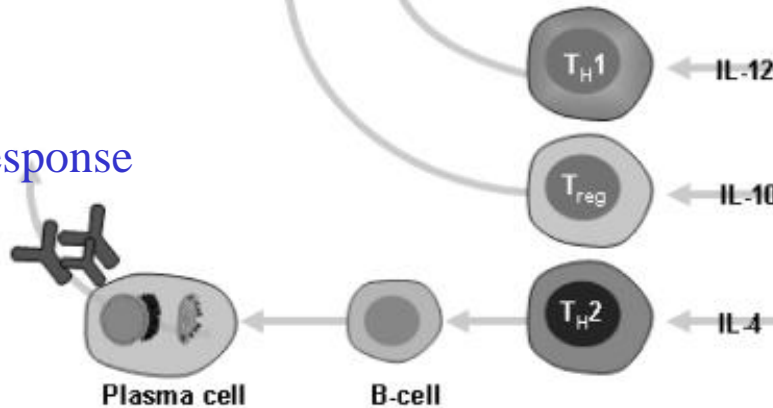
Dendritic cell (immature)

The innate immune response

Inflammatory response

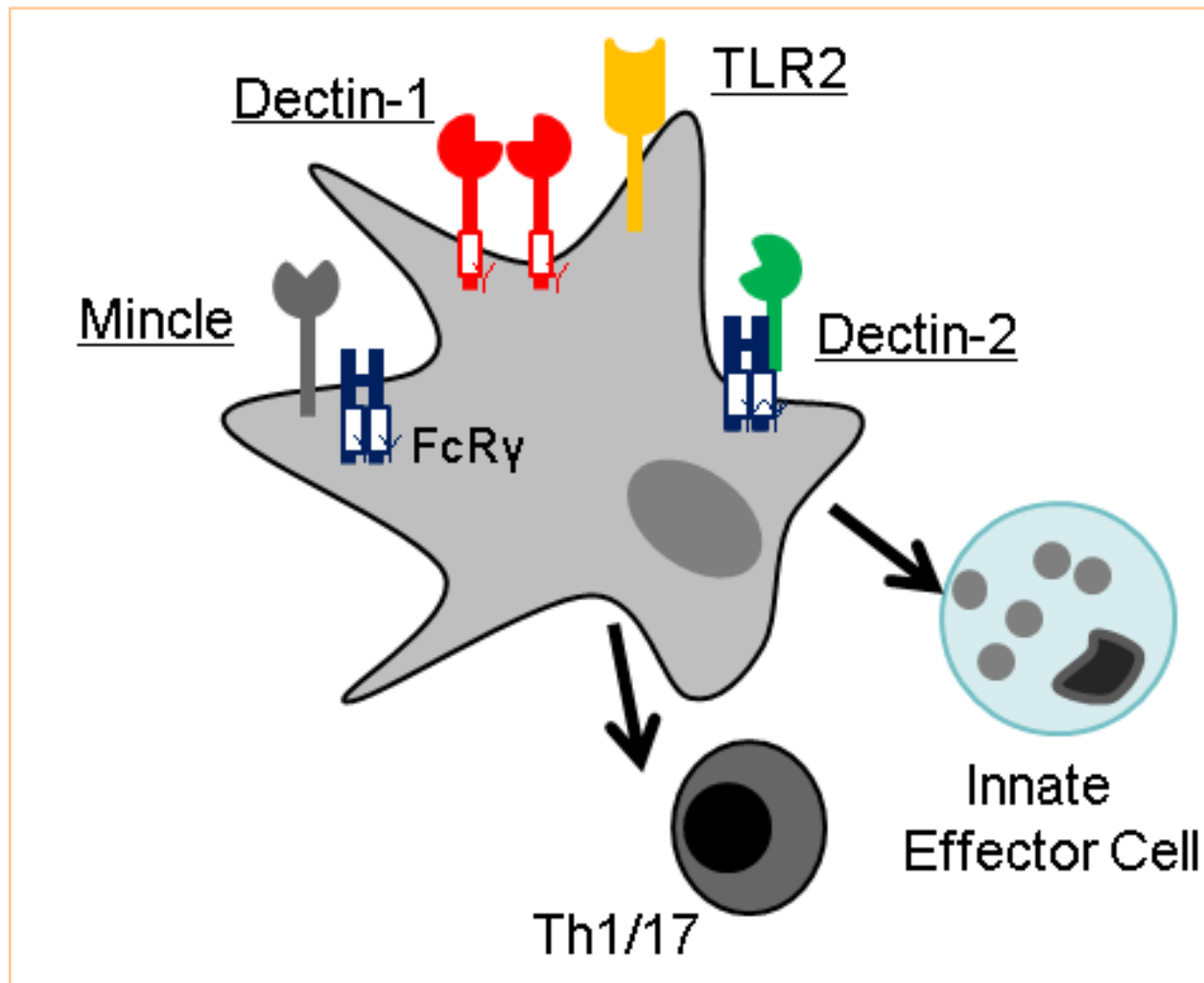


adaptive immune response



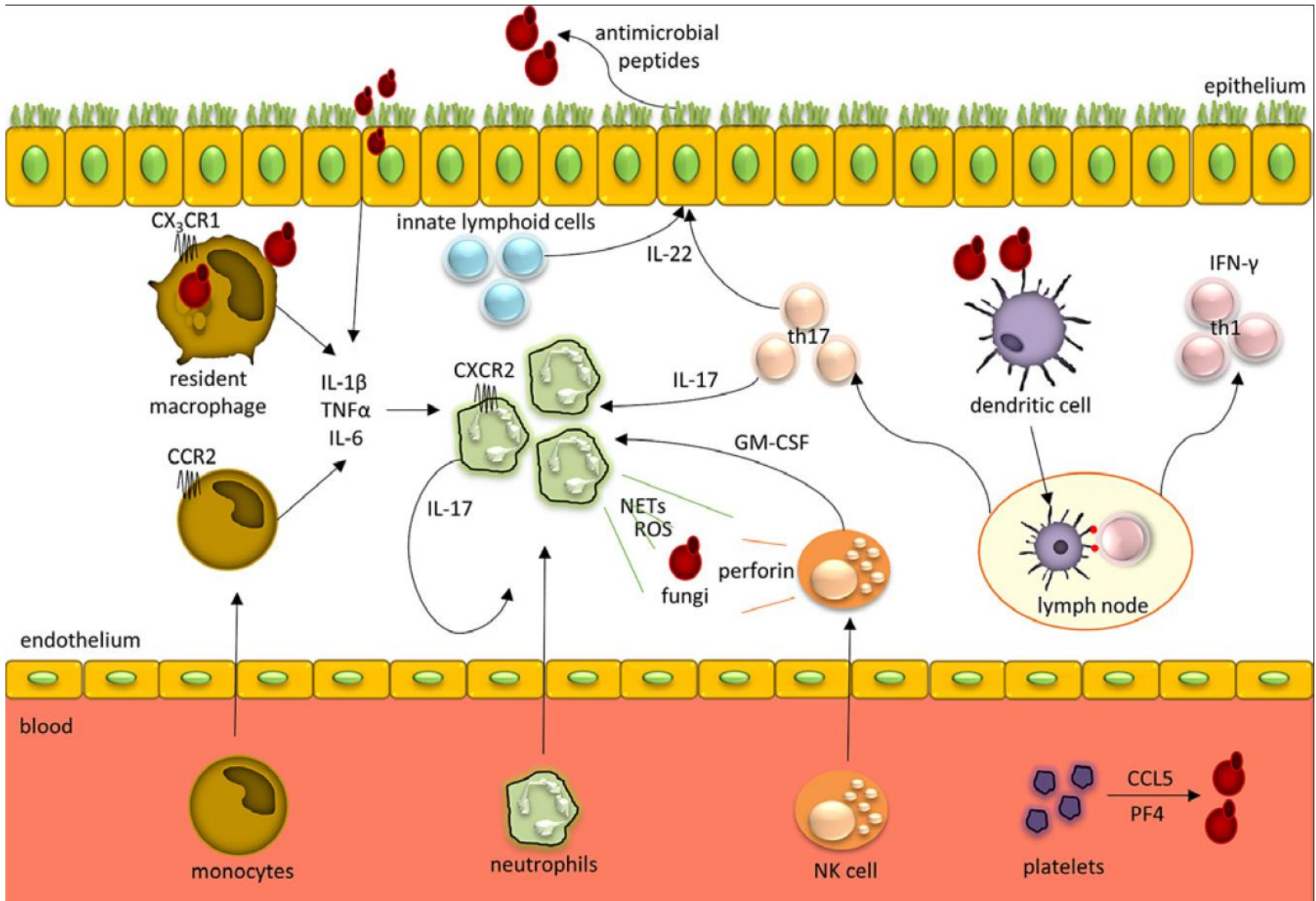
specific antibody production by B lymphocytes

