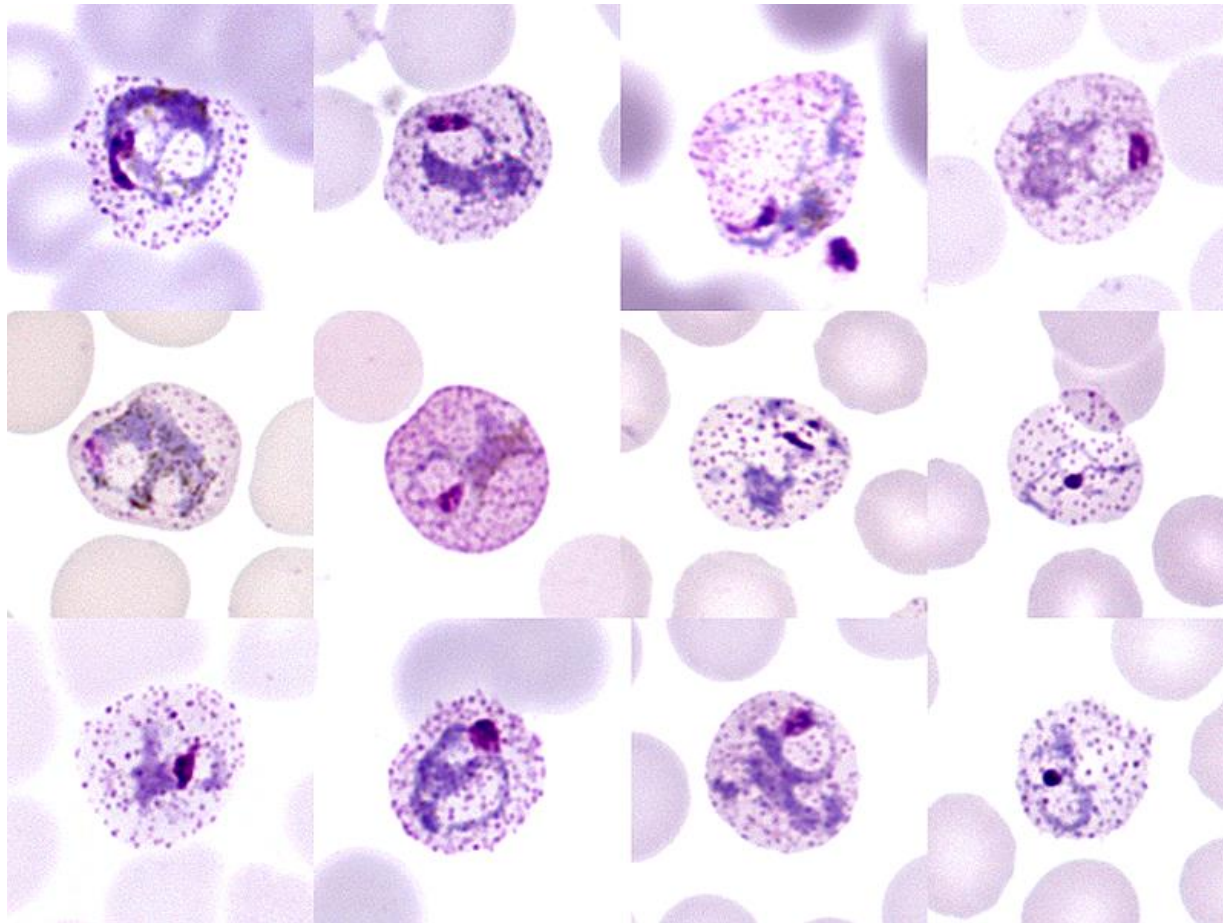


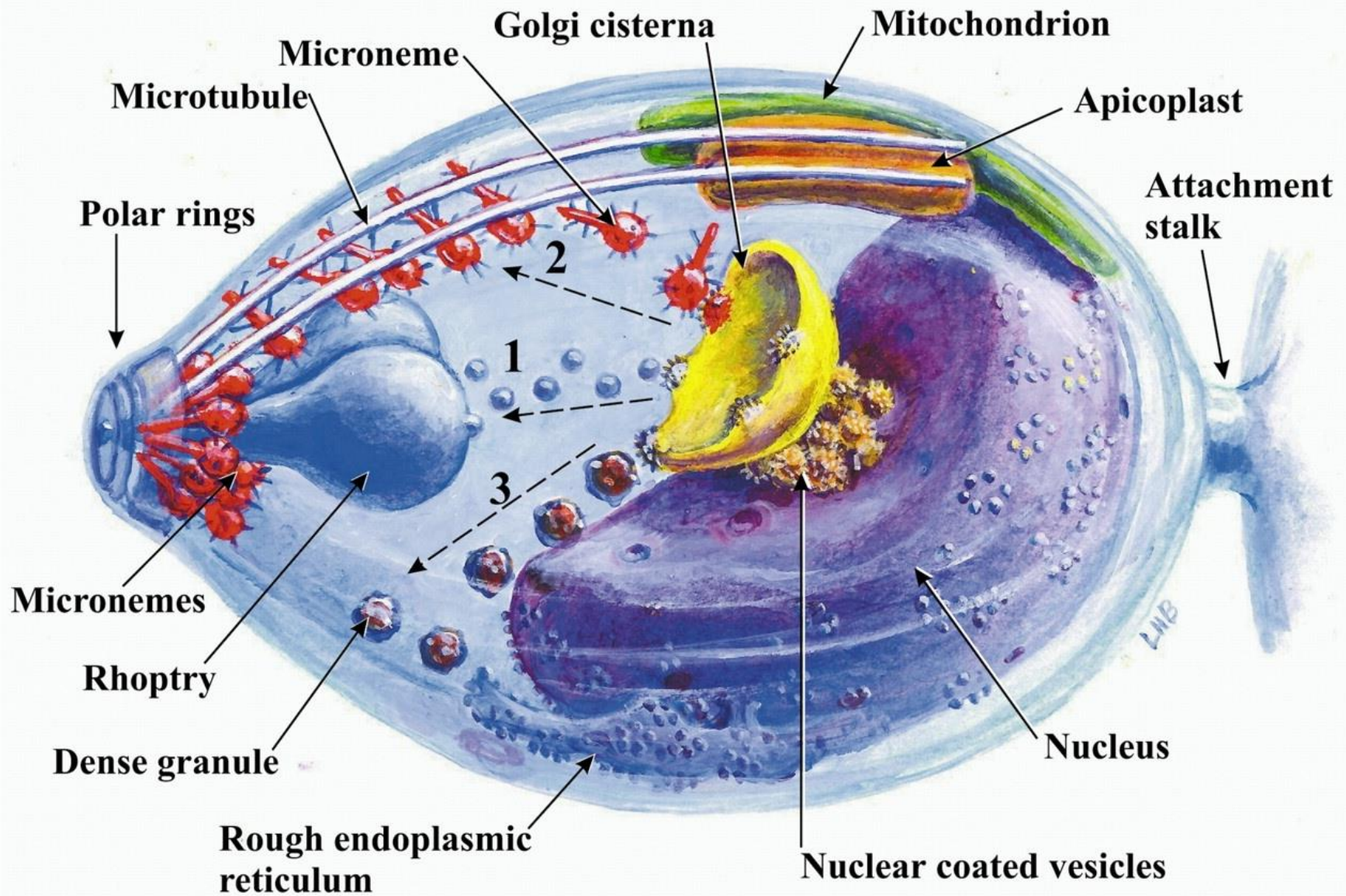
# INTRACELULÁRNÍ PARAZITISMUS

## APICOMPLEXA



Molekulární a buněčné interakce parazita a hostitele, PŘF MU 2016

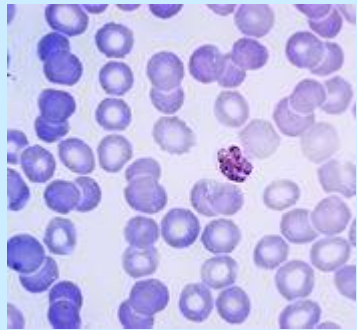
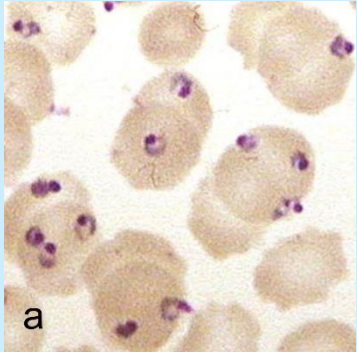
# BUŇKA MEROZOITU



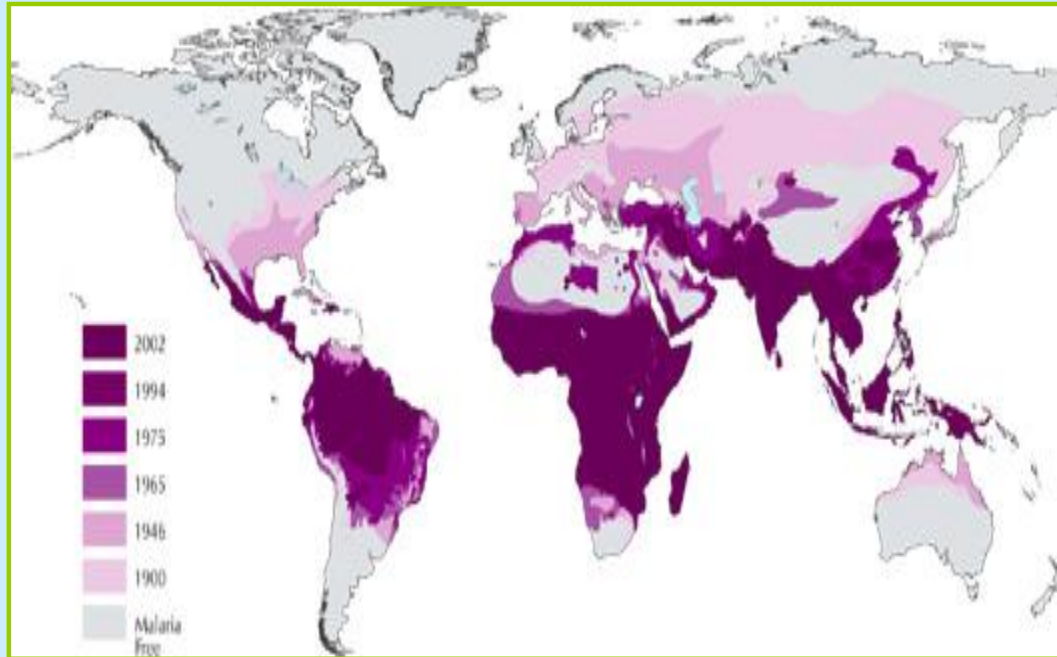
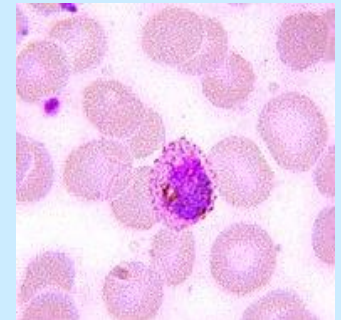
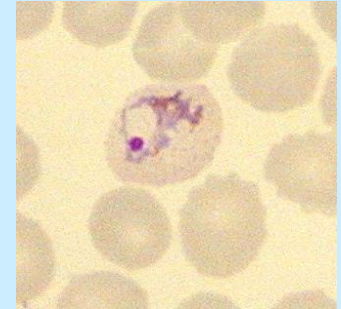


# BIOLOGIE PŮVODCŮ MALÁRIE

*Plasmodium falciparum*



*Plasmodium vivax*



*Plasmodium malariae*

*Plasmodium ovale*

**PŘENAŠEČI**  
**KOMÁŘI RODU *ANOPHELES***  
**Často druhové komplexy**



# MALÁRIE

NEJZÁVAŽNĚJŠÍ PARAZITÁRNÍ INFEKCE V TROPECH  
300 – 500 MILIONŮ INFIKOVANÝCH  
> 100 MILIONŮ KLINICKÝCH PŘÍPADŮ ROČNĚ  
**1,5 – 2,7 MILIONŮ ÚMRTÍ ROČNĚ (MALÉ DĚTI << 5 LET)**



ERADIKACE:

**EVROPA, AUSTRÁLIE, USA**

REDUKCE:

**SEVERNÍ AFRIKA**

VZESTUP:

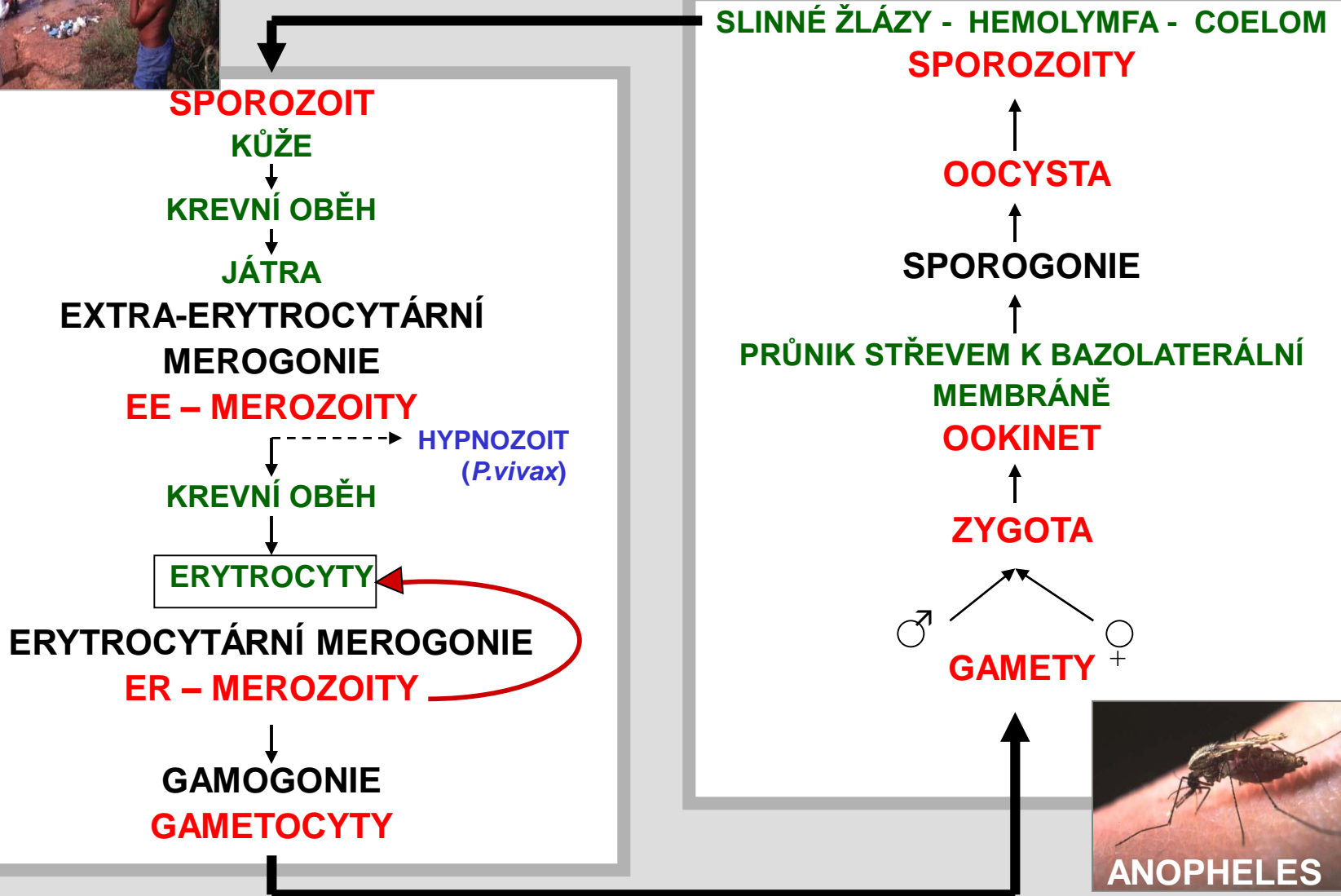
**AFRIKA (OBLASTI JIŽNĚ OD SAHARY)**

**JIHOVÝCHODNÍ ASIE**

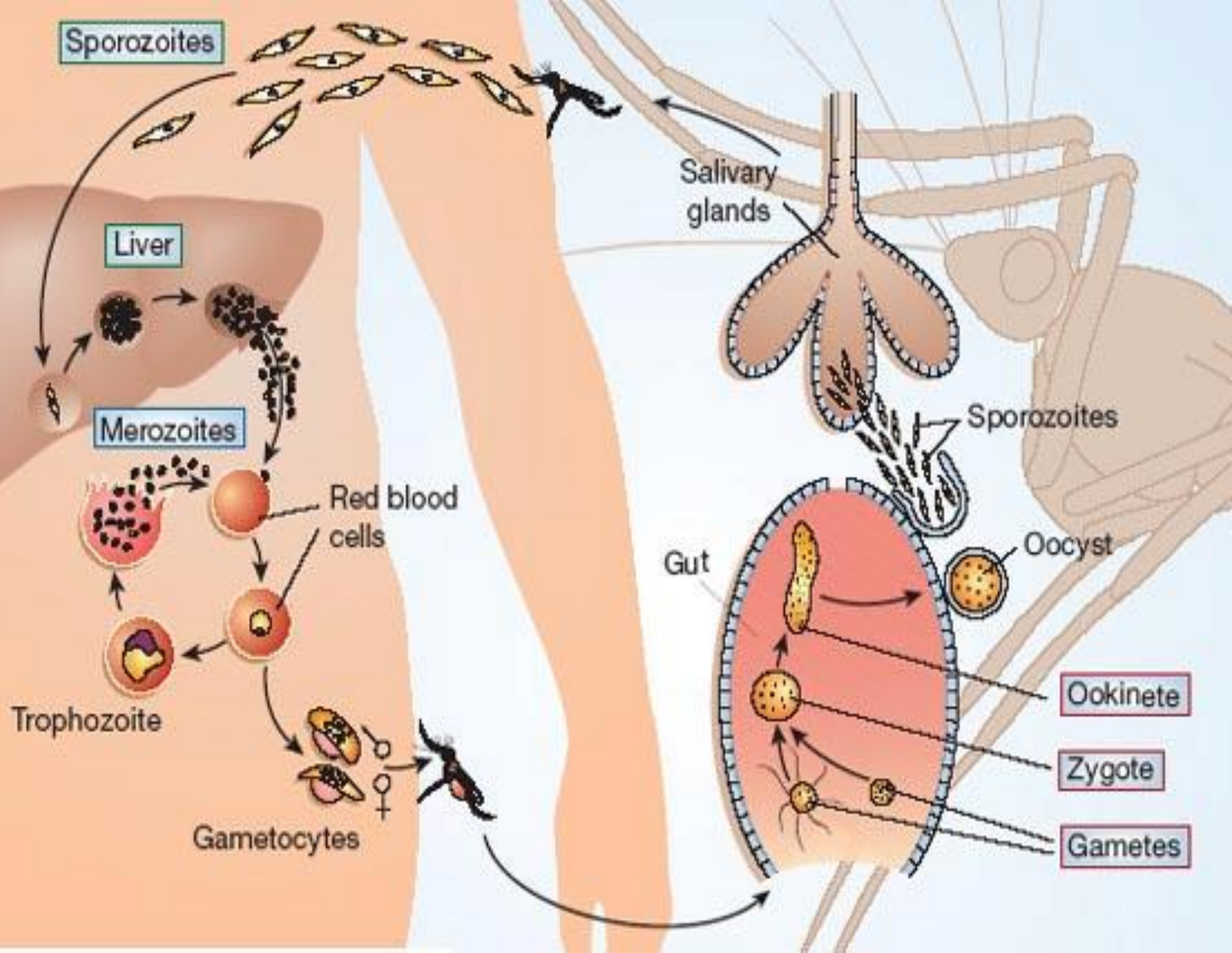
**STŘEDNÍ A JIŽNÍ AMERIKA**

ČLOVĚK

# VÝVOJOVÝ CYKLUS







# Plasmodium: kritické momenty vývoje v přenašeči

přežít aktivitu  
trávicích enzymů a  
antimikrobiálních  
peptidů

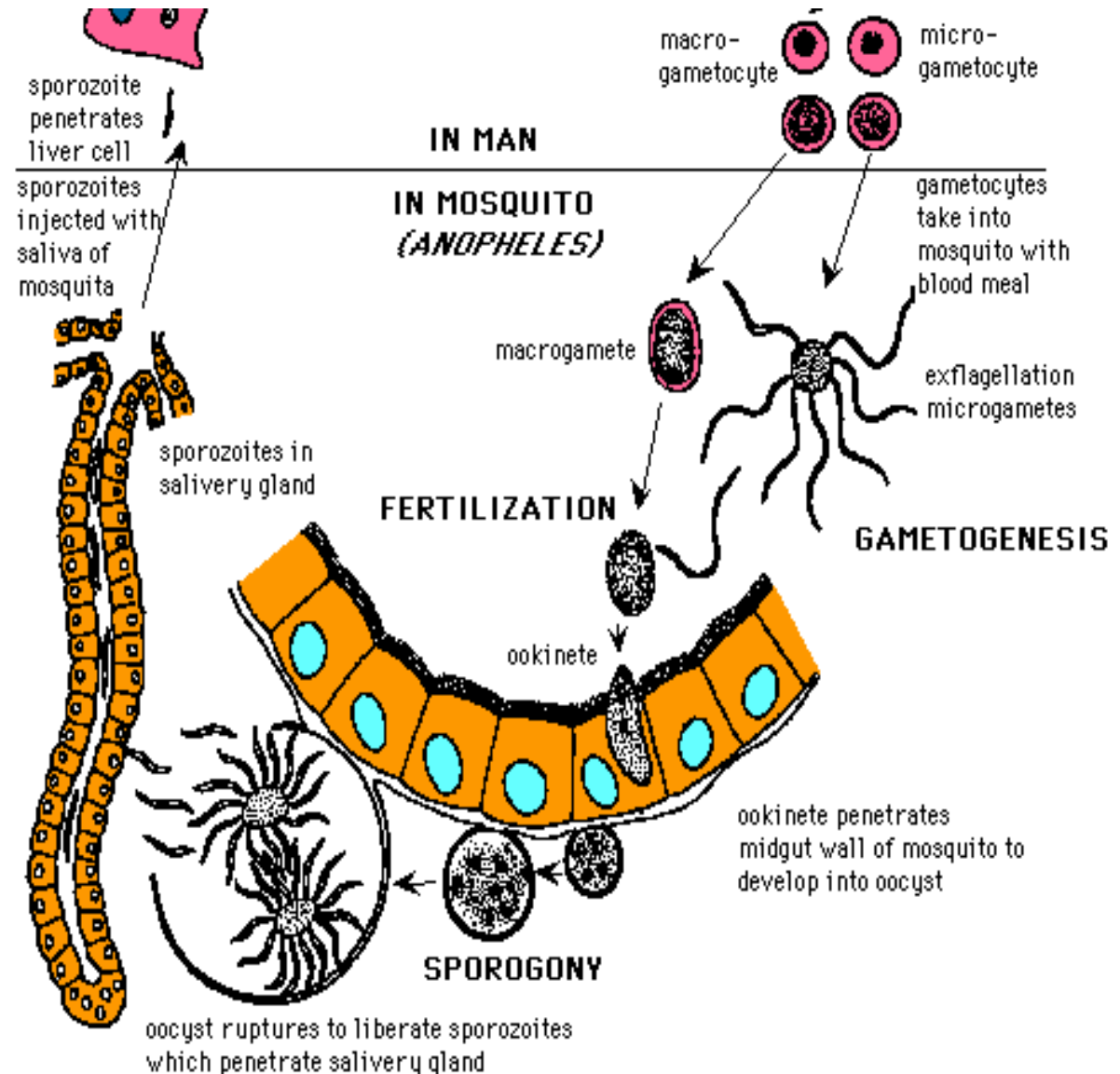
proniknout skrz  
peritrofickou matrix

proniknout  
epitelem  
mesenteronu

uniknout imunitní  
odpovědi komára

vniknout do  
slinných žláz a

infikovat hostitele



gamety

gametocyty

zygota

1-5 hodin  
po infekci

ookinet

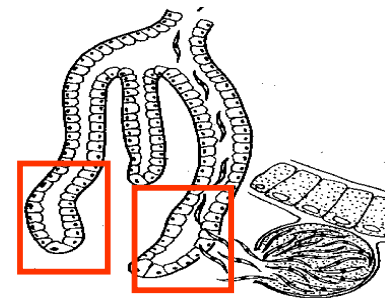
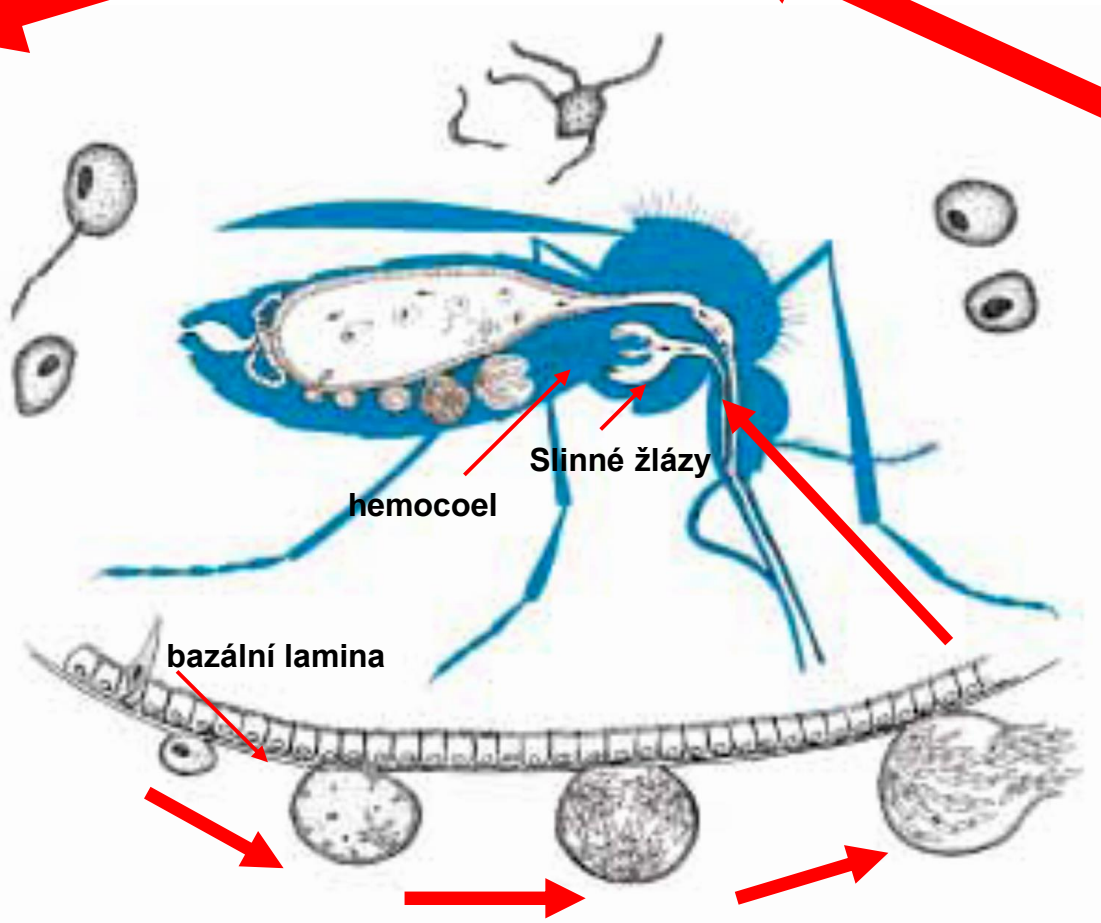
10-24 hodin  
po infekci

24-40 hodin  
po infekci

vyvíjející se oocysta

sporozoiti

10-14 dní  
po infekci





# Plasmodium zvyšuje šanci přenosu: manipulace s hostitelem i přenašečem

**Lokalizace v hostiteli:** gametocyty některých plasmodií zejména do kapilár dermis

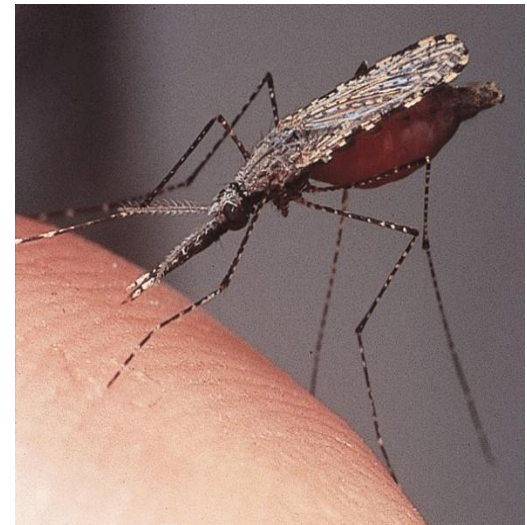
