

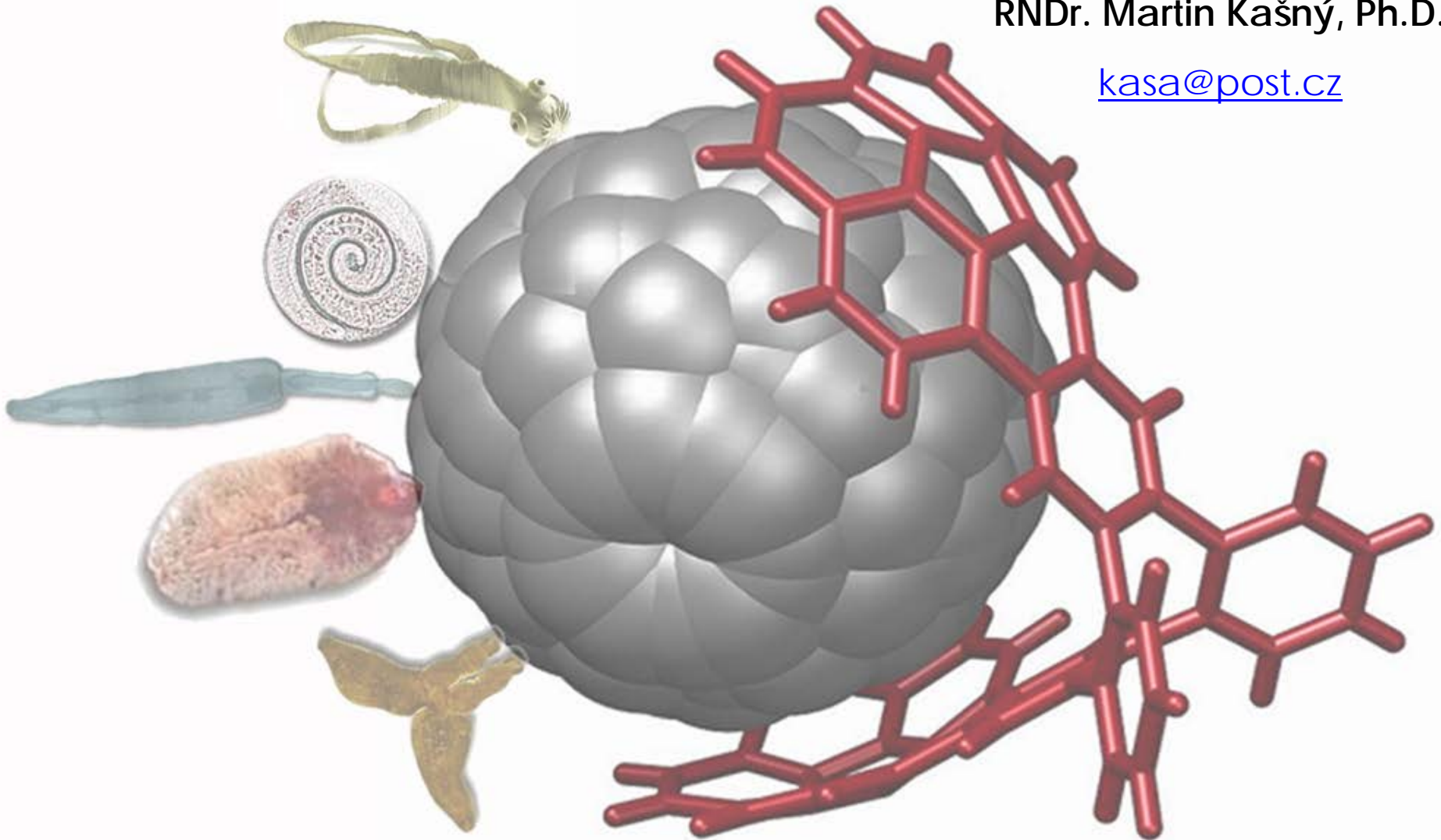
Molekulární a buněčné interakce parazita a hostitele

(Bi9474)

2016

RNDr. Martin Kašný, Ph.D.

kasa@post.cz



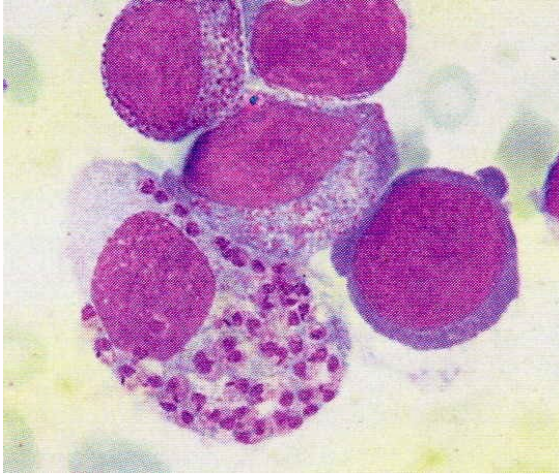
7.

INTRACELULÁRNÍ PARAZITISMUS U HELMINTŮ

A faint background illustration featuring a helminth (worm) on the left and a complex molecular structure on the right, both rendered in a light, semi-transparent style.

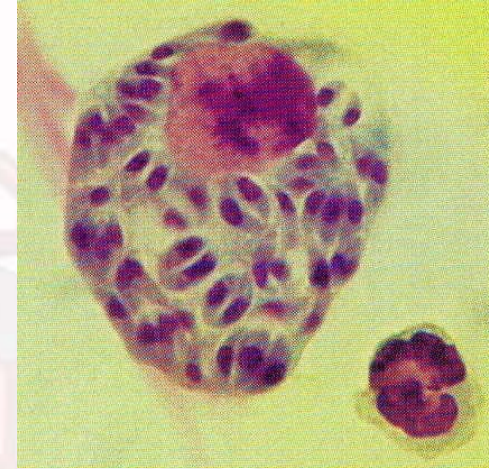
INTRACELULÁRNÍ PARAZITISMUS - PROTOZOA

Nic překvapivého

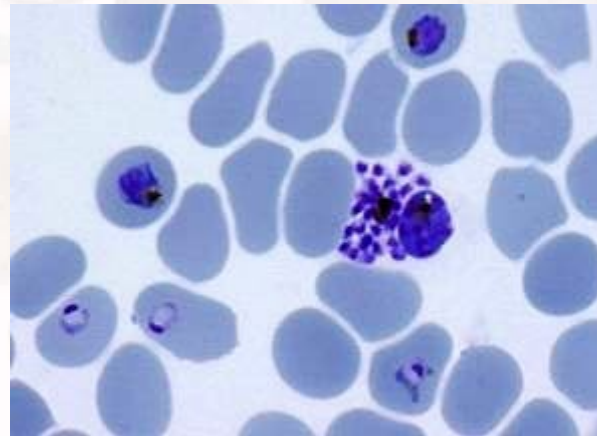


Leishmania
v makrofágu

V parazitologii:
prvoci



Toxoplasma
v leukocyту

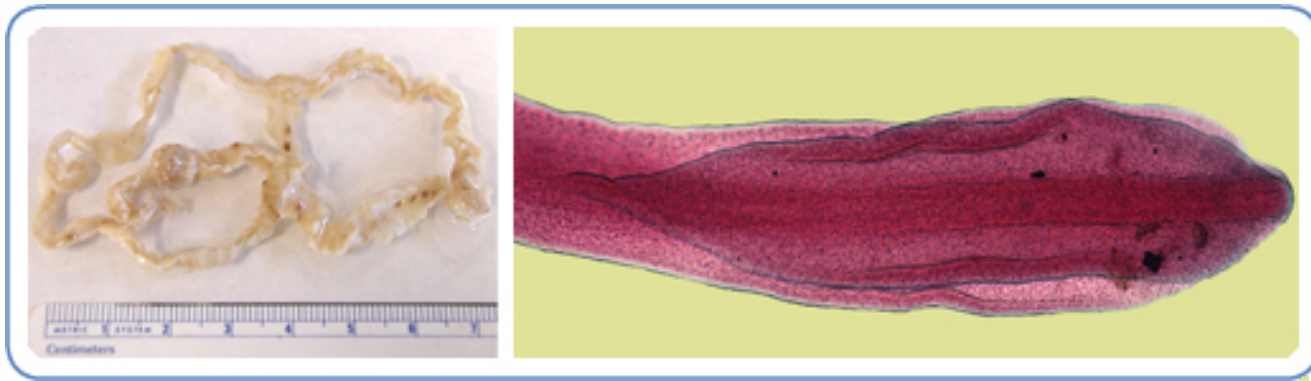


Plasmodium
v erythrocyту

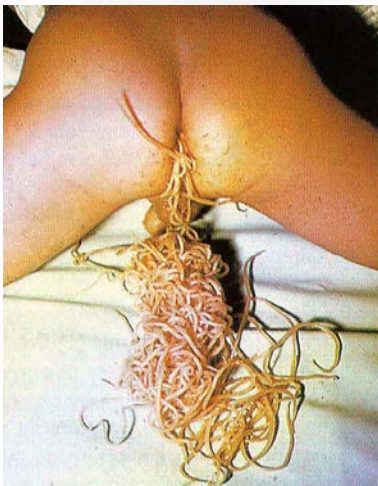
INTRACELULÁRNÍ PARAZITISMUS - HELMINTI

Je vůbec možný? Velikost!

Diphyllobothrium latum (škulovec široký) - délka až 25 m (2 cm šířka)



Ascaris lumbricoides - (10–30 cm) (škrkavka dětská)



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA

Interakce hlístic s buňkami/syncytiem hostitele

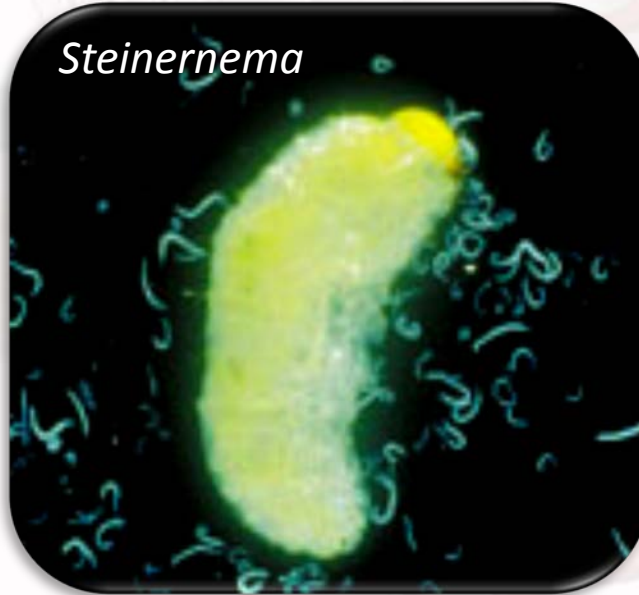
- Volně žijící
- Fytopatogenní
- Entomopatogenní
- Paraziti obratlovců (objekt parazitologie)



Globodera



Steinernema



Trichinella



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

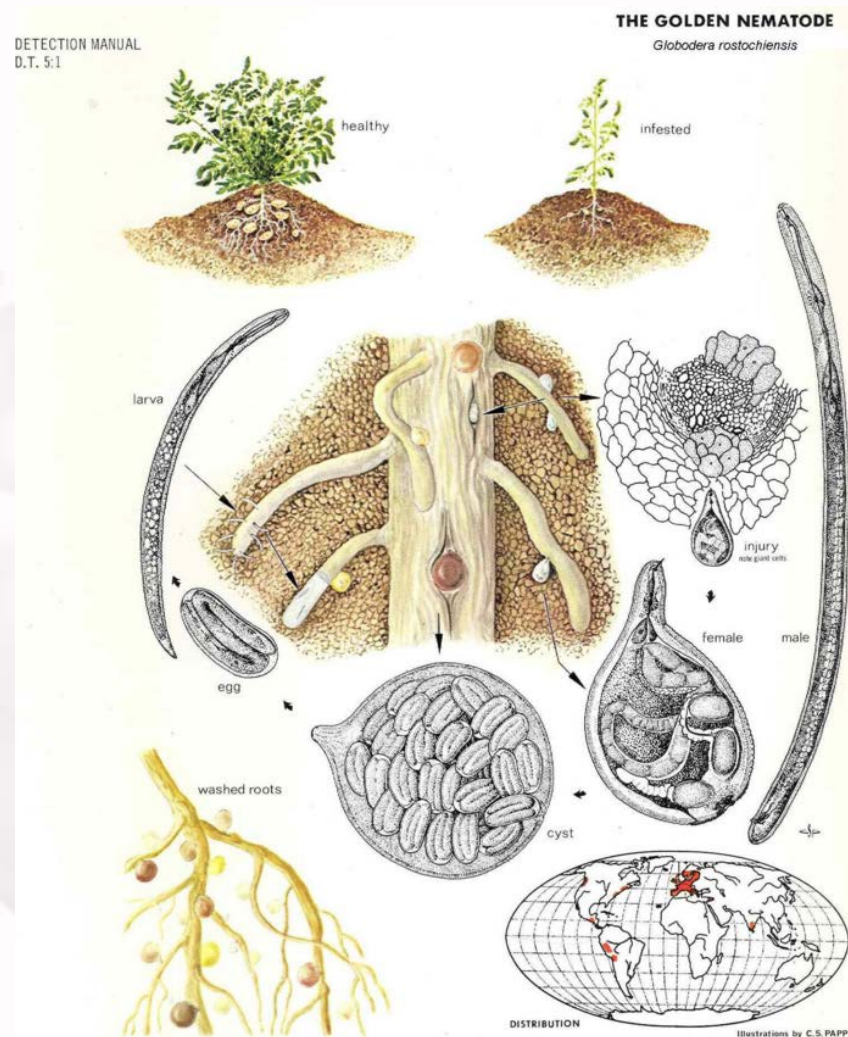
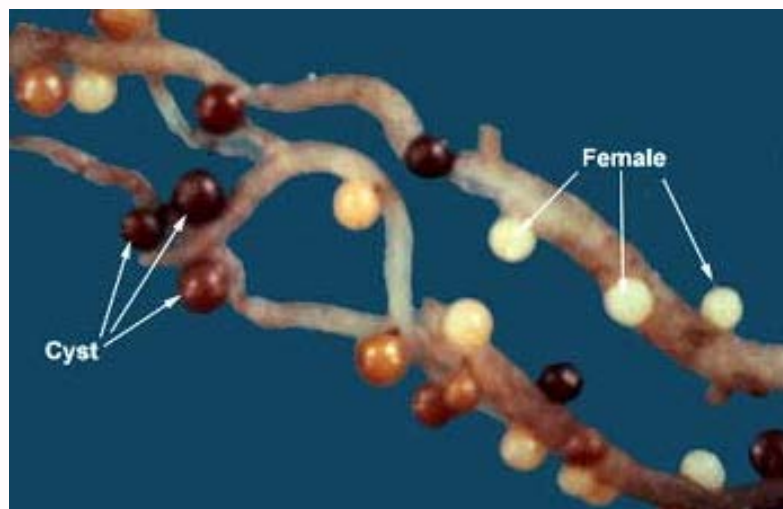
- třída **Chromadorea** (Secernentea)
- řád **Tylenchida**
 - saprobiotické formy, vzácně akvatické, řada z nich paraziti rostlin a hmyzu
 - většina zástupců má vysouvateľný dutý stylet (přeměněná ústní kapsula) - perforace kutikuly hmyzu, rostlinných buněk, injekce sekretů a příjem potravy
- čeleď **Heteroderidae**
 - endoparaziti kořenů vyšších rostlin
 - cysty z uhynulých samiček - tělo postupně ztvrdne – ochrana vajíček

Globodera rostochiensis (hádátka bramborové)

- 1 mm
- škodí především na bramborách, ale i jiných lilkovitých
- kosmopolitně (do Evropy v pol. 19. st.)

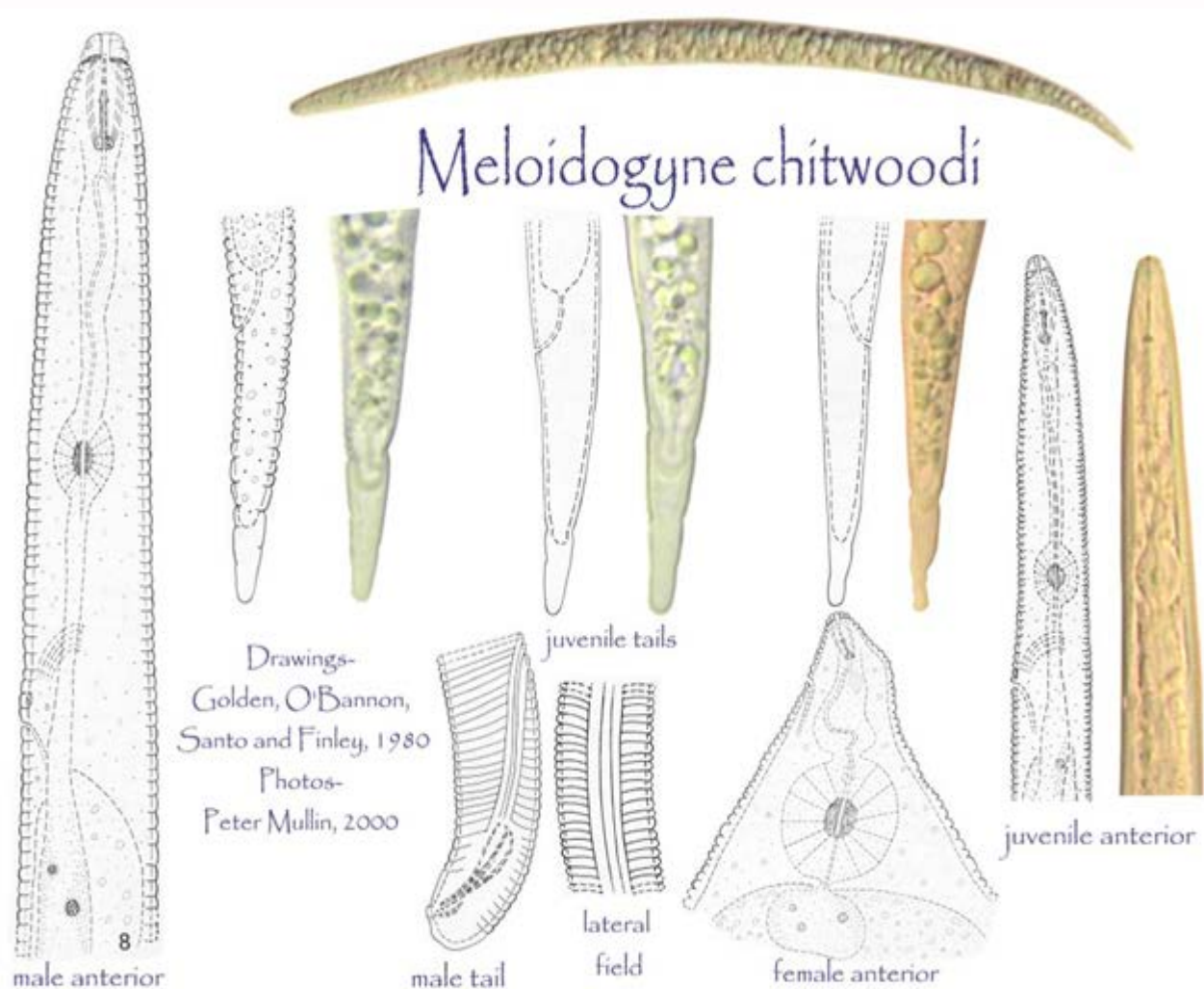
INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

Cystotvorné hlístice: rod *Heterodera* a *Globodera*



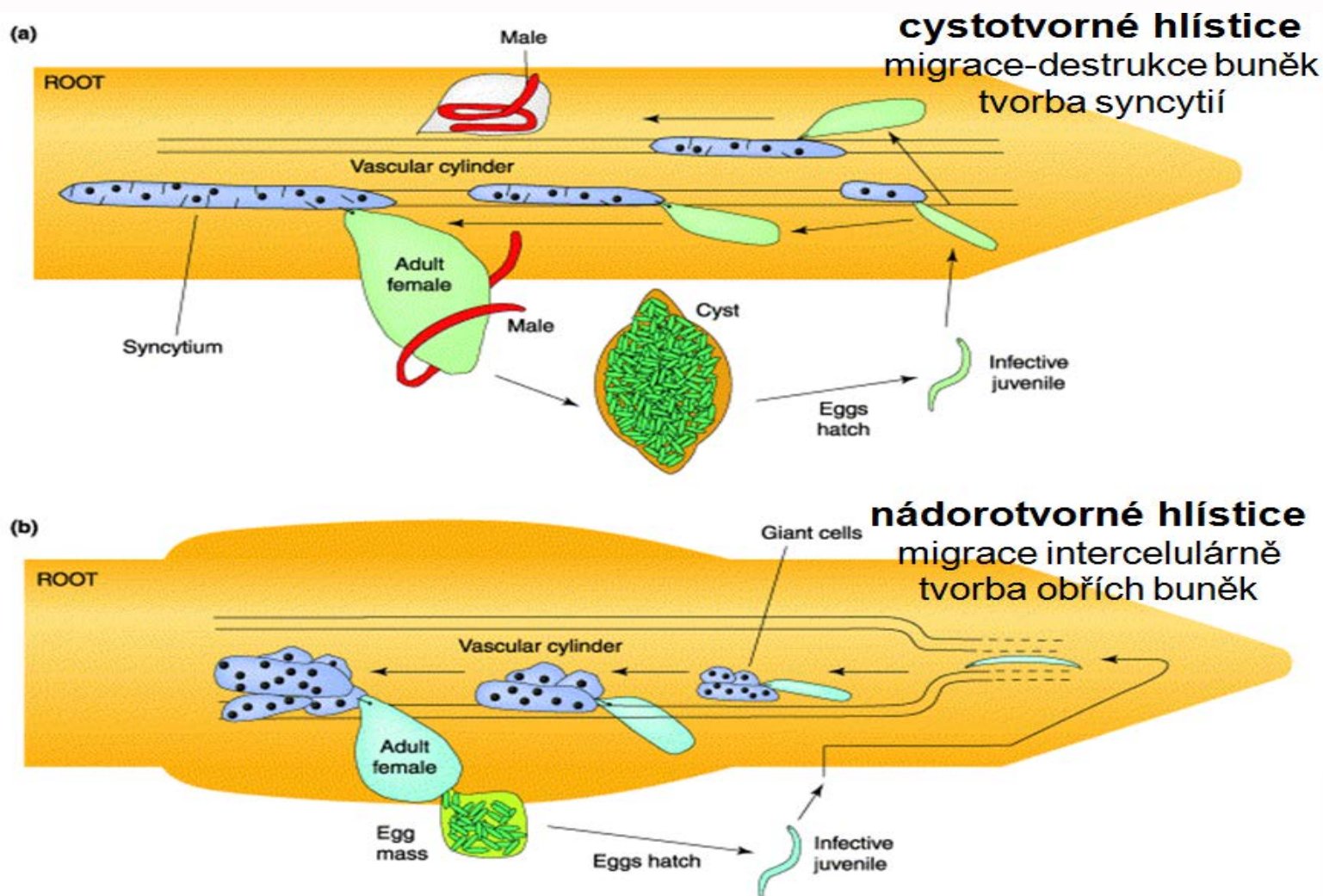
INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

Nádorotvorné hlístice: rod *Meloidogyne* (u vikve, rajčat, brukví)
- řád Tylenchida



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

Cystotvorné hlístice vs. Nádorotvorné



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

Cystotvorné hlístice a Nádorotvorné

- **Migraci umožňují**

- hltanové sekrety hlístic

- beta-1,4- endoglukanáza (celuláza) – podobná bakteriálním
- polygalakturonáza
- chitinázy
- pektinázy
- rozvolnění buněčných stěn rostlinných pletiv (i mechanicky stylet)



