

Entamoeba histolytica – nebezpečný střevní prvok (I. část)

Zuzana Čermáková¹, Olga Ryšková¹, Vladimír Buchta¹, Miroslav Förstl¹, Vítězslava Roučková², Barbora Voxová¹, Zbyněk Valenta³, Jiřina Lesná¹, Stanislav Plíšek⁴, Petr Prášil⁴

¹Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN Hradec Králové

²Axis-CZ HK, s.r.o., Hematologické a biochemické laboratoře, Hradec Králové

³Ústřední vojenský zdravotní ústav Praha, Centrum biologické ochrany, Těchonín

⁴Klinika infekčních nemocí LF UK a FN Hradec Králové

Souhrn

Entamoeba histolytica je patogenní střevní prvok, který u člověka způsobuje onemocnění provázené těžkými průjmy, tzv. „amébovou dyzenterii“. Životní cyklus *E. histolytica* je jednoduchý. Dochází ke střídání klidového stadia (odolná cysta) se stadiem vegetativním (pohyblivý trofozoit). Trofozoiti

se mohou vlivem různých faktorů přeměnit na invazivní formu améby vyvolávající závažné poškození epitelu tlustého střeva. V některých případech, při extraintestinální formě infekce, překračují invazivní formy *E. histolytica* bariéru střevní sliznice a migrují do vzdálených orgánů (nejčastěji jater)

za vzniku abscesů. Z hlediska diagnostického je nezbytné odlišení patogenní *E. histolytica* od morfologicky shodné, ale nepatogenní střevní améby *E. dispar*.

KLÍČOVÁ SLOVA: ENTAMOEBEA HISTOLYTICA, PATOGENNÍ AMÉBA, AMÉBÓZA

Summary

Entamoeba histolytica – a dangerous intestinal protozoan (part I)

Entamoeba histolytica is a pathogenic intestinal protozoan, which causes in humans purgative illness – amoebic dysentery. Life cycle of *E. histolytica* is simple. There are two stages of life cycle of the amoeba – the first is represented with dormant and infectious cyst, the second one

with vegetative trophozoite. Under different circumstances trophozoites can transform into invasive amoebic form causing severe damage of colonic epithelial tissue. From cells forming intestinal mucosa invasive form of *E. histolytica* can cross the intestinal barrier and migrate into distant organs (mostly the liver). This is followed by forming of abscesses in extra-intestinal

amoebic infection. From a diagnostic point of view it is absolutely necessary to distinguish pathogenic *E. histolytica* and non-pathogenic *E. dispar* whose morphology is identical.

KEY WORDS: ENTAMOEBEA HISTOLYTICA, PATHOGENIC AMOEBEA, AMEBIASIS

Entamoeba histolytica, původce střevní a extraintestinální amébozy, je anaerobní parazitický prvok s velmi chudou výbavou buňky. Jednoduchá buněčná stavba, tzv. nahé měňavky, bez extracelulárních struktur, je sekundární a vznikla přizpůsobením se parazitickému způsobu života [3,7].

V trávicím traktu člověka bylo doposud popsáno šest druhů améb: *Entamoeba histolytica*, *E. dispar*, *E. hartmanni*, *E. coli*, *Iodamoeba bütschlii* a *Endolimax nana*. Avšak pouze *E. histolytica* je skutečně významná z medicínského hlediska, protože pravidelně vyvolává u člověka infekce, které mohou končit fatálně [9]. Onemocnění zvané améboza je rozšířeno celosvětově a předpokládá se, že v lidské populaci je asi 10 % nosičů uve-

deného prvoka s nejvyšší prevalencí v tropech a subtropích. WHO uvádí, že ročně nově onemocní milióny lidí, z nichž přibližně 100 tis. na amébozu zemře. Většina infekcí je symptomatická, část infikovaných osob má průjemové onemocnění a část komplikace v podobě améboomu nebo extraintestinálního abscesu. Infekce *E. histolytica* může být příčinou opožděného vývoje u dětí vlivem malnutrice, především v rozvojových zemích s nízkým socioekonomickým standardem [2,4].

