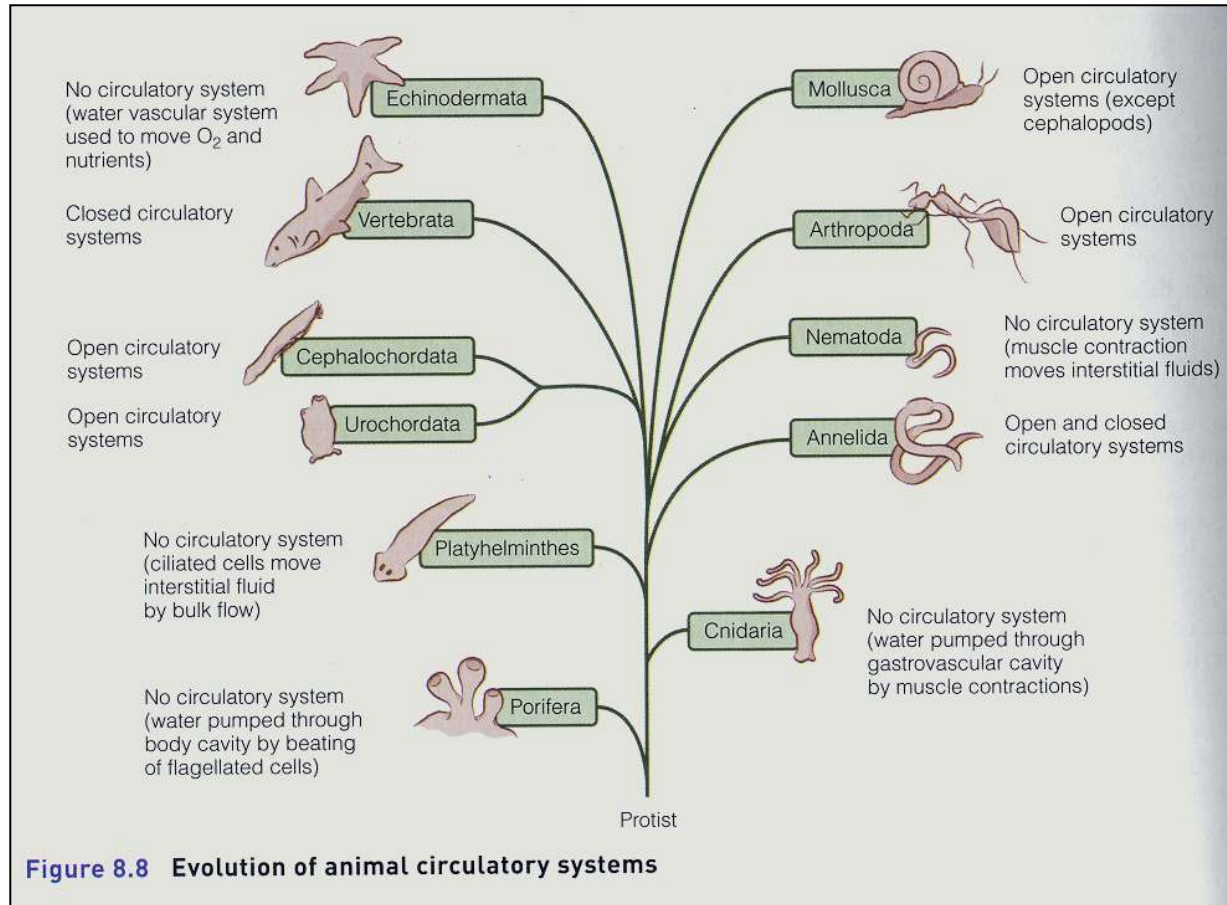


Oběhový systém a imunita

Krev nebo hemolymfa propojuje tkáně vzájemně i s okolním světem - transport, obrana, hydrostatická fce.



Do určité velikosti a aktivity není cirkulace nezbytná. Neexistuje pravá vnitřní tělní tekutina. Bičíky a svaly obstarají výměnu vody v gastrovaskulární dutině.

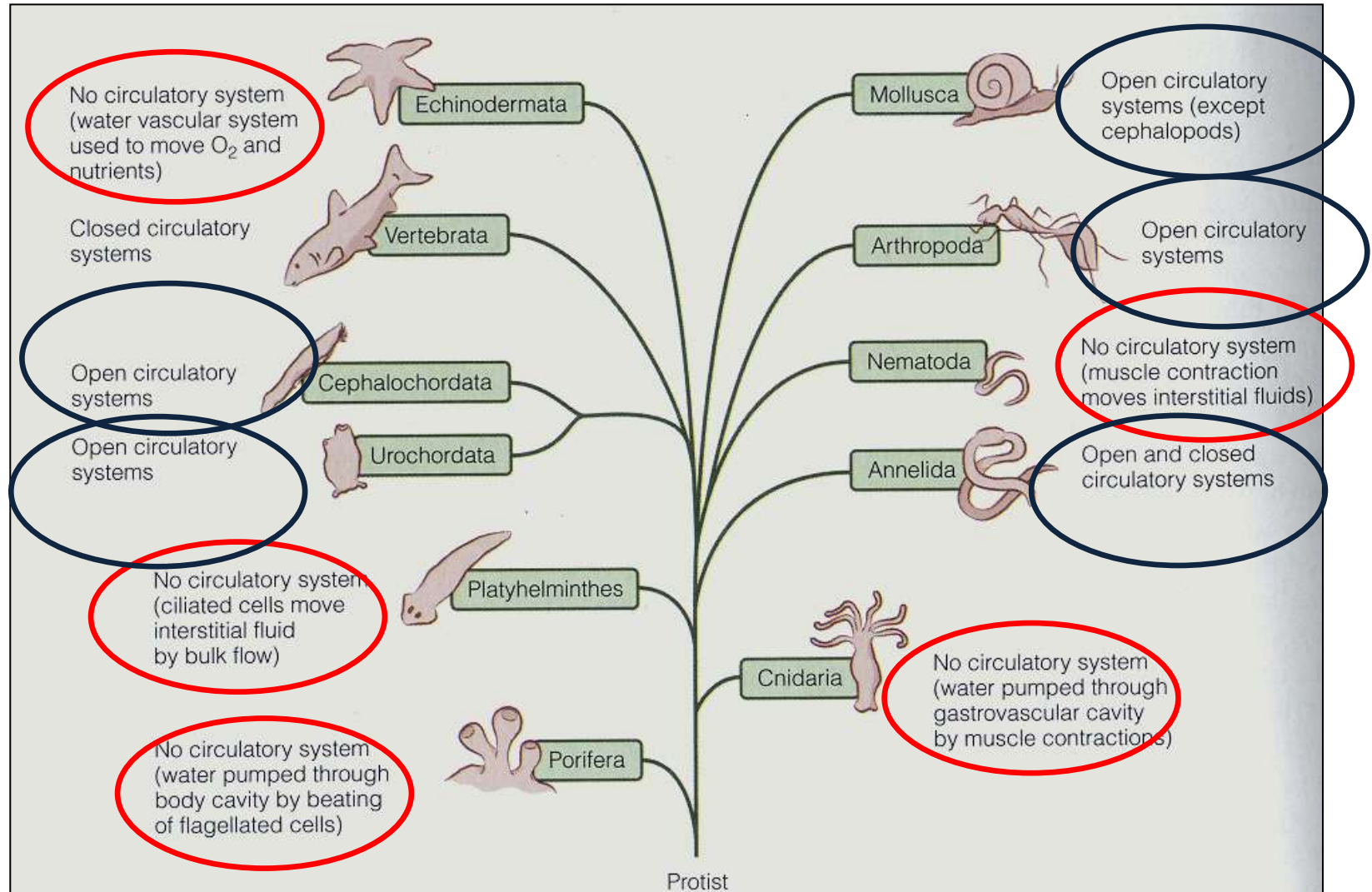
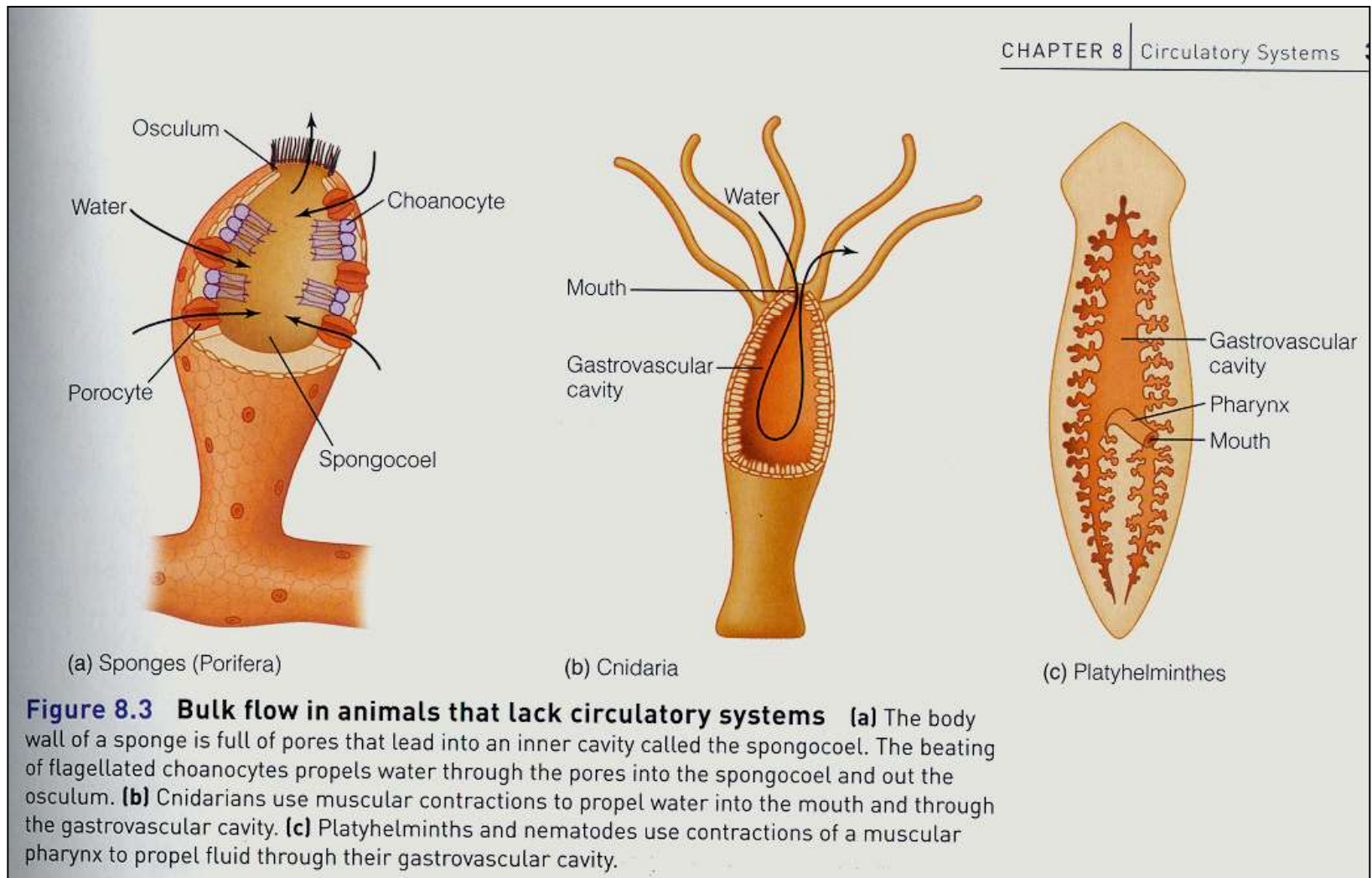
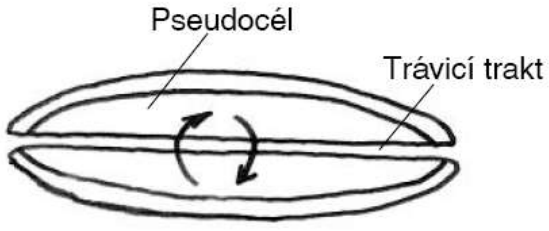


Figure 8.8 Evolution of animal circulatory systems

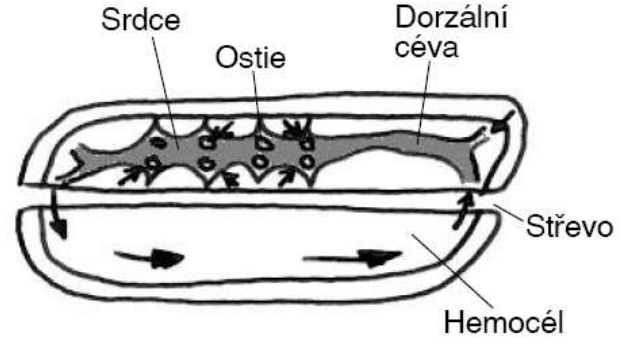
Do určité velikosti a aktivity není cirkulace nezbytná. Neexistuje pravá vnitřní tělní tekutina. Bičíky a svaly obstarají výměnu vody v gastrovaskulární dutině.



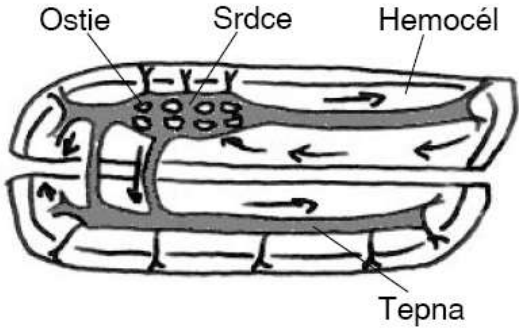
S tělní tekutinou:
 Čím větší a aktivnější,
 tím dokonalejší cévní
 sst.
 Hmyz výjimka.



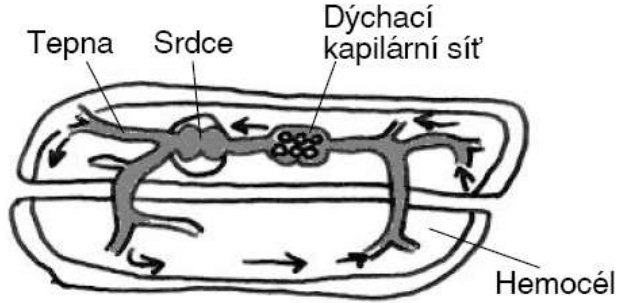
c) Hlístice



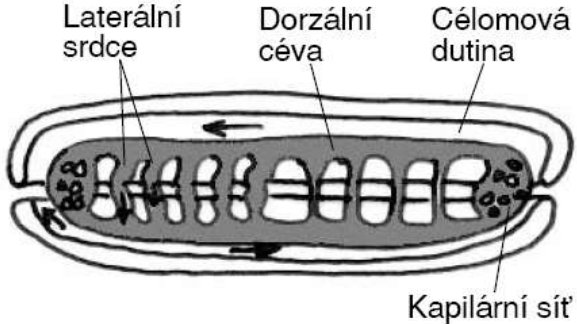
d) Hmyz



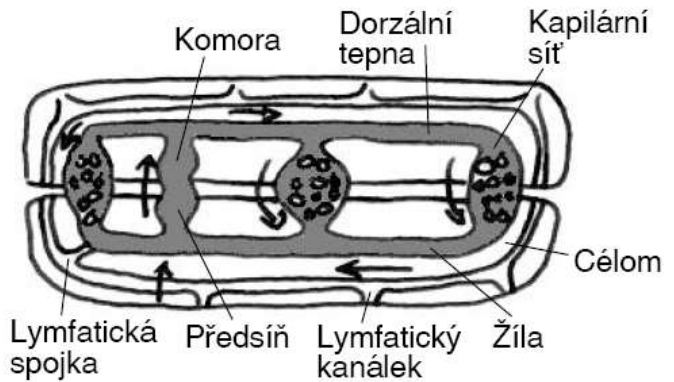
e) Korýši



f) Měkkýši

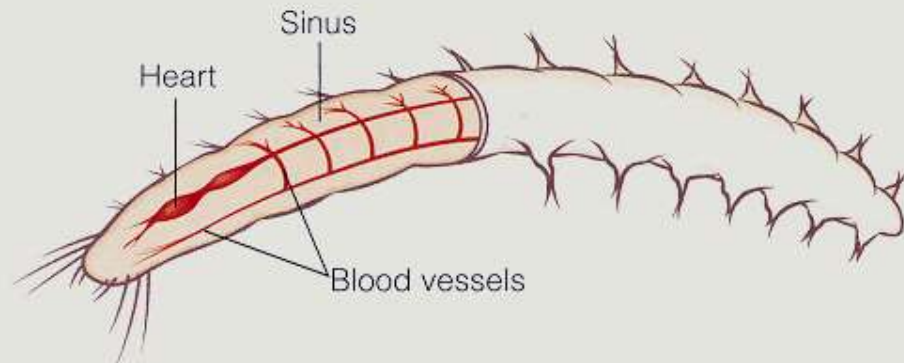


g) Kroužkovci

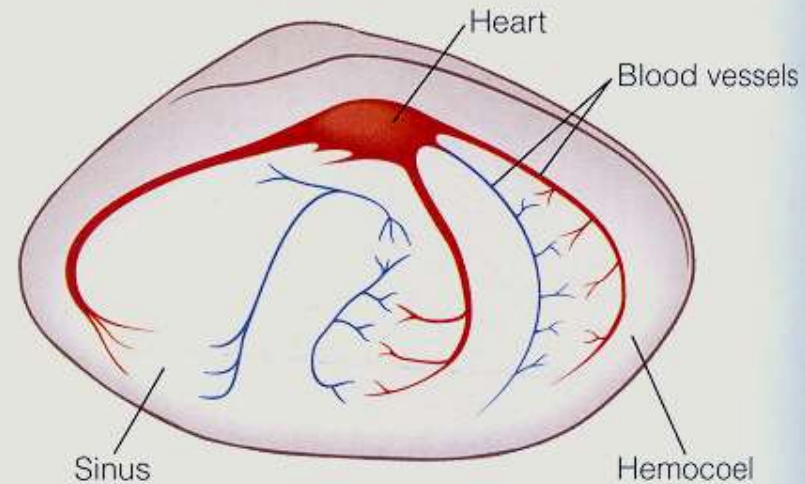


h) Savci

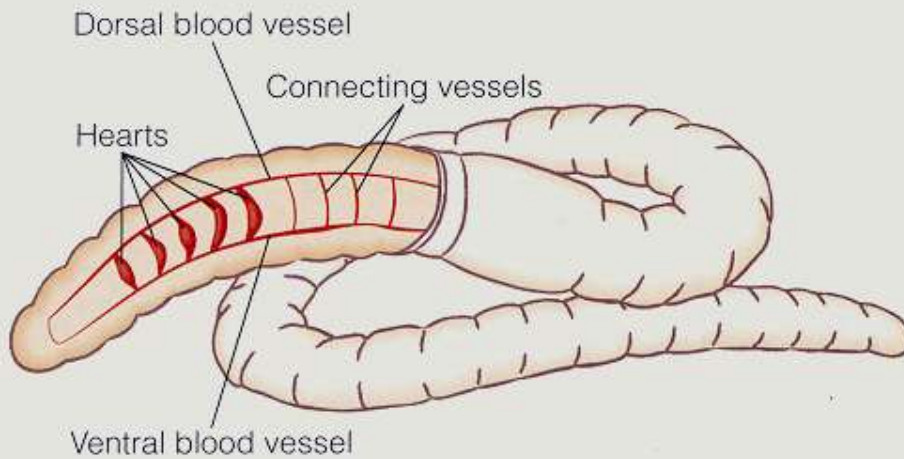
Otevřené a uzavřené cévní systémy.



