

Biologie parazitických členovců

Adaptace střevních a tkáňových parazitů

Invaze parazita a jeho únik imunitním mechanismům hostitele,
funkční morfologie a enzymové vybavení parazitů.
Rezistence hostitelů k ektoparazitům a interakce ektoparazitů s imunitním systémem obratlovců.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



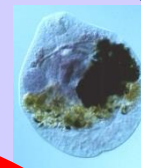
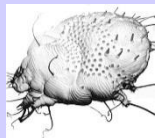
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Obrana hostitele



Obrana hostitele

selektivní vyhledávání (opouštění) hnízda



starostlivost („grooming“, čistění srsti)

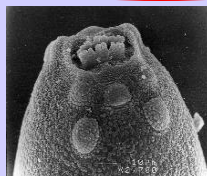


imunita

hemostáze

selektivní vyhledávání
potravy

využití -cidních látek z rostlin, hmyzu, ...







ktenidie



Rezistence a tolerance

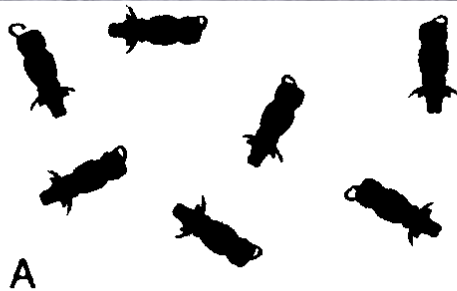
- ❖ rezistence – schopnost hostitele zabránit infekci nebo množení parazita v organismu hostitele
- ❖ tolerance – schopnost tolerovat infekci a množení parazita – minimalizovat vliv parazita na biologickou zdatnost hostitele

Řízení hostitele parazitovi

- ❑ behaviorální = naučené i vrozené vzorce chování (vyhýbání se místům se zvýšeným výskytem parazitů a vektorů; obrana proti invazi parazitů a vektorů; odstraňování vektorů - např. impaly se zacementovanými mezerami mezi zuby na jedné straně čelistí měly na příslušné straně 10x více ektoparazitů
- ❑ fyziologické – indukce obraných látek, imunita
- ❑ genetické – rozšíření či dokonce fixace genů pro rezistenci (toleranci)



obrana pasoucího se dobytka před ovády



A



B



C



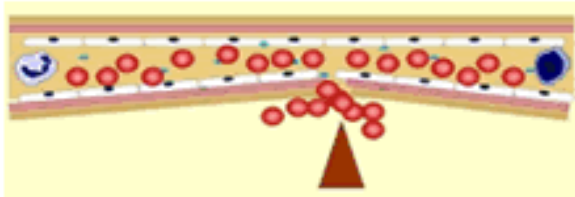
Při sání se spouštějí tři obranné procesy hostitele:

✓ **hemostáze**

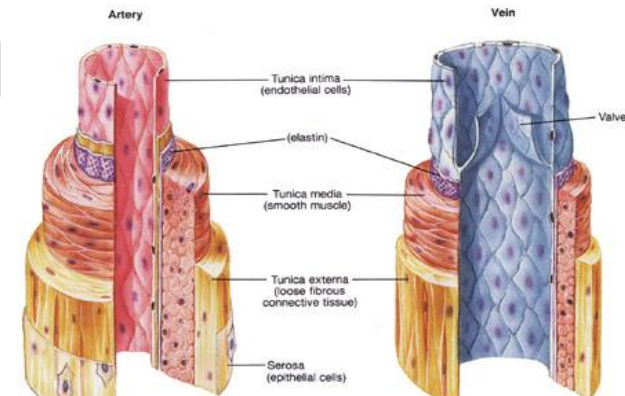
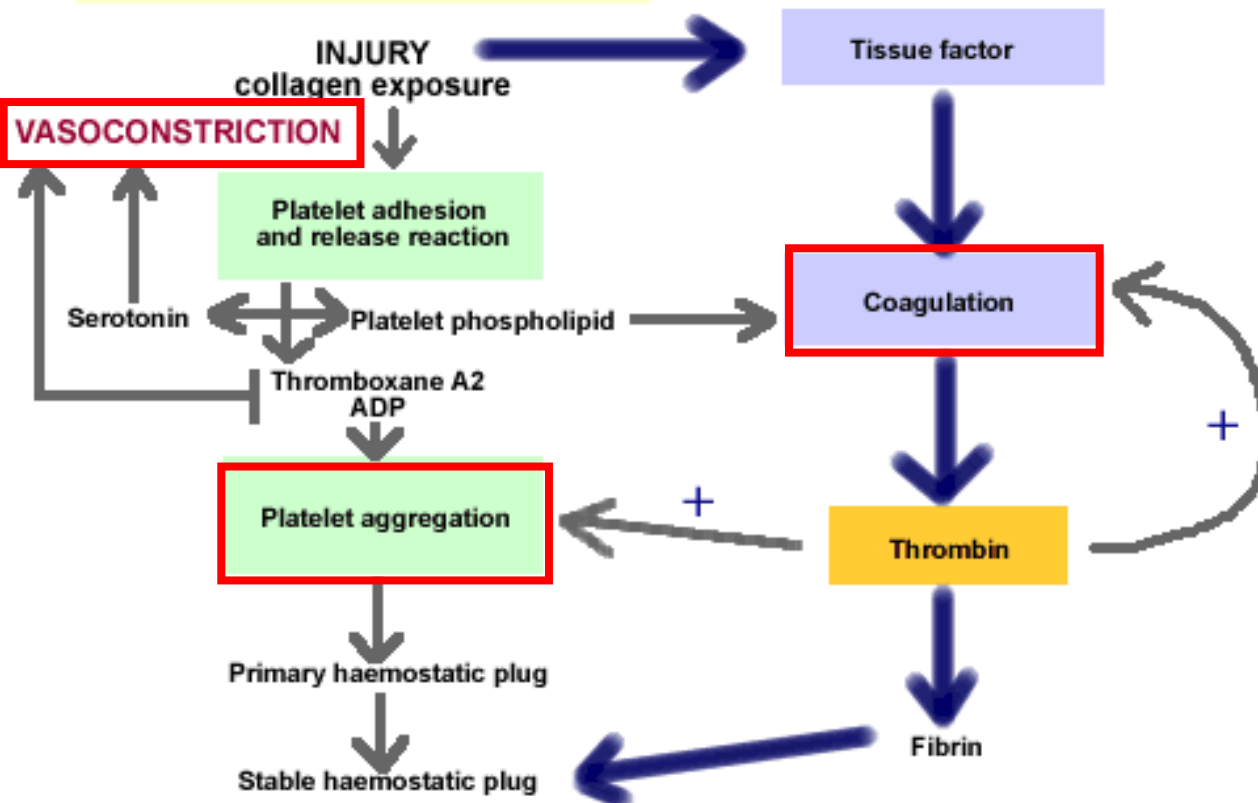
✓ **zánět**

✓ **koagulace**

- dochází k vazokonstrikci a tvorbě provizorního, labilního destičkového trombu
- poškození cévní stěny a uvolnění kolagenu má za následek uvolnění **ADP** ⇒ **adheze** destiček k cévní stěně za spoluúčasti **von Willebrandova faktoru**
- z fosfolipidů membrány trombocytů je následně uvolněna kyselina arachidonová ⇒ tvorba **tromboxanu A2** ⇒ trombocytární **agregace** a další vazokonstrikce
- z endoteliálních buněk je současně uvolněn **prostacyklin**, který naproti tomu agregaci brzdí a způsobuje vazodilataci



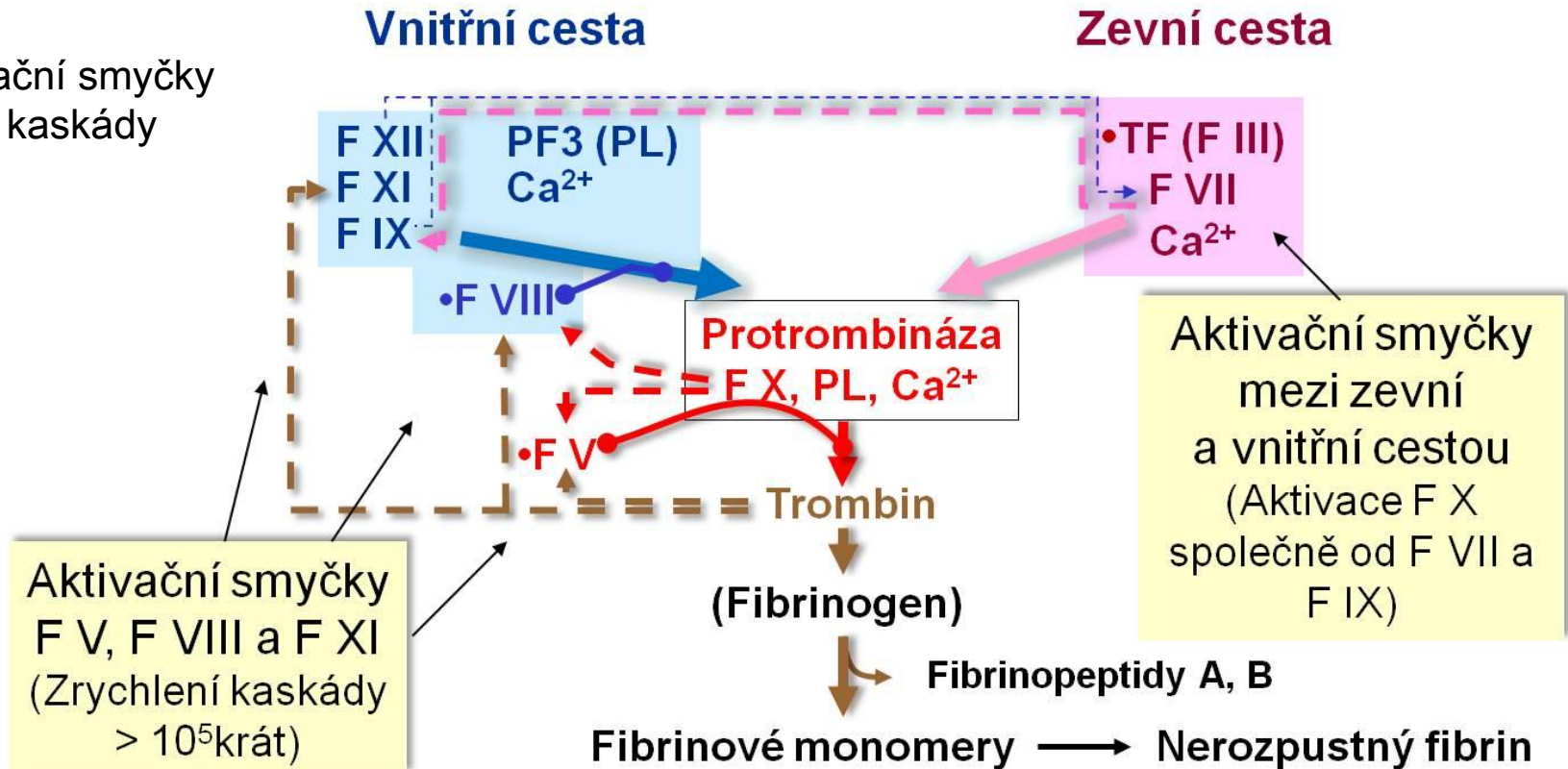
Primární hemostáze (1. fáze hemostázy)



Koagulace – sekundární hemostáze (2. fáze hemostázy)

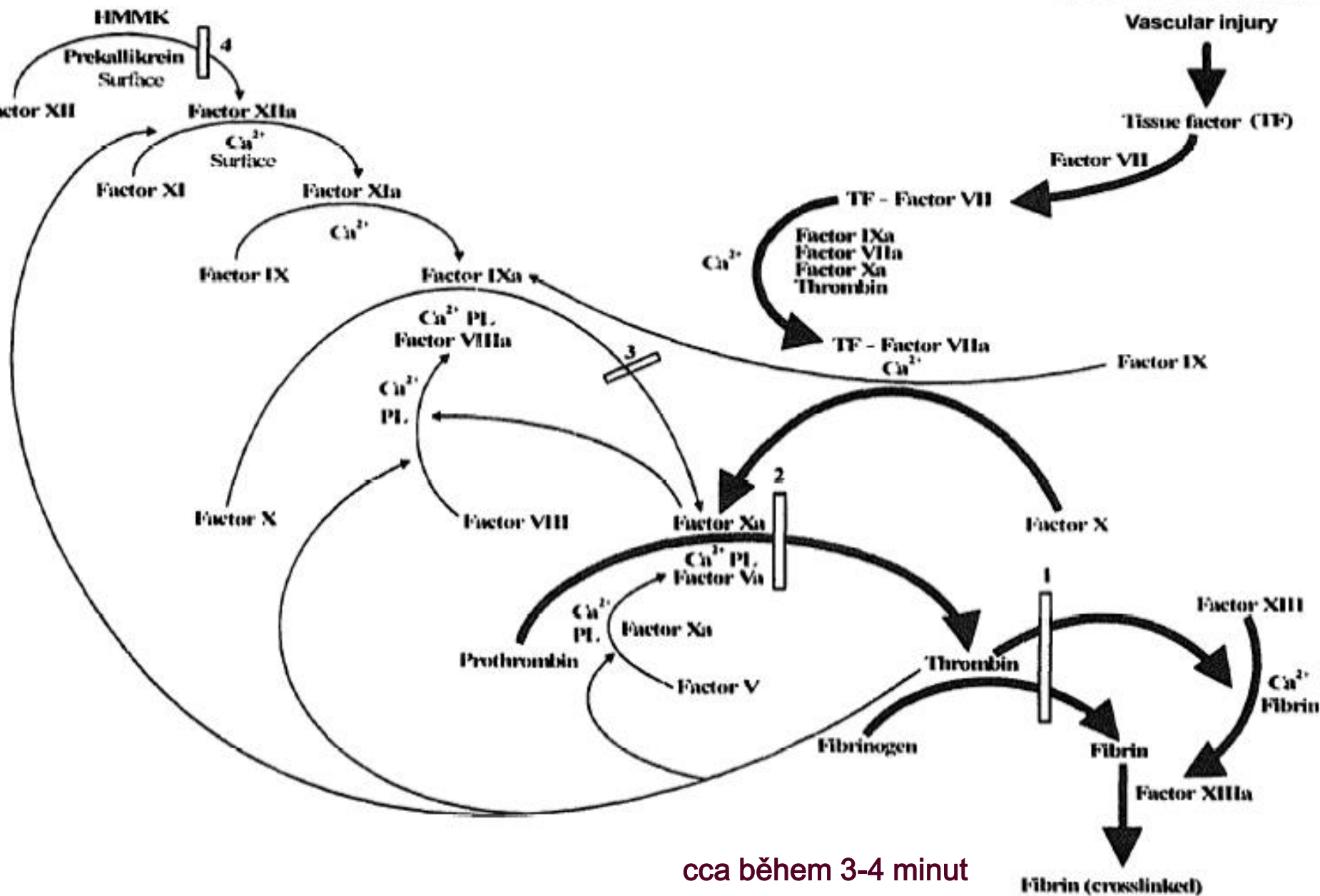
- hemokoagulace navazuje na první, cévní fázi hemostázy
- vede k tvorbě **stabilní krevní sraženiny**
- základní schéma koagulace má podobu kaskády sestavené do podoby Y
- samotné srážení krve pak probíhá ve třech fázích:
 1. tvorba protrombinového aktivátoru
 2. tvorba trombinu
 3. tvorba fibrinu

Obr.: Aktivační smyčky koagulační kaskády



Intrinsic pathway

Extrinsic pathway

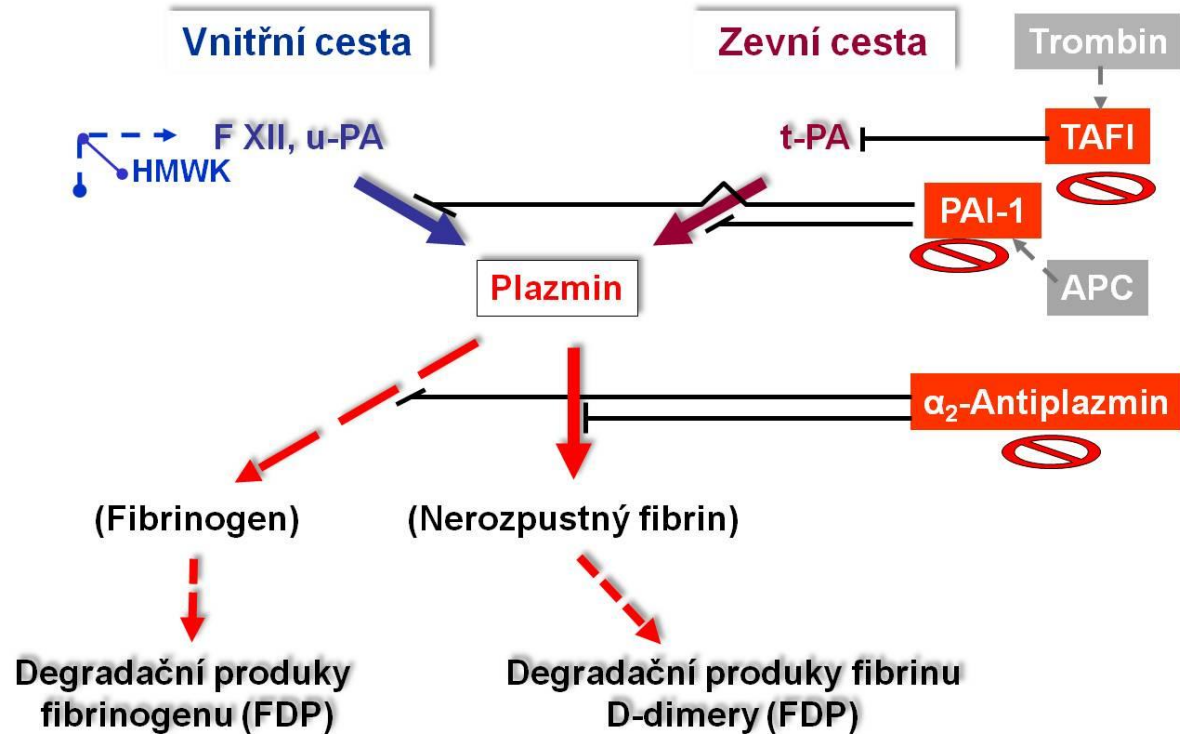


Koagulační kaskáda obsahuje:

- ✓ 6 koagulačních faktorů s proteolytickou enzymovou aktivitou (faktory XII, XI, IX, VII, X a II)
- ✓ 3 kofaktory s vazebnou a aktivační úlohou bez proteolytické funkce (tkáňový faktor, faktory VIII a V)
- ✓ posledním článkem je fibrinogen/fibrin
- ✓ faktor XIII se speciální katalytickou funkcí - zabezpečuje tvorbu nerozpustné fibrinové sítě