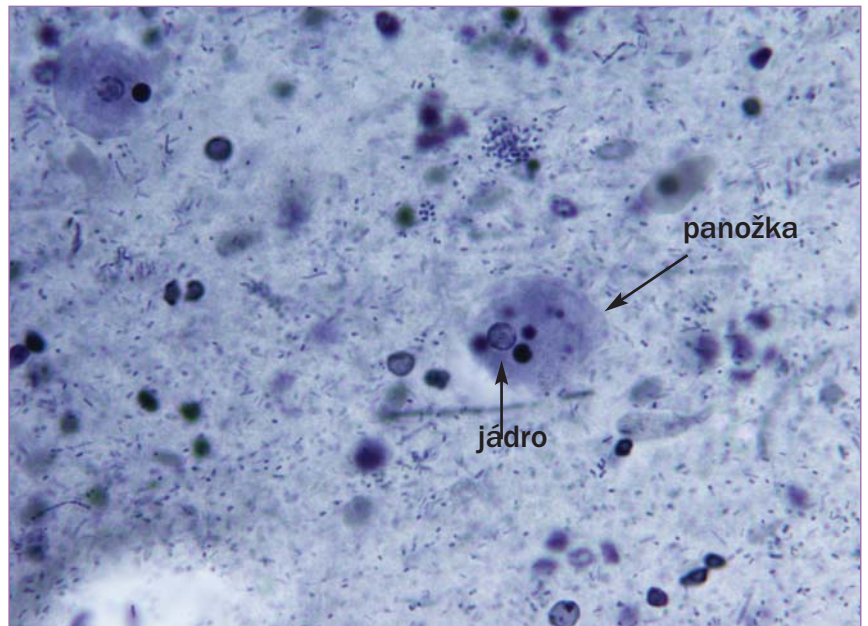
Infekce *E. histolytica* byla poprvé popsána jako smrtelné onemocnění již Hippokratem, který zaznamenával případy pacientů s vysokou horečkou provázenou četnými průjmy. Další zmínky nacházíme ve Starém zákoně

i v Klasické knize čínské vnitřní medicíny [8]. V prvním vydání knihy o tropické medicíně napsané latinsky v roce 1629 na území dnešní Indie psal James Bontious o dyzenterii jako o „příšerném onemocnění, které devastuje Indy víc než jiné choroby“, a o 200 let později ve spise „O nemocech Indie a teplých krajů“ James Annesley podal první podrobný popis jaterního abscesu [7] a v roce 1875 Lösh popsal podrobně klinické příznaky u osob infikovaných amébami [5]. Etiologie onemocnění byla neznáma až do r. 1885, kdy doktor Vilém Lambl objevil améby ve stolici dítěte, které zemřelo na průjemové onemocnění, a v r. 1890 byly popsány abscesy a kolitidy způsobené amébami. Prvním efektivním léčivem, které použil

v r. 1912 Leonard Robers, byl emetin. Životní cyklus *E. histolytica* popsal poprvé v r. 1925 Dobell a v následujících desetiletích bylo opakovaně potvrzeno, že střevo člověka osidlují dvě morfologicky identické améby, z nichž patrně pouze jedna je schopna vyvolat onemocnění. Patogenní a nepatogenní formy byly opětovně zkoumány na základě metabolické aktivity a izoenzymové analýzy a byly označovány jako *E. histolytica/dispar*. K definitivnímu rozlišení patogenní a nepatogenní améby přispěl nakonec až rychlý rozvoj molekulárních biologických metod. V r. 1989 uveřejnil E. Tannich první analýzu DNA, která dokazovala rozdíly v genomu patogenní a nepatogenní améby [7,9].

