

Je libo játra nebo mozeček? Několik zastavení s motolicemi

Mohlo by se zdát, že námětem tohoto příspěvku budou kulinářské recepty nebo analýza nabídky produktů v našich řeznictvích. Ve skutečnosti se však zaměříme na významnou skupinu parazitů – motolice. O jejich komplikovaných životních cyklech jsme informovali již v loňském roce (Živa 2010, 5: 230–232). Tentokrát se soustředíme na motolice, které napadají játra a centrální nervovou soustavu (CNS) a mají nezanedbatelný zdravotnický a veterinární význam.

Završením strastiplného ontogenetického vývoje motolic je vznik pohlavně zralých dospělců v tzv. definitivním hostiteli, kterým je obratlovec. Ten se může nakazit různými cestami, velmi často pozřením infekčního stadia motolice, které „vyčkává“ ve vnějším prostředí (např. ptačí střevní motolice rodu *Notocotylus*), nebo ve tkáňných mezihostitele (lidské střevní motolice z čeledi *Heterophyidae*), případně průnikem (penetrací) infekční larvy kůží hostitele (schistozomy – krevničky). Ať tak či onak, značná část motolic se poté vydává na cestu tělem hostitele, aby se nakonec dostala do orgánu nebo tkáně, která dospělým motolicím vyhovuje pro reprodukci.

Tyto migrace a cílové orgány bývají více nebo méně specifické pro konkrétní druh motolice a mohou zahrnovat prakticky všechny typy tkání (např. zástupci rodu *Troglorema* jsou dokonce schopni perforovat lebeční kosti svých hostitelů – šelem).

Jaterní motolice

Poměrně atraktivním orgánem jsou játra a žlučové cesty. Ze známých lidských motolic se mezi jaterními parazity uvádí motolice jaterní (*Fasciola hepatica*), jejíž migrace do definitivního místa není vůbec jednoduchá. Po pozření infekční larvy (metacerkárie lokalizované na rostlinách) se mladá motolice provrtá stěnou střeva

do břišní dutiny a putuje k játrům, jejichž vazivovými obaly proniká do jaterního parenchymu. Zde pobývá několik týdnů, až se nakonec rozhodne k přesunu do konečného místa pobytu – žlučovodů. Tyto infekce nebývají příjemné, neboť asi třícentimetrové fascioly jsou konzumenty krve (hematofágové), při migraci játry poškozují parenchym, působí výrazné záněty a ve žlučovodech dráždí jejich stěny tak, že v nich vzniká také zánět a nakonec může docházet ke kalcifikaci žlučových cest. V podmínkách České republiky tuto infekci sporadicky zaznamenáváme pouze u hospodářských zvířat (obr. 1 A, B), zatímco u lidí v současnosti není známa. Nicméně ve světě existují vysoce rizikové oblasti, kde je tato nákaza (fasciolóza) hlášena až u 40–60 % místního obyvatelstva (např. některé lokality bolivijských And – Altiplano). Mechanické poškození, dlouhodobé zánětlivé reakce i vystavení jater a žlučovodů exkrečně-sekrecčním produktům motolic mohou být příčinou vzniku nádorového bujení. Jedni z nejznámějších parazitů spojovaných se vznikem nádorů jsou *Opisthorchis viverrini* a *Clonorchis sinensis*. Např. motolice *O. viverrini* se uvádí jako příčina mimořádně vysokého výskytu cholangiocarcinomu v Thajsku a je vedena jako karcinogen 1. skupiny podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny Světové zdravotnické organizace (WHO).

