

Protokoll zur  
Organismischen Parasitologie:

Organhabitats, Parasitendiversität  
und ökologische Funktion

A. Renz & P. Wenk, WS 2011 / 12

9. Kurstag:  
**Auge, Flußblindheit**  
**und Populationsdynamik der Filarien**

Alicja Sarnecka  
9. Dezember 2011



diesem Epithel liegt als 8-14  $\mu\text{m}$  dicke Schicht die s.g. Bowman-Membran (Lamina limitans anterior), die zur Stabilität und Festigkeit der Kornea beiträgt. Der größte Bereich mit 400  $\mu\text{m}$  nimmt das Stroma der Kornea auf. Dieses besteht aus Fibroblasten und Kollagenfasern. Die Descemet-Membran (Lamina limitans posterior) hat eine Dicke von nur 10  $\mu\text{m}$  und entspricht mit seinem Bau einer Basalmembran. Die letzte Schicht, das s.g. Hornhautendothel (Epithelium posterium), ist ein einschichtiges Plattenepithel.

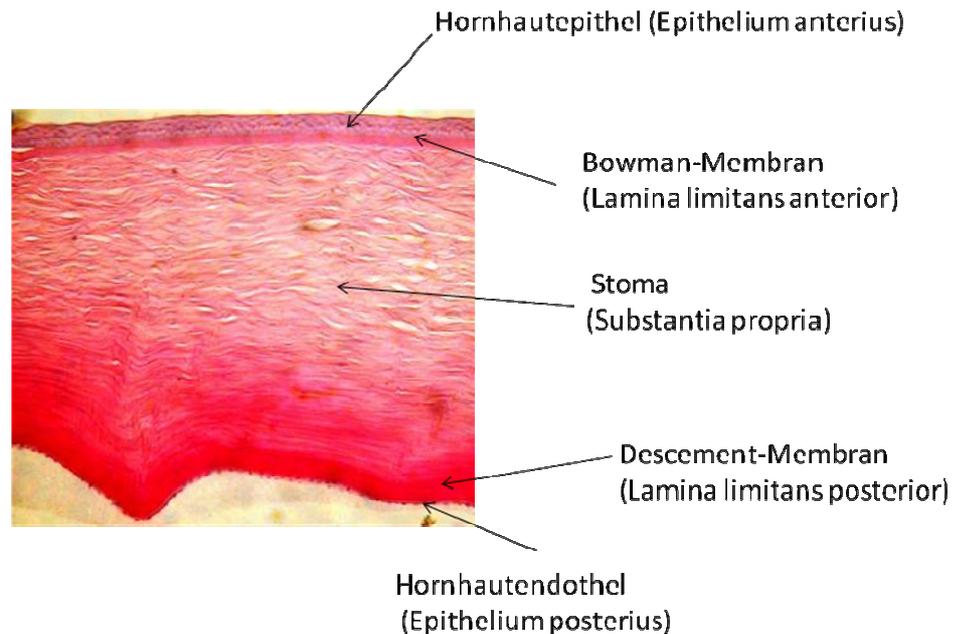


Abb 2: Histologischer Schnitt durch die Hornhaut. Von oben nach unten kommen die einzelnen Kornea-Schichten: Hornhautepithel, Bowman-Membran, Stroma, Descemet-Membran und Hornhautendothel. Vergrößerung ca. 40fach

Die mittlere Augenschicht ist die von vielen Blutgefäßen durchzogene Aderhaut. Das Auge muss gut durchblutet werden zur Sauerstoff und Nährstoffversorgung. Die Aderhaut hat vorne eine Ausbuchtung, in welcher der Ciliarmuskel liegt, und endet in der Mitte in der ringförmigen Regenbogenhaut (Iris). Die innerste Schicht der Augenhülle ist die lichtempfindliche Netzhaut (Retina). Wie man aus Abb. 3 erkennen kann, besteht die Retina aus mehreren Schichten, die zwischen Glaskörper und Aderhaut liegen und im Wesentlichen aus Nervenzellen bestehen. Die äußerste Schicht enthält lichtempfindliche Sinneszellen (Rezeptoren): Zapfen und Stäbchen. Als Schaltzellen agieren die bipolaren Zellen, die Horizontalzellen und amakrine Zellen. Die Ganglienzellen sind als

Nervenzellen tätig, ihre Axone treten im Sehnerv aus dem Augapfel ins Gehirn. Sie sind von Gliazellen umgeben, welche Glucose für sie bereitstellen.

