



Látky zo slín kliešťov môžu poslúžiť pri liečbe mnohých ochorení

PROGRESÍVNE ZDRAVOTNÍCTVO

Výskum kliešťov prináša poznatky nielen na poli boja s týmito všadeprítomnými parazitmi, ale prekvapujúco aj v oblasti ich využitia vo forme liečiv pri rôznych ochoreniach. Kliešť, ktorý je všeobecne považovaný za nebezpečného parazita, môže v blízkej budúcnosti človeku poslúžiť aj ako zdroj látok účinných v liečbe ochorení zrážanlivosti krvi, pri imunitných poruchách či dokonca pri onkologických ochoreniach.

O kliešťoch, ich druhoch, výskyte, o nebezpečenstvách plynúcich z kontaktu kliešťa s človekom, ale aj o výskume vedúcom k potenciálnemu využitiu kliešťov v medicíne a k vývinu protikliešťových vakcín, sme sa rozprávali s doktorkou Máriou Kazimírovou z Ústavu zoológie Slovenskej akadémie vied.



Autor: Anna Martausová
Foto: Ivan Majerský, archív
RNDr. Mária Kazimírová,
Shutterstock

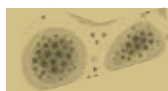
Aké sú najbežnejšie druhy kliešťa na Slovensku? V ktorých oblastiach sú najviac rozmnožené?

Medzi epidemiologicky významné druhy kliešťov na Slovensku patria: kliešť obyčajný (*Ixodes ricinus*), pijak lužný (*Dermacentor reticulatus*), pijak stepný (*Dermacentor marginatus*), kliešť lužný (*Haemaphysalis concinna*), kliešť stepný (*Haemaphysalis punctata*) a kliešť lesostepný (*Haemaphysalis inermis*). Najvýznamnejším je však kliešť obyčajný, ktorý je najpočetnejší a vyskytuje sa takmer na celom území Slovenska v prostredí, kde má vhodné podmienky pre život a vývin, a to dostatočnú vlhkosť a teplotu a prítomnosť hostiteľov. Vyskytuje sa predovšetkým vo vyšších trávnatých porastoch (lúky, pasienky), v listnatých a zmiešaných lesoch, na okraji lesov, pozdĺž lesných ciest. Hojne sa vyskytuje aj v suburbaných a urbánných lokalitách (záhrady, cintoríny, parky, lesoparky). Bežne sa vyskytuje do nadmorskej výšky ca 800 m n. m., ale v posled-

ných rokoch bol zaznamenaný jeho výskyt aj vo výškach nad 1 200 m n. m. Výskyt ostatných uvedených druhov kliešťov je obmedzený na určité oblasti a časové úseky. Napríklad pijak lužný uprednostňuje vlhké prostredie pozdĺž vodných tokov južného a stredného Slovenska, pričom v niektorých lokalitách sa môže vyskytovať vo veľmi vysokom počte. Pijak stepný uprednostňuje skôr biotopy stepného charakteru na juhovýchodnom Slovensku. Z týchto druhov pre človeka predstavujú riziko len dospelé kliešte, larvy a nymfy žijú v norách drobných zemných cicavcov. Kliešte rodu *Haemaphysalis* sú menej početné než kliešť obyčajný, ich výskyt je mozaikovitý, žijú v podobných biotopoch ako kliešť obyčajný.

Prečo je práve kliešť obyčajný, dá sa povedať, najviac životaschopný spomedzi všetkých druhov?

Významným faktorom, ktorý prispieva k vysokej početnosti a rozšíreniu tohto kliešťa, je skutočnosť, že má najširšie spektrum hostiteľov spo-



Ako sľubné nástroje biologickej kontroly kliešťov sa javia patogénne huby, ktoré sú dokonca komerčne dostupné v USA vo forme granúl alebo sprejov.