# The pattern recognition receptors implicated in the recognition and clearance of fungal pathogens

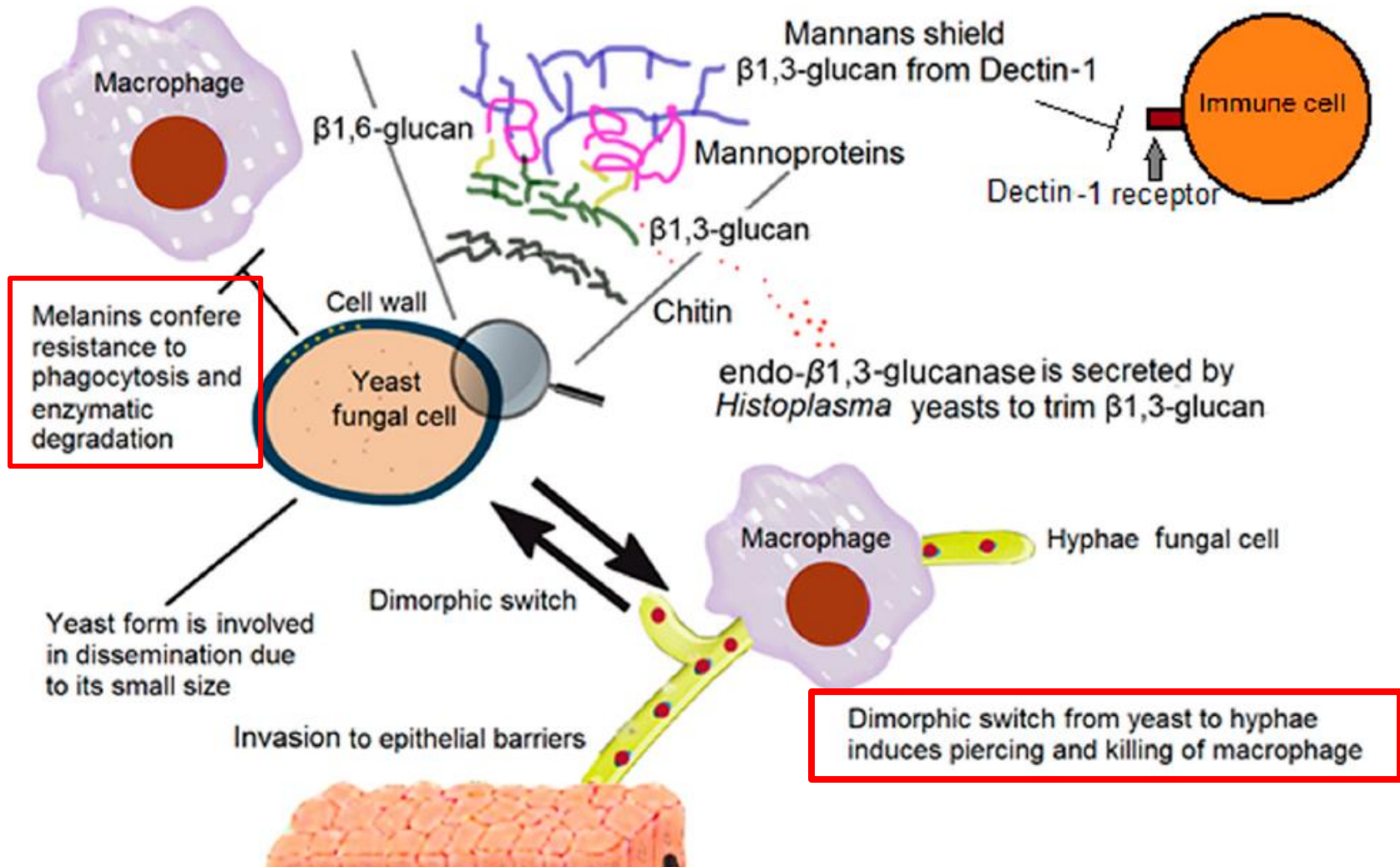




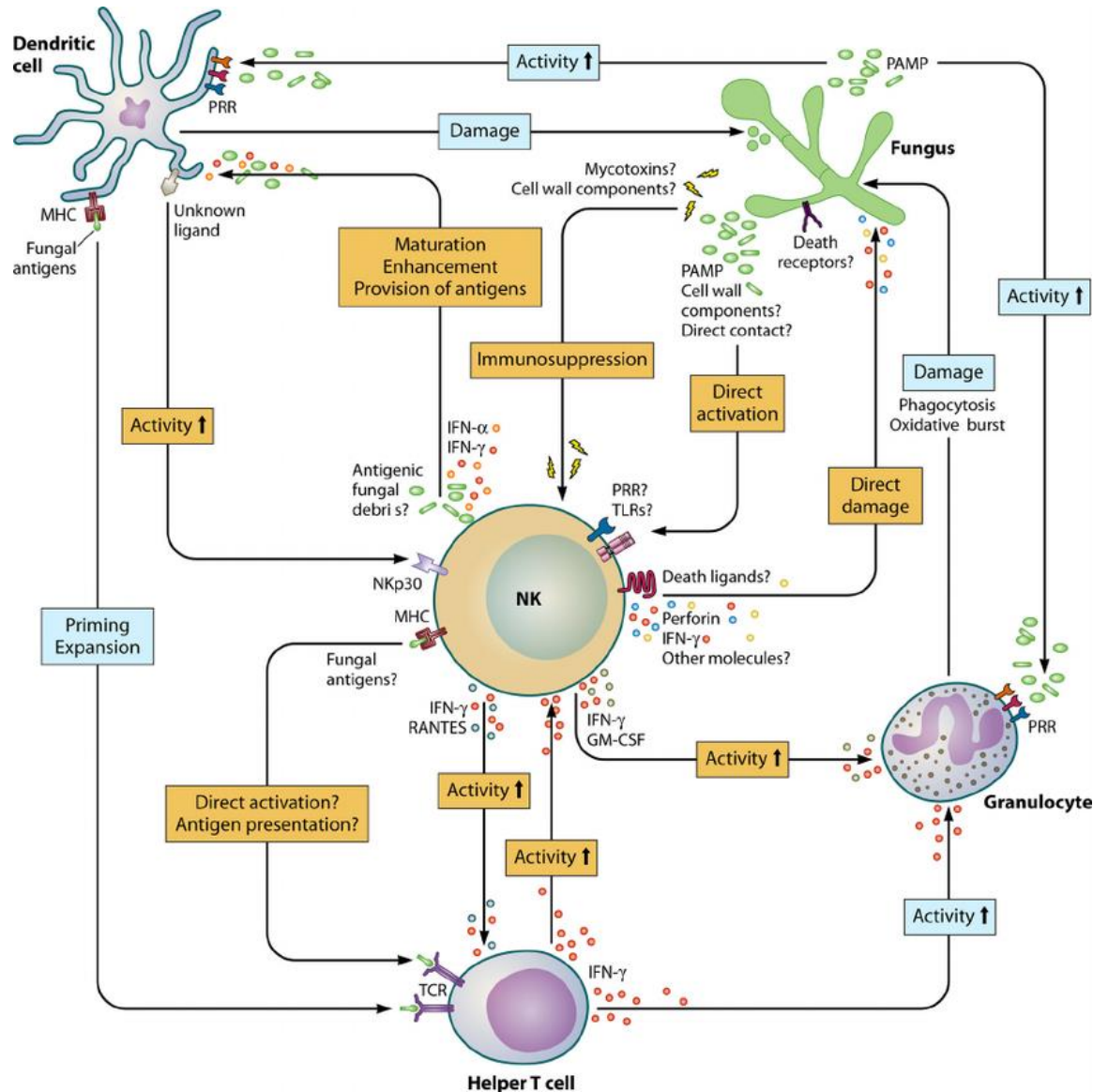
# Effector mechanisms against fungal pathogens



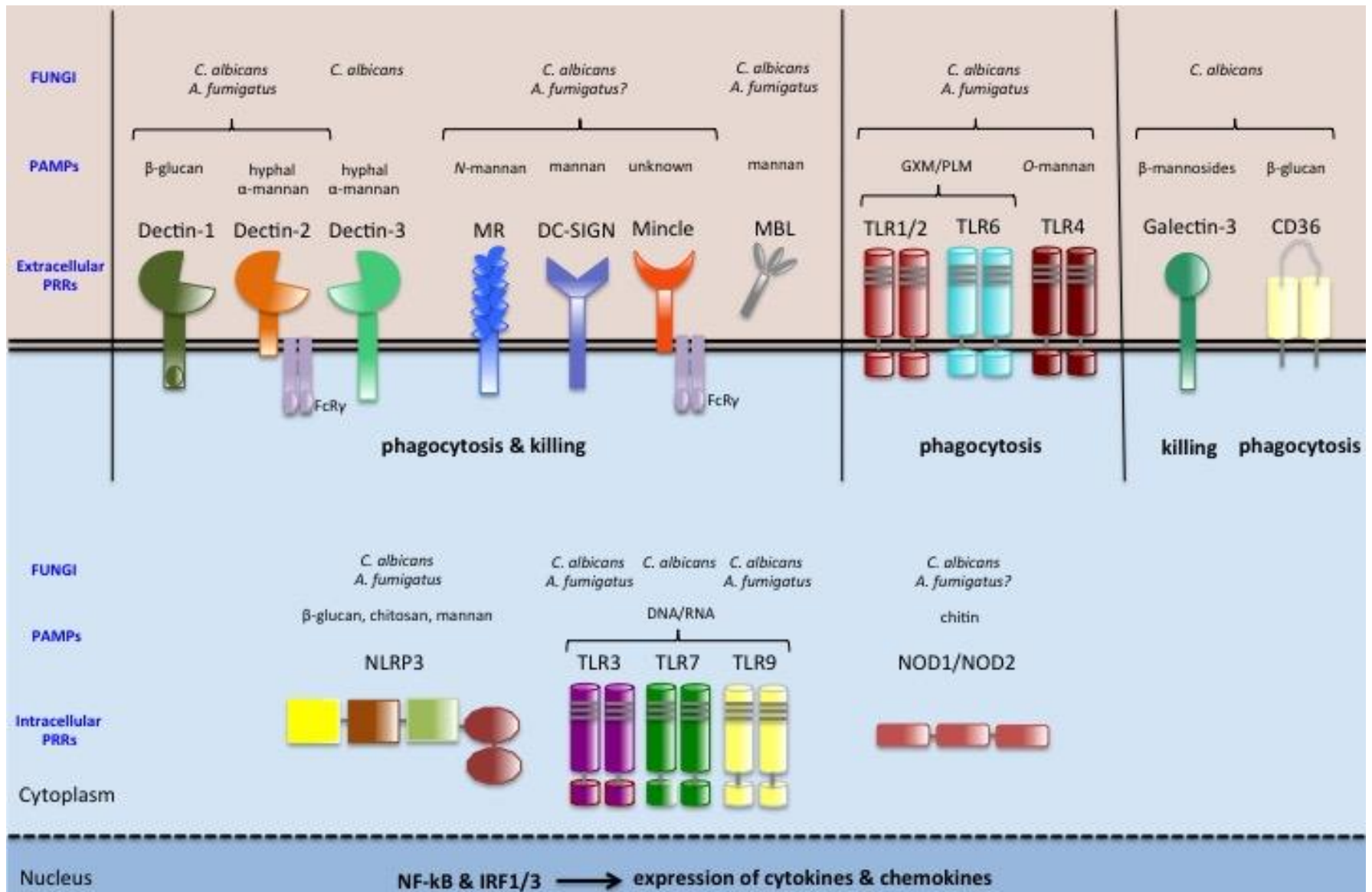
# Fungi: Other mechanisms for evading the host's immune response.



# Role of NK cells in the antifungal host response



# Evasion from innate immunity by phenotypic switching



# Fungal ligands and their innate immune receptors

Fungus	Fungal ligand (PAMP)	Innate PRR	Comments
<i>Candida albicans</i> , <i>Asp. fumigatus</i> , <i>Pneum. jirovecii</i>	b glucans	Dectin-1	Dectin-1-TLR2 complex involved in <i>Candida</i> recognition
<i>C. albicans</i> hyphae	Mannan	Dectin-2	
<i>C. albicans</i> <i>A. fumigatus</i>	Phospholipomannan Unknown	TLR2	
<i>C. albicans</i> <i>A. fumigatus</i>	Mannan (O-linked) Unknown	TLR4	
<i>C. albicans</i>	Unknown	TLR9	
<i>A. fumigatus</i>	Unknown	CD14	Coreceptor with TLR2
<i>C. albicans</i> <i>A. fumigatus</i>	Unknown Galactomannan	DC-SIGN	
<i>C. albicans</i>	b1,2 oligomannan	Galectin-3 (with TLR2)	
<i>A. fumigatus</i>	Galactomannan	Pentraxin 3	
<i>C. albicans</i>	Unknown	Mannan-binding lectin	
<i>C. albicans</i> <i>P. jirovecii</i>	Mannan (N-linked) Glycoprotein A	Mannose receptor	

# Distinct alleles of mannose-binding lectin (MBL) and surfactant proteins A (SP-A) in patients with chronic cavitary pulmonary aspergillosis and allergic bronchopulmonary aspergillosis

Mudit Vaid<sup>1</sup>, Savneet Kaur<sup>1</sup>, Helen Sambatakou<sup>2,a</sup>, Taruna Madan<sup>1</sup>, David W. Denning<sup>2,\*</sup> and P. Usha Sarma<sup>1,b</sup>

**Conclusions:** Distinct alleles, genotypes and genotype combinations of *SP-A2* and *MBL* may contribute to differential susceptibility of the host to CCPA or ABPA.