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

Cystotvorné hlístice a Nádorotvorné

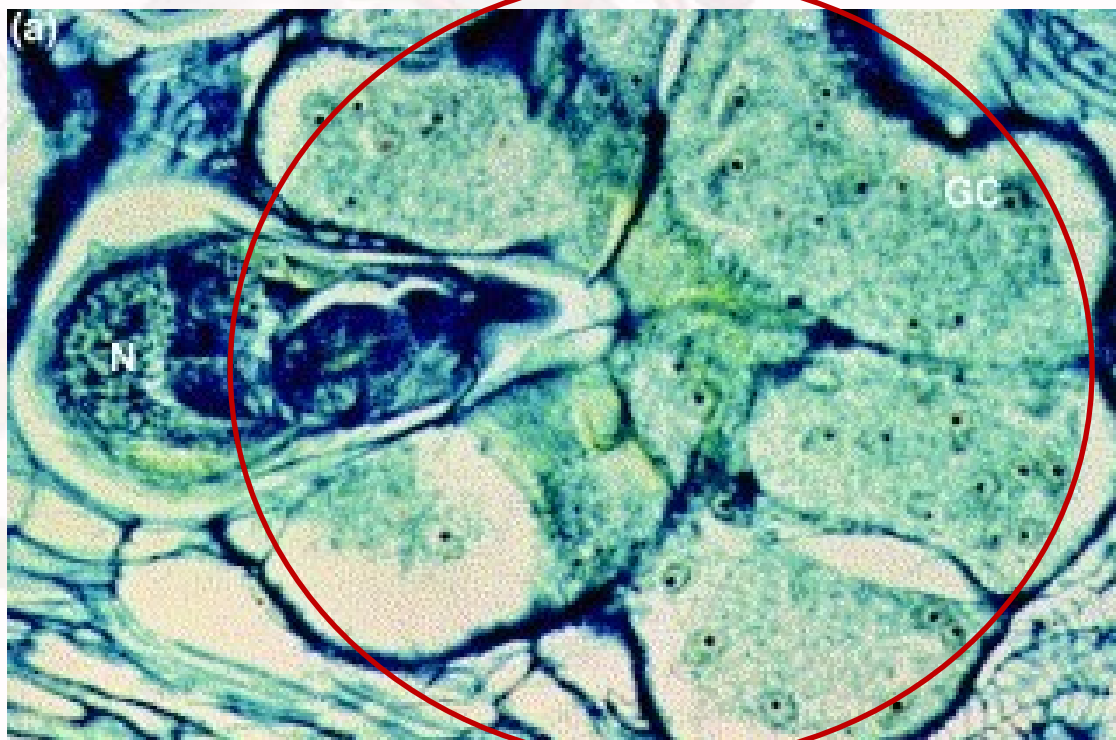
- **Přeměna hostitelských buněk**

indukce tvorby - syncytií (cystotvorné)

- obřích buněk (nádorotvorné)

změny genové exprese

dediferenciace buněk



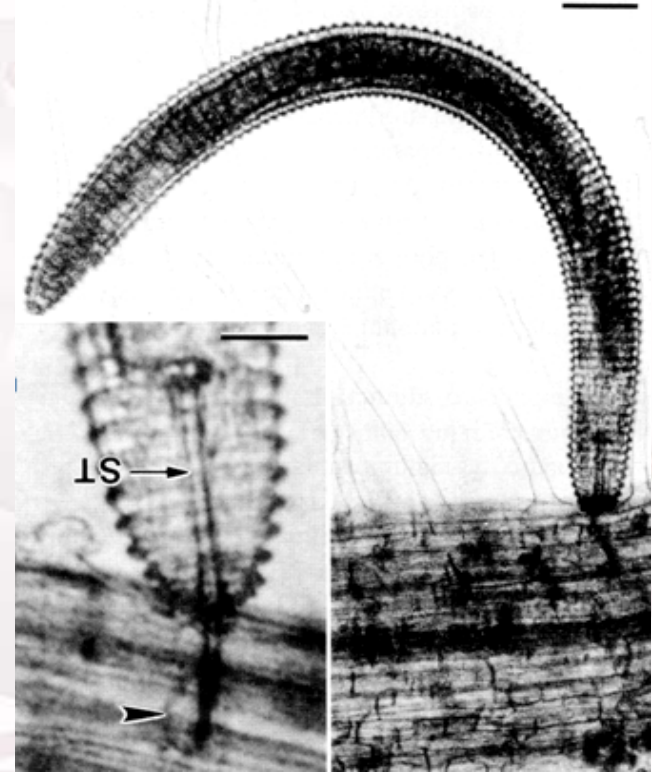
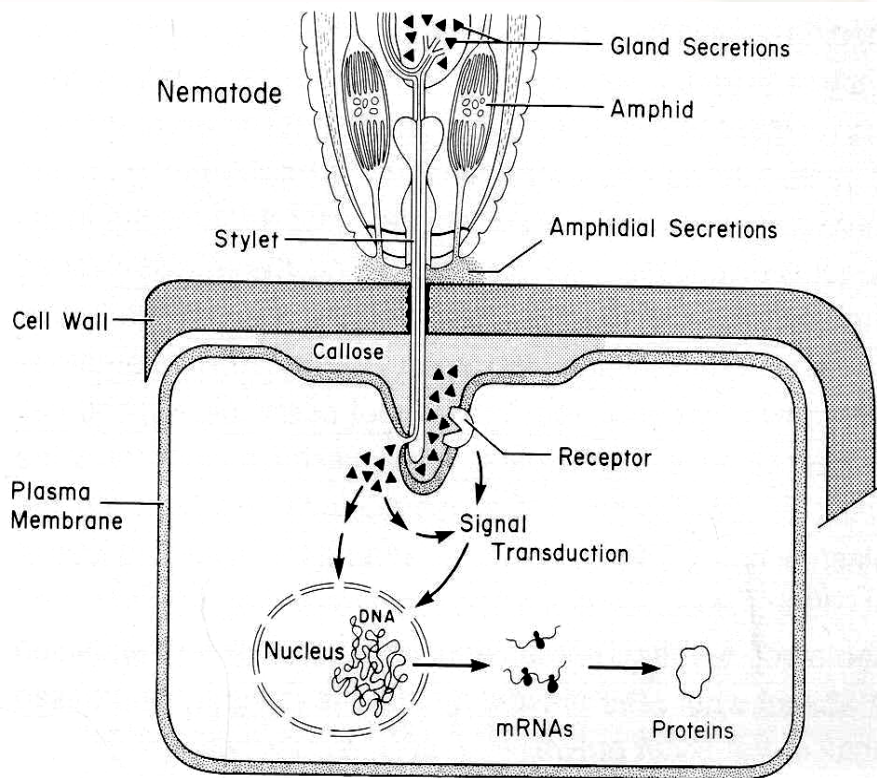
mnohojaderné obří buňky

INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

Ektoparazitické: rod *Critonemella*

Parazituje na množství rostlin (rašelina, arašíd, broskve, ořechy, hrozny) – na kořeni
jedna buňka do 5 dní výživy => ne příliš patogenní

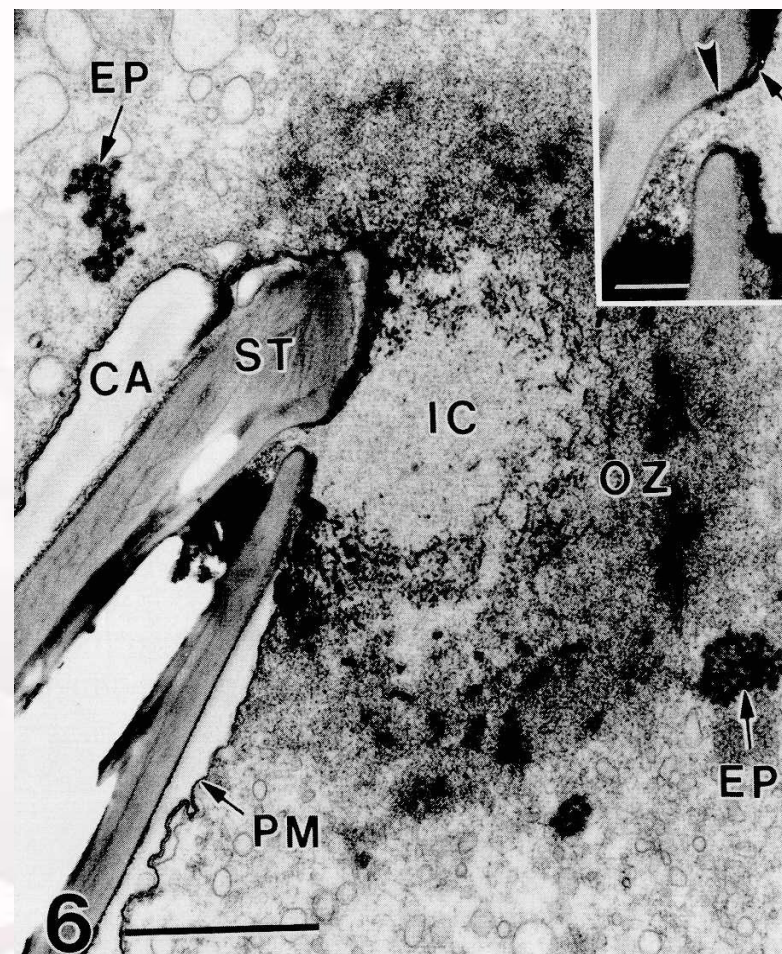
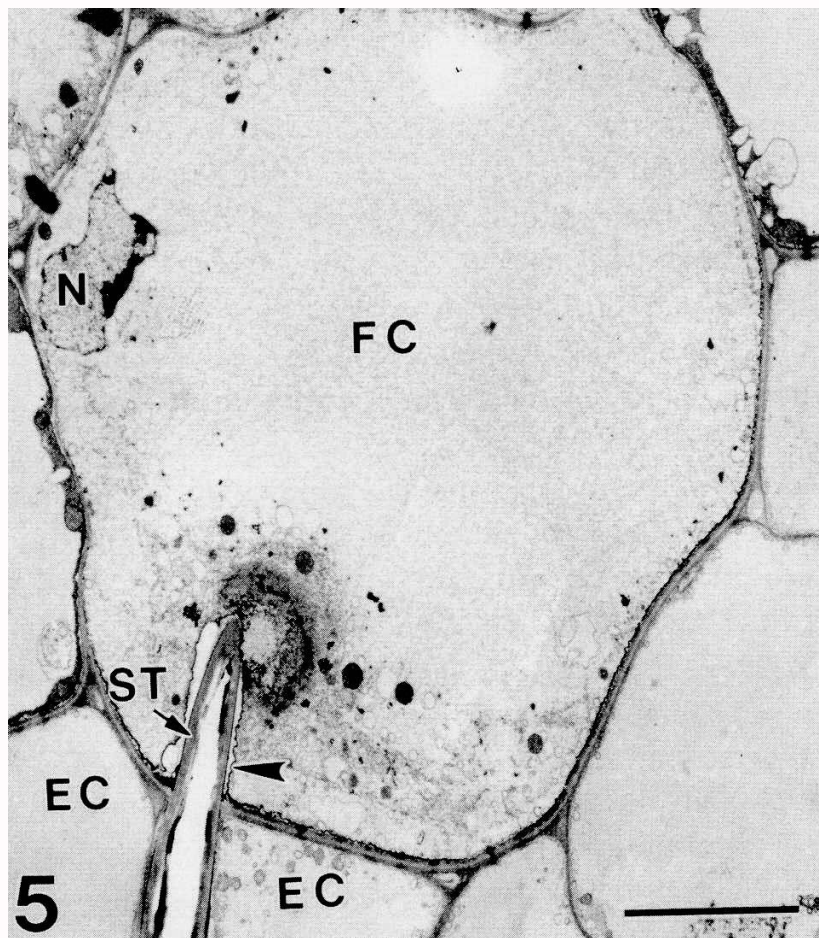
injikace žlázových sekretů stiletem obvykle 2 subventrální a 1 hltanová žlázová buňka



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

Ektoparazitické: rod *Critonemella*

Injike sekretů



(EC-epidermální buňky; FC-parazitovaná buňka; PM-cytoplasmatická membrána)

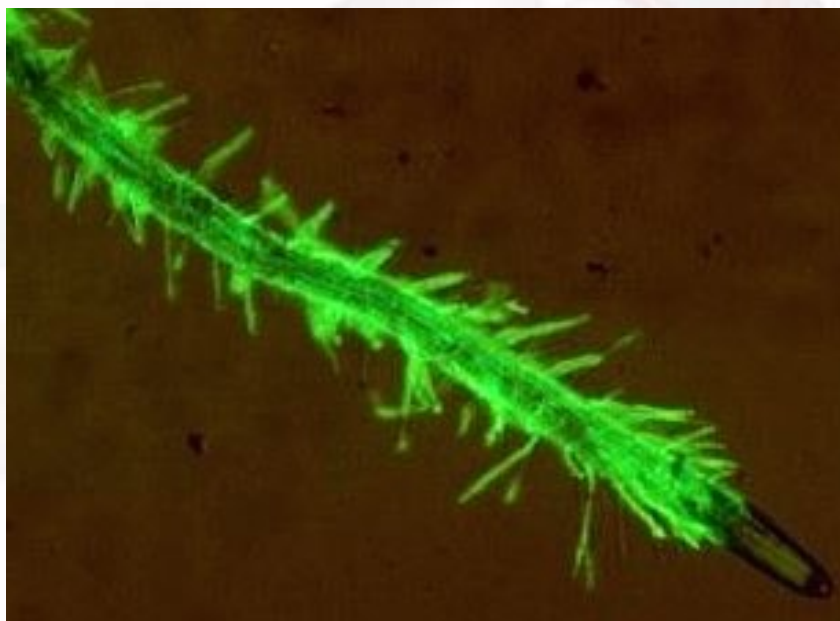
INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - FYTOPATOGENÍ

Nádorotvorné hlístice:

- **Exprese proteinů rostlin**

extenzin (strukturální protein, rigidity buněčných stěn)
- zvýšení tvorby na periferii nádorů

pRB7 (membránový vodní kanál, přístup živin z okolí obří buňky)
- zvýšení exprese v centru nádorů



detekce extenzinu na kořenu *Arabidopsis*
(www.bmb.leeds.ac.uk)

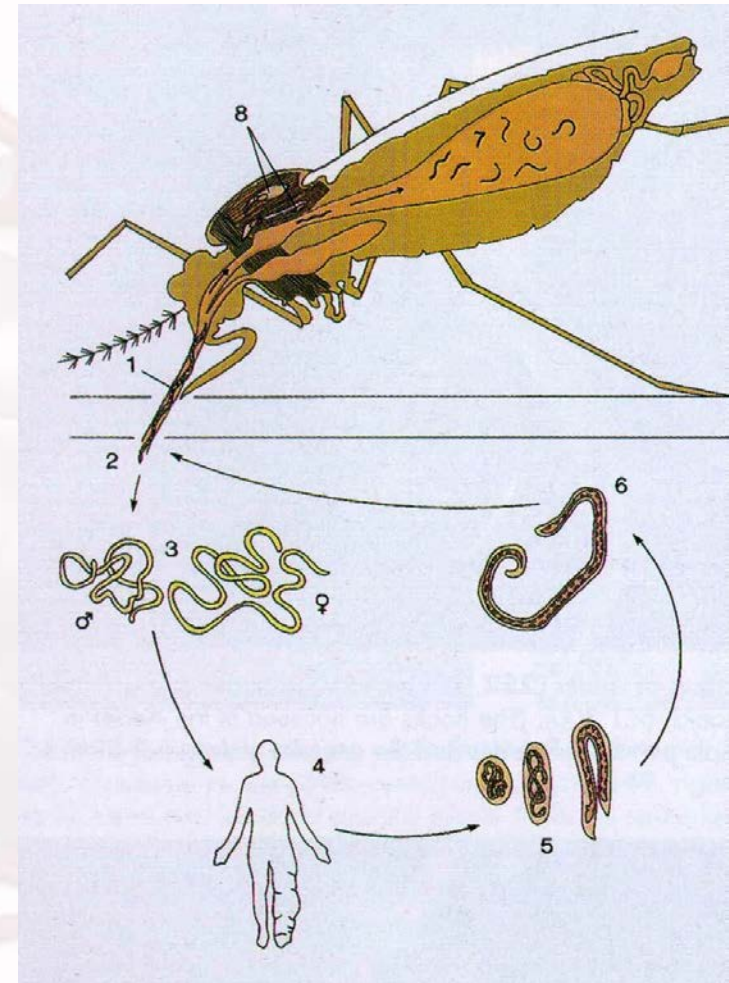
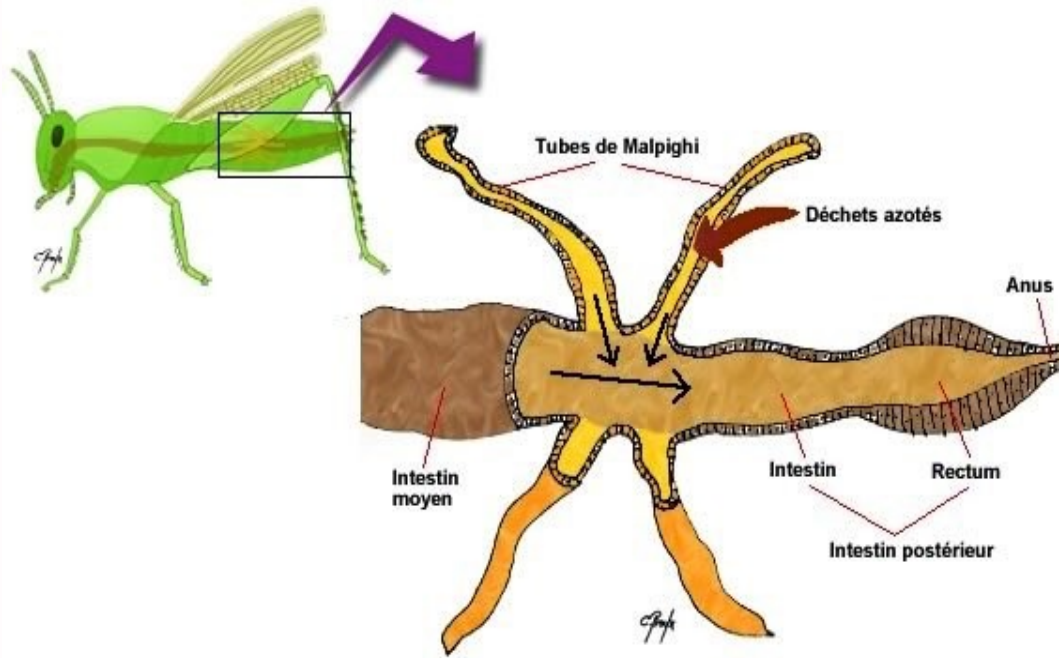
INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - ENTOMOPATOGENNÍ

Filárie ve vektorových organismech:

larvy 1-3 ve vektoru (zde dvoukřídlý bodavý hmyz) = intracelulárně

- tukové těleso
- hrudní létací svaly
- malpigické trubice

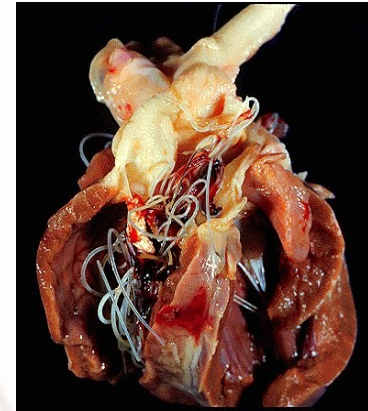
Malpigické trubice



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - ENTOMOPATOGENNÍ

Filárie ve vektorových organismech: malpigické trubice rod *Dirofilaria*

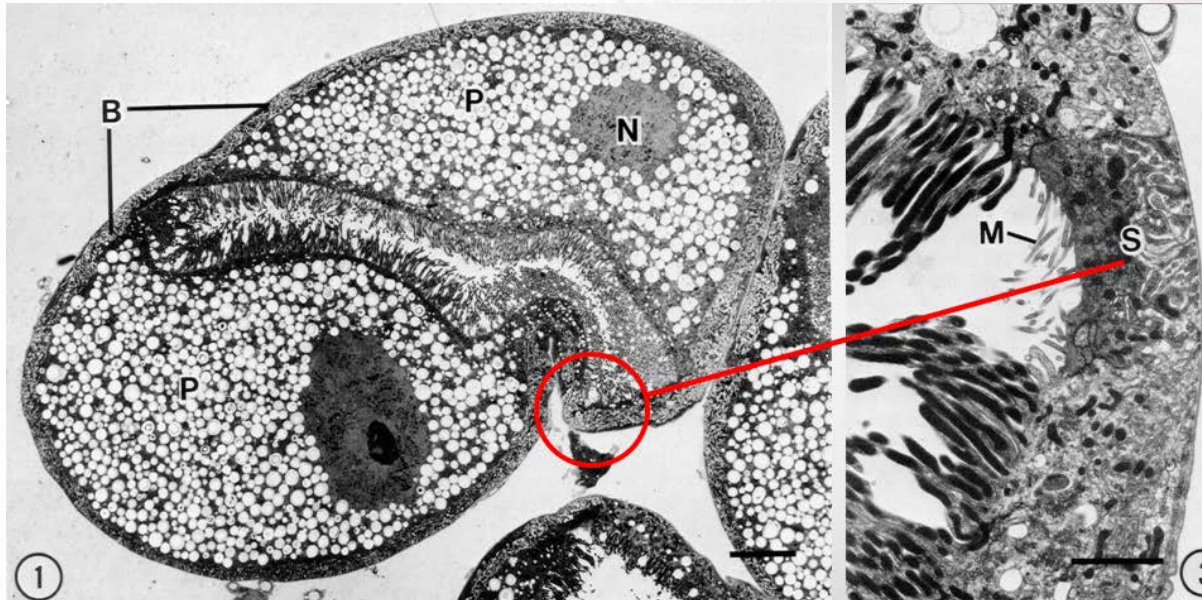
- pravá srdeční komora a arteria pulmonalis psů a koček
- může infikovat člověka (např. jižní Evropa) – podkožní noduly, plicní cysty (obvykle nedospívají)
- **přenos komáry**



Příčný řez:

primární buňky - dlouhé mikrovily s apikálně uloženými mitochondriemi
(velikost buněk asi 70 µm)

hvězdčicové buňky - malé mikrovily bez mitochondrií



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - ENTOMOPATOGENNÍ

Filárie ve vektorových organismech: malpigické trubice rod *Dirofilaria*



mikrofilárie volně v cytoplasmě

defekty v mikrovilózní zóně

NE INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - ENTOMOPATOGENNÍ

Filárie ve vektorových organismech:

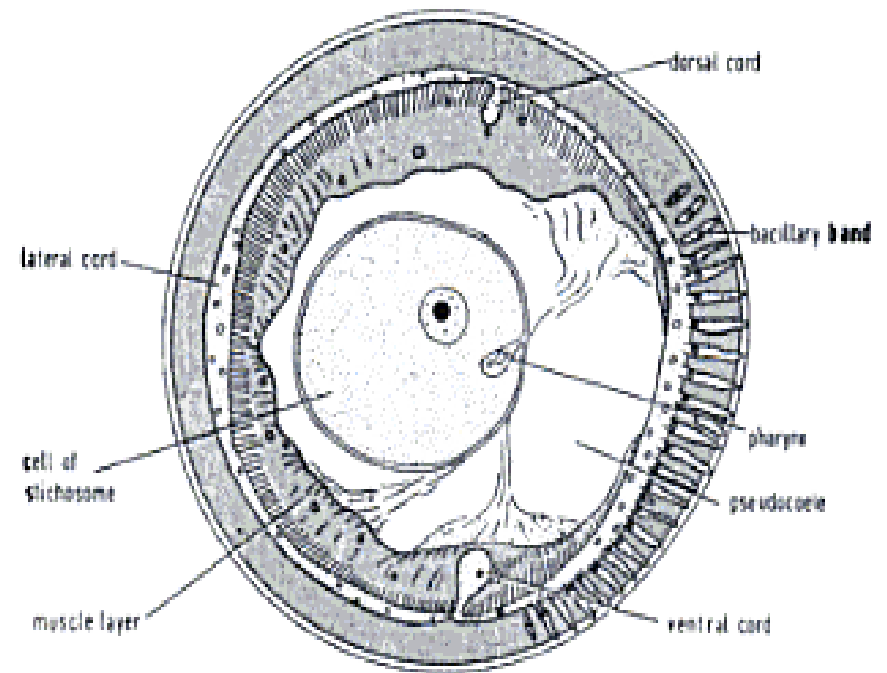
- třída **Chromadorea** (Secernentea)
 - řád **Rhabditida** – rhabditoidní tvar jícnu
 - čeleď **Steinernematidae**
 - paraziti hmyzu
 - L3 v půdě - aktivně se pohybují a napadají hostitele tělními otvory
 - ze střeva hmyzu penetrují do coelomu, kde začnou uvolňovat z trávicí trubice symbiotické bakterie (rod *Xenorhabdus*) – smrt a rozklad hostitele
- využívány v biologickém boji proti hmyzím škůdcům

Steinernema carpocapsae



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií
žlázové orgány - **stichosom** (ze stichocytů kolem hltanu)