„Percento nakazených kliešťov je zvyčajne nižšie než 1 %, ale v takzvaných mikroohniskách môže byť nakazených až okolo 10 %. V rámci Európy však Slovensko vedie v percente alimentárnej nákazy kliešťovou encefalitídou prostredníctvom konzumácie nepasterizovaného mlieka nakazených zvierat a mliečnych produktov.“

medzi všetkých druhov kliešťov a je schopný napádať všetky skupiny suchozemských stavovcov (plazy, vtáky, malé, stredne veľké a veľké cicavce vrátane človeka). Ďalšou charakteristickou vlastnosťou kliešťa obyčajného je skutočnosť, že človeka môžu napadnúť všetky tri vývinové štádiá, čiže larvy, nymfy aj samičky. Nymfy a samičky sú prenášače väčšiny patogénnych mikroorganizmov, ktoré tento druh prenáša, kým larvy môžu preniesť len niektoré z nich (tie, ktoré sa prenášajú transovariálne zo samičky cez vajíčko do ďalšej generácie).

V akom období sú kliešte najaktívnejšie?

Kliešť obyčajný je aktívny, keď teplota vystúpi nad 8 stupňov, čiže bežne od marca do októbra s vrcholom výskytu v máji – júni a niekedy s menším vrcholom v septembri – októbri. Ale môže byť aktívny aj v zimných mesiacoch, ak teplota vystúpi na uvedenú hodnotu. Neznáša však vysokú teplotu a sucho, preto počas horúcich letných mesiacov ho stretneme len zriedkavo. Dospelé pijaky sú aktívne v chladnej-

šom období roka (február – máj, október – november) a ak teplota vystúpi nad nulu, aj v decembri a v januári. Kliešť lužný a stepný je aktívny predovšetkým v máji – júli, kým kliešť lesostepný v chladnejšom ročnom období – niekedy sa preto nazýva aj „kliešť zimný“.

Aký vplyv majú klimatické zmeny na výskyt kliešťov?

Vo všeobecnosti dochádza v dôsledku klimatických zmien a otepľovania k šíreniu kliešťov do severnejších zemepisných šírok a vyšších nadmorských výšok. Spolu s kliešťami sa samozrejme zaznamenáva aj výskyt patogénov v nových oblastiach.

Ktoré zvieratá najčastejšie prenášajú kliešte bližšie k človeku?

Sú to jednak domáce zvieratá, ktoré majú umožnený výbeh do voľnej prírody, ale aj vtáky a voľne žijúce cicavce ako napríklad srnky, divé svine, líšky, veverice, plchy, ktoré sa veľmi často vyskytujú v blízkosti ľudských obydľí, v záhradách, parkoch či lesoparkoch. A samozrejme drobné cicavce ako hraboše a myši, ktoré žijú aj v záhradách a parkoch a sú hostiteľmi lariev a nýmfi kliešťov.

Čo môže človek urobiť vo svojom okolí inak aby napomohol eliminácii výskytu kliešťov? Aký je prirodzený nepriateľ kliešťa v prírode?

