

PROTOZOÁRNÍ INFEKCE SLIZNIČNÍCH POVRCHŮ



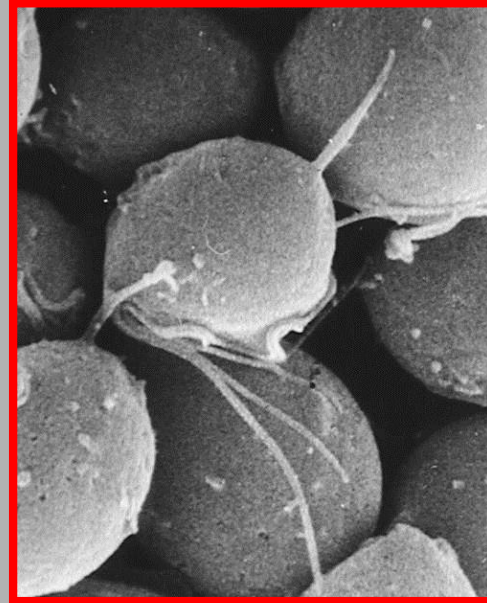
Molekulární a buněčné interakce parazita a hostitele, PřF MU 2016

NEINVAZNÍ PARAZITI SLIZNIC



Giardia intestinalis

TENKÉ STŘEVO



Trichomonas vaginalis

POCHVA

POVRCH SLIZNIC

MUKUS

VISKÓZNÍ KLUZKÝ SEKRET

- MUCINY

vysokomolekulární glykoproteiny

FLEXIBILNÍ – PROPLETENÉ FIBRILY – GELOVÉ SÍŤ

- DALŠÍ SLOŽKY

odlišné podle druhu sliznic a typu slizu

SPECIFICKÁ BAKTERIÁLNÍ BIOGENÓZA

ANTIMIKROBIÁLNÍ SLOŽKY

OCHRANNÉ ENZYMY - α ANTITRYPSIN

GLYKOPROTEINY EPITELÍ

ODLOUPANÉ EPITELIE

BUNĚČNÁ DRŤ



FUNKCE MUKUSU

- **OCHRANNÁ BARIÉRA**

ŠKODLIVÉ SUBSTANCE DUTIN ORGÁNŮ
TOXICKÉ SLOŽKY POTRAVY
INFEKČNÍ AGENS

PROUDĚNÍ SLIZU

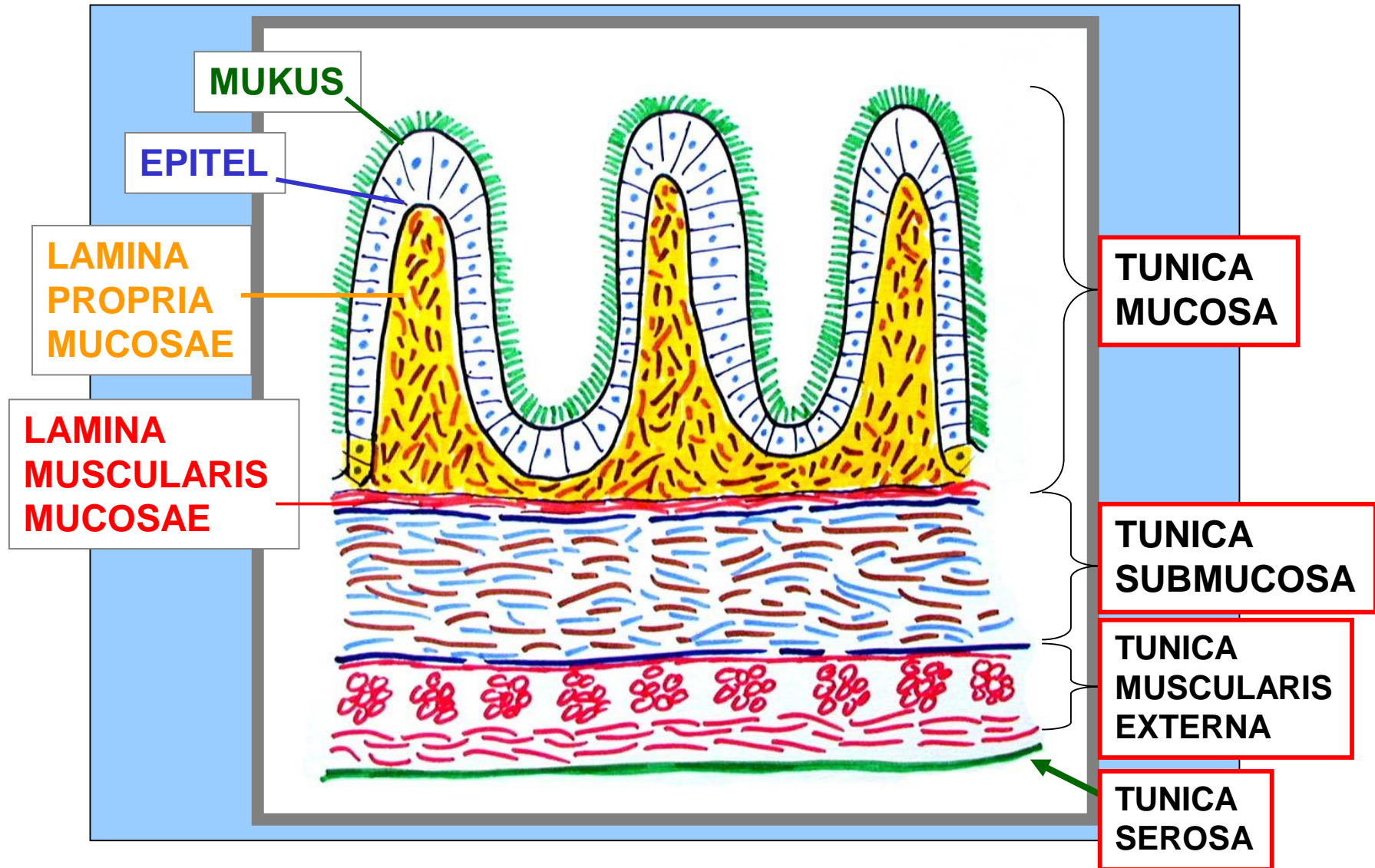
POHON: PERISTALTIKA
POHYB CILIÍ ŘASINKOVÉHO EPITELU

- **PROMAZÁVÁNÍ SLIZNIC**

KLUZKOST – OCHRANA PŘED MECHANICKÝM POŠKOZENÍM
PRŮCHOD POTRAVY A ODPADNÍCH PRODUKTŮ

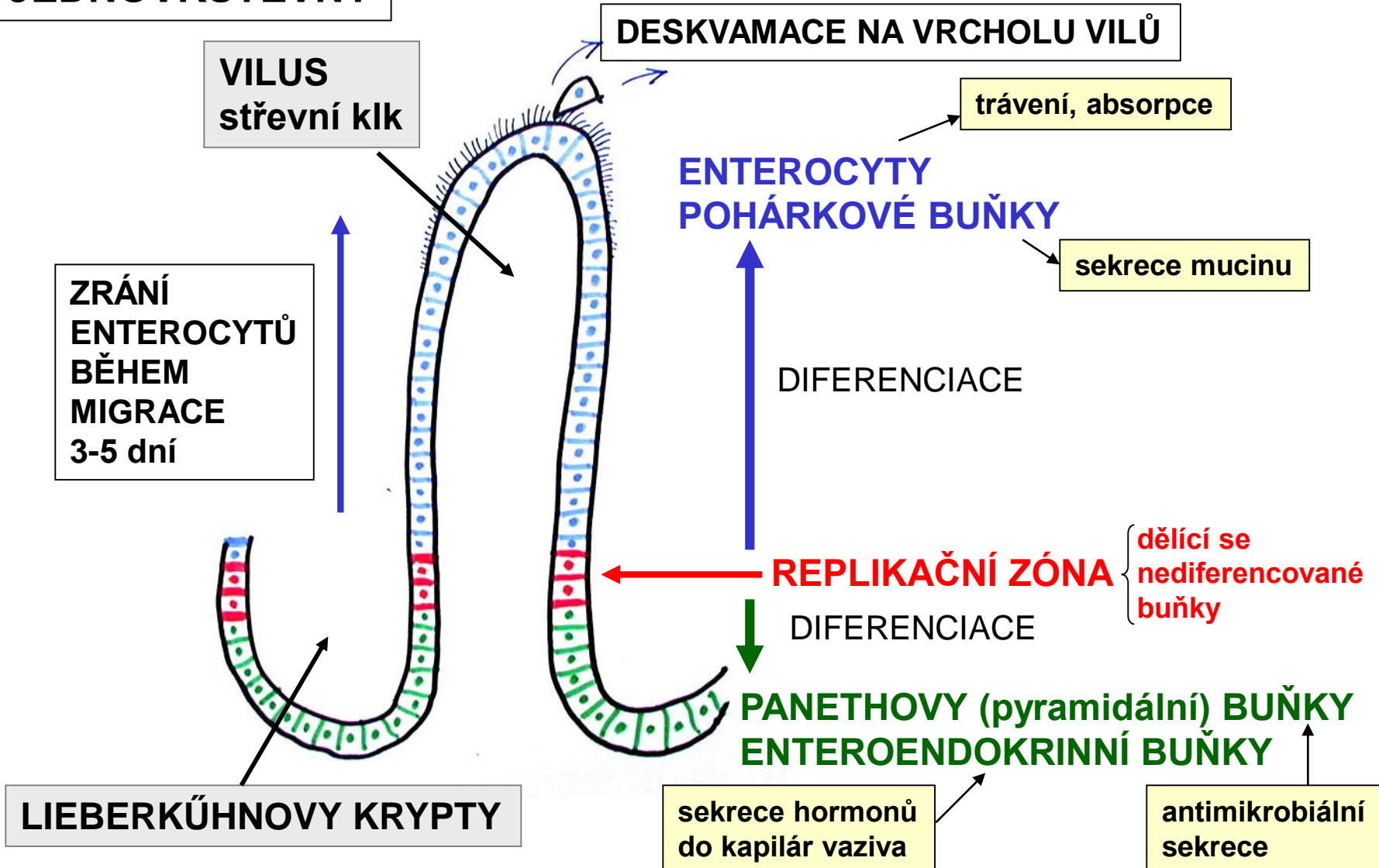
- **REGULACE VLHKOSTI**

STAVBA STŘEVA



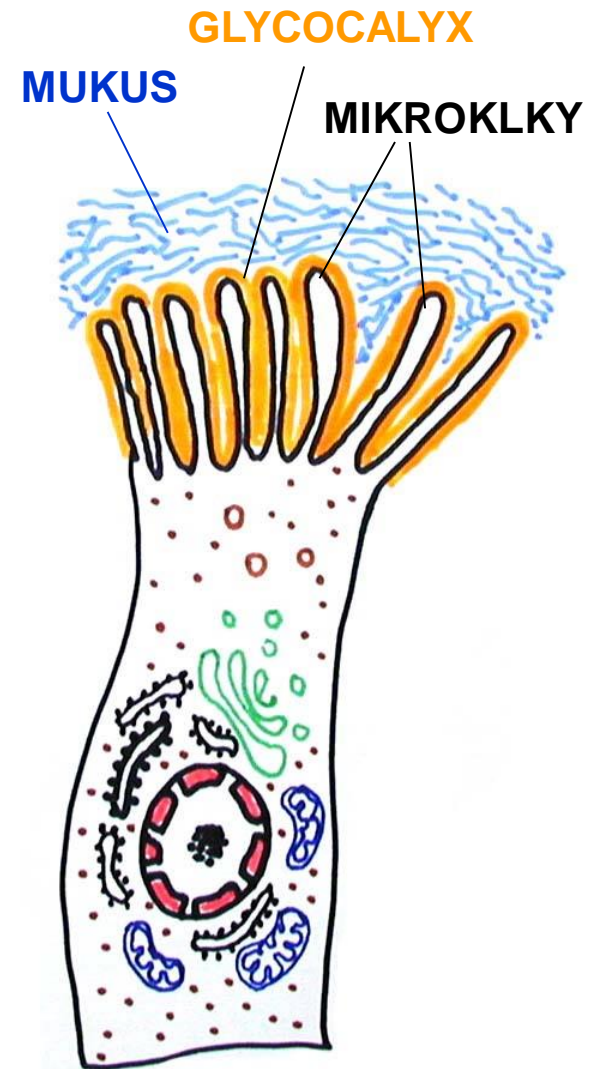
DIFERENCIACE A ZRÁNÍ STŘEVNÍHO EPITELU

JEDNOVRSTEVNÝ



ENTEROCYTY

- **POVRCHOVÉ TRÁVENÍ**
disacharidázy, alkalické peptidázy