(a) Open circulatory system of annelid (polychaete)



(a) Open circulatory system of a bivalve mollusc (clam)



(b) Closed circulatory system of annelid (oligochaete)

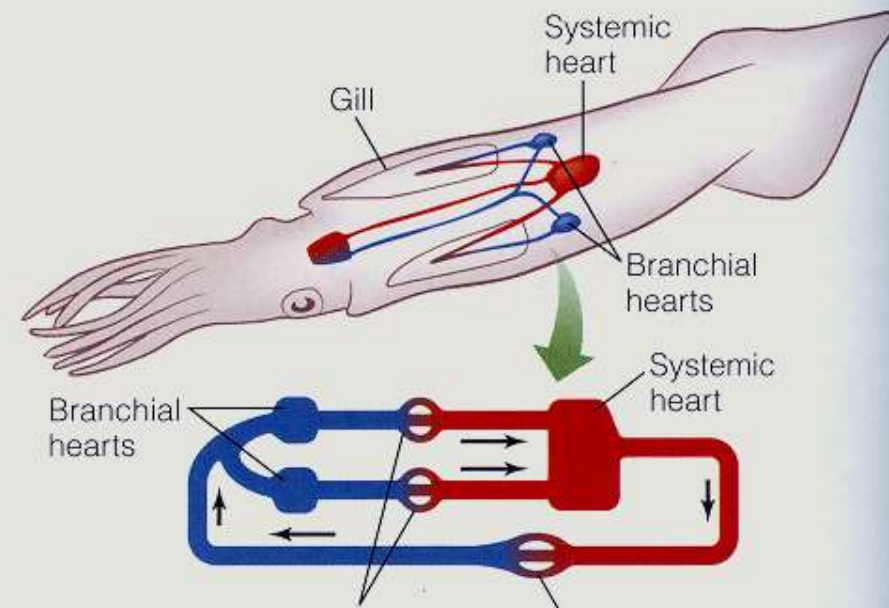


Figure 8.4 Circulatory systems of annelid

(a) Some polychaetes have open circulatory systems.

(b) Oligochaetes have closed circulatory systems.

Hlavonožci mají dobře vyvinutý uzavřený cirkulační sst. Jak chobotnice tak sépie mají relativně vysoký krevní tlak – během aktivity až 75 torrů. Stejně jako u obratlovců artérie slouží jako rezervoár kinetické energie při systole a rozepnou se. Struktura elastických bílkovin ve stěnách je však odlišná od obratlovců – jde o nezávislý evoluční znak.

Arteriální systémové srdce a s. pomocná

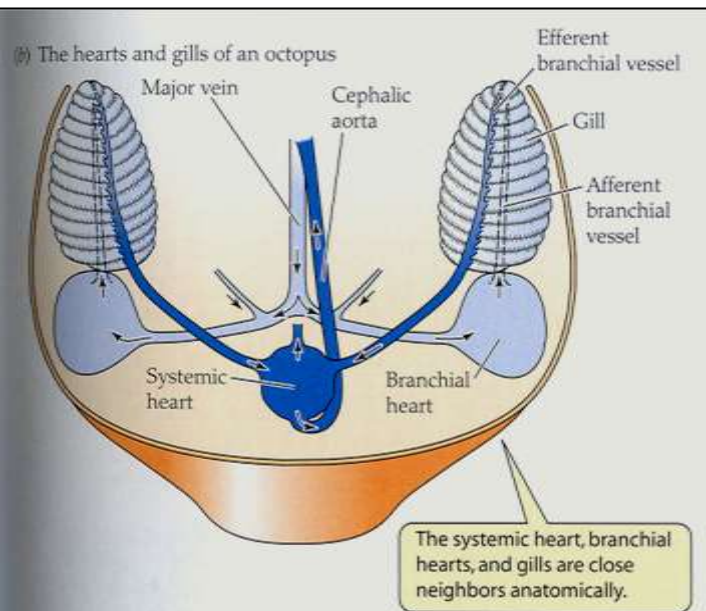
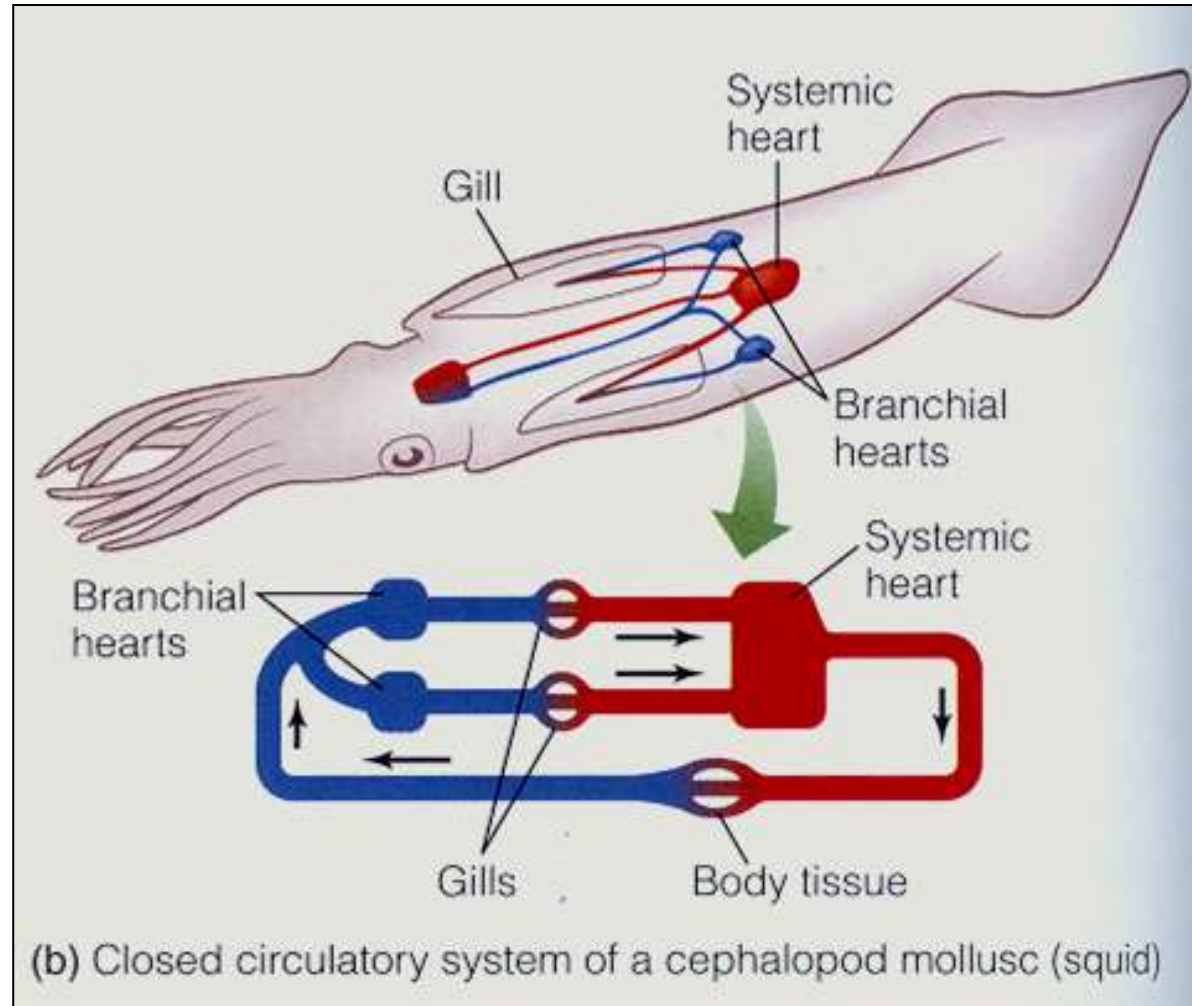


Figure 24.20 The circulatory plan of squids and octopuses
 (a) The arrangement of the hearts, gills, and systemic tissues relative to one another. Hemocyanin, the respiratory pigment of squids and octopuses, turns blue when well oxygenated, but is clear or nearly clear when deoxygenated. (b) A more realistic drawing of the central circulatory system of an octopus. (b after Johansen and Lenfant 1966.)



(b) Closed circulatory system of a cephalopod mollusc (squid)

Korýši. Hmyz. Úlohu transportu plynů může převzít tracheální sst.

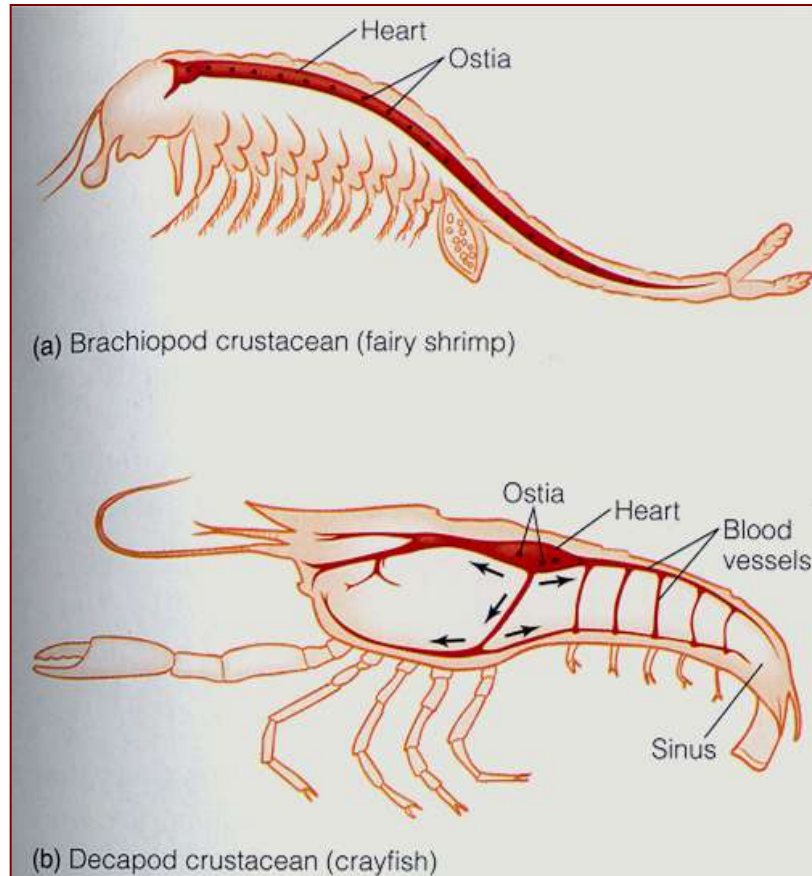


Figure 8.6 Circulatory systems in crustaceans

(a) Circulation in a brachiopod crustacean. Brachiopods such as fairy shrimp have simple circulatory systems with few blood vessels and a long tubular heart. **(b)** Circulation in a decapod crustacean. Decapod crustaceans have elaborate open circulatory systems with arteries and capillary beds and a muscular chamberlike heart. The heart pumps the circulatory fluid through the arteries into successively smaller blood vessels that drain into small channels within the head and body tissues. The fluid returns to the heart via a set of ostia.

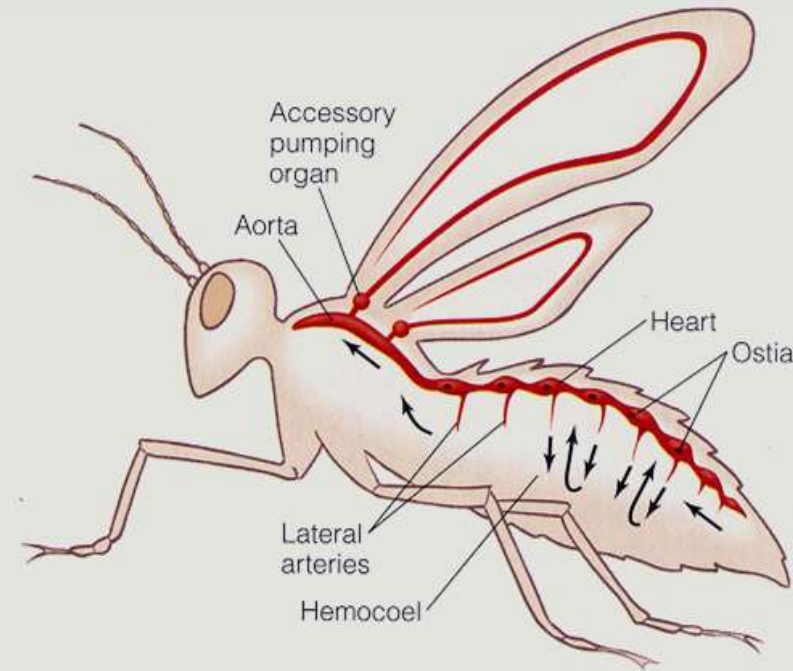


Figure 8.7 Circulatory system of insects

Insects have relatively simple open circulatory systems. The contractile dorsal blood vessel is elaborated into a series of hearts found along the body, often with one in each body segment. These hearts and the contractile dorsal blood vessel push blood using peristaltic contractions from the posterior end to the anterior end of the body. The circulatory fluid then discharges into the open hemocoel and percolates back through the sinuses of the body, assisted by normal body movements.

Decapods have among the most sophisticated open circulatory systems of any invertebrate, and many of their blood vessels have muscular valves that they can use to control the amount of blood

Tři typy pump:

Samotný pohyb krve je možný díky několika fenoménům:

a) **peristaltické kontrakce hladké svaloviny samotných cév.**

b) síla vznikající rytmickými kontrakcemi **komorového srdce s chlopněmi**, elastický návrat naplněných cév v diastole,

c) **stlačování cév při pohybu kosterních svalů s chlopněmi**, U bezobratlých je relativní úloha komorového srdce mnohem menší než u obratlovců.

