



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Inovace vzdělávání  
v chemii a biologii  
s ohledem na aktuální trendy  
v biomedicinálním výzkumu

**OPVK CZ.1.07/2.2.00/28/.0184**



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

# Parazitologie OCH/PAR

ing. Kamil Kořístek, Ph.D.  
LS 2012/2013

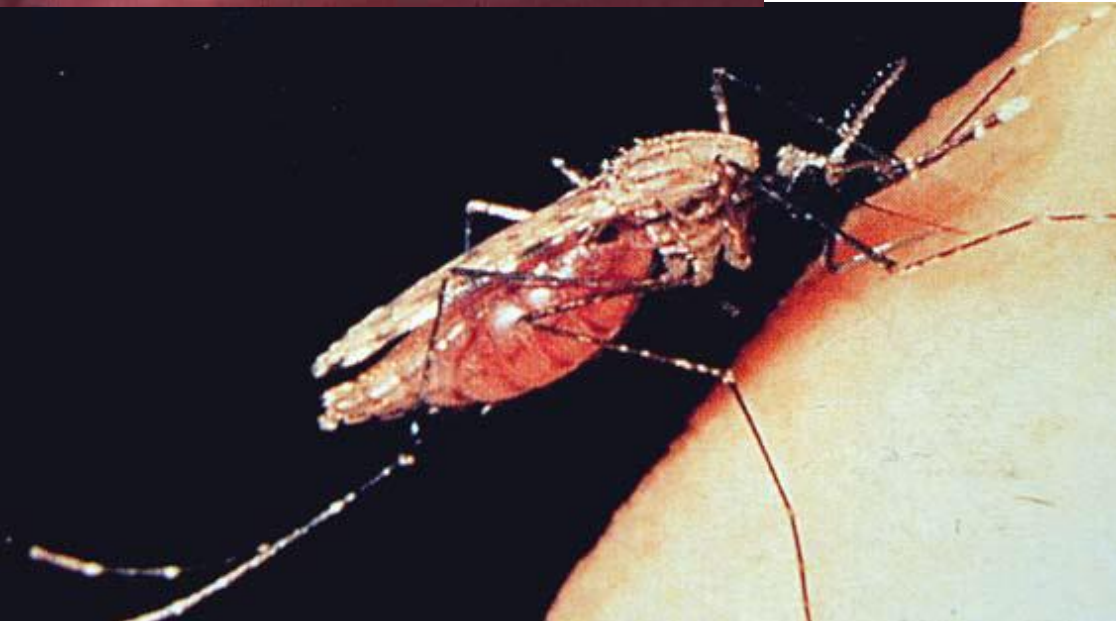


# MALÁRIE

Apicomplexa, Třída Haematozoa, Čeleď Plasmodiidae, Rod *Plasmodium*

- Některé druhy *Plasmodium* přenašeči malárie
- Sporozoiti injikováni do krve obratlovce (H) při sání nakaženého komára (vektor)
- 50 druhů *P.* parazituje v savcích
- 40 v ptácích
- přes 60 v plazech
- Přenašeči savčích plasmodií výlučně komáři rodu *Anopheles*

## *Anopheles* (60 druhů) samičky



# Základní fakta

- Malárie - onemocnění způsobené parazitickými prvky rodu *Plasmodium*, přenášenými komáry rodu *Anopheles*
- Po tuberkulóze druhá nejvýznamnějších život ohrožující infekční choroba
- 250-500 miliónů případů onemocnění ročně
- 90% úmrtí subsaharská Afrika, ročně víc než 1 milion dětí mladších 14 let
- První písemná zmínka 2700 BC *Nei Ching* (Čína)
- 600 BC *Susruta* (Indie) – choroba způsobena poštípáním určitým hmyzem
- V Evropě je nemoc připisována jedovatému vzduchu z bažin (mal aria)
- 16. stol. – malárie zavečena do Ameriky
- 20. stol. – eradikace malárie v Evropě

# Parazit a přenašeč

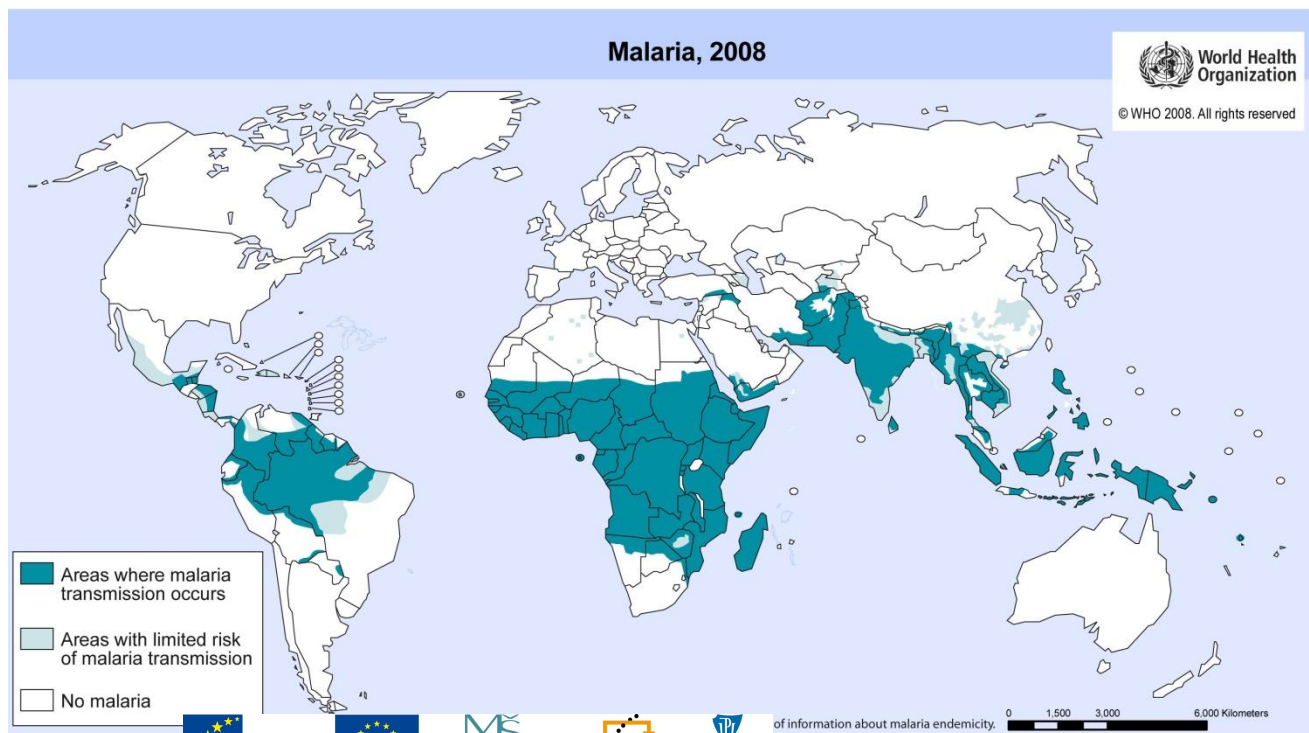
- Parazit
  - objeven 1880 (Charles Louis Alphonse Laveran, Nobel Prize 1907)
  - Pro člověka infekční 4 druhy plasmodií: *Pl. vivax*, *Pl. malariae*, *Pl. ovale*, *Pl. falciparum*
  - nejvýznamnější *Pl. falciparum*
  - Stadia
    - asexuální – člověk
    - sexuální – komár
  
- Přenašeč (vektor)
  - samičky komárů rodu *Anopheles*
  - nejvýznamnější *Anopheles gambiae*
  - způsob přenosu objeven 1897 (Ronald Ross, Nobel Prize 1902)



