

encefalopatii (nemoc šílených krav) nebo u člověka Creutzfeldtovu–Jakobovu nemoc a onemocnění kuru, které se objevovalo mezi kanibaly na Nové Guineji. Prionové proteiny se nevyskytují jen u savců, ale např. také u kvasinek, které slouží jako model pro studium prionů.

#### Tvorba agregátů

Bílkoviny s narušeným prostorovým uspořádáním, které uniknou odbourání, jsou náchylné k tvorbě agregátů. Shlukování je způsobeno přítomností hydrofobního (ve vodě špatně rozpustného) povrchu, který by byl za normálních okolností sbalen uvnitř molekuly. Chybné prostorové uspořádání bílkovin a/nebo jejich hromadění v buňkách vede k abnormálním interakcím mezi bílkovinami a tvorbě buněčných inkluzí, které jsou pro buňku škodlivé. Agregáty také často obsahují velké množství ubiquitinu.

Hromadění toxických agregátů záleží na stabilitě, kompaktnosti a hydrofobním povrchu daných proteinů, ale také na rychlosti syntézy bílkovin v buňce. Tyto vlastnosti mohou být znásobeny přítomností mutace či chybným prostorovým uspořádáním. I když počáteční příčina hromadění dané bílkoviny může být u různých onemocnění různá, ukazuje se, že k tvorbě shluků

dochází zejména u bílkovin s řetězcí ve struktuře skládaného listu. Toto uspořádání je stabilizováno interakcemi mezi molekulami a vede ke vzniku oligomerů (shluků několika molekul), protofibril (shluků prodlouženého tvaru, předchůdců vláken) a následně fibril (vláken), které se hromadí v postižené tkáni. Fibrilární agregáty se nacházejí buď vně, nebo uvnitř buněk, oba typy však poškozují funkci buněk a stres může vést k jejich odumírání.

Ukládání bílkovinných agregátů je známkou všech chronických neurodegenerativních nemocí člověka, např. extracelulárních amyloidových plaků a intracelulárních neurofibril nacházených u Alzheimerovy nemoci, Lewyho tělísek u většiny forem Parkinsonovy nemoci a přítomnosti jaderných inkluzí u Huntingtonovy choroby (blíže na str. CXXXVIII–CXXXIX kuléru). Hromadění bílkovin může nastávat i mimo centrální nervový systém a vede ke vzniku vzácných onemocnění amyloidóz, které postihují zejména srdce, ledviny a játra. Pojem amyloid byl navržen r. 1854 pro patologické agregáty v tkáních německým lékařem Rudolphem Virchowem, který pozoroval, že se tyto shluky barví podobnými barvivý jako škrob (řecky amyloŋ). Později bylo prokázáno, že amyloidy jsou tvo-

řeny bílkovinami. Dosud bylo odhaleno okolo 30 bílkovin, jejichž ukládání je příčinou amyloidóz. Příkladem mohou být některé bílkoviny běžně přítomné v krevním séru, např. imunoglobulinové řetězce, transthyretin nebo apolipoprotein A1.

#### Závěrem

Rovnováha mezi syntézou a odbouráváním bílkovin je v buňkách přísně regulována. I přes efektivní zbraně proti akumulaci chybně poskládaných nebo jinak nepotřebných bílkovin nemusejí být tyto mechanismy zcela účinné u všech typů bílkovin. Shlukování poškozených bílkovin a tvorba nerozpustných agregátů vede k různým onemocněním. Jedny z nejcitlivějších buněk k tvorbě proteinových agregátů jsou neurony, přesný mechanismus této citlivosti nebyl ale zatím objasněn.

*Práce vznikla za podpory Operačního programu Výzkum, vývoj a vzdělávání (CZ. 02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000785) a Grantové agentury České republiky (19-01747S).*

Použitou literaturu uvádíme na webu Živy. K dalšímu čtení např. Živa 2002, 2: 50–52 nebo 2013, 2: 50–53.