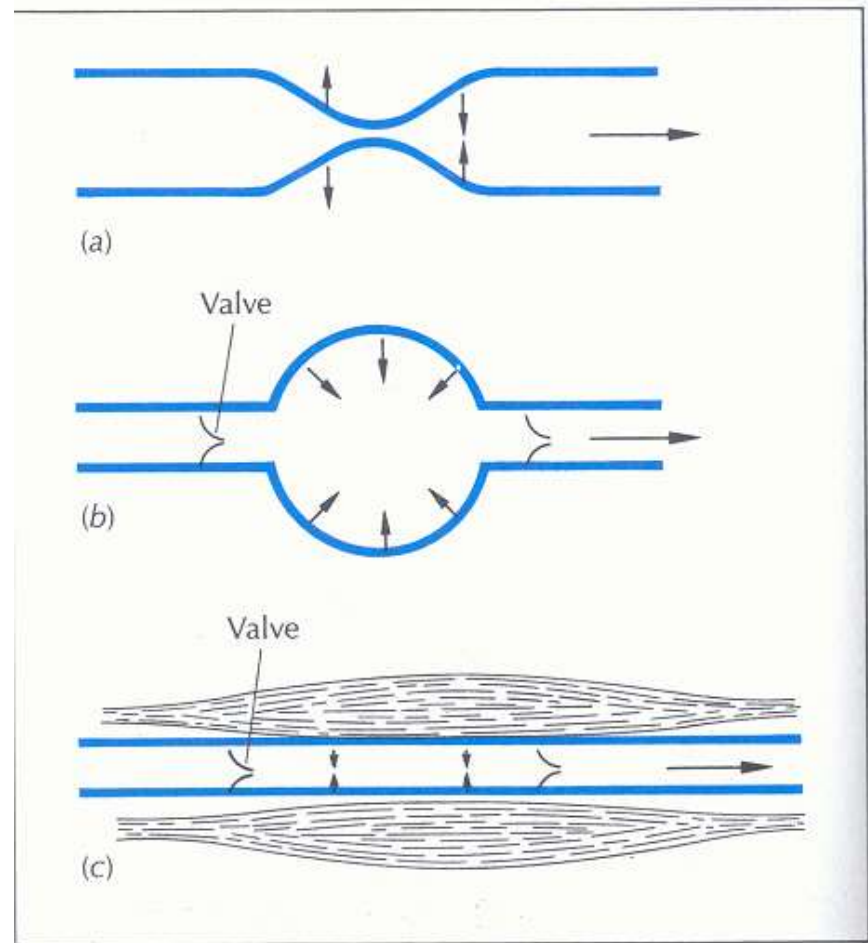


Figure 3.1 The three types of pumps that move blood in a circulatory system. In the peristaltic pump (a) a constriction in a tube moves along the tube and pushes blood ahead of it. In the common chamber pump (b) rhythmical contractions of the walls force blood out. Valves prevent backflow, and the blood is therefore expelled in one direction only. In another form of chamber pump (c) blood is pushed out of a collapsible tube by pressure from surrounding tissues. In this diagram contracting muscles provide the pressure and valves prevent backflow. The venous pump in the legs of humans is of this type.

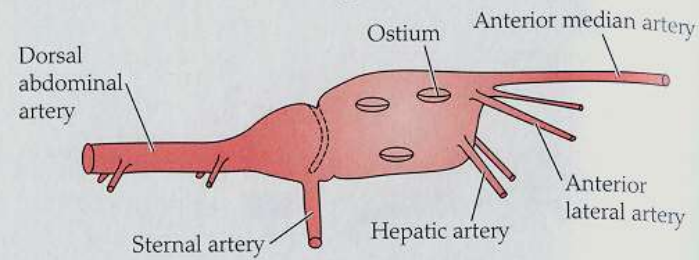
Srdce korýšů (desetinožců)

Srdce má jen tepny.

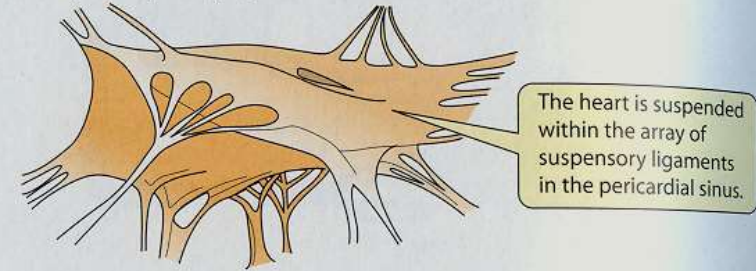
Krev se nasává pod tlakem ostiemi.

V srdce je zavěšeno v perikardiálním sinu

(a) The heart and the arteries emanating from the heart



(b) The array of suspensory ligaments around the heart



(c) Flow of blood through the central circulation

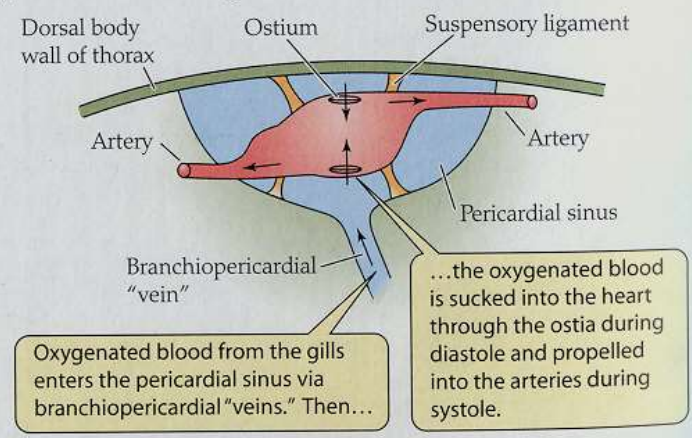


Figure 24.22 The heart of a decapod crustacean (a) The heart and the arteries leaving it. All the vessels connected to the heart in a crustacean are arteries. (b) The heart is surrounded by an array of elastic suspensory ligaments that run between the heart wall and the wall of the surrounding pericardial sinus, suspending the heart in the pericardial sinus. (c) The position of the heart in the pericardial sinus and the pattern of blood flow through the central circulation. (a after Wilkens 1999; b after Plateau 1880.)

Problém s návratem krve otevřených systémů

Srdce je obklopeno pojivovou membránou zvanou perikard. Tlak v dutině perikardu se mění podle činnosti srdce a velikost oscilací. Závisí jednak na změně objemu srdce, jednak na rigiditě (tuhosti) perikardu. Například u žraloků je perikard tuhý. Podobný najdeme u koryšů a mlžů.

Systola komory pak znamená pokles tlaku v dutině perikardu a vznik podtlaku působí roztažení předsíní a usnadňuje žilný návrat krve. Takto je energie komorové systoly využito dvakrát.



velevrub

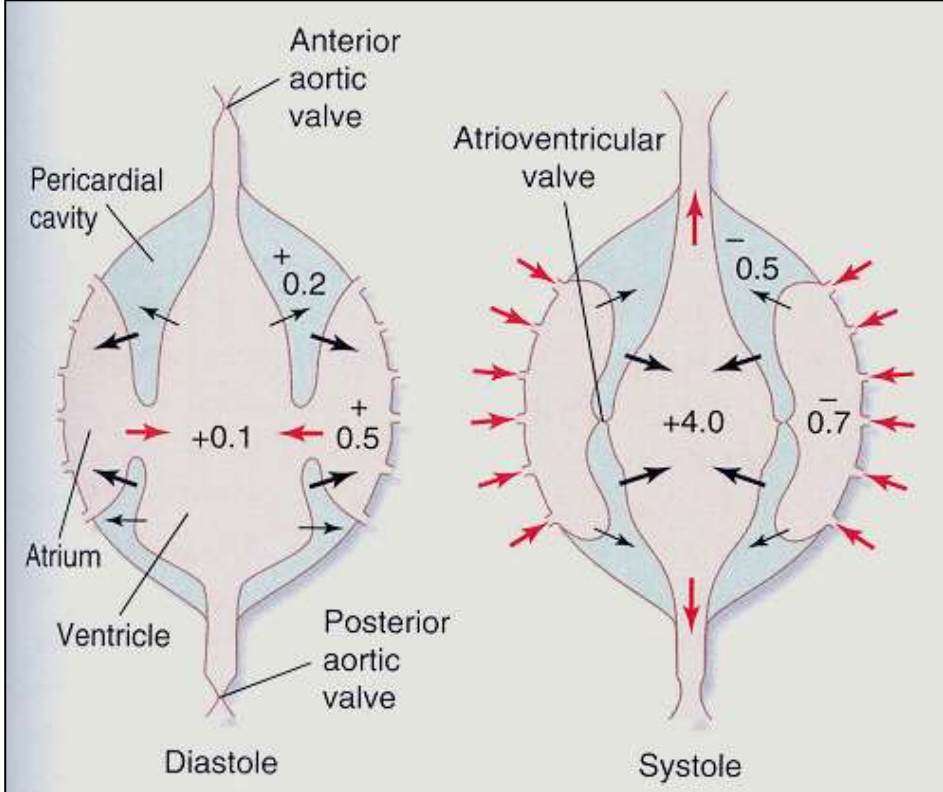


Figure 12-14 In the heart of the bivalve mollusk *Anodonta*, which has a noncompliant pericardium, ventricular contraction not only ejects blood, but also reduces pressure in the pericardial cavity, thus enhancing filling of the atria. Numbers are pressures in centimeters of seawater, which are expressed relative to ambient pressures. Large black arrows indicate movements of the walls of contracting chambers; small black arrows indicate movements of the walls of relaxing chambers. The red arrows indicate the direction of blood flow. [Adapted from Brand, 1972.]

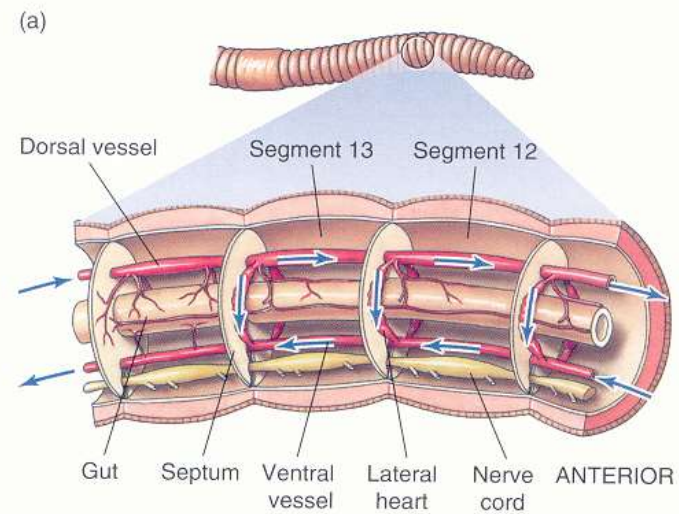
Otevřené a uzavřené sst.

- 1) Rozdíl mezi systolickým a diastolickým tlakem je malý.
- 2) Periferní odpor je malý, s čímž souvisí i malá intenzita srdeční činnosti (výkon srdce).
- 3) Krev neproudí plynule.
- 4) Podmínky výměny látek s tkáněmi jsou horší vzhledem k menší ploše styku hemolymfy s tkáněmi.
- 5) Transportní mechanismus je sice méně energeticky náročný, je však také méně výkonný.
- 6) Omezená možnost regulace prokrvení a tlaku,
- 7) Mísí se krev nesoucí živiny a kyslík s metabolity

Hemocél leží mezi ekto a entodermem a může zabírat až 40% tělesného objemu. Tlak je malý – asi jen 5-10 Torrů. Vyšší tlak nepř u Helix nebo mlžů je výjimečný. Někdy je tvořen činností srdce, ale u mlžů spíše tlakem svaloviny nohy. Všeobecně mají zvířata s otevřeným systémem limitované možnosti měnit intenzitu průtoku a distribuci krve do různých částí těla. Důsledkem je poměrně malá účinnost výměny kyslíku.

Nicméně krabi, humři, langusty mají také už možnost kontroly nad srdečním výkonem a distribucí krve a dosahují vysokých metabolických výkonů.

Otevřené a uzavřené sst. Klasický pohled.



Closed systems

- Usually high-pressure systems
- High pressure requires high peripheral resistance
- High pressure sustained between heartbeats, requires elastic walls
- Blood conveyed directly to organs
- Distribution to different organs well regulated
- Blood return to heart rapid

Open systems

- Usually low-pressure systems
- Sustained pressure possible
- Similar to closed systems
- Distribution of blood less readily regulated
- Blood return to heart often slow

Table 3.1 Major characteristics of closed and open circulatory systems.

Figure 12-1 In the giant earthworm (*Megascolides australis*), peristaltic contractions of the dorsal vessel and pumping by the lateral hearts are both important in moving blood. **(a)** Blood flows from the dorsal vessel into the lateral hearts, present in the 13 anterior segments, and then is pumped into the ventral vessel. **(b)** Peak blood pressure in the dorsal vessel is about twice as high as in the ventral vessel owing to peristaltic contractions. [Adapted from Jones et al., 1994.]

Menší možnost regulace prokrvení, ale i u otevřených cévních systémů je možná jistá prostorová a časová regulace prokrvení lakunárními kanály.

Různě metabolicky aktivní tkáně dostávají na jednotku hmotnosti různý podíl cirkulující hemolymfy. Takže není proporční hmotnosti, ale spotřebě kyslíku

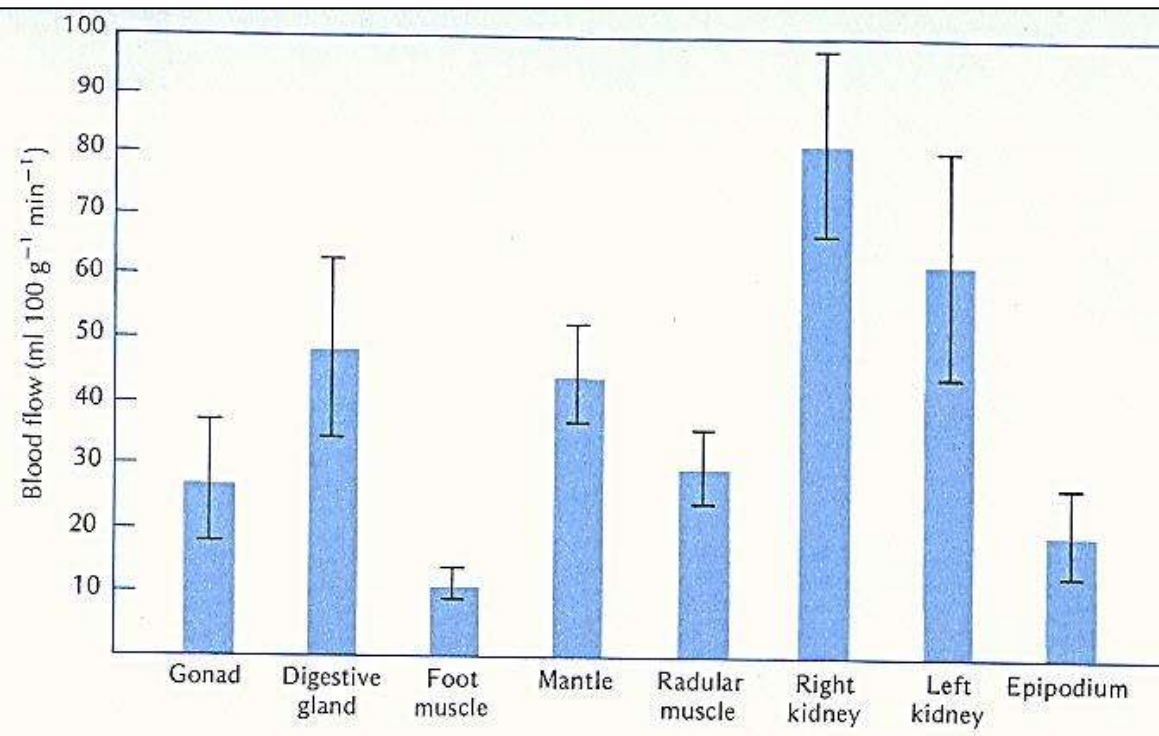
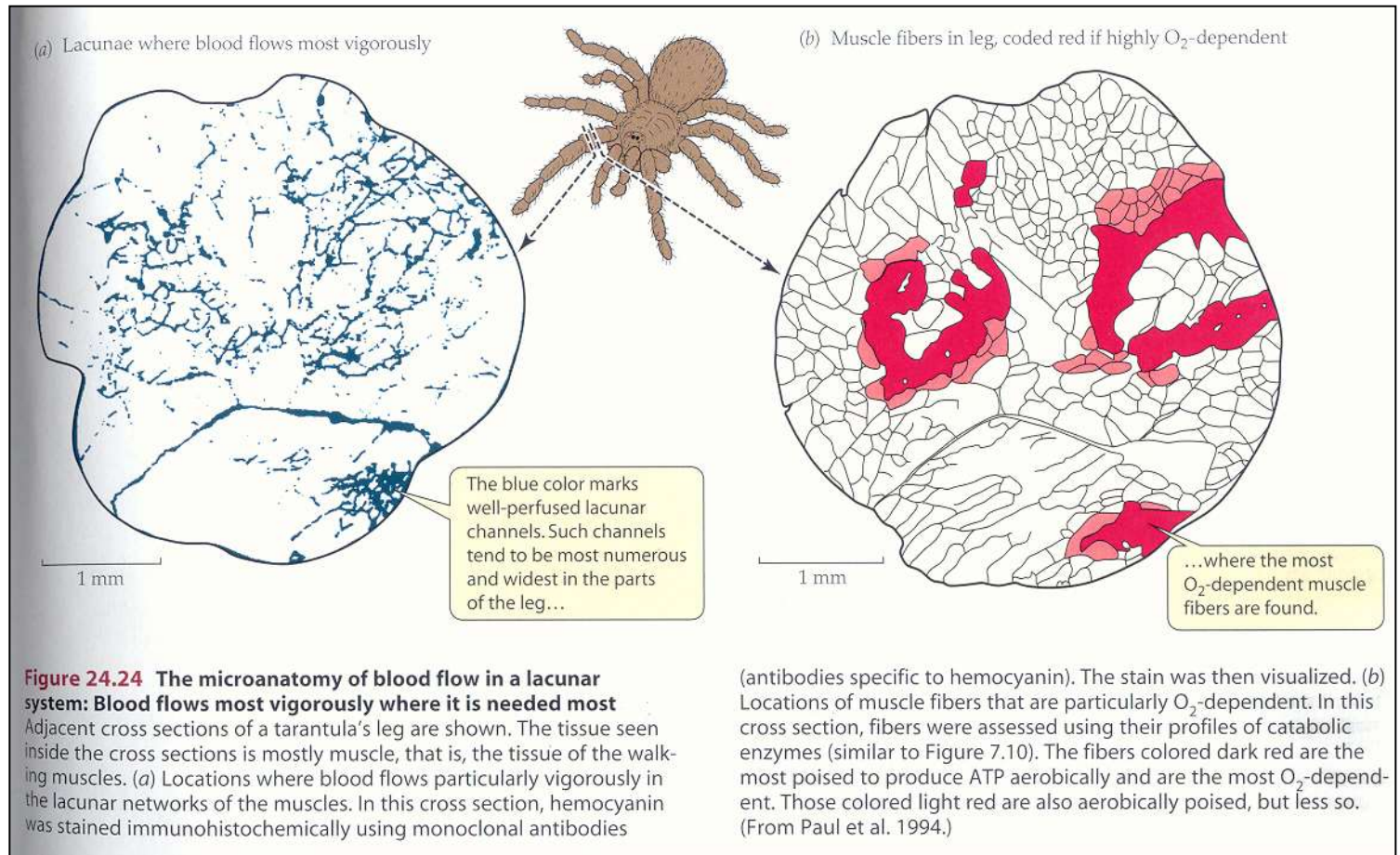


