

Klíšťata, patogeny a imunita

aneb

Máme rádi klíšťata

Jan Kopecký

*Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity
v Českých Budějovicích
Katedra medicínské biologie*



Ixodes ricinus















(a)

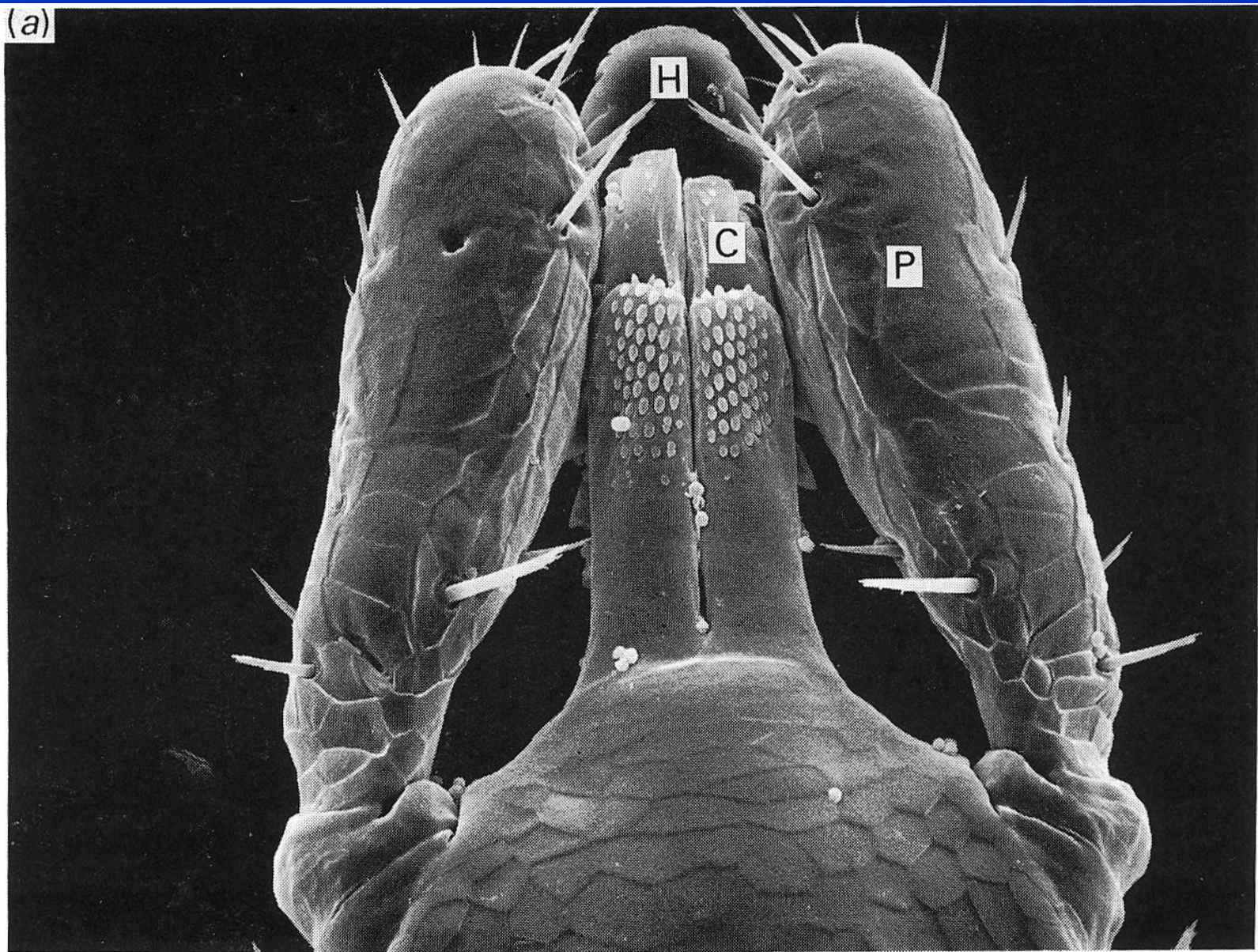
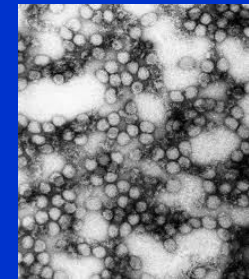


Fig. 9.1(a) Dorsal view of mouthparts of an *Ixodes* tick. C, chelicera, used to pierce skin; H, hypostome, used to anchor mouthparts in skin; P, palp, sensory function. (Photograph by courtesy of Professor Dr H. Melhorn.)

