

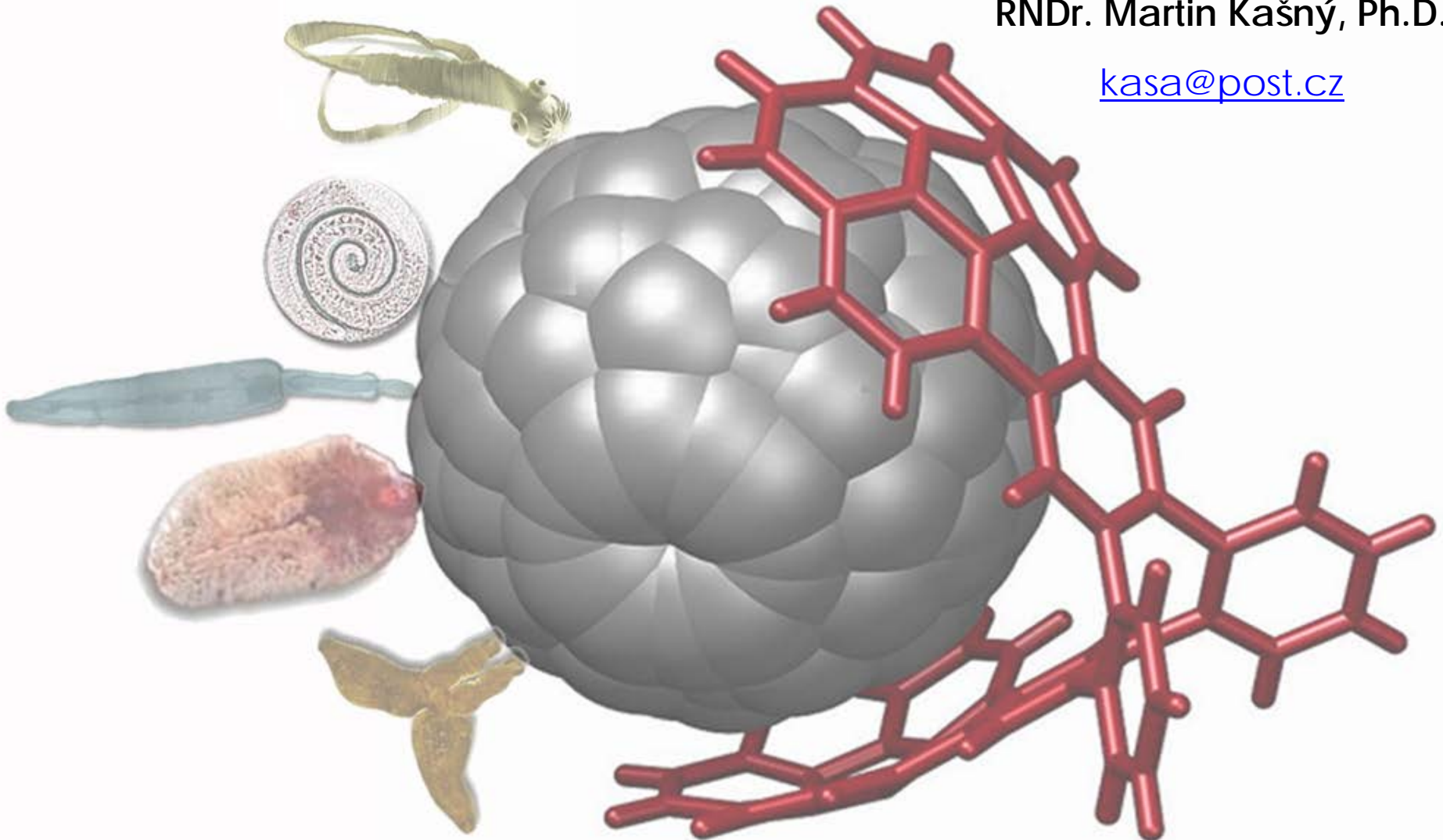
# Molekulární a buněčné interakce parazita a hostitele

(Bi9474)

2016

RNDr. Martin Kašný, Ph.D.

[kasa@post.cz](mailto:kasa@post.cz)



# ROZVRH

Přednáška 2 x 1 den (4 kredity)

1. Den 9:00 -16:00 (Helmintologie, RNDr. Martin Kašný, Ph.D.)
2. Den 9:30 -16:00 (Protozoologie, RNDr. Vít Dvořák, Ph.D.)

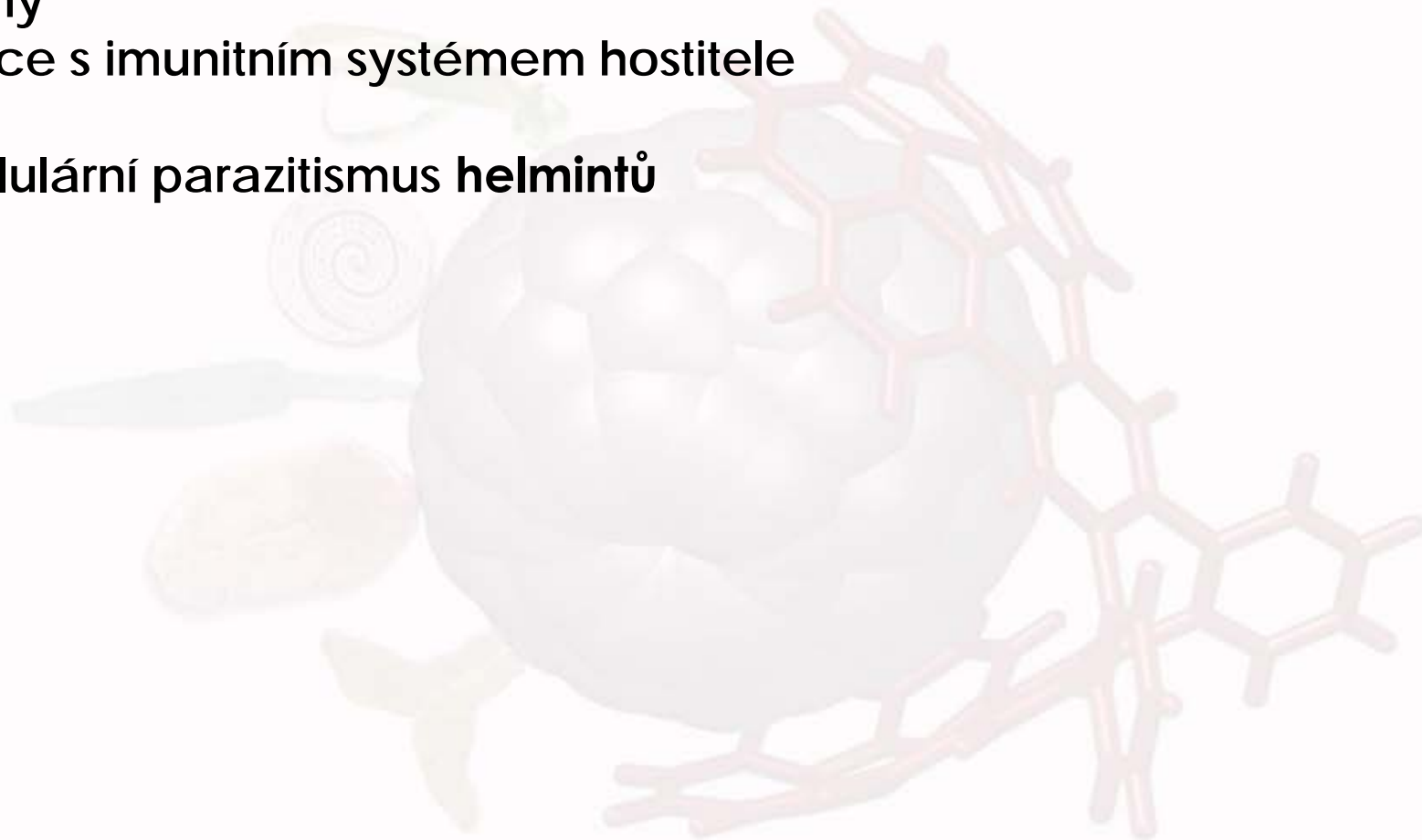
## PŘEDPOKLADY – Bi6330 Obecná parazitologie

### OSNOVA

Přednáška charakterizuje infekce obratlovců i bezobratlých parazitickými prvky a helminty, a to od průniku do hostitele až do fáze patentních infekcí. Zabývá se interakcemi helmintů a jejich hostitelů na úrovni tkáňové, buněčné i molekulární, a to pomocí přístupů biochemických, imunologických, fyziologických a molekulárně biologických. Konkrétní témata přednášky jsou zaměřena na průnik helmintů do hostitele (rozpoznávací mechanismy, mechanismy průniku, orientace v těle hostitele), únikové strategie helmintů v obratlovcích a bezobratlých, ontogenetické regulace u parazitických helmintů, hormonální interakce mezi helmintem a hostitelem, intracelulární parazitismus u helmintů a boj proti helmintózám (biologický boj, antihelmintika, vakcíny). Doporučená literatura: Volf a Horák 2007: Biologi. Marr J. J., Müller M.: Biochemistry and Molecular Biology of Parasites, Academic Press, London, 1995. Mehlhorn H. (ed.): Encyclopedic Reference of Parasitology, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 2001