Figure 3.22 Blood flow rates in selected tissues of the black abalone. Vertical bars are ± 1 SE. [Jorgensen et al. 1972]

Různé tkáně dostávají různý průtok - Ušeň černá



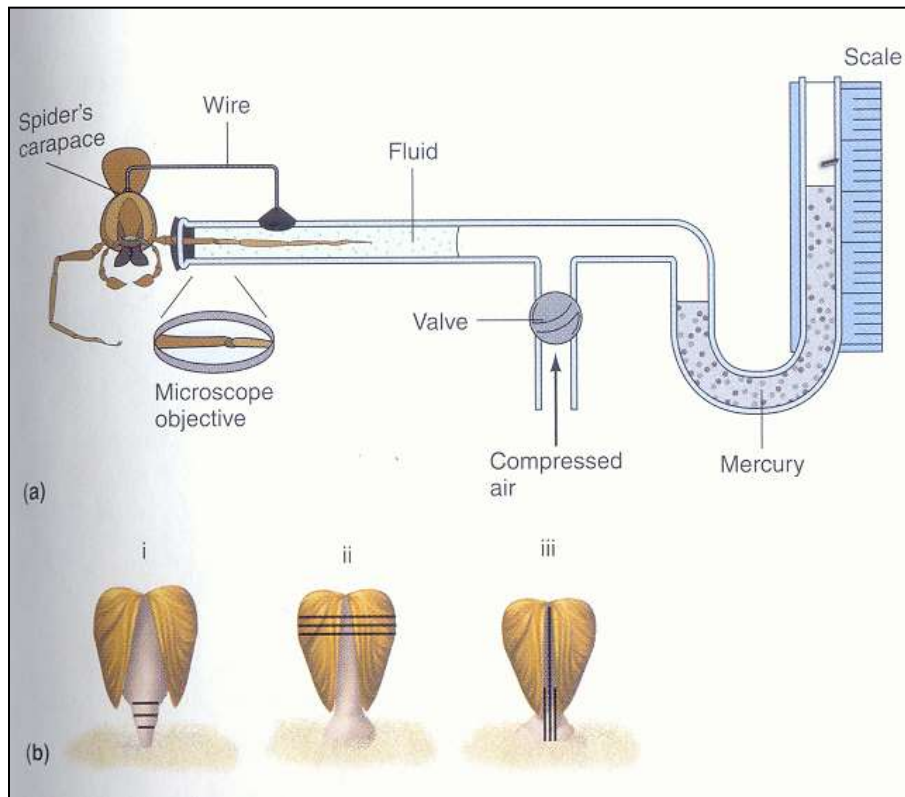
I v otevřených systémech existuje systém lakun vedoucích krev především do míst s největší metabolickou potřebou.



Tlak hemolymfy

U pavouků a štírů je oběh podobný hmyzu, ale může mít větší roli při dýchání. Hemolymfa štírů může obsahovat hemocyanin a obě skupiny mají jasně definované plíce promývané hemolymfou.

U pavouků vedou do nohou samostatné artérie, protože relativně vysoký krevní tlak je důležitý pro lokomoci. Pavoučí nohy nemají extenzorové svaly, takže tlak hemolymfy působí natažení nohou. U skákavek dosahuje tlak hemolymfy impresivních 400 Torrů.



Využití tlaku hemolymfy pro pohyb těla.
Pavouk v klidu 5 Torr, 45 po stimulaci.
Zakotvení mlže
Expanze těla hmyzu



Tlak hemolymfy

U obrovské žížaly *Megascolides australis* (dlouhé až 6m) peristaltické kontrakce hřbetní cévy ženou krev do hlavového konce a plní sérii laterálních srdcí pumpujících krev do cévy břišní. Prvních 13 segmentů těla má mnohem výraznější cirkulaci než zbytek těla, který nemá laterální srdce. Díky hřbetní peristaltice je tlak v hřbetní cévě mnohem výraznější než v břišní.

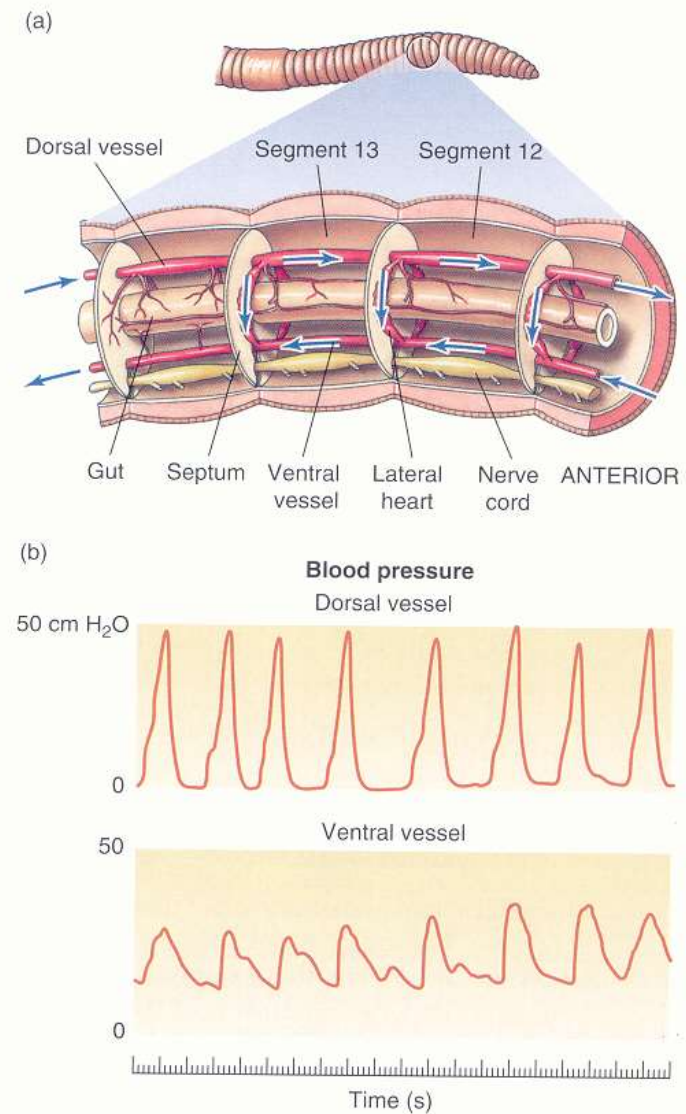
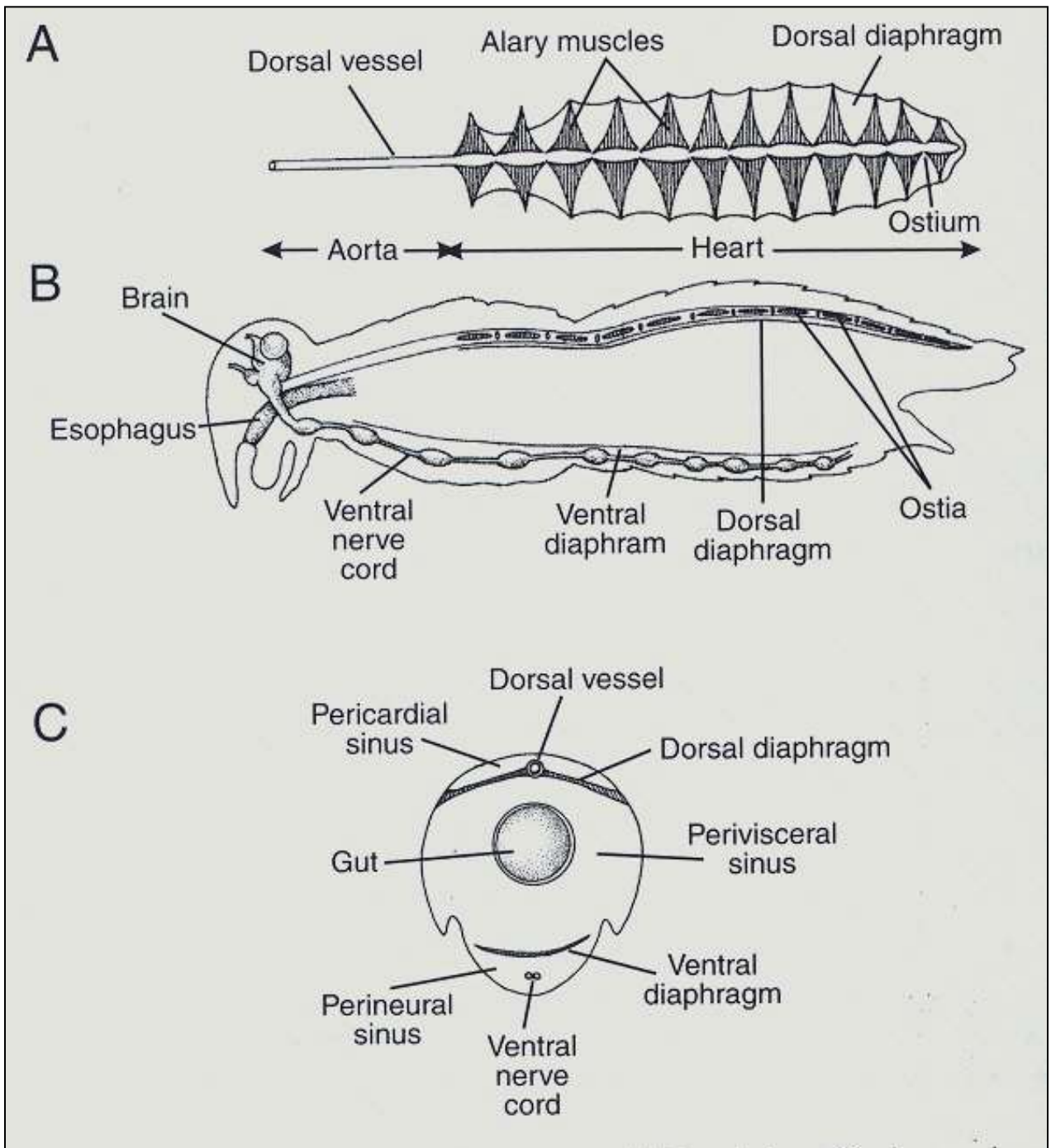


Figure 12-1 In the giant earthworm (*Megascolides australis*), peristaltic contractions of the dorsal vessel and pumping by the lateral hearts are both important in moving blood. (a) Blood flows from the dorsal vessel into the lateral hearts, present in the 13 anterior segments, and then is pumped into the ventral vessel. (b) Peak blood pressure in the dorsal vessel is about twice as high as in the ventral vessel owing to peristaltic contractions. [Adapted from Jones et al., 1994.]

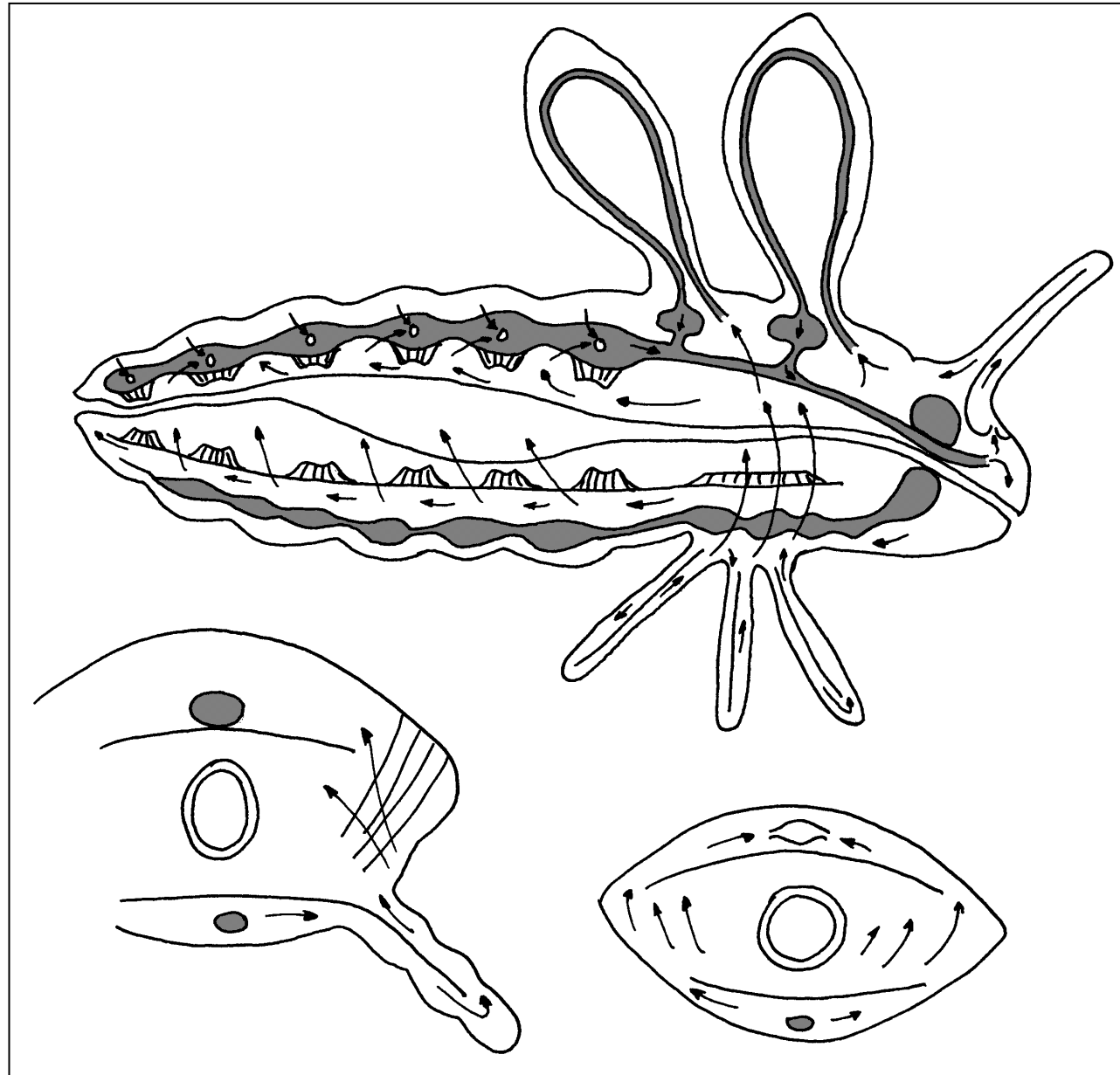
Oběh hmyzu:
Septa (diafragmy),
siny, pomocná srdce.

Problémem otevřené
cévní soustavy je
dostatečné zásobení
slepých výběžků.
K tomu slouží
přídavné pulzatické
orgány. Na bázi
nohou pumpují
hemolymfu z
perineurálního sinu
do perikardiálního.