# Rozšíření malárie

- Endemické oblast: 40° severní šířky – 40° jižní šířky
- 109 zemí (r.2006)
- Nejvyšší výskyt – subsaharská Afrika
- 3000 m.n.m. (od 1500 m.n.m nižší riziko)

Případů na 100tis  
 Guinea 75 386  
 Botswana 48 704  
 Burundi 48 098



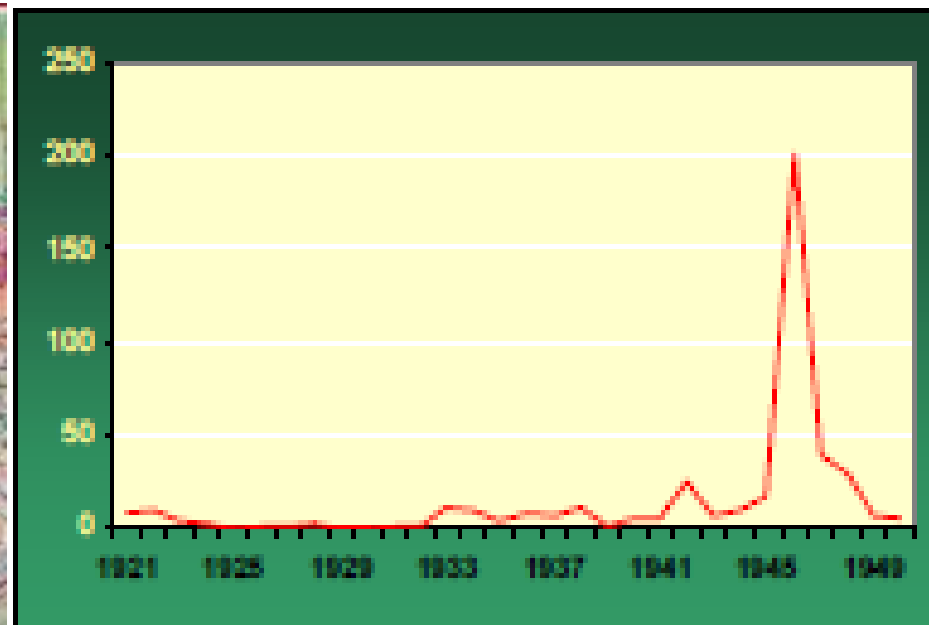
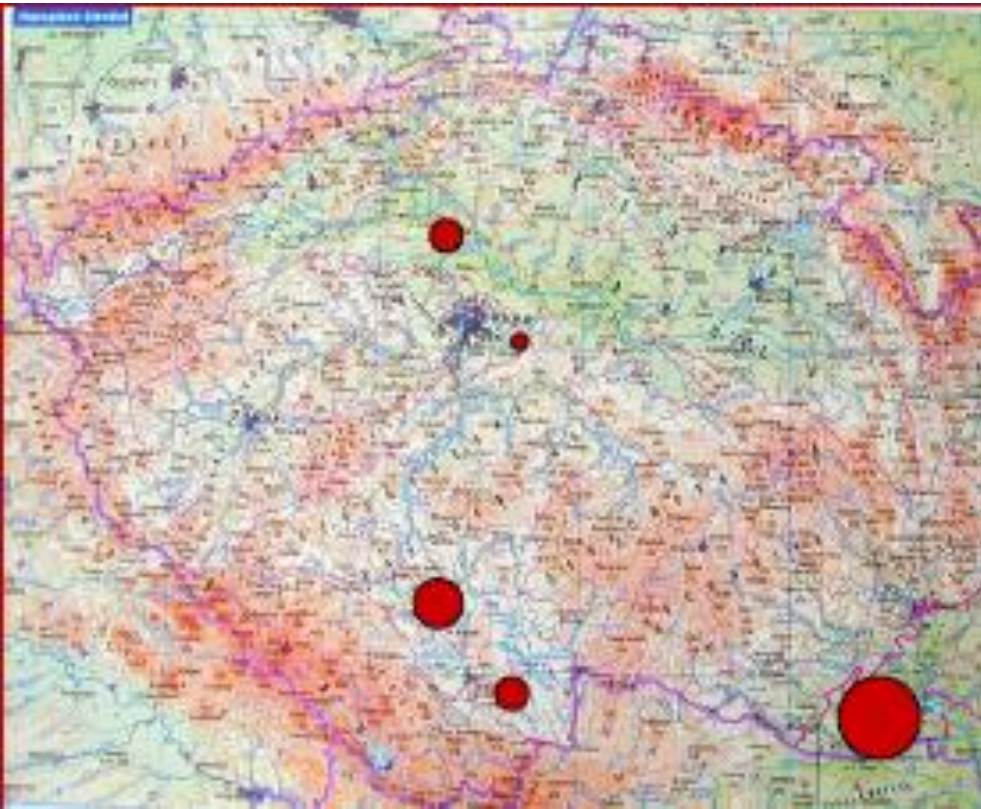
# Malárie

- 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 (pouze importované případy)
- REDUKCE:SEVERNÍ AFRIKA
- VZESTUP:AFRIKA (OBLASTI JIŽNĚ OD SAHARY)