- ❑ po přirozený proces koagulace je rozhodující aktivace **zevní cesty** (extravaskulární) ⇒ **kontakt krve s tkáňovým faktorem** (TF = tkáňový tromboplastin, trombokináza, faktor III; v hlubších vrstvách cévní stěny) ⇒ po poškození endotelu dojde k jeho obnažení a aktivuje faktor VII ⇒ komplex TF-VII aktivuje faktory IX a X
- ❑ všechny další stupně až po tvorbu trombinu se pak odehrávají na povrchu negativně nabitých fosfolipidových membrán (PL), které k tomuto účelu poskytují aktivované trombocyty
- ❑ faktor IX se tradičně řadí k **vnitřní cestě** (intravaskulární) ⇒ **kontakt krve s negativně nabitým smáčivým povrchem (např. obnažená kolagenní vlákna)** = kontaktní aktivace faktoru XII po styku s negativně nabitým povrchem fosfolipidových membrán (PL)
- ❑ aktivovaný faktor XII aktivuje faktor XI a ten zase aktivuje faktor IX (aktivace tak probíhá jak vnější tak vnitřní cestou, aktivace vnitřní cestou je však mnohem slabší a méně významná)
- ❑ faktor IX poté přibírá svůj kofaktor, faktor VIII (není enzymově aktivní) ⇒ aktivovaný komplex faktor IX-VIII (tzv. tenáza) napomáhá komplexu TF- faktor VII v aktivaci faktoru X
- ❑ **obě cesty se spojují při aktivaci faktoru X ⇒ aktivovaný faktor X vytvoří komplex se svým kofaktorem (faktorem V) ⇒ komplex X-V je znám pod názvem protrombináza**
- ❑ **protrombináza proteolyticky mění protrombin** (faktor II) **na aktivní trombin**, který aktivuje pozitivní zpětně vazební smyčkou další molekuly kofaktorů VIII a V, a tak posiluje tvorbu protrombinázy
- ❑ faktory VII, IX a X jsou spolu s trombinem vitamin K-dependentní faktory
- ❑ kofaktory V a VIII jsou cílem působení přirozených inhibitorů koagulace – proteinu C a proteinu S, které rovněž jsou K-dependentní
- ❑ **vitamin K působí jako koenzym** (zajišťuje unikátní postranlační karboxylaci vedlejšího řetězce kyseliny glutamové v cílových polypeptidových řetězcích; výsledkem je přítomnost kyseliny γ-karboxyglutamové v cílových proteinech)

Fibrinolýza (3. fáze hemostázy)



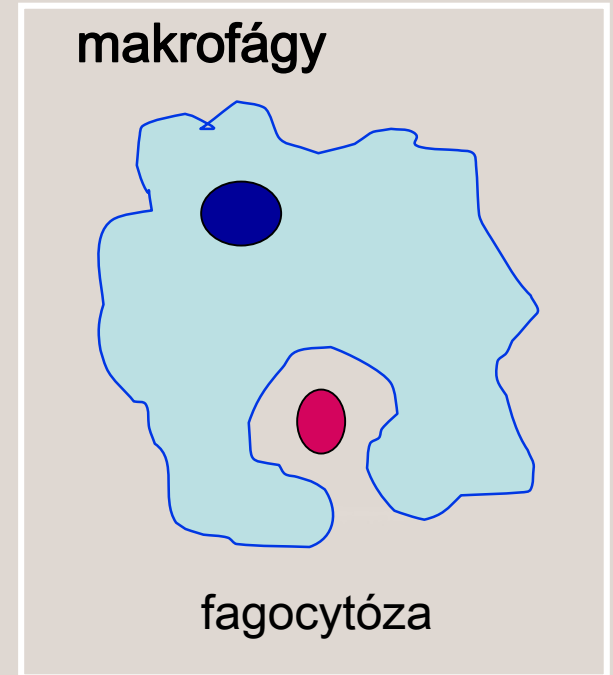
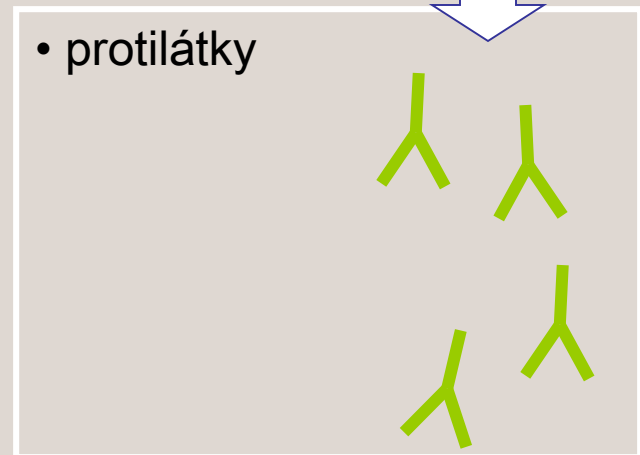
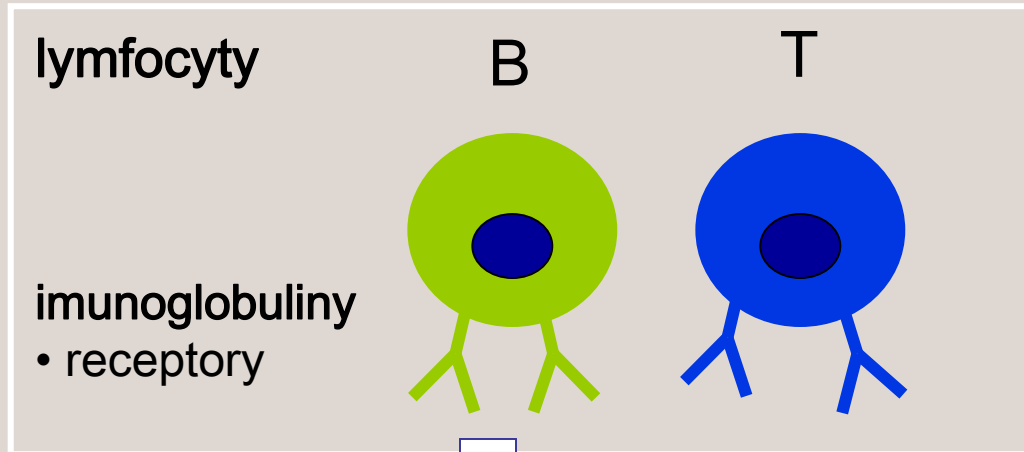
Degradace (dissoluce) fibrinu plazminem – fibrinolýza probíhá ve třech fázích:

1. tvorba aktivátorů plazminogenu
2. tvorba plazminu
3. vlastní fibrinolýza

- v cévním řečišti probíhá trvale vytváření malých množství fibrinu, který je současně stále odstraňován fibrinolytickým procesem \Rightarrow rovnováha hemokoagulačního systému za normálních okolností
- endotelové buňky syntetizují jak tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA), tak jeho inhibitor (PAI-1)
- fyziologickými inhibitory fibrinolýzy jsou α_2 -antiplazmin, inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI) a trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy (TAFI)

Imunita obratlovců

- ❖ vrozená vs. získaná imunita
- ❖ buněčná vs. protilátková
- ❖ komplement (anafylatoxiny)



Komplement
kaskáda enzymů

MHC
(major histocompatibility complex)

Nespecifická (vrozená) imunita

- evolučně starší, u všech mnohobuněčných
- rychle reagující – buňky připraveny předem, umožňuje první linii obrany vůči infekci a slouží jako stále „ostrážitý“ strážce v případě náhlého napadení těla
- buněčná (fagocytická aktivita a oxidativní vzplanutí, cytotoxicita NK buněk, programovaná buněčná smrt) i protilátková (humorální) imunita zahrnující komplement – lyze buněk, opsonizace parazita, interferon a antimikrobiální peptidy
- rozpoznává cizí/vlastní jen letmo (nerozlišuje mezi antigeny)
- reakce na struktury/funkční rysy, které jsou patogenům společné – stejná účinnost proti různým patogenům
- opakované setkání – stejná reakce → chybí buněčná paměť

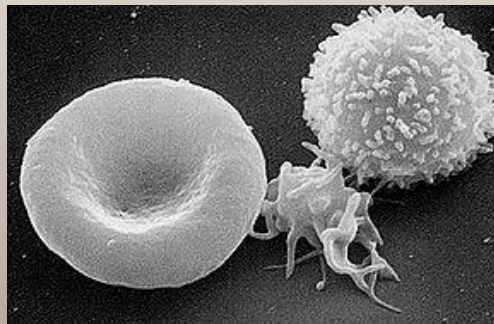
Specifická (získaná, adaptivní) imunita

- evolučně mladší, obratlovci
- nástup po určité době přetrvávání cizích látek v organismu – pokud nejsou odstraněny nespecifickým mechanismem
- zajišťují ji hlavně lymfocyty T a B; specificky rozlišuje odlišnosti v antigenech
- diverzita - pomocí membránových receptorů rozpoznává prakticky všechny antigenní determinanty zevního i vnitřního prostředí
- fyziologicky nereaguje na vlastní
- imunologická paměť

- Fáze:**
1. rozpoznání cizích antigenů – receptory T a B lymfocytů
 2. aktivace lymfocytů
 3. efektorová fáze - eliminace
 4. fáze poklesu počtu buněk
 5. imunologická paměť

Obranné linie:

1. vnější - epiteliální tkáně (kůže a slizniční membrány), které brání volnému styku patogenů s vnitřním prostředím člověka; dále výměšky kůže a slizničních membrán (nespecifická)
2. vnitřní - spouštěna chemickými signály, které lákají leukocyty k místu, kde je tělo napadeno; fagocytární bílé krevní buňky (leukocyty) a antimikrobiální proteiny - bez rozlišení se vážou na patogeny, kteří překonali vnější tělesnou bariéru; výsledkem je zánět (nespecifická)
3. linie spouštěna současně s 2. obrannou linií, odpovídá specifickým způsobem na určité mikroorganismy, nadbytečné buňky těla, toxiny, a další cizí molekuly; lymfocyty a protilátky (specifická)



