

Studijní program Biologie

Studijní obor Biologie



Veronika Pavlíková

**Využití helmintů v léčbě autoimunitních onemocnění**

Helminths as a therapeutic tool for autoimmune diseases

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: Prof. RNDr. Petr Horák, Ph.D.

Školitel specialista: MVDr. Kateřina Pomajbíková Ph.D.

Praha 2014

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 14. 5. 2014

## **Poděkování**

Ráda bych zde poděkovala vedoucímu bakalářské práce Prof. RNDr. Petru Horákovi, Ph.D. za poskytnutí rad, věcných připomínek, ochotu a obrovskou trpělivost během řešení této problematiky.

Mé poděkování patří také MVDr. Kateřině Pomajbíkové Ph.D. za odborné konzultace a poskytnutí materiálů.

## **Abstrakt**

Ve vyspělých zemích je poslední dobou zaznamenáván prudký nárůst imunitně zprostředkovaných onemocnění. Mezi ně patří například zánětlivá onemocnění střev, roztroušená skleróza, diabetes I. typu a různé alergie. Léčba bývá komplikovaná a spojuje se s ní spousta vedlejších účinků. Proto se začíná pátrat po bezpečnější terapii, kam spadá i terapie helminty. Tyto organismy jsou schopny utlumit imunitní odpověď jedince, a tím potlačí probíhající zánět v těle. Infekce helminty s sebou nese potenciálně nižší rizika vedlejších účinků na lidský organismus v porovnání s klasickou léčbou. Díky tomu se zdá být vhodnou alternativou v léčbě těchto onemocnění.

Klíčová slova: Hygienická hypotéza, zánětlivá onemocnění střev, diabetes I. typu, roztroušená skleróza, *Trichuris suis*, *Schistosoma mansoni*, *Hymenolepis diminuta*, *Necator americanus*

## **Abstract**

There has been recorded a sharp increase in autoimmune diseases in developed countries recently. These include inflammatory bowel diseases, multiple sclerosis, type 1 diabetes and various types of allergies. Treatment is being complicated with a lot of adverse effects. That is why we are searching for safer kinds of therapy which also includes helminth therapy. These organisms are able to suppress immune responses and by that the inflammation in the body is being suppressed. Helminthic infection brings minimum adverse effects compared to classic treatment. Because of this it seems to be a good alternative in treatment of this type of disease.

Key words: Hygiene hypothesis, inflammatory bowel disease, type I. diabetes, multiple sclerosis, *Trichuris suis*, *Schistosoma mansoni*, *Hymenolepis diminuta*, *Necator americanus*

## OBSAH

1.	Úvod.....	1
2.	Hygienická hypotéza.....	2
2.1.	„The old friends hypothesis“.....	2
3.	Autoimunitní onemocnění.....	4
3.1.	Idiopatické střevní záněty.....	4
3.1.1.	Crohnova nemoc .....	5
3.1.2.	Ulcerózní kolitida.....	6
3.2.	Roztroušená skleróza.....	6
3.3.	<i>Diabetes mellitus</i> 1. typu.....	7
4.	Experimentální modely .....	8
4.1.1.	Idiopatické střevní záněty .....	8
4.1.2.	Roztroušená skleróza .....	8
4.1.3.	<i>Diabetes mellitus</i> I. typu .....	8
5.	Klasická terapie.....	9
6.	Terapie helminty .....	10
7.	Helminti vhodné pro terapii.....	11
7.1.	<i>Trichuris suis</i> .....	11
7.1.1.	Životní cyklus .....	11
7.1.2.	Využití v léčbě .....	11
7.2.	<i>Necator americanus</i> .....	13
7.2.1.	Životní cyklus .....	13
7.2.2.	Využití v léčbě .....	14
7.3.	<i>Schistosoma mansoni</i> .....	14
7.3.1.	Životní cyklus .....	14
7.3.2.	Využití v léčbě .....	15
7.4.	<i>Hymenolepis diminuta</i> .....	15
7.4.1.	Životní cyklus .....	15
7.4.2.	Využití v léčbě .....	15
8.	Nežádoucí účinky parazitární terapie.....	17
9.	Závěr .....	18
10.	Seznam použité literatury.....	19

# 1. Úvod

V posledních 60 ti letech prudce stoupl počet pacientů s imunitně zprostředkovanými onemocněními ( tj. "Immune mediated diseases" = IMD), přičemž se ukazuje, že častější výskyt zánětlivých onemocnění střev je indikován převážně v industrializovaných zemích (Green et al., 2006; Elliott et al., 2000). Další výzkumy zaměřené zejména na výskyt a frekvenci roztroušené sklerózy a diabetes I. typu zjistily, že jejich prevalence ve vyspělých zemích stoupá nejen u místních obyvatel, ale i přistěhovalců (Perzanowski et al., 2002). Příčiny těchto jevů nejsou doposud úplně objasněny, ale částečně mohou souviset s vymizením helmintů z rozvinutých zemí (Elliott et al., 2000).

Současný farmakologický postup k řešení těchto onemocnění využívá zejména imunosupresiva a biologickou léčbu. Oba způsoby ale s sebou přinášejí rizika v podobě více či méně závažných vedlejších účinků. Dále je nutné uvést, že žádný z těchto postupů nevede k definitivnímu vyléčení nemoci, ale pouze k potlačení příznaků s tím, že nemoc opět může kdykoliv a nekontrolovatelně v plném rozsahu propuknout. Z tohoto důvodu se začalo pátrat po alternativní terapii, která se nabízí v podobě infekce helminty.

Bylo prokázáno, že autoimunitní onemocnění jsou vzácná v zemích, kde jsou časté helmintózy (Summers et al., 2005). Začala se zkoumat příčina tohoto jevu a zjišťuje se, že helminti mají protizánětlivé účinky na lidský organismus, díky čemuž jsou schopni potlačit některá zánětlivá onemocnění v lidském těle.

Tato bakalářská práce se zaměřuje na shrnutí dostupné literatury týkající se terapie helminty idiopatických střevních zánětů (IBD) a dalších autoimunitních onemocnění.

## 2. Hygienická hypotéza

Od počátku evoluce člověka, tedy přibližně 200 000 let, jsme parazitováni červy. Stejně jako spousta bakterií mohou někteří červi žít neškodně ve střevě (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*), zatímco jiní jsou pro lidský organismus nebezpeční (*Schistosoma mansoni*, *Necator americanus*). Před objevem antibiotik bylo běžné zemřít na gastrointestinální infekce způsobené nízkou hygienou. O život přicházelo přibližně jedno dítě z pěti (Weinstock, 2012). Dnes je díky pitné vodě, stravě a vyšší hygieně vzácné, aby dítě z rozvinutých zemí zemřelo na infekci způsobenou nedostatečnou hygienou (Weinstock, 2012). Příkladem může být i to, že u 20% nejchudších obyvatel světa umírá 59% na různá přenosná onemocnění (helmintózy, protozoární, bakteriální a virová onemocnění). Oproti tomu u 20% nejbohatších obyvatel světa umírá až 85% na nepřenositelná onemocnění (autoimunitní onemocnění, rakovina aj.) (Gwatkin et al., 1999).

V průběhu 80. let minulého století byla formulována tzv. hygienická hypotéza, jež předpokládá, že nižší kontakt člověka s patogeny může být příčinou stále častěji se objevujících IMD, kam patří autoimunitní onemocnění (idiopatické střevní záněty, roztroušená skleróza, diabetes 1. typu, revmatoidní artritida aj.) a alergie (tj. hypersenzitivní reakce). Frekvence rozvoje alergií souvisí se zlepšením životních podmínek a nižším vystavením patogenům v dětství. Prokázalo se tak, že v rodinách, kde je více sourozenců, a tudíž nižší hygiena mezi nimi, je mnohem menší výskyt alergických potíží než u dětí, které s ostatními vrstevníky nemají kontakt (Strachan, 1989).

Tato teorie byla dále rozvíjena. Děti s vyšším socioekonomickým statusem, které žijí v čistém prostředí a menších domácnostech, jsou v dospělosti náchylnější k rozvoji střevních chronických zánětů (Crohnova nemoc). Souvisí to pravděpodobně přehnanou reakcí na infekční agens, se kterým se setkali až později v životě (Gent et al., 1994).