## Cytokine profiling of pulmonary aspergillosis

**H. Sambatakou,\*†§ V. Pravica,‡ I. V. Hutchinson‡ & D. W. Denning\***

2006 Blackwell Publishing Ltd, *International Journal of Immunogenetics* **33**, 297–302

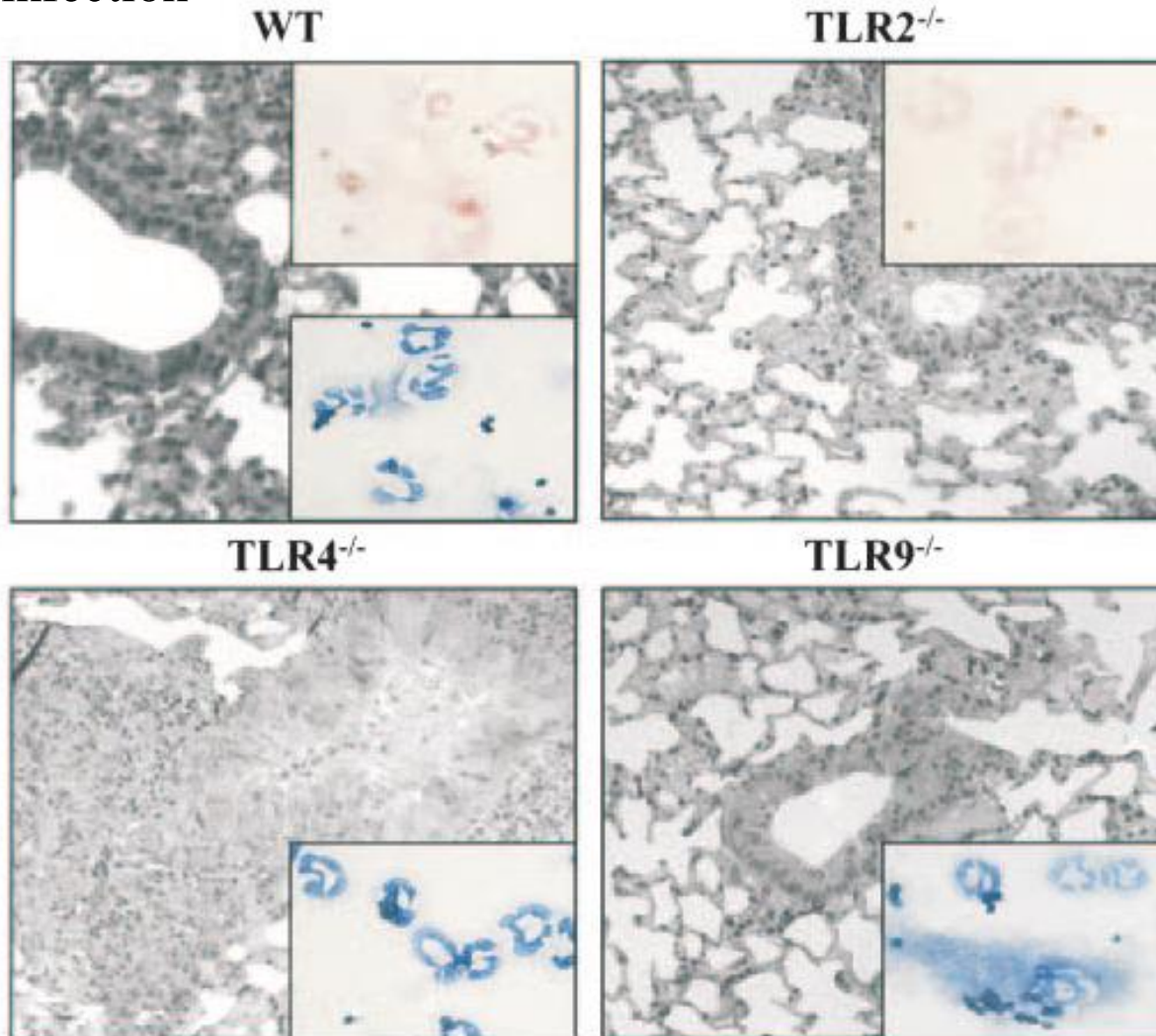
# TLRs Govern Neutrophil Activity in Aspergillosis<sup>1</sup>

**Silvia Bellocchio,\* Silvia Moretti,\* Katia Perruccio,\* Francesca Fallarino,\* Silvia Bozza,\*  
Claudia Montagnoli,\* Paolo Mosci,\* Grayson B. Lipford,† Lucia Pitzurra,\* and  
Luigina Romani<sup>2\*</sup>**

Polymorphonuclear neutrophils (PMNs) are essential in initiation and execution of the acute inflammatory response and subsequent resolution of fungal infection. PMNs, however, may act as double-edged swords, as the excessive release of oxidants and proteases may be responsible for injury to organs and fungal sepsis. To identify regulatory mechanisms that may balance PMN-dependent protection and immunopathology in fungal infections, the involvement of different TLR-activation pathways was evaluated on human PMNs exposed to the fungus *Aspergillus fumigatus*. Recognition of *Aspergillus* and activation of PMNs occurred through the involvement of distinct members of the TLR family, each likely activating specialized antifungal effector functions. By affecting the balance between fungicidal oxidative and nonoxidative mechanisms, pro- and anti-inflammatory cytokine production, and apoptosis vs necrosis, the different TLRs ultimately impacted on the quality of microbicidal activity and inflammatory pathology. Signaling through TLR2 promoted the fungicidal activity of PMNs through oxidative pathways involving extracellular release of gelatinases and proinflammatory cytokines while TLR4 favored the oxidative pathways through the participation of azurophil, myeloperoxidase-positive, granules and IL-10. This translated in vivo in the occurrence of different patterns of fungal clearance and inflammatory pathology. Both pathways were variably affected by signaling through TLR3, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, and TLR9. The ability of selected individual TLRs to restore antifungal functions in defective PMNs suggests that the coordinated outputs of activation of multiple TLRs may contribute to PMN function in aspergillosis. *The Journal of Immunology*, 2004, 173: 7406–7415.

# TLRs-Mice were treated with cyclophosphamide and injected with *Aspergillus* conidia intranasally

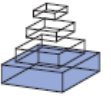
H&E-stained sections were prepared from lungs of infected mice at 4 days post infection



Severe signs of bronchial wall damage and necrosis and abundant inflammatory cell recruitment are observed in the lungs of wild-type or TLR4-deficient mice



**AMB: A PROINFLAMMATORY DRUG**



# It only takes one to do many jobs: Amphotericin B as antifungal and immunomodulatory drug

*Ana C. Mesa-Arango*<sup>1,2</sup>, *Liliana Scorzoni*<sup>1,3</sup> and *Oscar Zaragoza*<sup>1\*</sup>

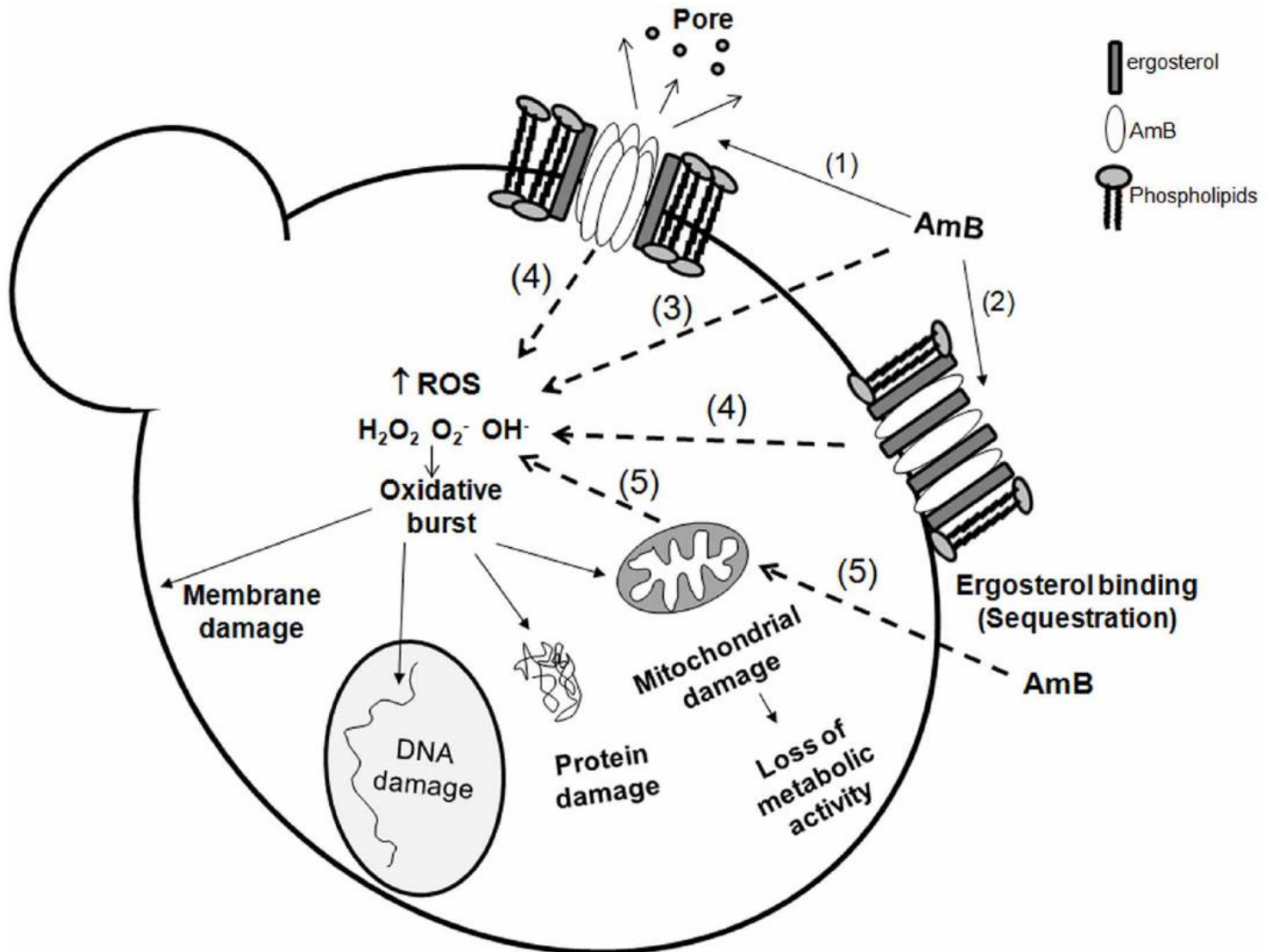
## AmB – Ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες

- Πέραν της απευθείας δράσης στα μυκητιακά κύτταρα, σειρά μελετών έχει καταδείξει ότι η AmB έχει ισχυρή ανοσοτροποποιητική δράση στα κύτταρα του ξενιστή.
- Η δράση αυτή έχει διαπιστωθεί *in vitro* σε διάφορες κυτταρικές σειρές από ανθρώπους και πειραματικά μοντέλα, όπως πολυμορφοπύρρηνα (PMNs), μακροφάγα, NK κύτταρα, T, B και νεοπλασματικά κύτταρα, αλλά επίσης σε *in vivo* μελέτες σε πειραματόζωα.
- Οι ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες παρέχουν έναν εναλλακτικό μηχανισμό δράσης, ενισχύοντας την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή.
- Παράλληλα, όμως, αυτή η δράση μπορεί να συσχετίζεται με τοξικότητα του φαρμάκου.

## Μηχανισμοί ανοσοτροποποίησης - AmB

- Ο ακριβής μηχανισμός πρόκλησης ανοσοτροποποίησης με AmB και επαγωγή ROIs και NO δεν είναι πλήρως κατανοητός.
- Ο μηχανισμός δράσης του, μέσω σύνδεσης με τη κυτταρική μεμβράνη των θηλαστικών και συγγένεια με την χοληστερόλη, μπορεί να επιφέρει δομικές αλλοιώσεις που ενεργοποιούν την NADPH οξειδάση (*Chapman and Hibbs, 1978; Wilson et al., 1991*) .
- Όμως, ο μηχανισμός που ερμηνεύει καλύτερα την ανοσοτροποποιητική δράση του AmB είναι μέσω της οδού των Toll-like receptor (TLRs).