Buňky zánětlivého exsudátu

Typ buněk

neutrofily

eosinofily

lymfocyty

plasmocyty

makrofágy

žírné buňky

trombocyty

fibroblasty

Hlavní funkce

fagocytóza a ničení bakterií, fibrinolýza

fagocytóza některých imunokomplexů

produkce lymfokinů a protilátek

produkce protilátek

fagocytóza větších částic, začátek imunitní reakce

produkce mediátorů zánětu

mediátory zánětu, trombóza

fibroprodukce, organizace

Typ zánětu

hnisavý

alergický, parazitární

chronický, virový, imunitní

chronický

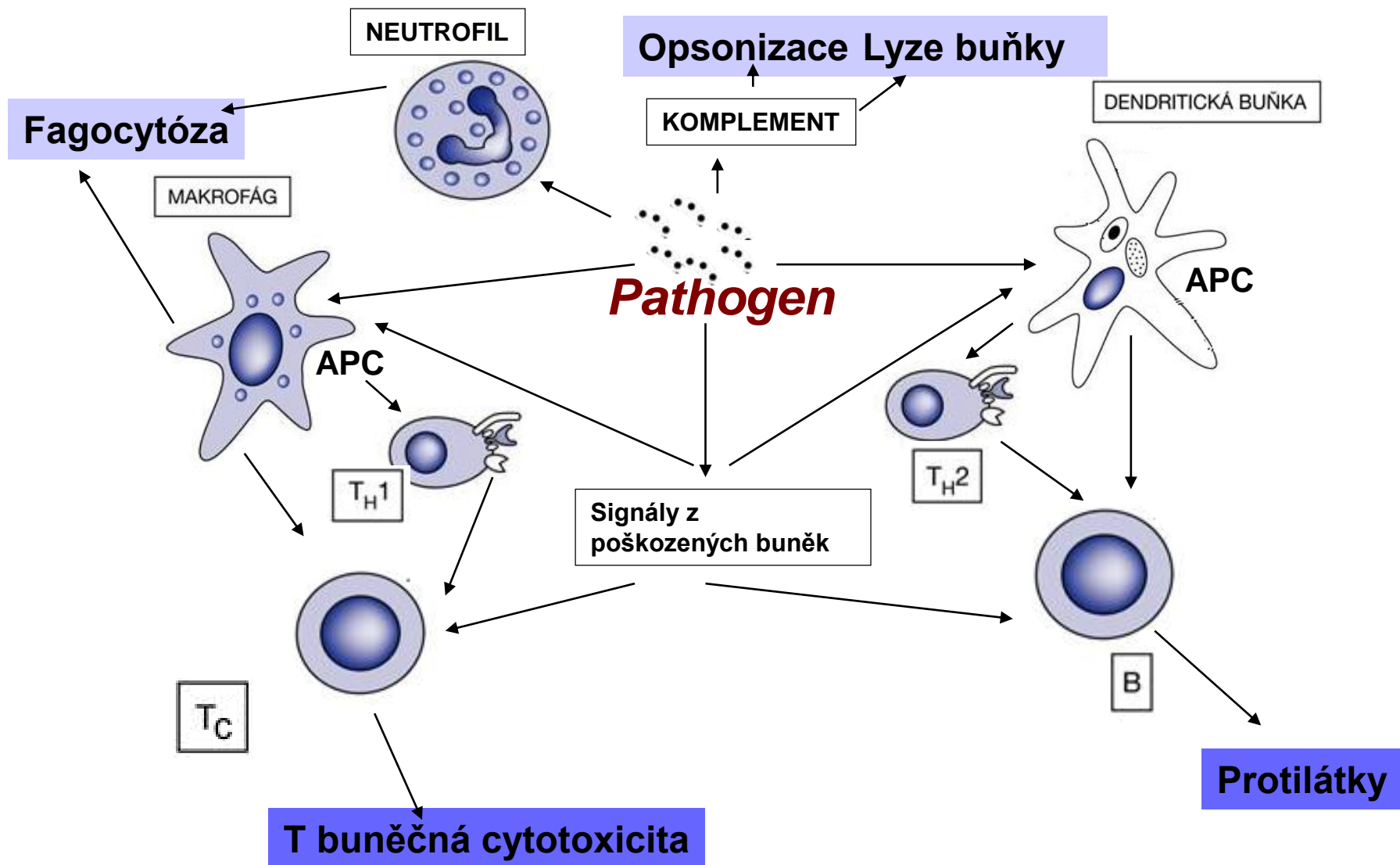
granulomatózní

alergický

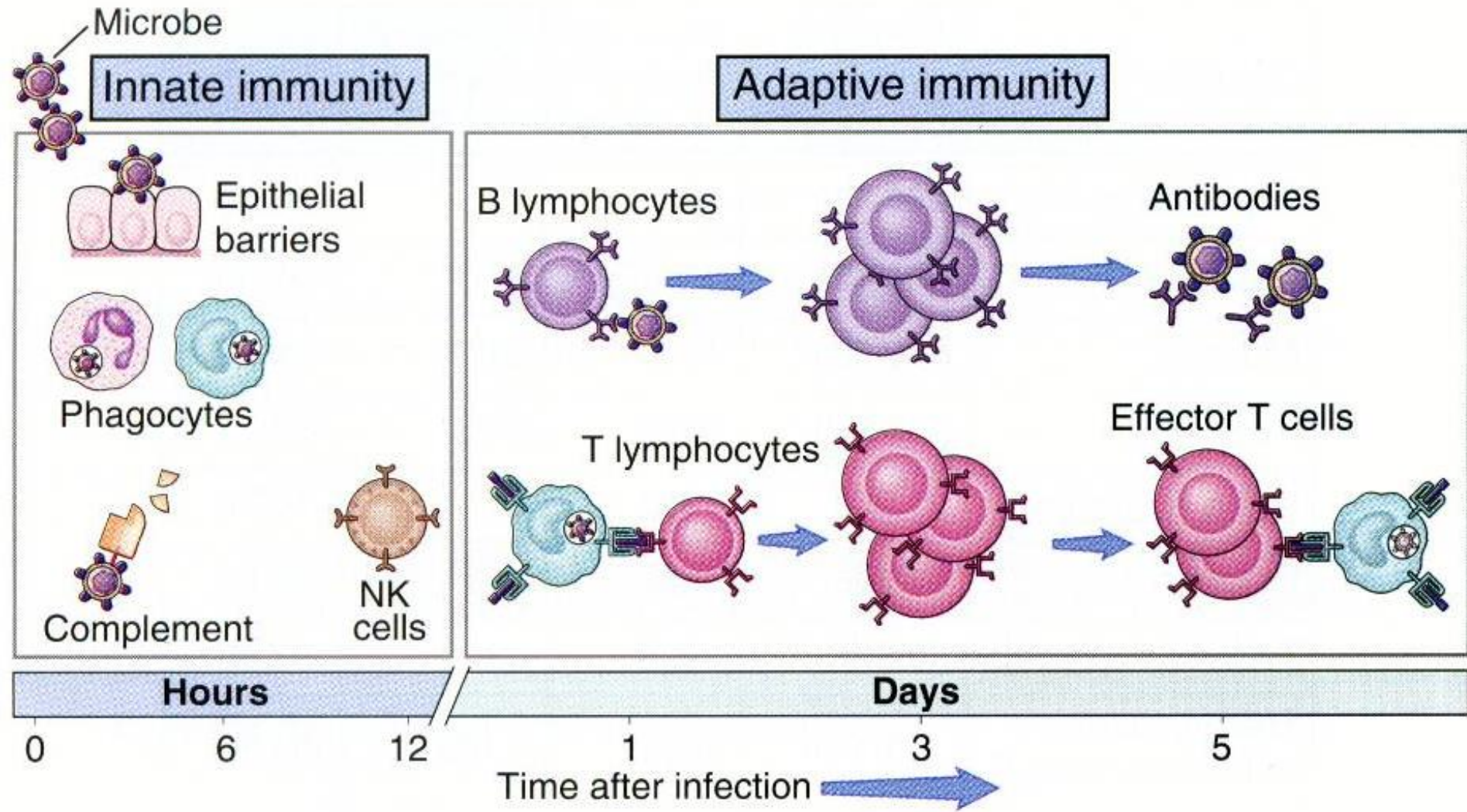
většina

proliferační

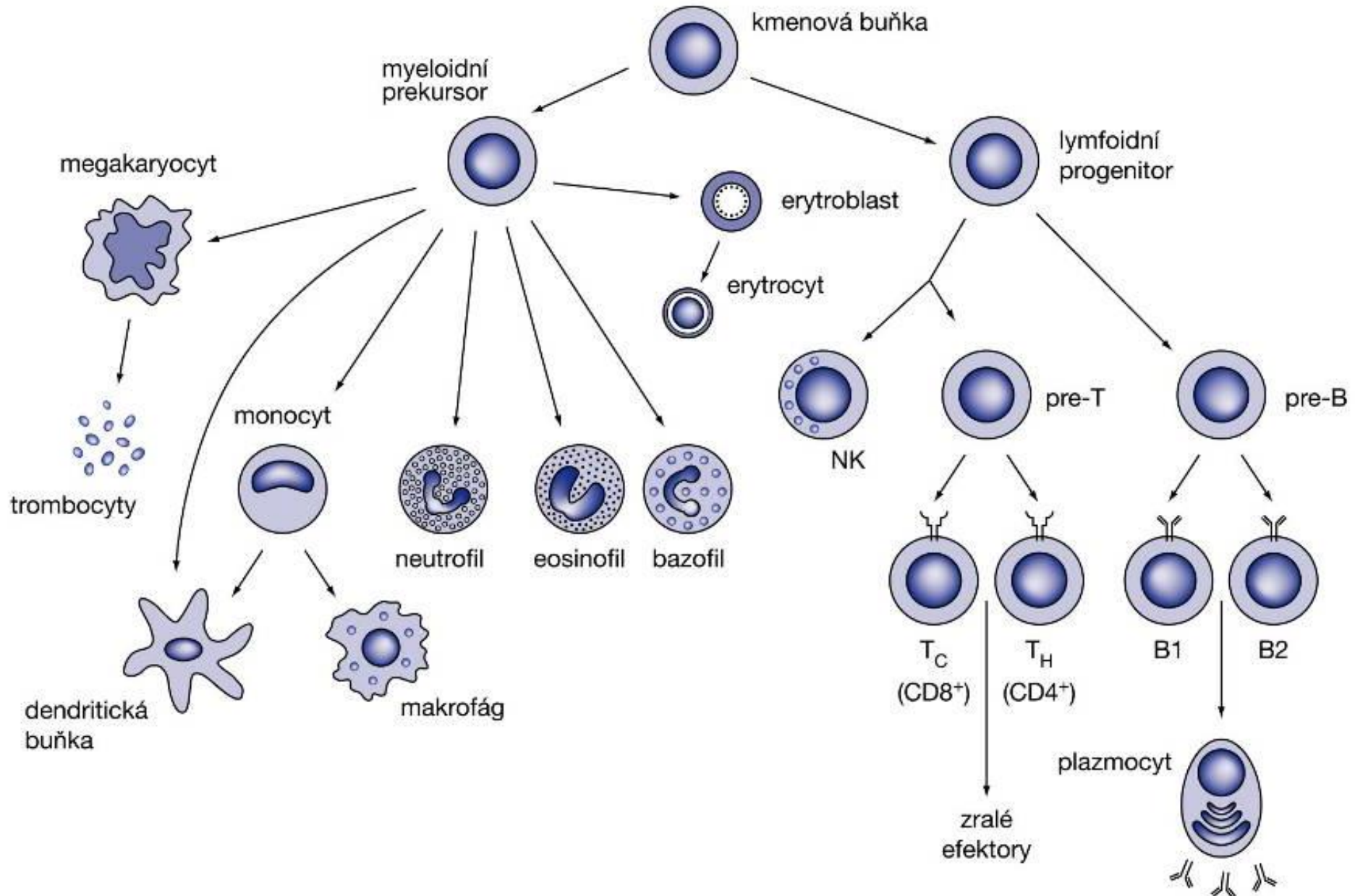
Imunitní systém – obecné schéma reakce





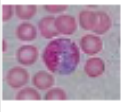

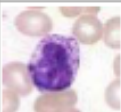








Imunitní systém – souslednost reakce



Buněčná složka imunitního systému obratlovců



Přehled bílých krvinek člověka

Typ	Vzhled	Diagram	Přibliž. % zastoupení u dospělých ^[24]	Průměr (μm) ^[24]	Funkce ^[16]	Typ jádra	Granula ^[16]	Doba života buňky ^[24]
Neutrofil			54–62% ^[25]	10–12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ bakterie ▪ houby 	mnoholaločnaté	jemná, světle růžová pomocí barvení HE	6 hodin (ale déle v slezině a dalších tkáních)
Eosinofil			1–6%	10–12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Paraziti ▪ Alergická reakce 	dvoulaločnaté	růžovočervená pomocí barvení HE	8–12 dní (v oběhu však několik hodin)
Bazofil			<1%	12–15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Alergická reakce 	dvou- či trojlaločnaté	velká modrá	Hodiny až dny ^[26]
Lymfocyt			25–33%	7–8	<ul style="list-style-type: none"> ▪ B-lymfocyt: různé patogeny ▪ T-lymfocyt: <ul style="list-style-type: none"> ▪ CD4+ (pomocné): vystavují peptidy z rozložených patogenních bakterií na MHC II ▪ CD8+ (cytotoxické): virem infikované a nádorové buňky ▪ γδ T-lymfocyty ▪ NK buňka: virem infikované a nádorové buňky 	silně barvitelné, mimo střed buňky	přítomna u NK buněk a CD8+ T buněk	týdny až roky
Monocyt			2–8%	14–17	Migruje z krve do dalších tkání a diferencuje se na makrofágy či dendritické buňky	ledvinovité		hodiny až dny
Makrofág				21 (u člověka) ^[27]	Fagocytóza zbytků buněk a patogenů a stimulace lymfocytů či dalších buněk		žádná	aktivní v řádu dnů nedospělé měsíce i roky
Dendritická buňka				7 ^[28]	Antigen prezentující buňka (APC) aktivuje T-lymfocyty			podobně jako makrofág

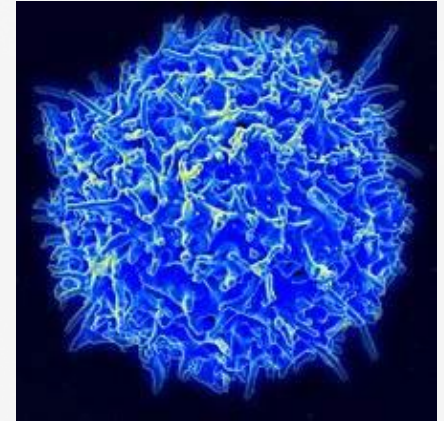
T-lymfocyty

Dva základní druhy T-lymfocytů, rozlišované na základě CD markerů na povrchu:

TH lymfocyt – pomocný T-lymfocyt, který cytokiny stimuluje imunitní reakci

TC lymfocyt – cytotoxický T-lymfocyt, ničí buňky napadené viry či parazity a nádorové buňky

Oba typy se mohou po proběhnutí primární imunitní odpovědi uchovávat v těle jako paměťové T-lymfocyty.

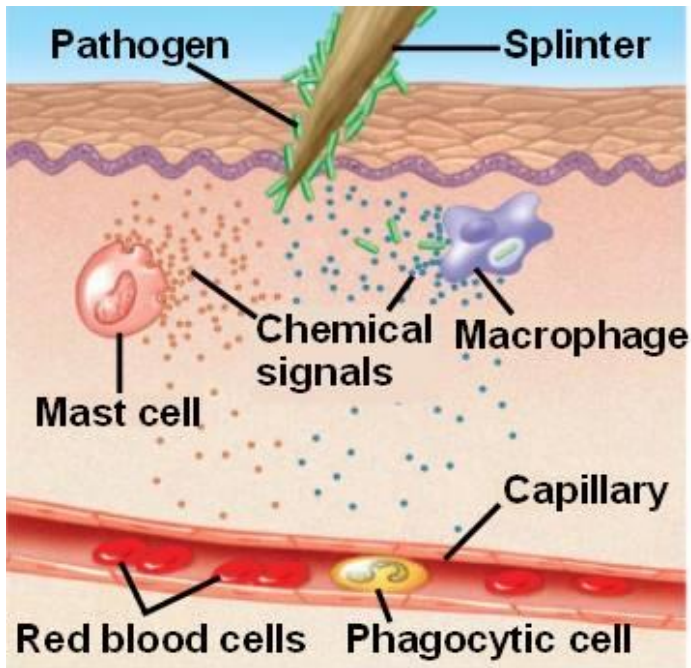


TH lymfocyt

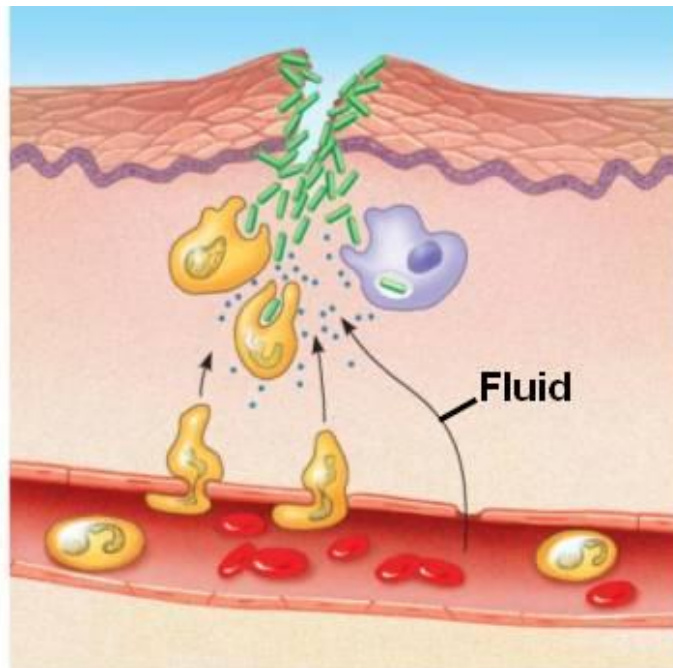
- pomocný T-lymfocyt
- dělí se především na TH1 lymfocyty („zánětové“ TH buňky, schopné i přímé aktivity) a TH2 lymfocyty (typičtí regulátoři, aktivují B-lymfocyty)

Regulace aktivit TH1 a TH2:

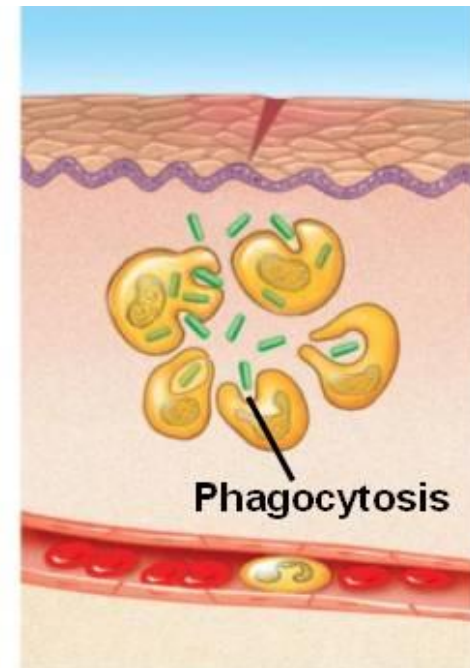
- o tom, či se budou prekurzorové CD4+ TH buňky vyvíjet směrem k TH1 nebo TH2, rozhoduje poměr cytokinů IL-12 a IL-4
- IL-12 je produkován makrofágy a dendritickými buňkami, které jsou stimulované některými mikroorganismy ⇒ když začne proces u makrofágů, bude produkován IL-12 ⇒ stimuluje tvorbu TH1
- IL-4 je produkován bazofily a mastocyty ⇒ začne-li proces u bazofilů nebo mastocytů, bude produkován především IL-4 ⇒ stimuluje TH2
- cytokiny produkované TH1 buňkami (především IFN- γ) dále podporují vývoj TH1 a silně inhibují vývoj TH2; naopak IL-4 a IL-10, které jsou produkty TH2, podporují vznik TH2 a inhibují vývoj TH1



Makrofágy a žírné buňky uvolňují chemické signály, např. histamin.

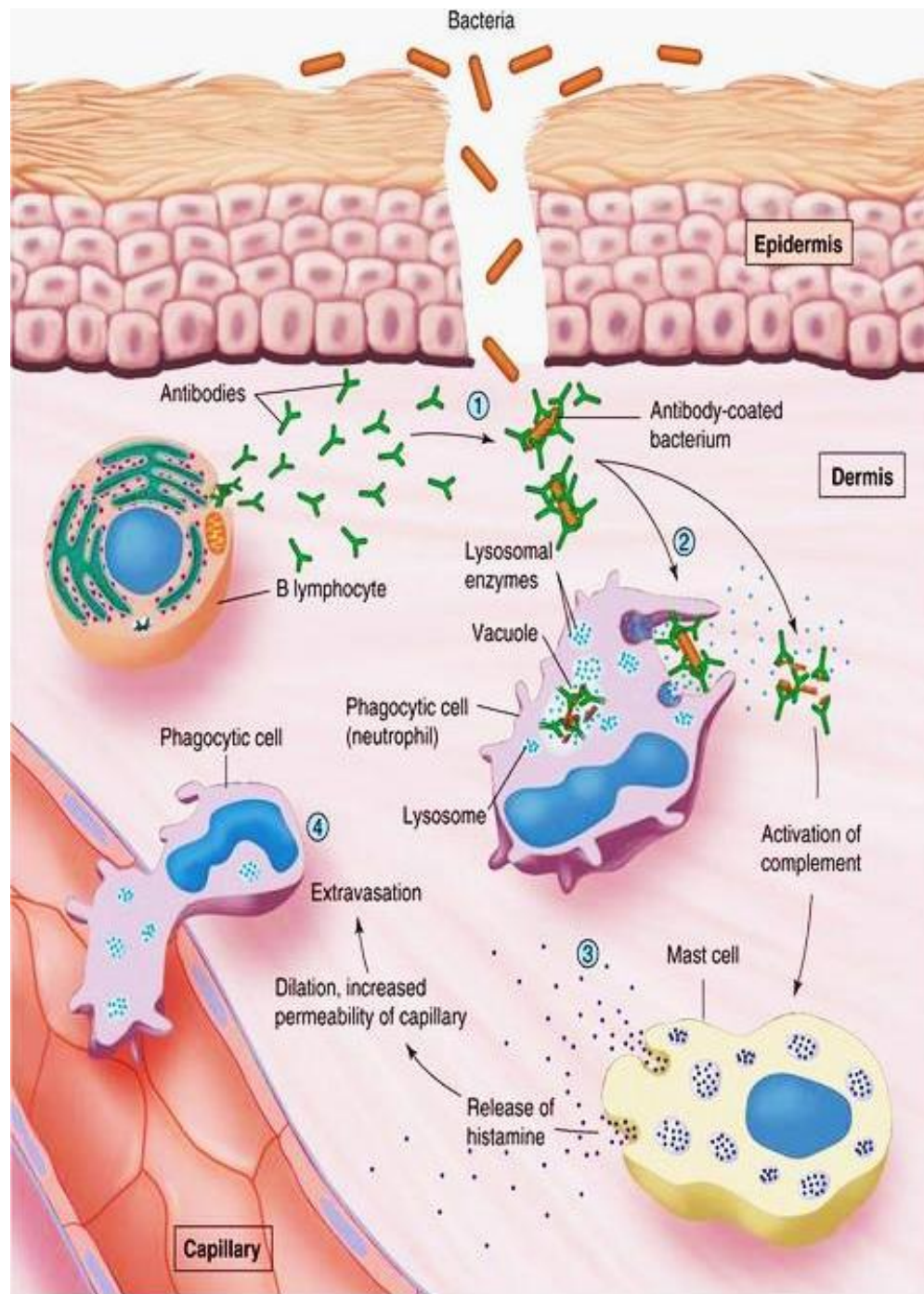


Kapiláry se rozšiřují. Tekutina obsahující antimikrobiální proteiny vstupují do tkáně. Více fagocytů migruje na místo poškození



Fagocytické buňky pohlcují patogeny a tkán se hojí

Záněť



Komplement

- je součástí nespecifické humorální imunitní odpovědi
- tvoří jej asi 30 sérových a membránových proteinů, které kooperují mezi sebou a s dalšími imunitními mechanismy: 9 sérových proteinů C1 – C9, faktory (B, D, P), inhibitory a inaktivátory (H, I)
- různé podněty spouští kaskádovitou aktivaci jednotlivých složek
- ústřední složkou je C3 (fragment C3b se kovalentně váže na mikrobiální povrch)
- meziprodukty této kaskádovité reakce mají výrazné biologické funkce, jako jsou opsonizace a chemotaxe
- terminálním produktem kaskády je komplex proteinů C5b, C6, C7, C8, C9 nazývaný MAC (membrane attack complex) ⇒ perforuje plasmatické membrány některých buněk a působí jejich lýzu ⇒ zabíjí je

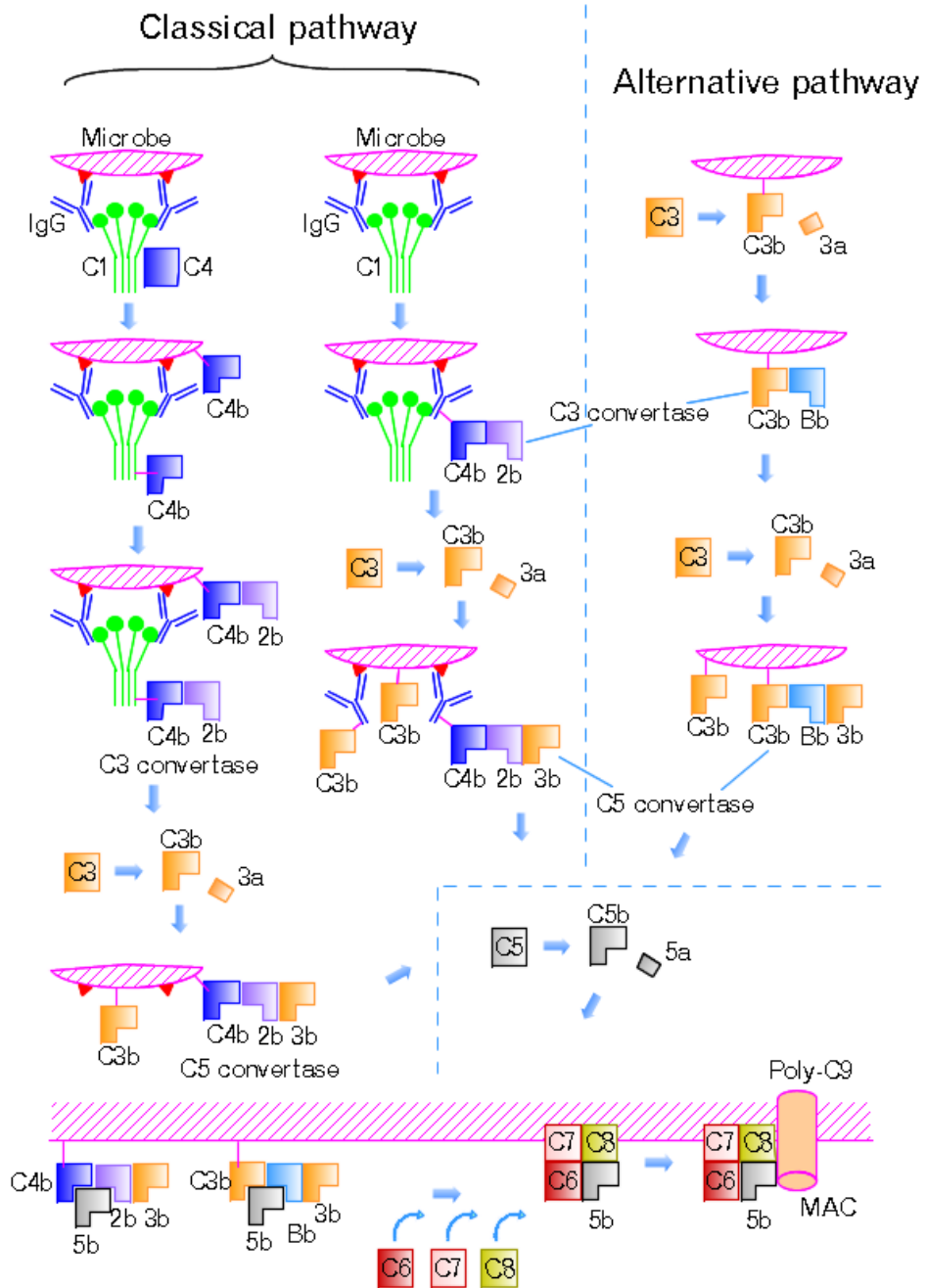
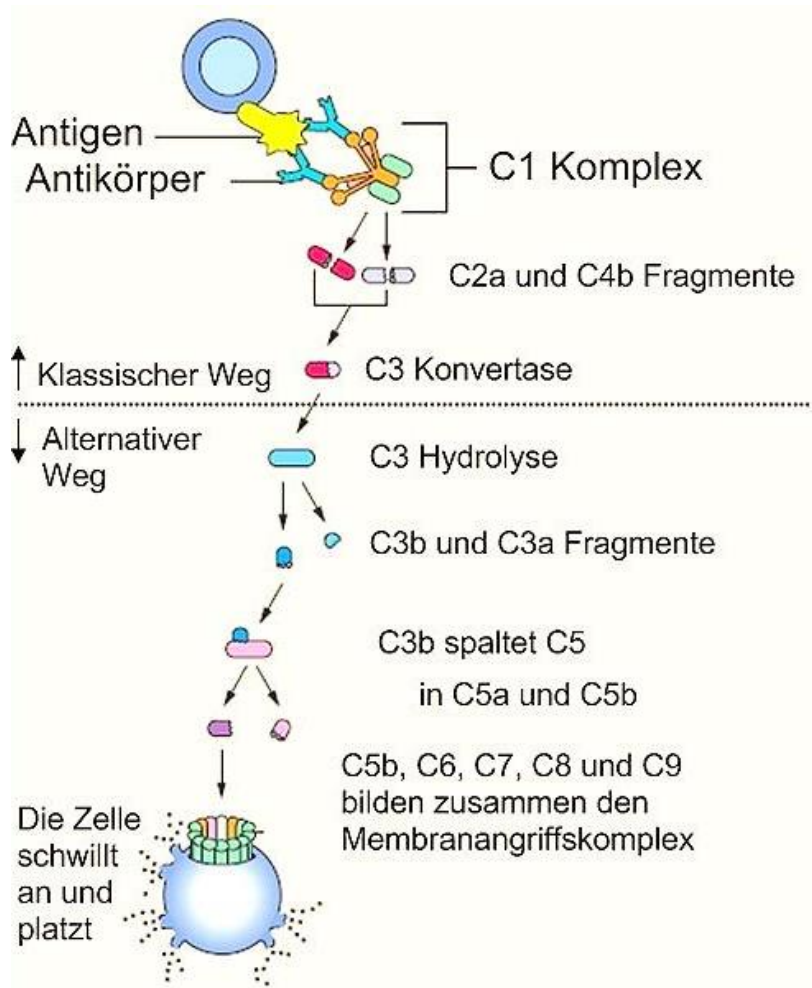
Hlavní funkce komplementu:

- opsonizace (C3b): komplement se aktivuje po vniknutí bakterie; složka A se uvolní, B opsonizuje
- chemotaxe (C3a, C5a)
- prozánětlivé funkce (C3a, C5a): anafylatoxiny (mediátory zánětu, způsobují vazodilataci, zvyšují permeabilitu cévních stěn uvolňováním histaminu)
- osmotická lýza (C5b – C9): cytotoxické působení membranolytického komplexu

Inhibice komplementu inhibuje hemostázu × poranění aktivuje oba systémy současně (hemostáza zabrání vnikání dalších částí do systému).