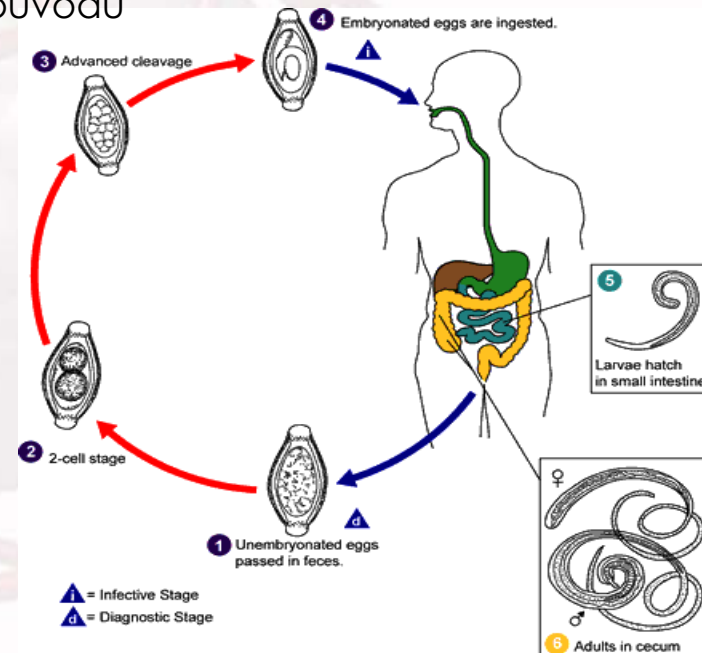
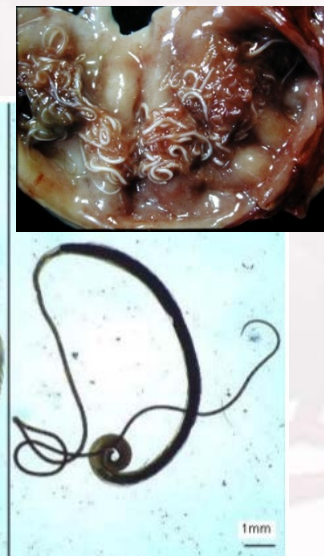
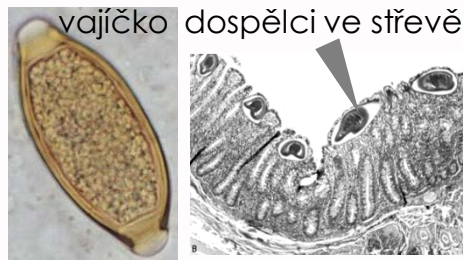
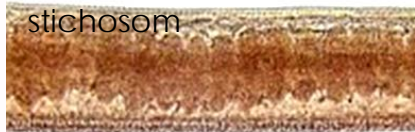
INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- třída **Enoplea** (Adenophorea)
- čeleď **Trichuridae**

Trichuris (syn. *Trichocephalus*) *trichiura* (tenkohlavec lidský), *T. muris* - myš

- tlusté střevo člověka (těžké průjemy až prolaps rektu) (až 1/4 celosvětové populace)
- sameček 35-50 mm, samička 30-45 mm
- tělo dvě části:
 - přední - úzká zanořena do epitelu střeva (záněty, krvácení)
 - sekrece (stichosom) => indukce tvorby syncytia epiteliárního původu
 - zadní – obsahuje pohlavní orgány a ční do lumenu střeva
- vajíčka silnostěnná se dvěma pólovými zátkami
- způsob infekce - perorálně
- ŽC: přímý (výhradně geohelmti)



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

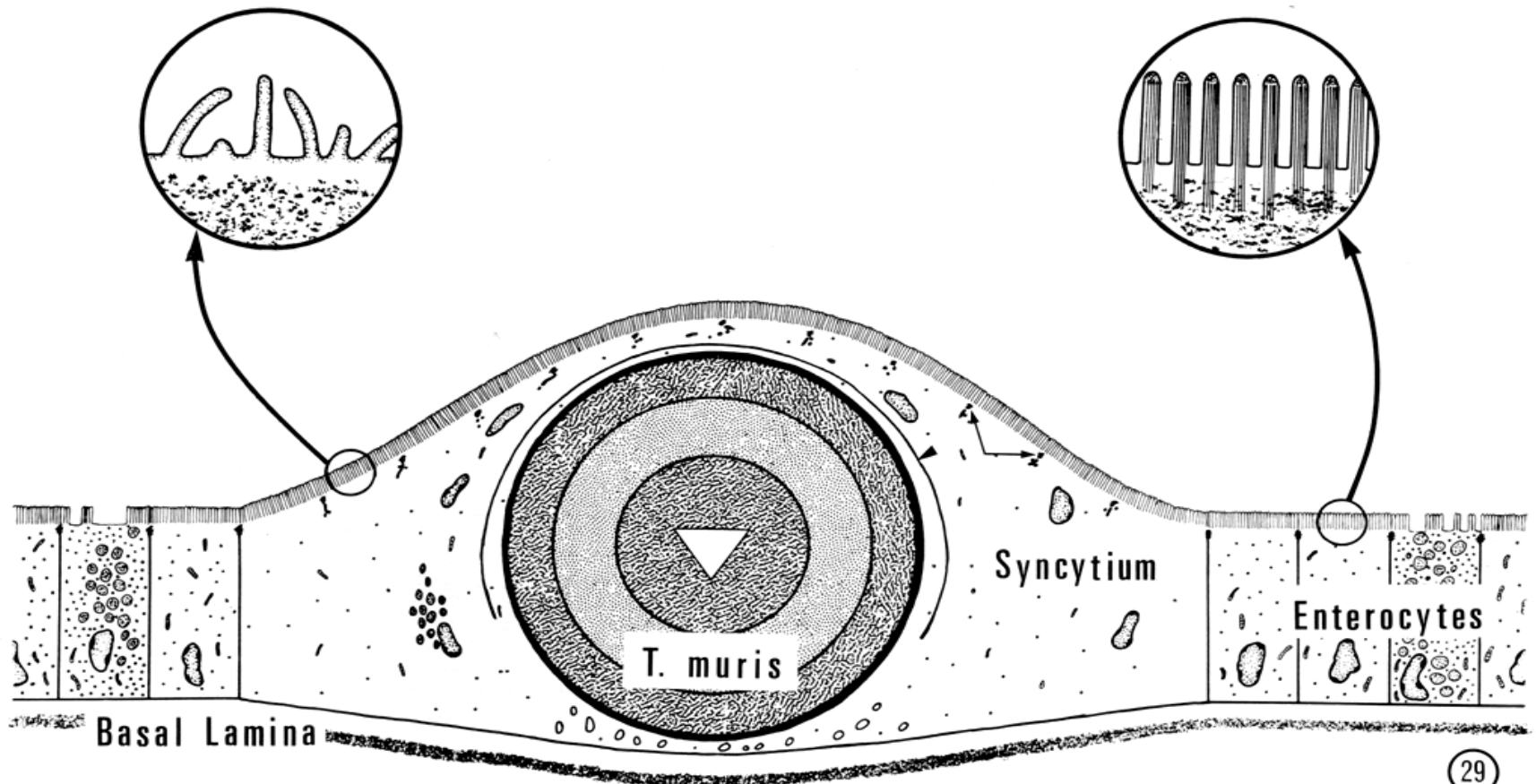
Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií
tunely v epitelu střeva - syncytium z 10-15 tisíc buněk



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

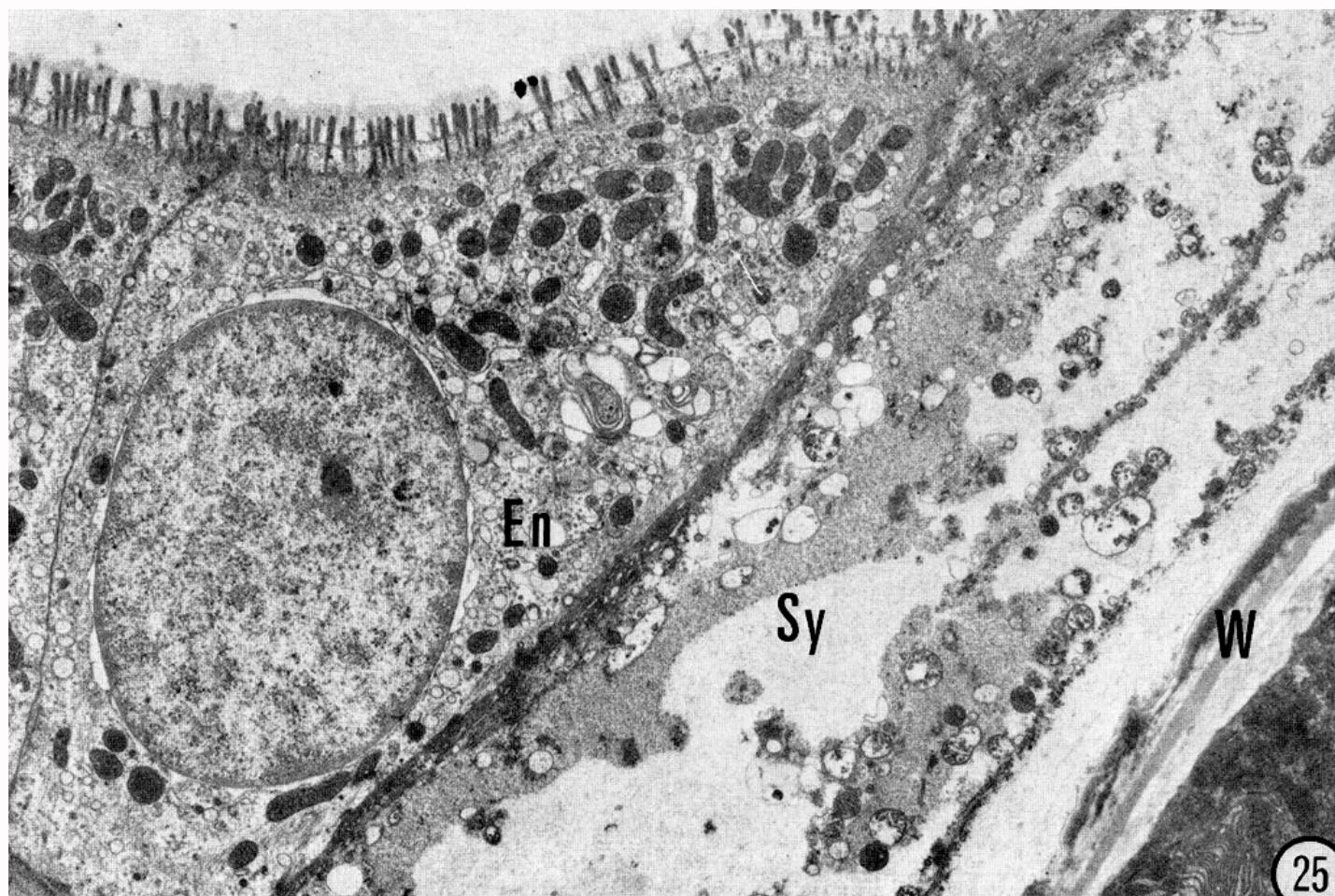
změny střevního epitelu vlivem parazitace (v syncytiu patrna původní jádra enterocytů, zbytky buněčných spojů, granule původních pohárkových buněk, poškozené mikrovily)



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

TUNEL: ztráta cytoplasmatických membrán - syncytium okolní epitelie beze změn



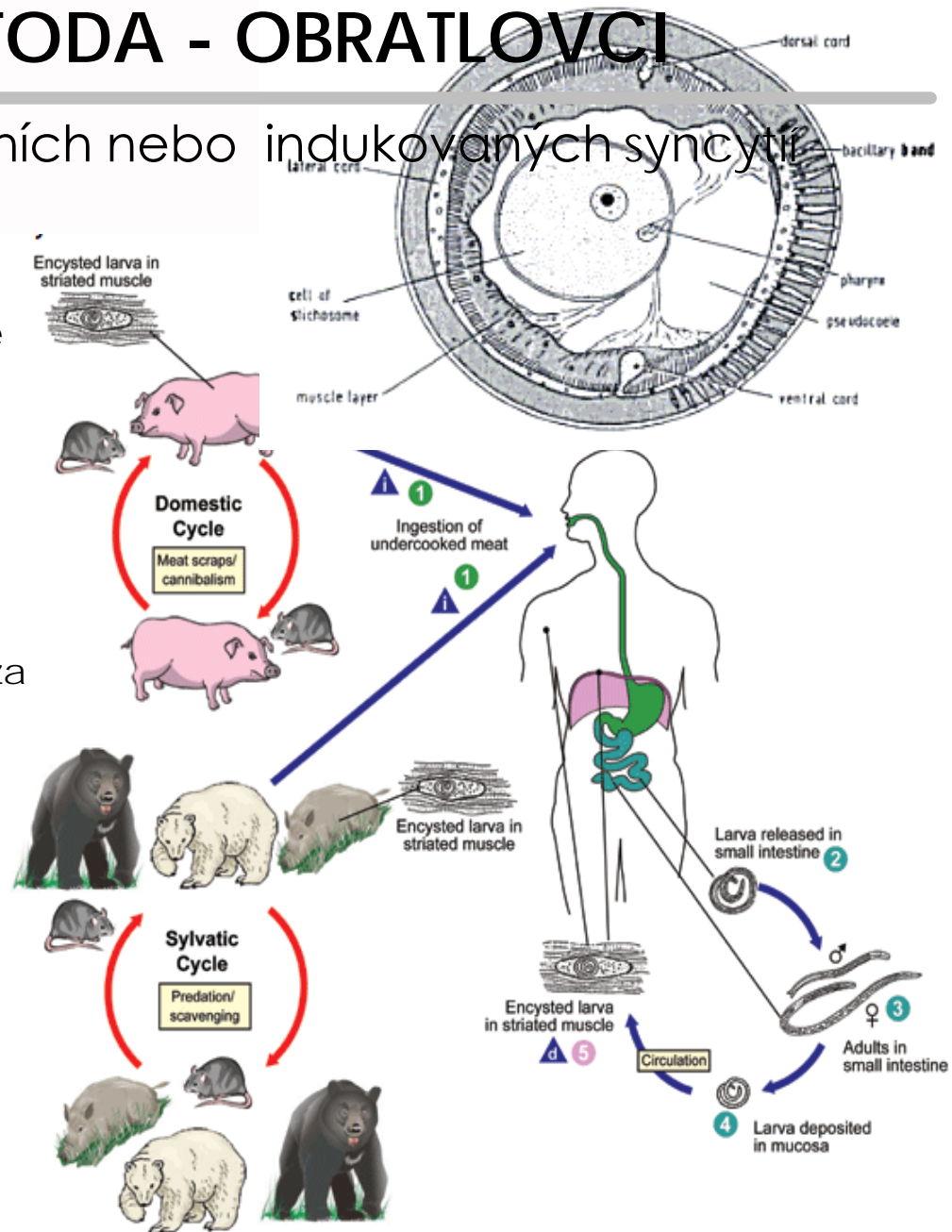
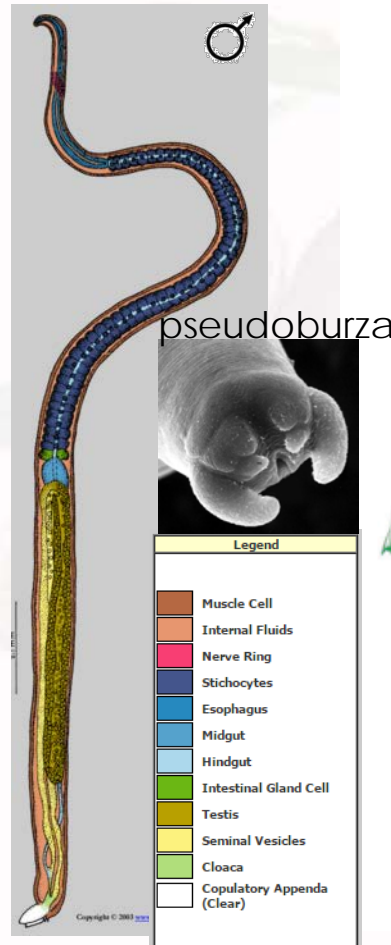
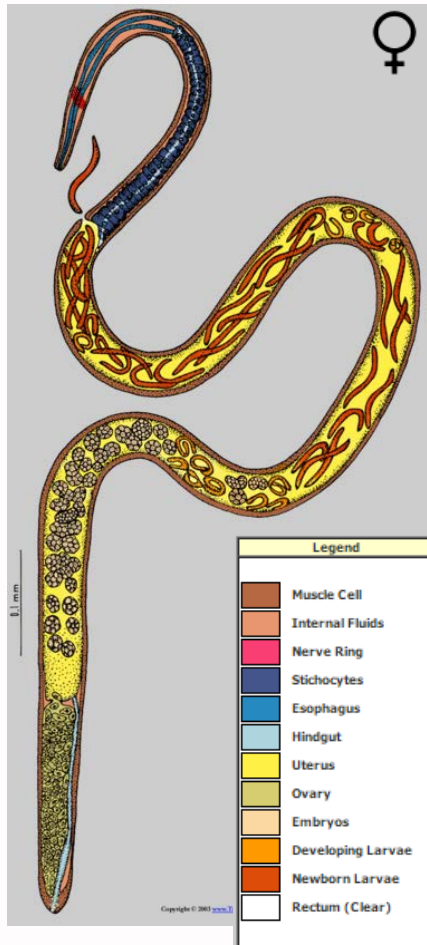
INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeleď Trichinellidae

Trichinella spiralis

- dospělci lokalizováni intracelulárně



- čeleď **Trichinellidae**

- paraziti střeva a kosterního svalstva vyšších obratlovců včetně člověka
- více než 150 vnímavých druhů zvířat (zejména masožravci, i hlodavci, prasata, koně, ptáci, atd.)



***Trichinella* life cycle**

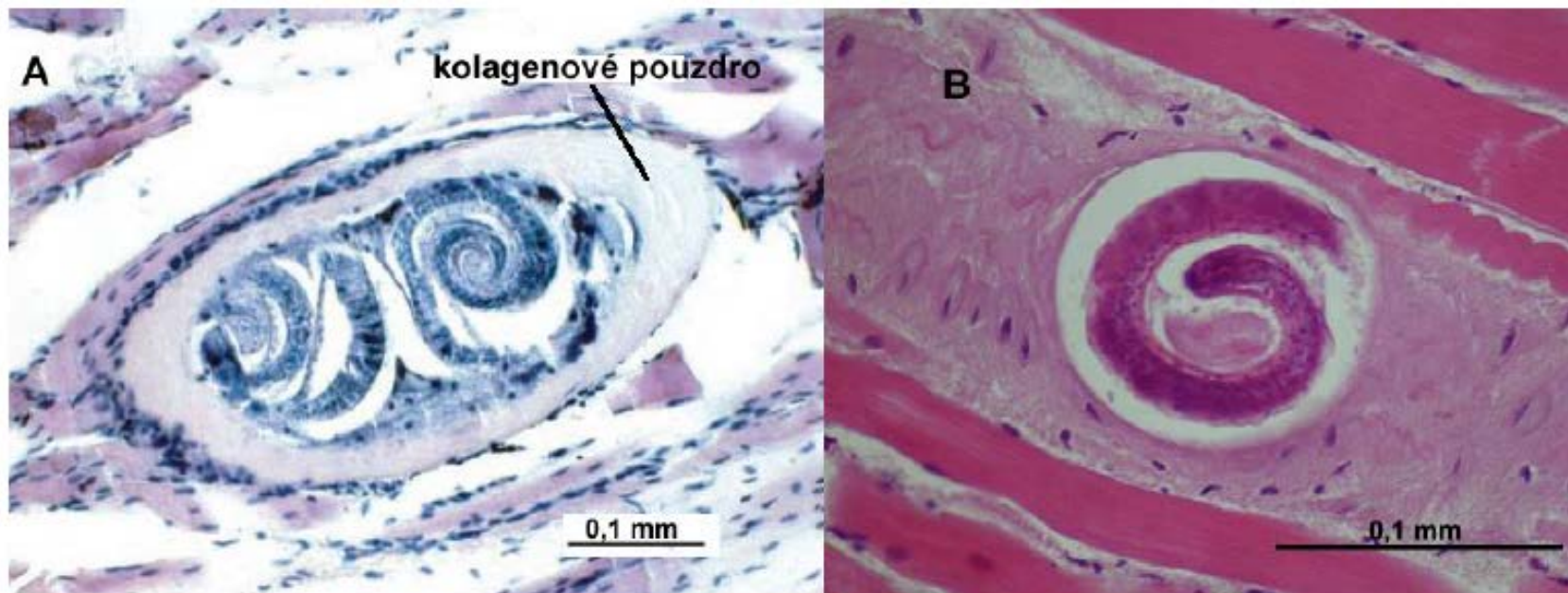
INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeleď *Trichinellidae*

- 9 z popsaných dvanácti zástupců (*Trichinella spiralis*, *T. britovi*, *T. nativa*, *T. murelli*, *T. nelsoni*, genotyp T6, T8 a T9) kolem sebe vytváří silné kolagenové pouzdro – „nurse cell“ (nové druhy *T. patagoniensis*)

- 3 zástupci - *Trichinella pseudospiralis*, *T. papuae* a *T. zimbabwensis* kolem sebe kolagenní pouzdro netvoří. Larvy se mohou ve svalové buňce volně pohybovat



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

čeleď Trichinellidae - hostitelské spektrum

Genotyp	Kolagenové pouzdro	Výskyt	Hostitel
<i>T. spiralis</i> (T1)	Přítomné	Celosvětový	Savci, člověk
<i>T. nativa</i> (T2)	Přítomné	Arktické a subarktické oblasti Evropy, Asie a Ameriky	Savci, člověk
<i>T. britovi</i> (T3)	Přítomné	Evropa, jihozápadní Asie a severozápadní Afrika	Savci, člověk
<i>T. pseudospiralis</i> (T4)	Chybí	Celosvětový	Ptáci, savci, člověk
<i>T. murrelli</i> (T5)	Přítomné	Kanada, USA, Mexiko	Savci, člověk
Genotyp T6	Přítomné	Kanada, USA	Savci, člověk
<i>T. nelsoni</i> (T7)	Přítomné	Střední až jižní Afrika	Savci
Genotyp T8	Přítomné	Jižní Afrika	Savci
Genotyp T9	Přítomné	Japonsko	Savci
<i>T. papuae</i> (T10)	Chybí	Thajsko, Indonéské ostrovy, Austrálie, Papua Nová Guinea	Plazi, savci, člověk
<i>T. zimbabwensis</i> (T11)	Chybí	Subsaharská Afrika	Plazi, savci
<i>T. patagoniensis</i> (T12)	Přítomné	Argentina	Savci

INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií
čeled' Trichinellidae - hostitelské spektrum

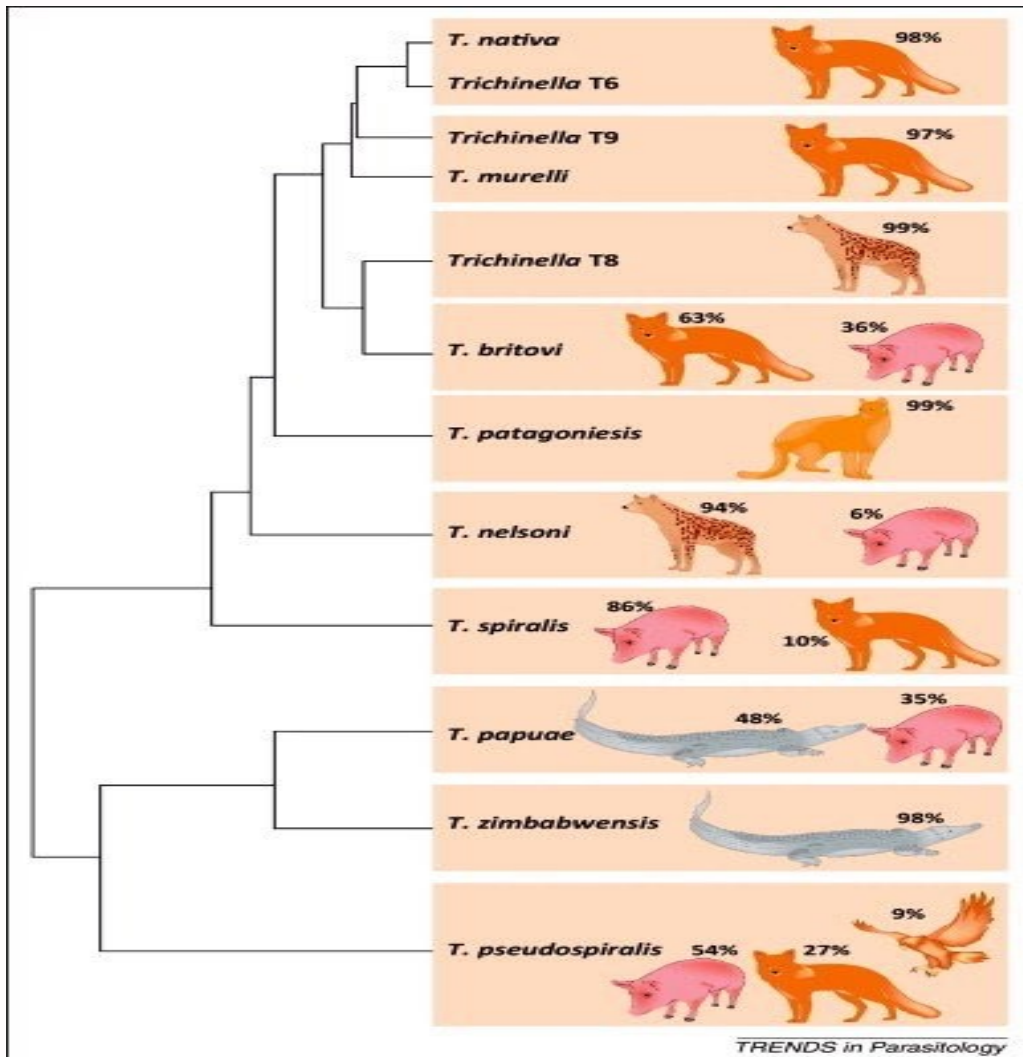


Figure 2. *Trichinella* taxa and their main hosts. The fox and hyena are shown as representatives of carnivores of the American, Asian, and European continents, and of Africa, respectively. The pig is meant to represent all domestic and wild swine races and species. The crocodile represents the Nile crocodile (for *Trichinella zimbabwensis*) or the saltwater crocodile (for *Trichinella papuae*). The raptorial bird represents carnivorous birds. The percentages refer to the probability of detecting the *Trichinella* taxon in a host group. Host groups of minor epidemiological importance are not shown. Data on the relationships between *Trichinella* spp. and hosts, and the maximum likelihood tree of the genus *Trichinella* are from [1].

