

Doc. RNDr. Alena Žáková

Okruhy výzkumné problematiky

Odd. Fyziologie a imunologie živočichů

A) fyziologie a imunologie zátěže

Zjistit změnu hematologických, biochemických a imunologických parametrů u sportovců pod vlivem extrémních zátěžových sportovních akcí ve vztahu k trénovanosti jedince.

Studie tréninkové, antropometrické a vybrané fyziologické a psychologické parametry ultra-vytrvalostních cyklistů na horských kolech (MTB) a běžců.

Spolupráce mezi Centrem sportovních aktivit Vysokého učení technického v Brně (zastoupená Mgr. Danielou Chlíbkovou Ph.D.) a Přírodovědeckou fakultou Masarykovy univerzity v Brně (doc. RNDr. Alena Žáková, Ph.D.).

Cíle

- Shromáždit poznatky o některých fyziologických parametrech
- Porovnat sportovce s běžným člověkem

Běžný
člověk



100km, 7
denní
bežecký
maratón

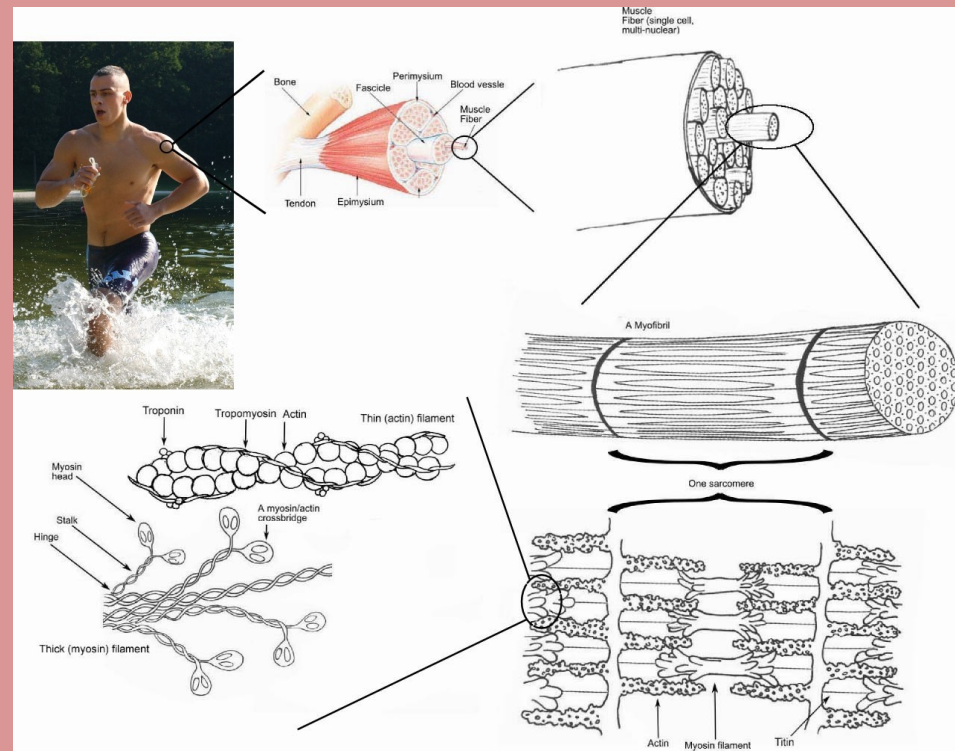
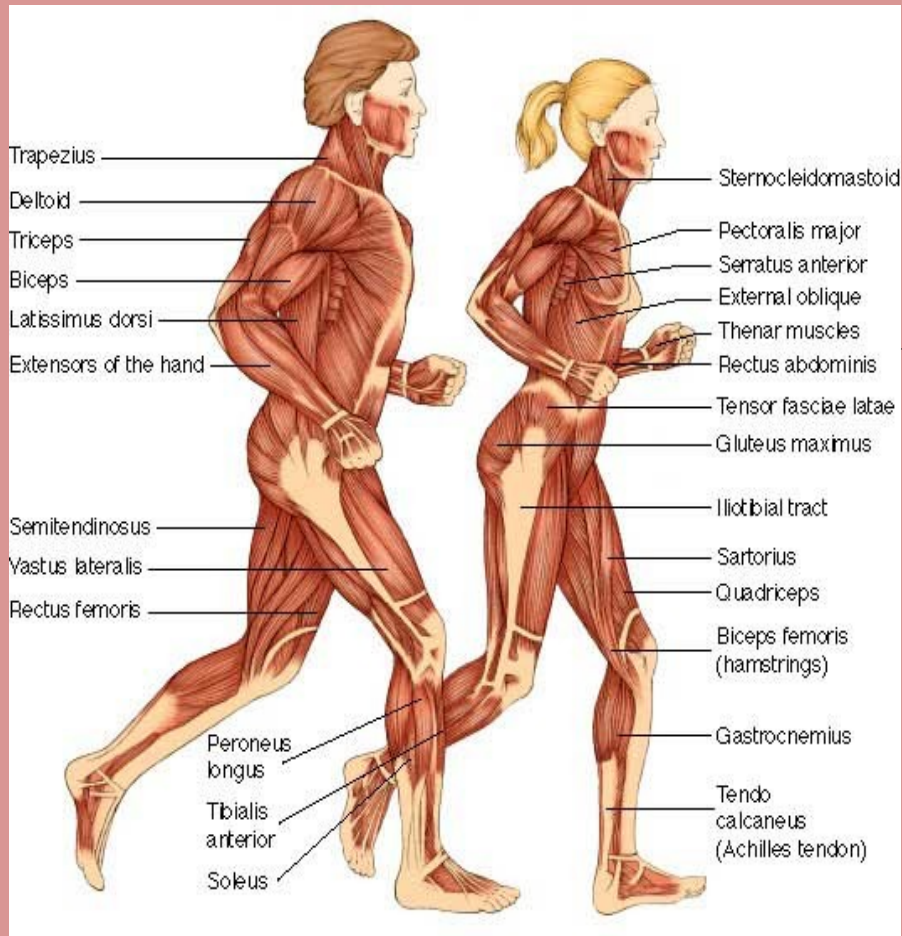


24h cyklistický
maratón,
etapový závod

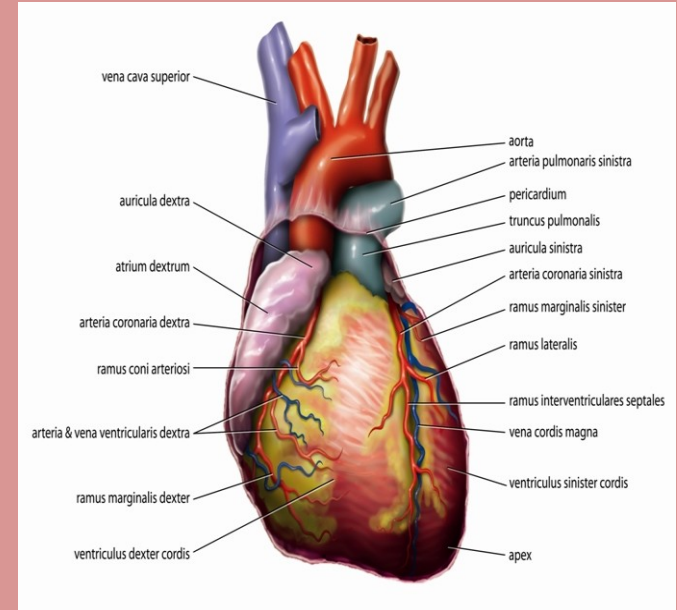
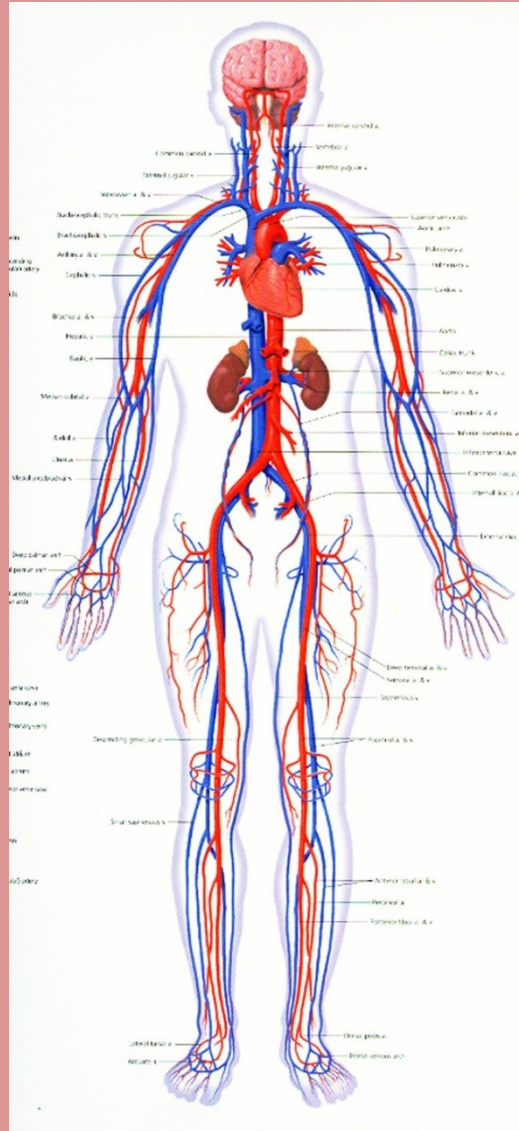
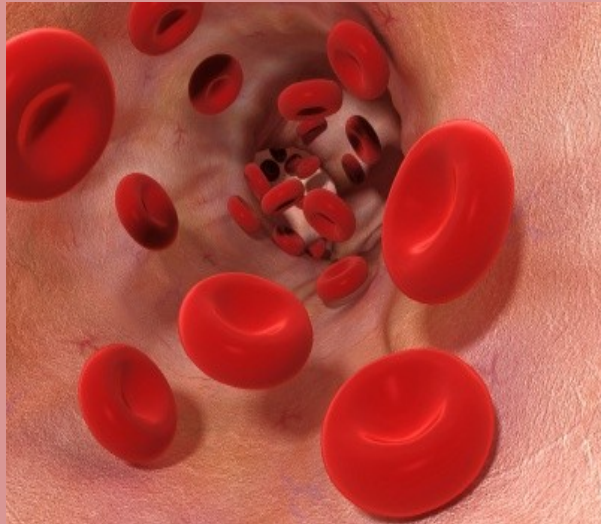


SVALOVÉ TKÁNĚ

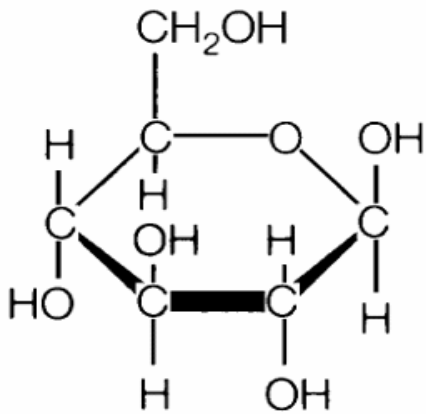
- menší svalová vlákna - výhoda v rámci lepších difúzních podmínek O₂ z krvi do mitochondrií !!