- **PŘÍJEM A TRANSPORT ŽIVIN, MINERÁLŮ A VODY**
Na⁺- gradient synport: glukóza-Na⁺
 aminokyseliny-Na⁺
Na - K – ATPáza
- **ZRÁNÍ ENTEROCYTŮ BĚHEM MIGRACE Z KRYPT K VRCHOLU KLKŮ**
- **POSTUPNÝ VÝVIN MIKROVILŮ A FUNKČNÍ KAPACITY**



PRODUKCE MUCINŮ

EPITELIE SLIZNIC
POHÁRKOVÉ BUŇKY
SLIZOVÉ ŽLÁZY

POHÁRKOVÁ BUŇKA

GOBLET CELL

MUCIN

THÉKA

stěna zpevněna
síť mt a imf

MITOCHONDRIE

GOLGI

JÁDRO

RER

KONSTITUTIVNÍ SEKRECE

DOPRAVA ZRALÝCH GRANULÍ
PO MIKROTUBULECH
K MEMBRÁNĚ EXOCYTÓZA

HROMADNÁ EXOCYTÓZA

HROMADNÉ VYPŘÁZDNĚNÍ
THÉKY VČETNĚ NEZRALÝCH
GRANULÍ

REGULACE SEKRECE

SIGNÁLNÍ SOUSTAVY, NEUROTRANSMITERY, MEDIÁTORY ZÁNĚTU, PRODUKTY PATOGENŮ
(lektiny, toxiny)

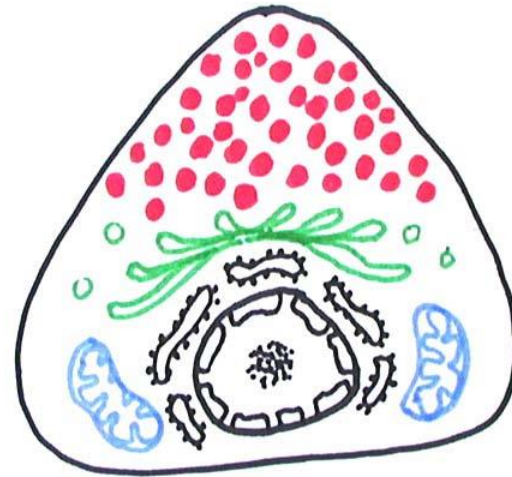
Dlouhodobá stimulace sekretogenními faktory patogenů ➡ hypersekrece ➡ sekrece
nezralého mucinu ➡ vyčerpání zásob mucinových granulí ➡ narušení mucinové vrstvy

PANETOVY BUŇKY

PYRAMIDÁLNÍ BUŇKY
NA BÁZI KRYPT

SEKREČNÍ GRANULA
V APIKÁLNÍ ZÓNĚ
ANTIMIKROBIÁLNÍ SEKRECE

GRANULA OBSAHUJÍ: **lysozym**
sekreční fosfolipázu A
TNF - α
defensiny (cryptidiny)



DEFENSINY

MALÉ ANTIMIKROBIÁLNÍ PEPTIDY

3 – 6 kDa

hydrofobní a polární oblast (+)