### 2.1 „The old friends hypothesis“

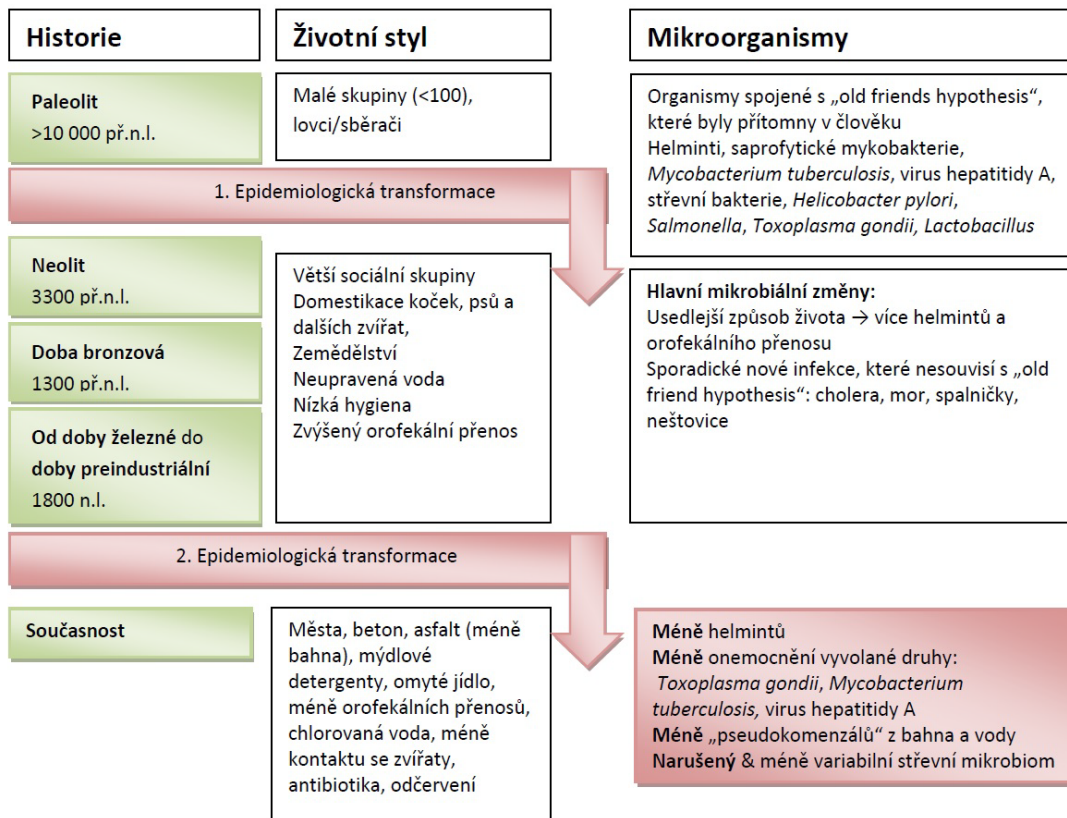
V dnešní době se od termínu hygienická hypotéza upouští a začíná se o této problematice mluvit jako o „old friends hypothesis“ (Rook et al., 2003). Původ názvu objasňuje obr. 1 (Rook, 2012), který shrnuje epidemiologická data, laboratorní pokusy a klinické studie zkoumající organismy, u nichž se předpokládá, že provázely savčí a lidskou evoluci. Vzájemné vztahy mezi člověkem a různými mikroorganismy přetrvávaly dostatečně dlouho na to, aby se mezi nimi ustanovila evoluční závislost.

Hygienická hypotéza tvrdí, že jsme pro náš imunitní systém příliš čistí a to vede k rozvoji imunitně zprostředkovaných onemocnění. „Old friends hypothesis“ nám ale vysvětluje, že příčinou

rozvoje imunitně zprostředkovaných onemocnění je eradikace organismů, na kterých jsme evolučně závislí. Řešením však není navrácení se ke způsobu života jeskynního muže. Můžeme se totiž pokusit nalézt mechanismus, kterým naši „staří přátelé“ regulují imunitní systém a využít toho v boji s autoimunitními onemocněními.

**Obr. 1. Koevoluce člověka a mikroorganismů (Rook, 2012, upraveno)**

Schéma znázorňuje vývoj člověka od paleolitu po současnost a rozdílný výskyt mikroorganismů v závislosti na životním stylu.



### **3. Autoimunitní onemocnění**

Autoimunitní onemocnění jsou onemocnění způsobená reakcí proti antigenům vlastního těla, neboli autoantigenům. Původ může být v Th1 imunitní odpovědi, Th2 imunitní odpovědi a v posledních letech nově objevené Th17 imunitní odpovědi (Harrington et al., 2005).

CD4+ T buňky se rozdělují na dva podtypy Th1 a Th2 (Mosmann et al., 1986). Tyto buňky mají odlišnou funkci a jinou produkci cytokinů. Th1 buňky podporují zánětlivou imunitní reakci, která je typická pro autoimunitní onemocnění. Th1 imunitní odpověď spolupracuje s makrofágy a její aktivita je potvrzena přítomností některých základních regulátorů imunitního systému - interleukinů. Zde se konkrétně jedná o interleukin-12 (IL-12) a dále pak interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ). Th2 imunitní odpověď je založena na tvorbě protilátek, které pomáhají B-lymfocytům v boji s extracelulárními parazity, tzv. protizánětlivá imunitní reakce. Navíc Th1 a Th2 jsou antagonisté a navzájem tlumí svoji aktivitu. Poslední nově objevené pomocné buňky nezávislé na Th1 a Th2 se nazývají Th17 (Harrington et al., 2005, Park et al., 2005). Jsou spojeny s produkcí IL-17 a IL-23. Zjišťuje se, že se podílí na rozvoji onemocnění, u kterých se původně myslelo, že souvisí s Th1 (např. Crohnova nemoc).

Autoimunitní onemocnění se rozvine v případě, že je narušena rovnováha udržující toleranci k vlastním tkáním. Až na výjimky, kdy je autoimunitní onemocnění způsobeno jedním genem (např. autoimunitní polyendokrinopatie (Aaltonen & Björnses, 1999), má většina původ ve více genech a také faktorech (tzv. onemocnění multifaktoriálního původu). Znamená to tedy, že člověk musí mít pro rozvoj onemocnění určitý genetický základ, ale propuknutí nastane až na základě různých environmentálních vlivů.

Autoimunitních onemocnění existuje celá řada, proto se zde zaměřím pouze na některá z nich. Všechna dále zmíněná onemocnění se vyskytují ve vyspělých zemích. Neexistuje na ně terapie vedoucí k trvalému vyléčení, ale pozitivně reagují na terapii helminty.

#### **3.1 Idiopatické střevní záněty**

Mezi idiopatické střevní záněty (tj. „Inflammatory Bowel Diseases“ = IBD) patří více onemocnění. Mezi nejčastěji se vyskytující patří Crohnova nemoc (tj. „Crohn's disease“ = CD) a ulcerózní kolitida (tj. „ulcerative colitis“ = UC), jež jsou chronická zánětlivá onemocnění převážně tenkého a tlustého střeva.

IBD jsou rozšířena celosvětově. Z dostupných dat lze vyčíst, že se nejčastěji vyskytují u obyvatel Severní Ameriky (CD: 20,2 případů na  $10^5$  obyvatel Kanady, UC: 19,2 případů na  $10^5$  obyvatel Kanady (Bernstein et al., 2006). Další vysoký výskyt najdeme v severní Evropě (CD: 10,6 na  $10^5$  obyvatel Velké Británie (Thompson et al., 1998), UC: 24,3 na  $10^5$  obyvatel Islandu (Shivananda et al., 1996)). V České republice je prevalence Crohnovy nemoci 1,78 na  $10^5$  obyvatel a kolitidy 2,19 na  $10^5$  obyvatel<sup>1</sup> (<http://www.uzis.cz/system/files/cinzdrz2012.pdf>).

Rozvoj onemocnění závisí na genové výbavě jedince. Všichni pacienti trpící Crohnovou nemocí mají společný gen související s autofágií, ATG16L1 (Hampe et al., 2007) a gen pro receptor bakteriálních peptidoglykanů NOD2 (Hugot et al., 2001). U indické populace není NOD2 stěžejní pro vznik CD, ale naopak slabě souvisí s rozvojem kolitidy (Pugazhendhi et al., 2013). Zde se ukazuje, že některé geny vedoucí k rozvoji různých typů IBD mohou být stejné.