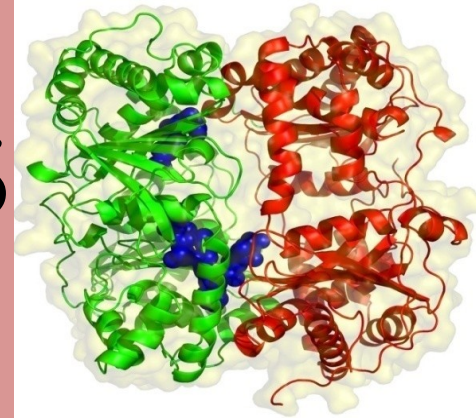
KREVNÍ OBĚH



Fyziologická hypertrofiie srdce
u vytrvalostního tréninku
hypertrofiie excentrická =
dilatace komor.
u silového tréninku.
hypertrofiie koncentrická =
↑ tloušťka stěn,



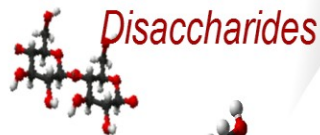
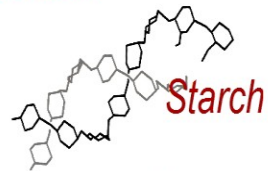
METABOLISMUS



Při maximálním výkoně je hladina cukru v krvi vyšší.

Glucose metabolism

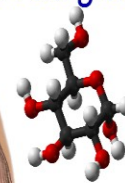
Intake:



*Monosaccharides
(glucose, fructose,
galactose)*

Storage:
Glycogen

**Distribution
and
utilization:**
Free glucose



IMUNITNÍ SYSTÉM

Počet bílých krvinek při tělesné námaze stoupá.

Hematologické parametry:

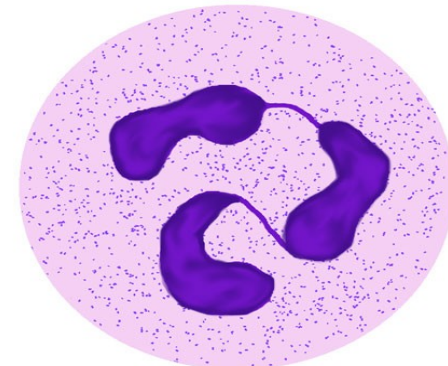
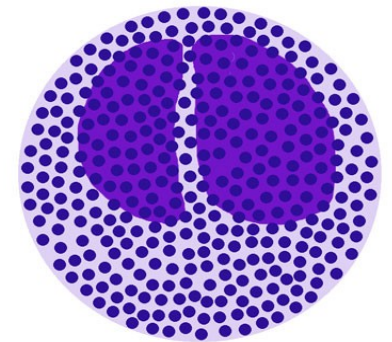
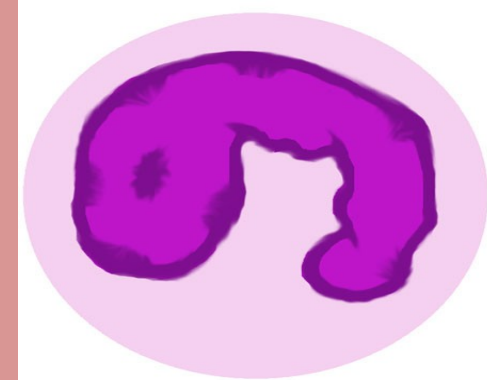
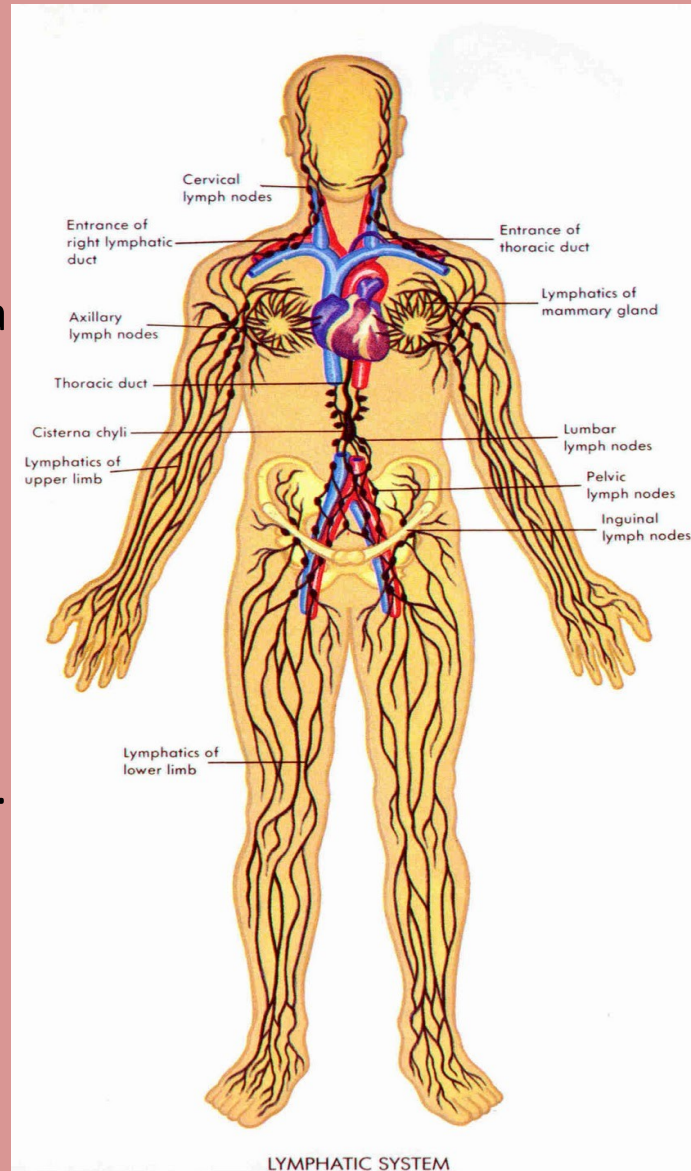
- počet erytrocytů
- množství hemoglobinu

Imunologické parametry:

- množství bílých krvinek a jejich jedn. typů
- CRP
- IgA, IgM, IgG
- C3, C4 komplementové složky
- Stanovení mn. celkové bílkoviny
- Stanovení celkového mn. Albuminu

Biochemické parametry:

- ALT



ZÁVĚR

- Odhalení pozitivních a negativních vlivů extrémně vytrvalostního sportu na organismus člověka
- Informování sportovní veřejnosti o přínosu sportu pro jejich organismus
- Teplice- etapový závod MTB 2012
- Liberec -24hod závod MTB 2012

Okruhy výzkumné problematiky

B) epidemiologie, zoonózy

- **Patogenní agens:** 1. studium životního cyklu *Borrelia burgdorferi* s. l., *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, *Leptospira interrogans* s.l.
- **Vektor:** klíště obecné
- **Hostitel:** drobní hlodavci
- **Epidemiologie, imunologie, mikrobiologie, molekulární biologie-** studium promořenosti většiny organismů uplatňujících se přímo či nepřímo v životním cyklu Bbsl vč. člověka, určení ohnisek nález (klíšťata, komáři, hlodavci, ovce, kozy, kočky, koně)
- kultivace Bbsl, příprava přirozeného celobuněčného antigenu, ověření expresního profilu borrelie
- studium antigenních vlastností (genová a proteinová analýza)