α , β - v granulích panethových buněk > 20 různých α -defensinů

FUNKCE PERFORINŮ VKLÁDÁNÍ DO MEMBRÁNY CÍLOVÉ BUŇKY, SDRUŽOVÁNÍ V MULTIMERNÍ PÓRY

FUNKCE SIGNÁLNÍCH MOLEKUL AKTIVACE DALŠÍCH ODPOVĚDÍ NA INFEKCI

VYŽADUJÍ PROTEOLYTICKOU AKTIVACI

AKTIVÁTOR **MATRILYSIN**

přítomen rovněž v granulích panethových buněk

METALOPROTEINÁZA – ODŠTĚPENÍ SEKVENCE NA N-KONCI

PROTIINFEKČNÍ FUNKCE MUKUSU

1. MECHANICKÁ BARIÉRA

PREVENCE KONTAKTU PATOGENA

S MEMBRÁNOVÝMI RECEPTORY SLIZNICE

vazba patogena na makromolekulární komponenty

polapení → imobilizace v gelu → vyloučení

2. PRE-EPITELIÁLNÍ BARIÉRA

- ANALOGY RECEPTORŮ PRO PARAZITÁRNÍ LEKTINY
A SPECIFICKÉ LIGANDY JSOU SOUČÁSTÍ MUCINŮ

obsazení vazebných míst parazita před
jeho kontaktem s epitelem

- SVLÉKÁNÍ EPITELIÁLNÍCH RECEPTORŮ
EXPORT DO MUKUSU

ochranná zóna v blízkosti epitelu sliznice
prevence kolonizace parazitem

PROTIINFEKČNÍ FUNKCE MUKUSU

3. LAKTOFERIN

VAZBA VOLNÉHO ŽELEZA

NUTRIČNÍ IMUNITA INHIBICE MNOŽENÍ

4. BAKTERIOSTATICKÉ ENZYMY A DEFENSINY

LYSOZYM, FOSFOLIPÁZA A, CRYPTIDINY

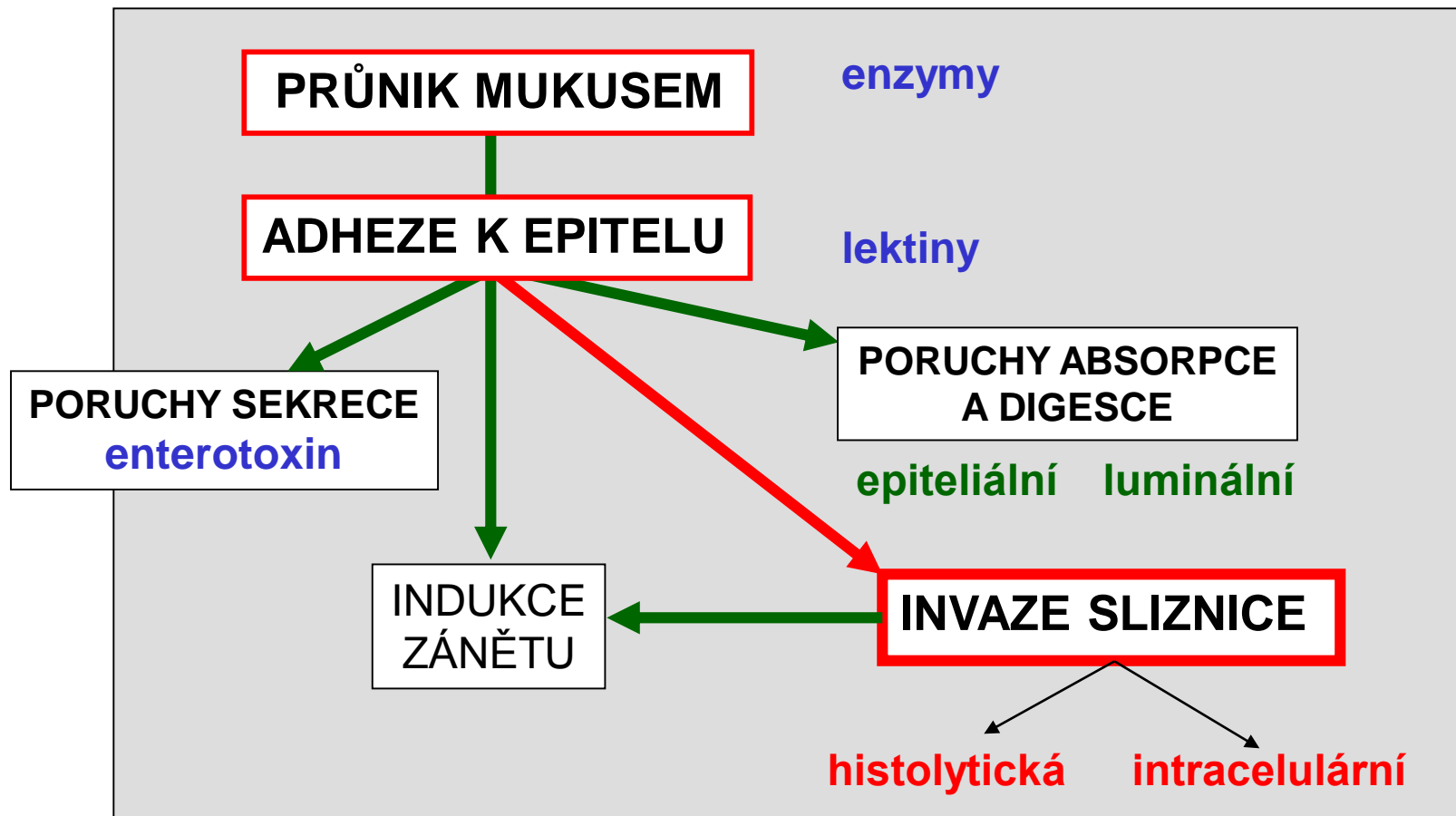
5. SEKREČNÍ PROTIŁÁTKY

LOKÁLNĚ PRODUKOVANÉ, SPECIFICKÉ

IgA, IgM, IgG

slgA (sekretorický IgA): nejdůležitější

INTERAKCE PATOGENŮ SE STŘEVNÍ SLIZNICÍ



RŮZNÉ FORMY PRŮJMOVÝCH ONEMOCĚNÍ



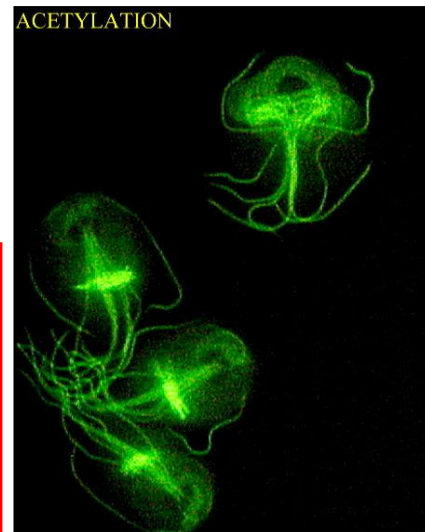
GIARDIA - GIARDIOSIS

DIPLOMONADIDA METAMONADA

Giardia intestinalis

syn.: ***G. lamblia***

G. duodenalis

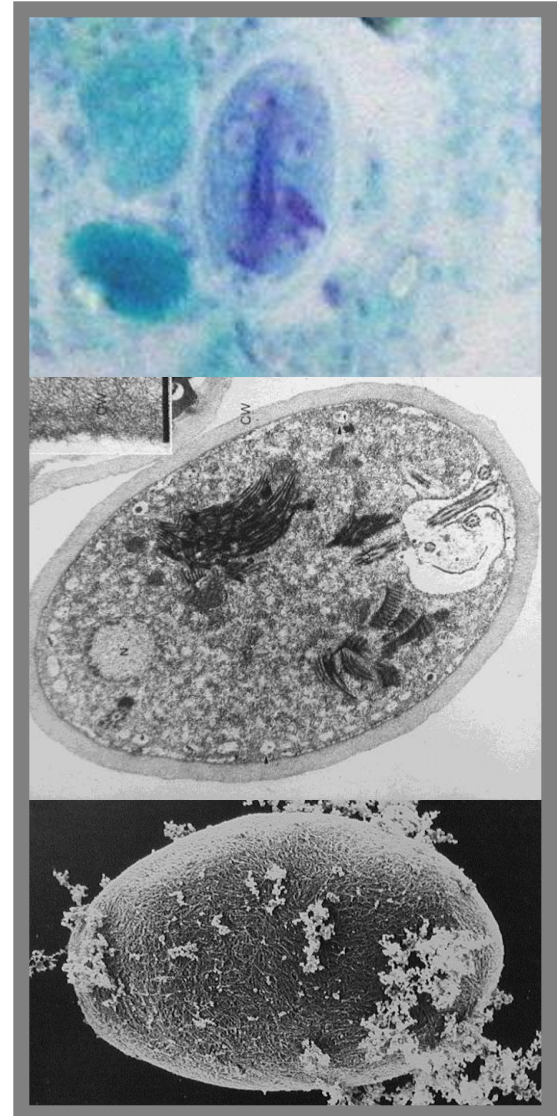
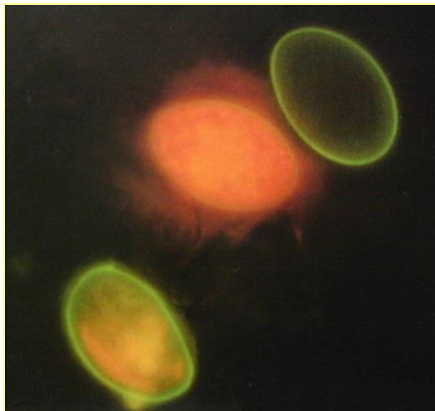


- ANAEROBNÍ (MIKROAEROFILNÍ) PRVOK
- PŘÍMÝ VÝVOJOVÝ CYKLUS: TROFOZOIT – CYSTA
- HOSTITEL: ČLOVĚK A JINÍ OBRATLOVCI
- LOKALIZACE: HORNÍ ČÁST TENKÉHO STŘEVA
DUODENUM, JEJUNUM
- **GIARDIOSIS (GIARDIÓZA)**
STŘEVNÍ PRŮJMOVÉ ONEMOCNĚNÍ

PŘENOS INFEKCE

CYSTY

- PŘÍMÝ FEKÁLNÉ ORÁLNÍ PŘENOS
DĚTSKÉ KOLEKTIVY
- KONTAMINACE VODY
EPIDEMIE USA
- KONTAMINACE POTRAVIN
- ZOONOTICKÝ PŘENOS
BOBR, ONDATRA
EPIDEMIE V REKREAČNÍCH
OBLASTECH (USA, Kanada)



CYSTY

- **VELMI INFEKČNÍ**

Minimální infekční dávka pro člověka ~ 10 cyst
V 1ml infekční stolice až 300 milionů cyst