Rozeznáváme 3 způsoby aktivace:

1. **klasická cesta** - vývojově mladší než cesta alternativní; zahájena na površích (např. bakterie), kde jsou navázány protilátky (hl. IgG a IgM); vazbou na povrch se změní konformace protilátkové molekuly → odhalí se vazebné místo pro C1
2. **alternativní cesta** - starší než klasická aktivace; neadaptivní, nespecifická imunitní reakce, která začíná u C3 přímým kontaktem s chemickými látkami, endotoxiny, ve stěnách bakterií apod.
3. **lektinová cesta** - obdoba klasické cesty aktivace komplementu, kdy aktivátorem není protilátka, ale sérový lektin (lektin vážící manosu) ⇒ přímo se váže na sacharidové zbytky na povrchu mikroorganismů



Terminální (lytická) fáze komplementové kaskády:
 V membráně vzniknou póry ⇒ unikají cytoplazmatické komponenty, poruší se osmotická rovnováha, buňky mohou lyzovat. Většina mikroorganismů odolná (ochrana BS).

Slinné žlázy hematofágů

inhibice hemostatických
procesů a imunity



jako vedlejší projev - pomoc
přenášeným patogenům/parazitům

Table 1. Tick-borne pathogens showing direct evidence of saliva-activated transmission

Pathogen	Tick species source of SGE	Reference
Viruses:		
Tick-borne encephalitis virus	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Dermacentor reticulatus</i> , <i>D. marginatus</i> , <i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	(Alekseev <i>et al.</i> 1991; Labuda <i>et al.</i> 1993b)
Thogoto virus	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i> , <i>R. evertsi</i> , <i>Amblyomma cajennense</i> , <i>A. hebraeum</i> , <i>A. variegatum</i> , <i>Boophilus microplus</i> , <i>Hyalomma dromedarii</i> , <i>H. marginatum rufipes</i>	(Jones <i>et al.</i> 1989, 1992 <i>a, b, c</i>)
Bacteria:		
<i>Borrelia afzelii</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	(Pechova <i>et al.</i> 2002)
<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto	<i>Ixodes scapularis</i>	(Zeidner <i>et al.</i> 2002)
<i>Borrelia lusitaniae</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	(Zeidner <i>et al.</i> 2002)
<i>Franciscella tularensis</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	(Krocoka <i>et al.</i> 2003)



Histamine-binding
proteins (histacalins)

Complement inhibitors

Immunoglobulin-binding proteins

Cytokine inhibitors:

Type 1 interferon inhibitors

IL-2 binding proteins

IL-8 binding proteins

Leukocyte modulators:

B cell modulators

T cell modulators

Natural killer cell suppressors

Phagocyte modulators

Suppression of inflammatory
responses including recruitment
of neutrophils and eosinophils
Suppression of inflammatory
and immune responses
Protection against antibodies

Inhibition of anti-viral activities
T cell suppression
Anti-neutrophil activity

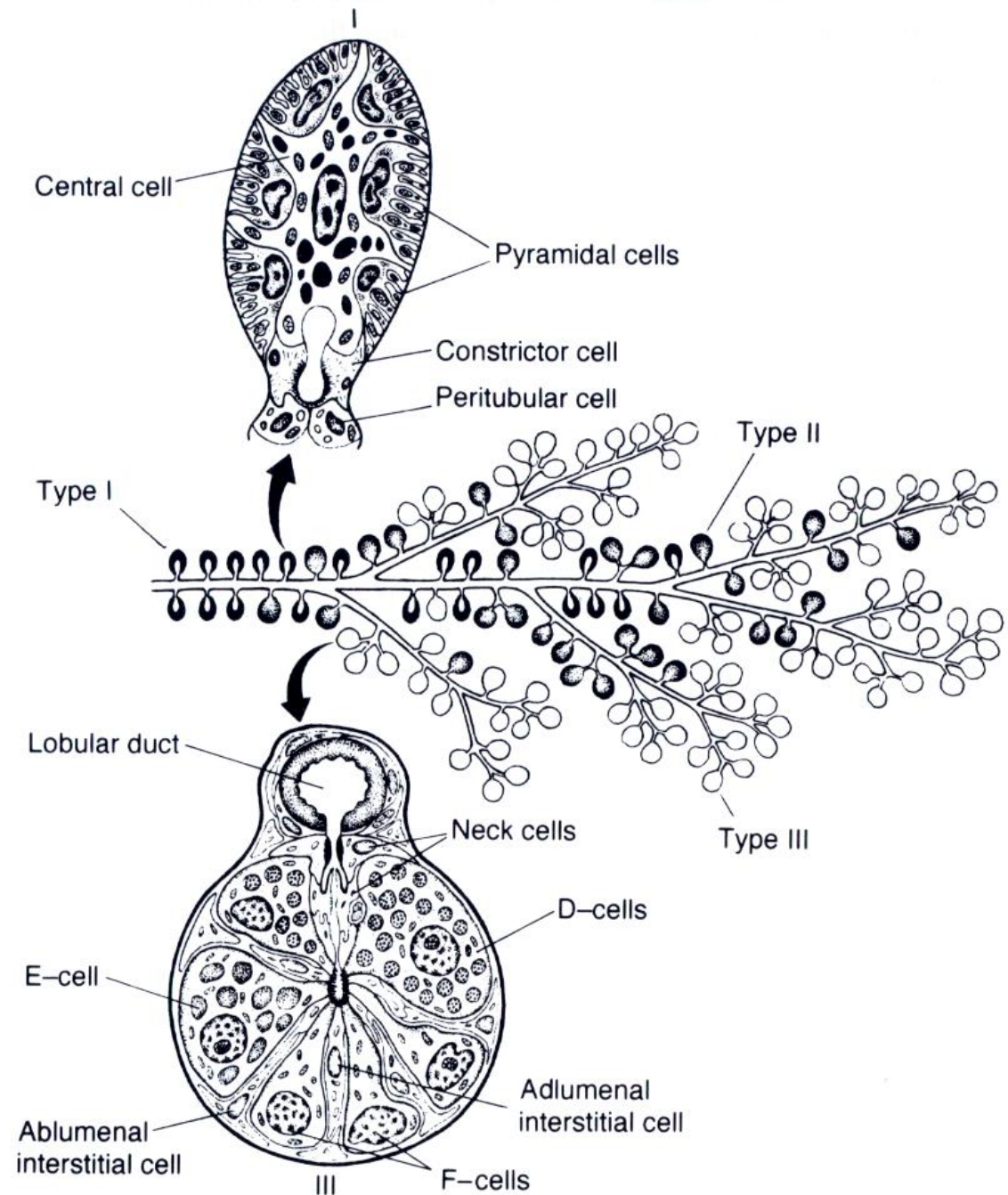
Reduced antibody and cytokine
production

Polarisation to a Th2 response
Inhibition of anti-viral activities
Inhibition of microbicidal activity

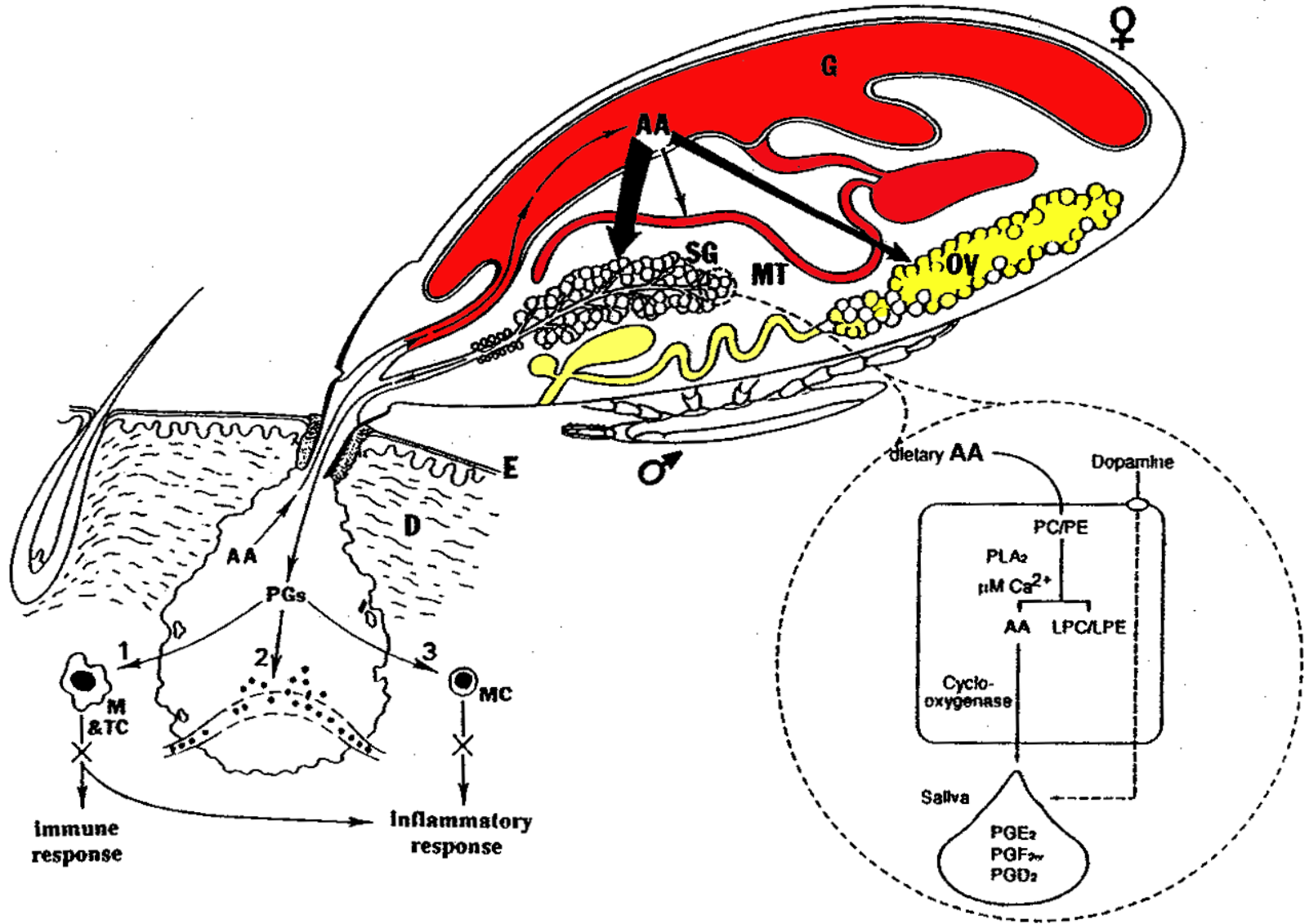




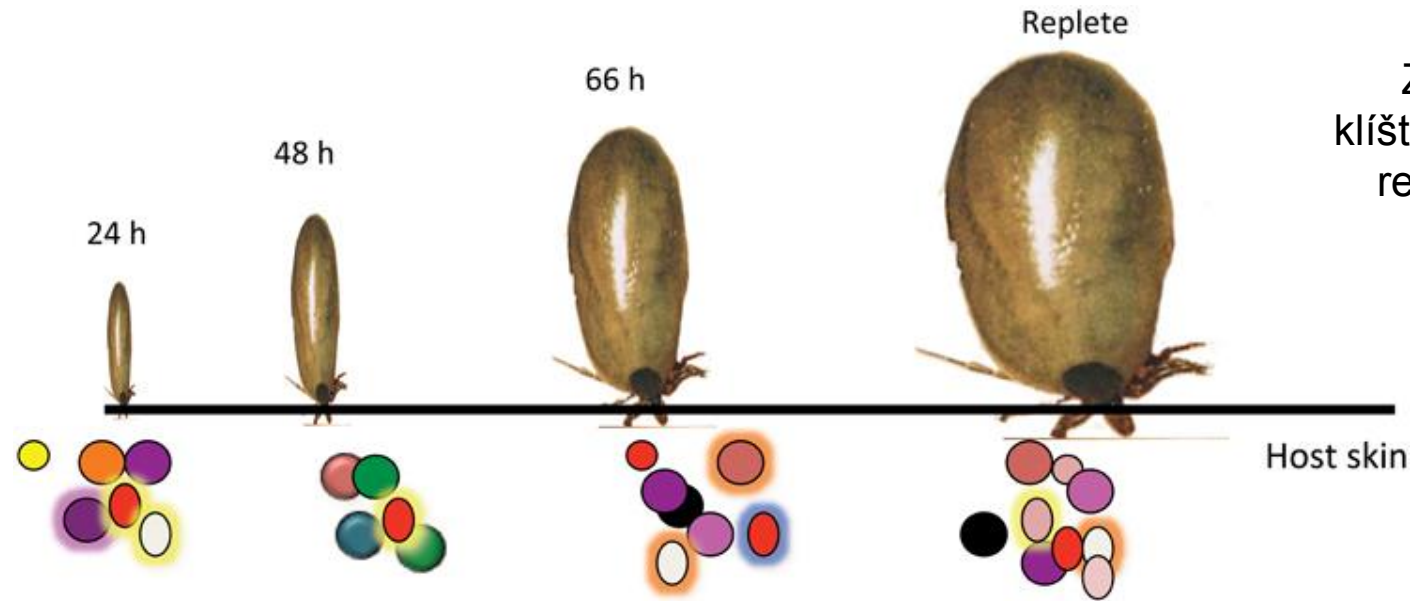
mimo dobu sání
pomáhají slinné žlázy
při absorpci vody z
okolí (hygroskopické
látky)



- cement
- antihemostatika (včetně apyrázy)
- imunomodulační látky
- prostaglandiny – protizánětlivá a imunosupresivní funkce



Změny v složení slin
klíštěte *I. scapularis* s cílem
regulovat imunologické
reakce hostitele



A



B

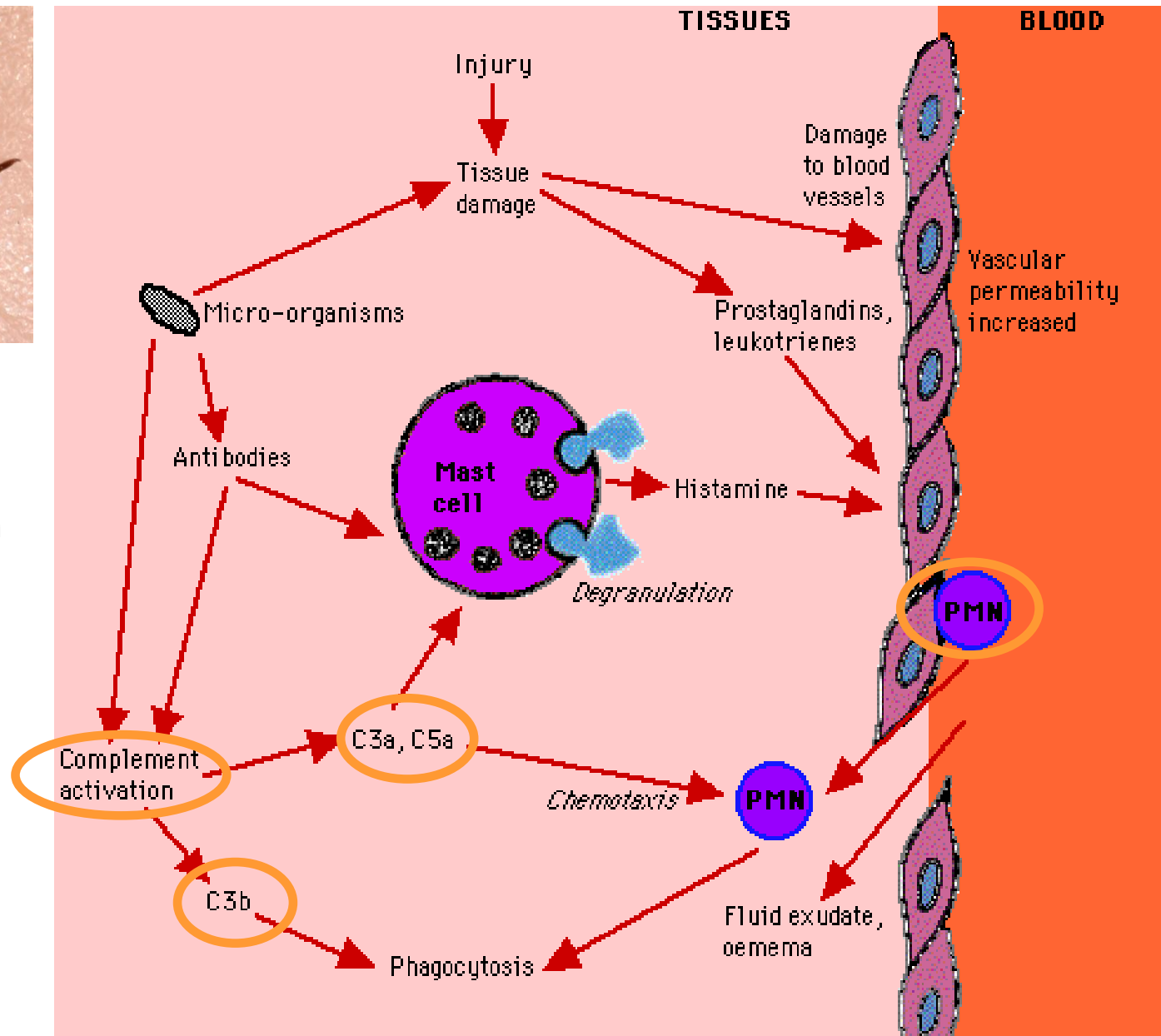


Infestace morčat klíštěti
I. scapularis vedoucí k
získané rezistenci na
klíšťata. Nymfy sající na
(A) naivním (žádná
zarudlosti místa sání) a (B)
opakovaně investovaném
zvířeti (zvýšená zarudlost v
místech sání během 24 h).