# ČESKÁ REPUBLIKA endemické oblasti malárie 1920 -1950

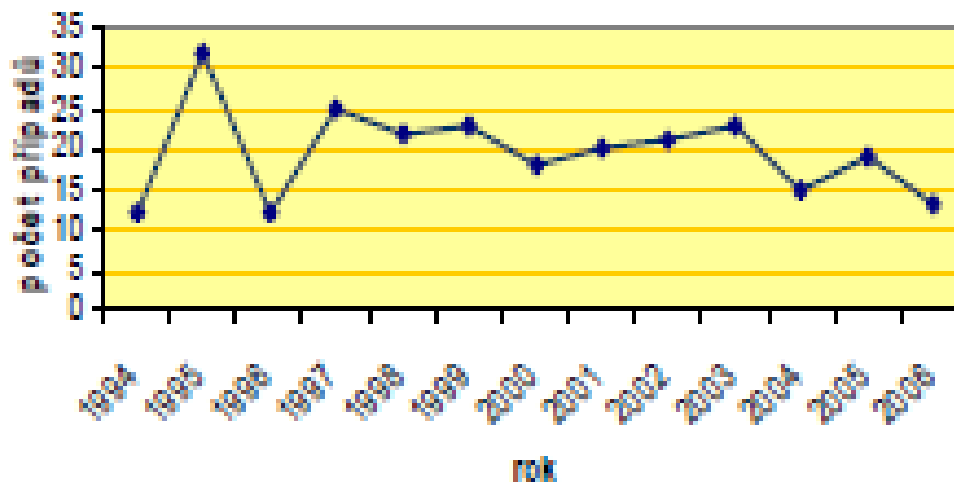


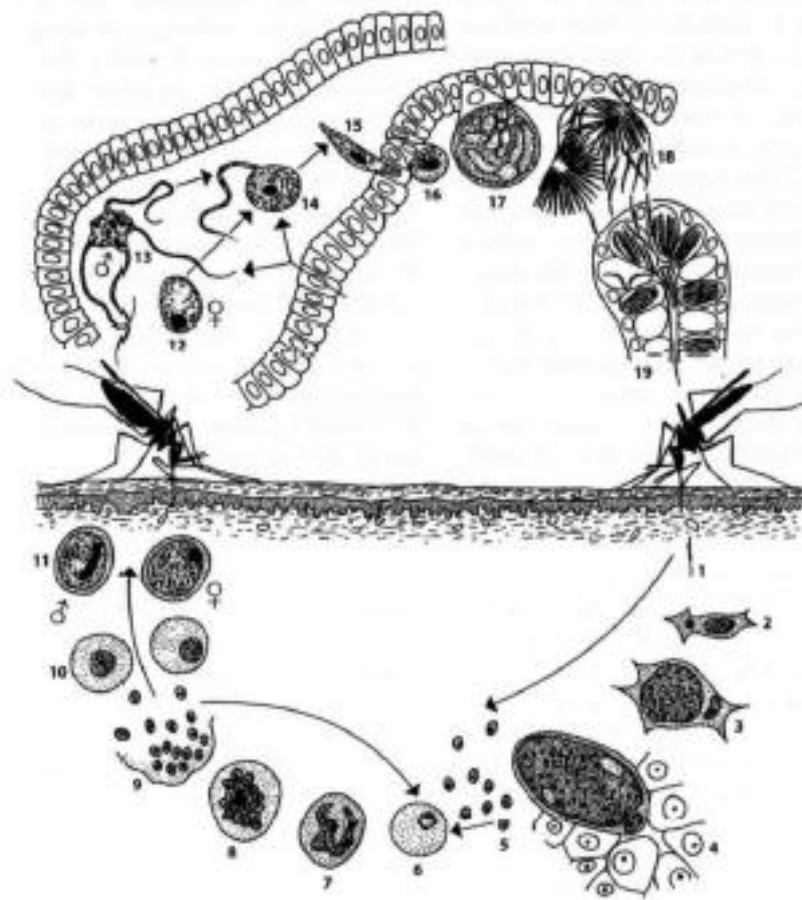
1963 –ČSR území prosté malárie (obdobně ostatní evropské státy)

# ČR: PŘÍPADY IMPORTOVANÉ MALÁRIE 1994 – 2006

- CELKEM: 255 případů
- 206 českých občanů, z toho 4 úmrtí: 1996, 1998, 2003, (2004)
- 49 cizinců

Kumulativní počet případů importované malárie  
1994 - 2006

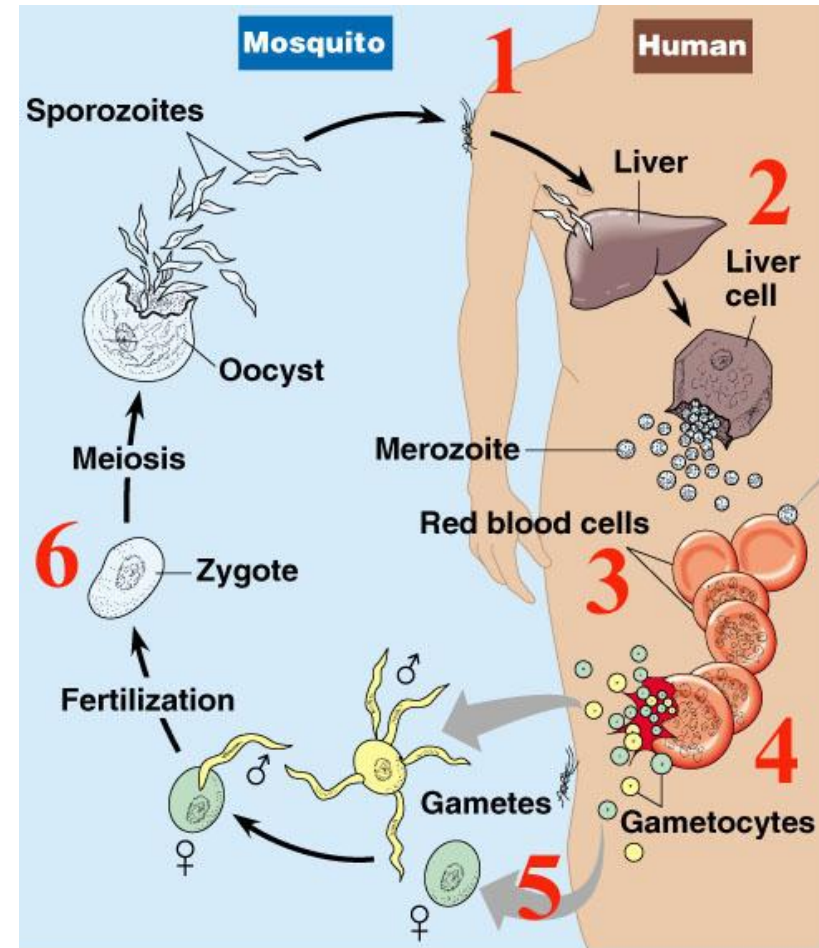




**Obr. 2–24 Apicomplexa. Vývojový cyklus rodu *Plasmodium*.** 1 – při sání komára jsou sporozoiti injikováni do krevního oběhu hostitele, 2 – pronikají do jaterních buněk, 3, 4 – dochází k exoerytrocytární merogonii, 5 – merozoiti vstupují do červených krvinek, 6 – zde se vyskytují nejprve ve stadiu pistýnku, 7–9 – pak dochází k množení merogonií (syn. schizogonie), merozoiti uvolnění z rozpadlých krvinek opakují infekci erytrocytů nebo se v nich mění na gametocyty (10, 11), gametocyty jsou s krví nasáty komárem, v jeho střevě dozrávají gametocyty v makrogamety samičí (12) a samčí (13), 14 – gamety kopulují, 15 – zygota (ookinet) proniká stěvnou, 16 – vytváří oocystu vyklenutou do hemocoelu komára, 17 – v oocystě se vytvářejí sporozoiti, 18 – po prasknutí oocysty migrují sporozoiti hemolymfou do slinných žláz komára (19) (dle Hausmann a kol., 2003, upraveno).