- **VELMI REZISTENTNÍ**

Přežijí > 3 měsíce ve studené vodě

Přežijí krátkodobé zmražení

Přežijí běžné chlorování pitné vody

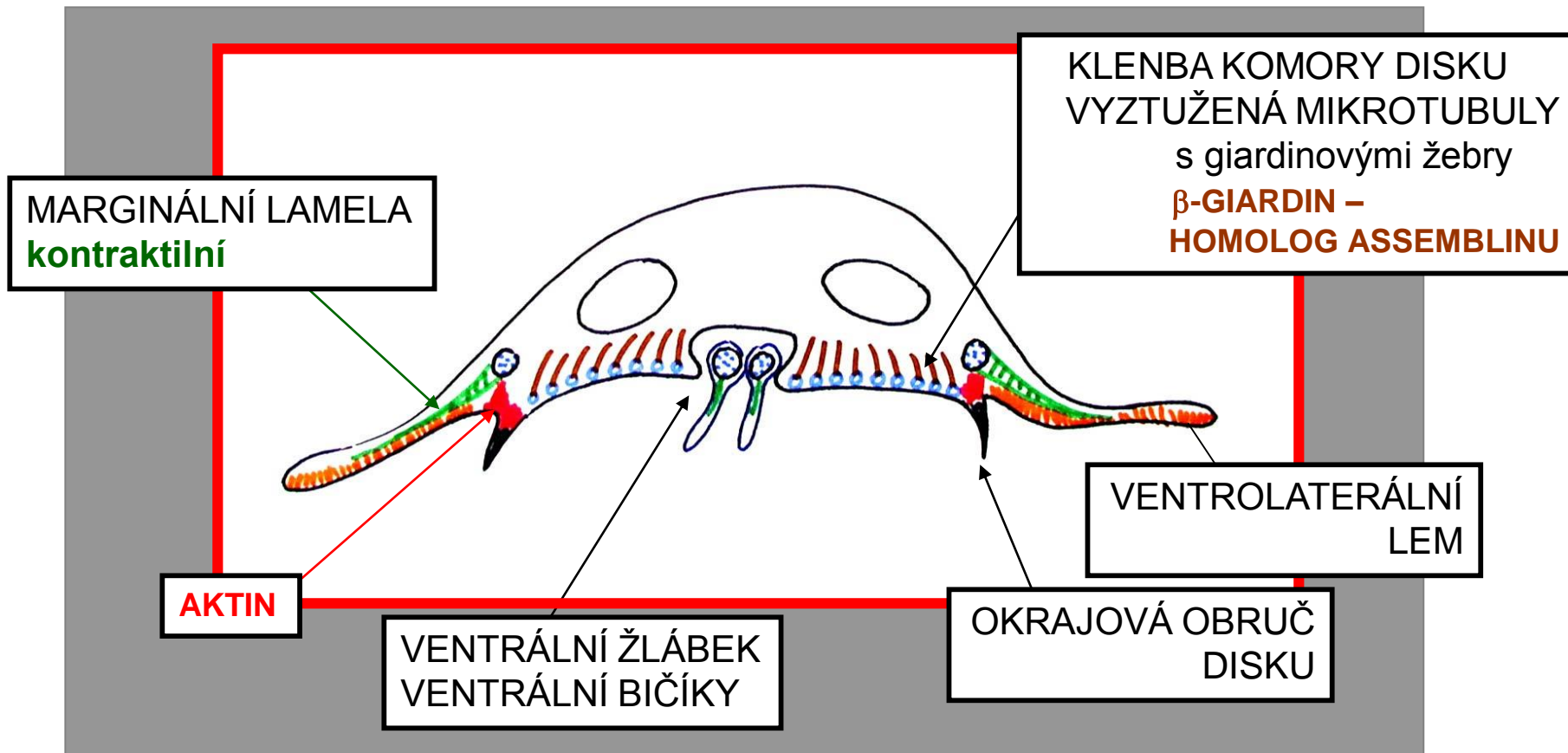
Citlivost ke chloru ovlivněna:

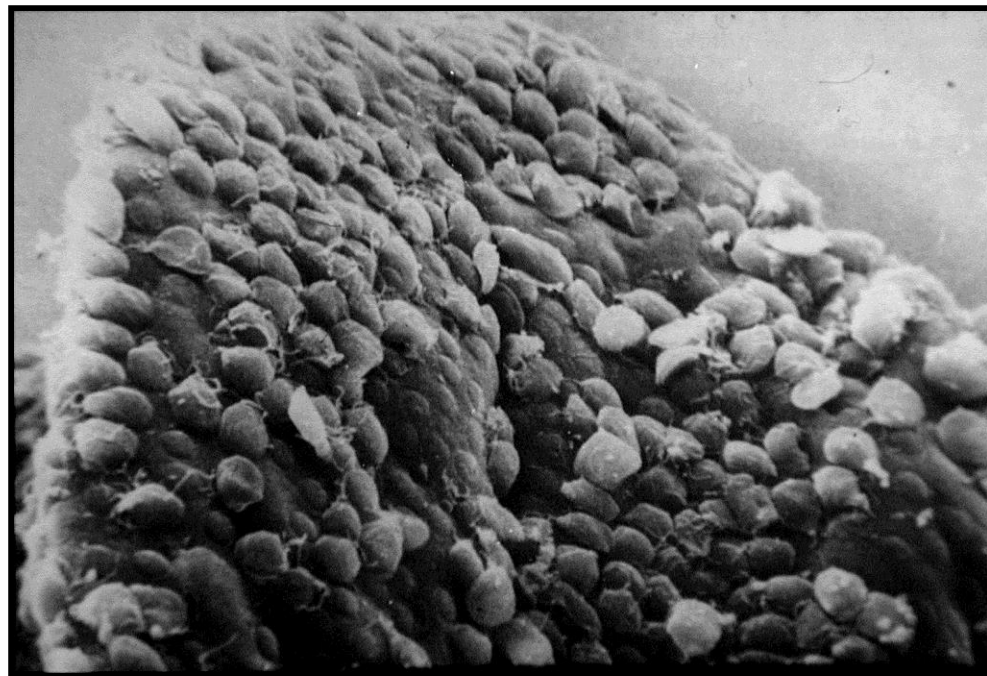
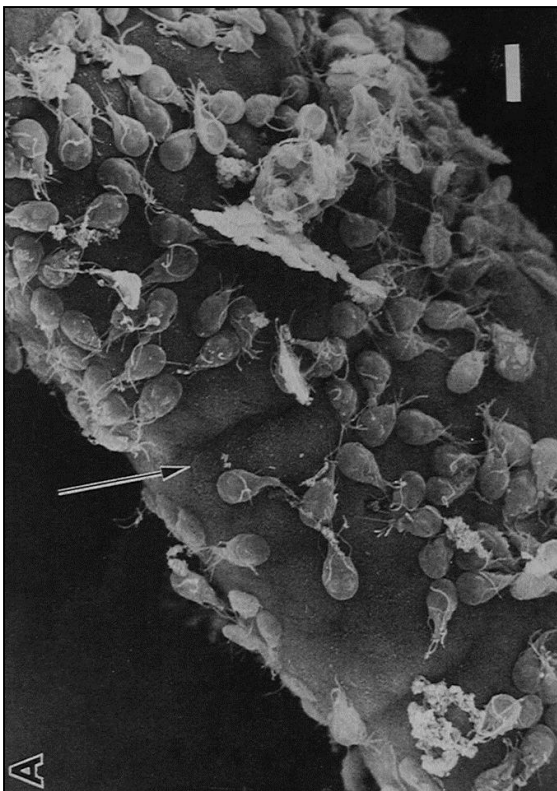
koncentrací, délkou expozice, teplotou, pH

KOLONIZACE STŘEVNÍ SLIZNICE

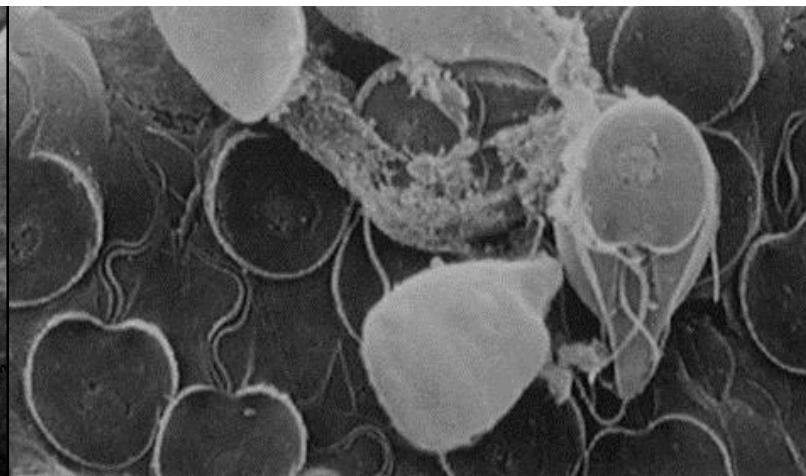
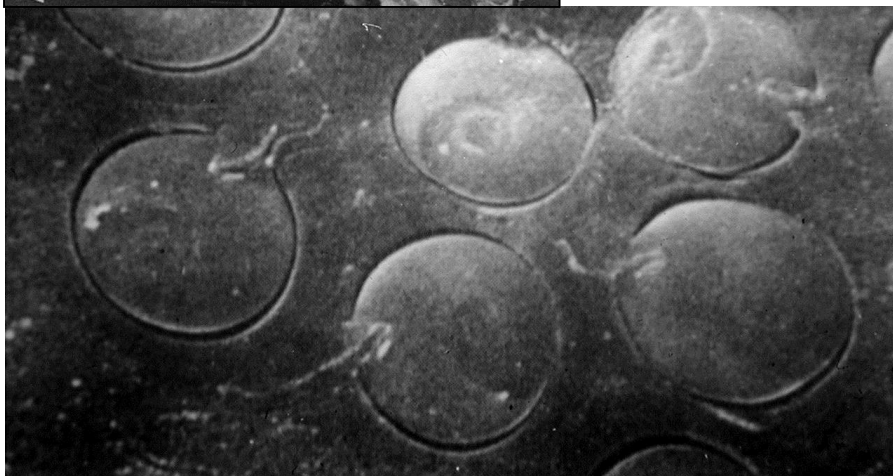
PŘÍSAVNÝ DISK