(Pozio, Trends in Parasitology 2014)

INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeled' Trichinellidae - *Trichinella* spp. **ve světě**

Principal features of *Trichinella* species and genotypes and amplicon sizes by multiplex PCR (Pozio et al., 1999a,b, 2002; Zarlenga et al., 1999; Krivokapich et al., 2008) or PCR-RFLP (Nagano et al., 1999).

<i>Trichinella</i> species or genotype	Distribution	Cycle	Natural hosts	Amplicon size by multiplex PCR	Amplicon size by PCR-RFLP (Mse I)
Encapsulated					
<i>T. spiralis</i>	Cosmopolitan ^a	Domestic and sylvatic	Swine, rats, seldom carnivores	173 bp	22, 70, 126, 201 bp
<i>T. nativa</i>	Arctic and subarctic areas of Holoarctic region ^b	Sylvatic	Terrestrial and marine carnivores	127 bp	22, 70, 327 bp
<i>Trichinella</i> T6	Canada and United States	Sylvatic	Camivores	127, 210 bp	22, 70, 327 bp
<i>T. britovi</i>	Temperate areas of Palearctic region ^c , northern and western Africa	Sylvatic, seldom domestic	Camivores, seldom swine	127, 253 bp	22, 62, 64, 70, 201 bp
<i>Trichinella</i> T8	South Africa and Namibia	Sylvatic	Camivores	127, 253 bp	22, 62, 64, 70, 201 bp
<i>T. murrelli</i>	Temperate areas of Nearctic region	Sylvatic	Camivores	127, 316 bp	92, 126, 201 bp
<i>Trichinella</i> T9	Japan	Sylvatic	Camivores	127, 253 bp	92, 327 bp
<i>T. nelsoni</i>	Ethiopic region	Sylvatic	Camivores, seldom swine	127, 404 bp	62, 64, 70, 223 bp
<i>Trichinella</i> T12	Argentina	Sylvatic	Camivores	127 bp	unknown
Non-encapsulated					
<i>T. pseudospiralis</i>	Cosmopolitan	Sylvatic, seldom domestic	Mammals and birds	310 ^d , 340 ^e , 360 ^f bp	419 bp ^d unknown ^{e,f}
<i>T. papuae</i>	Papua New Guinea, Thailand	Sylvatic, seldom domestic	Swine, saltwater crocodiles	240 bp	Unknown
<i>T. zimbabwensis</i>	Ethiopia, Mozambique, South Africa, Zimbabwe	Sylvatic and domestic	Nile crocodiles, Nile monitor lizards, lion	264 bp	Unknown

^a This species has not been detected in arctic regions.
^b The isotherm -4 °C in January is the southern limit of distribution.
^c The isotherm -6 °C in January is the northern limit of distribution.
^d Palearctic region.
^e Nearctic region.
^f Australian (Tasmania) region.

(Pozio et al., International Journal for Parasitology, 2009)

Genotyp T12 z jihoamerických pum je nyní novým druhem: *T. patagoniensis* (popis 2012).

INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeleď Trichinellidae - - *Trichinella* spp. v Evropě

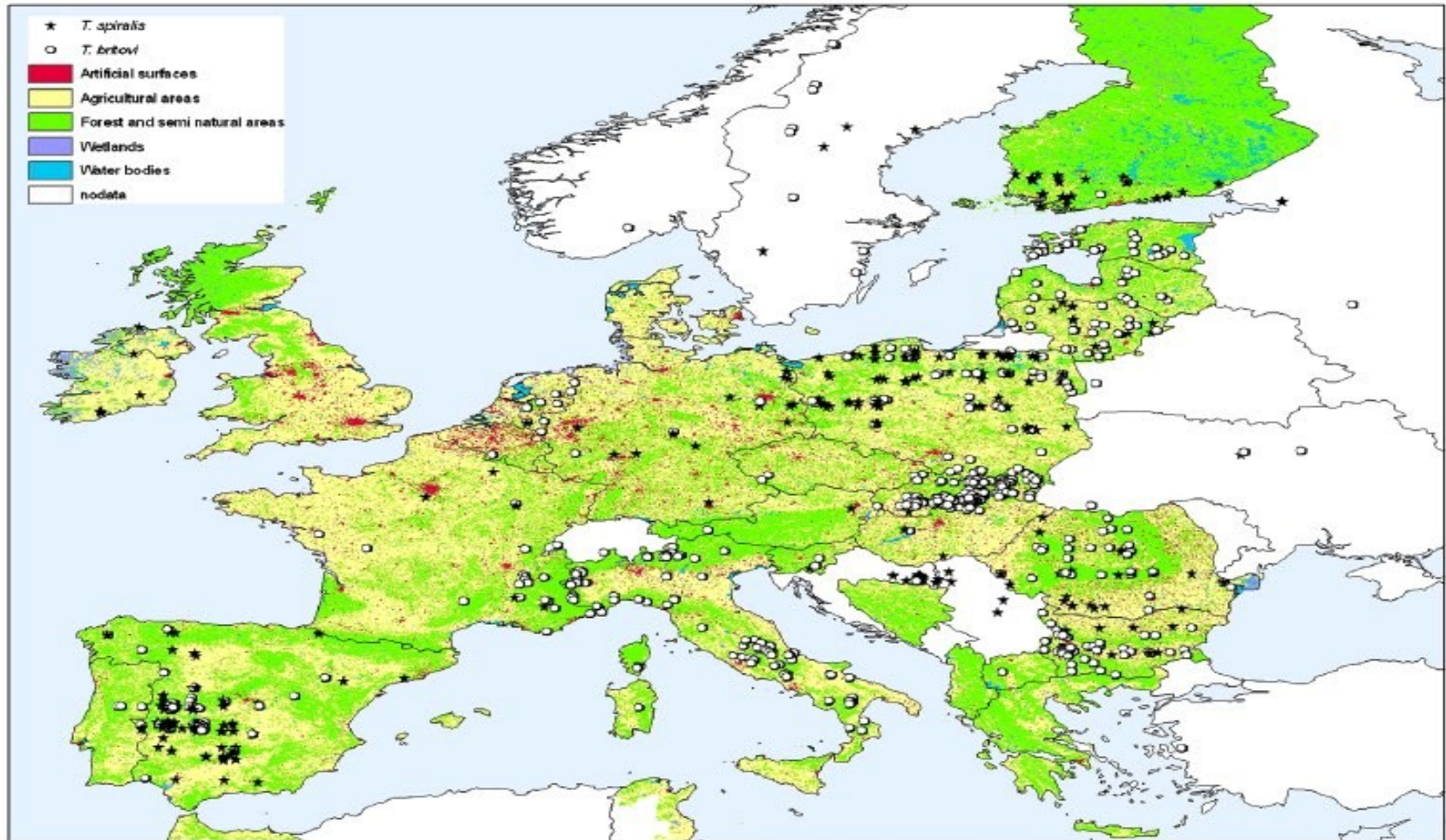


Fig 1. Distribution of *Trichinella spiralis* isolates (black stars) and *Trichinella britovi* isolates (white circles) in Europe.

INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- **čeleď Trichinellidae - *Trichinella* spp. v České republice**

- *T. spiralis* - dospělci ve střevě savců (krysy, prasata, šelmy, člověk)
 - kosmopolitní
 - u nás vzácně (1954 Smrdov u Pacova – 11 lidí infikováno, z toho 3 úmrtí)
 - východní Evropa - některé vesnice až 50% infikovaných prasat
- *T. britovi*
 - 1998 – Slovensko, obec Valaska – asi 250 nakažených

Monitoring trichinelózy zvířat v České republice – historie a současnost

B. KOUDELA¹, J. HARNA², M. PIJÁČEK²

¹Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, ²Státní veterinární ústav, Olomouc

2011

INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

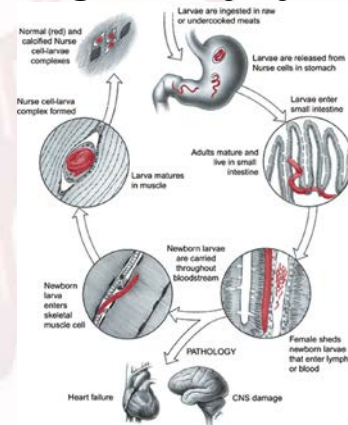
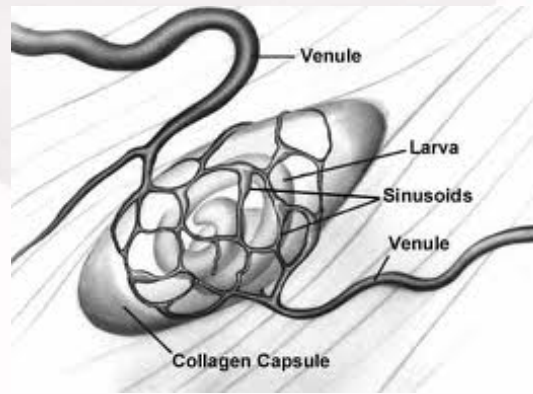
Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- **čeleď Trichinellidae**

ŽC - jsou ovoviviparní – po uvolnění L1 z kolagení kapsuly (v žaludku) přechází do tenkého střeva (dospívají 2 dny L2-L4), po kopulaci se **samice zavrtávají do epitelu střeva** (žijí zde až 6 týdnů) a kladou larvy, které penetrují stěnou střeva do krevního systému => roznesení po těle hostitele

- **z cév vystupují v příčně pruhovaném svalstvu** (zejména bránici, hrtanu, jazyku, čelistech, mezižeberních a dalších svalech) - **vstupují do svalových vláken (syncytií) a přetvoří je na zvláštní útvary (tzv. „nurse cells“)** (zapojení exkrečně-sekrečních produktů - vaskulární endoteliální růstový faktor – VEGF - signalizační protein podílející se na vzniku vyživovacího systému „vasculogenesis“ v okolí napadené buňky a napojení krevních cév z již existujícího cévního systému „angiogenesis“)

- „nurse cells“ - postrádají kontraktilní elementy (aktin, myosin, tropomyosin), část jejich jader je zvětšena (za stavení buněčného cyklu ve fázi G2/M) – tvorba kolagenní cysty kolem parazita (vyživování nově vytvořenou sítí krevních vlásečnic

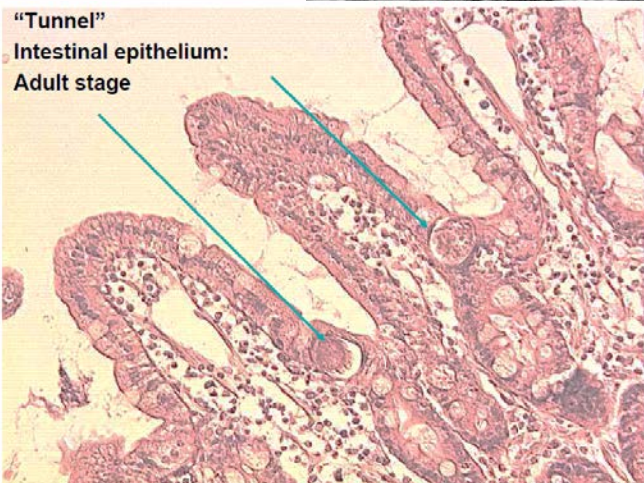
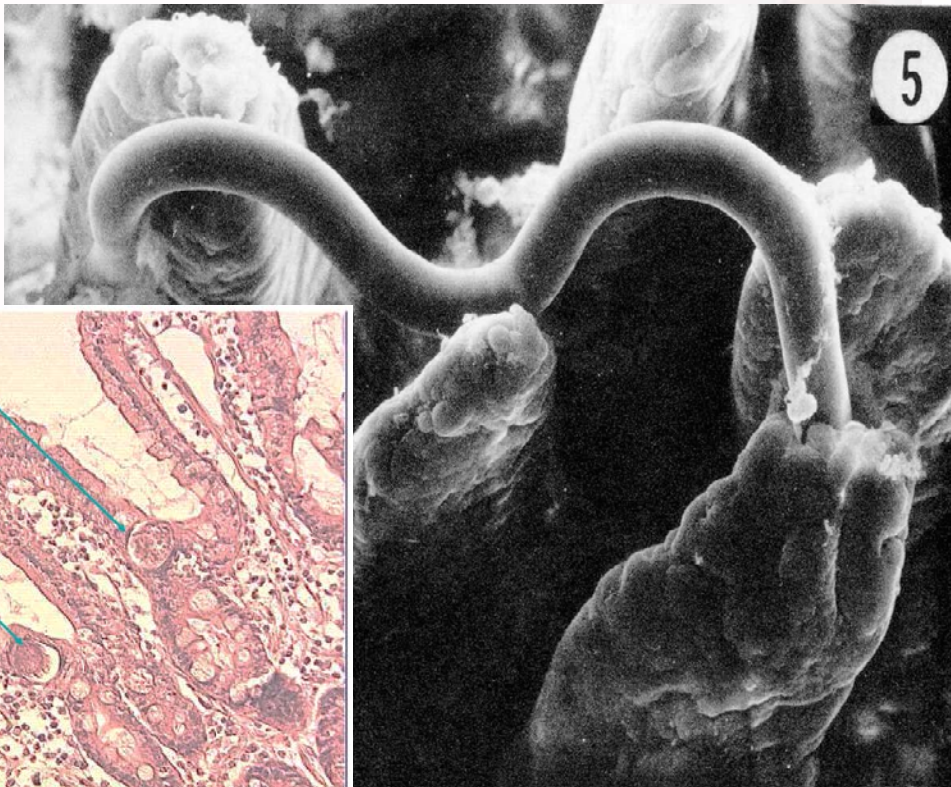


INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeleď **Trichinellidae** – **střevní fáze**

- **životní cyklus – střevní fáze** ♀
 - pohyb ve střevním epitelu – tvorba tunelu
 - záněty sliznice, průjmy (někdy krvavé)



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

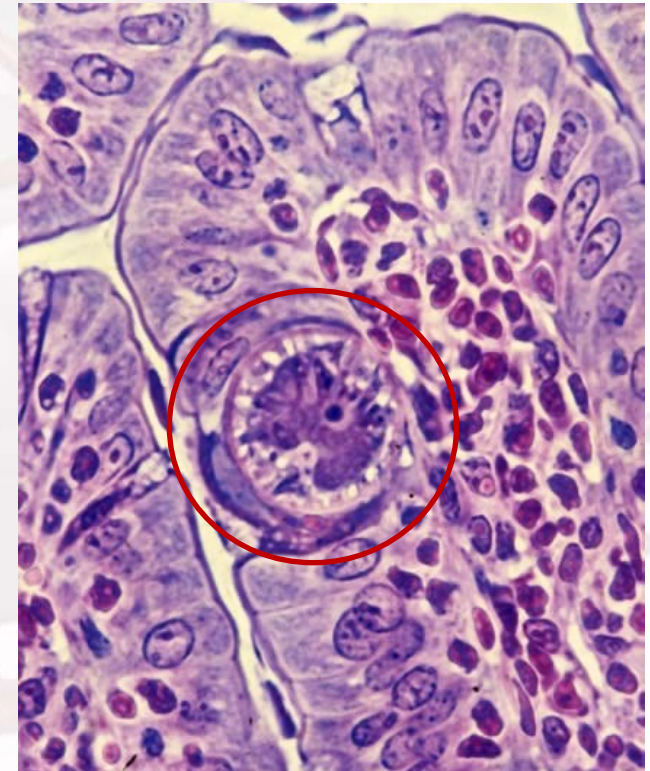
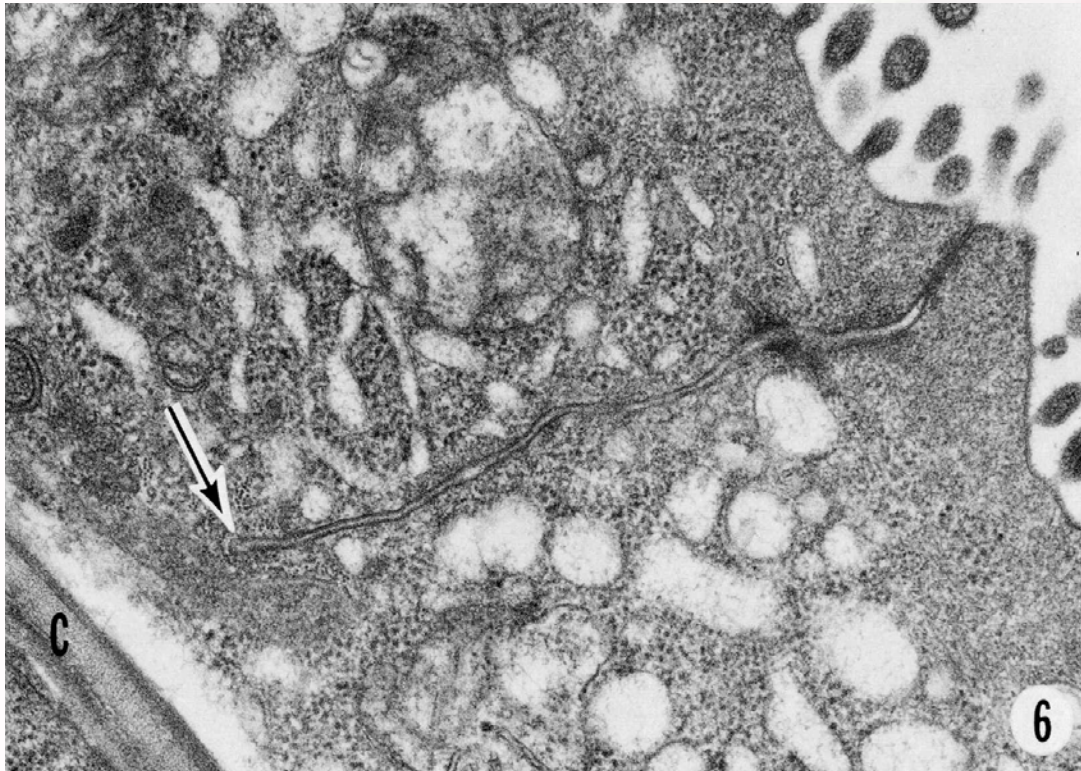
Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeled' **Trichinellidae** – **střevní fáze**

Tunel - syncytium: buňky v řadě za sebou

dospělci - asi 450 epiteli

Ztráta membrán: přímý kontakt s cytoplasmou zánětlivé procesy s destrukcí mikrovilů



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- **čeled' Trichinellidae – střevní fáze**

- rozpoznání správného úseku střeva
- význam glykosylace střeva (detekce vazbou WGA na enterocyty potkana)
- při infekci *Trichinella spiralis* snížení vazby WGA

Dominantní antigen Trichinell TREHALASE – vliv na enterocyty – (imunitní) reakce – snížení vazby WGA – při reinfekci *Trichinella* nerozpozná správnou část střeva

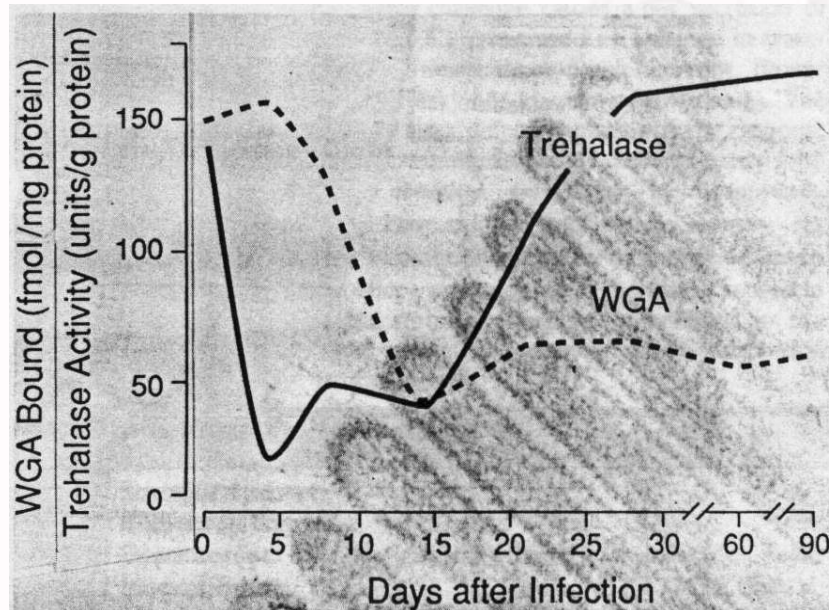


Fig. 3. Reduction in intestinal epithelial cell brush border digestive activity (trehalase) and lectin (wheat germ agglutinin, WGA) binding capacity in the rat after infection with *Trichinella spiralis*. Summary of data from Ref. 31. Background: brush border.

Evaluation of a Possible Functional Relationship between Chemical Structure of Intestinal Brush Border and Immunity to *Trichinella spiralis* in the Rat

Yael Harari and Gilbert A. Castro
The Journal of Parasitology
 Vol. 74, No. 2 (Apr., 1988), pp. 244-248

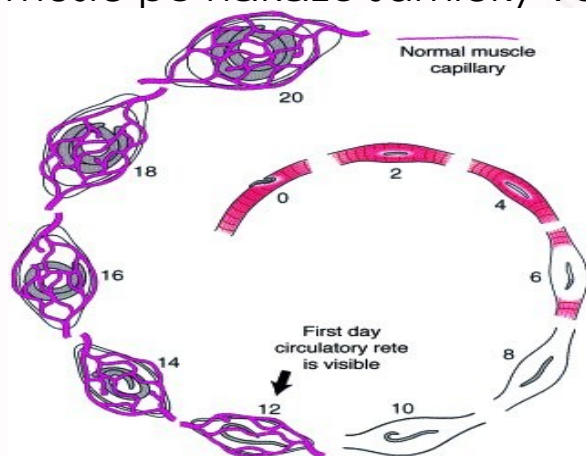


INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

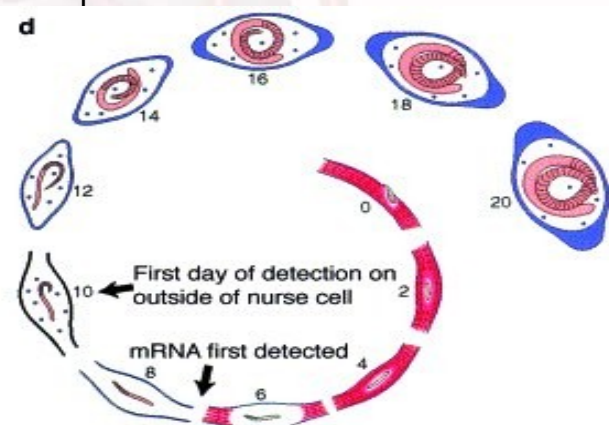
Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

• čeled' Trichinellidae – svalová fáze

- změny ve svalovém vlákně - desintegrace kontraktilních elementů, tvorba kolagenní kapsule, angiogeneze, zvětšování a dělení jader, produkce specifických antigenů parazita angiogeneze
- usazování larev ve svalovině - dysfunkce, v případě životně důležitých dýchacích svalů až smrt
- časté otoky a bolestivosti svalů, poruchami hybnosti jazyka, očních i jiných svalů, horečky a eozinofilie.
- po uhynutí samic ve střevě (cca 1 měsíc) Asi za
- měsíc po nákaze samičky ve stře - postupné odeznívání příznak



dezintegrace kontraktilních elementů
do 8 dnů po vniknutí larvy, absence
myosinu i jeho RNA transkriptů, aktinu, tropomyosinu



tvorba kolagenní kapsule

syntéza mRNA pro kolagen IV začíná 7. den po vniknutí larvy, končí 26. den; samotný protein prokázán 11. den; syntéza kolagenu VI pokračuje neomezeně