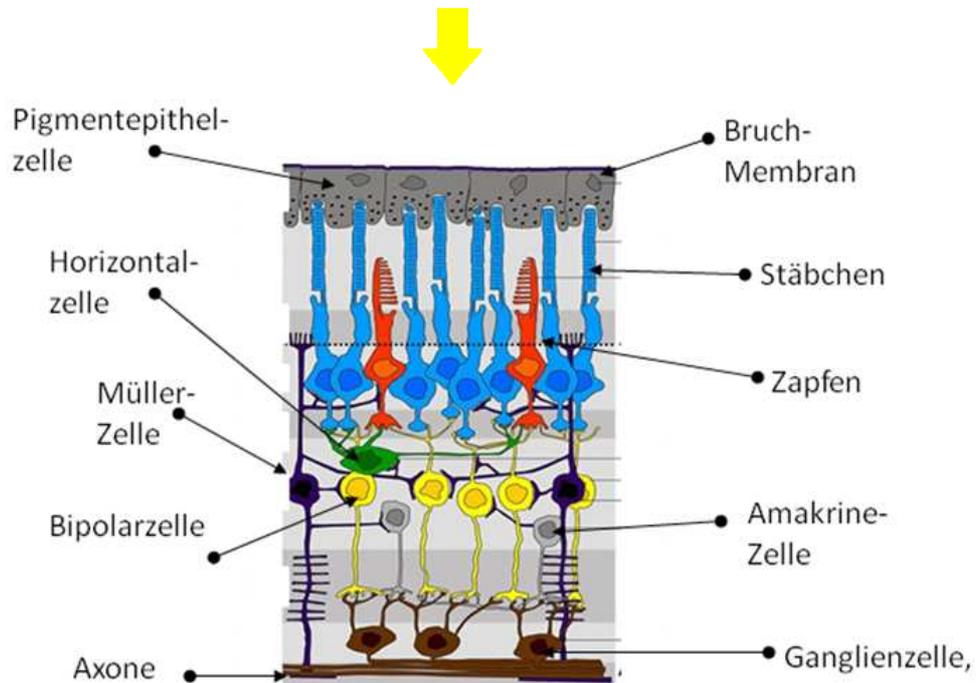


Abb.3: Aufbau der menschlichen Retina. Den Pfeil symbolisiert der Lichtanfall.

Die Linse ist an den Zonulafasern befestigt. Sie ist nicht symmetrisch aufgebaut. Ein einschichtiges Epithel befindet sich nur auf ihrer äußeren Seite. Man kann in der Linse mehrere schwarze Pigmentflecken beobachten (Abb. 4).

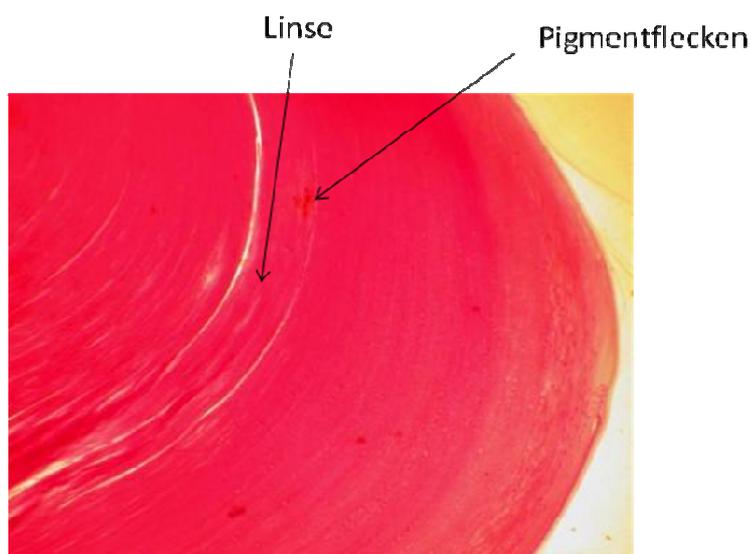


Abb.4: Histologischer Schnitt durch das Auge. Sichtbar ist Linse und die Pigmentflecken. Vergrößerung 10x.