INTEGRITA DISKU PODMÍNKOU PŘICHYCENÍ

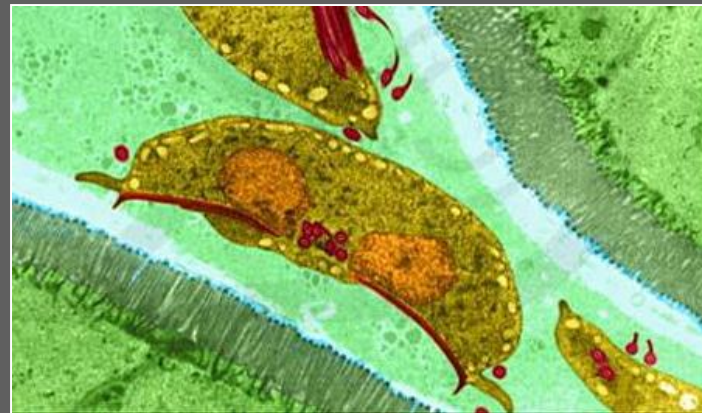
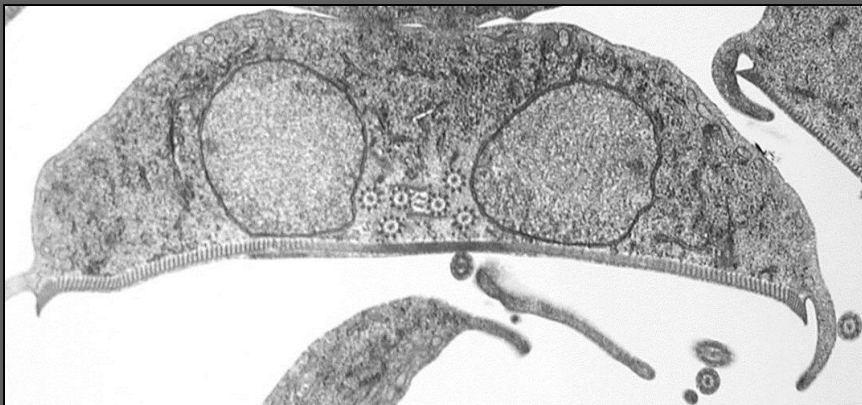




STŘEVNÍ VILUS INFIKOVANÝ GIARDIEMI



OTISKY PŘÍSAVNÉHO DISKU NA POVRCHU STŘEVNÍ SLIZNICE



POŠKOZENÍ MIKROVILŮ V MÍSTĚ
KONTAKTU

VKLÍNĚNÍ PŘÍSAVNÉHO DISKU MEZI MIKROVILY ENTEROCYTŮ

TAGLIN = α 1- GIARDIN

TAGLIN - LEKTIN GIARDÍÍ

SPECIFITA: **MANOSO-6-FOSFÁT**

INAKTIVNÍ PROLEKTIN

AKTIVACE TRYPSINEM Ca^{2+} , Mn^{2+}

PŘEDPOKLADY PRO UPLATNĚNÍ IN VIVO:

- PŘÍTOMNOST TRYPSINU V MÍSTĚ INFEKCE
- OPTIMÁLNÍ AKTIVITA PŘI FYZIOLOGICKÉM pH (pH 6.5)
- PŘÍTOMNOST MANOSYLOVÝCH VAZEBNÝCH MÍST NA ENTEROCYTECH

POTVRZENO IN VITRO: vazba na enterocyty, vazba na izolovaný kartáčový lem

VÝZNAM PŘI KOLONIZACI SLIZNICE

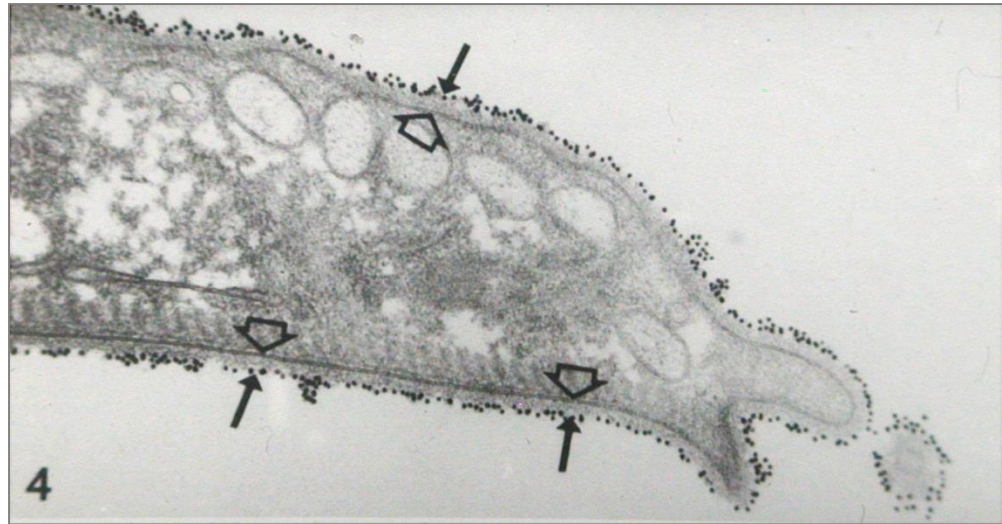
SOUČÁST PŘICHYCOVACÍCH MECHANISMŮ

ROZPOZNÁNÍ VHODNÉHO MÍSTA PRO KOLONIZACI

VARIABILNÍ POVRCHOVÉ PROTEINY (VSP)

Povrchový plášť
18 nm

EXPRIMOVÁN VŽDY
JEN JEDEN VSP
Repertoár:
235 – 275 GENŮ



SKUPINA PROTEINŮ S VYSOKÝM OBSAHEM CYSTEINU

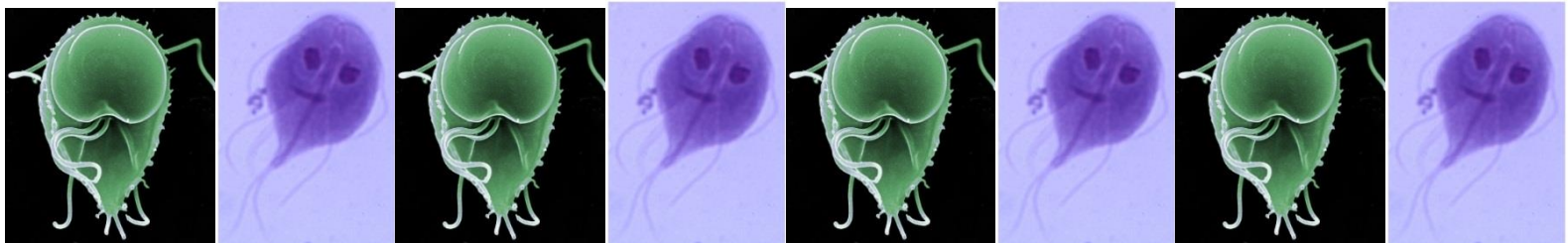
30 – 200 kDa

VAZEBNÁ MÍSTA PRO Zn STRUKTURÁLNĚ PODOBNÁ „ZINK FINGERS“ REGULAČNÍCH PROTEINŮ.

NEMAJÍ GPI KOTVU – HYDROFÓBNÍ TRANSMEMBRÁNOVÁ OBLAST NA C-KONCI ZAKONČENÁ CHARAKTERISTICKOU SEKVENCÍ **GRGKA** (glycin – arginin – glycin – lysin – alanin).

VSG GENY A VÝMĚNA ANTIGENNÍCH VARIANT

- KAŽDÝ VSP KÓDOVÁN SAMOSTATNÝM GENEM (obvykle 4 kopie jednotlivých VSP genů / genom)
- GENY ROZPTÝLENY V GENOMU NA RŮZNÝCH MÍSTECH VŠECH CHROMOSOMŮ V MALÝCH SKUPINÁCH (2-9 genů těsně za sebou),
- AKTIVACE A INAKTIVACE *in situ* BEZ GENOVÉ KONVERZE NEBO SEKVENČNÍCH ZMĚN.
- VÝMĚNA VARIANTY OBVYKLE PO 6 – 13 GENERACÍCH *in vivo* I V NESELEKTIVNÍM PROSTŘEDÍ.
- MÍSTO NÁSLEDNÝCH VLN DOMINANTNÍCH VARIANT ROZPAD POPULACE NA SMĚS HETEROGENNÍCH FENOTYPŮ.



PATOGENEZE

- KOLONIZACE POVRCHU STŘEVA
- VKLÍNĚNÍ OKRAJE PŘÍSAVNÉHO DISKU MEZI MIKROVILY ENTEROCYTŮ
- DEFORMACE A VEZIKULACE MIKROVILŮ
- ZTENČENÍ GLYKOKALYXU
- ZKRÁCENÍ A ZTLUŠTĚNÍ STŘEVNÍCH KLKŮ
- MÍRNÉ ZÁNĚTLIVÉ ZMĚNY

V TĚŽŠÍCH PŘÍPADECH

- LOŽISKOVÝ AKUTNÍ ZÁNĚT EPITELU KRYPT ev. VILŮ

PRŮJEM OSMOTICKÉHO (MALABSORPČNÍHO) TYPU

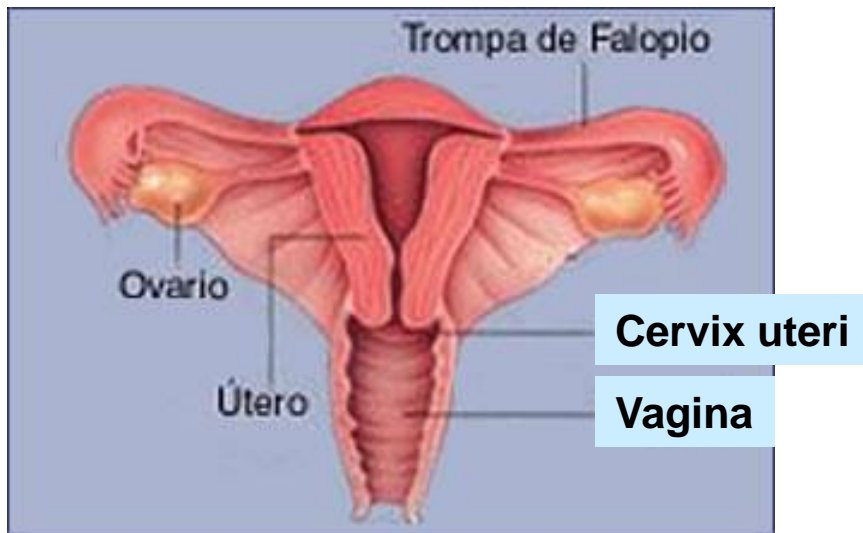
Patologické změny reverzibilní po úspěšné terapii

