

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Stanovení a hodnocení biologicky aktivních látek
uvolněných tasemnicí v interakci se střevními buňkami**

Diplomová práce

Tereza Pařízková
Management zdraví a welfare zvířat

Prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Stanovení a hodnocení biologicky aktivních látek uvolněných tasemnicí v interakci se střevními buňkami" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne datum odevzdání

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. Ing. Zuzaně Čadkové, Ph.D., DiS. za vstřícné rady při sepsání mé diplomové práce a také Ing. Ivu Doskočilovi, Ph.D. a Ing. Lukáši Prausovi, Ph.D. za vedení laboratorních prací.

Stanovení a hodnocení biologicky aktivních látek uvolněných tasemnicí v interakci se střevními buňkami

Souhrn

Cílem diplomové práce bylo v modelových *in vitro* pokusech testovat experimentální podmínky pro kultivaci tasemnice v interakci se střevními buňkami tak, aby bylo možno popsat enzymatické produkty antioxidačního aparátu parazita, konkrétně aktivitu superoxid dismutázy (SOD) pro další studium možných interakcí mezi tasemnicí a hostitelem. Také součástí výzkumu bylo stanovení koncentrace určitých prvků (Zn, As, Cd, Pb) ve tkáních tasemnic a v médiích.

Pokus byl proveden na 4 potkanech z kmene Wistar, kteří byli chováni v laboratoři ČZU. Zvířata byla chována v boxech po dvou jedincích. Byli krmeni paletovou potravou bez přídavku toxických prvků. Infekce potkanů probíhala orální cestou, pro vyšší úspěšnost byla zbývající část pokapána na potravu a část potměnků vložena do hroznového vína. Po 21 dnech a ověření přítomnosti vajíček *H. diminuta* došlo k usmrcení potkanů a izolaci tasemnic do Petriho misek. Vlastní výzkumná část probíhala ve specializovaných laboratořích, kde byly tasemnice kultivovány metodou *in vitro*. Nejvíce nás zajímala interakce tasemnice se střevními buňkami, tedy systém parazit - hostitel.

Koncentrace SOD má rostoucí charakter. Při stanovení koncentrace tasemnice v médiu je nárůst nepatrný oproti tasemnice v médiu s přidáním střevních buněk. Střevní buňky imitují parazit-hostitelský systém a reagují na oxidační stres zvýšením koncentrace SOD. Významný propad v 8 hodině kultivace může být způsoben jinou sloučeninou, kterou tasemnice produkuje, a ta může ovlivnit výslednou koncentraci SOD. V samotném médiu ji produkuje velmi rychle (již po 2 hodině kultivace), kde je výrazný pokles a po přidání střevních buněk ji produkuje až po delší době (8 hodin). Lze také říci, že s narůstající délkou kultivace se koncentrace SOD zvyšovala nezávisle na pokusné variantě.

Při stanovení obsahu prvků v mineralizátech tasemnic a v médiích byl nejvíce stagnující účinek u zinku. Jedná se o esenciální prvek, který tasemnice umí regulovat. Ostatní prvky - arsen, kadmium a olovo měly v interakci se střevními buňkami významný nárůst obsahu do určité hodiny kultivace a poté významný pokles. Tasemnice je schopná akumulovat určitou část a tím tedy zbaví organismus těžkých kovů a je mu prospěšná. Bylo prokázáno, že tasemnice jsou schopné akumulovat rizikové prvky z trávicího traktu hostitele do svého a *in vitro* kultivace může napomoci k detailnějšímu poznání této interakce.

Klíčová slova: tasemnice krysí, *in vitro*, tenké střevo, enzymy, parazitismus

Determination and evaluation of biologically active substances released by tapeworms in interaction with intestinal cells

Summary

The aim of the thesis was to test the experimental conditions for culturing the tapeworm in interaction with intestinal cells in model in vitro experiments so that it was possible to describe the enzymatic products of the parasite's antioxidant apparatus, specifically the activity of superoxide dismutase (SOD) for further study of possible interactions between the tapeworm and the host. The determination of the concentration of certain elements (Zn, As, Cd, Pb) in tapeworm tissues and media was also part of the research.

The experiment was carried out on 4 rats from the Wistar strain, which were behaved in the CZU laboratory. The animals were kept in boxes of two individuals. They were fed pallet food without the addition of toxic elements. Rats were infected orally, for greater success the remaining part was sprinkled on the food and part of the dark circles was put in grape wine. After 21 days and verification of the presence of *H. diminuta* eggs, the rats were killed and the tapeworms were isolated in Petri dishes. The actual research part took place in specialized laboratories, where tapeworms were cultured by the *in vitro* method. We were most interested in the interaction of the tapeworm with intestinal cells, i.e. the parasite-host system.

SOD concentration has an increasing character. When determining the concentration of the tapeworm in the medium, the increase is negligible compared to the tapeworm in the medium with the addition of intestinal cells. Intestinal cells mimic the parasite-host system and respond to oxidative stress by increasing SOD concentration. The significant drop at 8 hours of culture may be due to another compound produced by the tapeworm, which may affect the resulting SOD concentration. It produces it very quickly in the medium itself (after only 2 hours of cultivation), where there is a significant decrease, and after the addition of intestinal cells it only produces it after a longer time (8 hours). It can also be said that with increasing length of cultivation, SOD concentration increased independently of the experimental variant.

When determining the content of elements in mineralized tapeworms and media, the most stagnant effect was for zinc. It is an essential element that the tapeworm can regulate. The other elements - arsenic, cadmium and lead had a significant increase in content up to a certain hour of cultivation in the interaction with intestinal cells and then a significant decrease. The tapeworm is able to accumulate a certain part and thus rids the organism of heavy metals and is beneficial to it. It has been shown that tapeworms are able to accumulate risk elements from the host's digestive tract into their own, and in vitro cultivation can help to understand this interaction in more detail.

Keywords: *hymenolepis diminuta*, *in vitro*, small intestine, enzymes, parasitism

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3	Přehled literatury	10
3.1	Parazitismus	10
3.1.1	Formy parazitismu	10
3.1.2	Protozoózy	11
3.1.3	Parazitičtí členovci.....	13
3.1.4	Helmintologie	14
3.2	Tasemnice (Cestoda)	16
3.2.1	Morfologie	17
3.2.2	Životní cykly	18
3.2.3	Crowding efekt.....	19
3.2.4	Interakce s hostitelem	19
3.3	Vybrané čeledi tasemnic	20
3.3.1	Anoplocephalidae	20
3.3.2	Diphyllbothriidae	22
3.3.3	Dipylidiidae	23
3.3.4	Mesocetoididae.....	24
3.3.5	Taeniidae.....	25
3.3.6	Hymenolepididae	28
3.4	<i>Hymenolepis diminuta</i>	29
3.4.1	Vývoj taxonomie.....	29
3.4.2	Životní cyklus.....	29
3.4.3	Anatomie a fyziologie	30
3.4.4	Hymenolepióza	32
3.4.5	Kultivace <i>in vitro</i>	32
3.4.6	Vybrané metody kultivace.....	33
3.4.7	Kultivace <i>in vitro</i> – novější studie	34
4	Metodika	36
4.1	Příprava <i>Hymenolepis diminuta</i>	36
4.1.1	Chov mezihostitelů	36

4.1.2	Infikace mezihostitelů.....	36
4.1.3	Izolace cysticerkoidů z mezihostitele.....	36
4.1.4	Infikace definitivního hostitele	37
4.1.5	Izolace dospělé <i>H. diminuta</i> z definitivního hostitele.....	37
4.2	Analytické metody - stanovení SOD	39
4.2.1	Příprava reakčních činidel	39
4.2.2	Příprava kalibračních standardů	39
4.2.3	Provádění testu	40
4.3	Analytické metody - stanovení celkových obsahů Zn, As, Cd a Pb ve vzorcích tasemnic a kapalných médií	41
4.3.1	Tasemnice	41
4.3.2	Média	41
5	Výsledky	42
6	Diskuze	50
7	Závěr.....	54
8	Seznam použité literatury	55
9	Seznam obrázků.....	63

1 Úvod

Helminti jsou příčinou nejrůznějších onemocnění u zvířat a lidí po celém světě, primárně v rozvojových zemích. Většina se usídluje v tenkém střevě hostitele a může vyvolat řadu zdravotních komplikací, zejména u živočichů a lidí s oslabeným imunitním systémem.

V důsledku helmintóz dochází k častým zdravotním komplikacím až ke smrti hostitele. Mezi časté zdravotní problémy se řadí gastrointestinální potíže, neurologické potíže, anémie nebo také poruchy růstu a vývoje u dětí. Řadu parazitů si lidé přivezou z dovolených, případně při požití místních specialit - syrové ryby, maso. V důsledku pobývání parazita v těle hostitele dochází k malnutrici a vyčerpání organismu. Imunitní systém je oslabený a zvyšuje se náchylnost k dalším infekcím. Velmi náchylné u některých helmintóz jsou těhotné ženy. V důsledku nákazy hrozí nízká porodní hmotnost plodu, předčasný porod, případně v nejhorším případě úmrtí plodu.

Důležitou součástí je léčba a prevence. Mezi prevencí lze zařadit dodržování hygienických opatření – pít pouze pitnou vodu, konzumace tepelně ošetřených potravin, použít ochranné pomůcky při manipulaci na zahradě. Prevence je důležitější než léčba a správnými kroky lze přispět ke snížení šíření helmintóz.

V posledních letech se zvýšil zájem o studium *H. diminuta* týkající se její biologie, genetiky nebo také možných terapeutických účinků. Kromě negativních vlivů na hostitele, může *H. diminuta* za určitých podmínek mít pozitivní vliv na zdraví hostitele. V přírodě je řada prvků (As, Pb, Cd), které jsou toxické pro zvířata. Pokud je zvíře napadeno parazitem *H. diminuta* a zároveň v sobě má toxické prvky, tak *H. diminuta* může mít nakonec pozitivní vliv na jeho zdraví. Bylo zjištěno, že tasemnice dokáže akumulovat do svého těla rizikové prvky z těla hostitele a tím následně dochází k „detoxikaci“ hostitele.

Parazité také mohou do budoucna léčit řadu autonomních chorob mezi které se řadí i Crohnova nemoc. In vitro kultivace tasemnic je důležitá z několika důvodů. Pomocí in vitro kultivace lze kontrolovat infekci a studovat vývoj léčiv. Také umožňuje vědcům sledovat citlivost tasemnic k různým léčivým látkám a detekovat případnou rezistenci. V neposlední řadě je důležité studium biologie tasemnic, včetně jejich růstu, metabolismu, reprodukčních cyklů a interakcí s hostitelským organismem.

In vitro kultivace může dát odpověď na řadu otázek souvisejících s nezbytností detailního poznání interakcí parazita ve střevním prostředí a mechanismů, které tyto interakce ovlivňují.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza: In vitro kultivace je vhodným postupem pro detailní popis biochemických procesů probíhajících mezi parazitem a jeho hostitelem.

Cíl: Cílem práce bude v modelových in vitro pokusech testovat experimentální podmínky pro kultivaci tasemnice v interakci se střevními buňkami tak, aby bylo možno přesně popsat enzymatické produkty antioxidačního aparátu parazita a chování vybraných rizikových prvků v systému hostitel - parazit.

3 Přehled literatury

3.1 Parazitismus

Slovo parazitismus je velmi těžké vysvětlit, jedná se o složitý vzájemný antagonistický vztah dvou organismů, který zkoumá věda parazitologie. Zkoumá nejen hostitele a parazita, ale také vztahy a přizpůsobovací proces mezi nimi. Soužití za účasti parazitismu není pro oba organismy výhodné. Jeden z partnerů má z tohoto soužití prospěch a druhý škodu. Parazit nebo také cizopasník je organismus, který získává živiny z jednoho či několika hostitelů, kterým obvykle škodí, ale soužití nemusí končit smrtí hostitele (Jurášek et al. 1993, Volf & Horák 2007).

U antagonistických vztahů se často se můžeme setkat s pojmem „predace“, ale od parazitismu se významně liší. Jedním z rozdílů je počet jedinců, kteří jsou během života využíváni. U parazita to častěji bývá pouze jediný hostitel, zatímco predátor napadá větší množství kořisti, kterou usmrtí (Jurášek et al. 1993, Volf & Horák 2007).

Paraziti mají zásadní vliv na fungování přirozených i umělých ekosystémů. Zajišťují regulaci velikosti populace prostřednictvím změny průměrné mortality v závislosti na hustotě populace. Řada druhů ovlivňuje též fenotyp hostitele. Parazitismem jsou významně ovlivněny i procesy vzniku a zániku druhů. V experimentu na savcích bylo zjištěno, že mezidruhová kříženci jsou mnohem vnímavější k infekcím než příslušníci obou rodičovských druhů (Volf & Horák 2007).

3.1.1 Formy parazitismu

Parazity lze dělit z různých hledisek. Z hlediska svých životních strategií je lze dělit na mikro parazity a makro parazity. Název může napovídat, že se jedná o dělení na základě velikosti, ale primární důvod je, zda způsobené patogenní projevy závisí na množství infikujících parazitů (Volf & Horák 2007).

Do mikro parazitů patří houby, prvoci, viry nebo také bakterie. V těle hostitele dochází k množení parazitů, kteří nemají vytvořena specifická infekční stadia. V případě vypuknutí nákazy onemocnění probíhá akutně a končí buď smrtí hostitele nebo jeho uzdravením. Mezi makro parazity lze zařadit členovce a tasemnice. Oproti mikro parazitům nezmnožují v hostiteli svůj počet, ale produkují infekční stadia, která se následně přenášejí na dalšího hostitele. Infekce bývá chronická, mortalita ve výjimečných případech (Volf & Horák 2007).

Podle biologické povahy organismů rozlišujeme obligátní parazitismus, fakultativní parazitismus, hyperparazitismus a náhodný parazitismus.

Obligátní parazitismus též pravý nebo typický je u každého parazita, u kterého alespoň jedna fáze ontogenetického vývoje probíhá na úkor jiného organismu. Do této skupiny řadíme všechny parazity ze skupiny jednobuněčných, helminty a členovce. Obligátní parazity lze dále dělit dle časového vztahu na dočasné parazity, kdy parazit se na hostiteli nevyvíjí, nerozmnožuje, pouze je omezen na příjem potravy. Řadí se sem zejména ektoparaziti sající krev. Stálý parazit žije na jednom nebo vícero hostitelích celý život v pohlavní formě nebo ve

stádiu larvy. Pokud opustí tělo hostitele, není schopen delší dobu přežít. Poslední formou obligátního parazitismu jsou periodičtí paraziti, kteří parazitují jen v určitém vývojovém stádiu.

Opakem obligátního parazitismu je parazitismus fakultativní, který je také nazýván příležitostný, nepravý nebo též atypický. Bývá u organismů, kteří žijí volně v přírodě. Při náhodném vniknutí do hostitele může žít parazitickým způsobem. Řadí se sem volně žijící nematoda *Rhabditis pellio*, která se může občas usadit a parazitovat v žabách nebo v myších (Jurášek et al. 1993).

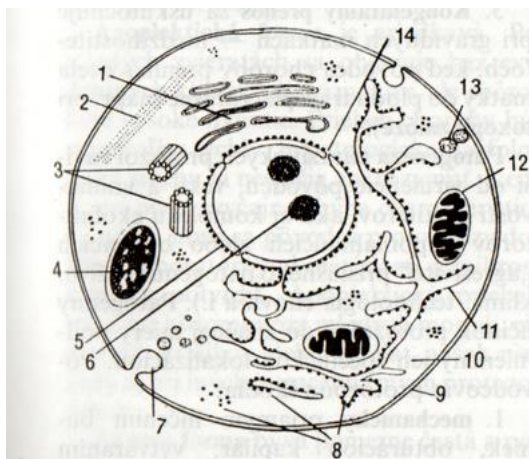
Hyperparazitismus je zvláštní forma parazitismu, při které jeden parazit parazituje v jiném parazitovi. Známý příklad je jednobuněčného organismu *Histomonas meleagridis*, která parazituje ve vajíčkách nematody *Heterakis gallinarum*. Vyskytuje se také u helmintů, roztočů a parazitického hmyzu.

Posledním typem parazitismu je náhodný parazitismus, který je velmi blízký fakultativnímu parazitismu. Objevuje se při volně žijících organismech, které při náhodném vstupu do některého z orgánů hostitele (ústní dutina, povrchové poranění kůže), může vyvolat onemocnění. Nejznámější příklad je obilný roztoč *Tyroglyphus farinae*, který může po zanesení potravou do střeva člověka vyvolat trávicí poruchy (Jurášek et al. 1993).

Posledním zařazeným dělením je dělení na endoparazity a ektoparazity. Endoparaziti žijí uvnitř těla hostitele a lze je rozdělit na intracelulární a extracelulární, kteří žijí mezi buňkami hostitele nebo uvnitř tělních dutin. Ektoparaziti parazitují na povrchu těla, často na kůži nebo v ochlupení (Volf & Horák 2007).

3.1.2 Protozoózy

Jedná se o onemocnění vyvolané jednobuněčnými eukaryotními organismy. Buňka jednobuněčných organismů dosahuje velikosti 1-150 μm a má vyvinuté membránové systémy, díky kterým je schopná tvořit orgány a samostatně uskutečňovat životně důležité funkce (Obrázek 1). Nejjednodušší je pohyb pomocí pseudopodií – panožek. Trvalé orgány pohybu jsou bičíky – flagely a také brvy - cílie. (Jurášek et al. 1993)



Obrázek 1: Morfologie buňky protozoí (Jurášek et al. 1993); 1 - Golgiho aparát, 2 - filamenti, 3 - centrozomy, 4 - lyzozom, 5 - jádro, 6 - jadérko, 7 - pinocitární měchýřek, 8 - ribozomy, 9 - membrána buňky, 10 - cytoplazma, 11 - endoplazmatické retikulum, 12 - mitochondrie, 13 - sekreční granuly, 14 - otvor v membráně jádra

Rozšíření protozoóz je většinou kosmopolitní. Významnou úlohu plní přenašeči, kam řadíme například klíště nebo hmyz sající krev. Velká část protozoí představuje ve svém vývinu dvou hostitelský organismus. Do protozoóz řadíme velký počet řádů, budou představeny pouze některé z nich (Jurášek et al. 1993).

3.1.2.1 Trypanozomózy

Jedná se o bičíkaté prvoky, kteří obývají krevní plazmu, lymfu a různé tkáně svých hostitelů. Jde o obligátní parazity, kteří se ve svých definitivních hostitelích množí, někdy i v mezihostitelích. Přenašeči mohou být savci (netopýři), členovci, někdy také klíšťata, ale nejčastěji je přenos za pomoci kousavého hmyzu. Nejdůležitějšími zástupci tohoto rodu jsou *T. brucei*, *T. rhodesiense* a *T. gambiense* (Desquesnes et al. 1999)

Známé onemocnění „spavá nemoc“ je vyvoláno parazity *T. brucei* a *T. gambiense*. Přenos je zajištěn mouchou tse-tse. S nemocí se lze setkat v chudých částech subsaharské Afriky. Žádná vakcína není k dispozici a dostupné léky jsou natolik toxické, že neumožňují preventivní chemoterapii (Malvy & Chappuis 2011)

3.1.2.2 Leishmanióza

Jedná se o prvoky rodu *Leishmania*, kteří obývají dva vysoce specifické hostitele, písečnou mušku, kde rostou jako pohybliví bičíkovci ve střevě, a savčího makrofága, kde přežívají a rostou intracelulárně. Leishmanióza je endemická v tropických oblastech Afriky a Ameriky, na indickém subkontinentu a v oblastech Středomoří a jihozápadní Asie. Jde o skupinu onemocnění, která se projevují v začátcích kožními vředy a mohou vést až k těžkému onemocnění s masivní destrukcí tkání a dokonce až ke smrti.

Infekce začíná vnesením organismu do kůže kousnutím infikované písečné mušky. Podle klinických projevů lze leishmaniózu dělit do tří skupin. Kožní leishmanióza se projevuje chronickými kožními vředy vznikající v místě kousnutí písečnou muškou, hojení může trvat měsíce. Muk kutánní leishmanióza způsobuje též kožní vředy, které se zhojí, ale následně se léze znovu objeví. Tyto vředy jsou často doprovázeny sekundárními infekcemi a masivní destrukcí tkání. Jako poslední je viscerální leishmanióza, kdy organismy míří do jater, sleziny a kostní dřeně, ve většině případů je onemocnění smrtelné. (Handman 1999)

3.1.2.3 Malárie

Malárie je způsobena prvoky rodu *Plasmodium* a nejzávažnější výskyt této choroby je v subsaharské oblasti Afriky. Životní cyklus parazita zahrnuje fázi sexuální reprodukce, která se odehrává v organismu komárů, ale skutečný přechod k sexuálnímu vývoji probíhá u obratlovců s tvorbou samčích a samičích gamet. Malárie je nebezpečná zejména u žen v těhotenství, kdy dochází ke ztrátě části imunity. Může to vést až ke smrti matky, potratu plodu nebo porodu mrtvého plodu (Baker 2010, Greenwood & Mutabingwa 2002).

3.1.2.4 Amébióza

Jedná se o jednu z nejrozšířenějších parazitárních nemocí lidského druhu. Nejčastější výskyt je u lidí žijících v rozvojových zemích a u cestovatelů a emigrantů. Infekce může být

od asymptomatické formy až po abscesy ohrožující život. Onemocnění se může projevit měsíce až roky po expozici. Přenos kontaminace je nepřímý, většinou kontaminovanou vodou a potravinami. V rizikových oblastech je v této souvislosti doporučena balená voda, která není kontaminovaná. (Ravdin 1995)

3.1.2.5 Toxoplasmóza

Toxoplasmóza je způsobena všeobecně rozšířeným parazitem *Toxoplasma gondii*, který infikuje jednu třetinu světové lidské populace. Je významným zoonotickým a veterinárním parazitem infikující mnoho druhů teplokrevných živočichů. *T. gondii* je spojena s vrozenou infekcí a rizikem potratu. Nejčastější přenos probíhá orálně, konzumací nedostatečně tepelně upraveného masa zejména vepřového a jehněčího. Forma příznaků je asymptomatická a symptomatická. Symptomatická infekce je pozorována mnohem méně často, oproti asymptomatické formě. Imunodeficitní pacienti mají často onemocnění centrálního nervového systému nebo také zánět plic a zánět srdečního svalu. Chorioretinitida (zánět cévnatky a sítnice) je velmi častým příznakem v důsledku infekce oční toxoplasmózy. Asymptomatická infekce *T. gondii* vede k latentní fázi. Vrozená toxoplasmóza je důsledkem toho, že imunologicky naivní matka během těhotenství získala novou infekci, která je asymptomatická. Následkem je recidivující onemocnění u infikovaných dětí (McAuley 2014, Weiss & Dubey 2009).

