

Čeští vědci přispívají k vývoji vakcín proti leishmanióze

6.8.2024 - | Přírodovědecká fakulta UK

Leishmaniózy jsou po malárii druhou nejdůležitější parazitární chorobou na světě. Jedná se o komplex chorob způsobených různými druhy parazitických prvoků - leishmanií, které jsou na člověka přeneseny drobným bodavým hmyzem, nazývaným flebotomové. Některé druhy leishmanií působí tzv. viscerální leishmaniózu, která napadá mízní uzliny, slezinu a kostní dřeň a ročně na ni zemřou desetitisíce lidí. Jiné druhy pak působí leishmaniózu kožní, která způsobuje vředy a zanechává doživotní jizvy.

Světová zdravotnická organizace odhaduje, že kožní formou choroby onemocní statisíce lidí ročně.

„Rád bych zmínil, že účast na mezinárodním grantu a tento pro nás až neuvěřitelný publikační úspěch jsou výsledkem dlouhodobého snažení. Experimentální infekce flebotomů leishmaniemi, které jsou pro vývoj vakcíny naprosto zásadní, jsme zaváděli s kolegyní Jovanou Sádlovou již v devadesátých letech minulého století. První společnou publikaci na toto téma máme z roku 1997,“ popisuje začátky výzkumu leishmaniózy na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy profesor Petr Volf, který stojí v čele laboratoře Biologie hmyzích vektorů. Tým profesora Volfa studuje zejména vlastnosti flebotomů, které ovlivňují vývoj leishmanií v přenašeči a rozhodují o přenosu infekce do obratlovce. Ve svých výzkumech se zaměřují zejména na molekulární podstatu interakcí mezi parazitem a jeho hmyzím přenašečem a následný přenos na hostitele.

Vědci z laboratoře Biologie hmyzích vektorů postupně získávali zkušenosti, vybudovali laboratoř, insektárium a získali mezinárodní renomé. K účasti na projektu *Leish Challenge* je vyzvali kolegové z Anglie, kteří zjistili, že pro tento projekt jinde v Evropě vhodnější a dostatečně kompetentní laboratoř nenajdou. *„Výzkum jako je ten náš, je běh na dlouhou trať. Dostat se na špičkovou mezinárodní úroveň trvá desetiletí, a tak teď vlastně sklízíme výsledky toho, co jsme započali před více jak čtvrt stoletím,“* vzpomínají s úsměvem Petr Volf a Jovana Sádlová.

Samice Phlebotomus papatasi sající na krmítku při experimentální infekci. Foto J. Sádlová

Léčba leishmanióz je obtížná, a proto se pracuje na vývoji různých profylaktických vakcín, které by připravily imunitní systém na nákazu a zabránily tak vzniku onemocnění. V přirozených podmínkách je ale zkoumání úspěšnosti podobných vakcín extrémně náročné. *„Nově nakažení pacienti bývají rozptýleni po vesnicích. Museli byste vakcinovat tisíce lidí v různých vesnicích a druhou polovinu obyvatel ponechat bez vakcíny. Takové testy jsou složité z etického, finančního i časového hlediska,“* vysvětluje Petr Volf.

Pro vývoj vakcín se proto zavádí testy na lidských dobrovolnících, kterým se odborně říká *Controlled human infection model (CHIM)*, tedy model kontrolované lidské infekce. Takto již byly testovány vakcíny proti malárii nebo horečce Dengue. Projekt *Leish Challenge* financovala britská grantová agentura a vedla ho Univerzita v Yorku, konkrétně Centrum pro imunologii a infekční nemoci, v jehož čele stojí profesor Paul Kaye. Kromě Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy na něm spolupracovala také Hebrejská univerzita v Jeruzalémě.

Příprava krmné směsi pro larvy flebotomů. Foto J. Sádlová

Projekt *Leish Challenge* se skládal z několika etap. První krok představovala izolace vhodných

kmenů *Leishmania major* z pacientů v Izraeli, jejich celogenomová sekvenace a charakterizace jejich patogenních účinků na myších. Tým vědců z Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy studoval především vývoj těchto kmenů leishmanií ve flebotomech a myších a testoval možnosti přenosu nákazy na myši bodnutím nakažených přenašečů. Tato část výzkumu již byla publikována v roce 2021 v prestižním časopise Nature Communications.

