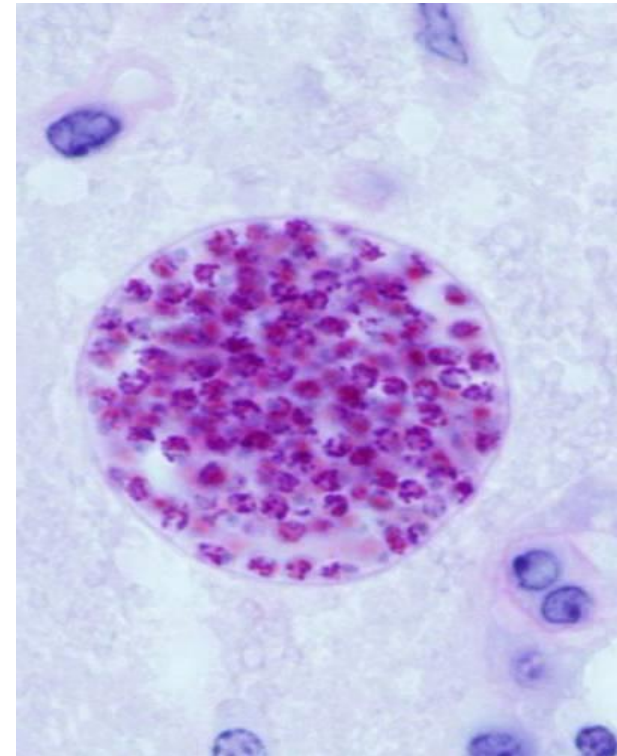
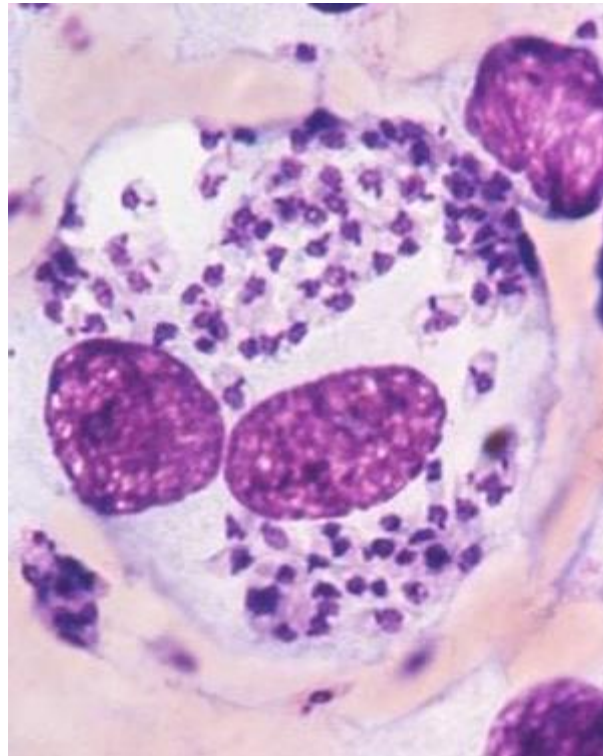
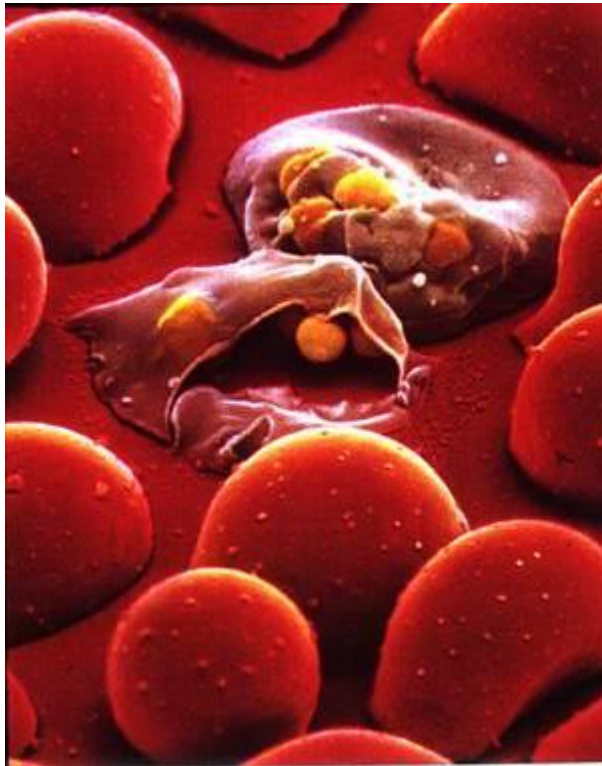


INTRACELULÁRNÍ PARAZITISMUS



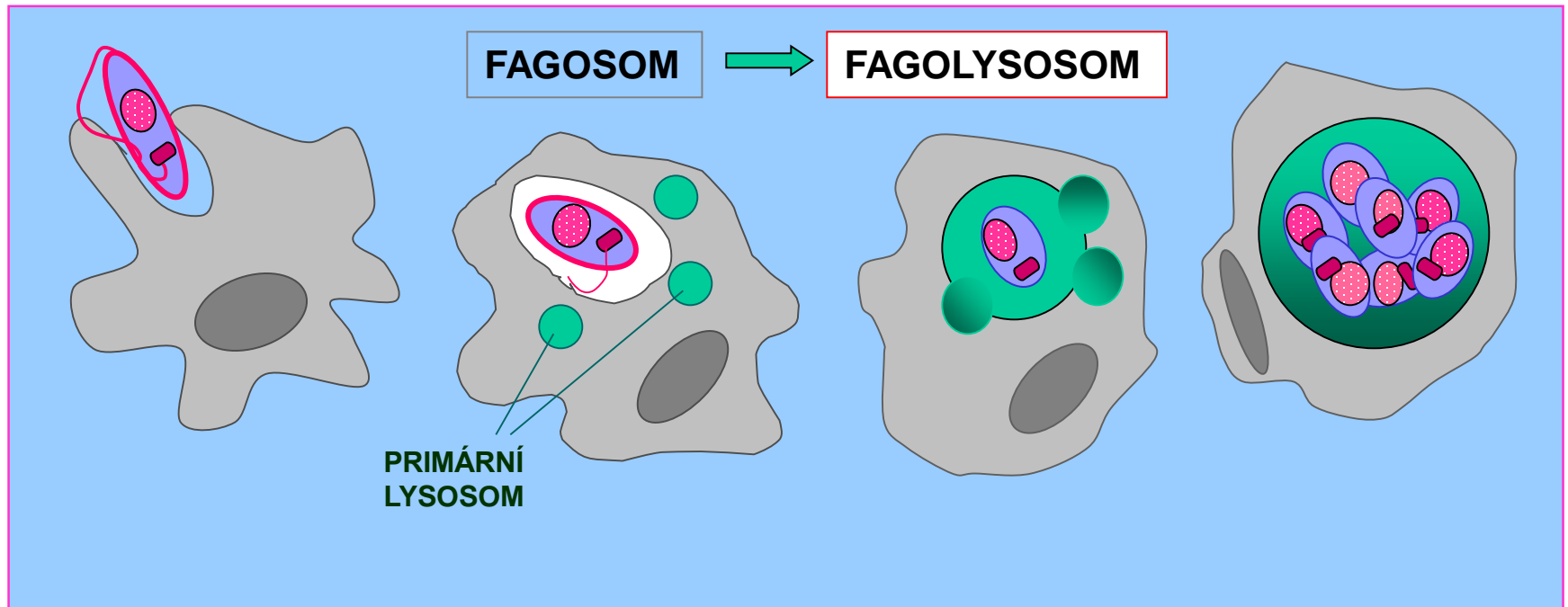
Molekulární a buněčné interakce parazita a hostitele, PŘF MU 2016

VSTUP DO BUŇKY

1. AKTIVNÍ ENDOCYTÓZA

AKTIVITA PROFESIONÁLNÍCH FAGOCYTŮ

- **inhibice respiračního vzplanutí nebo jeho produktů**
- **obrana před intracelulárním trávením**



VSTUP DO BUŇKY

2. INDUKOVANÁ ENDOCYTÓZA

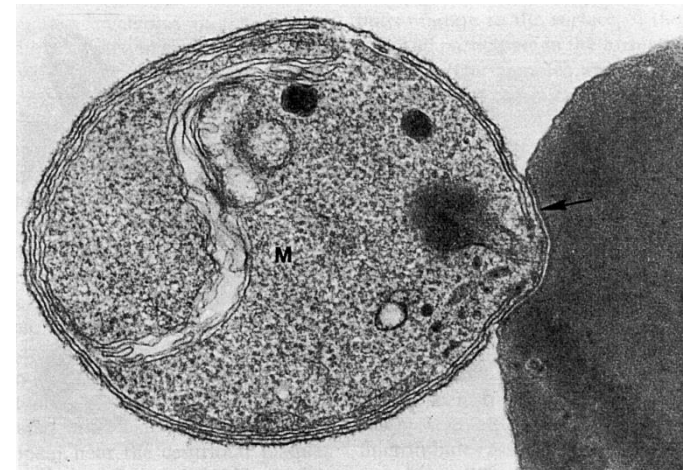
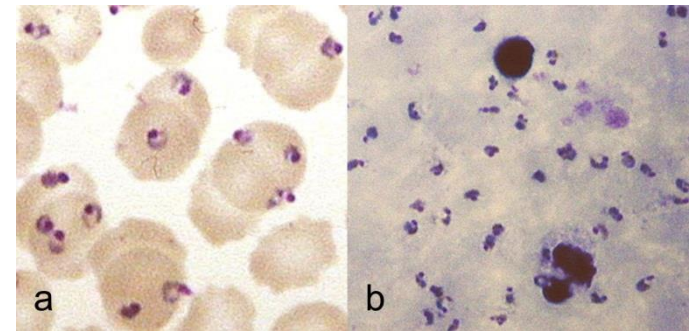
MANIPULACE HOSTITELSKÉ BUŇKY

- adheziny parazita
- receptory hostitelské buňky
- sekrece z organel parazita
- kooperace s funkčními proteiny a cytoskeletem hostitelské buňky
- export proteinů parazita do cytoplasmy a na membránu hostitelské buňky
- export membránových systémů parazita do cytoplasmy hostitelské buňky