3.1.2.6 Giardióza

Giardióza je střevní infekce způsobena prvokovým parazitem *Giardia lamblia*, který je známý také jako *G. intestinalis* nebo *G. duodenalis*. Jedná se o kosmopolitní výskyt, nejvyšší výskyt je hlášen ve Spojených státech. Onemocnění se šíří prostřednictvím kontaminovaných potravin nebo vody, ale také přímým fekálně-orálním přenosem. Mezi osoby ohrožené se řadí zejména děti, zahraniční cestovatelé a homosexuální muži. Většina infikovaných jedinců má asymptomatický průběh onemocnění a stávají se chronickými přenašeči. Dříve se myslelo, že hlavním příznakem onemocnění je průjem, ale bylo potvrzeno, že tento symptom byl přítomen pouze u třetiny pacientů s histologicky potvrzenou giardiózou (Lebwohl et al. 2003).

3.1.3 Parazitičtí členovci

Členovci jsou řazeni mezi nejpočetnější skupinu živočichů a setkáváme se s nejširší škálou různých forem parazitismu, a to parazitoidů, kleptoparazitů nebo sociálních parazitů. Převážná většina z nich se řadí mezi ektoparazity, málo zástupců se přizpůsobilo životu uvnitř těl svých hostitelů, a proto o endoparazitech. Z pohledu humánní a veterinární medicíny představují největší nebezpečí jako přenašeči různých infekčních onemocnění. Popsány budou pouze některé z nich (Volf & Horák 2007).

3.1.3.1 Pedikulóza

Pedikulóza neboli zavšivení je celosvětovým problémem. Mezi nejznámější typy vši, které napadají člověka, patří veš dětská (*Pediculus capitis*), veš šatní (*P. corporis*) a veš muňka (*Phthirus pubis*). Veš dětská (*P. capitis*) postihuje pokožku hlavy, napadení může být častější během letních měsíců. Způsob přenosu je nejčastěji přímým kontaktem z hlavy na hlavu nebo sdílením pokrývky hlavy. Vši kladou hnidy (vajíčka v pouzdru) a následně se vylíhnou během 1 týdne.

Pediculus corporis neboli veš šatní je často se vyskytující parazit u bezdomovců, uprchlíků nebo u sociálně slabších rodin. Veš se vyskytuje na oděvech, její výskyt je ovlivněn také nedostatečnou hygienou. Hlavním příznakem stejně jako u *P. capitis* je svědění postižené oblasti. Posledním zástupcem je *P. pubis*, která způsobuje sexuálně přenosnou chorobu nazývanou též filcky. Veš se přichytí na přilehlé ochlupení hrudníku, břicha, nohou a hýždí (Ko & Elston 2004).

3.1.3.2 Svrab

Další onemocnění způsobené roztočem *Sarcoptes scabiei* je svrab. Jedná se o lidského parazita měřícího přibližně 300 až 400 μm . Svrab se nejčastěji vyskytuje u menších dětí, kdy obě pohlaví jsou postižena stejně. Nejčastějšími faktory vyvolávající toto onemocnění je přelidněnost, imigrace, špatná hygiena, špatný nutriční stav, bezdomovectví a sexuální kontakt. Nemoc se přenáší přímým kontaktem z kůže na kůži. Typickým příznakem je pruritus neboli svědění, které je intenzivnější především v noci, ačkoliv u některých jedinců může být nemoc asymptomatická (Hicks & Elston 2009).

3.1.3.3 Demodikóza

Parazit *Demodex folliculorum* způsobuje onemocnění demodikózu. Žije ve vlasových folikulech a také žlázách lidské kůže. U většiny infikovaných jedinců se nevyskytují žádné příznaky. Nejčastější místo výskytu je čelo, oblast tváří, nosu nebo kolem uší (Akilov & Mumcuoglu 2004).

3.1.3.4 Trombikulóza

Trombikulóza je napadení kůže larválním stádiem různých druhů roztočů patřících do kmene Arthropoda. Roztoči *Neotrombicula autumnalis* jsou více difúzní v mírném a vlhkém evropském prostředí. Vajíčka se obvykle líhnou na konci podzimu a noví roztoči, kteří jsou ve svém larválním stádiu parazity teplokrevných hostitelů, se obvykle živí a rostou na kůži malých hlodavců a psů. Hostiteli se mohou stát i lidé, převážně žijící nebo pracující na venkově. Infekce je častější na podzim a rizikovými skupinami jsou například lovci nebo zemědělci. Hlavním příznakem je svědění konkrétního místa. K léčbě nejsou žádné speciální léky. Důležité je použití repelentů, dostatečná hygiena a zamezení expozice nošením vhodného oblečení (Nasca et al. 2014).

3.1.4 Helmintologie

Helmintologie je vědní obor zabývající se výzkumem helmintů. Jedná se o velmi různorodou skupinu živočichů. Termín je souhrnným označením pro nepříbuzné, ale pro praktické účely některých vědních disciplín. Pokud se jedná o ontogenetický vývoj, tak helminti představují velice variabilní skupinu. Během ontogenetického vývoje využívají i několik typů hostitelů, a kromě dospělců a vajíček mohou mít i poměrně velký počet morfologicky odlišných larválních stádií (Jurášek et al. 1993, Volf & Horák 2007).

Mezi helminty jsou zahrnováni zástupci neodermátních platyhelmintů (Trematoda, Cestoda, Monogenea), hlístice (Nematoda) a vrtějši (Acanthocephala). Název helminti neodráží fylogenetické vztahy mezi skupinami, spíše je dán naší subjektivní definicí (Volf & Horák 2007).

3.1.4.1 Trematodózy

Velmi početná skupina (asi kolem 8 000 známých druhů) se složitými vývojovými cykly. Parazitismus probíhá napříč všemi orgánovými soustavami, hlavně v trávicím traktu, dýchacím systémem, krevním řečišti, nervové soustavě. Většinou dosahují velikosti od několika desetin milimetru do několika centimetrů. Převážná většina motolic je hermafroditní (Jurášek et al. 1993, Volf & Horák 2007).

3.1.4.1.1 Fasciolóza

Fasciolóza je onemocnění lidí a zvířat způsobené *Fasciola hepatica* a *Fasciola gigantica*. *F. hepatica* se vyskytuje po celém světě, kdežto *F. gigantica* je tropická motolice, která se vyskytuje v tropických oblastech Asie a Afriky. Zvířata se nakazí konzumací kontaminované trávy, zatímco k nákaze člověka dochází po požití jedlého salátu (řeřicha) nebo také konzumací kontaminované vody. K terapii fasciolózy se používá celá řada léčivých látek (Cwiklinski et al. 2016).

3.1.4.1.2 Schistosomóza

Schistosomóza je jedno z nejrozšířenějších parazitárních infekcí a má významné ekonomické důsledky a také důsledky pro veřejné zdraví. Z 19 druhů *Schistosoma* jsou některé lidskými parazity (*S. mansoni* a *S. haematobium*), některé jsou zoonózy infikující člověka, divoká zvířata a domácí zvířata (*S. japonicum*) a některé jsou primárně infikující zvířata (*S. bovis* a *S. curassoni*) (Chitsulo et al. 2000, Wilson et al. 2007).

Velmi známá *S. mansoni* sídlí v mezenterických žilách střevního traktu, se symptomy jako je anémie, podvýživa, zastavení růstu nebo portální hypertenze. *S. haematobium* sídlí v cévách močového měchýře, projevem je hematurie, poškození ledvin a také kalcifikace močového měchýře. Léčba je medikamentózní (Chitsulo et al. 2000, Wilson et al. 2007).

3.1.4.2 Nematodózy

Jednou z nejpočetnějších a nejrozšířenějších skupin živočichů jsou hlístice. Parazituji v obratlovcích, mnoho dalších žije volným způsobem života nebo také jako paraziti bezobratlých nebo rostlin. Nejčastější výskyt hlístic je v trávicím traktu hostitele, krevním a lymfatickém oběhu nebo nervové soustavě.

3.1.4.2.1 Askarióza

Askarióza je onemocnění vyskytující se u lidí a prasat. U lidí je způsobena *Ascaris lumbricoides* a u prasat *A. suum*. Nejčastější výskyt lidské infekce je v subsaharské Africe, Americe, Číně a východní Asii. Infekce hostitele probíhá fekálně – orální cestou, pokud jsou infekční vajíčka požitá a vylíhnutá, tak se larvy vyvíjí v hostitelských parenterálních tkáních. Projevy askariózy lze rozdělit na akutní a chronické. Lidští hostitelé pociťují akutní zánět plic, potíže s dýcháním a horečku. Bolest, nevolnost a průjem jsou také charakteristické příznaky infekce. Důležité je dodržování hygienických opatření jako prevence výskytu nemoci (Dold & Holland 2011).

3.1.4.2.2 Enterobióza

Enterobióza je kosmopolitně rozšířená po celém světě a její přenos bývá zpravidla velmi jednoduchý, a to zejména mezi členy rodiny. Hostitelem je člověk a nákaza prochází

orálně - fekální cestou. Původcem je roup dětský neboli *Enterobius vermicularis*. Nejdůležitější součástí prevence je dodržování hygieny. Enterobióza je ve většině případů asymptomatická, pokud se příznaky projeví, tak jedním z nejdůležitějších je anální svědění. Další klinické příznaky zejména u dětí mohou být nespavost, únava, podráždění nebo bolesti břicha (Pezzani et al. 2004).

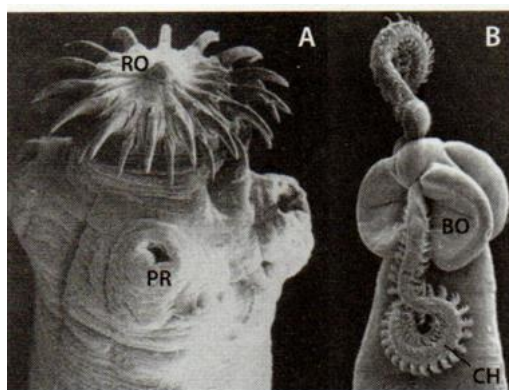
3.1.4.2.3 Trichinelóza

Trichinelóza je střevní a tkáňová infekce lidí a jiných savců způsobena hlísticí *Trichinella spiralis*. Nemoc se přenáší požitím nedostatečně tepelně upraveného masa, kam se zahrnuje i uzené maso, jelikož není tepelně upravené. Pro onemocnění jsou charakteristické průjemy, horečky, periorbitální otoky (tj. v okolí očnice), příležitostně myokarditidy, pneumonitidy nebo encefalitidy. Léčba je medikamentózní. Užití anthelmintika thiabendazolu po dobu 7 dní je účinná metoda zmírňující příznaky této nemoci (Chatterjee et al. 2000).

3.2 Tasemnice (Cestoda)

Tasemnice jsou řazeny do kmene ploštěnců (Platyhelminthes) a parazitují u všech obratlovců, a to zejména ve střevech, přičemž jsou velmi dobře adaptovány na vnitřní prostředí určitého hostitele. Dospělci zpravidla parazitují na obratlovcích, kdežto larvy se vyskytují u bezobratlých i obratlovců. Jsou rozšířené téměř ve všech suchozemských, sladkovodních a mořských biotopech. Nejvyšší počet řádů tasemnic se nachází u ryb a paryb. Místem lokalizace dospělců je trávicí soustava a většina parazitů využívá více hostitelské životní cykly. Jak dospělí jedinci, tak i vývojová stadia tasemnic mohou vyvolávat vážná onemocnění u člověka i zvířat (Ryšavý et al. 1988).

Typická stavba tasemnice je tvořena skolexem (hlavičkou) a segmentovanou strobilou (tělem). Na skolexu (Obrázek 2) lze najít přichycovací orgány, jako jsou například přísavné rýhy či kruhové přísavky. Tasemnice jsou hermafroditi, v každém článku je samčí i samičí reprodukční soustava (Volf & Horák 2007).



Obrázek 2: Cestoda, příklady hlaviček (skolexů) (Volf & Horák 2007); A - nejznámější typ hlavičky u rodu *Taenia* - hlavička se čtyřmi přísavkami a vysunovatelným rostellem s mohutnými háčky, B - ukázka skolexu žraločí tasemnice s přísavnými orgány a vysunovatelnými chobotky s háčky. RO - rostellum s háčky, PR – přísavky, BO - botridie, CH - chobotky

Onkosféra je název pro infekční larvu tasemnic. Z hlediska počtu buněk patří onkosféry mezi nejjednodušší mnohobuněčné organismy s počtem 50-100 buněk. První larvální stádium je onkosféra, která se dostane do hostitele požitím. Měří méně než 20 μm v průměru a obsahují méně než 100 buněk.

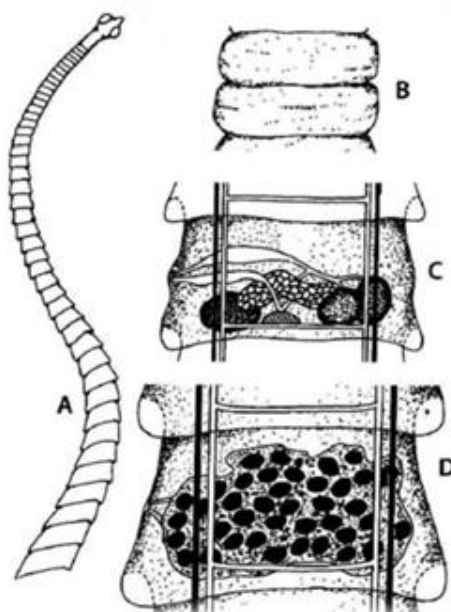
Embryonální buňky jsou tvořeny několika vrstvami obalů (Hartenstein & Jones 2003).

Vnitřní obal onkosféry se nazývá embryofor. Vnější obal je silná, tuhá, pruhovaná bílkovinná slupka nažloutlé barvy, kterou lze roztrhnout jemnými jehličkami. Mezi vnitřním a vnějším obalem je přítomen koloidní obal. V periferní části je materiál tuhý, pevně spojen s vnějším pouzdem. Ve střední části je vrstva podstatně tekutější (Ogren 1961).

U cysticerkoidů (larvální stádia v tělní dutině členovců) se lze setkat s pojmem „excystace“. Jedná se o uvolnění larvy z ochranných obalů. Probíhá u definitivního hostitele ve dvanáctníku. Larva je aktivována díky žlučovým solím a opouští centrální dutinu skrze spojovací kanálek. Larva je uvolněna za pomoci trávicích enzymů (trypsin, pepsin) a kyseliny chlorovodíkové, které natráví ochranné obaly. Přichycení ke střešní stěně je snazší, jelikož jsou larvy daleko více aktivní (Arai 1980, Rothman 1959).

3.2.1 Morfologie

Tělo tasemnice je dorzoventrálně zploštělé, rozlišuje se hlavička (scolex) a tělo (strobilum). Délka strobily se pohybuje od 0,6 mm až do 30 m (někteří parazité kytovců). (Georgiev et al. 2006). Hlavička může na tělo navazovat přímo nebo je oddělena nečlánkovaným krčkem. Scolex může obsahovat přísavky, háčky, drážky, chapadla, kterými se tasemnice přichycuje ke sliznici střeva. Tělo je tvořeno plochými články neboli segmenty (proglotidy) v lineární řadě (Obrázek 3). Jejich počet může dosahovat až čtyři tisíce (Ryšavý et al. 1988).



Obrázek 3: Základní organizace těla tasemnic (Volf et al. 2007); A - přední část strobily s terminálně umístěnou hlavičkou s přísavkami; B - nezralé články za oblastí krčku; C - pohlavně zralé články s vyvinutou samčí a samičí pohlavní soustavou; D - nejstarší články naplněné vajíčka

Jednotlivé segmenty se mohou dále dělit na kraspedontní, u kterých zadní okraj přesahuje následující článek a akraspedontní. Nejmladší články lze nalézt hned za hlavičkou v tzv. proliferační zóně, naopak nejstarší články jsou na konci strobila (Horák & Scholz 1998).

Dospělé tasemnice žijí v trávicím traktu svého hostitele a absorbují živiny prostřednictvím specializované vnější vrstvy těla zvaná neodermis, protože u nich není vyvinuta trávicí soustava (Ryšavý et al. 1988). Neodermis se významně podílí na vstřebávání živin a také na přichycování. Vápenitá tělíska, která můžeme najít v parenchymu, mají funkci opory. Tělíska mohou být různého počtu, velikosti i složení, záleží na druhu tasemnice (Claira & Jensen 2021, Jíra 1998).

Nervová soustava je rovněž velmi jednoduchá. Z párové cerebrální uzliny, která je součástí nervové soustavy, vybíhají dva silnější a větší počet slabších provazců. Vylučovací soustava je protonefridiálního typu, která je tvořena tzv. plaménkovými buňkami a párovými sběrnými kanálky. Vylučování probíhá pomocí exkrečních kanálků, které se dále spojují v hlavní sběrné kanálky vedoucí ventrálně po celé délce těla. Dalším typem exkrečních kanálků jsou pak kanálky dorsální, které se nenacházejí v posledních gravidních člancích (Jírovec 1977).

V adultních a negravidních člancích se nacházejí pohlavní orgány i jejich vývody. Samčí orgány dozrávají dříve než samičí, tomuto jevu se říká protandrie jev, kdy. U většiny tasemnic to tak bývá. Variabilního počtu i tvarů jsou samčí pohlavní orgány (testes). Z varlat ústí semenné kanálky do chámovodu, kde přechází v chámomet a vyúsťuje v cirrovém váčku, kde ústí dále do genitálního atria. Vychlípitelný penis (cirrus) je kopulačním orgánem u tasemnic.

U samičích pohlavních orgánů lze nalézt nepárový vaječník (ovarium) nepravidelného tvaru. Do ootypu ústí žlutková žláza, která se nachází pod vaječníkem. V blízkosti vejcovodů se nachází Mehlisova žláza, která se podílí na tvorbě vaječných obalů. Vajíčko se dostává z ootypu do dělohy (uterus), kde dozrává. Do genitálního atria ústí vagína trubicovitého tvaru, která představuje samičí kopulační orgán (Jíra 1998).

3.2.2 Životní cykly

Scholz et al. (2021) konstatují, že životní cykly tasemnic jsou složité; to znamená, že k dokončení ontogenetického vývoje včetně produkce vajíček je nezbytný mezihostitel a definitivní hostitel (dixenní cyklus), popřípadě někdy jsou potřeba dva mezihostitelé a jeden definitivní hostitel (trixenní cyklus).

Životní cyklus se u různých řádů tasemnic liší. Jako hostitelé mohou posloužit jak obratlovci, tak i bezobratlí. Vajíčka opouští hostitele společně s trusem. Lykofera nebo onkosféra je název larvy, která se vyvine ve vajíčku. Onkosféra navíc může být vybavena obalem, který jí umožní pohyb ve vodním prostředí; pak se nazývá koracidium. Pokud dojde k pozření, tak se larvy mění v druhé, případně třetí stádium.

Tato stádia se označují jako metacestoidi a podle morfologie se rozlišují na procerkoid, plerocerkoid, cysticercoid a cysticercus (Volf et al. 2007). Dospělí jedinci parazitují v tenkém střevě, kde parazitují na svém hostiteli (Svobodová et al. 2013).

3.2.3 Crowding efekt

V daném organismu je „Crowding efekt“ zodpovědný za regulaci velikosti a plodnosti populace. Velikost tasemnic je nepřímo úměrná jejich počtu v definitivním hostiteli. Dle studií vyplývá, že crowding efekt byl vytvořen za účelem reakce na množství potravy a fyzický prostor každé tasemnice. K projevům efektu dochází nejčastěji 6-8 den po infekci, kdy může být zapojen i imunitní systém hostitele (Read 2000).

Pokud se v hostiteli usadí vyšší počet tasemnic, tak crowding efekt je více náročnější a závažnější. Pokud je populace přeplněná, tak důsledkem jsou menší a méně dospělé tasemnice (Andreassen et al. 1999).

3.2.4 Interakce s hostitelem

Interakci s každým hostitelem lze rozdělit do několika po sobě jdoucích fází. Během každé fáze se zvětšuje velikost parazita a jeho vliv na jednotlivé hostitele, zatímco vliv hostitele na parazita se zmenšuje (Hammerschmidt & Kurtz 2009). Interakce mezi parazity a jejich hostiteli však mohou někdy vést ke změnám v tkáních a orgánech hostitele, které vyplývají jak z přímého účinku parazita, tak z indukovaných obranných mechanismů.

Před usídlením parazita je potřeba překonat obranné mechanismy hostitele. Mezi obrany hostitele se řadí behaviorální rezistence, mechanická a imunologická bariéra střevní stěny a imunita v tělní dutině. Do první linie obrany hostitele před parazitem se řadí vyhýbání požití parazita (Hammerschmidt & Kurtz 2009). U hostitele dochází k aktivaci všech druhů nespecifických a specifických imunitních odpovědí. Specifická neboli získaná imunita se vyvine během prvního kontaktu s hostitelem. Následuje produkce protilátek pomocnými T buňkami a B lymfocyty. Nespecifická neboli vrozená imunita souvisí s výskytem různých typů bariér. Fyzikálně - mechanická bariéra pro zachování kontinuity tkání, biologická bariéra pro vylučování lysozymu a chemická bariéra (Kapczuk et al. 2018).

Například u potkanů infikovaných tasemnicí *H. diminuta* byly zaznamenány změny v játrech, ledvinách a střevech. Při podrobném vyšetření byla prokázána nadměrná sekrece hlenu, zvýšená sekrece mucinu do lumen střev. Intenzita infekce potkanů *H. diminuta* se pohybuje od 1 do 17 tasemnic v jednom hostiteli. Intenzita infekce je vysoká při přítomnosti více než 5 parazitů. Infekce způsobuje významný pokles transepiteliálního rozdílu elektrického potenciálu, přičemž blokuje transport chloridových a draselných iontů. Následkem všech působících mechanismů parazita dochází k omezení sekrečních a vylučovacích funkcí hostitele. Také parazitární infekce může způsobit poruchy hematologických parametrů krve a změny ve složení plazmy parazitů. Paraziti žijící v těle hostitele mohou způsobit hypersenzitivní reakci a oxidační stres (Kapczuk et al. 2018).

3.2.4.1 Antioxidační enzymy

Leukocyty aktivované hostitelem jsou schopné produkovat velké množství reaktivních forem kyslíku (ROS), které jsou schopné ničit buňky parazitů (Skrzycki et al. 2011).

Nadbytek ROS způsobuje poškození proteinů, poškození DNA a peroxidaci lipidů, což vede mimo jiné k narušení integrity membrány a změnám v buněčném metabolismu. Peroxidace lipidů (LPO) může být indikátorem intenzity oxidačního stresu v buňkách a tkáních (Kapczuk et al. 2018). Protože parazité žijí v prostředí chudém na kyslík, jsou obzvláště citliví na oxidační stres. Vyvinuli proto různé způsoby, jak se vyhnout oxidačnímu poškození. Parazité se proti ROS brání především pomocí antioxidačního systému (Czeczot et al. 2012).

Účinné antioxidační enzymy představují důležité mechanismy pro podporu přežití parazitů v jejich hostitelích, protože slouží jako obrana proti volným radikálům, které jsou uvolňovány během zánětlivého stavu vyvolaného imunitním systémem hostitele. Jedním z klíčových antioxidačních enzymů je superoxiddismutáza (SOD), která odstraňuje superoxidové anionty a zároveň produkuje peroxid vodíku. Jsou známy tři izoenzymy SOD - cytosolový (CuZnSOD), mitochondriální (MnSOD) a extracelulární (ECSOD) (Skrzycki et al. 2011).