Isac

I. scapularis
antikomplement protein
(potenciální vakcína
proti borelióze???)

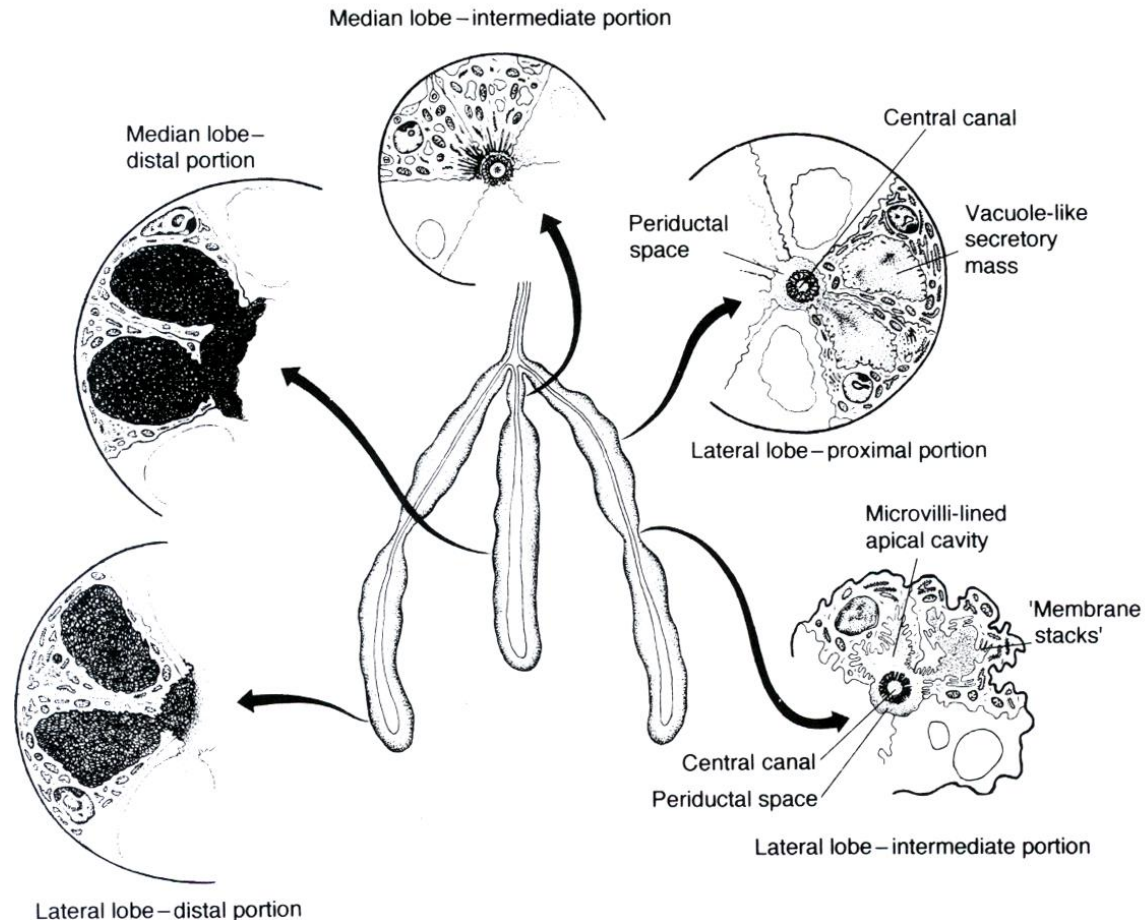


Zánět

Isac narušuje alternativní aktivaci komplementu inhibicí faktorů Bb a/nebo C3b, zabraňuje lýze buňky a produkci anafylatoxinů.

Antihemostatika ve slinách hematofágů

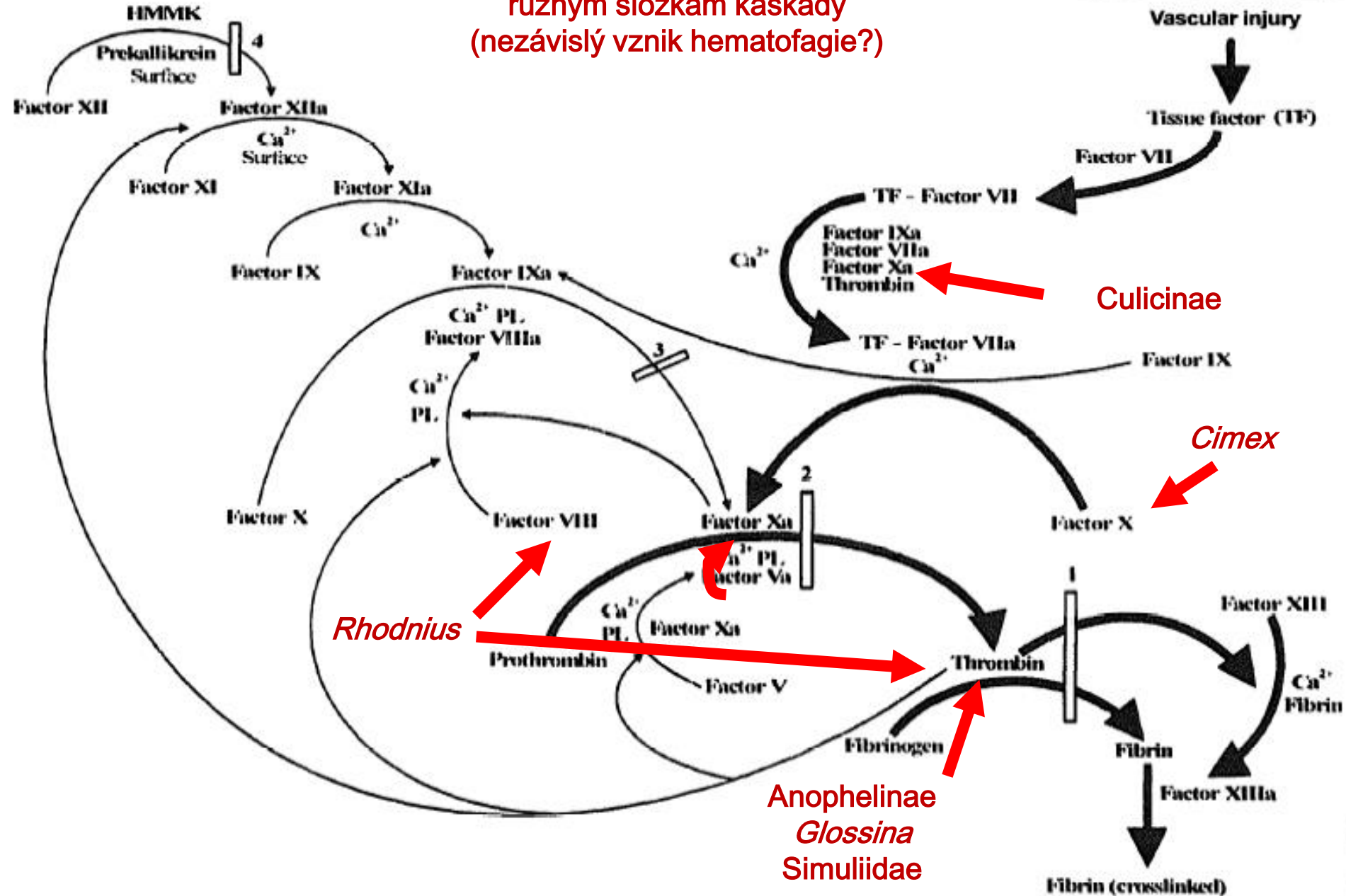
- u každého dosud studovaného hematofága byl nalezen alespoň jeden antikoagulant, jeden vazodilatátor a faktor zabraňující agregaci destiček (s výjimkou Stomoxyinae)
- adenosin, oxid dusnatý – vazodilatace, inhibice destiček (triatomy, štěnice, *Phlebotomus*)
- *Lutzomya* - maxadilan (nejúčinnější známý vazodilatátor), a další... (počínaje NO a konče 65 kDa protein u *Anopheles*)
- blízké příbuzné rody mohou mít zcela odlišné vazodilatátory (*Phlebotomus* – *Lutzomya* nebo *Aedes* - *Anopheles*)
- fibrinolytické složky



Intrinsic pathway

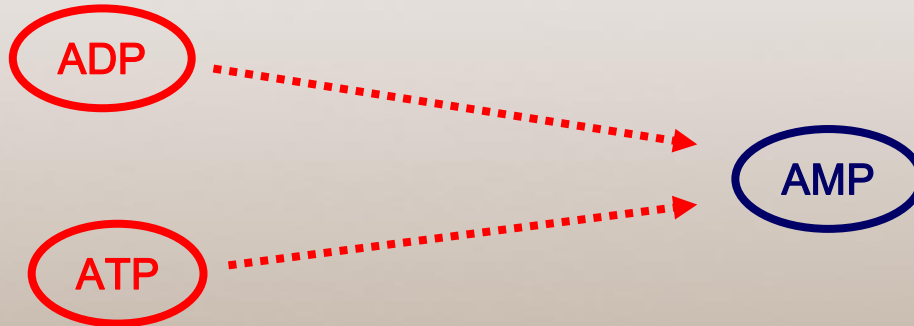
Extrinsic pathway

antikoagulanty
namířené u řůzných skupin proti
řůzným složkám kaskády
(nezávislý vznik hematofagie?)



Apyráza

téměř univerzálně přítomný hydrolytický enzym ve slinných žlázách hematofágů



Patrně nejde o homologickou molekulu u všech skupin.

- patří mezi nejrozšířenější molekuly inhibující agregaci trombocytů u krevsajících členovců
- inhibuje ADP a kolagenem indukovanou agregaci krevních destiček a zapříčiňuje i disagregaci krevních destiček již agregovaných tím, že štěpí ADP a ATP na ADP, AMP a fosfát
- aktivita apyrázy je na rozdíl od ostatních ATPáz závislá na koncentraci Ca^{2+} a Mg^{2+}
- poprvé nalezená u klíštěte *I. scapularis*, byly identifikovány u klíšťáků *O. moubata*, *O. savignyi* a dalších
- nedávno další isoformy apyrázy objeveny u *R. appendiculatus* a *I. scapularis*

Faktory určující imunitní odpověď proti ektoparazitům

Genetická variabilita uvnitř populace

Anafylaktický šok
(citlivější jedinci)



Bez odpovědi
(odolní jedinci)

Věk a kondice

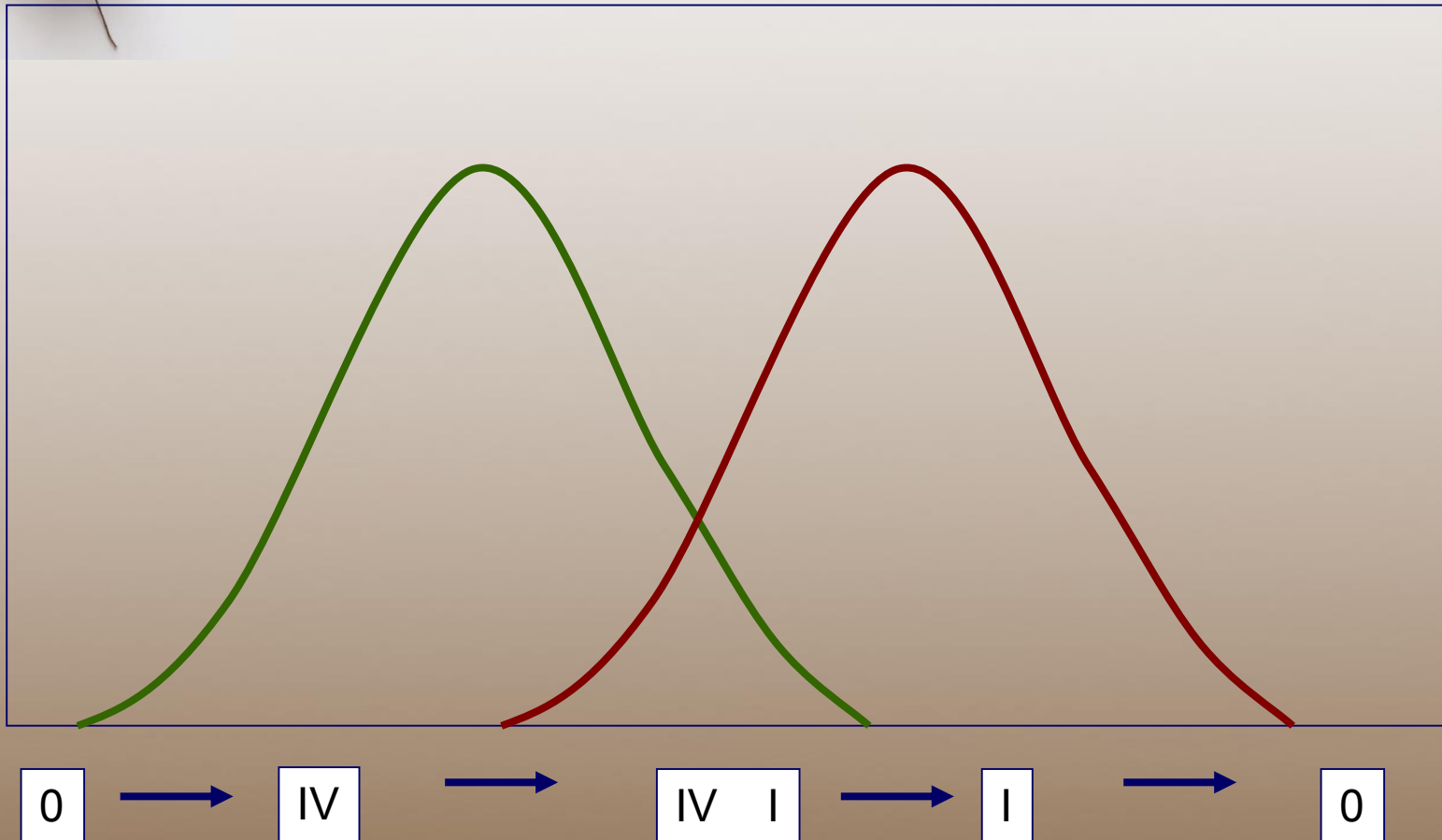
Povaha antigenu (Ag) (většinou proteiny s hemostatickým účinkem)
Různá schopnost Ag vyvolat různou silu odpovědi

Místo vstupu Ag – solenofágové vs. thelmofágové
ochutnávání hostitele vs. sání

Temporální hematofágové hypersenzitivita

Opožděná reakce - IV

Časná reakce (anafylaktická) - I

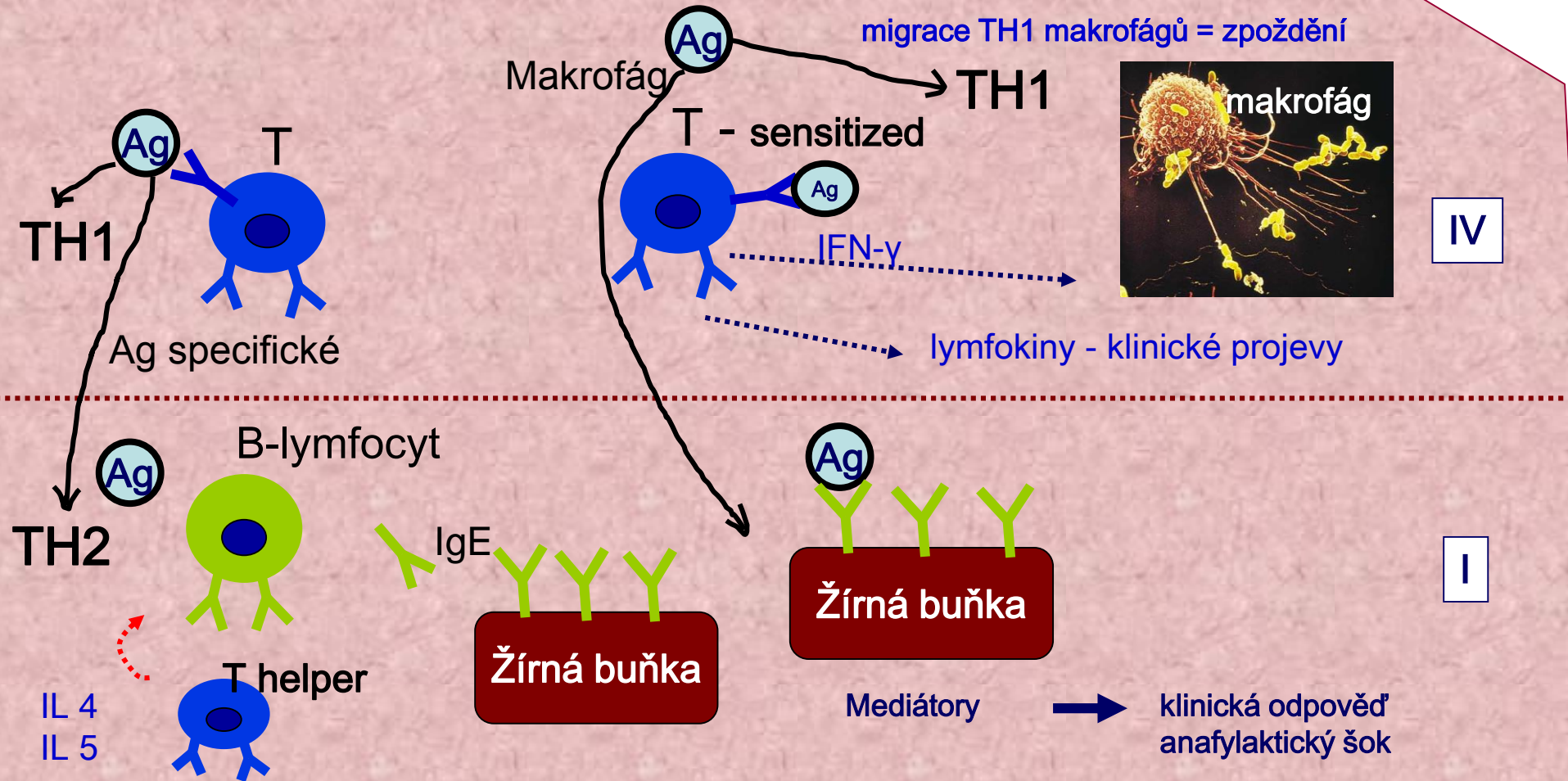


Coombs a Gell rozdělili v r. 1963 **alergické reakce do čtyř typů:**
I. typ - okamžitá, IgE zprostředkovaná reakce,
II. typ - cytotoxická reakce,
III. typ - imunokomplexová reakce,
IV. typ - opožděná reakce, zprostředkovaná senzibilizovanými lymfocyty.