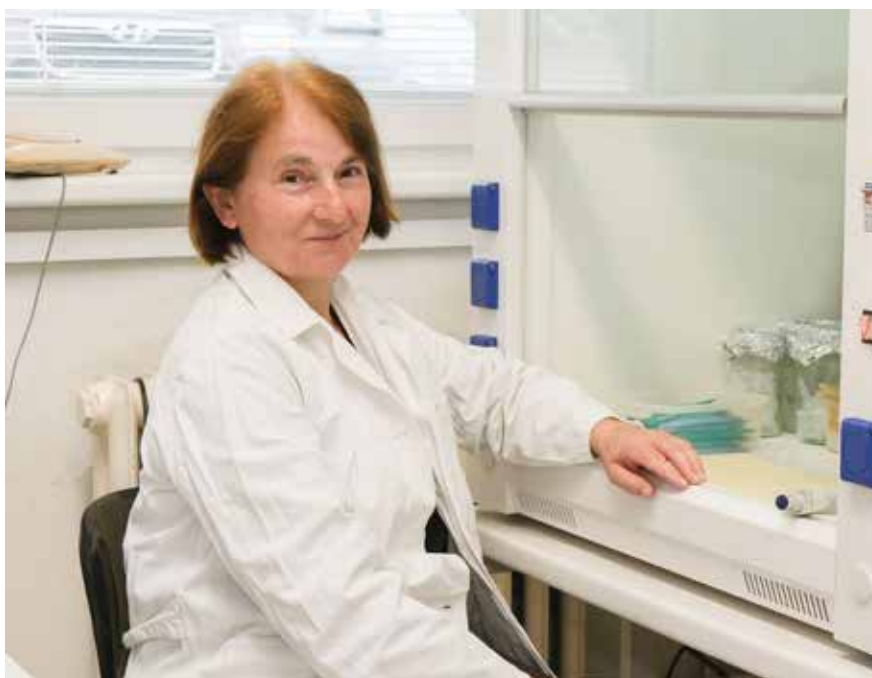
Kliešte majú málo prirodzených nepriateľov. Môžu byť napríklad potravou vtákov, mravcov či pavúkov. Sú napádané drobnými parazitickými blanokřídlivcami. Ale tieto predátory a parazity nie sú schopné eliminovať populácie kliešťov. Ako sľubné nástroje biologickej kontroly kliešťov sa javia patogénne huby, ktoré sú dokonca komerčne dostupné v USA vo forme granúl alebo sprejov. V našom bezprostrednom okolí, ak máme záhradu, je jedinou možnosťou ako eliminovať kliešte udržiavať trávnik neustálym kosením. No ak máme v záhrade kríky a vyšší bylinný porast, zabrániť prítomnosti kliešťov nedokážeme. Kliešte môžu priniesť do záhrad vtáky (najmä drozdy, ale aj iné spevavce).

Ktoré najčastejšie nebezpečenstvá predstavuje kliešť pre človeka?

Kliešte sú nebezpečné najmä ako prenášače patogénnych mikroorganizmov medicínskeho a veterinárneho významu. Kliešte vyskytujúce sa na Slovensku prenášajú vírusy (v prvom rade vírus kliešťovej encefalitídy), baktérie – spirochēty *Borrelia burgdorferi* (pôvodca lymskej boreliózy) a *Borrelia miyamotoi* (pôvodca návratnej horúčky), anaplazmy spôsobujúce granulocytárnu anaplazmózu u ľudí a anaplazmózu u hospodárskych a spoločenských zvierat, ehrlichie, neoehrlichie, pôvodcov tularémie a Q horúčky, rickettsie spôsobujúce rickettsiúzu, a piroplazmy, predovšetkým babézie. Medzi najvýznamnejšie kliešťami prenášané nákazy patria lymská borelióza a kliešťová encefalitída u ľudí a babezióza u psov. Ostatné nákazy sa vyskytujú sporadicky a niektoré z nich nie sú vždy diagnostikované správne. Okrem prenosu patogénov môže cicanie kliešťov vyvolať aj alergické reakcie prostredníctvom látok v ich slinách, ktoré vylučujú do kože hostiteľa. V poslednom období sa zisťovala u ľudí spojitosť medzi cicaním kliešťov a potravinovou alergiou na červené mäso, tzv. alfa-gal syndrómom.

Aké vysoké je riziko nákazy encefalitídou alebo lymskou boreliózou či inými ochoreniami?

Riziko nákazy je najväčšie v prípade lymskej boreliózy, keďže ju prenáša kliešť obyčajný (nymfy a samičky) a vyskytuje sa takmer všade, kde je tento kliešť prítomný. Na niektorých lokalitách sa uvádza viac než 50-percentná nakazenosť kliešťov pôvodcom lymskej boreliózy. Kliešťovou encefalitídou prenáša predovšetkým tiež kliešť obyčajný (okrem nýmfi a samičiek môžu vírus prenášať aj larvy), ale vyskytuje sa v ohniskách, nie celoplošne. Percento nakazených kliešťov je zvyčajne nižšie než 1 %, ale v takzvaných mikroohniskách môže byť nakazených až okolo 10 %. V rámci Európy však Slovensko vedie v percente alimentárnej nákazy kliešťovou encefalitídou pro-



RNDr. Mária Kazimírová, CS.