V České republice se kolem r. 1930 objevil jiný patogen jater – motolice obrovská (*Fascioloides magna*, někdy označovaná též jako motolice velká) dorůstající délky až 10 cm. Tento parazit volně žijících i domácích přežvýkavců se do Evropy dostal ze Severní Ameriky, a to zřejmě s dovozem jelenů wapiti (*Cervus canadensis*) a jelenů



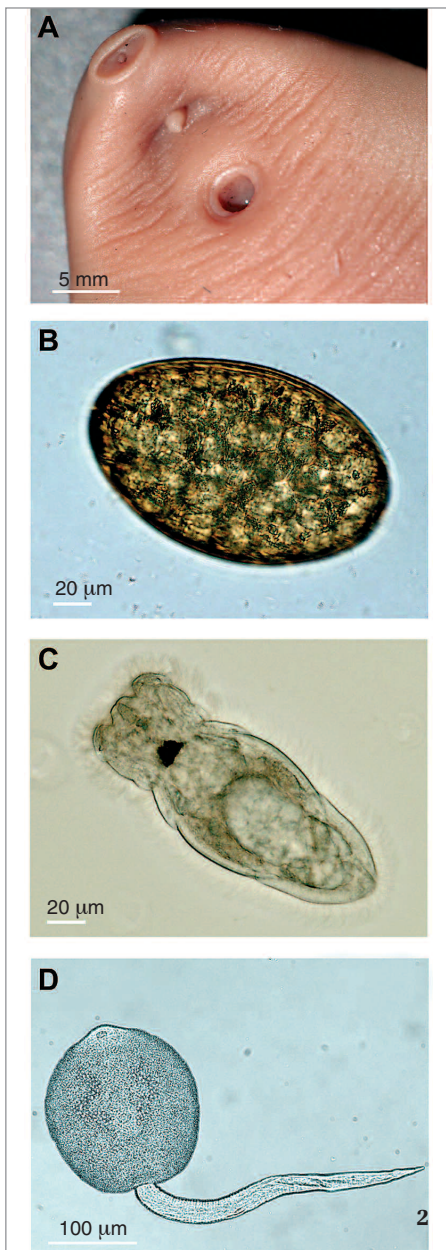
1 Napadená játra domácího skotu (motolice jaterní – *Fasciola hepatica*) a jelení játra (motolice obrovská – *Fascioloides magna*). A – dospělá m. jaterní lokalizovaná ve žlučovodu, B – dospělci m. jaterní, C – dospělá m. obrovská odstraněná z jaterní pseudocysty; šípky označují charakteristicky pozměněný povrch jater s pigmentací, D – dospělci m. obrovské. Foto M. Kašný a F. Kouba

2 Vývojová stadia motolice obrovské. A – detail dospělce, B – vajíčko, C – obrvená larva (miracidium) schopná infikovat mezihostitelského plže, D – cercárie schopná encystace do stadia metacerkárie a poté infekce definitivního hostitele. Foto M. Kašný, J. Pankrác a M. Košťáková

3 Prostorový model katepsinu L motolice obrovské. Oranžová barva znázorňuje prosekvenci (úsek aminokyselinového řetězce, který ovlivňuje prostorové uspořádání a aktivitu enzymu); červená barva označuje významný antigenní epitop (malá část molekuly antigenu rozpoznávaná imunitními receptory); zeleně, žlutě a fialově je zobrazena trojice aminokyselin aktivního místa enzymu, které je zodpovědné za degradaci substrátů. Orig. M. Novotný, upraveno M. Kašným

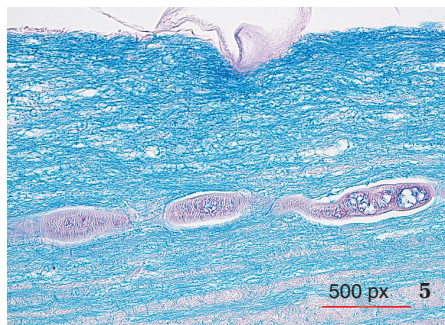
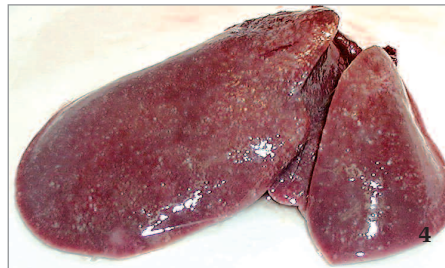
4 Ptačí játra s granulomy (bílá ložiska) kolem vajíček viscerálních trichobilharzií. Foto L. Kolářová a K. Skírnisson