Vector-host-pathogen interactions

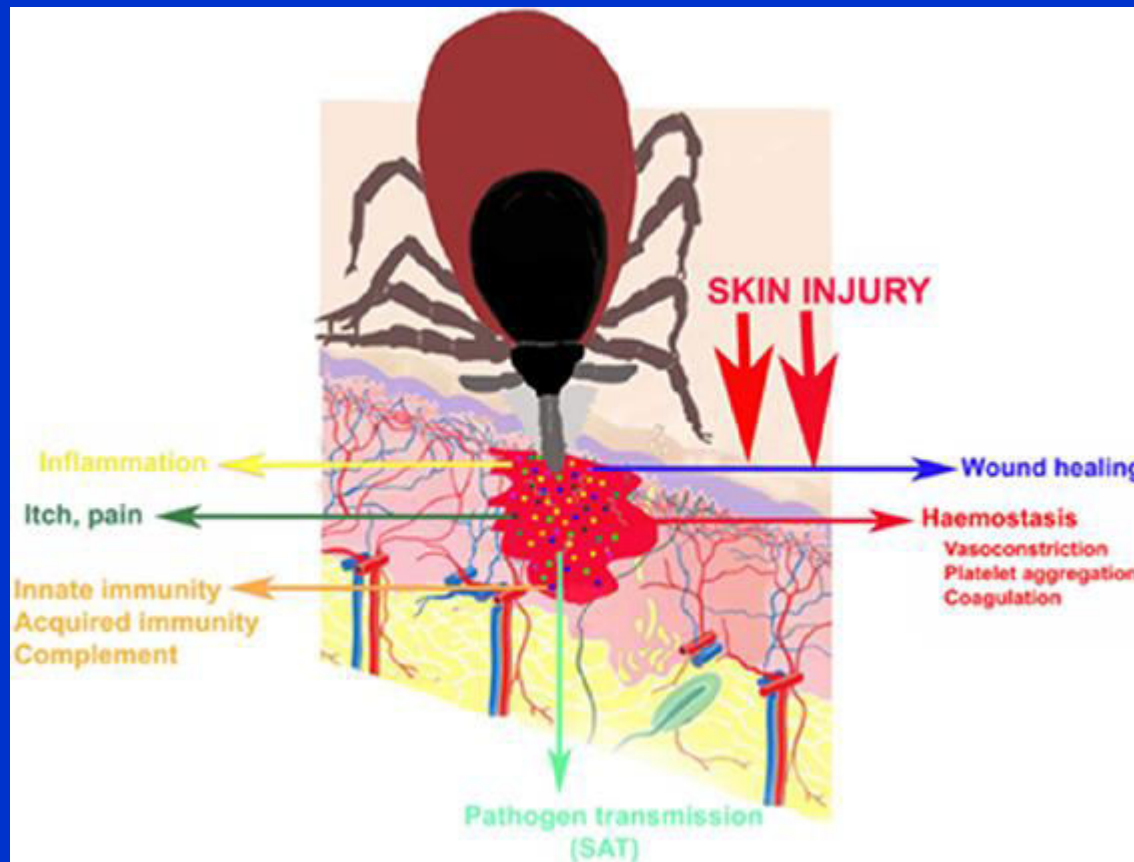


- *Ixodes ricinus*
- *Ixodes scapularis*

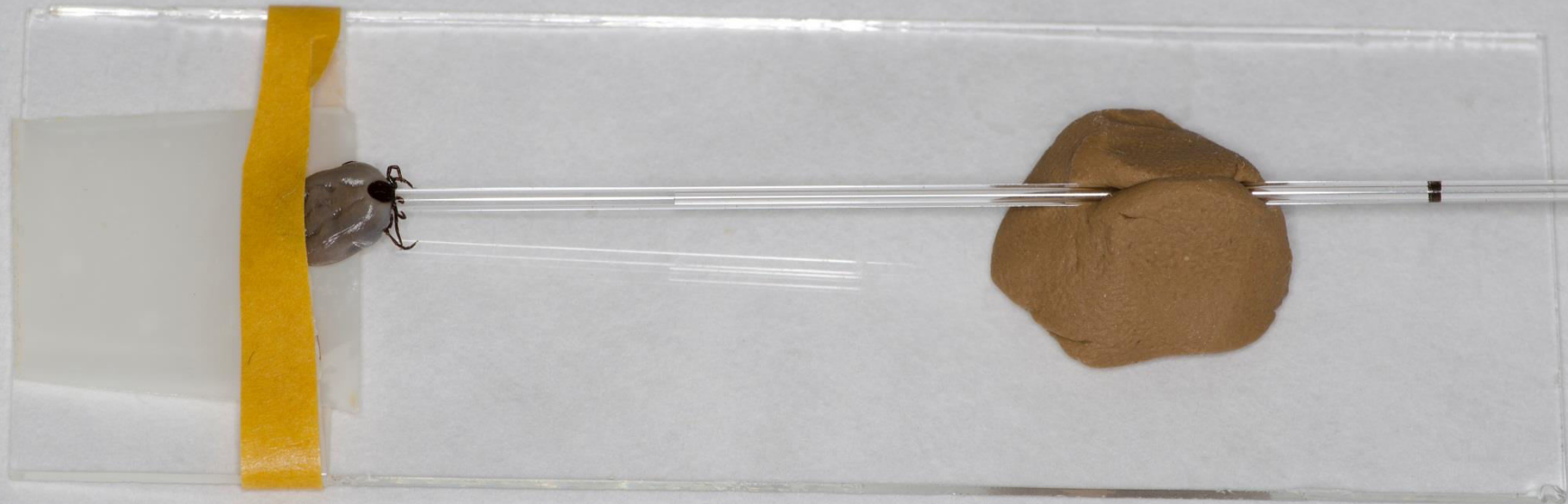


Borrelia burgdorferi
Tick-borne encephalitis virus

-SAT (saliva-assisted transmission)



Kazimírová M., Štibrániová I. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013





Složení klíčtějších slin

Antihemostatické faktory

- vazodilatátory
- antikoagulanty
- inhibitory agregace destiček
- fibrinolytické faktory

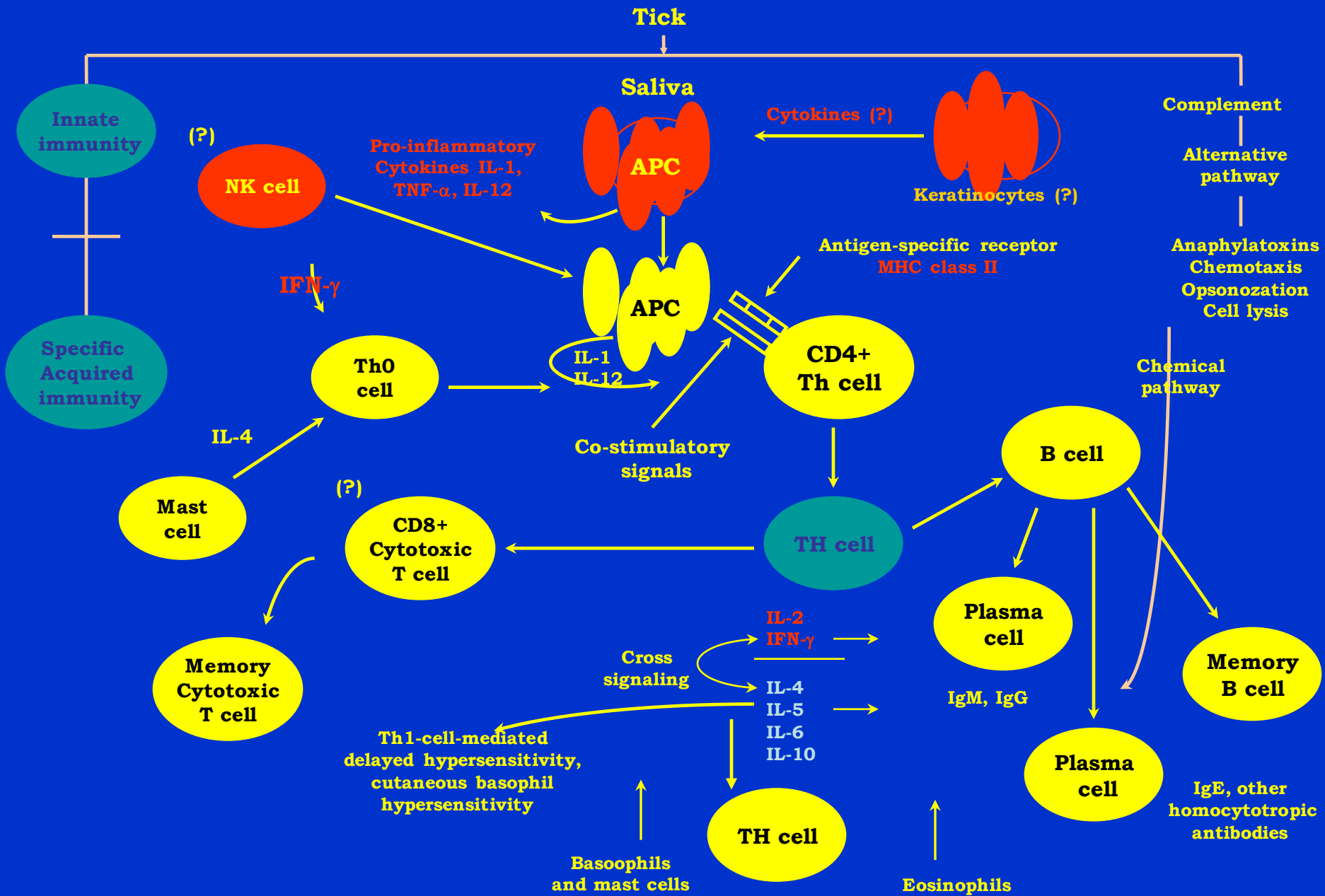
Protizánětlivé a imunomodulační molekuly

Složení klíčtějších slin

Antihemostatické faktory

- vazodilatátory
- antikoagulanty
- inhibitory agregace destiček
- fibrinolytické faktory

Protizánětlivé a imunomodulační molekuly



Možné projevy imunity hostitele proti klíšťatům

- Snížená váha po nasátí
- Prodloužené sání
- Poruchy v produkci vajíček
- Inhibice svlékání
- Mortalita klíšťat nebo vajíček



Modulace imunity hostitele slinami klíštěte

Přirozená imunita

- Inhibice alternativní dráhy aktivace komplementu
- Inaktivace anafylatoxinů
- Inhibice fagocytózy a dalších funkcí neutrofilů
- Potlačení produkce superoxidu a oxidu dusnatého makrofágy
- Inhibice activity NK buněk
- Inhibice antivirových účinků interferonu
- Potlačení zánětlivé odpovědi

Modulace imunity hostitele slinami klíštěte

Adaptivní imunita

- Potlačení odpovědi T a B lymfocytů na mitogeny
- Snížení produkce makrofágových cytokinů (IL-1, TNF- α , IL-12, GM-CSF)
- Snížení produkce Th1 cytokinů (IL-2, IFN- γ)
- Zvýšení produkce Th2 cytokinů (IL-4, IL-10)
- Inhibice protilátkové odpovědi na thymus-dependentní antigeny
- Potlačení exprese adhezivních molekul na lymfocytech (LFA-1, VLA-4)
- Inhibice prezentace antigenu dendritickými buňkami

Příklady imunomodulačních molekul sekretovaných v klíštěcích slinách

Faktor	Vlastnosti	Klíště
Protein vázající IL-2	váže myší a lidský IL-2	<i>Ixodes scapularis</i>
Evasiny	Proteiny vázající chemokiny	různé druhy ixodních klíšťat
Imunosupresivní protein	37 kDa, potlačuje proliferativní odpověď T lymfocytů na Con A	<i>Dermacentor andersoni</i>
Imunosupresivní protein (Iris)	43 kDa, moduluje odpověď T lymfocytů a makrofágů	<i>Ixodes ricinus</i>
Salp-15	15 kDa, inhibuje aktivaci CD4+ T lymfocytů a DC	<i>Ixodes scapularis</i>
Protein inhibující B lymfocyty	18 kDa, inhibuje aktivaci B lymfocytů boreliemi	<i>Ixodes ricinus</i>
HL-p36	inhibuje T lymfocyty a IL-2	<i>Haemaphysalis longicornis</i>
Lipokalin LIR6	váže LTB ₄ , inhibuje chemotaxi N	<i>Ixodes ricinus</i>