Ústav zoológie Slovenskej
akadémie vied

Vedecká pracovníčka, medzinárodne uznávaná odborníčka v oblasti biológie kliešťov a patogénov prenášaných kliešťami, má bohaté skúsenosti s vedením alebo spoluriešením domácich a medzinárodných vedeckých projektov. Je spoluautorkou 5 zahraničných patentov, oblasťou jej záujmu je laboratórny chov kliešťov, špecializuje sa na výskum účinných látok izolovaných z kliešťov (najmä z ich slinných žliaz) v biologických systémoch a má skúsenosti s experimentálnymi infekciami kliešťov a zvierat patogénmi prenášanými kliešťami. Je autorkou a spoluautorkou šiestich kapitol kníh a viac ako 70 vedeckých prác v indexovaných vedeckých časopisoch, ktoré boli citované viac ako 1 600-krát.

stredníctvom konzumácie nepasterizovaného mlieka nakazených zvierat a mliečnych produktov. Riziko nákazy ľudí inými ochoreniami je v porovnaní s lymskou boreliózou a kliešťovou encefalitídou nižšie. Je to jednak tým, že okrem rickettsií je percento infikovaných kliešťov pomerne nízke a ak je vysoké (napr. baktériu *Anaplasma phagocytophilum*), ide väčšinou o kmene nepatogénne pre človeka. Nákaza niektorými patogénmi prebieha v mnohých prípadoch asymptomaticky a závažný priebeh môžu mať imunodeficientní pacienti (napr. neoehrlichioza, humánna babezióza). Na Slovensku sú sporadicky zaznamenávané rickettsiôzy (TI-BOLA), prenášané kliešťami rodu *Dermacentor*.

Akým spôsobom sa určuje percento nakazených kliešťov?

Percento nakazenosti kliešťov jednotlivými patogénmi je možné najrýchlejšie určiť pomocou molekulárno-biologických metód (PCR). V mnohých lokalitách Slovenska sa dlhodobo sleduje nakazenosť kliešťov odchytených z vegetácie, ale aj kliešťov získaných z pacientov, kliešťov zo spoločenských a hospodárskych zvierat získaných z veterinárnych kliník alebo od majiteľov zvierat a z ulovených voľne žijúcich zvierat.

Z hľadiska prítomnosti patogénov v organizme kliešťa, kde presne sa vyskytujú? Všeobecne panuje predstava, že nákazu chytíme výlučne zo slín kliešťa.

Áno, väčšina patogénov sa prenáša do kože hostiteľa prostredníctvom slín cicajúceho kliešťa. Každý patogén prenášaný kliešťami má vlastný životný cyklus, ktorého časť prebieha v kliešťoch a časť v stavovcoch, v takzvaných rezervoárových hostiteľoch. V kliešťoch sa patogény nachádzajú väčšinou v črevách a slinných žľazách, čo je významné z hľadiska prenosu do hostiteľov, ale v priebehu vývinového cyklu patogénov sa tieto nachádzajú aj v iných orgánoch (napr. hemolymfa, hemocyty, vaječníky, nervová sústava). To znamená, že niektorými patogénmi sa človek môže nakaziť aj prostredníctvom trusu kliešťov (napríklad pôvodcami tularémie či Q horúčky) alebo rozpučeného kliešťa, a to cez drobné poranenia v koži alebo prostredníctvom inhalácie aerosólu.

Ako prebieha laboratórne vyšetrenie kliešťa? Čo všetko sa ním zisťuje?