# KONCEPCE PŘEDNÁŠKY

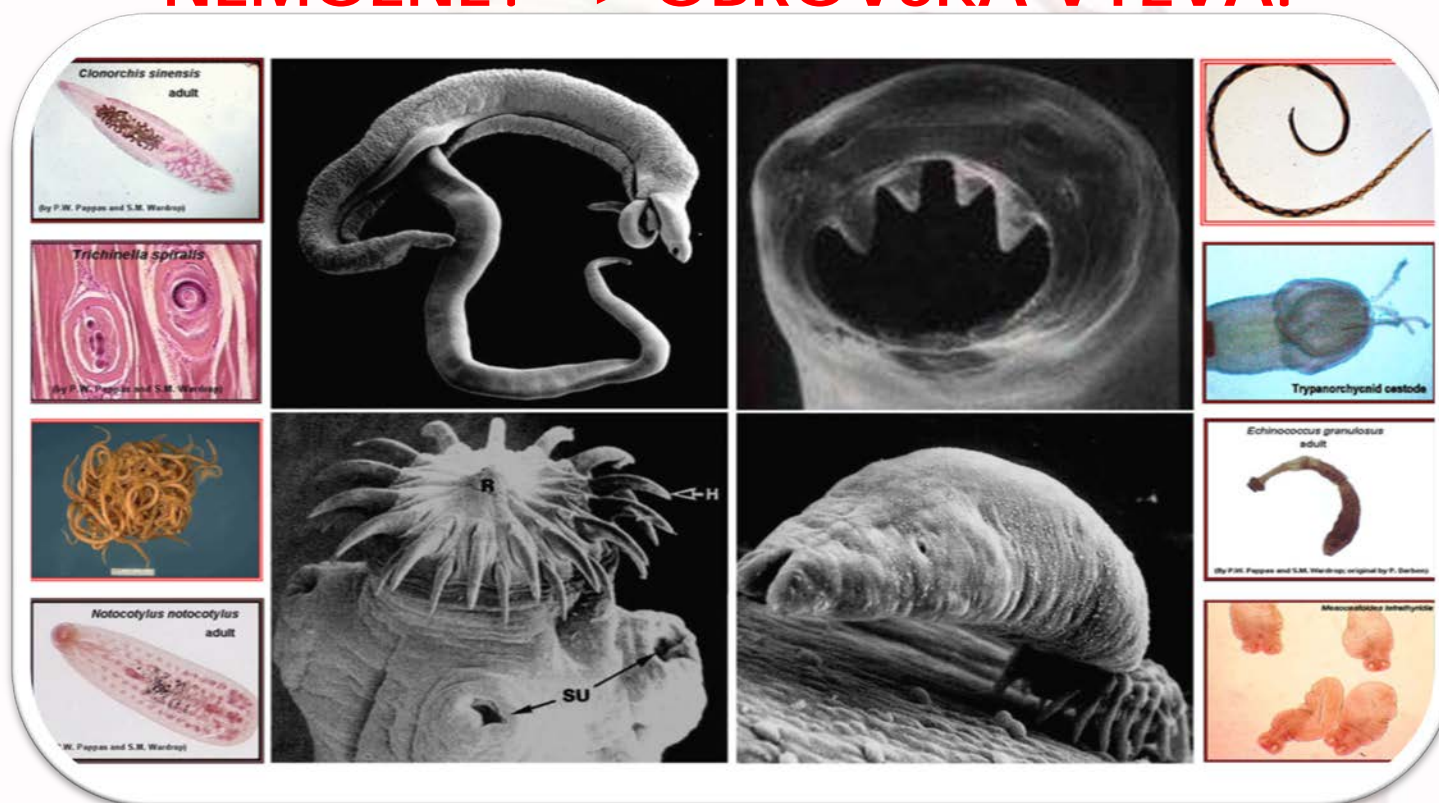
1. Úvod
2. Orientace **helmintů**
3. **Průniky**
4. Hormony
5. Interakce s imunitním systémem hostitele
6. Úniky
7. Intracelulární parazitismus **helmintů**



# SHRNUTÍ PROBLEMATIKY

Molekulární a buněčné interakce parazita a hostitele  
v jednosemestrálním bloku přednášek

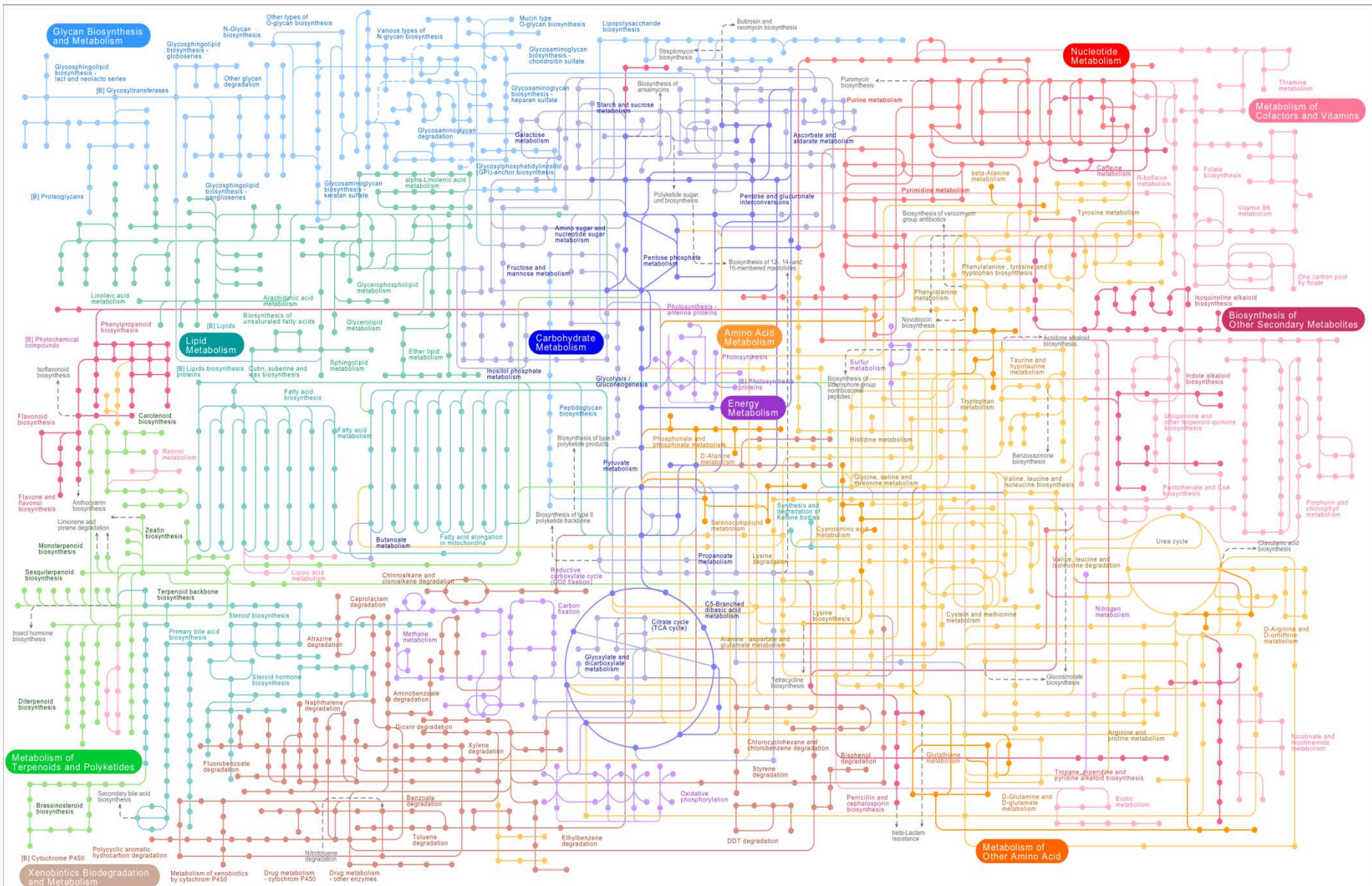
**NEMOŽNÉ? => OBROVSKÁ VÝZVA!**



Co druh to „unikát“ ;-) !



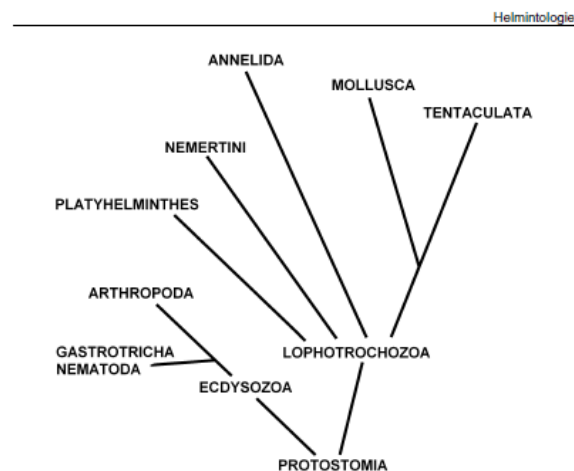
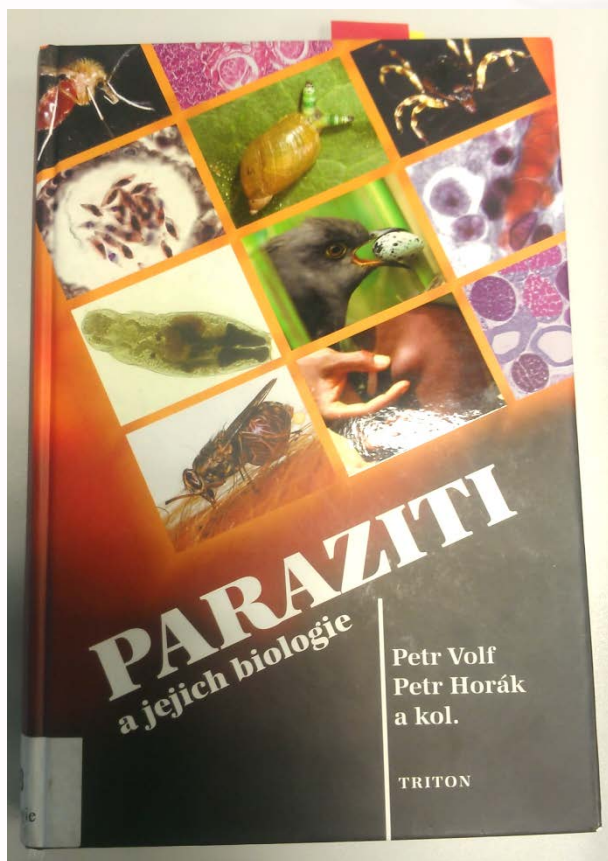
# SHRNUTÍ PROBLEMATIKY



# STUDIJNÍ MATERIÁLY

- přednášky
- přednášky – Základy parazitologie, helmintologie

## ZAKONČENÍ: písemný test



Obr. 3–1 Zjednodušený fylogenetický strom protostomních živočichů. Konstrukce dle 18S rRNA a Hox genů (dle Tessmar-Raible a Arendt, 2003, upraveno).