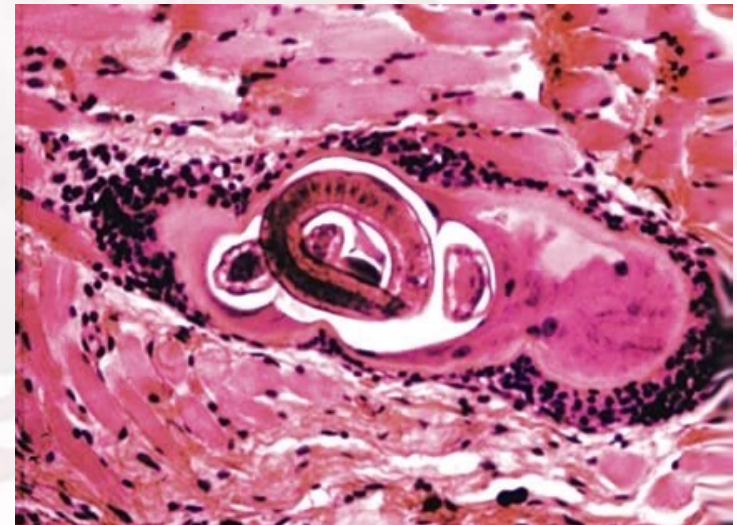
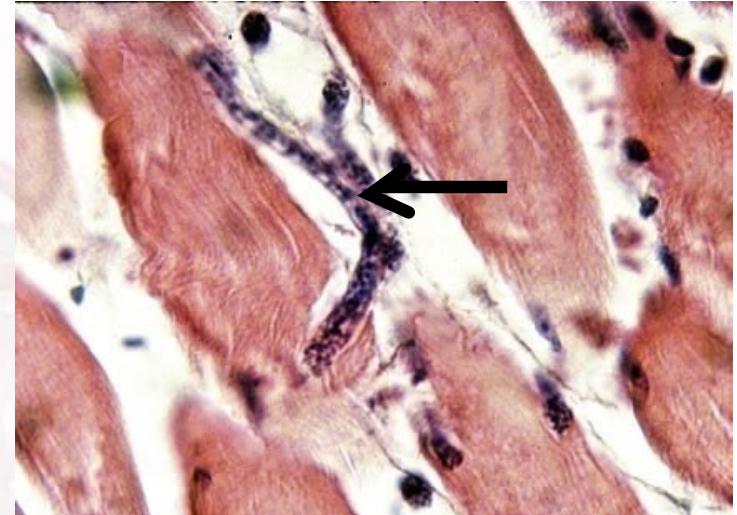
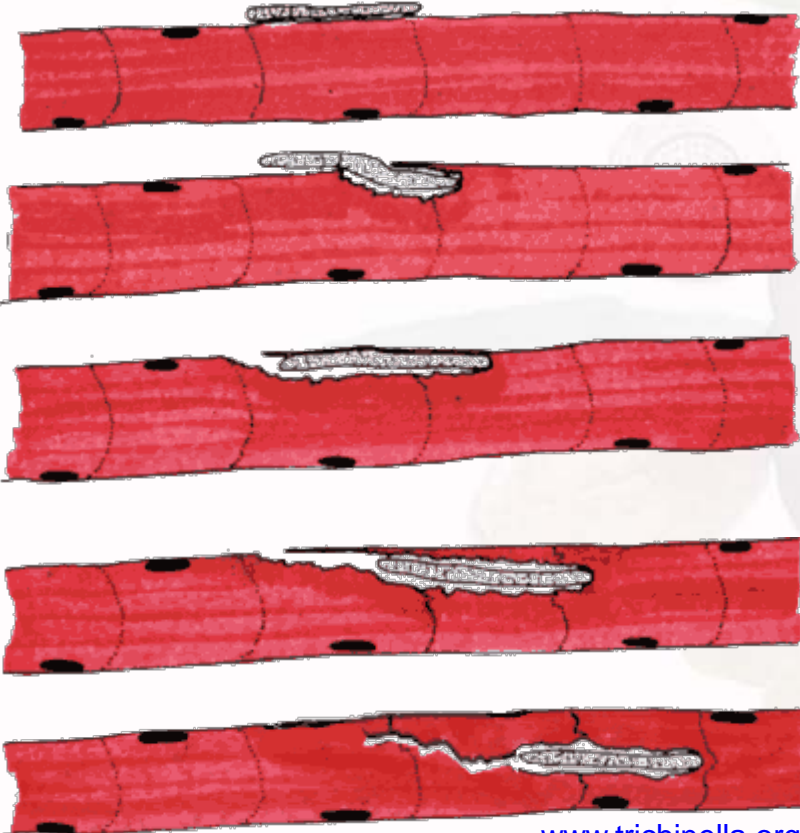
terapie: mebendazol nebo albendazol, někdy terapie kombinována s kortikoidy

INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeled' *Trichinellidae* – svalová fáze

Tunel - syncytium: buňky v řadě za sebou
u larev - asi 120 epitelí
příčně pruhované svaly larva asi 900 μm dlouhá



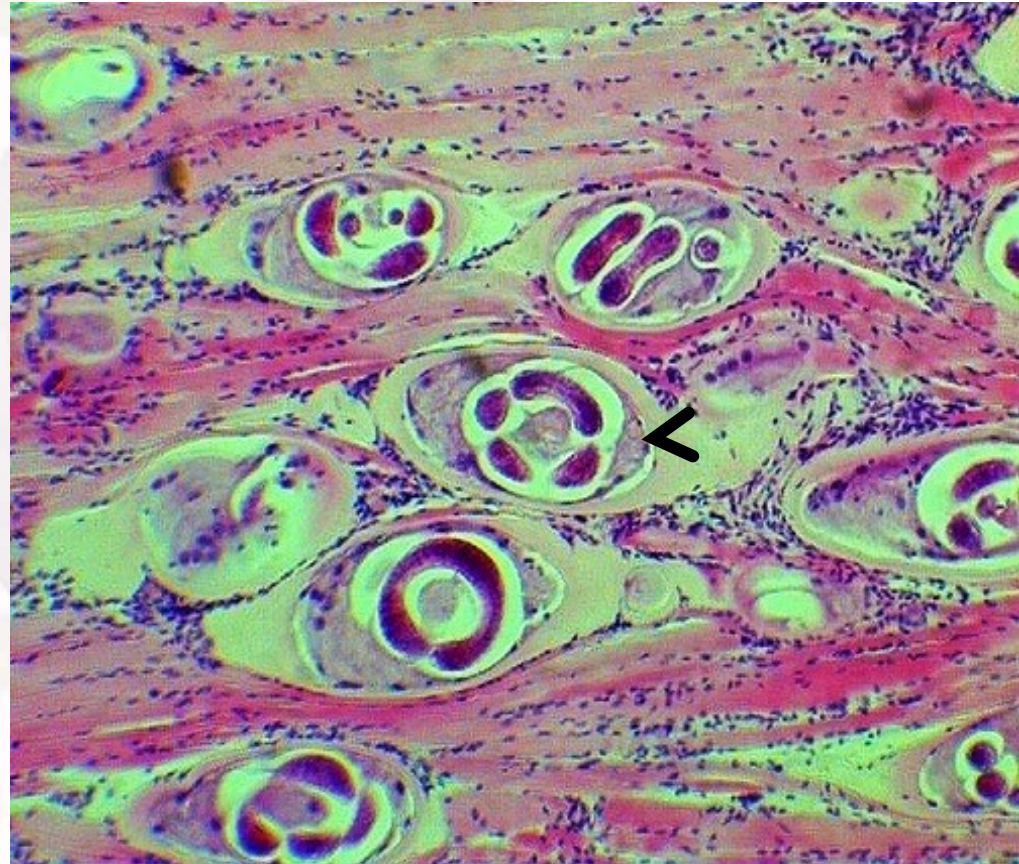
INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeled' *Trichinellidae* – svalová fáze

tvorba kolagenní kapsule - tloušťka až 30 μm složena jen z urč. typů kolagenů (IV a VI)

u reparace poškozených svalů (ne parazity) uváděna tvorba kolagenu I a III



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

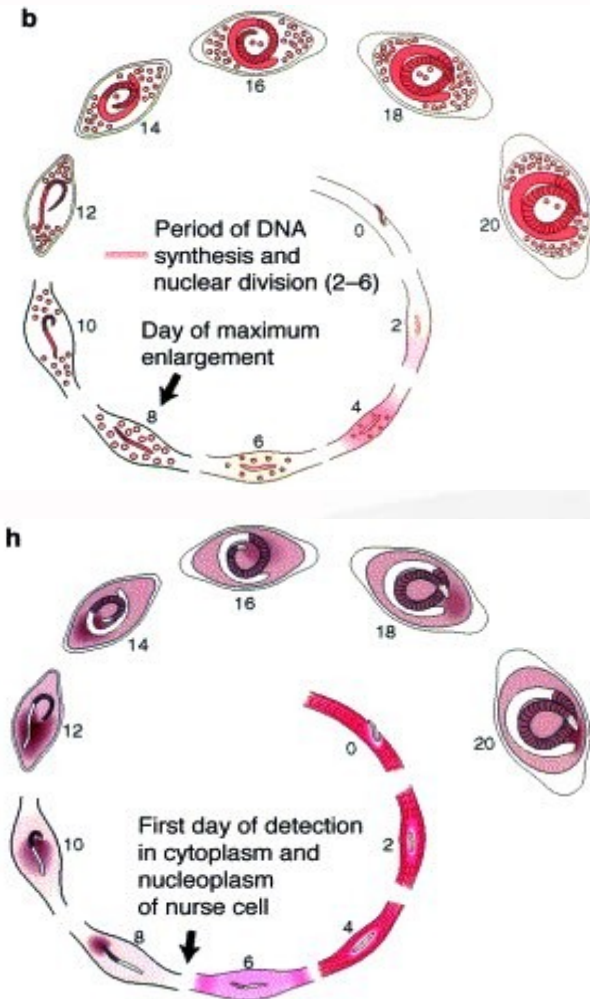
- čeleď Trichinellidae – svalová fáze



INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

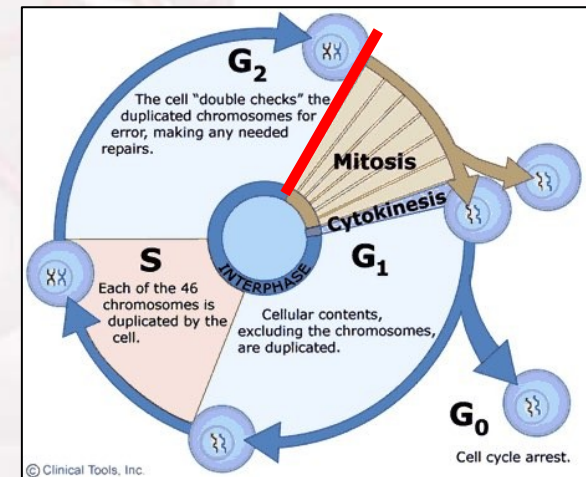
Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeled' *Trichinellidae* – svalová fáze



Zvětšování a dělení některých jader - asi na počet 40-60 (i více), 8. den maximum

jádra infikovaných svalových vláken - indukce syntézy DNA až do stavu 4N, buněčný cyklus pozastaven v G2/M fázi



Produkce specifických antigenů parazita ("parakinů")
od 7. dne po proniknutí, často glykozylace zvláštním sacharidem tyvelózou (3,6- dideoxy arabinohexóza), interakce s jádrem (DNA vázající proteiny, myogenní regulační faktory)

- **charakteristika hlavních zástupců**

Trichinella spiralis (genotyp T1; délka samečci 1,0 až 1,8 mm, samičky 1,3 až 3,7 mm) byla objevena jako první zástupce rodu *Trichinella*. Popsal ji R. Owen a J. Paget v Anglii již v roce 1835 (Pozio a Zarlenga, 2013). Původně pochází z východní Asie, ze které byla rozšířena migrací lidí doprovázených infikovanými prasaty a krysami (Zarlenga a kol., 2006). Doposud byla identifikována v 36 zemích všech kontinentů hlavně v mírných a subtropických oblastech (Pozio, 2007) (Obr. č. 3). Infikuje široké spektrum savců, především domácí a divoká prasata. Je hlavním původcem onemocnění člověka.

Trichinella nativa (genotyp T2; délka samečci 1,0 až 1,8 mm, samičky 1,3 až 3,7 mm) byla popsána v roce 1972 (Pozio a Zarlenga, 2013). Vyskytuje se v arktických a subarktických oblastech Ameriky, Evropy a Asie (Pozio, 2007) (Obr. č. 3). Hostitelskou skupinou jsou suchozemské a vodní šelmy (medvědi, lišky, vlci, tuleni a mroži), ale také prasata a jiná domácí zvířata. Larvy dokáží přežívat ve zmrzlé svalovině masožravců i několik let (Kapel a kol., 1999). Infekce u člověka byla zaznamenána po požití infikovaného masa medvědů a mrožů (Schellenberg a kol., 2003; Serhir a kol., 2001). Velmi podobným *T. nativa* je genotyp T6 (La Rosa a kol., 2003b).

Trichinella britovi (genotyp T3; délka samečci 1,0 až 1,9 mm, samičky 2,2 až 3,4 mm) byla poprvé zmíněna v práci, kterou napsal Pozio a kol. (1992). Je rozšířena v mírných oblastech Evropy i Asie a na severozápadě Afriky (Pozio, 2007) (Obr. č. 3). Napadá masožravé savce. V Evropě se ve vysokých frekvencích vyskytuje také u divokých prasat, v porovnání s *T. spiralis* je ale méně patogenní (Kapel a Gamble, 2000). Je druhým nejčastějším infekčním agens člověka. Blízce příbuzný a často zaměňovaný s *T. britovi* je genotyp T8 (Pozio a kol., 1992).

Trichinella pseudospiralis (genotyp T4; délka samečci 0,6 až 0,9 mm, samičky 1,3 až 2,1 mm) byla popsána v roce 1972 (Pozio a Zarlenga, 2013). Celosvětově jsou rozeznávány tři populace tohoto druhu – palearktická, nearktická a australská (La Rosa a kol., 2001) (Obr. č. 3). Hlavními hostiteli jsou draví ptáci, kteří svou migrací pravděpodobně způsobili kosmopolitní rozšíření této hlístice (Pozio, 2005). Je nalézána také u masožravých savců a divokých i domácích prasat. V mnoha případech byla prokázána i u člověka.

INTRACELULÁRNÍ NEMATODA - OBRATLOVCI

Paraziti buněk a syncytií - původních nebo indukovaných syncytií

- čeleď **Trichinellidae** – **exkrečně-sekreční produkty**

průkaz E-S produktů imunohistochemicky

E-S produkty působí změny svalových buněk i bez přítomnosti parazita

... ale larvy bez funkčního stichosomu navozují zpožděnou dediferenciaci svalových buň.

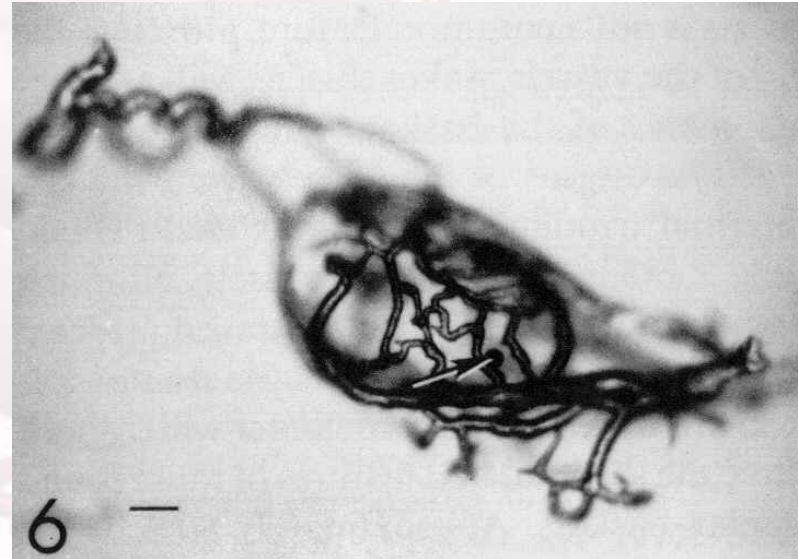
... asi existují i jiné antigeny produkované před dozráním stichosomu



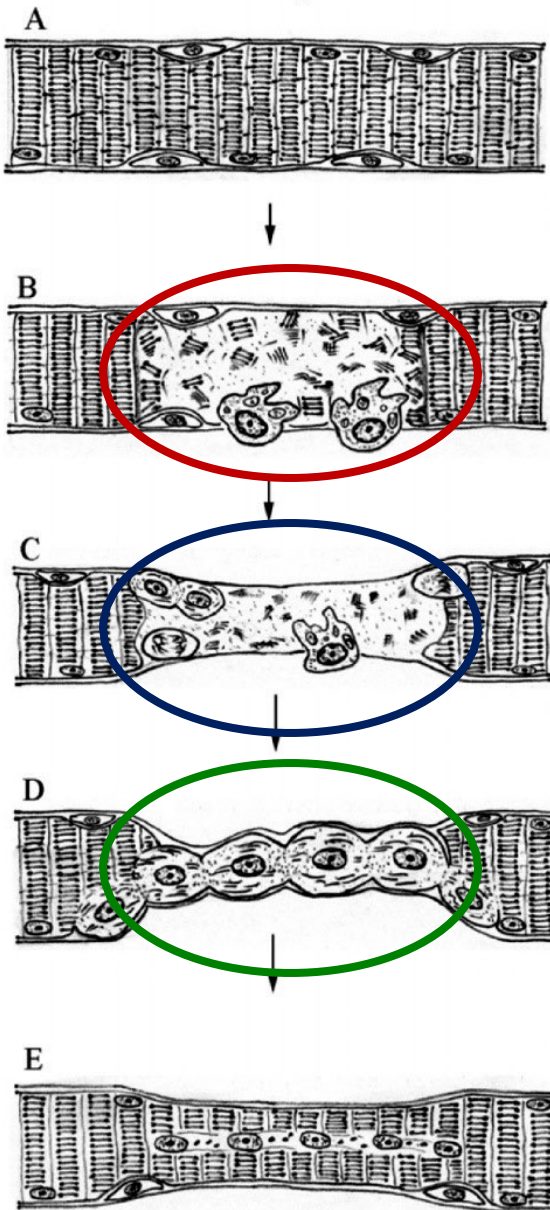
By: S.M. Sadjadi
parasito@sums.ac.ir

od 12. dne po proniknutí larvy tvorba

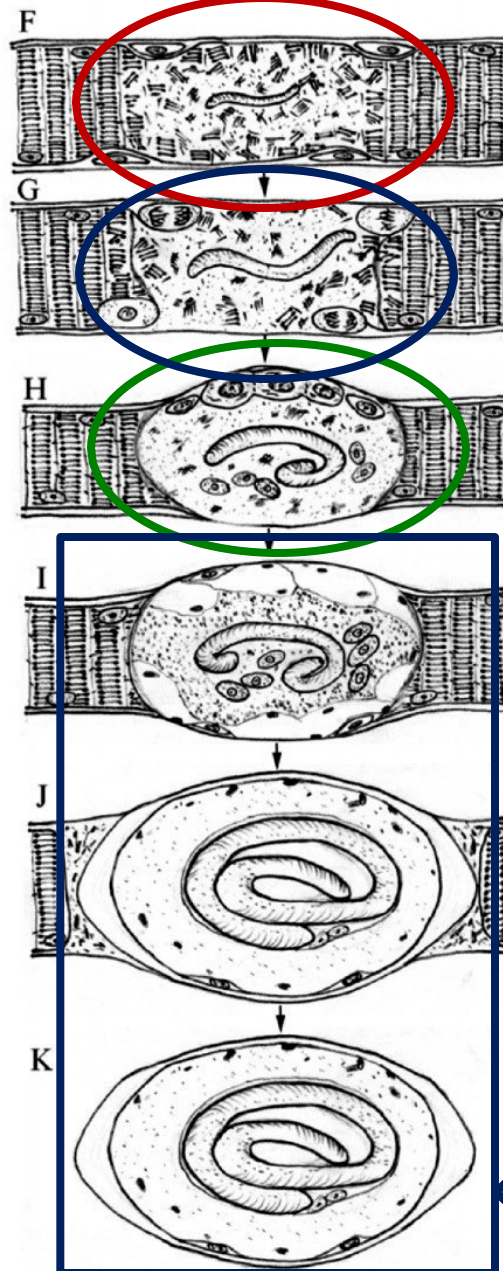
tzv. „**nurse cell**“, stimulace tvorby VEGF peptidu (vascular endothelial growth factor - odpověď na hypoxii ?) - angiogeneze



Muscle cell regeneration



Nurse cell formation



poškození svalu (např.
mechanicky či parazitem)
**nekróza (při velkém
poškození) nebo apoptóza
(při menším poškození
způsobeném trichinelou)**

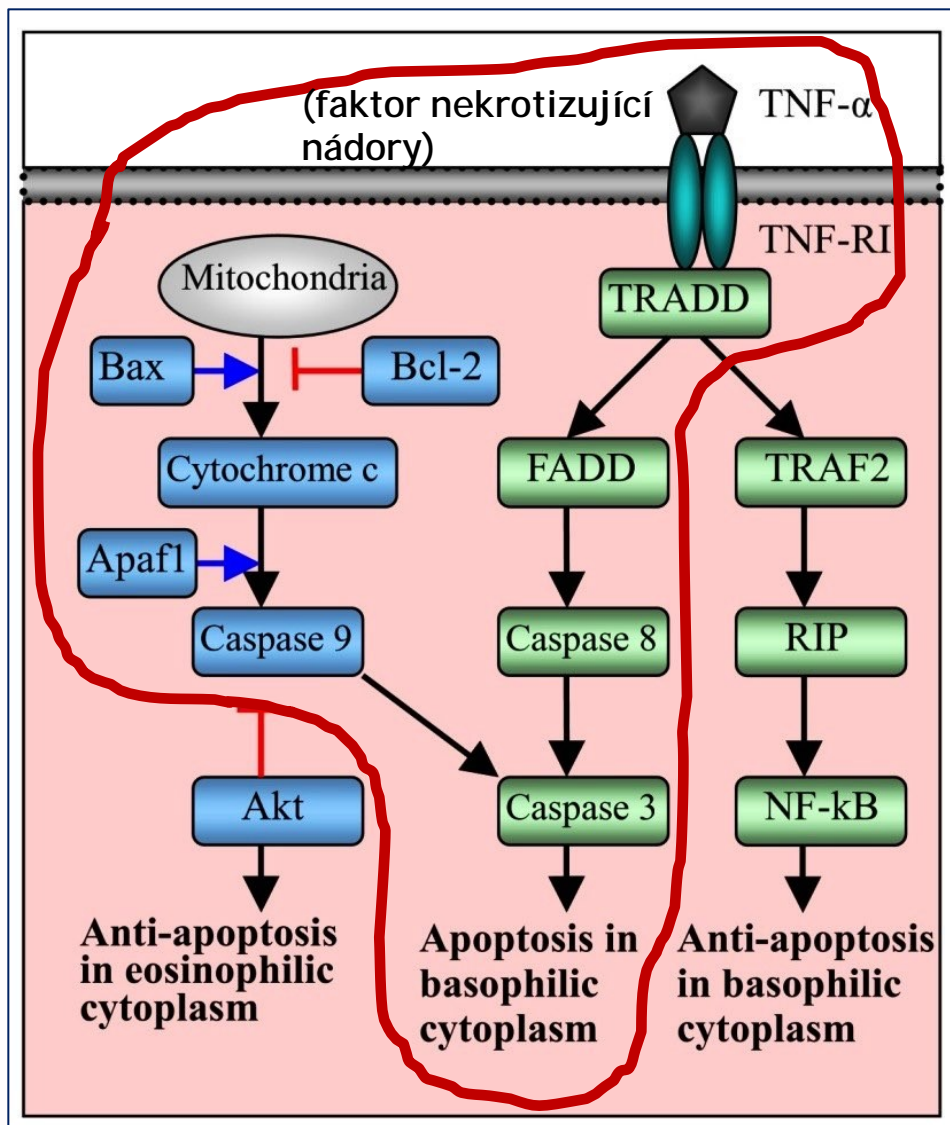
**APOPTÓZA: "bazofilní
cytoplasma", dezintegrace
kontraktilních elementů,
bobtnání mitochondrií +
náhrada malými
mitochondriemi a zvětšení
jader**

**proliferace, diferenciace a
fúze aktivovaných satelitních
buněk**

"parasite home = nurse cell"

(Wu et al., Parasites and Vectors 2008)

APOPTÓZA LIKVIDUJE PŮVODNÍ POŠKOZENOU ČÁST SVALOVÉHO VLÁKNA



(Wu et al., Parasites and Vectors 2008)

obě **signalizační kaskády pro apoptózu** prokázány u infikovaných svalů (v bazofilní cytoplasmě):

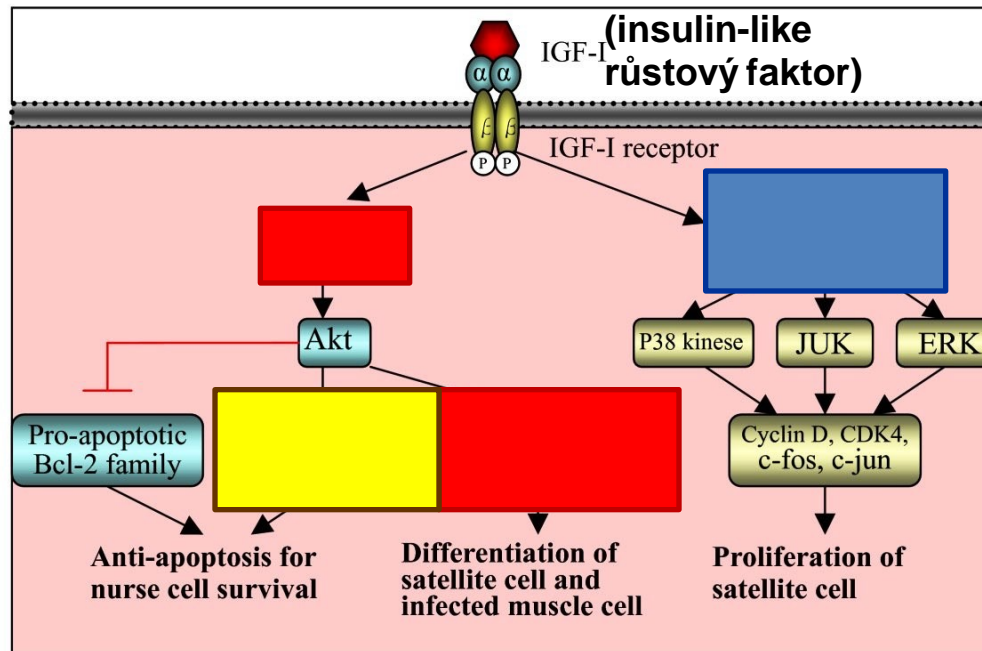
- cesta aktivace receptorů smrti
- cesta aktivace mitochondrie

efektorové molekuly - kaspázy (cysteinové peptidázy)

substráty kaspáz jsou regulačně a strukturně důležité buněčné bílkoviny např. pro reparaci DNA, sestřih RNA, součásti jaderné membrány a cytoskeletu