Wie passt sich das Auge nun an, wenn es Gegenstände von unterschiedlicher Weite/Nähe fokussieren soll? Bei Fernakkommodation, d.h. wenn ein Gegenstand aus der Ferne betrachtet werden soll, ist der Ziliarmuskel entspannt. Dadurch sind die Zonulafasern gespannt, wodurch die Linse abgeflacht wird. Bei Nahakkommodation ist der Fall anders. In diesem Fall ist der Ziliarmuskel gespannt, die Zonulafasern sind entspannt und die Linse ist kugelförmig.

In vorderem Sklera-Bereich befindet sich ein Kanalsystem, der s.g. Schlemmsche Kanal (Abb. 5). Er sorgt für die Innendruckregulation und führt dabei das Augenwasser ab.

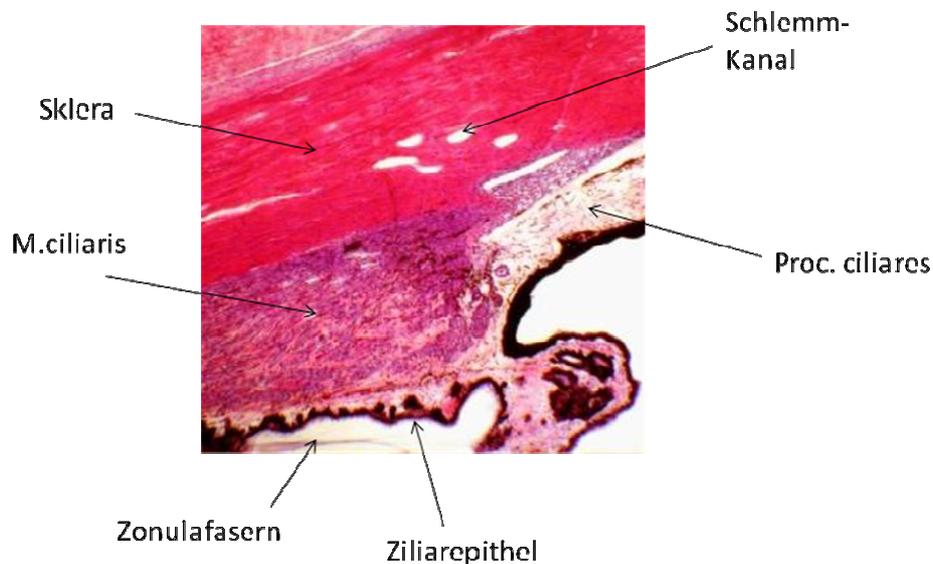


Abb. 5: Histologischer Schnitt durch das vordere Augensegment eines menschlichen Auges. Sichtbar ist der Irisbereich, Zonulafasern, Ziliarepithel, Sklera und Schlemm-Kanal. Vergrößerung 40x.

Abb. 6 zeigt den Übergangsbereich von der Pars optica der Retina (Netzhaut) in die Pars caeca, welche den Ciliarmuskel und die Iris überzieht.

Als dioptrischer Apparat werden die Teile des Auges bezeichnet, die für die Bildentstehung verantwortlich sind. Er besteht aus der Hornhaut, den mit Kammerwasser gefüllten vorderen und hinteren Augenkammern, der Pupillen, der Linse und dem Glaskörper. Durch die Hornhaut und Augenlinse werden die Lichtstrahlen zusammengebündelt und weitergeleitet. Genau von der Pupille gegenüber liegt der gelbe Fleck mit der Fovea centralis, der Bereich des schärfsten Sehens (Abb. 1).



Abb. 6: Histologischer Schnitt durch die Ora serrata. Übergang (Pfeil) der Pars optica retinae in die Pars caeca. Vergrößerung 40x.