Význam helmintů jako patogenů člověka i zvířat je nesporný, o čemž svědčí odhady počtu infikovaných lidí. Například schistosomy parazitují asi u 200 milionů a ohrožují kolem 600 milionů osob, počet lidí infikovaných lymfatickými filáriemi je asi 120 milionů. Kolem miliardy osob je nakaženo škrkavkami, téměř jedné miliardy dosahuje odhad počtu infekcí tenkohlavců (*Trichuris trichiura*) (viz tab. 1–2).

### 3.2 Molekulární interakce helmintů s hostiteli

Přenos helmintů mezi hostiteli i přezívání v nich jsou podmíněny existen-

cí četných adaptací. Mezi nejnapadnější patří **morfologické adaptace** ve formě specializovaných přichycovacích orgánů či povrchových struktur sloužících příjmu živin (viz úvod k jednotlivým taxonům). Ale i na molekulární úrovni využívají helminti nejrůznější mechanismy pro hledání hostitele, průnik do jeho těla a následný vývoj.

Již ve fázi **hledání hostitele** mohou volně žijící stadia některých helmintů identifikovat nového hostitele podle **chemických signálů**. Například cercárie echinostomních motolic reagují na přítomnost aminokyselin uvolňovaných do vody druhými mezihostiteli a larvy hliště rodu *Strongyloides* se mohou orientovat podle koncentrace

1.

---

# ÚVOD

The background features a faint, artistic illustration. On the left, a grey, textured, spherical object resembling a parasite or a cell is shown. To its right, a complex chemical structure is depicted, consisting of several fused hexagonal rings, some colored in shades of red and orange, suggesting a molecular model of a biological compound.

# VÝZNAM PARAZITŮ

WHO



Leishmaniasis

Onchocerciasis

Chagas disease

Leprosy

Tuberculosis

Schistosomiasis

Lymphatic filariasis

Malaria

African trypanosomiasis

Dengue

## RESEARCH AREAS

10 nejvýznamnějších infekčních onemocnění na světě



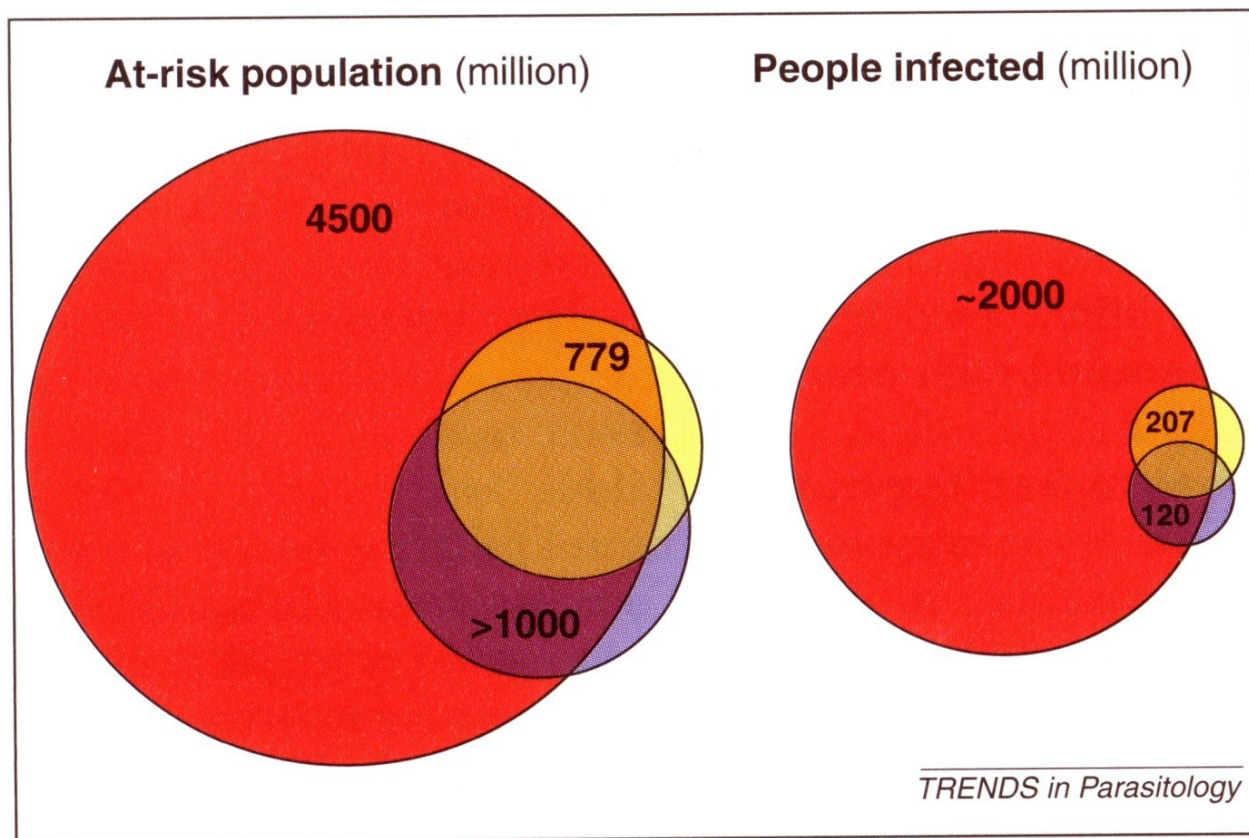
8 z nich je parazitárních nebo parazity přenášených



3 z nich jsou vyvolány helminty



# LIDSKÁ POPULACE + HELMINTI



Lymfatické filariózy

Schistosomóza

„soil-transmitted“ helmintózy

(*Ascaris*, *Trichuris*,

*Ancylostoma*, *Necator*)

**Figure 2.** Estimated at-risk population worldwide and number of people infected with LF (blue), schistosomiasis (yellow) and STH (red). The numbers suggest that there is significant overlap in both measures, although the exact amount of overlap is not known. Data from Ref. [11].

(Trends in Parasitology 2006)



# VÝZNAM HELMINTŮ

**Table 1.** The Major Neglected Tropical Diseases Ranked by Prevalence.\*

Disease	Global Prevalence (millions)	Population at Risk	Regions of Highest Prevalence	Source
Ascariasis	807	4.2 billion	East Asia and Pacific Islands, sub-Saharan Africa, India, South Asia, China, Latin America and Caribbean	Bethony et al., <sup>6</sup> de Silva et al. <sup>7</sup>
Trichuriasis	604	3.2 billion	Sub-Saharan Africa, East Asia and Pacific Islands, Latin America and Caribbean, India, South Asia	Bethony et al., <sup>6</sup> de Silva et al. <sup>7</sup>
Hookworm infection	576	3.2 billion	Sub-Saharan Africa, East Asia and Pacific Islands, India, South Asia, Latin America and Caribbean	Bethony et al., <sup>6</sup> de Silva et al. <sup>7</sup>
Schistosomiasis	207	779 million	Sub-Saharan Africa, Latin America and Caribbean	Steinmann et al. <sup>8</sup>
Lymphatic filariasis	120	1.3 billion	India, South Asia, East Asia and Pacific Islands, sub-Saharan Africa	Ottesen, <sup>9</sup> WHO <sup>10</sup>
Trachoma	84	590 million	Sub-Saharan Africa, Middle East and North Africa	International Trachoma Initiative, <sup>11</sup> Médecins sans Frontières <sup>12</sup>
Onchocerciasis	37	90 million	Sub-Saharan Africa, Latin America and Caribbean	Basáñez et al. <sup>13</sup>
Leishmaniasis	12	350 million	India, South Asia, sub-Saharan Africa, Latin America and Caribbean	Desjeux <sup>14</sup>
Chagas' disease	8–9	25 million	Latin America and Caribbean	WHO <sup>15</sup>
Leprosy	0.4	ND	India, sub-Saharan Africa, Latin America and Caribbean	International Federation of Anti-Leprosy Associations <sup>16</sup>
Human African trypanosomiasis	0.3	60 million	Sub-Saharan Africa	Fèvre et al. <sup>17</sup>
Dracunculiasis	0.01	ND	Sub-Saharan Africa	Carter Center <sup>18</sup>
Buruli ulcer	ND	ND	Sub-Saharan Africa	Global Buruli Ulcer Initiative <sup>19</sup>

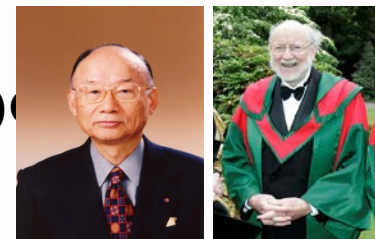
\* ND denotes not determined.

# TROPICAL DISEASES “HOTSPOTS”



(Hotez, PLoS Neglected Tropical Diseases 2014)

# NOBELOVA CENA 2015 - OBOR FYZIOLOGIE NEBO LÉKAŘSTVÍ (5. 10.)



[http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2015/press.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2015/press.html)

<http://edition.cnn.com/2015/10/05/world/nobel-prize-medicine/index.html>

- **3 vědci ve 2 parazitologických výzkumech**
- **William C. Campbell (USA) a Satoshi Ōmura (JP)** - vyvinuli lék **Ivermectin** (blokace přenosu elektro.-chem. signálů v nervové a svalové soustavě bezobratlých) proti původcům řční slepoty (*Onchocerca volvulus*) a lymfatické filariózy (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* a *Brugia timori*). Jedná se fermentační produkt bakterie *Streptomyces avermitilis*.

## ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Front. Mol. Neurosci., 25 September 2015 | <http://dx.doi.org/10.3389/fnmol.2015.00055>

## Functional characterization of ivermectin binding sites in $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABA(A) receptors

Argel Estrada-Mondragon<sup>1</sup> and Joseph W. Lynch<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Queensland Brain Institute, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

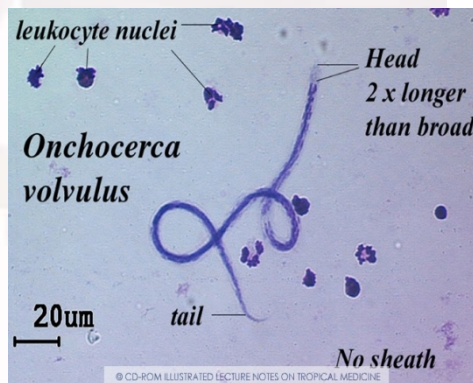
<sup>2</sup>School of Biomedical Sciences, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

## Avermectins, New Family of Potent Anthelmintic Agents: Producing Organism and Fermentation

RICHARD W. BURG,<sup>1\*</sup> BRINTON M. MILLER,<sup>1</sup> EDWARD E. BAKER,<sup>1</sup> JEROME BIRNBAUM,<sup>1</sup> SARA A. CURRIE,<sup>1</sup> ROBERT HARTMAN,<sup>1</sup> YU-LIN KONG,<sup>1</sup> RICHARD L. MONAGHAN,<sup>1</sup> GEORGE OLSON,<sup>1</sup> IRVING PUTTER,<sup>1</sup> JOSEFINO B. TUNAC,<sup>1</sup> HYMAN WALLICK,<sup>1</sup> EDWARD O. STAPLEY,<sup>1</sup> RUIKO OIWA,<sup>2</sup> AND SATOSHI ŌMURA<sup>2</sup>

Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, Rahway, New Jersey 07065,<sup>1</sup> and The Kitasato Institute and Kitasato University, Shirokane, Minato-ku, Tokyo 108, Japan<sup>2</sup>

Received for publication 15 November 1978







# NOBELOVA CENA 2015 - OBOR FYZIOLOGIE NEBO LÉKAŘSTVÍ (5. 10.)

- **Youyou Tu (CN)** - V pelyňku ročním (*Artemisia annua*) identifikovala účinnou látku proti původci malárie (*Plasmodium spp.*) - látka **Artemisinin** (dihydroartemisinin - polosyntetický derivát).
- Mechanismus účinku není prozatím zcela objasněn (předpoklad: degradace hemoglobinu - uvolnění železných iontů - redukce peroxidových vazeb v artemisininu a oxidace železa - vznik kyslíkových radikálů).
- Znovuobjevení tradiční čínské medicíny.

## A molecular mechanism of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria

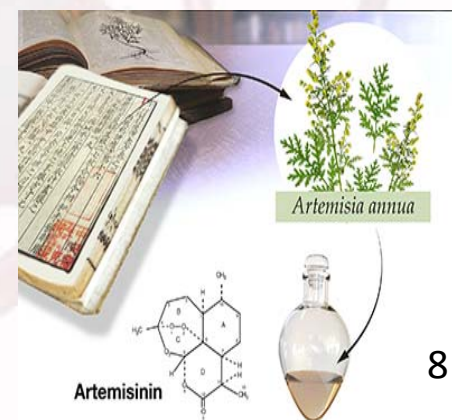
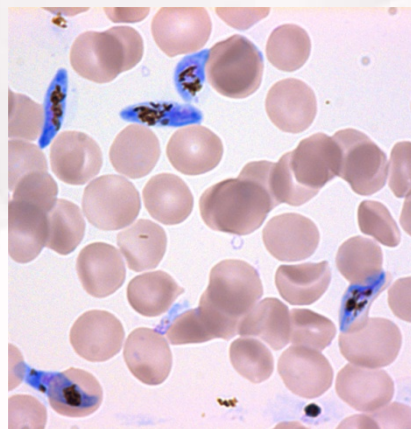
Alassane Mbengue<sup>1,2\*</sup>, Souvik Bhattacharjee<sup>1,2\*</sup>, Trupti Pandharkar<sup>1,2</sup>, Haining Liu<sup>1,3</sup>, Guillermina Estiu<sup>1,3,4</sup>, Robert V. Stahelin<sup>1,3,4</sup>, Shahir S. Rizk<sup>1,2</sup>, Dieudonne L. Njimoh<sup>1,2,5</sup>, Yana Ryan<sup>1,2</sup>, Kesinee Chotivanich<sup>6</sup>, Chea Nguon<sup>7</sup>, Mehdi Ghorbal<sup>8</sup>, Jose-Juan Lopez-Rubio<sup>8</sup>, Michael Pfrender<sup>2</sup>, Scott Emrich<sup>7</sup>, Narla Mohandas<sup>10</sup>, Arjen M. Dondorp<sup>6,11</sup>, Olaf Wiest<sup>1,3,12</sup> & Kasturi Haldar<sup>1,2</sup>

Artemisinin-based combination therapies (ACTs): Best hope for malaria treatment but inaccessible to the needy!

T.K. Mutabingwa<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Infectious and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK

<sup>b</sup> National Institute for Medical Research, P.O. Box 9653, Dar-es-Salaam, Tanzania



# PARALELY

Adv Parasitol. 2009;69:205-97. doi: 10.1016/S0065-308X(09)69004-7.

## Chapter 4. Peptidases of trematodes.

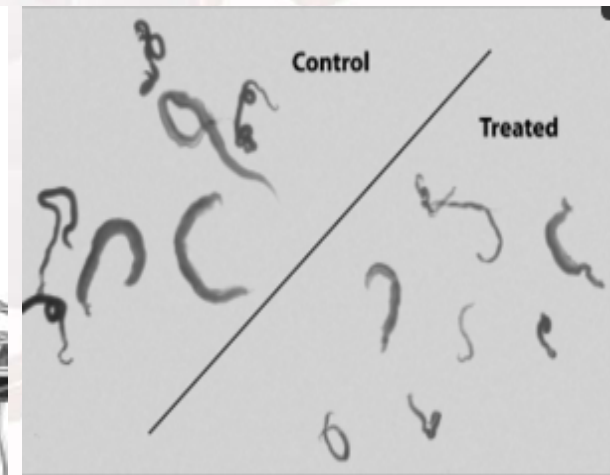
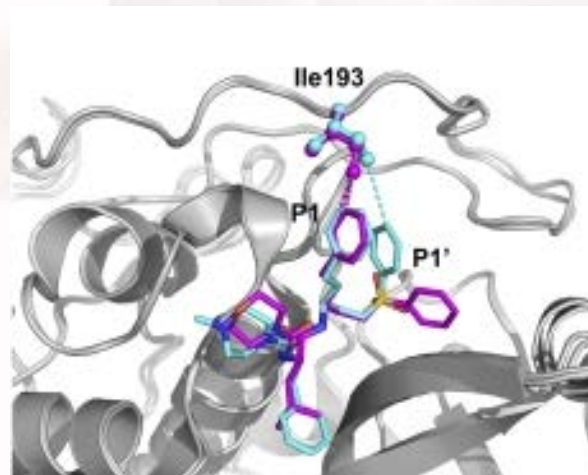
Kasný M<sup>1</sup>, Mikes L, Hampl V, Dvorák J, Caffrey CR, Dalton JP, Horák P.

PLoS Med. 2007 Jan;4(1):e14.

## Schistosomiasis mansoni: novel chemotherapy using a cysteine protease inhibitor.

Abdulla MH<sup>1</sup>, Lim KC, Sajid M, McKerrow JH, Caffrey CR.

**K11777** (N-methyl-piperazine-phenylalanyl-homophenylalanyl-vinylsulphone phenyl) inhibitor cathepsinu B  
=> významné snížení počtu parazitů.





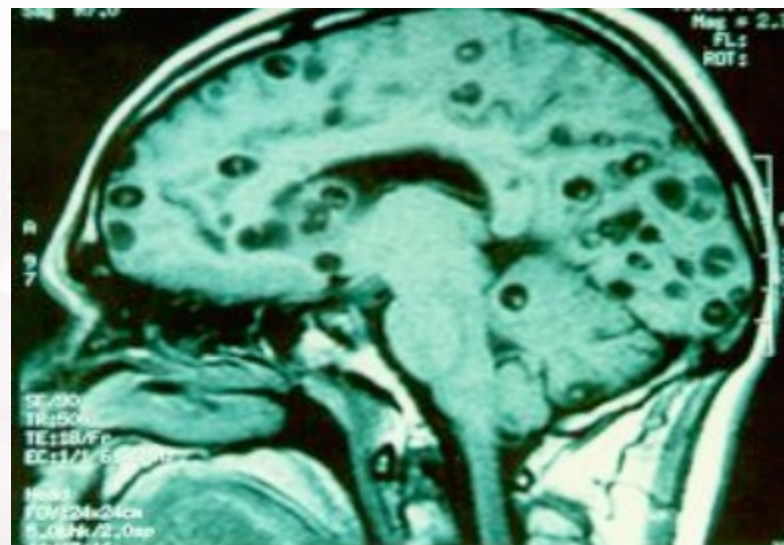
# MOŽNÉ ZPŮSOBY INTERAKCE

- **Kontaktní** – bezprostřední kontakt s hostitelem – morfologické adaptace
  - přítomnost v orgánových soustavách nebo na hostiteli
  - viscerální vs. tkáňová lokalizace



*Taenia solium*

(tasemnice dlouhočlená)



**lidská cysticerkóza** – pozření tepelně neupraveného masa, onkosféra uvolněná ve střevě migruje do různých částí těla včetně svaloviny (ČR - cca. 1 případ ročně - import)

- celosvětově 2.5 mil. osob s taeniózou
- celosvětově 20 mil. osob s cysticerkózou