Použité metody

- **Přímé metody**

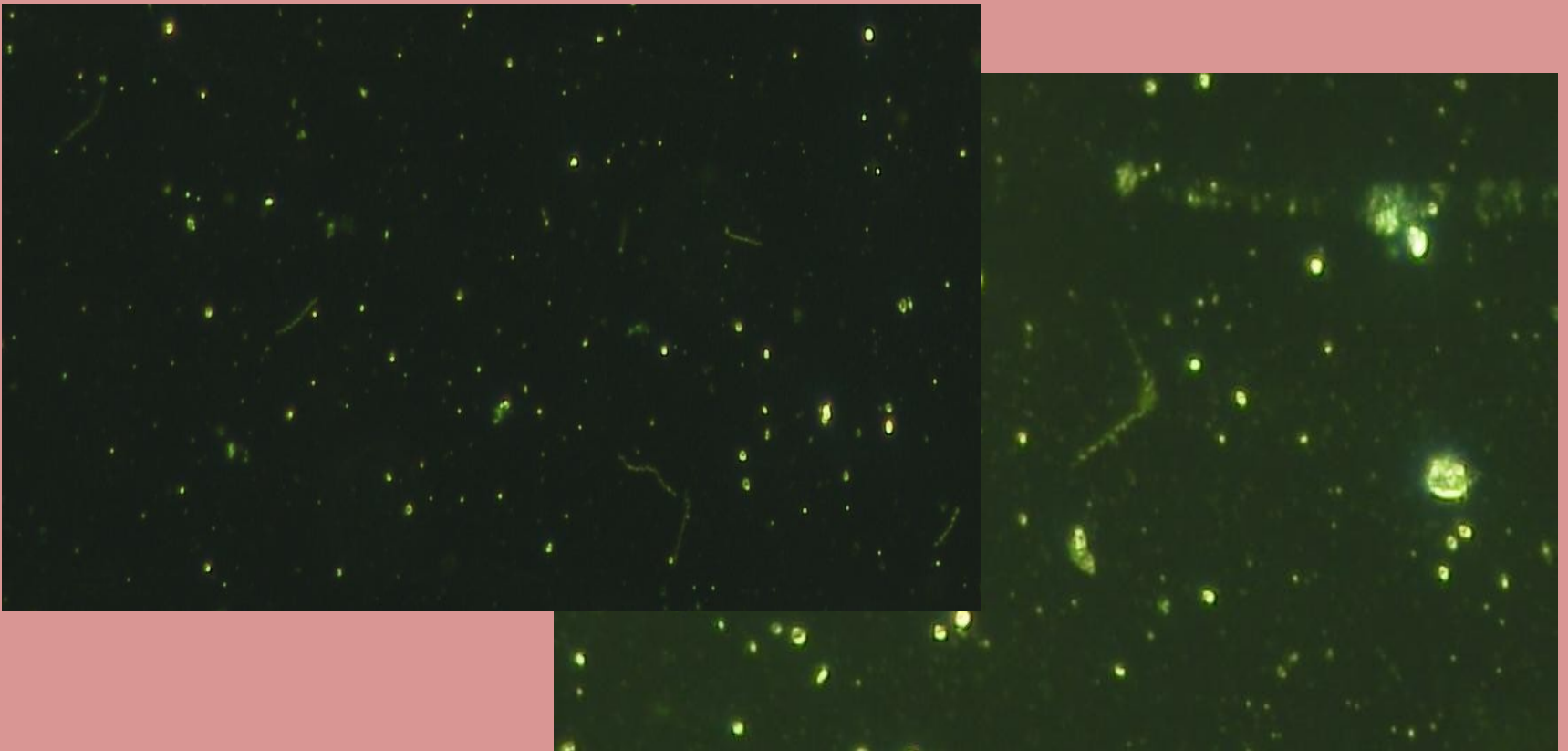
- monitoring klíšťat, odchyt hlodavců, kultivace tkání a orgánů v BSK-H médiu, Izolace borrelií
- detekce živých borrelií- mikroskopie v temném poli (DFM)

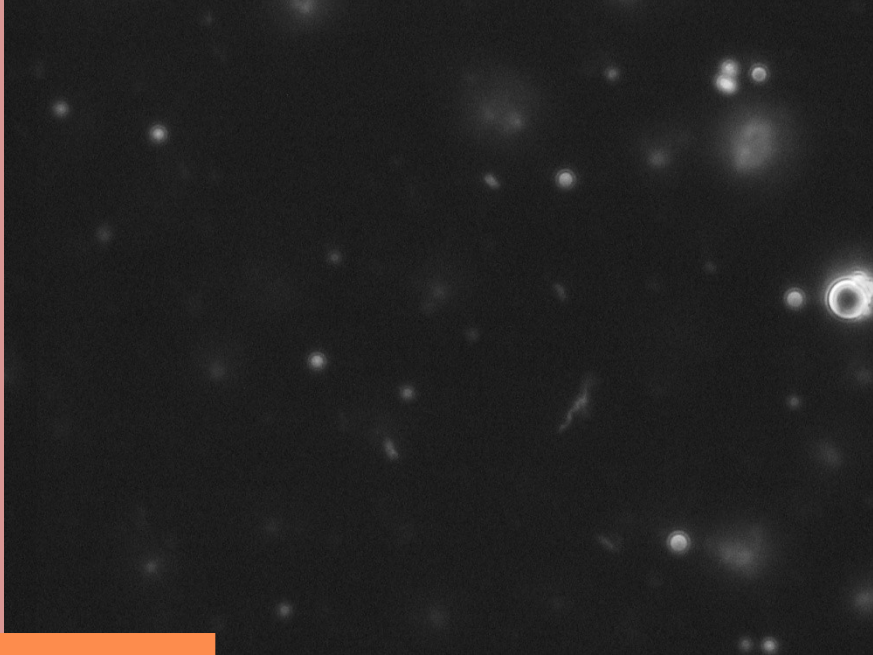
- **Nepřímé metody**

- detekce antiborreliových protilátek pomocí ELISA
- PCR, PCR- RFLP, sequenace

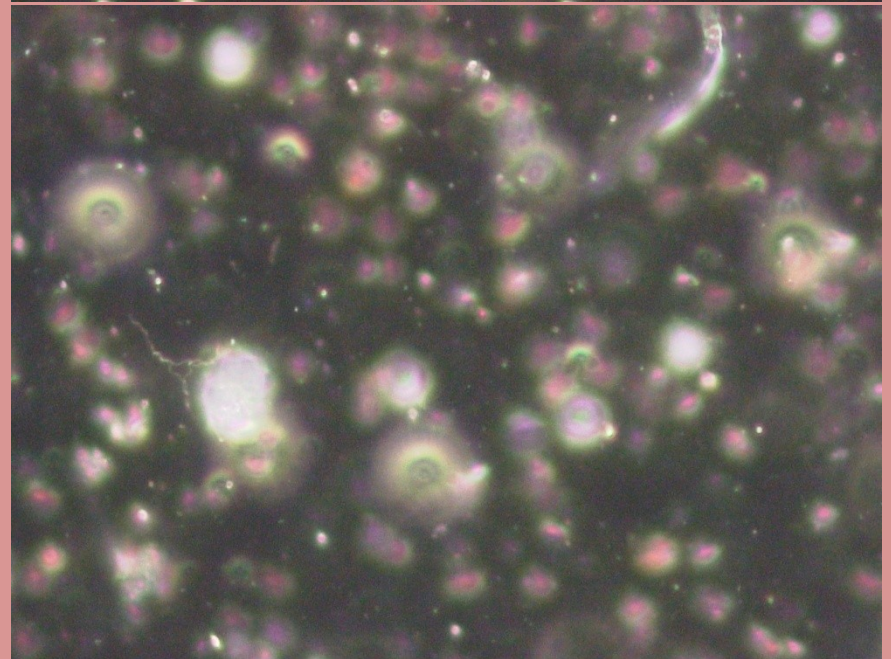
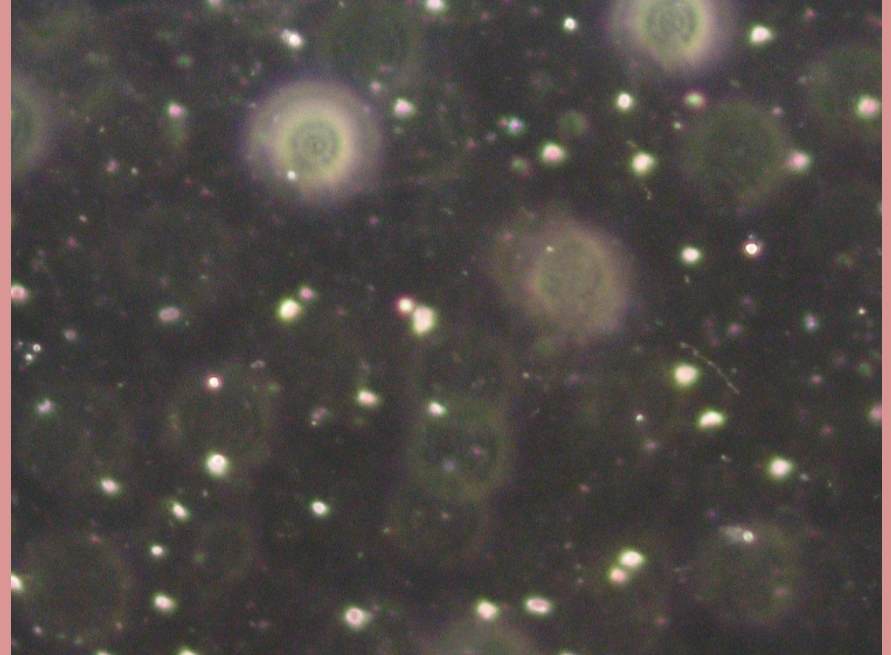
Spirochety, *Borrelia burgdorferi* s. l. metoda DFM z klíšťat, ovcí, komárů

Mikroskopování v temném poli (DFM)