**Snížení obranných reakcí hostitele:**

Nemocná zvířata se méně drbou a hůře odhánějí komáry:  
malarické myši méně citlivé na bodnutí komáry  
(v době po záchvatu, kdy maximum gametocytů v krvi).

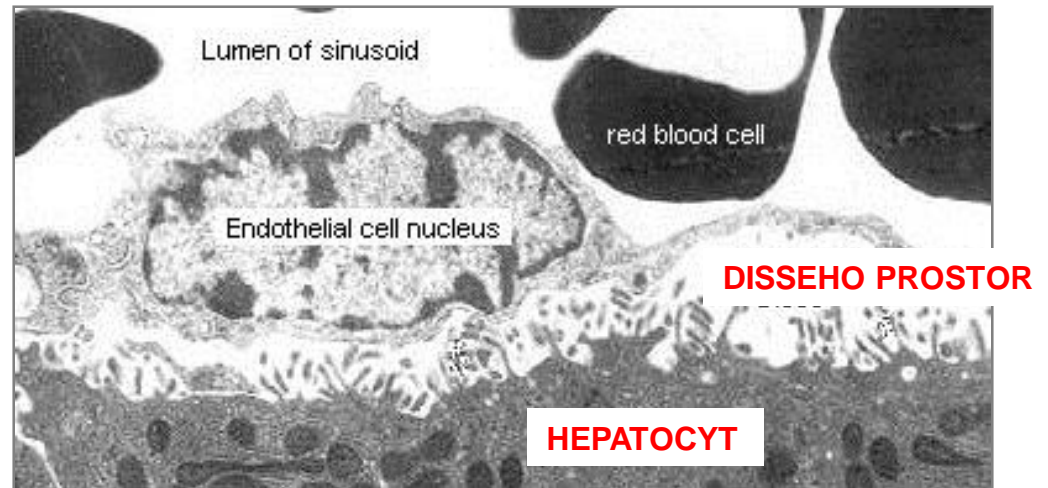
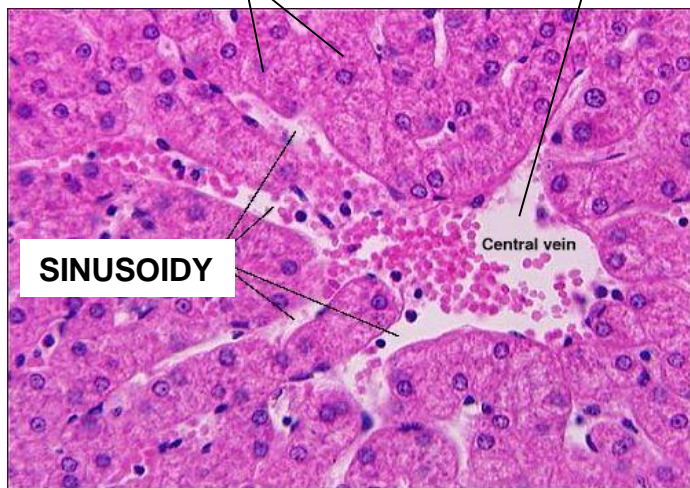
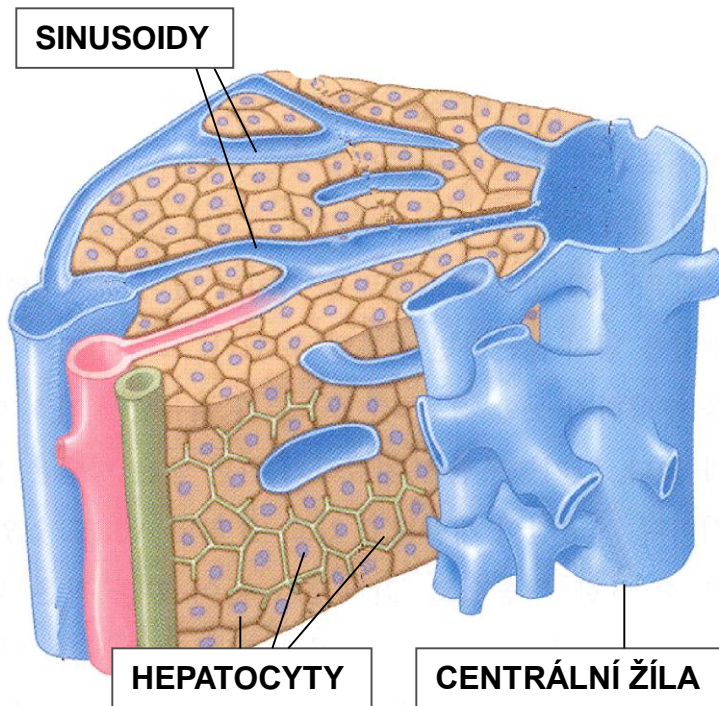
**Inhibice hemostatických mechanismů** parazitem: na infikovaných hlodavcích se komáři nasají rychleji

**Snížení aktivity apyráz ve slinách**

Komár hůře nachází cévu, saje pomaleji,  
Snaží se měnit místo sání, bodat opakovaně

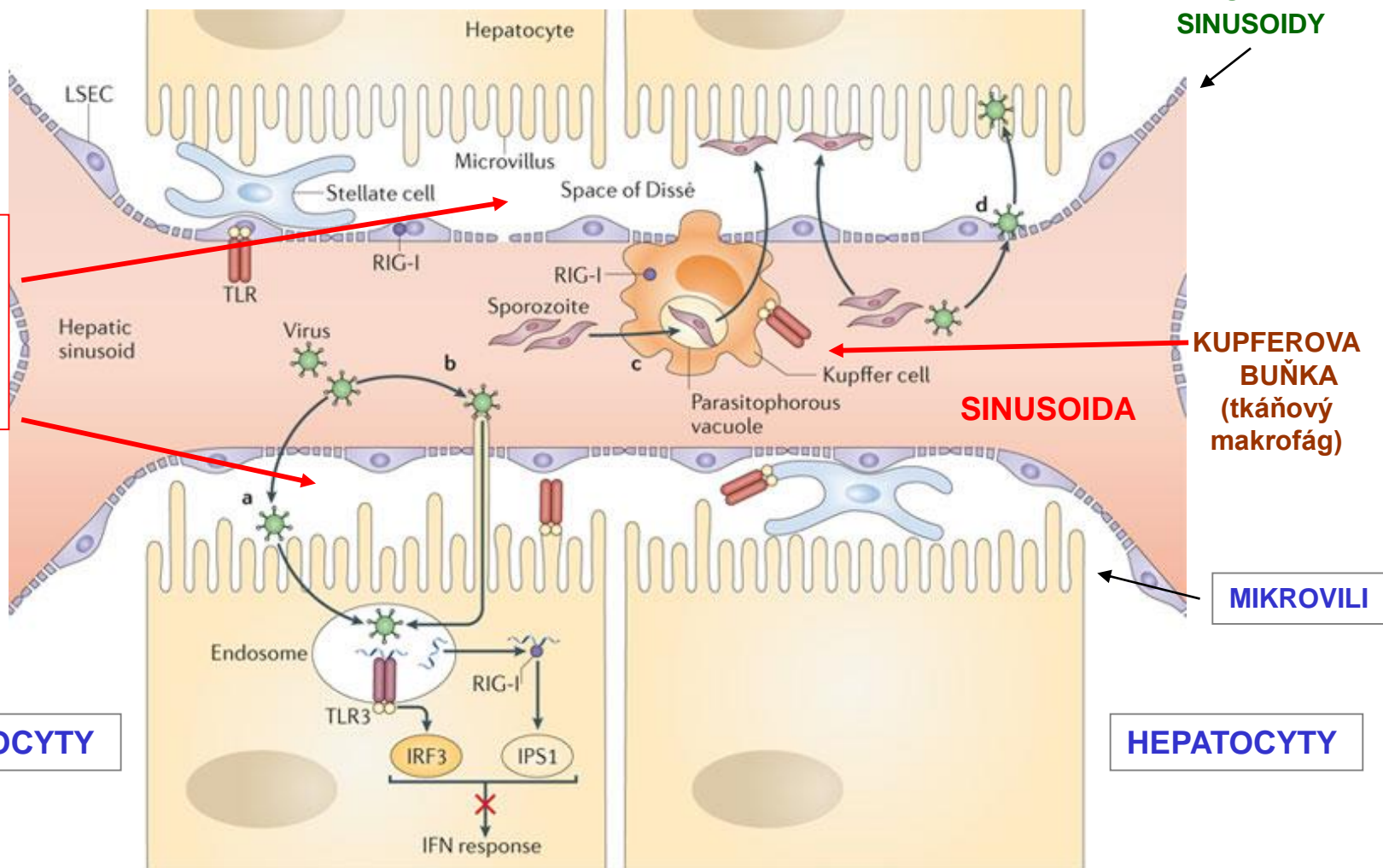


# VSTUP SPOROZOITŮ DO JATER



# VSTUP SPOROZOITŮ DO JATER

**DISSEHO PROSTOR:**  
VÝMĚNA  
LÁTEK MEZI  
KRVÍ A  
HEPATOCYTY



**KLOUZAVÝ POHYB PODÉL ENDOTELU – TRANSCYTÓZA KUPFEROVOU BUŇKOU  
DISSEHO PROSTOR → PENETRAČNÍ PRŮNIK HEPATOCYTY  
MNOHONÁSOBNÉ DĚLENÍ V PARAZITIFORMNÍ VAKUOLE**