# Životní cyklus-(zjednodušený)

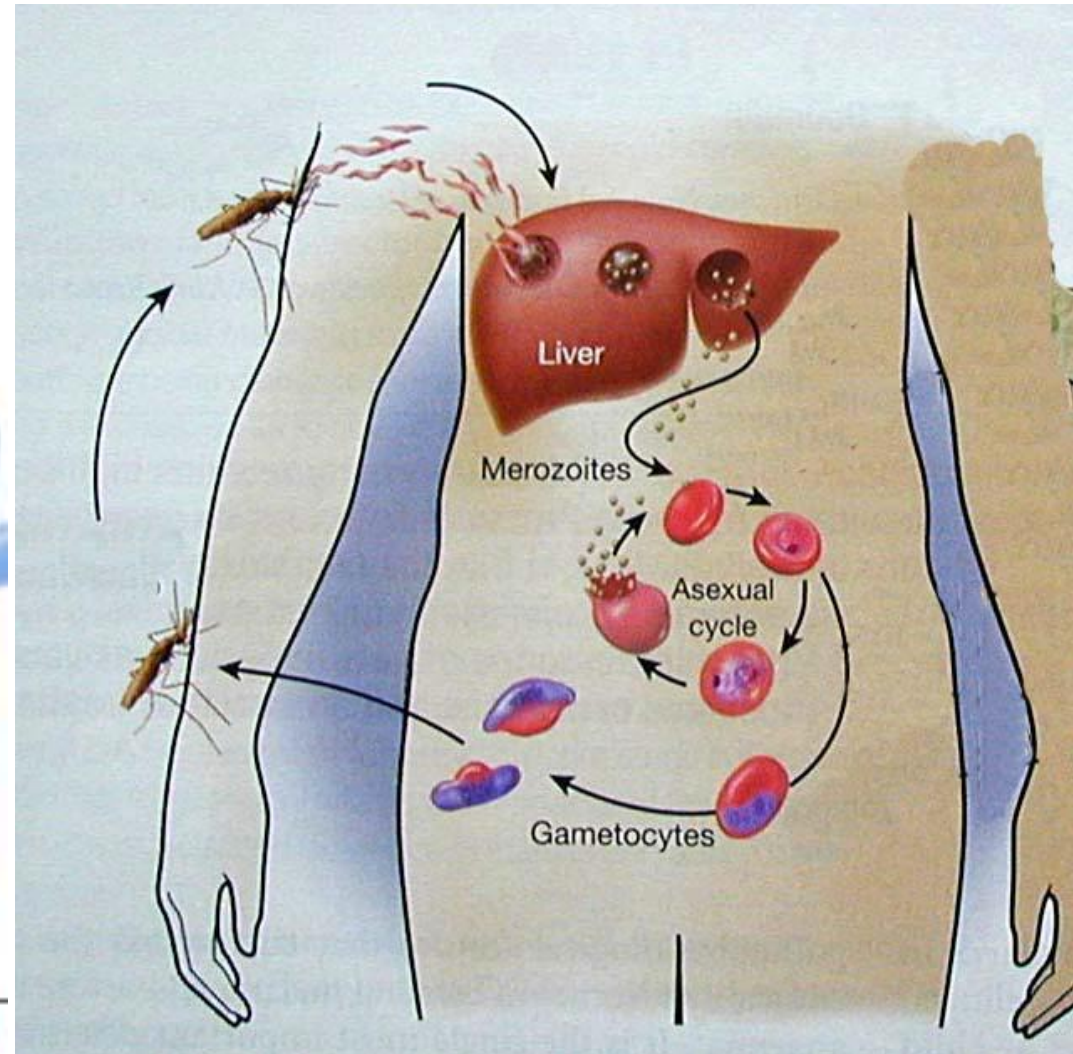
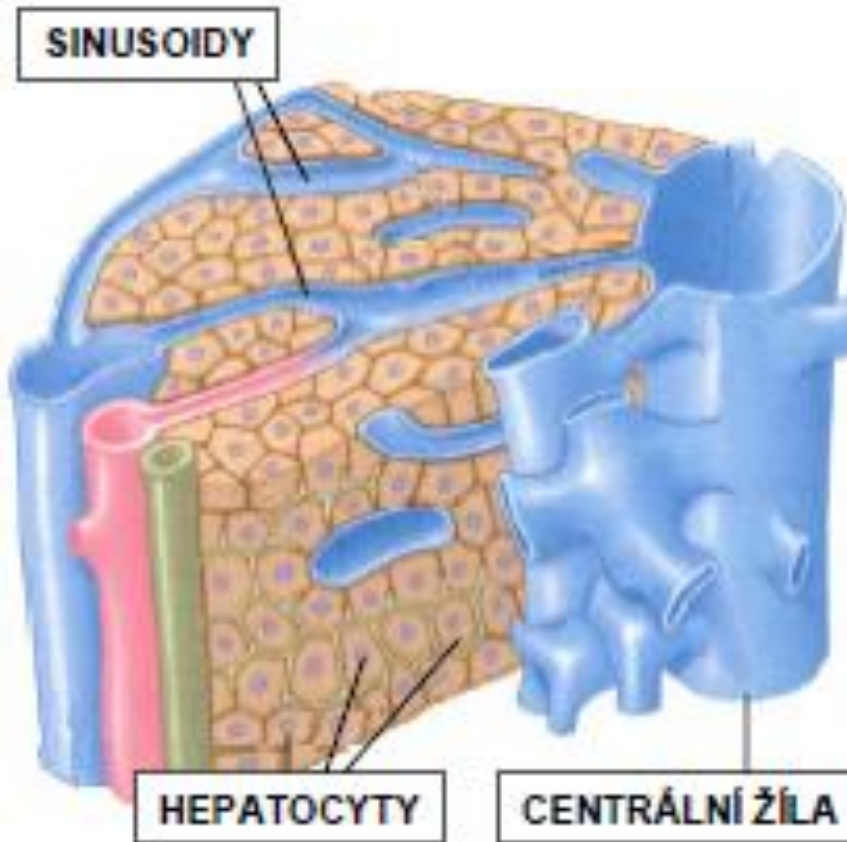
- 1) Sání komára – primární infekce sporozoity (5-200)
- 2) Jaterní cyklus – asexuální fáze, merozoity (desetitisíce, cca 10-14 dnů)
- 3) Merozoity ihned napadají červené krvinky, tvoří schizonty a množí se (16, 24-72 hodin), cyklus se opakuje, synchronizuje
- 4) Merozoity tvoří samičí a samčí gametocyty
- 5) Komár nasaje krev s gametocyty které se ve střevech spáří na zygotu
- 6) Zygota ze mění na oocystu a uvolní sporozoity



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

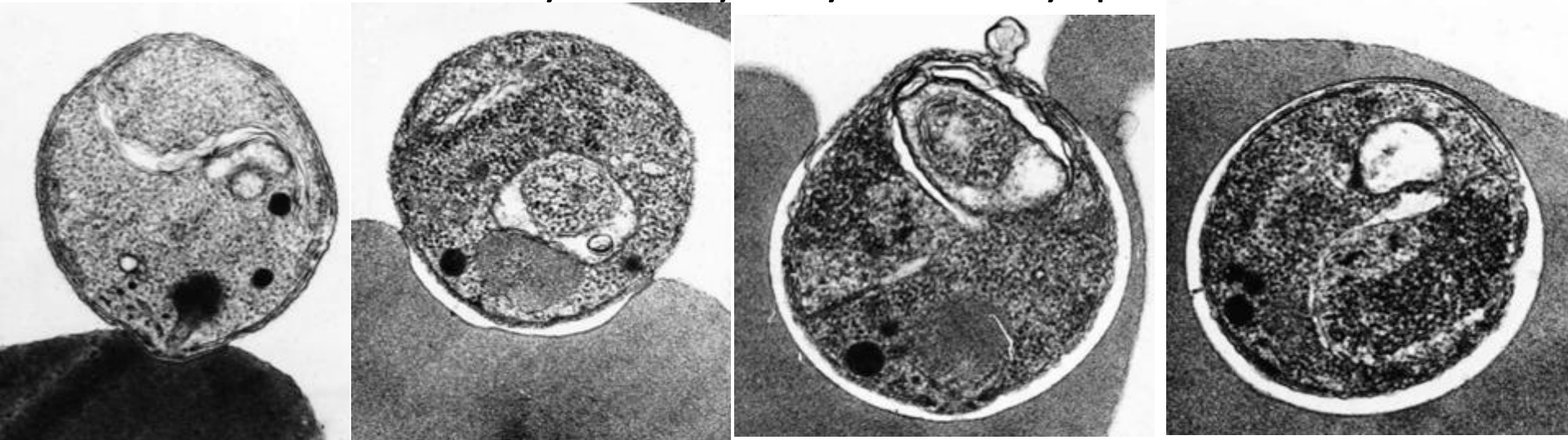
# Jaterní fáze-exoerytrocytární fáze (EE)