# Αμφοτερικίνη Β – Μηχανισμοί δράσης



# ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ *IN VITRO* ΚΑΙ *IN VIVO*

## AmB (I)

- Οι *in vitro* και *in vivo* μελέτες έχουν αποδείξει ότι η ανοσοτροποποιητική δράση του AmB στον ξενιστή δεν προκαλείται μόνο παρουσία παθογόνου, αλλά και όταν μη μολυσμένες κυτταρικές σειρές ή πειραματικά μοντέλα, χωρίς πρόκληση λοίμωξης, εκτίθενται σε αντιμυκητιακό φάρμακο.
- Το AmB επάγει την μεταγραφή και την παραγωγή πολλαπλών διαμεσολαβητών του ανοσοποιητικού (όπως κυτταροκίνες, χυμοκίνες και προσταγλανδίνες) και ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) σε ανθρώπινα κύτταρα και κύτταρα πειραματόζωων

*Borden and Leonhardt, 1976; Sculier and Body, 1991; Cleary et al., 1992; Louie et al., 1994; Saxena et al., 1999; Rogers et al., 2000; Sau et al., 2003; Camacho et al., 2004; Simitsopoulou and Roilides, 2005; Simitsopoulou et al., 2005*

# ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ *IN VITRO* ΚΑΙ *IN VIVO* AmB

- Η ανοσοτροποποιητική και προφλεγμονώδης δράση του AmB έχει συσχετισθεί με προστασία έναντι λοίμωξης.
- Το AmB επάγει την αντιμυκητιασική δράση των PMN και των κυψελιδικών μακροφάγων έναντι κονιδίων και υφών *A. fumigatus* (*Roilides et al., 2002*).
- Ανάλογα αποτελέσματα έχουν διαπιστωθεί σε πειραματικό μοντέλων μακροφάγων περιτοναίου, με προηγηθείσα χορήγηση IFN- $\gamma$  και διαφόρων δόσεων AmB. Το AmB προήγαγε παραγωγή NO, TNF- $\alpha$  και IL-1, με αποτέλεσμα αυξημένη αντικρυπτοκοκκική δραστηριότητα αυτών των κυττάρων (*Tohyama et al., 1996*).

# AmB – κυτταρική ανοσία -Th1

- Η έκβαση των μυκητιασικών λοιμώξεων εξαρτάται από τη κυτταρική ανοσία σε σημαντικό βαθμό.
- Η Th1 απάντηση (εξαρτώμενη από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-6) οδηγεί σε θετική έκβαση μέσω φλεγμονώδους ενεργοποίησης μακροφάγων και παραγωγής NO .
- Η Th2 απάντηση (IL-10, IL-4, IL-2, IL-13, and IL-5) σχετίζεται με ευαισθησία στις λοιμώξεις και εξέλιξη της λοίμωξης (*Puccetti et al., 1995; Romani and Howard, 1995*).
- Σε ποντίκια με καντιντίαση του ΓΕΣ, εκτιμήθηκε η θεραπεία με AMB μόνη ή σε συνδυασμό με ανταγωνιστή IL-4 , καθώς και η παραγωγή IFN- $\gamma$  (Th1) και IL-4 (Th2).
- Το AmB κατέδειξε μία προστατευτική ανταπόκριση Th1 με ταυτόχρονη IL-4 καταστολή (*Cenci et al., 1997, Saxena et al., 1999* ).



# Induction of Protective Th1 Responses to *Candida albicans* by Antifungal Therapy Alone or in Combination with an Interleukin-4 Antagonist

Elio Cenci, Antonella Mencacci, Giuseppe Del Sero,  
Francesco Bistoni, and Luigina Romani

*Microbiology Section, Department of Experimental Medicine and  
Biochemical Sciences, University of Perugia, Perugia, Italy*

- Mice with disseminated or gastrointestinal infection were treated with **amphotericin B or fluconazole** and assessed for mortality, fungus burden in the organs, and parameters of Th cell–dependent immunity. **Both antimycotics produced protective CD4/ Th1 cell responses**, as revealed by increased production of interleukin (IL)-12 and interferon- $\gamma$ , decreased production of IL-4, delayed-type hypersensitivity to fungal antigen, and the disappearance of antigen-specific IgE. **Concomitant neutralization of endogenous IL-4 greatly increased the antifungal efficacy and the Th1-promoting activity of both agents.**

## AmB: Ανεπιθύμητες ενέργειες και ανοσοτροποποίηση

- Η θεωρία ότι το AmB επιτυγχάνει μέρος της δράσης του μέσω ανοσοτροποποίησης υποστηρίζεται από το γεγονός ότι μειώνεται η αντιμυκητιασική δράση του με την εξουδετέρωση αντισωμάτων έναντι TNF-α σε ποντίκια (*Louie et al., 1995*).
- Όμως, με βάση την ανοσοτροποποιητική δράση του AmB μπορεί να ερμηνευθούν και αρνητικές επιπτώσεις, όπως η αύξηση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και η εκδήλωση τοξικότητας (*Chia and McManus, 1990; Cleary et al., 1992; Arning et al., 1995; Shadkchan et al., 2004*).
- Έχει περιγραφεί απευθείας συσχέτιση νεφροτοξικότητας και επαγωγής απόπτωσης και μεταβολών έκφρασης της συνθετάσης του NO (*Suschek et al., 2000; Falk et al., 2005; Yano et al., 2009*).

**AmB - ανοσοκατασταλτική δράση?**

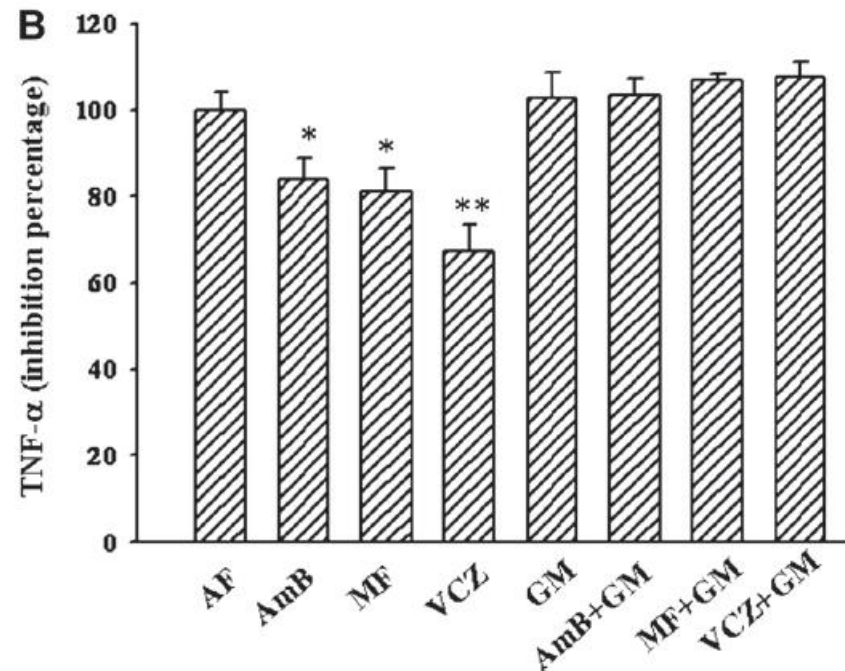
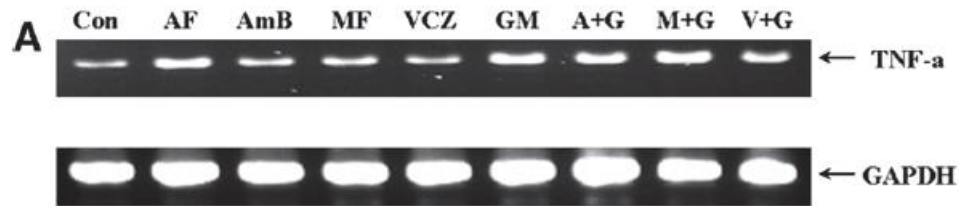
## **Immunomodulatory effects of antifungal agents on the response of human monocytic cells to *Aspergillus fumigatus* conidia**

JUNG-HYUN CHOI\*, EUN-YOUNG KWON†, CHUL-MIN PARK†, SU-MI CHOI\*, DONG-GUN LEE\*, JIN-HONG YOO\*, WAN-SHIK SHIN\* & DAVID A. STEVENS‡§#

- Immunomodulatory effects of 3 different classes of antifungal agents on the human **monocytic cell line, THP-1, which had been stimulated *in vitro* with *A. fumigatus* conidia.**
- Cells treated with **amphotericin B (AmB), micafungin (MF), and voriconazole (VCZ)**, at concentrations not affecting cell viability, **reduced production of tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$**  in response to conidia, with **the greatest reduction noted with VCZ.**
- Co-stimulation with GMCSF abolished immunomodulatory effects of the drugs.

# Effects of antifungal drugs on TNF- $\alpha$ mRNA expression (A) and TNF- $\alpha$ production (B) in THP-1 cells.

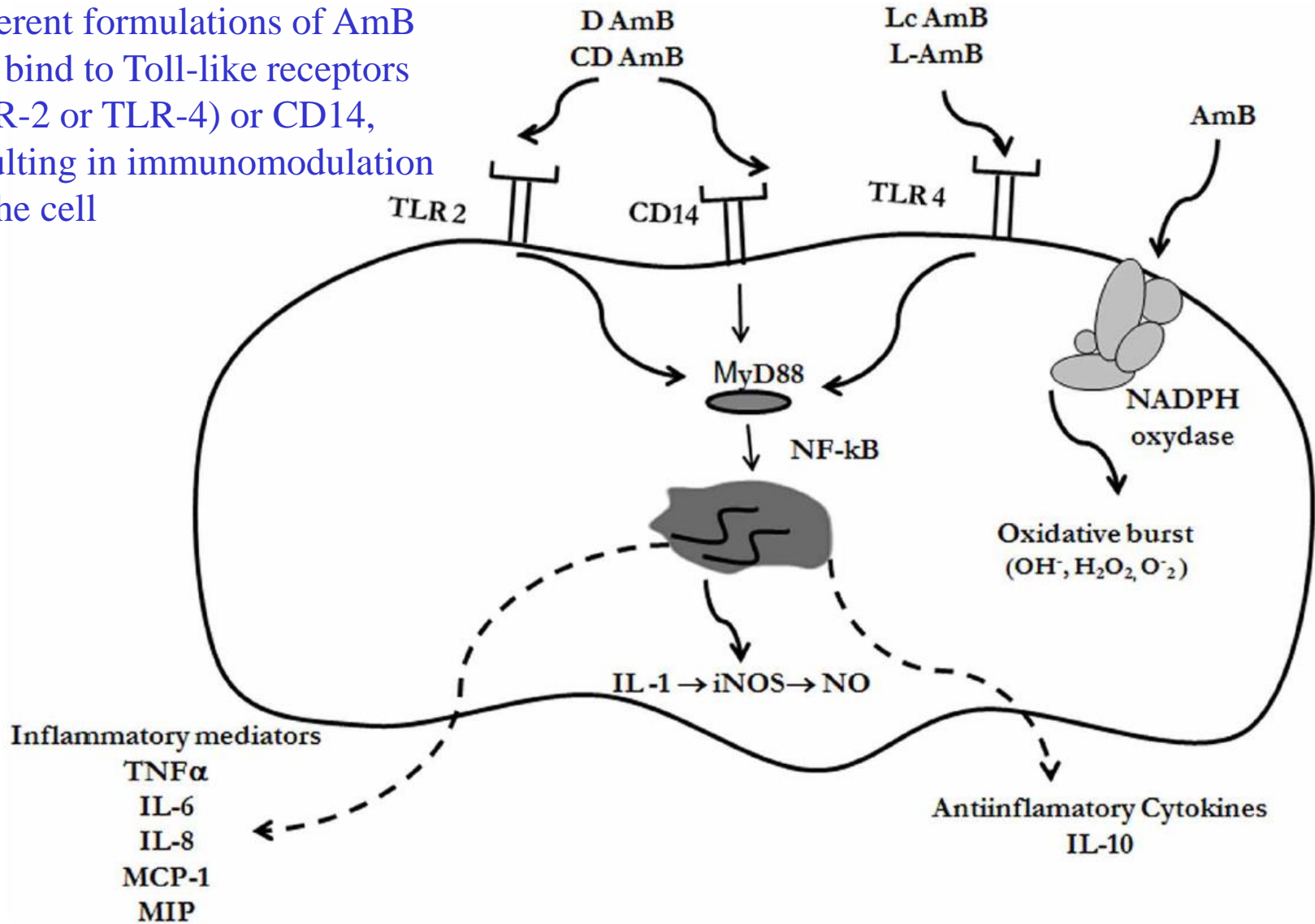
*Choi et al., 2010*



**Επίπτωση των διαφόρων μορφών AmB  
στην ανοσοτροποποιητική δράση**

# Ανοσοτροποποίηση σε διαφορετικές μορφές AmB

Different formulations of AmB can bind to Toll-like receptors (TLR-2 or TLR-4) or CD14, resulting in immunomodulation of the cell



## **Infusion-related toxicity of three different amphotericin B formulations and its relation to cytokine plasma levels**

Infusions-assoziierte Toxizität dreier Amphotericin B-Formulierungen und ihre Beziehung zu Zytokin-Plasmaspiegeln

M. Arning, K. O. Kliche, A. H. Heer-Sonderhoff and A. Wehmeier

Four of six patients showed toxicity after AmB and AmB/lipid infusions; only one patient reacted to liposomal AmB. Clinical toxicity was associated with increases in TNF- $\alpha$  plasma levels during two of four infusions of AmB and three of four infusions of AmB/lipid. Major increases in IL-6 occurred during three of four infusions of AmB and during all four AmB/lipid infusions associated with clinical toxicity. Three of four AmB infusions and all four AmB/lipid infusions accompanied by clinical toxicity were associated with major increases in IL-1-RA plasma concentrations.