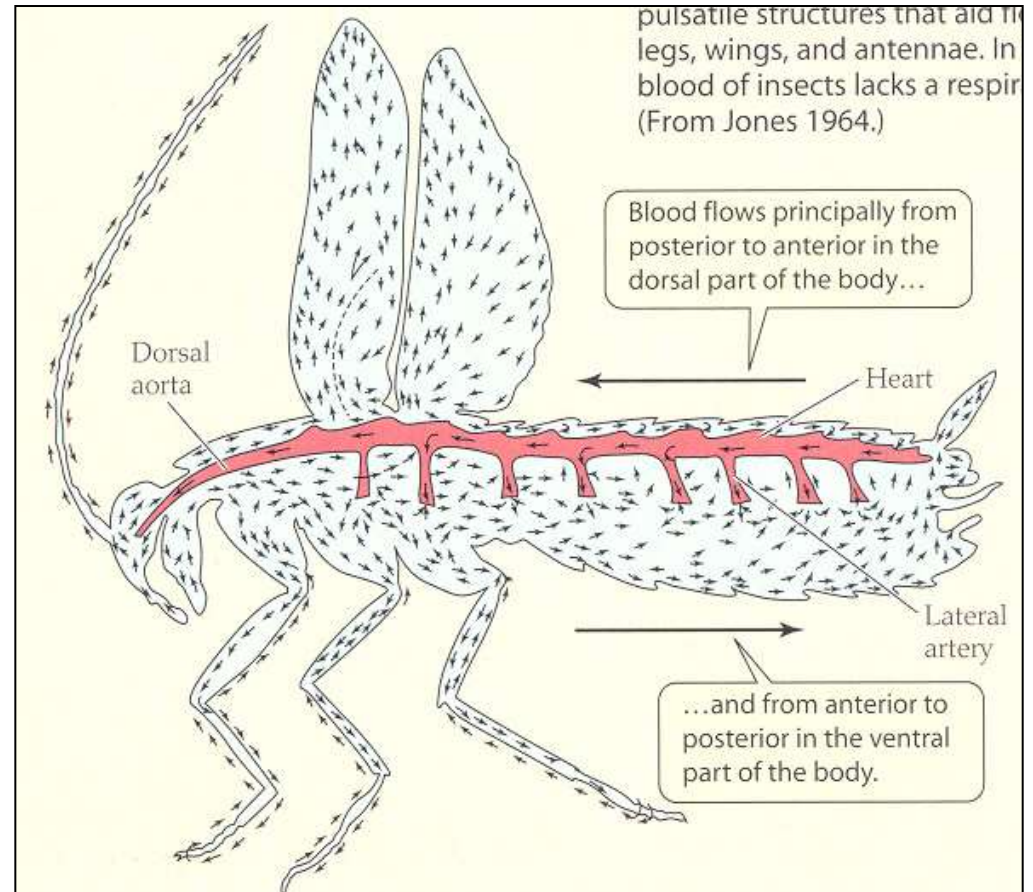
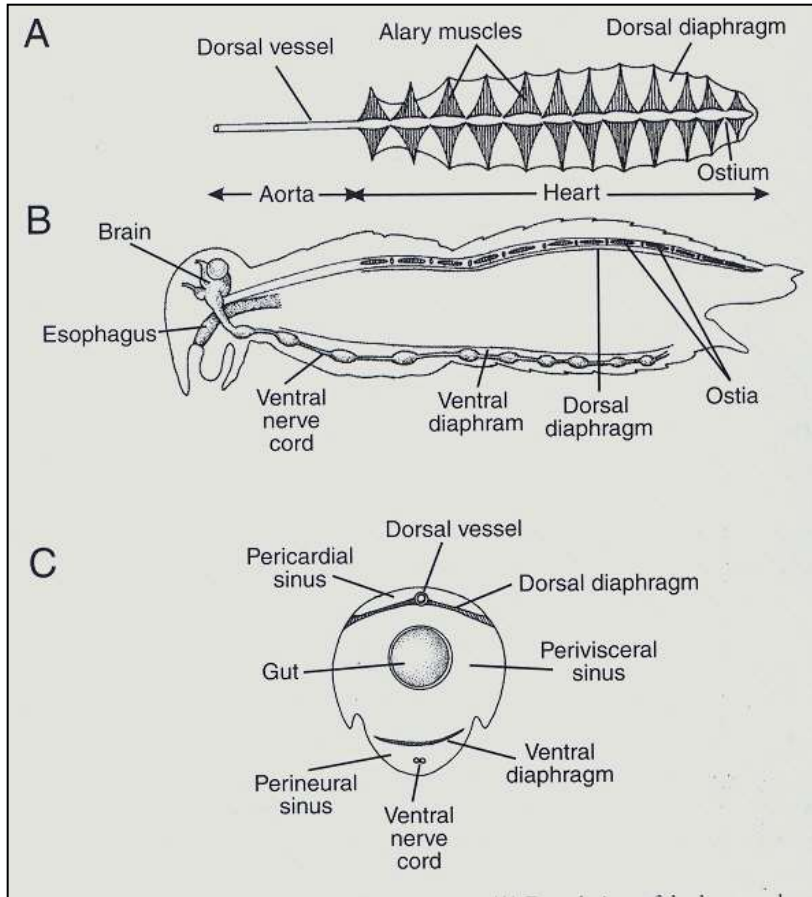


Oběh hmyzu:
septa, siny, pomocná srdce.

Po průchodu kolem mozku nad jícnem (oesophagem) aorta náhle končí a předává hemolymfu do tělní dutiny, přes sinus, který probíhá za mozkem podél eosophagu. Tykadla a končetiny jsou často rozděleny podélnou membránou - septem, přičemž krev přichází do tykadla nebo končetiny na jedné straně a opouští ji na druhé straně septa. Mimoto břišní dutina některých druhů hmyzu je rozdělena dvěma horizontálními septy (dorzálním a ventrálním) na tři části – siny: perikardiální, perineurální (zahrnující břišní nervovou pásku a viscerální).



Hemolymfa proudí ho hlavové části dorzální stranou a vrací se zpět ventrální stranou těla.



Septa vstupují i do končetin, pomocná srdce na bázi nohou pomáhají prokrvit a řízení směru průtoku je řízeno pomocí chlopní.

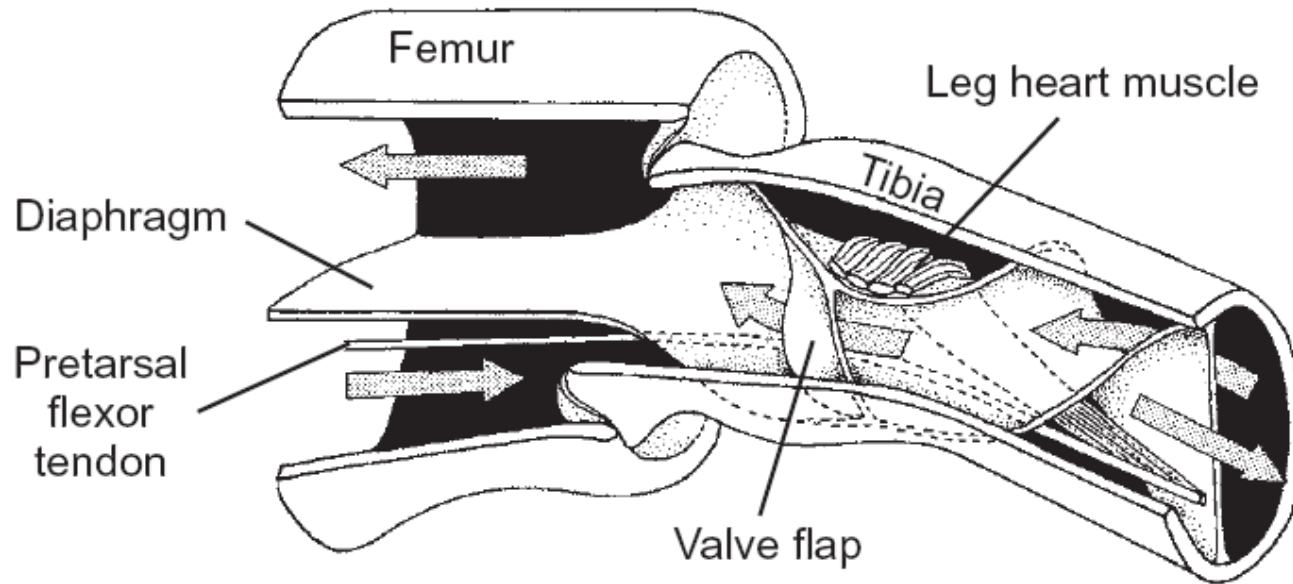


FIGURE 7.5. An accessory pulsatile organ in the insect leg. Arrows show the direction of hemolymph flow. From Hantschk (1991). Reprinted with permission.

Pomocná srdce na bázi tykadel.

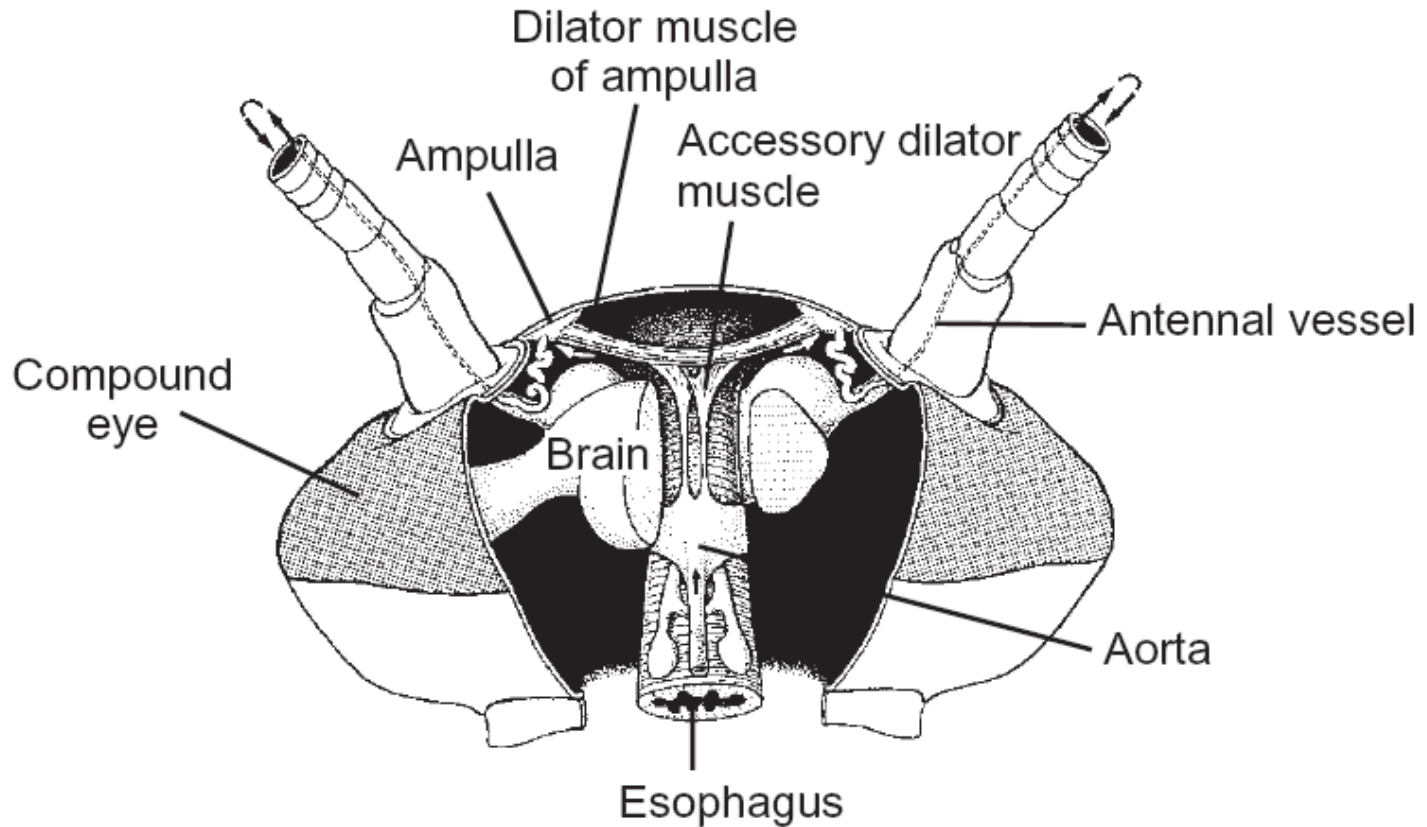
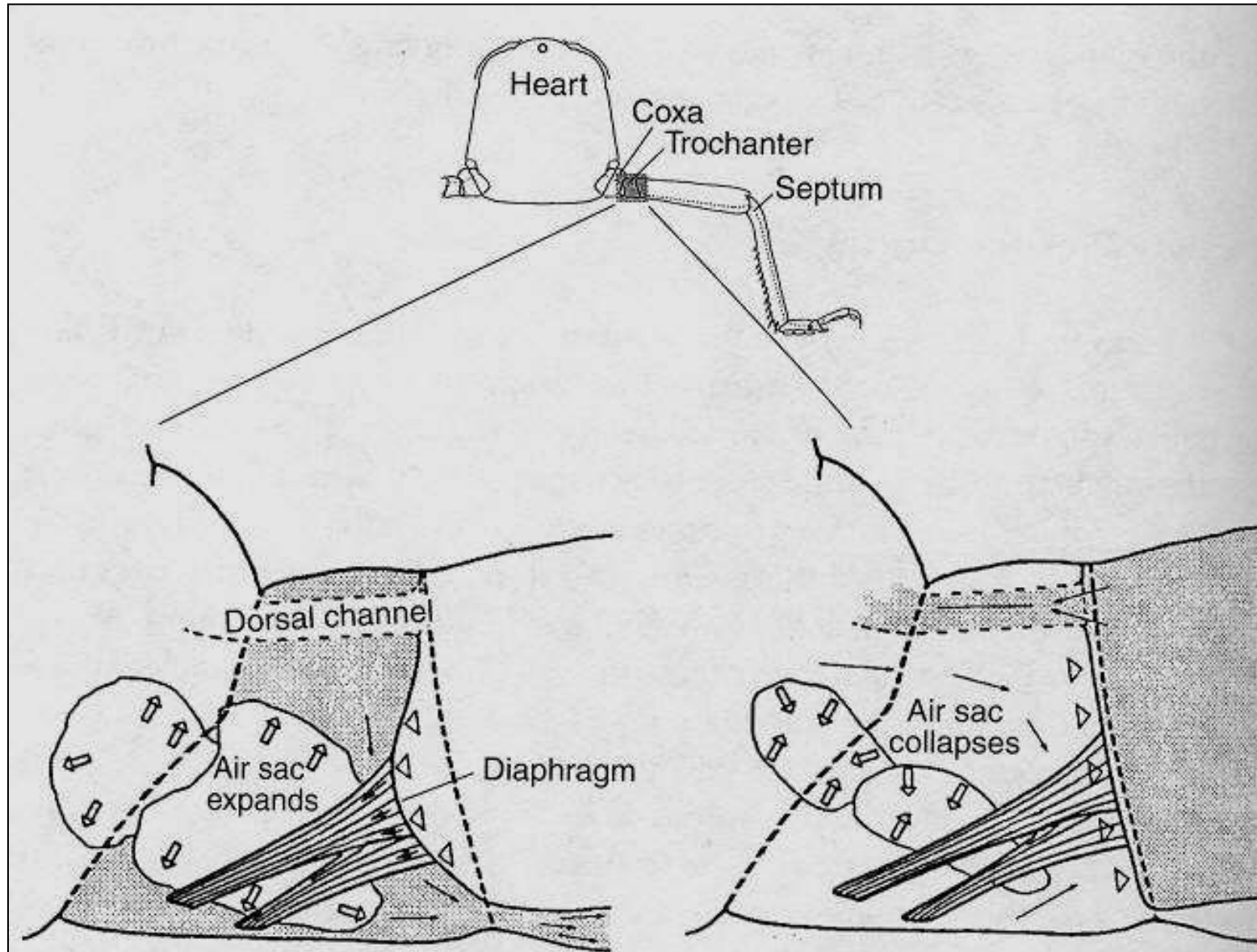
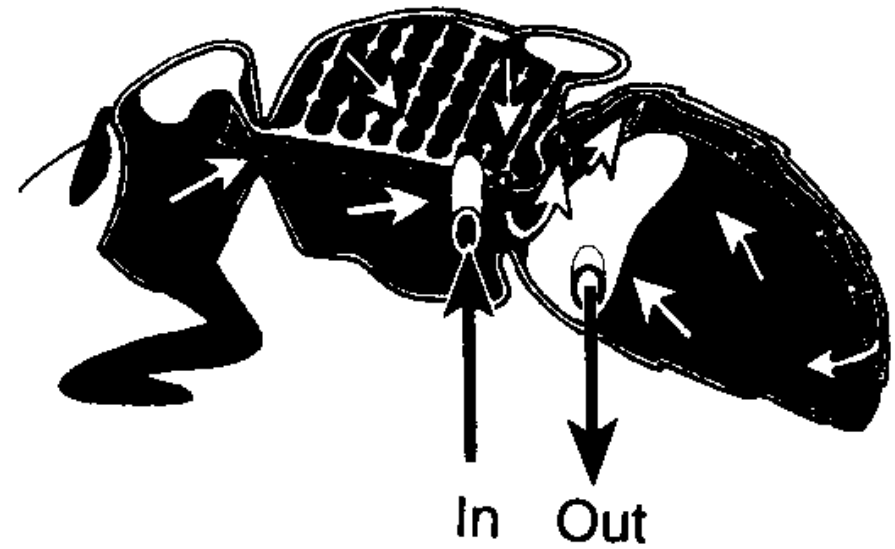
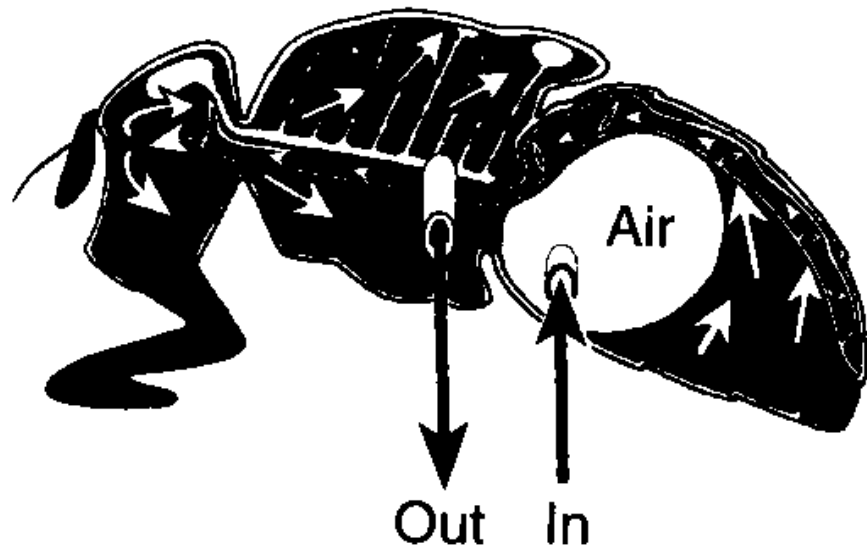


FIGURE 7.8. An ampulla and its dilator muscles that pump hemolymph into the antennae. From Pass (1985). Reprinted with permission.