- Vstup sporozoitů do jater → krevní sinusoidy jater



# Invaze erythrocytu merozoity

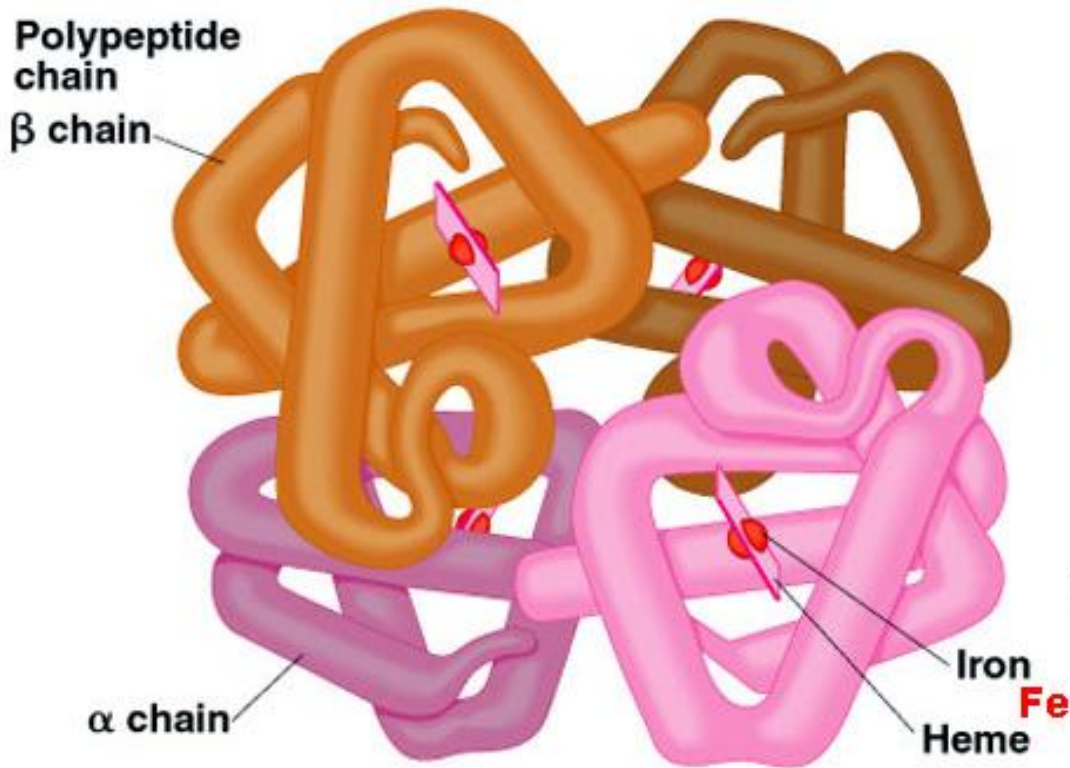
- Indukovaná endocytóza-erythrocyt nesmí být poškozen



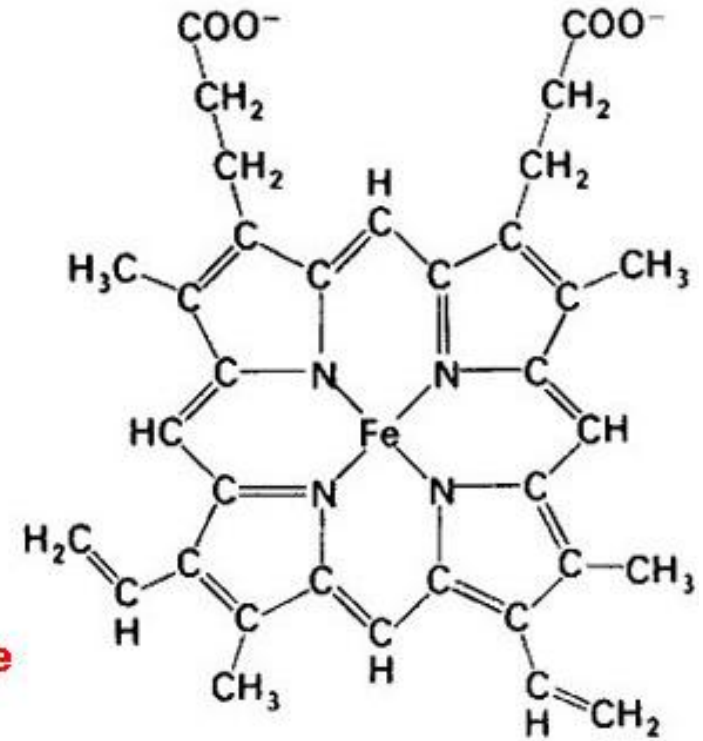
# Plasmodium uvnitř krvinky

- Malý shluk HGb se odškrtí do vnitřku parazita. *Pl.* pomocí molekulárních skalpelů otevře svinutou strukturu HGb a odstřihuje proteinové kousky. Z energie vazeb čerpá parazit energii. Střed HGb s iontem Fe je pro *Pl.* toxická-usazuje se mu na membráně a narušuje toky důležitých molekul dovnitř a ven. Část vylučuje jako hemozoin, zbytek zpracují enzymy-sníží náboj, tím znemožní průnik membránou
- Parazit potřebuje vytvořit nové proteiny, na to mu jen HGb nestačí. Ale v krvince nic jiného skoro není-napojí se mikrotubuly na membránu a nasává pro sebe potřebné stavební kameny k růstu
- Povrch erytrocytu přeplněný kanálky a tubuly ztrácí pružnost-nebezpečí pro parazita-slezina-parazit vylučuje šaperony (proteiny skl. a rozkl. proteiny)-tyto dodávají krvince pružnost i přes mohutnou přestavbu. Taky se brání slezině vytvořením lepivých molekul na povrchu-přilepí se k cévní stěně.

# Hemoglobin



Hemoglobin



Heme  
(Fe-protoporphyrin IX)



# *Plasmodium* uvnitř krvinky



# Plasmodium a imunitní systém

- Při průniku do krve během 30 minut zmizí v játrech-  
im.s.nestihne zareagovat
- V játrech si ho už všimne. J.buňky zachytí uvolněné proteiny z *Pl.*, rozkrájí a vynesou je na povrch a tam je vystaví na molekulách Hkkomplexu. IS je rozezná a připravuje útok,kt.trvá ale asi týden. To stačí, aby se každý parazit namnožil na 40 tisíc buněk. Ty se uvolní z jater a zalezou do krvinky.
- Krvinky-vhodný úkryt. Nemají geny→nemohou tvořit molekuly HKk, takže nemohou dát vědět IS.

# Plasmodium a imunitní systém

- Úchytky na povrchu erytr., vytvořené *Pl.* mohou být rozeznány IS. → nebezpečí pro *P.*, že se vytvoří protilátky a bude zahubeno cytotoxickými lymfocyty T
- Jenže *Pl.* V krvi zapne naráz mnoho genů (přes sto) pro úchytky, ale vybere jen jeden-takové úchytky bude mít i 16 potomků po prasknutí
- Občas ale *Pl.* přepne na jiný gen → jiné úchytky a ty IS zatím nezná