Liposomal AmB was better tolerated than AmB and AmB/lipid. This formulation also caused the lowest liberation of all three cytokines tested.

The severity of clinical symptoms did not correlate closely with absolute cytokine plasma levels. The findings provide further evidence that expression of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1-RA plays an important role in mediating AmB-related acute toxicity *in vivo*.



## **Liposomal amphotericin B activates antifungal resistance with reduced toxicity by diverting Toll-like receptor signalling from TLR-2 to TLR-4**

**Silvia Bellocchio<sup>1</sup>, Roberta Gaziano<sup>1</sup>, Silvia Bozza<sup>1</sup>, Giordano Rossi<sup>1</sup>, Claudia Montagnoli<sup>1</sup>,  
Katia Perruccio<sup>2</sup>, Mario Calvitti<sup>3</sup>, Lucia Pitzurra<sup>1</sup> and Luigina Romani<sup>1\*</sup>**

- Αυτή η διαφορά μεταξύ των διαφορετικών μορφών AmB μπορεί να ερμηνευθεί από τον τύπο TLR που συνδέεται εκάστη εξ αυτών.
- Η D-AmB συνδέεται με τον TLR2, που επάγει προφλεγμονώδη απάντηση, σε αντίθεση με την L-AmB που προκαλεί αντιφλεγμονώδη αντίδραση μέσω σύνδεσης με TLR4 in PMNs.

## Differences in Patterns of Infection and Inflammation for Corticosteroid Treatment and Chemotherapy in Experimental Invasive Pulmonary Aspergillosis

Viviane Balloy,<sup>1</sup> Michel Huerre,<sup>2</sup> Jean-Paul Latgé,<sup>3</sup> and Michel Chignard<sup>1\*</sup>

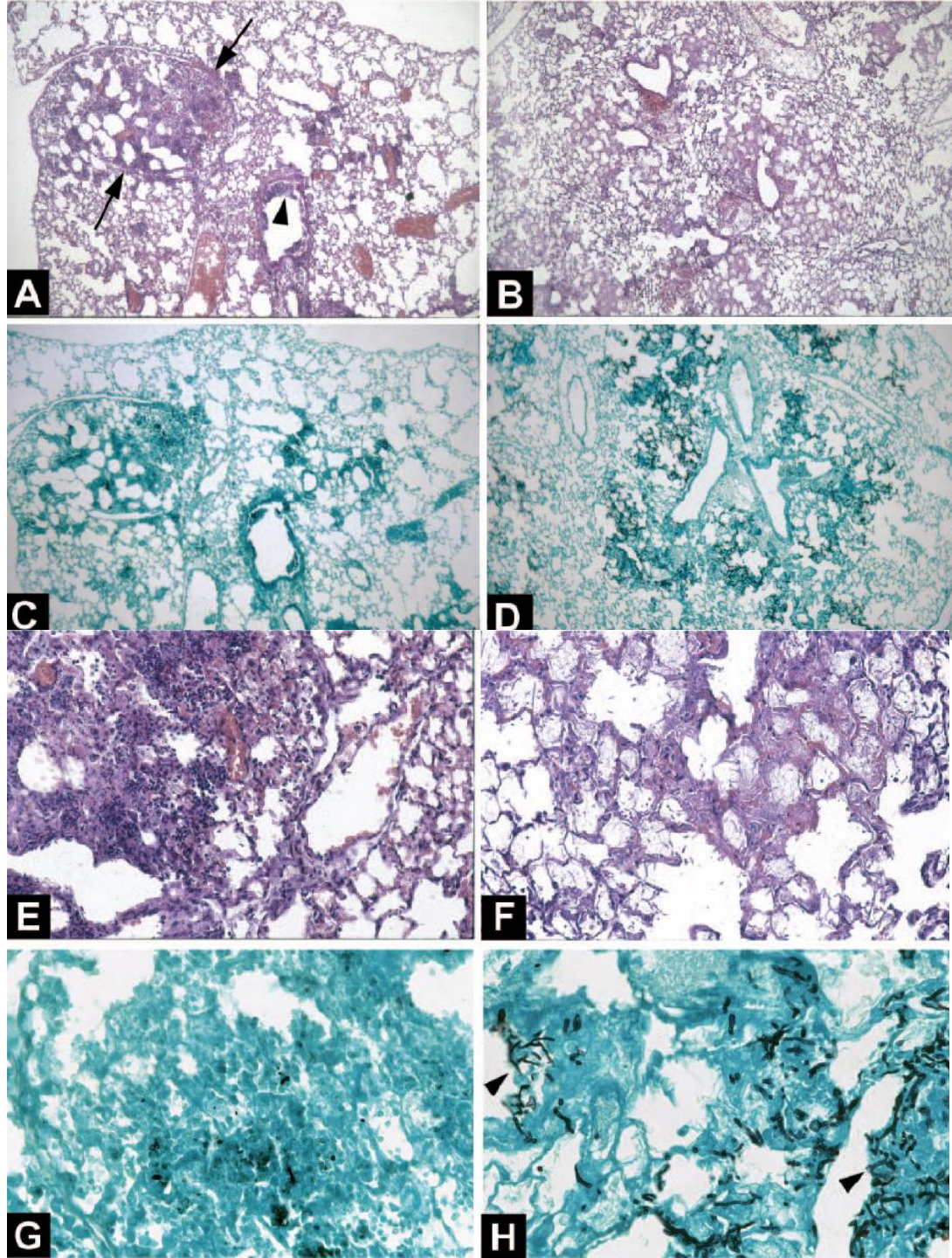
*Unité de Défense Innée et Inflammation, INSERM E336,<sup>1</sup> Unité de Recherche et d'Expertise Histotechnologie et Pathologie,<sup>2</sup> and Unité des Aspergillus,<sup>3</sup> Institut Pasteur, Paris, France*

**Η προφλεγμονώδης δράση της AmB-D μπορεί να μην είναι πάντα ευεργετική, τουλάχιστον σε μη ουδετεροπενικούς ασθενείς**

*Aspergillus fumigatus* causes invasive pulmonary aspergillosis (IPA). This disease is one of the most life-threatening opportunistic infections in immunocompromised patients. The type of immunosuppressive regimen under which IPA occurs has rarely been investigated. In this study, we evaluated various parameters of the innate immune response during the progression of murine IPA induced by the intratracheal administration of *A. fumigatus* conidia as a function of two immunosuppressive treatments: a corticosteroid and a chemotherapeutic agent. We compared host responses various times after infection in terms of survival, pulmonary production of pro- and anti-inflammatory cytokines, cellular trafficking in the airways, lung injury, respiratory distress, and fungal development. We found that IPA pathogenesis involved predominantly fungal development in mice treated by chemotherapy and an adverse host response in mice treated with a corticosteroid. These previously unrecognized differences should be taken into account in evaluations of the pathogenesis of IPA in animal models.

Η θεραπεία με AmB-D μείωσε τη θνητότητα σε ποντίκια υπό ΧΘΠ ( ουδετεροπενία) με IPA, αλλά τα ποντίκια υπό κορτικοστεροειδή είχαν θνητότητα 100% την ημέρα 8 από τη λοίμωξη είτε έλαβαν AmB ή το έκδοχο.

AmB fails to attenuate and may even promote tissue damage from excessive inflammation.



Lung histological features of corticosteroid- and chemotherapy-treated mice infected with *A. fumigatus*

**LIPID FORMULATIONS OF AMB:  
IMMUNOMODULATION BY THE LIPID  
CARRIER**

## NOTES

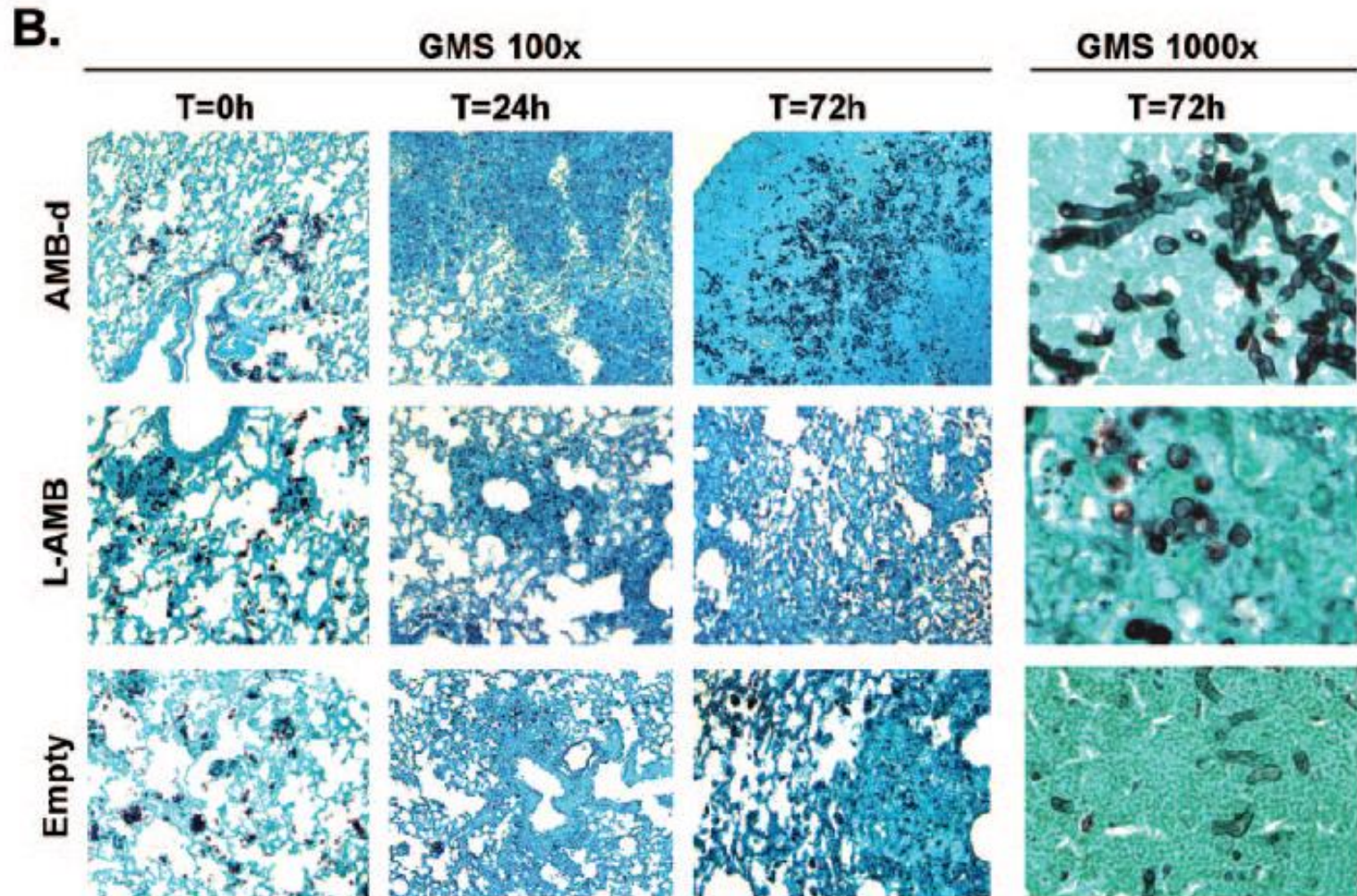
### Pretreatment with Empty Liposomes Attenuates the Immunopathology of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Corticosteroid-Immunosuppressed Mice<sup>∇</sup>