FAGOSOM



PARAZITOFORNÍ VAKUOLA



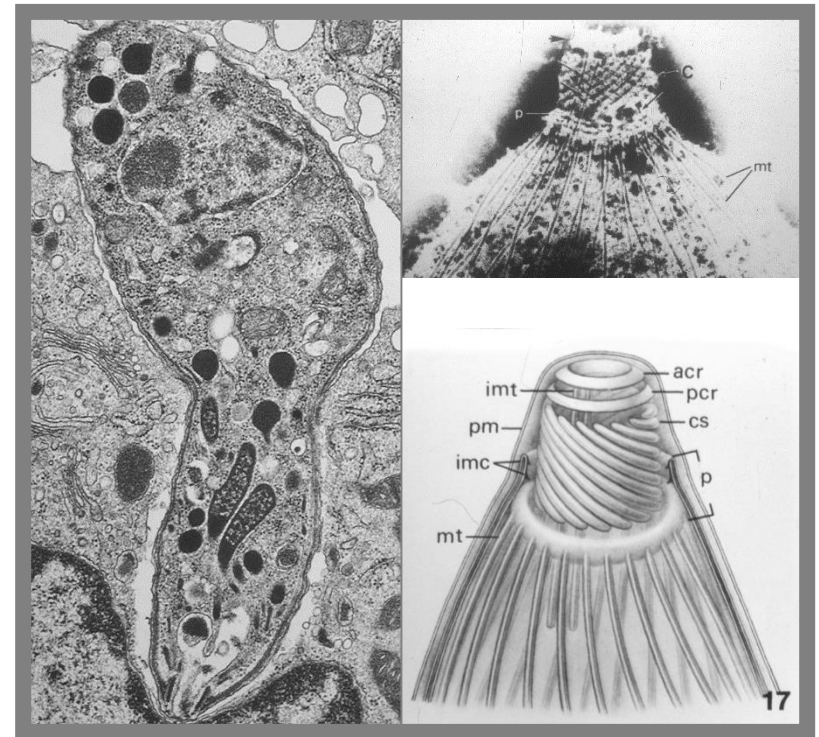
PLASMODIUM

VSTUP DO BUŇKY

3. PENETRACE

ADHEZINY
KONOID
SEKRECE
POHYB

PARAZITOFORNÍ VAKUOLA

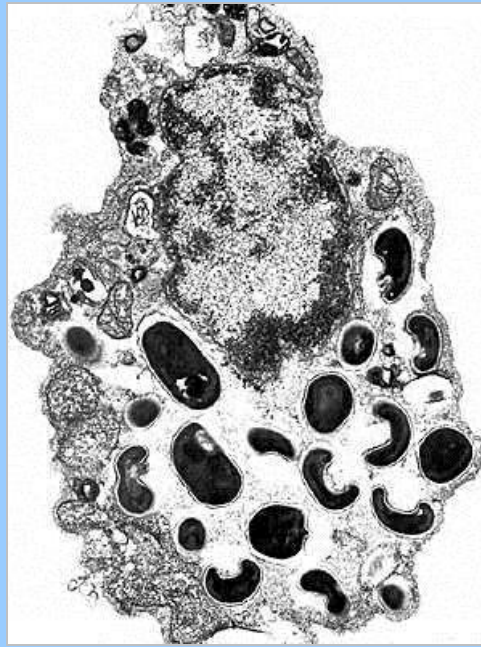


TOXOPLASMA

VSTUP DO BUŇKY

4. INJEKCE

VYSTŘELITELNÉ VLÁKNO SPÓRY



VOLNÉ ULOŽENÍ V CYTOPLAZMĚ

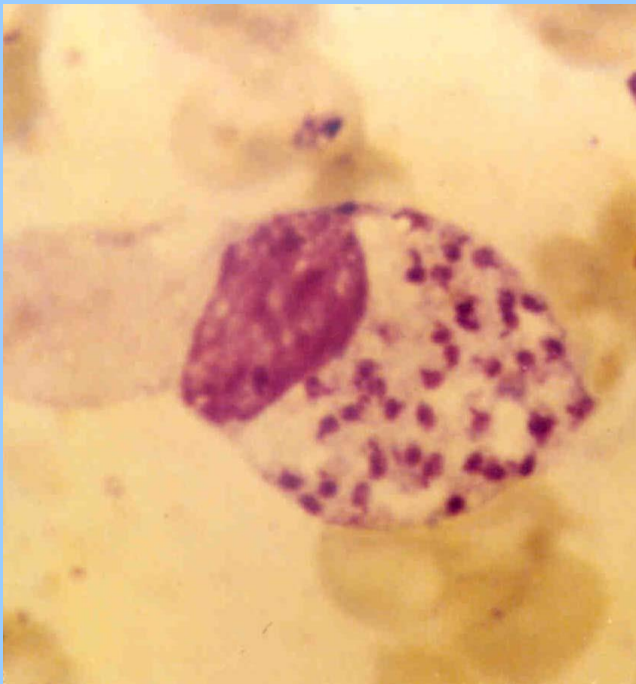


MIKROSPORIDIE

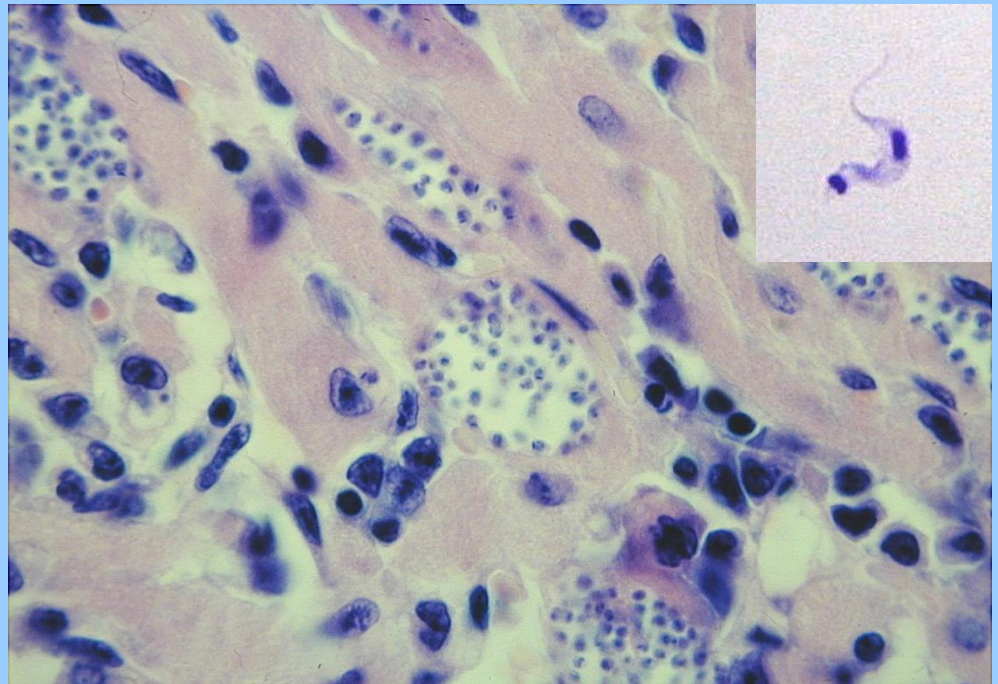
INTRACELULÁRNÍ KINETOPLASTIDA

DVOJHOSTITELSKÁ KINETOPLASTIDA

VÝZNAMNÝ PODÍL IMUNOPATOLOGICKÝCH PROCESŮ V PATOGENEZI ONEMOCNĚNÍ



LEISHMANIA



TRYPANOSOMA CRUZI



Trypanosoma cruzi

2 CYKLY PŘENOSU
OBA MOHOU OHROZIT LIDI
PŘENOS KONTAMINATIVNÍ !!!

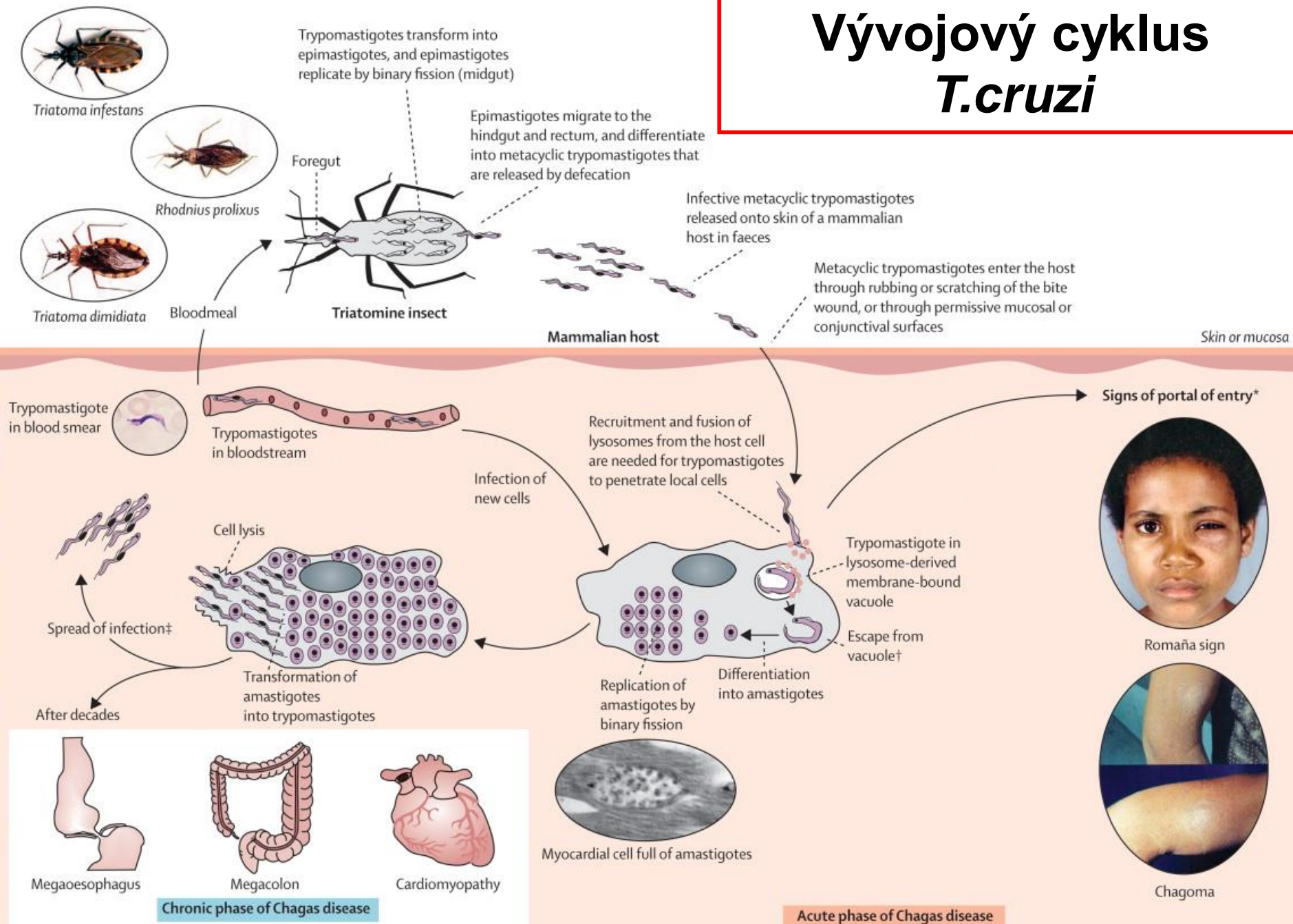


Lesní cyklus přenosu
stromový habitat hostitelů (hl.
stromové vačice, opice atp.)
Dominantní vektor: *Rhodnius*
TYPICKY EUZOONOTICKÁ
PŘÍRODNÍ OHNISKA

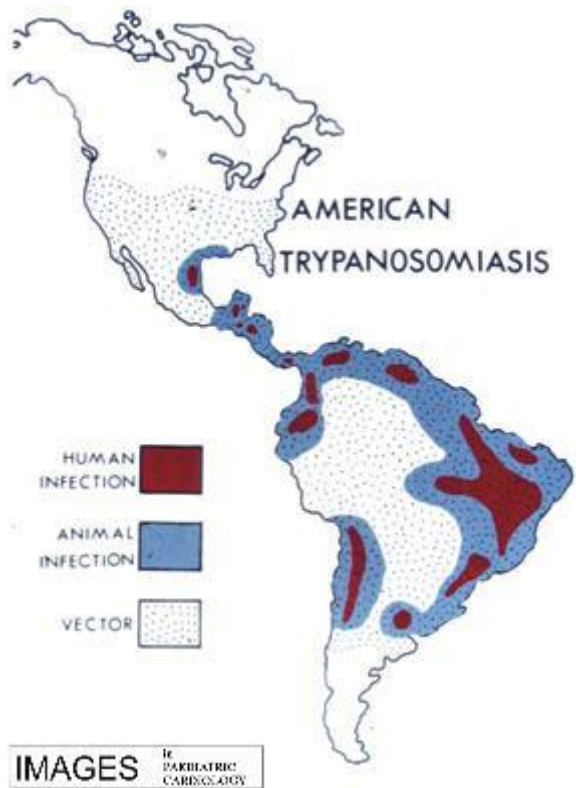
Pozemní cyklus přenosu
pozemní habitat, často u
lidských obydlí (hostiteli člověk,
myš, krysa, pozemní vačnatci)
**Vektoři *Triatoma infestans*,
Panstrongylus megistus a další**
U LIDÍ ČASTĚJI SYMPTOMATICKÉ
CHRONICKÉ INFEKCE



Vývojový cyklus *T. cruzi*



CHAGASOVA NEMOC



16-18 MILIONŮ INFIKOVANÝCH
~90 MILIONŮ ŽIJE V RIZIKOVÝCH
OBLASTECH

V NĚKTERÝCH ENDEMICKÝCH OBLASTECH
AŽ 10% VŠECH ÚMRTÍ DOSPĚLÝCH

ZOONÓZA či
ANTROPOZOONÓZA

VEKTOR: PLOŠTICE REDUVIIDAE
JINÉ MOŽNOSTI PŘENOSU:

KREVNÍ TRANSFUZE
KONGENITÁLNĚ
TRANSPLANTACE

ZÁVAŽNÝ ZDRAVOTNICKÝ
PROBLÉM V LATINSKÉ AMERICE

TERAPIE MÁLO ÚSPĚŠNÁ
BOJ PROTI VEKTORŮM
REZIDUÁLNÍ INSEKTICIDY, KVALITA
BYDLENÍ



CHAGASOVA NEMOC



Romaňův okuloglandulární syndrom

AKUTNÍ FÁZE

INKUBAČNÍ DOBA: 1 -2 TÝDNY

- LOKÁLNÍ REAKCE V MÍSTĚ INFEKCE: ZÁNĚT – OTOK
- ÚNAVA – HOREČKY – BOLESTI HLAVY
- LYMFADENOPATIE – SPLENOMEGALIE - HEPATOMEGALIE