**POMNOŽENÍ INFEKČNÍHO AGENS: 1 SPOROZOIT**

**20 000 – 40 000 MEROZOITŮ**



# MOLEKULY DŮLEŽITÉ PRO INVAZI HEPATOCYTŮ

- PROTEIN POVRCHOVÉHO PLÁŠTĚ **CSP** (**C**IRCUM**S**POROZOITE **P**ROTEIN)  
ADHEZIVNÍ DOMÉNA R-II: VAZEBNÉ MÍSTO PRO RECEPTORY HEPATOCYTŮ
- CYSTEINOVÁ PEPTIDÁZA SPOROZOITŮ  
PROTEOLYTICKÉ ÚPRAVY CSP PŘI VSTUPU DO HEPATOCYTŮ
- **TRAP** – PROTEINOVÝ PRODUKT MIKRONÉM  
ADHEZIN – INTEGRIN NUTNÝ PRO POHYB SPOROZOITŮ
- **SPECT** – PROTEINOVÝ PRODUKT MIKRONÉM  
INTERAKCE S KUPFEROVÝMI BUŇKAMI

**HLAVNÍ RECEPTORY HEPATOCYTŮ A KUPFEROVÝCH BUNĚK**  
HEPARAN SULFÁT PROTEOGLYKANY

# CSP- PROTEIN POVRCHOVÉHO PLÁŠTĚ SPOROZOITŮ

KONTINUÁLNÍ SEKRECE Z MIKRONÉM, ZAKOTVENÍ V MEMBRÁNĚ GPI – KOTVOU

- REPETITIVNÍ OBLAST – CENTRÁLNÍ ČÁST MOLEKULY, SILNĚ IMUNOGENNÍ
- 2 KONZERVATIVNÍ OBLASTI

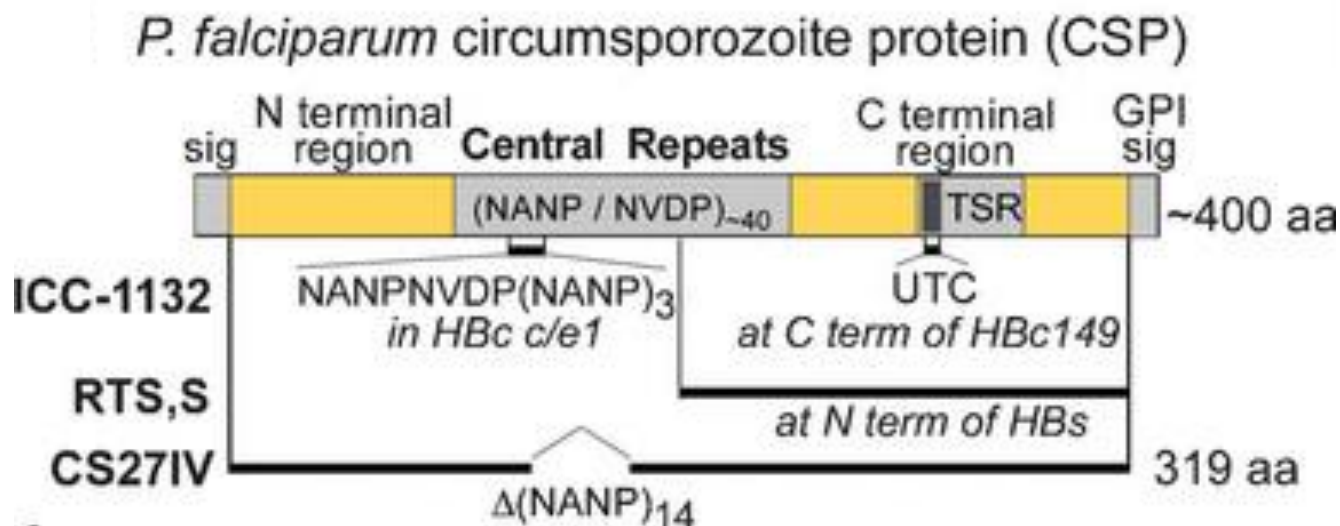
**VAZEBNÁ MÍSTA PRO GLYKOSAMINOVÉ ŘETĚZCE PROTEOGLYKANŮ  
JATERNÍCH BUNĚK**

**REGION I NA N-KONCI**

**REGION II NA C-KONCI** ← **NEZBYTNÝ PRO POHYB A INVAZI**

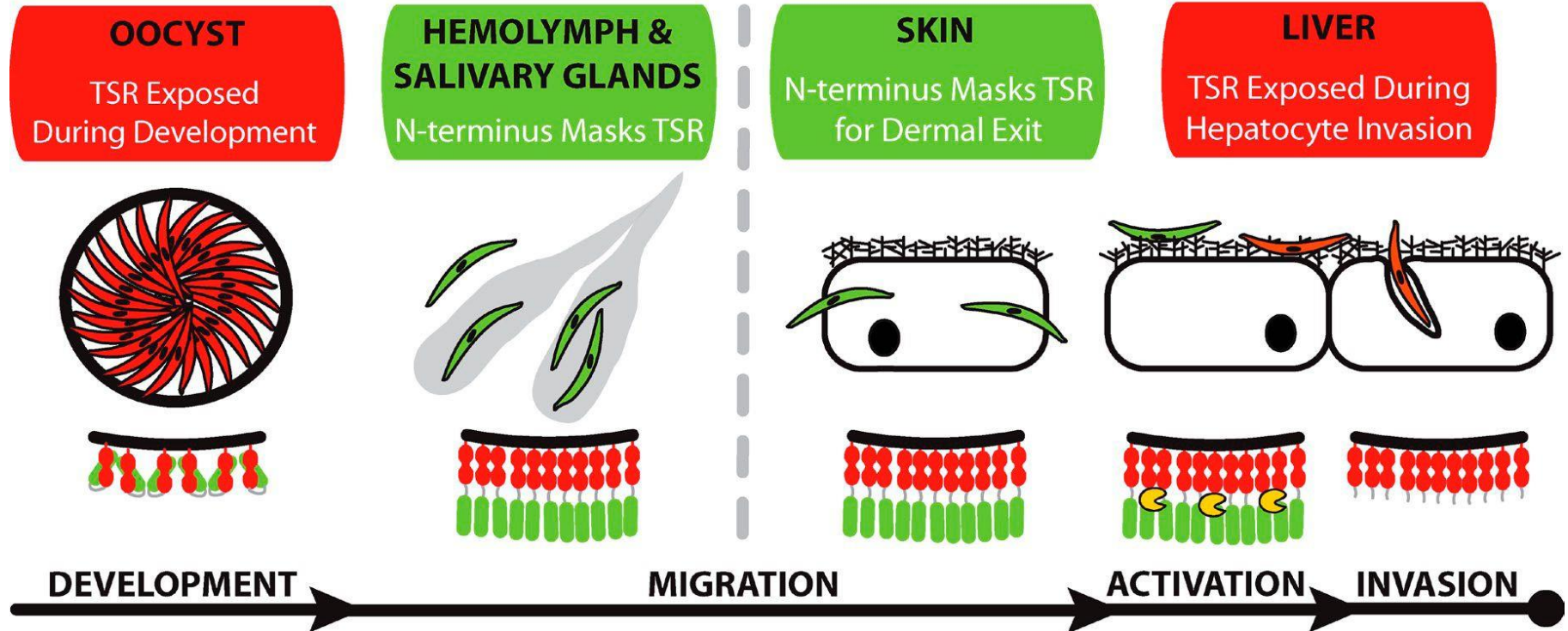
- N - TERMINÁLNÍ SEKVENCE BAZICKÝCH AMINOKYSELIN

**ODSTŘÍŽENA CYSTEINOVOU PEPTIDÁZOU PO KONTAKTU S HEPATOCYTEM**

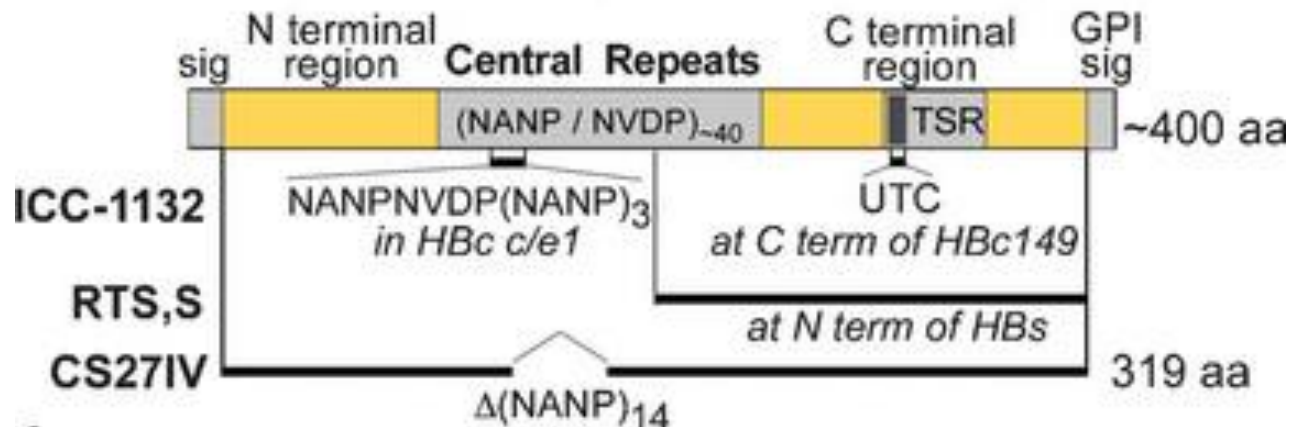


# MOSQUITO

# MAMMAL

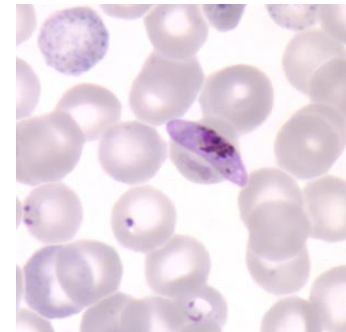
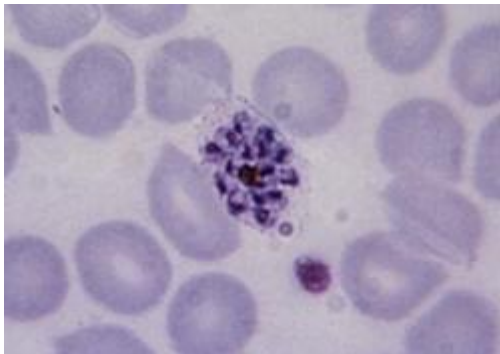
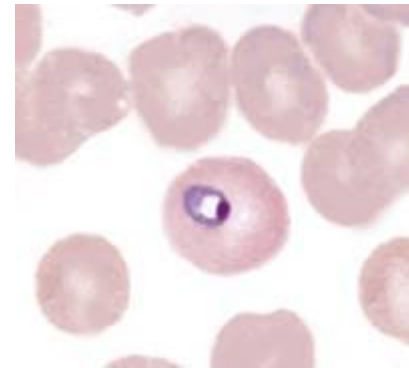
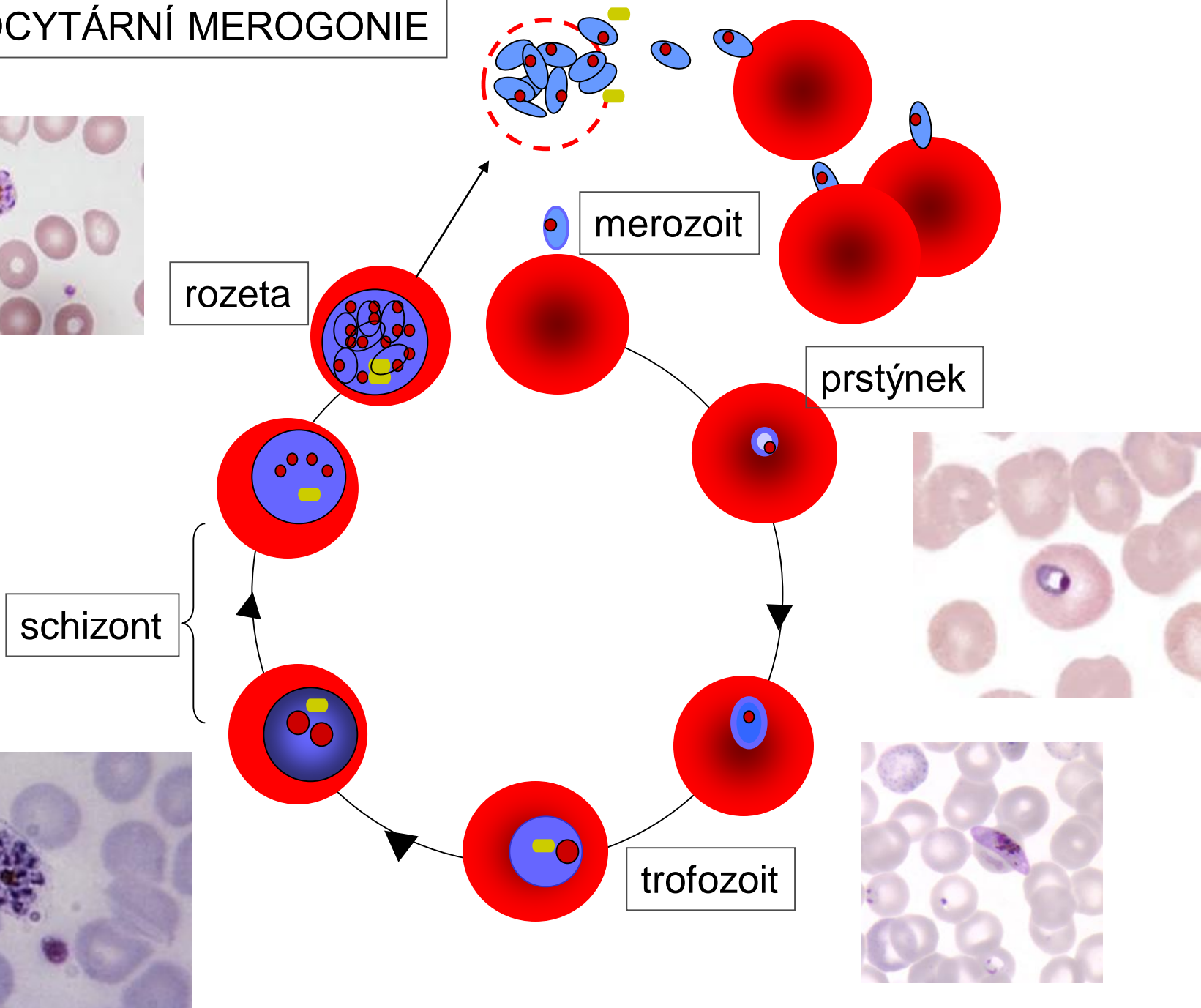
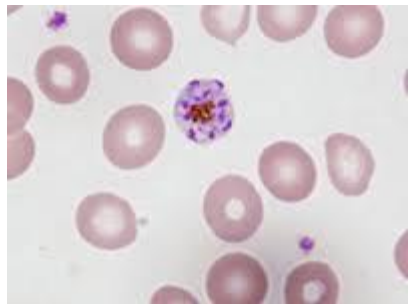