5 Schistozomulum *Trichobilharzia regenti* v bílé hmotě míchy experimentálně infikované imunodeficientní myši 7 dní po



druhé (opakované) nákaze. Barveno Luxol Fast Blue a PAS. Foto L. Lichtenbergová 6 Cercáriová dermatitida na předloktí pracovníka, který sbíral plže infikované trichobilharziemi. Foto L. Mikeš

běloocasých (*Odoncoileus virginianus*), kteří jsou populární v oborních chovech. U spárkaté, zejména srnčí zvěře, může motolice obrovská působit úhyn, a to pravděpodobně následkem těžkého poškození jater (obr. 1 C a D). Dospělé motolice se u těchto hostitelů, podobně jako u jelenů lesních (*C. elaphus*) a daňků evropských (*Dama dama*), vyskytují ve fibrózních pseudocystách zformovaných z jaterní tkáně hostitele. Zde dokončují svůj vývoj a začínají produkovat vajíčka, která ve velkém množství odcházejí z pseudocysty kanálky napojenými na žlučovody, dostávají se do tenkého střeva a jsou vylučována společně s trusem (obr. 2). Během infekce způsobují motolice rozsáhlá poškození jednotlivých vnitřních orgánů, kterými migrují, a hlavně jaterní tkáň, což se na ní projevuje tmavými pigmentovými skvrnami pocházejícími z natrávené krve a žluči. Při silných nákazách můžeme v játrech jelena lesního nalézt až několik desítek červů přežívajících



v pseudocystách, které jsou rozeznatelné jako boule na povrchu jater.

Ačkoli v případě motolice obrovské jde o veterinárně závažného parazita, u příslušných úřadů v naší republice vzbuzuje jen pramalý zájem. Z vědeckého pohledu je situace více sledována, neboť se mapuje nejen rozšíření této motolice, ale také podmínky, za kterých se může v přírodě přemnožit. Z dostupných údajů vyplývá, že počet případů nákazy m. obrovskou (tzv. fascioloidózy) v České republice dlouhodobě narůstá a procento nakažených zvířat v některých oblastech jižních a středních Čech nezářka přesahuje hranici 90 %.

Množství infikovaných zvířat se zvyšuje i kvůli omezeným možnostem správné diagnostiky, a tedy i vhodné léčby. Diagnostika fascioloidózy je doposud založena především na posmrtném vyšetření jater uhynulých nebo usmrcených hostitelů (tj. pitevně), nebo na přímém průkazu vajíček v trusu hostitele (tj. mikroskopicky). Vajíčka lze však snadno zaměnit s jinými druhy motolic, např. s výše uvedenou motolicí jaterní, což vede k nepřesným závěrům. Z těchto důvodů je dnes cílem několika vědeckých skupin zpřesnění diagnostických metod. Ukazuje se, že nadějným směrem je využití imunodiagnostiky.

V současnosti se ověřují vlastnosti některých molekul produkovaných m. obrovskou a hodnotí se jejich imunodiagnostický potenciál. Jedním ze slibných kandidátů by mohl být proteolytický enzym katepsin L (obr. 3), který je v průběhu života dospělé motolice nepřetržitě produkován do jejího střeva, podílí se na trávení proteinů v její potravě a je následně vylučován společně s tráveninou do vnitřního prostředí hostitele, kde parazitovi dokonce napomáhá uniknout hostitelovu imunitnímu systému. Vhodnou alternativou k imunodiagnostice mohou představovat molekulárně-diagnostické testy, které umožňují ještě spolehlivější odlišení fascioloidózy od dalších typů motolice. Molekulární determinace parazita je založena na prokázání přítomnosti specifického úseku DNA (většinou jaderné ribozomální – např. ITS1/ITS2, a mitochondriální – např. *cox1/nad1*) izolovaného z vajíček motolic přítomných v trusu hostitele.