Příklady imunomodulačních molekul sekretovaných v klíštěcích slinách

Faktor	Vlastnosti	Klíště
Anti-komplementový faktor	49 kDa, inhibitor alternativní dráhy aktivace komplementu	<i>Ixodes scapularis</i>
Faktor inaktivující anafylatoxin	Carboxypeptidase-N-like enzyme	<i>Ixodes scapularis</i>
Immunoglobulin vázající protein	21 kDa, váže IgG	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i>
Histamin vázající proteiny	21-24 kDa	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i>
Histamin and serotonin vázající proteiny		<i>Dermacentor reticulatus</i>

Lidské patogeny přenášené klíšťaty

Viry: viry komplexu KE (CEE, RSSE, KFD, OHF, Powassan, Langat, Louping ill, Negishi)

Bakterie: *Borrelia burgdorferi* sensu lato, (*B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. bissettii*, *B. lusitaniae*, *B. spielmanii*)

B. hermsii, *B. recurrentis* (návratné horečky)

Anaplasma phagocytophilum (HGE)

Ehrlichia chaffensis (HME)

Francisella tularensis

Coxiella burnetti (Q horečka)

Rickettsia rickettsii (horečka Skalických hor)

Prvoci: *Babesia microti*, *B. divergens*

Lidské patogeny přenášené klíšťaty

Viry: viry komplexu KE (CEE, RSSE KFD, OHF, Powassan, Langat Louping ill, Negishi)

Bakterie: *Borrelia burgdorferi* sensu lato, (*B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. bisettii*, *B. lusitaniae*, *B. spielmani*)

B. hermsii, *B. recurrentis* (návratné horečky)

Anaplasma phagocytophilum (HGE)

Ehrlichia chaffensis (HME)

Francisella tularensis

Coxiella burnetti (Q horečka)

Rickettsia rickettsii (horečka Skalických hor)

Prvoci: *Babesia microti*, *B. divergens*

Výskyt TBE v ČR

rok **počet hlášených
výskytů nemoci**

1999 **490**

2000 **719**

2001 **633**

2002 **647**

2003 **606**

2004 **507**

2005 **643**

2006 **1029**

2007 **546**

2008 **633**

Proočkovanost v ČR je 23%

Slinami aktivovaný přenos (SAT)

Arbovirus Thogoto, klíště *Rhipicephalus appendiculatus*

Způsob infekce	% infikovaných klíšťat
Injekční stříkačka - virus	6%
Injekční stříkačka - virus+SGE	58%
Sousání s infikovanými klíšťaty	85%

Patogeny u kterých byl prokázán SAT

Viry

Klíšťová encefalitida

Thogoto

Bhanja

Crimean-Congo hemorrhagic fever

Louping-ill

Palma

West Nile

Bakterie

Borrelia burgdorferi s.s.

B. afzelii

B. garinii

B. lusitaniae

Francisella tularensis

Patogeny u kterých byl prokázán SAT

Viry

Klíšťová encefalitida

Thogoto

Bhanja

Crimean-Congo hemorrhagic fever

Louping-ill

Palma

West Nile

Bakterie

Borrelia burgdorferi s.s.

B. afzelii

B. garinii

B. lusitaniae

Francisella tularensis

Trans-block vakcíny

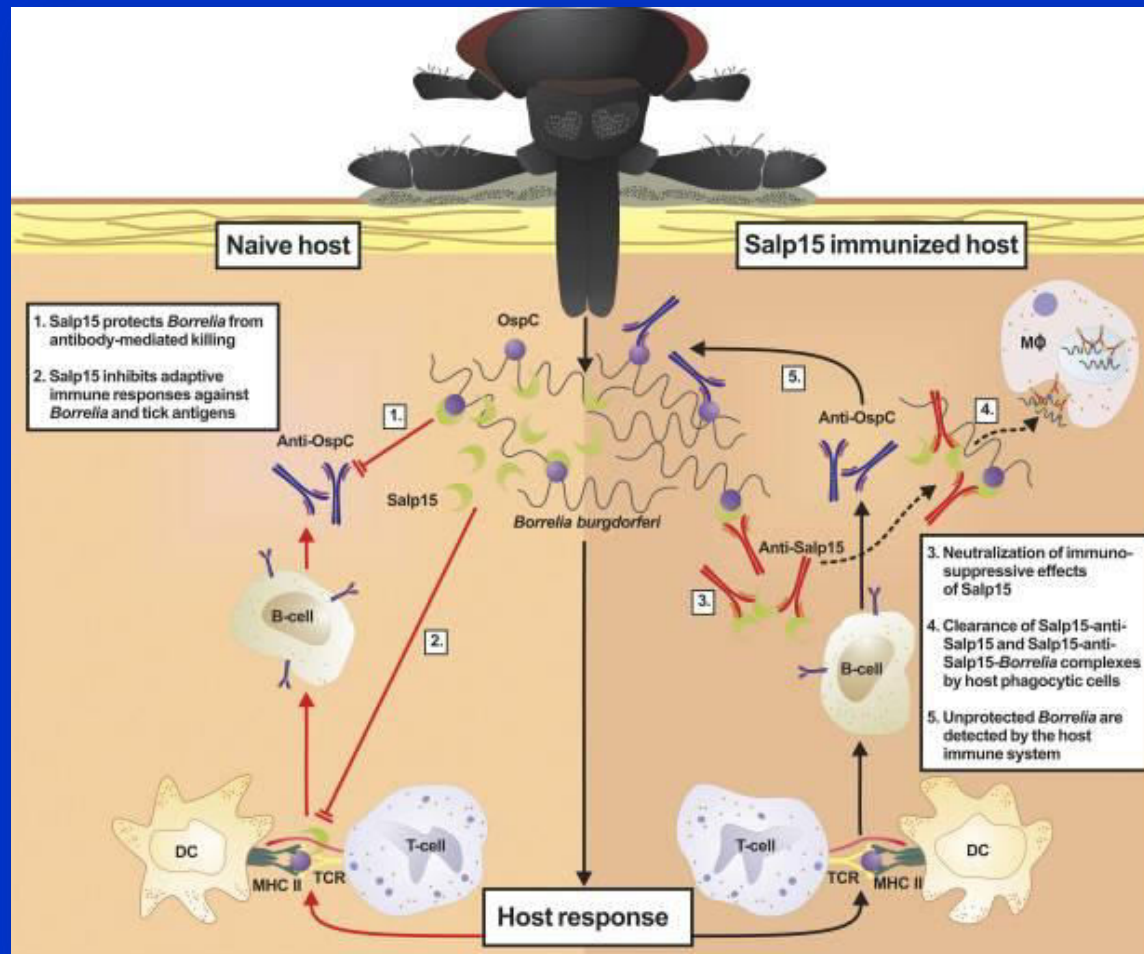
Vakcíny založené na imunizaci hostitele imunomodulačními proteiny z klíštěcích slin

Podpůrné argumenty:

- Imunizace hostitele opakovaným sáním neinfekčních klíšťat vede k inhibici přenosu borelií klíšťaty. Rezistenci k přenosu lze přenést sérem proti antigenům klíštěcích slin.
- Model leishmanie – flebotomus: imunizace imunomodulačním peptidem MAXADILANEM chrání před infekcí leishmaniemi při sání infikovaných flebotomů (*Lutzomyia longipalpis*).

