

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta



**Aktivace protektivní buněčné imunitní odpovědi
v žaludečním epitelu myši během infekce a reinfekce
*Cryptosporidium muris***

Rigorózní práce

Bc. Marie Jalovecká

České Budějovice 2011

Jalovecká M., 2010: Aktivace protektivní buněčné imunitní odpovědi v žaludečním epitelu myši během infekce a reinfekce *Cryptosporidium muris* [Activation of protective cell-mediated immune response in gastric mucosa during *Cryptosporidium muris* infection and re-infection in immunocompetent mice]. 8 pp., University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Science, České Budějovice, Czech Republic.

ANOTACE:

The differences between two isolates of *Cryptosporidium muris* (TS03 and CB03) in activation and development of cell-mediated immune response in stomach mucosa was observed during the primary infection and re-infection in immunocompetent mouse model. The development of the immune response was characterized by analysis of leukocyte infiltration into the gastric epithelium and cytokine production in *ex vivo* cultures of splenocytes.

Prohlašuji, že svoji rigorózní práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své rigorózní práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 14. 12. 2011

Bc. Marie Jalovecká

.....


Práce je součástí programu Laboratoře veterinární a medicínské protistologie
Parazitologického ústavu BC AV ČR, v.v.i.

Tato práce byla finančně podpořena grantovým projektem Grantové Agentury Akademie Věd
České republiky KJB 500960701 (řešitel doc. Ing. Martin Kváč, Ph.D.)

STANOVISKO SPOLUAUTORŮ:

Prohlašuji, že jsem se významně podílela na získání výsledků a přípravě rukopisu předložené publikace: **Jalovecká M., Sak B., Kváč M., Květoňová D., Kučerová Z., Salát J. 2010.** Activation of protective cell-mediated immune response in gastric mucosa during *Cryptosporidium muris* infection and re-infection in immunocompetent mice. Parasitol. Res. 106: 1159-1166.

Bc. Marie Jalovecká

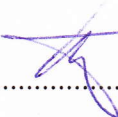

.....

Souhlasíme s výše uvedeným prohlášením:

RNDr. Bohumil Sak, Ph.D.


.....

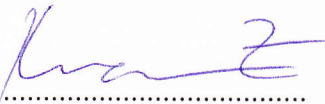
doc. Ing. Martin Kváč, Ph.D.


.....

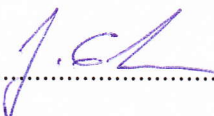
RNDr. Dana Květoňová


.....

MUDr. Zuzana Kučerová, Ph.D.


.....

RNDr. Jiří Salát, Ph.D.


.....

V Českých Budějovicích 10.12.2011

Jalovecká M., 2010: Aktivace protektivní buněčné imunitní odpovědi v žaludečním epitelu myší během infekce a reinfekce *Cryptosporidium muris*

ABSTRAKT

Žaludeční kryptosporidie osidlují výhradně žláznatou část žaludku hostitelů a v závislosti na imunitním statusu hostitele mohou způsobovat chronické a životohrožující infekce. Vývoj imunitní odpovědi imunokompetentních BALB/c myší na infekci a reinfekci dvěma různými izoláty *Cryptosporidium muris* (TS03 a CB03) byl studován analýzou zastoupení subpopulací T-lymfocytů v žaludečním epitelu pomocí průtokové cytometrie a také sledováním produkce IFN- γ a IL-10 ELISA testem. Byla pozorována významná migrace subpopulací T-lymfocytů (více než 1000-krát), zejména CD8⁺ T-lymfocytů, do žaludečního epitelu během primární infekce a jejich množství zůstávalo zvýšené více než dva měsíce po vyléčení experimentálních zvířat. V *ex vivo* kulturách splenocytů byla detekována velmi nízká produkce IFN- γ během primární infekce (0,5 ng/ml), zatímco při následné reinfekci se produkce IFN- γ zvýšila více než 22-krát. Ačkoliv byl popsán molekulární rozdíl mezi těmito dvěma izoláty *C. muris*, analýzou aktivace a vývoje buněčné imunitní odpovědi mezi nimi rozdíl prokázán nebyl. Výsledky této práce naznačují, že CD8⁺ T-lymfocyty se imunitní odpovědi na žaludeční kryptosporidiózu účastní a pravděpodobně mají důležitou úlohu v eliminaci infekce *C. muris* u myší.

Activation of protective cell-mediated immune response in gastric mucosa during *Cryptosporidium muris* infection and re-infection in immunocompetent mice

Marie Jalovecká · Bohumil Sak · Martin Kváč ·
Dana Květoňová · Zuzana Kučerová · Jiří Salát

Received: 21 December 2009 / Accepted: 19 January 2010
© Springer-Verlag 2010

Abstract Gastric cryptosporidia only inhabit the glandular part of the stomach of all age categories of their hosts and can cause chronic life-long infections independent of a host's immune status. The immune response in the stomach mucosa during the primary infection and re-infection with *Cryptosporidium muris* (TS03 and CB03) in immunocompetent BALB/c mice was characterized using flow cytometry analysis and measurement of IFN- γ and IL10 by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). Significantly, elevated migration of T lymphocytes (more than 1,000-fold), especially CD8⁺ T lymphocytes, to the stomach mucosa occurred during primary infection and persisted for more than 2 months after its resolution. The ex vivo cultures of splenocytes revealed very low levels of IFN- γ production

during the course of the primary infection (0.5 ng/ml), whereas in the following re-exposure to the parasites, the concentration of IFN- γ rapidly increased 22-fold. Although the two parasite strains that were tested were genetically distinct, they yielded similar results in the induction of cellular immune responses, suggesting that these patterns are not unique to a single parasite strain. These results imply that the CD8⁺ T lymphocytes are involved in the immune response to gastric cryptosporidiosis and could play an important role in the elimination of *C. muris* infection in mice.

Introduction

The genus *Cryptosporidium* includes protozoan parasites that inhabit the mucosal epithelium of the respiratory and digestive tracts of a variety of vertebrate hosts, including humans. Effects of infection vary with the species of *Cryptosporidium*. These parasites are the causative agents of clinical disease in the immunocompetent persons as well as immunodeficient patients, with more severe manifestations typical in the latter group (Fayer and Ungar 1986).

No effective pharmacological treatment against cryptosporidiosis is available (Xiao 2009). Fortunately, immunocompetent hosts usually self-clear their infections. A better understanding of the parasite-specific immune responses that lead to parasite elimination could contribute to the treatment of chronic *Cryptosporidium* infections in the immunodeficient hosts.

Both juvenile and adult mice are suitable models for chronic gastric infection with *Cryptosporidium muris* and the study of immune responses to *Cryptosporidium* in mammalian hosts. Moreover, while immunocompetent BALB/c and CF-1 mice recover from the *C. muris* infection and become resistant to re-infection, immunodeficient nude

M. Jalovecká · J. Salát
Faculty of Science,
University of South Bohemia in České Budějovice,
Branišovská 31,
370 05 České Budějovice, Czech Republic

B. Sak (✉) · M. Kváč · D. Květoňová · J. Salát
Institute of Parasitology,
Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic,
Branišovská 31,
370 05 České Budějovice, Czech Republic
e-mail: casio@paru.cas.cz

M. Kváč
Faculty of Agriculture,
University of South Bohemia in České Budějovice,
Studentská 13,
370 05 České Budějovice, Czech Republic

Z. Kučerová
Division of Parasitic Diseases, National Center for Zoonotic,
Vector-Borne and Enteric Diseases,
Centers for Disease Control and Prevention,
Department of Health and Human Services,
Atlanta, GA 30341, USA