Zpravidla účinná imunitní odpověď (IgA) a postinfekční imunita

TRICHOMONAS VAGINALIS

SEXUÁLMĚ PŘENOSNÝ PATOGEN

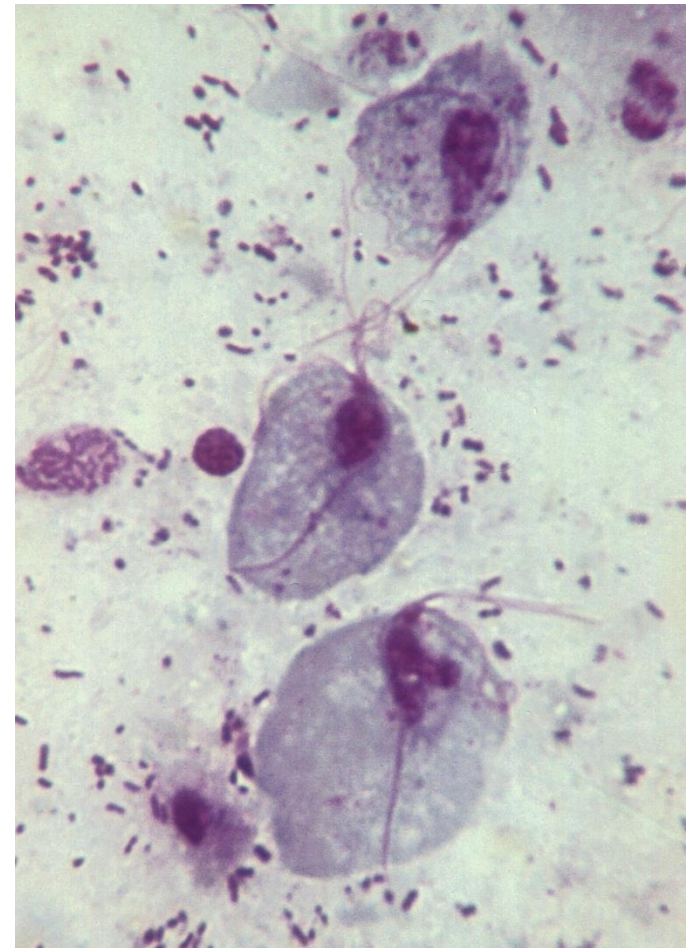
Primární místo infekce: **VAGINA**



KLINICKÉ PROJEVY PŘEVÁŽNĚ U ŽEN
VAGINITIS

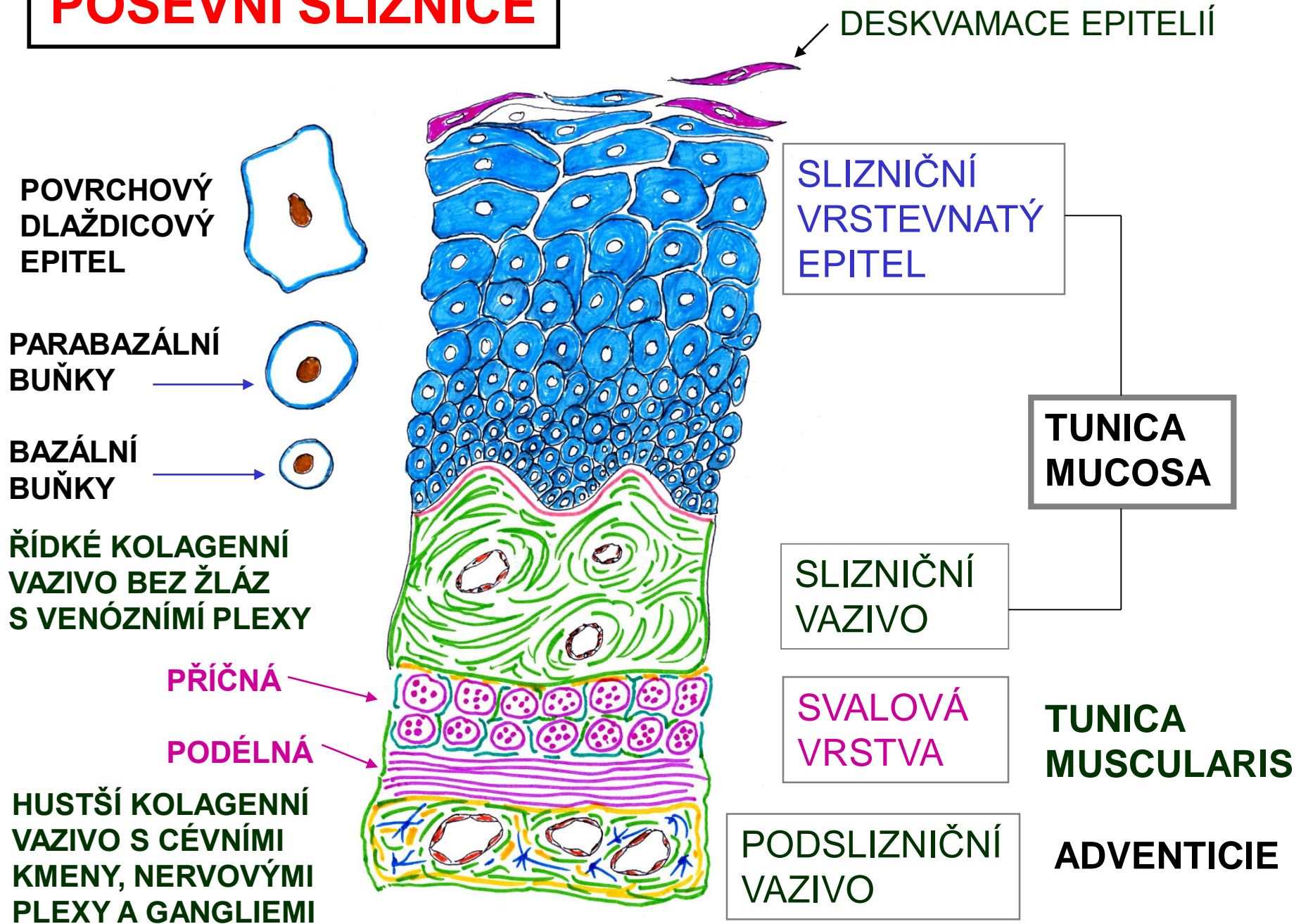
MUŽ – PŘENAŠEČ INFEKCE

**VÝJIMEČNĚ ZÁNĚT URETRY NEBO
PROSTATY**



Poševní sliznice

POŠEVNÍ SLIZNICE



PROSTŘEDÍ POCHVY

AUTOCHTONNÍ OSÍDLENÍ
Lactobacillus acidophilus

ROZPAD DESKVAMOVANÝCH EPITELIÍ
→ UVOLŇOVÁNÍ GLYKOGENU →
→ ENERGETICKÝ SUBSTRÁT PRO
LAKTOBACILY → PRODUKCE LAKTÁTU
→ KYSELÉ pH POŠEVNÍHO SEKRETU
(~ pH 4) = OBRANA PROTI INFEKCI