# *Plasmodium falciparum*

- tropy a subtropy, teplota neklesá pod 20°C

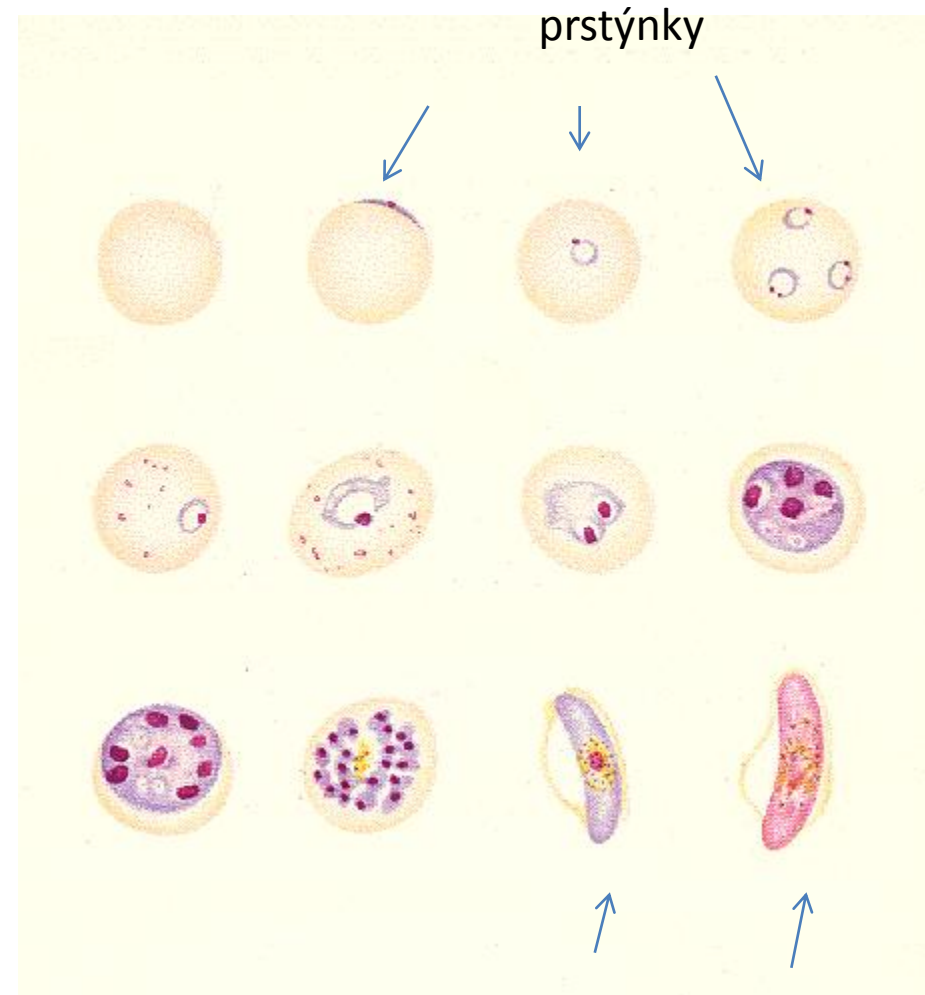
**JATERNÍ FÁZE:** v 1 hepatocytu: až 30 000 merozoitů

po ukončení: v játrech nezůstávají plasmodia,

Nevytváří hypnozoity

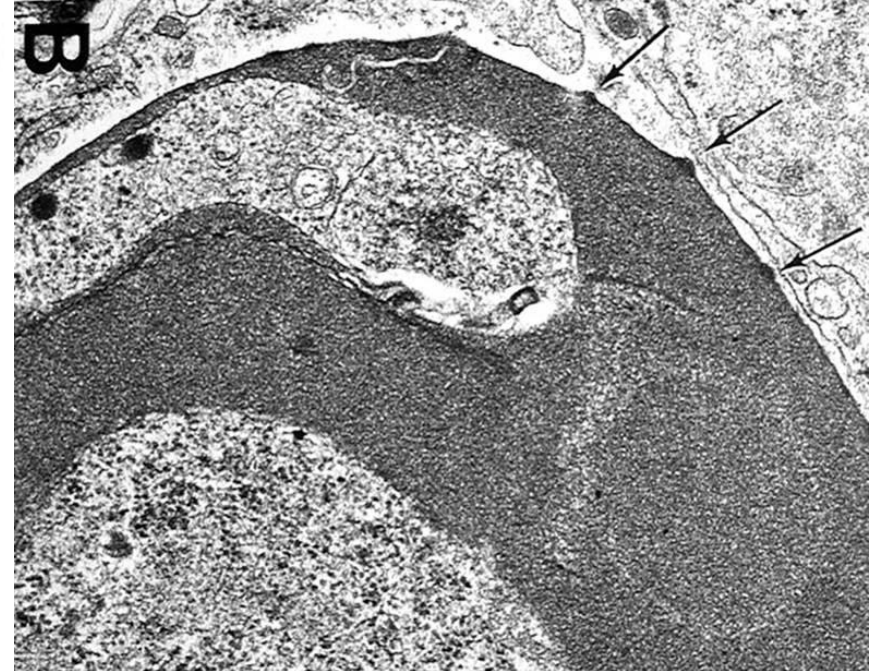
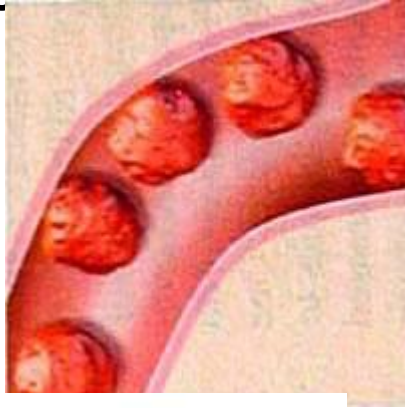
**ERYTROCYTÁRNÍ FÁZE:** infikuje retikulocyty a erythrocyty v periferní krvi: pouze „prstýnky“, NE STARŠÍ VÝVOJOVÁ STÁDIA gametocyty

Nakažené erythrocyty: nejsou zvětšené, jsou „lepivé“



gametocyty

# *Plasmodium falciparum*



- Modifikuje povrch infikovaných krvinek
- Výrůstky, které nesou proteiny plasmodií → adhezivní oblasti na membráně erytrocytu
- Adheze k endotelu cév
- Adheze k placentě
- Tvorba roset
- Adherují krvinky se staršími vývojovými stádii

**význam:** ochrana před destrukcí makrofágy při průchodu slezinou

# *Plasmodium vivax*

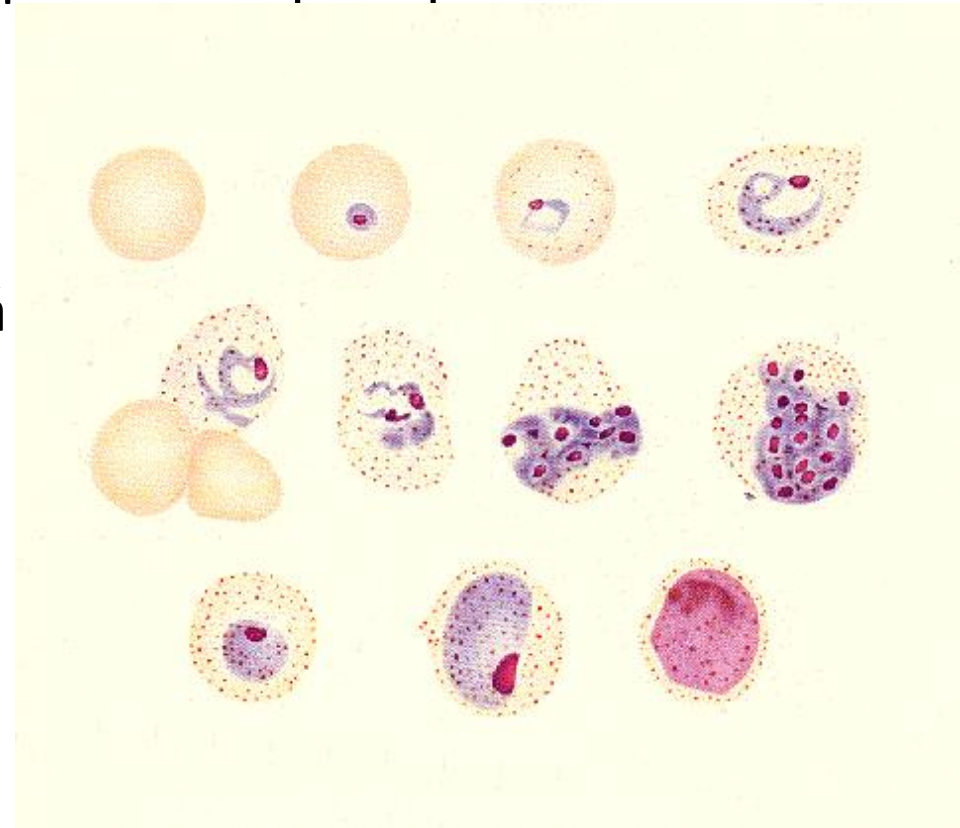
- Tropy, většina oblastí s vyšší teplotou, téměř chybí v tropické západní Africe
- **Jaterní fáze:** tvoří hypnozoity-příčina relapsů i po desítkách let
- **Erythrocytární fáze:**