V popředí výzkumu motolice obrovské stojí i studium vhodných mezihostitelských plžů. Těmi jsou obvykle kosmopolitní plovatky bahnatky malé (*Galba truncatula*). Ukazuje se, že v našich podmínkách by v přenosu mohly hrát roli i další, běžně se vyskytující plovatky rodu *Radix*. Bohužel je v současnosti druhová determinace těchto plžů komplikovaná, neboť existuje rozpor mezi tradičními způsoby identifikace podle morfologie ulity či charakteristiky měkkých částí plže, a moderními fylogenetickými studiemi využívajícími molekulárních kritérií (vybrané sekvence jaderné nebo mitochondriální DNA).

Schistozomy nacházené v játrech a CNS

Mezi jaterní patogeny lze počítat i schistozomy (krevničky), a to přesto, že dospělé motolice jsou parazity oběhové soustavy (krevního řečiště). V případě lidských druhů *Schistosoma mansoni* a *S. japonicum* jsou játra poškozována vajíčky, která byla nakladena samičkami schistozom do krevního řečiště, ale neměla to štěstí, aby pronikla do lumenu (vnitřku) střeva a odešla z hostitele do vnějšího prostředí. Uvádí se, že až polovina nakladených vajíček může zůstat ve tkáních hostitele, zejména v jaterním parenchymu. Zde kolem vajíček probíhají rozsáhlé zánětlivé procesy, tvoří se granulomy a játra mění svůj charakter – zvětšují se (hepatomegalie) a zmnožuje se vazivová tkáň, což u neléčených pacientů může vést až k fibróze nebo cirhóze.

Poškození jater svých hostitelů mohou podobně působit i zvířecí – ptačí schistozomy (např. rod *Trichobilharzia*), které se běžně vyskytují také v ČR (obr. 4). Počty nakažených vodních ptáků (zejména vrubozobých) mohou být značně vysoké (i desítky procent jedinců konkrétní ptačí populace). Patogenním agens nemusí být v tomto případě pouze nakladená vajíčka, ale také samotná migrující motolice.

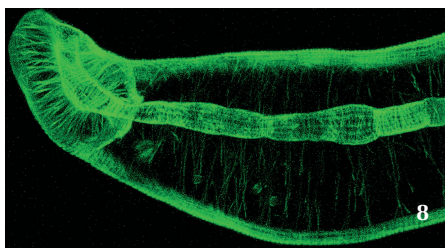
Mezi ptačí schistozomy patří dvě skupiny motolic, které lze označit jako viscerální (útrobní) a nazální (v nosní dutině); k naze dochází po průniku infekčních larev (cercárií) povrchem těla hostitele. V případě viscerálních druhů (např. *Trichobilharzia szidati*) žijí dospělci v ptáčích v cévách břišní dutiny a sousedících orgánů, kam se dostávají po fázi migrace

krevním řečištěm. Nazální druhy prožívají dospělost v nosní sliznici zobáku. Jen u jedné z těchto schistozom (*T. regenti*) je známa cesta, kterou se motolice dostávají z kůže do zobáku – jejich pohyb zahrnuje periferní nervy, míchu a mozek; jde o migraci, kterou do té doby u schistozom nikdo neznal a neočekával (afinitu k nervové tkáni mají i některé další motolice, např. larvy *Diplostomum phoxini* a *D. baeri* napadají nervový systém svých druhých mezhospitelů – ryb).

U ptáků se dostávají motolice již druhý den po nákaze do míchy, později se objevují v prodloužené míše a mozku, nikdy však v čichových lalocích, čichových či očních nervech. Jejich postup nervovým systémem končí v mozkových plenách, odkud se pravděpodobně místními cévami dostávají do nosní sliznice. Také experimentální nákazy hlodavců potvrdily, že *T. regenti* je i v jejich těle silně neurotropní; kromě míchy a prodloužené míchy byli paraziti nalezeni také v mozečku a mozkových hemisférách (obr. 5). Zde se vývoj zastavil, neboť ptačí schistozomy nedokáží v savcích dospět a hynou. Některé experimentální nákazy ptáků a hlodavců vedly dokonce k poruchám pohybové koordinace a rovnováhy, ochrnutí zadních končetin, případně až k úhynu zvířat.