Vzdušné vaky hmyzu stlačované svaly se podílejí na čerpání hemolymfy a řízení směru průtoku – pomáhají cirkulaci. Přepínají tok mezi dorzálním a ventrálním sinem v končetině hmyzu.





Svaly mohou tlačit na vzdušný vak a ten uvede do pohybu a usměrní tok hemolymfy (Klowden).

Oběh hemolymfy ve výběžcích těla je kromě pulzatických orgánů zajišťován:

1. částečně pohybem jejich vlastní svaloviny

2. částečně změnami tlaku v abdomenu způsobovanými *dýchacími pohyby* (larvy *Aeschna*, jepic), přičemž pulzové vlny v nohách jsou synchronizovány nikoliv s pulzem srdce, nýbrž s dýchacími pohyby

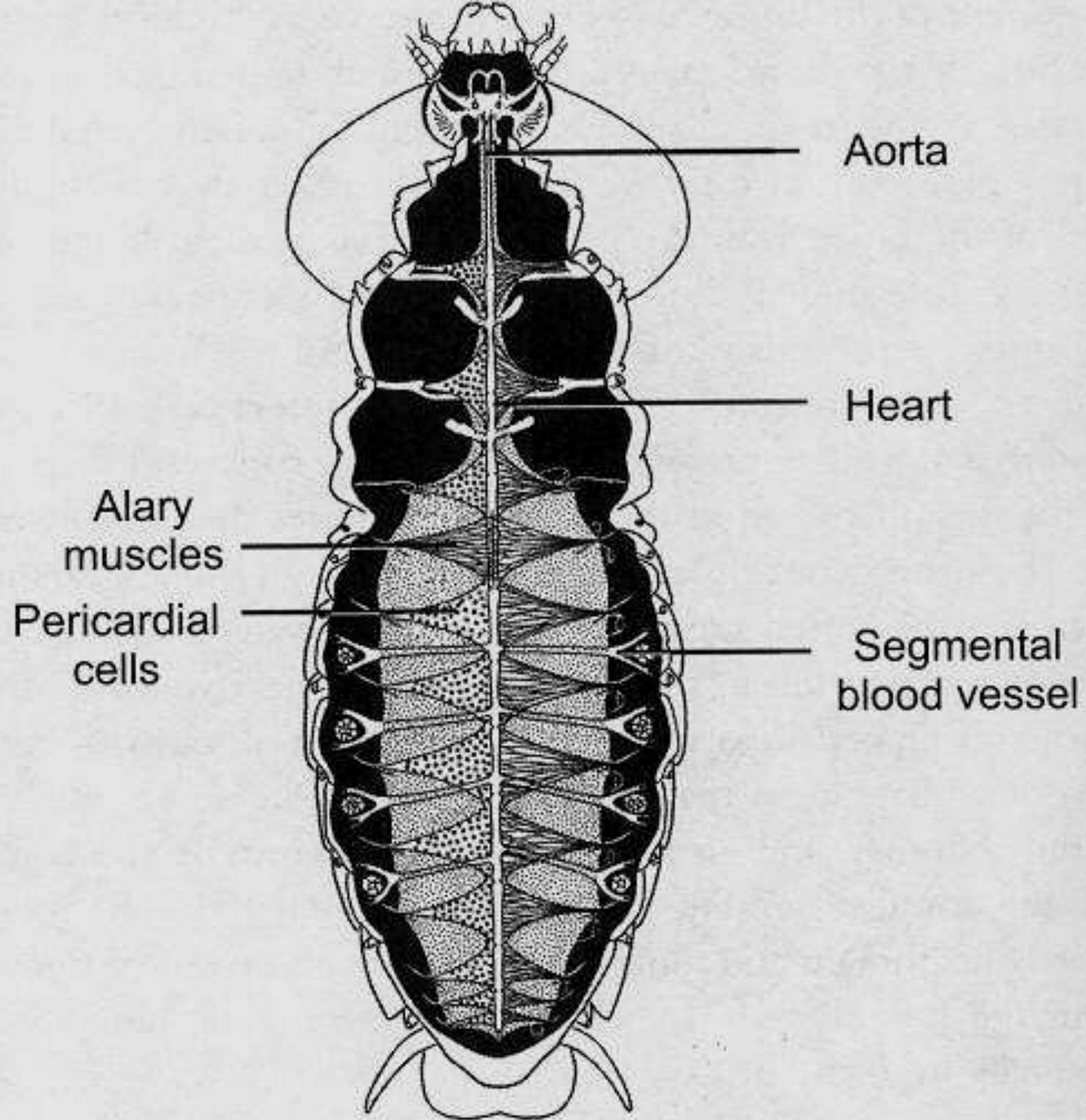
3. částečně tím, že zadní část přepažené nohy (nebo jiného tělního přívěsku) je spojena s perikardiálním sinem v němž je poměrně vysoký tlak, kdežto přední část končetiny je spojena s periviscerálním sinem, kde je tlak nižší. Pohyb hemolymfy v končetině je následkem jak činnosti srdce, tak pulzujících orgánů v thoraxu.

4. U těch druhů, u nichž je *břišní přepážka* (septum) dobře vyvinuta (Orthoptera, Hymenoptera, Lepidoptera), může obsahovat svalová vlákna a *vlnovitými kontrakcemi* aktivně napomáhat při čerpání krve směrem dozadu a do stran.

Křídlaté svaly-
nezbytné pro plnění u
otevřené soustavy bez
pevného perikardu.

V diastole spolu s dor.
diafragmou vytváří
podtlak. Jako u savců, i
u hmyzu se uplatňuje
negativní tlak při
diastole. Krev přitom
vniká do srdce ostiemi.

Stah srdce při systole
je vykonáván srdeční
svalovinou, v srdci
vzniká přetlak a krev je
tlačena dopředu (srdce
bývá vzadu většinou
uzavřené).



Srdce myogenní a neurogenní (Decapoda, pavouci, štíři)

Humr - neurogenní

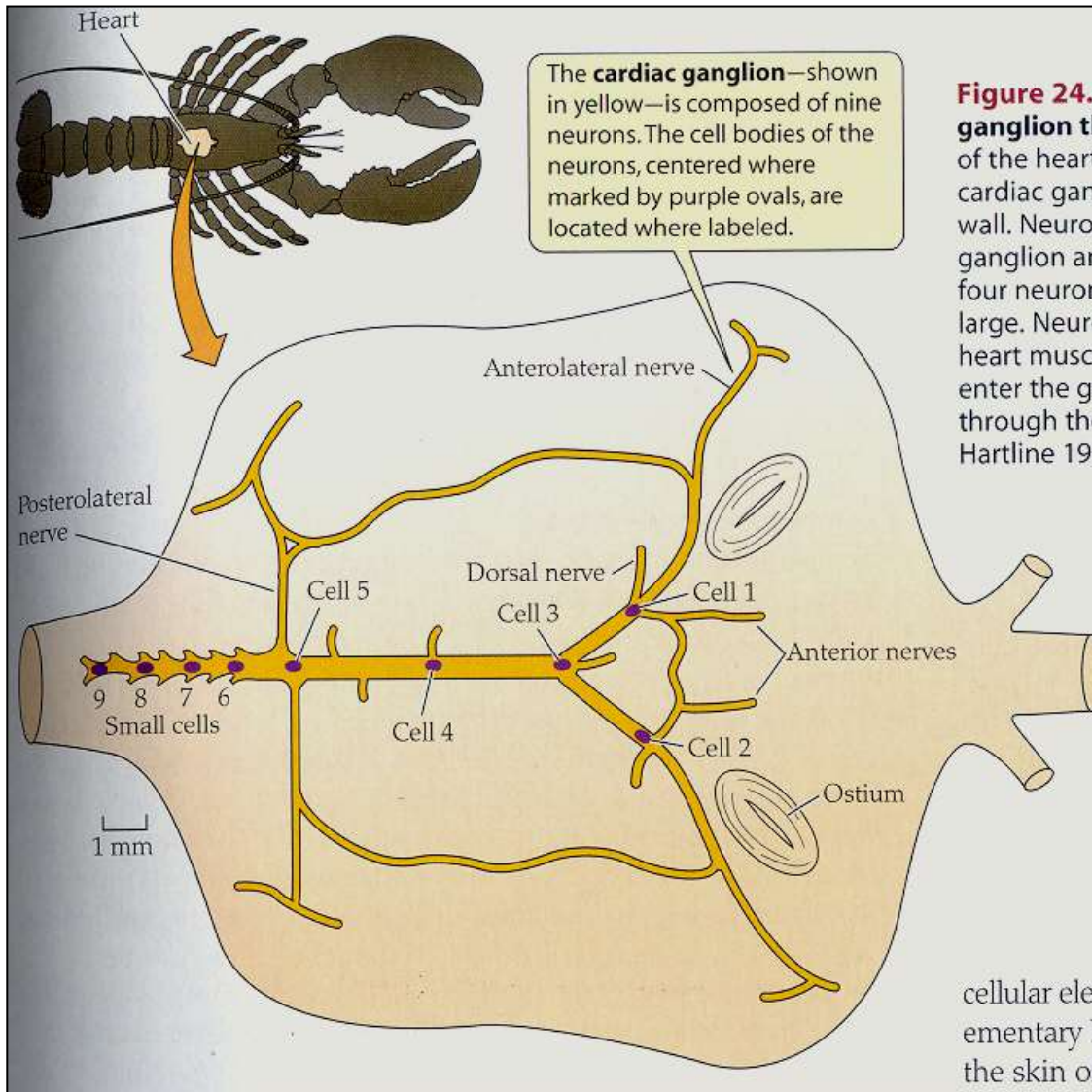
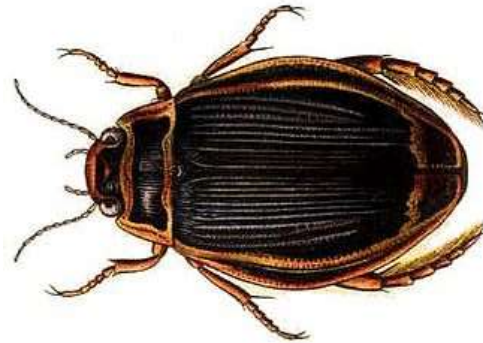


Figure 24.5 The neurogenic heart of a lobster and the cardiac ganglion that initiates and controls its contractions A dorsal view of the heart of the American lobster (*Homarus americanus*), showing the cardiac ganglion, which is positioned on the inside of the dorsal heart wall. Neuronal processes go out from each of the nine cell bodies in the ganglion and together form the structure of the ganglion. The posterior four neurons (numbers 6–9) are small, whereas the anterior five are large. Neuronal processes exit the ganglion to innervate the cells of the heart muscle. Regulatory neurons from the central nervous system enter the ganglion in the dorsal nerve. The ostia (slitlike openings through the heart wall) are discussed later in this chapter. (After Hartline 1967.)

polarization, a difference in electrical potential exists between the extracellular fluids in the depolarized regions of the muscle and those in the polarized regions (**Figure 24.6a**). A voltage difference of this sort within the heart muscle sets up ionic currents in the tissues and body fluids surrounding the heart. In this way, the voltage difference within the heart induces voltage differences elsewhere in the body, even between various parts of the external body surface. **Electrocardiograms (ECGs, EKGs)** are measurements over time of voltage differences of this sort. They are recorded using extracellular electrodes, usually placed on the body surface. To record the elementary ECG⁶ of a person, a physician or nurse places electrodes on the skin of the person's two arms and left leg. The electrodes detect

Srdce švába je spojeno vpředu dvěma laterálními nervy obsahujícími srdeční uzlinu s ganglii **viscerální** nervové soustavy. Mimoto je srdce spojeno senzitivními a motorickými vlákny se **segmentální uzlinou** břišní nervové pásky. Přesto, že činnost srdce je ovlivňována nervově i hormonálně, je schopnost rytmických kontrakcí vázána na srdeční svalovinu. Srdeční tep švába je tedy myogenický.

U řady druhů hmyzu (larvy vážek *Aeschna*, *Anax*) není srdce ve spojení s žádnými nervovými buňkami nebo ganglii a přece může i zcela izolované srdce nebo jen jeho fragment pokračovat v rytmické činnosti. Tato rytmická činnost je do značné míry ovlivněna elastickým pnutím perikardiálních svalů, nebo dokonce tahem podmíněným jejich kontrakcí. Tak např. srdce potápníka *Dytiscus* tepe 30 - 70 krát za minutu, kdežto po přetěžení perikardiálních svalů klesá frekvence tepů na 15 za min.



Acetylcholin působí zrychlení činnosti. **Adrenalin** ale vyvolává také zrychlení. Po nakrmení švába *Periplaneta americana* je stimulována činnost corpora cardiaca a dalších neurohemálních org. i v blízkosti aorty, které uvolňují **cardioactive peptides**. Ty zvyšují frekvenci a intenzitu srdečního tepu. Také při rozepínání křídel, letu.

Frekvence tepů hřbetní cévy značně kolísá z mnoha důvodů. Je nižší např. u méně aktivních vývojových stadií, jakým je kukla: u housenek *Sphinx ligustri* je frekvence 40-45 tepů za min., kdežto u kukly klesne na 20-10 za min. Působením zvýšené teploty se zvyšuje i frekvence tepů. Zvyšuje se také vlivem pohybové aktivity: u imága *Sphinx ligustri* je frekvence tepů v klidu 40-50 za min, během letu se zvýší na 110-140 za min. K podobnému kolísání tepu dochází u pomocných pulzujících orgánů.



Složení hemolymfy hmyzu

Hemolymfa hmyzu bývá zelenavá nebo žlutavá, někdy i bezbarvá tekutina. Hustota se pohybuje okolo 1.03. Reakce bývá slabě kyselá (pH=6.4-6.8), může se ovšem měnit během vývoje.

Pufrovací schopnost hemolymfy je dána přítomností bikarbonátů, fosfátů, aminokyselin a bílkovin. Celková **molární koncentrace** je dosti **vysoká**. Vyjádřeno koncentrací izotonického roztoku NaCl, obdržíme místo 0.9% (hodnota obvyklá u savců) 1.5-2.1%.

Iontové složení velmi různé, závislé na potravě. **Poměr Na/K může** u různých druhů značně kolísat. U četných druhů hmyzu je koncentrace K v hemolymfě tak vysoká, že může teoreticky zabránit přenosu vzruchů nervovou membránou. Není však narušena proto, že buňky perineuria (uložené pod vláknitým obalem, který pokrývá nervový systém) udržují kolem axonů tkáňovou tekutinu s velmi nízkým obsahem K. Jinou zvláštností u hmyzu je vysoký obsah aminokyselin (20-30krát vyšší než u savců a člověka). Prolin pro let, Tyrozin pro sklerotizaci, glutamát jako neurotransmitter.

Obsah **bílkovin** v hemolymfě může být buď **podobný** jako v plazmě savců (kolem 6%) nebo bývá obvykle nižší. Vitelogeniny, enzymy, transportní lipoforiny, imunitní b., hemoglobin, termálně histerezní, zásobní (u housenky i pro další stádia, která už nežerou)

Sacharidy: musejí být ve **větších koncentracích** díky horší cirkulaci. Hlavně (až 5%) trehalóza, t.j. neredukující a nekvasitelný disacharid, štěpený trehalázou na 2 molekuly glukózy. Glc je v potravě běžná a nízká koncentrace v hemolymfě usnadňuje její **transport ze střeva**. Užití trehalozy umožňuje udržet vysoké koncentrace krevního cukru a neohrožit difuzi ze střeva.

Pouze u některých druhů hmyzu je hlavním cukrem v hemolymfě glukóza (např. včela)

Cytologie, hemocyty.

V hemolymfě hmyzu nebo přisedlé ke tkáním **hemocyty**, tvarově velmi proměnlivé.

Počet hemocytů se zvětšuje během **metamorfózy**, kdy odstraňují produkty histolýzy. Při **poranění** se hemocyty hromadí na okrajích rány, zabraňují vytékání hemolymfy a účastní se na hojení rány. **Pohlcují bakterie** vniklé do těla, obklopují cizorodá tělíska i parazity a uzavírají je do váčků (kapsulí). Při tom buňky často splynou v membránu, z níž vymizí buněčná jádra. Plazmatocyty často obsahují mukopolysacharidy, které se z nich uvolňují v období svlékání, jakmile buňky přilnou k povrchu tkáně.