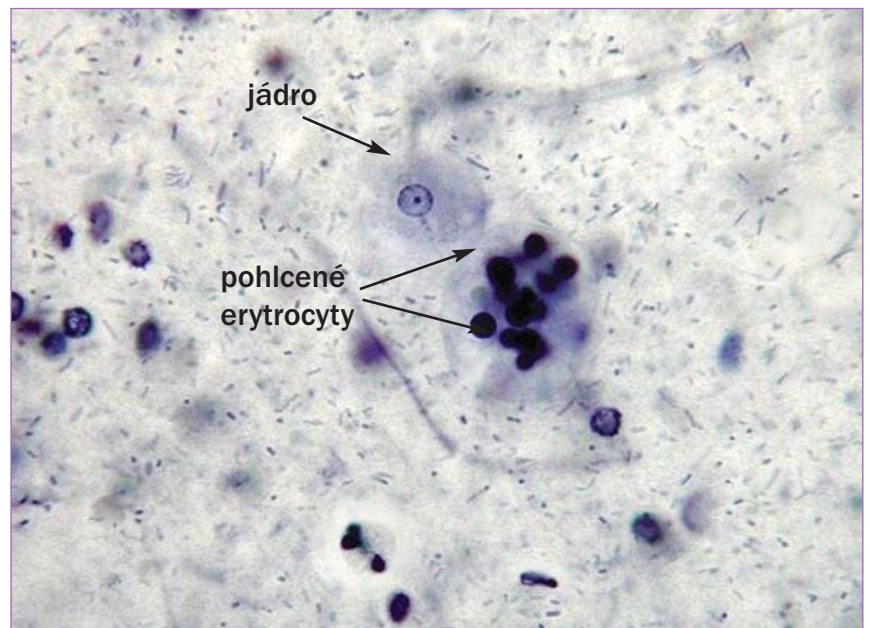
V r. 1993 bylo oficiálně uznáno, že lidské střevo může být kolonizováno dvěma morfologicky shodnými druhy améb, z nichž *E. dispar* je komenzální neškodná a *E. histolytica* je patogenní.

Životní cyklus *E. histolytica* je jednoduchý a střídají se v něm dvě životní stadia: infekční cista (klidová forma) a trofozoit (vegetativní stadium). Trofozoiti jsou pohyblivé améboidní formy parazita, které sice mohou existovat velmi krátkou dobu mimo organismus hostitele, zpravidla však nejsou schopni přežít pasáž horní částí gastrointestinálního traktu. Cysty jsou neinvazivní, nepohyblivá „klidová“ stadia parazita, která zajišťují přenos infekce. Při procesu zrání cysty dochází k dvojímu rozdělení jádra a vzniku čtyřjaderné cysty, která je infekční. Cysty mohou bez hostitele přežít týdny i měsíce v kontaminované potravě a vodě. Jsou poměrně odolné a dobře přežívají při teplotách od $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Citlivě reagují na 5% kyselinu octovou a na vyschnutí. Člověk je nakažen polknutím zralých čtyřjaderných cyst, které putují do terminálního ilea a zde se z nich uvolňují trofozoiti. Tato vegetativní stadia se množí v kolonu, kde se mohou vyskytovat ve dvou formách. Menší, neinvazivní forma se nazývá minuta, a větší, inva-



Obr. 1.

E. histolytica, forma magna, trofozoiti, pohlčené erythrocyty, améba vpravo má viditelnou panožku na pravé straně, mikroskopický obraz amébové dysenterie. Zvětšení 1 000krát, barveno železitým hematoxylinem (foto Z. Čermáková, B. Voxová).



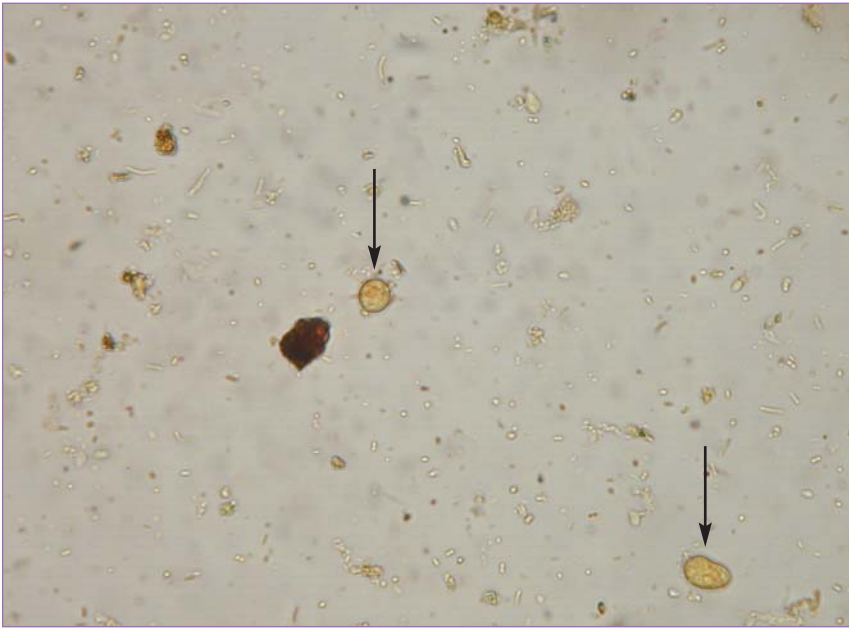
Obr. 2.