Nakažené erythrocyty zvětšené,  
tečkované, nejsou lepivé  
V periferní krvi všechna vývojová  
stádia:

Prstýnky

Schizonty

gametocyty



# *Plasmodium ovale*

- Řada vlastností podobných *P.vivax*
- **Jaterní fáze:** tvoří hypnozoity: příčina relapsů
- **Erythrocytární fáze:**

Nakažené erythrocyty jsou:

zvětšené, tečkované, nejsou lepidlé

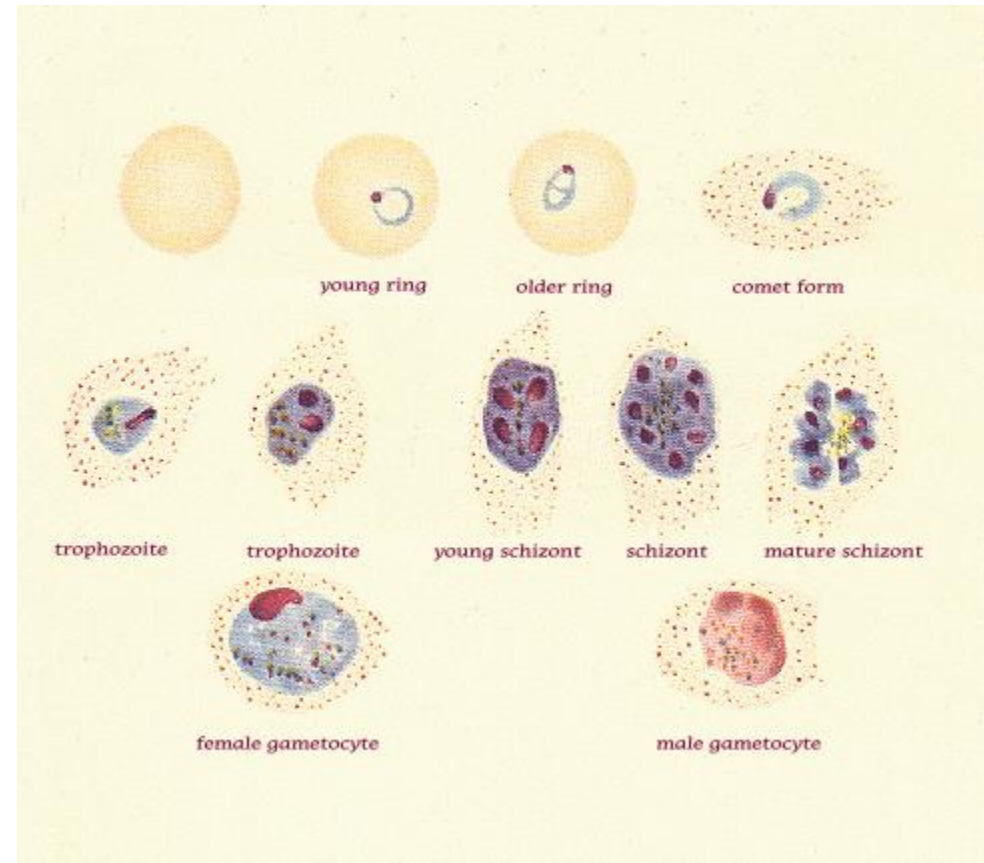
V periferní krvi všechna vývojová

stádia:

Prstýnky

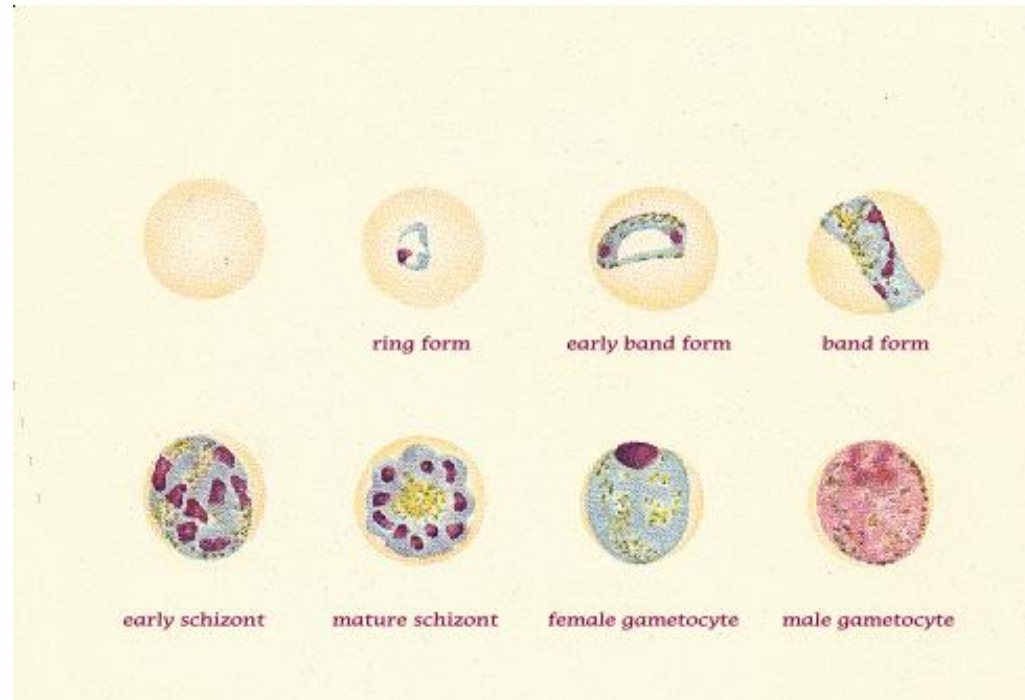
Schizonty

gametocyty



# *Plasmodium malariae*

- Pomalejší vývoj v komárovi i v člověku
- **Jaterní fáze:** netvoří hypnozoity
- **Erytrocytární fáze:**
- Preferuje staré erythrocyty
- Nakažené erythrocyty zvětšené
- V krvi přetrvává 10 i více let
- Velmi nízká parazitémie, náhlá aktivace
- V periferní krvi všechna stádia





# Malarický záchvat

- Vyvolán rozpadem nakažených erytrocytů

Po prasknutí se do krve uvolní:

- merozoity
- odpadní a metabolické produkty plasmodií (hemozoin, malarický toxin-GPI)

Hemozoin je fagocytován monocyty, jejichž funkci inhibuje-  
imunosupresivní fce

**GPI**-kotva povrchových antigenů merozoitů-falešný signál pro makrofágy ke spuštění produkce TNF- $\alpha$  a IL-1 (endogenní pyrogeny). Účinek na termoregulační centrum hypothalamu prostřednictvím PG-E. Nadprodukce TNF- $\alpha$ –hlavní činitel patogenity

# Přímý cytotoxický účinek

- Vysoká adhezivita infikovaných krvinek vede k vysoké lokální koncentraci toxinu na endotelu cév, kde jsou shluky → lokální nadprodukce TNF- $\alpha$ :
  - poškození cév a okolních tkání
  - nekrózy (mozek, plíce, střevo, ledviny)