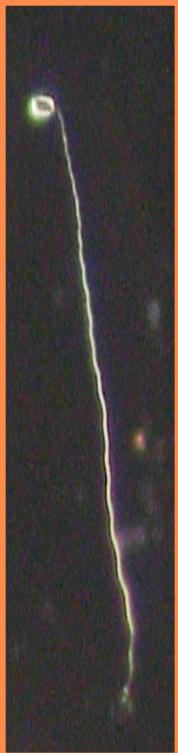




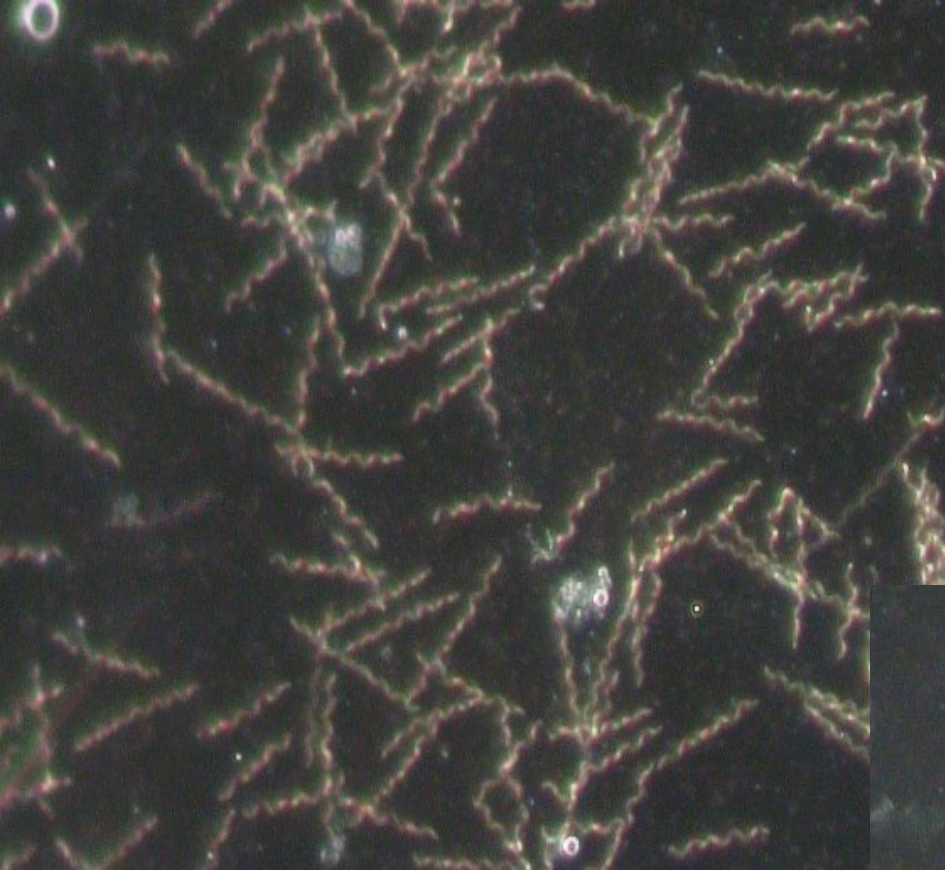
Z ovcí



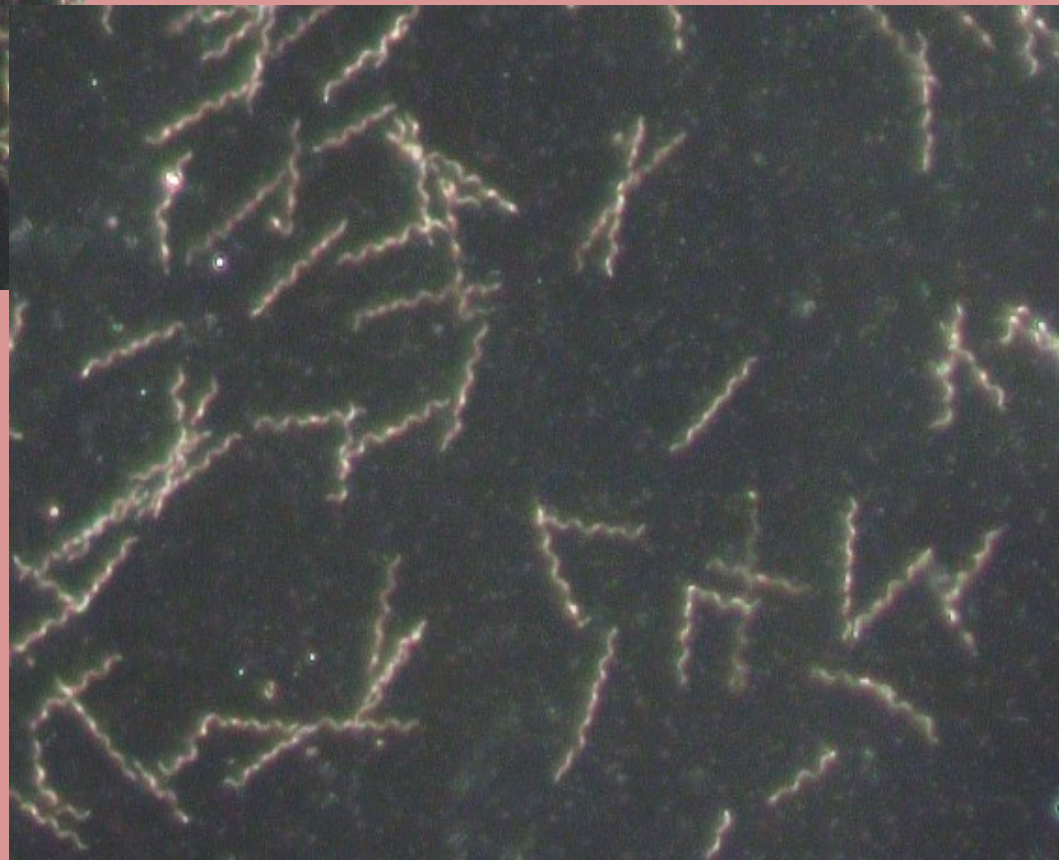
Z klíštěte



Z roztoče



Z larev komárů



Přínos výzkumu

Výstupy se dají aplikovat na praktické cíle.

- Přispění k informovanosti obyvatelstva (sdělovací postředky, (TV, Mfdnes, blanenský deník, ČS televize Brno, ČS rozhlas Brno)
- Spolupráce: orgány hygienické služby (jmKHS)
- Instituce humánní (firma Bioplus, Biovendor, TEST-LINE) a veterinární medicíny (VF Brno)

Charakteristika přenosu nález členovci

- Zoonóza, ohnisková nákaza
- Přenos transmisivní

Obecné schéma přenosu:

Donor (obratlovec A) ... vektor ... recipient (obratlovec B)



Microtus agrestis

<http://home2.planetinternet.be/rv047190/ho/muisje.htm>



Samice *I. ricinus*

Katedra srovnávací fyziologie
živočichů a obecné zoologie



Apodemus sylvaticus

<http://www.consult-eco.ndirect.co.uk/lrc/specnews.htm>

Charakteristika přenosu nálezů členovci



Druhy přenosů patogenů:

- A) Biologický**- infekční agens se musí nejdříve pomnožit nebo prodělat určitý vývojový cyklus než může být přeneseno na nového hostitele - jen **hematofágní členovci**
- B) Mechanický**- agens se nemnoží a nevyvíjí, je přeneseno
- a) kontaminativně** (ústními ústrojími, exkrementy, končetinami)
 - b) inokulativně** (ústními ústroji, žihadlem) **hematofágové i nehematofágové** (švábi, rusi, mouchy-čeled' mouchovití, bzučivkovití, masařkovití- mohou přenášet salmonelózu, antrax-sněť, cholera, stafylokové nákazy, prvoky, virus LCM)

Zařazení klíštěte *Ixodes ricinus* do systému

Kmen: členovci *Arthropoda*

Podkmen: klepítkatci *Chelicerata*

Třída: pavoukovci *Arachnida*

Řád: roztoči *Acarina*

Podřád: klíšťata *Ixodides*

Čeleď: klíšťatovití *Ixodidae*

Rod: klíště *Ixodes*

Druh: obecné *ricinus*

Čeleď: klíšťákovití *Argasidae*

Podčeleď: *Ornithodorinae*

Rod: *Ornithodoros*

Podčeleď: *Argasinae*

Rod: *Argas*

(Sedlák 2000)

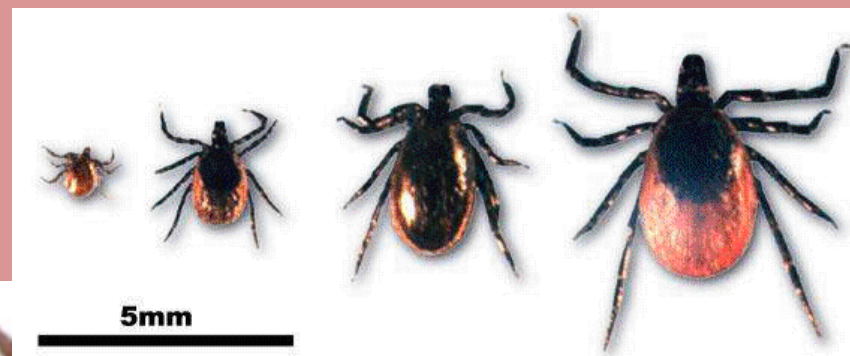
Vlastní tělo klíštěte **Idiosoma** kryje silně sklerotizovaný štít **scutum** - hard ticks.

U samce kryje téměř celý hřbet těla, zatímco u samic jen její přední část (1/3). Zbytek těla **alloscutum** samice je pokryt měkkou pokožkou, která umožňuje až třistanásobné zvětšení objemu při nasávání krve. Horní okraj štítu vyběhá po stranách v lopatky **scapulae**

Pohlavní otvor u samců a samic leží v přední třetině těla. Před řitním otvorem probíhá **anální rýha**, determinační znak pro zařazení klíšťat do druhů.