## 2. Onchozerkose (Flußblindheit):

Im Afrika sind viele Helminthenarten endemisch. Im zweiten Kursteil haben wir uns mit einem humanpathogenen Vertreter *Onchocerca volvulus* und einer *Onchocerca*-Art der Rinder, *Onchocerca ochengi* beschäftigt. Dieser Parasit aus der Klasse der Nematoda gehört zu den Filarien. Das Verbreitungsgebiet der Flussblindheit ist eng mit dem Vorkommen der Kriebelmücke aus der Familie der Simuliidae (Gattung *Simulium*) verbunden. Grund dafür ist ihr aquatischer Entwicklungszyklus in schnellfließenden Gewässern (Abb. 7). Der Mensch bzw. das afrikanische Zebu-Rind gelten als natürliche Endwirte der beiden Filarien und mehrere Arten von Kriebelmücken dienen als Zwischenwirte. Die Überträger-Spezies für *O. volvulus* ist von der Region abhängig, in West- und Zentralafrika ist dies *Simulium damnosum s.l.* und in Ostafrika *Simulium neavei*. *Onchocerca ochengi* wird ebenfalls durch *Simulium damnosum s.l.* übertragen. Bei diesen tagaktiven Mücken stechen nur die Weibchen. Das Blut brauchen sie zur Reproduktion. Für die Eiablage und für die Entwicklung der Larven der Kriebelmücken werden saubere, schnell fließende Gewässer benötigt, wodurch die Verbreitung sehr stark eingeschränkt wird. Die Onchozerkose, die durch *O. volvulus* ausgelöst wird, stellt die zweithäufigste Ursache für Erblindung in Entwicklungsländern dar. In circa 500.000 Fällen kommt es zu Beeinträchtigung der Augen und in 270.000 Fällen zur Blindheit. Der Mensch ist kein natürlicher Endwirt für *O. ochengi*, darum kommt es zu keiner Entwicklung von dieser Filarienart im Menschen. Das L3-Stadium der Filarie, das sich im Vektor (blutsaugende Simuliiden) aus Mikrofilarien entwickelt, wird beim Blutsaugen auf den

Endwirt weitergegeben, wo es sich im Unterhautbindegewebe zu adulten Filarien entwickelt. Gravide *O. volvulus* Weibchen setzen Mikrofilarien frei, die beim erneuten Blutsaugen durch Simuliiden aufgenommen und nachfolgend wieder bei der 3. Blutmahlzeit als infektiöse dritte Larven auf weiteren Endwirt übertragen werden (Abb. 7).

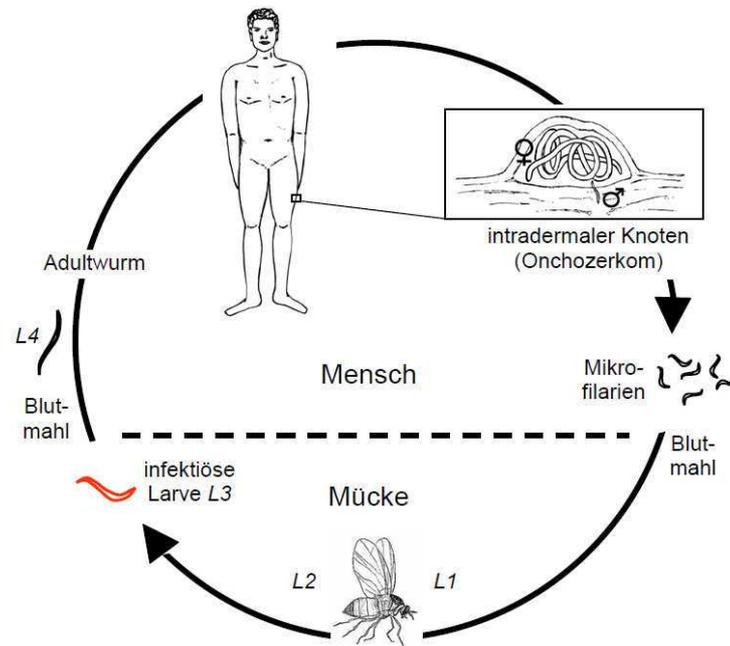


Abb.7: Lebenszyklus von *Onchocerca volvulus*

Männliche und weibliche Adulte, Mikrofilarien und metazyklischen Larven, unterscheiden sich vor allem in ihrer Größe, aber auch im Vorkommen und Lebensdauer. Alle Informationen zu ihren Eigenschaften sind im Tab.1 zusammengefasst.