Trichomonas vaginalis

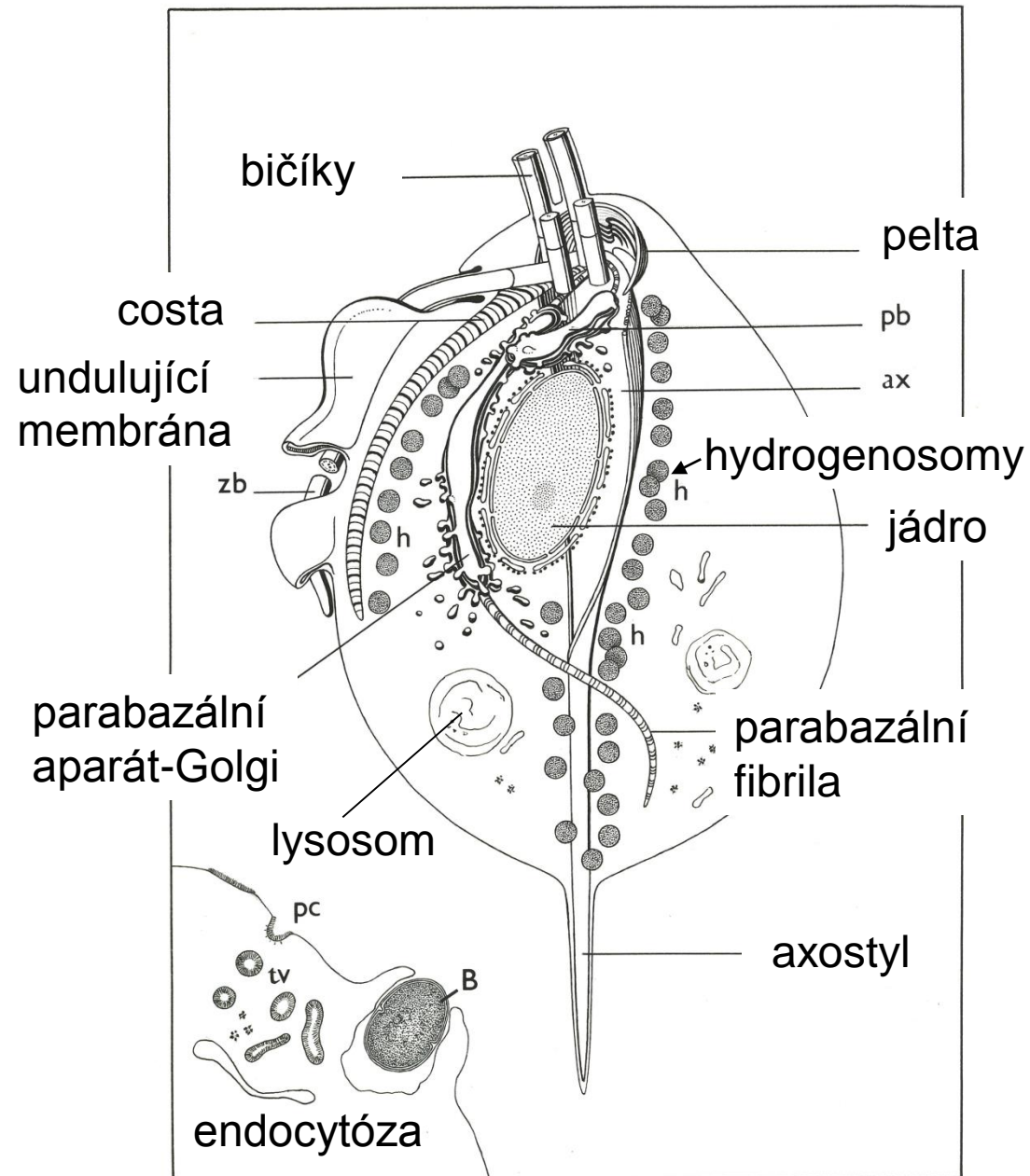
MIKROAEROFILNÍ
ADAPTOVANÝ K ŽIVOTU
V PROMĚNLIVÉM PROSTŘEDÍ
POCHVY

POUZE TROFOZOITI
CYSTY NETVOŘÍ
PŘENOS VÝHRADNĚ
SEXUÁLNÍM STYKEM

PŘI KONTAKTU S TKÁNÍ
AMEBOIDNÍ TRANSFORMACE

POKROČILÁ ORGANIZACE
BUŇKY

DOBŘE VYVINUTÝ GOLGI,
ENDOCYTÓZA PINOCYTÓZOU
I FAGOCYTÓZOU
HYDROGENOSOMY
OPORNÝ CYTOSKELET



Trichomonas vaginalis, Parabasala

INFEKCE TRICHOMONAS VAGINALIS

TYPICKY: INFEKCE ŽEN VE FERTILNÍM VĚKU
VYŽADUJE HORMONÁLNĚ PŘIPRAVENÝ TERÉN

- **DŮSLEDEK ÚČINKU HORMONŮ NA EPITELIE POŠEVNÍ SLIZNICE**

→ **PRODUKCE GLYKOGENU**

ENERGETICKÝ SUBSTRÁT PRO TRICHOMONÁDY

ELIMINACE LAKTOBACILŮ

TRICHOMONÁDOVOU INFEKCI

ZMĚNA pH POŠEVNÍHO SEKRETU NA pH >5

ÚNIKOVÉ MECHANISMY

- **MODIFIKACE POVRCHOVÝCH ANTIGENŮ**
jde o fenotypické modifikace epitopů, ne o expresi genů pro variabilní antigeny
- **SEKRECE SOLUBILNÍCH IMUNOGENŮ**
potlačení cytotoxické a protilátkové odpovědi proti důležitým antigenům
- **MASKOVÁNÍ**
vazba plasmových proteinů na povrch buňky parazita
- **CYSTEINOVÉ PROTEINÁZY**
degradace IgA, IgG a komplementu