Dalším důležitým enzymem je kataláza (CAT). Způsobuje rozklad peroxidu vodíku na vodu a kyslík. Do skupiny enzymů odvozených od redukovaného glutathionu (GSH) patří selen-dependentní glutathionperoxidáza (SeGSHPx), celková glutathionperoxidáza (GSHPx), glutathinreduktáza (GSHR) (Skrzycki et al. 2011).

3.3 Vybrané čeledi tasemnic

3.3.1 Anoplocephalidae

Tasemnice z čeledi Anoplocephalidae jsou široce rozšířenými parazity celé řady plazů, ptáků a savců. Avšak většina z nich se vyskytuje primárně u savců, a proto znalosti o jejich taxonomii, biologii a evoluci jsou primárně odvozeny ze studií zaměřených na savce jako hostitelské organismy.

Historie taxonomie této čeledi sahá až do roku 1891 a od té doby došlo k mnoha změnám. Nakonec pomocí evolučních kritérií došlo k tomu, že na základě struktury dělohy by měla být Anoplocephalidae rozdělena do dvou podčeledí, Anoplocephalinae a Monieziinae. V roce 1994 Beveridge navrhl rozdělení do čtyř podčeledí podle typu vývoje dělohy - Anoplocephalinae, Linstowiinae, Thysanosomatinae a Inermicapsiferinae.

Jedná se o heteroxenní parazity, tedy k dokončení svého cyklu potřebují jak přechodného, tak definitivního hostitele. Mezi časté mezihostitele patří například pancířníci.

Pancířníci jsou roztoči, kteří tvoří důležitou součást půdní fauny a mají kosmopolitní rozšíření. Sengbusch (1977) sestavil seznam druhů pancířníků, kteří slouží jako mezihostitelé pro několik různých anoplocephalických tasemnic (Denegri et al. 2002).

3.3.1.1 *Anoplocephala* Blanchard, 1849

Do tohoto rodu byly zahrnuty všechny druhy tasemnic, které se vyskytují u koní. Mezi dva nejvýznamnější druhy řadíme *Anoplocephala magna* a *A. perfoliata*. Tyto druhy se vyskytují často, ale lehké infekce nezpůsobují žádné klinické příznaky, zatímco vysoká zátěž parazity může způsobit onemocnění.

3.3.1.2 *Anoplocephaloides* Baer, 1923

Dříve byly tasemnice tohoto rodu přiřazené k rodu *Anoplocephala*, ale od roku 1923 existují jako samostatný rod. Velmi známá je *Anoplocephaloides mamillana*, která se vyskytuje v tenkém střevě a někdy i v žaludku koní.

Jedná se o malou tasemnici s velmi úzkým skolexem, zahrnující otvory přísavek, které jsou šterbinovité. Infekce koní tasemnicí vedou k onemocnění velmi zřídka. Jako mezihostitel mohou sloužit pancířníci.

3.3.1.3 *Bertiella* Stiles et Hassal, 1902

Tasemnice tohoto rodu jsou běžnými parazity u primátů, hlodavců, letuch, vačnatců a jsou jedinými anoplocefalidy vyskytujícími se u člověka. Většina publikovaných studií se týká *Bertiella studeri*, která se vyskytuje u člověka (Obrázek 4) (Denegri et al. 2002).



Obrázek 4: *Bertiella studeri* - makroskopický pohled (Servián et al. 2020)

3.3.1.4 *Moniezia* Blanchard, 1891

Tento rod tasemnic byl zredukován na 8 druhů rozdělených do tří skupin, a to na základě přítomnosti nebo nepřítomnosti meziproglottidálních žláz. Jako první je skupina *plannissima* s interproglottidálními žlázami uspořádanými lineárně, skupina *expansa* s vakovitými meziproglottidálními žlázami a skupina *denticulata* bez interproglottidálních žláz.

Je vysoce kosmopolitní a masivní infekce domácích přežvýkavců může vést až k ekonomickým ztrátám. Nejdůležitějšími zástupci tohoto rodu jsou *Moniezia benedeni* infikující především skot a *Moniezia expansa*, infikující ovce (Denegri et al. 2002).

3.3.1.5 *Avitellina* Gough, 1911

Rod *Avitellina* zahrnuje čtyři veterinárně významné druhy, kdy zástupci tohoto rodu se vyskytují v tenkém střevě ovcí a dalších domácích přežvýkavců v Evropě, Asii, Africe a Severní Americe. Tento parazit může dosáhnout délky více než 3 metry.

3.3.1.6 *Stilesia* Railliet, 1893

Rod infikující domácí přežvýkavce zahrnuje dva druhy. Jako první je *Stilesia hepatica*, která se vyskytuje ve žlučových cestách ovcí, skotu, koz a volně žijících přežvýkavců. Jedná se o oblasti v Súdanu, Keni, Tanzanii, Angole nebo například v Zambii. V některých zemích Afriky postihuje až 90-100 % ovcí. Dospělí jedinci dosahují délky do 50 cm. I zde fungují pancířníci jako mezihostitelé. Těžká infekce může znamenat smrt hostitelského zvířete.

3.3.1.7 *Thysanosoma* Diesing, 1835

Tato tasemnice se vyskytuje ve žlučových a slinivkových cestách a předních částech dvanáctníku, hlavně ovčí a v menší míře skotu a koz. I přes vysokou zátěž parazity, nedochází k vyvolání klinických příznaků.

Thysanosoma měří necelých 30 cm. Český název tasemnice třásnitá vychází z toho, že každý segment obsahuje dvě sady pohlavních orgánů a zadní okraj každého segmentu je výrazně třásnitý (Denegri et al. 2002).

3.3.2 *Diphyllobothriidae*

Čeleď *Diphyllobothriidae* je již samostatná, byla vyčleněna z *Pseudophyllidea* na základě morfologických a molekulárních dat. Uznáno za platné je kolem 60 druhů, ale pouze 20 druhů infikovalo člověka (Kuchta et al. 2008).

Jedná se převážně o velké, polyzoické tasemnice s anapolytickými proglotidami, což znamená, že vajíčka jsou uvolňována samostatně z uterinního póru a vylučována spolu se stolicí. Dorzoventrální zploštění lze najít u strobily, kdežto proglotidy jsou většinou širší než delší. Skolex je vybaven dvěma přísavnými rýhami, které mohou být modifikovány. Háčky ani jiné přichycovací orgány u skolexu nenajdeme (Khalil et al. 1994).

Velikostně dosahují 1-2 m, kdy nejmenší jedinci dosahují délky pouze několik milimetrů. (Maltsev 2020). Tasemnice *Tetragonoporus calyptocephalus* parazitující ve žlučovodech vorvaňů dosahuje délky až 30 m (Yurachno 1992).

Životní cykly jsou zpravidla složité a zahrnují celkem tři hostitelské organismy (jednoho definitivního a dva přechodné). Vajíčka jsou vylučována do stolice a coracidium - obrvená larva se uvolňuje do vodního prostředí, ať už sladkovodní nebo mořské. Volně plovoucí larva je požírána korýši, kteří slouží jako první mezihostitelé. Následně coracidium proniká střevní stěnou tělní dutiny klanonožce, kde se vytvoří druhé stádium – procerkoid. Sladkovodní nebo mořské ryby jsou druhými mezihostiteli. Tito mezihostitelé se nakazí konzumací infikovaných klanonožců s procerkoidy. Procerkoid proniká do tkáně hostitele a vyvíjí se v larvu plerocerkoida téměř v každém orgánu – pobřišnice, břišní dutina nebo svalovina (Kuchta 2021). Nákaza u člověka je možná, jelikož někteří plerocerkoidi mohou po smrti hostitele, tedy ryby, migrovat z vnitřností do svaloviny a mohou tak být konzumováni člověkem. Plerocerkoidi mohou zůstat v neaktivní formě po dobu několika let, mohou být jak zapouzďené v tělní dutině, tak i nezapouzďené (Ching 1988).

3.3.2.1 *Diphyllobothrium* Cobbold, 1858

Tasemnice tohoto rodu jsou běžnými střevními parazity u ptáků a savců. U některých druhů byly zaznamenány infekce člověka, přičemž se odhaduje kolem 20 milionů případů na celém světě. Výskyt u člověka je dán do souvislosti s tasemnicí širokou (*Diphyllobothrium latum*), která se například vyskytuje v Severní Americe, Evropě a Rusku.

Například byl popsán případ infekce u muže, kde s největší pravděpodobností bylo zdrojem infekce maso lososa. Neúplná strobila tasemnice o délce 95 cm byla bez scolexu a krčku. Jako příznaky byly uvedeny mírné bolesti břicha, poruchy trávení, průjem a výtok segmentů tasemnice ve stolici (Lee et al. 2007).

Dalším velmi známým zástupcem je *Diphyllobothrium pacificum*, jedná se o parazita tuleňů a lachtanů. Vyskytuje se například v Peru, Chile nebo Japonsku. Byly hlášeny i výskyty u lidí, zejména v oblastech, kde se konzumují syrové nebo nedostatečně tepelně opracované ryby (Skerikova et al. 2006).

3.3.2.2 *Ligula* Bloch, 1782

Nejběžnějším zástupcem tohoto rodu je *Ligula instestinalis* - tasemnice střevní. Je široce rozšířena v celé holoarktické oblasti a také byly zaznamenána hlášení o výskytu z Australasie.

Vývojový cyklus je velmi složitý, jak bylo již popsáno v obecné charakteristice čeledi Diphyllobothriidae. Jako definitivní hostitel slouží rybožraví ptáci, ve kterých tasemnice dosáhne velmi rychle pohlavní dospělosti a vypustí vajíčka do vody. Plerocerkoid se vyvíjí v břišní dutině druhého meziphostitele a má značný vliv na zdraví, plodnost a chování ryb. V důsledku toho dochází k velmi častým ztrátám v chovu sladkovodních ryb (Bouزيد et al. 2008).

3.3.2.3 *Diplogonoporus* Lönnberg, 1892

Tento rod tasemnice se vyskytuje převážně v Japonsku, kde dochází i k infekci u lidí. Jako zdroj infekce se uvádí konzumace syrového masa ryb, v tomto případě zejména sardelí a sardinek. Na základě několika analýz byla odhalena příbuznost rodu *Diplogonoporus* s tasemnicí kytovců *Diphyllobothrium stemmacephalum*. Výsledky naznačují, že rod *Diphyllobothrium* je parafyletický a tedy probíhá diskuse týkající se platnosti rodu *Diplogonoporus*. Parafyletický taxon znamená, že skupina neobsahuje všechny potomky společného předka (Arizono et al. 2008, Farris 1974).

3.3.3 Dipylidiidae

Do této čeledi jsou zahrnuty tři rody - *Dipylidium*, *Diplopylidium* a *Joyeuxiella* (Jones 1994). Zahrnuje skupinu tasemnic, které parazitují ve své dospělosti v tenkém střevě savců. Larvální stádia se nacházejí u obojživelníků, plazů nebo hmyzu (Jones 1994). Skolex je menší velikosti a obsahuje čtyři přísavky a rostelum je tvořeno více řadami háčků (Browman et al. 2008). U čeledi Dipylidiidae jsou obsaženy dvě sady pohlavních orgánů (Volf & Horák 2007).

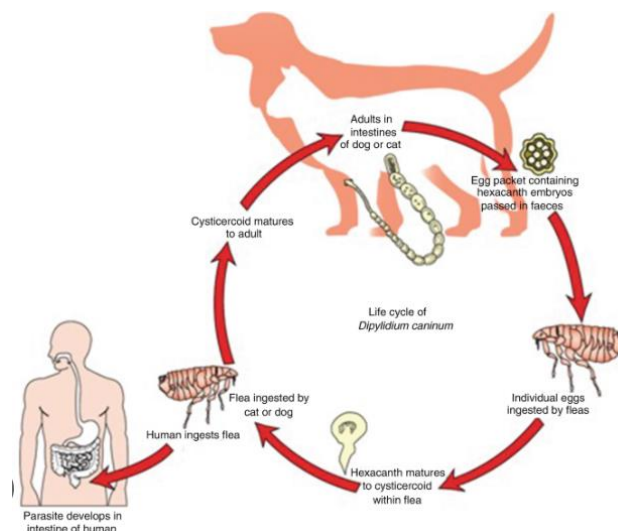
I zde je vývojový cyklus dvou hostitelský - tedy jeden meziphostitel a následně definitivní hostitel. Jako meziphostitelé mohou sloužit brouci, blechy, vši nebo všenky a definitivním hostitelem jsou masožraví savci. Do okolního prostředí odcházejí společně se stolicí články vylučovány definitivním hostitelem a následně se vajíčka tvoří a uvolňují ve shlučích po 8-15. Pozřením vajíček se následně nakazí meziphostitel. Pozřením hmyzu s vytvořenými cysticercoidy získá infekci definitivní hostitel (Volf & Horák 2007).

3.3.3.1 *Dipylidium* Leuckart, 1863

Do tohoto rodu se řadí velmi známá tasemnice psí (*Dipylidium caninum*), která vyžaduje účast meziphostitele ve svém životním cyklu. Parazitóza se vyskytuje převážně u psů a koček, ale jsou případy, kdy byli nakaženi lidé. Případy lidské infekce byly zaznamenány v Evropě, na Filipínách, v Číně a Japonsku, kde infikovanými byly zejména děti mezi nimiž třetinu tvořili kojenci (Cabello et al. 2011).

Jak už bylo řečeno, tak definitivní hostitel je masožravý savec a mezihostitelem je nejčastěji blecha nebo veš. Infekce člověka tímto parazitem je možná z důvodu společného sdílení stanoviště a to zejména v noci, kdy se divoká zvířata přibližují k lidské populaci za účelem zisku potravy. Definitivní hostitel se nakazí požitím infikované blechy nebo vší. V tenkém střevě savčího hostitele je cysticerkoidní larva trávena a fixuje se na střevní stěnu skolexem, což iniciuje vývojový proces v dospělosti. Během 2–3 týdnů se proglottidy oddělují od strobilu a přecházejí do trusu (Obrázek 5). Délka tasemnice se pohybuje od 10 do 70 cm.

Zvýšená nákaza u dětí může být zapříčiněna častějším kontaktem se zvířaty, ať už domácími tak i toulavými. Za další rizikové faktory můžeme považovat špatnou hygienu nebo imunosupresivní stav (Rousseau et al. 2022).



Obrázek 5: Životní cyklus rodu *Dipylidium* (Pandey et al. 2022)

3.3.4 Mesocestoididae

Některými autory bývá tato čeleď zařazována jako samostatný řád, protože se podle nich výrazně liší od ostatních zástupců z řádu Cyclophyllidea. Jako jeden z nejvýznamnějších rozdílů je považován tří hostitelský životní cyklus. U parazitů je patrná absence rostella a přítomnost paruterinního orgánu. Definitivními hostiteli se stávají šelmy, méně často draví ptáci (Mariaux et al 2017).

Jelikož se jedná o tří hostitelský životní cyklus, tak prvními mezihostiteli jsou bezobratlí roztoči a druhými mezihostiteli drobní savci nebo plazi. Jako další zvláštnost je schopnost se asexuálně množit pomocí tzv. podélného dělení. Larva zvaná tetrathyridium může protrhnout stěnu střeva a dostat se tak do břišní dutiny, kde může způsobit řadu problémů (von Nickisch-Rosenegk et al. 1999, Bonfanti et al. 2004).

3.3.4.1 *Mesocestoides* Vaillant, 1863

Tasemnice rodu *Mesocestoides* cizopasí v dospělém stádiu v tenkém střevě u šelem a dravců. Dospělci se vyskytují v tenkém střevě v různém počtu, a to od jednoho do pět seti kusů. Nejvyšší počet tasemnic zpravidla bývá u mladých zvířat. Nákaza prochází orální cestou a zapotřebí jsou dva mezihostitelé (Dvořák & Borkovcová 2004).

Mezi nejznámější druhy tohoto rodu patří *Mesocestoides lineatus* a *M. litteratus*. U *M. lineatus* jsou definitivním hostitelem různé druhy šelem. Prvním mezihostitelem jsou obvykle pancířníci, ve kterých se z vajíčka vyvíjí larvární stádium - cysticerkoid. Druhým mezihostitelem bývají drobní savci, obojživelníci, ptáci nebo plazi. V druhém mezihostiteli se nacházejí larvy tetrathyridum (Dvořák & Borkovcová 2004).

Také u *M. litteratus* jsou definitivním hostitelem různé druhy šelem, v Evropě především lišky. Koprofágní brouci jsou prvními mezihostiteli a ptáci tvoří nejčastěji druhého mezihostitele pro přenos infekce (Dvořák & Borkovcová 2004).

3.3.5 Taeniidae

Tato čeleď patří k jednomu z nejdůležitějších a nejnebezpečnějších vůbec. Zahrnuje přibližně 44 druhů, včetně 5 s lékařským významem a 20 s veterinárním významem. Právě z důvodu veterinárního a lékařského významu byly intenzivně studovány (Miquel et al. 2009).

Radí se sem dvě podčeledi, a to *Taenia* a *Echinococcus*. Dospělé tasemnice parazitují ve střevě člověka, ale i masožravců. Jako mezihostitel bývá často označováno hospodářské zvíře, lovná zvěř a člověk. Důležitým rozpoznávacím znakem je počet a morfologie háčků na rostelu. I zde mohou být výjimky, a to konkrétně u *Taenia saginata*, která je zcela bez háčků (Volf et al. 2007, Letková et al. 2010).

Vývojová stádia jsou: cysticerkus, coenurus, echinokokus, alveokokus. Cysticerkóza je souhrnné označení pro parazitární onemocnění vyvolané cysticerky, tedy vývojovými larválními stádii tasemnic z čeledi Taeniidae. Cysticerky mají na organismus mezihostitele mechanický, toxický a alergizující vliv. Po ulovení lovné zvěře je potřeba zvážit, zda je požitelná či nikoliv. Při minimálním nálezu na vnitřních orgánech je možné považovat zvěř jako požitelnou. Pokud se nachází cysticerky ve svalovině nebo na vnitřních orgánech ve vyšším počtu, tak nikoliv (Forejtek et al. 2013).

3.3.5.1 Echinococcinae Abuladze, 1960

Tato podčeleď zahrnuje jediný rod a to *Echinococcus*. Nejvýznamnějšími druhy v rámci tohoto rodu jsou *Echinococcus granulosus* a *Echinococcus multilocularis*.

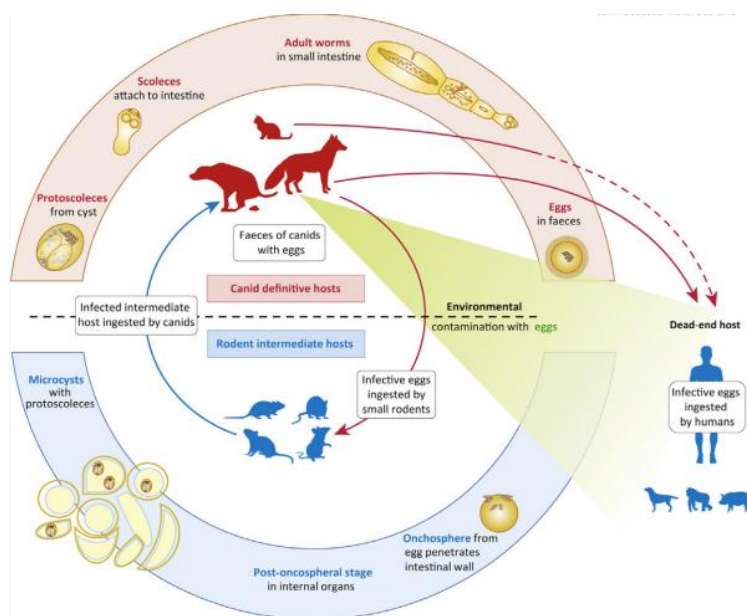
Pokud hovoříme o *Echinococcus granulosus* s českým názvem měchožil zhoubný, tak dospělý měchožil žije v tenkém střevě masožravce (definitivní hostitel) a střední larvární stádium může infikovat širokou škálu savců, včetně člověka, kteří infekci získají náhodným požitím vajíček. Životní cyklus je udržován za účasti psů a kopytníků, zejména ovcí a skotu. Toto onemocnění má závažný dopad na zdraví zvířat i lidí a může způsobit socioekonomické důsledky v endemických oblastech (Carmena et al. 2006).

Dospělá tasemnice měří pouze 3-6 mm. Tělo se skládá ze tří nebo čtyř článků a hlavičky, která má na rostellu dvojitý věnec háčků. Oplozená vajíčka se nachází na posledním článku, který je pohlavně zralý. Vajíčka jsou velmi odolná vůči vnějšímu prostředí. Larvy se následně v orgánech mezihostitele přemění v hydatidy, což jsou cysty se silnou stěnou. Cysty mohou dosahovat velikosti až 20 cm (Jírovec 1954).

Druhým velmi nebezpečným parazitem je *Echinococcus multilocularis*. Larvální stádium je etiologickým původcem alveolární echinokokózy. Nejvíce je toto onemocnění

rozšířené na severní polokouli, z nichž většina se vyskytuje v Číně. Odhadem je ročně 17 400 nových případů (Casulli et al. 2019).

Životní cyklus této tasemnice zahrnuje meziphostitele a až poté definitivního hostitele (Obrázek 6). Jako meziphostitelé slouží drobní hlodavci, nejčastěji hraboši. Definitivními hostiteli se stávají psi, lišky, šakali nebo také vlci, kteří spolu se stolicí vylučují i vajíčka měchožila. Člověk je náhodným hostitelem. Jedná se o klinický stav, který se vyznačuje tichou proliferací parazita, která napodobuje malignitu. Cysty rostou velmi pomalu a rozrůstají se po těle. Kontrolní opatření jsou velmi náročná vzhledem k volně žijícím jedincům. Vakcíny v dohledné době nejsou dostupné, a tak se anthelmentická léčba vkládá do návad (Casulli et al. 2019, Romig 2009).



Obrázek 6: Životní cyklus *Echinococcus multilocularis* (Casulli et al. 2019)

3.3.5.2 *Taeniinae* Stiles, 1896

Podčeleď *Taeniinae* zahrnuje pouze jeden rod a to *Taenia*. Mezi nejznámější druhy řadíme *T. hydatigena*, *T. multiceps*, *T. pisiformis*, *T. saginata*, *T. serialis*, *T. solium* a v neposlední řadě *T. taeniaeformis*.

Taenia hydatigena je všudypřítomná tasemnice vyskytující se u domácích zvířat po celém světě. Jako definitivními hostiteli jsou psi, lišky, vlci a kočky. Meziphostitelé jsou nejčastěji ovce, kozy nebo prasata. Vajíčka obsahující larvální stádium jsou přijímána ze zdrojů kontaminovaných psími výkaly, larvy pronikají stěnou střeva a migrují do jater. Larvy následně mohou zůstat v játrech nebo migrovat na povrch jater, kde se přichytí a vyvinou se v cysticerkoidy (Nguyen et al. 2016, Pugh & Baird 2012).