Koncept vakcíny blokující přenos borelií klíštětem

(Hovius et al. *PLoS Med.* 2008 February; 5(2): e43)



Možnosti využití proteinů z klíštěcích slin k léčbě lidských nemocí

C5 inhibitor z klíštěčka *Ornithodoros moubata* byl úspěšně použit k prevenci experimentální autoimunní myasthenia gravis (Soltys et al. 2009)

Sialostatin L (cystatin) z *I. scapularis* potlačoval projevy experimentální autoimunní encefalitidy (Sá-Nunes et al. 2009)

Histamin vázající protein z *Rhipicephalus appendiculatus* bránil vývoji experimentálního astmatu (Couillin et al. 2004)

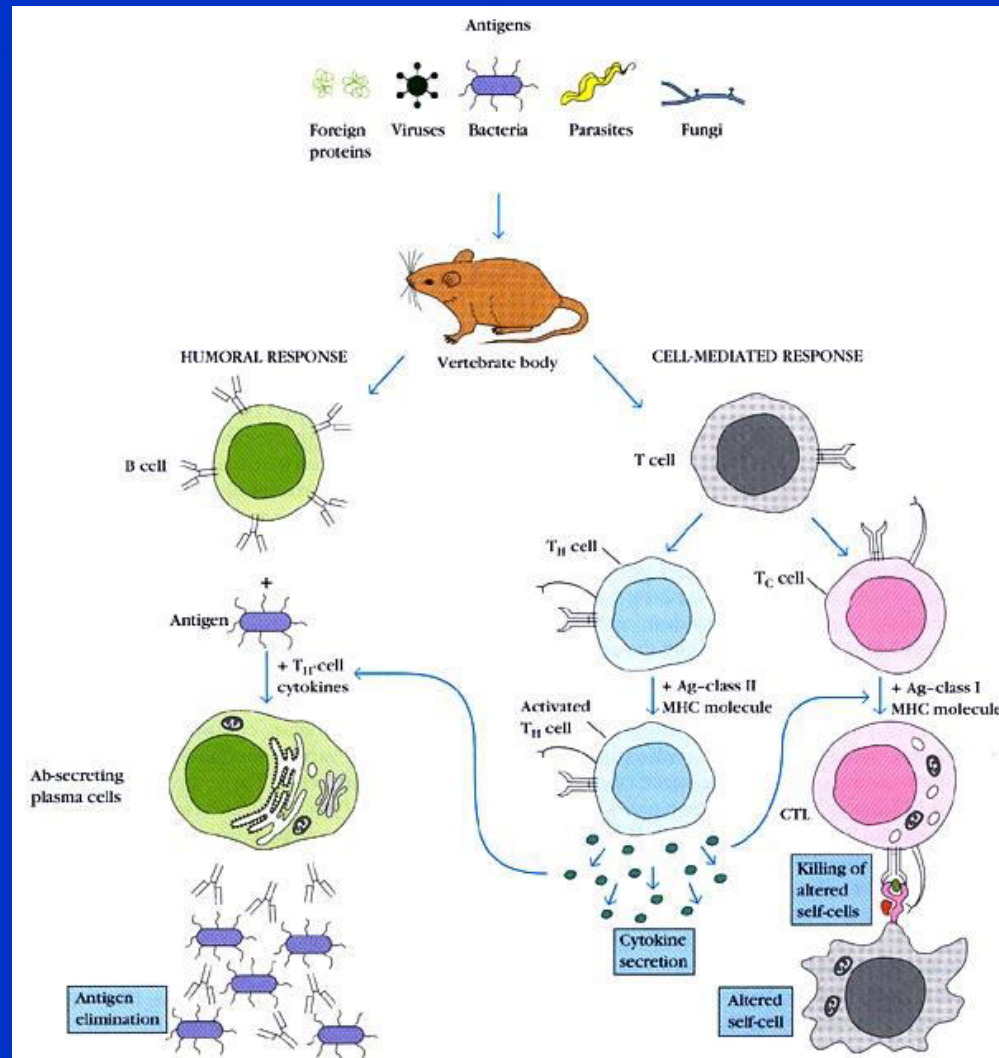
Salp15 z *I. scapularis* snižoval hypersenzitivní reakci, plicní eosinofilii a zvýšenou sekreci hlenu (Paveglio et al. 2007)

Cystatin z *I. scapularis* inhiboval IL-9 dependentní experimentální astma (Langhansová et al. 2012)

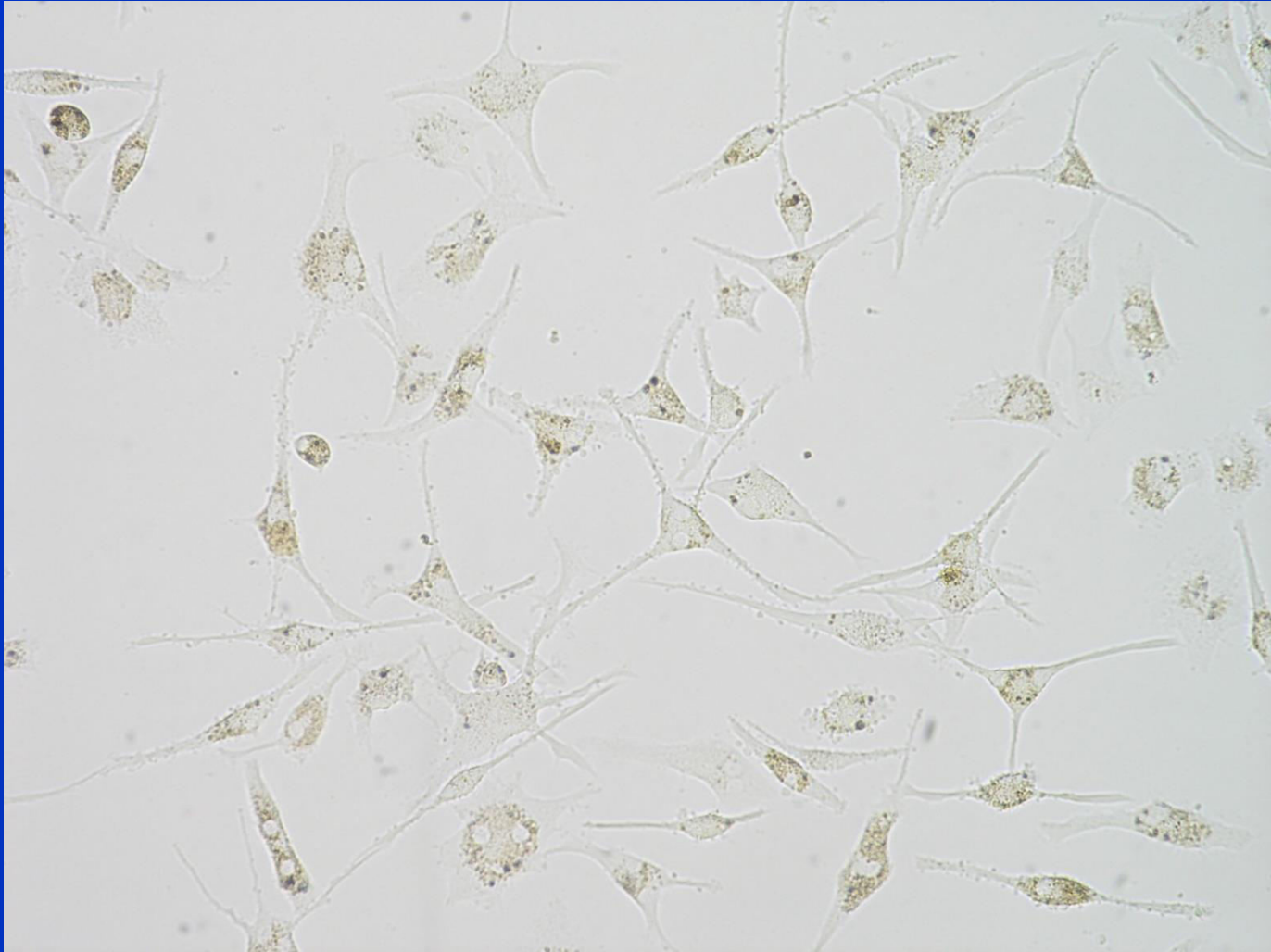
Etapy studia imunomodulačních účinků klíčtécích slin

- Účinky na imunitní systém hostitele obecně
- Modulace protiinfekční imunity
- Slinami aktivovaný přenos (SAT)
- Identifikace imunomodulačních molekul ve slinách
- „trans-block“ vakcíny (budoucnost)