Na tom místě těla kde jsou opakované vpichy dochází k **lokální desenzibilaci.**

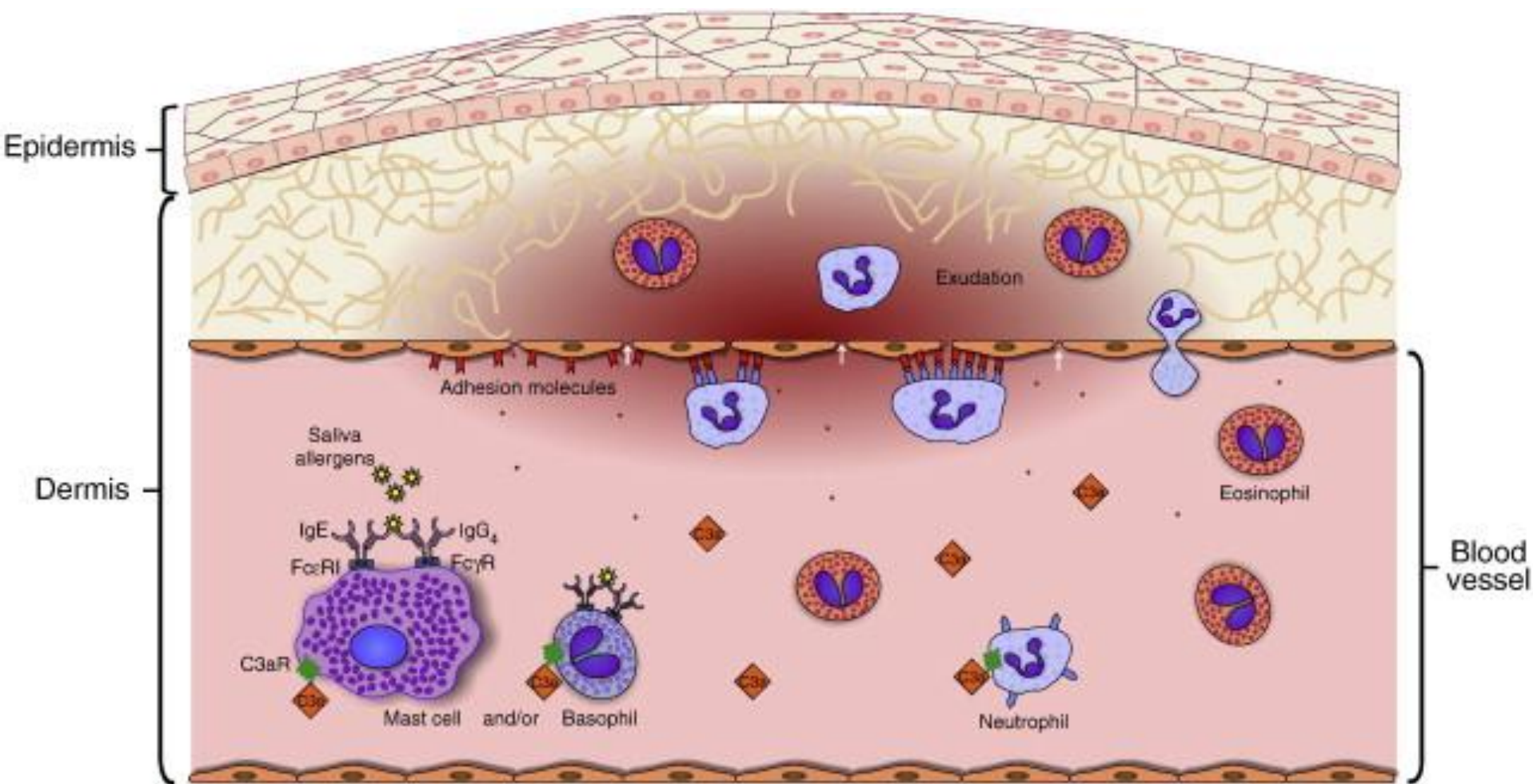


Vliv na následovní
saní stejným druhem

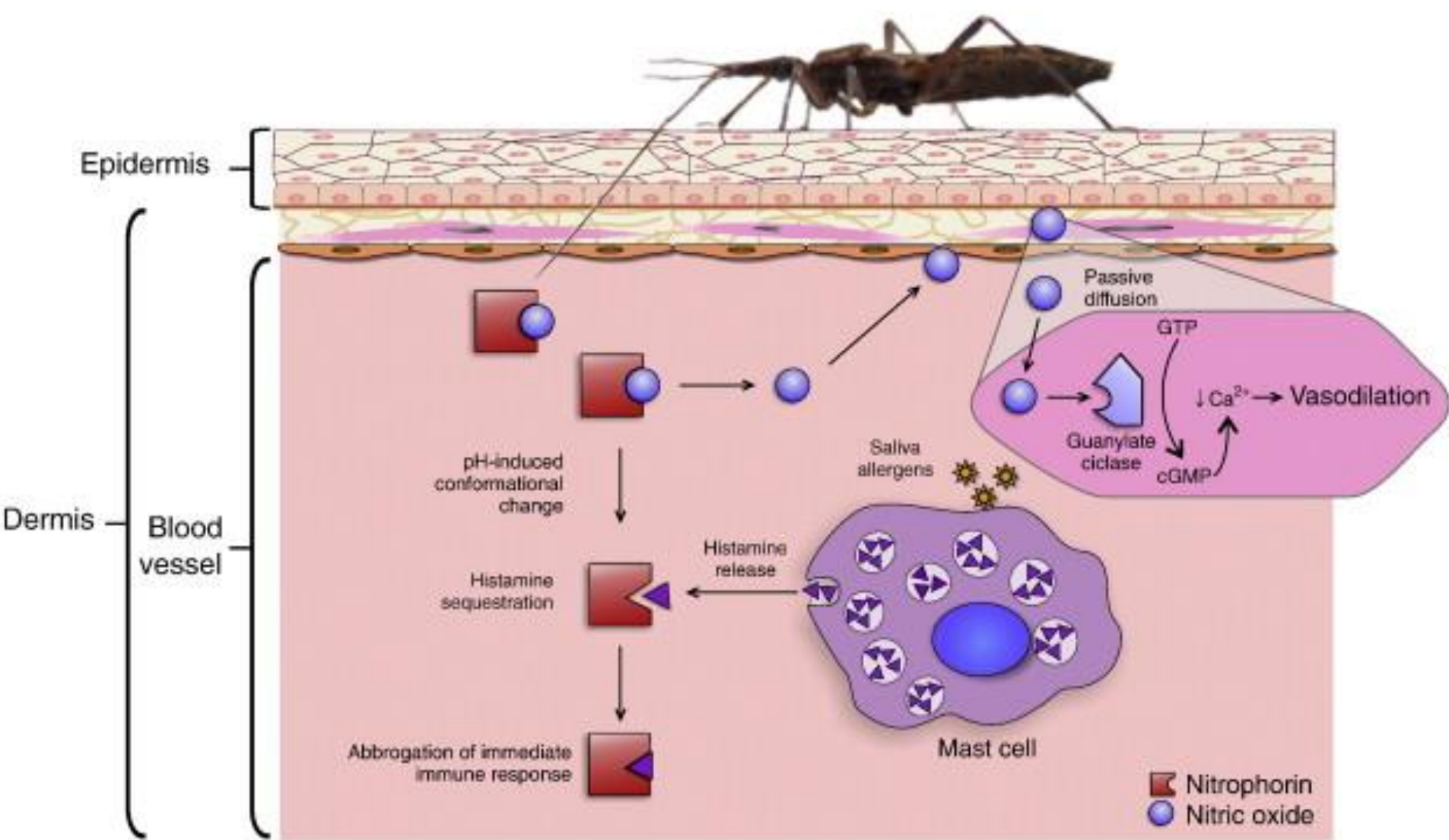




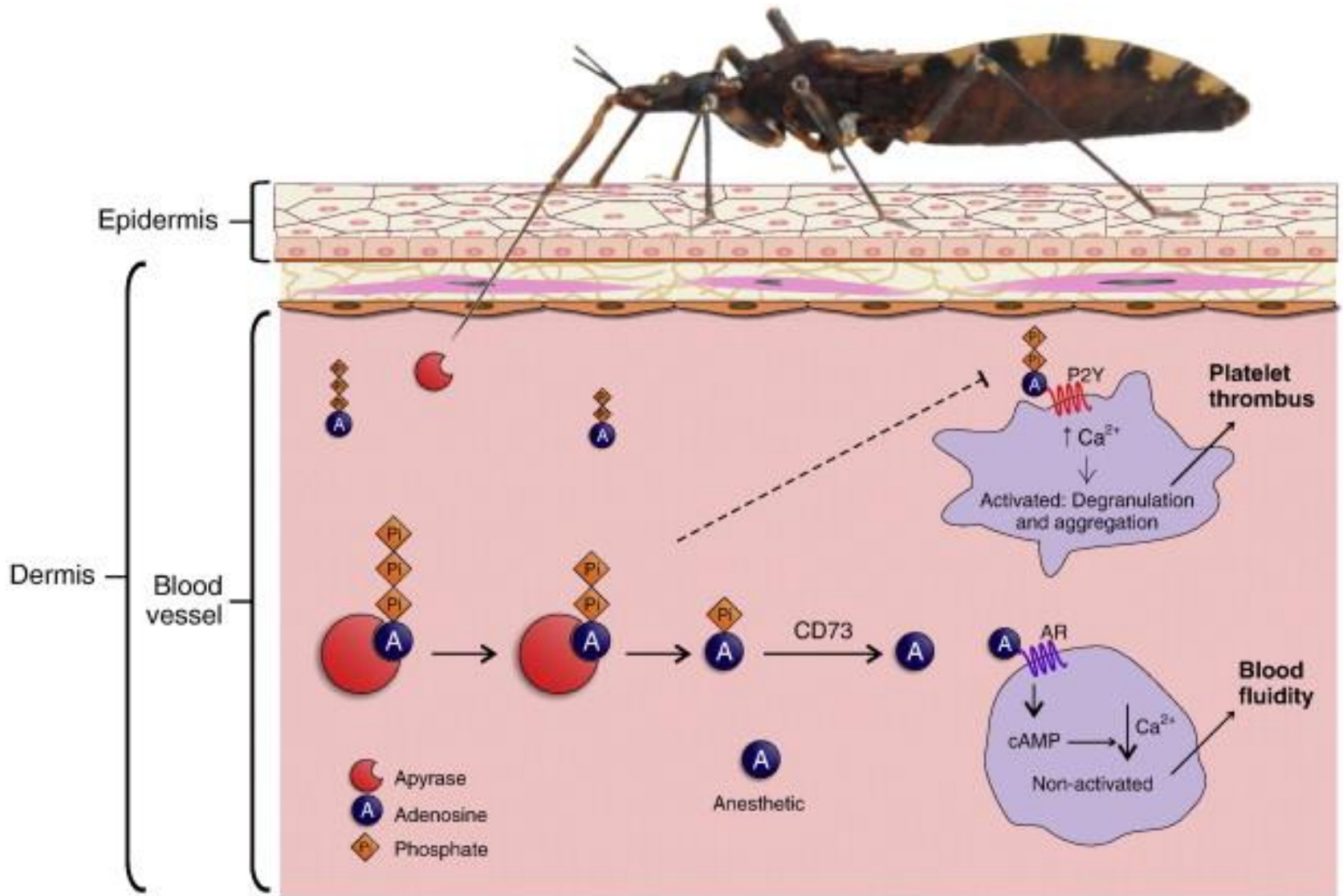
Okamžitá hypersenzitivita na pokousání druhem *Culicoides variipennis* (vektor Bluetongue)



Schematické znázornění okamžité lokální hypersenzitivity vyvolané v místě uhryznutí alergeny v slinách *Triatoma* sp.



Schematické znázornění interakce slinného hemoproteinu nitrophorinu *Rhodnius prolixus* s hostitelskými buňkami vedoucí k vyloučení vazodilatátorů. Během hematofagie je nitrophorin uvolněný do lumenu cévy ⇒ konformační změny indukované pH disociují NO, který interaguje s guanylate-cyclasou v hladkém svalu ⇒ vazodilatace. Taktéž okamžitá imunitní reakce a zánět jsou potlačeny oddělením histaminu uvolněného žírnými buňkami.



Schematické znázornění defosforylace a inhibice agregace deštiček vyvolané apyrázou *Triatoma infestans*. Vazba ADP k P2Y1 a P2Y12 receptorům na buněčné membrán vede k agregaci deštiček. Apyráza defosforyluje $\text{ATP} > \text{ADP} > \text{AMP}$, a rozmístění ADP zabraňuje agregaci a tvorbě destičkového trombu. Další AMP defosforylace vytváří volný adenosin s anestetickou aktivitou v místě sání.

Modulace hostitelské imunitní odpovědi



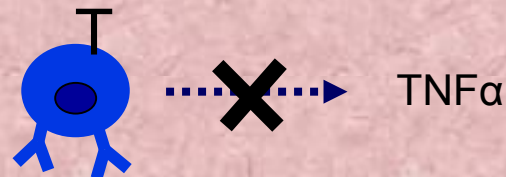
Inhibice

- degranulace trombocytů
- hemostáze a koagulace

Vazodilatace

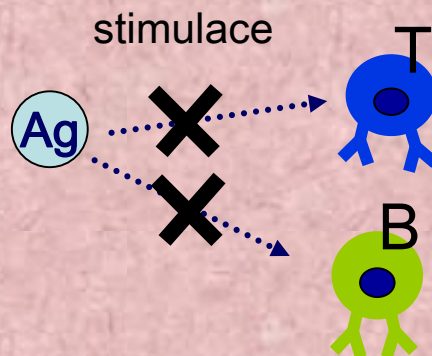
- ✓ umožňuje sání
- ✓ zabraňuje lokální zánětlivé reakci

Ovlivnění cytokinového systému a další imunomodulační aktivity



Zabraňuje zánětlivé lokální reakci

vedlejší produkt (?)



Prezentace
antigenů T-lymfocytům

Permanентní hematofágové

HOSTITEL

Rezistentní

málo parazitů

Citlivý

hodně parazitů
pokles leukocytů
anemie

Tolerantní

hodně parazitů
bez klinických projevů

Behaviorální faktory (kladný vliv „groomingu“)

Imunita - rychlá zánětlivá odpověď
- vyšší odpověď lymfocytů na specifický Ag



Dlouhodobá opakovaná infestace:



temporální



desenzibilace



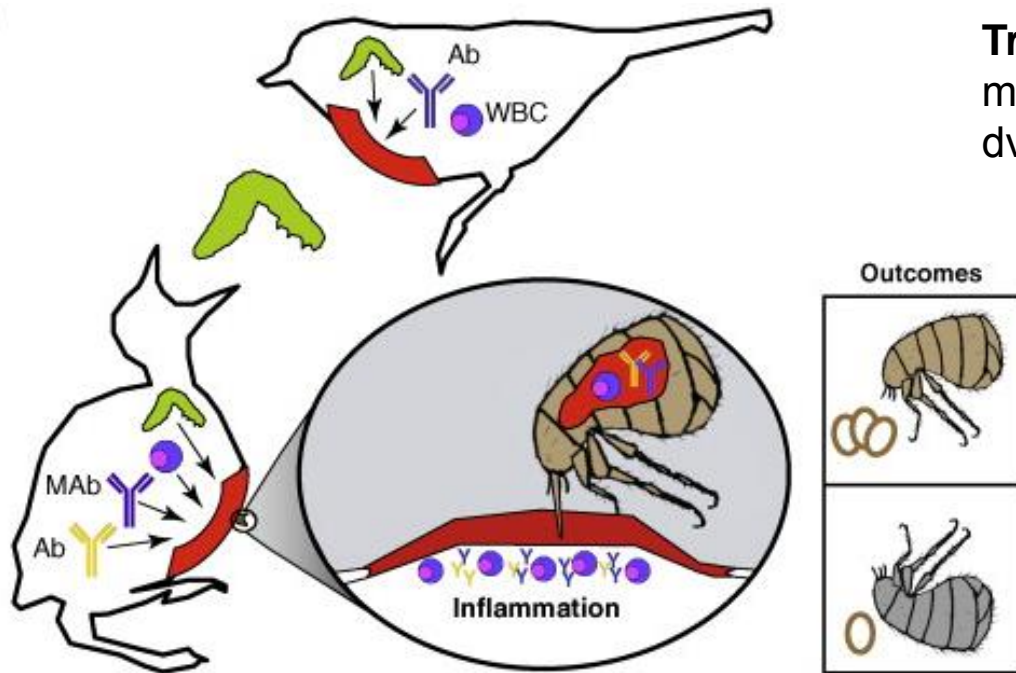
permanentní



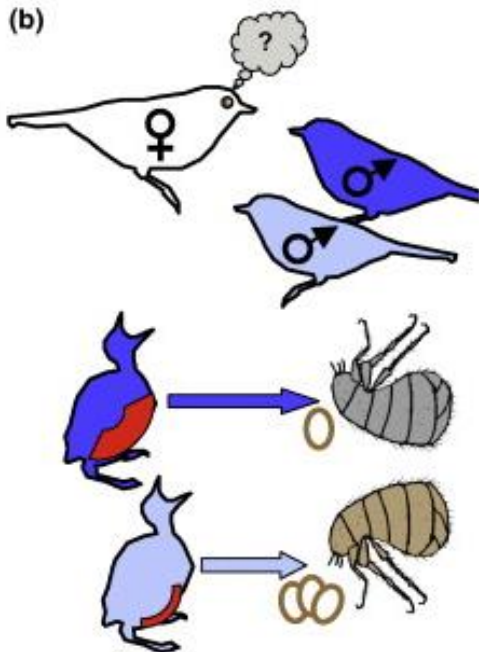
získaná rezistence

imunologický základ, ale hlavní faktor =
mechanická inhibice sání (chronický zánět)

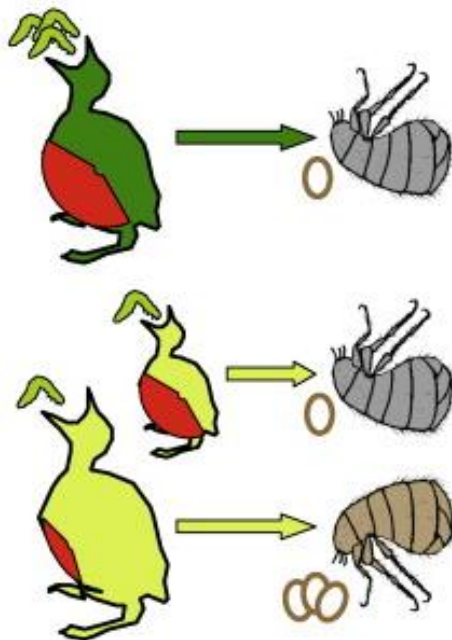
(a)



(b)

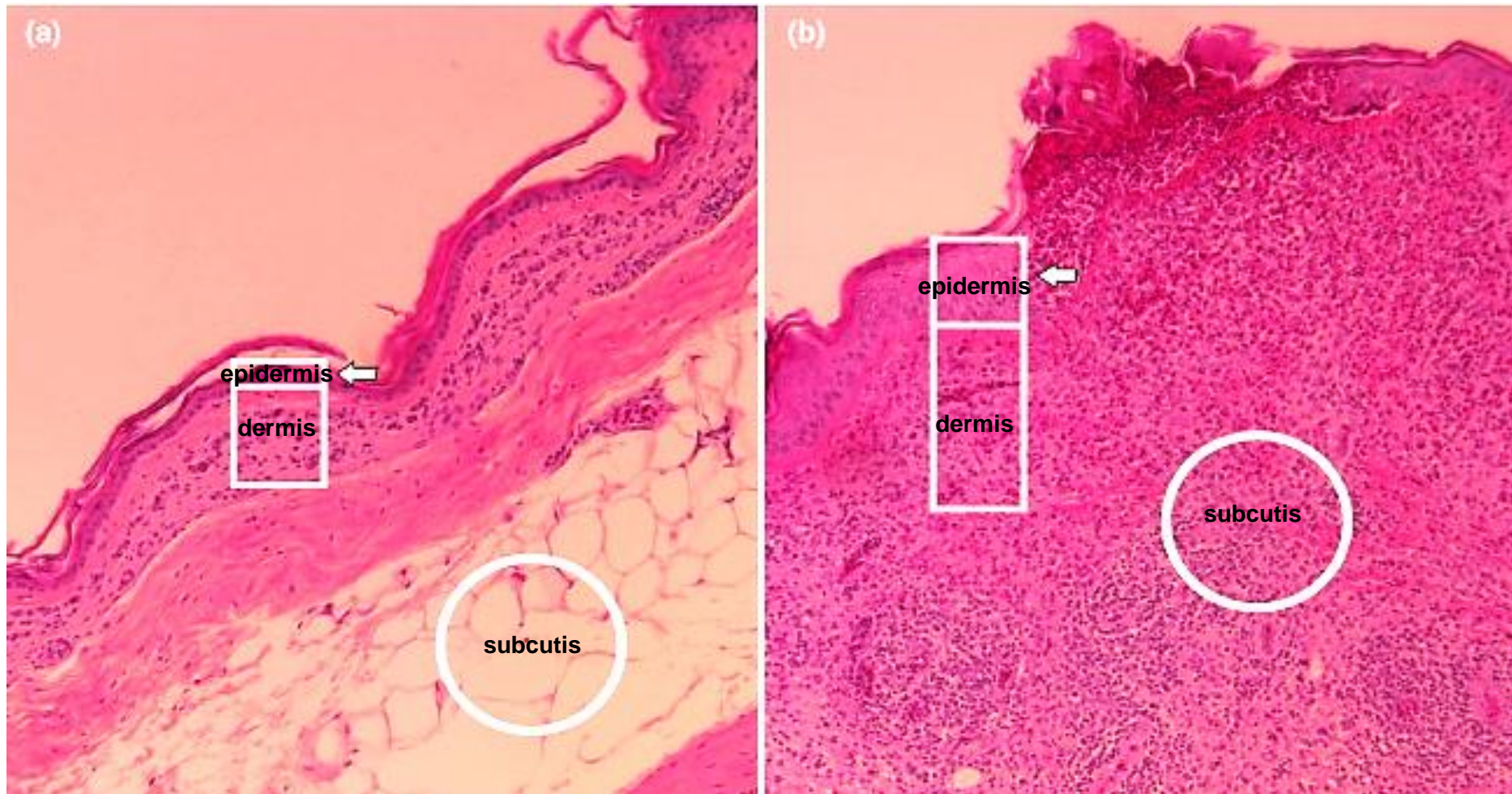


(c)



Trade-off = „něco za něco“, dilema, které musí organismus řešit, když nemůže dělat dvě protichůdné věci najednou.