Nymfy a dospělci mají čtyři páry noh, larvy tři páry. Články bývají vyzbrojeny **zubci, trny a ostny**, které slouží klíštěti k přichycení k hostiteli. Na hřbetní straně chodidla 1. páru je umístěn **Hallerův orgán** se smyslovými i čípky je velmi důležitým čichovým orgánem pro vyhledávání hostitele. Na břišní straně zadečku, po straně 4. páru nohou, je jeden pár dýchacích otvorů **stigmat**

- **Idiosoma**
- Obr. Samec klíštěte *Ixodes ricinus*
- 1: končetiny s drápkami, 2: řitní otvor, 3: štít, 4: pohlavní otvor, 5: lopatky



Hlavička Gnathosoma

Obr.: *Gnathosoma samice Ixodes ricinus*

A: Dorzální strana, B: Ventrální strana

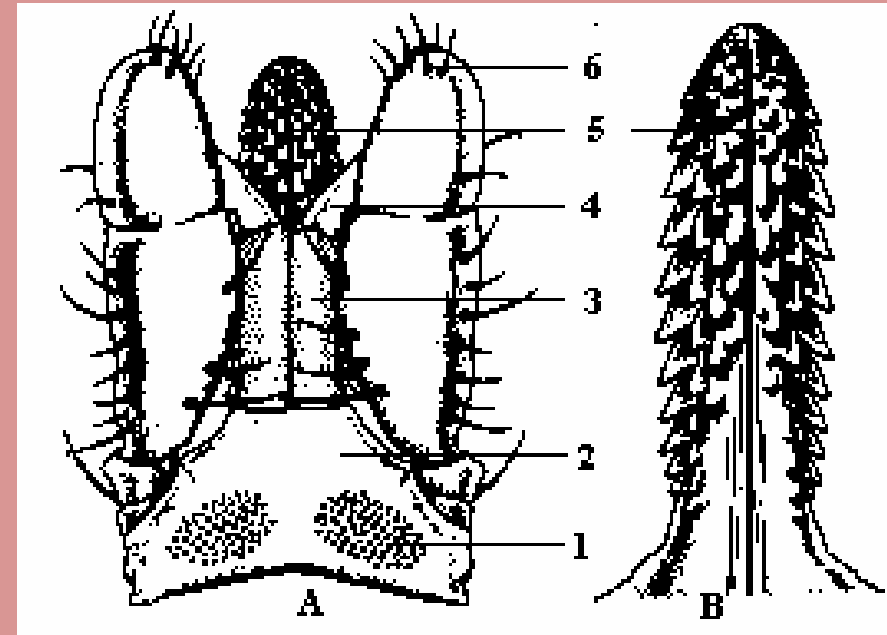
1: smyslové plošky, 2: límec, 3: pouzdro chelicer, 4: chelicery, 5: chobotek 6: makadla

Hlavička *gnathosoma*, základna-límec nese ústní orgány chobotek *hypostom* a *chelicery* a makadla *palpi*

Na hřbetní straně límce leží oválné smyslové plošky

chobotek *hypostom*, vyzbrojený několika příčnými řadami drobných, dozadu směřujících zoubků. Chobotek představuje **bodavě sací ústní ústrojí**, Po stranách chobotku jsou v pouzdrech uloženy párové *chelicery*, které u volně se pohybujících klíš'at nejsou patrné. V klidu jsou ústní ústroje zakryty mohutnými **makadly**

Chobotek *hypostom* klíš'at má také funkci rozmnožovací. Samice jsou oplodňovány schránkami obsahujícími spermie *spermatofory*, které samec předává právě chobotkem.



I. ricinus, Pisárky, Brno



Larva



nymfa



sameček

samička



Klíště jako vektor

Rozšíření klíšťat komplexu *Ixodes ricinus*

- **Evropa** *I. ricinus*
- **Asie** *I. persulcatus*, *I. dammini*
- **S. Amerika** *I. ricinus*, *I. scapularis*, *I. pacificus*
- **Afrika** *I. ricinus*
- **Austrálie** možná *I. holocyclus*

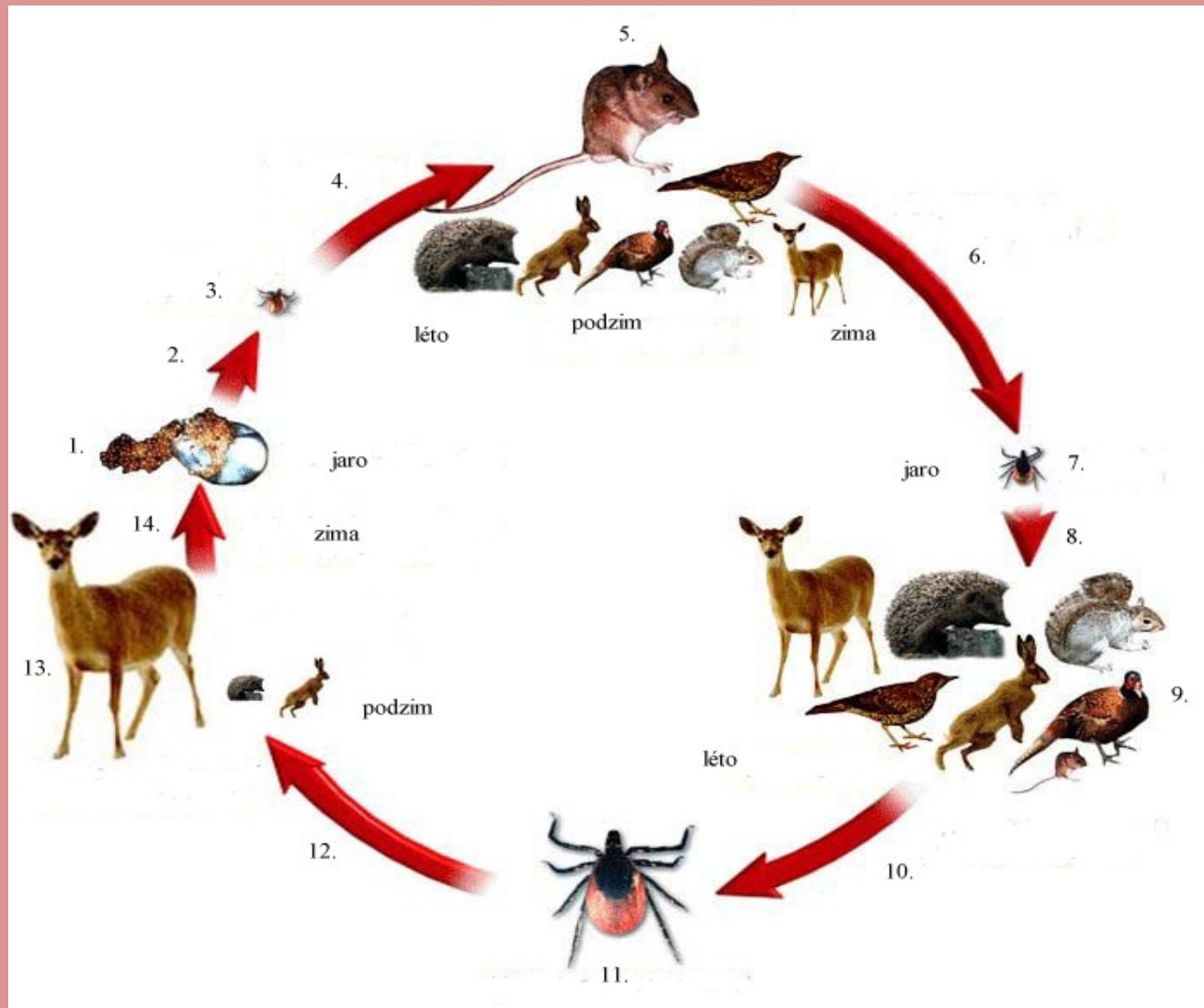


I. ricinus zasahuje do sev.
Afriky, V. Británie, S,
Ameriky, Asie, Japonska

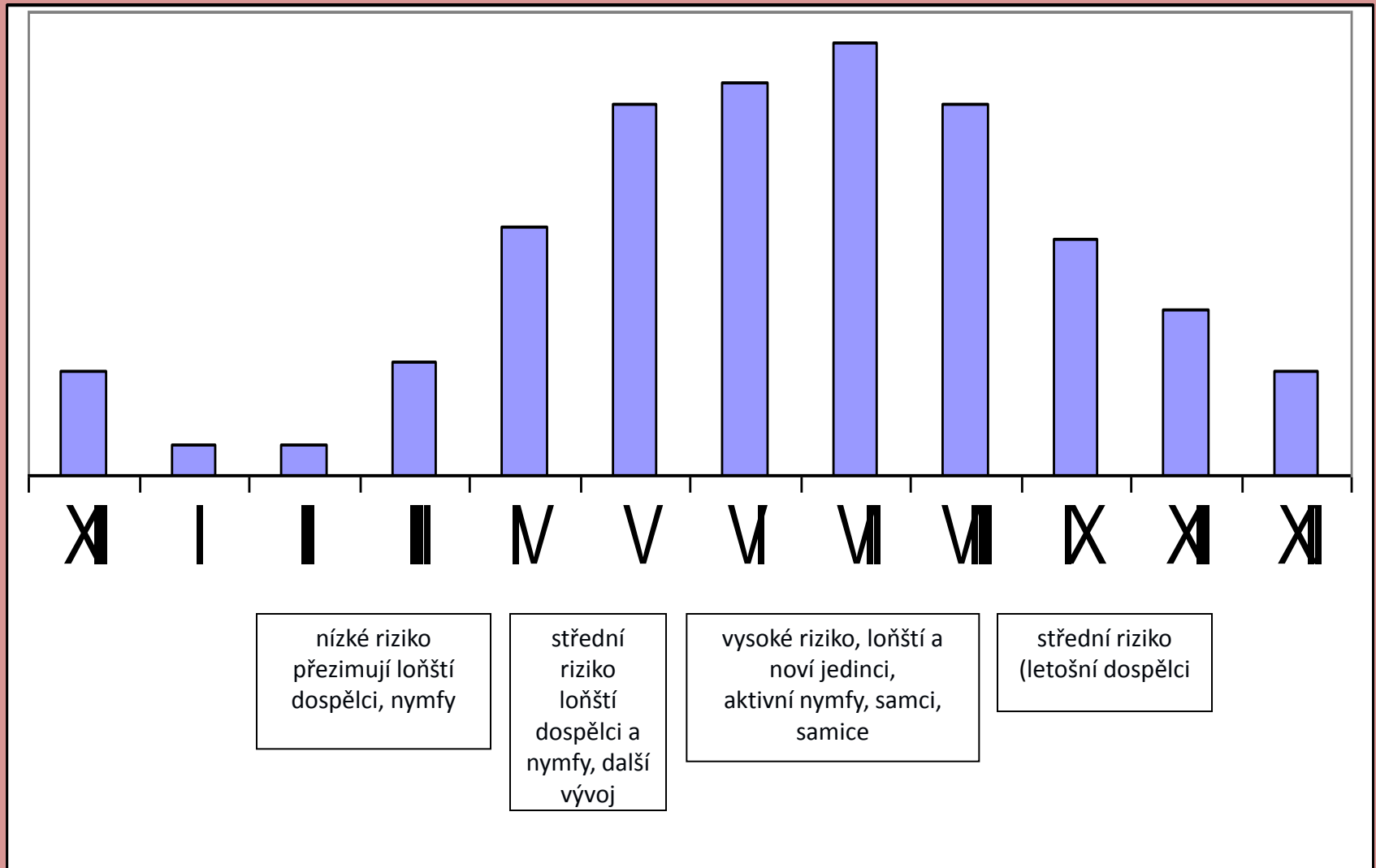
Trojhostitelský vývojový cyklus *Ixodes ricinus*

