

Obecná parazitologie
přednáška 6

Biochemie parazitů

Biochemie parazitů

- ▶ Parazitický způsob života vyžaduje **adaptace**
- ▶ Paraziti stále vyžadují přívod energie pro biosyntézu makromolekul, růst, mechanickou aktivitu, reprodukci...
- ▶ **Základní potravní požadavky** – hostitel - abundantní, **bez limitů**
- ▶ **Limitovaný rozsah biosyntetických drah** – evoluce záchranných drah – nejsou purinové (A, G) biosyntetické dráhy
- ▶ **Specifické niky** = diverzita adaptací
aerobní vs. anaerobní prostředí – **tranzice mezi prostředími**
- ▶ Volně žijící formy – živiny jsou limitovány
- ▶ Široké spektrum biochemických reakcí

Parazitickí helminti v kontextu biochemie

Životní strategie = adaptace helmintů

Uvnitř hostitelského těla helminti můžou měnit lokalizaci

Nejčastější lokalizace uvnitř obratlovce: trávicí trakt, oběhový systém, dýchací systém, orgány/tkáně

Nematoda

Ascaris lumbricoides
- tenké střevo



Trematoda

Schistosoma mansoni
- mezenterické cévy



Cestoda

Echinococcus granulosus
- plíce



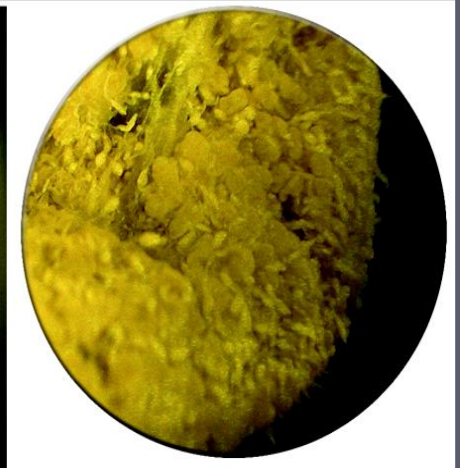
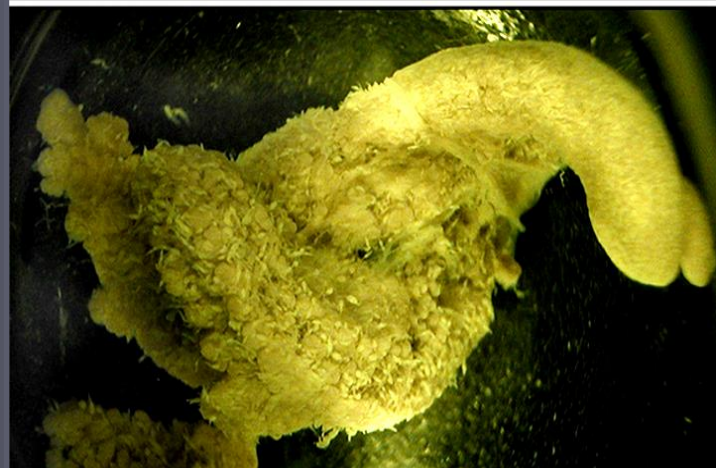
Nutnost vyvinout enormní adaptační metabolismus

Parazitickí helminti v kontextu biochemie

Uvnitř těla bezobratlých nejčastější lokalizace
Trávicí systém, haemocel, přídatní orgány, tkáně

Acanthocephala
cystacants
Pomphorhynchus laevis
v *Gammarus*

Trematoda
cercariae *Trichobilharzia szidati* v
hepatopancreasu *Lymnaea stagnalis*



Nutnost vyvinout enormní adaptační metabolismus

Parazitickí helminti v kontextu biochemie

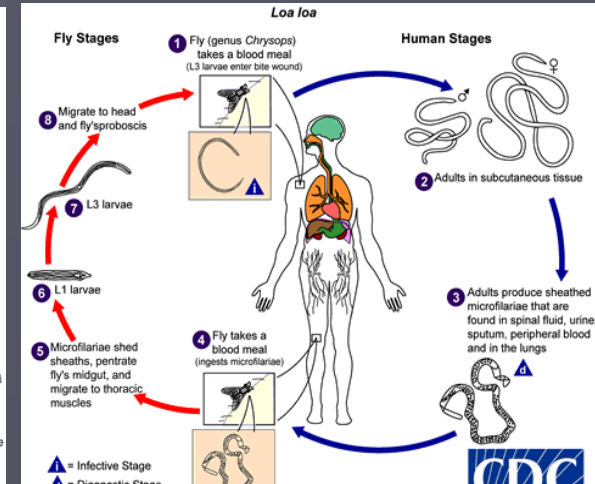
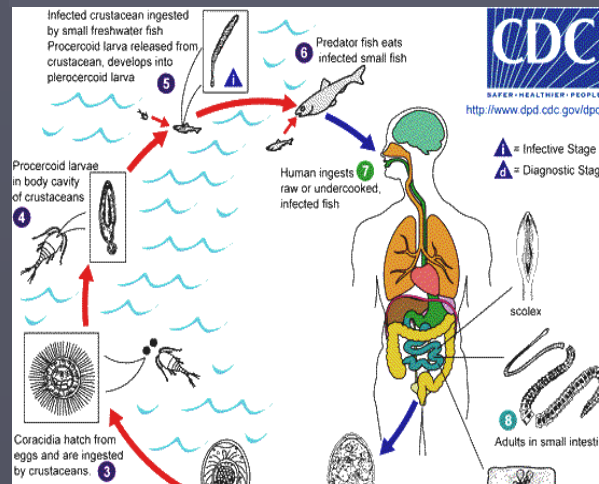
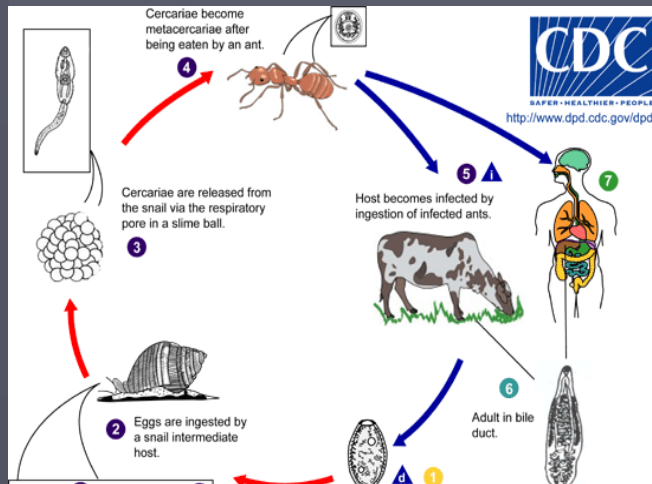
V průběhu životního cyklu parazitické helminti mění několik typu prostředí

Vnější prostředí (vodní) vs. vnitřní prostředí (hostitel – bezobratlí/obratlovec – poikiloternní, homoioternní)
Limitované živiny pro volně žijící stádia

Trematoda
Dicrocoelium dendriticum

Cestoda
Diphyllobothrium latum

Nematoda
Loa loa



Nutnost vyvinout enormní adaptační metabolismus

Úvod do biochemie parazitických helmintů

Rozdíly v základních životních procesech a metabolismu mezi volně žijícími a parazitickými stádií helmintů

Proces	Volně žijící stádia	Parazitická stádia
Výživa	-	+
Reprodukce	-	+
Biosyntetické schopnosti	-	+/-
Pohyb	++	+/-
Energetický metabolismus	aerobní	anaerobní
Substrát	glykogén	glukóza
Katabolické cesty	glykolýza, Krebsův cyklus	glykolýza, vznik malátu
Hlavní koncové produkty	CO ₂	sukcinát, propionát, acetát, laktát
Elektronový transfer		
Proteínové komponenty	Komplexy I, II, III a IV	Komplex I a fumarát reduktáza
Elektronové nosiče	Ubiquinon, cytochromoxidaza c	Rhodoquinon
Finální elektronový přijímač	Kyslík	Fumarát
ATP produkce	Hlavně oxidativní fosforylace	Fosforylace na úrovni substrátu a oxidativní fosforylace

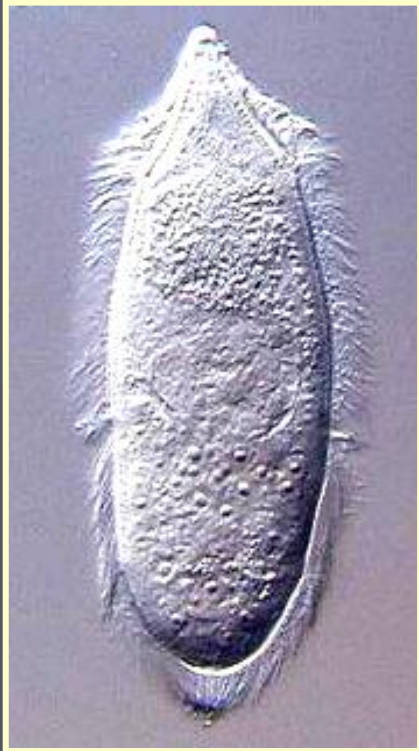
Úvod do biochemie parazitických helmintů

- ▶ Prostředí adultních helmintů
 - obecně prostředí s málo O_2
- ▶ Variabilita ve fermentativním metabolismu u různých stádií
 - v přítomnosti nebo nepřítomnosti O_2
 - rozdílné koncové produkty
- ▶ Spektrum metabolických zvláštností (u parazitů obecně)
 - anaerobní mitochondrie, hydrogenozomy, mitozomy
- ▶ Anaerobní nebo mikroaerofilní organizmy
 - nepotřebují O_2 pro přežívání a množení
 - O_2 není terminální elektronový receptor
 - tolerují nízkou koncentraci O_2
 - růst je inhibován při vysoké koncentraci O_2