Dalším faktorem pro rozvoj idiopatických střevních zánětů jsou environmentální vlivy a socioekonomický status jedince (Blanchard & Bernstein, 2001; Green et al., 2006). Existují ovšem i výzkumy, které nezaznamenaly žádný rozdíl mezi postavením ve společnosti a pravděpodobností vzniku onemocnění (Bernstein et al., 2001).

### 3.1.1 Crohnova nemoc

Crohnova nemoc je chronická zánětlivá reakce s častými recidivami, která může zasáhnout kteroukoliv část gastrointestinálního traktu. Nejčastěji ovšem zasahuje oblast spojení tenkého a tlustého střeva. Zánět charakteristicky proniká celou střevní stěnou a bývá granulomatózního vzhledu. Typickými příznaky jsou průjmy, bolesti břicha, ztráta váhy a krvácení z konečníku. Dříve se tvrdilo, že se jedná o onemocnění řízené Th1 mimo jiné díky produkci IFN- $\gamma$  a IL-12 (Matsuoka et al., 2004). Poslední výzkumy ale ukazují na souvislost s Th17 buňkami (Dige et al., 2013).

Závažnost onemocnění se měří podle hodnot CDAI (Crohn's Disease Activity Index) (Best et al., 1976). Index sčítá 8 proměnných (např. počet řídkých stolic za poslední týden, bolesti břicha, hematokrit, subjektivní hodnocení celkového stavu aj.), které se násobí jejich závažností. Těžká CD je definována jako hodnota CDAI > 450. Remise nastává při poklesu CDAI pod 150.

---

<sup>1</sup> Podle údajů z Programu statistických zjišťování Ministerstva zdravotnictví ČR nelze data považovat za validní, protože jsou zatížena metodickou chybou při sběru dat. Sběr dat probíhá vykazováním onemocnění z jednotlivých zdravotnických zařízení a následně se neprovádí křížová kontrola, zda pacient není současně vykazován jinými zdravotnickými zařízeními. Dále není možné ověřit relevanci údajů o dlouhodobé léčbě (vyřazení pacienta např. na základě úmrtí). V ČR není žádná jiná studie sbírající data o prevalenci výše zmíněných onemocnění.

### 3.1.2 Ulcerózní kolitida

Ulcerózní kolitida je chronické zánětlivé onemocnění zejména tlustého střeva a občas i konečníku, které způsobuje průjemy, krvácení z konečníku a bolesti břicha. Zánět bývá omezen pouze na střevní sliznici a projevuje se charakteristickými vředy. I přes značné podobnosti s Crohnovou nemocí má pravděpodobně jinou příčinu. Původně se myslelo, že se jedná o atypickou Th2 imunitní odpověď s produkcí IL-13 a NK buněk (Fuss et al., 2004), zatímco dnes se zdá, že souvisí s Th17 polarizací (Feng et al., 2011).

Závažnost onemocnění se měří podle hodnot SCCAI (Simple Clinical Colitis Activity Index) (Walmsley et al., 1998). Index sčítá 5 proměnných (např. potřeba defekace, krev ve stolici, subjektivní hodnocení celkového stavu aj.), které hodnotí body 0 až 3 nebo 4. Nevyšší skóre a zároveň nejzávažnější forma onemocnění nastává při čísle 16.

## 3.2 Roztroušená skleróza

Jedná se o chronické degenerativní autoimunitní onemocnění, které postihuje centrální nervovou soustavu a způsobuje rozpad myelinových pochev. Onemocnění je opět multifaktoriálního původu a jeho vznik je závislý na širokém spektru genů a environmentálních faktorů (Gourraud et al., 2012).

V průběhu roztroušené sklerózy (tj. „multiple sclerosis“ = MS) se mohou vyskytnout téměř jakékoliv neurologické příznaky. MS má čtyři základní formy (Lublin & Reingold, 1996), které se projevují různými symptomy. Může se jednat o křeče, pohybové obtíže až po problémy s řečí a zrakem. Dále se mohou vyskytnout výkyvy nálad včetně depresí. Typické je střídání období záchvatů a klidu. Příčinou je pravděpodobně nadměrná aktivita Th17 (Aranami & Yamamura, 2008)

Celosvětově se MS vyskytuje převážně u bělošské populace Severní Ameriky, Evropy, Nového Zélandu a Austrálie. Častější výskyt je u žen než u mužů (Orton et al., 2006). Nejvyšší výskyt je na Orknejských ostrovech (402 nemocných na  $10^5$  obyvatel (Simpson et al., 2011)). V severní Evropě je výskyt častější (Velká Británie 113-285 na  $10^5$  obyvatel (Mackenzie et al., 2014), Norsko 163,6 na  $10^5$  obyvatel (Midgard, 2012)) než v Evropě jižní (Itálie 95 na  $10^5$  obyvatel (Millefiorini et al., 2010)). V České republice byla v roce 2012 prevalence 254 na  $10^5$  obyvatel<sup>1</sup>, přičemž tento údaj MZ ČR nelze považovat za spolehlivý. Jiné zdroje uvádějí odlišná čísla a to 100-130 na  $10^5$  obyvatel (MUDr. Eva Meluzínová, nepublikováno), bohužel ani zde nelze ověřit spolehlivost poskytnutých dat.

### 3.3 Diabetes mellitus 1. typu

Diabetes 1. typu (tj. „type 1 diabetes“ = T1D) je autoimunitní onemocnění, které se začíná projevovat již v dětském věku. Je způsobené zánětem slinivky vedoucím k postupné degradaci  $\beta$ -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. Projevuje se deficitem hormonu inzulínu, jenž je produkován právě těmito ostrůvků, a proto i zvýšenou koncentrací glukózy v krvi. Mezi typické příznaky patří únava, hyperglykémie a diabetická ketoacidóza. Řadí se do Th1 onemocnění (Bending et al., 2009).

Zvýšená incidence diabetu zřejmě souvisí s teorií hygienické hypotézy. U myší, které byly drženy ve sterilních podmínkách, se rozvinul diabetes I. typu mnohem rychleji než u těch, které měly přirozené prostředí (Oldstone, 1988). U člověka lze tento výzkum opět vztáhnout na život ve vyspělých a rozvojových zemích.

V Evropě trpí tímto onemocněním přes 129 000 dětí (0-14 let) (Patterson et al., 2014). Nejvyšší incidence je v severských zemích (Finsko: 57,6 na  $10^5$  obyvatel, Švédsko 43,2 na  $10^5$  obyvatel) (<http://www.idf.org/atlasmap/atlasmap>). V České republice bylo za rok 2012 diagnostikováno téměř 1100 dětí (0-14 let)<sup>1</sup>, což odpovídá incidenci 19,3 nových případů na  $10^5$  obyvatel.

## 4. Experimentální modely

Vzhledem ke stoupající frekvenci výskytu autoimunitních onemocnění je nutné vyvíjet nové a efektivnější léčebné postupy. Z tohoto důvodu je třeba mít experimentální model onemocnění, na kterém se vyzkouší účinnost a bezpečnost nové terapie. Nejčastěji se jako modelová zvířata využívají imunodeficientní myši a potkani, kterým se medikamentózně vyvolává autoimunitní onemocnění. U běžných zvířat by docházelo ke kompenzaci imunitním systémem a ústupu zánětu.

### 4.1 Idiopatické střevní záněty

Je mnoho způsobů, jak vyvolat zánět podobný idiopatickým střevním zánětům. Nejznámější je použití 2,4,6-trinitrobenzensulfonové kyseliny (TNBS) (Morris, 1989) a 2,4-dinitrobenzensulfonové kyseliny (DNBS), jež se aplikují endoskopicky análním otvorem přímo do lumen střeva. Způsobují zde akutní, lokální a krátkodobý zánět. Další možností je dextran sulfát sodný (DSS) (Ishioka et al., 1987). Všechny výše uvedené látky jsou toxické pro epitelální buňky a tím vyvolávají potřebný zánět.