- velikost hostitelů odpovídá pravděpodobnosti jeho napadení klíštětem

Životní cyklus: vajíčko - larva - nymfa - imago



Míra rizika nákazy z klíštěte v jednotlivých obdobích roku



Čeľad:klíštatovití Ixodidae

Druhy klíštat přenášející choroby na člověka, v ČR i na světě

Druh klíštěte	výskyt	Druh patogena-onemocnění
Ixodes ricinus (kl. ob.)	ČR, Evropa	Virus klíšťové encefalitidy a skupiny Kemerovo, Borrelia b. s.l., Ehrlichia phagocytophila s.l., Coxiella burnetii, Rickettsia slovaca, R. helvetica, Francisella tularensis, Babesia microti
I. hexagonus (kl. ježci)	ČR, Evropa, sev. Afrika	B.b. v Německu
Haemaphysalis concinna (kl. lužní)	ČR, SR	v. klíšťové encefalitidy, Rickettsia sibirica, Francisella tularensis
H. punctata (kl. stepní)	Evropa, sev. Afrika, Př. Asie, jižní a jihov. SR	v. klíšťové encefalitidy, Bhandža a Tribeč
H. inermis (kl. lesostepní)	jižní, jihov. SR, jihovýchod Evropy	v. CEE, na člověku vzácně samice
Dermacentor marginatus (piják stepní)	jižní, jihových. SR, Eurasie	člověka napadá zřídka v. CEE, CCHF, Bhandža; Coxiella burnetti, Rickettsia sibirica, R. slovaca, R. conori, Fr. Tularensis
Dermacentor reticulatus (piják lužní)	ČR Dyje, Morava, Eurasie	Na člověka vzácně. Viry CEE, OHF, Rickettsia sibirica, R. conori, Francisella tularensis

Druh klíštěte	výskyt	Druh patogena-onemocnění
Dermacentor marginatus (piják stepní)	jižní, jihových. SR, Eurasie	člověka napadá zřídka v. CEE, CCHF, Bhandža; Coxiella burnetti, Rickettsia sibirica, R. slovaca, R. conori, Fr. Tularensis
Dermacentor reticulatus (piják lužní)	ČR Dyje, Morava, Eurazie	Na člověka vzácně. Viry CEE, OHF, Rickettsia sibirica, R. conori, Francisella tularensis
Hyalomma marginatum	Eurázie, do stř. Evropy vzácně s ptáky	Napadá i člověka. Viry CCHF, Bhandža, West Nile, Dhori, přenáší krevní parazity domácích zvířat- Babesia, Nuttallia
Rhipicephalus sanguineus	J. Evropa, do ČR na psech z Mediteránu	Coxiella burnetii, Rickettsia conorii, přenáší krevní parazity Babesia, Nuttallia
I. scapularis, I. pacificus	S. Amerika	B. Burgdorferi s.l.
I. persulcatus, I. scapularis	Asie	B. Burgdorferi s.l.
I. holocyclus	Austrálie	B. Burgdorferi s.l.

Čeď: *Klíšťákovití Argasidae*

Životní cyklus: vajíčko-larva, N1-N3 (N5)-imago

- Ústní ústrojí u dospělců na spodní straně těla
- Hřbetní štít chybí, integument **měkký-soft ticks**
- Velký počet instarů nymf
- Noční, žijí ve škvírách stěn a podlahách lidských obydlí, v kurnících, holubnicích, v přírodě v norách savců, v hnízdech ptáků
- Sají krátkodobě (minutu až pár hodin)
- Vydrží hladovět i několik let
- Patogeny přenáší kromě slinami i koxální tekutinou z koxálních žláz



ornithodoros



Argas reflexus

Druhy klíšťáků přenášející choroby na člověka v ČR i na světě

Druh klíšťáka	výskyt	Druh patogena-onemocnění
Argas vulgaris (kl. ob.)	Zasahuje na Moravu, Slovensko, jižní Eurázie	Parazitem ptáků, může sát i na člověku. <i>Coxiella burnetii</i>
A. reflexus hexagonus (kl. holubí)	ČR, Evropa	Parazitem ptáků, na člověku jen výjimečně. Patogeny drůbeže
A. persicus (kl. zhoubný)	Jižní Slovensko, Afrika, j. Eurázie	Napadá drůbež, občas i člověka, Patogeny drůbeže
A. vespertilionis (kl. netopýří)	ČR, Eurázie, Afrika	Parazit netopýřů, člověka výjimečně. <i>Coxiella burnetii</i> , virus <i>keterah</i>
Rod Ornothodoros	Afrika, Eurázie, někteří i Americké kontinenty	Vektory endemických návratných horeček

Některé nemoci přenášené klíšťaty

- Anaplasmozá, **Lidská granulocytární ehrlichiozá (HGE)**
- **Lidská babesiozá**
- **Q horečka**
- **Riketsiozá**
- **Klíšťová encefalitida**
- **Tularémie**
- **Lymeská borreliózá**
- **Bartonellozá**

Anaplasmósa - Lidská granulocytární ehrlichioza (HGA, HGE)

- Způsobuje bakterie *Anaplasma phagocytophylum* (2001)(dříve *Ehrlichia phagocytophila*, *E. equi*)
- Infikuje granulocyty (jako cytopl. inkluze u NEU – snížení počtu, úbytek TRO)
- Poprvé byla popsána v r. 1994 (USA)
- Přenášena je opět klíšťaty, v Severní Americe *Ixodes scapularis* a v Evropě *Ixodes ricinus* (1995)
- Rezervoárovými hostiteli jsou drobní savci a lesní zvěř, koně a zřejmě i ptáci
- První potíže vznikají zhruba za týden po přisátí klíštěte
- *Ehrlichia chaffeensis*
 - původce lidské monocytární ehrlichiozy (HME)

Anaplasmosa

Nespecifické chřipkové projevy, příznakem jsou vysoké teploty.

Zimnice, bolesti hlavy, malátnost

Onemocnění trvá zpravidla několik týdnů a spontánně neustupuje. Po nasazení příslušného antibiotika dochází k rychlému ústupu horeček.

Rozvíjí nevolnost, bolest svalů a kloubů, ztuhlost, možná i vyrážka, nejčastěji na rukou, nohou a obličeji

Zhruba musí být hospipolovina pacientů talizována. Průběh nemoci bývá těžší u starších a imunodeficitních osob

Smrt nastává zřídka, a to v případě nezahájení včasné léčby či současných nálezů sekundárních infekcí

průjem, zmatenost a lymfadenopatie

Lidská babesióza

Prvoci (*Babesia microti*, *B. divergens*)

Inkubační doba je různá – od 1 do 4 týdnů.



Prvok Babesie

Babesióza je parazitární onemocnění

Projevuje syndromy podobnými malárii v různě intenzivních stupních, avšak bez periodicity

Pro začátek nemoci je charakteristická horečka, zimnice, silné pocení, bolest hlavy a celková bolest svalů

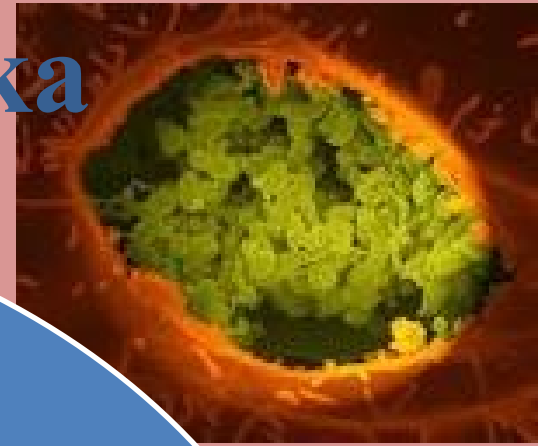
Onemocnění může trvat několik týdnů až měsíců

Později se objevují další symptomy zahrnující bolest kloubů, nevolnost, zvracení a vyčerpání

Q horečka



Je způsobená bakterií
Coxiella burnetii

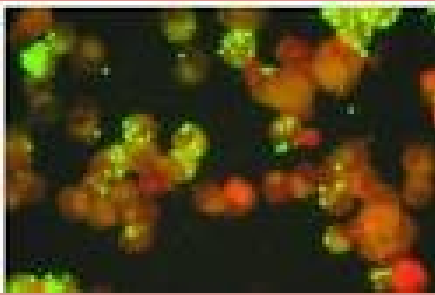


Jako hostitelé
vystupují divoká a
domácí zvířata
(kočky, dobytek,
ovce, kozy atd)