Stadium	Vorkommen	Lebensdauer	Größe/Durchmesser
Adulte Weibchen	Menschliches subkutanes Bindegewebe und Onchozerkom	5-20 Jahre	bis 70 cm/0,4mm
Adulte Männchen	Menschliches subkutanes Bindegewebe und Onchozerkom	5-20 Jahre	3-12 cm/0,2mm
Mikrofilarien	Haut	1-2 Jahren	300 µm/8 µm
Metazyklische Larve (L3)	Kopf und Thorax von Simuliiden	2- 6 Tage	600-750 µm/18 µm

Tab.1: Vorkommen, Lebensdauer und Größe/Durchmesser der Hauptentwicklungsstadien von *O. volvulus*.

Die weiblichen adulten Filarien liegen geknüllt in subkutanen Bindegewebsknoten, den s.g. Onchozerkomen vor. Sie sind mit dem Hinterende festgewachsen, während das Kopfende, in dessen Nähe sie die Geschlechtsöffnung haben, frei beweglich bleibt. Die Männchen dagegen sind zeitlebens beweglich. Es existieren zwei Hypothesen, die die Beweglichkeit von Männchen bzw. ihren langdauernden Aufenthalt in Onchozerkomen zu erklären versuchen. Erst zur s.g. „Treue der Würmer“. Der männliche Wurm wandert in einen Knoten ein, wo er die Weibchen besamt und nach diesem Akt bleibt er drin, vor allem um seine Spermium zu schützen. So haben die anderen Männchen keine Möglichkeit mehr reinzukommen. Für diese Hypothese spricht eine Beobachtung, wenn man im Knoten junge (hell gefärbten) Weibchen mit hellen Männchen und die alte dunkle Weibchen mit dunklen Männchen beobachtet. Für die Unterstützung von der zweiten Überlegung, dass die Männchen von einem in anderen Knoten wandern, um die weiblichen Würmer zu befruchten, müssen Wanderverhalten und spezielle Geschlechterfindungsmethoden nachweisbar sein. Als solche „Wegbeschreiber“ können Pheromone des sessilen Weibchens fungieren, die dem Männchen den Weg in den Knoten markieren.

Unser nächstes Präparat war ein Knotenquerschnitt mit sichtbaren Embryonalstadien in den Uteri von *O. ochengi* – Weibchen (Abb. 8). Wir konnten weibliche Würmer mit zwei Uteri und einer glatte Kutikula und Männliche mit einem Hoden und einer abgeringelten Kutikula beobachten.



Abb. 8: Knotenquerschnitt mit sichtbaren Embryonalstadien in den Uteri von *O. ochengi*-Weibchen.

Wir haben gesehen, dass man Weibchen mit und ohne embryonale Stadien in den Uteri finden kann. Nur Hälfte dieser weiblichen Würmer sind jeweils reproduktiv aktiv. Ähnlich wie im oberen Fall existieren auch hier zwei Hypothesen, die dieses Phänomen zu erklären vsuchen.

Zum Einen findet möglicherweise eine s.g. Ruhephase statt. Die Weibchen brauchen einige Zeit zu Regeneration. Die Reproduktionsakt (1000 Nachkommen täglich) ist mit sehr großem Energieaufwand verbunden. Zum Anderen müssen natürlich auch die Weibchen befrucht sein, um die Nachkommen produzieren zu können. Wenn kein Männchen im Knoten einwandert, um das Weibchen zu befruchten, kann dieses selbstverständlich auch keine Nachkommen generieren. Es wurde angenommen, dass Weibchen-Männchen Verhältnis in den Knoten einer binomialen Verteilung entspricht, das heißt, in den meisten Knoten liegt nur ein Weibchen mit einem Männchen vor, während in nur seltenen Fällen ein Weibchen mit vielen Männchen zu finden ist. Gegen diese Annahme einer rein statistischen Verteilung wurde allerdings beobachtet, dass man in einem Knoten weniger Weibchen mit zwei Männchen findet als erwartet.