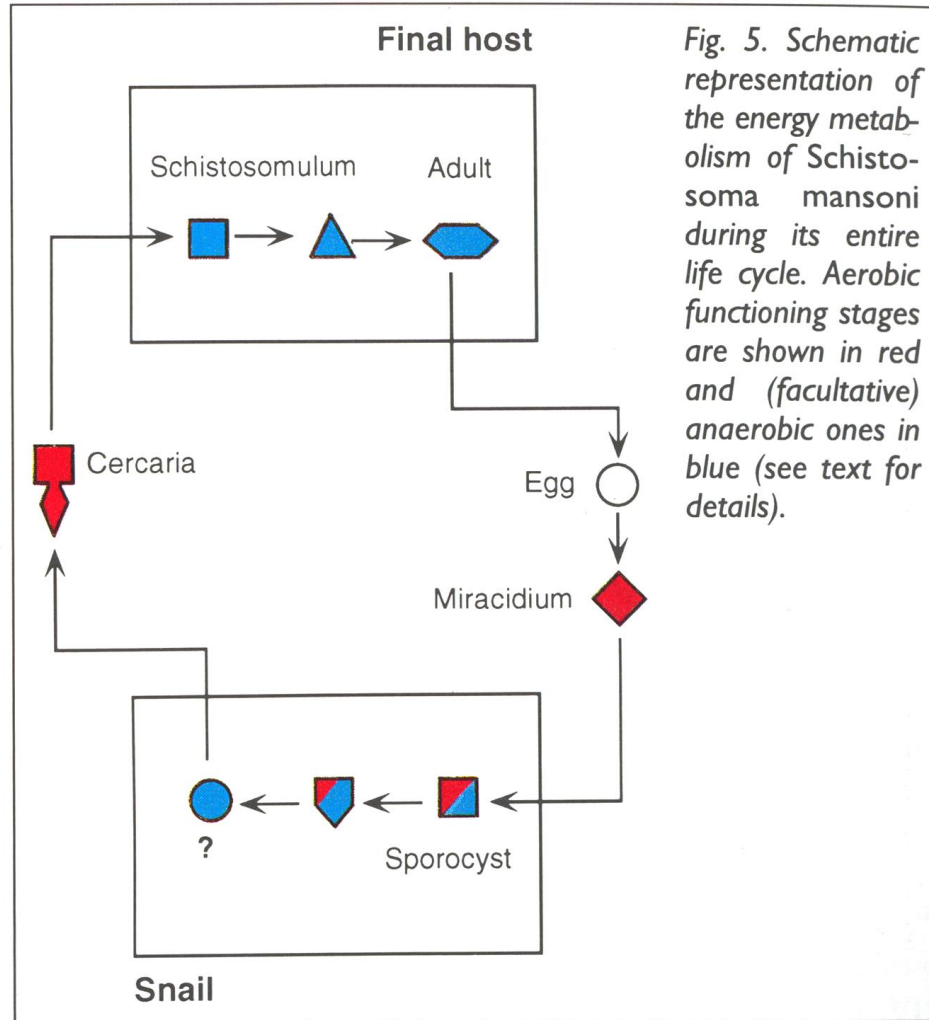
Ontogenetické změny v metabolismu: Trematoda

SCHISTOSOMA MANSONI

MIRACIDIUM
aerobic



ADULT
anaerobic

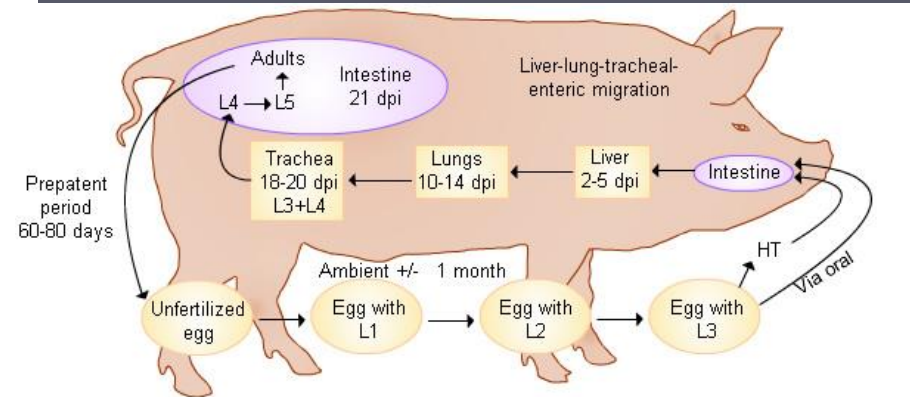


Ontogenetické změny v metabolismmu: Nematoda

Metabolické tranzice během vývoje *Ascaris suum*

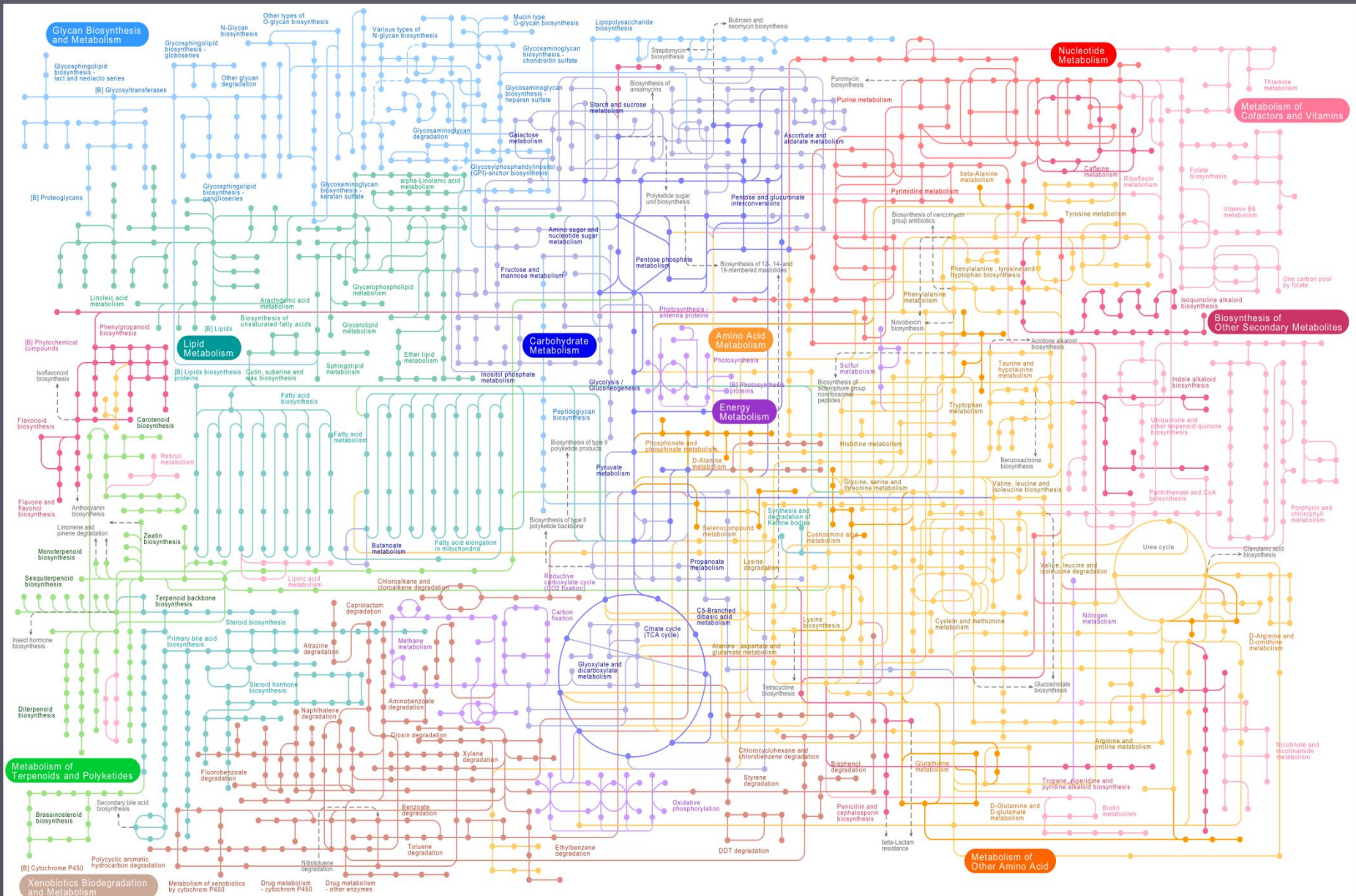
Stádium Prostředí Míra metabolismmu Teplota

Stádium	Prostředí	Míra metabolismmu	Teplota
UE	'Egg', microaerobic → aerobic	Low	Ambient
L1	'Egg', aerobic	High	Ambient
L2/L3	'Egg', aerobic	Quiescent, low	Ambient
L3 (hatched)	Gut, microaerobic	High	38–40°C
L3	Liver → lung, aerobic	? (In culture, low)	38–40°C
L4	Gut, microaerobic	High	38–40°C
Adult	Gut, microaerobic → anaerobic	High	38–40°C



Životní cyklus nematoda *Ascaris suum*

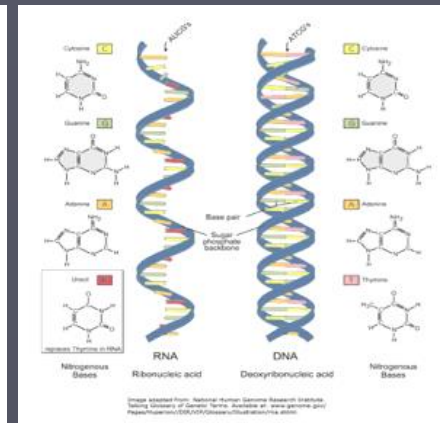
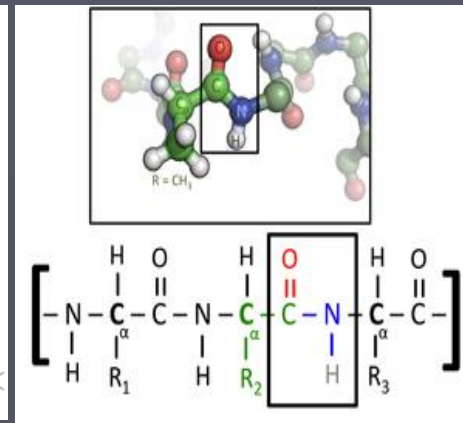
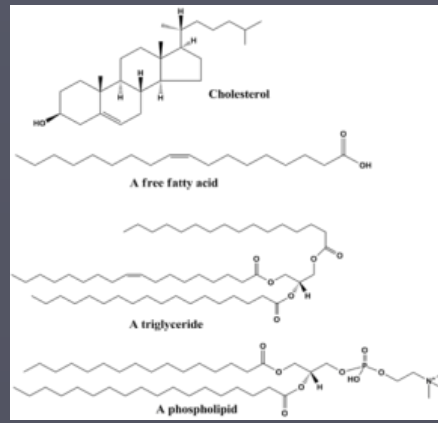
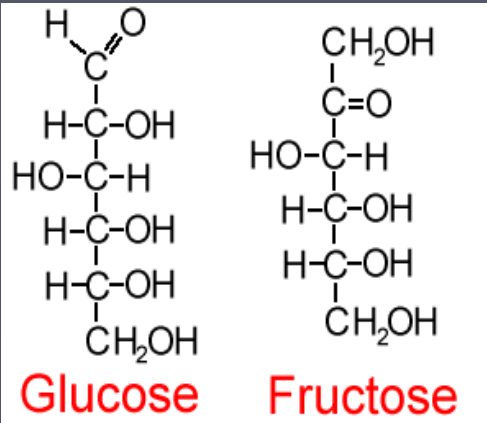
Přehled metabolických dráh