ODEZNÍ ZA 4 – 8 TÝDNŮ

ČASTO MÍRNÝ AŽ SUBKLINICKÝ PRŮBĚH AKUTNÍ FÁZE
VÁŽNÉ KOMPLIKACE (MYOKARDITIS, ENCEFALITIS) MÉNĚ ČASTÉ
ZÁVISÍ NA INFEKČNÍ DÁVCE, LOKALIZACI A POMNOŽENÍ PARAZITŮ

CHAGASOVA NEMOC

CHRONICKÁ FÁZE

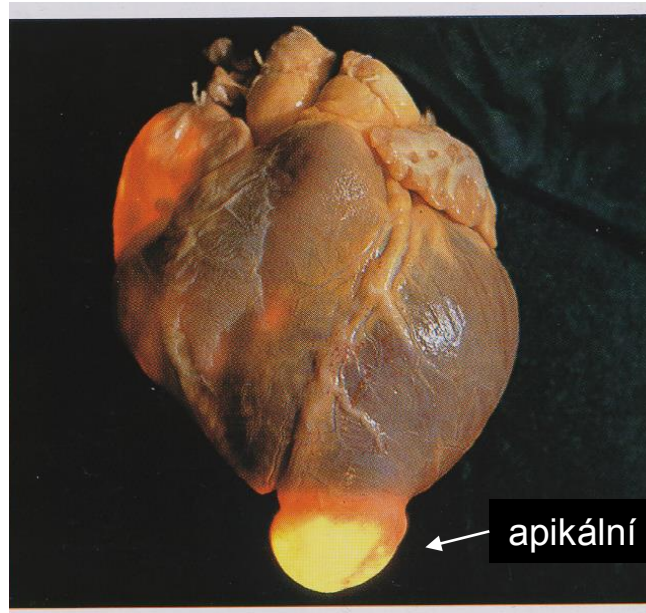
PO 20 – 30 LETECH BEZ
SYMPTOMŮ

VYSOKÁ ÚMRTNOST

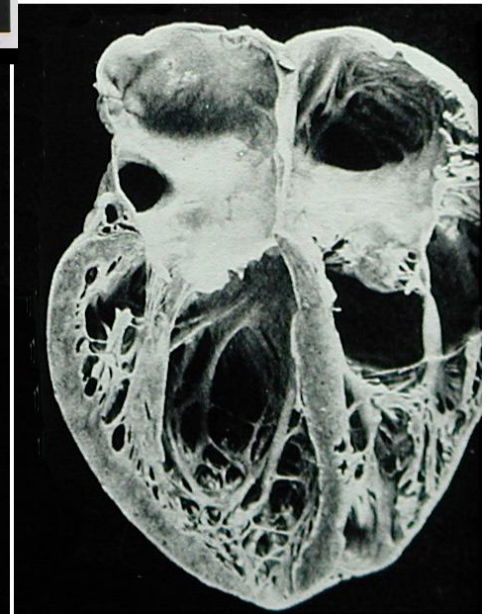
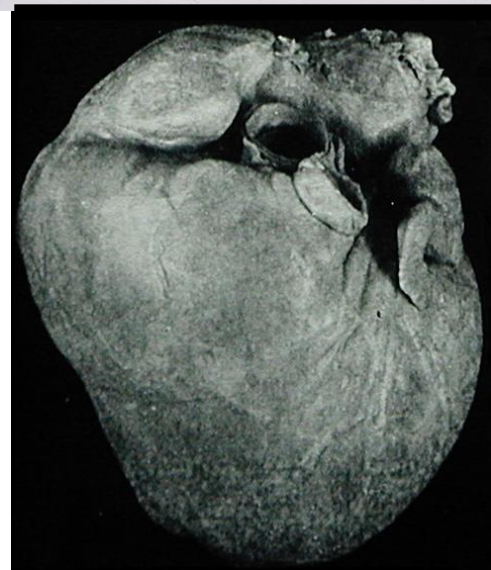
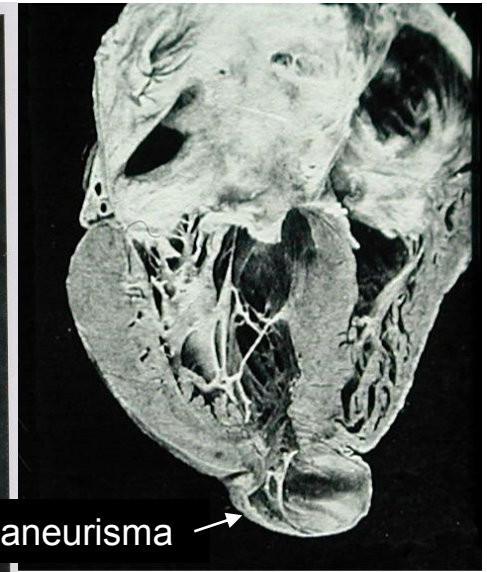
NEJČASTĚJI:

KARDIOMYOPATIE

ZTRÁTA NEURONŮ →
NÁMAHA → ZVĚTŠENÍ SRDCE
DEGENERACE SVALOVÝCH
FIBRIL → FIBRÓZNÍ LOŽISKA
→ ZTENČENÍ MYOKARDU →
SELHÁNÍ SRDCE → SMRT



apikální aneurisma



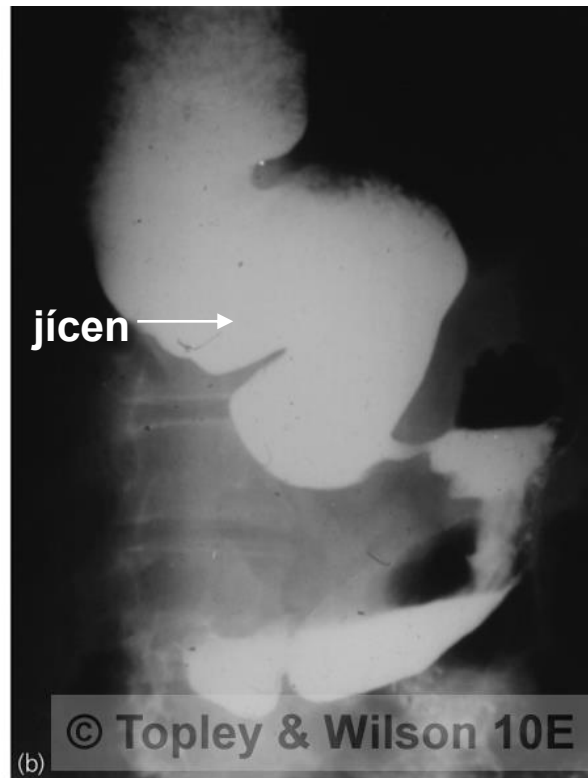
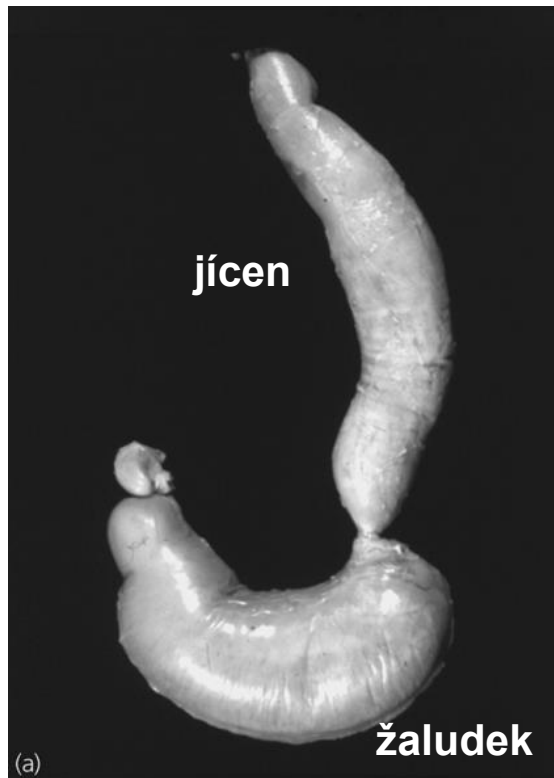
DENERVACE VEGETATIVNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU - IMUNOPATOLOGIE

MEGASYNDROMY

ZVĚTŠOVÁNÍ ORGÁNŮ ZAŽÍVACÍHO TRAKTU V DŮSLEDKU
DENERVACE VEGETATIVNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU

MEGAESOPHAGUS

DILATACE JÍCNU, ZTRÁTA KONTRAKTILITY, APERISTALSIS

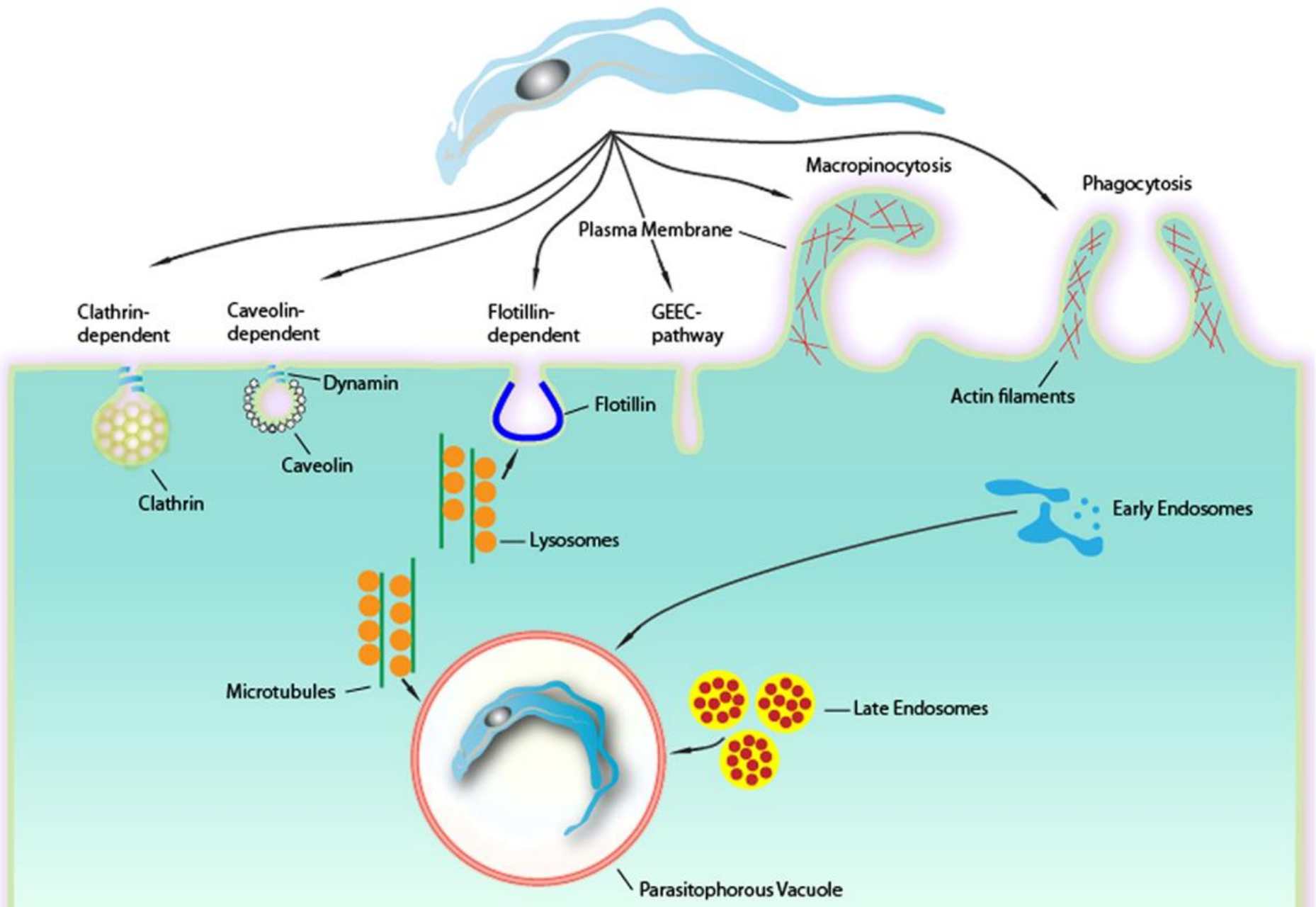


MEGACOLON

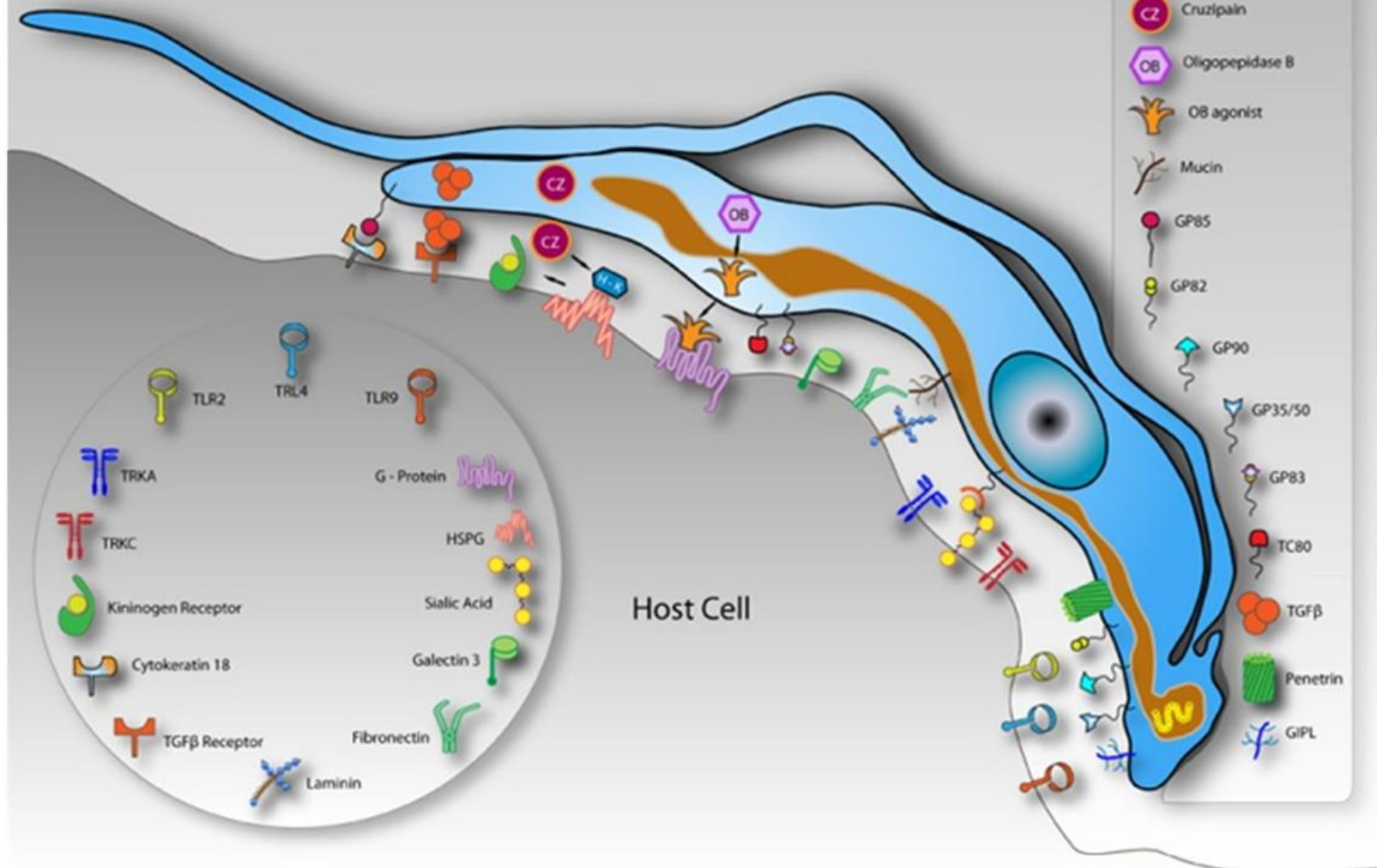
**ZVĚTŠENÍ TLUSTÉHO STŘEVA
V SIGMOIDÁLNÍ OBLASTI
BOLESTI BŘICHA → PROGRESIVNÍ
ZÁCPA → ZTRÁTA DEFEKAČNÍHO
REFLEXU → FECALOMA**



Vstup *T.cruzi* do hostitelské buňky



Bohatý repertoár receptorových vazeb



ÚNIKOVÁ STRATEGIE TRYPOMASTIGOTŮ

Trypanosoma cruzi

1. KOMPLEMENT

POVRCHOVÉ GLYKOPROTEINY TRYPOMASIGOTŮ 87-93 kDa
SEKVENČNĚ HOMOLOGICKÉ S LIDSKÝM **DAF** FAKTOREM

DAF = Decay Accelerating Factor

REGULÁTOR KOMPLEMENTU URYCHLUJÍCÍ ROZLOŽENÍ
C3 A C5 KONVERTÁZY

REKOMBINANTNÍ „DAF-GLYKOPROTEIN“ *T. CRUZI* HYBRIDIZUJE S
cDNA SONDOU PRO LIDSKÝ DAF

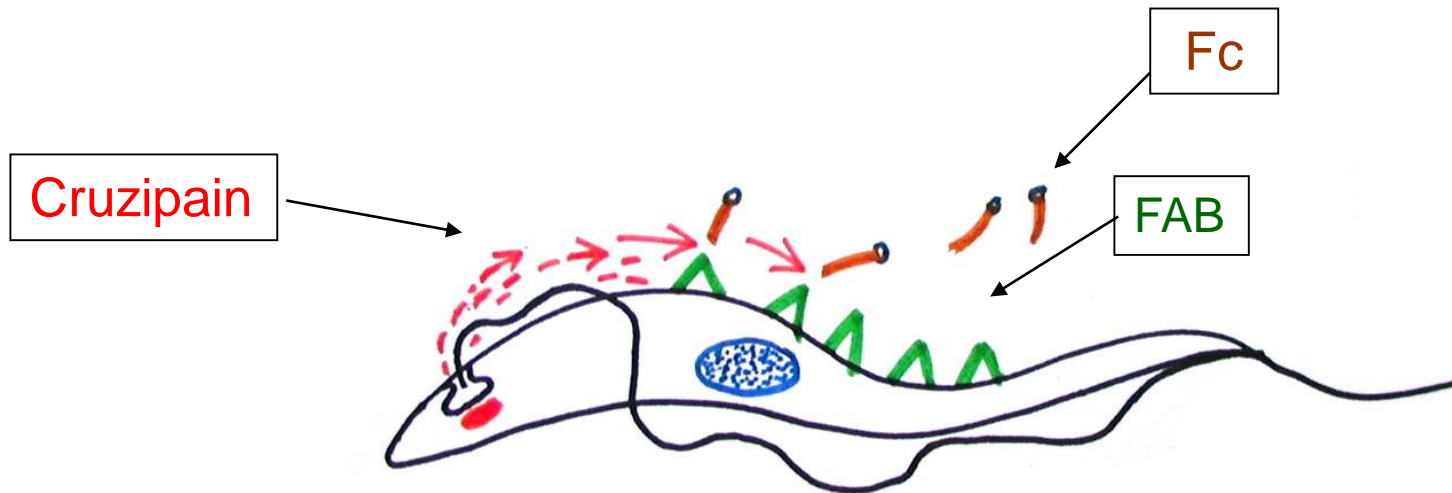
ÚNIKOVÁ STRATEGIE TRYPOMASTIGOTŮ

Trypanosoma cruzi

2. PROTILÁTKY

„FABULACE“

ODSTŘÍŽENÍ Fc FRAGMENTU IMUNOGLOBULINU CYSTEINOVOU PEPTIDÁZOU *T. CRUZI* (**CRUZIPAIN**). FAB KONCE ZŮSTÁVAJÍ NAVÁZÁNY NA RECEPTORY A BLOKUJÍ JE.



KOMPLEXNÍ POVRCHOVÝ PLÁŠŤ

TRYPOMASTIGOTI *T. CRUZI* NEPRODUKUJÍ NÁSLEDNÉ ANTIGENNÍ VARIANTY ale SIMULTÁNNĚ EXPRIMUJÍ VĚTŠÍ MNOŽSTVÍ VARIANT VELKÝCH RODIN POVRCHOVÝCH MOLEKUL



LEISHMANIA

DVOUHOSTITELSKÁ KINETOPLASTIDA

ČLOVĚK A JINÍ SAVCI

VEKTOR:

PHLEBOTOMUS – LUTZOMYIA

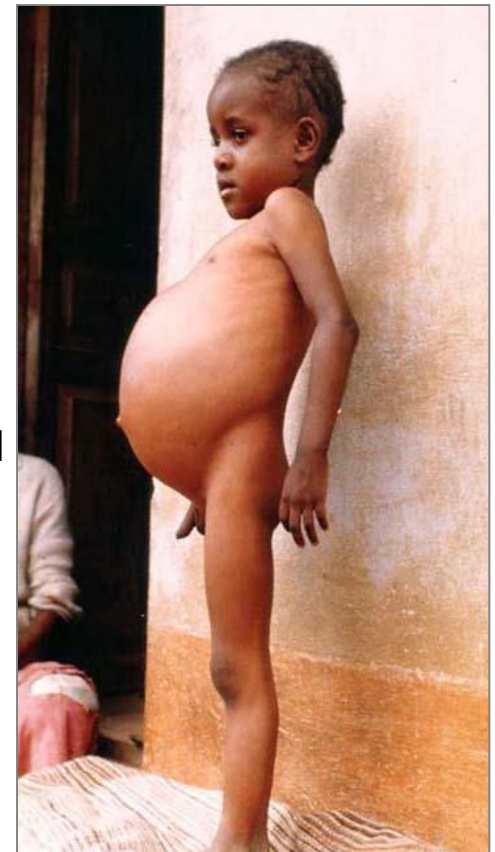
> 20 DRUHŮ INFEKČNÍCH PRO ČLOVĚKA



LEISHMANIÓZA

SPEKTRUM KLINICKÝCH PROJEVŮ
OD KOŽNÍCH SPONTÁNNĚ ZHOJITELNÝCH
PO SMRTELNÉ VISCERÁLNÍ NÁKAZY

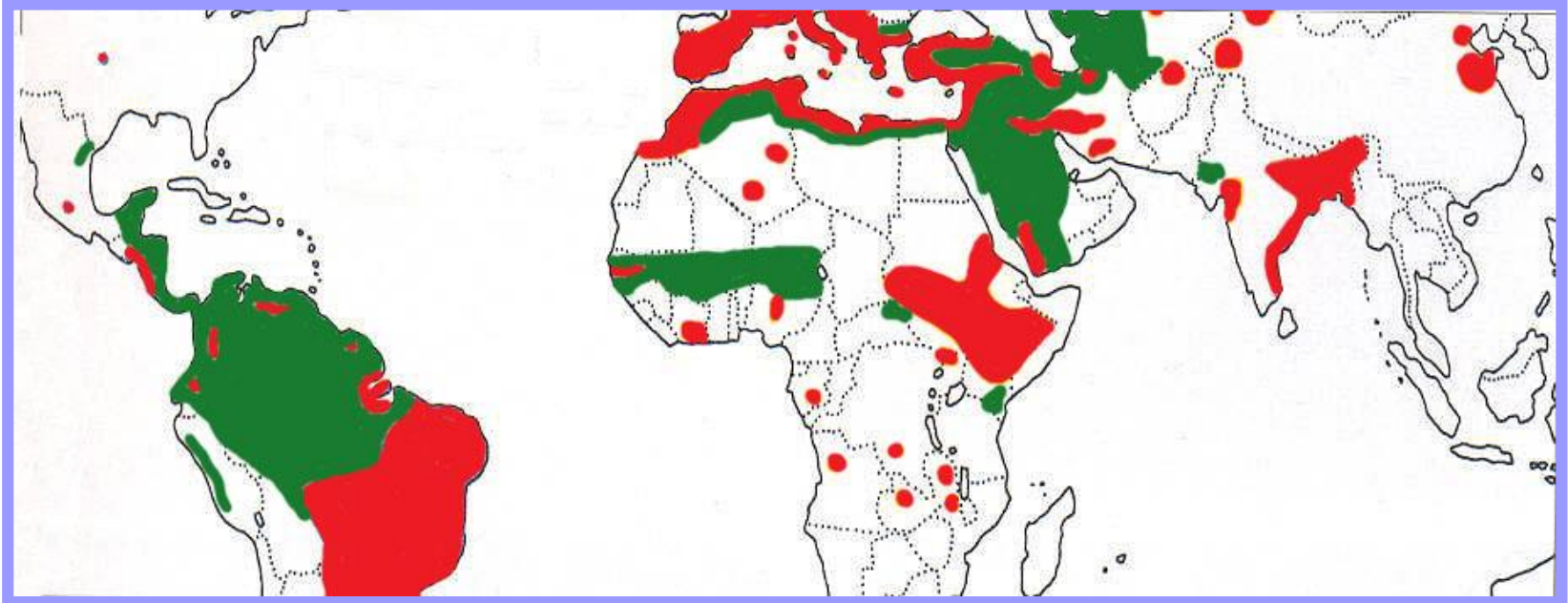
> 100 DRUHŮ ZVÍŘAT REZERVOÁREM INFEKCE



LEISHMANIÓZY

kožní

viscerální



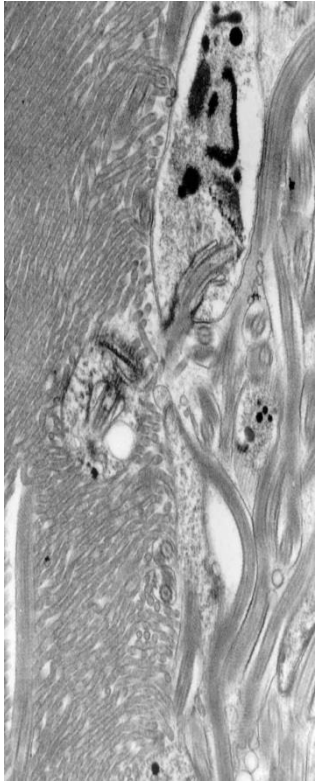
**V TROPICKÝCH A SUBTROPICKÝCH OBLASTECH
VŠECH KONTINENŮ KROMĚ AUSTRALIE**

350 millionů lidí z 88 států žije v rizikových oblastech

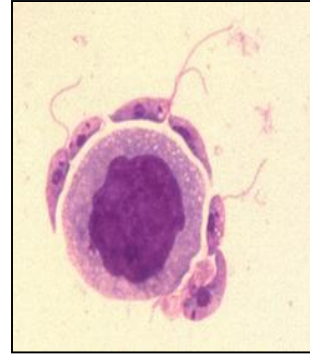
PREVALENCE: 12 mil.

INCIDENCE: 1.5 – 2 mil./rok

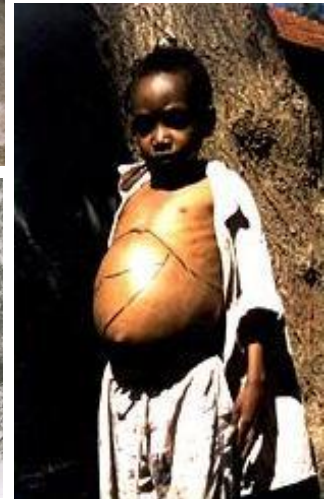
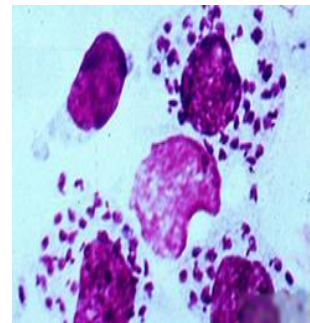
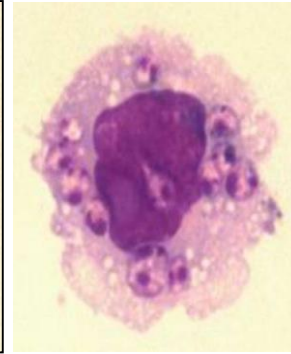
Životní cyklus leishmanií



Promastigoti
střevě
flebotoma

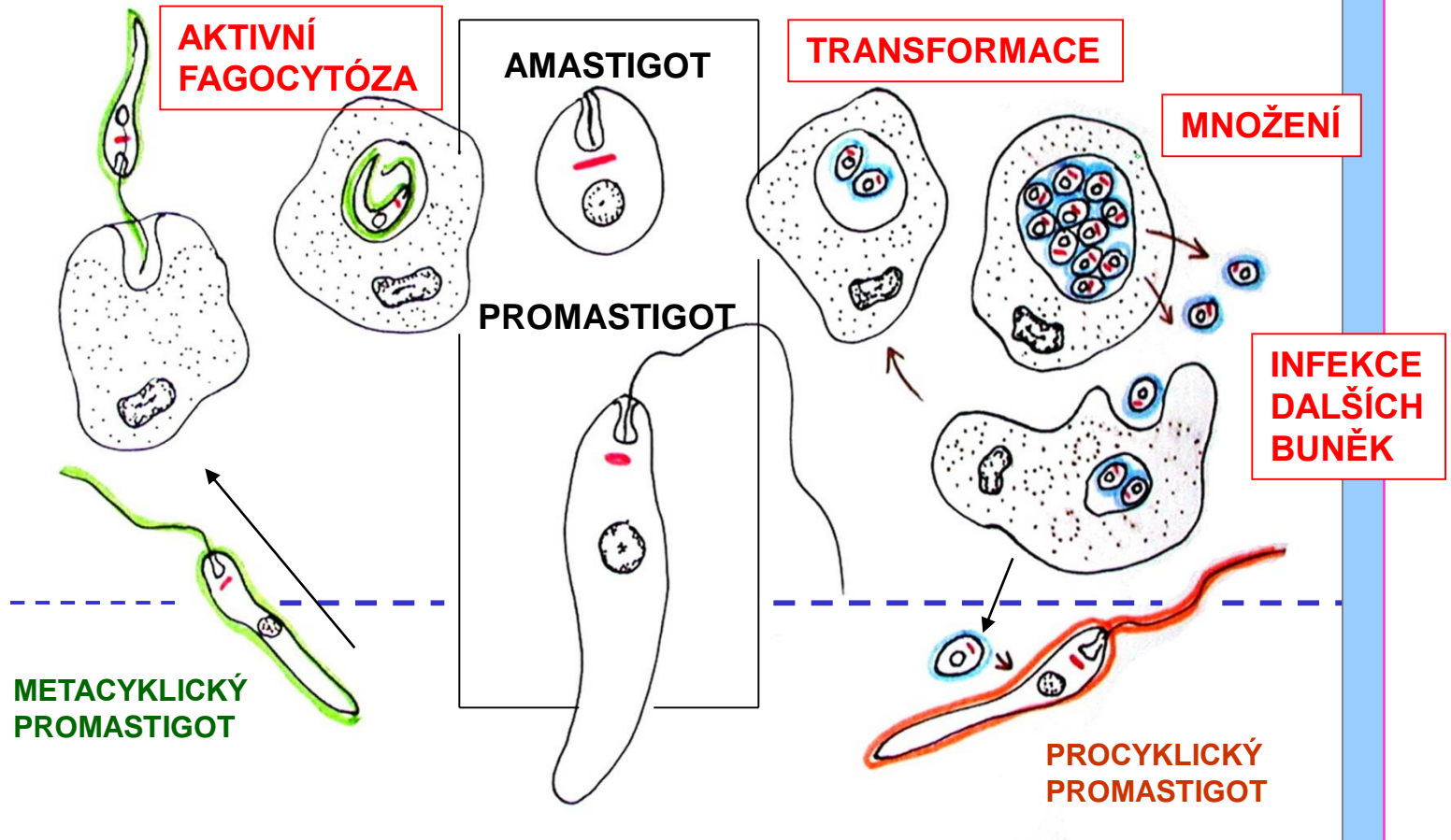


Amastigoti
v monocytech
makrofázích



VÝVOJOVÝ CYKLUS

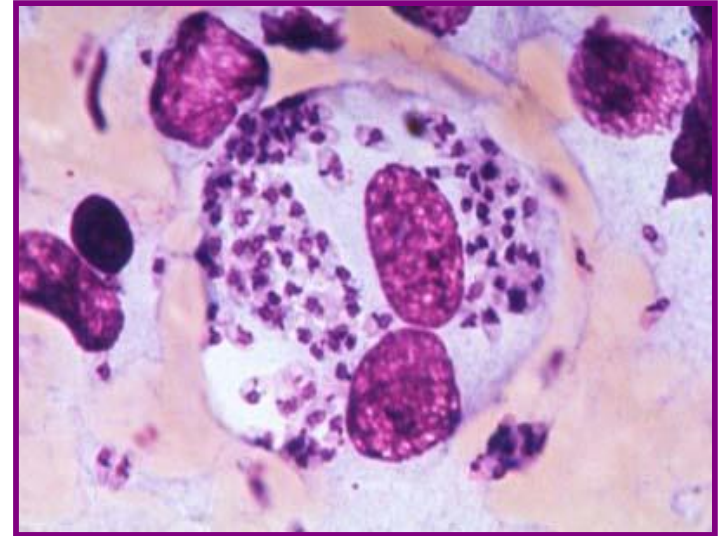
OBRATLOVEC



LEISHMANIE:

INTRACELULÁRNÍ PARAZITI JEDNOJADERNÝCH FAGOCYTŮ

STIMULACE AKTIVNÍ FAGOCYTÓZY
INHIBICE RESPIRAČNÍHO VZPLANUTÍ
INHIBICE SYNTÉZY OXIDU DUSNATÉHO
LOKALIZACE VE FAGOSOMU
FAGOLYSOSOMÁLNÍ FÚZE
REZISTENCE K ÚČINKU LYSOSOMÁLNÍCH
HYDROLÁZ
REZISTENCE KE KYSELÉMU PROSTŘEDÍ
TRANSFORMACE A MNOŽENÍ VE FAGOLYSOSOMU
UVOLNĚNÍ Z INFIKOVANÉ BUŇKY
INFEKCE DALŠÍCH MAKROFÁGŮ



MOŽNOST INFEKCE JINÝCH TYPŮ BUNĚK

DENDRITICKÉ BUŇKY → **PORUCHY PREZENTACE ANTIGENŮ**

FIBROBLASTY INDUKOVANÁ ENDOCYTÓZA – VE FIBROBLASTECH SE NEMNOŽÍ → DLOUHODOBÉ PŘEŽÍVÁNÍ – MOŽNOST AKTIVACE INFEKCE PŘI IMUNOSUPRESI

LEISHMANIÓZY

TRADIČNÍ ROZDĚLENÍ

KOŽNÍ: *L. major*
L. tropica a jiné druhy a komplexy druhů
L. mexicana

MUKOKUTÁNNÍ: *L. braziliensis*

VISCERÁLNÍ: *L. donovani*
L. infantum

SOUVISLOST
KLINICKÝCH FOREM S URČITÝMI DRUHY PARAZITŮ
NENÍ ABSOLUTNÍ

LOKALIZOVANÁ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

- INFEKCE MAKROFÁGŮ → MNOŽENÍ INFEKCE DALŠÍCH MAKROFÁGŮ
- IDENTIFIKACE INFIKOVANÉHO MÍSTA
 - INFILTRACE ZÁNĚTLIVÝMI BUŇKAMI
 - DESTRUKCE INFIKOVANÉHO MÍSTA
 - ULCERACE EPIDERMIS → NEKRÓZA
- KONEČNÁ LIKVIDACE PARAZITŮ SPECIFICKOU ODPOVĚDÍ
- **HOJENÍ**



RECIDIVUJÍCÍ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

HYPERAKTIVITA HOSTITELE

BOUŘLIVÁ, ŠPATNĚ KOORDIOVANÁ
ODPOVĚĎ
NEKOMPLETNÍ LIKVIDACE PARAZITŮ
PERZISTENCE ZÁNĚTU

- INFEKCE → ZÁNĚT → ULCERACE
NEKRÓZA → ČÁSTEČNÉ HOJENÍ
- PERIFERNÍ AKTIVACE INFEKCE →
NOVÝ ZÁNĚT NA OKRAJI HOJÍCÍHO SE
MÍSTA
- ŠÍŘENÍ VŘEDU V PLOŠE
BEZ KOMPLETNÍHO HOJENÍ



MUKOKUTÁNNÍ LEISHMANIÓZA

ÚNIK INFIKOVANÝCH
MAKROFÁGŮ Z KŮŽE
DO SLIZNIC

- KOŽNÍ FÁZE S RŮZNÝM PRŮBĚHEM VYHOJENÍ I NEHOJÍCÍ SE ULCERACE
- ROZSEV INFIKOVANÝCH MAKROFÁGŮ DO SLIZNIC DUTINY ÚSTNÍ A NOSU PLÍŽIVÉ MNOŽENÍ BEZ NÁPADNÝCH SYMPTOMŮ
- NÁHLÁ DESTRUKCE SLIZNIC A CHRUPAVKY ŘETĚZOVÁ AUTOLYTICKÁ REAKCE, **AUTOIMUNNÍ PROCES**



VISCERÁLNÍ LEISHMANIÓZA

ÚNIK INFIKOVANÝCH MAKROFÁGŮ Z
KŮŽE DO KREVNÍHO A LYMFATICKÉHO
SYSTÉMU

ROZSEV DO FILTRAČNÍCH
A KRVETVORNÝCH ORGÁNŮ
A LYMFATICKÝCH UZLIN

- POZVOLNÉ MNOŽENÍ V KŮŽI BEZ SYMPTOMŮ
- ÚNIK INFIKOVANÝCH MAKROFÁGŮ

HEMATOGENNÍ ROZSEV: SLEZINA
JÁTRA
KOSTNÍ DŘEŇ

ROZSEV LYMFATICKÝMI DRAHAMÍ DO LYMFATICKÝCH UZLIN, STŘEVO aj.