E. histolytica, forma magna, trofozoiti, pohlčené erythrocyty uvnitř větší améby, mikroskopický obraz amébové dysenterie (leukocyty, erythrocyty, améby). Zvětšení 1 000krát, barveno železitým hematoxylinem (foto M. Förstl).

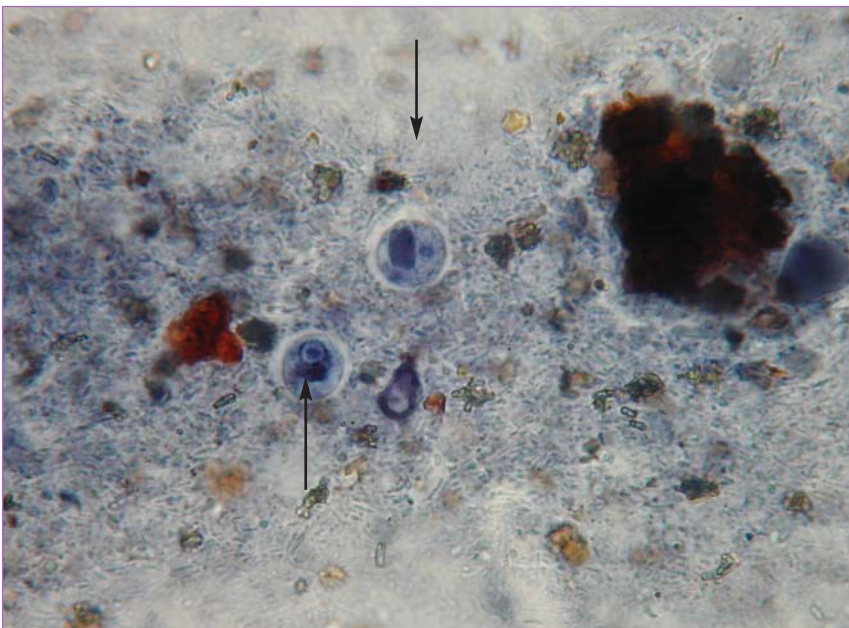
zivní – forma magna. Cysta se vždy vyvíjí nejprve ve formu minuta. V colon ascendens a colon transversum může (za dosud ne zcela známých podmínek) dojít k transformaci formy minuta ve formu magna. Předpokládá se, že určitou roli zde mohou hrát změny redox potenciálu, mikroflóry ve střevě, teploty a patrně další faktory, na něž parazit reaguje stresovou

reakcí a přeměnou na invazivní formu trofozoita. Forma minuta je neinvazivní stadium trofozoita, žije se bakteriemi tlustého střeva. Může vyvolat pouze poruchu střevní mikroflóry [1,7].

Forma magna (dysenterická) je invazivní stadium trofozoita. Napadá sliznici tlustého střeva a pohlcuje i erythrocyty. Může vyvolat těžké extraintestinální komplikace již probíhajícího



Obr. 3.
Flotační metoda dle Fausta, zvětšení 400krát, cysta susp. pro *E. histolytica/dispar*. Barveno Lugolovým roztokem (foto B. Voxová).



Obr. 4.
Cysty susp. pro *E. histolytica/dispar*. Zvětšení 1 000krát, barveno železitým hematoxylinem (foto B. Voxová).

onemocnění. Forma magna je však slepou linií ve vývoji améb, která při transformaci ztratila možnost konverze na formu minuta i možnost encystace.

PATOGENEZE INTESTINÁLNÍ AMÉBÓZY

Pohyblivé invazivní formy parazita, trofozoiti, adherují k intestinálním epiteliálním buňkám, které lemují gastroin-

testinální trakt, a napadají je. Rozvíjí se onemocnění tlustého střeva, tzv. intestinální amébóza. Trofozoiti mohou také dále penetrovat do gastrointestinální sliznice a odtud migrovat do ostatních orgánů a způsobovat mimořádně, tzv. extraintestinální, infekce.

Amébóza je důsledkem přímého poškození buněk a tkání hostitele invazivními formami parazita. V de-

strukci buněk se uplatňují především dva mechanismy:

- kontaktní cytolýza, významná zvláště v počáteční fázi infekce, kdy parazit proniká vrstvou epitelii,
- sekrece proteolytických enzymů degradujících proteiny extracelulární matrix; proces vede k rozrušení vaziva a další expanzi améb.