Infekci lze jen velmi těžko zabránit. Psi jsou chováni po celém světě a ve venkovských oblastech se často jedná o toulavé psy, proto jsou proglottidy obsahující vajíčka všudypřítomně vylučovány stolicí, čímž kontaminují prostředí (Nguyen et al. 2016).

Taenia multiceps je tasemnice, která využívá jako meziphostitele přežvýkavce, zejména ovce. Larvální stádium se vyvíjí v centrální nervové soustavě ovcí a jiných kopytníků. Infekce

larválním stádiem *T. multiceps* způsobuje cerebrální cenurózu. Cenuróza je zoonotické onemocnění člověka způsobené larválním stádiem *T. multiceps*. Cystické larvální formy se vyskytují u králíků, zajíců, veverek a vzácně u lidí. Dospělá tasemnice obývá tenké střevo divokých i domácích psovitých šelem, kdy definitivními hostiteli jsou nejčastěji psi (Ing et al. 1998), (Varcasia et al. 2022, Scala et al. 2007).

Onemocnění u ovcí se označuje také slovem „gid“. Může být akutní nebo chronická forma. Akutní forma je způsobena migrací nezralých parazitů do centrálního nervového systému. Příznaky a závažnost onemocnění se odvíjí od počtu životaschopných vajíček, intenzitou zánětlivých a imunitních odpovědí a lokalizací parazita. Chronická forma se vyskytuje spíše u starších ovcí jako důsledek vývoje cyst (Varcasia et al. 2022, Scala et al. 2007).

Infikované ovce bývají izolovány od stáda a jako časté příznaky se uvádějí ztráta reaktivity na podněty, deprese, slepota a porucha hybnosti a koordinace pohybů (Scala et al. 2007).

Taenia pisiformis je tasemnice s globálním rozšířením. I zde se vyskytuje souhra meziphostitele s definitivním hostitelem. Larvální stádium parazituje v břišní dutině meziphostitelů, čímž jsou zajícovití. Dospělé stádium tasemnice osidluje střevní trakt definitivního hostitele, kterým jsou zejména psi, kojoti nebo lišky (Zhang et al. 2015).

K infekcím u definitivních hostitelů dochází při požití vnitřních orgánů zajícovců, kteří jsou nakaženi tasemnicí. Následně se tasemnice může vyvinout v dospělého jedince. Po dozrání se vajíčka mohou uvolnit do prostředí s proglottidy ve výkalech hostitele. Následně se zajícovití nakazí při požití kontaminované vody či krmiva. Jako klinické příznaky se u králíků uvádí jatrní léze, poruchy trávení a sekundární bakteriální zamoření, což má za následek ekonomické ztráty. V současné době je absence účinných vakcín a odčervovacích léků (Zhang et al. 2015).

Taenia saginata neboli tasemnice bezbranná využívá jako meziphostitele skot a člověka jako definitivního hostitele. Až v roce 1782 byla *Taenia saginata* odlišena od *T. solium*. Přenos parazita probíhá konzumací syrového nebo nedovařeného hovězího masa. V člověku roste do dospělé podoby a může dosahovat délky několik metrů. Parazit je tvořen skolem se čtyřmi přísavkami, krčkem a strobilou (Dermauw et al. 2018). Byl potvrzen případ poškození centrálního nervového systému u člověka. V tomto případě byl pacient úspěšně vyléčen chirurgickou resekci a následným podáním albendazolu (Yamazawa et al. 2020).

Proglottidy obsahující tisíce embryonálních vajíček jsou pohyblivé a mohou migrovat z konečníku nezávisle na defekaci. Vajíčka se nachází ve vnějším prostředí a dochází k nákaze konzumací kontaminované pastvy či vody (Dermauw et al. 2018).

Po vylíhnutí a průniku střevní stěnou se onkosféry dostanou do celkového oběhu a distribuují se do celého těla, kde se z nich vyvinou cysticerci. Nejčastěji se usídľují v srdci nebo žvýkacích svalech. Často se u člověka nevyskytují žádné příznaky, ojediněle svědění na konečníku. U skotu dochází k ekonomickým ztrátám v důsledku nákazy infekce (Braae et al. 2018).

Taenia serialis využívá člověka a masožravce jako definitivní hostitele a hlodavce či zajícovce jako mezihostitele. Dospělá stádia tasemnice infikují člověka a většinou nezpůsobují příznaky, kdežto larvální stádia infikují hlodavce a dochází k rozsáhlému poškození svalů a vnitřních orgánů. Mezihostitelé se nakazí při pozření vajíček vypuštěnými dospělými tasemnicemi z definitivního hostitele (Schneider-Crease et al. 2013).

Cysticerkóza je parazitické onemocnění způsobené infekcí larválním stádiem tasemnice *Taenia solium*. Člověk je jediným definitivním hostitelem a přechovává dospělou tasemnici, zatímco prasata či člověk slouží jako mezihostitelé. K nákaze dochází pozřením nedostatečně tepelně opracovaného masa. Dospělý jedinec obývá tenké střevo člověka, kde je přísavkami a háčky přichycen ke stěně. Tělo (strobila) dosahuje délky až 4 metry, hlava (scolex) je vybavena čtyřmi přísavkami a háčky (Garcia & Del Brutto 2000).

Uvádí se, že u člověka dochází také k neurocysticerkóze tedy k infekci centrálního nervového systému. *Taenia solium* je dokonce hlavní příčinou epilepsie v rozvojových zemích. Jako prevence vzniku infekce se doporučuje zlepšení hygieny a kontrola masa (Deckers & Dorny 2010).

Taenia taeniaeformis je parazit, který se vyznačuje kosmopolitním výskytem a geografickým rozšířením. Pro svůj růst a vývoj potřebuje mezihostitele a definitivního hostitele. Mezihostitelem může být potkan, myš, veverka, či jiný hlodavec, králík a dokonce mezihostitelem může být i člověk. Definitivními hostiteli jsou masožravci z čeledi kočkovitých, psovitých a lasicovitých, včetně domácích psů a koček (Nichol et al. 1981).

Tělo *T. taeniaeformis* se rozděluje na tři části. Scolex, sloužící k přilnutí ke střevu hostitelského organismu, se skládá ze čtyř velkých přísavek. Za scolexem se nachází oblast krčku a třetí oblastí je strobila. Krční oblast je velmi malá a vytváří proglottidy (Iwaki et al. 1994).

3.3.6 Hymenolepididae

Taxonomicky se tato čeleď řadí do podtřídy Eucestoda a řádu Cyclophyllidea. I zde vývojový cyklus zahrnuje mezihostitele, kdy se jedná o bezobratlé živočichy, ve kterých se následně vytvoří cysticerkoid. Mezi definitivní hostitele se řadí ptáci a savci, kteří se nakazí pozřením mezihostitele obsahujícího larvální stádium tasemnice. (Volf & Horák 2007). Scolex je vybaven čtyřmi přísavkami a rostelum je krátké bez háčků, výjimečně může být jedna řada háčků (Letková et al. 2010).

Čeleď Hymenolepididae zahrnuje celkem čtyři podčeledi, a to Diploposthinae, Echinorhynchotaeniinae, Fimbriariinae a Hymenolepidinae.

3.3.6.1 Hymenolepidinae

Do této podčeledi se řadí několik druhů, kdy nejznámější jsou rody *Rodentolepis* a *Hymenolepis*. Rodu *Hymenolepis* bude věnována samostatná kapitola, protože tento druh byl vybrán pro modelové experimenty v rámci praktické části této práce.

Rod *Rodentolepis* zahrnuje velmi známý druh, a to *Rodentolepis nana* neboli tasemnice dětská. *Rodentolepis* nebo také *Hymenolepis nana* je nejběžnější tasemnice u lidí, zejména u dětí (odtud je odvozen druhový název).

Někdy bývá označována také názvem „zakrslá tasemnice“, pro své malé rozměry, a to délka pouze 2-4 cm a šířka 1 cm. Vývojový cyklus může být přímý i nepřímý. Přímý vývojový cyklus je možný, pokud lidé pozřou vajíčka. Vajíčko putuje trávicím traktem až k duodenu, kde se uvolní onkosféry a dále pronikají do sliznice střeva. Ve střevních klcích se vyvíjí do stádia cysticerkoidu a po nějaké době se vrací zpět do lumenu střev. Dochází k uchycení na střevní sliznici pomocí uchycovacích orgánů umístěných na skolexu. Následně dorůstá v dospělce. Již po dvou týdnech se začnou uvolňovat zralá vajíčka a konečným vychází ven z těla hostitele (Thompson et al. 2015, Cabada et al. 2016). Přímý přenos z člověka na člověka je nejběžnější cestou infekce, zejména v prostředích, kde je frekvence přenosu infekce vysoká z důvodu špatné nebo nedostatečné hygieny (Thompson et al. 2015, Cabada et al. 2016).

Nepřímý vývojový cyklus zahrnuje členovce, mezi časté se řadí malí brouci jako jsou zástupci rodu *Tribolium*. Tito brouci jsou běžnými škůdci ve skladech mouky nebo obilovin. Nákaza brouků vzniká pozřením vajíček z okolí a v jejich tělesné dutině se následně začínají tvořit cysticerkoidy. Pozření infikovaných brouků společně s kontaminovanou potravou vede k rozvoji infekce (Thompson et al. 2015, Cabada et al. 2016).

3.4 *Hymenolepis diminuta*

3.4.1 Vývoj taxonomie

První popis tasemnice známé dnes jako *Hymenolepis diminuta* byl publikován Rudolphim v roce 1819. Podle tradice, kterou razil již Linné, byly všechny známé tasemnice přiřazeny k jedinému rodu, a to *Taenia*. Jednalo se poměrně o malou tasemnici, a proto dostala název *Taenia diminuta*.

V roce 1858 byl popsán druh s názvem *Hymenolepis flavopunctata*. Tento název zdůrazňoval přítomnost průhledných membrán obklopujících embrya, které odlišovaly tyto tasemnice od těch do té doby popsané. Později, v roce 1891, ale bylo rozhodnuto, že *H. flavopunctata* je stejný druh, který dříve popsal Rudolph, tj. *Taenia diminuta*. Nakonec se u tohoto druhu ustálil název *Hymenolepis diminuta* (Arai 1980).

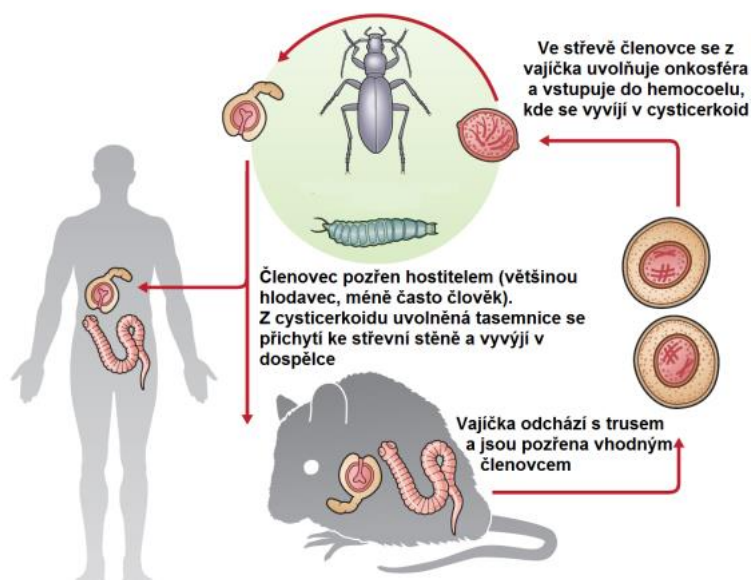
3.4.2 Životní cyklus

Tasemnice *Hymenolepis diminuta* se tedy řadí do rodu *Hymenolepis*, čeledi *Hymenolepididae*. Výskyt této tasemnice je kosmopolitní (Panti-May et al. 2020).

H. diminuta parazituje v tenkém střevě hlodavců, kteří jsou definitivními hostiteli. Nejznámějším definitivním hostitelem je *Rattus norvegicus* a *R. rattus*. Mezihostitelem je hmyz z řádů *Lepidoptera*, *Coleoptera* a *Siphonaptera*. Životní cyklus začíná vylučováním vajíček spolu s výkaly do vnějšího prostředí (Obrázek 7). Po požití vajíček broukem proniknou vajíčka do hemocoelu (tělesné dutiny) brouka, kde se z vajíčka vylíhnutá larva vyvine v cysticerkoid. Proces přeměny trvá 10-14 dní. Potkan pozře infikovaného brouka a trávicí enzymy v žaludku a dvanáctníku způsobí excystaci a transformaci cysticerkoidů. Tasemnice se usadí v tenkém střevě hlodavce a pohlavně dospívá během 2-3 týdnů (Pendar et al. 2019), (Sulima et al. 2017).

H. diminuta je druh tasemnice, který se snadno kultivuje v laboratorních podmínkách a je tedy vhodná k experimentálním účelům, například ve výzkumu interakcí mezi hostitelem a parazitem. Mezi výhody se řadí absence autoinfekce (jedinec se opakovaně sám nakazí) a nízká patogenita pro definitivního hostitele (Panti-May et al. 2020).

Častěji se lze setkat s infekcí u dětí než u dospělých. Případová zpráva ze Španělska potvrdila výskyt *H. diminuta* u pětileté dívky. Hlavními příznaky infekce byla cyanóza, apnoe, ztráta vědomí a ztuhlost končetin (Tena et al. 1998). Až parazitologické vyšetření potvrdilo a odhalilo kulovitá vajíčka o průměru 70 µm se silným obalem. Jako primární lék je doporučován praziquantel (anthelmintikum s aktivitou proti širokému spektru motolic a tasemnic), ale vždy záleží na konkrétním případě (Harnett 1988), (Tena et al. 1998).



Obrázek 7: Životní cyklus *H. diminuta*. Upraveno dle: Farrar et. al 2013

3.4.3 Anatomie a fyziologie

3.4.3.1 Anatomie dospělého jedince

Anatomicky je tělo tasemnice rozděleno na tři části, a to scolex, který je v nejpřednější části, následuje krček, ze kterého vyčnívá segmentovaná strobila.

Scolex obsahuje čtyři rovnocenné přísavky, které zajišťují adhezi ke střešní sliznici hostitele. Rostellum je umístěné uprostřed mezi přísavkami.

Krček tasemnice obsahuje hmotu mitoticky aktivních buněk, ze kterých se diferencují somatické a reprodukční tkáně proglottid. U pohlavně dospělých jedinců může být strobilla tvořena z několika stovek proglottidů. Přibližně zadní dvě třetiny zabírají proglottidy s vyvinutými reprodukčními orgány.

H. diminuta je hermafroditní. Pohlavní zrání proglottid je protandrázní, tedy orgány samčího systému se vyvíjejí dříve než orgány samičího systému. Samčí pohlavní systém je složen ze tří varlat, ve kterých se vyvíjí a zároveň uskládňují spermatozoa, semenného vaku a cirrusu. Během kopulace se cirrus, vysunovatelný orgán uložený v cirrusovém vaku zasunuje

do genitálního atria. Samičí pohlavní systém slouží k produkci oocytů, do doby oplodnění uskládá spermatozoa, podporuje tvorbu larválního obalu a skladuje nově vyvinuté larvy.

Vývoj oocyt probíhá v ovariích a po dozrání vstupují do vejcovodu. Fertilizace se uskutečňuje skrz semenný kanálek, kdy spermatozoe uskladněné v semenném vaku vstupují do vejcovodu. Embrya vstupují do dělohy, kde se vyvíjí v larvální stádia (onkosféry) a zůstávají zde až do uvolnění proglottid (Aria 1980).

3.4.3.2 Onkosféry

U *H. diminuta* po vylíhnutí ve střevě primárního hostitele (hmyz) dojde k odkládání ochranných obalů a následně onkosféra proniká přes střevní stěnu do tělesné dutiny hostitele. Pohyb vykonává koordinovanými pohyby zadních háčků. Následuje stádium sekundární larvy s názvem cysticerkoid (Hartenstein & Jones 2003).

Každá onkosféra má 6 háčků uspořádaných do tří párů. Morfologicky se rozlišují tři typy háčků. Každý háček je tvořen ze zakřivené čepele a rukojeti. Háčky jsou velmi důležitou součástí, jelikož pomáhají při orientaci (Ogren 1961).

Po vstupu do hemacoelu hostitele si onkosféra zachovává kulovitý tvar a narůstá. Přibližně za 7 dní se objevuje centrální dutina neboli cysta. Larva se prodlužuje a dochází k formaci podobné ocasu označována jako cercomer. Devátý den je patrný skolex v přední části se čtyřmi přísavkami. Desátý den je skolex vtažen do centrální dutiny, která je obklopena fibrózním obalem (Rothman 1957). Brzy po požití infikovaného členovce hostitelem se cysticerkoidní larva uvolní v žaludku a tenkém střevě a životní cyklus je dokončen. Během 20-25 dne nastává zralost a dospělí tasemnice mohou dosáhnout délky v průměru 30 cm (Fioravanti et al. 1998).

Cysticerkoidy *H. diminuta* vystavené vysokoteplotnímu stresu během růstového vývoje vykazují opožděný vývoj, asymetrický vývoj a výrazné abnormality v diferenciaci a uspořádání tkání. Nejběžnějším účinkem je zpoždění, které nakonec může vést k normálně vypadajícím jedincům. Často je pozorován asymetrický vývoj, abnormální jedinci jsou spíše vzácností, pokud teplotní stres není aplikován déle než 2 dny. Každá tkáň má jinou intenzitu citlivosti, co se týče teplotního stresu. V některých tkáních je růst a diferenciacie inhibována a v jiných zesílena (Voge 1961).

Pokud je stres aplikován po dobu kratší než 24 hodin, tak je opožděn pouze růst. Stres aplikovaný po dobu 48 hodin má za následek zpoždění růstu, abnormální diferenciaci a uspořádání tkání u většího počtu cysticerkoidů. Pokud je stres aplikován déle než 48 hodin, tak všechny cysticerkoidy jsou hrubě abnormální. Jako velmi důležitým faktorem je i strava meziphostitele, ve kterém se vyvíjí cysticerkoidy. Může docházet k významné modifikaci účinku vysokoteplotního stresu (Voge 1961).

3.4.3.3 Růst v konečném hostiteli

Růst tasemnice popsal Rothman (1959) následovně: Počáteční délka *H. diminuta* byla 0,175 mm a do 24 hodin po infekci byl pozorován pouze malý růst. Následně během prvních 48 hodin se tělo prodlužuje asi 2,5krát. Za nejrychlejší období růstu může být považováno období od 1. do 7. dne po infekci, poté tasemnice vstupují do fáze zpomaleného růstu. Kolem 14. dne dosahují tasemnice maximální velikost, tedy až 70 cm. Avšak výsledná velikost je

ovlivněna mnoha faktory, mezi které řadíme počet parazitů ve střevě, druh hostitele, složení potravy a jiné. K vylučování proglotid dochází od 15. dne po infekci, ale nejčastější jejich vylučování probíhá mezi 16. a 17. dnem.

3.4.4 Hymenolepióza

H. diminuta způsobuje hymenolepiózu zejména u hlodavců. Nemoc byla hlášena u většiny asijských zemí, a to včetně Indie, Číny a dalších. Za nejčastější příznaky se považuje nechutenství, otupělost, slabost, snížená tělesná hmotnost, hrubá srst a následně mortalita (Rawat et al. 2020).

Jak už bylo uvedeno, člověk se příležitostně může nakazit pozřením infikovaných členovců, proto má *H. diminuta* zoonotický význam. Následná terapie je závislá především na včasné diagnostice. Začíná se jednorázovým perorálním podáním anthelmintika (proti parazitickým helmintům). Anthelmintická terapie se opakuje po 15 dnech (Rawat et al. 2020).

Rawat et al. (2020) dále popsali, že důsledkem hymenolepiózy došlo ke ztenčení střevní stěny hostitele a tasemnice byly vidět ze serózního povrchu střev. Specifické patologické změny byly pozorovány pouze na plicích, kdy docházelo k přetížení a hemoragii. Délka parazitů byla 60 až 80 mm a šířka 2 až 4 mm. Mikroskopickým vyšetřením byly zkoumány segmenty tasemnic se zoubkovanými okraji (Obrázek 8). U několika potkanů bylo zjištěno, že tasemnice byly přichyceny ke střevní sliznici.



Obrázek 8: Části tasemnic s vroubkovaným okrajem nalezené ve střevě potkana (Rawat et al. 2020)

3.4.5 Kultivace *in vitro*

Už v roce 1934 Wardle představil metodu kultivace *in vitro* za účelem zkoumání fyziologie tasemnic. V průběhu vývoje nastínil problémy, které byly součástí nových technik a následně popsal způsob udržování dospělých *H. nana* v živném médiu po dobu 20 dnů. Předpokládaná délka dospělého jedince *in vivo* je o několik dní méně.

Do výzkumu byly zařazeny nejvýznamnější zástupci rodu *Hymenolepis*. Kultivace *h. diminuta* přinesla významné úspěchy, ale literatura týkající se kultivace není rozsáhlá jako u jiných zástupců tohoto rodu.

Zpočátku se soustředili na kultivaci strobila a první případ *in vitro* kultivace byl publikován v roce 1959. Podařilo se úspěšně odebrat fragmenty dospělých jedinců *H. diminuta*, složené pouze ze scolexu a krčku, po zvětšení až 30 x větším zahájili diferenciaci gonád ve směsi koňského séra a extraktu z tasemnice při 38°C. O rok později Berntzen oznámil úspěšný růst *H. diminuta* z larev, které byly excystované *in vitro* na dospělé obsahující preonkosféry a jejich průměrná délka byla 20,8 cm. Následně tato technika byla modifikována a aplikována i na *H. nana* (Arai 1980).

Kultivace onkosféry v cysticerkoid

Obecně je postup kultivace pro každého z těchto parazitů stejný. Nejprve se musí shromáždit vajíčka tasemnic, následně se sterilizují a vylíhnou se *in vitro*. Aktivované onkosféry jsou přeneseny do média v kultivačních nádobách, kde se stanou infekčními cysticerkoidy. Jsou za potřeby vhodné okolnosti, aby se tak stalo.

Gravidní proglottidy *H. diminuta* se odeberou od hostitelů a třikrát se promyjí ve sterilním chloridu sodném, který obsahuje streptomycin a penicilin. Segmenty se přenesou na sterilní podložní sklíčka a následně se promyjí a oddělí v Earleově fyziologickém roztoku při pH 7,0-7,2.

Líhnutí vajíček tasemnice *in vitro* je dvoustupňový proces. Vajíčka zbavená proglottid a suspendovaná v Earlově fyziologickém roztoku se přidají do zkumavek se šroubovacím uzávěrem obsahující skleněné kuličky. Ručním potřepáním po dobu 4 minut se obaly rozbijí a odstraní z vajíček. Tekutina, která obsahuje vajíčka a prázdné obaly je přenesena do Petriho misky. Dochází k aktivaci onkosfér a umožnění úniku z jejich embryonálních membrán. U *H. diminuta* je potřeba do roztoku přidat 1 % trypsinu a 1 % bakteriální amylázy. Vylíhnutí probíhá při pokojové teplotě 26 – 28°C (Arai 1980).