Úvod do biochemie

► 4 skupiny molekul

- sacharidy
- lipidy
- proteiny
- nukleové kyseliny

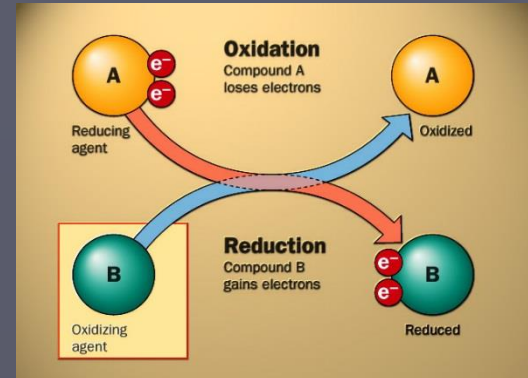


Úvod do biochemie

► Hlavní typy biochemických reakcí

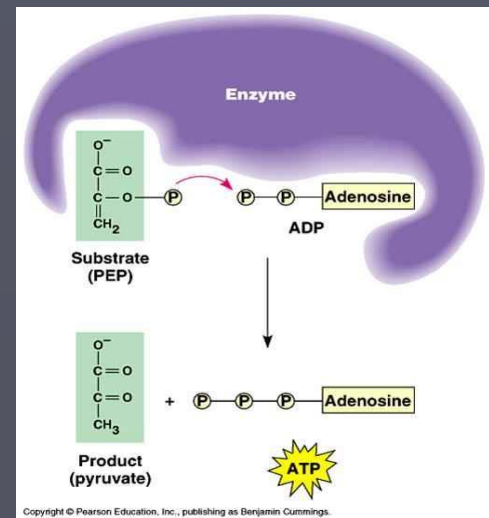
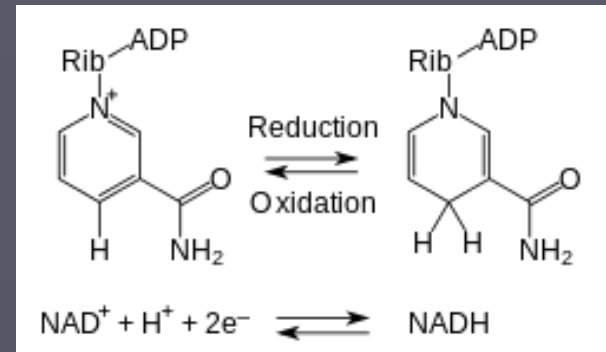
1. Oxidace a redukce

Př. oxidace alkoholů na aldehydy nebo ketony s redukcí NAD^+ na NADH



2. Pohyb funkčních skupin mezi a uvnitř molekul

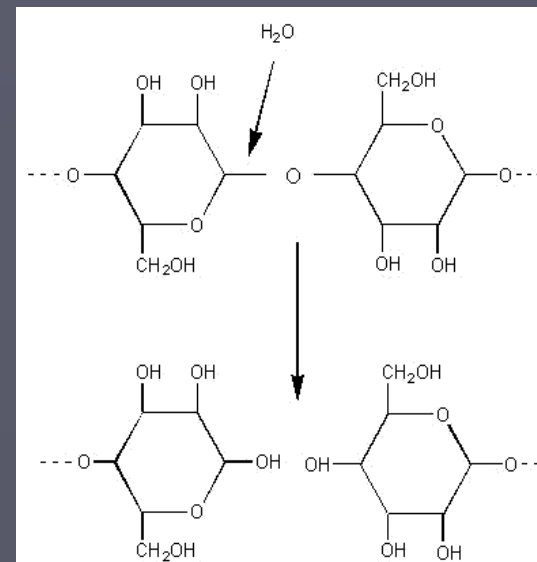
Př. Transfer fosfátových skupin mezi molekulami



Úvod do biochemie

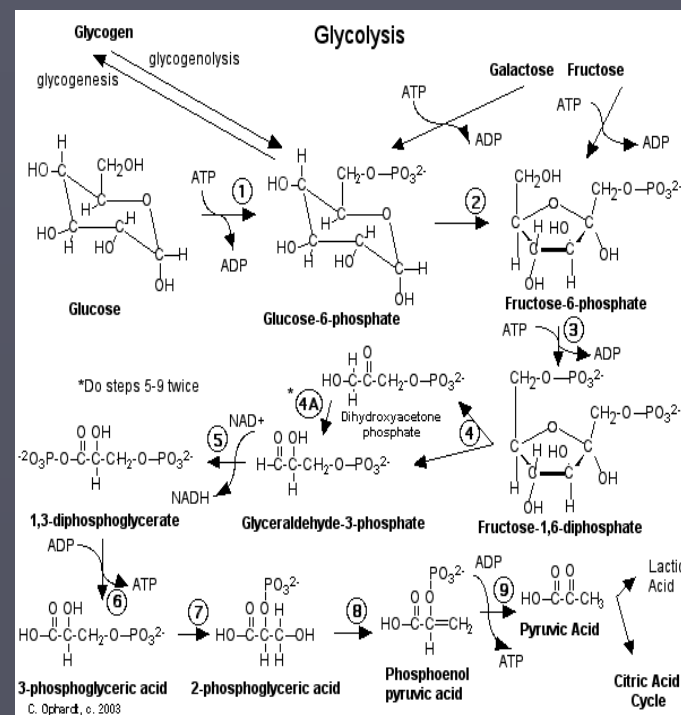
3. Přidání nebo odebrání H₂O

Př. Hydrolýza – přidání molekuly vody k substanci způsobí její rozdělení na dvě části



4. Reakce spojené se štěpením vazeb

Uhlíkové vazby, uhlík-dusík vazba,
Př. glykolýza, proteolýza



Úvod do biochemie

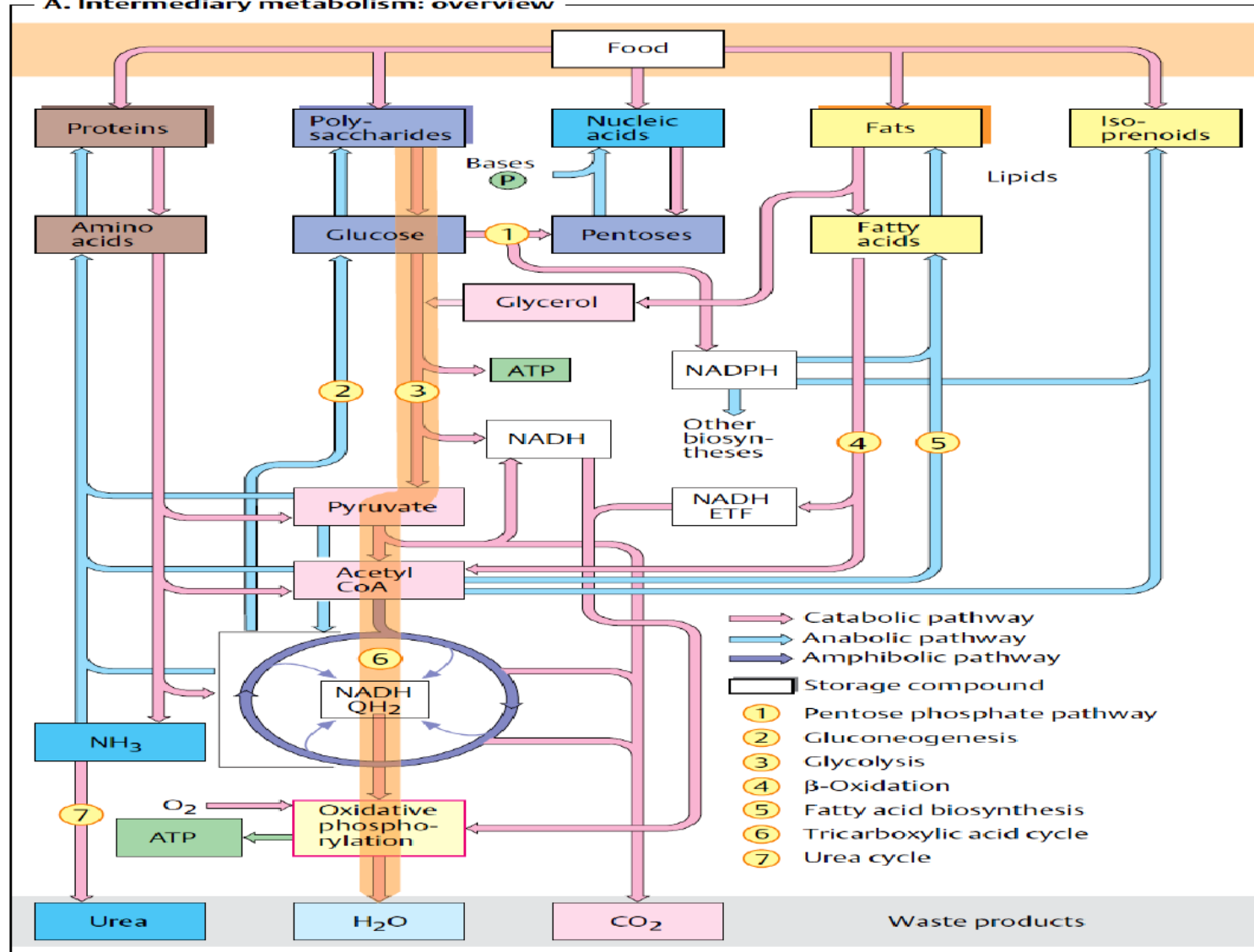
- ▶ **Katabolizmus** (degradace)
- ▶ Soubor metabolických drah, u kterých dochází ke štěpení molekuly na menší jednotky a uvolňování energie

- ▶ **Anabolizmus** (syntéza)
- ▶ Soubor metabolických drah, u kterých dochází ke tvorbě molekul z menších jednotek a spotřebování energie

- ▶ **Amfibolické dráhy**
- ▶ Zahrnují katabolizmus i anabolizmus př. Citrátový (Krebsův) cyklus – 1. fáze anabolická (oxaloacetát \rightarrow citrát, $\text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADH}$), 2. fáze katabolická (sukcinát, $\text{NADPH} \rightarrow \text{NADP}^+$)

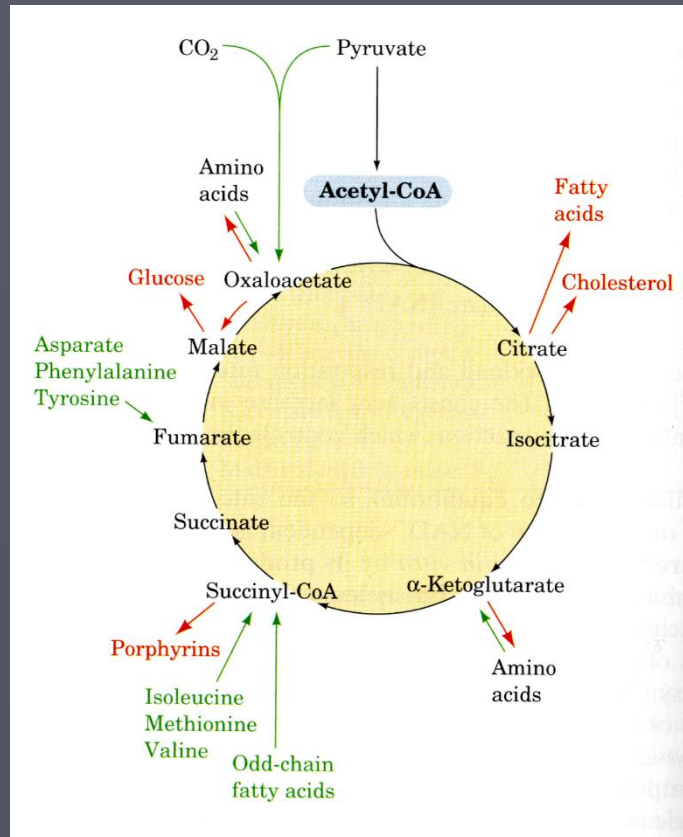
Úvod do biochemie

A. Intermediary metabolism: overview



Úvod do biochemie

- ▶ Amfibolické cesty Krebsova cyklu
- ▶ Anaplerotické cesty – vytvářejí meziprodukty KC