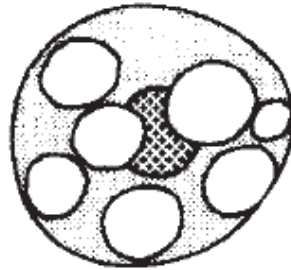
Prohemocyte



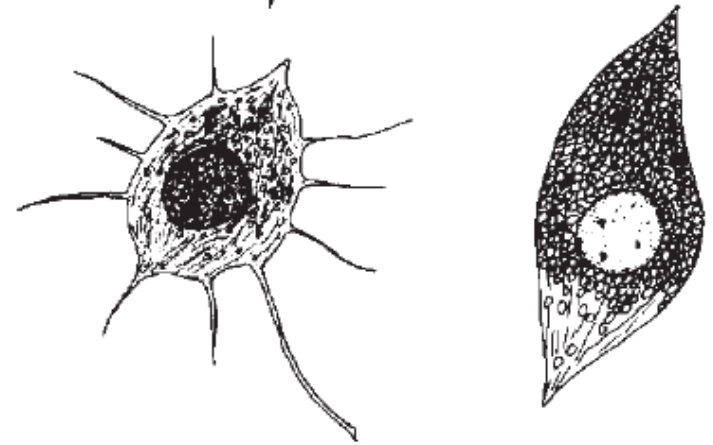
Plasmatocytes



Adipohemocyte



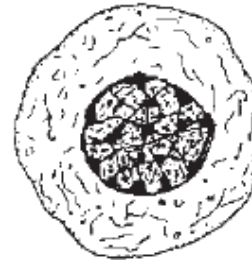
Granulocyte



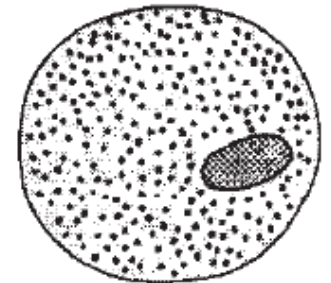
Spherule cell



Coagulocyte



Oenocytoid



Imunitní reakce bezobratlých.

Všechny organismy mají jistou vrozenou všeobecnou imunitu kombinující různé mechanismy jako je **fagocytóza** krevních nebo tkáňových buněk, destrukce pomocí **enzymů** nebo kyselými sekrety žaludku, **enkapsulace**, kožní nebo kutikulová **bariéra**, nebo přítomnost **látek v krvi** (komplement, protilátky), které napadají a likvidují cizí materiály.

Všichni živočichové mají jistou formu vnitřní dutiny vyplněné tekutinou. V té nalézáme cestující **amoebocyty**. Hlídkují a vyhledávají cizí vetřelce, zvláště ty, označené opsoniny. Získaná, vysoce specifická imunitní odpověď je vlastní obratlovcům. Ale náznaky změny reakce existují i u bezobratlých – možná se bude muset revidovat.

Rozeznání vlastního od cizího má dávné kořeny. Protozoa jsou schopni rozeznat a odvrhnout cizí, transplantované jádro. **Houby** tvoří kolonie agregovaných jedinců se schopností odvrhovat jedince transplantované z cizí kolonie ale přijmout jedince z kolonie vlastní. Totéž platí pro **láčkovce** (např. sasanky). Dokonce opakované odmítnutí cizího štěpu, transplantátu proběhne rychleji než při prvním setkání – existuje zde paměťová komponenta odvržení.

Imunitní reakce bezobratlých.

Kroužkovci mají v hemolymfě baktericidní substance a amoebocyty schopné fagocytózy. Není tu však imunizace – následná odpověď je stejná jako první. Podobně jako jiní bezobratlí, reagují na invazi parazitů **enkapsulací**. Například hlísti (stejně jako inertní materiál) jsou obklopeni amoebocyty a pak enkapsulováni a obaleni vláknitým obalem, který může později kalcifikovat.

Měkkýši obecně postrádají silnou adaptivní odpověď na cizí částice nebo bakteriální invazi. Může to být volbou jiného obranného systému – totiž **slizového obalu** nepropouštějícího bakterie – na podráždění se jeho sekrece zvyšuje. Jinak ale platí, že jejich krev obsahuje řadu hemocytů – amoebocytů, granulocytů a hyalinocytů schopných fagocytózy, dále aglutinujících proteinů.

Buněčná i látková odpověď, nespecifická.

Pattern RP
Opsonizující P
Proteolytická kaskáda
Hemocyty, epidermis
a t. těleso

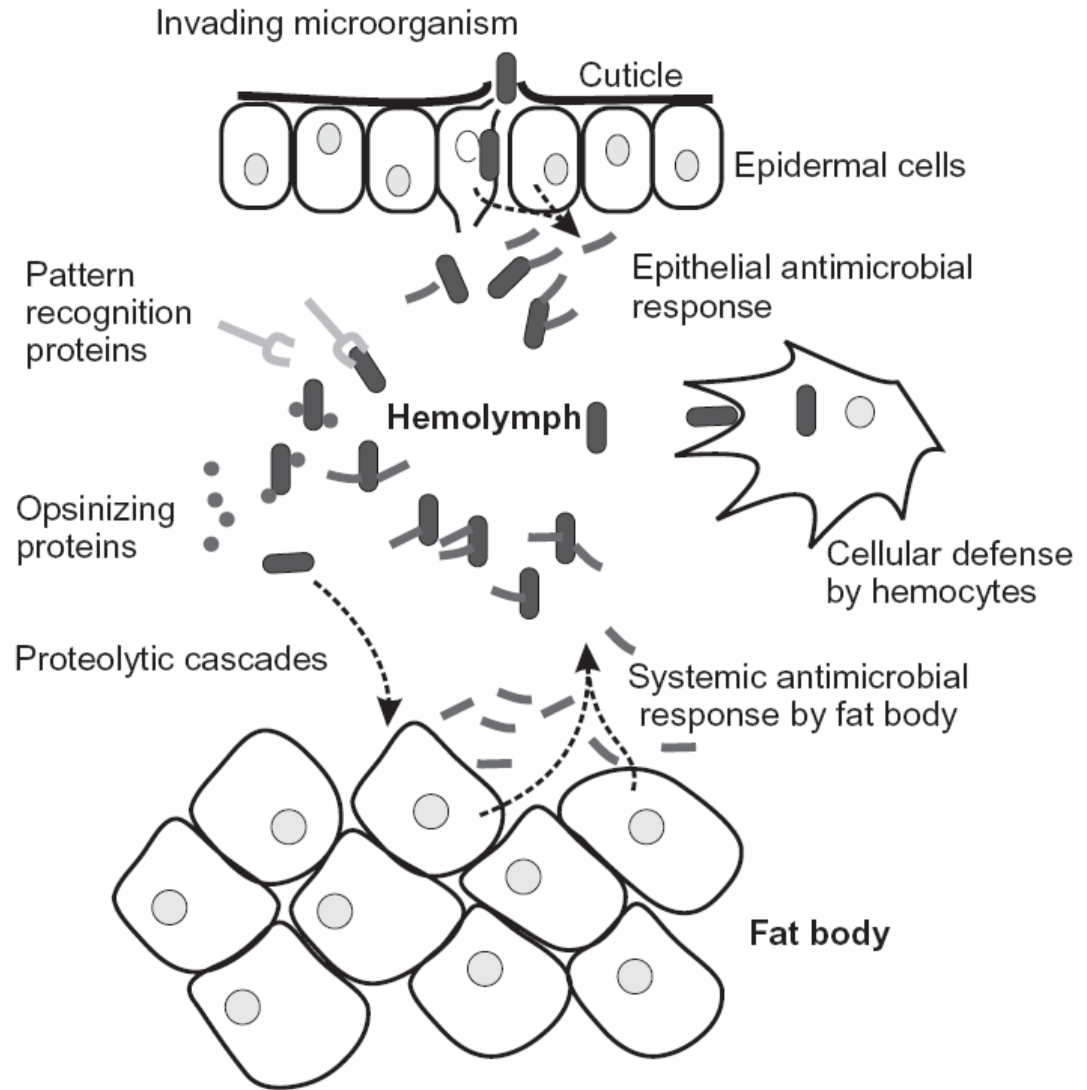


FIGURE 7.17. Possible mechanisms of response to invading parasites by epidermal cells, hemocytes, and fat body. Epidermal cells produce antimicrobial compounds, and pattern recognition and opsinizing proteins target invaders for attack by hemocytes. Fat body cells can also mount a systemic antimicrobial response.

Rozeznání vlastního a cizího je zajišťováno specifickými **pattern recognition receptors** (proteins – PRP). U savců jsou to např. Toll-like receptors. Dostaly jméno podle Toll receptorů objevených u *Drosophily*, kde se podílejí na rozeznávání povrchových značek jak při imunitě tak ve vývoji.

PRP hmyzu cirkulují rozpuštěné v hemolymfě a vážou se na bakterie. Po této aktivaci se vážou na Toll receptory imunitních buněk a zapínají v nich geny pro produkci efektorových proteinů jako je např. drosomycin.

Amébocyty (hemocyty) participují na inflammation-like odpovědi na zranění nebo infekci: jsou lákány chemotaxí do místa zranění, kde fagocytují invadující patogeny. U některých bezobratlých produkují **reaktivní oxidové radikály** zabíjející mikroby - stejně jako u savců. Podílejí se na **enkapsulaci** a produkci **antimikrobiálních peptidů**.

Pouze čelistnatí obratlovci jsou majiteli protilátek adaptivní imunity, většina ostatních má také vrozené proteiny s příbuznou rolí: opsonizovat – označit patogeny pro fagocytózu. Společným typem jsou tzv. **lektiny** vážící se na glykoproteiny cizích buněčných povrchů. To vede i ke shlukování patogenů. Také existují opsonizující proteiny patřící do rodiny Ig. Mohou to být předchůdci Ig. Příkladem je **hemolin** známý od nočních motýlů.

I u bezobratlých spolu imunitní buňky komunikují látkami podobnými **interleukinům**. Tyto cytokiny vedou k lákání fagocytů k místu infekce. Jde tedy nejspíše o starobylou funkci.

Imunitní reakce bezobratlých.

TABLE 15-10

Summary of the development of immunity in animals. (Modified from Stites, Caldwell, and Pavia 1980.)

	Graft Rejection	Immunologic Specificity of Graft Rejection	Immunologic Memory	Phagocytosis	Encapsulation	Non-specific Humoral Factors	Phagocytic Ameboid Coelomocytes	Leukocyte Differentiation	Antibodies
Protozoans	Yes	No	No	Yes	No	No	No	No	No
Poriferans	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No	No
Cnidarians	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No	No
Annelids	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Probable	No
Mollusks	Yes	?	?	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No
Arthropods	Yes	?	?	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No
Echinoderms	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Tunicates	Yes	Probable	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Vertebrates	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes

Pro bezobratlé typické: **nodulace a enkapsulace.**

Vetřelec, který je příliš velký na fagocytování, je uvězněn. U některých druhů hmyzu je používána proti parazitickým červům, houbám, vajíčkům od parazitických vosiček atd.

Povrchové proteiny na vetřelci spustí kaskádu enzymatických reakcí, které vedou k aktivaci pro-fenoloxidázy na aktivní formu. Uvolňuje se při prasknutí hemocytů.

Další faktory lákají další hemocyty. Hemocyty obklopí v několika vrstvách patogen nebo porušenou kutikulu a dojde k vytvrzení a uzavření nepropustné schránky.



Figure 10: Nodule formation in fatbody and trachea of *B.mori*. Magnification 60X

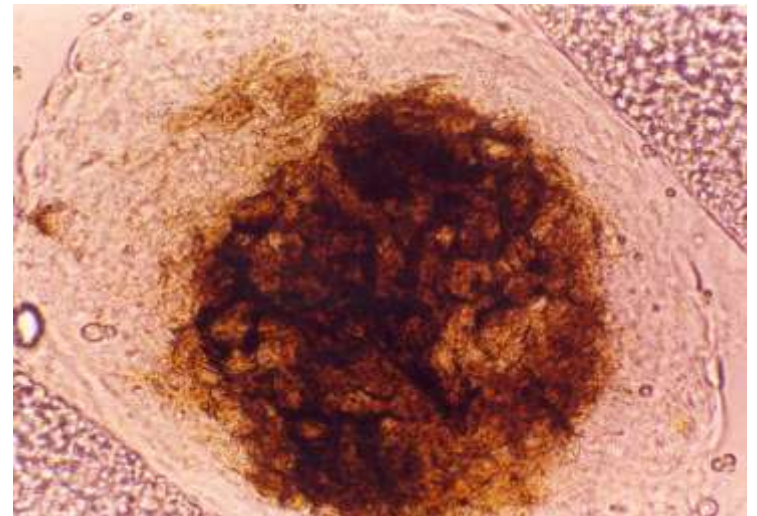


Figure 11: Mature dark melanized nodule of *B.mori* as observed under phase contrast microscope at 600X magnification

Enkapsulace a nodulace.
Fenoloxidázová kaskáda.

Vytvoří melanizovaný, toxický a nepropustný obal pro mikroorganismy podobný kutikule.

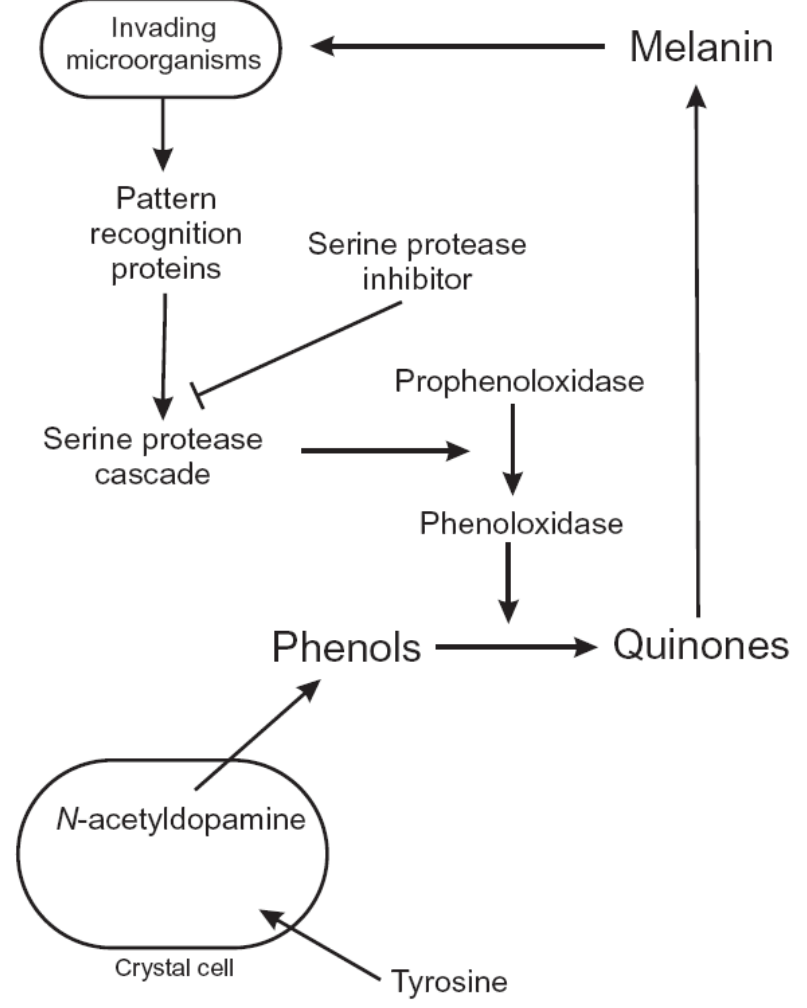
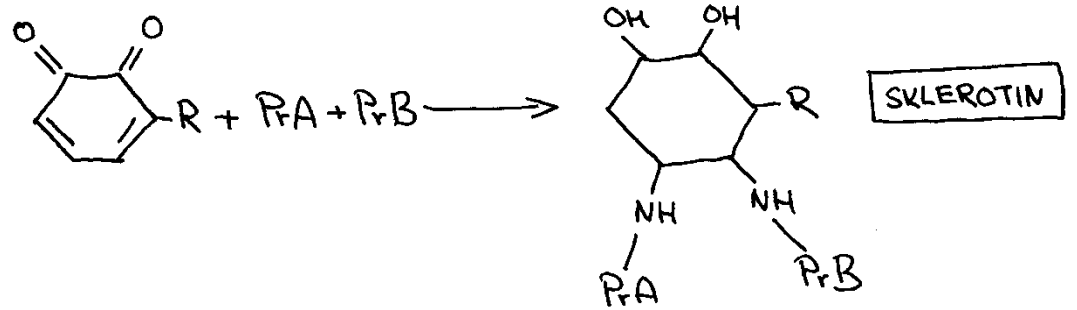


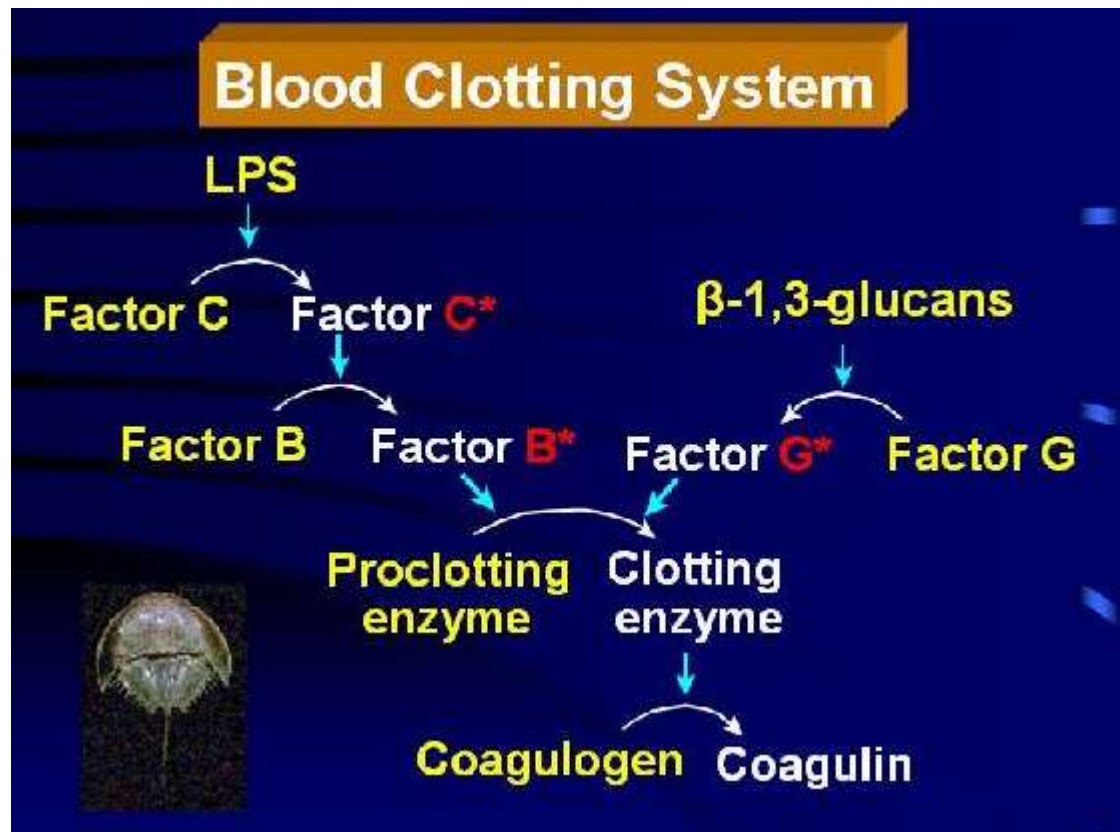
FIGURE 7.18. Mechanism of humoral encapsulation by the deposition of melanin on foreign invaders. The serine protease inhibitor restricts phenoloxidase activity to the site of the infection.