Počas vyšetrenia kliešťov sa najprv na základe morfológických znakov identifikuje druh a vývinové štádium. Nasleduje izolácia DNA, často RNA aj DNA, a potom špecifická detekcia

Molekuly
v slinách kliešťov
majú potenciálne
využitie napríklad v liečbe
porúch zrážania krvi,
imunitného systému, ale aj
v liečbe onkologických
ochorení.

jednotlivých patogénov pomocou PCR reakcií a sekvenovania DNA. V prípade druhov kliešťov, ktoré je ťažké identifikovať iba na základe ich morfológie, sa ich identita preverí aj pomocou PCR metódy.

Čo by sme mali urobiť, ak chceme priniesť prichyteného kliešťa na vyšetrenie?

Ideálne je vytiahnuť kliešťa celého – bez toho, aby sa narušil. Ak je k dispozícii čistý lieh (najmenej 70 %), kliešťa treba umiestniť v malej skúmavke s liehom. Takto je možné kliešte skladovať aj dlhšie. Nevýhodou je, že takto uskladnené kliešte nie sú vhodné na vyšetrenie vírusov. Pre komplexnú analýzu treba kliešte umiestniť v skúmavke alebo v malej nádobke s navlhčenou vatou a doniesť na vyšetrenie čo najrýchlejšie.

Ako sme na tom v súčasnosti s vývojom a dostupnosťou protikliešťových vakcín?

Zhrnula by som to veľmi krátko. Existuje až príliš mnoho kandidátov na protikliešťové vakcíny, ktoré sa identifikovali v rozličných druhoch kliešťov a v ich orgánoch a sú v rôznych štádiách testovania. Avšak účinná a komerčne dostupná je stále iba jediná vakcína pod komerčnými názvami TickGard, TickGard^{PLUS}, či GAVAC^{PLUS}. Táto vakcína bola vyvinutá pôvodne v Austrálii na báze proteínu Bm86 z čreva kliešťa *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a funguje na ochranu dobytky proti cicaniu tohto kliešťa, ktorý

sa v Európe nevyskytuje. Vakcína má však obmedzené použitie.

Prezradte nám viac o výskume a využití poznatkov o imunogénnych antigénoch z kliešťa.

Práve výskum týchto antigénov by mal viesť k vývoju protikliešťových vakcín, ideálne k univerzálnej jednej vakcíne, ktorá by účinkovala proti všetkým druhom kliešťov. No podľa môjho názoru je to ilúzia, keďže existuje vyše 700 druhov kliešťov, ktoré parazitujú rôzne druhy stavovcov s rôznym imunitným systémom. Takže je nemožné nájsť univerzálny kliešťový antigén na ochranu všetkých hostiteľov a takisto je nemožné imunizovať proti klieštom voľne žijúce stavovce, aby sa v prírode eliminovali kliešte. Ako som spomínala, kliešť obyčajný, ktorý je v Európe aj u nás na Slovensku prenášačom najširšieho spektra patogénov, má vyše 300 známych hostiteľov z rôznych skupín stavovcov. Čo by mohlo fungovať, je objav antigénu kliešťa *I. ricinus*, ktorý by vyvolal u ľudí tvorbu protilátok, ktoré by negatívne ovplyvnili kliešte cicajúce krv s protilátkami. Mohlo by sa tým zabrániť cicaniu kliešťa na človeka a tým aj prenosu patogénov. Viedlo by to k predčasnemu odvrhnutiu cicajúcich kliešťov. No predčasné odvrhnutie nestačí, ak berieme do úvahy fakt, že vírus kliešťovej encefalitidy sa prenáša už v priebehu niekoľkých minút po prichytení kliešťa. Úspešnosť cicania kliešťov ale spočíva v ovplyvnení obranných reakcií hostiteľa tak, aby mohli zotrvať v koži a cicať krv niekoľko dní bez toho, aby sa v mieste vpichu vytvoril zápal. Zápal v koži je totiž pre kliešte nehostinné prostredie. Teda ďalšou cestou ako zabrániť cicaniu kliešťa, je imunizácia antigénmi kliešťov, ktoré potláčajú zápalové procesy. U niektorých hostiteľov totiž opakované cicanie kliešťov (čiže imunizácia antigénmi v ich slinách) vyvoláva prirodzene zápal a odvrhnutie kliešťa.