ABSENCE BUNĚČNÉ ODPOVĚDI

PROTILÁTKOVÁ ODPOVĚĎ BEZ ÚČINKU NA INTRACELULÁRNÍ PARAZITY

- NEOMEZENÉ MNOŽENÍ PARAZITŮ → ZVÝŠENÉ MNOŽENÍ MAKROFÁGŮ
SLOUŽÍ K NAMNOŽOVÁNÍ PARAZITŮ → ZVYŠOVÁNÍ ZÁTĚŽE ANTIGENY PARAZITA
HYPERPLAZIE MAKROFÁGŮ A LYMFOCYTŮ → SPLENOMEGALIE

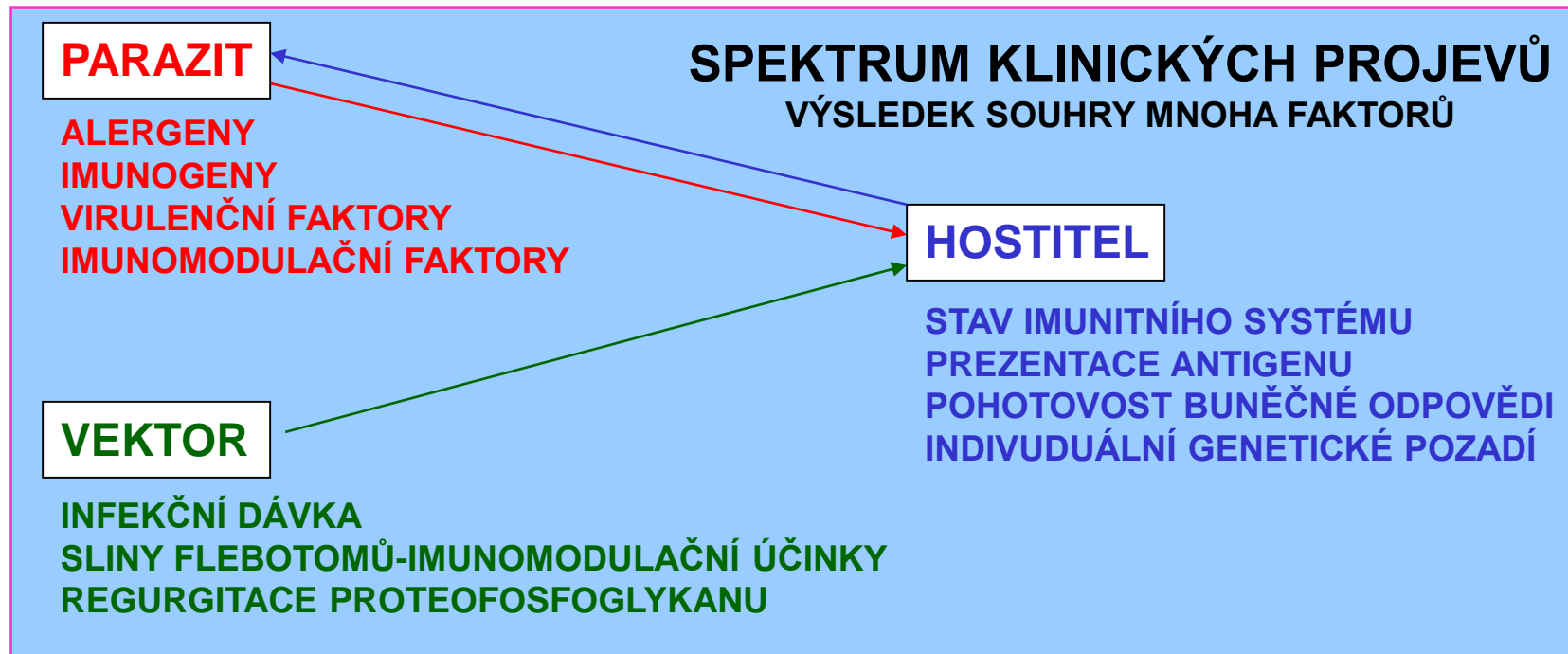


INFEKCE ZAČÍNÁ VŽDY V KŮŽI

- po přenosu v místě sání flebotoma aktivace komplementu, zničení ~90% promastigotů
- část opsonizovaných promastigotů se váže na komplementové receptory:

CR1 na erytrocytech – rozsev do dalších orgánů

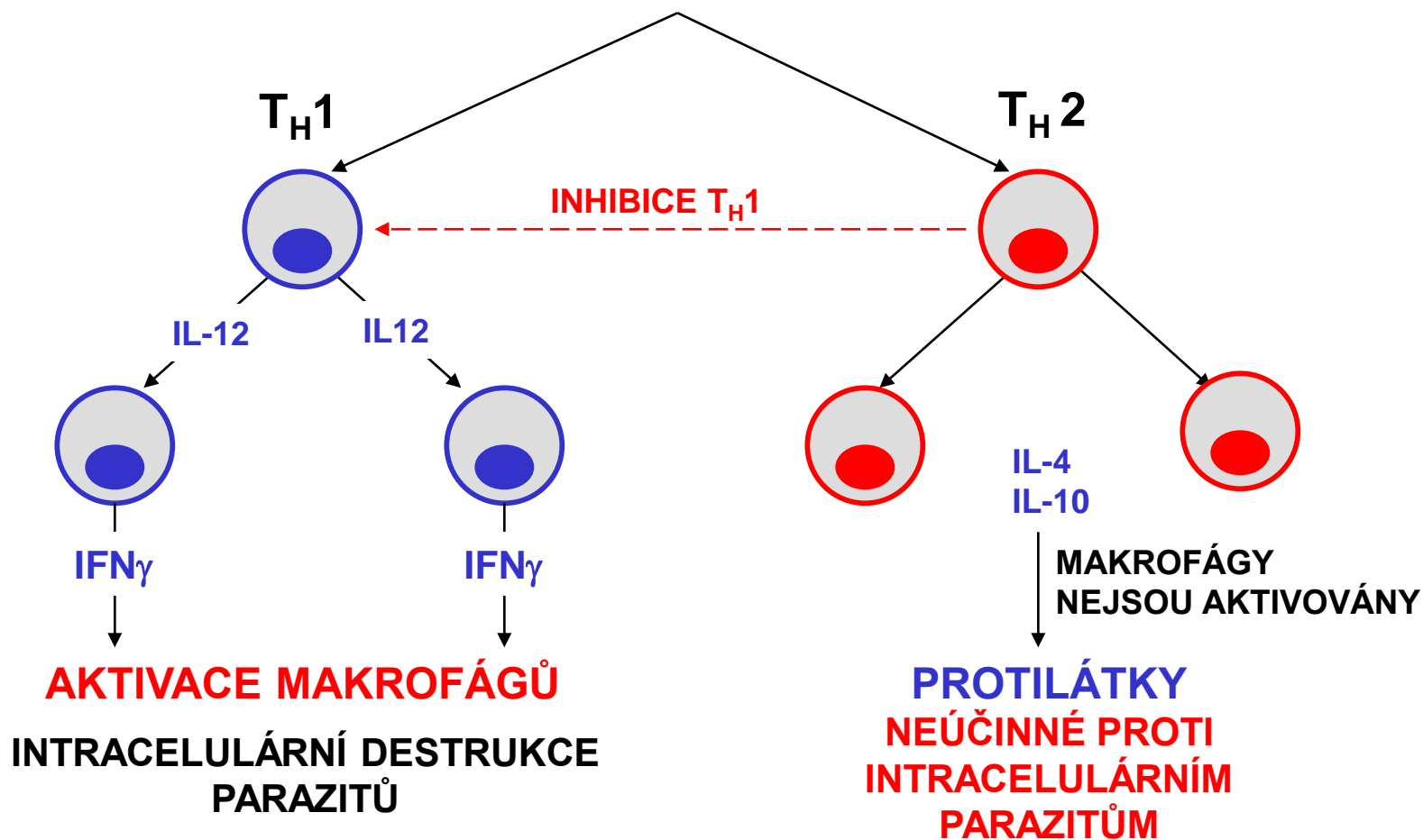
CR3 na makrofázích – pohlcení a transformace