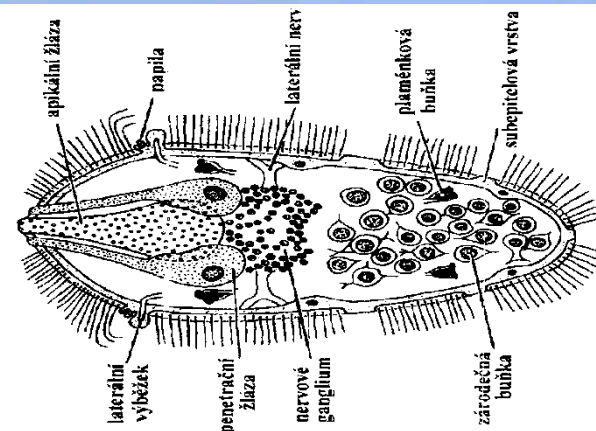
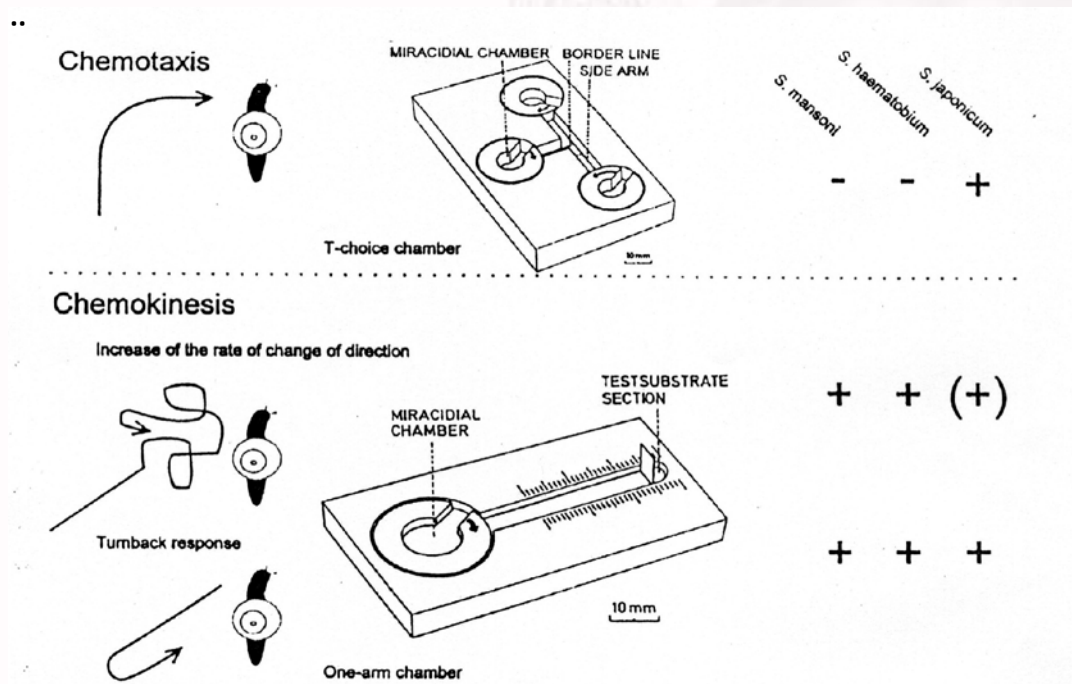
# MOŽNÉ ZPŮSOBY INTERAKCE

## • Nekontaktní

- produkce parazitárních a hostitelských molekul (vně, uvnitř h.org.)
- přítomnost receptorů

## Vnější prostředí

- miracidia reagují na miraxony – chemické látky produkované plžem (*Trichobilharzia regenti* jejich různá glykosylace - specifické rozpoznání meziphostitele)



# MOŽNÉ ZPŮSOBY INTERAKCE

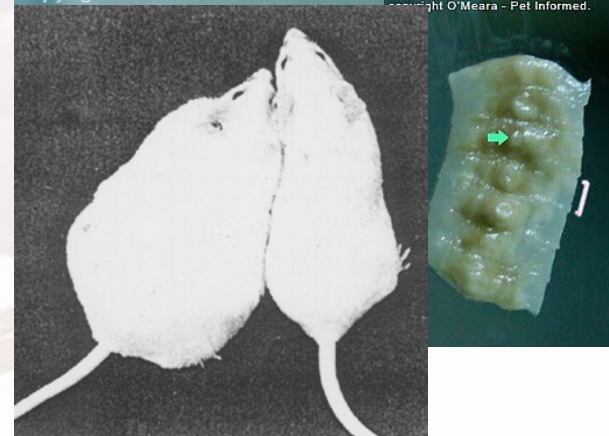
- **Nekontaktní**

- produkce parazitárních a hostitelských molekul (vně, uvnitř h.org.)
- přítomnost receptorů

## Vnitřní prostředí - endoparaziti

### *Spirometra mansonioides* („the zipper tapeworm“)

- cizopasník šelem
- 1MH - buchanky (procerkoid)
- 2MH – různí obratlovci (myš, krysa) (plerocerkoid – sparganum až 35 cm v podkoží)
- DH – šelmy
- parateničtí hostitelé
- **produkce PGF** („plerocercoid growth factor“) Tento protein je hypothalamem hostitele vnímán jako vlastní růstový hormon a díky tomu je prostřednictvím somatostatinu tlumena produkce růstového hormonu v somatotropních buňkách hypofýzy. obdoba růstového hormonu (-somatotropin, STH), lipogenní účinek faktoru – **hostitel tloustne** vykazuje jen některé aktivity růstového hormonu a působení jen v některých tkáních - především vazba na jaterní receptory kde stimuluje produkci růstových faktorů (somatomedinů).

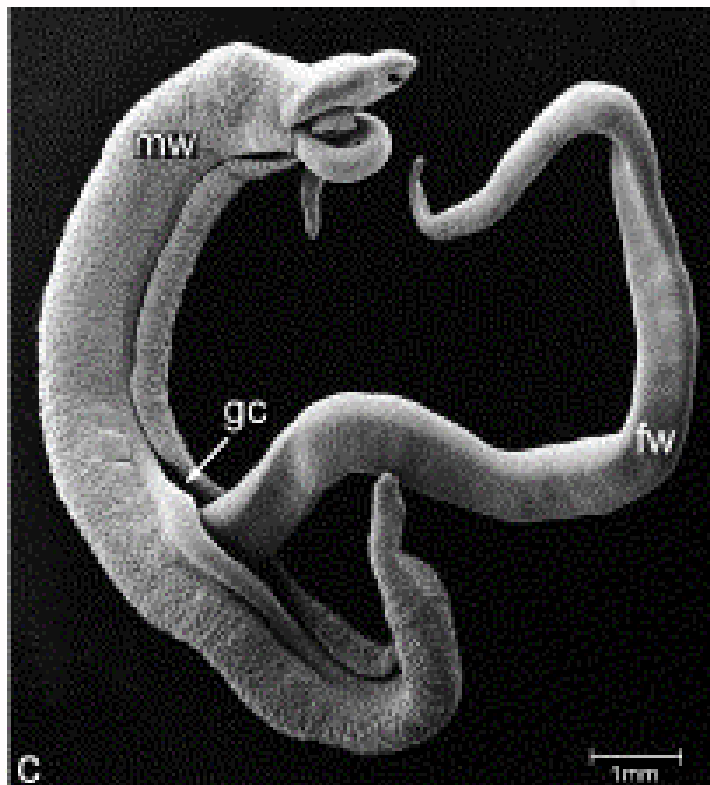


# MOŽNÉ ZPŮSOBY INTERAKCE

## • Interakce mezi parazity

### *Schistosoma mansoni*

- dospělci – permanentní kopulace a stimulace samice ze strany samce



### *Hymenolepis nana*

- 8 cm
- mezipřehostitelé hmyz (blechy, brouci) ve zkrácené var. (krysy, potkani)
- DH - hlodavci (myši, potkani), člověk (ŽC 2 týdny)
- kosmopolitně rozšířená - nejčastější cestodóza - 50 mil. lidí
- častým experimentálním modelem – snadný chov hostitelů (MH potěmníci rodu *Tribolium*, potkani jako definitivní hostitelé)
- u MH brouků - změny chování a snížení reprodukce blokováním vaječných receptorů pro vitelogenin
- U DH „crowding efekt“ - při silných nákazách zůstávají některé tasemnice nevyvinuté, rychleji rostoucí tasemnice produkují látky, které inhibují syntézu DNA ostatních tasemnic





## 2.

---

# ORIENTACE

A faint background illustration featuring a grey, textured, spherical parasite-like structure with several green, leaf-like appendages. To the right of the sphere is a red, stick-model chemical structure of a complex organic molecule, possibly a nucleic acid or a protein-ligand complex.



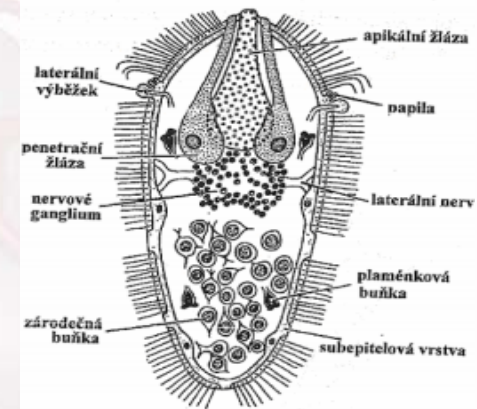
# ORIENTACE HELMINTŮ

Týká se:

Monogenea - onkomiracidium



Trematoda – miracidia a cercárie



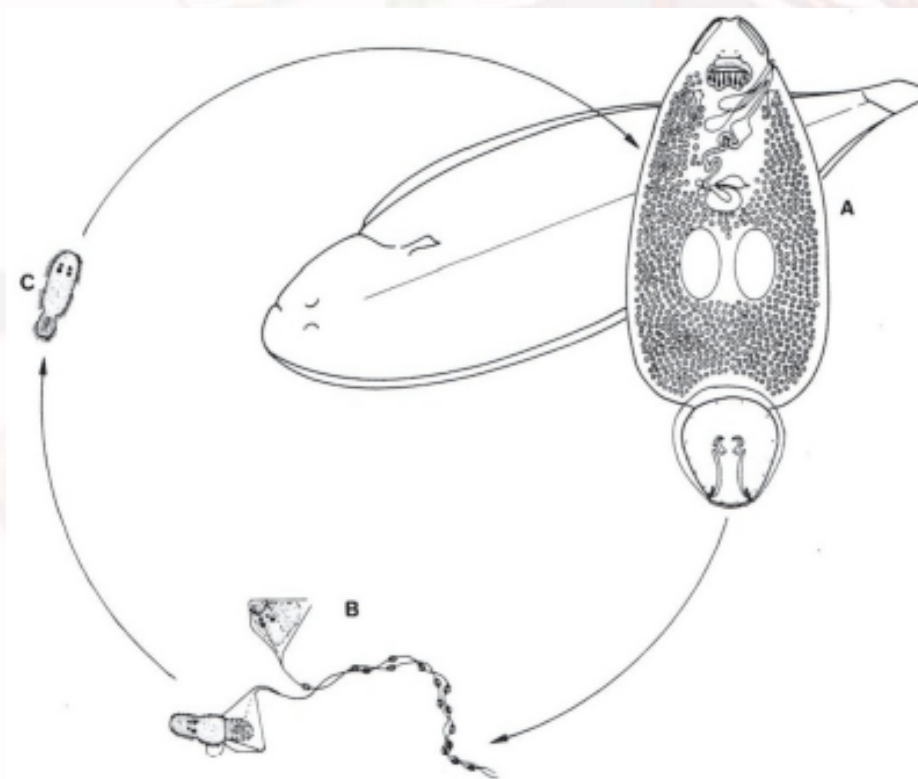
Nematoda – infekční 3 larvální stadium



# MONOGENEA

Digenea, Monopisthocotylea , **př.** *Entobdella soleae*

- parazit na povrchu ryb - oviparní druh, živí se slizem
- **onkomiracidium**
  - pravděpodobně vnímá molekuly slizu hostitele - glykoproteiny, klíčová je zřejmě pozice sacharidu (pravděpodobně manózy )