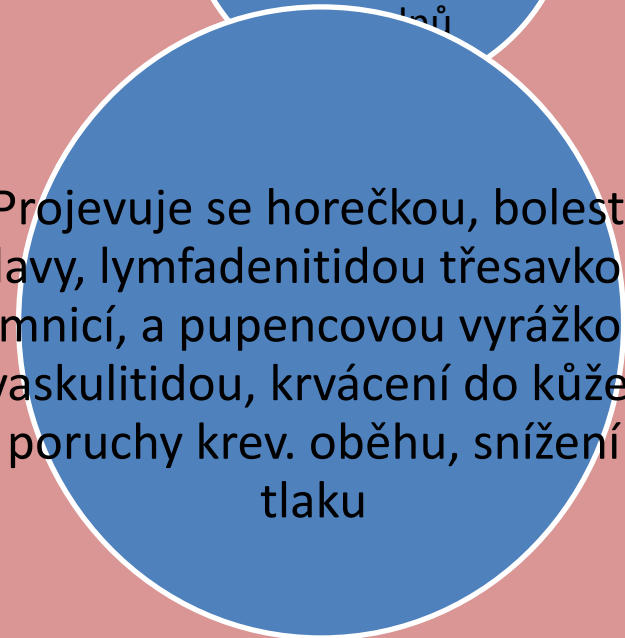
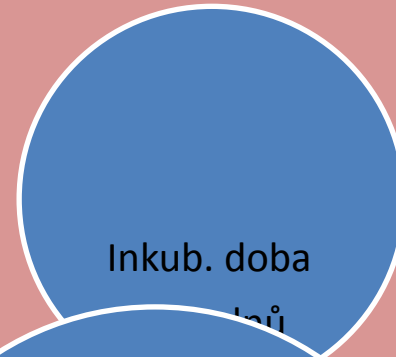
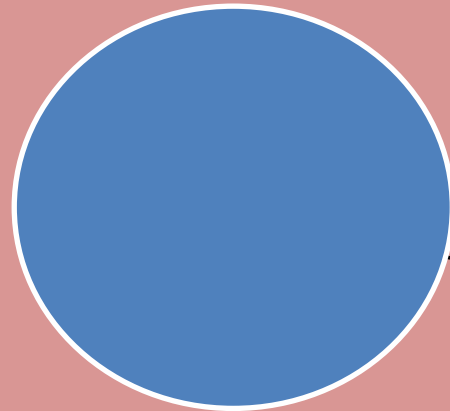
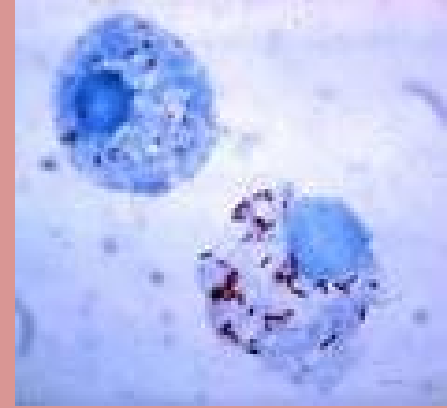
ve fázi I se nachází v
kyselých fagolysosomech
eukaryotických buněk

Je těžké ji
diagnostikovat

Vyznačuje se nespecifickými
potížemi, pneumonií,
hepatitidou, horečkami,
zimnicemi, únavou, myalgií,
pocením, kašlem, bolestí
hlavy, myokarditidou,
meningoencefalitidou, může
vést ke vzniku chronického
únavového syndromu



Riketsióza



Inkub. doba

Inkub. doba

**Severoazijský
klíšťový tyfus**

Projevuje se horečkou, bolestí hlavy, lymfadenitidou třesavkou, zimnicí, a pupencovou vyrážkou, vaskulitidou, krvácení do kůže, poruchy krev. oběhu, snížení tlaku

Tularémie



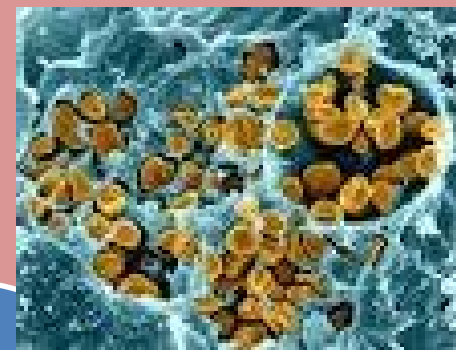
Halum Reviews | Microbiology

trvají týdny, vzniká lymfadenopatie, konjunktivitida, zánět hltanu, mandlí, břišní typ se zvracením, bolestí břicha a průjmy, pneumonie, nachází se v aerosolu, smrt v 1/3 neléčených případů

V místě vpichu nakaženého klíštěte vznikají léze a nastává zvětšení uzlin

Způsobuje ji bakterie ***Francisella tularensis***, velmi stabilní, živa týdny ve vodě, v blátě a půdě a roky i ve zmrzlém mase, **vysoce infekční, 10min při 56C stačí k usmrcení**

Inkubační doba 3-5dnů



Projevuje se horečkou, zimnicí, kašlem, myalgii, zvracením, počáteční příznaky vymizí po 4 dnech pak se znovuobjeví po 1-3 dnech a

Klíšťová encefalitida

Je způsobená **Flaviry**
skupiny klíšťové
encefalitidy (CEE atd)

Klid,
kortikosteroidy,
antibiotika

Postižení šedé kůry
mozku, záněty
bazálních ganglií,
mozkové kůry

Reservoár-
hlodavci, vzácně
pitím syrového
mléka koz, krav

Inkub. doba 7-14
dnů

Bartonelloza (Bacilární pelióza a bacilární angiomatóza)



Vzácněji diagnostikované bakteriální onemocnění přenášené i blechami především z koček a psů vyvolává ***Bartonella henselae*** způsobující onemocnění především u oslabených pacientů

Způsobuje proliferaci endotelových buněk. Nemoc postihuje většinou chovatele koček, osoby imunodeficitní, pacienty s jiným vážným onemocněním, nebo skupiny osob žijící ve špatných hygienických podmínkách (bezdomovci, alkoholici a některá etnika)

Lymeská borrelióza

Příznaky, diagnostika, léčba

Lymeská borelióza

- Závažné onemocnění způsobené *Borrelia burgdorferi*
 - Vyvolává poruchy řady orgánů
- Ohnisková nákaza
- Výskyt téměř na celém světě
- V USA oznámeno od 1982-1996 100.000 případů
- v 1996 více než 16.000 případů
- v Evropě každoročně 50.000 případů
- V ČR každoročně kolem 3500 případů

Borrelia burgdorferi sensu lato

16 definovaných příbuzných druhů „genomic groups“

Borrelia afzelii

Borrelia andersonii

Borrelia bissettii

Borrelia burgdorferi

(*sensu stricto*)

Borrelia garinii

Borrelia japonica

Borrelia lusitaniae

Borrelia sinica

Borrelia tanukii

Borrelia turdi

Borrelia valaisiana

Borrelia sinica *Borrelia*

burgdorferi - genomospecies 1
(Postic et al. 2006)

Borrelia burgdorferi -
genomospecies 2 (Postic et al.
2006)

Borrelia californinensis

Borrelia carolinensis

B. afzelii + *B. garinii* + *B. burgdorferi sensu stricto*

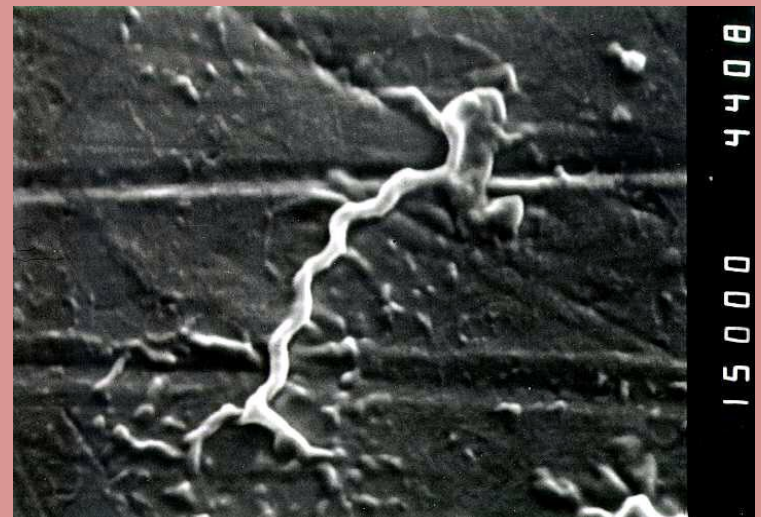
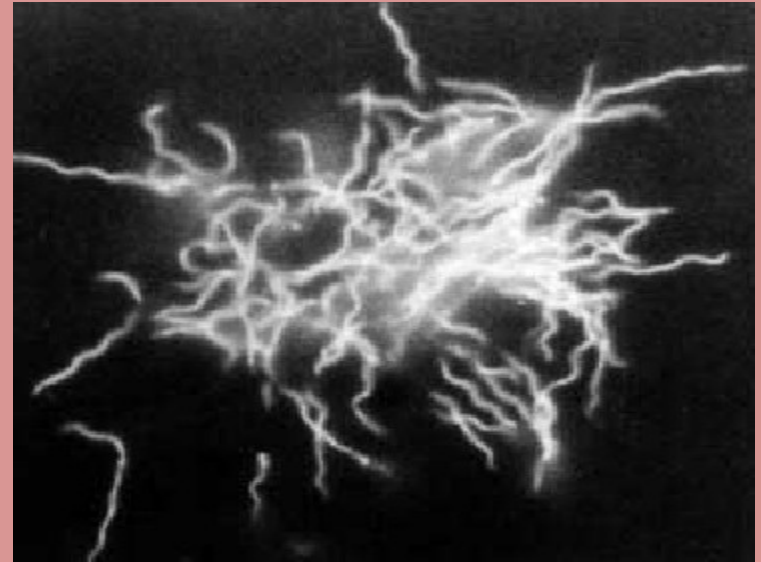
- druhy patogenní pro člověka v ČR

- společný termín: *Borrelia burgdorferi sensu lato*

Jednotlivé kmeny *B. bg.* sensu lato se vzájemně liší fenotypem i genotypem, geografickým rozšířením, vektory a hostiteli

Borrelia burgdorferi

- gramnegativní bakterie
- Spirálovitá se 3 - 10 závitů a 7-11 periplazmatickými bičíky
- pohyb rotací kolem podélné osy nebo smršťováním a natahováním
- délka:
10 – 30 μm
- průměr:
0,2 – 0,5 μm



Přenašeči

- Klíště *Ixodes sp.*
- Krevsající hmyz ?
- Nálezy borrelií v komárech
- Případy pacientů poštipaných hmyzem s následnou LB

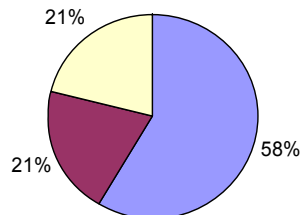


Culex (C.) pipiens s.l.