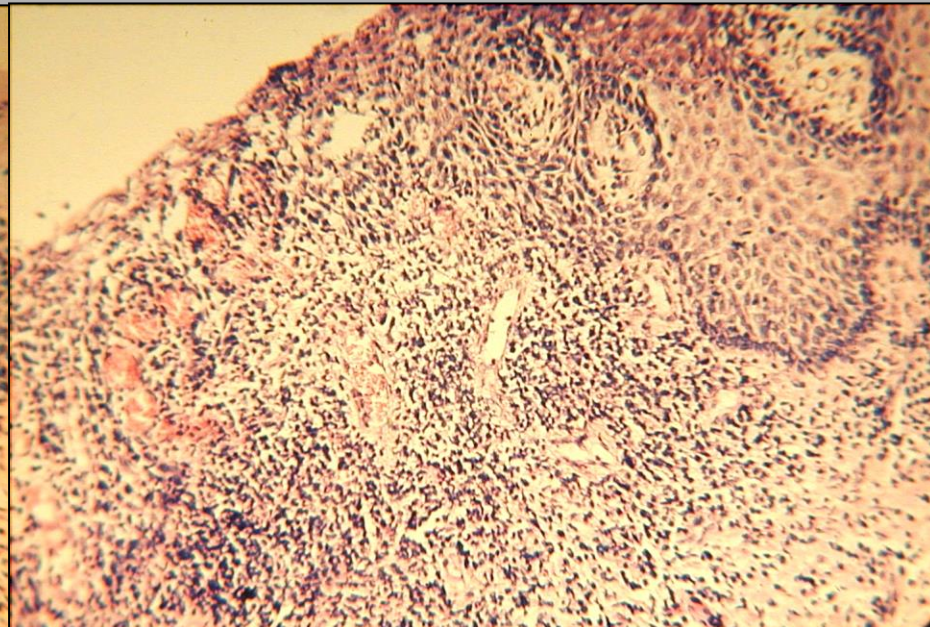
POSTUP INFEKCE TRICHOMONAS VAGINALIS



POŠEVNÍ SLIZNICE

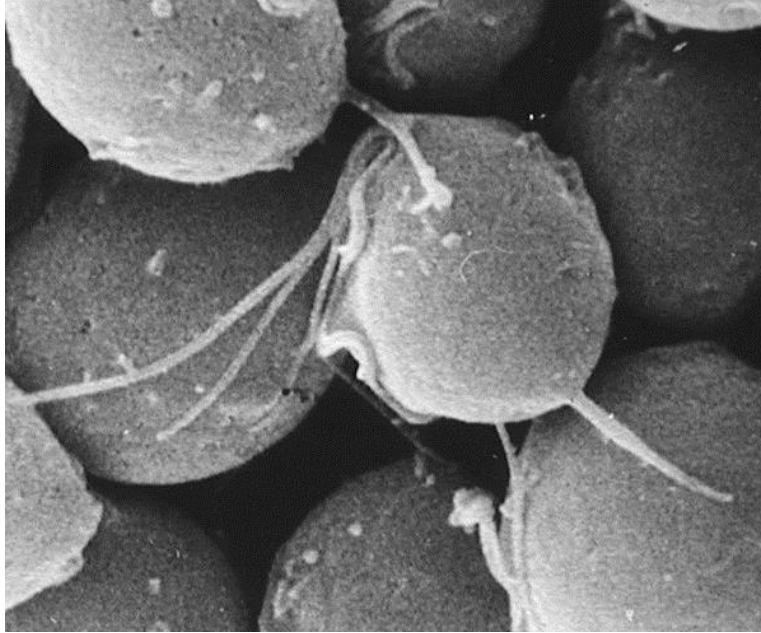


NORMÁLNÍ

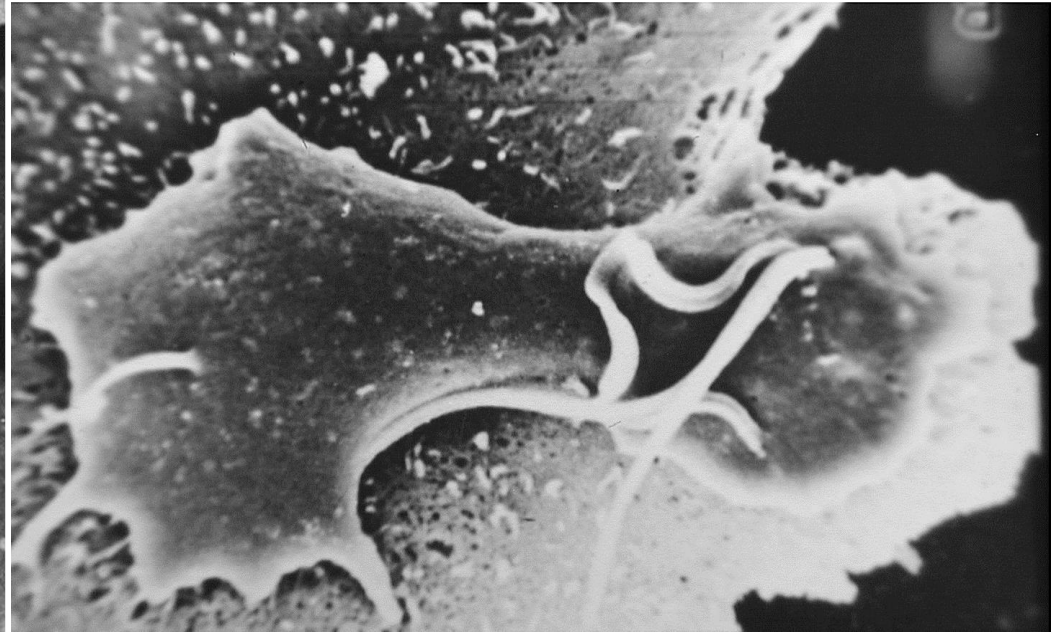


**INFIKOVANÁ
TRICHOMONAS VAGINALIS**

AMEBOIDNÍ TRANSFORMACE



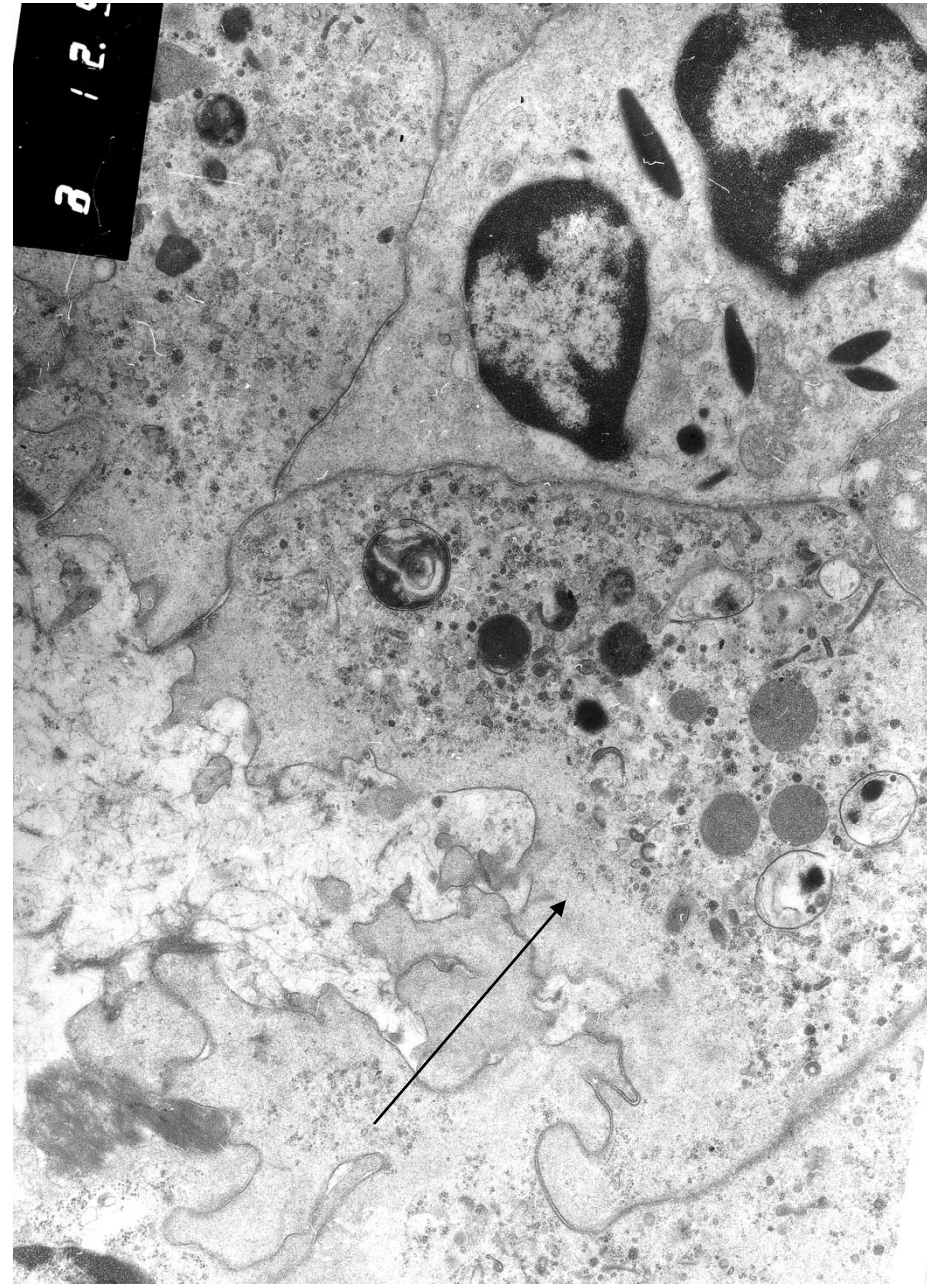
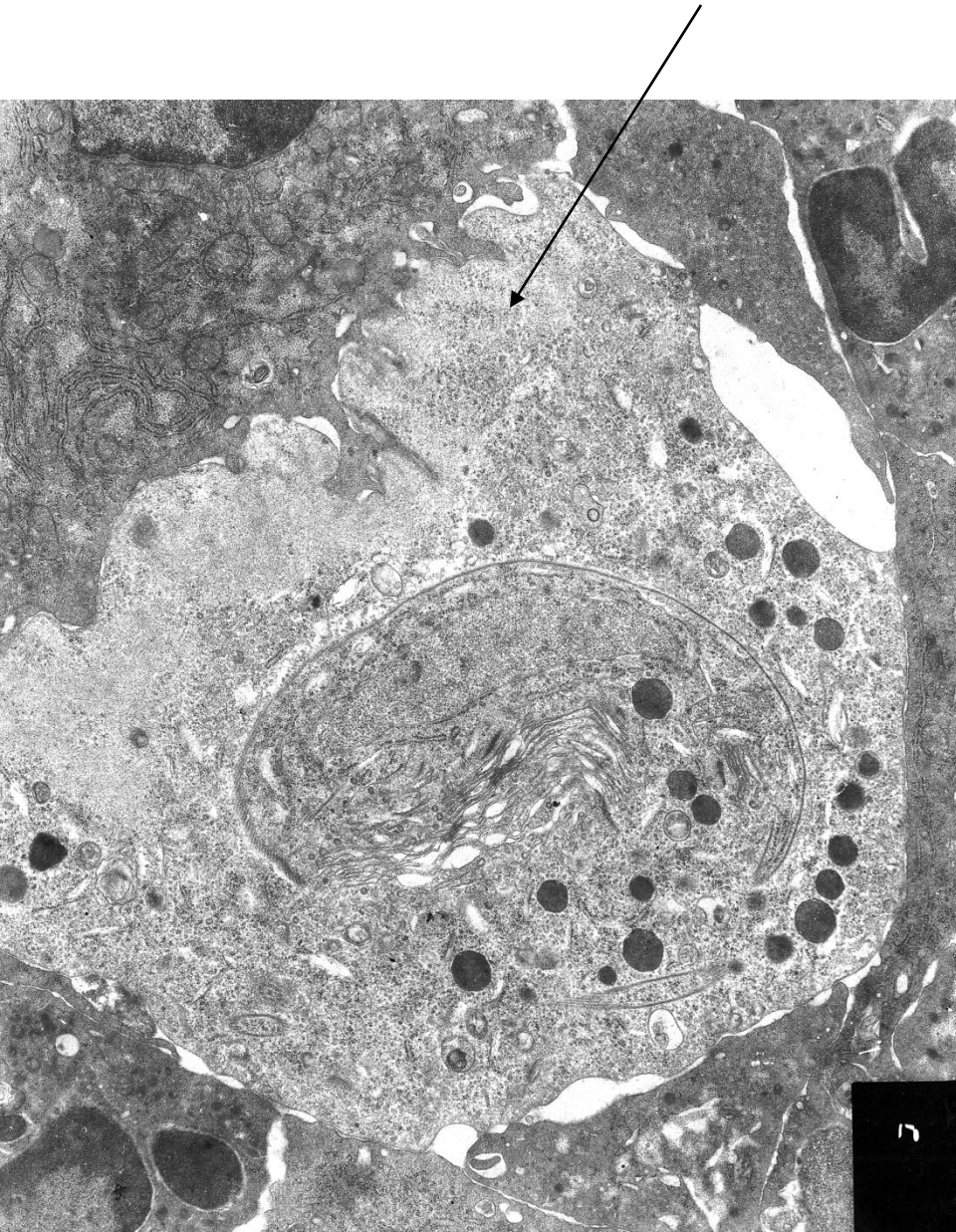
NORMÁLNÍ TROFOZOIT



**TRANSFORMOVANÝ
TROFOZOIT PO KONTAKTU S
TKÁNÍ**

**Indukce in vitro: kontakt s ECM
proteiny – fibronectin, laminin**

INTERAKCE AMEBOIDNÍCH TRICHOMONÁD S TKÁNÍ HOSTITELE



ZÁVĚR

- **PATOLOGICKÉ ZMĚNY NA SLIZNICÍCH BEZ PŘÍMÉ INVAZE BUNĚK A TKÁNÍ**
- **TĚSNÝ KONTAKT S EPITELEM SLIZNIC NEZBYTNÝ**
- **RŮZNÉ ZPŮSOBY PŘICHYCENÍ:**
 - **PŘÍSAVNÝ DISK – *Giardia***
 - **AMÉBOIDNÍ TRANSFORMACE – *Trichomonas***

VÝZNAMNÁ ÚLOHA ADHEZIVNÍCH MOLEKUL