Hypothetická imunologická reakce pěvce na blechu (a), zahrnující potenciální vliv výběru partnera (b), a odlišného zdroje zaopatření (c) na efektivitu imunitní odpovědi. Blecha (a), střed) získá krev od matky (vrchní) a její potomstva (vlevo dole). Antigeny (např. sliny blechy), jako i poškození kůže vyvolají zánět (červená), řízený protilátkami (Ab) a leukocyty (WBC). Mateřské protilátky (MAb), přeneseny na potomstvo před vyklubáním, napomůžou zánětlivé reakci kuřat. Výživa (zelené larvy) pomáhají zánětu dodáním energie a zdrojů imunologické reakce. Zánět může blokovat přístup blechy ku žilám, a poškodit tkáň blechy účinkem požitých protilátek a leukocytů (granulocytů) hostitele. Účinek zánětu varíruje od slabého (nevlívá na fekunditu a přežívání blechy (vrchní) až ke silné kdy fekundita a přežívání blechy poklesne. (b) Samice které si vyberou samce s geny nesoucí i informaci pro dobrou imunologickou reakci (tmavě modrá) plodí potomstvo s imunoreakcemi snižujícími fekunditu a přežívání parazita, a naopak (světle modrá). (c) Kuřata, které dostávají plnohodnotní zdroje (tmavě zelená) rostou rychleji a mají efektivní imunoreakce. Kuřata s nepostačujícím zdrojem musí „obětovat“ růst za efektivní imuno-reakce (malé žluté), anebo naopak (velké žluté).



Změny v kůži jako následek zánětlivé reakce na sání ektoparazita.
Příčný řez normální kůže kuřete (a) a kůže po několika týdnech sání roztočů (b).

Imunita vs. klíš'ata

Vrozená rezistence

- projevuje se při první infestaci
- fyziologické a anatomické faktory
- délka srsti, tloušťka kůže
- množství kožních žláz

Získaná rezistence

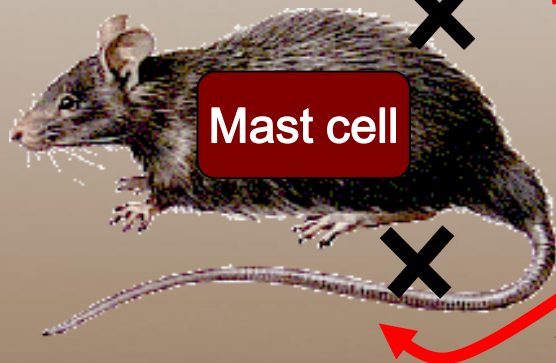
- po opakované infestaci
- hlavní projev: bazofilární hypersenzitivita

Ab, komplement, cytokiny,
APC, **žírné buňky**, **bazofily**,
eozinofily, B a T - lymfocyty

Druhově specifické sekrety SŽ

IgE a žírné buňky jsou nevyhnutné pro přenos rezistence proti larvám *H. longicornis*, rezistence měřená jako pokles počtu larev úspěšně sajících a nasátých klíš'ů.

Knockout myši (bez žírných buňek).



Haemaphysalis longicornis



Dermacentor variabilis

V rezistenci proti larvám *D. variabilis* jsou zásadně esenciální bazofily.

Účinky imunity

1. proti sekretům SŽ - snížená schopnost sání
2. proti Ag střeva - snížená schopnost trávení

Sandflies	Macrophages ^a T cells ^b	Inflammation inhibitor(s) ^c Cytokine modulators ^d Anti-coagulant ^e Vasodilator (maxadilan) ^f
Blackflies ^g	T cells ^h B cells ⁱ	Inflammation inhibitor(s) ^g Cytokine modulators ^l Anti-coagulants ^j
Mosquitoes	T cells ^k	Inflammation inhibitor(s) ^l Cytokine modulators ^l Anti-coagulants ^m
Hard Ticks ⁿ	T cells ^o B cells ^p Macrophages ^q NK cells ^r Neutrophils ^s	Inflammation inhibitor(s) ^t Cytokine modulators ^u Anti-coagulant(s) ^v Vasodilator(s) ^w Histamine binding protein ^x Complement inhibitor ^y

Myaze vs. imunita

Fakultativní endoparaziti

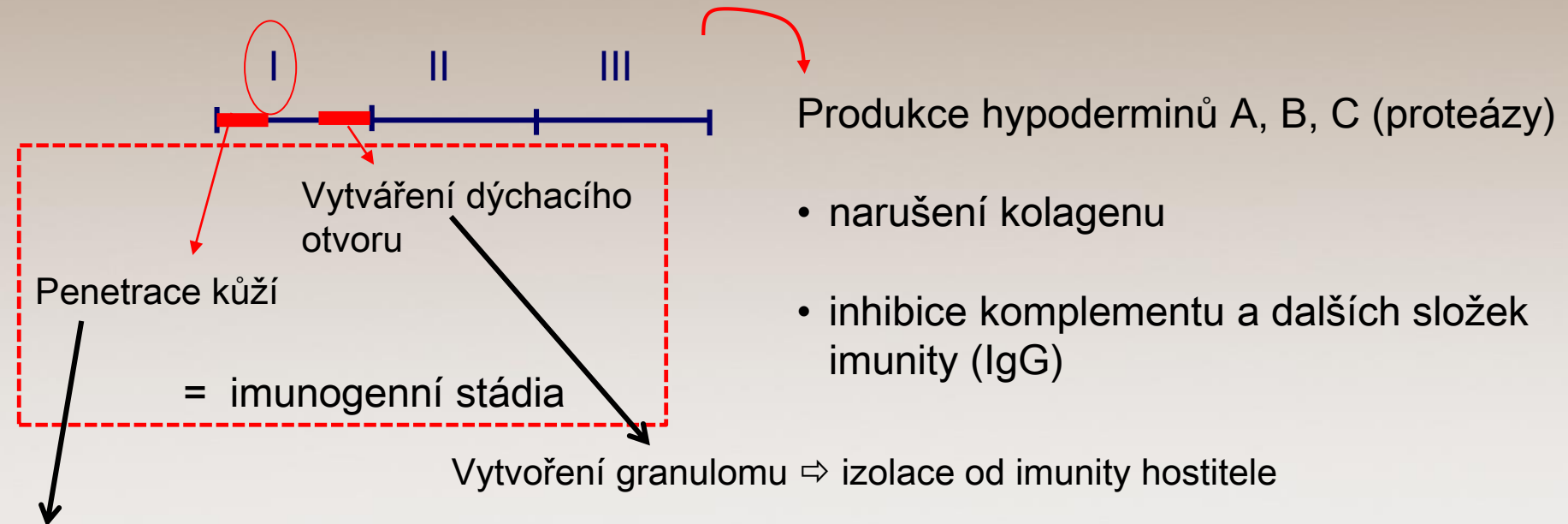
- ❑ Sarcoteridae, Calliphoridae
- ❑ imunita vzniká pomalu po mnoha infestacích
- ❑ zpomaluje vývoj

Obligátní endoparaziti

- ❑ Hypoboscidae
- ❑ účinná imunitní odpověď
- ❑ zabraňuje penetraci a vývoji

Hypoderma

(vývoj cca 8 měsíců, mimotelní trávení, látky přijímá kutikulou)



- první infestace
- senzibilovaný jedinec

- ⇒ místní reakce bez zánětu
- ⇒ hypersenzitivní reakce, nekróza

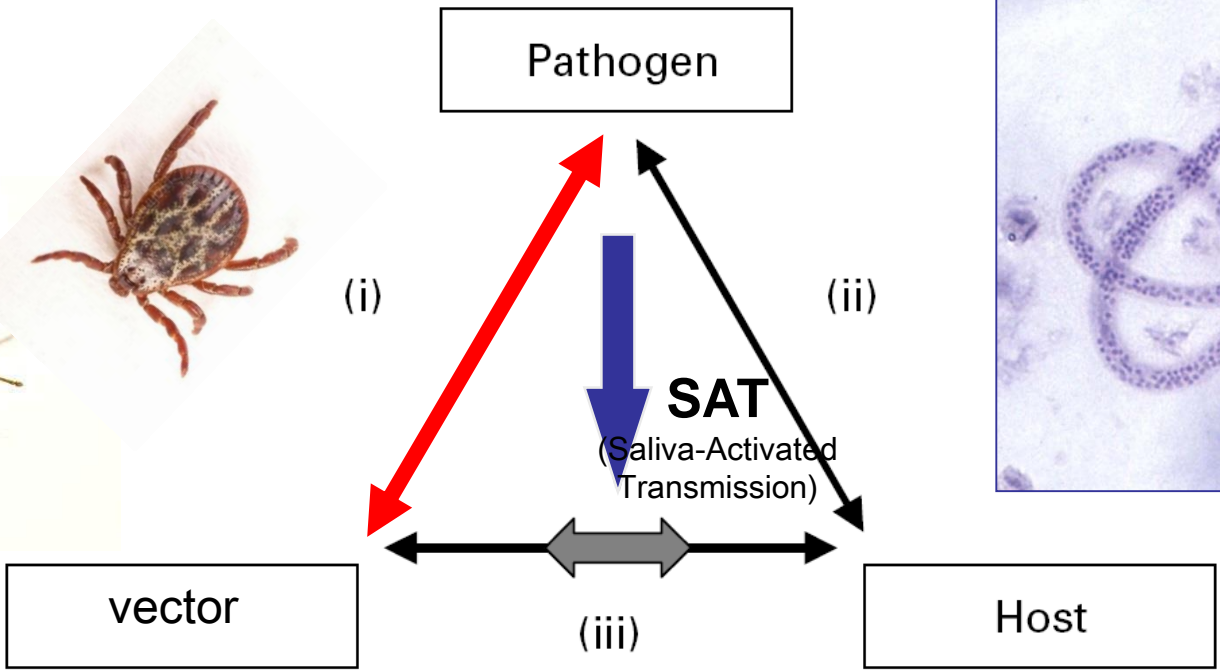
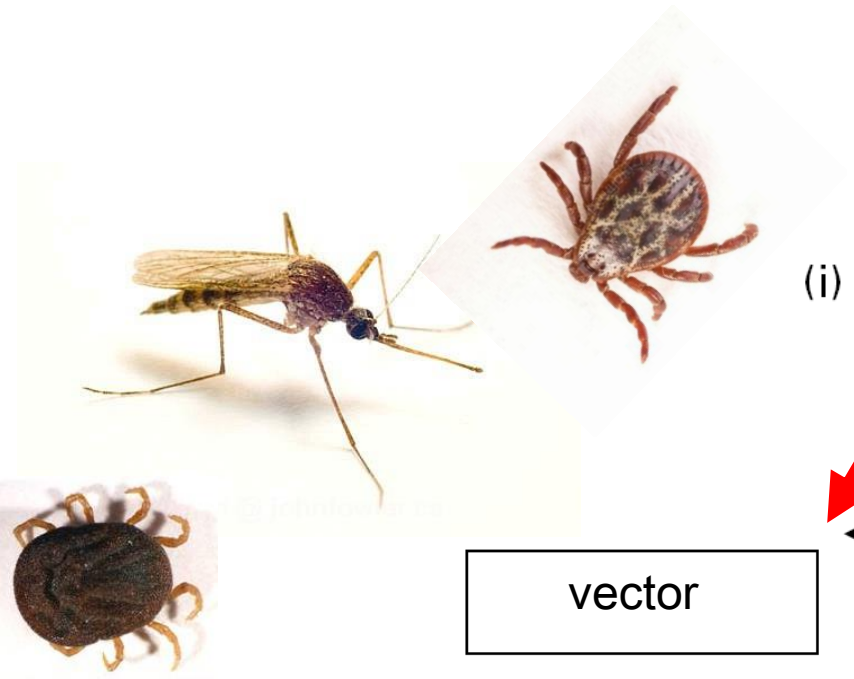
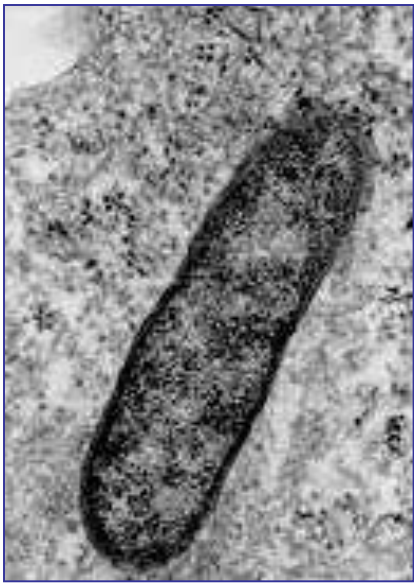
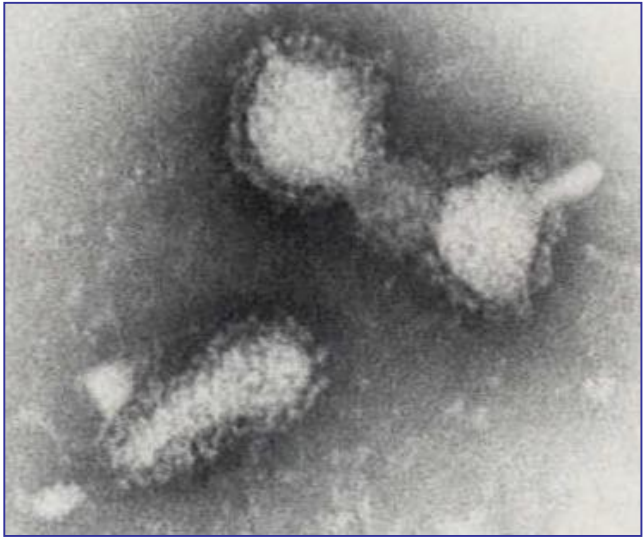


Obranné a rozpoznávací mechanismy členovců



Faktory jejíh vnímavosti
a rezistence k patogenům.





Patogeny a paraziti přenášení krevsajcími členovci

Patogenní pro vektora

Patogenní pro obratlovce

obratlovec

T. cruzi

T. rangeli



Obranné mechanismy hmyzu

➤ paraziti alimentárně do mezenteronu

1) **mechanické** – peritrofická matrix (semipermeabilní filtr); peritrofiny + chitin tvoří tenkou vrstvu → po 24 h plně vyvinutá → prohýbání → ven s výkaly

- ale prvoci (leishmanie, plazmodia) tvoří chitinázu → přes peritrofickou matrix
- filárie unikají dřív, než se peritrofická matrix vytvoří

2) **imunologické**

- buněčná + humorální složka
- ↓ specifita než u obratlovců ale ne horší
- podobné vrozené složce, bez imunoglobulinů
- rozpoznávací molekuly – P lektiny (váží sacharidy, lipopolysacharidy – povrch G- bakterií, β -1,3-glukan – povrch kvasinek)

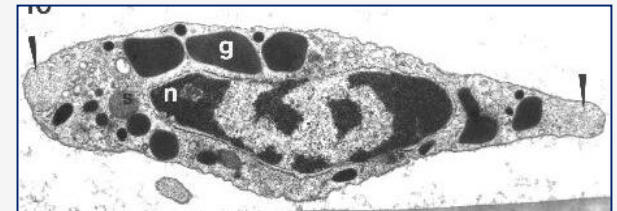
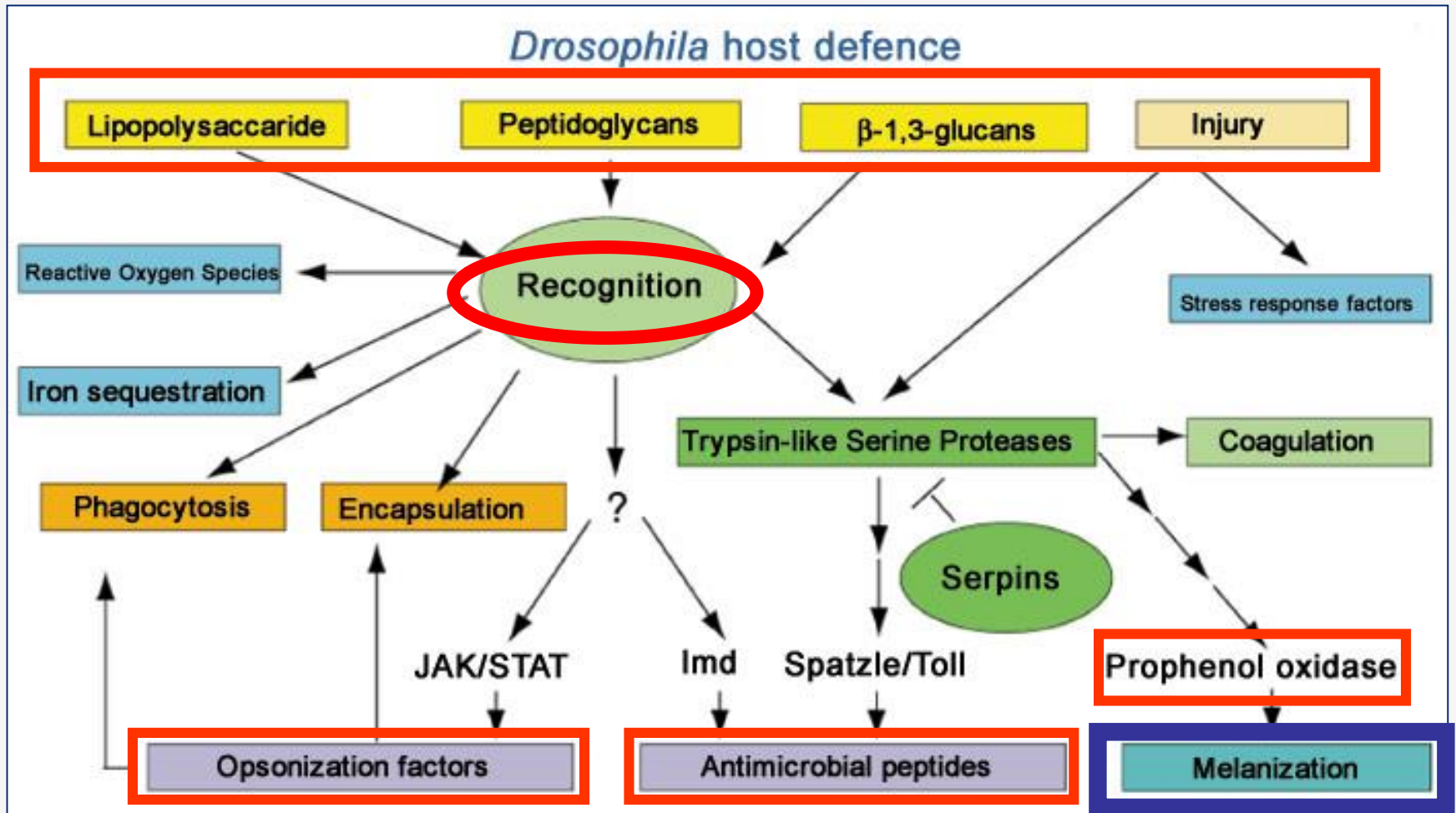
a) **hemocyty**