## *P. falciparum* circumsporozoite protein (CSP)



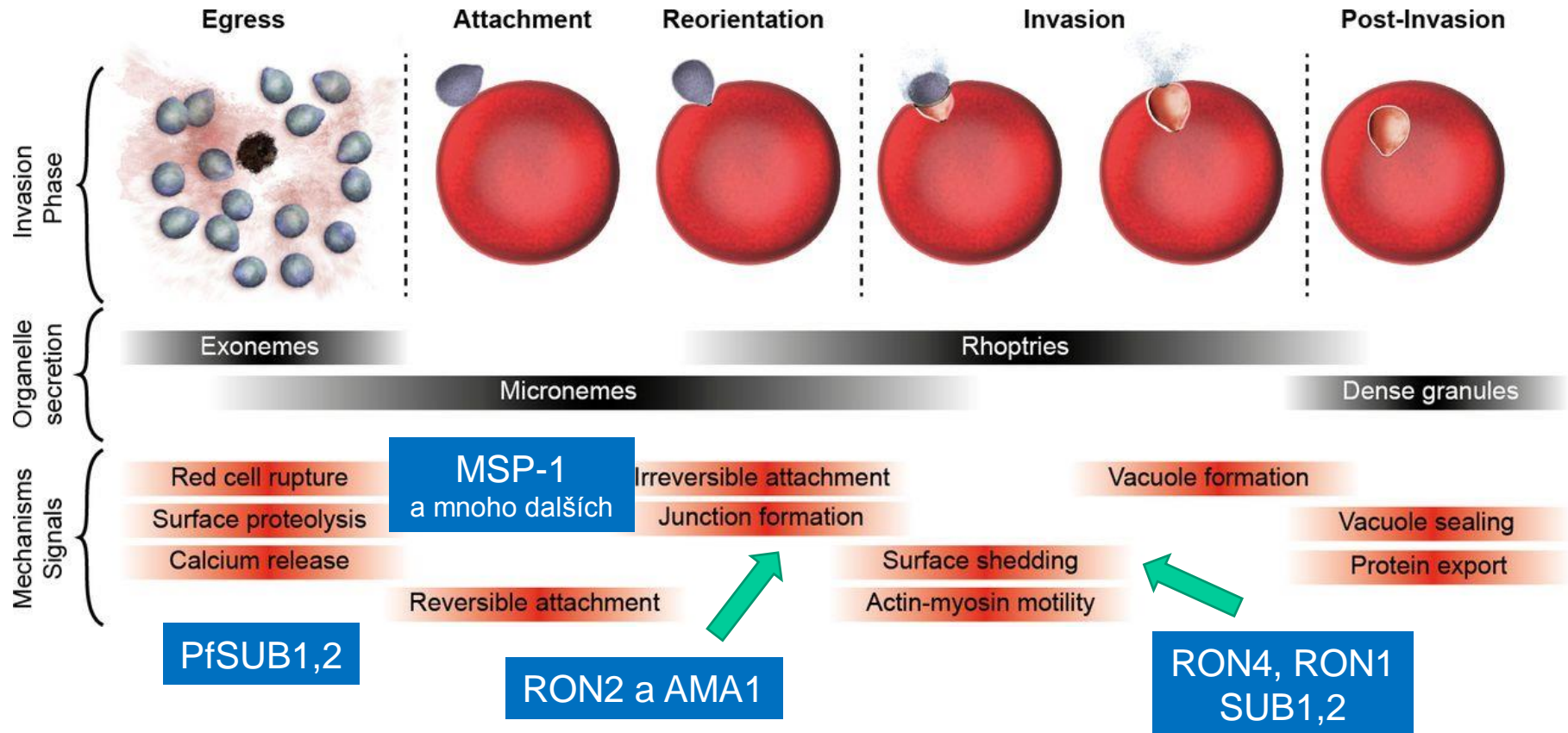


# ERYTROCYTÁRNÍ MEROGONIE

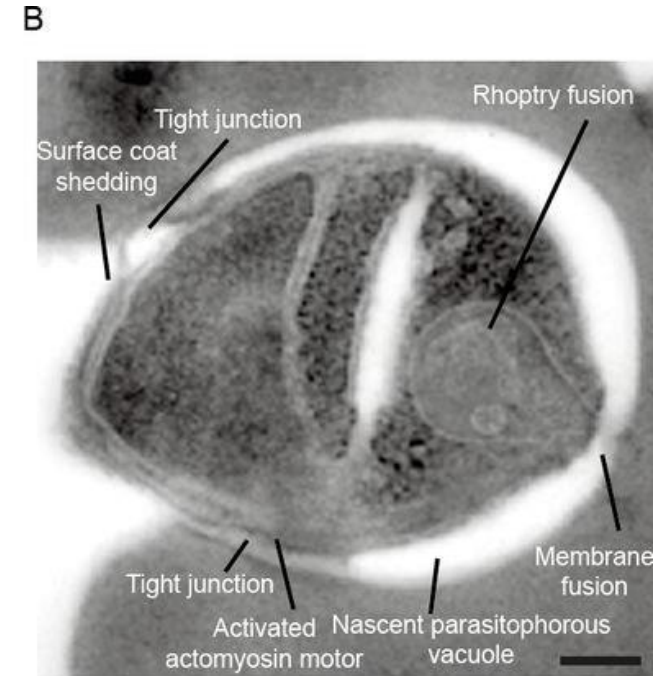
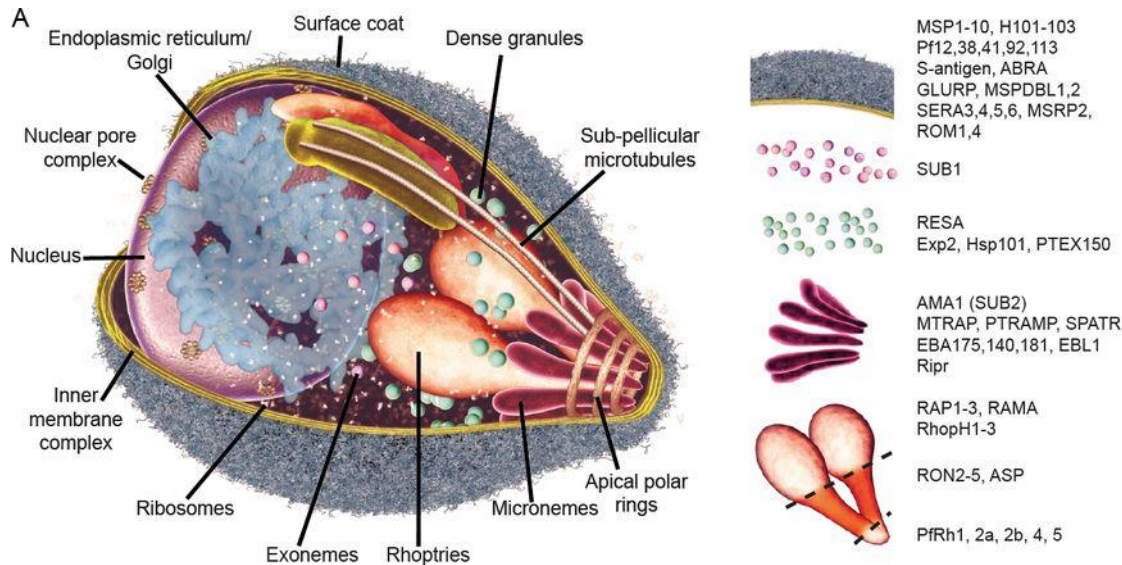


# PRŮBĚH ERYTROCYTÁRNÍ MEROGONIE

**VELMI RYCHLÝ: 30 VTEŘIN**



# SUBCELULÁRNÍ LOKALIZACE PROTEINŮ – KOORDINACE INVAZE ERYTROCYTU



## DVĚ KATEGORIE INVAZNÍCH PROTEINŮ:

### ADHESINY

– ligandy, vážící se na spec. receptory erytrocytu (glykoforiny, komplement receptor 1 aj.)

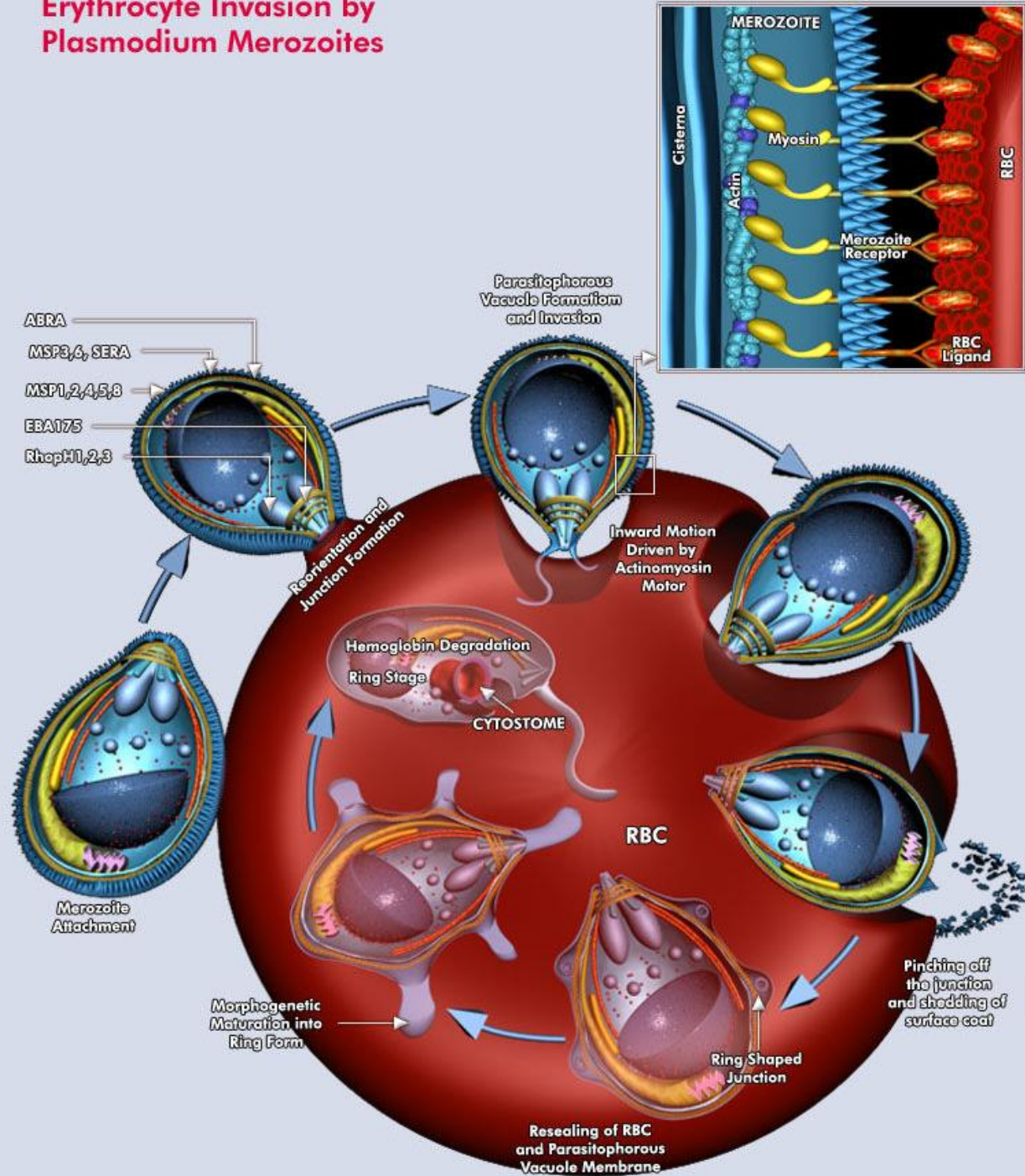
### INVASINY

– efektorové proteiny bez vazby na erytrocytární receptory, např. AMA-1, podílející se na formaci „tight junction“)