Čo vieme v súčasnosti o bioaktívnych látkach v slinách kliešťov? Kde vidíte ich potenciálne využitie?

Výskum bioaktívnych látok v sli-

nách kliešťov prináša ešte aj dnes veľa nových poznatkov, keďže napriek tomu, že mnohé molekuly a ich vlastnosti už boli preskúmané, existuje celý rad molekúl, ktorých funkcia nie je známa. Z tých preskúmaných molekúl sú najznámejšie tie, ktoré zabráňujú zrážaniu krvi hostiteľa, potláčajú svrbenie, zápal a imunitné reakcie v koži a hojenie rán. Taktiež sa zistila schopnosť slín kliešťov potláčať množenie nádorových buniek. Teda molekuly v slinách kliešťov majú potenciálne využitie napríklad v liečbe porúch zrážania krvi, imunitného systému, ale aj v liečbe onkologických ochorení. Niektoré liečivá vyvinuté na báze molekúl kliešťov sú už vo fáze predklinického, resp. klinického testovania.

Aké konkrétne molekuly tam napríklad patria?

Medzi klasické príklady takýchto molekúl patrí TAP (tick anticoagulant peptide), ktorá bola pôvodne identifikovaná americkými vedcami v slinách kliešťa *Ornithodoros moubata* v 90. rokoch minulého storočia. Ide o molekulu, ktorá potláča zrážanie krvi účinnejšie než heparín. Avšak vzhľadom na dostupnosť viacerých účinných a overených antikoagulantov sa TAP v klinickej praxi nepoužíva. Ďalšia molekula s antikoagulačnými vlastnosťami, identifikovaná v kliešovi *Ixodes scapularis* v USA, je Ixolaris. Táto molekula, okrem potláčania koagulácie krvi, potláča aj zápalové procesy a progresiu nádorov. Proteín OmCl z kliešťa *O. moubata* bol identifikovaný vedcami vo Veľkej Británii, špecificky sa viaže na komplement a vyznačuje sa protizápalovými vlastnosťami. Rekombinantný OmCl (Cover-sin) má napríklad perspektívne využitie pri liečení niektorých autoimunitných ochorení. Proteín Amblyomin-X, pôvodne identifikovaný v slinných žľazách kliešťa *Amblyomma sculptum* v Brazílii, má široké spektrum účinkov. Potláča zrážanie krvi, množenie nádorových buniek, ako aj proces novotvorby ciev (angiogénu), čo vedie k regresii nádorov. Tieto účinky boli testované a potvrdené nie len in vitro, ale aj na

„Za najvýznamnejší zaznamenaný poznatok v oblasti výskumu kliešťov považujem identifikáciu nového antikoagulantu v slinných žľazách tropického kliešťa *Amblyomma variegatum*, ktorý vznikol v spolupráci s centrom v Oxforde a univerzitou v Singapore.“