Paralelně probíhal v Yorku nábor dobrovolníků. „*Testování na lidských dobrovolnících probíhalo v Anglii. Podobnou studii lze jen stěží dělat v Africe či na Blízkém východě, a to zejména kvůli etickým a logistickým komplikacím, ale také proto, že v těchto oblastech se lidé s leishmanií již mohli setkat. Navíc zdravotnický výzkum na lidských dobrovolnících předpověděli už před čtyřiceti lety Monty Python ve filmu Smysl života,*“ odlehčuje Petr Volf probírané téma. Paradoxní je, že komediální skupina Monty Python zasadila děj právě do Anglického Yorku.

V rámci vývoje vakcíny proti leishmanióze pracovali vědci s kožní, tedy mírnější, variantou choroby. Zajímavé je, že dobrovolníci museli být infikováni bodnutím nakaženého flebotoma, nikoli injekční stříkačkou. Bylo totiž prokázáno, že přenašeč a jeho sliny vyvolávají u pobodaných lidí zcela specifickou imunitní odpověď. Pokud by tak byl dobrovolník nakažen injekční stříkačkou, byl by chráněn před přenosem leishmaniózy injekční stříkačkou, ne však před přenosem bodnutím flebotoma.

Nasáté samice Phlebotomus papatasi v komůrce náramku. Foto J. Sádlová a B. Vojtková

Dalším úkolem výzkumného týmu z Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy tak byla optimalizace metody, jak donutit nenakažené flebotomy sát na lidech a jak zařídit, aby to dobrovolníky co nejméně obtěžovalo. Jako ideální řešení se ukázal náramek obsahující dutou komůrku, do které byli flebotomové vypuštěni a mohli půl hodiny sát na předloktí. Novou metodu zkoušeli vědci nejprve v Praze, konkrétně ji na sobě zkoušela i Barbora Vojtková, která je také jednou ze spoluautorek nového článku, stala se „reklamní tváří projektu“ a významně tak přispěla k úspěšnému náboru dobrovolníků v Yorku.

„*Poté kolegové doprovázeli zásilku flebotomů do laboratoře v Yorku, kde jsme provedli nákazu leishmaniemi a využili je k pokusu s lidskými dobrovolníky. Nakažení flebotomové by totiž cestovat nemohli,*“ popisuje Petr Volf. K pokusu byl využit kmen leishmanií, který se nejlépe vyvíjel ve flebotomech a úspěšně se přenášel na pokusné myši. Po deseti dnech od nakažení flebotomů byli dobrovolníci vystaveni poštipání a sledoval se u nich průběh nákazy. „*Kritickou součástí pokusu bylo udržet flebotomy naživu dostatečně dlouho, správně je experimentálně nakazit a pak je donutit sát podruhé na dobrovolnících. To se podařilo ve více než 80% případů a z těch pobodaných lidí naprostá většina onemocněla a mohla být využita k různým imunologickým testům,*“ dodává Petr Volf. V další části studie pak jejich kolegové z Anglie a Izraele sledovali vývoj kožní léze, odebírali mikrobiopsie pro histologické účely a studovali expresi cytokinů a interleukinů (proteinů účastnících se imunitní reakce) v místě kožní léze.

Práce v BSL-3 prostoru na Univerzitě v Yorku. Foto Helen Ashwin.

Tým profesora Volfa se nezabývá jen vývojem vakcíny proti leishmanióze. Navázal celou řadu mezinárodních spoluprací a v době vzniku tohoto textu obdržel zprávu o přijetí dalšího důležitého článku do tisku, tentokrát znovu v Nature Communications. V tomto článku vědci popisují mechanismus přichycení leishmanií ke střevu flebotoma a identifikují proteiny, které jsou za přichycení zodpovědné. Tento výsledek představuje další významný příspěvek k porozumění přenosu tohoto závažného parazitárního onemocnění a k jeho potenciální léčbě.

projekt Leish Challenge: <https://leishchallenge.org/>

webová stránka laboratoře Biologie hmyzích vektorů:
<https://web.natur.cuni.cz/parasitology/volfweb/introd.html>

odkaz na článek: <https://www.nature.com/articles/s41591-024-03146-9>

<https://www.natur.cuni.cz/fakulta/aktuality/cesti-vedci-prispivaji-k-vyvoji-vakcin-proti-leishmanioze>