### **Wie viele Mikrofilarien bevölkern einen Wirt?**

Die Reproduktionsbiologie der *Onchocerca*-Weibchen stellt ein typisches Musterbeispiel für „Quantitative Biologie“ dar. Man kann leicht ermitteln mit wie vielen weiblichen Würmern ein Betroffener befallen ist und dadurch lässt sich ziemlich genau die Mikrofilariendichte berechnen. Angenommen ein Euind besitzt 131 sichtbare Knoten, so haben wir es mit 131 weiblichen Würmern zu tun. So wie früher angedeutet wurde, ist nur die Hälfte davon reproduktiv aktiv. In einem Reproduktionsschub kann ein Weibchen bis zu 1000 Mikrofilarien täglich produzieren. So kommt man am Ende zu einer Hochrechnung von 65.000 Mikrofilarien pro alle Weibchen pro Tag. Die weiblichen Würmer leben im Durchschnitt zehn Jahren, in welchen sie etwa fünf bis zehn Millionen Mikrofilarien produzieren können. Man muss aber die Ruhephasen und die befruchtungsfreien Perioden berücksichtigen. In einem hyperendemischen Gebiet wurden  $12 \times 10^6$  Mikrofilarien in der Haut eines Patienten gefunden, die im Schnitt von 24,6 Weibchen produziert wurden.

### **Kurzer Exkurs in der Regulation der *O. volvulus* Population im einen Wirt.**

Die Kriebelmücken sind sehr klein, entsprechend nehmen sie sehr kleine Blutmahlzeiten auf. Die weiblichen Würmer müssen darum so viele Mikrofilarien wie möglich produzieren um sicher zu stellen, dass sie durch die Vektoren in größerer Zahl aufgenommen werden. Auf der anderen Seite soll es zur keinen Wirtsüberlastung mit der Mikrofilarien kommen. Es ist für die Würmer von erstrangiger Bedeutung dieses goldene Mittel zu finden. In einem Rind sammeln sich die Mikrofilarien sehr gern im Bereich von unterem Bauchnabel – einer Fläche von  $1\text{m}^2$ . Dort haben sie die beste Möglichkeit durch den Zwischenwirt aufgenommen zu

werden. Die Mücken nehmen bis zu 100 Mikrofilarien pro Mahlzeit auf - dies entspricht der Mikrofilariendichte in einem  $1\text{mm}^2$ . Pro  $1\text{ m}^2$  kann man bis zu 10.000.000 Mikrofilarien erwarten.

Jetzt stellt sich die Frage, wie schaffen die Würmer diese Populationsdichteregulierung in ihrem Wirt? Das Grundprinzip dieses Regulationsprozesses ist die epidemiologische Stabilität. Das bedeutet, dass die Parasitenanzahl in einem Wirt gleich bleiben soll. Angenommen kriegt ein Mensch in einem Jahr 200 Mückenstiche. Für die Zykluserhaltung entwickeln sich 200 Mikrofilarien, von welchen sich weitere 20 L3 entwickeln und anschließend nur zwei zu adulten Filarien (es ist unabhängig von Anflugdichte). Zu den ersten Regulationen kommt schon in den Zwischenwirt – hier findet der erste Mikrofilarienabbau statt, die im Überschuss aufgenommen waren. Was passiert mit diesen überzähligen infektiösen Larven, die sich im Vektor entwickeln haben? Eine Überlegung wäre eine s.g. Selbstlimitierung durch die Larven (Adultwürmer selbst). Die größte Zahl wird durch das Immunsystem des Wirtes rechtzeitig beseitigt, vor allen dann, wenn der Patient schon früher mit diesen Filarien zu tun hatte. Hier spielt, neben verschiedenen Proteinen, die freigesetzt werden, vor allen ein Häutungsenzym eine sehr wichtige Rolle, das produziert wird, wenn sich die L3 zu L4 entwickelt.

Es wurde beobachtet, dass im Savannen Gebiet, wo keine Rinder gehalten werden, die Prävalenz mit 90% sehr hoch ist und die Leute unter sehr hohen Mikrofilarienlasten leiden, dadurch entstehen auch sehr schwere Augenläsionen. Dagegen gibt es im Regenwald Gebiete, wo die Prävalenz noch höher ist und bei über 95% liegt, ohne daß es zu starken Schäden des Auges (Kornea) kommt. Dies deutet auf einen weniger pathogenen Regenwaldstamm hin. Ein besonderer Fall ist das Rinderzuchtgebiet des Adamawa-Hochlandes in Nordkamerun: Obwohl die Onchozerkose dort endemisch ist, liegt die Prävalenz unter 20%. Fast niemand leidet an Augenläsionen. In diesem Gebiet gibt es fünfmal mehr Rinder als Menschen, die fast alle infiziert sind – so ergibt sich ein Verhältnis 1:25. Aus einer Seite fliegen die Mücken dann nicht so oft auf den Menschen zu. Zudem wird dort *O. ochengi* auch auf den Menschen übertragen. Sie entwickelt sich hier nicht, führt aber durch diese Kreuzübertragung im Menschen zur Präimmunesierung. So bekommen die Menschen auch Schutz vor chronischer und schwerer Onchozerkose.