Laboratórium, v ktorom sa uskutočňuje výskum kliešťov, SAV

zvieracích modeloch s perspektívnym využitím pri liečbe nádorových ochorení. Proteín TdPI (tick-derived protease inhibitor) bol identifikovaný v slinných žľazách kliešťa *Rhipicephalus appendiculatus* vedcami vo Veľkej Británii a má protizápalové účinky s perspektívnym využitím pri liečbe alergických reakcií kože. Evazíny, proteíny ktoré sa viažu na chemokíny a potláčajú zápalové reakcie, boli pôvodne objavené v slinách kliešťa *Rhipicephalus sanguineus* v spolupráci vedcov zo Švajčiarska a Brazílie. Využitím bioinformatiky boli postupne identifikované ďalšie evazíny v rôznych druhoch kliešťov. Evazíny majú potenciálne využitie v protizápalových liečivách. Treba však poznamenať, že uvedené príklady molekúl z kliešťov sú len výberom z mnohých ďalších. Časový horizont, v ktorom by mohli byť liečivá na báze molekúl z kliešťov dostupné pre pacientov, je ťažké predvídať. Okrem syntetických preparátov totiž existuje veľa ďalších prírodných molekúl z rastlín a iných skupín živočíchov (napr. pijavice, komáre, ploštice, škorpióny, motýle, hady), ktoré majú podobné účinky a niekedy aj podobnú či takmer zhodnú štruktúru ako molekuly z kliešťov a ktoré sa tiež intenzívne skúmajú z hľadiska ich využitia v medicíne. Ale práve vzhľadom na spôsob parazitácie odhalenie unikátnych mechanizmov účinkov molekúl z kliešťov na obranné

reakcie ich hostiteľov dávajú týmto molekulám stále šancu.

Ako ste sa dostali k výskumu kliešťov?

Bola to náhoda, aj šťastie. Pôvodne som pracovala v oblasti experimentálnej entomológie a venovala som sa škodcom rastlín. No keď sa rušil ústav, na ktorom som pôvodne pracovala a hľadala som iné možnosti, naskytla sa mi príležitosť nastúpiť do pracovného kolektívu, ktorý viedol na Ústave zoológie SAV doktor Milan Labuda, uznávaný odborník v oblasti výskumu kliešťov a nimi prenášaných patogénov, ktorý nás žiaľ v roku 2007 navždy opustil. Doktor Labuda v spolupráci s kolegami na Virologickom ústave SAV a so zahraničnými pracoviskami rozvíjal problematiku výskumu bioaktívnych látok v slinách kliešťov a identifikácie antigénov kliešťov, ktoré by boli perspektívne pre vývoj protikliešťových vakcín. Neskôr som sa začala venovať eko-epidemiológii kliešťami prenášaných nákaz a tejto téme sa venujem dodnes.

Spolupracujete pri svojich výskumoch aj so zahraničnými pracoviskami?

Vďaka doktorovi Labudovi a jeho medzinárodným projektom som mala možnosť nadviazať kontakty s kolegami z mnohých zahraničných pracovísk. Niektoré z týchto pracovísk však boli pretransformované a kolegovia buď odišli do dôchodku, alebo na iné pra-

coviská. Koncom 90. rokov a v prvých rokoch tohto storočia som intenzívne spolupracovala s kolegami z oxfordského Centra pre ekológiu a hydrológiu. Neskôr to bola Oxfordská univerzita, Národná univerzita v Singapure a mnohé univerzity a výskumné ústavy, ktoré boli členmi konzorcií dvoch medzinárodných projektov 6. a 7. rámcového programu EU. S mnohými kolegami doteraz udržiavam kontakty a spolupracujem, hoci momentálne nie v rámci spoločných projektov.

Aký najvýznamnejší poznatok sa vám podarilo zaznamenať v oblasti výskumu kliešťov?

Ja osobne považujem za najvýznamnejší poznatok identifikáciu nového antikoagulantu v slinných žľazách tropického kliešťa *Amblyomma variegatum*, ktorý vznikol v rámci spolupráce s už spomenutým centrom v Oxforde a univerzitou v Singapure. V tom čase išlo o dovtedy neznámu skupinu proteínov u kliešťov, ktorá bola pomenovaná na základe názvu proteínu – Variegin, ktorý sme objavili ako skupinu „Hirudin like/Madanin/Variegin superfamily“. Peptidy podobné Varieginu patria medzi perspektívnych kandidátov na vývoj antikoagulantov, na prevenciu trombózy počas invazívnych zákrokov a na pokrytie zdravotníckych potrieb, ako sú skúmavky, striekačky a pod. 🌸