"bazofilní cytoplasma" pocházející z původních poškozených částí svalu je likvidována



AKTIVACE SATELITNÍCH BUNĚK PŘI TRICHINELÓZE

zvýšená exprese IGF po aktivaci "fosfatidylinositol 3-kinase" dráhy

zvýšená exprese myogenních regulačních faktorů, např. **MyoD a myogeninu**

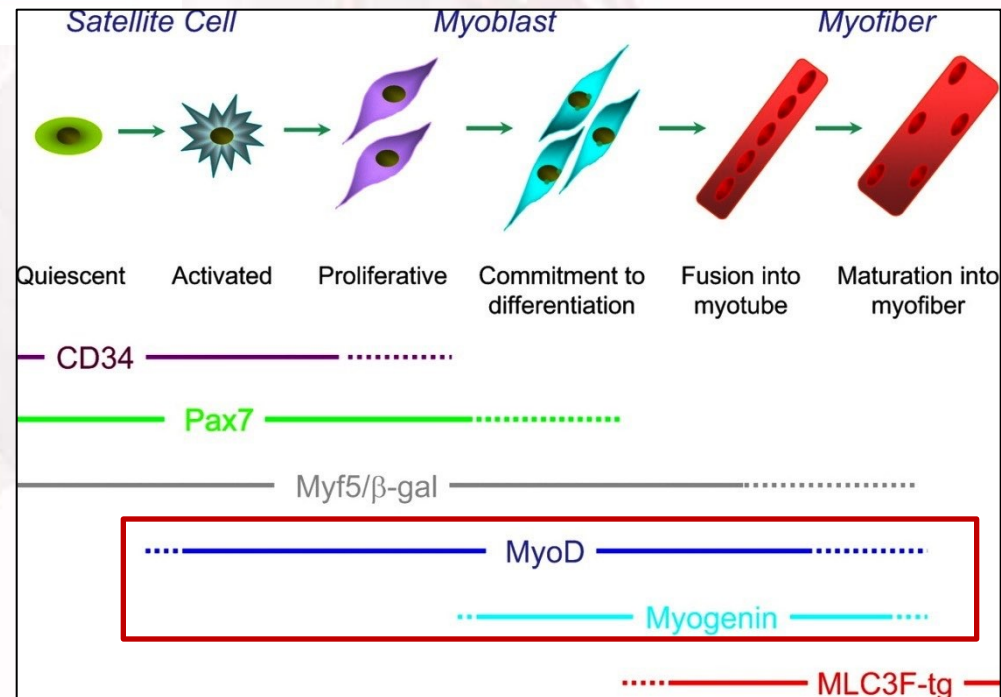
zvýšené hodnoty složek "mitogen activated protein kinase" dráhy

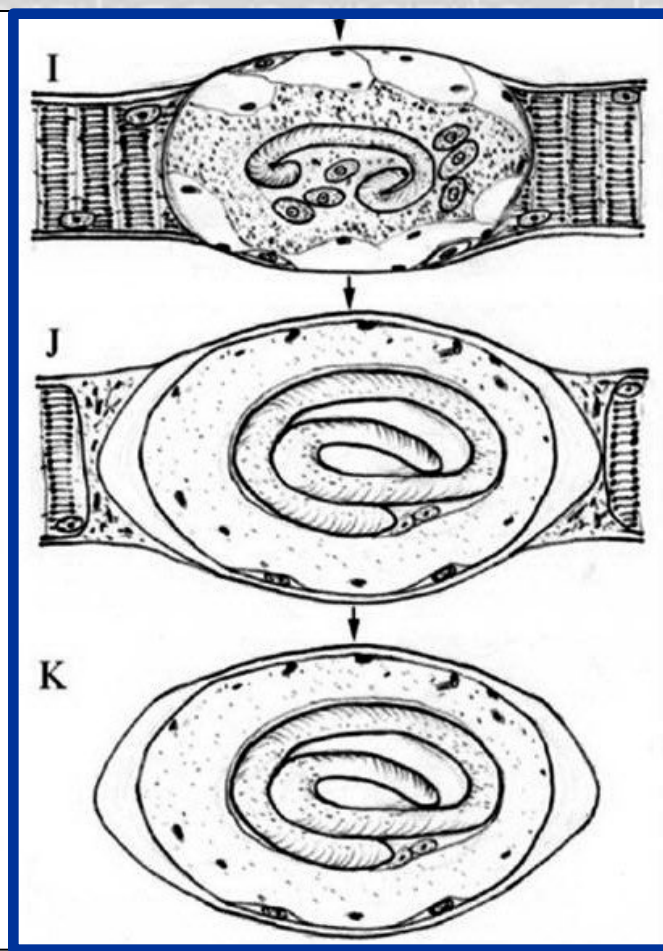
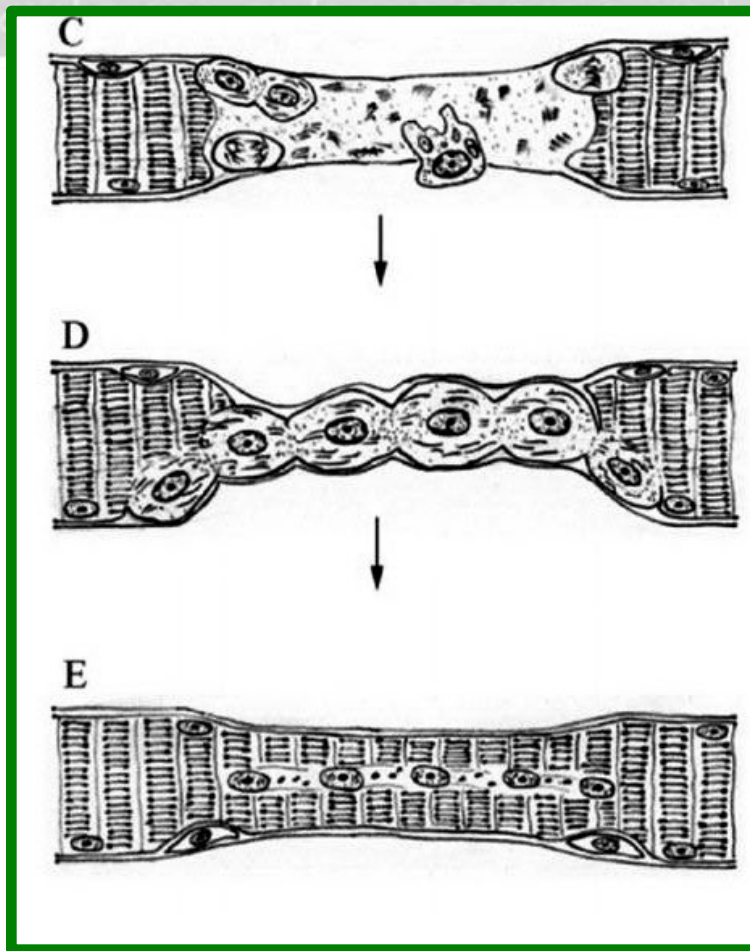
(Wu et al., Parasites and Vectors 2008)

ze satelitních buněk se formuje "eosinofilní cytoplasma" reparaované oblasti kolem parazita

apoptóзовé procesy (v "bazofilní cytoplasmě") se v průběhu infekce zvrátí na anti-apoptóзовé (v "eosinofilní cytoplasmě")

(Zammit et al., Journal of Histochemistry and Cytochemistry 2006)





**dokončení reparace vyžaduje zvýšené hladiny MRF4
(svalový transkripční faktor, syn. MYF6)**

při trichinelóze - žádná změna jeho exprese = **satelitní
buňky nemohou "dozrát" jako nové svalové buňky**

SPOLEČNÉ ZNAKY INTRACELULÁRNÍCH NEMATODŮ

- intimní kontakt s parazitovanou buňkou (část nebo celé tělo v přímém kontaktu s cytoplasmou)
- sekrety hlístic mají zřejmě klíčový význam v přebudování hostitelské buňky
 - interakce s jádrem a genomem
 - zvětšení jader
 - změny v expresi některých proteinů
- všechny napadené buňky udržovány „při životě“,
 - komunikace s hostitelskou buňkou (?)

8.

BOJ S HELMINTY

The background features a faint, artistic illustration. On the left, a snail is depicted in a light green and yellow color palette. To the right, a complex molecular structure is shown, composed of red and grey sticks representing atoms and bonds. The overall style is scientific and artistic.

ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

- edukativní a rekultivační
- fyzikální a chemické
- biologický boj
- chemoterapie
- vakcinace



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Edukativní a rekultivační

- edukativní a sanitační programy



(latríny)

- rekultivace a změny v krajině

(změna vodních ploch)



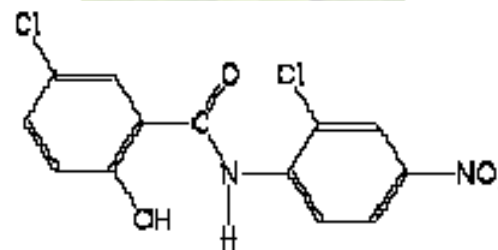
ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Fyzikální a chemické

- ozařování vektorů
- aplikace insekticidů a moluskocidů
 - moluskocidy přírodní i syntetické
 - saponiny (z *Phytolacca dodecandra*)
 - izoflavonoidy (z *Milletia thonningii*)
- niklosamid
 - efektivní proti všem stádiím plžů i larvám schistosom
 - nízká toxicita pro člověka, hospodářská zvířata i rostliny
 - velmi toxický pro ryby a některé skupiny bezobratlých



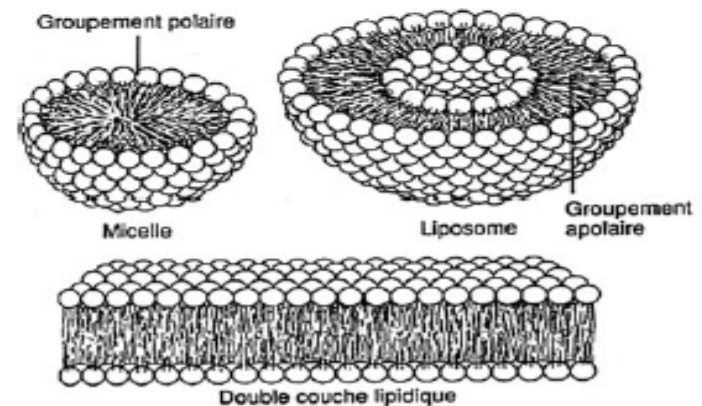
(*M. reticulata*)



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Fyzikální a chemické

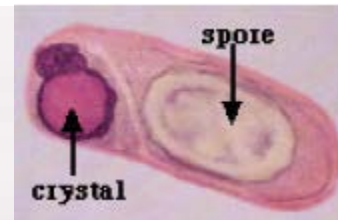
- repelenty
 - proti penetraci schistosom
 - Off (Johnson, Inc.) – obsahuje N,N-diethyl-m-toluamid
- USA - výzkum účinků DEET (N,N-diethyl-m-toluamid)
 - široké spektrum repelentních účinků na hmyz a klíšťata
 - používán asi 50 let, netoxický, minimální vstřebávání
 - cerkaricidní
 - levná výroba
 - aplikace jako LipoDEED (vazba na lipozomy)
 - repelent proti více rizikům



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

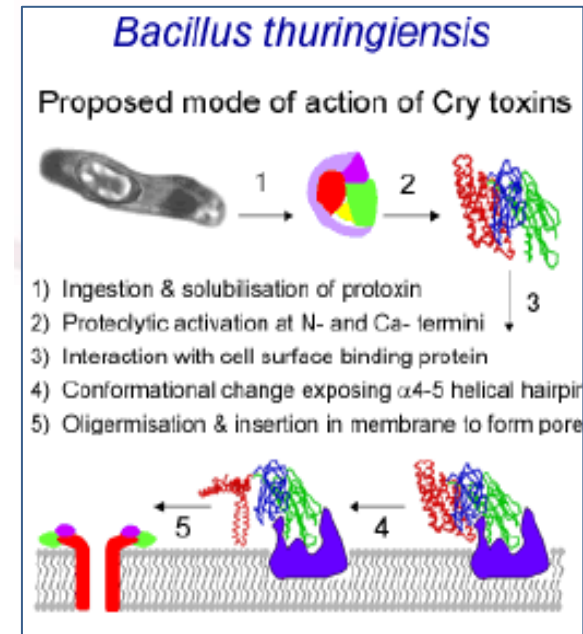
Biologický boj

- introdukce predátorů meziphostitelů a vektorů
 - ryby + hmyz + Oligochaeta → plži + motolice + larvy komárů
- introdukce patogenů parazitů do prostředí
 - proti vektorům (muchničkám, komárům)
 - *Bacillus sphaericus*, *B. thuringiensis*
 - krystalický delta-endotoxin
 - perorální infekce
 - aktivován ve střevě hmyzu proteázami
 - ve vodě rozpustný až po aktivaci
 - změny propustnosti střevních buněk vektorů pro vodu a ionty → popraskání



- beta-exotoxin

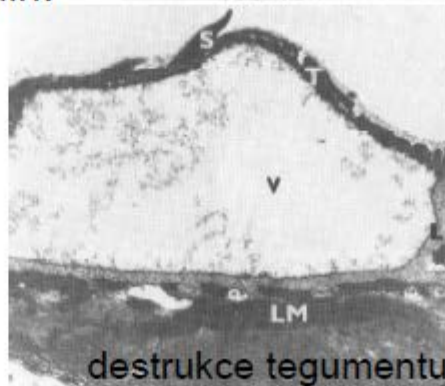
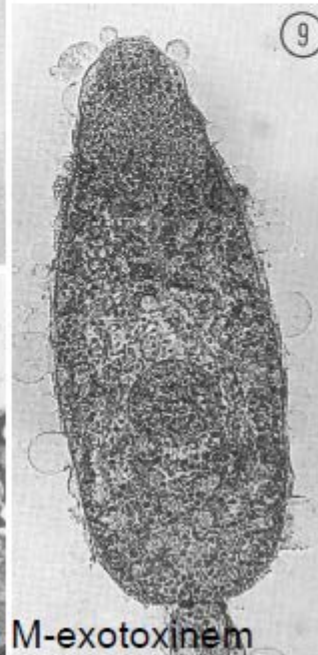
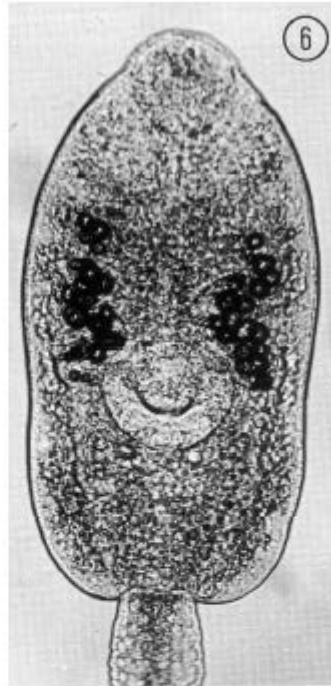
- ve vodě rozpustný, inhibice tvorby proteinů, narušení mitochondrií
- toxický pro hmyz



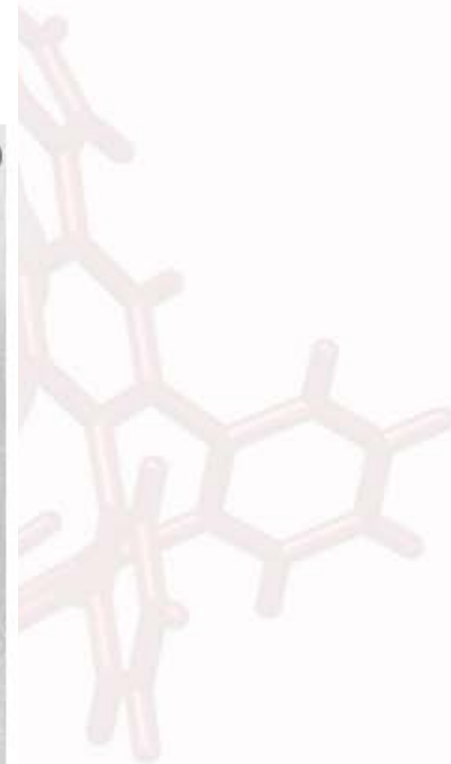
ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Biologický boj – proti helmintům a měkkýšům

- proti helmintům a měkkýšům
 - *Bacillus thuringiensis*
 - krystalický delta-endotoxin
 - ➔ volně žijící stadia strongylidů (*Cooperia*, *Ostertagia*)
 - ➔ vajíčka *Trichostrongylus*, *Nippostrongylus*
 - ve vodě rozpustný M-exotoxin
 - ➔ plži (vajíčka, juvenilní stadia), vajíčka nematodů, cercárie motolic



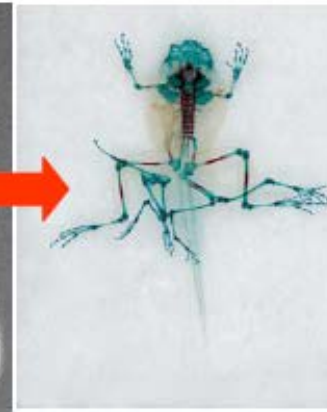
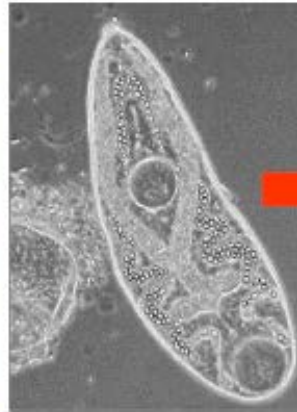
destrukce tegumentu M-exotoxinem



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Biologický boj – proti helmintům a měkkýšům

- sterilizace mezipřenositelů
 - *Ribeiroia guadelupensis* → *Biomphalaria glabrata* (Guadeloupe)



- echinostomy



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

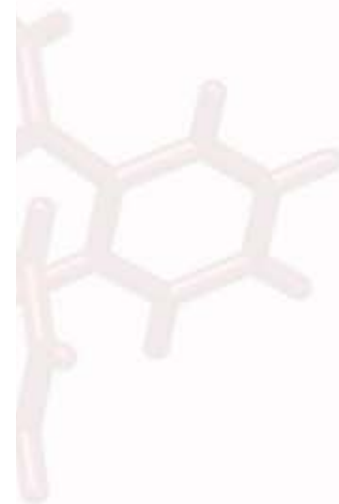
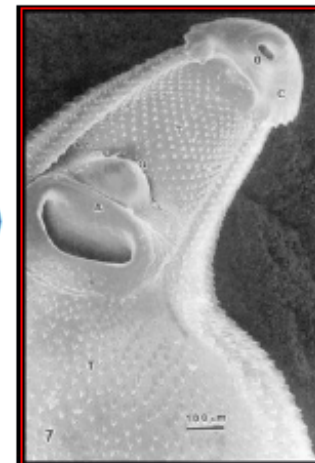
Biologický boj – helminti proti helmintům

- Konkurence druhů
 - vytlačování specifických meziphostitelů
 - Thiaridae (*Thiara/Tarebia*) → *Biomphalaria glabrata* (Karibik, Venezuela)
 - x selekce vnímavých kmenů původně nekompatibilních meziphostitelů
 - *Biomphalaria straminea* – rezistentní k *S. mansoni*
 - v Brazílii byl použit pro eliminaci *B. glabrata*
 - následně nalezeny kmeny *B. straminea* vnímavé pro *S. mansoni*
 - další rody: *Marisa*, *Pomacea* (Ampulariidae)



Thiara

- vytlačování lidských patogenů zvířecími
 - echinostomy → schistosomy (v meziphostitelích)



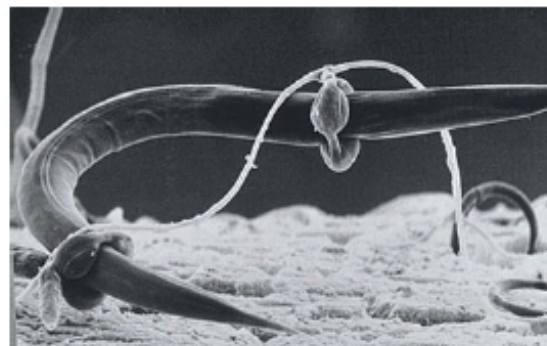
ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Biologický boj – proti nematodům (nematofágní houby)

- nematofágní houby
 - Deuteromycetes
 - „predátoři“ – hyfy s očky, sítě či lepkavými sekrety, polapení nematoda



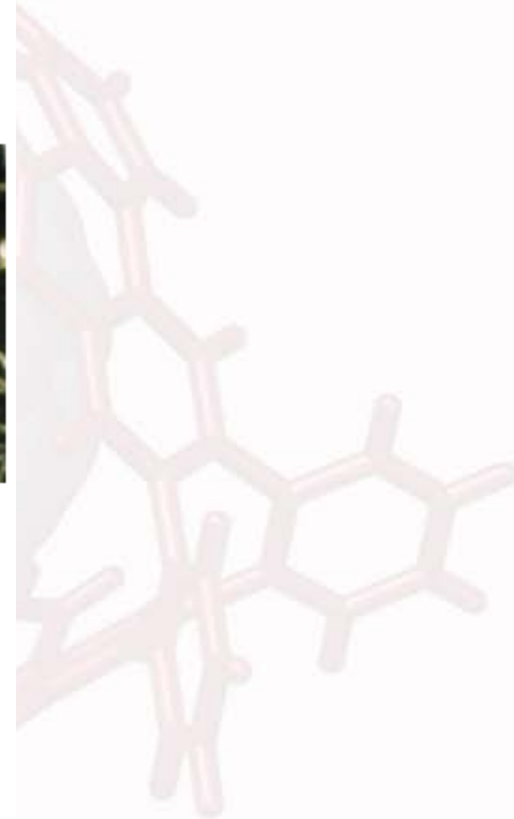
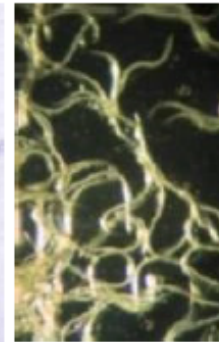
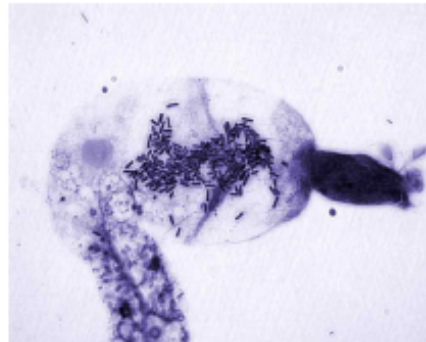
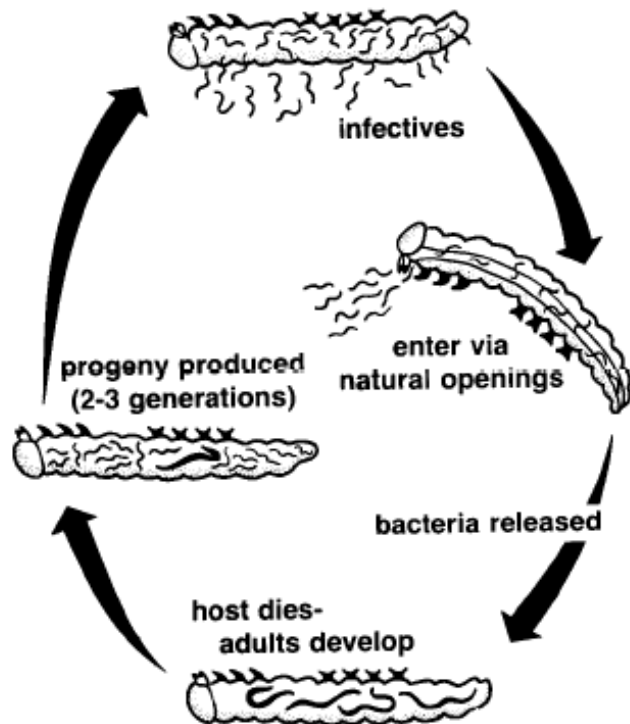
- lektiny hub se zatím nejasnou funkcí (→ GalNAc, sulfátované glykokonjugáty)
- sekrece nematotoxinu – paralýza polapených hlístic
 - *Duddingtonia* (= *Arthrobotrys*) *flagrans*
 - *Arthrobotrys oligospora*
 - spory přežívají pasáž trávicím traktem a účinkují ve stolici
 - → strongylidi koní
 - *Oesophagostomum* – u prasat
 - *Ostertagia* – u ovčí
- „endoparaziti“ – spory adherují na nematoda a penetrují kutikulu



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Biologický boj – entomopatogení nematodi (+bakterie) proti vektorům

- entomopatogenní nematodi+bakterie proti vektorům
 - bakterie rodu *Xenorhabdus*
 - hlístice *Steinernema*
 - hlístice *Heterorhabditis*



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Biologický boj – moluskopatogenní nematodi (+bakterie)

- *Phasmarhabditis hermaphrodita*




Arion lusitanicus
(plzák španělský)



Nemaslug®

Diposicidizace pro kontrolu šlupů

Nemaslug, založený na šlupovém patogenním nematodu *Phasmarhabditis hermaphrodita*, poskytuje jedinou dostupnou biologickou řešení pro kontrolu šlupů.