Russell E. Lewis,<sup>1,2\*</sup> Georgios Chamilos,<sup>1</sup> Randall A. Prince,<sup>1,2</sup> and Dimitrios P. Kontoyiannis<sup>1,2</sup>

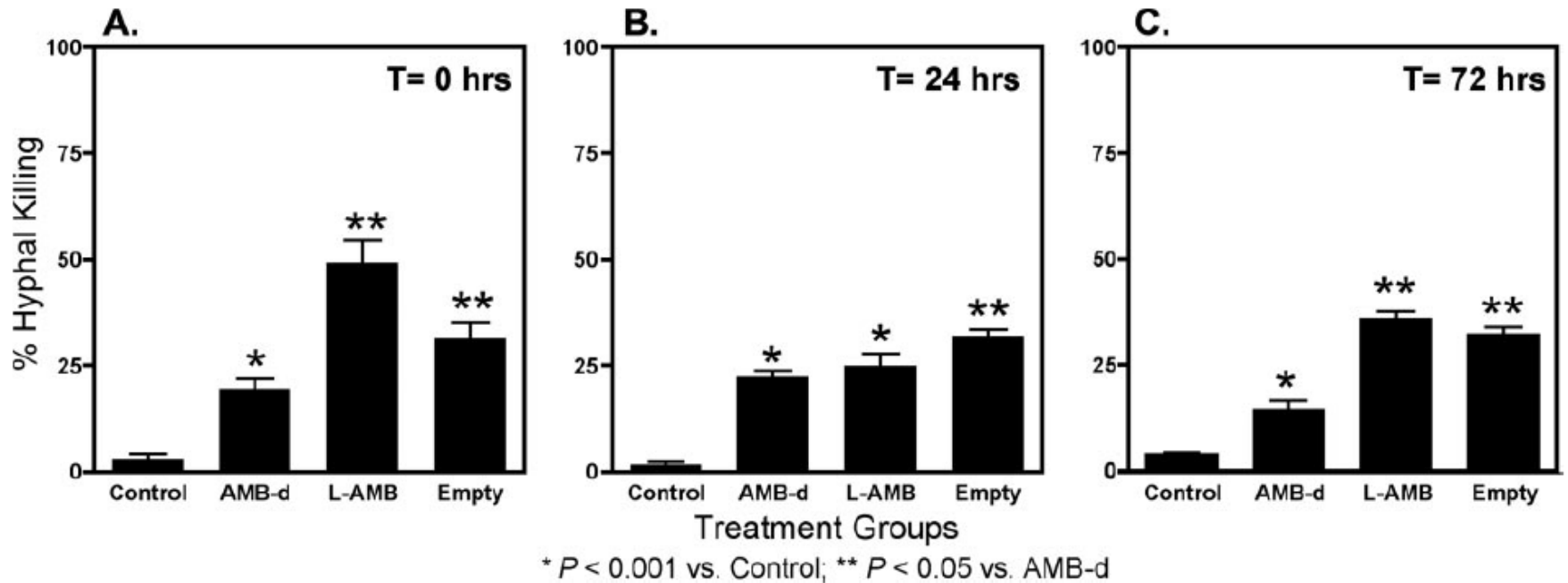
In a nonneutropenic murine model of invasive pulmonary aspergillosis, pretreatment with empty liposomes (E-lipo) was nearly as affective as 10mg/kg liposomal amphotericin B and superior to 1mg/kg d Amphotericin B.

The beneficial immunomodulatory properties of E-lipo appear to compensate for their lack of direct antifungal activity.

Pretreatment with L-AMB or empty liposomes, but not AMB-d is associated with enhanced fungal clearance, survival, and reduced lung injury in corticosteroid-immunosuppressed mice with IPA



# Ex vivo peripheral PMN killing activity against *A. fumigatus* hyphae is enhanced by AMB-d, L-AMB, and empty-liposome pretreatment



Shown are baseline data (A) and data obtained 24 h (B) and 72 h (C)

# Στεροειδή vs. ουδετεροπενία

## Στεροειδή

## ΧΘΠ

**Υγρό BAL**

**Ταχεία άθροιση  
PMN**

**Απουσία PMN**

**Ιστολογικά**

**Διήθηση από PMN  
Απουσία αγγειακής  
διασποράς  
Κοκκιώματα**

**Απουσία PMN  
Αγγειακή διασπορά  
Θρόμβωση, νέκρωση  
Αιμορραγ. έμφρακτα**

**Ανάπτυξη  
ασπεργίλλου**

**Μικρός αριθμός  
κονιδίων**

**Μεγάλη ανάπτυξη  
υφών**

**GM**

**Χαμηλός τίτλος**

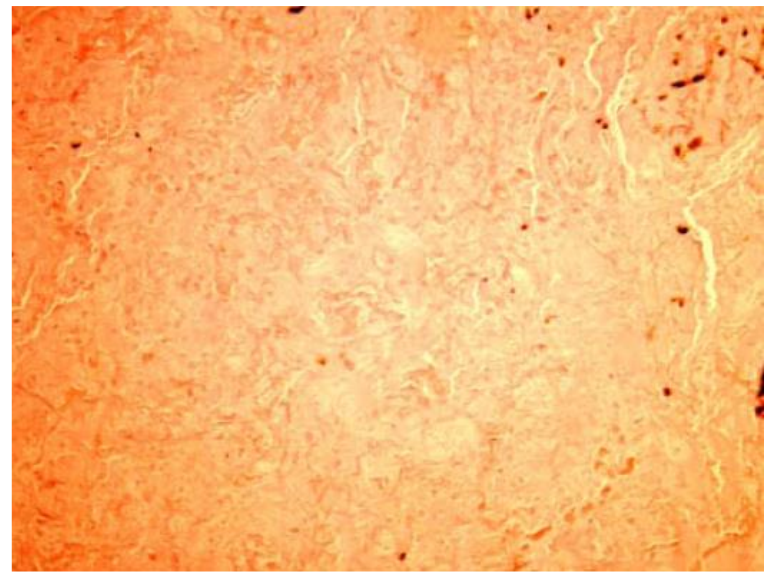
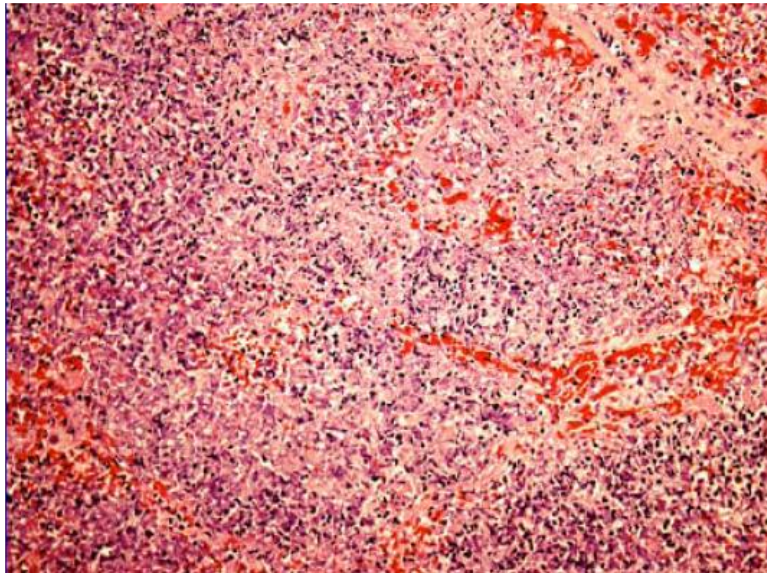
**Υψηλός τίτλος**



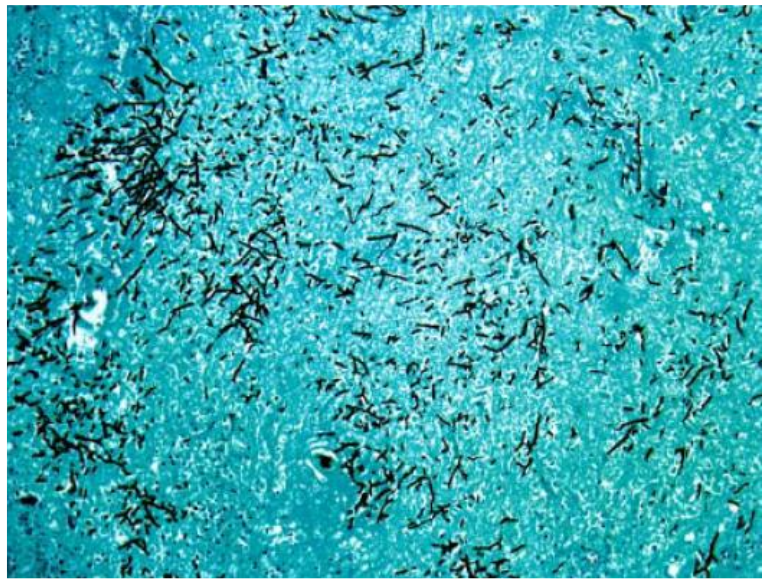
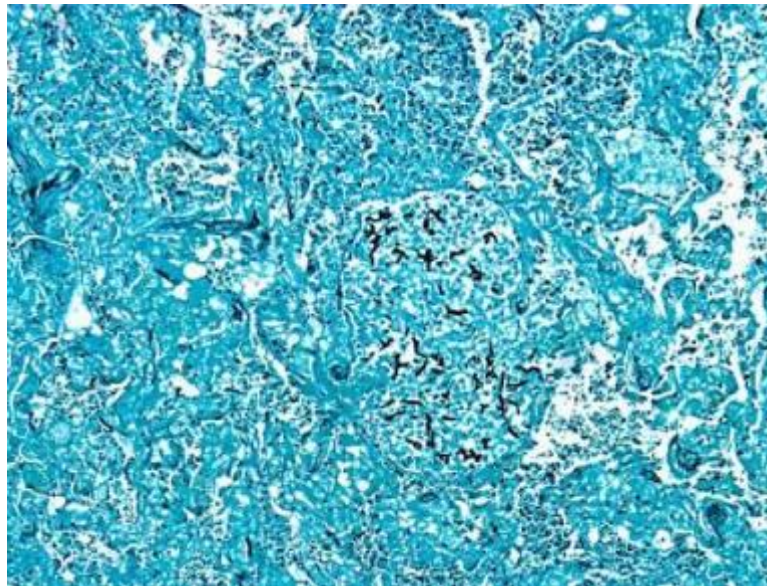
# Στεροειδή