Biochemie parazitů: obecné informace

- ▶ Metabolismus parazitů determinován životním cyklem
- ▶ Parazit schopen metabolizovat živiny z hostitele + vlastní endogenní rezervy -> energie pro biochemické procesy a úspěšnou reprodukci
 - vlastní biochemické procesy pro udržování vůči nepříznivému prostředí hostitele
- ▶ Nemají specializované oběhové systémy a dýchací orgány -> přijímají živiny a O_2 difusí (tegument, mitochondrie)

Biochemie parazitů: obecné informace

► Tegument

- vysoce metabolicky aktivní syncytium
- vysoký počet důležitých enzymů: glutathione S-transferáza, ATP difosforyláza, alkaline a acid fosfatázy, β -glukorunidáza, aminopeptidáza, acetylcholine esteráza, fosfofruktokináza, glukozové transportéry, serinová hydroláza a několik glykolytických enzymů
- každý enzym - součást multi-enzymatických metabolických systémů je ovlivněn aktivitou dalších enzymů v drahách a signalizačními systémy mimo drah

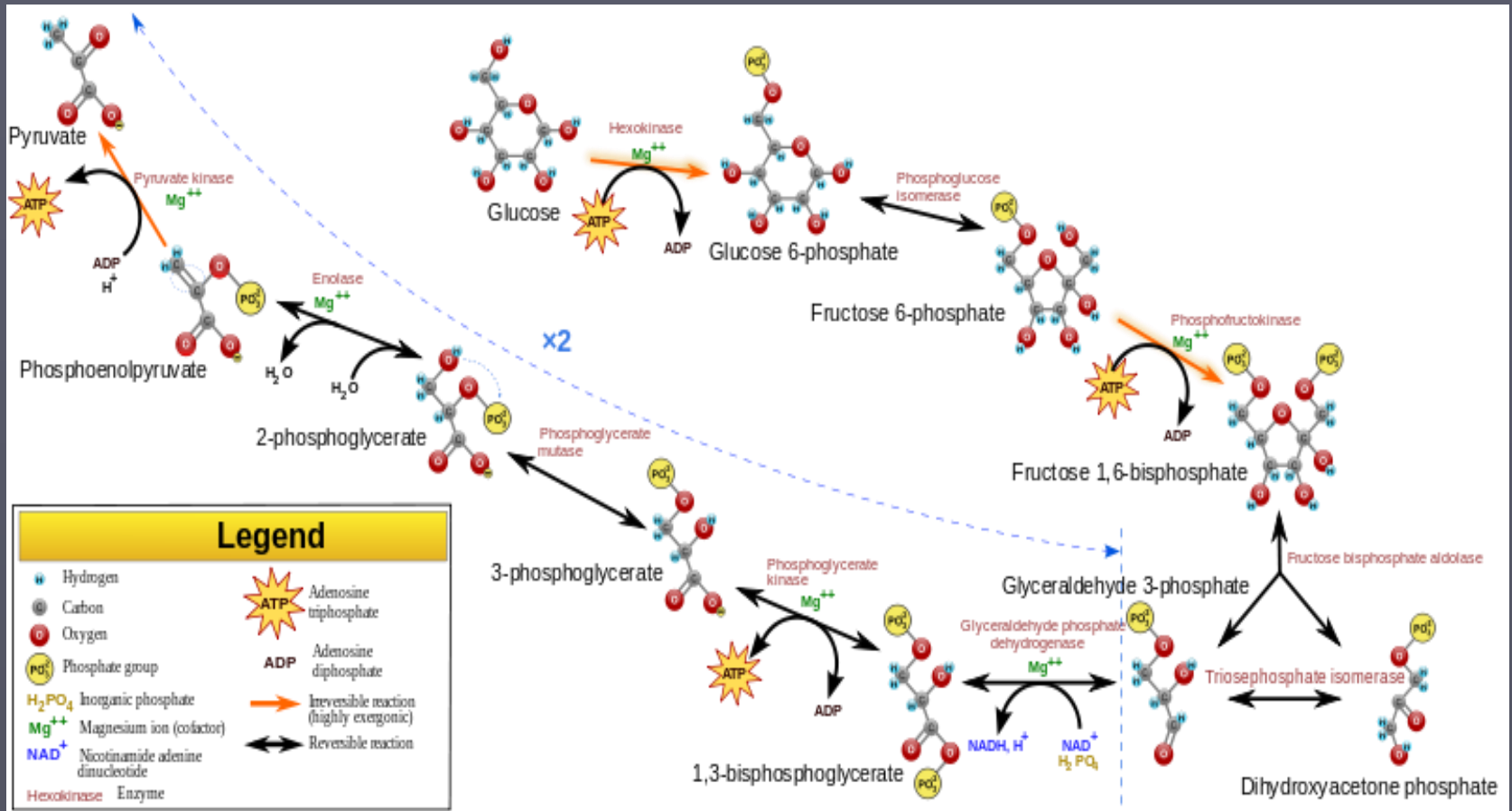
Katabolické dráhy u parazitických helmintů

- ▶ Set metabolických drah, které štěpí molekuly do menších jednotek spojeno s uvolňováním energie
- ▶ Produkce organických kyselin u helmintů
- ▶ Hlavní metabolické dráhy helmintů
- ▶ Úplná závislost adultů helmintů na sacharidech – glykogen a glukóza, zdroj energie (trehalóza, lipidy)
 - metabolismus adultů primárně anaerobní i v přítomnosti O_2
 - fakultativní anaerobové – metabolizují glukózu na neúplně oxidované metabolity – organické látky
 - není oxidace mastných kyselin, není významný katabolizmus aminokyselin

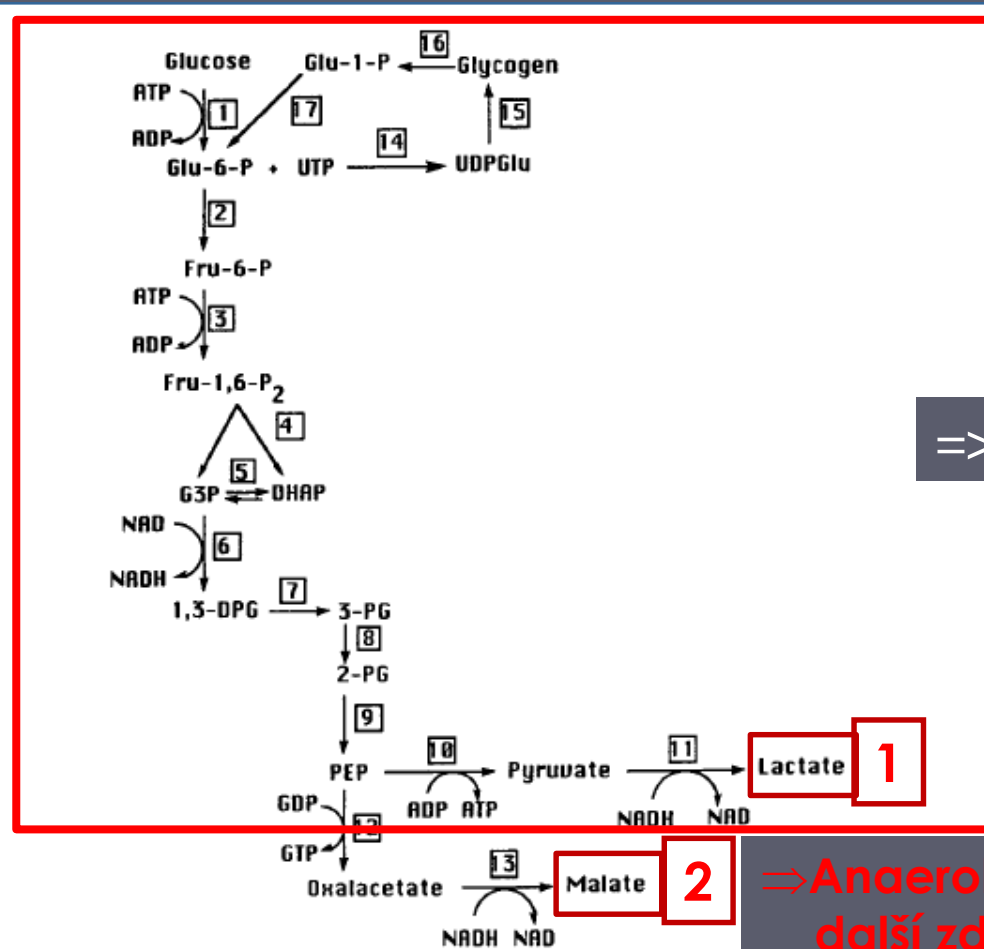
Katabolické cesty - glykolýza

- ▶ Anaerogná glykolýza
- ▶ Koncové produkty glykolýzy:
 - ▶ 1) U schistozom a filárii
laktát (forma (anion) kyseliny mléčné) je vylučován
 - ▶ 2) U dalších helmintů (*Ascaris suum* a *Fasciola hepatica*) – žijí v mikroaerobných habitatech
malát (anion kyseliny jablečné)
nevylučován, transportován přímo do mitochondrií