Zástavě krvácení napomáhá stažení svalů v okolí rány a aktivace tvorby zátky, která melanizací vytvrdne.

Jsou zapojeny jiné proteiny než u obratlovců, protože heparin je bez účinku a jiné spouštěcí mechanismy nutné pro otevřený cirkulační systém.

Figure 16: *Blood clotting system (horseshoe crab)*
Horseshoe crab blood clotting system can be activated by bacterial LPS or fugal beta-1,3-glucans. Binding of LPS to Factor C auto activates Factor C, which then triggers the serine proteinase cascade, leading to activation of proclotting enzyme. Clotting enzyme cleaves coagulogen to form gel-like materials coagulin. Another pathway of this system is activated by beta-1,3-glucans, in which binding of glucans to Factor G auto activates Factor G.



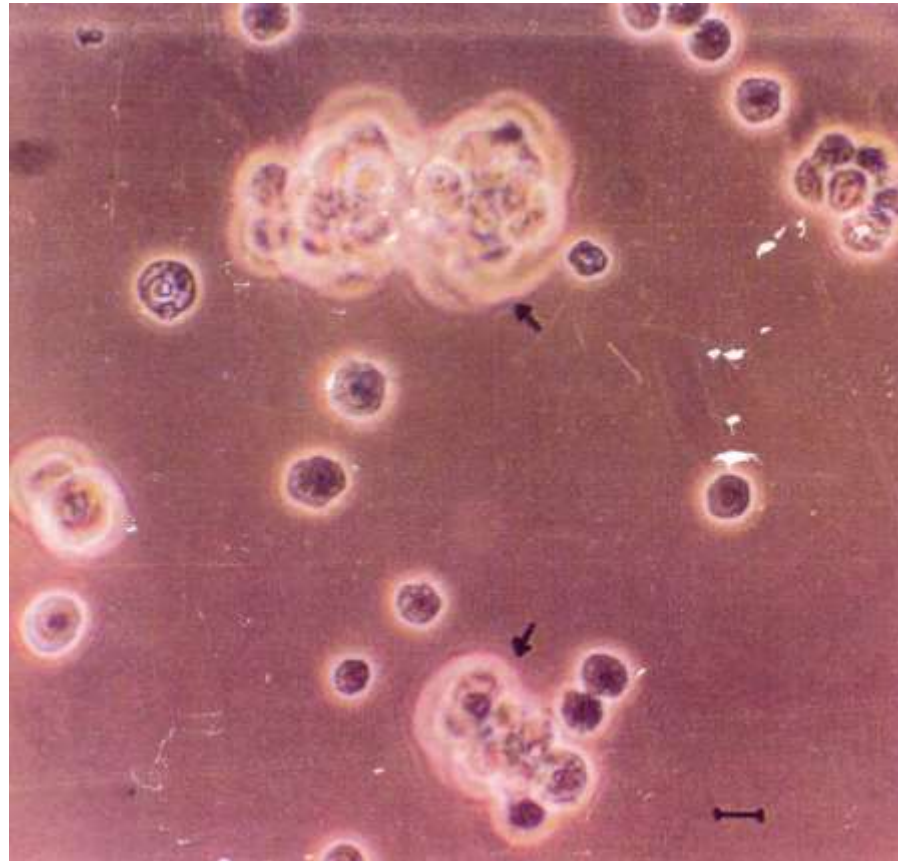
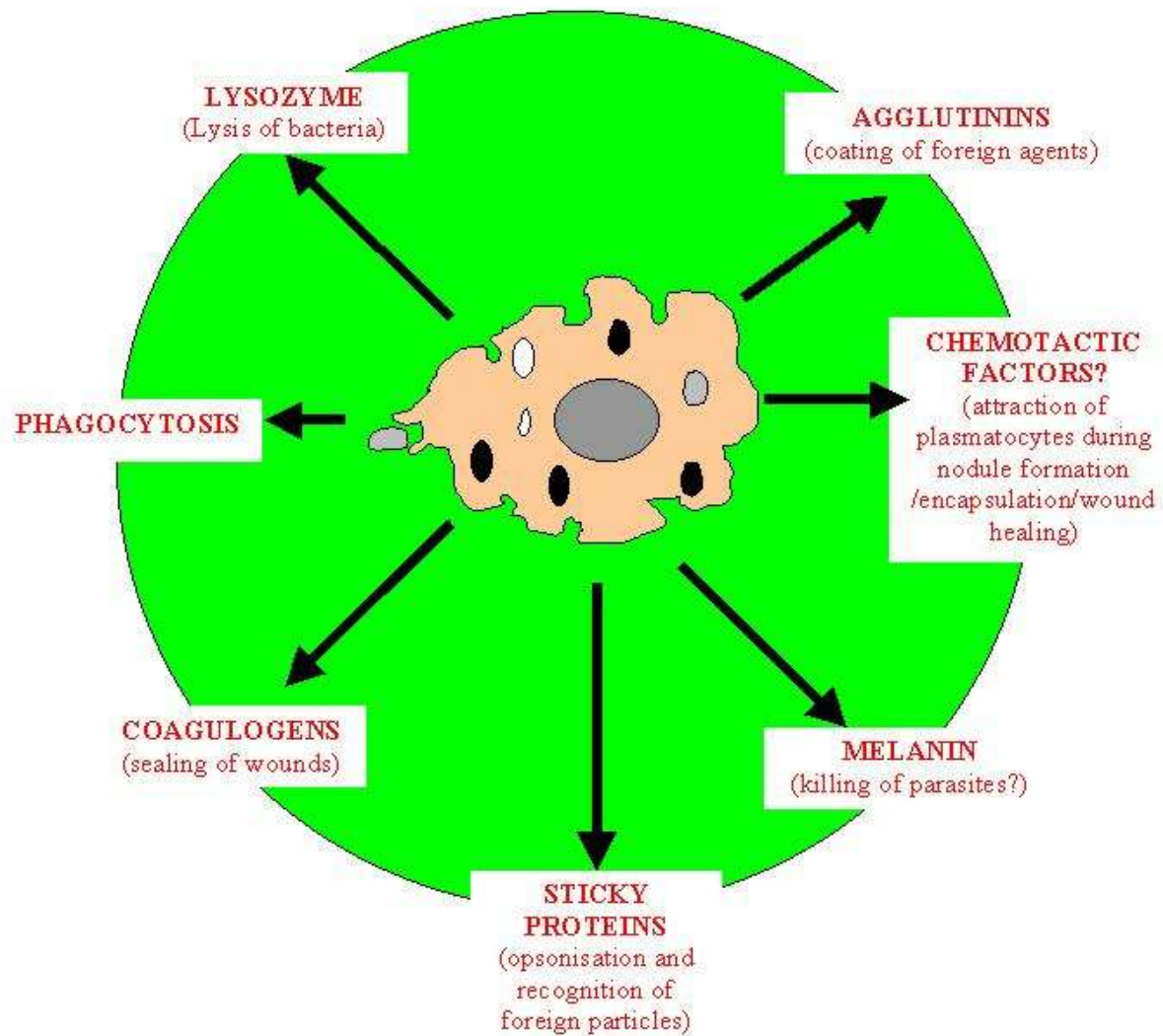


Figure 14: Encapsulation of bacteria as evidenced by clumped mass of bacteria and degenerated cells of *B.mori*. Bar = 10 μm

Figure 5: Diagram of an insect granular cell emphasizing its multifunctional role.



Nodule formation

- **During nodule formation insect hemocytes aggregate to entrap bacteria. Nodules can attach to tissues or may be encapsulated.**
- **An insect lectin scolexin was found to be involved in nodule formation in *Manduca sexta*. Scolexin is produced by epidermal and midgut cells upon wounding or bacterial infection.**
- **In the medfly (*Ceratitis capitata*), a protein with molecular mass of 47 kDa is secreted by hemocytes after LPS stimulation and aggregates *E.coli* cells by the presence of tyrosine and tyrosinase.**

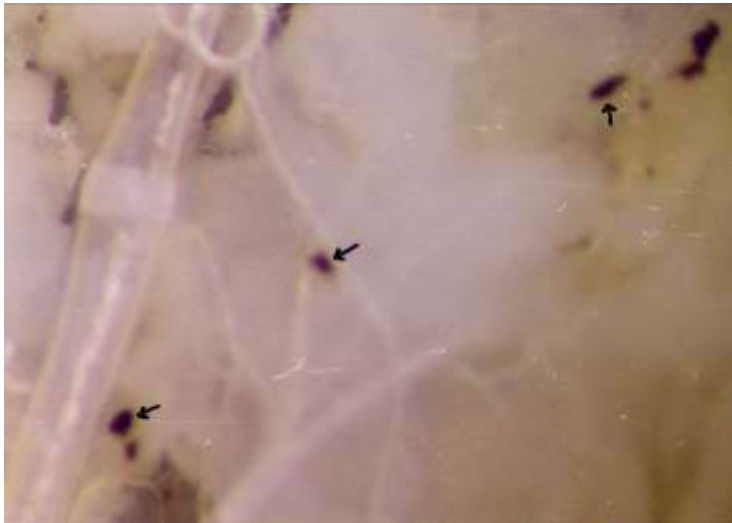


Figure 10: Nodule formation in fatbody and trachea of *B.mori*. Magnification 60X

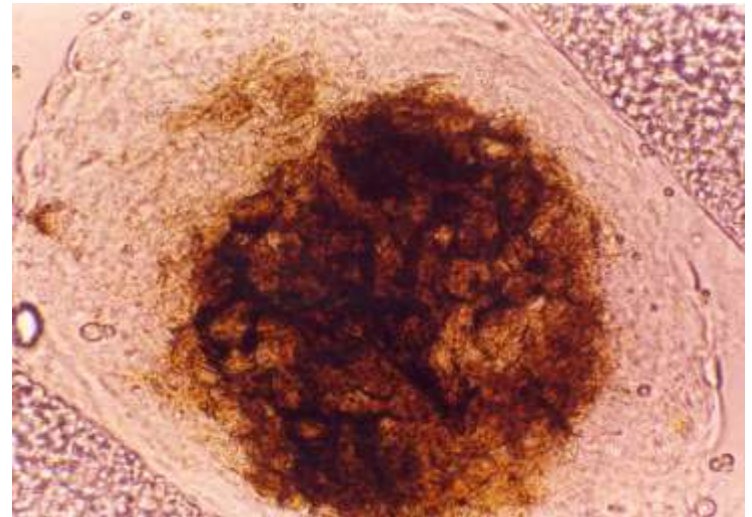


Figure 11: Mature dark melanized nodule of *B.mori* as observed under phase contrast microscope at 600X magnification

The Humoral Reactions

Melanisation

- The formation of the black pigment, melanin is catalysed by the enzyme phenoloxidase, which is converted to its active form by a serine protease cascade.
- The inactive proenzyme, prophenoloxidase is synthesized in the hemocytes and after releasing by cell rupture it is either actively transported to the cuticle or deposited around wounds and encapsulated parasites.
- Prophenoloxidase has been purified and subsequently characterized from the hemolymph of a range of insect species.
- The insect prophenoloxidase enzyme contains a sequence with similarity to the thiol-ester region of the vertebrate complement component proteins C3 and C4.

Immune proteins

- The third humoral reaction to infection is the rapid *de novo* synthesis of a battery of antimicrobial peptides (Boman, 1996; Hetru et al., 1998).
- The principal site of synthesis is the **fat body**, but also the **hemocytes**, the cuticular **epithelial** cells, the gut, the salivary gland, and also the reproductive tract.
- During the research work conducted in the last decade nearly 60 peptide antibiotics have been described in insects. Though diverse in structure, they are basically amphipathic molecules acting at membranes and thereby **killing the target cell eventually by lysis**.
- The insect antimicrobial proteins are grouped into families, based on structural and sequence similarities and their proposed target in the bacterial cell wall.
- The **attacin-like** bacteria inducible proteins have been identified in butterflies and in *Drosophila*. These proteins are active only against gram negative organisms, where they *affect cell division mechanisms by inhibiting the synthesis of outer membrane proteins*. The family of these factors includes glycine-rich peptides (20-28kDa) characterized by the presence of one or more copies of the G domain (Hultmark, 1993).

- **Lysozyme** *hydrolyses β -(1,4)-glycosidic bonds in peptidoglycan of bacterial cell wall.* Insect lysozymes are proteins (14 kDa) with sequence similarity to vertebrate lysozymes. The lysozyme gene or cDNAs have been cloned in several insect species (Kylsten et al., 1992; Sun et al., 1991; Lee & Brey, 1995). In *Drosophila*, the lysozymes are encoded by at least seven genes and expressed in different parts of the digestive tract and at different stages of development.
- **Cecropins** have antibacterial activity against both gram-positive and gram negative bacteria since they *interact with lipid membranes forming voltage dependent ion channels.* The cecropins (4 kDa) are devoid of cysteine, and exhibit a structure of two α -helices joined by a hinge region. Families of cecropin genes with some sequence differences have been found in butterfly species, in the flesh fly (*Sarcophaga peregrina*) and in *Drosophila*. A mammalian cecropin was identified in pig intestine (Lee et al., 1996) and bovine adrenal glands (Strub et al., 1995) which implies that cecropins may be widespread in the animal kingdom.
- **Defensins** attack mainly Gram-positive bacteria in contrast to attacin-like antibacterial peptides. *They act on the cytoplasmic membrane and lyse cells by the formation of membrane channels.* Insect defensins are cationic peptides (4 kDa) containing six conserved cysteine residues engaged in three disulphide bridges. They possess three distinct domains: amino-terminal loop, an α -helix, and an antiparallel β sheet. About thirty defensins have been characterized in various insect species. Although numerous defensins have been isolated from mammals and from plants, further analysis revealed that they are not homologous to the defensins of insects.

- The proline rich antimicrobial peptides lyse Gram-negative bacteria by increasing the membrane permeability. They are peptides with molecular mass of 2 - 4 kDa, lacking cysteine and containing at least 25% proline. The O-glycosylation at the threonin residues is essential for their biological activity. Apaedicins and abaecin from honey-bee, drosocin and metchnikowin from *Drosophila*, pyrrhocoricin, lebocin and metalnikowin belong to this family. Also, the pig intestine and bovine leukocytes have been shown to produce proline-rich antibacterial peptides, although these peptides do not share sequence homology to the proline-rich peptides of insects.
- Dipterocins have so far been described only in dipteran species. They are 9-kDa peptides containing both an attacin-like G domain, a C-terminal glycine rich residue and a short N-terminal proline-rich region containing a consensus site for O-glycosylation. Dipterocins are lytic for Gram-negative bacteria which may be due to a way of action similar to that of attacins.
- Other inducible antibacterial proteins have been isolated from insects not fitting into the groups described above. Coleptericin, holotricin-2, hemiptericin and gallysin-1 act on Gram negative bacteria, while moricin, thanatin (homologous to frog-skin antimicrobial peptides of the brevinine family), and hymenoptaecin can lyse both Gram-negative and Gram-positive bacteria.
- Inducible peptide **antibiotics against fungi** have been discovered in insects. The peptide named AFP, tenecin-3 and holotricin-3 share similarities while drosomycin shows a significant homology with a family of plant antifungal peptides. Furthermore, the antibacterial peptides metchnikowin and thanatin have antifungal activity.