# Ουδετεροπενία

**H&E**  
**x100**



**GMS**  
**x100**



# Σύνοψη των ανοσοτροποποιητικών δράσεων αντιμυκητιακών – polyenes AmB-D

Drug, immune function	Nature of interaction	Experimental system(s)
AmB-D Neutrophils and mononuclear cells	Production and release of inflammatory cytokines, prostaglandins, NO, and ROIs	In vitro
	Additive activity against <i>Aspergillus fumigatus</i> conidia (macrophages) and hyphae (neutrophils)	In vitro
Neutrophils	Increase in TLR2 expression	In vitro
B and T lymphocytes	AmB is mitogenic for lymphocytes but suppresses lymphocyte proliferation indirectly through its effects on arachidonic acid and H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> metabolism in mononuclear cells	In vitro
T helper cells	Polarization towards Th1 immunity and resistance to fungal infection	Murine model of candidiasis

# Σύνοψη των ανοσοτροποποιητικών δράσεων αντιμυκητιακών – polyenes AmB lipid formulations- ABCD, L-AmB

Drug, immune function	Nature of interaction	Experimental system(s)
ABCD Neutrophils and mononuclear cells	Up-regulation of inflammatory cytokine genes	In vitro
	Additive activity against <i>A. fumigatus</i> conidia (macrophages) and hyphae (neutrophils)	In vitro
L-AmB Neutrophils and mononuclear cells	Down-regulation of inflammatory cytokine genes	In vitro
Neutrophils	Additive activity against <i>A. fumigatus</i> hyphae	In vitro
Anti-hsp90 antibodies	Synergistic activity against <i>Candida species</i>	In vitro, murine model of candidiasis, and a RCT
ABLC Neutrophils and mononuclear cells	Down-regulation of inflammatory cytokine genes	In vitro

# ΑΖΟΛΕΣ: ΣΥΝΕΡΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΜΕ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΑ ΕΝΑΝΤΙ ΜΥΚΗΤΩΝ(I)

- Η ομάδα των αζολών έχει την μικρότερη ανοσοτροποποιητική δραστηριότητα έναντι των λοιπών αντιμυκητιασικών.
- Παρ'όλα αυτά έχουν συνεργική δράση με “immune-effector” κύτταρα και κυταροκίνες έναντι μυκήτων.
- Η φλουконаζόλη και η βορικοναζόλη δείχνουν συνέργεια με φαγοκύτταρα έναντι *C. albicans*, και αυτή η συνέργεια ενισχύεται περαιτέρω με GMCSF, GCSF, or IFN- $\gamma$  [ Baltch AL, AAC 2001]. Αν και εγγενώς μυκοστατικές έναντι *Candida* sp., επάγουν τη μυκητοκτόνο δράση μονοκυττάρων, μακροφάγων και ουδετεροφίλων έναντι *C.albicans* [Vora S, AAC 1998, Brummer E, Mycopathologia 1996].
- Υποανασταλτικές συγκεντρώσεις fluconazole επίσης επάγουν τη φαγοκυττάρωση για *Cryptococcus neoformans*, μία δράση σημαντική για το ΚΝΣ, όπου επιτυγχάνονται συγκεντρώσεις < MIC [Nosanchuk JD, et al AAC 1999].

# ΑΖΟΛΕΣ: ΣΥΝΕΡΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΜΕ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΑ ΕΝΑΝΤΙ ΜΥΚΗΤΩΝ (II)

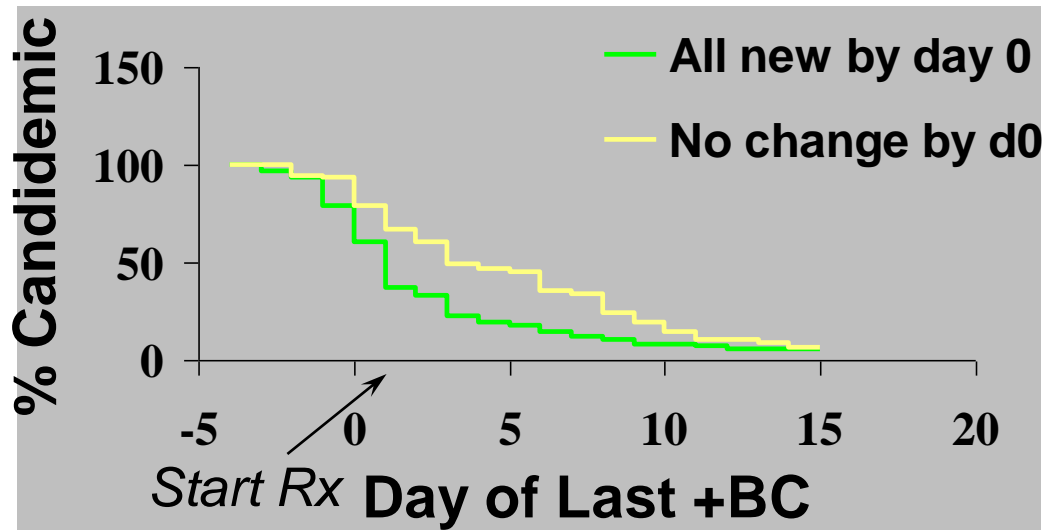
- Οι μηχανισμοί αλληλ/σεων αζολών με φαγοκύτταρα είναι μερικώς κατανοητοί, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι η μείωση της εργοστερόλης καθιστά τα μυκητιακά κύτταρα πιο ευαίσθητα σε καταστροφή από φαγοκύτταρα με οξειδωτικούς και μη οξειδωτικούς μηχανισμούς.
- Ένας ευαίσθητος σε υπεροξειδίο φαινότυπος έχει ανευρεθεί σε *C. albicans* υπό αζόλη και σε C-14a demethylase–deficient mutant [*Shimokawa O, et al Antimicrob Agents Chemother 1992*].
- Επιπλέον, οι αζόλες αυξάνουν την έκθεση των μυκήτων σε νιτρικό οξύ, παραγόμενο από διεγερμένα με IFN-γ μακροφάγα [*Romani L, et al J Immunol 1994*]
- Επίσης οι αζόλες αναστέλλουν την μετατροπή *Candida species* από κονίδια σε υφές, διευκολύνοντας την κάθαρση από τα φαγοκύτταρα [*Ha KC, et al Antimicrob Agents Chemother 1999*].

# ΑΖΟΛΕΣ: ΣΥΝΕΡΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΜΕ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΑ ΕΝΑΝΤΙ ΜΥΚΗΤΩΝ (III)

- Πρόσφατα περιεγράφησαν πιο άμεσες επιδράσεις στο ανοσοποιητικό.
- Η βορικοναζόλη φάνηκε να επάγει την έκφραση των TLR2, την δράση του πυρηνικού παράγοντα kB και του TNF-α σε ανθρώπινα μονοκύτταρα [Simitsopoulou M, et al 2007].
- Η φλουκοναζόλη επάγει Th1 απάντηση σε ποντίκια με διηθητική και βλεννογονική καντιντίαση [Cenci E, J Infect Dis 1997].
- Αντίστροφα, στροφή της κυτταρικής ανοσίας σε Th1 με χορήγηση IL-12 διευκολύνει τη δράση της φλουκοναζόλης έναντι *C.albicans* [Mencacci A, et al. J Infect Dis 2000] και *C. neoformans* [Clemons KV, et al Antimicrob Agents Chemother 1994 ].

# Καθετήρες & καντινταιμία

- Μη ουδετεροπενικοί
  - #1 εστία!
  - Καθετήρες!!!



- Ογκολογικοί ασθενείς
  - Γραμμές με Tunnel λιγότερο συχνά
  - Το έντερο η συχνότερη πύλη
  - ⇒ η αλλαγή γραμμής μπορεί να βοηθήσει ενίοτε

## Antifungal Susceptibility of *Candida* Biofilms: Unique Efficacy of Amphotericin B Lipid Formulations and Echinocandins

D. M. Kuhn,<sup>1,2</sup> T. George,<sup>2</sup> J. Chandra,<sup>2</sup> P. K. Mukherjee,<sup>2</sup> and M. A. Ghannoum<sup>2\*</sup>

Division of Infectious Diseases, Department of Medicine,<sup>1</sup> and Center for Medical Mycology, Department of Dermatology,<sup>2</sup> University Hospitals of Cleveland and Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio 44106

TABLE 1. MICs of antifungal agents against planktonic and biofilm-associated *C. albicans* (M61 and GDH) and *C. parapsilosis* (P/A71 and P92) strains<sup>a</sup>

Drug	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) in:							
	Planktonically grown cells for strain:				Biofilm at 48 h for strain:			
	M61	GDH	P/A71	P92	M61	GDH	P/A71	P92
AMB	0.5	0.25	0.25	0.5	4	4	8	8
NYT	2	1	0.5	2	16	16	16	64
Chlor	8	8	8	8	32	8	16	64
TRB	32	32	4	1	128	128	*	128
→ FLC	1	0.25	8	1	>256	>256	>256	>256
→ VRC	0.5	8	0.125	0.03	>256	>256	128	256
Ravu	0.1	0.06	0.125	0.1	128	128	*	128
→ Lip-AMB	0.5	0.06	0.06	0.5	0.25	0.25	1	*
Lip-NYT	0.5	0.06	0.5	0.5	8	16	32	*
→ ABLC	0.25	0.06	0.06	0.25	0.25	0.25	0.25	*
→ Casp	0.125	0.125	1	1	0.25	0.5	0.125	4
Mica	0.001	0.001	0.25	0.5	0.25	0.5	0.125	2

<sup>a</sup> Results are representative of at least two separate experiments. Lip-AMB and Lip-NYT are the lipid complex formulations of AMB and NYT. For details of methods used, see text. \*, unable to determine MIC.

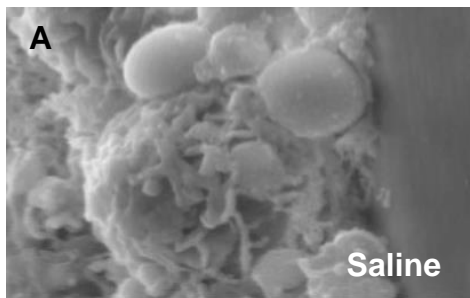


## Rabbit Model of *Candida albicans* Biofilm Infection: Liposomal Amphotericin B Antifungal Lock Therapy

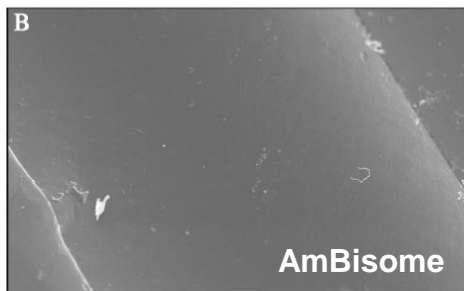
Matthew K. Schinabeck,<sup>1,2</sup> Lisa A. Long,<sup>1</sup> Mohammad A. Hossain,<sup>1</sup> Jyotsna Chandra,<sup>1</sup>  
Pranab K. Mukherjee,<sup>1</sup> Sotohy Mohamed,<sup>1</sup> and Mahmoud A. Ghannoum<sup>1\*</sup>

*Center for Medical Mycology and Mycology Reference Laboratory, Department of Dermatology,<sup>1</sup> and  
Division of Infectious Diseases, Department of Medicine,<sup>2</sup> University Hospitals of Cleveland  
and Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio 44106*

### Intraluminal surface following 7 days therapy with:

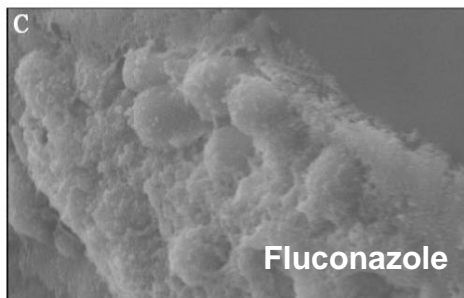


**Panel A: Saline.**



**Panel B: AmBisome.**

AmBisome is FUNGICIDAL



**Panel C: Fluconazole**

Azoles are FUNGISTATIC

# Catheter-Related Blood Stream Infection

Population	Intention	Intervention	SoR	QoE	Reference
Candidaemia if treated with azoles or deoxycholate amphotericin B	To clear candidemia To improve survival	Remove indwelling lines	B	II	Liu J Infect 2009 Weinberger J Hosp Inf 2005 Leroy CCM 2009 Rex CID 1995 Almirante JCM 2005 Rodriguez CMI 2007
if treated with liposomal amphotericin B, or echinocandin			D	II	Nucci CID 2010 Kucharikova AAC 2010 Kuhn AAC 2002 Mukherjee IJAA 2009

## Comment:

In patients treated with liposomal amphotericin B, caspofungin or micafungin removal of indwelling lines within 48 hours after treatment initiation was not associated with a higher survival rate neither at 28 nor 42 days.