3.4.6 Vybrané metody kultivace

3.4.6.1 Kultivace *in vitro* *H. diminuta* (Berntzen 1961)

Berntzen (1961) kultivoval tasemnici z *in vitro* excystovaných larev do stádia dospělých jedinců, kteří obsahovali vyvíjející se onkosféry. Brouci byli infikováni cysticerkoidy *H. diminuta* a následně byly cysticerkoidy vypreparovány a pipetovány do Petriho misek obsahujících sterilní Tyrodeův roztok. Kultivační médium obsahovalo Tyrodeův roztok, lidskou plazmu, a navíc bylo obohaceno o cystein, tyroxin, methyl-testosteron, vitamíny skupiny B, kvasnicový extrakt a extrakt z kuřecího embrya. Pokud excystace nezačala do 30 minut, zvýšilo se pH Tyrodeova roztoku (Berntzen 1961).

Excystace probíhala zpravidla při pH 8,0 až 9,0. Velmi účinný způsob sterilizace excystovaných larev je kontinuální proudění sterilního Tyrodeova roztoku za pomoci skleněné komory, která byla navržena. Kultivační aparatura pracuje na principu kontinuálního průtoku, je navržena tak, aby byl udržován nepřetržitý průtok média při kontrolované rychlosti. Měření délky tasemnice probíhalo 3,4,7,10,12 a 15 den. Experiment byl ukončen poslední, tedy 15 den. Rozdíl v délce mezi 3. a 4. dnem byl velmi malý, mezi 4. a 15. dnem docházelo k prudkému nárůstu celkové délky. Maximální délka tasemnice byla 20,8 cm, a to 15. den. Bylo prokázáno, že při absenci kontinuálního průtoku tasemnice nevykazovaly růst a diferenciaci. Také záleží na způsobu přípravy média a na pořadí, ve kterém byly přísady

smíchány. Aktivní růst nebyl prokázán, pokud byl vynechán extrakt z kuřecích embryí nebo kvasnicový extrakt. Bez methyl-testosteronu sice došlo k určitému růstu, ale diferenciace mladých proglottid byla inhibována (Berntzen 1961).

3.4.6.2 Kultivace *in vitro* *H. diminuta* (Schiller 1965)

Tasemnice *H. diminuta* byla kultivována z cysticerkoidu do stádia dospělého jedince bez přítomnosti definitivního hostitele. V moučném červu se vyvinula embrya tasemnice a výsledné cysticerkoidy byly infekční pro potkany. Kultivačné médium bylo složeno z krevního agaru přelitého Hanksovým vyváženým solným roztokem. Médium bylo inkubováno při teplotě 32 °C po dobu 24 hodin, aby se umožnila difúze a aby se zajistila absence bakteriální kontaminace. 10 až 15 excystovaných larev bylo přeneseno do baněk, které byly umístěny do inkubátoru. Kultury byly následně inkubovány při teplotě 37°C. Tasemnice byly pravidelně přenášeny do čerstvého média a 8. den byla do média přidána prášková glukóza.

Většina tasemnic byla nalezena v kapalně fázi média mezi polotuhou fází a stěnou baňky. Naopak nikdy nebyly nalezeny v krevním agaru. 24. den kultivace došlo k vylučování gravidních proglottid. Bylo prokázáno, že *in vitro* kultivací z cysticerkoidů byly tasemnice miniaturní ve srovnání s tasemnicemi, které byly v těle potkanů. Za hlavní příčinu se považuje nutriční nedostatek média. Šestidenní tasemnice se vyvinuli do dospělého stádia metodou *in vitro* za přibližně stejnou dobu, která je potřebná k vyvinutí *in vivo* (Schiller 1965).

3.4.7 Kultivace *in vitro* - novější studie

Skrzycki et al. (2011) prozkoumávali antioxidační systém u *H. diminuta* během krátkodobé (1,5 měsíce mladé tasemnice) a dlouhodobé (1,5 roku staré tasemnice) infekce v tenkém střevě potkana. Strobily tasemnic *H. diminuta* byly rozděleny do tří částí. Výsledky ukázaly změny v hladinách markerů oxidačního stresu a antioxidační enzymatické aktivitě u mladých i starých forem *H. diminuta*. Obranným systémům hostitele je nejvíce vystavena přední část tasemnice, která je v přímém kontaktu se stěnou střeva. Proto musí být vybaven velmi účinnými antioxidačními systémy. Byla potvrzena vysoká aktivita SOD zejména v přední části častěji mladých tasemnic. Byly zjištěny nižší hladiny antioxidačních enzymů u starších tasemnic (10x) než u mladších tasemnic (Skrzycki et al. 2011).

Kosik-Bogacka et al. (2011) popsali aktivity antioxidačních enzymů v různých částech gastrointestinálního traktu potkana, byla popsána Kosik-Bogacka et al. 2011. Také se zabývali posouzením intenzity oxidačního stresu měřením hladin peroxidace lipidů (LPO). Použití do výzkumu byli samci potkanů kmene Wistar, kteří byli infikováni *H. diminuta*. Byli rozděleni do pěti skupin dle délky infekce. První skupinu tvořili neinfikovaní potkani. Poslední skupinu tvořili potkani 60 dní po infekci *H. diminuta*. Potkani byli usmrceni a následně bylo vyjmuto tlusté střevo, duodenum a jejunum pro následnou analýzu. Následovala příprava vzorku tkáně a měření LPO a jednotlivých enzymů. U infikovaných potkanů byla nejvyšší koncentrace LPO zaznamenána v duodenu. U kontrolních potkanů byla nejvyšší hodnota SOD zaznamenána v tlustém střevě a u potkanů 60 dnů po infekci hodnota SOD klesla o cca 78 % (Kosik-Bogacka et al. 2011).

Jankovská et al. (2016) pak studovali, jak *H. diminuta* ovlivňuje akumulaci zinku a kadmia u hostitele. Samci potkanů Wistar byly rozděleny do čtyř skupin. Dvě skupiny (TC a TP) byly infikovány tasemnicí *H. diminuta* a ostatní dvě skupiny ne (C a P). Standardní směs pro hlodavce a 10,5 mg Zn týdně byla podávána skupině C a TC. Zatímco skupiny P a TP byly krmeny směsí doplněnou o zinek a kadmium hyperakumulující rostlinou *Arabidopsis halleri* v dávce 236 mg Zn/týden a 3,0 mg Cd/týden. Po 6 týdnech došlo k usmrcení a byly zjišťovány hladiny Cd a Zn ve tkáni potkanů a tasemnic. Bylo prokázáno, že přítomnost tasemnice měla vliv na koncentrace Cd a Zn v hostiteli. Většina tkání u infikovaných potkanů měla statisticky významně nižší koncentrace Zn a Cd než u neinfikovaných potkanů. Více zinku a kadmia bylo akumulováno tasemnicí než hostitelskou tkání. Tasemnice mohou snížit koncentrace určitých těžkých prvků v hostitelských tkáních.

Horáková et al. (2017) se poté věnovali identifikaci rizikových a esenciálních prvků podél strobily u *H. diminuta*. Hlavním cílem této studie bylo najít části tasemnice, ve kterých se hromadí prvky – olovo, kadmium, zinek, měď, mangan a železo. Byli použiti samci potkanů Wistar, kteří byli infikováni *H. diminuta*. Po dobu 6 týdnů byli vystaveni orální expozici olova. Po uplynutí doby byly stanoveny hladiny prvků v zadních a předních proglotidách. Byla zjištěna vyšší koncentrace olova v předních částech než v zadních částech. I ostatní prvky vykazovaly vyšší hladiny v předních částech. V kontrolní skupině byl zjištěn u zinku opačný trend, přičemž vyšší hladiny byly v zadní části strobila.

Poslední studie se zabývá akumulací olova v *H. diminuta* a konečném hostiteli (Sures et al. 2002). Samci potkanů Wistar kmene CD-M byli zkoumáni z hlediska akumulace olova. Potkani byli vystaveni perorální expozici olova. Po skončení expozičního období (5 týdnů), byli potkani usmrceni a hladiny kovů byly stanoveny v jednotlivých částech těla. Ve svalech, játrech, střevech, varlatech a ledvinách potkanů a také v tasemnicích. Bylo zjištěno, že koncentrace olova je 17krát vyšší u tasemnic než v ledvinách. Ve všech ostatních tkáních hostitele byly hladiny kovů pod mezí detekce. Studie ukazuje, že ke kumulaci olova dochází u tasemnic parazitujících na savcích.

4 Metodika

4.1 Příprava *Hymenolepis diminuta*

4.1.1 Chov meziphostitelů

Za meziphostitele byl zvolen potměnák moučný (*T. molitor*) z důvodu snadné dostupnosti, jelikož jeho larvální stádia jsou využívána ke krmení plazů a snadno je lze sehnat ve většině specializovaných obchodů. Dospělý jedinec se dožívá zhruba tři měsíců a pro odběr cysticerkoidů je vhodnější volbou dospělý jedinec než larvální stádium. Tento všežravý druh má rychlý růst, minimální nároky na chov a snadno se s ním manipuluje (Toviho & Bársony 2022)

Potměnáci byli pro experimentální účely zařazeni již v dospělém stádiu a následně byli umístěni do plastové Petriho misky s přístupem vzduchu. Potrava byla zajištěna v podobě sušeného pečiva a granulí pro potkany. Pitný režim byl zajištěn ubrousky, které byly vlhčeny vodou každé dva až tři dny. V Petriho misce bylo celkem 20 potměnáků.

4.1.2 Infikace meziphostitelů

Dospělí jedinci umístění v Petriho misce byli následující den infikováni. Infikace probíhala pomocí trusu potkanů, kteří byli infikováni *H. diminuta* a jsou z experimentálního chovu katedry zoologie a rybářství. Před podáním trusu byla provedena McMasterova metoda pro orientační zjištění počtu vajíček. Od každého potkana byly naváženy 4 g trusu, které byly následně rozmělněny v bentonitu. Vzniklá suspenze byla přecezena přes sítko a do zkumavky bylo odlito 10 ml. Následně byly zkumavky vloženy do centrifugy na dobu 5 minut při otáčkách 1 200 za minutu. Supernatant byl slit a zkumavka se doplnila do 4 ml flotačním roztokem (33% roztok ZnSO_4). Pomocí pipety došlo k šetrnému promíchání vzorku. Po promíchání se pomocí pipety vzniklý roztok plnil do obou čtverců McMasterových komůrek. Následně se počkalo 5 minut, během kterých došlo k vyflotování vajíček a oocyst parazitů k hornímu sklíčku komůrky. Vzorek se vložil do mikroskopu a při 100x byla počítána vajíčka a oocysty v obou čtvercích. Vynásobením počtem 20 byl zjištěn počet vajíček v 1 g exkrementu. Po ověření přítomnosti vajíček byl trus vložen jako potrava k potměnákům a v tekuté formě byl nasát do pipety a vložen do suchého pečiva, kdy došlo k vsáknutí. Pro vyvinutí larev v potměnácích je potřeba minimálně 12 dní.

4.1.3 Izolace cysticerkoidů z meziphostitele

Po uplynutí 3 týdnů po infikaci došlo k izolaci cysticerkoidů z meziphostitelů. Brouci byli usmrceni dekapitací a následně fixováni v Petriho misce. Tělo bylo podélně nastřiženo na ventrální straně a našim cílem bylo odstranění krovek, křídel a dalších nepotřebných částí z potměnaka. V Petriho misce byl čistý fyziologický roztok. Dalším krokem bylo nachystání druhé Petriho misky obsahující fyziologický roztok, kam jsme přemísťovaly pomocí pinzety oddělené cysticerkoidy od zbytků orgánů. Pomocí pipety jsme nasály část vzorku a přenesly na podložní sklíčko do mikroskopu, kde jsme pozorovaly cysticerkoidy. Do každé

mikrozkumavky bylo aplikováno přibližně 15 cysticerkoidů z podložního sklíčka za pomoci automatické pipety. Nachystáno bylo celkem 6 mikrozkumavek.

4.1.4 Infikace definitivního hostitele

Po izolaci cysticerkoidů z meziphostitele, v našem případě z potměníka, následovala infikace definitivního hostitele. Jako definitivní hostitel byl zvolen *Rattus norvegicus*, kmen Wistar. Potkani jsou umístěni v laboratoři ČZU. 6 mikrozkumavek bylo přeneseno do laboratoře a následovala infikace. Každý potkan byl označen číslicí z důvodu následné orientace. Část připraveného roztoku byla potkanům aplikována přímo do dutiny ústní z důvodu vyšší úspěšnosti nákazy. Zbývající část byla pokapána na potravu, konkrétně na piškoty. Část potměníků, kteří byli pouze dekapitováni, nikoliv vypitváni, byli vloženi do hroznového vína a následně přidáni do ubikace jako obohacující potrava. Tedy byly použity 3 metody, jak infikovat definitivního hostitele. Po 21 dnech byl trus potkanů testován na přítomnost vajíček tasemnice McMasterovou metodou viz kap. 4.6.

4.1.5 Izolace dospělé *H. diminuta* z definitivního hostitele

Využití experimentálních zvířat bylo realizováno v souladu s Rozhodnutím o udělení oprávnění k používání pokusných zvířat podle zákona č. 246/1992 Sb. č. 63479/2016-MZE-17214; v rámci projektu pokusu Experimentální kultivace tasemnice Hymenolepis diminuta u modelových hostitelů Rattus norvegicus a Microtus arvalis; vedoucí projektu pokusu Ing. Zuzana Čadková Ph.D., č. Osvědčení o odborné způsobilosti podle zákona 246/1992 Sb. č. CZ 02201.

Přítomnost vajíček tasemnice v trusu potkanů byla potvrzena. Tedy po 21 dnech došlo k izolaci dospělých *H. diminuta* z potkanů. Pro účely experimentu byli využiti 4 potkani. Potkani byli přeneseni do laboratoře ČZU, kde probíhala následná izolace tasemnic. V uzavřené nádobě bylo použito inhalační anestetikum chloroform, který zajistí útlum centrální soustavy, dechového centra a srdeční arytmií. Potkanům byla následně aplikována intramuskulární injekce Narketanu v dávce 1 ml a Rometaru v dávce 0,1 ml. Následovala kontrola, zda jedinec nevykazuje životně důležité funkce – dýchání, reakce na bolestivý stimul. Tělo bylo podélně nastříženo na ventrální straně a vnitřní orgány byly vyjmuté. Tenké střevo bylo vloženo do Petriho misky s fyziologickým roztokem. Tenké střevo bylo opatrně rozstříženo a pomocí pinzety byly tasemnice přemístěny do další Petriho misky (obrázek 9). Proběhla kontrola tasemnic, zda jsou kompletní. Některé byly vloženy pod mikroskop pro snadnější identifikaci a určení celého těla i s hlavičkou (skolexem). V průběhu pitvy byly tasemnice ve fyziologickém roztoku obohaceném o směs antibiotik.

Pro přenos do laboratoře katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky, kde byla realizována samotná *in vitro* kultivace, byly použity Petriho misky s fyziologickým roztokem, kdy každá Petriho miska obsahovala jednu tasemnici. Samotná délka kultivace se lišila. Následné měření probíhalo 2, 4, 8, 16 a 24 hodin po kultivaci. Vzorky byly rozděleny dle délky kultivace a také dle obsahu. První vzorky obsahovaly pouze samotné médium, další vzorky obsahovaly médium s tasemnicí, třetí vzorky obsahovaly médium se střevními buňkami a poslední část vzorků obsahovala médium, střevní buňky a tasemnice (obrázek 10). Médium pro kultivaci bylo použito DMEM High Glucose (detailní složení viz <https://www.thermofisher.com/cz/en/home/technical-resources/media-formulation.8.html>), lidské střevní buňky s názvem HTB 38 (detailní popis viz atcc.org). Vzorky byly vloženy do

inkubátoru MCO-19AIC, kde byla teplota 37 °C a CO₂ 5 %. Po proběhnutí délky kultivace byly vzorky zamrazeny v boxu o teplotě - 80 °C, aby nedošlo ke změnám vzorků. Před stanovením SOD byly vzorky přeneseny do mrazícího boxu o teplotě - 20 °C a cca 30 minut před měřením, byly vytaženy.



Obrázek 9: *H. diminuta* v tenkém střevě *R. norvegicus*



Obrázek 10: *H. diminuta* v médiu se střevními buňkami

4.2 Analytické metody - stanovení SOD

Superoxid dismutázy (SOD) jsou metaloenzymy, které katalyzují dismutaci superoxidového aniontu na molekulární kyslík a peroxid vodíku a tvoří tak klíčovou součást buněčného antioxidačního obranného mechanismu. Množství SOD je klíčové pro prevenci onemocnění spojených s oxidačním stresem. Test SOD měří všechny tři typy SOD (Cu/Zn, Mn a FeSOD) (Superoxide Dismutase Assay Kit. Cayman Chemical Company 2023).

4.2.1 Příprava reakčních činidel

Na začátku bylo potřeba si připravit činidla, které se následně využívaly pro vyhodnocení testu. V jedné láhvi byl Assay Buffer, který byl řádně označen. Celkem do lahvičky bylo přidáno 15 ml testovacího pufru a 135 ml HPLC čisté vody.

Druhá láhev byla pojmenována názvem Sample buffer, kam bylo přidáno 10 ml Sample Buffer zředěného s 90 ml HPLC čisté vody. Do třetí láhve s názvem Radical Detector bylo napipetováno 250 μ l roztoku tetrazoliových solí a 99,75 ml Assay Buffer z první lahvičky. Další příprava zahrnuje vytáhnutí SOD standard, která obsahuje 100 μ l bovinních erytrocytů SOD (Cu/Zn). Rozmrazený enzym se uchovává na ledu. Poslední součástí je Xanthin oxidáza, lahvička obsahuje 150 μ l xanthinoxidázy. Před použitím se rozmrazí lahvičky a odebere se 250 μ l do jiné lahvičky a naředí se 9,75 ml Sample Buffer.

4.2.2 Příprava kalibračních standardů

Je potřeba smíchat 20 μ l standardu SOD s 1,98 ml Sample Buffer, abychom získali roztok SOD. Vezmeme sedm čistých skleněných zkumavek, které označíme písmeny A až G. Do každé zkumavky přidáme odpovídající hodnotu, viz Tabulka 1.

Tabulka 1: Standardy pro kalibrační křivku superoxidismutázy (Superoxide Dismutase Assay Kit. Cayman Chemical Company 2023)

Tube	SOD Stock (μ l)	Sample Buffer (μ l)	Final SOD Activity (U/ml) in Well
A	0	1,000	0
B	20	980	0.005
C	40	960	0.010
D	80	920	0.020
E	120	880	0.030
F	160	840	0.040
G	200	800	0.050

4.2.3 Provádění testu

1. Standardní jamky SOD – přidáme 200 μ l naředěného Radical Detector a 10 μ l standardu SOD (zkumavky A-G) do připravených jamek na destičce.
2. Jamky pro vzorky – do jamek přidáme 200 μ l naředěného Radical Detector a 10 μ l vzorku.
3. Reakce se zahájí přidáním 20 μ l xanthinoxidázy do všech jamek, které používáme.
4. Když máme jamky na destičce připravené, tak opatrně protřepeme 96 jamkovou destičku po dobu několika sekund, aby se promíchala.
5. Posledním krokem je inkubace destičky na třepačce GFL 3005 po dobu 30 minut při pokojové teplotě (obrázek 11). Pomocí čtečky destiček TECAN Spark odečteme absorbanci při 440-460 nm (obrázek 12) a signál vyhodnotíme na základě kalibrační křivky.



Obrázek 11: Třepačka GFL 3005



Obrázek 12: TECAN Spark pro odečtení absorbance

4.3 Analytické metody - stanovení celkových obsahů Zn, As, Cd a Pb ve vzorcích tasemnic a kapalných médií

Poslední část experimentálního výzkumu se týká stanovení celkových obsahů Zn, As, Cd a Pb ve vzorcích tkání tasemnic (lyofilizované vzorky) a kapalných médií.

4.3.1 Tasemnice

Před analýzou tasemnic byly tasemnice uchovávány v tekutém dusíku, aby nedocházelo ke změnám obsahu prvků. Poté byly vzorky vysušeny mrazem a použity pro stanovení obsahu prvků. Do křemenných zkumavek byly naváženy vzorky lyofilizovaných tasemnic (100 mg). Ke vzorkům byly přidány 4 ml HNO₃ (Analpure®, Analytika, ČR) a následně byly zkumavky zavičkovány a ponechány 16 h v digestoři. Následně byly přidány 2 ml H₂O₂ (Rotipuran®, Carl Roth, Německo). Zkumavky byly opatřeny magnetickými míchadly a opět zavičkovány. Vzorky byly mineralizovány v uzavřeném mikrovlnném rozkladném zařízení (Discover SP-D, CEM Corp., USA) při aplikaci teplotního programu: ohřev na 180 °C v průběhu X min, následně udržení 180 °C po dobu Y min. Výsledné mineralizáty byly zředěny ultračistou vodou ($\geq 18,2 \text{ M}\Omega/\text{cm}$, Millipore, SAS, Francie) na konečný objem 40 ml. Technikou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS, Agilent 8900, Agilent Technologies Inc., USA) byly ve zředěných mineralizátech stanoveny koncentrace Zn, As, Cd a Pb.

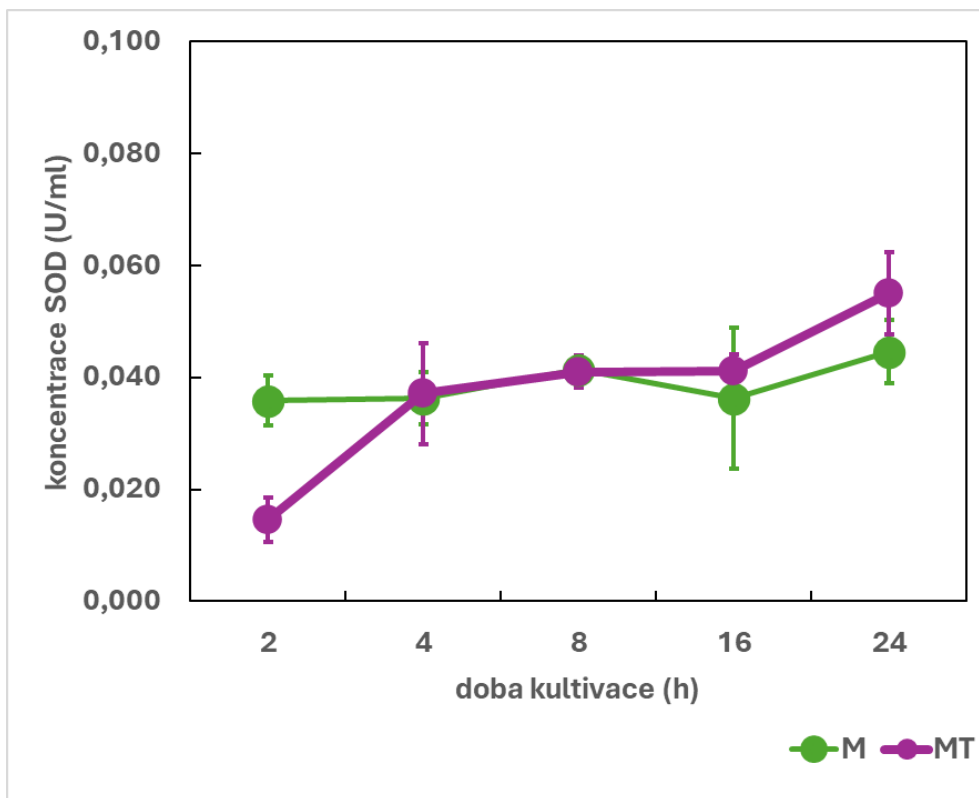
4.3.2 Média

Média byla uchovávána v mrazícím boxu o teplotě - 80 °C. Alikvotní podíly ze vzorků médií byly naředěny 3× (objemově) s 1,5 % HNO₃ v 15ml polypropylenových zkumavkách. V takto upravených vzorcích byla stanovena koncentrace Zn, As, Cd a Pb technikou ICP-MS.