Kateřina Jirků, Milan Jirků, Julius Lukeš

## „Quo vadis, vermis?“ Kam směřuje helmintoterapie I.

**S neustále se rozvíjejícím výzkumem lidského střevního ekosystému a jeho významem pro naše zdraví se rozvíjejí také strategie biologické léčby. Jednou z nich *sensu lato* je helmintoterapie, spočívající ve využití kontrolované expozice nepatogenním nebo jen mírně patogenním červům s cílem aktivovat protizánětlivou a zároveň potlačit prozánětlivou imunitní odpověď. Helminti neboli parazitičtí červi jsou všeobecně považováni za výrazné manipulátory hostitelské imunity.**

Během koevoluce s hostitelskými organismy si helminti vyvinuli řadu důmyslných mechanismů, kterými mění jejich imunitní odpověď. Snaží se „přelstít“ nebo „obejít“ imunitní systém hostitele, který je jejich živitelem a „ochranitelem“, takovým způsobem, aby mohli dlouhodobě přežít. „Dobrý“ parazit svého hostitele poškozují co nejméně, protože předčasná smrt znamená i zánik parazita. Ten navíc obvykle potřebuje co nejvíce času na své rozmnožování. Střevní červi jsou přímo mistři těchto strategií a právě díky tomu bylo nedávno vyvinuto poměrně nestandardní odvětví biologické léčby při některých zánětlivých onemocněních, zvané helmintoterapie. Podstatou je kontrolovaná a řízená kolonizace lidského organismu s využitím nepatogenních (víceméně komenzálních),

nebo jen mírně patogenních červů, která má aktivovat protizánětlivou imunitní reakci hostitelského organismu a zároveň potlačit reakci prozánětlivou. (Pozn.: Dnes se vedou diskuze o používání slovních tvarů zánětlivý versus záněťový. V českých učebnicích a odborných článcích se zatím stále užívá tvar zánětlivý, proto byl použit i v tomto textu.) Právě prozánětlivé imunitní mechanismy bývají příčinou mnoha chronických onemocnění spojených se zánětem – Chronic Inflammation-Associated Diseases (CIAD).

K rozvoji helmintoterapie přispělo pozorování, že helminti byli ze střevního ekosystému „západního“ člověka v posledních 50 letech takřka vymýceni, zatímco v minulosti byli v lidské populaci prakticky všude přítomní. Rozsáhlé epidemiologické stu-

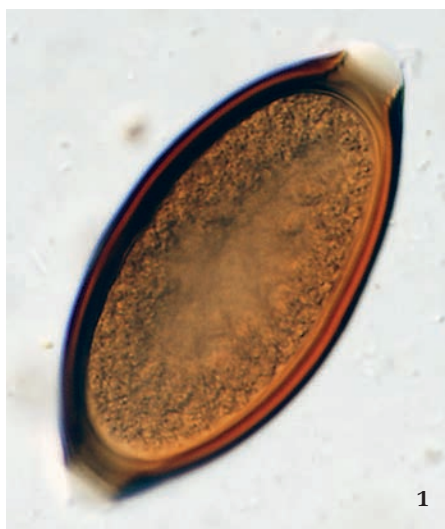
die navíc stále častěji dokládají, že absence výskytu helmintů v lidské populaci ve vyspělých zemích prokazatelně souvisí s celosvětovým trendem nárůstu CIAD. Tímto tématem se zabývá vědecký kolektiv kolem Marii Yazdanbakhsh (Department of Parasitology, Leiden University Medical Center, Nizozemsko) a vydal k této problematice několik studií v prestižních časopisech. V jedné z posledních, publikované v časopise Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), popisují výsledky dlouhodobé, dvojité zaslepené studie s náhodným výběrem v komunitách s vysokou pravděpodobností výskytu střevních parazitických červů na ostrově Flores v Indonésii (v takových studiích subjekt hodnocení ani hodnotitel nevědí, jakou léčbu subjekt dostává – placebo nebo léčivo). Bylo zde zahrnuto přes tisíc osob všech věkových skupin, kterým bylo podáváno antiparazitikum albendazol každé tři měsíce po dobu dvou let, což sice vedlo ke snížení zátěže červy, ale současně ke zvýšení prozánětlivé imunitní odezvy. Tyto poznatky společně s dalšími, které budou popsány dále v textu, poukazují na fakt, že úplná ztráta těchto našich souputníků má pro lidské zdraví neblahé důsledky. Na základě uvedených zjištění byla formulována hypotéza starých přátel (Old Friends Hypothesis) a hypotéza vyčerpání mikroorganismů (Biome-Depletion Hypothesis), jejichž ústředním tématem je zdůraznění zásadního významu řady mikroorganismů, a také helmintů, nezbytných pro vývoj a regulaci imunitního systému zdravého člověka.