Podobnost klasické glykolýze s volně žijícími organizmy



Glykogenolýza a glykolýza u helmintů



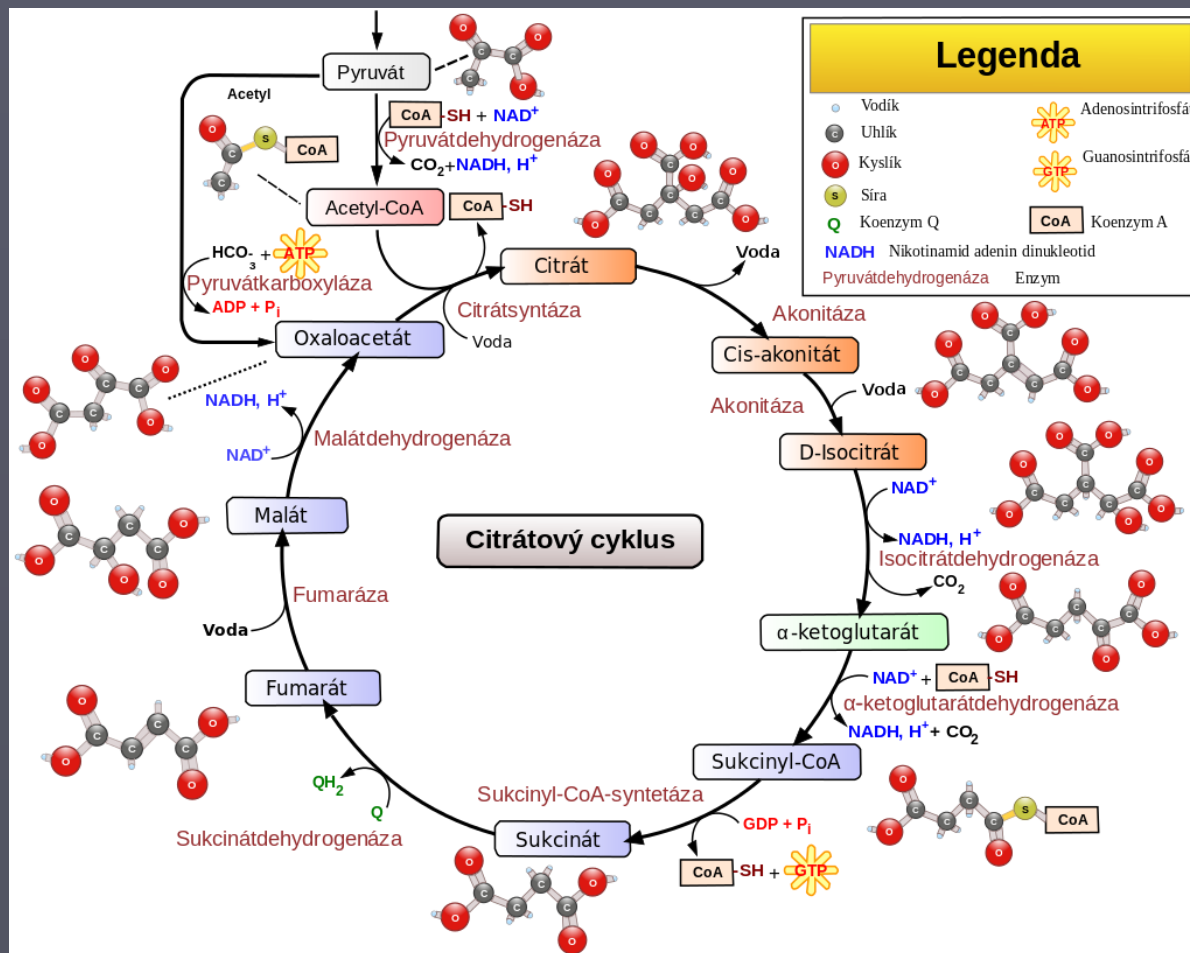
=> Zdroj energie

=> Anaerobní mitochondrie
další zdroj energie

FIG. 4.1 Glycogenolysis and glycolysis in parasitic helminths. (1) hexokinase; (2) glucosephosphate isomerase; (3) phosphofruktokinase; (4) aldolase; (5) triosephosphate isomerase; (6) glyceraldehyde-3-P dehydrogenase; (7) phosphoglycerate kinase; (8) phosphoglyceromutase; (9) enolase; (10) pyruvate kinase; (11) lactate dehydrogenase; (12) phosphoenolpyruvate carboxykinase; (13) malate dehydrogenase; (14) UDP-glucosyl transferase; (15) glycogen synthase; (16) glycogen phosphorylase; (17) phosphoglucomutase.

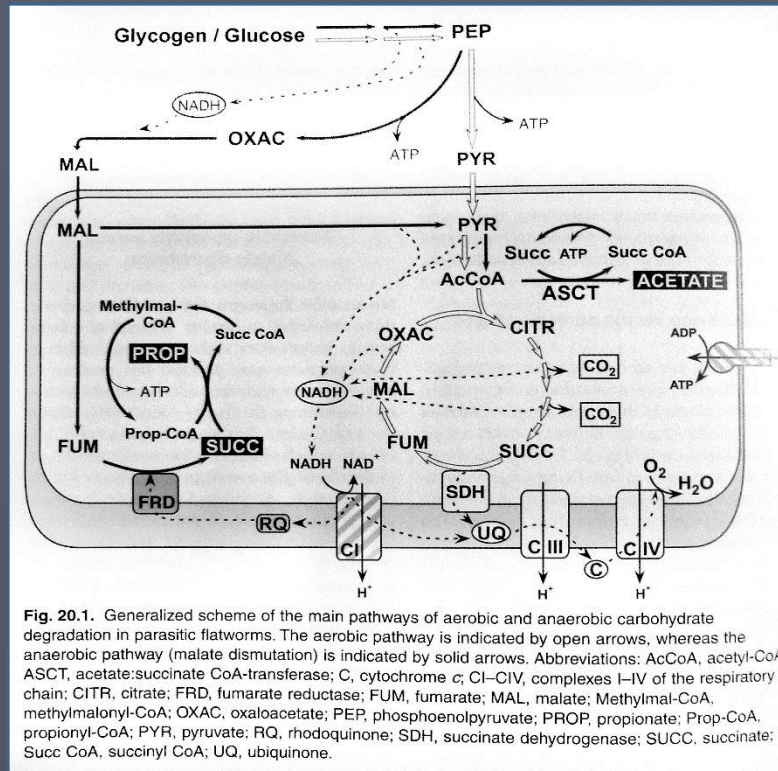
Krebsův cyklus

řada reakcí, které tvoří společnou metabolickou dráhu při aerobní oxidaci sacharidů, lipidů a proteinů
klíčovou roli v dalších metabolických dějích



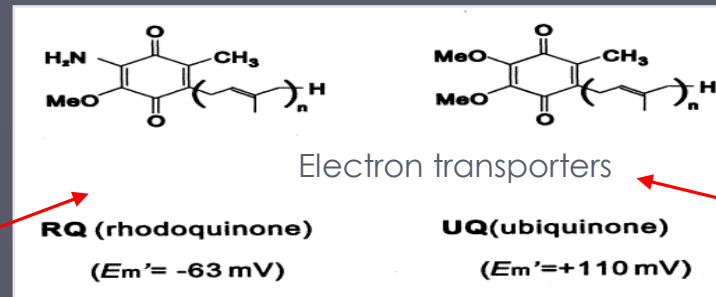
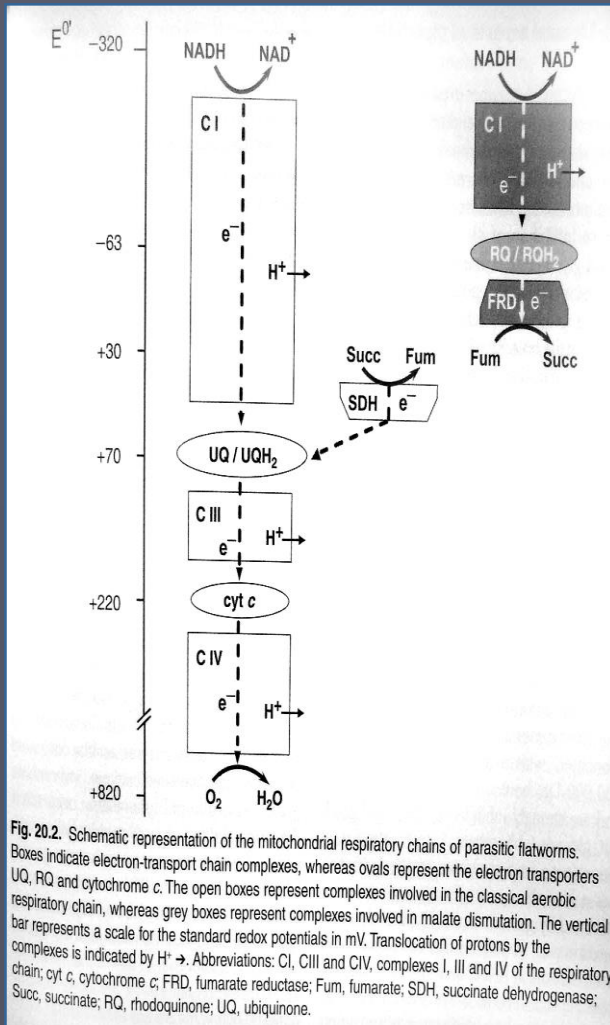
Metabolické dráhy parazitických helmintů

► Pozměněný Krebsův cyklus (metabolismus malátu)



Degradace sacharidů => PEP karboxylace => oxaloacetat => redukce na **malát** => transportován do mitochondrii a degradován oxidativními procesy. Malát => oxidace na pyruvát => oxidace na acetyl-CoA
Vznik ATP při recyklaci sukcinyl-CoA na **sukcinát**. Formování NADH.

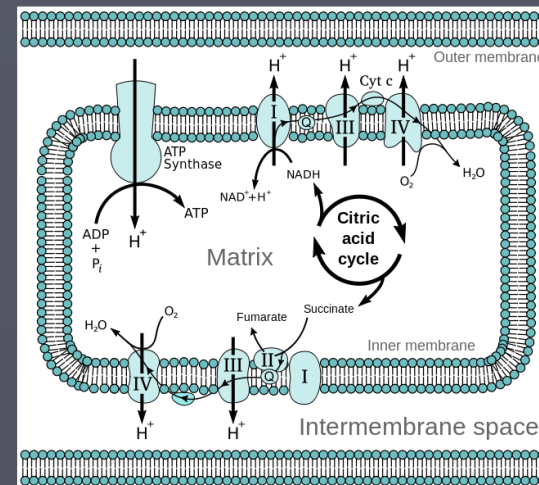
Dýchací řetězec – elektronový transport v mitochondriích parazitů



Parazitické stádium

Volně žijící stádium

NADH-fumarát reduktázový systém (NADH-FRD) – anaerobní elektronový transport v mitochondriích
finální produkt dráhy = fumarát

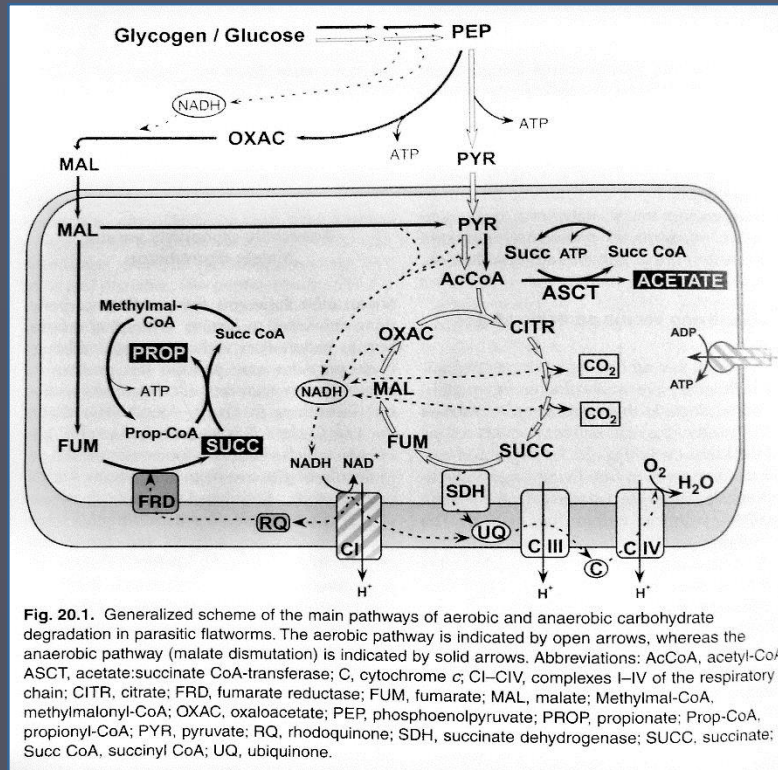


Biochemie parazitických helmintů

- ▶ **Hodně parazitických forem adaptovalo svůj metabolismus** (především v anaerobním prostředí – př. střevní paraziti)
- ▶ Paraziti v aerobním prostředí často taky anaerobní metabolismus
- ▶ **Obligátně aerobné parazity nemají úplné aerobní vlastnosti**
- ▶ Larvální stádia mají schopnost přežít v anaerobních podmínkách, ale potřebují kyslík k pohybu
- ▶ **Odlišný metabolismus parazitických helmintů a jejich hostitelů**