**OBĚ SKUPINY AKTIVOVÁNY ZVÝŠENOU KONCENTRACÍ  $\text{Ca}^{2+}$  IONTŮ PO RUPTUŘE ERYTROCYTU**

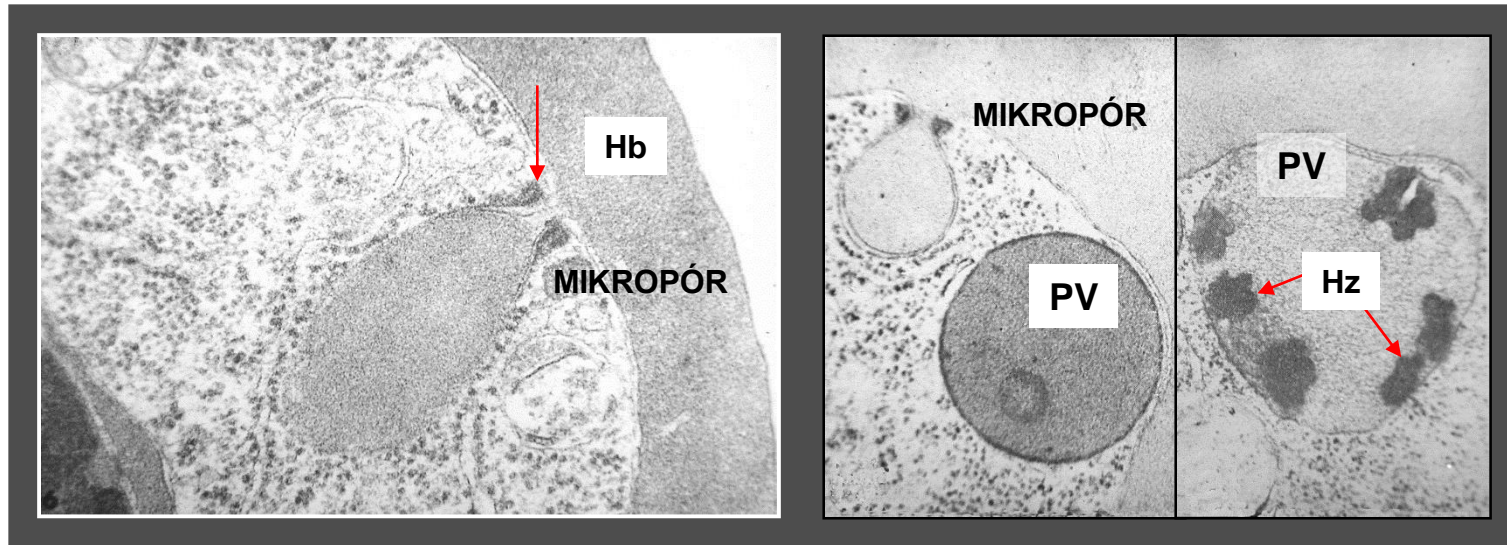


# Erythrocyte Invasion by Plasmodium Merozoites



# ŽIVOT V ERYTROCYTU

## 1. ENDOCYTÓZA HEMOGLOBINU



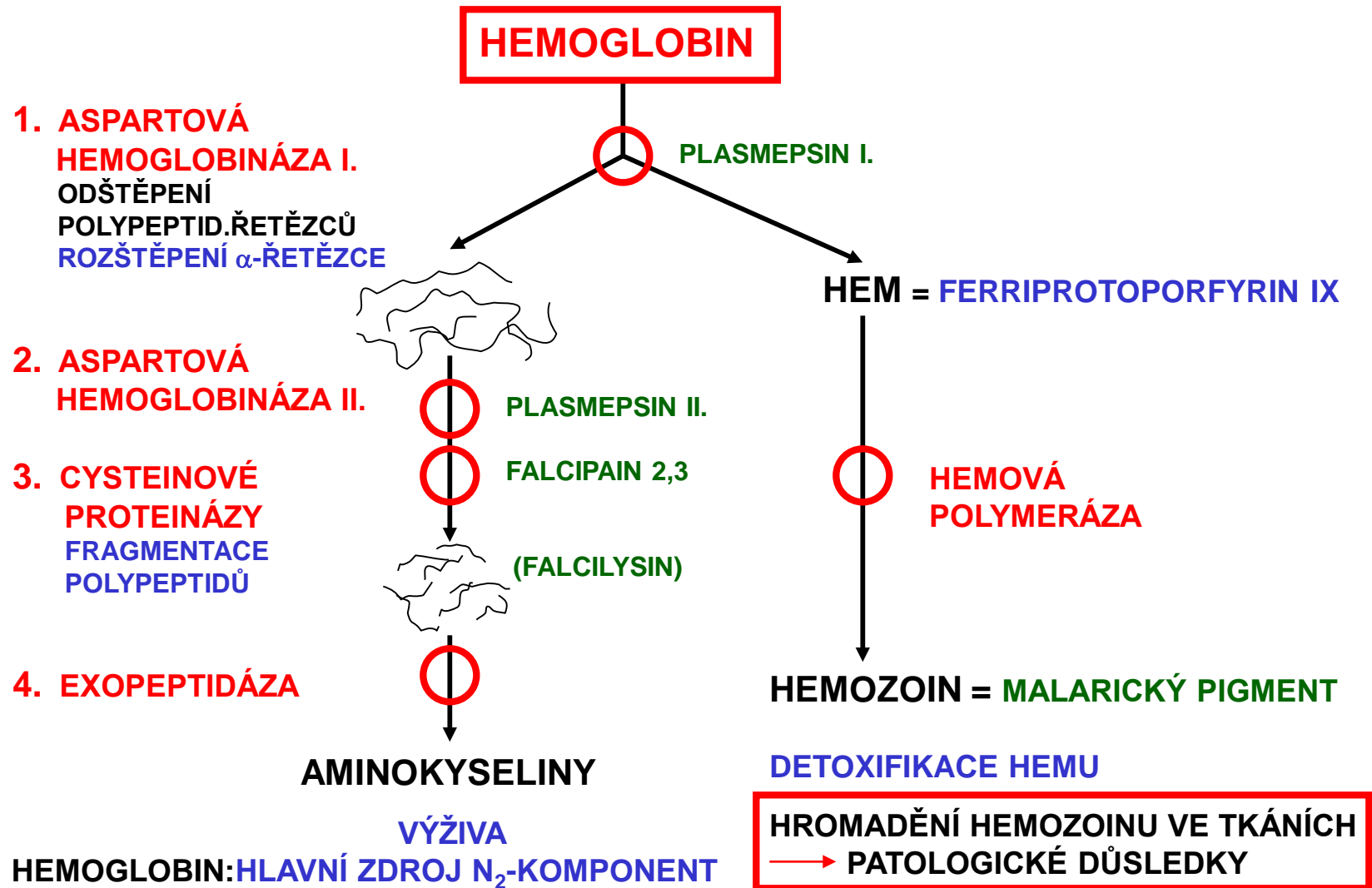
POHLCOVÁNÍ HEMOGLOBINU MIKROPÓREM  
TRÁVENÍ V POTRAVNÍ VAKUOLE

**HEMOGLOBIN** → ESENCIÁLNÍ ZDROJ AMINOKYSELIN

↓  
**HEMOZOIN = MALARICKÝ PIGMENT**

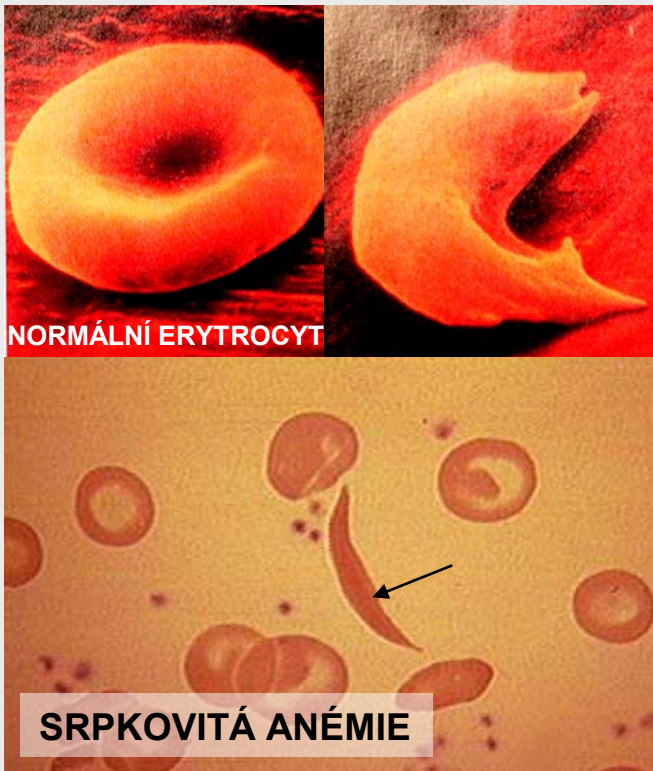
# ZPRACOVÁNÍ HEMOGLOBINU V POTRAVNÍ VAKUOLE