Zde je důležité vložit vsuvku, v níž přiblížíme epidemiologii chronických zánětlivých onemocnění a vysvětlíme si, jaké choroby bývají do této skupiny zahrnuty. Studie poukazují na razantní nárůst CIAD od druhé poloviny 20. století jak

v industrializovaných zemích, tak následně v zemích rozvojových. Jako příklad mohou posloužit dvě rozsáhlé práce zaměřené na střevní zánětlivá onemocnění, Crohnovu chorobu a ulcerózní kolitidu, souhrnně označované pojmem Inflammatory Bowel Diseases (IBD). První z nich, publikovaná v r. 2012 v časopise *Gastroenterology*, demonstrovuje retrospektivní a systematický přehled rostoucího výskytu a prevalence IBD (podílu počtu jedinců infikovaných/trpících danou nemocí k počtu všech jedinců ve sledované populaci) v různých oblastech světa na základě téměř 250 studií z Evropy, Asie, Středního východu a Severní Ameriky mezi lety 1950–2010. Druhá práce, zveřejněná v časopise *Lancet* v r. 2017, zhodnotila 147 prevalencečních studií od r. 1990 (tedy během jedné generace) opět z různých světových regionů. Obě publikace konstatovaly nejen stále vysoký výskyt IBD v západním světě, ale také jejich nástup a zrychlující se nárůst v nově industrializovaných zemích Afriky i Jižní Ameriky. Podobné výsledky byly získány i u dalších epidemiologicky významných CIAD, např. u roztroušené sklerózy nebo revmatoidní artritidy.

CIAD představují širokou skupinu různých onemocnění, která sice mají společné rizikové faktory, ale na první pohled spolu ne vždy souvisejí. K nejznámějším patří již zmíněné IBD, roztroušená skleróza, revmatoidní artritida, diabetes 1. typu a řada alergií. V poslední době se k nim poněkud nečekaně řadí i některé neuropsychiatrické poruchy, jako jsou migrénové bolesti hlavy, úzkostné poruchy, chronický únavový syndrom nebo závažné depresivní poruchy. Všechny tyto choroby mají společné, že je spouštějí nespecifický zánět v organismu. Léčba většiny CIAD bývá zpravidla velmi zdlouhavá a nákladná, vykazuje omezenou účinnost i trvání a většinou s sebou přináší také nežádoucí vedlejší účinky. Jeden ze směrů výzkumu mikrobiomu ukazuje, že reintrodukce helmintů do střevního ekosystému člověka může znamenat slibný přístup k léčbě nebo možná v budoucnu prevenci CIAD. Zde je třeba podotknout, že léčebné strategie využívající střevní mikrobiom bylo vyvinuto více a patří k nim např. i fekální mikrobiální transplantace (blíže <https://cs.medlicker.com/870-transplantace-stolice>).

Přestože nepřítomnost helmintů společně s dysbiózou střevního mikrobiomu (tedy nerovnováhou mikrobiálních populací) jsou považovány za jeden z klíčových aspektů pro rozvoj CIAD, k rozvoji zánětu obvykle přispívá řada faktorů. Jedním z dalších stěžejních se ukazuje být tzv. západní typ diety, dnes už běžně nazývaný dietou způsobující zánět. Jde o skladbu potravy s převládajícím obsahem tuků, škrobů a cukrů. Prozánětlivé působení se pojí se snižováním výskytu různých mikroorganismů v našem prostředí následkem řídkého kontaktu se zvířaty, nadužíváním čisticích prostředků (detergentů) a chemizací potravin, vody a prostředí (polutanty, konzervanty v potravě apod.), včetně plošného a nadměrného užívání antibiotik. K rozvoji CIAD přispívají v některých případech i genetické sklony a všudypřítomný stres.



### Filozofie přístupu k helmintoterapii

V dnešní době se výzkum a testování využívají helmintů k léčbě ubírá dvěma hlavními směry. Prvním je přímé užívání nebo aplikování živých červů, zatímco alternativou je pátrání po jejich účinných látkách s žádoucím imunoregulačním účinkem. Obecně vzato, v rámci výzkumu zaměřeného na helmintoterapii bylo dosud testováno asi 35 druhů helmintů a několik desítek látek a různých molekul z helmintů získaných, a to na řadě *in vivo* a *in vitro* experimentálních modelů. Oba přístupy mají výhody i úskalí, které shrneme vzápětí, a každý samozřejmě má své příznivce i odpůrce.