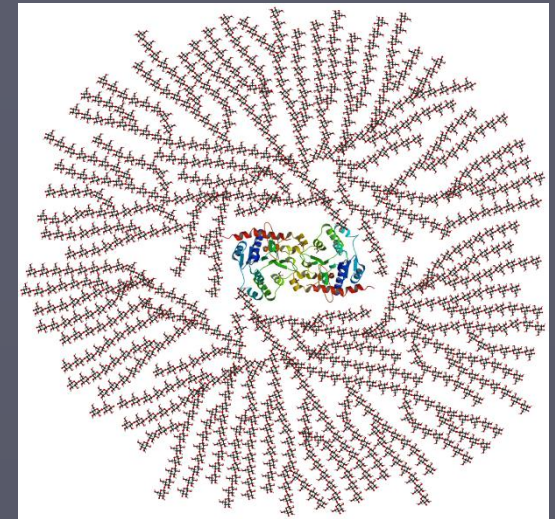
Biochemie parazitických helmintů

- ▶ Malát je hlavní mitochondriální substrát
- ▶ Paraziti nevyužívají kyslík, který je v hostitelích k dispozici, ale jiné systémy než je oxidativní fosforylace pro syntézu ATP



Glykogén jako zásobní zdroj

- ▶ Zásobní polysacharid, polymer tvořený glukózami, energetická rezerva = mobilizován v případě potřeby glukózy
- ▶ Energetický metabolismus dospělců založen na glykogenu
- ▶ Hlavně u adultních endohelmintů (na rozdíl od volně žijících a parazitických larev) – vysoký obsah sacharidů
- ▶ 15% sušiny u trematod, 27% u cestod, 18% endokomenzální ploštěnci, 10% u volně žijících ploštěnců
- ▶ Nematoda (filarie) 2%, *Ascaris* 50%
- ▶ Cestoda, Trematoda – v parenchymu, Nematoda – ve svalové tkáni



Trehalóza - zdroj energie parazitů

- ▶ Přírozený disacharid formovaný dvěma glukózovými jednotkami
- ▶ Důležitá pro příjem glukózy (rychle hydrolyzovaná na glukózu enzymem trehaláza)
- ▶ Energetická rezerva u některých nematod a jejich vajíček
- ▶ Syntetizovaná v období embryonálních procesů
- ▶ Ochrana v období stresu v některých biologických systémech – chrání lipidy a proteiny vůči poškození v důsledku environmentálního stresu (vysušení nebo zmrznutí)

Anabolycké dráhy

- ▶ Soubor metabolických drah, které konstruují molekuly z menších jednotek, přičemž dochází ke spotřebě energie
- ▶ Parazitičtí helminti získávají jednoduché substrátové komponenty a tvoří z nich složité molekuly (DNA, proteiny)
- ▶ Dráhy podobné obratlovčím hostitelům, ale odlišné vlastnosti zúčastněných enzymů
- ▶ Glukóza není syntetizována *de novo* – **neprobíhá glukoneogeneze**

Biosyntéza proteinů

- ▶ většina aminokyselin je derivována z hostitelů
- ▶ syntéza vlastních proteinů z uhlíkových prekurzorů
- ▶ uhlíková kostra aminokyselin v glykolýze a Krebsově cyklu
- ▶ aminokyseliny syntetizovány na koncích krátkých metabolických drah z prekurzorů (alanin z pyruvátu, glutamát z ketoglutarátu, aspartát z oxalacetátu, serin a glycin z fosfoglycerátu), nebo z jiných důležitých aminokyselin (cystein z methioninu, tyrosin z fenylalaninu)

Biosyntéza proteinů

- ▶ u některých parazitů rozsáhlá produkce aminokyseliny prolinu (*Fasciola hepatica*, *Schistosoma mansoni*)
- ▶ Glutamát (prekursor) -> Prolin (součást kolagenu) - *F. hepatica* a *S. mansoni*
- ▶ Arginin z hostitele (prekursor) -> Prolin
- ▶ Rozsáhlá produkce prolinu => infektivita a patogeneze

Biosyntéza proteinů

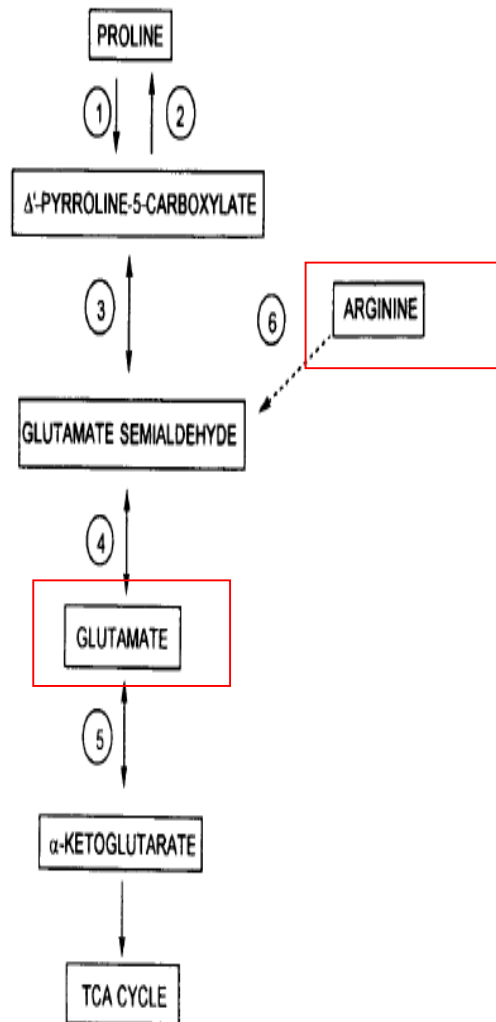


FIG. 5.1 Proline metabolism. 1, Proline oxidase; 2, Δ -pyrroline-5-carboxylate reductase; 3, spontaneous reaction; 4, Δ -pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase; 5, glutamate dehydrogenase; 6, see Fig. 5.2.

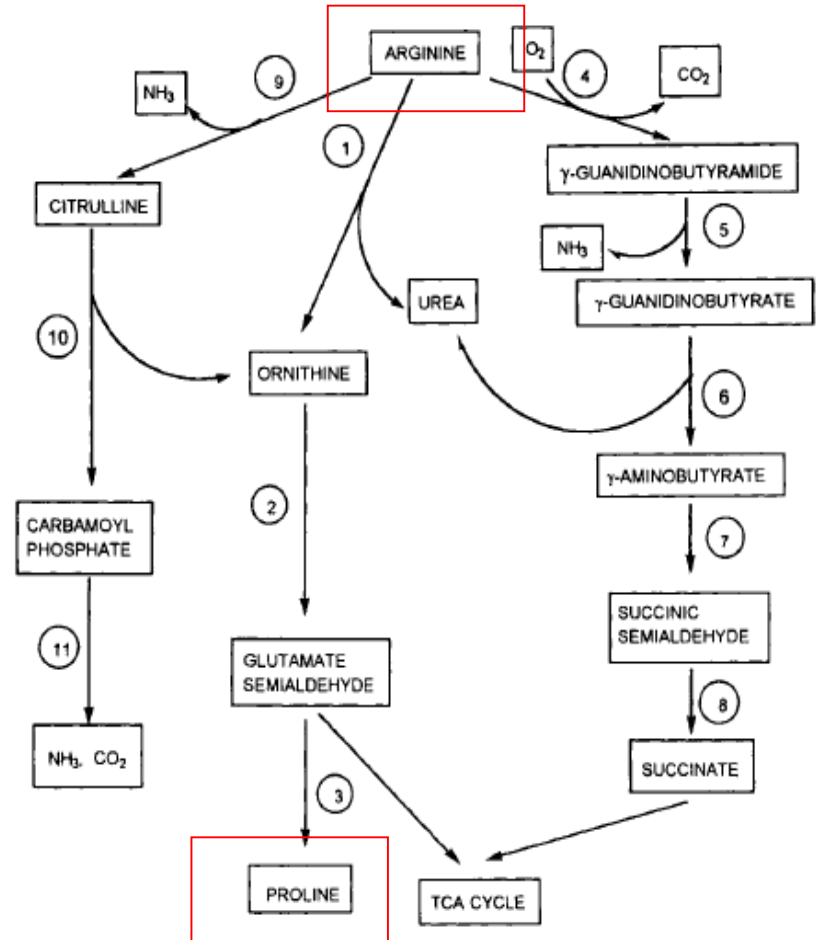
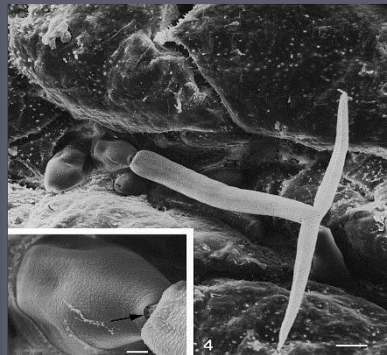


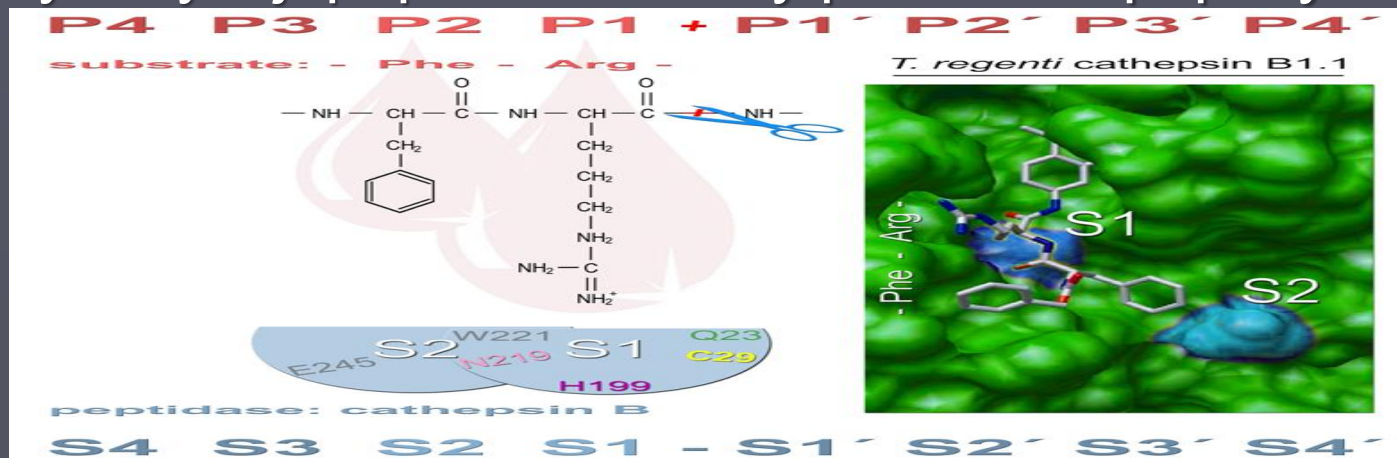
FIG. 5.2 Arginine metabolism. Steps 1–3: 1, arginase; 2, ornithine aminotransferase; 3, see Fig. 5.1. Steps 4–8, γ -guanidinobutyramide pathway: 4, arginine decarboxylase; 5, γ -guanidinobutyramide aminohydrolase; 6, γ -guanidinobutyrate amidinohydrolase; 7, γ -aminobutyrate aminotransferase; 8, succinic semialdehyde dehydrogenase. Steps 9–11, Arginine dihydrolase pathway: 9, arginine deiminase; 10, catabolic ornithine transcarbamoylase; 11, carbamate kinase.