# MONOGENEA

## Digenea, Monopisthocotylea , **př.** *Gyrodactylus derjavini*

- parazit na povrchu ryb (lososovité) - **viviparní** druh
- **onkomiracidium**
  - chemické složení kůže a slizu, které přitahují juvenilní *Gyrodactylus derjavini*
  - hl. atraktanty slizu - proteiny, polypeptidy a sacharidy
  - kůže - mukopolysacharidy nesoucí galaktózu, manózu
  - některé složky slizu či krve (konkrétně plazma) naopak repelenty (Buchmann K., 1998a; b)



# TREMATODA

Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

*Schistosoma mansoni*

- životní cyklus
- MH - plži se sporocystami 1. a 2. generace
- přímá penetrace furkocerkárií do def. hostitele - odvržení ocásku (schistosomulum)
- prepatentní perioda 5-8 týdnů
- doba života až 30 let
- po kopulaci migrace do kapilár specifických orgánů

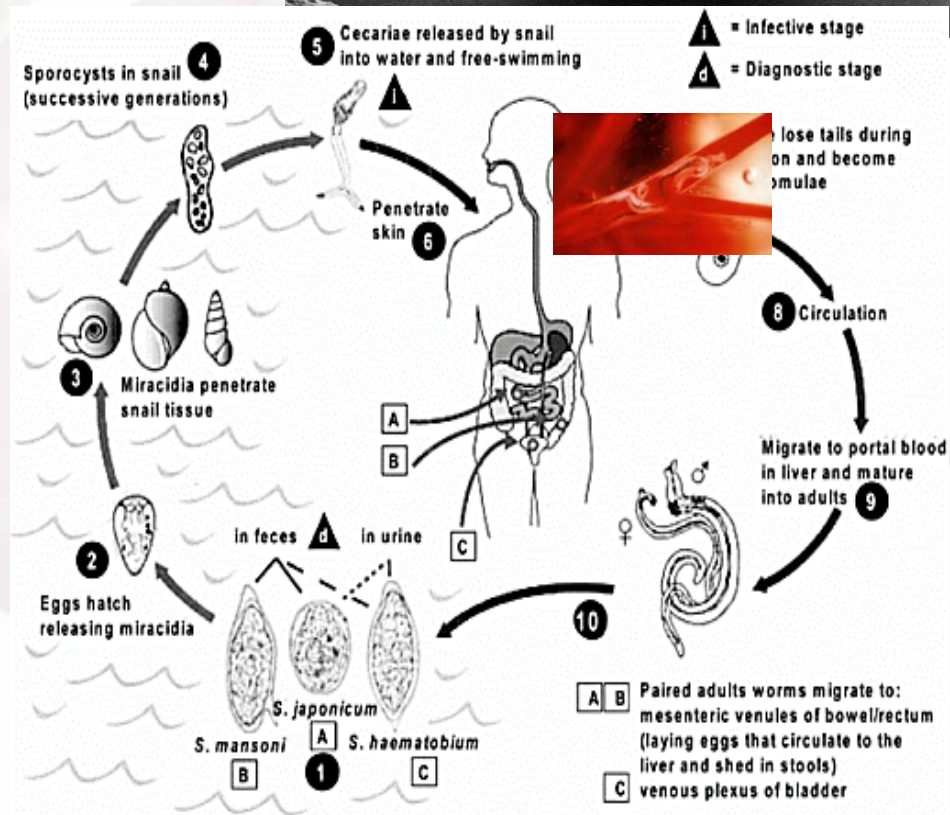
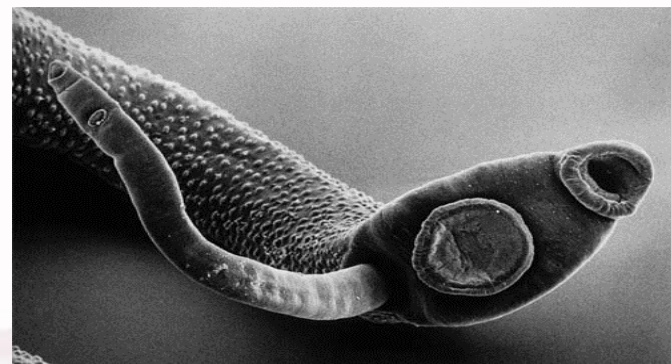
Biomphalaria, Sm



Bulinus, Sh



Oncomelania, Sj

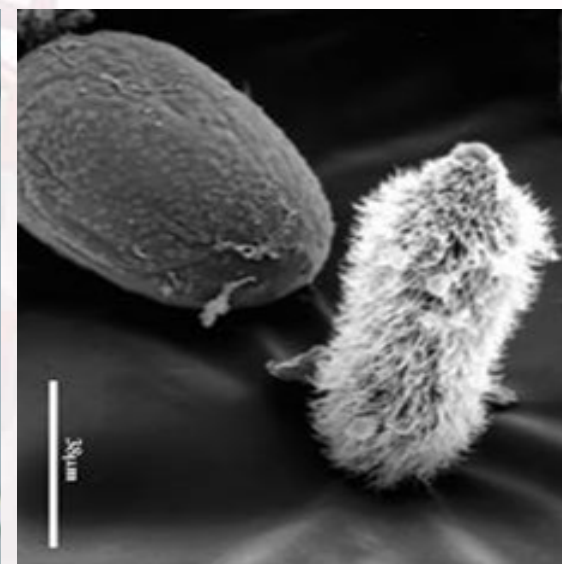
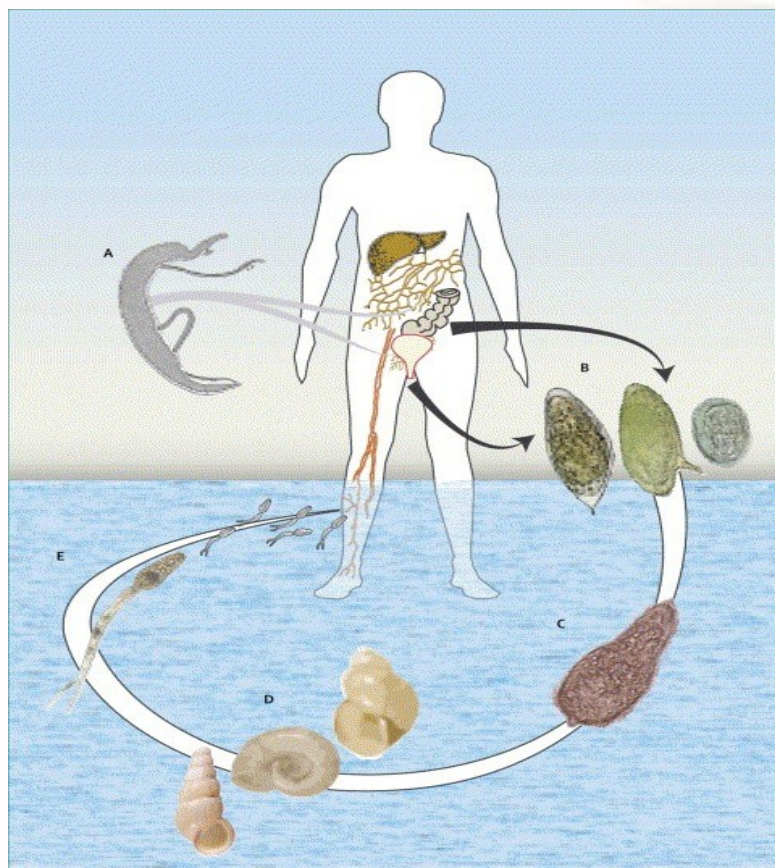




# TREMATODA

Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

**Miracidia** – orientace – hledání habitatu plže (většinou nereaguje přímo na látky vylučované ze svého meziphostitele) **nejsou interakce**  
- hledání plže

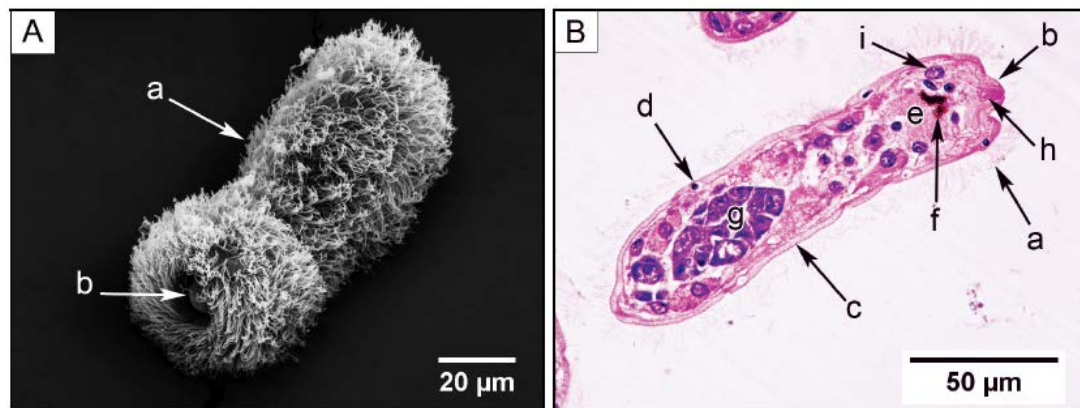




# TREMATODA

Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

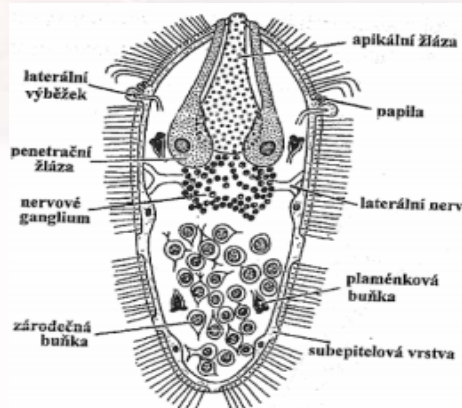
## Miracidia



Obr. 11: Miracidium stavba těla

A: Povrch miracidia (SEM). B: Miracidium podélný řez (H&E). a – cilie, b - apikální papila, c - ciliární destičky, d – jádro ciliární destičky, e - hlavové ganglium, f - oční skvrna, g – zárodečné buňky, h – apikální žláza, i – jádro laterální žlázy.