Biomedicínský výzkum často upřednostňuje látky získané z helmintů. Patří k nim různé bílkoviny, cukry, peptidy, lipidy a rozličné malé molekuly. Testují se v různých formách, ať už jako směsné (anglicky crude) či specifické antigeny, nebo jako extrakty získané z kultivovaných červů prostým rozcením vhodně zvolených životních stadií (dospělci, různá larvální stadia, v některých případech i vajíčka). Tento přístup má určité výhody oproti použití živých červů – eliminuje možnost nekontrolovaného šíření parazita do prostředí, nežádoucí migraci některých larválních stadií v lidském organismu a případný nechtěný přenos bakterií či virů. Navíc helminti produkují široké spektrum látek s imunomodulačními schopnostmi a jejich případná průmyslová produkce by zapadla do současných schválených postupů pro vývoj léčiv. Výroba a testování látek získaných z helmintů však stále čelí technickým potížím. Jednou z nejzásadnějších je zeslabení biologické aktivity rekombinantních bílkovin produkovaných v požadovaném množství v bakteriálních nebo eukaryotických expresních systémech. Dalším limitem je, že užívání jedné nebo několika vybraných látek z helmintů nemůže úplně nahradit složité provázané biologické vztahy a interakce, které se během dlouhé koevoluce vyvinuly mezi červem, imunitním systémem hostitele a jeho střevním ekosystémem. Přestože bylo dosud popsáno několik desítek farmakologicky slibných látek izolovaných z červů, v klinické studii byla testována pouze jedna jediná – prostaglandin P28GST z krevničky střevní (*Schistosoma mansoni*). V rámci této pilotní studie (vedené pod názvem ACROHNEM) bylo zjištěno mírné

1 Neryhované vajíčko tenkohlavce (*Trichuris* sp.). Vajíčko se stává infekčním až po vyvinutí prvního larválního stadia (L1), které je obsaženo v komerčním přípravku TSO. Velikost vajíčka 60–65  $\mu$ m. Foto D. Modrý

2 Třetí larvální stadium (L3) měchovce (*Necator* sp.) se vyvíjí po opuštění vajíčka v prostředí a je plně infekční. Obsahuje ho komerční přípravek NA. Velikost 150–200  $\mu$ m. Foto B. Pařčo

3 Larvocysta (cysticerkoid) tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*), která se vyvíjí v mezipřímém – např. potměnkou moučným (*Tenebrio molitor*) v laboratorních podmínkách. Toto stadium je infekční pro definitivního hostitele (třeba člověka) a je obsaženo v komerčním přípravku HDCs. Velikost 150–200  $\mu$ m. Foto K. Jírků

a většinou dočasné snížení průběhu zánětu u 10 pacientů s aktivní Crohnovou chorobou. Ve shrnutí autoři zdůrazňují, že ačkoli má P28GST terapeutický potenciál a pravděpodobně je bezpečný, je potřeba ještě otestovat několik dalších proměnných a provést řádnou a rozsáhlou klinickou studii zahrnující mnohem více pacientů.

Na rozdíl od předchozího přístupu bylo užívání živých červů pro účely helmintoterapie testováno i v klinických studiích, a to jak při záměrných a řízených, tak při náhodných (přírodních) kolonizacích pacientů. Doposud proběhlo ve světě přibližně 25 klinických studií, v nichž byli testováni zejména tzv. terapeutičtí helminti (viz dále), ale i několik dalších druhů jako náhodné infekce. V druhém případě šlo o studie z Argentiny, kde byl porovnáván klinický průběh revmatoidní artritidy mezi dvěma skupinami pacientů. Jedna skupina byla červů prostá, do druhé byly zařazeny osoby s jedno-, nebo vícedruhovou kolonizací střeva některými druhy červů – tasemnicí dětskou (*Hymenolepis nana*), tenkohlavcem lidským (*Trichuris trichiura*), škrkavkou lidskou (*Ascaris lumbricoides*), háďetem střevním (*Strongyloides stercoralis*) a roupem dětským (*Enterobius vermicularis*). U druhé skupiny byl celkový průběh onemocnění vyhodnocen jako výrazně mírnější.