Význam těchto parazitů je o to větší, že cercárie jsou schopny napadat i člověka, a to tak, že po opuštění sladkovodního plže aktivně pronikají kůží člověka a působí silně svědivou vyrážku – cercáriovou dermatitidu (obr. 6). V takovém případě sice jde o omyl parazita, neboť savci nejsou pro ptačí schistozomy vhodným hostitelem, ale přesto tyto nákazy není možné podceňovat. Laboratorní pokusy na hlodavcích totiž potvrzují, že zejména u zvířat po prvním kontaktu s parazitem (kdy ještě hostitel nemá žádnou zkušenost s novým patogenem) může docházet k úniku schistozom z kůže dále do vnitřního prostředí hostitele. Takové výsledky znamenají pro parazitologii dilema: Jsou ptačí schistozomy pro savce (člověka) jen „málo významným“ původcem dermatitid, nebo mohou za určitých podmínek působit vážné zdravotní komplikace?

Samotná cercáriová dermatitida je dnes chápána spíše jako „příznivá“ imunitní reakce lidského těla. Zatímco při prvním kontaktu cercárií s kůží se hostitel poprvé setkává s antigeny parazita – imunitní reakce jsou slabší a parazit má větší šanci uniknout z kůže do dalších orgánů/tkání, opakované infekce vedou k rozvoji výrazných kožních projevů a larvy schistozom jsou často v kůži zachyceny a likvidovány. Studium lymfocytů stimulovaných antigeny ukázalo, že první setkání s parazitem vede k produkci cytokinů (signálních proteinů významně se podílejících na regulaci imunitní odpovědi) spojených s Th1 i Th2 polarizací imunitní odpovědi (dva směry imunitní odpovědi, při kterých se pomocné T buňky účastní buď aktivace makrofágů nebo pomoci B lymfocytům), zatímco opakované infekce vyvolávají Th2 polarizaci spojenou hlavně s produkcí interleukinů 4 a 5 (patří mezi cytokiny). U opakovaných infekcí tomu odpovídají i zvýšené hladiny protilátek IgG1 a IgE. Na cercáriovou dermatitidu se tedy dnes po-



7 Svlékání glykokalyxu u cercárie motolice *T. regenti* navozené *in vitro*. Glykokalyx obsahuje silně imunogenní složky, jichž se cercárie zbavuje během průniku do hostitele a současně přeměny na schistozomulum. Tohoto procesu se zřejmě účastní i sekrety penetračních žláz. Barveno lithium karmínem. Foto J. Chaloupecká, upraveno L. Mikešem

8 Přední část dospělce motolice *T. regenti*. Přítomnost svalové tkáně (aktinu) je znázorněna zeleně díky fluorescenčně značenému faloidinu – na snímku vyniká ústní přísavka, podpvrchová svalovina a svalová tkáň kolem trávicí soustavy. Ve střevě trichobilharzií je produkována mimo jiné trávicí peptidáza katepsin B1. Foto J. Bulantová

hlíží jako na hypersenzitivní reakci 1. typu (s časnou a pozdní fází), doprovázenou Th2 polarizací imunitní odpovědi.

Je pochopitelné, že k poškození tkání a imunitním reakcím dochází jak při migraci ptačích schistozom tělem ptáků, tak experimentálně infikovaných hlodavců. V napadené nervové tkáni savců se např. setkáváme se zánětlivou reakcí a infiltráty imunitních buněk, aktivací mikroglie a astrocytů či poškozením axonů (dlouhých výběžků neuronu); v nazální sliznici ptáků s akumulací lymfocytů, eozinofilů a heterofilů a vznikem granulomů kolem vajíček motolic. Zánětlivé procesy lze pozorovat i v plicích ptáků a savců infikovaných viscerálními trichobilharziemi.