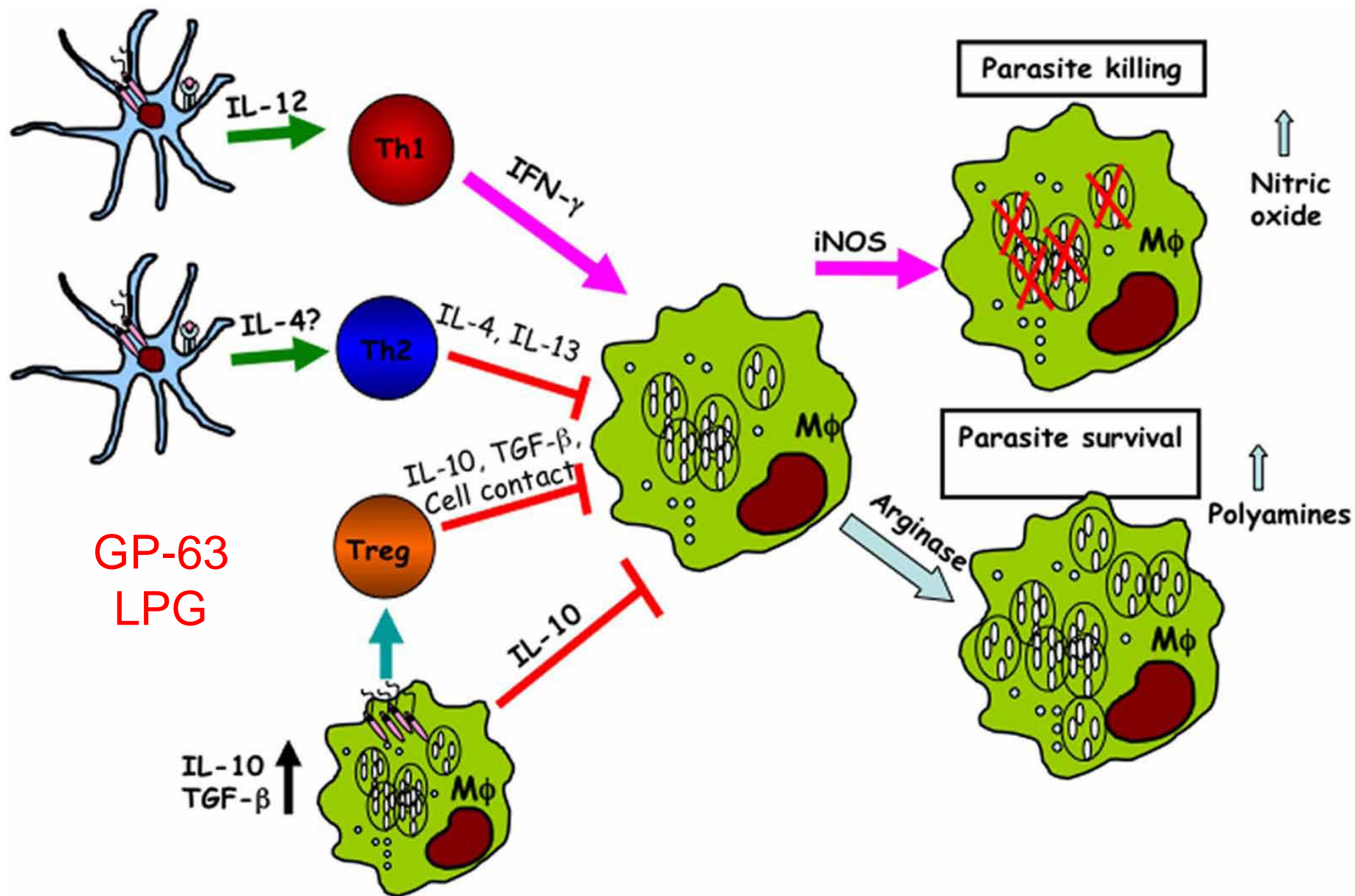


PRŮBĚH INFEKCE URČUJÍ INTERAKCE V RANÉ FÁZI

SELEKCE SUBKLONŮ CD 4+ T-LYMFOCYTŮ

ZÁVISÍ PRAVDĚPODOBNĚ NA ZPRACOVÁNÍ A PREZENTACI ANTIGENU
A IMUNOMODULAČNÍ AKTIVITĚ PARAZITŮ





MOLEKULY BUNĚČNÉHO POVRCHU

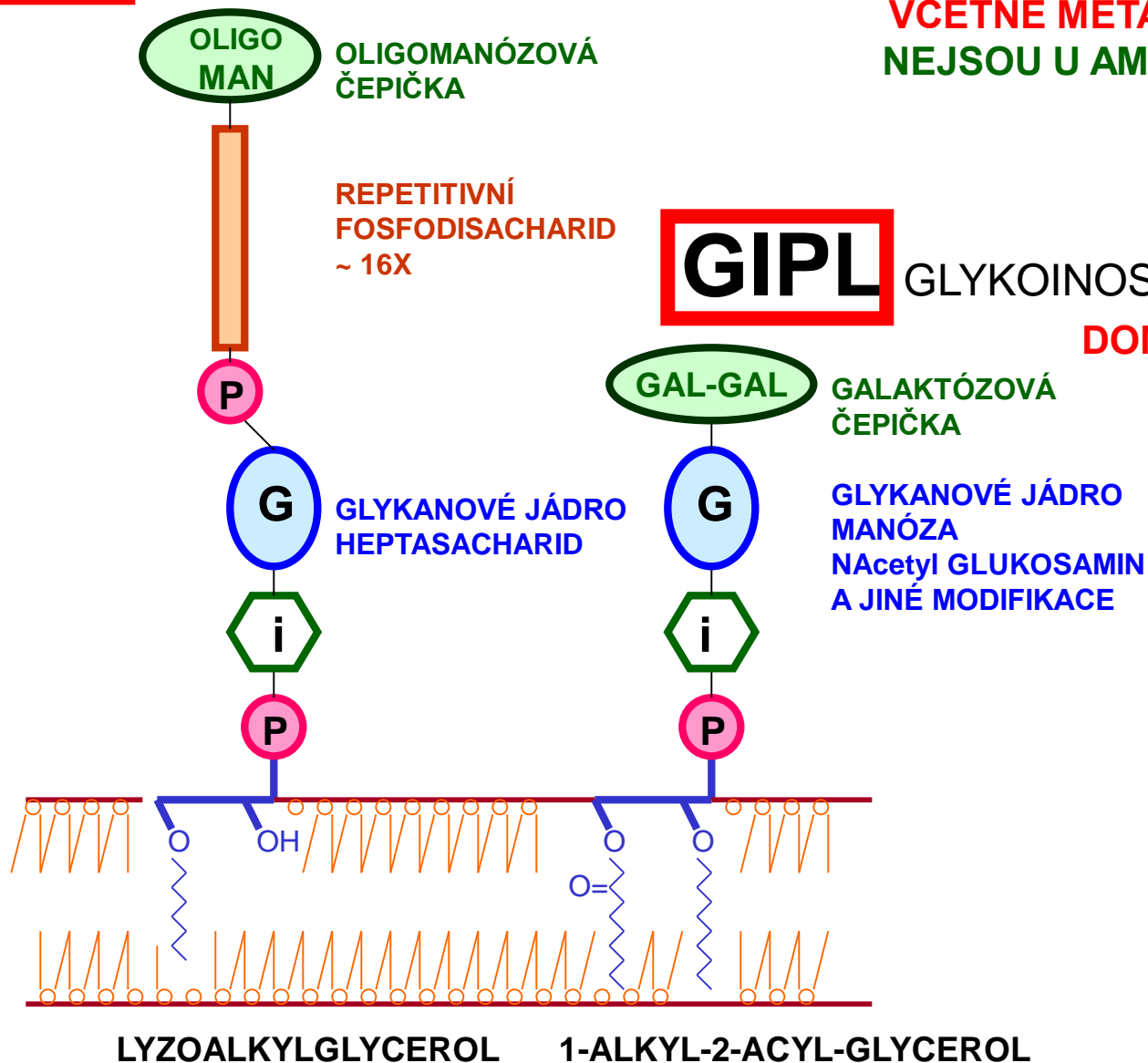
VÝZNAMNÉ PRO INFEKCI

A ŽIVOT VE FAGOLYSOSOMU

- LIPOFOSFOGLYKANY **LPG**
- GLYKOINOSITOL FOSFOLIPIDY **GIPL**
- PROTEOFOSFOGLYKANY **PPG**
- POVRCHOVÁ METALOPROTEINÁZA **MSP** (GP-63)
- CYTOSOLICKÝ LEISHPORIN

LPG

LIPOFOSFOGLYKAN: **DOMINANTNÍ EXPRESE U PROMASTIGOTŮ**
VČETNĚ METACYKICKÝCH
NEJSOU U AMASTIGOTŮ



VÝVOJOVĚ REGULOVANÉ ZMĚNY LPG

METACYKLOGENEZE

PRODLOŽOVÁNÍ ŘETĚZCŮ REPETITIVNÍCH JEDNOTEK
ZMĚNY NA POSTRANNÍCH ŘETĚZCÍCH
KONFORMAČNÍ ZMĚNY MOLEKULY



EXPRESE JINÝCH EPITOPŮ

ZAKRÝVÁNÍ VAZEBNÝCH MÍST PRO LEKTINY

ZMĚNA TLOUŠŤKY POVRCHOVÉHO PLÁŠTĚ

PROCYKLICKÉ: 7 nm

METACYKLICKÉ: 17 nm

FUNKCE LPG METACYKlickÝCH PROMASTIGOTŮ

- STABILIZACE POVRCHU PARAZITA
- POVZBUZOVÁNÍ FAGOCYTÓZY

VAZEBNÁ MÍSTA PRO BEZPEČNÉ RECEPTORY MAKROFÁGŮ

RECEPTORY PRO KOMPLEMENT CR1, CR3

MANÓZO-FUKÓZOVÝ RECEPTOR

- INHIBICE PROTEIN KINÁZY-C

ZASTAVENÍ AMPLIFIKAČNÍ KASKÁDY PRO NADPH-OXIDÁZU

INHIBICE OXIDATIVNÍHO VZPLANUTÍ

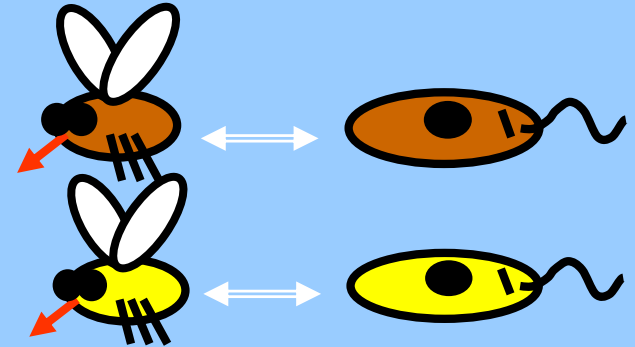
Specifita vztahu *Leishmania* – flebotomus: dva typy přenašečů

Některé druhy náchylné výhradně
na jeden druh leishmanie

Phlebotomus papatasi - *L. major*

Phlebotomus sergenti - *L. tropica*

= specifičtí přenašeči

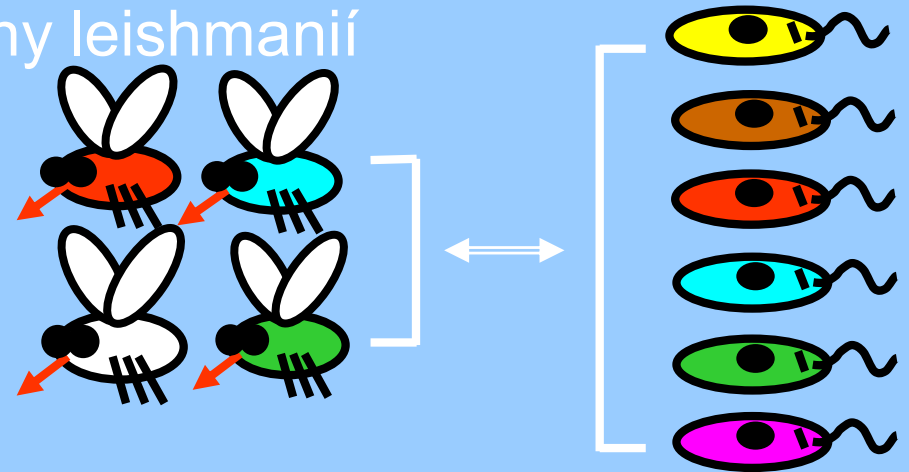


Většina náchylná na různé druhy leishmanií

Lu. longipalpis, *P. argentipes*

P. halepensis, *P. arabicus*

= permissivní přenašeči



Mechanismus přichycení závisí na typu přenašeče

3-4 dny po infekci

Nectomonády
Vazba na střevní epitel

**Midgut
epithelium**

**Thoracic
midgut**

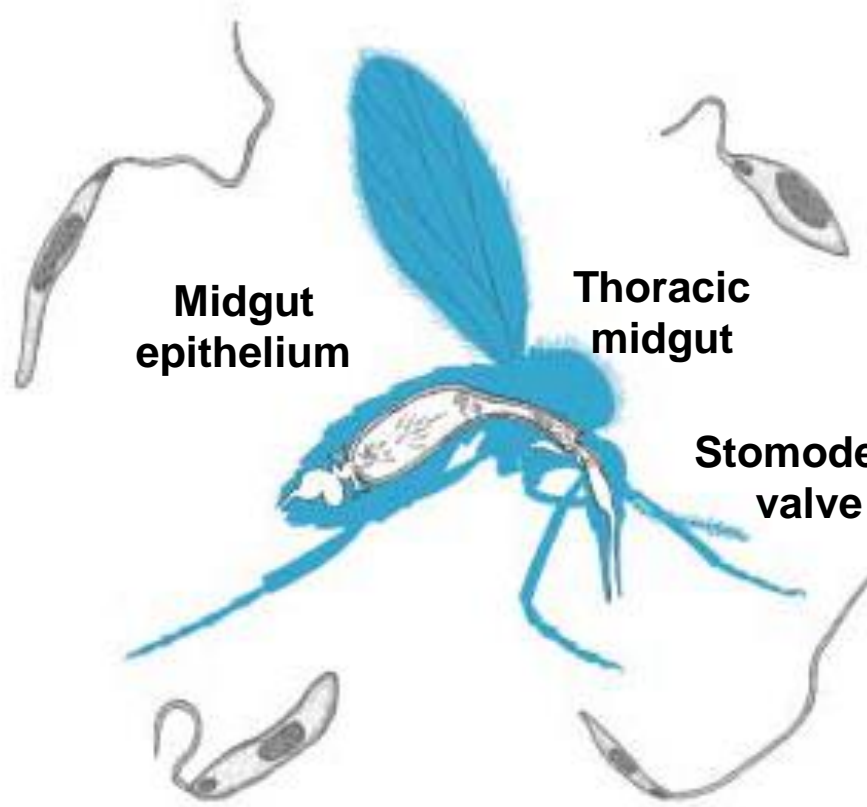
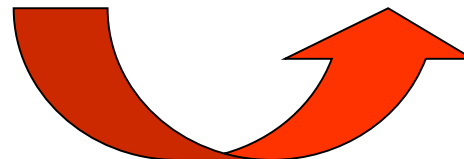
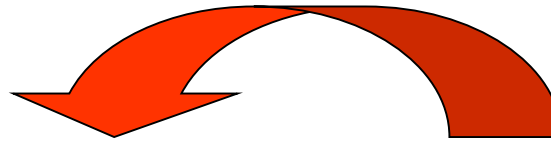
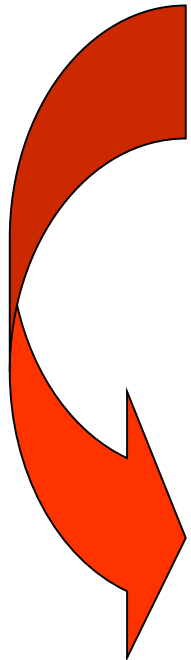
**Stomodeal
valve**