- místo leukocytů ničí cizí látky – fagocytóza menších částic, enkapsulace = obklopení větších → označení, jiné molekuly fagocytují – melanizace
- různé typy ⇨ plasmatocyty – ameboidní, fagocytují
granulocyty – granule, označují
prohemocyty – kmenové

b) **humorální složka**

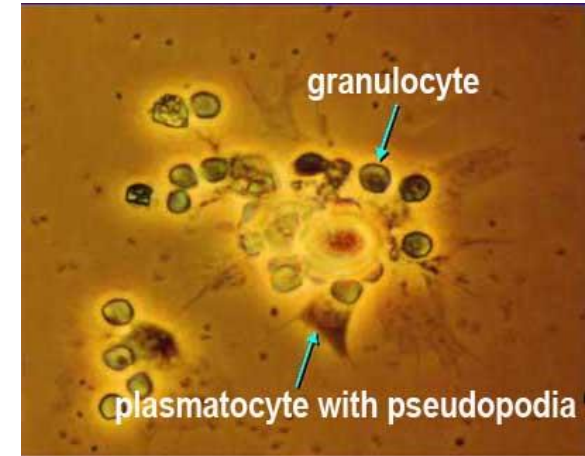
- ✓ profenoxidázová kaskáda:
 - produkty kaskády polymerizují na melanin
 - hojení ran, enkapsulace, melanizace
 - melanin separuje patogen od prostředí, produkty kaskády toxické
- ✓ lysozym, antimikrobiální peptidy
 - často zabíjí patogen v pouzdru; v hemolymfě ⇨ indukce poraněním či infekcí
 - lysozym – protein, štěpí peptidoglykany na G+ bakteriích
 - defenziny – peptid, na G+ penetruje membránu
 - cekropiny – peptid, G- bakterie, prvoci
 - diptericiny – peptid, inhibice transkripce proteinů bakteriální stěny

Imunita členovců

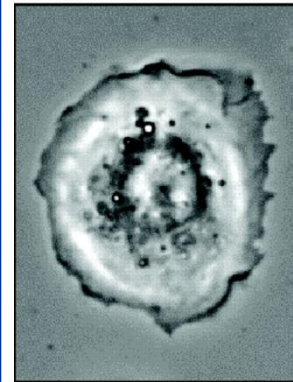


Hemocyty

- buňky cirkulující v hemolymfě
- produkce obranných peptidů a proteinů
- fagocytóza
- enkapsulace

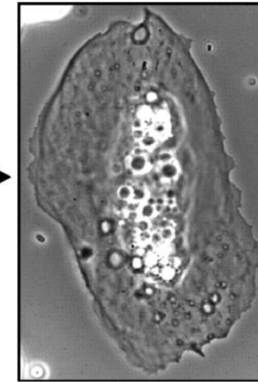


Plasmatocyte



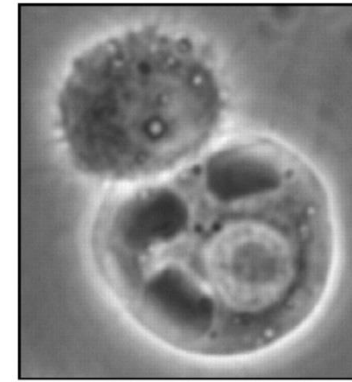
↓
Antimicrobial peptide secretion
Phagocytosis
Encapsulation

Lamellocyte

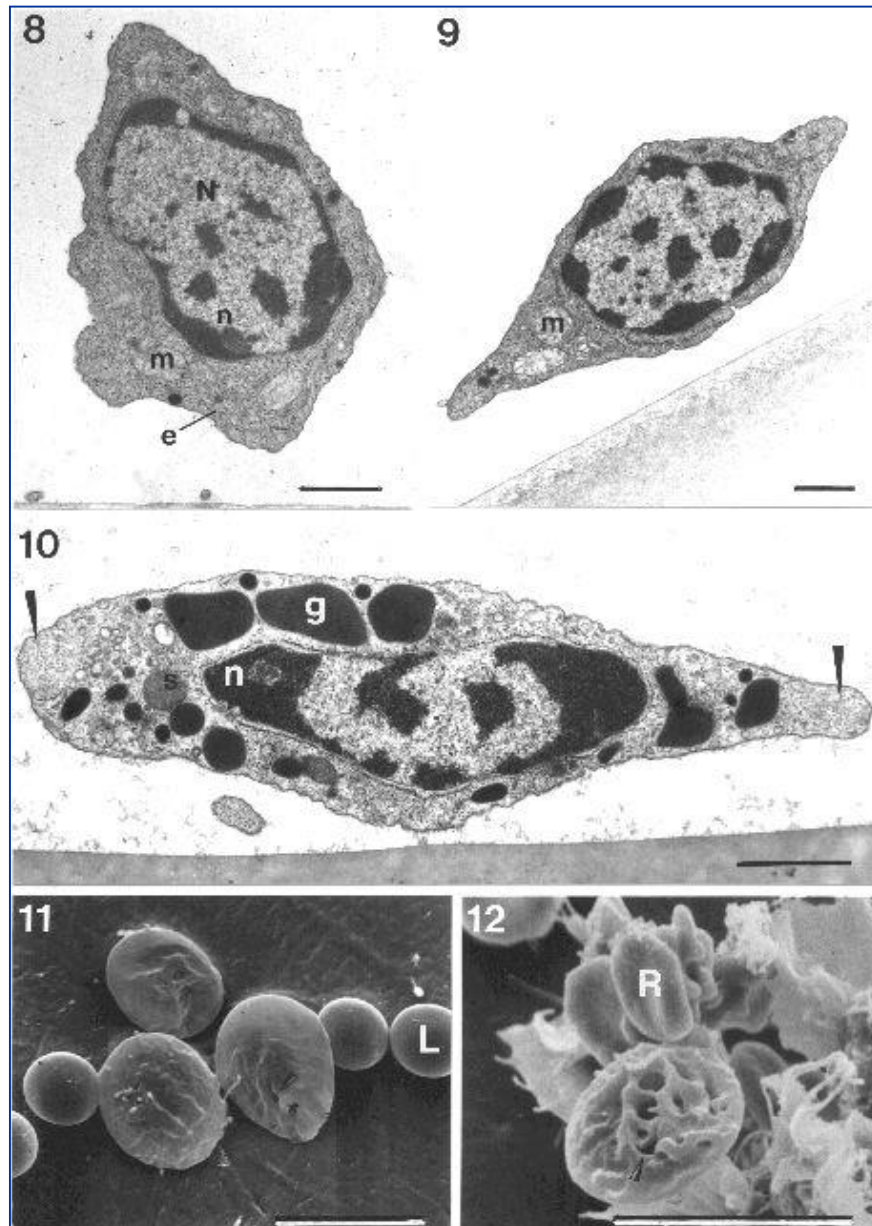


↓
Encapsulation

Crystal cell



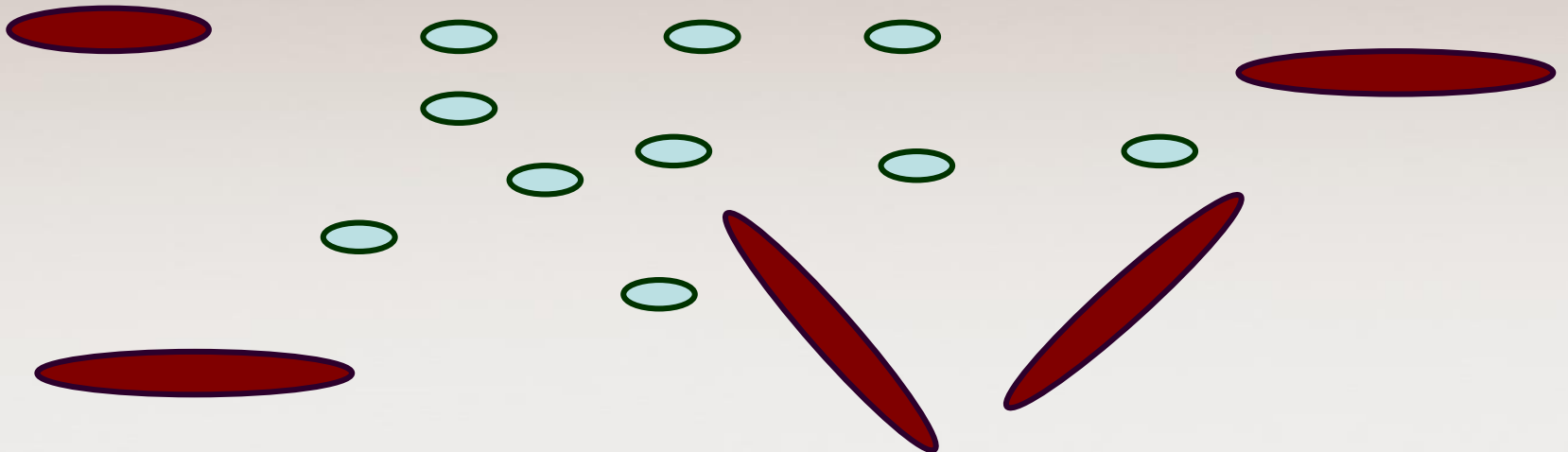
↓
Encapsulation
Coagulation



enkapsulace



tvorba nodulů

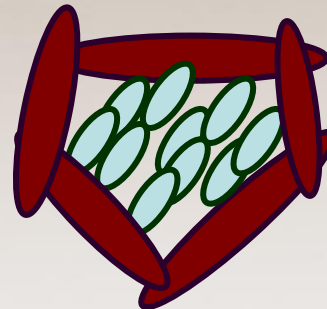
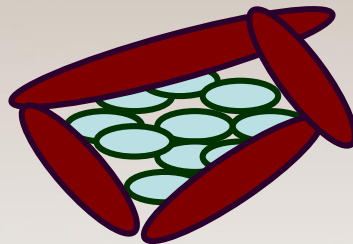


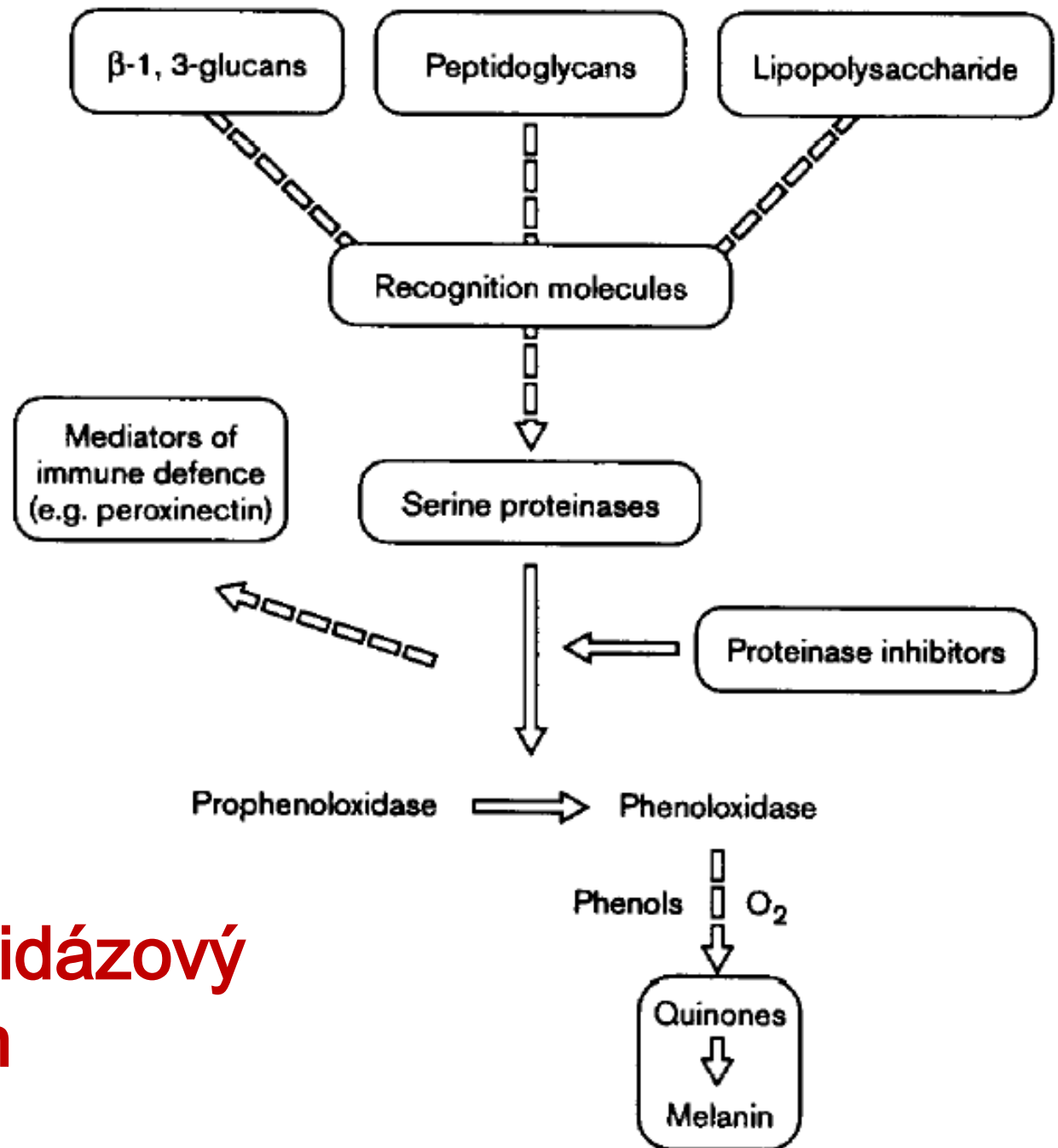
enkapsulace



melanizace

tvorba nodulů





**(pro)phenoloxidázový
systém**

Pathogen-associated molecules initiating melanization:

β -1,3-glucan
Lipopolysaccharide
Peptidoglycan
Non-self surfaces

+

Specific binding proteins

Serine proteinase cascade

Inactive PPAE

Active PPAE

Serpins

Phenoloxidase

Prophenoloxidase

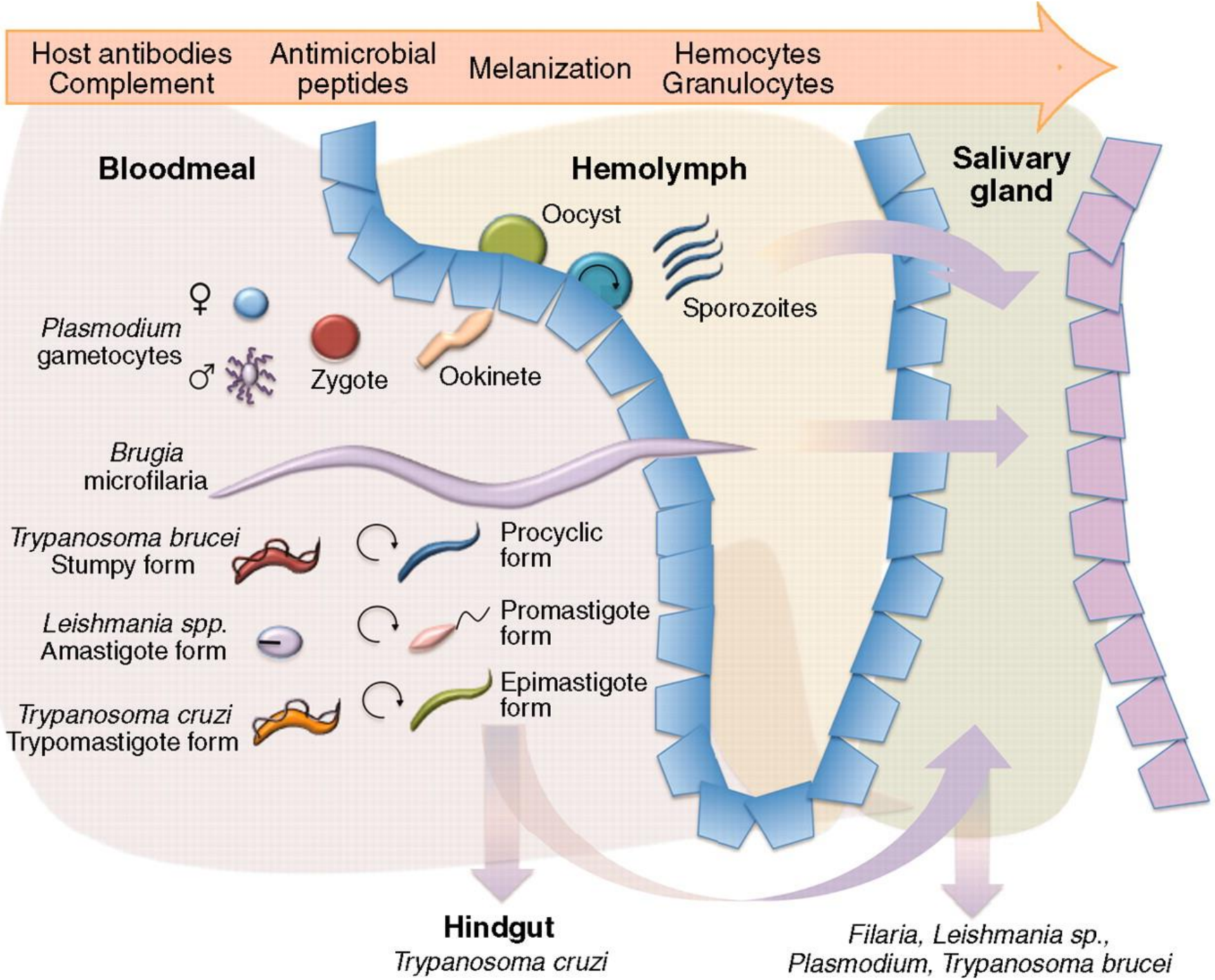
Monophenols
Diphenols
Catechols

+ O₂

Melanin



Bruce M. Christensen, Jianyong Li, Cheng-Chen Chen and Anthony J. Nappi. 2005. Melanization immune responses in mosquito vectors. *TRENDS in Parasitology* 21/4.



Host antibodies
Complement

Antimicrobial
peptides

Melanization

Hemocytes
Granulocytes

Bloodmeal

Hemolymph

**Salivary
gland**

Plasmodium
gametocytes
♀
♂

Oocyst

Sporozoites

Zygote

Ookinete

Brugia
microfilaria

Trypanosoma brucei
Stumpy form

Procyclic
form

Leishmania spp.
Amastigote form

Promastigote
form

Trypanosoma cruzi
Trypomastigote form

Epimastigote
form

Hindgut

Trypanosoma cruzi

Filaria, *Leishmania sp.*,
Plasmodium, *Trypanosoma brucei*