# Významné druhy rodu *Plasmodium*

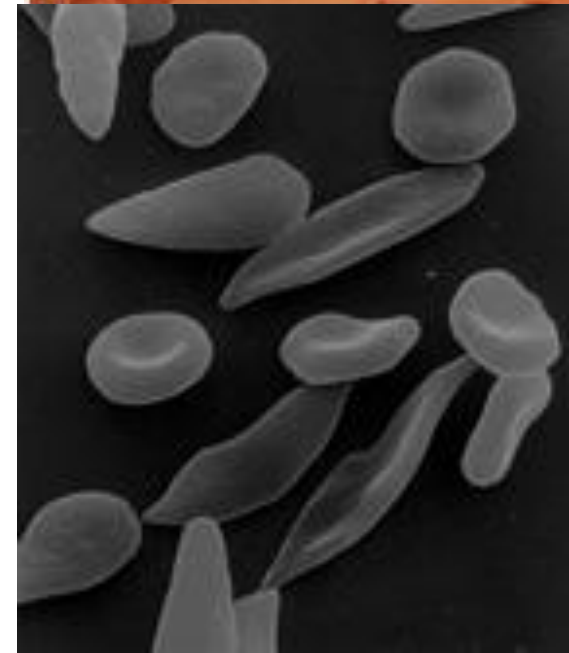
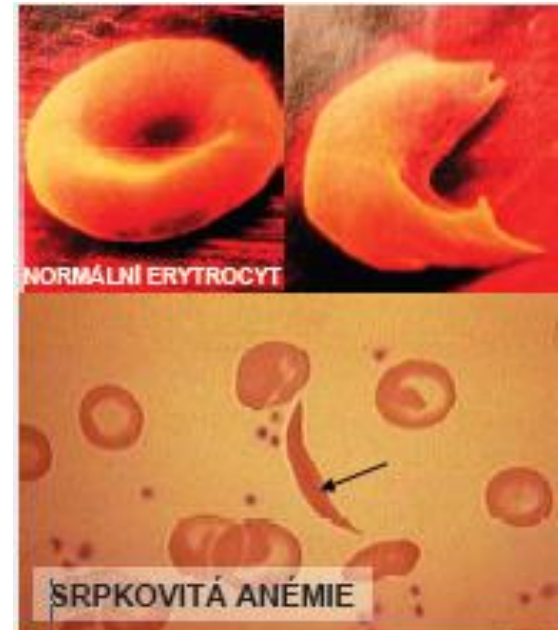
Druh	periodicita	hostitel	vektor	mortalita
<i>P. falciparum</i>	48	člověk	Anopheles	+
<i>P. vivax</i>	48	člověk	Anopheles	-
<i>P. ovale</i>	48	člověk	Anopheles	+/-
<i>P. malariae</i>	72	člověk, opice	Anopheles	+/-
<i>P. knowlesi</i>	24	opice SS, člověk	Anopheles	-/+
<i>P. coatneyi</i>	48	opice SS, člověk	Anopheles	-/+
<i>P. cynomolgi</i>	48	opice SS, člověk	Anopheles	-
<i>P. simium</i>	48	opice NS, člověk	Anopheles	-
<i>P. galinaceum</i>	neprav.	kuře	Aedes, Culex	+
<i>P. juxtannucleare</i>	neprav.	kuře	Culex	+
<i>P. relictum</i>	12-36	holub	Culex, Aedes, Anopheles	+
<i>P. cathemerium</i>	24/48	vrabci, kanáři	Culex, Aedes, Anopheles	+
<i>P. berghei</i>	24	potkan	Anopheles durenii	-/+
<i>P. agamae</i>	neprav.	ještěrky	Lutzomyia Culicoides	-
<i>P. wenyoni</i>	neprav.	hadi	Culex	-

# Vliv parazita na hostitele

- Komár
  - snazší sání na infikovaném člověku, plasmodium snižuje u člověka shlukování krevních destiček, komár se snáz nasaje a s větší prp. nasaje i *Pl.*
  - *Pl.* blokuje chuť komára sát do té doby, než sporozoity dorazí do slinných žláz
  - *Pl.* blokuje komárovi apyrázu (antikoagulant) - komár se málo napije a saje na více lidech, účinnější přenos. *Pl.* působí i větší hlad komára
- Člověk
  - ovlivnění evoluce, vznik některých krevních nemocí
  - Srpkovitá anemie (mutace hemoglobinu, krvinka nedrží tvar)
  - Ovalocytóza (krvinka má pevné stěny, parazit nepronikne dovnitř, obtížně nasává fosfáty a sulfáty)
  - Talasemie (produkce vadného hemoglobinu, narušeno zabudování železa, neudrží kyslík)-anémie, deformace kostry v důsl.bytnění dřeneš,aby produkovala více krvinek.HGb neudrží kyslík,vysmekne se a poškodí *Pl.*

# Srpkovitá anémie

- Molekulární dědičná choroba, mutace v beta řetězci HGb
- **S-HGb**. Záměna Glu za Val (elektroneutrální)
- V odkysličeném stavu polymerizace tyčovitě šroubovice
- Více u černochoů
- U obou vadných kopií člověk max. 30 let
- Selekční výhoda v endemických oblastech *Pl.f.*-zvýšený výskyt v populaci
- Navíc zkolabovaná krvinka ztratí schopnost nasávat draslík-na něm je *Pl.* životně závislé



# Klinické projevy malárie

- Počáteční příznaky: malátnost, bolesti hlavy, zvracení, nevolnost, bolesti svalů
- Záchvat:
  - Fáze zimnice (pocit silného chladu, třesavka, malátnost)
  - Fáze horečky (2-6 i více hodin, 39-41,5 °C, neklid), následuje fáze pocení (silné pocení, vyčerpanost).
  - Teplota klesá k normálu-pacient usíná, po probuzení úleva, slabost. Celý záchvat trvá 8-12h.
- Interval mezi záchvaty:
  - *Pl. falciparum* tropika 24-36 hod
  - *Pl. vivax* terciana 48 hod
  - *Pl. ovale* terciana 48 hod
  - *Pl. malariae* kvartána 72 hod

# Klinické projevy malárie

V průběhu malárie může u nejnebezpečnějšího druhu *Pl. falciparum* dojít k postižení nejrůznějších orgánů v těle:

- hyperpyrexie >40°C
- cerebrální malárie
- plicní edém
- renální postižení (selhání ledvin)
- kardiovaskulární postižení (kolaps)
- hematologické abnormality (anémie)
- gastrointestinální postižení (průjem)
- metabolické abnormality (hypoglykémie)

Tato postižení mohou být i smrtelná!

Např. u *P. falciparum*- cerebrální forma = smrt

# Diagnostika malárie

- Mikroskopický nález krevního roztěru nebo tlustá kapka.  
Barveno Giemsou
- VÝHODY: poskytuje nejvíc informací, zda je člověk nakažen
- kterým druhem malarického plasmodia
- Jaká vývojová stádia jsou v periferní krvi
- Jaké procento erytrocytů je infikováno (parazitemie)
- zda je přítomen hemozoin
- je poměrně rychlá
- je levná
- NEVÝHODA: expertní vyšetření



# Léčba a profylaxe

## Historie

- Egypt (2600 BC) - používání sítí proti moskytům (expoziční profylaxe)
- Hérodotos (484-425 BC) – otroci na stavbě pyramid dostávají velké dávky česneku
- Hippokrates (460-370 BC) – klasifikuje malárii podle apyretických intervalů, doporučuje léčbu odvarem z vrbové kůry
- Čína (200 BC) – popis použití pelyňku ročního (*Artemisia Annu*) k léčbě
- Evropa (středověk) – využití oxidu a sulfidu arsenitého k léčbě

# Literatura

- World Malaria Report 2008, WHO 2008
- <http://www.cdc.gov/malaria/facts.htm>
- <http://www.malaria.com>
- E.Nohýnková: Malarická plasmodia-přednáška, III. klinika infekčních a tropických nemocí 1. LF UK Praha
- B. Melichar a kol., Chemická léčiva, Avicenum 1987
- C. Zimmer, Vládce parazit, Paseka 2005
- REMEDIA compendium, Panax 1996