## Candidemia: Catheter removal

- Removal of central venous line
  - In non-hematological patients **A II**
  - In hematology patients ~~**B III**~~ **B II**
  - ~~Removal is always recommended when *C parapsilosis* is isolated~~ **A II**
- When catheter cannot be removed, treatment with an echinocandin or a lipid formulation of amphotericin B is preferred **B III**

# Catheter Exchange? Definite... Maybe

“Central Venous Catheters should be removed as early as possible in the course of candidemia when the source is presumed to be the CVC and the catheter can be removed safely; **this decision should be individualized for each patient**

*(strong recommendation; moderate quality evidence)”*

# Σύνοψη ανοσοτροποποιητικών δράσεων αντιμυκητιακών – azoles

Drug, immune function	Nature of interaction	Experimental system(s)
Azoles Neutrophils and mononuclear cells	Synergistic activity of azoles, cytokines, and immune-effector cells against <i>Candida albicans</i>	In vitro
	Fungal sensitization to ROI by accumulated 14a methyl sterols.	In vitro
	Inhibition of NO degradation by fungal flavohemoglobin renders fungi susceptible to damage by immune-effector cells	In vitro
Monocytes	Increase in TLR2 expression	In vitro
T helper cells	Polarization towards Th1 immunity and resistance to fungal infection	Murine model of candidiasis
IL-12	Induction of Th1 response facilitates activity of fluconazole against <i>C. albicans</i> and <i>Cryptococcus neoformans</i>	Neutropenic mice with disseminated candidiasis

# ΕΧΙΝΟΚΑΝΔΙΝΕΣ: β-GLUCAN UNMASKING ΑΥΞΑΝΕΙ ΤΗΝ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ ΚΑΙ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ (I)

- Λόγω μυκητοστατικής δράσης των εχिनοκανδινών έναντι υφομυκήτων, η αποτελεσματικότητά τους ως θεραπεία και προφύλαξη σε ασπεργίλλωση είναι ενδεικτική μιας έμμεσης δράσης *in vivo*.
- Σχετικά πρόσφατα, διαπιστώθηκαν οι ανοσοδιεγερτικές δράσεις της ομάδας. Προηγηθείσα έκθεση μονοκυττάρων και μακροφάγων, αλλά όχι ουδετεροφίλων, σε εχινοκανδίνη, είχε ως αποτέλεσμα επίταση της *in vitro* αναστολής *A. fumigatus* [Chiller T, et al *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001, Choi JH, et al. *Microbes Infect* 2004].
- Η μυκητοστατική δράση μονοκυττάρων με έκθεση σε caspofungin ήταν σημαντικότερη από ότι με caspofungin ή μονοκύτταρα χωρίς έκθεση [Chiller T, et al *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001].

## ΕΞΙΝΟΚΑΝΔΙΝΕΣ: b-GLUCAN UNMASKING ΑΥΞΑΝΕΙ ΤΗΝ ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ ΚΑΙ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ (II)

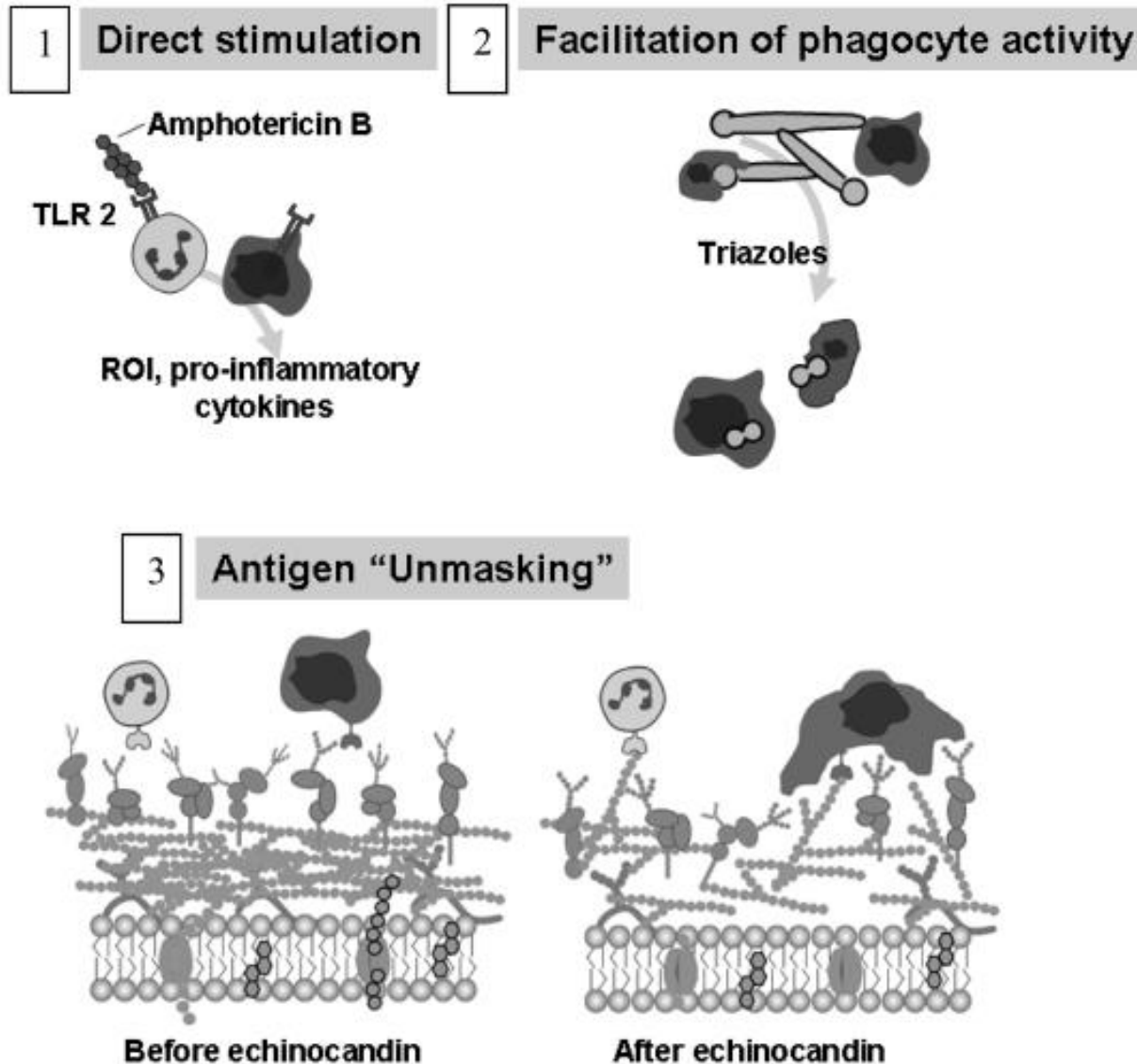
- Η b-γλουκάνη, κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος *Candida* και *Aspergillus species*, αναγνωρίζεται από την dectin-1 και τα κυψελιδικά μακροφάγα ( AMs), ουδετερόφιλα και δενδριτικά κύτταρα [Taylor PR, et al Nat Immunol 2007; 8:31–8].
- Όμως, υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι επίτοποι της b-glucan καλύπτονται από άλλα στοιχεία του κυτταρικού τοιχώματος, καθιστώντας την αόρατη στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος [Wheeler RT, et al PLoS Pathog 2006; 2:e35].
- Έκθεση *C. albicans* σε υποθεραπευτικές συγκεντρώσεις caspofungin έχει ως συνέπεια το unmasking της b-glucan, με αποτέλεσμα την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών από μακροφάγα [Lamaris GA, et al. J Infect Dis].

# Σύνοψη ανοσοτροποποιητικών δράσεων αντιμυκητιακών – Echinocandins

Drug, immune function	Nature of interaction	Experimental system(s)
Echinocandins Neutrophils	Unmasking of b-glucan facilitates fungal damage by neutrophils and antibodies	In vitro
Monocytes and macrophages	Preexposure to echinocandins enhances the activity of these cells against <i>A. fumigatus</i>	In vitro



# Αλληλεπίδραση αντιμυκητιακών με το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή



# Caspofungin-Mediated $\beta$ -Glucan Unmasking and Enhancement of Human Polymorphonuclear Neutrophil Activity against *Aspergillus* and Non-*Aspergillus* Hyphae

Gregory A. Lamaris,<sup>1</sup> Russell E. Lewis,<sup>1,3</sup> Georgios Chamilos,<sup>1</sup> Gregory S. May,<sup>2</sup> Amar Safdar,<sup>1</sup> Thomas J. Walsh,<sup>4</sup> Issam I. Raad,<sup>1</sup> and Dimitrios P. Kontoyiannis<sup>1,3</sup>



ELSEVIER

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease

39 (2001) 99–103

Mycology

DIAGNOSTIC  
MICROBIOLOGY  
AND INFECTIOUS  
DISEASE

[www.elsevier.com/locate/diagmicrobio](http://www.elsevier.com/locate/diagmicrobio)

The interaction of human monocytes, monocyte-derived macrophages, and polymorphonuclear neutrophils with caspofungin (MK-0991), an echinocandin, for antifungal activity against *Aspergillus fumigatus*

Tom Chiller,<sup>a,b,c,\*</sup> Kouros Farrokhshad,<sup>a,b</sup> Elmer Brummer,<sup>a,b,c</sup> David A. Stevens<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Santa Clara Valley Medical Center, San Jose, CA

<sup>b</sup>California Institute for Medical Research, San Jose, CA

<sup>c</sup>Stanford University School of Medicine, Stanford, CA



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

Microbes and Infection 6 (2004) 383–389

---

---

Microbes and  
Infection

---

---

[www.elsevier.com/locate/micinf](http://www.elsevier.com/locate/micinf)

Original article

# Combined action of micafungin, a new echinocandin, and human phagocytes for antifungal activity against *Aspergillus fumigatus*

Jung-Hyun Choi<sup>a,b,c,1</sup>, Elmer Brummer<sup>a,b,c</sup>, David A. Stevens<sup>a,b,c,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, Santa Clara Valley Medical Center, 751 S Bascom Avenue, San Jose CA 95128-2699, USA

<sup>b</sup> California Institute for Medical Research, 2260 Clove Drive, San Jose, CA, USA

<sup>c</sup> Stanford University School of Medicine, Stanford CA 94305, USA

Received 28 November 2003; accepted 17 December 2003

# Μουκορμύκωση και εχينوκανδίνες?

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, July 2011, p. 3584–3587  
0066-4804/11/\$12.00 doi:10.1128/AAC.01812-10  
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 55, No. 7

## Efficacy of Caspofungin in Neutropenic and Corticosteroid- Immunosuppressed Murine Models of Invasive Pulmonary Mucormycosis<sup>∇</sup>

Russell E. Lewis,<sup>1,2\*</sup> Konstantinos Leventakos,<sup>2</sup> Guangling Liao,<sup>1</sup> and Dimitrios P. Kontoyiannis<sup>1,2\*</sup>

# Caspofungin impairs early hyphal proliferation in neutropenic but not corticosteroid-immunosuppressed mice with invasive pulmonary mucormycosis

5 animals to compare lung histology results at 72 h