Degradace hostitelských proteinů: peptidázy

- ▶ zásadní význam v interakcích parazit hostitel – invaze, migrace, degradace proteinů z potravy (hemoglobin), vyhýbaní se imunitní odpovědi, aktivace a modulace zánětu

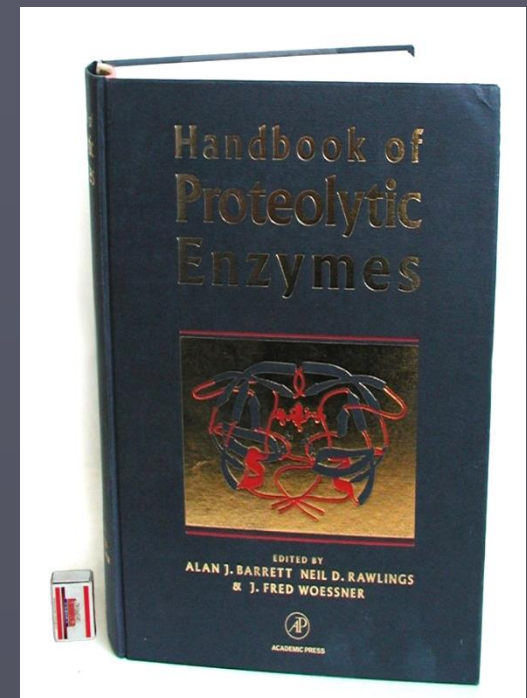


- ▶ hydrolyzují peptidické mosty proteinů a peptidy



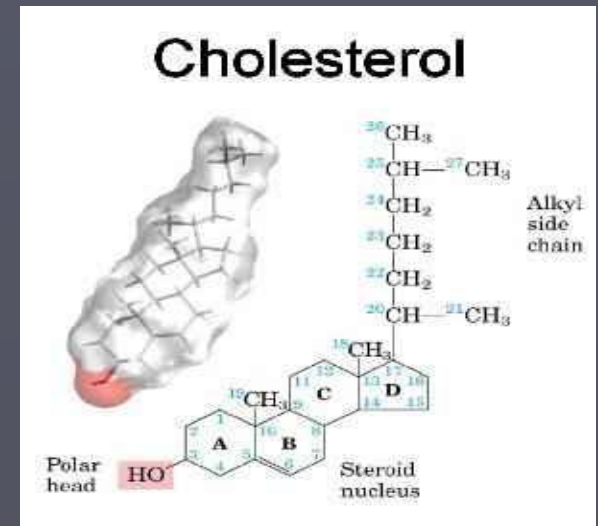
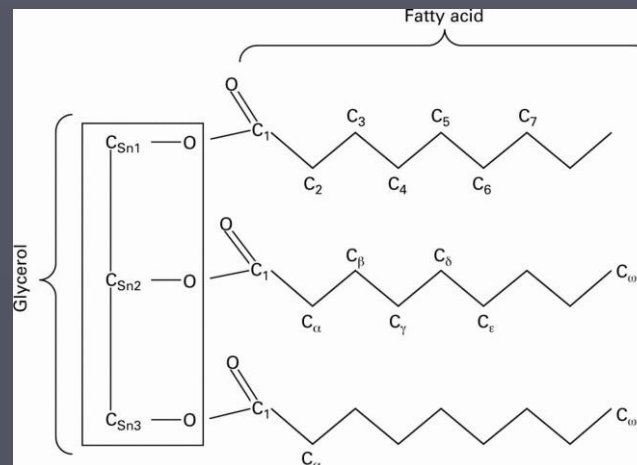
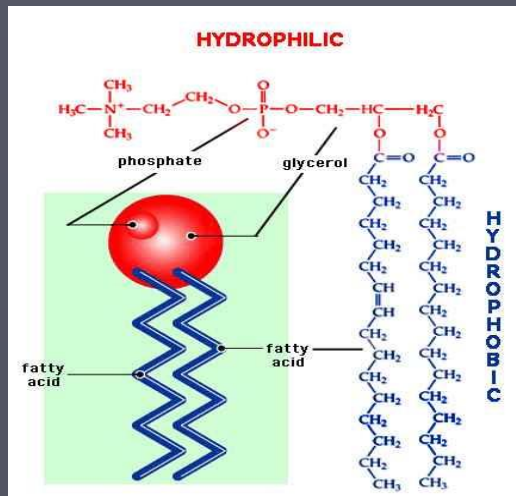
Degradace hostitelských proteinů: peptidázy

- ▶ představují důležitý faktor virulence parazitických nemocí
- ▶ Důležité pro přežívání parazitů – cílem zájmu nových léků (inhibitory peptidáz) nebo komponenty nových vakcín (katepsíny L1 a L2 *Fasciola hepatica*).



Syntéza lipidů

- ▶ Fosfolipidy, triacylglyceroly a cholesterol
- ▶ Fosfolipidy a cholesterol – hlavní komponenty biologických membrán – kontakt mezi parazitem a hostitelem
- ▶ Metabolismus odlišný u helmintů a obratlovců
- ▶ Lipidy nejsou syntetizovány *de novo*, získány z cholesterolu hostitele a jsou konstruovány z mastných kyselin (fosfolipidy)
- ▶ Parazit modifikuje mastné kyseliny hostitele



Syntéza lipidů

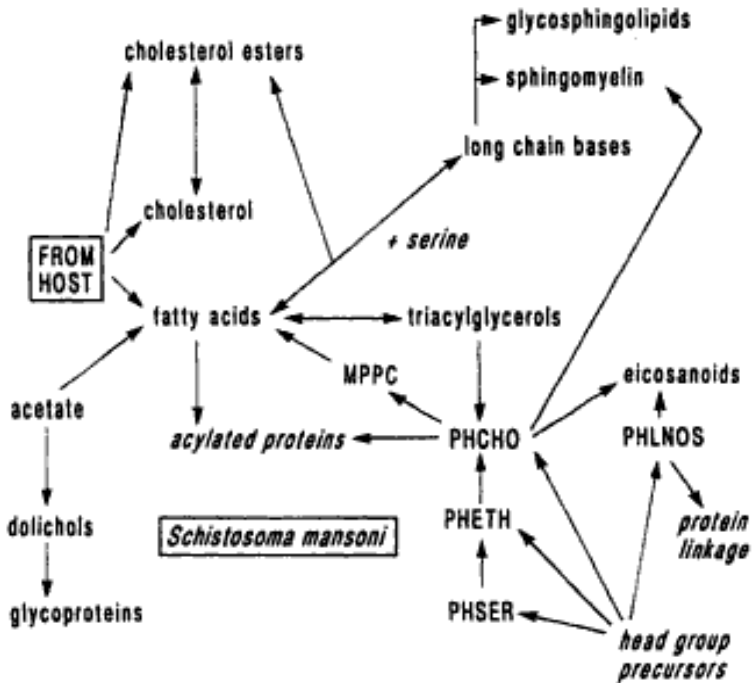


Fig. 18.4
The major biosynthetic pathways of lipids in *Schistosoma mansoni*. Like all trematodes, the organism is unable to synthesise sterols or fatty acids *de novo* and is dependent on these being obtained from the fluids or tissues of the host. Many of the details of these synthetic pathways remain to be clarified. PHCHO, phosphatidylcholine; MPPC, monopalmitoylphosphatidylcholine; PHETH, phosphatidylethanolamine; PHSER, phosphatidylserine; PHLNOS, phosphatidylinositol. (After Furlong, 1991.)

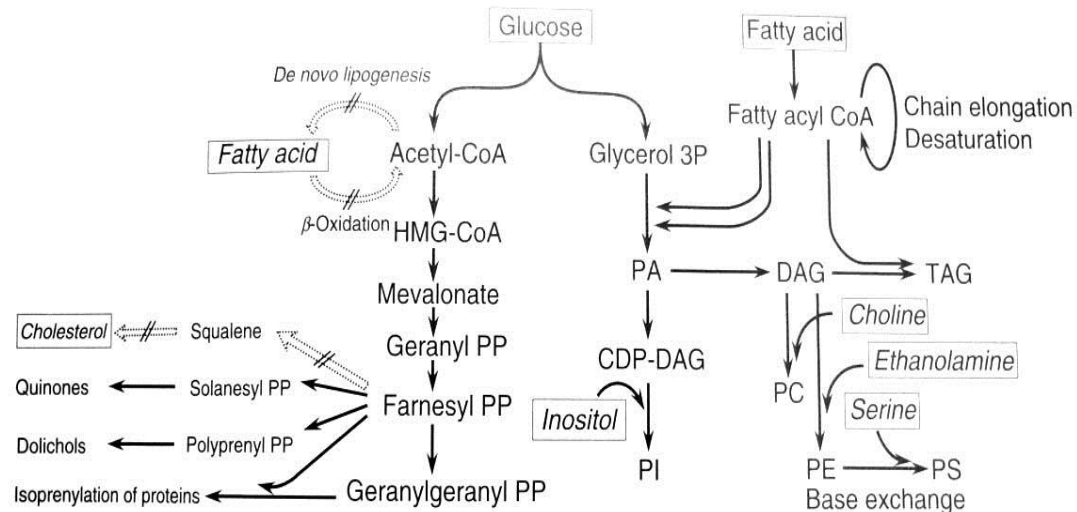


Fig. 20.3. Schematic representation of the main pathways in the lipid metabolism of parasitic flatworms. Boxed substrates are supplied by the host. Pathways present in mammalian systems but absent in parasitic flatworms are shown by open arrows. Abbreviations: DAG, diacylglycerol; CDP-DAG, cytidine diphosphodiacylglycerol; Farnesyl PP, farnesyl pyrophosphate; Geranyl PP, geranylpyrophosphate; Geranylgeranyl PP, geranylgeranylpyrophosphate; HMG-CoA, hydroxymethylglutaryl-CoA; TAG, triacylglycerol; PA, phosphatidic acid; PC, phosphatidylcholine; PE, phosphatidylethanolamine; PI, phosphatidylinositol; PS, phosphatidylserine.