Das für die Onchozerkose typische Krankheitsbild wird vor allem durch Mikrofilarien verursacht. Zu den Manifestationen zählen Sehstörungen, welche durch Augenläsionen verursacht werden, die Bildung von Onchozerkomen (subkutane Knoten) und

Hautveränderungen (Leopardenhaut, Echsenhaut). Die Augenpathologie wird durch das Einwandern von Mikrofilarien in die Augen verursacht. Mikrofilarien halten sich vor allem in der Kornea, im unteren Kammerwinkel, in der Cornea (Abb. 8) und im Augennerv auf. Ihr dortiges Absterben löst entzündliche Reaktionen aus. Besonders gefährlich sieht es im Stroma der Hornhaut aus, sie reagiert mit sofortiger Trübung. Die entstehenden Kollateralschäden können bis hin zur Erblindung der infizierten Person führen.

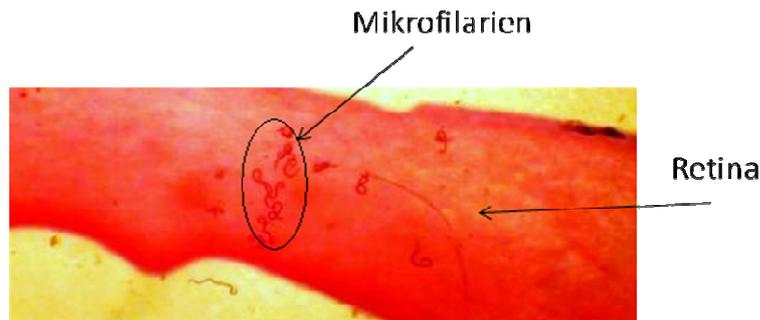


Abb.9: Histologischer Schnitt durch Cornea, darüber ein Präparat mit Mikrofilarien. Im Kreis befinden sich die Mikrofilarien.

Um die Mikrofilarien bei einem Patienten nachzuweisen, nimmt man mit Hilfe einer speziellen Zange eine kleine Hautbiopsie, den s.g. skin snip. Nach Inkubation in physiologische Kochsalzlösung wandern die Mikrofilarien aus und man kann sie auf einen Objektträger plazieren und unter dem Mikroskop beobachten. Die Manifestationen einer Infektion mit *O. volvulus* führen nicht zum Tod, aber diese hat weitreichende sozio-ökonomische Auswirkungen für die Betroffenen und deren Familien. Die Entdeckung von Ivermectin (Mectizan), welches zur Chemotherapie der Onchozerkose auch bei Massenbehandlung eingesetzt wird, war ein Meilenstein für die Kontrolle der Onchozerkose. Man kann aber nie vergessen, daß, wenn man die Mikrofilarien bekämpft, kämpft man gleichzeitig gegen deren Selbstregulationsprozesse. In Westafrika wurde aufgrund der Häufigkeit, Schwere sowie dem Erblindungsrisiko bei Onchozerkose-Patienten ein Programm zur Bekämpfung der Onchozerkose gestartet: Das Onchozerkose Controlle Programm (OCP).

## Literatur:

- **Hoch B, Wahl G., Enyong P., Lüder CGK., Harriett W., Schulz-Key H., Renz A. (1993)** Onchozerkose in Mensch und Rind: Serologische Erkennung von artspezifischen und kreuzreaktiven Antigenen. Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 15: 51 – 60.
- **Schulz-Key H., Soboslay P.T** (1995) Regulation der Populationsdichte von *Onchocerca volvulus*. Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol.17:123-128.
- **Wenk P., Renz A.** (2003) Parasitologie. Biologie der Humanparasiten. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- **Wirtz, H.P.** (1978) Epidemiologie einer Parasitose: Simuliiden und Onchozerkose. Biologie in unserer Zeit. 1, 1-7.
- **World Health Organization.** Geneva: World Health Organization; (1995). Onchocerciasis and its control. Report of a WHO expert committee on onchocerciasis control. WHO Technical Report Series, number 852.