Aby infekce *E. histolytica* vyústila v invazivní onemocnění, musí améba překonat řadu obranných mechanismů hostitele. Nejprve dochází ke kolonizaci tlustého střeva hostitele amébami. Zde má velký význam střevní mikroflóra člověka, která zajišťuje vhodné podmínky pro přežití améb (redoxní potenciál, absorpce oxidujících molekul, ...). Dalším krokem je překonání mucinové vrstvy na povrchu sliznice tlustého střeva. Tohoto procesu se účastní řada proteolytických enzymů a glykozidáz. *E. histolytica* indukuje svou přítomností zvýšení sekrece defektního mucinu pohárkovými buňkami tlustého střeva. Mucin má změněné biochemické vlastnosti, obsahuje nekompletní glykoproteiny, které nejsou schopny dostatečně vázat trofozoity. Po překonání ochranné vrstvy mucinu améby dosáhnou lumenálního povrchu enterocytů. Parazit adheruje k buňkám v místech mezi Lieberkühnovými kryptami, kde je epitel nejzranitelnější. Začne probíhat komplexní multifaktoriální proces, který zahrnuje adhezi, kontaktní poškození plazmatické membrány epiteliálních buněk, jejich fagocytózu a intracelulární degradaci. Adheze a cytolytické projevy souvisejí se třemi typy molekul produkovaných amébami. Jsou to lektiny, amebapor a proteinázy [1,9].

Lektin specifický pro galaktózu a N-acetylgalaktosamin (Gal-GalNAc lektin)

Tato molekula je zřejmě klíčovým faktorem virulence *E. histolytica* s víceúčelovým uplatněním v invazivních procesech i v obraně proti imunitě

odpovědi hostitele. Skládá se ze dvou nestejných podjednotek. Lehčí podjednotce se připisuje signální funkce, těžší má lektinovou aktivitu a jsou na ní funkčně významná vazebná místa. Těžká podjednotka je imunogenní. Cytopatogenní efekt tak lze in vitro zablokovat protilátkou. Experimentálně připravení mutanti améb bez těžké podjednotky jsou pro laboratorní zvířata avirulentní. V poslední době je tento peptid studován jako potenciální kandidát pro přípravu vakcíny proti améboze.

Podmínkou kontaktní cytolýzy je adheze k cílové buňce, zprostředkovaná povrchovým lektinem améb se specifickou vazbou na galaktozová a N-acetylgalaktosaminová rezidua. Tato vlastnost je amébou využívána v případech:

- adheze k buňkám střevního epitelu – iniciace kontaktní lýzy enterocytů, kolonizace a invaze tlustého střeva
- stimulace tvorby defektního mucinu pohárkovými buňkami
- adheze ke střevním bakteriím – iniciace endocytózy
- adheze k neutrofilním leukocytům – iniciace destrukce leukocytů kontaktní lýzou
- adheze k dalším buněčným typům – usnadnění metastatického rozsevu infekce
- adheze k fibronektinu mezibuněčné hmoty – funkce integrinu – signál k sekreci proteáz
- inhibice cytotolytického účinku komplementu.

Amebapor

Tento ionoforový protein je vylučován amébou v místě kontaktu s cílovou buňkou. Vkládá se do její membrány, kde vytváří póry umožňující neregulovaný průchod iontů. Důsledkem je fyziologický rozvrat buňky, vyčerpání energetických rezerv a metabolický kolaps. Amebapor je lokalizován v cytoplazmatických vezikulech améb. Podobný peptid byl objeven i u *E. dispar*, avšak ten působí destruktivně

pouze na bakterie. Na cytotolytickém účinku se zřejmě podílejí i fosfolipázy a kyselá hydrolázy parazita, uvolňované v místě kontaktu. Sekvenci dějů kontaktní cytolýzy zakončí améby fagocytózou zbytků destruovaných buněk [1,9].