Přes zmiňované úspěchy se výsledky klinických studií helmintoterapií pohybují od úžasných úspěchů, kdy se dosáhlo i remise u některých CIAD, až po nevyřešené neúspěchy. Zatím tedy není úplně jasné, proč je protizánětlivá účinnost červů tak různorodá. Nedávný výzkum poukazuje na význam interakcí nejen mezi helmintem a imunitním systémem hostitele, ale také na spojitost s bakteriální složkou střevního ekosystému hostitele. První studie v tomto směru začínají odhalovat, že pestrost střevní bakteriální složky společně s typem a složením stravy mohou zásadně ovlivňovat vlastní účinnost terapeutického červa. Dá se tedy říci, že v tomto ohledu helmintoterapie skrývá ještě mnoho nepoznaného, co je třeba pochopit a rozkrýt.

### Terapie živými červy

Pro použití živých červů se v tuto chvíli zdají být vhodné pouze čtyři kandidáti – tenkohlavce prasečí (*T. suis*) a t. lidský (*T. trichiura*), měchovec americký (*Neca-*





*tor americanus*) a tasemnice krysí (*H. diminuta*). Uvedené druhy více či méně vyhovují většině požadavků použitelnosti pro léčebné účely. Ty bývají formulovány z pohledu biologie červů a až v poslední době se kritéria vhodnosti jednotlivých helmintů definují i ve vztahu k samotnému uživateli. Detailněji rozvedeme v druhém dílu našeho příspěvku.

Kromě klinických studií využívá v současnosti helminty pro terapeutické účely také několik tisíc jednotlivců označovaných jako „samoléčitelé“ (self-treaters), lidí trpících různými chronickými nemocemi spojenými se zánětem, kteří užívají komerčně dostupné přípravky s helminty podle doporučení poskytovatelů nebo svých lékařů. Veškeré náklady si musí uživatel plně uhradit (blíže v druhém dílu). Komplexní analýza dat získaných od samoléčitelů o míře vlivu výše uvedených červů a případných vedlejších účincích léčby ukázala velice nadějné výsledky. Helmintotapie se jeví jako efektivní při různých onemocněních od nespecifických zánětů střev přes roztroušenou sklerózu, alergická onemocnění až k migrénám a dalším neurologickým poruchám. V současnosti ve světě existuje již 9 komerčních dodavatelů, kteří nabízejí produkty obsahující vývojová stadia helmintů se schopností kolonizovat střevo člověka.

Klinické studie dosud provedené úspěšně, a nadto poznatky získané na základě sociomedicinských průzkumů z komunity samoléčitelů ukazují, že helmintotapie skutečně představuje nadějný směr k léčbě a pravděpodobně i prevenci některých CIAD. Již v raných klinických studiích vedených Joelem V. Weinstockem v lékařském centru Tufts (Boston, USA) bylo dosaženo vynikajících úspěchů. Perorální aplikací vajíček tenkohlavce prasečího (komerční název *Trichuris suis* OVA – TSO; obr. 1) bylo dočasně, nebo dokonce trvale vyléčeno 80 % pacientů s nespecifickými střevními záněty (Crohnovou chorobou nebo ulcerózní kolitidou). Naopak klinické studie prováděné společností Corrado Biosciences s tímto helmintem očekávání nenaplnily. Později se ale ukázalo, že neúspěch patrně zapříčinila metodická pochybení během přípravy larválních stadií pro inokulaci pacientů a nejednotnost léčebných režimů. V dalších klinických studiích bylo TSO testováno také u lupén-

ky (psoriázy), revmatoidní artritidy, roztroušené sklerózy a potravinových alergií, opět s rozporupnými výsledky. Také některé z nich byly patrně ovlivněny metodickými nedostatky v přípravě TSO. Naopak komunita samoléčitelů hlásí takřka 100% účinnost TSO.