Přízpusobení schistozom hostiteli

Snad každý úspěšný parazit si vyvinul nástroje, které mu pomáhají dostat se do hostitele, vyrovnat se s imunitním systémem a využít hostitele pro svůj vývoj a reprodukci. Nejinak je tomu u studovaných ptačích schistozom. Cercárie trichobilharzií se podle druhu vyvíjejí v různých sladkovodních plžích – v našich podmínkách to jsou plovatky (*Lymnaeidae*), takže i zde narazíme na obtíž v podobě nedorozšířené taxonomie v rámci některých rodů (*Radix*, viz výše). Chování cercárií uvolněných z plžů i stimuly pro penetraci kůže byly již popsány v minulém článku (Živa 2010, 5: 230–232). V současnosti se intenzivně studuje zejména obsah penetračních žláz. Zatímco některé jejich produkty čekají na objasnění své funkce při penetraci (např.

proteiny typu lektinů s afinitou ke glykozaminoglykanům), jiné jsou již dobře charakterizovány, jako např. peptidáza katepsin B2, která má zřejmě zásadní podíl na průniku do hostitele (je schopna degradovat řadu proteinových složek kůže a jiných tkání – kolagen II a IV, keratin a elastin).

Průnikem do těla hostitele je parazit nucen okamžitě se adaptovat na zcela jiné prostředí. Cercárie se proto mění na schistozomuly, svlékají sacharidový „plášť“ – glykokalyx (obr. 7) a na povrchu se tvoří dvě cytoplazmatické membrány. Tuto zajímavou přeměnu uskutečňují všechny motolice, které v dospělosti žijí v krevním řečišti. Následná migrace tělem pak vyžaduje zapojení parazitárních chemoreceptorů pro signály z hostitelských tkání. U viscerálních schistozom pohybujících se krví jsou signály známy (viz také Živa 2010, 5), ale neurotropní trichobilharzie asi registrují odlišné molekuly hostitele; jedním z kandidátů jsou chloridové ionty.

Přežití schistozomul a dospělých trichobilharzií v hostiteli zcela jistě neurčuje jen úspěšná migrace do cílového orgánu nebo schopnost odolávat útokům imunitního systému, ale zřejmě také přítomnost faktorů stimulujících další vývoj těchto parazitů či schopnost přijímat a trávit potravu „nabízenou“ hostitelem. Některé trávicí enzymy lokalizované ve střevě těchto motolic (viz obr. 8) již byly charakterizovány (peptidáza katepsin B1 – schopná degradovat jednu z hlavních komponent nervové tkáně – myelinový bazický protein).

Perspektivy

Je nesporné, že jaterní a neurotropní motolice vzbuzují oprávněný zájem kvůli své patogenitě u zvířat a lidí. V případě jaterní motolice *F. magna*, ve střední Evropě dnes již veterinárně významného parazita, je nezbytné současný laboratorní výzkum doplnit také terénními daty, shrnujícími např. četnost výskytu nákazy, její geografickou distribuci parazita. Pravidelné sezonní monitorování nákazy motolicí obrovskou v podmínkách České republiky se proto jeví jako nepostradatelné, a to i z toho důvodu, že může docházet k záměně této veterinární parazitózy s humánně a veterinárně významným onemocněním působeným motolicí jaterní. U neurotropní motolice *T. regenti* lze zvyšující se zájem vysvětlit nejen rostoucím počtem hlášených výskytů lidské cercáriové dermatitidy na zcela nových územích, ale také neuropatogenitou, jejíž dopad na člověka není vůbec objasněn. Navíc se ukazuje, že trichobilharzie používají pro průnik kůží hostitele podobnou strategii (produkce katepsinu B) jako vysoce patogenní lidská schistozoma – *S. japonicum*, a mohou proto sloužit jako srovnávací model. Studium biologicky významných molekul motolic (včetně těch, které jsou rozpoznávány protilátkami hostitele a mohou být využitelné k diagnostickým účelům) lze tedy označit za klíčové pro pochopení životní strategie těchto patogenů v hostitelích.

Výše popsany výzkum motolice obrovské i ptačích schistozom (trichobilharzií) je realizován v Helminthologické laboratoři katedry parazitologie PŘF UK v Praze. Více informací najdete na internetových stránkách www.helminthology.cz.