<http://www.gardensafari.net/first/mosquitoes.htm>

Zdroj nákazy LB v Jihomoravském kraji v letech 2000 – 2003

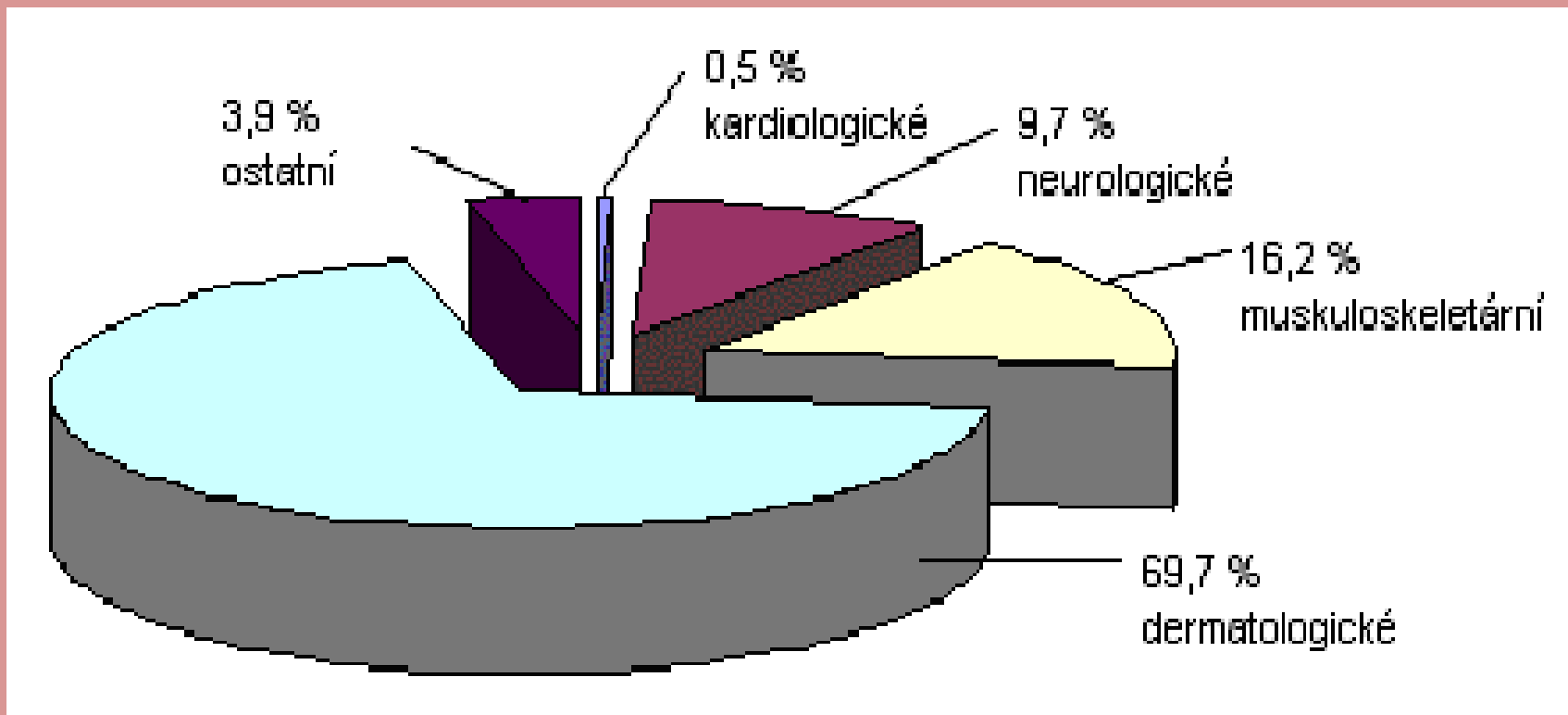
Možný zdroj infekce LB



SZÚ

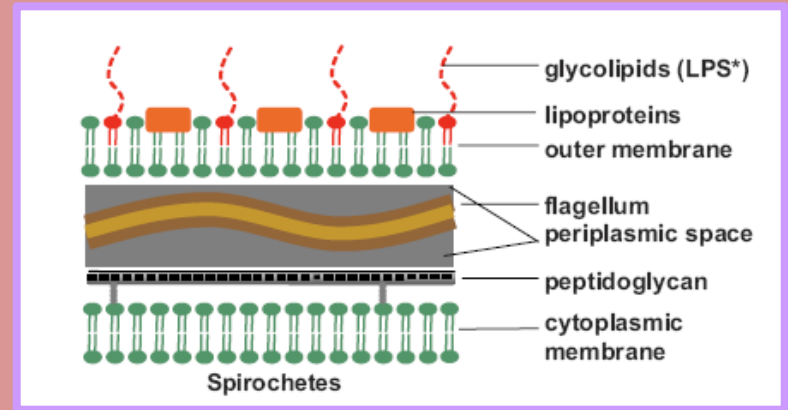
Klinický obraz Lymeské Borreliózy

- I. Časné lokalizované stadium
- II. Časné diseminované stadium
- III. Pozdní generalizované stadium

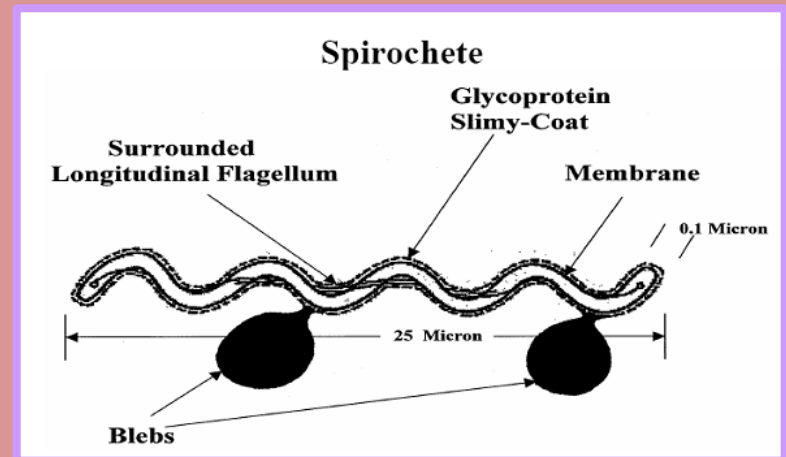


Patogenita spirochet

- **Závažná onemocnění**
- **Schopnost aktivního pohybu (flagella)**
- **Změny vnějších membránových proteinů (OMPs)**
- **Charakteristická membránová struktura**
- **Tvorba gemmae, blebs, L-form a cystických forem**



Obr.3

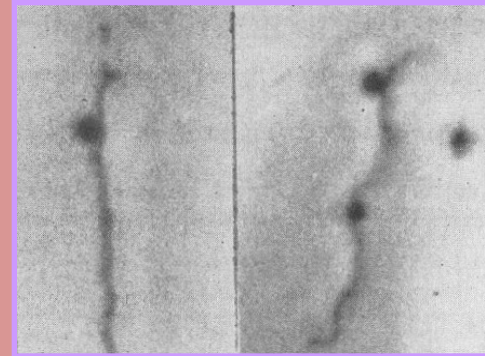
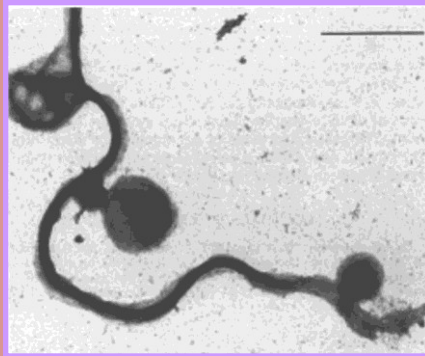
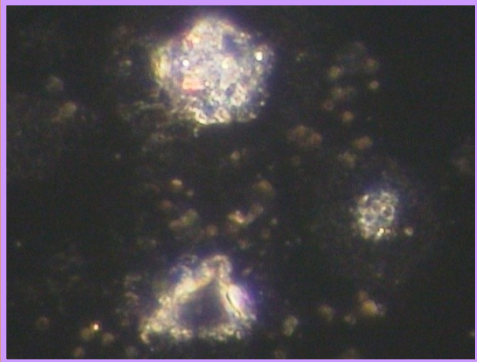


Obr.2

Charakterizace

- Přežití v nepříznivých podmínkách

Cysty, Blebs, Gemmae, L-formy



- schopnost přeměnit se v pohyblivou formu
- nachází se v nich geny z plazmidů
- diskoidní tvar všechna DNA

Únik při léčbě

Cystické formy

Změny antigenních vlastností

Rezistence k antibiotikům

Tropismus ke tkáním

Výměna plazmidů

Časné lokalizované stádium

- Dny až týdny od vniknutí borrelií
- Mikroorganismy se množí v pokožce
- Projevy
 - Nejtypičtější – erytema migrans

Příznaky časného lokalizovaného stádia

- Bolesti hlavy, za zátýlkem, ztuhnutí šíje
- Lehké podráždění mozkových plen
- Zvýšená teplota
- Velká únava
- Nechutenství, zažívací potíže
- Bolesti svalů, kloubů a vazů

Časné diseminované stádium

- Týdny až jeden rok po nákaze
- Pomnožení borrelií
- Rozšíření krví po celém organismu
- Usazení do různých orgánů
 - Mozková tkáň
 - Myokard
 - Játra