### 4.2 Roztroušená skleróza

V myších modelech je možné vyvolat roztroušenou sklerózu dvěma způsoby. Prvním a nejpoužívanějším je vyvolání experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (EAE). Jedná se o demyelinizující autoimunitní onemocnění vyvolané CD4<sup>+</sup> T buňkami, které se infiltrují skrz hematoencefalickou bariéru. Výhodou jsou velmi podobné projevy jako u roztroušené sklerózy u lidí (Brown et al., 1982). Druhým je TMEV-IDD. Jedná se o přirozený myší patogenní RNA virus, který se řadí do čeledi Picornaviridae. Při dlouhodobé infekci způsobuje demyelinizaci velmi podobnou experimentální autoimunitní encefalomyelitidě (Dal Canto & Lipton, 1975).

### 4.3 Diabetes mellitus I. typu

Myší model se spontánním rozvojem diabetu 1. typu, který byl uměle vyšlechtěn, se nazývá NOD (tj. „non-obese diabetic“). Typickými znaky jsou hyperglykémie s rychlým úbytkem váhy a postupná degradace  $\beta$ -buněk Langerhansových ostrůvků s následným deficitem inzulínu. (Makino et al., 1980). Nedostatek inzulínu vede k diabetické ketoacidóze, která je spojena s apatií, slabostí a může vést až k úmrtí jedince.

## 5. Klasická terapie

Všechna výše zmíněná onemocnění mají podobný typ léčby, kdy hlavním cílem je utlumení zánětu, který jinak vede k nevratným patologickým změnám v těle. Způsobů, jak potlačit zánět, je několik. Nejčastěji se v terapii využívají imunosupresiva a biologická léčba. Krajním řešením u idiopatických střevních zánětů je chirurgický zákrok (resekce poškozené části střeva), který ale u Crohnovy nemoci není konečným řešením nemoci, pouze eliminuje život ohrožující rizika (stenózy, píštěle).

Biologická léčba je založena na cíleném potlačování TNF- $\alpha$  (faktoru nádorové nekrózy) díky anti-TNF- $\alpha$  monoklonálním protilátkám. Jedná se o nejnovější a nejúspěšnější typ léčby, ale i finančně nejnáročnější. S touto terapií je spojen nárůst virových, bakteriálních a houbových onemocnění. Dále bylo při biologické léčbě idiopatických střevních zánětů prokázáno riziko vzniku roztroušené sklerózy a s tím související demyelinizace (Rutgeerts et al., 2004).

Imunosupresiva jsou léky, které potlačují činnost imunitního systému. Patří sem cytostatika a glukokortikoidy. Nevýhodou je neselektivnost léků, díky které nedokáže tělo plně odolávat infekcím a potlačit možné dělení nádorových buněk.

Jedním z používaných cytostatik je azathioprin, který působí na proliferaci T buněk a B buněk imunitního systému. IARC („International Agency for Research on Cancer“) řadí azathioprin do karcinogenní skupiny léků („Azathioprine.“ 2011). Při pravidelném užívání tudíž stoupá riziko vzniku rakoviny. Příbalový leták Imuranu, léku, jehož účinná látka je azathioprin, řadí mezi velmi časté vedlejší účinky (u 1/10 pacientů) utlumení funkce tvorby leukocytů v kostní dřeni a z toho vyplývající snížení jejich počtu.

Mezi glukokortikoidy patří dexametazon (DEX) odvozený od kortizolu. Působí protizánětlivě a tlumí produkci CD4+ lymfocytů. Mezi časté vedlejší účinky patří bolesti břicha, deprese, úzkostné stavy, přírůstek tělesné hmotnosti a při dlouhodobém užívání i osteoporóza (Melon et al., 2010).

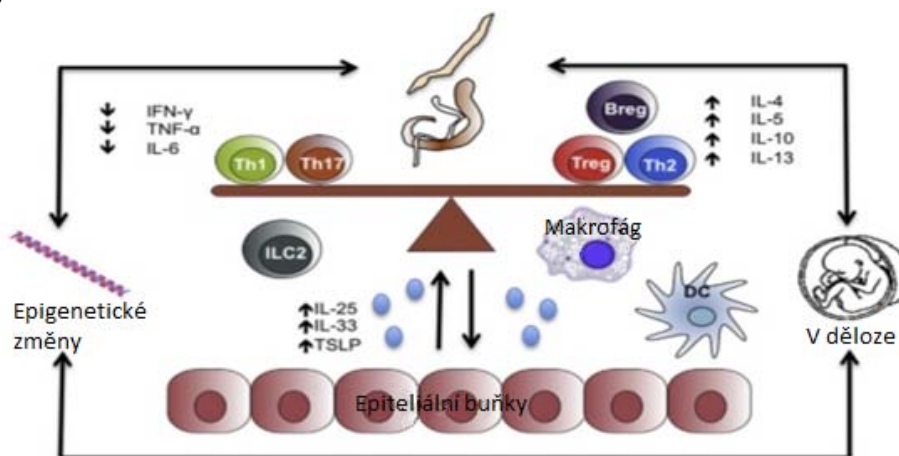
Chirurgická léčba se týká hlavně idiopatických střevních zánětů. Přichází na řadu v případě, že je ve střevě zánět, který již nelze potlačit léky. Přibližně 20% pacientů trpící kolitidou podstoupí kvůli onemocnění v průběhu života chirurgický zákrok. U pacientů s Crohnovou nemocí se jedná přibližně o 80% všech případů (Sica & Biancone, 2013). U CD je cílem alespoň krátkodobé potlačení příznaků nemoci a zároveň ponechání co nejdelší části střeva. V případě odebrání tlustého střeva u UC přichází trvalé vyléčení, avšak v podobě celoživotních metabolických následků.

## 6. Terapie helminty

Z důvodu závažných vedlejších účinků klasické terapie a nevyлéčitelnosti onemocnění se začalo pátrat po alternativní léčbě. V roce 2003 se objevila možnost terapie pomocí helmintů (Summers et al., 2003). Předpokládá se, že helminti mají několik možností jak ovlivnit imunitní systém (Weinstock, 2012). Jsou schopni způsobit změny v hostitelově těle, které vedou k aktivaci regulačních T buněk. Tyto buňky tlumí imunitní odpověď a zvyšují produkci regulačních molekul jako například protizánětlivého IL-10 a transformujícího růstového faktoru- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), který kontroluje proliferaci a diferenciaci většiny buněk. Dále pak působí na regulační dendritické buňky a makrofágy. Jejich namnožením se zabrání přepnutí na Th1 imunitní odpověď, která pak v těle vede k zánětlivé reakci. Většina helmintóz souvisí s Th2 imunitní odpovědí. Zároveň způsobují změny bakteriálního složení střevního mikrobiomu. Helminti jsou schopni ovlivnit výskyt přibližně 13% rodů střevních bakterií a asi 26% všech metabolických drah ve střevech (Li et al., 2012). Při léčbě chronických průjmů u makaků (*Macaca mulatta*) bylo prokázáno, že infekce hlísticí *Trichuris suis* mění složení střevních bakterií z těch, které převládají při zánětu, na ty které se běžně vyskytují ve zdravém jedinci (Broadhurst et al., 2012).

### Obr. 2. Modulace imunitního systému helminty (Khan & Fallon, 2013, upraveno)

Helminti působí na epiteliální buňky a tím způsobují produkci IL-25, IL-33 a thymového stromálního lymfopoetinu (TSLP). Vše působí na lymfoidní buňky typu 2 (ILC2), které vedou k produkci IL-4, IL-5 a IL-13. Výsledkem je Th2 odpověď. Při helmintóze je v těle zvýšené množství regulačních B buněk (Breg), které produkují IL-10 a zároveň mohou přes T buňky (Treg) působit imunosupresivně. Spolu s dendritickými buňkami (DC) a makrofágy tlumí Th1 a Th17 buňky, které souvisí s počáteční zánětlivou reakcí. Díky evoluční regulaci mohou helminti ovlivnit imunitní odpověď stejně jako různé epigenetické regulace a klíčové vývojové etapy v životě (v děloze a raném dětství)



# 7. Helminti vhodné pro terapii

Helmintem je označován živočich patřící do kmene hlístic (Nematoda), ploštěnců (Platyhelminthes), strunovců (Nematomorpha), vrtejšů (Acantocephala) a kroužkovců (Annelida).

Mezi nejčastěji využívané helminty v terapii autoimunitních onemocnění patří kmeny Nematoda a Platyhelminthes. Terapeuticky nejznámější hlísti jsou *Trichuris suis* a *Necator americanus*.