V případě dalších terapeutických helmintů, kterými jsou měchovec americký (komerční název *N. americanus* – NA; obr. 2) a tenkohlavce lidský (*T. trichiura* OVA – TTO; obr. 1), se účinnost na základě širokého sociologického průzkumu Janet K. Wilsonové z Arkansaské univerzity a Williama Parkera z Dukeovy univerzity v Severní Karolíně pohybuje mezi 50 až 100 %. Většina informací u obou helmintů však zatím pochází od samoléčitelů. V případě NA bylo provedeno 9 klinických studií zaměřených na různá onemocnění (Crohnovu chorobu, celiakii, roztroušenou sklerózu, některé alergie) s tím, že nejčastěji byl příznivý účinek zaznamenán u alergických onemocnění a astmatu. V letošním roce však byla publikována klinická studie s názvem WIRMS (Worms for Immune Regulation of Multiple Sclerosis), jež probíhala v letech 2012–16 pod vedením Davida I. Pritcharda z Nottinghamské univerzity. Na vzorku 71 pacientů s roztroušenou sklerózou prokázala ve skupině ošetřované NA mnohem mírnější průběh onemocnění, méně relapsů (návratů k horšímu stavu) a protizánětlivou imunitní odezvu formou zvýšení počtu a aktivity T-regulačních buněk.

Poslední z dosud používaných helmintů, cysticerkoidi (lidově boubel) tasemnice krysí (komerční název HDCs – *H. diminuta* cysticercoids; obr. 3), byli většinou testováni na zvířecích modelech, u nichž se prokázal vysoce příznivý účinek při potlačení chronického střevního zánětu (odpovídajícího Crohnově chorobě u člověka), revmatoidní artritidy nebo neurokognitivní poruchy typu autismu. Velmi zajímavých výsledků dosáhl výše jmenovaný W. Parker společně s neuroložkou Staci Bilbo z Massachusettské všeobecné nemocnice ve studii, která u březích samic potkanů prokázala ochranný efekt přítomnosti této tasemnice proti zánětu nervového systému u dosud nenarozeného potomstva. I pro HDCs jsou k dispozici poznatky od samoléčitelů, kteří popisují vysokou účinnost (nad 60 %) u více než 50 různých zánětlivých

vých onemocnění, s minimem vedlejších účinků. Kromě toho se tasemnice krysí zdá být zatím neoptimálnějším terapeutickým kandidátem, který ve srovnání s ostatními takřka dokonale splňuje všechna kritéria vhodnosti, včetně snadné a finančně nenáročné přípravy v laboratoři.

Přes většinu dílčích úspěchů a poznání naznačujících, že helmintotapie by mohla být jednou z univerzálnějších možností při řešení narůstajícího výskytu CIAD, není zatím schválena jako alternativní léčebný postup nikde na světě. Velká část zde uváděných informací pochází od samoléčitelů, kteří sdílejí své zkušenosti a doporučení spolu s vědeckými a lékařskými poznatky prostřednictvím sociálních sítí (Facebook, Yahoo, HelminthWiki) a specializované webové stránky. Další důležité aspekty zahrnují hodnocení léčebných režimů, určování spolehlivosti dodavatelů a produktů, případně sledování nových nápadů a informací v rámci helmintotapie s využitím živých červů. Objektivní účinnost a možné vedlejší účinky bývají nejčastěji popisovány lékaři, kteří využili červy k léčbě svých pacientů.

Závěrem je třeba zmínit ještě jeden aspekt. Zatímco klinické studie a samoléčitelé představují přístup terapeutický – v důsledku probíhajícího CIAD dojde k užívání červů, tak experimentální studie na zvířecích modelech využívají spíše přístup preventivní, použití červů před vyvoláním vlastního onemocnění. I tento fakt může zčásti vysvětlovat různorodé výsledky v klinických studiích, protože terapeutický přístup může být náročnější a hůře zvládnutelný. Naopak preventivní přístup by hypoteticky mohl zabránit, aby došlo k rozvoji zánětu v organismu a následně ke vzniku onemocnění.

*Laboratoř K. Jirků spolupracuje na výzkumu helmintotapie s laboratoří W. Parkera (Duke University, USA), za přispění projektu na podporu české a americké spolupráce (LTAUSA19008) v rámci programu INTER-EXCELLENCE od Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR.*

Seznam použité literatury uvádíme na webu Živa. K dalšímu čtení např. Živa 2015, 3: 106–107 a 5: 215–219; o helmintotapii a roztroušené skleróze blíže v Živě 2020, 3: 129–132.