= SEKUNDÁRNÍ LYSOZOM





# PLASMODIUM NEZPRACOVÁVÁ PATOLOGICKÉ FORMY HEMOGLOBINU



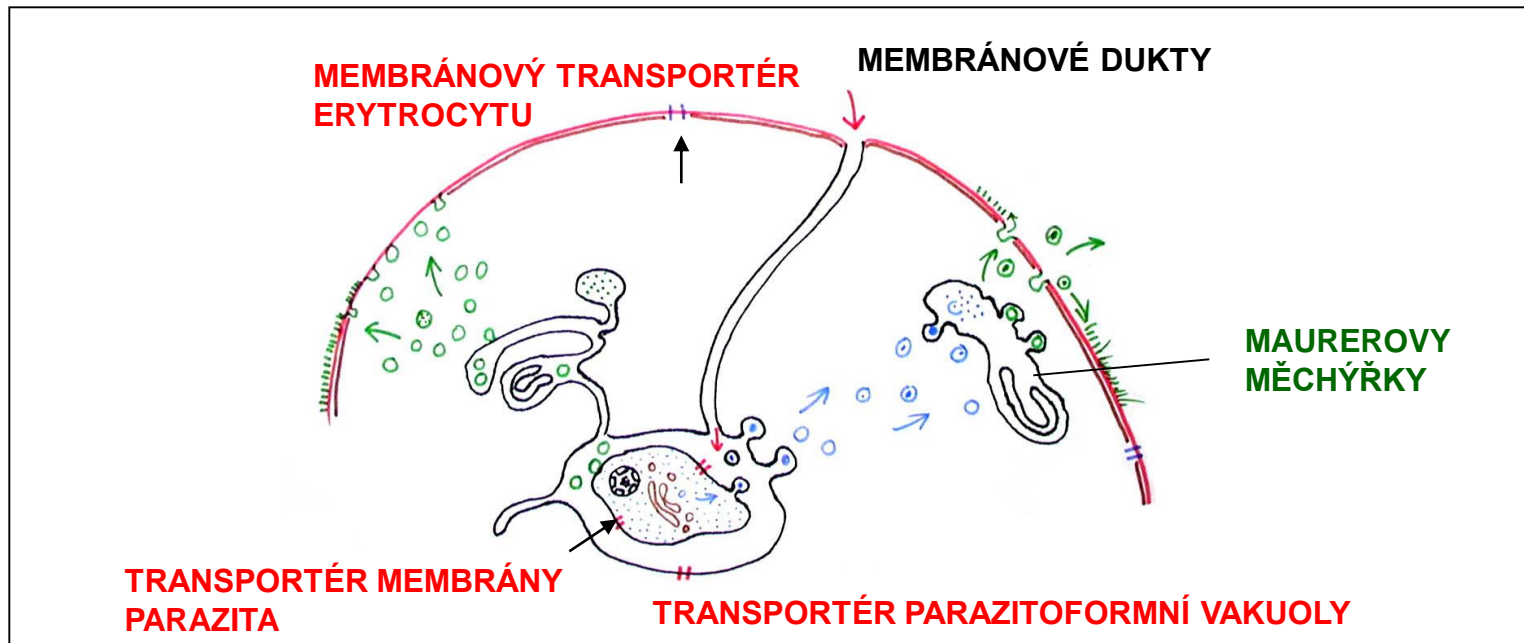
**SRPKOVITÁ ANÉMIE = SICKLE CELL ANEMIA**  
**MOLEKULÁRNÍ DĚDIČNÁ CHOROBA**

**S-HEMOGLOBIN**  
**ZÁMĚNA JEDINÉ AMINOKYSELINY**  
**MÍSTO KYSELINY GLUTAMOVÉ (+)**  
**VALIN (ELEKTRONEUTRÁLNÍ)**

**V ODKYSLIČENÉM STAVU**  
**POLYMERIZACE**  
**TYČOVITÉ ŠROUBOVICE**

**SELEKČNÍ VÝHODA V ENDEMICKÝCH OBLASTECH *P.falciparum***  
**ZVÝŠENÝ VÝSKYT SRPKOVITÉ ANÉMIE V POPULACI**

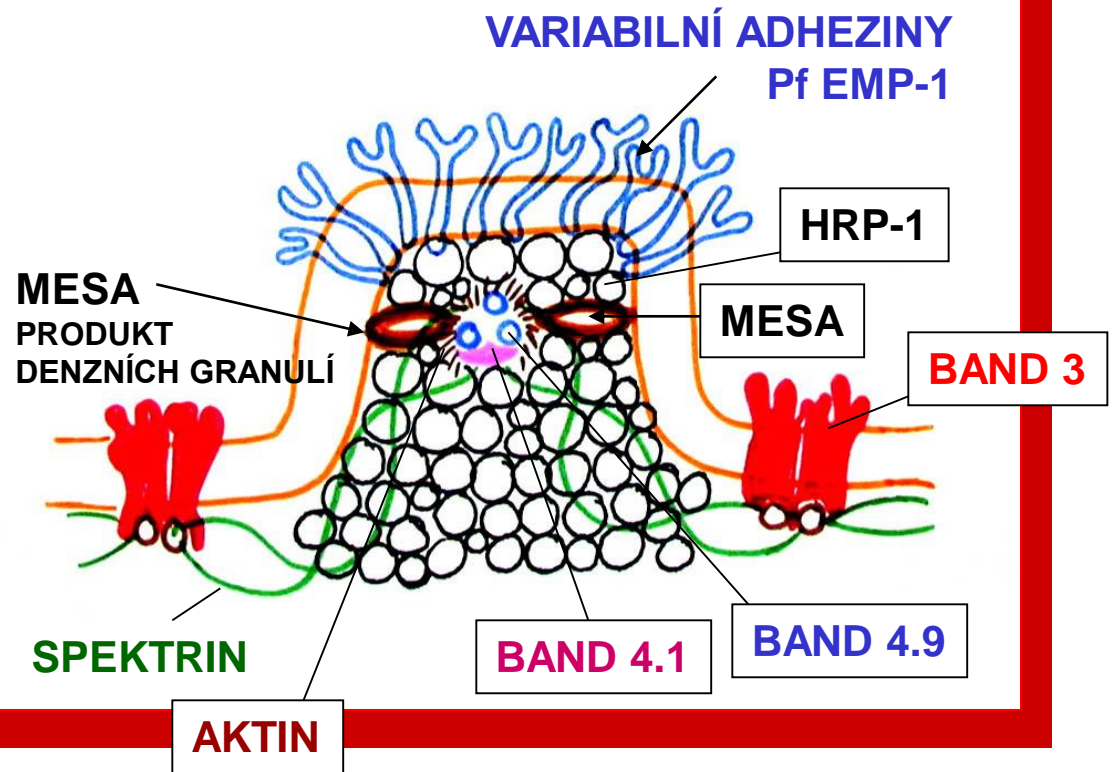
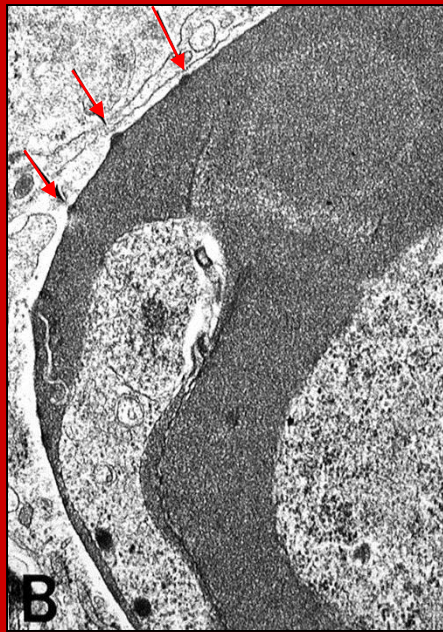
## 2. TUBOVEZIKULÁRNÍ SEKREČNÍ SYSTÉM PLASMODIÍ V CYTOPLAZMĚ ERYTROCYTU



- TVORBA MEMBRÁNYMI OHRANIČENÝCH KOMPARTMENTŮ PRO VEZIKULÁRNÍ TRANSPORT
- KANÁLKY PRO PŘÍMÝ PŘÍVOD MOLEKUL Z KREVNÍ PLAZMY DO PARAZITOFORNÍ VAKUOLY (MEMBRÁNOVÉ DUKTY)
- ORGANIZOVANÝ SYSTÉM VEZIKULÁRNÍ SEKRECE A TŘÍDĚNÍ
- DETEKCE PROTEINŮ PLÁŠTĚ, MALÝCH G-PROTEINŮ SEKREČNÍHO SYSTÉMU, MARKERŮ GOLGI KÓDOVANÝCH GENY PARAZITA V MEMBRÁNOVÝCH KOMPARTMENTECH ERY
- PRŮKAZ LOKALIZACE EXPORTOVANÝCH PROTEINŮ V SEKREČNÍCH KOMPARTMENTECH

### 3. EXPORT ADHEZINŮ PARAZITA NA MEMBRÁNU ERYTROCYTU

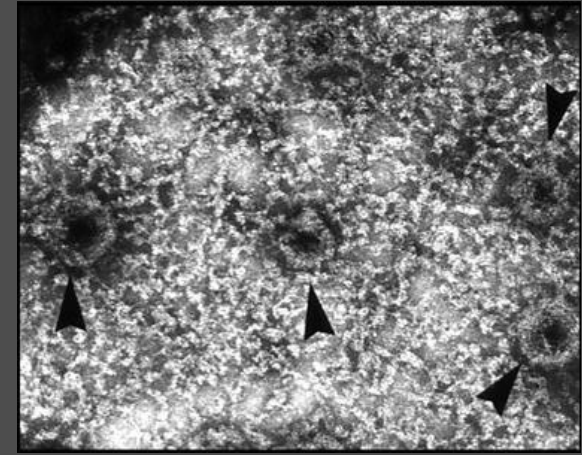
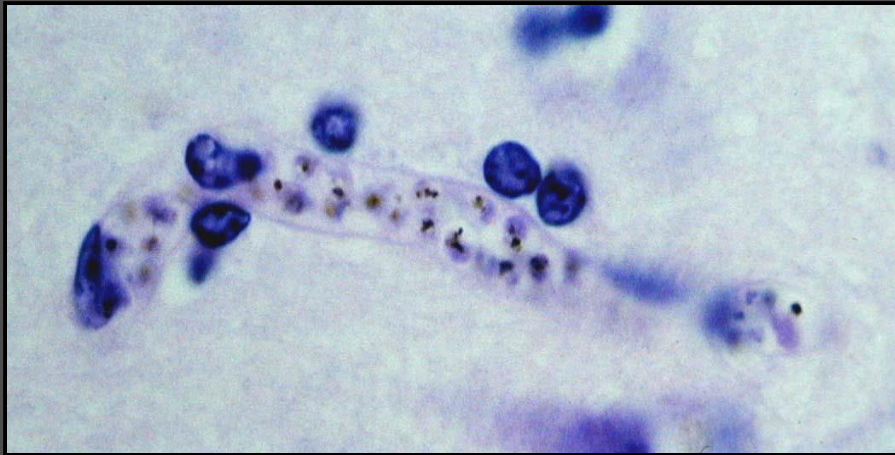
# KNOBBS KNOFLÍKOVITÉ VÝRŮSTKY NA MEMBRÁNĚ ERYTROCYTU



## HRP-1: INTEGRÁTOR VARIABILNÍCH ADHEZINŮ RODINY EMP-1 VÁZBA EMP-1 NA RŮZNÉ RECEPTORY ENDOTELU KAPILÁR



# VÝZNAM ADHEZE PARAZITOVANÝCH ERYTROCYTŮ



- **SEKVESTRACE – VYŘAZENÍ Z CÍRKULACE**  
VYCHYTÁVÁNÍ PARAZITOVANÝCH ERYTROCYTŮ V KAPILÁRÁCH  
OCHRANA PŘED ROZPOZNÁNÍM  
A DESTRUKCÍ MAKROFÁGY PŘI PRŮCHODU SLEZINOU
- **USNADNĚNÍ INFEKCE DALŠÍCH ERYTROCYTŮ**
- **PATOLOGICKÉ DŮSLEDKY**  
UCPÁNÍ KREVNÍCH KAPILÁR A VENUL → NARUŠENÍ CÍRKULACE →  
PROVOKACE ZÁNĚTU V KOMBINACI S DALŠÍMI FAKTORY → **PŘÍČINA**  
**SMRTELNÝCH KOMPLIKACÍ PŘI TROPICKÉ MALÁRII (MOZKOVÁ MALÁRIE)**

## 4. SEKRECE PARAZITÁRNÍCH ANTIGENŮ INFIKOVANÝMI ERYTROCITY

### HRP- II

REPETITIVNÍ

SILNĚ IMUNOGENNÍ

80% MOLEKULY REPETITIVNÍ TRIPEPTID

**ALANIN – HISTIDIN – HISTIDIN**

60-105 kDa PODLE POČTU REPETIC

INTENZIVNĚ VÁŽE **Zn<sup>2+</sup>** A **Ca<sup>2+</sup>**

NEFUNKČNÍ STIMULACE IMUNITNÍHO SYSTÉMU

## 5. UVOLŇOVÁNÍ DCEŘINNÝCH MEROZOITŮ

### KRITICKÁ FÁZE INFEKCE

INDUKUJE MALARICKÝ ZÁCHVAT

ČÁSTEČNÁ SYNCHRONIZACE BUNĚČNÉHO CYKLU MEROGONIE

CHARAKTERISTICKÁ PERIODICITA MALARICKÝCH ZÁCHVATŮ



### AMA – 1 SERINOVÁ PROTEINÁZA RHOPTRIÍ DCEŘINNÝCH MEROZOITŮ

↓  
UVOLNĚNÍ Z PARAZITOFORNÍ VAKUOLY

↓  
RUPTURA ERYTROCYTU ← FALCIPAIN-2

↓  
**HEMOZOIN**

HROMADĚNÍ V MAKROFÁZÍCH  
A TKÁNÍCH JATER A SLEZINY

↓  
IMUNOGENY  
STIMULACE BEZ  
PROTEKTIVNÍHO  
ÚČINKU

↓  
**TOXIN**

INDUKCE PYROGENŮ  
A PATOLOGICKÝCH PROCESŮ  
SOUVISEJÍCÍCH S NADPRODUKČÍ  $\text{TNF}\alpha$



# MALARICKÝ TOXIN

GPI-KOTVA POVRCHOVÝCH ANTIGENŮ MEROZOITŮ



FALEŠNÝ SIGNÁL PRO MAKROFÁGY  
KE SPUŠTĚNÍ PRODUKCE

**TNF- $\alpha$  A IL-1**

## DŮSLEDKY:

### 1. **TNF- $\alpha$ A IL-1 JSOU ENDOGENNÍ PYROGENY**

ÚČINEK NA TERMOREGULAČNÍ CENTRUM V HYPOTHALAMU PROSTŘEDNICTVÍM  
PROSTAGLANDINU-E

### 2. **NADPRODUKCE TNF- $\alpha$ :** MNOHOSTRANNÉ PATOLOGICKÉ ÚČINKY **HLAVNÍ ČINITEL PATOGENITY *Plasmodium falciparum***