Společnými znaky kmene jsou protáhlá, nesegmentovaná těla s odolnou kutikulou (tegument). Mají pseudocoelní tělní dutinu. Většinou se jedná o gonochoristy, kteří během vývoje prochází čtyřmi stádii larev (L1-L4).

Nejznámější ploštěnci s terapeutickým potenciálem jsou *Schistosoma mansoni* a *Hymenolepis diminuta*. Některými kmenově společnými znaky jsou bilaterálně symetrické, zploštělé tělo, na jehož povrchu je tegument. Nemají tělní dutinu, anus a dýchací ani cévní soustavu. Jedná se převážně o hermafrodity.

## 7.1 *Trichuris suis*

Tenkohlavec prasečí je přirozený parazit prasat a člověk není jeho přirozený hostitel. Řadí se mezi hlístice (Nematoda), řádu Enoplida. Blízce příbuzný je *Trichuris trichiura*, tenkohlavec lidský.

*Trichuris suis* je schopen krátkodobě parazitovat v člověku, kde dokáže přepnout polarizaci na Th2 odpověď, která ve výsledném efektu napomáhá k utlumení zánětu.

### 7.1.1 Životní cyklus

Životní cyklus tenkohlavce je přímý, tzn. bez mezihostitele. Vajíčka *T. suis* se stávají infekčními po vytvoření infekční larvy L1. Další jedinec se infikuje požitím takového vajíčka s L1 larvou.

Žaludeční a střevní trávicí enzymy naruší pólové zátky vajíček a ve dvanáctníku se z nich líhnou larvy (L1), které se několikrát svlékají (L2, L3, L4). Dospívají (L5) za 6-8 týdnů v tlustém střevě (tzv. prepatentní perioda). Dospělí červi produkují vajíčka, která odchází z těla se stolicí. Ta se stávají infekčními až po několika týdnech či měsících strávených v půdě.

### 7.1.2 Využití v léčbě

V případě infekce člověka tímto helmintem se rozvine Th2 imunitní odpověď, která je spojena s produkcí IL-4 a IL-13. Následuje útlum Th1 buněk a jimi vyvolaného zánětu.

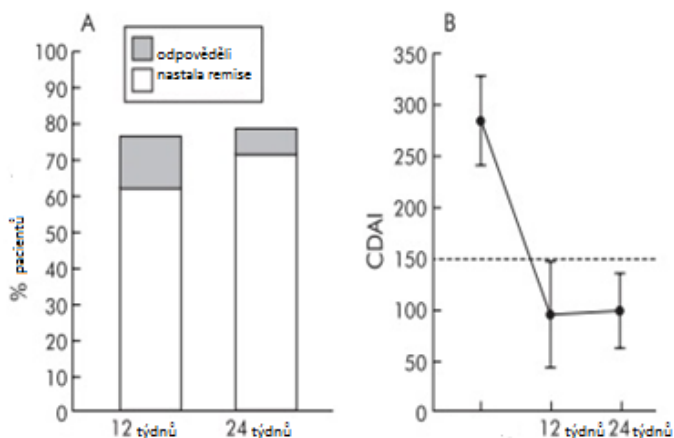
V dnešní době je možné koupit vajíčka *T. suis* (*Trichuris suis* ova = TSO; <http://www.ovamed.de/>) pro terapeutické účely. Terapie TSO je založena pouze na larvální fázi *T. suis*. Larvální stádium stačí k tomu, aby se imunitní odpověď změnila. TSO jsou záměrně upravena UV zářením. Ozáření

oslabí jedince a sníží jeho schopnost dlouhodobě přežít (Ademola Isaiah Oluwafemi, 2004). Je to také důvod, proč se musí lidé při terapii TSO infikovat každé 2 týdny - udržuje se tak larvální fáze.

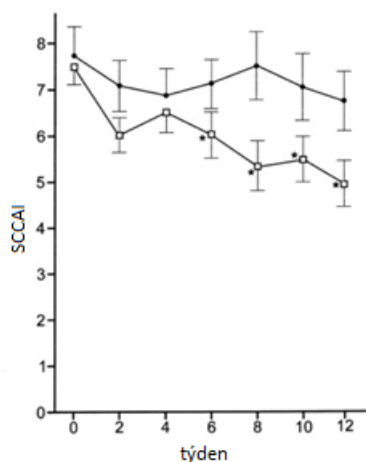
V počátcích terapie hlísticí *T.suis* pacienti věděli, že jsou nakaženi a tudíž nebylo možné vyloučit vysoký placebo efekt (Summers et al., 2005). Další studie proto byly dvojité zaslepené a pacienti ani lékaři nevěděli, kdo je infikován. Výsledky jsou věrohodnější, protože nejsou zatíženy chybou způsobenou placebo efektem (Summers et al., 2005). V grafech 1 a 2 jsou zaznamenané výsledky výše zmíněných studií. Vidíme zde trend vedoucí k poklesu klinických příznaků způsobený terapií helminty.

Zjišťuje se, že terapie nezpůsobuje žádné vážné nežádoucí účinky ani komplikace a považuje se za bezpečnou ( Summers et al., 2003; Summers et al., 2005; Fleming et al., 2011).

**Graf 1. Pokles aktivity Crohnovy nemoci po infekci *T. suis*** (Summers et al., 2005, upraveno)  
Graf znázorňuje 29 pacientů s Crohnovou nemocí: (A) Procento pacientů, kteří dosáhli remise ve 12 a 24 týdnu po infekci *T. suis* (2500 vajíček každé 3 týdny). (B) Snížení indexu měřící aktivitu Crohnovy nemoci (CDAI) a s tím spojený pokles zánětu ve 12 a 24 týdnu terapie



**Graf 2. Pokles aktivity ulcerózní kolitidy po infekci *T. suis*.** (Summers et al., 2005, upraveno) Graf znázorňuje 54 pacientů s ulcerózní kolitidou. Horní čára s plnými tečkami ukazuje placebo kontrolu a dolní ukazuje signifikantní pokles indexu měřící aktivitu kolitidy (SCCAI) při požití 2500 vajíček *T. suis* každé 2 týdny po 12 týdnů



Vajíčka *T. suis* byla použita i k léčbě roztroušené sklerózy. V jedné ze studií trvající 12 týdnů (Fleming et al., 2011) pacienti nezaznamenali žádnou změnu v klinických příznacích. Na utlumení onemocnění to je pravděpodobně krátká doba. Signifikantně nižší množství relapsů (exacerbací) a zpomalení progresu je zaznamenáno při pětiletém sledování pacientů s roztroušenou sklerózou, kteří byli po celou dobu infikováni parazity (3 pacienti s *Hymenolepis nana*, 3 s *Trichuris trichiura*, 3 s *Ascaris lumbricoides*, 2 s *Strongyloides stercoralis*, 1 s *Enterobius vermicularis*) (Correale & Farez, 2007). Za celou dobu se u nich objevily pouze 3 relapsy v porovnání s 56 u neinfikované skupiny.

## 7.2 *Necator americanus*

Měchovec americký je hlístice (Nematoda), třídy Secernentea, řádu Strongylida, která parazituje na člověku. Má mohutnou ústní kapsulu obsahující zuby nebo kutikulární destičky. Těmi je schopen se přichytit k mukóze střeva a v případě vyššího počtu mohou způsobit anémii.

### 7.2.1 Životní cyklus

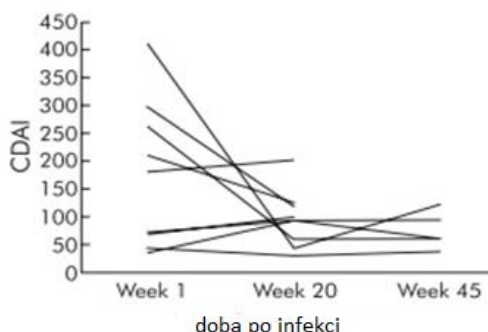
Člověk se nakazí aktivní penetrací larev z půdy (L3; L1 a L2 se živí bakteriemi) nebo perorálně. Larvy dále migrují cévami do srdce a do plic. Zde pronikají plicními sklípky, dostávají se do průdušek, hltanu a spolknutím doputují do tenkého střeva (L4). V případě perorální nákazy pronikají L3 do krve sliznicí ústní dutiny. Ve střevě napadají tkáň stěny, ze které sají krev.