Syntéza lipidů

Důležitost lipidů v průběhu vývojového cyklu př. *Schistosoma mansoni*

Třída lipidů	Funkce
Mastné kyseliny a metabolity	Penetrace pokožky cercáriemi Vylučované schistosomulou a dospělcem
Fosfolipidy a steroly	Membránové komponenty
Glykolipidy	Membránové komponenty a antigeny
Mastné kyseliny a fosfolipidy	Lipidové kotvy pro proteinové antigeny
Fosfolipidy, steroly a lipoproteiny	Obrana vůči imunitě hostitele
Ekdysony	Životní cyklus, pohlavní vývoj, marker infekce
Dolicholy	Vývoj vajíček

Anabolické dráhy: puriny, pyrimidiny a polyaminy

- ▶ Purinové (A, G) a pyrimidinové (T, U, C) nukleotidy důležitá složka biochemických molekul (DNA/RNA, ATP, NAD).
- ▶ Paraziti odlišné metabolické dráhy než hostitelé (savci)
- ▶ Puriny – neprobíhá *de novo* syntéza
- ▶ Pyrimidiny – probíhá *de novo* syntéza
- ▶ Polyaminy (př. spermin) – pravděpodobně neprobíhá *de novo* syntéza

Purinové dráhy a syntéza pyrimidinů u parazitů

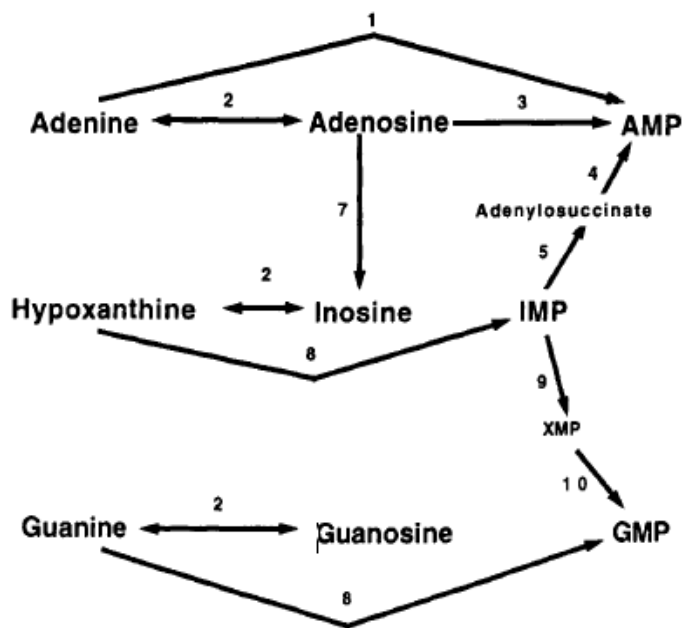


FIG. 6.11 *Schistosoma mansoni* purine salvage and interconversion pathways. For identity of enzymes see

follows: (1) adenine PRTase; (2) nucleoside phosphorylase; (3) purine (adenosine) nucleoside kinase; (4) adenylosuccinate lyase; (5) adenylosuccinate synthetase; (6) AMP deaminase; (7) adenosine deaminase; (8) hypoxanthine-guanine PRTase; (9) IMP dehydrogenase; (10) GMP synthetase; (11) GMP reductase; (12) guanine deaminase; (13) AMP kinase; (14) GMP kinase; (15) ribonucleotide reductase; (16) nucleoside diphosphokinase; (17) xanthine PRTase; (18) adenine deaminase; (19) purine nucleoside hydrolase; (20) HGXPRTase; (21) purine nucleoside phosphotransferase; (22) guanine PRTase; (23) purine deoxyribonucleoside kinase; (24) deoxyribonucleoside phosphotransferase.

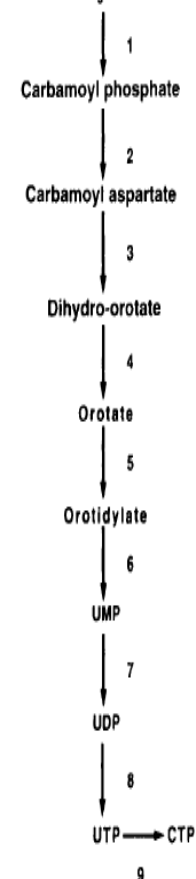
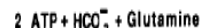
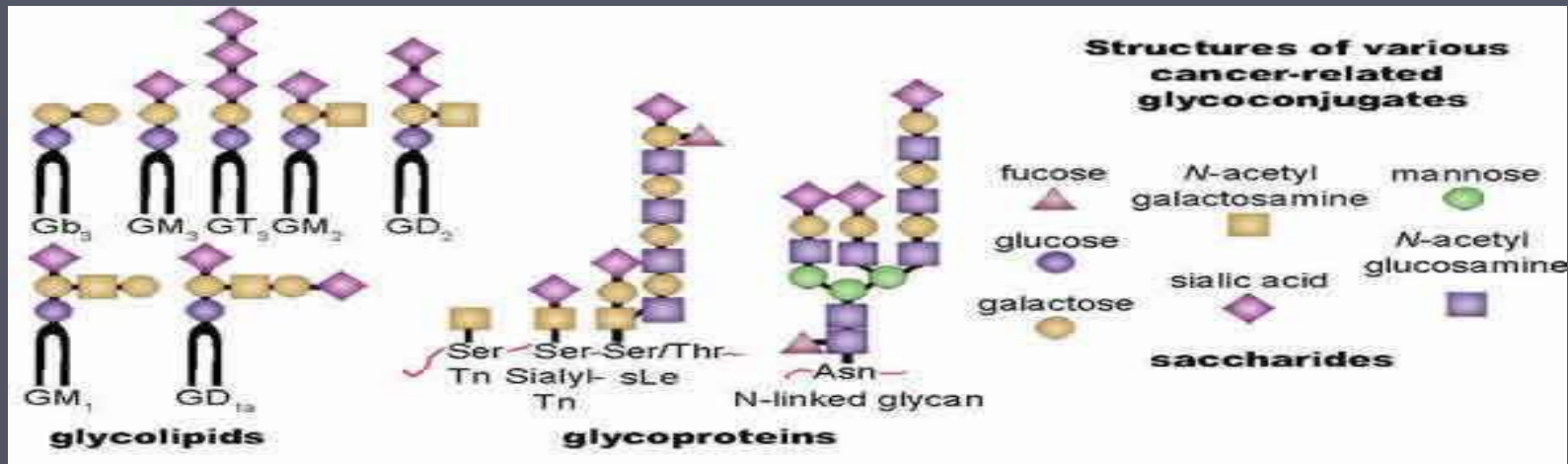


FIG. 6.12 Pyrimidine *de novo* synthesis pathway. Enzymes are as follows: (1) carbamoyl-phosphate synthetase II; (2) aspartate carbamoyl-transferase; (3) dihydro-orotase; (4) dihydro-orotate oxidase; (5) orotate phosphoribosyltransferase; (6) orotidine-5'-phosphate decarboxylase; (7) nucleoside monophosphate kinase; (8) nucleotide diphospho kinase; (9) CTP synthetase.

Anabolické cesty - glykokonjugáty

- ▶ u parazitických helmintů – klíčová role v mnoha procesech př. molekulární mimikry nebo modulace hostitelské imunitní odpovědi
- ▶ Glykoproteiny, glykopeptidy, peptidoglykany, glykolipidy, lipopolysacharidy
- ▶ Povrchově exprimované sacharidy sdílejí paraziti a hostitel => molekulární mimikry (*S. mansoni* - Lewis X, *F. hepatica* – Forssman antigen)



Detoxikace u helmintů

- ▶ **Reaktivní kyslíkové radikály (ROS)**
 - chemicky reaktivní molekuly obsahující kyslík
 - kyslíkové ionty a peroxidy
 - ničí buněčné komponenty oxidací proteinů, lipidů a nukleových kyselin
 - modifikace membrán, receptorů, proteinů cytoskeletu, inaktivace enzymů a poškození genomu

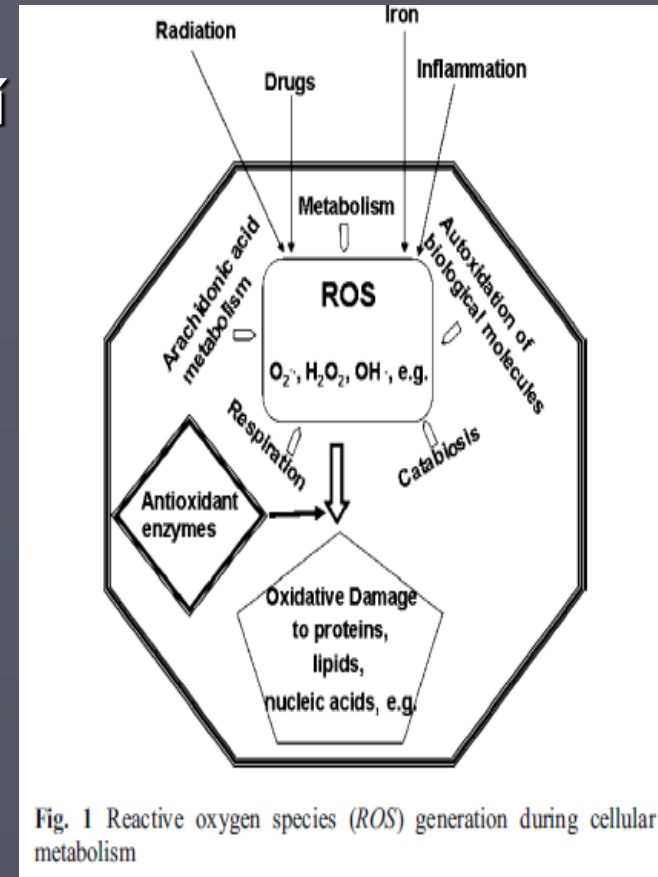


Fig. 1 Reactive oxygen species (ROS) generation during cellular metabolism

Detoxikace u helmintů

- ▶ Prostředí parazitů – chudé na kyslík => vysoká vnímavost na oxidativní stres - smrt obligátních anaerobů
- ▶ Enzymatické a neenzymatické antioxidační (detoxikační) systémy u parazitů = **obranné taktiky vůči hostitelem generovaných kyslíkových radikálů**
- ▶ Cytochrome-c-peroxidáza - fasciolidní motolice, schistosomy, filarie - oxidace peroxidu
- ▶ Kataláza – střevní Nematoda - detoxikace peroxid vodíku
- ▶ Superoxid dismutáza – schistozomy, Nematoda - neutralizace superoxidových aniontů