Proteinázy

Sekrece proteináz je zřejmě důležitým činitelem patogeneze v pokročilejších fázích infekce. Améby se dostávají do oblasti lamina propria a submukózy. Dochází k destrukci tkání hostitele, na čemž se podílejí hlavně neutrální a kyselá cysteinové proteinázy, metaloproteináza s kolagenázovou aktivitou, hyaluronidáza a mukopolysacharidázy. Proteinázy narušují mezibuněčnou hmotu a lyzují hostitelské buňky. V submukóze se následně tvoří charakteristické podmínované, lahvicovité vředy, které mohou nabývat velkých rozměrů, avšak na povrchu sliznice mají pouze malé vyústění [1,7,9].

PATOGENEZE EXTRAINTESINÁLNÍ AMÉBÓZY

Invaze infekce mimo střevní trakt je vždy sekundární a předchází jí symptomatická či asymptomatická střevní infekce. Améby jsou většinou zaneseny do ostatních orgánů (nejčastěji jater) hematogenní nebo lymfatickou cestou [1,6].

Invaze tkání amébami vyvolá tvorbu specifických protilátek, které lze využít k diagnostickým účelům. Protilátky však nemají výrazný protektivní účinek. Příčinou je zřejmě rychlá antigení obměna plazmatické membrány améb. Je známo, že *E. histolytica* kompletně vymění buněčnou membránu během 20 min. Důsledkem je redistribuce (camping), svlékání a endocytóza navázaných imunních komplexů, které jsou tak likvidovány dříve, než mohou parazita poškodit [9].

Cysteinová proteináza améb aktivuje komplement alternativní dráhou. Předpokládá se, že komplement omezuje hematogenní rozsev kmenů s nízkou

virulencí, avšak virulentní kmeny jsou vybaveny inhibitorem komplementu.

Neutrofilní leukocyty jsou amébami přitahovány, vážou se k nim pomocí galaktozového lektinu a jsou rychle usmrcovány. V klinickém materiálu jsou proto neutrofilie v amébových abscesech poměrně málo zastoupeny.

Aktivované makrofágy mají amebicidní účinek in vitro. V přirozených podmínkách infekce člověka je však tento efekt zanedbatelný, protože améby vylučují tzv. MLIF = monocyte locomotion inhibition factor, který inhibuje migraci monocytů a blokuje oxidační vzplanutí makrofágů a neutrofilů [9].

Komplex invazivních faktorů umožňuje diseminaci infekce do různých orgánů hostitele za vzniku extraintestinální amébozy.

Pro rozvoj klinického onemocnění je na jedné straně rozhodující virulence kmene *E. histolytica*, na straně druhé stav imunitního systému pacienta, který je do značné míry dán výživou a hygienickými podmínkami, ve kterých žije [2].

Literatura

1. Ackers JP, Mirelman D. Progress in research on *Entamoeba histolytica* pathogenesis. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9(4): 367–373.
2. Haque R, Mondal D, Kirkpatrick BD et al. Epidemiologic and clinical characteristics of acute diarrhoea with emphasis on *Entamoeba histolytica* infections in preschool children in an urban slum of Dhaka, Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 69(4): 398–405.
3. Hausmann K, Hülsmann N. Systém prvoků. In: Protozoologie. Praha: Academia 2003: 143–144.
4. Khairnar K, Parija SC, Palaniappan R. Diagnosis of intestinal amoebiasis by using nested polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay. *J Gastroenterol* 2007; 42(8): 631–640.

5. Myjak P, Kur J, Pietkiewicz H et al. Molecular differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* from stool and culture samples obtained from Polish citizens infected in tropics and in Poland. *Acta Protozool* 2000; 39: 217–224.
6. Nohýnková E, Pysová I, Tůmová P et al. Patogenní *Entamoeba histolytica* – vzácný výskyt u osob s mikroskopickým nálezem cyst ve stolici. *Čas Lék česk* 2007; 146(2): 132– 136.
7. Nohýnková E, Stejskal F. Amébóza, *Sanguis* 2003; 29: 20–24.
8. Tanyüksel M, Petri WA Jr. Laboratory Diagnosis of Amebiasis. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16(4): 713–729.
9. Martínéz-Palomo A, Espinosa-Contellano M. Intestinal amoebae. In: Topley WWC (ed). *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections.* 9th ed. New York: Oxford University Press 1998: 157–177.

Adresa pro korespondenci/

Correspondence to:

MVDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.

Ústav klinické mikrobiologie LF UK

FN Hradec Králové

Sokolská ul. 581

500 05 Hradec Králové

e-mail: cermakovaz@fnhk.cz