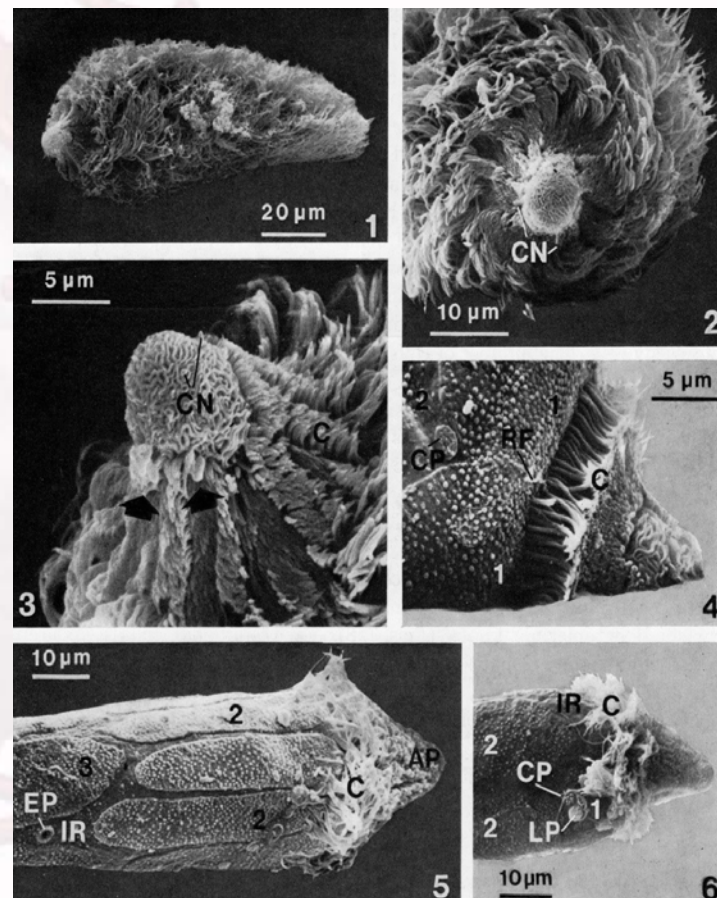
*Trichobilharzia regenti* – ap. žláza



Náhunková 2010 – bakalářská práce

terebratorium

- senzorická fce, penetrace meziphostitele



# TREMATODA

## Digenea, Diplostomida, př. Schistosomatidae

- Orientace** - hledání plže  
„snail-conditioned water“ (SCW)

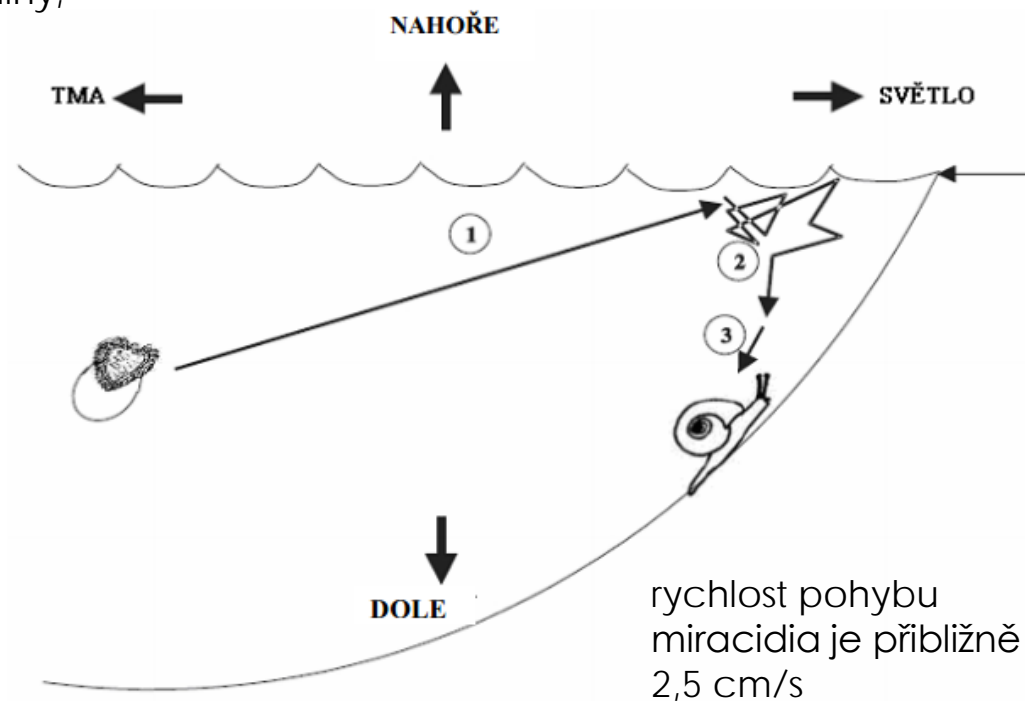
Obsahuje: aminokyseliny (glycin, serin a alanin), hořčnaté ionty, krátké řetězce mastných kyselin, N-acetylneuraminové kyseliny, amoniak, glutathion atd.

Atraktivní část SCW je pro miracidia frakce s molekulární hmotností větší než 30 kDa

MAGs součástí „snail-conditioned water“ (SCW)



*S. mansoni* - miracidium



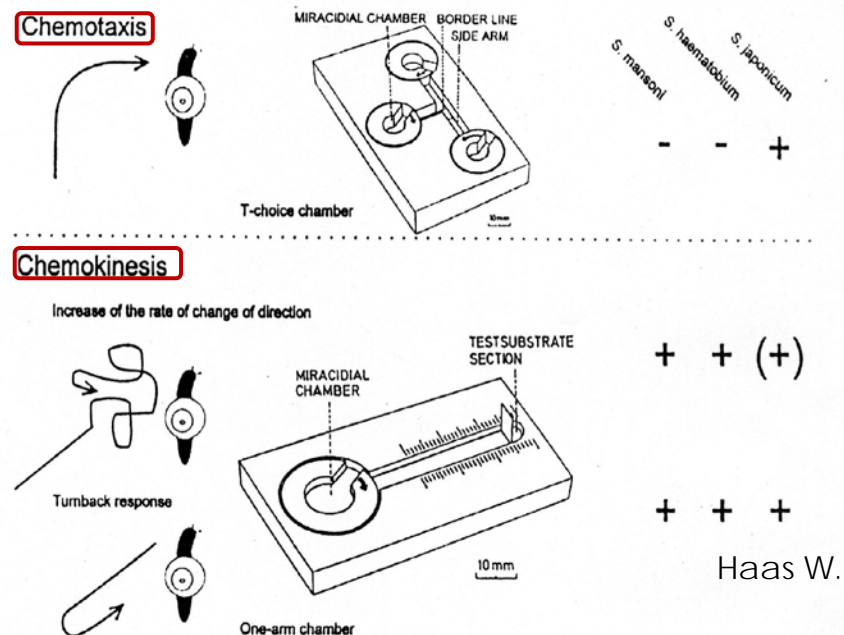
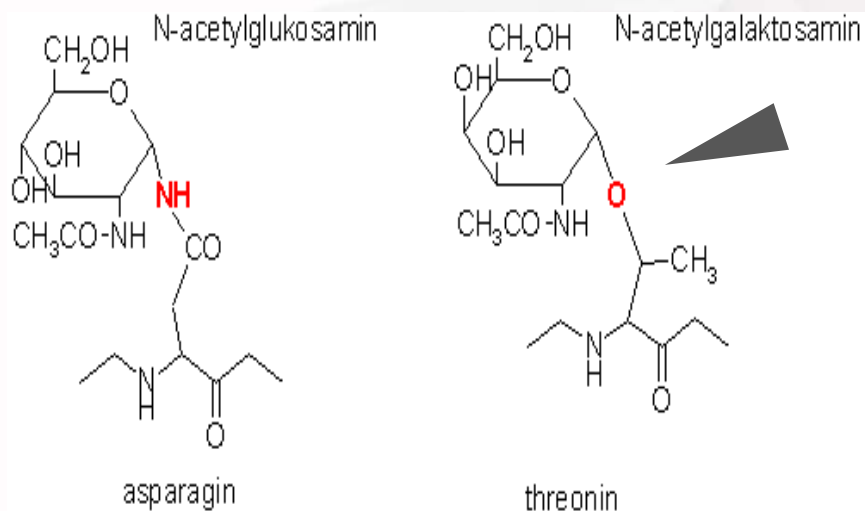
Proces hledání meziphostitele můžeme rozdělit na několik fází: (1) Hledání habitatu meziphostitele pomocí světla a gravitace, (2) náhodné hledání meziphostitele v habitatu, (3) specifické rozpoznání plže a chemoorientace směrem k hostiteli (upraveno podle Sukhdeo a Sukhdeo 2004).