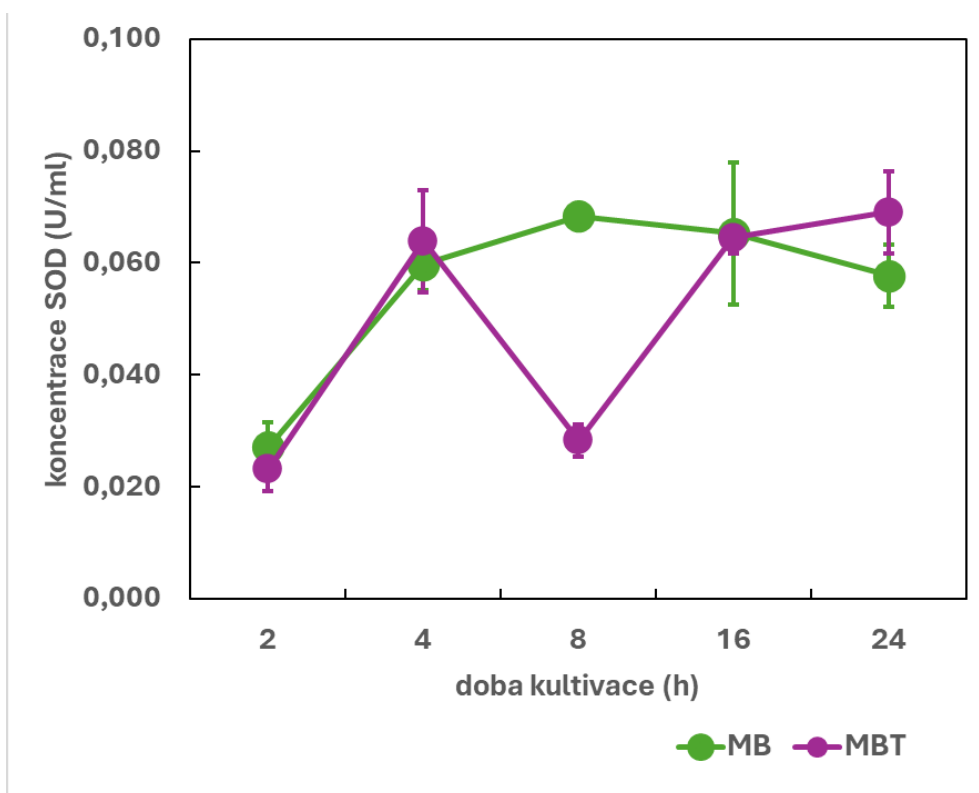
Konfigurace ICP-MS zahrnovala autosampler SPS 4, koncentrický zmlžovač MicroMist, dvouplášťovou Scottovu mlžnou komoru, oktapólovou kolizní/reakční celu a kvadrupólový hmotnostní analyzátor. Měření probíhalo v režimu tzv. NoGas (Be, Cd, Pb) a heliového módu (Zn, As). Ke kalibraci ICP-MS byla použita metoda externí kalibrace pomocí komerčních roztoků o certifikované koncentraci stanovovaných analytů (ASTASOL-MIX, Analytika, ČR). Pro korekci vlivu matrice a driftu signálu analytů v čase byla použita metoda interního standardu s využitím víceprvkového roztoku obsahujícího 100 µg/l Ge, Rh, In a Lu (ASTASOL-MIX, Analytika, ČR), který byl kontinuálně přiváděn do zmlžovače spolu se vzorky. Následně byly naměřené hodnoty koncentrací v médiích přepočteny na aplikované ředění [µg/l], pro tasemnice byly přepočteny na navážku a aplikované ředění [µg/l → µg/g]. Správnost výsledků analýzy byla ověřena paralelní analýzou certifikovaného referenčního materiálu Bovine liver (BCR-185R) a Peach leaves (SRM-1547, NIST).

Pro statistické zpracování získaných dat byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) s využitím Tukeyova HSD testu proběhlo v prostředí programu Statistica 12 (StatSoft Inc. 2013), všechny testy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5 Výsledky



Graf 1: Koncentrace SOD v médiu a médiu s tasemnicí v závislosti na době kultivace; M... čisté médium; MT...médium s tasemnicí



Graf 2: Koncentrace SOD v médiu s buňkami a v médiu s tasemnicí a buňkami v závislosti na době kultivace; MB...médium se střevními buňkami; MBT...médium se střevními buňkami a tasemnicí

Grafy 1 a 2 prezentují výsledky stanovení SOD v průběhu kultivace. Při porovnání grafů mezi sebou lze vidět narůstající koncentraci SOD u grafu č. 2, kde je médium s buňkami a také médium s buňkami a tasemnicí. Analýza samotného média vykazuje překvapivě vysoký nenulový signál aktivity SOD. Navíc 2 hodiny po kultivaci je pokles koncentrace SOD u varianty s tasemnicí oproti samotnému médiu. Médium s tasemnicí vykazuje mírný nárůst koncentrace SOD, ale není to tak významný jako při interakci se střevními buňkami. U grafu č. 2, konkrétně MB, lze konstatovat rychlejší nárůst koncentrace SOD do 8 hodiny kultivace a poté postupný mírný pokles. Kdežto varianta MBT také vykazuje nárůst koncentrace SOD, ale v 8 hodině kultivace je výrazný pokles a poté opět výrazný nárůst koncentrace SOD.

Tabulka 2: Statistické zhodnocení rozdílů obsahů SOD mezi pokusnými variantami v jednotlivých fázích kultivace. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$

	Doba kultivace (h)				
Varianta	2	4	8	16	24
M	c	a	b	a	a
MT	a	a	b	a	ab
MB	b	b	c	b	b
MBT	b	b	a	b	c

Tabulka 3: Statistické zhodnocení rozdílů obsahů SOD u jednotlivých variant v závislosti na délce kultivace. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$

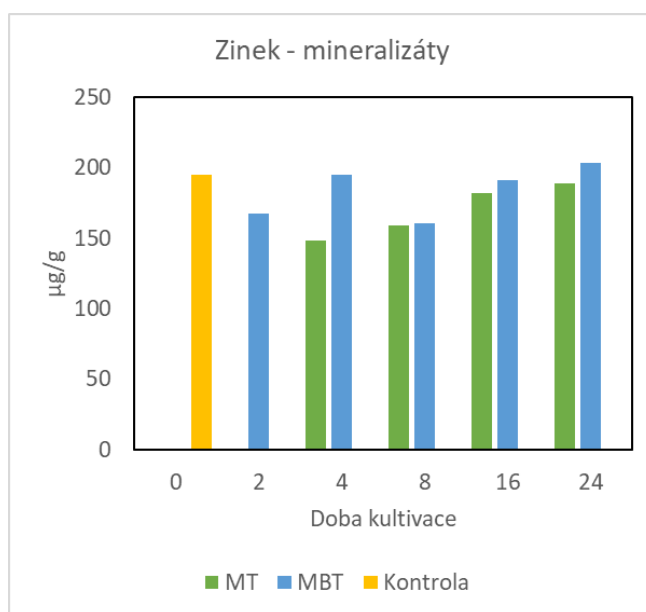
	M	MT	MB	MBT
2	a	a	a	a
4	a	b	b	b
8	ab	b	d	a
16	a	b	cd	b
24	b	c	c	b

Tabulka č. 2 a č. 3 znázorňuje statistické zhodnocení koncentrace SOD v závislosti na délce kultivace a také na obsahu, který byl měřen. Jak už jsem zmiňovala výše, jednotlivá čísla znázorňují délku kultivace a písmena obsah. M – médium, MT – médium + tasemnice, MB – médium + buňky a MBT – médium + buňky + tasemnice.

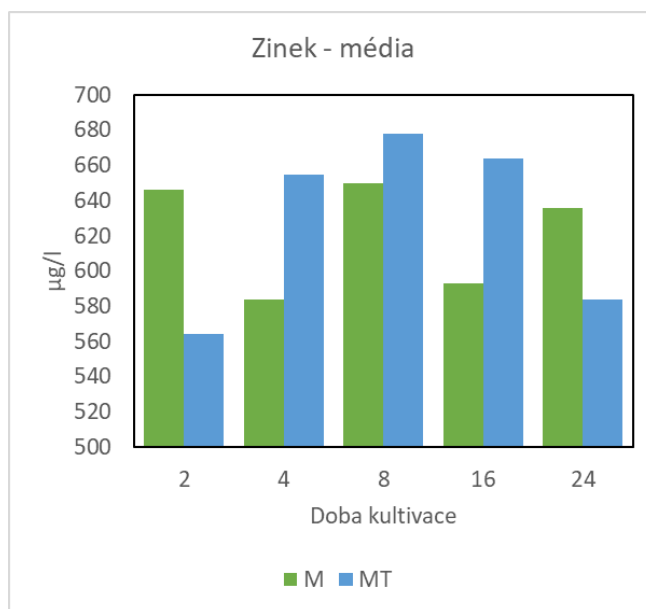
Z tabulky č. 2 je zřejmé, že je statisticky významný rozdíl mezi MT a MB. Pokud máme pouze médium s tasemnicí (MT), tak hodnoty SOD nejsou tak vysoké, jako když přidáme k tasemnicím navíc střevní buňky (MBT). Zde už začíná interakce a hodnoty jsou velmi podobné, jako když máme médium pouze se střevními buňkami (MB). Také je

statisticky významný rozdíl mezi MB v porovnání s M a MT. Médium s buňkami vykazuje daleko vyšší koncentrace SOD než samotné médium nebo médium s tasemnicí. Při porovnání koncentrace SOD mezi MB a MBT nelze jednoznačně říci, že by se od sebe lišily. Zde nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi oběma variantami.

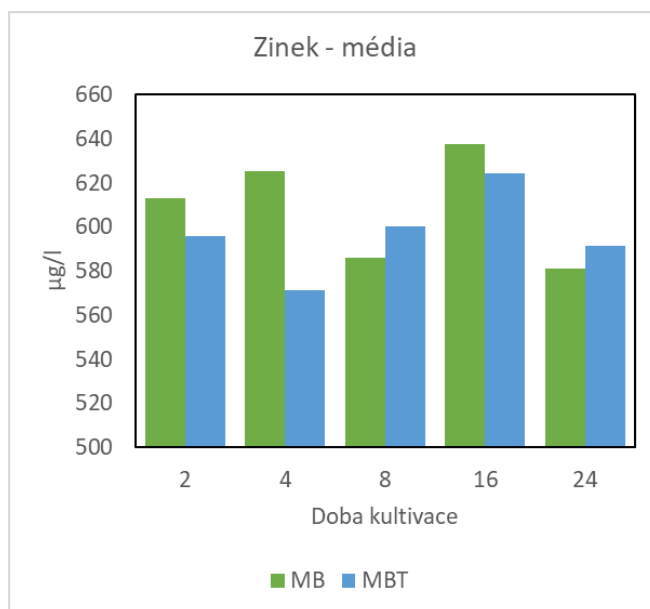
Tabulka č.3 znázorňuje, zda je statisticky významný rozdíl v délce kultivace. Lze konstatovat, že s narůstající délkou kultivace se koncentrace SOD zvyšovala nezávisle na obsahu. Zvýšení proběhlo ve všech formách média. Nejnižší nárůst byl v samotném médiu, kde se žádná reakce neodehrávala. Naopak nejvyšší nárůst byl v médiu se střevními buňkami. Nejvyšší nárůst byl zaznamenán 16 hodin po kultivaci.



Graf 3: Obsah zinku v mineralizátech tasemnic v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě



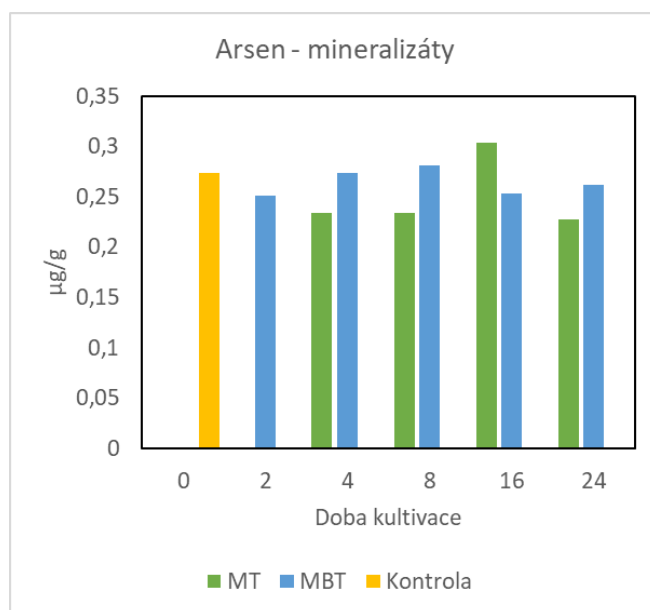
Graf 4: Obsah zinku v médiích v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě



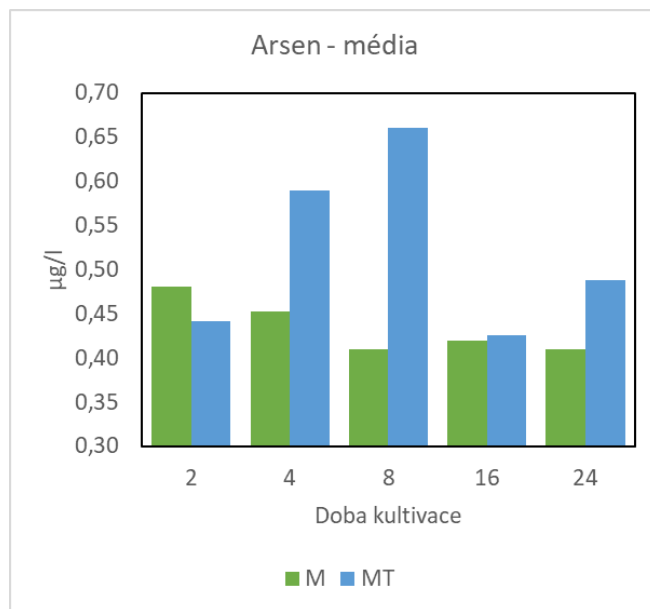
*Graf 5: Obsah zinku v médiích se střevními buňkami
v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě*

Graf č. 3 znázorňuje obsah zinku v lyofilizovaných tasemnicích. Označení v grafu „kontrola“ značí *H. diminuta* bez kultivace. O grafu č. 3 lze říci, že obsah zinku v závislosti na délce kultivace se výrazně nemění ať už máme MT nebo MBT.

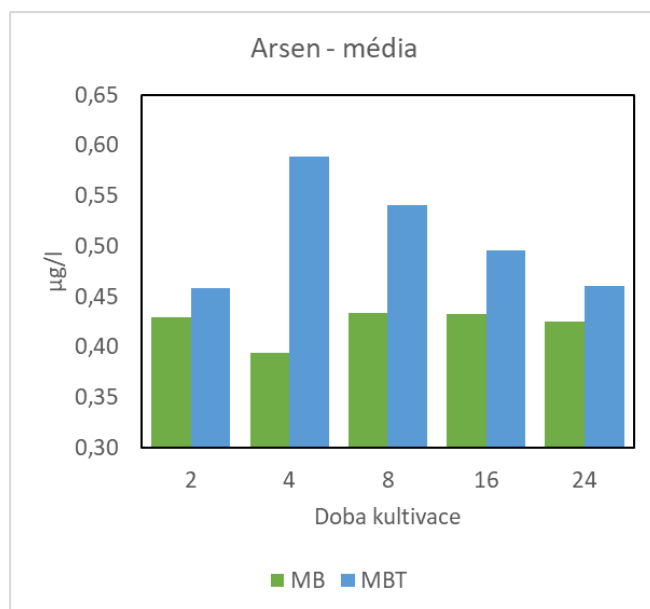
Graf č. 4 a graf č. 5 znázorňuje obsah zinku v médiích. Obecně lze říci, že zpočátku kultivace dochází k nárůstu obsahu zinku v médiích a po 8 nebo 16 hodině kultivace dochází opět k poklesu. Kromě samotného média 24 hodin po kultivaci dochází vždy k poklesu zinku.



*Graf 6: Obsah arsenu v mineralizátech tasemnic
v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě*



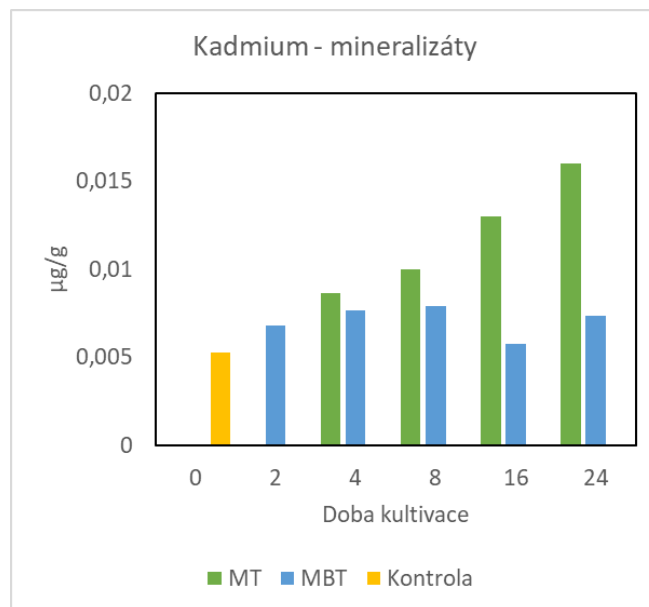
Graf 7: Obsah arsenu v médiích v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě



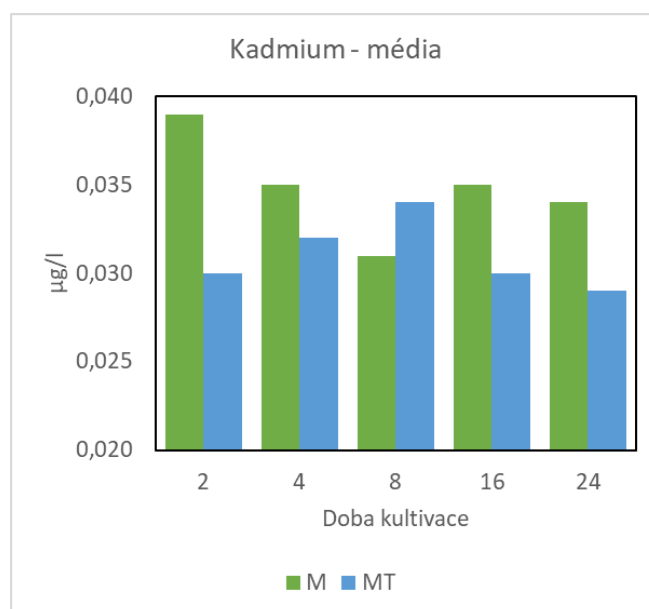
Graf 8: Obsah arsenu v médiích se střevními buňkami v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě

Obsah arsenu ve tkáních tasemnicí (graf č. 6) se výrazně nemění. Mírné odchylky zde jsou v porovnání MT a MBT. Vyšší hodnoty arsenu jsou v médiu při interakci tasemnice se střevními buňkami.

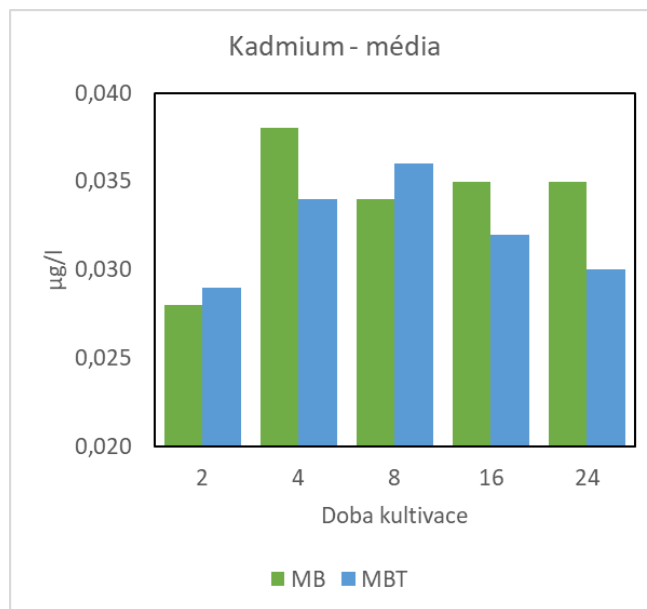
Kdežto u grafu č. 7 a č. 8 je patrné, že v průběhu kultivace se arsen z tasemnice uvolňuje. Oba grafy ukazují zvýšení do 8 hodiny kultivace ve srovnání s médiem bez tasemnic, bez ohledu na to, zda jsou v médiu buňky nebo nejsou.



Graf 9: Obsah kadmia v mineralizátech tasemnic
v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě



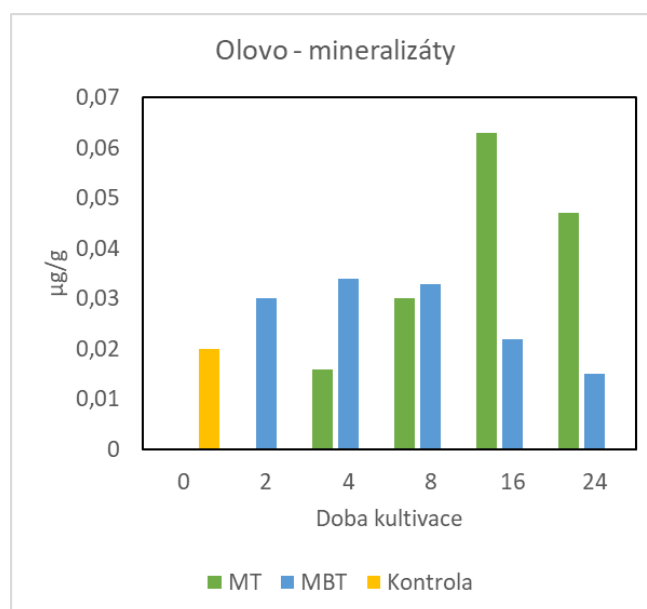
Graf 10: Obsah kadmia v médiích v závislosti na délce
kultivace a pokusné variantě



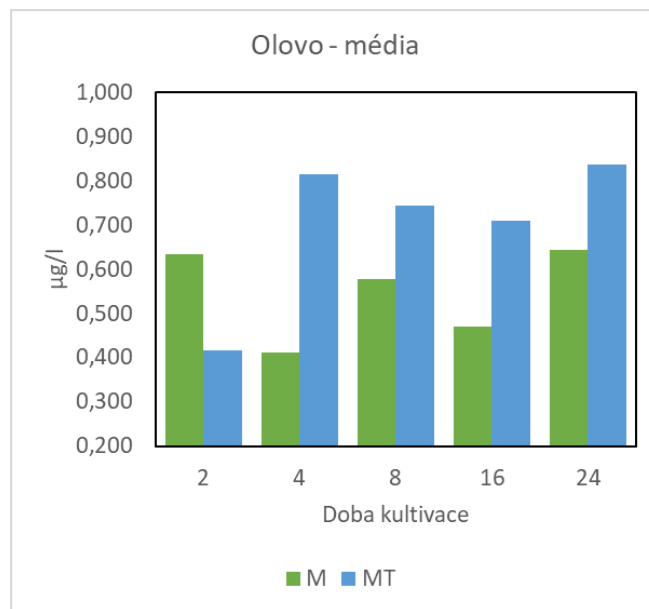
*Graf 11: Obsah kadmia v médiích se střevními buňkami
v závislosti na délce a pokusné variantě*

U grafu č. 9, kde se měří obsah kadmia ve tkáních tasemnice, lze vidět nárůst obsahu kadmia po 24hodinové kultivaci zejména u média s tasemnicí (MT). Oproti tomu při hodnocení obsahu kadmia v médiích (graf č. 10 a č. 11), není významný nárůst obsahu vzhledem k délce kultivace.