Účinky klíčtecích slin na imunitní systém obecně

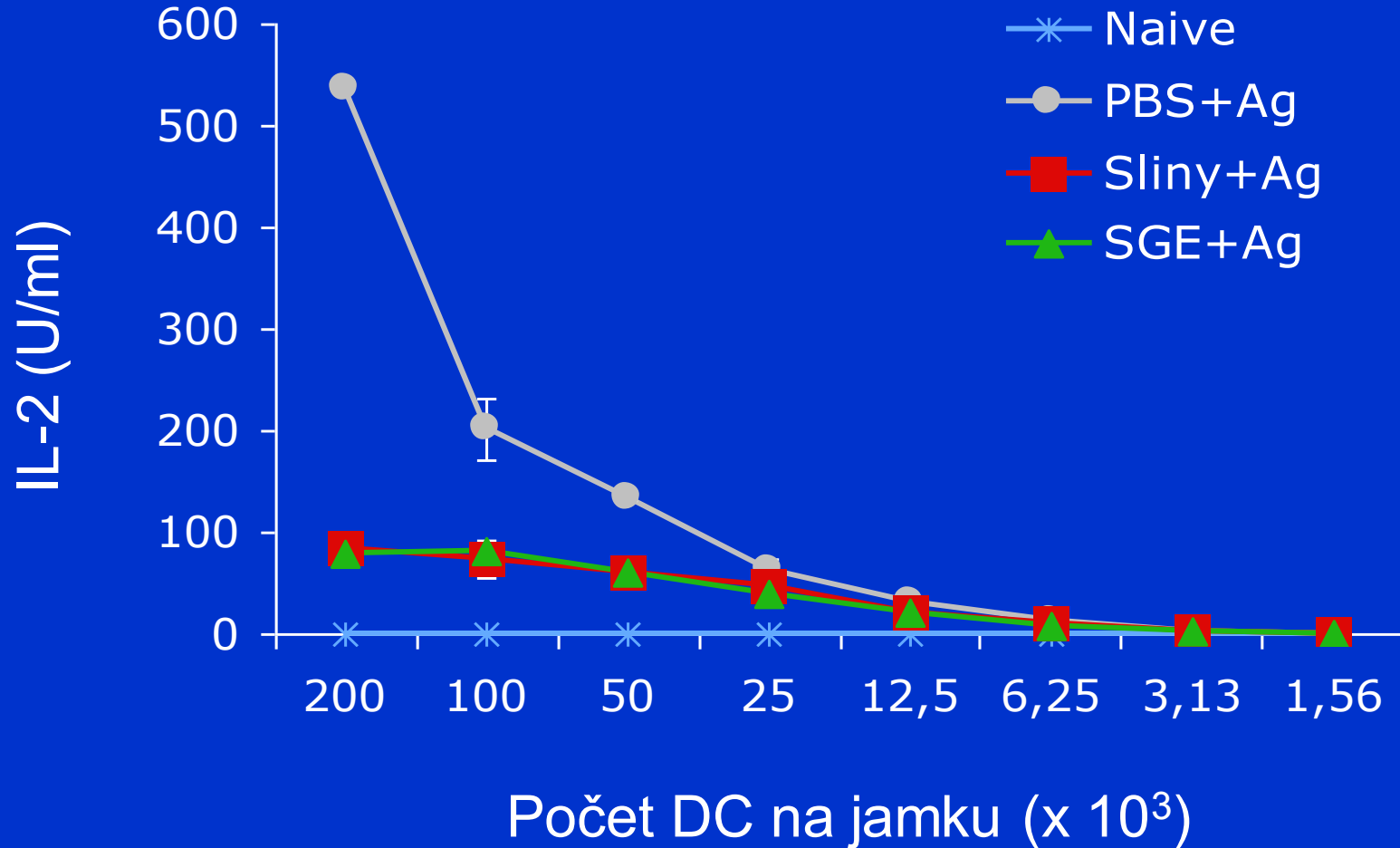


Myší dendritické buňky derivované ze sleziny

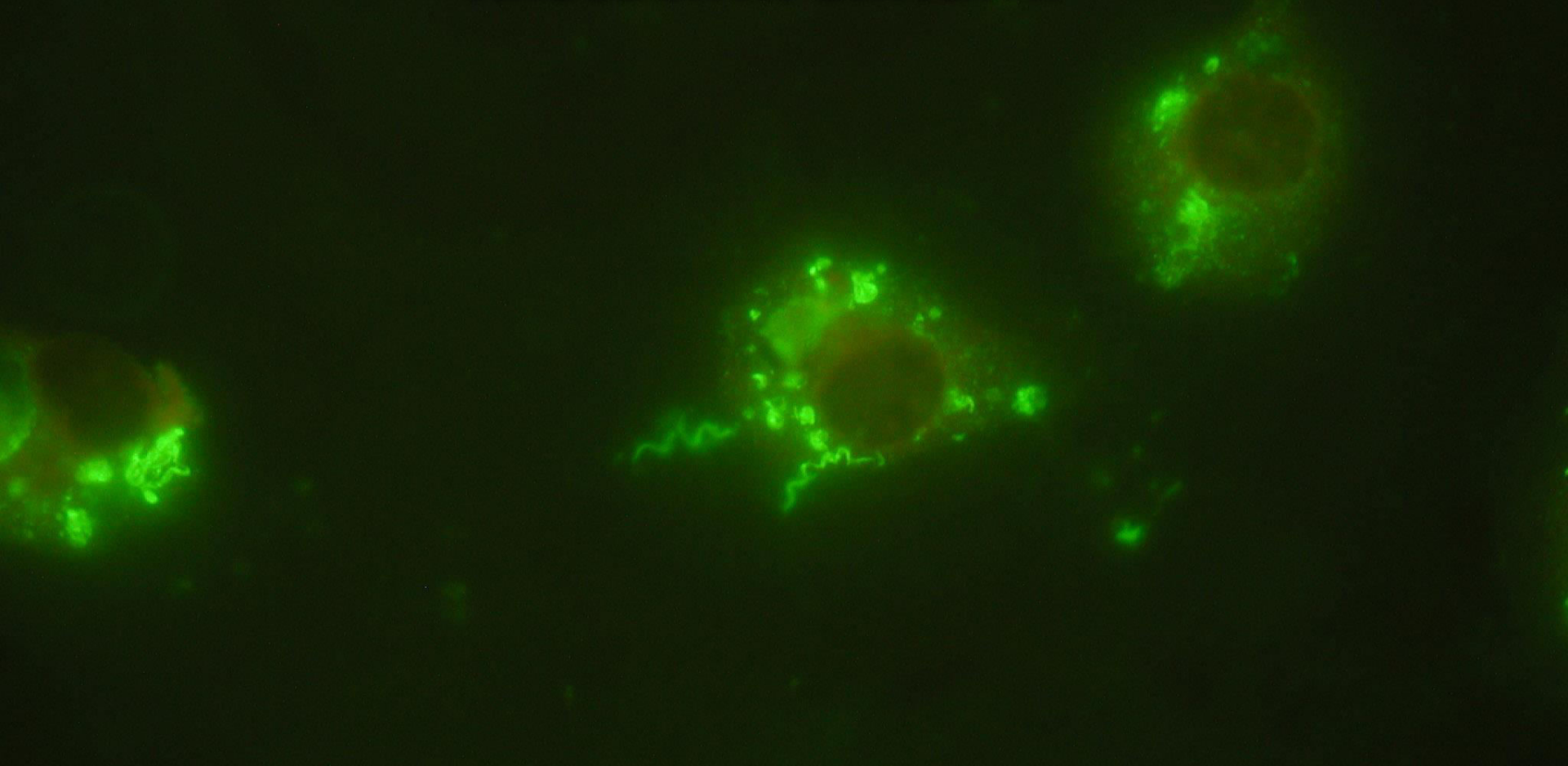


Proliferace specifických CD4+ T lymfocytů

Skallová A., Iezzi G., Ampenberger F., Kopf M., Kopecký J: *J. Immunol.* 2008, 180: 6186-6192.