→ sádlo na sádlo, listy, stonky, ať šlupové jsou jakékoliv části kultivovaných rostlin

Benefity

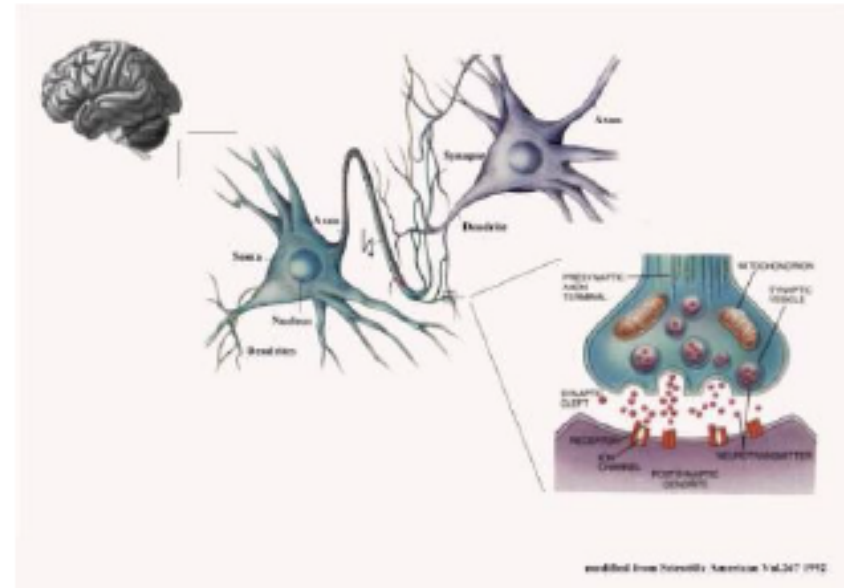
- o Rychle kontroluje škodu způsobenou šlupami
- o Přírodní produkt, který je bezpečný pro uživatele, spotřebitele, zvířata a životní prostředí
- o Jednoduchá aplikace jako běžná
- o Působí přes 40 dní po aplikaci, což umožňuje jedinou aplikaci pro ochranu většiny rostlin během jejich citlivé fáze vývoje
- o Žádné problémy s rezistencí
- o Kompatibilní s širokou škálou chemických pesticidů
- o Žádné zbytky, takže může být bezpečně aplikován kdykoliv
- o Kompatibilní s jinými biologickými/IPP systémy
- o Neškodí ani bez nutnosti ochranného oblečení



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – interference s nervosvalovým přenosem vzruchu

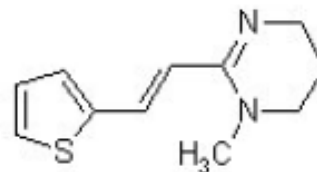
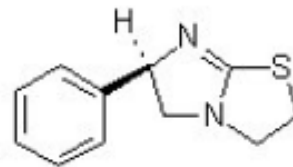
- vznik podráždění a jeho vedení po membráně neuronu a svalu
 - prostup kationtů (hlavně Na^+)
 - aktivace, kontrakce svalů
 - acetylcholin u hlístic
 - serotonin u plathelminťů
 - prostup aniontů (Cl^-)
 - inhibice, relaxace svalů
 - acetylcholin u plathelminťů
 - GABA u hlístic



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – interference s nervosvalovým přenosem vzruchu

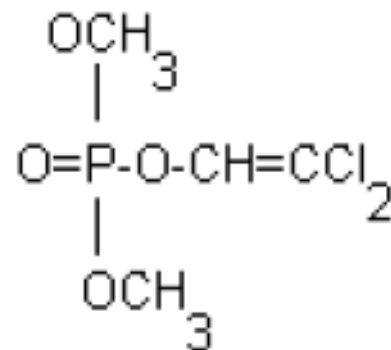
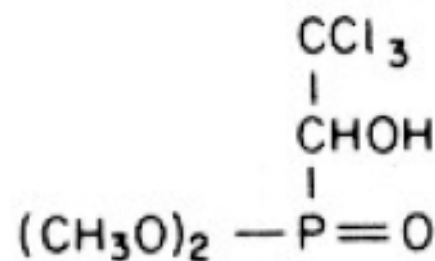
- Antihelmintika a acetylcholin
 - levamizol, pyrantel
 - na střevní hlístice (levamizol i na plicní)
 - otevření neselektivního kationtového kanálu pro K^+ a Na^+ ionty
 - kontrakce svalů
 - obdobný účinek jako acetylcholin (působí na stejné receptory)
 - i účinek na hostitele (opatrné dávkování)
 - působí dobře při nižších koncentracích
 - vyšší koncentrace - necitlivost k účinku
 - jde o organické kationty blokující iontové kanály
 - mutanti *Caenorhabditis elegans* bez acetylcholinových receptorů nereagují na tento lék
 - rezistence nematodů byla popsána



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – interference s nervosvalovým přenosem vzruchu

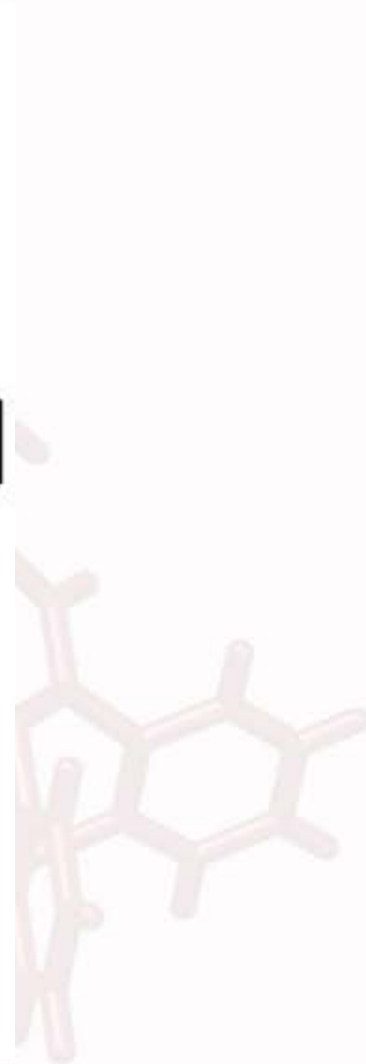
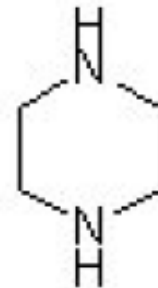
- metrifonát a dichlorvos
 - metrifonát - na *Schistosoma haematobium*, příp. některé další motolice
 - dichlorvos na hlístice
 - inaktivace acetylcholinesterázy - paralýza svalů motolic aktivací inhibičních synapsí
 - imunitní destrukce červů v plicích



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – interference s nervosvalovým přenosem vzruchu

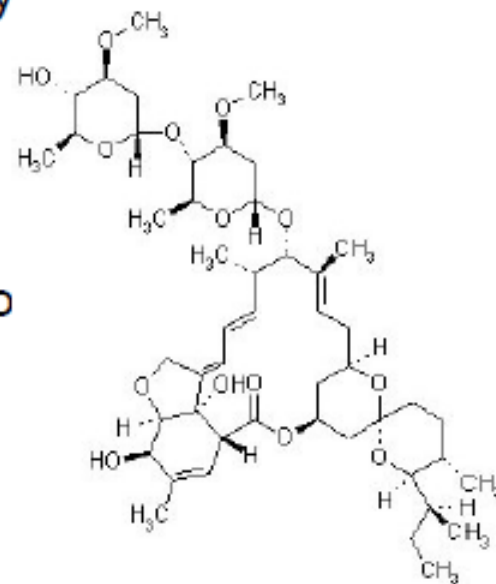
- Antihelmintika s efektem GABA (gama-aminomáselná kyselina)
- piperazin
 - na střevní hlístice, hlavně škrkavky a roupy
 - hyperpolarizace membrán otevřením kanálů pro chloridové ionty
 - obdoba inhibičních účinků GABA
 - působí na stejný receptor jako GABA
 - otevření kanálů na kratší dobu než u GABA
 - potřeba vyšší koncentrace preparátu
 - x GABA není tak selektivní a neproniká kutikulou
 - reverzibilní paralýza červů



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – interference s nervosvalovým přenosem vzruchu

- avermektiny/milbemyciny
 - antibiotika produkovaná *Streptomyces avermitilis*
 - avermektiny = glykozylované obdoby milbemycinů
 - ivermektin
 - vysoce rozpustný v lipidických látkách
 - inhibiční stimulace - otevření kanálů pro chloridové ionty
 - proti hlísticím (a ektoparazitům) - onchocerky (mikrofilaricidní), plicní a střevní hlístice
 - paralýza svalů – podpovrchové svaly, ale zejména farynx

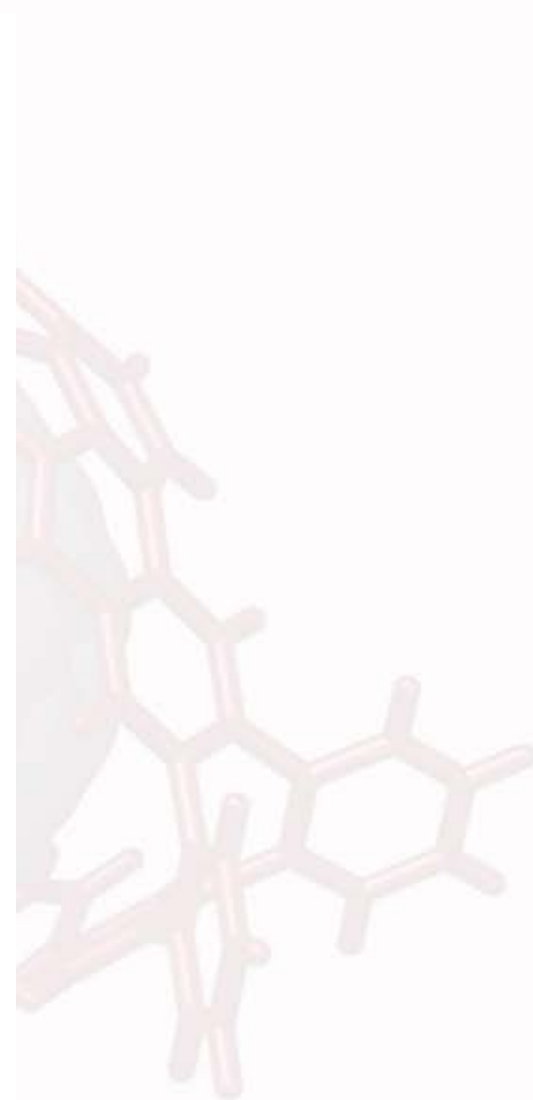


ivermektin

ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – interference s nervosvalovým přenosem vzruchu

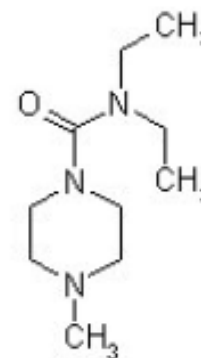
- mechanismus účinku
 - skutečný mechanismus není znám
 - nejméně 3 teorie
 - ivermektin působí zvýšené vylučování GABA
 - ivermektin zvyšuje afinitu GABA-receptorů pro tento neuropřenašeč
 - ivermektin otevírá iontové kanály pro chloridové ionty, tyto kanály nejsou totožné s GABA-receptorovými kanály
 - **současný pohled:**
 - slabší vazba na GABA-receptorové chloridové kanály (vzácně toxické pro hostitele)
 - omezené pronikání preparátu do CNS hostitele, neboť P-glykoproteiny zajišťují transmembránové odstranění avermektinů z CNS
 - **silná vazba na glutamát-receptorové chloridové kanály** (nevyskytují se u hostitele hlístic)
 - v malých koncentracích zvyšuje efekt glutamátu
 - ve vysokých koncentracích sám otevírá glutamátem stimulovatelné iontové kanály
 - oproti GABA: delší otevření kanálu (GABA 35 msek, ivermektin >1 sek)
- rezidua na pastvinách
- popsaná rezistence u trichostrongylidů



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – ostatní

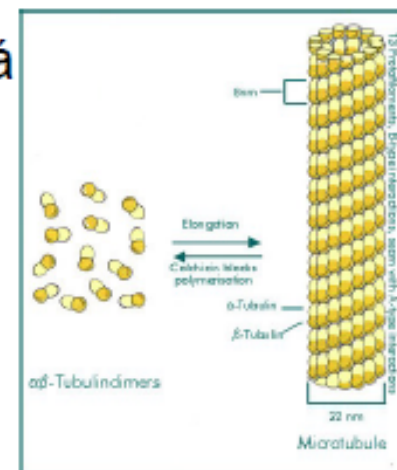
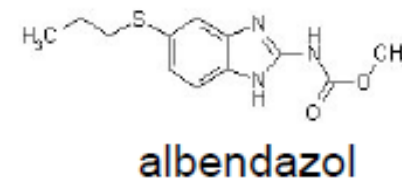
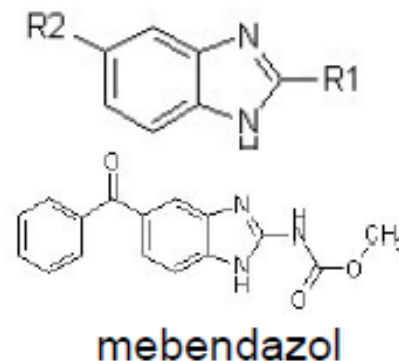
- diethylkarbamazin
 - derivát piperazinu
 - opačný účinek - excitace, svalová kontrakce
 - další efekty
 - obnažení kutikulárních antigenů - zásah imunity
 - inhibice metabolismu kyseliny arachidonové u mikrofilárií i endotelií
 - vasokonstrikce a imobilizace červů
 - makrofilaricidní i mikrofilaricidní



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – narušení strukturální integrity červů

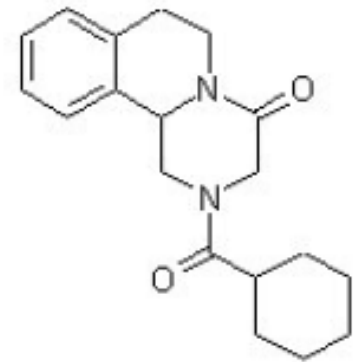
- benzimidazoly
 - proti hlísticím, tasemnicím a výjimečně motolicím (*Fasciola hepatica*)
 - narušení rovnováhy mezi tubulinovými molekulami a mikrotubuly (především v tegumentu tasemnic a střevu hlístic)
 - rozpadání mikrotubulů, inhibice polymerace tubulinových molekul do mikrotubulů
 - zasahují beta-tubulin
 - u eukaryotických buněk vysoce konzervovaná molekula; u hlístic odlišná od beta-tubulinu savců
 - i další efekty - inhibice příjmu glukózy
 - rezistence na benzimidazoly např. u trichostrongylidů



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – narušení strukturální integrity červů

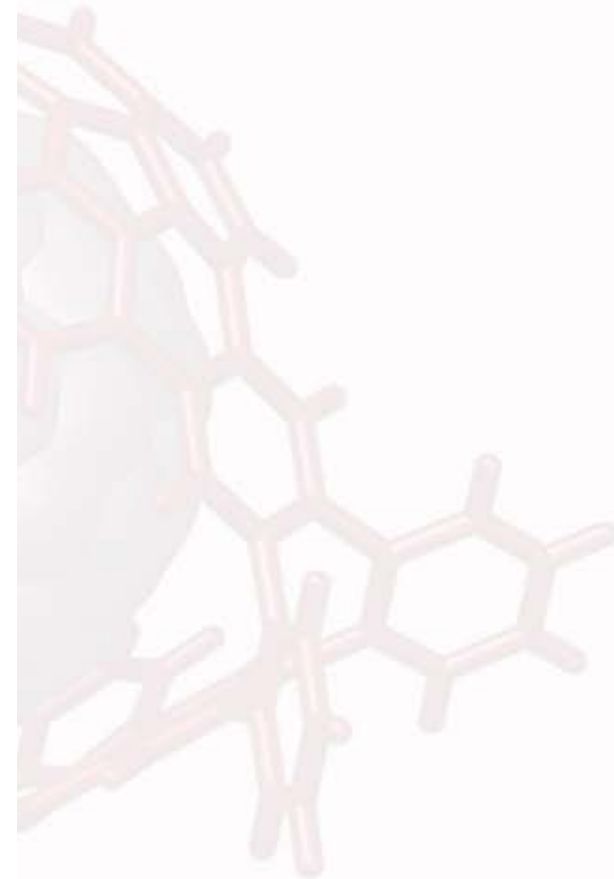
- prazikvantel
 - univerzální lék na motolice a tasemnice s výjimkou *Fasciola hepatica*
 - univerzální preparát na schistosomy
 - místo účinku i cílová molekula neznámé
 - možná jsou cílem iontové kanály pro Ca^{2+} (2001)
 - u motolic - vtok Ca^{2+} iontů z prostředí do tegumentu a svalů
 - u tasemnic - uvolnění intracelulárních zásob Ca^{2+}
 - paralýza svalů
 - porušuje povrchové struktury tegumentu - vakuolizace a obnažení antigenů (zásah imunity nebo proteáz)
 - další efekty: snižuje příjem glukózy a glykogenové zásoby



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Chemoterapie – narušení strukturální integrity červů

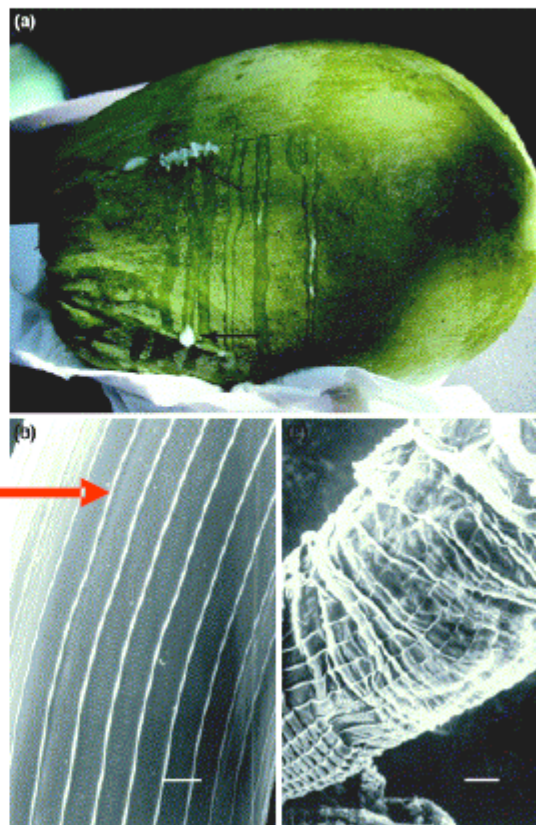
- mechanismus účinku (hypotézy):
 - pozměňuje Ca^{2+} ATPázy - nabourání transportu vápníku
 - zasahuje do rozložení membránových fosfolipidů
 - přeskupení fosfolipidů do hexagonálních struktur propustných pro ionty
 - funguje jako "spacer", který se vkládá do membrán
 - **reakce s neznámým membránovým proteinem** s významem pro rovnováhu a transport Ca^{2+}
 - rezistence *F. hepatica*
 - odlišná účinnost na různá ontogenetická stadia
 - *S. mansoni* citlivá do 2 dnů po penetraci kůže, potom 4 týdny rezistentní, následně opět citlivá)
- 1994 - *in vitro* navozena rezistence schistosom
- 1995 - první terénní zprávy ze Senegalu o snížené citlivosti červů



ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Rezistence

- nutnost hledat nové preparáty
 - inhibitory cysteinových peptidáz
 - např. pokusy na *S. mansoni* v myších
 - rostlinné cysteinové peptidázy
 - zásah do kutikuly hlístic
 - nízká toxicita, součást tradiční medicíny
 - např. latex z *Carica papaya*
 - neuropeptidy helmintů
 - antibiotika
 - účinek na symbiotické bakterie rodu *Wolbachia* u filárií (ovlivnění reprodukce parazitů)
 - *Wolbachia* přítomna u *Wuchereria*, *Brugia*, *Onchocerca*
 - *Wolbachia* ale není u všech filárií - např. *Loa loa*

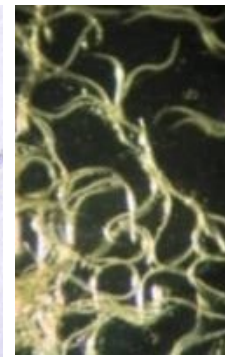
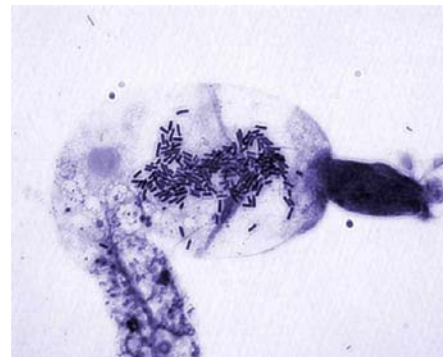
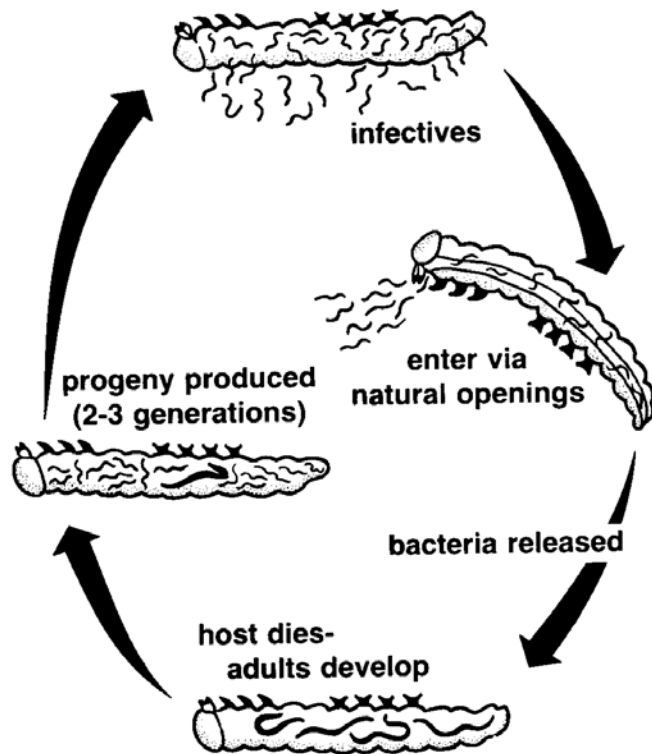


ZÁSAHY PROTI HELMINTŮM

Vakcíny – viz. kapitola IMUNITA



- entomopatogenní nematodi+bakterie proti
u vektor m
- bakterie rodu *Xenorhabdus*
- hlístice *Steinernema*
- hlístice *Heterorhabditis*

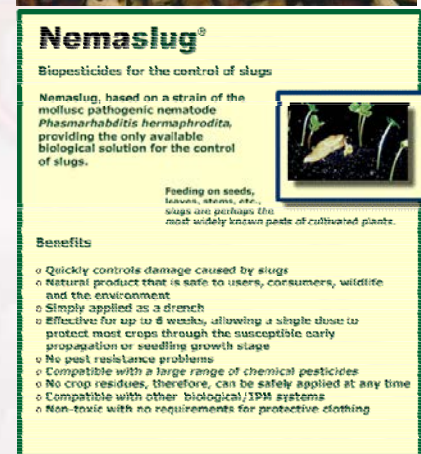


"moluskopatogenní" nematodi + bakterie

Phasmarhabditis hermaphrodita



Arion lusitanicus
(plzák španělský)