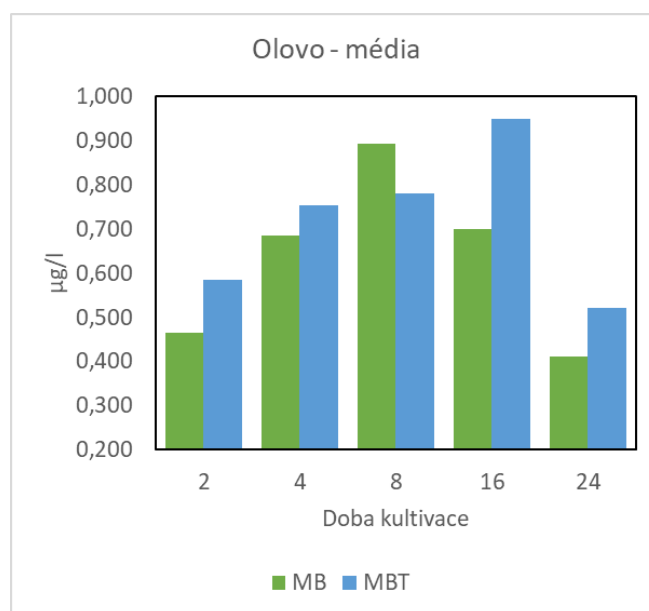
U grafu č. 10 samotné médium vykazuje vyšší hodnoty obsahu kadmia než médium s tasemnicí. U MT nejprve obsah kadmia stoupá do 8 hodiny kultivace a poté dochází k poklesu. To stejné platí i u grafu č. 11, kde MBT stoupá do 8 hodiny kultivace a následně dochází opět k poklesu s delší dobou kultivace. MB stagnuje od 8 hodiny kultivace do konce kultivace.



*Graf 12: Obsah olova v mineralizátech tasemnic
v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě*



Graf 13: Obsah olova v médiích v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě



Graf 14: Obsah olova v médiích se střevními buňkami v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě

Poslední prvek, který se hodnotil v rámci experimentální části bylo olovo. Při hodnocení obsahu olova ve tkáních tasemnice (graf č. 12) je znatelný nárůst obsahu olova po 16hodinové a 24hodinové kultivaci. Pokud hodnotíme MBT ve tkáních tasemnice, tak zde není významná změna v obsahu olova. Graf č. 13 a č. 14 znázorňuje obsah olova v médiích. Pokud nemáme samotné médium, ale obohacené ať už o střevní buňky nebo i tasemnice, tak opět dochází k nárůstu obsahu olova a v konečné fázi kultivace k prudkému poklesu. Pouze médium s tasemnicí (graf č. 13) nevykazuje znatelné rozdíly obsahu olova v závislosti na délce kultivace. Po 2 hodině kultivace došlo k významnému vzestupu a poté hodnoty stagnují.

6 Diskuze

Graf 1 a graf 2 dokumentuje koncentraci SOD v určitém obsahu v závislosti na délce kultivace. U grafu 1 porovnáváme koncentraci SOD v médiu samotném a poté, když v médiu jsou navíc tasemnice *H. diminuta*. Koncentrace SOD pouze v médiu by měla být víceméně konstantní. Není však jasné, proč po druhé hodině kultivace je vyšší obsah koncentrace SOD v samotném médiu než v médiu s tasemnicí. Důvod této hodnoty nelze v současné době vysvětlit. Superoxide Dismutase Assay Kit. Cayman Chemical Company 2023 testoval určitá činidla, která by mohla mít vliv na konečný výsledek, přičemž bylo zjištěno, že některá činidla skutečně mohou být zdrojem interferencí.

Pro identifikaci zdroje interference bylo médium opakovaně proměřeno v laboratoři katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky. Byla měřena pouze samotná média a byla stanovena koncentrace SOD. I v tomto druhém pokusu byla koncentrace SOD vyšší, než by se očekávala, ať už médium bez FBS nebo médium s FBS (přidané živiny navíc). Z tohoto závěru lze říci, že je potřeba zjistit a zaznamenat příčinu, proč je měřitelná koncentrace SOD v médiích, i když dle výrobce neobsahují žádné přidané živiny, kde by mohly určité sloučeniny spolu reagovat a dávat falešně pozitivní výsledky koncentrace SOD. Stáří média by na koncentraci SOD nemělo mít velký vliv, jelikož při obou pokusech byly naměřené vyšší koncentrace, než se očekávalo, v prvním pokusu byla média starší a pro druhý pokus byla média zcela čerstvé.

V druhém pokusu (oproti prvnímu) se měřila různá média, která měla různá složení. Je zajímavé, že média čistá (bez přidaných živin), měla vyšší koncentrace SOD (0,258 U/ml) než média s přidanými živinami (0,127 U/ml). Hodnota byla téměř o polovinu vyšší. Bylo by vhodné, zjistit určitý důvod v navazujících studiích a s touto hodnotou již počítat v následujících výzkumech, kdy hodnotu média bude třeba odečíst od aktivit reálných vzorků.

U grafu 1 konkrétněji MT (médium s tasemnicí) lze vidět narůstající trend křivky. Kdy se významně liší koncentrace SOD po 2 hodinách kultivace a následně po 24hodinové kultivaci. Určitě by bylo vhodné sledovat koncentraci SOD i po delší době, než je 24 hodin.

U grafu 2 byla hodnocena koncentrace SOD v médiu se střevními buňkami a také v médiu se střevními buňkami a tasemnicí. U obou bychom mohly říci, že se jedná o narůstající trend. Je zřejmé, že i střevní buňky reagují na oxidativní stres v médiu a produkují určité koncentrace SOD (Łuszczak et al. 2011). Nejvyšší koncentrace jsou po 8 hodinách kultivace a následně koncentrace SOD nepatrně klesá, což může být způsobeno vyčerpáním antioxidačních enzymů včetně SOD.

V neposlední řadě lze hodnotit MBT (médium se střevními buňkami a tasemnicí). Zde opět lze vidět narůstající trend kromě 8 hodiny kultivace. Zde je výrazný propad v koncentraci SOD, než by se očekávalo. Jako jedné z možných vysvětlení, které ale není podloženo žádnými fakty ani zdroji je, že tasemnice může produkovat i jiné sloučeniny, které relativní stanovení SOD mohou zkreslit. V samotném médiu (Graf 1 - MT) ji produkuje velmi rychle, již po 2 hodinách kultivace, kdežto v prostředí s buňkami (Graf 2 - MBT), kde se jí lépe žije díky střevním buňkám, začne uvolňovat až později (v těch 8 hodinách kultivace). Pokud kultivujeme médium se střevními buňkami a tasemnicí, tak koncentrace SOD je výrazně vyšší

než u média pouze se střevními buňkami. Střevní buňky představují reálné prostředí pro tasemnice a v důsledku oxidačního stresu se tasemnice brání vylučováním SOD, hraje zde i vzájemná interakce parazit - hostitel.

Výsledek může ovlivnit také fakt, že aktivita SOD závisí na tom, z jaké části tasemnice pochází. Například Skrzycki et al. (2011) zkoumali antioxidační systém u *H. diminuta* během krátkodobé a dlouhodobé infekce v tenkém střevě potkana. Strobily byly rozděleny do třech částí, a zkoumalo se, v jaké části tasemnice je nejvyšší aktivita SOD. V závěru lze říci, že vyšší aktivita SOD byla zejména v přední části častěji mladých tasemnic. Přední část tasemnice je nejvíce vystavena obranným systémům hostitele, protože je v přímém kontaktu se stěnou střeva.

Czeczot et al. (2012) hodnotili parametry oxidačního stresu a aktivitu antioxidačních enzymů ve střevě potkanů infikovaných tasemnicí *H. diminuta*. Experiment se skládal ze vzorků tenkého střeva potkanů po krátkodobé (1,5 měsíce) a dlouhodobé (1,5 roku) infekci larvami tasemnic *H. diminuta*. zjištěno, že ve střevě mladých a starých potkanů zastávají speciální roli při inhibici ROS superoxiddismutázy (SOD1 a SOD2), které se účastní eliminace superoxidového radikálu aniontu. Účast ostatních hodnocených antioxidačních enzymů v obraně tenkého střeva proti účinkům oxidačního stresu je značně nižší a nezávisí na věku potkanů. Dlouhodobá přítomnost parazitů v tenkém střevě potkanů, ve srovnání s kratším časem, jasně ukazuje změnu antioxidačního profilu v tenkém střevě hostitele. Při dlouhodobé infekci *H. diminuta* dochází k poklesu aktivity SOD1 a SOD2. Aktivita SOD1 a SOD2 je významně snížena v částech potkana, které nebyly v přímém kontaktu s parazitem (tenké střevo bez strobil tasemnice).

Kapczuk et al. (2022) vydali novou studii, která se *H. diminuta* a jak infekce ovlivňuje apoptózu v tenkém a tlustém střevě. Je prokázáno, že *H. diminuta* způsobuje změny v trávicím traktu hostitele. Vzhledem k tomu, že vyvolává řadu reakcí u hostitele, lze tedy předpokládat, že je zapojena do mechanismů apoptózy ve střevě. Výzkumné úkoly zahrnovaly zkoumání účinku infekce na buněčnou lokalizaci exprese apoptotického proteinu Bax a anti-apoptotického proteinu Bcl-2, stejně jako kaspázy-3 a kaspázy-9, a i účinky infekce na exprese Bcl-2, Bax, Cas-3 a Cas-9, na úrovni mRNA a proteinů. Testy ukázaly, že infekce *H. diminuta* aktivuje vnitřní apoptotickou dráhu ve střevě hostitele. Infekce *H. diminuta* spouští apoptózu prostřednictvím aktivace kaskády kaspáz, včetně Cas-3 a Cas-9. Hymenolepióza zvyšuje apoptózu ve střevě hostitele zvýšením exprese pro-apoptotického genu a proteinu Bax a snížením exprese anti-apoptotického genu a proteinu Bcl-2.

Łuszczak et al. (2011) testovali antioxidační aktivitu enzymů superoxiddismutázy a glutathionperoxidázy v kosterním svalstvu skotu infikovaného *T. saginata*. Pozorovali statisticky významný nárůst aktivity antioxidačního enzymu SOD ve svalovině infikované *T. saginata* ve srovnání s kontrolní hodnotou neinfikovaného skotu. Změny pozorované v aktivitě antioxidačních enzymů v tkáních infikovaných larvami tasemnice mohou pomoci vyvinout nové účinné metody detekce cysticerkózy u poražených zvířat.

Studii týkajících se infekce *H. diminuta* je mnoho, ať už se zabývá antioxidačními enzymy nebo negativním či pozitivním dopadem na organismus hostitele. Bohužel žádná se nezabývá aktivitou SOD, která se mění vzhledem k délce kultivace. Je zajímavé sledovat, jak

tasemnice reaguje pokaždé jinak, ať už s měnícím se obsahem v médiu nebo s délkou probíhající kultivace. Bylo by vhodné se tomuto tématu dále věnovat a testovat, které látky tasemnice vylučuje, v jakém množství a za jakou dobu. Studie mohou pomoci v mechanismu infekce, imunitních reakcí hostitele na infekci tasemnicí nebo v testování různých léčiv.

Druhá část výsledků se týkala stanovení celkových obsahů Zn, As, Cd a Pb ve vzorcích tkání tasemnic a kapalných médiích. Zinek je nezbytným esenciálním stopovým prvkem v těle všech organismů. Zinek zajišťuje správný vývoj a účinnou imunitní odpověď. Také zasahuje do metabolismu cukrů jako součást molekuly inzulinu (Jankovská et al. 2016). Ovšem ve vysokých dávkách může být toxický, například nadměrným příjmem doplňků výživy obohacené o Zn. Pokud příjem neustále pokračuje, mohou se objevit příznaky anémie.

Grafy 3, 4 a 5 znázorňují obsah zinku v závislosti na délce kultivace. Všechny tři grafy jsou oproti jiným prvkům vesměs konstantní a v obsahu zinku v závislosti na délce kultivace se nemění. Pokud hodnotíme čistě tkáň tasemnic (Graf 3), tak tam se hodnoty drží velmi podobně, nepatrně vyšší obsah zinku v mineralizátu byl v pokusné variantě MBT. Graf 4 a 5 znázorňuje kapalná média v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě. Pokud byli k tasemnici přidány navíc střevní buňky, tak obsah zinku se zvyšoval do 16 hodiny kultivace a poté klesl.

Ve většině studiích byly prvky přidávány do krmné směsi potkanů, tedy probíhala in vivo studie. Sloup et al. (2018) měli za cíl zjistit, jak *H. diminuta* ovlivňuje vylučování zinku a kadmia trusem. Potkani byli rozděleni do čtyř skupin a experiment probíhal po dobu 6 týdnů. Skupiny potkanů dostávali přídavky v podobě zinku a kadmia do potravy. Skupina potkanů, která byla infikována *H. diminuta*, vylučovala výrazně méně kadmia. Ve studii potkani neinfikovaní potkani dostávali maximálně 1,75 mg Zn/den a vylučovali 67 až 79 % zinku stolicí. Infikovaní potkani dostávali maximálně 20,5 mg Zn/den a vylučovali 69 až 90 % zinku stolicí. To potvrzuje schopnost organismu efektivně hospodařit se zinkem a regulovat jeho příjem a vylučování gastrointestinálním traktem. Proto i v našem případě obsah zinku se významně nelišil. *H. diminuta* je schopná regulovat zinek a reagovat na něj. Čím více kontaminované krmivo bylo, tím více se prvek vylučoval (Sloup et al. (2018).

Kadmium, arsen a olovo jsou neesenciální a nemají v organismu žádnou prospěšnou roli (Sloup et al. 2018). Jejich chování ve tkáních tasemnic je tedy odlišné. Je zřejmé, že v průběhu kultivace nejprve obsahy prvků stoupaly (graf 8, 11, 14) a poté cca od 8 - 16 hodiny kultivace začaly klesat a hodnota byla srovnatelná jako na začátku kultivace.

Obecně stoupající trend a následný pokles oproti zinku je dán tím, že tasemnice je schopná absorbovat toxické prvky z těla hostitele a tím pádem chránit hostitelský organismus před škodlivými účinky těžkých kovů (Sloup et al. 2021). *H. diminuta* v souvislosti s potkany by mohla být použita jako bioindikátor znečištění stopovými prvky (Kovacheva et al. 2020).

Jankovská et al. (2008) zjišťovali, zda existuje rozdíl v akumulaci iontů těžkých kovů (Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb a Zn) u hostitelů infikovaných tasemnicemi ve srovnání s těmi bez infekce tasemnicemi. Odchyt probíhal v oblasti Krušných hor, která je ovlivněna emisemi z průmyslu. Byl měřen obsah těžkých kovů v játrech a ledvinách hostitelů. Hostitelé s infekcí tasemnicemi (*Paranoplocephala* sp.) měli nižší obsah těžkých kovů ve svých játrech

a ledvinách ve srovnání s hostiteli s infekcí hlísticemi (*Mastophorus muris*). Opět se potvrdilo, že tasemnice jsou schopné akumulovat těžké kovy a tím snížit těžké kovy v orgánech hostitele.

Dřívější studie, kterou publikovali Torres et al. (2004), testovala koncentraci kadmia a olova v organismu myšice křovinné za účasti tasemnice. Bylo zjištěno, že hodnoty olova byly mnohonásobně vyšší u tasemnice než v ledvinách, játrech a svalch myšice křovinné.

Čadková et al. (2014) studovali vliv helmintů na akumulaci olova v těle hostitele. Byl použit *Rattus norvegicus* a parazit *H. diminuta*. Byly stanoveny koncentrace jak v tkáních hostitele (ledviny, játra, kosti, varlata, svalová a střevní stěna), tak i v tasemnicích. Co se týče systému hostitel-parazit, tak nejvyšší hodnoty olova byly zaznamenány v *H. diminuta*. Nakonec však nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi infikovanými potkany a neinfikovanými potkany. Také nebyly nalezeny žádné významné korelace mezi obsahem olova u tasemnic a tkání hostitele. Výsledky této studie naznačují, že *H. diminuta* nechrání potkany před zvýšeným obsahem olova, i když tasemnice akumuluje vyšší část požitých dávek olova ve srovnání s nejvíce zatíženou hostitelskou měkkou tkání. Z našich výsledků, které se týkají obsahu olova v médiích tasemnic (graf 13 a 14), je zřejmé, že pokud máme pouze médium s tasemnicí, tak hodnota obsahu olova stagnuje vzhledem k délce kultivace. Pokud přidáme k tasemnici střevní buňky, tak po 16 hodinách kultivace dojde k výraznému poklesu obsahu olova. Tento fakt tedy udává jiné výsledky než dřívější proběhlá studie, ale náš výzkum probíhal *in vitro*, tedy neměřily jsme tkáň hostitele.

Horáková et al. (2018) se věnovali studii, jejíž hlavním cílem bylo zjistit možnost použití tasemnice *H. diminuta* jako bioindikátoru organických a anorganických forem olova. Také byla stanovena bioakumulace kadmia a zinku. Potkani byli infikováni *H. diminuta* a vystaveni dvěma různým formám olova (dusičnan olovnatý a olovo vázané v rostlině *Pistia stratiotes*), navíc byla jedna kontrolní skupina (bez přídavku olova). Bylo potvrzeno, že tasemnice akumulovaly více koncentrací olova než jejich hostitelé. Koncentrace olova byly vyšší v tkáních neinfikovaných než u infikovaných potkanů. Studie potvrdila využití *H. diminuta* jako bioindikátoru.

Studii týkající se akumulací vybraných prvků v systému parazit-hostitel je mnoho. Vesměs veškeré studie se týkají nákazy hostitele s následnou expozicí potravou. Rizikové prvky jsou přidávány do krmné směsi a poté se sleduje, jak tasemnice ovlivňuje koncentraci určitých prvků. Tedy metody probíhají *in vivo*. Bohužel zatím nebyly studie, které by se týkaly kultivace *in vitro*, ať už s přidáním obsahu prvků nebo nikoliv. Nebyly tedy zaznamenány ani koncentrace prvků s ohledem na délku kultivace. Určitě by bylo vhodné navázat na diplomovou práci a rozšířit dobu kultivace a sledovat změny, jak tasemnice interaguje se střevními buňkami.

Podobné je tomu i u stanovení SOD metodou *in vitro*. Výzkum, který by se týkal hladiny SOD v závislosti na délce kultivace a pokusné variantě, jsem nenašla. Proto i v tomto výzkumu stále zůstávají otázky, proč tomu tak je. Ať už se jedná o samotnou hodnotu média, kde analýza ukazuje falešně pozitivní výsledky nebo výrazný pokles aktivity SOD po 8 hodině kultivace (Graf 2). Další výzkumy by mohly tyto nejasnosti objasnit.

7 Závěr

Cílem této práce bylo v modelových *in vitro* pokusech testovat experimentální podmínky pro kultivaci tasemnice v interakci se střevními buňkami tak, aby bylo možno popsat enzymatické produkty antioxidačního aparátu parazita (SOD). Také součástí výzkumu bylo stanovení koncentrace určitých prvků (Zn, As, Cd, Pb) ve tkáních tasemnic a v médiích. Naši hypotézu jsme potvrdili a dokázali jsme, že *in vitro* kultivace je vhodným postupem pro detailní popis biochemických procesů probíhajících mezi parazitem a jeho hostitelem.

Potkani kmene Wistar byli infikováni *H. diminuta*, která byla v těle potměnků (*T. molitor*). Infekce probíhala orální cestou, kdy potkanům byla aplikována dávka přímo do dutiny ústní. Pro vyšší úspěšnost byla zbývající část pokapána na potravu a část potměnků vložena do hroznového vína. Po 21 dnech byl trus potkanů testován na přítomnost vajíček. Po potvrzení přítomnosti vajíček tasemnice došlo k izolaci dospělé *H. diminuta* z těla hostitele. Kultivace probíhala metodou *in vitro*. Jednotlivé vzorky se lišily vzhledem k délce kultivace a pokusné variantě. V laboratořích probíhalo stanovení SOD a také stanovení obsahu prvků v mineralizátech a v médiích.

Z výzkumu vyplývá, že koncentrace SOD má rostoucí charakter. Při stanovení koncentrace tasemnice v médiu je nárůst nepatrný oproti tasemnice v médiu s přidáním střevních buněk. Střevní buňky imitují parazit-hostitelský systém a reagují na oxidační stres zvýšením koncentrace SOD. Významný propad v 8 hodině kultivace může být způsoben jinou sloučeninou, kterou tasemnice produkuje, a ta může ovlivnit výslednou koncentraci SOD. V samotném médiu ji produkuje velmi rychle (již po 2 hodině kultivace), kde je výrazný pokles a po přidání střevních buněk ji produkuje až po delší době (8 hodin). Lze také říci, že s narůstající délkou kultivace se koncentrace SOD zvyšovala nezávisle na pokusné variantě.

Při stanovení obsahu prvků v mineralizátech tasemnic a v médiích byl nejvíce stagnující účinek u zinku. Jedná se o esenciální prvek, který tasemnice umí a mohou regulovat. Ostatní prvky - arsen, kadmium a olovo měly v interakci se střevními buňkami významný nárůst obsahu do určité hodiny kultivace a poté významný pokles. Tasemnice je schopná akumulovat určitou část a tím tedy méně zatěžuje organismus a v určitých situacích je prospěšná. Bylo prokázáno, že tasemnice jsou schopné akumulovat těžké kovy z těla hostitele do svého.