Modulace protiinfekční imunity klíštěcími slinami

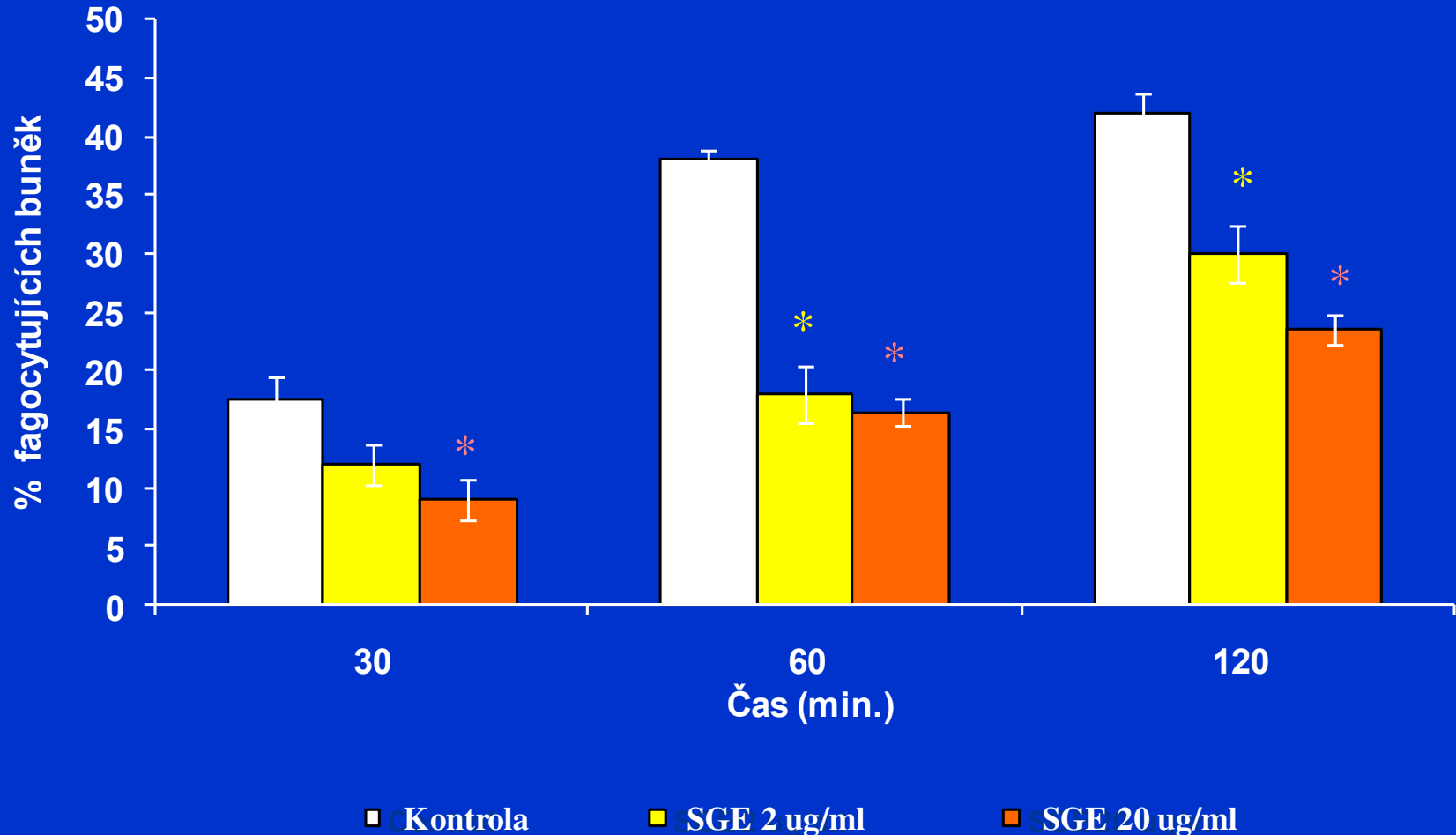


Fagocytóza borelií myšími makrofágy (nepřímá imunofluorescence)

10 μ m

Vliv SGE na fagocytózu borelií peritoneálními makrofágy

Kýčková K., Kopecký J. J. Med. Entomol. 2006 43:1208-1214



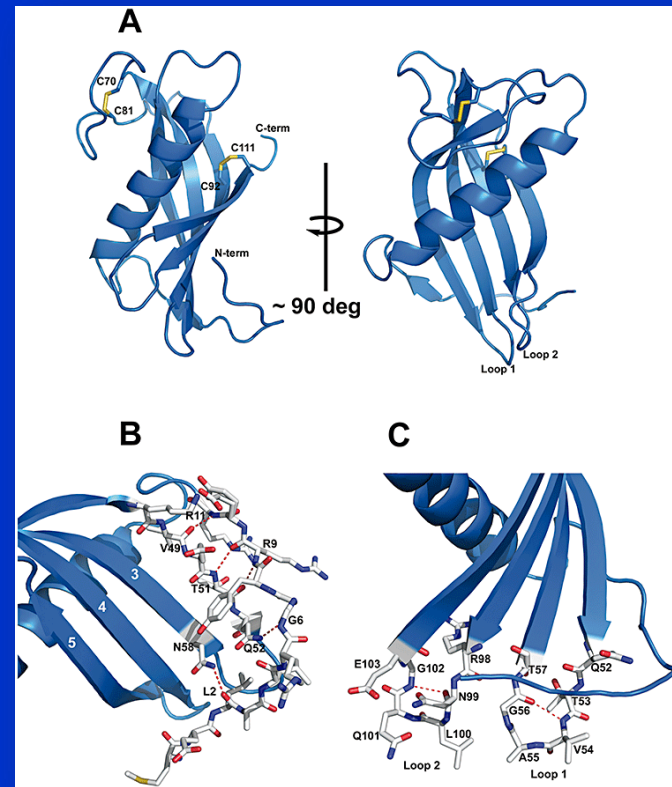
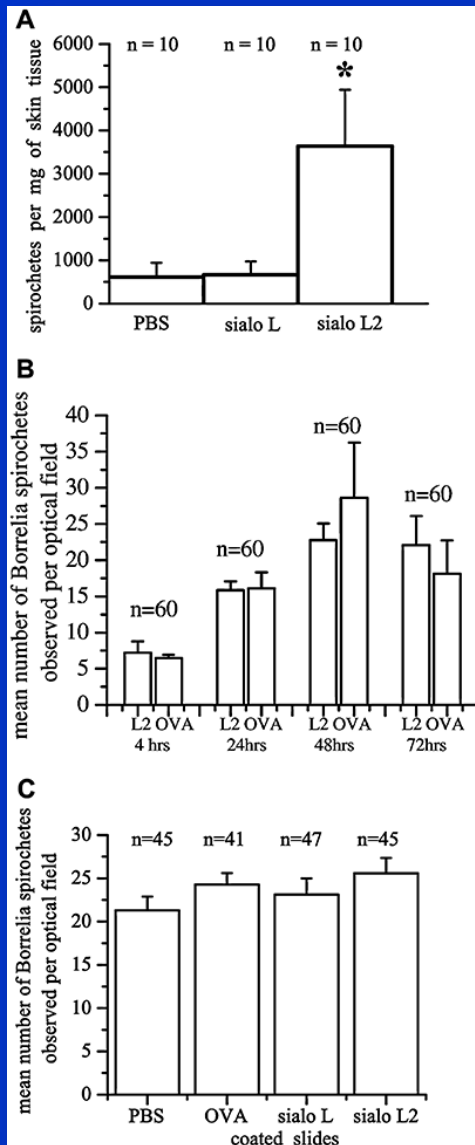
Vliv klíštěcích slin (SGE) infektivitu borelií pro sající klíšata

Horká H., Černá-Kýčková K., Skallová A., Kopecký J. *Int. J. Med. Microbiol.* 2009, 299: 373-380

	<i>B. burgdorferi</i> + PBS	<i>B. burgdorferi</i> + SGE	<i>B. burgdorferi</i> + sliny
Celkem	1/18 (6%)	16/31 (52%)	25/37 (68%)
Samice	0/7 (0%)	8/18 (44%)	12/18 (67%)
Samci	1/11 (9%)	8/13 (62%)	13/19 (68%)

Sialostatin L2 z klíštěte *I. scapularis* zvyšuje proliferaci borelií v kůži a tím působí jako SAT faktor

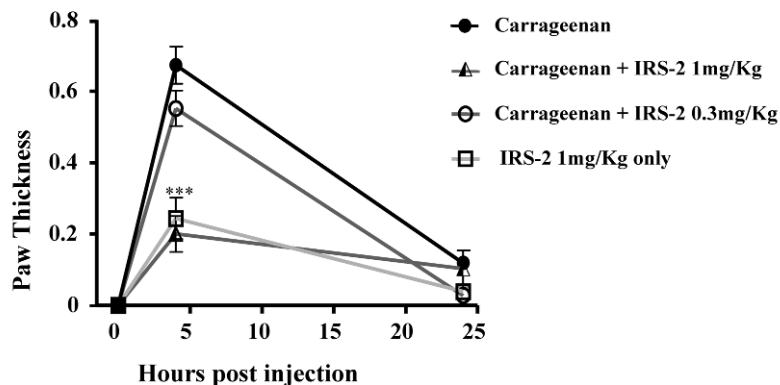
Kotsyfakis M., Horka H., Salat J., Andersen J.F. Mol. Microbiol. 2010, 77: 456-470.