Haptomonády

Metacykličtí promastigoti

na stomodeální valvě

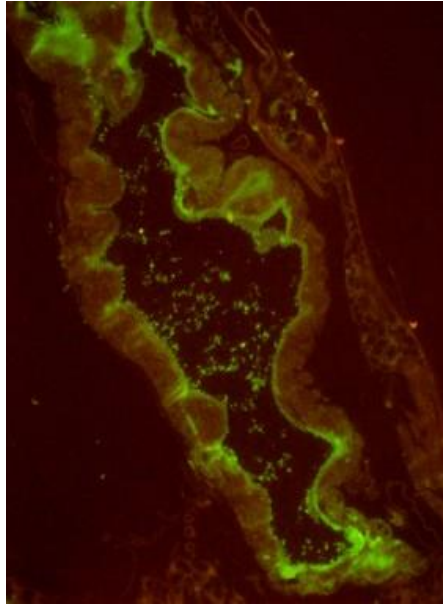
2 dny poté
migrace do thorakálního střeva



Různé způsoby přichycení leishmanií v mesenteronu

Permisivní vektor:

O-glykosylace
střevního epitelu,
leishmanie se
přichytávají
povrchovým
molekulami (lektinem)
na glykoproteiny střeva
flebotoma



řada druhů

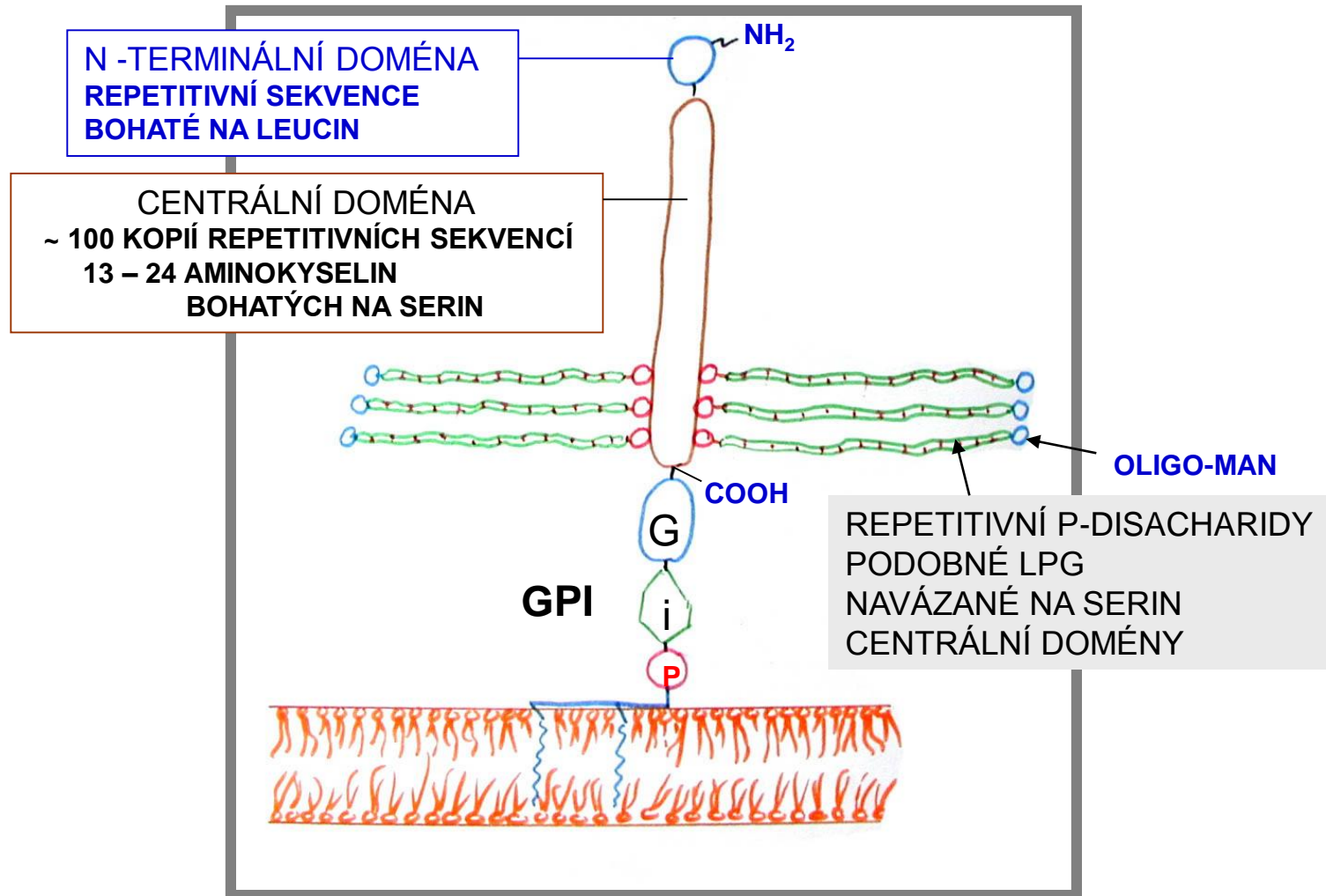
Specifičtí vektor:

bez O-glykosylace. Na střevě lektin
(galektin *P. papatasi*), váže
lipofosfoglykan leishmanie (LPG).
V koevoluci selekce unikátního
LPG s vysoce větvenými bočními
řetězci.



P. papatasi
P. sergenti

MEMBRÁNOVÝ PROTEOFOSGLYKAN



HLAVNĚ NA MEMBRÁNĚ PROMASTIGOTŮ

PROTEOFOSFOGLYKANY (PPG)

MEMBRÁNOVÉ I SEKREČNÍ

NA MEMBRÁNĚ PROMASTIGOTŮ MÉNĚ U AMASTIGOTŮ
LIGANDY PRO MAKROFÁGY I PRO RECEPTORY VE STŘEVĚ FLEBOTOMŮ

SEKRECE

FLAGELÁRNÍ KAPSOU DO FAGOLYSOSOMU MAKROFÁGŮ (**AMASTIGOTY**)
I DO STŘEVA FLEBOTOMŮ (**PROMASTIGOTY**)

FILAMENTÓZNÍ SEKREČNÍ PPG PROMASTIGOTŮ

GLYKOPROTEIN PODOBNÝ MUCINŮM ~ 96% FOSFOGLYKANY

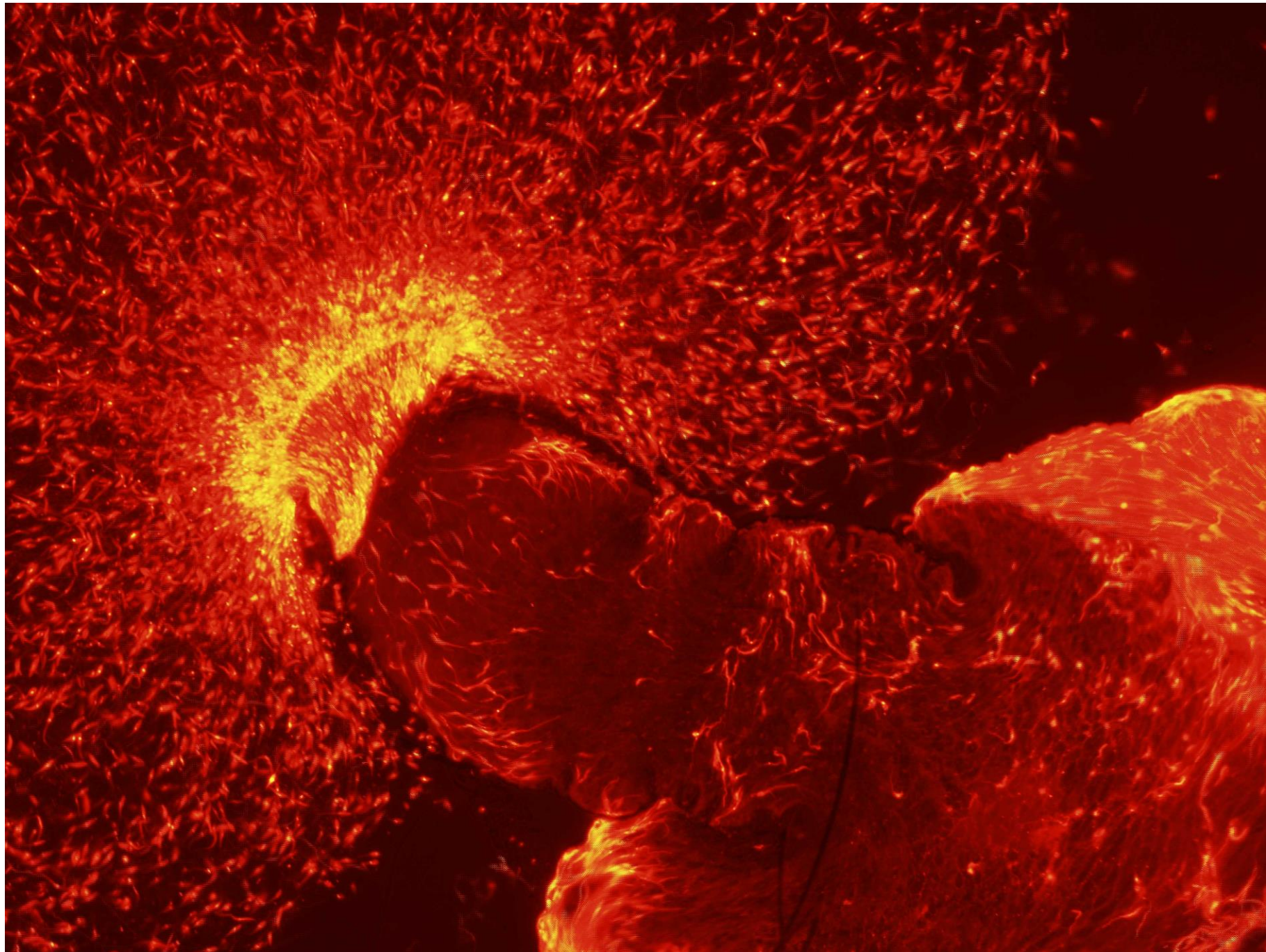
~ 4% AMINOKYSELINY

GELOVÉ ZÁTKY U KARDIE A STOMODEÁLNÍ VALVY FLEBOTOMŮ

FILAMENTY ~ 6 μ M DÉLKA, 3 – 6 nm PRŮMĚR

REGURGITACE PŘI SÁNÍ

PODPORA UCHYCENÍ A ROZVOJE INFEKCE V RANÉ FÁZI KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ



POVRCHOVÁ METALOPROTEINÁZA GP63

(**MSP**: **M**AJOR **S**URFACE **P**ROTEINASE)

- INAKTIVACE KOMPLEMENTU

ŠTĚPÍ C3b → INHIBICE SESTAVENÍ C5-KONVERTÁZY

- INHIBICE ODPOVĚDI CD4⁺ T-LYMFOCYTŮ

ŠTĚPÍ CD-4 DETERMINANTY

- PODÍL NA TVORBĚ KOŽNÍCH LÉZÍ A JEJICH METASTÁZ

DESTRUKCE EXTRACELULÁRNÍ MATRIX – **LEISHMANOLYSIN**

- DEGRADACE HEMOGLOBINU VE VEKTORECH

LEISHPORIN

CYTOLYTICKÝ PROTEIN – **PERFORIN**

PÓRY V MEMBRÁNĚ MAKROFÁGŮ → **UVOLŇOVÁNÍ AMASTIGOTŮ**

VESIKULÁRNÍ LOKALIZACE → DEGRANULACE →
PROTEOLYTICKÁ AKTIVACE SERINOVÝMI PROTEINÁZAMI
OPTIMÁLNÍ AKTIVITA PŘI KYSELÉM pH (5,0 – 5,5)

ZÁVĚR

Trypanosoma cruzi, Leishmania

- **ODLIŠNÉ STRATEGIE VNITROBUNĚČNÉHO PARAZITISMU**
Leishmania – přizpůsobena pobytu ve fagolysosomu, *T. cruzi* – uniká do cytoplasmu buňky
- **VÝZNAMNÁ ROLE IMUNOPATOLOGICKÝCH PROCESŮ V PATOGENNÍM ÚČINKU**
Leishmania – modulační, *T. cruzi* – cytotoxické
- **VELKÁ DIVERZITA POVRCHOVÝCH MOLEKUL**
Leishmania – EXTENSIVNÍ POSTTRANSLAČNÍ MODIFIKACE
T. cruzi – VELKÉ RODINY GENŮ
- **MULTIFAKTORIÁLNÍ MODULACE PROJEVŮ PATOGENNÍHO ÚČINKU (ZVLÁŠTĚ U LEISHMANIÍ) - VELKÁ PŘEKÁŽKA ÚSPĚŠNÉHO VÝVOJE TERAPIE**