# ÚČINKY TNF- $\alpha$ PŘI TROPICKÉ MALÁRII

## 1. PŘÍMÝ CYTOTOXICKÝ ÚČINEK

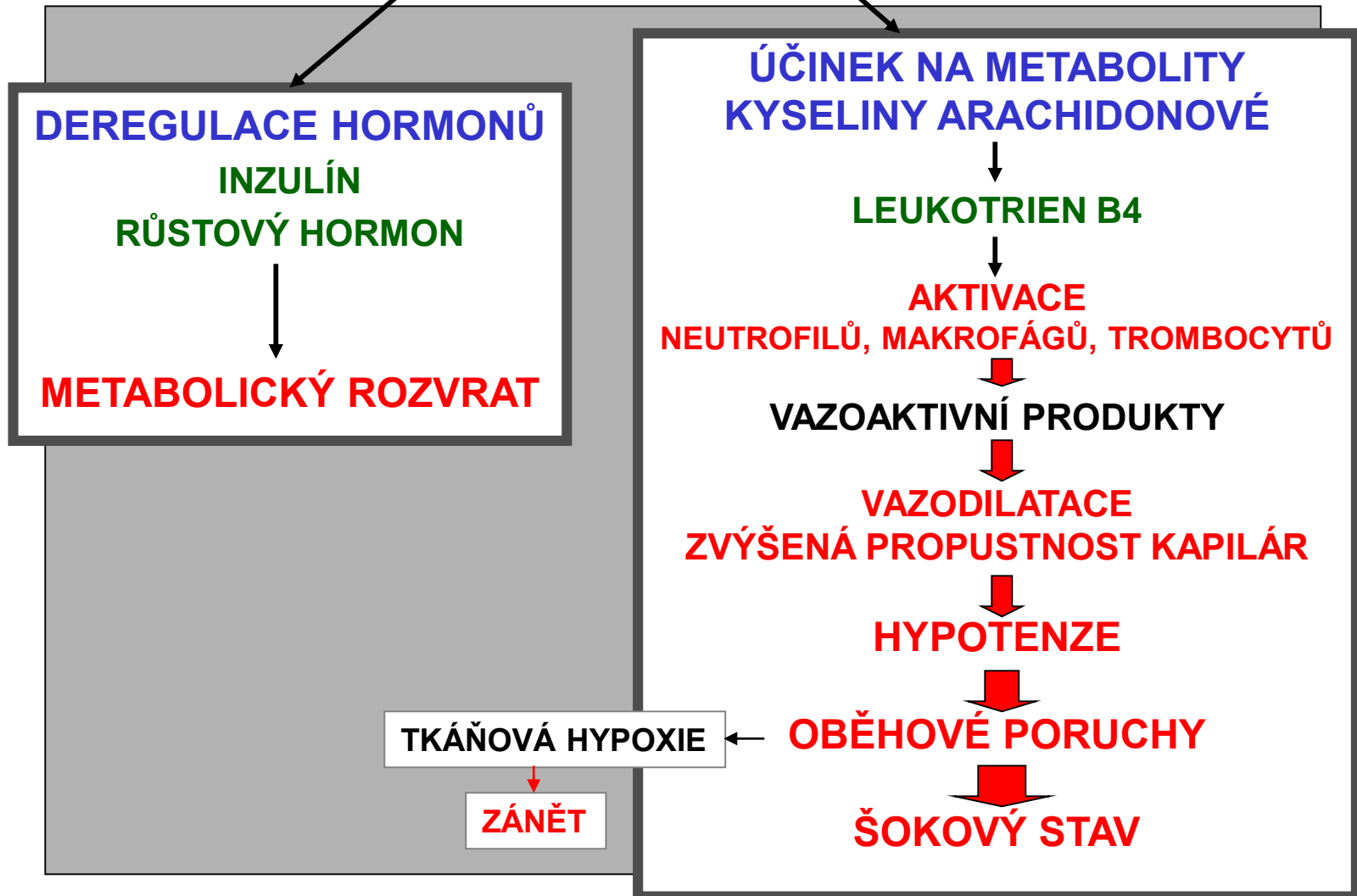
V SOUČINNOSTI S ADHEZIVITOU INFIKOVANÝCH ERYTROCYTŮ  
NAHROMADĚNÍ INFIKOVANÝCH KRVINEK NA ENDOTELU CÉV →  
→ **VYSOKÁ LOKÁLNÍ KONCENTRACE TOXINU**

ARESTOVANÉ MONOCYTY → ↓ LOKÁLNÍ NADPRODUKCE TNF- $\alpha$

↓  
**POŠKOZENÍ CÉV A OKOLNÍCH TKÁNÍ**  
**PERIVASKULÁRNÍ HEMORRHAGIE**  
**NEKRÓZY V RŮZNÝCH ORGÁNECH**

**MOZEK, PLÍCE, STŘEVO, LEDVINY**

## 2. NEPŘÍMÉ ÚČINKY TNF- $\alpha$





# KLINICKÝ OBRAZ MALÁRIE

## Nekomplikovaná malárie

### TŘÍDENNÍ MALÁRIE

původci:

***Plasmodium vivax***

***Plasmodium ovale*** infekce retikulocytů

**inkubační doba:**

2-3 týdny (i několik měsíců)

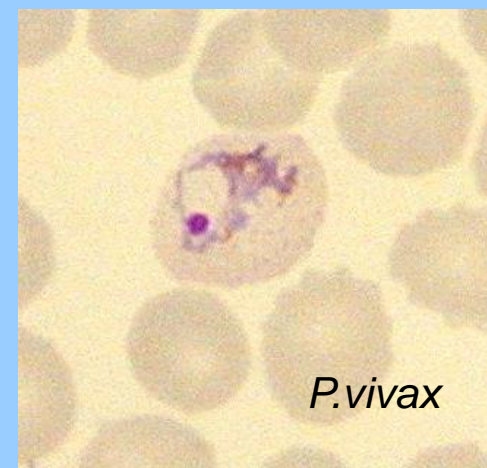
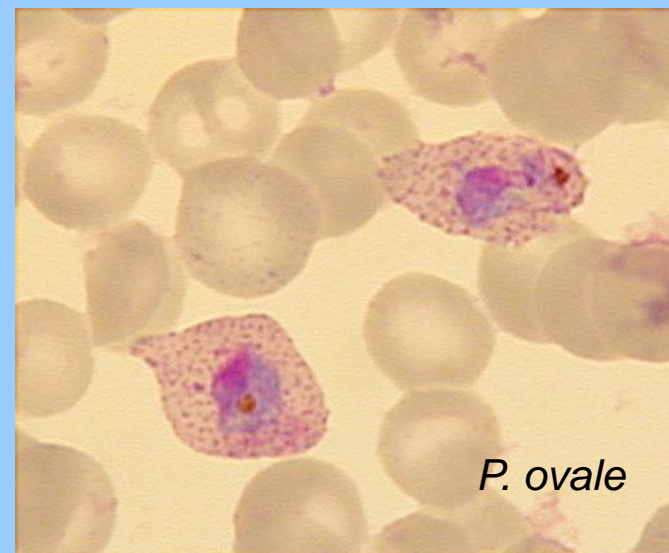
2-3 dny nespecifických příznaků

**horečnaté záchvaty** po 48 hodinách

- chladné stádium: 15-60 minut  
chladná, suchá kůže, chladné končetiny, rychlý puls  
třesavka, bolest hlavy
- horké stádium: 2-6 hodin  
horečka 40- 41°C, intenzivní bolest hlavy

**pokles teploty, pocení, úleva**

**RELAPSY !!!** aktivace hypnozoitů



## Nekomplikovaná malárie

### ČTYŘDENNÍ MALÁRIE

původce: ***Plasmodium malariae***

infekce erytrocytů, preference starých erytrocytů

inkubační doba: 18-40 dní

horečnaté záchvaty **po 72 hodinách**

průběh podobný jako u třídenní malárie

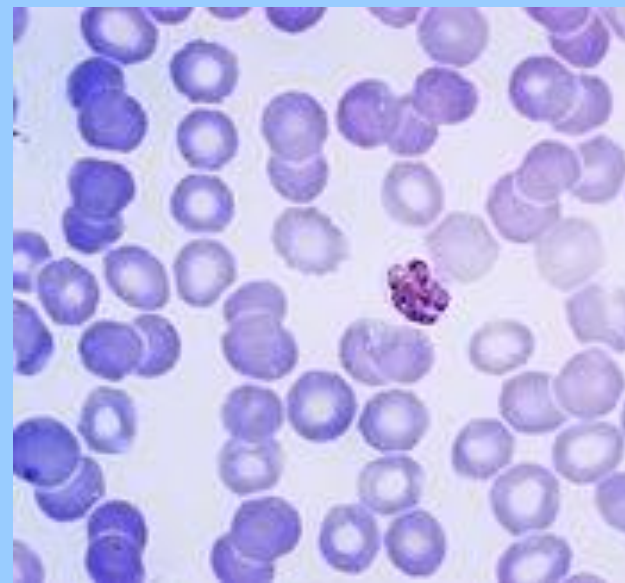
Dlouhodobé přežívání v krvi > 10 let



Pozdní recidivy

**RECRUDESCENCE**

aktivace latentní parazitemie, netvoří hypnozoity v játrech



*P.malariae*

## Nekomplikovaná malárie

### TROPICKÁ MALÁRIE

původce: ***Plasmodium falciparum***

infekce erytrocytů i reticulocytů

netvoří hypnozoity v játrech

**inkubační doba:** 7-14 dní

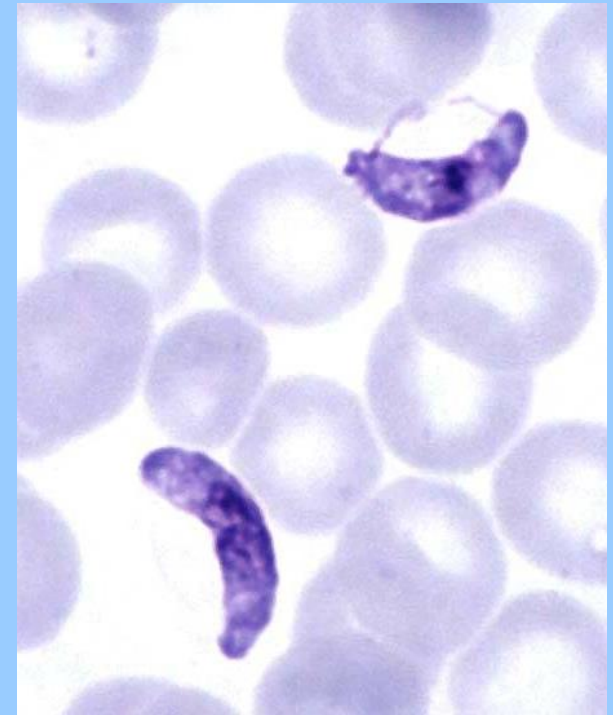
začátek onemocnění: nespecifické příznaky

- bolesti hlavy, končetin, zad
- nechutenství, únava, pocit chladu

**horečka (!)** zpravidla nepřetržitá

včasná diagnóza je nezbytná

**může se velmi rychle změnit na těžké onemocnění !!!**



*P. falciparum*

# Těžká maligní malárie

původce: *Plasmodium falciparum*

hyperparazitémie – kritická norma > 5% (ČR > 2%)

**vysoké horečky > 40°C**

- opakované křeče
- těžká anémie
- spontánní krvácení
- mozková malárie
- selhání ledvin: dysurie
- plicní edém
- hypoglykémie
- šok
- metabolická acidóza



**prognóza: závisí na stupni poškození důležitých orgánů**



# ZÁVĚR

## PLASMODIUM JE VELMI ÚSPĚŠNÝ PARAZIT

### ÚKRYT V ERYTHROCYTECH

ŠETRNÝ VSTUP

DOKONALÁ MANIPULACE HOSTITELSKÉ BUŇKY

### EXTRACELULÁRNÍ FÁZE KRÁTKODOBÁ

CLONA DOMINANTNÍCH IMUNOGENŮ BEZ PROTEKTIVNÍ ODPOVĚDI

ANTIGENNÍ VARIABILITA

### PŘEVAHA NEPŘÍMÝCH MECHANISMŮ PATOGENITY

OD HOREČNATÝCH ZÁCHVATŮ, PERIVASKULÁRNÍCH ZÁNĚTŮ A  
CIRKULAČNÍCH PORUCH K TĚŽKÉMU POSTIŽENÍ ORGÁNŮ A ROZVRATU  
FYZIOLOGICKÝCH REGULACÍ

### BOJ S MALÁRIÍ VEDEN SE STŘÍDAVÝMI ÚSPĚCHY A NEÚSPĚCHY

ERADIKACE NENÍ V DOHLEDU

### VELKÁ PŘIZPŮSOBIVOST A FENOTYPICKÁ VARIABILITA

REZISTENCE PROTI ANTIMALARIKŮM, PROBLÉMY S VÝVOJEM VAKCÍNY