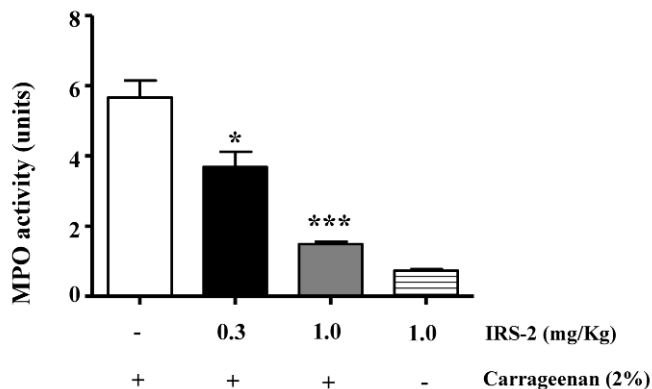
Serpin z *I. ricinus* inhibuje zánět vyvolaný carrageenanem

Chmelař J., Oliveira C.J., Řezáčová P., Francischetti I.M., Kovářová Z., Pejler G., Kopáček P., Ribeiro J.M., Mareš M., Kopecný J., Kotsyfakis M. *Blood* 2010, Epub ahead of print

A



B



Další efekty IRS-2

- Inhibuje katepsin G a chymázu
- inhibuje agregaci krevních destiček

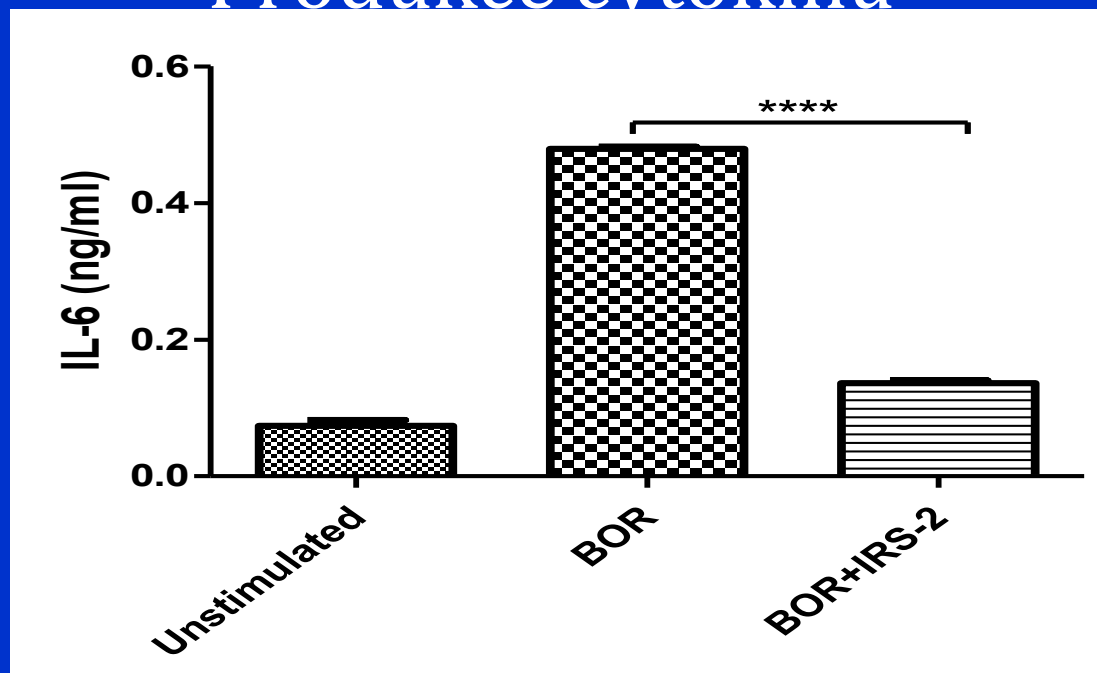
Význam pro klíště: inhibice zánětu a hojení rány



Jak IRS-2 ovlivňuje funkci dendritických buněk?

Páleníková J. et al. Infect Immun 2015

Produkce cytokinů

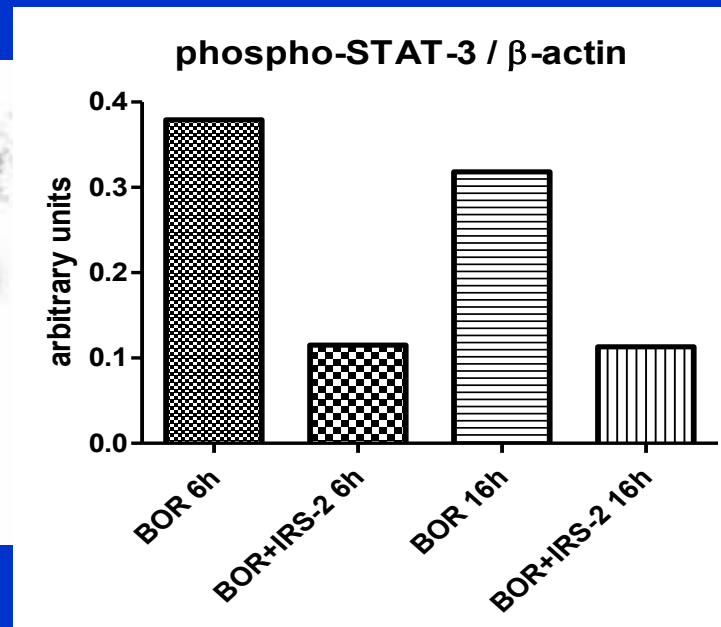
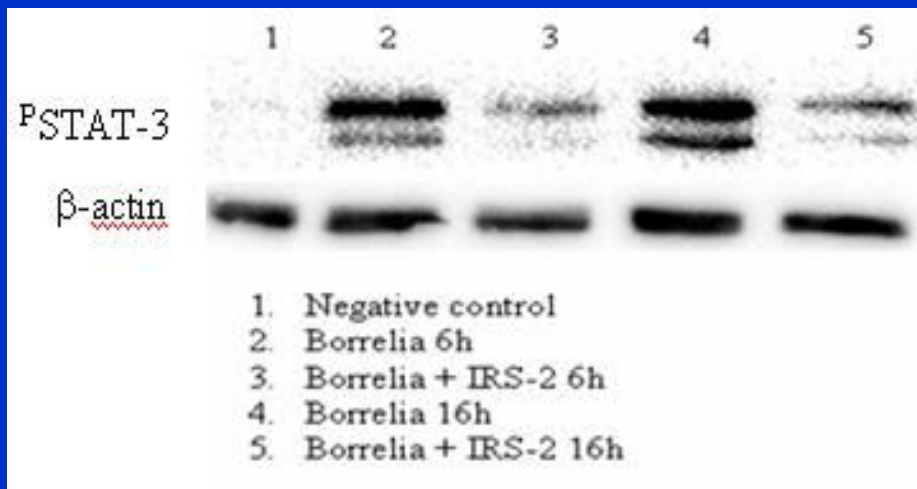


- IRS-2 snižuje produkci IL-6
- jiné cytokiny nejsou ovlivněny



Má inhibice IL-6 vliv na signalizační molekulu STAT-3?