## 7.2.2 Využití v léčbě

V roce 2006 se na několika dobrovolnících zjistilo, že infekce 10 larvami *N. americanus* je dobře tolerovaná (Mortimer et al., 2006). Větší množství (50 larev) způsobovalo bolesti břicha, průjemy a zvracení. Další výzkum, ve kterém byli infikováni astmatictí pacienti 10 larvami, nevedl k žádnému signifikantnímu zlepšení příznaků (Feary et al., 2010). Pokusy s alergiky dopadly podobně (Blount et al., 2009). Úspěch byl zaznamenán až u pacientů s Crohnovou nemocí (Croese, 2006), kdy se po infekci *N. americanus* snížil index měřící aktivitu onemocnění (Graf 3). Tento útlum byl zaznamenán i 45 týdnů po infekci. Ukazuje se tím možné řešení, jak dlouhodobě alternativně udržet stadium remise.

### Graf 3. Změna aktivity Crohnovy nemoci po infekci *N.americanus* (Croese et al., 2006)

Graf znázorňuje počáteční index měřící aktivitu onemocnění (CDAI) u jednotlivých pacientů s Crohnovou nemocí a trend vedoucí k poklesu ve 20 týdnů a ve 45 týdnů po infekci.



## 7.3 *Schistosoma mansoni*

Krevnička střešní patří do třídy motolic (Trematoda), čeledi Schistosomatidae. Nejčastěji parazituje v tlustém střevě a játrech. Rod *Schistosoma* způsobuje onemocnění schistosomózu. Podle WHO ročně na toto onemocnění potřebuje preventivní léčbu až 249 milionů lidí (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>).

Problémem infekce schistosomou jsou závažné patologické příznaky způsobené jejími vajíčky. Patří sem horečka Katayama, hepatosplenomegalie a u žen může nastat schistosomóza pohlavního traktu. Projevuje se gynekologickými obtížemi, které vedou až ke sterilitě (Poggensee et al., 2000).

### 7.3.1 Životní cyklus

Vajíčka jsou vylučována stolicí, ze kterých se ve vodním prostředí líhnou miracidia, jež vyhledávají mezihostitele, vodního plže. V něm se vyvíjí sporocysty a cercarie. Ty opouští plže a aktivně penetrují do kůže definitivního hostitele – člověka. V lidském těle se z nich stávají schistosomuly, které migrují do vrátnicové žíly, kde dospívají. Dospělci schistosom jsou gonochoristé a ve střevním mesenteriu se párují s opačným pohlavím. Poté nastává produkce vajíček. 6-8 týdnů po

naklazení vajíček se v těle rozvine prudká Th2 imunitní reakce na infekci parazitem (Grzych et al., 1991).

### 7.3.2 Využití v léčbě

Vajíčka schistosom obsahují obrovské množství protizánětlivých molekul. Příkladem je možno zmínit oligosacharid lakto-N-fukopentózu III (LNFP III). V jeho přítomnosti začnou B-buňky produkovat IL-10 a tím podpoří rozvoj Th2 imunitní odpovědi (Velupillai et al., 1997). Za zmínku stojí i protein *S. mansoni* vázající chemokiny (smCKBP) (Smith et al., 2005). Jedná se o první popsany protein vázající chemokiny u lidského parazita s možnými protizánětlivými účinky. Je schopen utlumit funkci neutrofilů, které se účastní akutní fáze zánětu.

Infekce vajíčky *S. mansoni* brání rozvoji diabetu I. typu u myší (Cooke et al., 1999). Může za to vysoká produkce IL-2, IL-4 a IL-10 a schopnost potlačit zánětlivý IFN- $\gamma$  (Vella & Pearce, 1992; Zacccone et al., 2003, Ruysers et al., 2009). To vše souvisí s přepnutím na Th2 imunitní odpověď v organismu.

Hlavní výhodou léčby *S. mansoni* je to, že není potřeba použít živého jedince. K vyvolání imunitní odpovědi stačí pouze proteiny, které obsahují umrtvená vajíčka.

## 7.4 *Hymenolepis diminuta*

*Hymenolepis diminuta* je tasemnice (Cestoda) patřící do řádu Cyclophyllidea, čeledi Hymenolepididae. Dorůstá průměrně 30-60 centimetrů. Definitivním hostitelem jsou hlodavci, ale nakazit se může i člověk.

### 7.4.1 Životní cyklus

Vajíčka opouštějí definitivního hostitele (převážně hlodavce) s výkaly do okolí, kde se nakazí mezihostitel jejich pozřením. Jedná se o různý hmyz (Insecta), zejména pak blechy a brouky, ve kterých se z onkosféry vytváří cysticerkoid. Ten je infekční pro definitivního hostitele. V případě, že je mezihostitel pozřen savčím definitivním hostitelem, vyvíjí se dospělá tasemnice. Ta se pak skolexem přichytne na stěnu tenkého střeva.

### 7.4.2 Využití v léčbě

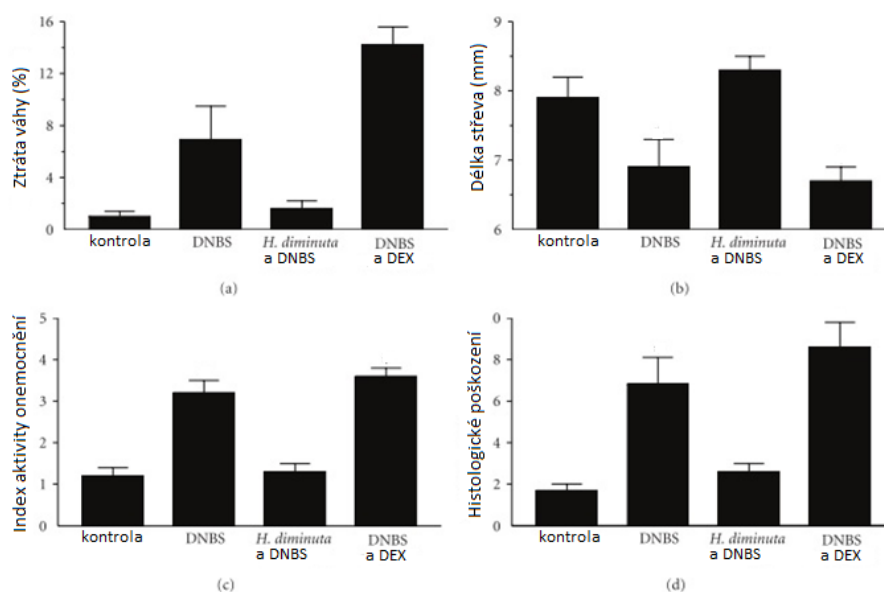
První výzkum proběhl již v roce 2001 (Reardon et al., 2001), aby otestoval hypotézu schopnosti helmintů modulovat imunitní systém. Jedním z důvodů výběru *H. diminuta* bylo to, že tak patogenní jako jiní střevní helminti. U myší byla následně dextran sulfátem sodným vyvolaná

kolitida. Infekce *H. diminuta* prokázala, že tasemnice je schopná vyrovnávat narušený iontový transport v epitelu střeva způsobený zánětem. Příčina tohoto jevu je ve změně Th1 imunitní odpovědi, související s kolitidou, na Th2.

Terapie živou tasemnicí se prokázala být efektivnější než léčba kortikoidem dexametazonem (Graf 5, Melon et al., 2010). K porovnání byly využity tři skupiny myší. První s kolitidou vyvolanou DNBS, druhá s DNBS léčená tasemnicí *H. diminuta* a třetí s DNBS léčená dexametazonem. Jak *H. diminuta*, tak léčba DEXem utlumila onemocnění oproti kontrole. Skupina s tasemnicí však měla méně vedlejších příznaků a vyšší úspěšnost léčby.

**Graf 5. Porovnání účinků léčby dexametazonem a tasemnicí *H. diminuta*** (Melon 2010, upraveno)

8 dní po DNBS vyvolání kolitidy se měří průběh onemocnění na základě: (a) tělesné váhy, (b) délky střeva, (c) indexu aktivity onemocnění, (d) histologického stavu. Ve všech grafech (a-d) vidíme pozitivní a méně invazivní účinky *H. diminuta* v porovnání s dexametazonem (DEX)



V případě vyvolání kolitidy oxazolonom (chemický alergen) a následné terapii tasemnicí *H. diminuta* dochází ke zhoršení průběhu onemocnění (Wang et al., 2010). Příčina je ve zvýšené hladině IL-5 a s tím související vyšší produkce eozinofilů. Výsledkem je vysoká permeabilita epitelii, která zhoršuje průběh zánětu. V případě utlumení IL-5 je utlumen i zánět. Toto platí pouze u oxazolonom vyvolané kolitidy. V klinických studiích (Summers et al., 2005) nebyly zaznamenány zvýšené hodnoty IL-5. I přesto, že se oxazolonom indukovaná kolitida úplně nepodobá ulcerózní kolitidě, ukazuje se, že vysoká hladina eozinofilů může rušit protizánětlivé účinky helmintů.