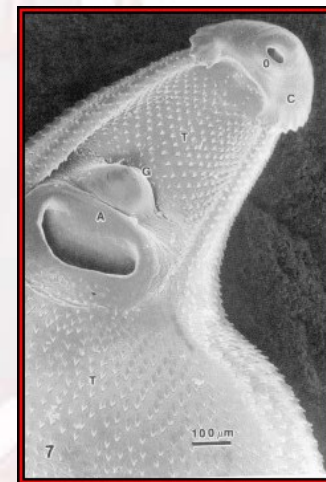
Konkurence druhů

- vytlačování specifických mezipřenositelů
 - Thiaridae (*Thiara/Tarebia*) → *Biomphalaria glabrata* (Karibik, Venezuela)
 - x selekce vnímavých kmenů původně nekompatibilních mezipřenositelů
 - *Biomphalaria straminea* – rezistentní k *S. mansoni*
 - v Brazílii byl použit pro eliminaci *B. glabrata*
 - následně nalezeny kmeny *B. straminea* vnímavé pro *S. mansoni*
 - další rody: *Marisa*, *Pomacea* (Ampulariidae)



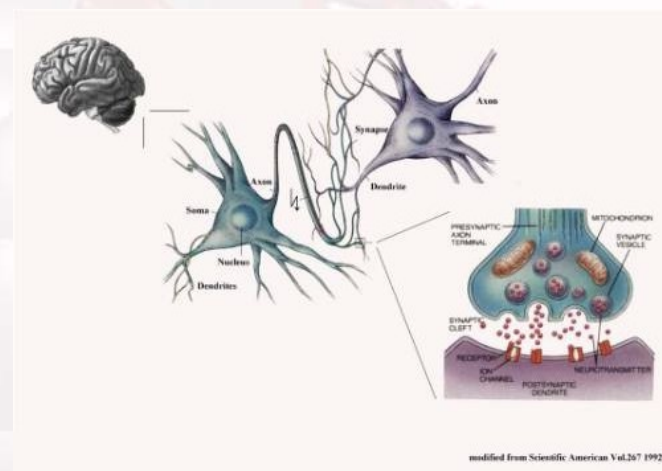
Thiara

- vytlačování lidských patogenů zvířecími
 - echinostomy → schistosomy (v mezipřenositelích)

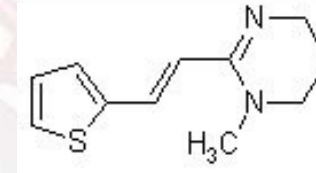
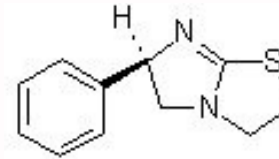


Antihelmintika založená na interferenci s nervořvalovým přenosem vzruchu

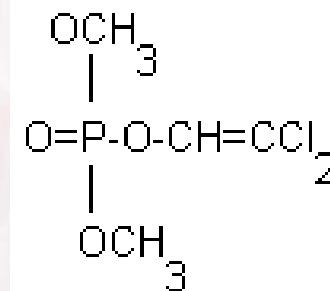
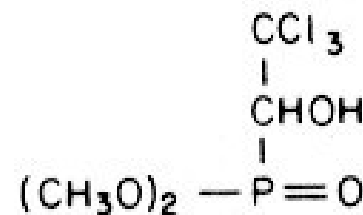
- vznik podráždění a jeho vedení po membráně neuronu a svalů
 - vstup kationtů (hlavně Na^+)
 - aktivace, kontrakce svalů
 - acetylcholin u hlístic
 - serotonin u plathelminů
 - vstup aniontů (Cl^-)
 - inhibice, relaxace svalů
 - acetylcholin u plathelminů
 - GABA u hlístic



- Antihelmintika a acetylcholin
- levamizol, pyrantel
 - na střevní hlístice (levamizol i na plicní)
 - otevření neselektivního kationtového kanálu pro K^+ a Na^+ ionty
 - kontrakce svalů
 - obdobný účinek jako acetylcholin (působí na stejné receptory)
 - i účinek na hostitele (opatrné dávkování)
 - působí dobře při nižších koncentracích
 - vyšší koncentrace - necitlivost k účinku
 - jde o organické kationty blokuující iontové kanály
 - mutanti *Caenorhabditis elegans* bez acetylcholinových receptorů nereagují na tento lék
 - rezistence nematod byla popsána



- metrifonát a dichlorvos
- metrifonát - na *Schistosoma haematobium*, příp. některé další motolice
- dichlorvos na hlístice
- inaktivace acetylcholinesterázy - paralýza svalů motolic aktivací inhibičních synapsí
- imunitní destrukce červů v plicích



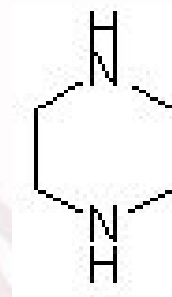
efektem GABA

(gama-

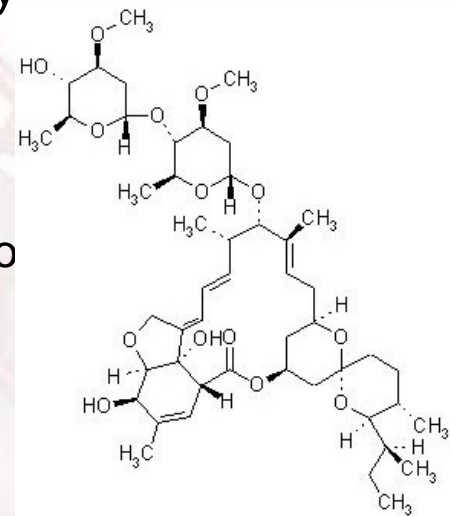
aminomáselná

• piperazin

- na střevní blístice, intenzivně žilavky a rousy
- hyperpolarizace membrán otevřením kanálů pro chloridové ionty
 - obdoba inhibičních účinků GABA
 - působí na stejný receptor jako GABA
 - otevření kanálů na kratší dobu než u GABA
 - potřeba vyšší koncentrace preparátu
 - x GABA není tak selektivní a neproniká kutikulou
- reverzibilní paralýza červů



- avermektiny/milbemyliny
 - antibiotika produkovaná *Streptomyces avermitilis*
 - avermektiny = glykozylované obdoby milbemycinů
 - ivermektin
 - vysoce rozpustný v lipidických látkách
 - inhibiční stimulace - otevření kanálů pro chloridové ionty
 - proti hlísticím (a ektoparazitům) - onchocerky (mikrofilaricidní), plicní a střevní hlístice
 - paralýza svalů – podpovrchové svaly, ale zejména farynx



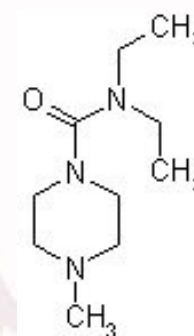
ivermektin

- mechanismus účinku
 - skutečný mechanismus není znám
 - nejméně 3 teorie
 - ivermektin působí zvýšené vylučování GABA
 - ivermektin zvyšuje afinitu GABA-receptorů pro tento neuroprůchod
 - ivermektin otevírá iontové kanály pro chloridové ionty, tyto kanály nejsou totožné s GABA-receptorovými kanály
 - **současný pohled:**
 - slabší vazba na GABA-receptorové chloridové kanály (vzácně toxické pro hostitele)
 - omezené pronikání preparátu do CNS hostitele, neboť P-glykoproteiny zajišťují transmembránové odstranění ivermektinu z CNS
 - **silná vazba na glutamát-receptorové chloridové kanály** (nevyskytují se u hostitele hlístic)
 - v malých koncentracích zvyšuje efekt glutamátu
 - ve vysokých koncentracích sám otevírá glutamátem stimulovatelné iontové kanály
 - oproti GABA: delší otevření kanálu (GABA 35 msec, ivermektin >1 sek)
- rezidua na pastvinách
- popsaná rezistence u trichostrongylidů

• Ostatní antihelmintika

• dietylkarbamazin

- derivát piperazinu
- opačný účinek - excitace, svalová kontrakce další efekty
 - obnažení kutikulárních antigenů - zásah imunity
 - inhibice metabolismu kyseliny arachidonové u mikrofilárií i endotelií
 - vasokonstrikce a imobilizace červů
- makrofilaricidní i mikrofilaricidní

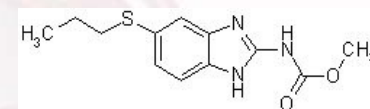


Antihelmintika zasahující strukturní integritu červů

- benzimidazoly
 - proti hlísticím, tasemnicím a výjimečně motolicím (*Fasciola hepatica*)
 - narušení rovnováhy mezi tubulinovými molekulami a mikrotubuly (předešlým v tegumentu tasemnic a střevu hlístic)
 - rozpadání mikrotubulů, inhibice polymerace tubulinových molekul do mikrotubulů
 - zasahují beta-tubulin
 - u eukaryotických buňk vysoce konzervovaná molekula; u hlístic odlišná od beta-tubulinu savců
 - i další efekty - inhibice příjmu glukózy
 - rezistence na benzimidazoly např. u trichostrongylidů

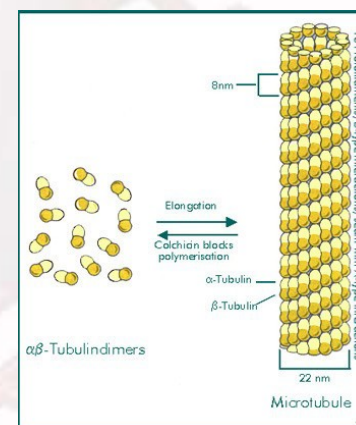


mebendazol

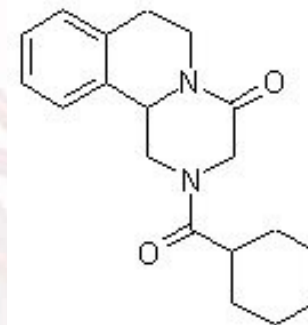


albendazol

ná



- prazikvantel
 - univerzální lék na motolice a tasemnice s výjimkou *Fasciola hepatica*
 - univerzální preparát na schistosomy
 - místo účinku i cílová molekula neznámé
 - možná jsou cílem iontové kanály pro Ca^{2+} (2001)
 - u motolic - vtok Ca^{2+} iontů z prostředí do tegumentu a svalů
 - u tasemnic - uvolnění intracelulárních zásob Ca^{2+}
 - paralýza svalů
 - porušuje povrchové struktury tegumentu - vakuolizace a obnažení antigeň (zásah imunity nebo proteáz)
 - další efekty: snižuje příjem glukózy a glykogenové zásoby



- mechanismus účinku (hypotézy):
 - pozice uje Ca^{2+} ATPázy - nabourání transportu vápníku
 - zasahuje do rozložení membránových fosfolipidů
 - přeskupení fosfolipidů do hexagonálních struktur propustných pro ionty
 - funguje jako "spacer", který se vkládá do membrán
 - **reakce s neznámým membránovým proteinem** s významem pro rovnováhu a transport Ca^{2+}
 - rezistence *F. hepatica*
 - odlišná účinnost na *S. mansoni* zná ontogenetická stadia
 - *S. mansoni* citlivá do 2 dnů po penetraci (už, potom 4 týdny rezistentní, následně opět citlivá)
- 1994 - *in vitro* navozena rezistence schistosom
- 1995 - první terénní zprávy ze Senegalu o snížené citlivosti červů

Perspektivy léčby

Table 2. Resistance against broad- and narrow-spectrum anthelmintics, and combinations^a

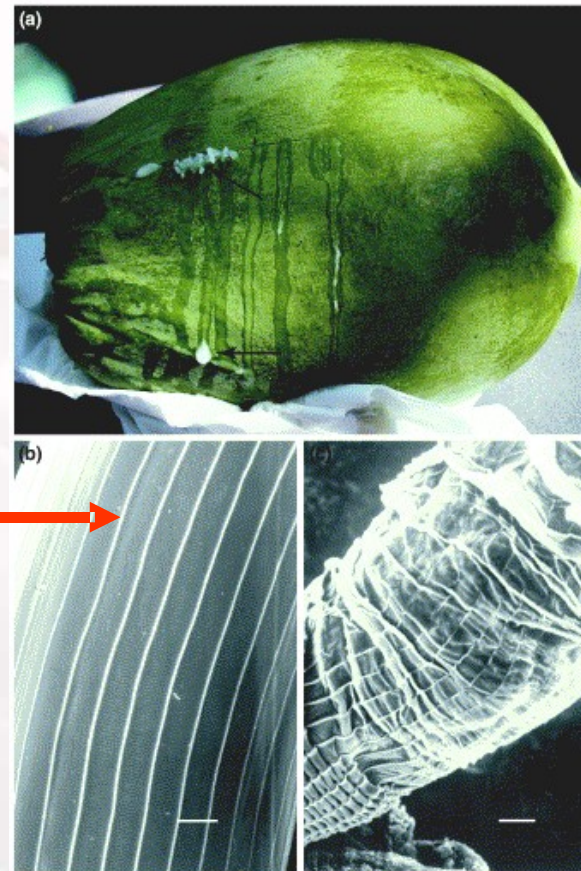
Country	Prevalence of resistance (%)						Refs
	Bz	Lev	MI	Bz/Lev	Clos	Rfx	
Australia	90	80	60	60	60	-	[45]
South Africa	79	73	73	-	-	89	[46]
Argentina	40	22	6	11	-	-	[47]
Brazil	90	84	13	73	20	-	[48]
Paraguay	73	68	73	-	-	-	[49]
Uruguay	80	71	1	-	-	-	[50]

^aThe prevalence of resistance is indicted by the percentage of sheep farms tested. Resistance in sheep parasites to the major anthelmintic drugs available has become endemic throughout many regions of the southern hemisphere. Abbreviations: -, not tested; Bz, benzimidazole; Lev, levamisole; MI, macrocyclic lactone; Clos, closantel; Rfx, rafoxanide.

(říjen 2004)



- nutnost hledat nové preparáty
 - inhibitory cysteinových peptidáz
 - např. pokusy na *S. mansoni* v myších
 - rostlinné cysteinové peptidázy
 - zásah do kutikuly hlístic
 - nízká toxicita, součást tradiční medicíny
 - např. latex z *Carica papaya*
 - neuropeptidy helmintů
 - antibiotika
 - účinek na symbiotické bakterie rodu *Wolbachia* u filárií (ovlivnění reprodukce parazitů)
 - *Wolbachia* přítomna u *Wuchereria*, *Brugia*, *Onchocerca*
 - *Wolbachia* ale není u všech filárií - např. *Loa loa*



Vakcíny

- *Dictyocaulus* sp. (plicní hlístice, ochrana skotu, ovcí)
 - komerční vakcína Huškvac – ozá ené L3
- schistosomy - atenuované cercárie
 - vysoká protekce před reinfekcí u hlodavců
- *Ancylostoma caninum* (st evní hlístice, ochrana ps)
 - ozá ené L3

orientace na jednotlivé

- antigeny vyvolávající imunitní odpověď nebo i antigeny skryté (mimo selekční tlak)
 - povrchové molekuly onkosfér (*Taenia ovis*, *T. saginata*, *Echinococcus granulosus*)
 - rekombinantní antigeny
 - 90-100% efekt u *Taenia ovis* v ovcích, *Taenia saginata* ve skotu a *Echinococcus granulosus* v ovcích
 - u jiných skupin helmintů takovou protekci neznáme
 - molekuly "zcela cizí" hostiteli
 - paramyosin – 97 kDa protein, výskyt u řady bezobratlých
 - chitin – polymer N-acetyl-D-glukózaminu, výskyt u vajíček nematod a vrtejšů
 - chitináza – "líhnutí" mikrofilárií z vaček nebo pochvy

VAKCÍNA PROTI LIDSKÝM HELMINT ŮM ???

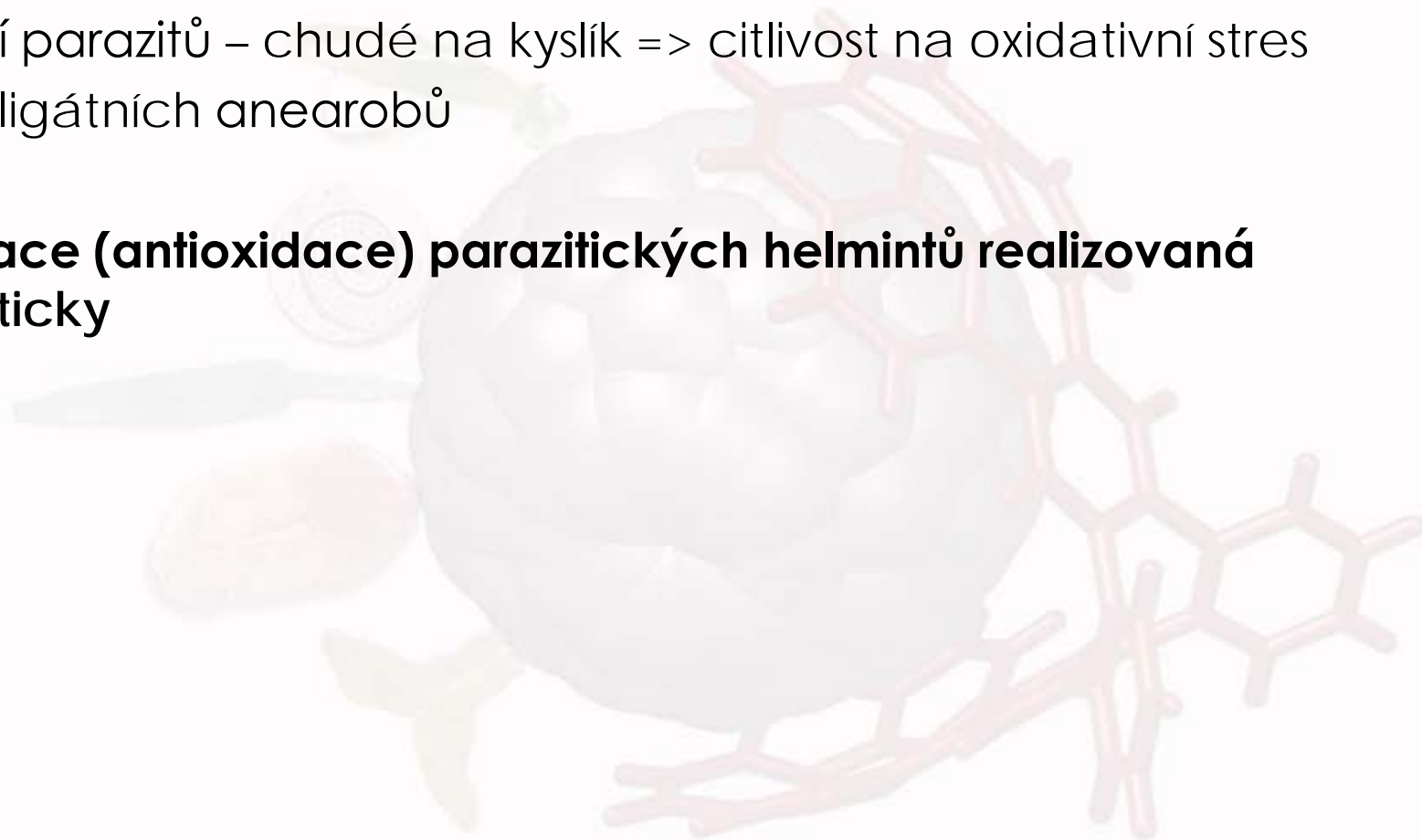
9.

DETOXIFIKAČNÍ SYSTÉM HELMINTŮ

s omluvou zatím jen 4 slidy a v češtině i angličtině

DETOXIFIKAČNÍ MECHANISMY HELMINTŮ

- Enzymatické a neenzymatické antioxidační systémy u parazitů = **obránné taktiky proti kyslíkovým radikálům generovaným host.**
- Prostředí parazitů – chudé na kyslík => citlivost na oxidativní stres
- smrt obligátních aneareobů
- **Detoxikace (antioxidace) parazitických helmintů realizovaná enzymaticky**



DETOXIFIKAČNÍ MECHANISMY HELMINTŮ

Reactive oxygen species (ROS) are chemically reactive molecules containing oxygen. Examples include oxygen ions and peroxides. Reactive oxygen species are highly reactive due to the presence of unpaired valence shell electrons. ROS form as a natural byproduct of the normal metabolism of oxygen and have important roles in cell signaling and homeostasis. During environmental stress (e.g., UV, heat exposure), ROS levels can increase dramatically.

In particular, the ROS can damage different cellular components by oxidation of proteins, lipids and nucleic acids. This will be followed by the modification of membranes, receptors, cytoskeleton proteins, enzyme inactivation as well as, though not less important, damage to the genome.

In the last years, a lot of studies have focused on both enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems now shown to exist in these parasites and which may serve as **defence tactics against the host-generated oxygen radicals**. (Chiumiento and Bruschi, 2009)

A number of parasites live in oxygen-poor environments and are particularly sensitive to oxidative stress. Obligate anaerobes, which lack defenses against reactive oxygen species, are killed readily by oxygen at tensions higher than those in their natural habitats.

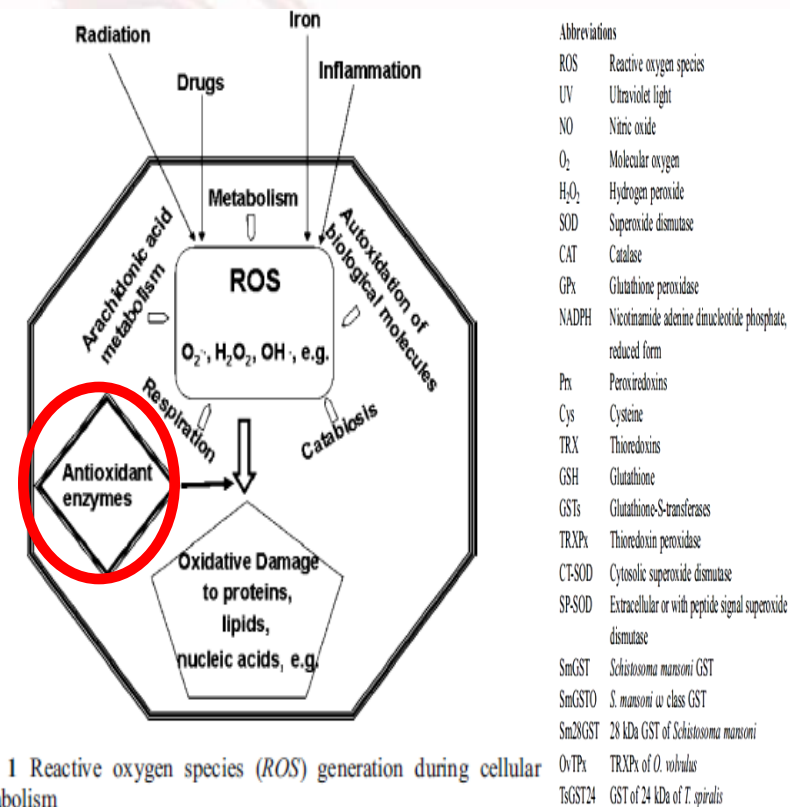


Fig. 1 Reactive oxygen species (ROS) generation during cellular metabolism

DETOXIFICATION BY HELMINTHS: MECHANISMS

Detoxification (antioxydation) by parasitic helminths is realized via enzymes.

In mammals, toxic compounds metabolized in 3 stages:
phase 1: reactive groups such as hydroxyl groups, amino groups or sulphhydryl groups are introduced into the molecule.

phase 2: the activated molecule is conjugated with a low molecular compound such as glutathione.

phase 3: conjugated molecule may be excreted, sequestered or further metabolized.

In most organisms the principal phase 1 reactions are oxidative and are catalysed by cytochrome P450 monooxygenases.

In helminths toxic compounds metabolized in 2 stages:

phase 1: they relies primarily on reductive or hydrolytic enzymes and there are few or **no oxidative phase 1** reactions

phase 2: probably sole conjugation reaction in helminths is with glutathione, a reaction catalysed by the multi-functional enzyme glutathione transferase (7 species-independent classes of glutathione transferases have been proposed: Alpha, Mu, Pi, Theta, Sigma, Zeta and Omega).

Table 1. The three phases of detoxification

Phase 1 (bioactivation)	Phase 2 (conjugation with)	Phase 3 (elimination)
Oxidation ²	Glutathione ³	Excretion ³
Dehalogenation ¹	Glucuronides ¹	Sequestration ⁴
Hydroxylation ¹	Methyl groups ¹	Further metabolism ⁵
Reduction ³	Acetyl groups ¹	
Hydrolysis ³	Amino groups ¹	
	Sulphate ¹	
	Phosphate ¹	
	Thiosulphate (Rhodanese) ³	

¹ Not demonstrated in helminths.

² Low activity detected in helminths, possibly associated with the synthesis of prostaglandins

³ Demonstrated in helminths.

⁴ High levels of binding proteins found in helminths, but detoxification role not established.

⁵ Low activities of cysteine conjugate beta-lyase found in helminths (from Barrett, 1997).

DETOXIFIKAČNÍ MECHANISMY HELMINTŮ

Superoxid dismutáza – schistozomy, nematoda
- neutralizace superoxidových aniontů



Kataláza – střevní nematoda
- detoxikace hydrogen peroxidu



Glutathion peroxidáza - schistosomy, filarie
- detoxikace peroxidu nebo organického hydroperoxidu

Glutathion-S-transferáza - schistosomy, filarie
- peroxidázová aktivita, detoxikace konjugací s glutathionem

Peroxioredoxiny – fasciolidní motolice
- detoxikace hydrogen peroxidu

Cytochrome-c-peroxidáza - fasciolidní motolice, schistosomy, filarie
- oxidace peroxidu