Fosforylace STAT-3

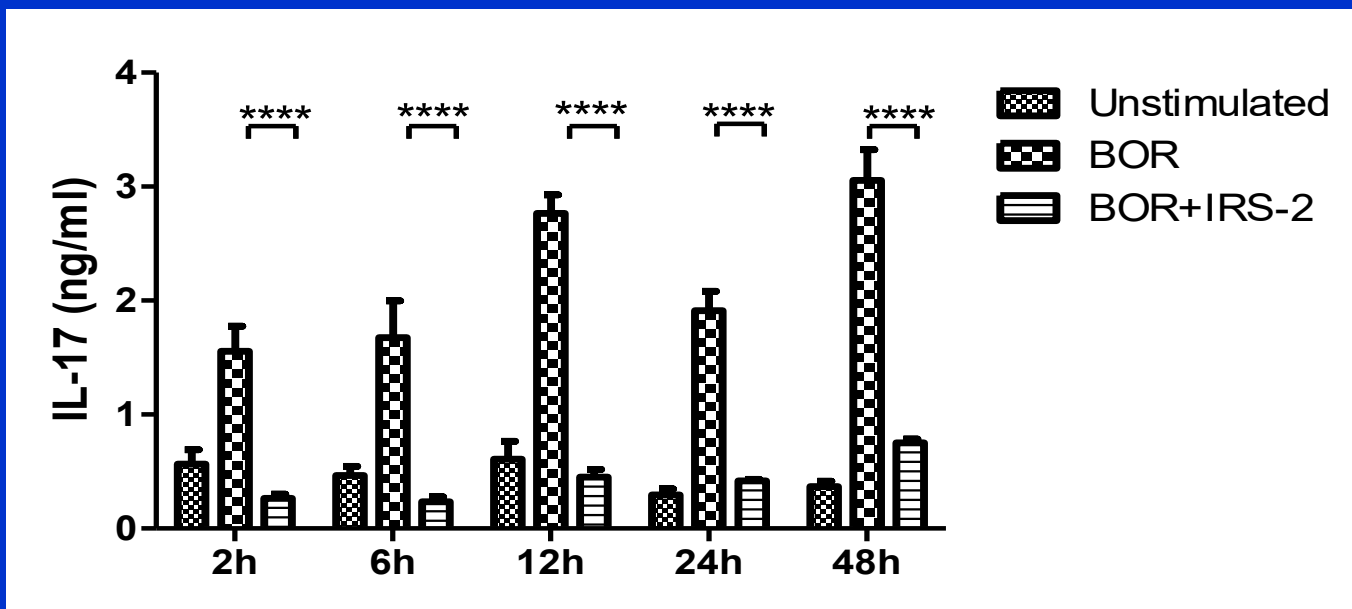


- IRS-2 inhibuje fosforylacii STAT-3



Má potlačení IL-6 /STAT-3 signalizace vliv na diferenciaci Th17 buněk?

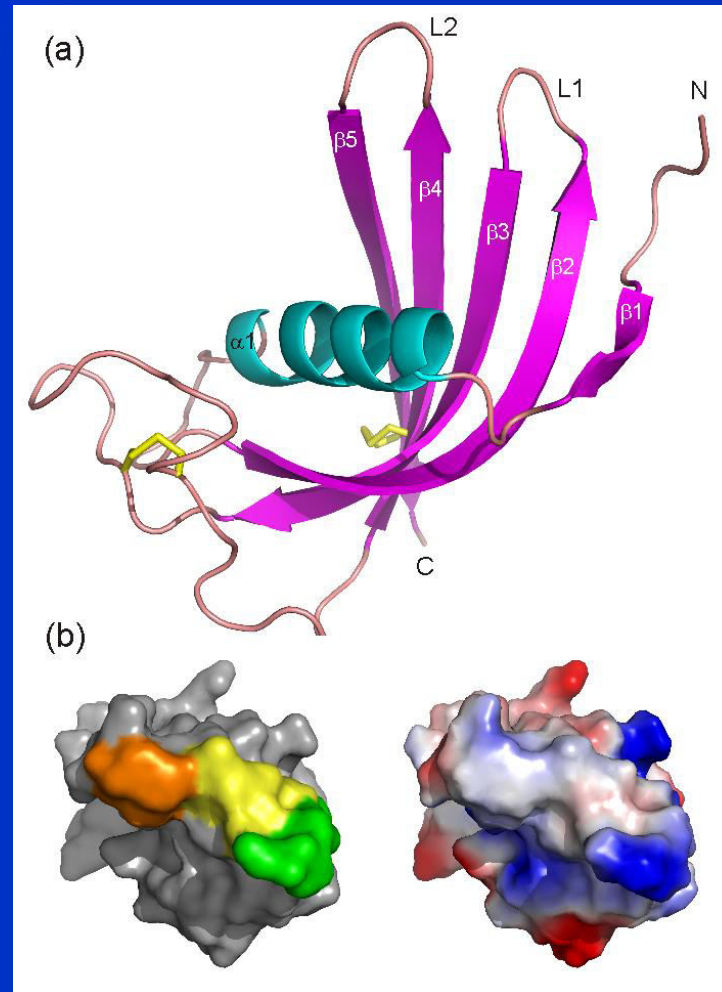
Produkce IL-17 CD4⁺ T lymfocyty



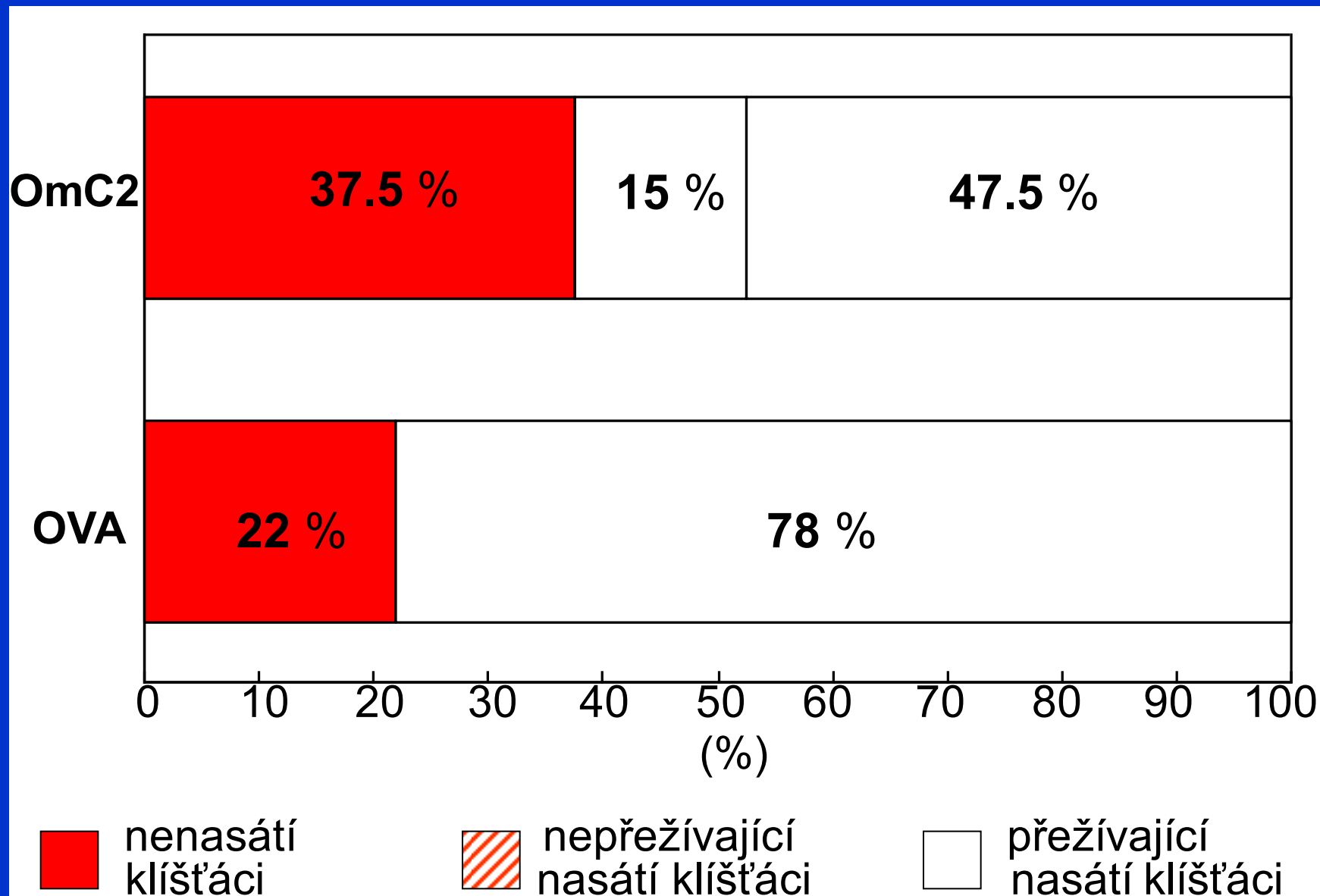
IRS-2 inhibuje diferenciaci Th17 buněk

Cystatin z klíšťáka *Ornithodoros moubata*

Salát J., Paesen G.C., Řezáčová P., Kotsyfakis M., Kovářová Z., Šanda M., Majtán J., Grunclová L., Horká H., Andersen J.F., Brynda J., Horn M., Nunn M.A., Kopáček P., Kopecký J., Mareš M. *Biochem. J.* 2010, 429:103-112.



Vliv imunizace cystatinem OmC2 na přežívání klíšťáků



Vliv klíštěcích slin na schopnost myších DC indukovat proliferaci borelia-specifických CD4+ T lymfocytů

Slámová M. : Vliv klíštěcích slin na interakce mezi spirochetami *Borrelia afzelii* a myšími dendritickými buňkami.
Magisterská diplomová práce 2010.