Důležité je zmínit fakt, že ulcerózní kolitida je utlumena pouze v případě infekce životaschopným

jedinec *H. diminuta* (Hunter et al., 2005). Není zatím možné využít samotné parazitární proteiny jako u terapie *S. mansoni*.

## 8. Nežádoucí účinky parazitární terapie

Mezi jedno z nejčastěji zmiňovaných rizik v terapii *T. suis* patří možnost vycestování larev do krevního řečiště, případně lymfatických cév, během migrace larev *T. suis* v lamina propria. Vychází z faktu, že pohyb larev parazitů v náhodných (paratenických) hostitelích je často nepředvídatelný a tím může způsobit závažné patologické následky (Van Kruiningen & West, 2005). Ve skutečnosti však v klinických studiích nebyl zatnomenán žádný případ abnormálního cestování larev *T. suis*.

Dále byl popsán případ (Kradin et al., 2006), kdy larvy *T. suis* přežily do dospělosti, a tudíž byly schopné se začít rozmnožovat. Zde se ukazuje, že ani při ozáření larev UV světlem nedokážeme kontrolovat vývoj *T. suis* v těle.

Helminti jsou dále schopni ovlivnit chování jedince (Bercik et al., 2010). U myší infikovaných *Trichuris muris* byly zjištěny úzkostné stavy a zaznamenány změny v biochemických pochodech centrální nervové soustavy. Proteomické analýzy ukázaly pozměněné hladiny několika proteinů spojených se zánětem a nervovou funkcí. Jednalo se o nárůst TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  a o pokles hipokampální BDNF mRNA („brain-derived neurotrophic factor messenger RNA“). Dále nastala změna v metabolismu tryptofanu a vzrostly hodnoty kynureninu, které s nedostatkem BDNF vedly k rozvoji úzkostí a depresí. Existuje tak určitá šance, že podobně bude reagovat i lidský organismus.

Výše zmíněná nebezpečí byla zaznamenána převážně na zvířatech a to v ojedinělých případech. Rizika terapie helminty existují, ale jimi vyvolané vedlejší účinky jsou mírnější než v klasické terapii, která zahrnuje imunosupresiva a biologickou léčbu.

## 9. Závěr

Ukazuje se, že ohlídání životních cyklů parazitů při rozsáhlém terapeutickém využití není možné. Nedokážeme kontrolovat množství aplikovaných vajíček (respektive larev) s množstvím jedinců, kteří nakonec v těle dosáhnou dospělosti. Proto se vědci postupně uchylují k možnosti využití imunologicky aktivních parazitárních proteinů. To by mohlo mimo jiné pomoci překonat psychické problémy pacientů při infekci živým helmintem.

Na druhou stranu živý organismus dokáže v těle působit na rozsáhlé množství imunitních mechanismů, které nedokážeme nahradit jednotlivými parazitárními proteiny. Proto někteří vědci tvrdí (Weinstock, 2012), že budoucnost léčby parazity spočívá v jejich kontrolovaném navrácení do našeho těla. Obě možnosti však dávají šanci lidem, kteří musí celoživotně užívat imunosupresiva nebo jiné preparáty na potlačení činnosti imunitního systému.

Využití helmintů v terapii je probádáno zejména na úrovni imunologické. Nedávno se ale zjistilo, že jsou schopni ovlivnit i střevní mikrobiom, který také působí na zlepšení zdravotního stavu pacientů. Složení mikrobiomu se během zánětu mění, a proto byla také prokázána dysbióza u různých imunitně zprostředkovaných onemocnění (např. idiopatických střevních zánětů, alergií aj.). Ve své budoucí diplomové práci bych se chtěla zaměřit na změnu střevního mikrobiomu u zdravých, nemocných a parazity infikovaných jedinců. Působení helmintů na mikrobiom je pravděpodobně jedna z nezbytných věcí, které jsou potřeba k potlačení autoimunitně založených onemocnění.

## 10. Seznam použité literatury

- Aaltonen, J., & Björnses, P. (1999). Cloning of the APECED gene provides new insight into human autoimmunity. *Annals of Medicine*, 31(2), 111–6.
- Ademola Isaiah Oluwafemi, A. J. A. (2004). Effect of ultraviolet radiation on the hatchability and survival of eggs and larvae of sheep nematode. *Journal of Veterinary Science*, 5(1), 59 – 62.
- Aranami, T., & Yamamura, T. (2008). Th17 Cells and autoimmune encephalomyelitis (EAE/MS). *Allergology International : Official Journal of the Japanese Society of Allergology*, 57(2), 115–20.
- Azathioprine. (2011). *Report on Carcinogens : Carcinogen Profiles / U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program*, 12, 57–8.
- Bending, D., De la Peña, H., Veldhoen, M., Phillips, J. M., Uyttenhove, C., Stockinger, B., & Cooke, A. (2009). Highly purified Th17 cells from BDC2.5NOD mice convert into Th1-like cells in NOD/SCID recipient mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(3), 565–72.
- Bernstein, C. N., Kraut, A., Blanchard, J. F., Rawsthorne, P., Yu, N., & Walld, R. (2001). The relationship between inflammatory bowel disease and socioeconomic variables. *The American Journal of Gastroenterology*, 96(7), 2117–25.
- Bernstein, C. N., Wajda, A., Svenson, L. W., MacKenzie, A., Koehoorn, M., Jackson, & M., Blanchard, J. F. (2006). The epidemiology of inflammatory bowel disease in Canada: a population-based study. *The American Journal of Gastroenterology*, 101(7), 1559–68.
- Best, W. R., Bechtel, J. M., Singleton, J. W., & Kern, F. (1976). Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*, 70(3), 439–44.
- Blanchard, J., & Bernstein, C. (2001). Small-area variations and sociodemographic correlates for the incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis. *American Journal of Gastroenterology*, 154(4), 328–335.
- Brown, A., McFarlin, D. E., & Raine, C. S. (1982). Chronologic neuropathology of relapsing experimental allergic encephalomyelitis in the mouse. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 46(2), 171–85.
- Dal Canto, M. C., & Lipton, H. L. (1975). Primary demyelination in Theiler's virus infection. An ultrastructural study. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 33(6), 626–37.
- Dige, A., Støy, S., Rasmussen, T. K., Kelsen, J., Hvas, C. L., Sandahl, T. D., & Agnholt, J. (2013). Increased levels of circulating Th17 cells in quiescent versus active Crohn's disease. *Journal of Crohn's & Colitis*, 7(3), 248–55.
- Elliott, D. E., Urban JF, J. R., Argo, C. K., & Weinstock, J. V. (2000). Does the failure to acquire helminthic parasites predispose to Crohn's disease? *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 14(12), 1848–55.