V příštím výzkumu bych doporučila opět se věnovat kultivaci *in vitro*, jelikož na toto konkrétní téma chybí studie. Nicméně v tomto přístupu existuje stále více otázek než odpovědí. Více se zabírat délkou kultivace, prodloužit případně i dobu, jak se tasemnice bude chovat po delší době, než pouze po 24 hodinách. Stanovit i jiné antioxidační enzymy a vzájemně je porovnat. Také by stálo za zmínku vysvětlení falešně pozitivních hodnot u samotných médií, které jsou bez přísad živin. Přála bych si, odpovědět na otázky, které nebyly možné v tomto výzkumu zrealizovat a zjistit.

8 Seznam použité literatury

Adolph CB, Peregrine AS. 2021. Tapeworms. In Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat. WB Saunders.

Aguilar-Marcelino L, Aguilar-Figueroa BR, Oropeza-Guzmán G, Mendoza-Galvez B, Bautista-Garfias CR, Viladomat GRC. 2023. Hymenolepiasis. One Health Triad, Unique Scientific Publishers, Faisalabad, Pakistan **3**:122-127.

Andreassen J, Bennet-Jenkins EM, Bryant C. 1999. Immunology and biochemistry of *Hymenolepis diminuta*. Advances in Parasitology **42**:223-275.

Arai HP. 1980. Biology of the tapeworm *Hymenolepis diminuta*. New York: Academic Press. ISBN:012058980x

Arizono N, Fukumoto S, Tademoto S, Yamada M, Uchikawa R, Tegoshi T, Kuramochi T. 2008. Diplogonoporiasis in Japan: genetic analyses of five clinical isolates. Parasitology International **57**: 212-216.

Baker DA. 2010. Malaria gametocytogenesis. Molecular and biochemical parasitology, **172**: 57-65.

Berntzen AK. 1961. The *in vitro* cultivation of tapeworms. I. Growth of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda: Cyclophyllidae). The Journal of Parasitology **47**:351-355.

Bonfanti U, Bertazzolo W, Pagliaro L, Demarco B, Venco L, Casiraghi M, Bandi C. 2004. Clinical, cytological and molecular evidence of *Mesocestoides* sp. infection in a dog from Italy. Journal of Veterinary Medicine Series **51**:435-438.

Bouزيد W, Štefka J, Hypša V, Lek S, Scholz T, Legal, L, Loot G. 2008. Geography and host specificity: two forces behind the genetic structure of the freshwater fish parasite *Ligula intestinalis* (Cestoda: Diphyllbothriidae). International Journal for Parasitology **38**:1465-1479.

Bowman DD, Hendrix CM, Lindsay DS, Barr SC. 2008. Feline clinical parasitology. John Wiley & Sons.

Braae UC, Thomas LF, Robertson LJ, Dermauw V, Dorny P, Willingham AL, Devleesschauwer B. 2018. Epidemiology of *Taenia saginata* taeniosis/cysticercosis: a systematic review of the distribution in the Americas. Parasites & Vectors **11**:1-12.

Cabada MM, Morales ML, Lopez M, Reynolds ST, Vilchez EC, Lescano AG, White JrCA. 2016. *Hymenolepis nana* impact among children in the highlands of Cusco, Peru: an emerging neglected parasite infection. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene **95**:1031.

Cabello RR, Ruiz AC, Feregrino RR, Romero LC, Feregrino RR, Zavala JT. 2011. *Dipylidium caninum* infection. Case Reports.

- Caira JN, Jensen K. 2021. Electron microscopy reveals novel external specialized organs housing bacteria in eagle ray tapeworms. *PLOS ONE* **16**: e0244586.
- Carmena D, Benito A, Eraso E. 2006. Antigens for the immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection: An update. *Acta Tropica* **98**:74-86
- Casulli A, Barth TF, Tamarozzi F. 2019. *Echinococcus multilocularis*. *Trends in Parasitology* **35**:738-739.
- Czeczot H, Skrzycki M, Majewska M, Podsiad M, Salamatın R, Twarowska J, Grytner-Zięcina B. 2012. Changes of enzymatic antioxidant system in the small intestine of rats after the chronic invasion by *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Hymenolepididae). *Helminthologia*, **49**:233-240.
- Czeczot H, Skrzycki M, Majewska M, Podsiad M, Salamatın R, Twarowska J, Grytner-Zięcina B. 2012. Changes of enzymatic antioxidant system in the small intestine of rats after the chronic invasion by *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Hymenolepididae). *Helminthologia*, **49**:233-240.
- Čadková Z, Miholova D, Száková J, Valek P, Jankovska I, Langrova I. 2014. Is the tapeworm able to affect tissue Pb-concentrations in white rat? *Parasitology* **141**:826-836.
- Deckers N, Dorny P. 2010. Immunodiagnosis of *Taenia solium* taeniosis/cysticercosis. *Trends in Parasitology* **26**:137-144.
- Denegri GM, Elissondo MC, Dopchiz MC. 2002. Oribatid mites as intermediate hosts of *Thysanosoma actinioides* (Cestoda: Anoplocephalidae): a preliminary study. *Veterinary Parasitology* **103**:267-271.
- Dermauw V, Dorny P, Braae UC, Devleesschauwer B, Robertson LJ, Saratsis A, Thomas LF. 2018. Epidemiology of *Taenia saginata* taeniosis/cysticercosis: a systematic review of the distribution in southern and eastern Africa. *Parasites & Vectors* **11**:1-12.
- Desquesnes M, Michel JF, De La Rocque S, Solano P, Millogo L, Bengaly Z, Sididé I. 1999. Enquête parasitologique et sérologique (Elisa-indirect) sur les trypanosomoses des bovins dans la zone de Sidéradougou, Burkina Faso. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* **52**:223-232.
- Dvořák V, Borkovcová M. Tasemnice rodu Mesocetoides u tří psů v České republice. 2004. *Veterinářství* **54**:205-209
- Farrar J, Hotez P, Junghanss T, Kang G, Laloo D, White N. 2013. *Manson's Tropical Infectious Diseases (Twenty-Third Edition)* London: Saunders Ltd.
- Farris JS. 1974. Formal definitions of paraphyly and polyphyly. *Systematic Zoology* **23**:548-554.
- Fioravanti CF, Walker DJ, Sandhu PS. 1998. Metabolic transition in the development of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda). *Parasitology Research* **84**:777-782.

Forejtek P, Rajský D, Vodňanský M, Rajský M. 2013. Zdravotní problematika zvěře: příručka pro mysliveckou praxi. Středoevropský institut ekologie zvěře, Institut ekologie zvěře VFU Brno, Brno-Wien-Nitra.

Garcia, HH, Del Brutto OH. 2000. *Taenia solium* cysticercosis. Infectious disease clinics of North America **14**:97-119.0-243.

Georgiev BB, Bray RA, Timothy D, Littlewood J. 2006. Cestodes of small mammals: taxonomy and life cycles. In: Micromammals and macroparasites. From evolutionary ecology to management 29-62.

Greenwood B, Mutabingwa T. 2002. Malaria in 2002. Nature, **415**:670.

Hammerschmidt K & Kurtz J. 2009. Ecological immunology of a tapeworms' interaction with its two consecutive hosts. Advances in Parasitology **68**:111-137.

Handman E. 1999. Cell biology of Leishmania. Advances in Parasitology **44**:1-39.

Harnett W. 1988. The anthelmintic action of praziquantel. Parasitology Today **4**:144-146.

Hartenstein V, Jones M. 2003. The embryonic development of the bodywall and nervous system of the cestode flatworm *Hymenolepis diminuta*. Cell and tissue research **311**:427-435.

Haukisalmi V, Greiman SE, Littlewood DTJ, Makarikov AA, Phillips AJ,

Horák P, Scholz T, 1998. Biologie helmintů. Karolinum, Praha.

Horáková B, Čadková Z, Száková J, Jankovská I, Langrová I. 2018. Lead accumulation in rats: The effect of the presence of a rat tapeworm and the different forms of metal in the host diet. Ecological Indicators, **85**:753-757.

Horáková B, Čadková Z, Száková J, Jankovská I. 2017. The identification of risk and essential elements along the strobila of the rat tapeworm *Hymenolepis diminuta*. Journal of Helminthology **91**:555-560.

Ching HL. 1988. The distribution of plerocercoids of *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitzsch) in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) smolts from Great Central Lake, British Columbia. Canadian Journal of Zoology **66**:850-852.

Ing MB, Schantz PM, Turner JA. 1998. Human coenurosis in North America: case reports and review. Clinical Infectious Diseases **27**:519-523.

Item No. 706002. 2023. Superoxide Dismutase Assay Kit. Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA.

Iwaki T, Nonaka N, Okamoto M, Oku Y, Kamiya M. 1994. Developmental and morphological characteristics of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) in *Clethrionomys rufocanus bedfordiae* and *Rattus norvegicus* from different geographical locations. The Journal of Parasitology 461-467.

Jankovská I, Langrová I, Bejcek V, Miholová D, Vadlejch J, Petrtyl M. 2008. Heavy metal accumulation in small terrestrial rodents infected by cestodes or nematodes. *Parasite* **15**:581-588.

Jankovská I, Sloup V, Száková J, Langrová I, Sloup S. 2016. How the tapeworm *Hymenolepis diminuta* affects zinc and cadmium accumulation in a host fed a hyperaccumulating plant (*Arabidopsis halleri*). *Environmental Science and Pollution Research* **23**:19126-19133.

Jira J, 1998. Lékařská helmintologie. Galén, Praha.

Jirovec O, 1977. Parasitologie pro lékaře. Avicenum, Praha.

Jirovec O. 1954. Parasitologie pro lékaře. 2. vydání. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.

Jones A. 1994. Family Dipylidiidae Stiles, 1896. Keys to the cestode parasites of vertebrates 555-558.

Jurášek V, Dubinský P, Bírová V, Borošková Z. 1993. Veterinárna parazitológia. Príroda, Bratislava.

Kapczuk P, Kosik-Bogacka D, Kupnicka P, Kopytko P, Tarnowski M, Kolasa A, Baranowska-Bosiacka I. 2022. *Hymenolepis diminuta* Infection Affects Apoptosis in the Small and Large Intestine. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **19**:9753.

Kapczuk P, Kosik-Bogacka D, Łanocha-Arendarczyk N, Gutowska I, Kupnicka P, Chlubek D, Baranowska-Bosiacka I. 2018. Selected molecular mechanisms involved in the parasite–host system *Hymenolepis diminuta* – *Rattus norvegicus*. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**:2435.

Khalil LF, Jones A, Bray RA.1994. Keys to the cestode parasites of vertebrates. CAB International. Wallingford **10**:9780851988795-0000.

Ko CJ, Elston DM. 2004. Pediculosis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **50**:1-12.

Kosik-Bogacka DI, Baranowska-Bosiacka I, Nocen I, Jakubowska K, Chlubek D. 2011. *Hymenolepis diminuta*: Activity of anti-oxidant enzymes in different parts of rat gastrointestinal tract. *Experimental Parasitology* **128**:265-271.

Kovacheva A, Vladov I, Gabrashanska M, Rabadjieva D, Tepavitcharova S, Nanev V, Karavoltsos S. 2020. Dynamics of trace metals in the system water–soil–plant–wild rats–tapeworms (*Hymenolepis diminuta*) in Maglizh area, Bulgaria. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **58**:126440.

Kuchta R, Scholz T, Brabec J, Bray RA.2008. Suppression of the tapeworm order Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Eucestoda) and the proposal of two new orders, Bothriocephalidea and Diphyllbothriidea. *International Journal for Parasitology* **38**: 49–55.

Kuchta R. 2021. Evolution, biology and systematics of the Bothriocephalidea (Cestoda).

Lebwohl B, Deckelbaum RJ, Green PH. 2003. Giardiasis. *Gastrointestinal Endoscopy*, **57**:906-913.

Lee EB, Song JH, Park NS, Kang BK, Lee HS, Han YJ, Chai JY. 2007. A case of *Diphyllbothrium latum* infection with a brief review of diphyllbothriasis in the Republic of Korea. *The Korean Journal of Parasitology* **45**:219.

Letková VA, Kočišová M, Goldová. 2010. *Základy helmintologie*. Univerzita veterinárského lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice.

Łuszczak J, Ziaja-Sołtys M, Rzymowska J. 2011. Anti-oxidant activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in skeletal muscles from slaughter cattle infected with *Taenia saginata*. *Experimental Parasitology* **128**:163-165.

Maltsev VN. 2000. New data on four species of diphyllbothriids parasitizing pinnipeds in Antarctica. *Proceedings of the Southern Scientific Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography* **45**:93-105.

Malvy D, Chappuis F. 2011. Sleeping sickness. *Clinical Microbiology and Infection* **17**:986-995.

Mariaux J, Tkach VV, VASILEVA GP, WAESCHENBACH ANDREA, Beveridge I, Dimitrova YD, Georgiev BB. 2017. Cyclophyllidea van Beneden in Braun 1900.

McAuley JB. 2014. Congenital toxoplasmosis. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society* **3**:30-35.

Miquel J, Świdorski Z, Foronda P, Torres J, Feliu C. 2009. Ultrastructure of spermatogenesis of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae) and comparison of spermatological characters in the family Taeniidae Ludwig, 1886. *Acta Parasitologica* **54**:230-243.

Nguyen MTT, Gabriel S, Abatih EN, Dorny P. 2016. A systematic review on the global occurrence of *Taenia hydatigena* in pigs and cattle. *Veterinary Parasitology* **226**:97-103.

Nichol S, Ball SJ, Snow KR. 1981. Prevalence of intestinal parasites in feral cats in some urban areas of England. *Veterinary Parasitology* **9**:107-110.

Ogren RE. 1961. The mature oncosphere of *Hymenolepis diminuta*. *The Journal of Parasitology*, **47**:197-204.

Pandey RP, Raj VS, Singh RK, Mohaptara TM. 2022. Dipylidiasis. In: Parija, S.C., Chaudhury, A. *Textbook of Parasitic Zoonoses. Microbial Zoonoses*. Springer, Singapore.

Panti-May JA, Rodríguez-Vivas RI, García-Prieto L, Servián A, Costa F. 2020. Worldwide overview of human infections with *Hymenolepis diminuta*. *Parasitology Research* **119**:1997-2004.

Pendar H, Aviles J, Adjerid K, Schoenewald C, Socha JJ. 2019. Functional compartmentalization in the hemocoel of insects. *Scientific Reports* **9**:6075.

- Pugh DG, Baird AN. 2012. Sheep and goat medicine second edition. Elsevier Saunders, Missouri.
- Ravdin JI. 1995. Amebiasis. *Clinical Infectious Diseases*, **20**:1453-1464.
- Rawat N, Jolhe DK, Hirpurkar SD, Bisen S, Patel SK, Sannat C, Mandavi S. 2020. Investigation and therapeutic management of hymenolepiosis in wistar rats from Chhattisgarh. *Journal of Animal Research* **10**:609-614.
- Read CP. 2000. The “crowding effect” in tapeworm infections. *Journal of Parasitology* **86**:206-208.
- Romig T. 2009. *Echinococcus multilocularis* in Europe-state of the art. *Veterinary Research Communications* **33**:31-34.
- Rothman AH. 1957. The larval development of *Hymenolepis diminuta* and *H. citelli*. *The Journal of Parasitology* **43**:643-648.
- Rothman AH. 1959. Studies on the excystment of tapeworms. *Experimental Parasitology* **8**:336-364.
- Rousseau J, Castro A, Novo T, Maia C. 2022. *Dipylidium caninum* in the twenty-first century: epidemiological studies and reported cases in companion animals and humans. *Parasites & Vectors* **15**:1-13.
- Ryšavý B, Černá Ž, Chalupský J, Országh I, Vijtek J. 1988. Základy parazitologie. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Scala A, Cancedda GM, Varcasia A, Ligios C, Garippa G, Genchi C. 2007. A survey of *Taenia multiceps* coenurosis in Sardinian sheep. *Veterinary Parasitology* **143**:294-298.
- Servián A, Zonta ML, Cociancic P, Falcone A, Ruybal P, Capasso S, Navone GT. 2020. Morphological and molecular characterization of *Bertiella* sp. (Cestoda, Anoplocephalidae) infection in a human and howler monkeys in Argentina. *Parasitology Research* **119**:1291-1300.
- Schiller EL. 1965. A simplified method for the *in vitro* cultivation of the rat tapeworm, *Hymenolepis diminuta*. *The Journal of Parasitology* 516-518.
- Schneider-Crease IA, Snyder-Mackler N, Jarvey JC, Bergman TJ. 2013. Molecular identification of *Taenia serialis* coenurosis in a wild Ethiopian gelada (*Theropithecus gelada*). *Veterinary Parasitology*, **198**:24
- Scholz T, Kuchta R, Oros M. 2021. Tapeworms as pathogens of fish: A review. *Journal of Fish Diseases* **44**:1883-1900.
- Skerikova A, Brabec J, Kuchta R, Jimenez JA, Garcia HH, Scholz T. 2006. Is the human-infecting *Diphyllbothrium pacificum* a valid species or just a South American population of the holarctic fish broad tapeworm, *D. latum*? *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **75**:307-310.

- Skrzycki M, Majewska M, Podsiad M, Czeczot H, Salamatın R, Twarowska J, Grytner-Zięcina B. 2011. *Hymenolepis diminuta*: experimental studies on the antioxidant system with short and long term infection periods in the rats. *Experimental Parasitology* **129**:158-163.
- Skrzycki M, Majewska M, Podsiad M, Czeczot H, Salamatın R, Twarowska J, Grytner-Zięcina B. 2011. *Hymenolepis diminuta*: experimental studies on the antioxidant system with short and long term infection periods in the rats. *Experimental Parasitology* **129**:158-163.
- Sloup V, Jankovská I, Száková J, Magdálek J, Sloup S, Langrová I. 2018. Effects of tapeworm infection on absorption and excretion of zinc and cadmium by experimental rats. *Environmental Science and Pollution Research* **25**:35464-35470.
- Sloup V, Jankovská I, Štolcová M, Magdálek J, Karešová V, Lanková S, Langrová I. 2021. Effects of excessive dietary zinc or zinc/cadmium and tapeworm infection on the biochemical parameters in rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **105**:989-995.
- Sulima A, Bień J, Savijoki K, Näreaho A, Sałamatın R, Conn DB, Młocicki D. 2017. Identification of immunogenic proteins of the cysticercoid of *Hymenolepis diminuta*. *Parasites & Vectors*, **10**:1-12.
- Sures B, Grube K, Taraschewski H. 2002. Experimental studies on the lead accumulation in the cestode *Hymenolepis diminuta* and its final host, *Rattus norvegicus*. *Ecotoxicology* **11**:365-368.
- Svobodová V, Svoboda M, Vernerová E. 2013. Klinická parazitologie psa a kočky. B-V-M, Brno.
- Tena D, Simón MP, Gimeno C, Pomata MTP, Illescas S, Amondarain I, Bisquert J. 1998. Human infection with *Hymenolepis diminuta*: case report from Spain. *Journal of Clinical Microbiology* **36**: 2375-2376.
- Thompson RCA. 2015. Neglected zoonotic helminths: *Hymenolepis nana*, *Echinococcus canadensis* and *Ancylostoma ceylanicum*. *Clinical Microbiology and Infection* **21**:426-432.
- Torres J, De Lapuente J, Eira C, Nadal J. 2004. Cadmium and lead concentrations in *Gallegoides arfaai* (Cestoda: Anoplocephalidae) and *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae) from Spain. *Parasitology Research* **94**:468-470.
- Toviho OA, Bársony P. 2022. Nutrient composition and growth of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) at different ages and stages of the life cycle. *Agriculture* **12**:1924.
- Varcasia A, Tamponi C, Ahmed F, Cappai MG, Porcu F, Mehmood N, Scala A. 2022. *Taenia multiceps* coenurosis. A review. *Parasites & Vectors* **15**:1-18.
- Voge M. 1961. Effect of high temperature stress on histogenesis in the cysticercoid of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda: Cyclophyllidae). *The Journal of Parasitology* **47**:189-195.
- Volf P, Horák P, Čepička I, Flegr J, Lukeš J, Mikeš L, Svobodová M, Vávra J, Votýpka J. 2007. Paraziti a jejich biologie. Triton, Praha.

Volf P, Horák P. 2007. Paraziti a jejich biologie. Triton, Praha von Nickisch-Rosenegk M, Lucius R, Loos-Frank B. 1999. Contributions to the phylogeny of the Cyclophyllidea (Cestoda) inferred from mitochondrial 12 S rDNA. Journal of Molecular Evolution **48**:586-596.

Weiss LM, Dubey JP. 2009. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. International Journal for Parasitology, **39**:895-901.

Yamazawa E, Ohno M, Satomi K, Yoshida A, Miyakita Y, Takahashi M, Narita Y. 2020. First case of human neurocoenurosis caused by *Taenia serialis*: A case report. International Journal of Infectious Diseases **92**:171-174.

Yurachno MV. 1992. About systematics and phylogeny of some groups of the order Pseudophyllidea. Parazitologiya **26**: 449-461.

Zhang S, Guo A, Zhu X, You Y, Hou J, Wang Q, Cai X. 2015. Identification and functional characterization of alpha-enolase from *Taenia pisiformis* metacestode. Acta Tropica **144**:31-40.

9 Seznam obrázků

Obrázek 1: Morfologie buňky protozoí (Jurášek et al. 1993); 1 - Golgiho aparát, 2 - filamenty, 3 - centrozomy, 4 - lyzozom, 5 - jádro, 6 - jadérko, 7 - pinocitární měchýřek, 8 - ribozomy, 9 - membrána buňky, 10 - cytoplazma, 11 - endoplazmatické retikulum, 12 - mitochondrie, 13 - sekreční granuly, 14 - otvor v membráně jádra	11
Obrázek 2: Cestoda, příklady hlaviček (skolexů) (Volf & Horák 2007); A - nejznámější typ hlavičky u rodu <i>Taenia</i> - hlavička se čtyřmi přísavkami a vysunovatelným rostellem s mohutnými háčky, B - ukázka skolexu žraločí tasemnice s přísavnými orgány a vysunovatelnými chobotky s háčky. RO - rostellum s háčky, PR – přísavky, BO - botridie, CH - chobotky	16
Obrázek 3: Základní organizace těla tasemnic (Volf et al. 2007); A - přední část strobily s terminálně umístěnou hlavičkou s přísavkami; B - nezralé články za oblastí krčku; C - pohlavně zralé články s vyvinutou samčí a samičí pohlavní soustavou; D - nejstarší články naplněné vajíčka	17
Obrázek 4: <i>Bertiella studeri</i> - makroskopický pohled (Servián et al. 2020)	21
Obrázek 5: Životní cyklus rodu <i>Dipylidium</i> (Pandey et al. 2022)	24
Obrázek 6: Životní cyklus <i>Echinococcus multilocularis</i> (Casulli et al. 2019).....	26
Obrázek 7: Životní cyklus <i>H. diminuta</i> . Upraveno dle: Farrar et. al 2013.....	30
Obrázek 8: Části tasemnic s vroubkovaným okrajem nalezené ve střevě potkana (Rawat et al. 2020)	32
Obrázek 9: <i>H. diminuta</i> v tenkém střevě <i>R. norvegicus</i>	38
Obrázek 10: <i>H. diminuta</i> v médiu se střevními buňkami	38
Obrázek 11: Třepačka GFL 3005	40
Obrázek 12: TECAN Spark pro odečtení absorbance.....	40