- Feng, T., Qin, H., Wang, L., Benveniste, E. N., Elson, C. O., & Cong, Y. (2011). Th17 cells induce colitis and promote Th1 cell responses through IL-17 induction of innate IL-12 and IL-23 production. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 186(11), 6313–8.
- Fleming, J. O., Isaak, A., Lee, J. E., Luzzio, C. C., Carrithers, M. D., Cook, T. D., & Fabry, Z. (2011). Probiotic helminth administration in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 1 study. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 17(6), 743–54.
- Fuss, I. J., Heller, F., Boirivant, M., Leon, F., Yoshida, M., Fichtner-Feigl, S., & Strober, W. (2004). Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *The Journal of Clinical Investigation*, 113(10), 1490–7.
- G P Morris, P. L. B. (1989). Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*, 96(3), 795 – 803.
- Gent, A. E., Hellier, M. D., Grace, R. H., Swarbrick, E. T., & Coggon, D. (1994). Inflammatory bowel disease and domestic hygiene in infancy. *Lancet*, 343(8900), 766–7.
- Gourraud, P.-A., Harbo, H. F., Hauser, S. L., & Baranzini, S. E. (2012). The genetics of multiple sclerosis: an up-to-date review. *Immunological Reviews*, 248(1), 87–103.\*
- Green, C., Elliott, L., Beaudoin, C., & Bernstein, C. N. (2006). A population-based ecologic study of inflammatory bowel disease: searching for etiologic clues. *American Journal of Epidemiology*, 164(7), 615–23.
- Gwatkin, D. R., Guillot, M., & Heuveline, P. (1999). The burden of disease among the global poor. *Lancet*, 354(9178), 586–9.
- Hampe, J., Franke, A., Rosenstiel, P., Till, A., Teuber, M., Huse, K., & Schreiber, S. (2007). A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nature Genetics*, 39(2), 207–11.
- Harrington, L. E., Hatton, R. D., Mangan, P. R., Turner, H., Murphy, T. L., Murphy, K. M., & Weaver, C. T. (2005). Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nature Immunology*, 6(11), 1123–32.
- Hugot, J. P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cézard, J. P., Belaiche, J., & Thomas, G. (2001). Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411(6837), 599–603.
- Hunter, M. M., Wang, A., Hirota, C. L., & McKay, D. M. (2005). Neutralizing anti-IL antibody blocks the protective effect of tapeworm infection in a murine model of chemically induced colitis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 174(11), 7368–75.
- Ishioka, T., Kuwabara, N., Oohashi, Y., & Wakabayashi, K. (1987). Induction of colorectal tumors in rats by sulfated polysaccharides. *Critical Reviews in Toxicology*, 17(3), 215–44.\*
- Khan, A. R., & Fallon, P. G. (2013). Helminth therapies: translating the unknown unknowns to known knowns. *International Journal for Parasitology*, 43(3-4), 293–9.\*

- Lublin, F. D., & Reingold, S. C. (1996). Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology*, *46*(4), 907–11.
- Mackenzie, I. S., Morant, S. V, Bloomfield, G. A., MacDonald, T. M., & O’Riordan, J. (2014). Incidence and prevalence of multiple sclerosis in the UK 1990-2010: a descriptive study in the General Practice Research Database. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *85*(1), 76–84.
- Makino, S., Kunimoto, K., Muraoka, Y., Mizushima, Y., Katagiri, K., & Tochino, Y. (1980). Chronologic neuropathology of relapsing experimental allergic encephalomyelitis in the mouse. *Jikken Dobutsu. Experimental Animals*, *29*(1), 1–13.
- Matsuoka, K., Inoue, N., Sato, T., Okamoto, S., Hisamatsu, T., Kishi, Y., Hibi, T. (2004). T-bet upregulation and subsequent interleukin 12 stimulation are essential for induction of Th1 mediated immunopathology in Crohn’s disease. *Gut*, *53*(9), 1303–8.
- Melon, A., Wang, A., Phan, V., & McKay, D. M. (2010). Infection with *Hymenolepis diminuta* is more effective than daily corticosteroids in blocking chemically induced colitis in mice. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, *2010*, 384523.
- Midgard, R. (2012). Incidence and prevalence of multiple sclerosis in Norway. *Acta Neurologica Scandinavica. Supplementum*, (195), 36–42.
- Millefiorini, E., Cortese, A., Di Rezze, S., Barletta, G., Bellantonio, P., Batocchi, A. P., Durastanti, V. (2010). The prevalence of multiple sclerosis in central Italy. *Multiple Sclerosis*, *16*(12), 1432–6.
- Mosmann, T. R., Cherwinski, H., Bond, M. W., Giedlin, M. A., & Coffman, R. L. (1986). Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *Journal of Immunology*, *136*(7), 2348–57.
- Oldstone, M. B. (1988). Prevention of type I diabetes in nonobese diabetic mice by virus infection. *Science*, *239*(4839), 500–2.
- Orton, S.-M., Herrera, B. M., Yee, I. M., Valdar, W., Ramagopalan, S. V, Sadovnick, A. D., & Ebers, G. C. (2006). Sex ratio of multiple sclerosis in Canada: a longitudinal study. *Lancet Neurology*, *5*(11), 932–6.
- Park, H., Li, Z., Yang, X. O., Chang, S. H., Nurieva, R., Wang, Y.-H., Dong, C. (2005). A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nature Immunology*, *6*(11), 1133–41.
- Patterson, C., Guariguata, L., Dahlquist, G., Soltész, G., Ogle, G., & Silink, M. (2014). Diabetes in the young - a global view and worldwide estimates of numbers of children with type 1 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *103*(2), 161–75.
- Perzanowski, M. S., Ng’ang’a, L. W., Carter, M. C., Odhiambo, J., Ngari, P., Vaughan, J. W., Platts-Mills, T. A. E. (2002). Atopy, asthma, and antibodies to *Ascaris* among rural and urban children in Kenya. *The Journal of Pediatrics*, *140*(5), 582–8.

- Pugazhendhi, S., Santhanam, S., Venkataraman, J., Creveaux, I., & Ramakrishna, B. S. (2013). NOD2 gene mutations associate weakly with ulcerative colitis but not with Crohn's disease in Indian patients with inflammatory bowel disease. *Gene*, *512*(2), 309–13.
- Rook, G. a W. (2012). Hygiene hypothesis and autoimmune diseases. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, *42*(1), 5–15.\*
- Rook, G. A. W., Martinelli, R., & Brunet, L. R. (2003). Innate immune responses to mycobacteria and the downregulation of atopic responses. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, *3*(5), 337–42.
- Rutgeerts, P., van Assche, G., & Vermeire, S. (2004). Optimizing anti-TNF treatment in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, *126*(6), 1593–1610.
- Shivananda, S., Lennard-Jones, J., Logan, R., Fear, N., Price, A., Carpenter, L., & van Blankenstein, M. (1996). Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut*, *39*(5), 690–7.
- Simpson, S., Blizzard, L., Otahal, P., Van der Mei, I., & Taylor, B. (2011). Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *82*(10), 1132–41.
- Smith, P., Fallon, R. E., Mangan, N. E., Walsh, C. M., Saraiva, M., Sayers, J. R., & Fallon, P. G. (2005). *Schistosoma mansoni* secretes a chemokine binding protein with antiinflammatory activity. *The Journal of Experimental Medicine*, *202*(10), 1319–25.
- Strachan, D. P. (1989). Household size, Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *299*(6710), 1259–60.
- Summers, R. W., Elliott, D. E., Qadir, K., Urban, J. F., Thompson, R., & Weinstock, J. V. (2003). *Trichuris suis* seems to be safe and possibly effective in the treatment of inflammatory bowel disease. *The American Journal of Gastroenterology*, *98*(9), 2034–41.
- Summers, R. W., Elliott, D. E., Urban, J. F., Thompson, R. a., & Weinstock, J. V. (2005). *Trichuris suis* therapy for active ulcerative colitis: A randomized controlled trial. *Gastroenterology*, *128*(4), 825–832.
- Summers, R. W., Elliott, D. E., Urban, J. F., Thompson, R., & Weinstock, J. V. (2005). *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut*, *54*(1), 87–90.
- Thompson, N. P., Fleming, D. M., Charlton, J., Pounder, R. E., & Wakefield, A. J. (1998). Patients consulting with Crohn's disease in primary care in England and Wales. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, *10*(12), 1007–12.
- Van Kruiningen, H. J., & West, B. A. (2005). Potential Danger in the Medical Use of *Trichuris suis* for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, *11*(5), 515.
- Walmsley, R. S., Ayres, R. C., Pounder, R. E., & Allan, R. N. (1998). A simple clinical colitis activity index. *Gut*, *43*(1), 29–32.
- Weinstock, J. V. (2012). Autoimmunity: The worm returns. *Nature*, *491*(7423), 183–5.

## **Ostatní zdroje:**

Činnost zdravotnických zařízení ve vybraných oborech léčebně preventivní péče 2012. *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR* [online]. 2012 [cit. 2014-04-16]. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/system/files/cinzdrz2012.pdf>

IDF Diabetes Atlas Sixth Edition. *International Diabetes Federation* [online]. 2014 [cit. 2014-04-16]. Dostupné z: <http://www.idf.org/atlasmap/atlasmap>

Schistosomiasis. *World Health Organization* [online]. 2014 [cit. 2014-04-16]. Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>

*Ovamed* [online]. 2003, 2014 [cit. 2014-04-22]. Dostupné z: <http://www.ovamed.de/>

\* review