# TREMATODA

## Digenea, Diplostomida, př. Schistosomatidae

### • Miracidia -orientace – hledání plže

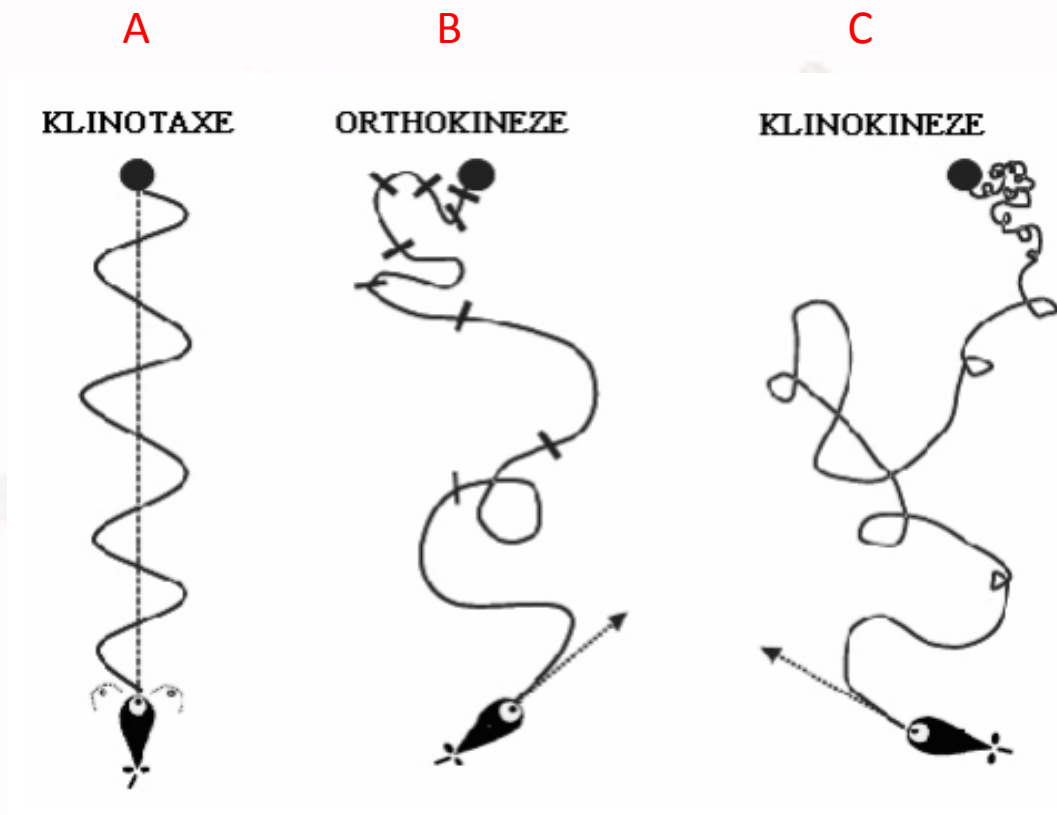
- miracidia reagují na miraxony – chemické látky produkované plžem
- **MAGs** – „miracidia attracting glycoproteins“ – rozhodující koncentrace a struktura
- miracidia některých druhů nedokáží rozlišit jednotlivé druhy plžů před kontaktem
- např. *S. hematobium* - rozliší jednotlivé druhy plžů před kontaktem  
(*Trichobilharzia regenti* jejich různá glykosylace - specifické rozpoznání meziphostitele)
- sacharidové řetězce vázané O-glykosidickou vazbou k proteinu nejspíše přes threonin či serin a N- acetyl-D galaktosamin
- signál rozpoznávaný miracidii je v sacharidové č.
- části kyselina muramová – součást glykoproteinů



# TREMATODA

Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

- Miracidia -orientace – hledání plže



**A;** pohyb miracidia směřující přímo ke stimulu s určitými symetrickými odchyilkami. **B;** miracidium zpomaluje svou rychlost tím více, čím je blíže podnětu. **C;** miracidium zvyšuje počet změn směru pohybu s intenzitou stimulu, ale rychlost je stále stejná. (upraveno podle Sukhdeo a Mettrick 1987)



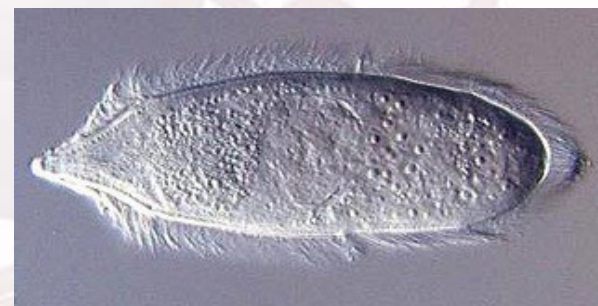
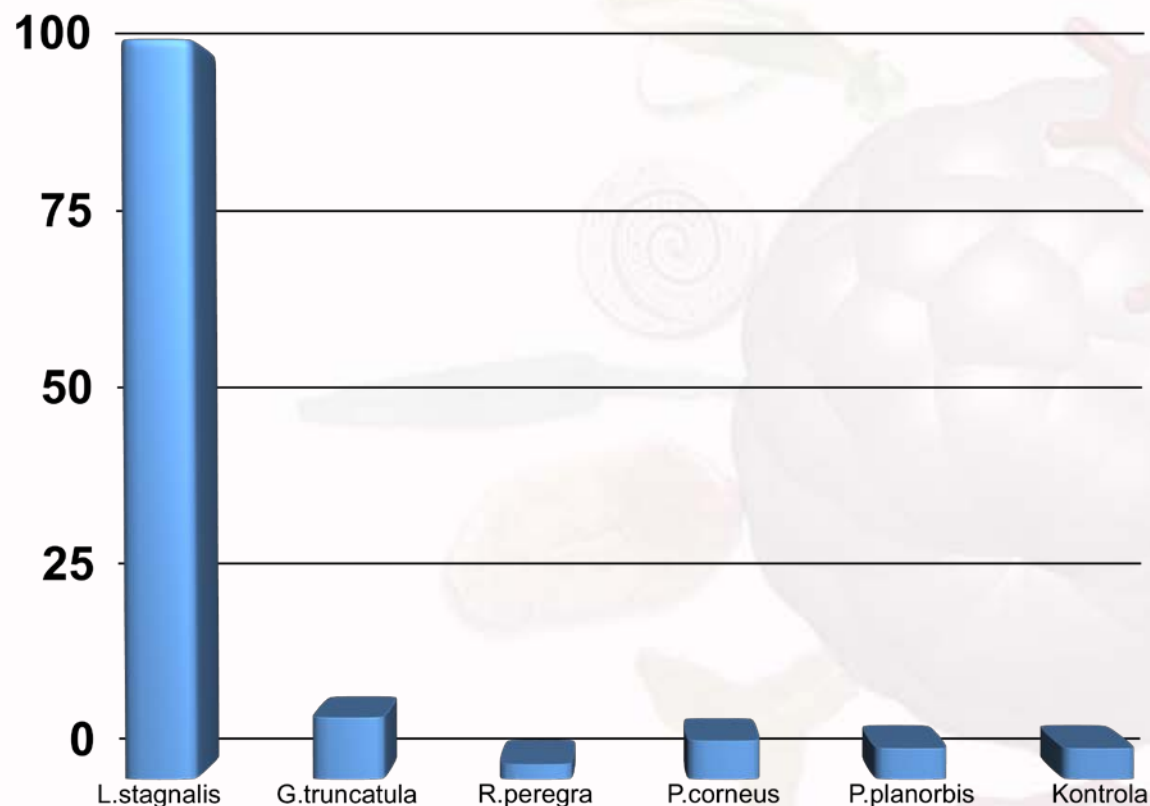
# TREMATODA

*Trichobilharzia* s

## Digenea, Diplostomida, př. Schistosomatidae

- **Miracidia -orientace**

miraxony: selektivní vyhledávání meziphostitele - *Schistosoma* spp., (*Trichobilharzia szidati*)



chemokineze miracidí – prokázána také u např. *F. hepatica*, *S. douthitti*, *S. haematobium*, *S. mansoni* (MacInnis 1965; Shiff 1969; Chernin 1970; Haas a kol. 1991, 1995a; Sukhdeo a Sukhdeo 2004)

# TREMATODA

## Digenea, Diplostomida, př. Schistosomatidae

- **Cerkárie** – opouštění MH plže

výskyt ve stejném čase a na stejném místě jako hostitel

Obr. znázornění denní doby s maximálním uvolňováním cercarií z MH

1) *S. margrebowiei*

2) *S. curassoni*

3) *S. bovis*

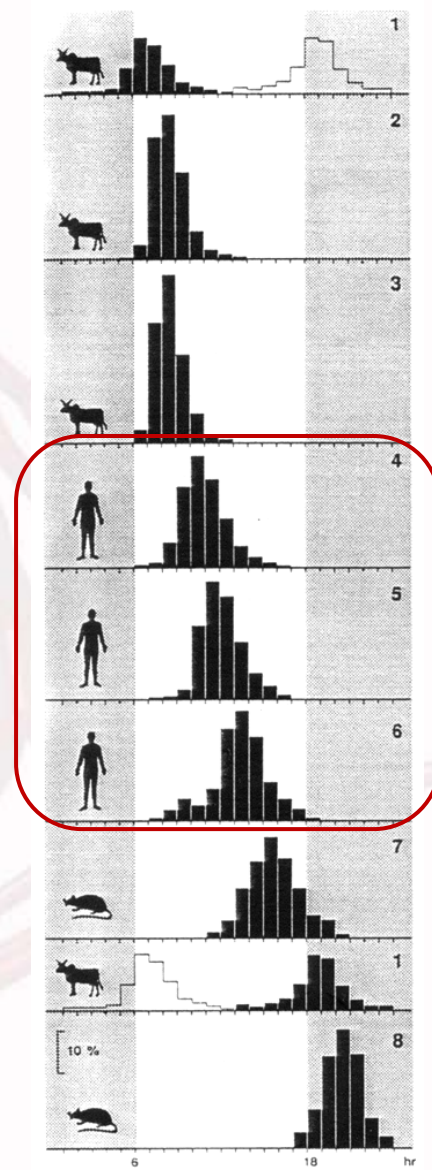
▪ 4) *S. mansoni*

▪ 5) *S. haematobium*

▪ 6) *S. intercalatum*

7) *S. mansoni* (myšovitých)

8) *S. rodhaini*



# TREMATODA

## Digenea

Rozmístění cercárií v prostoru odpovídá výskytu hostitele

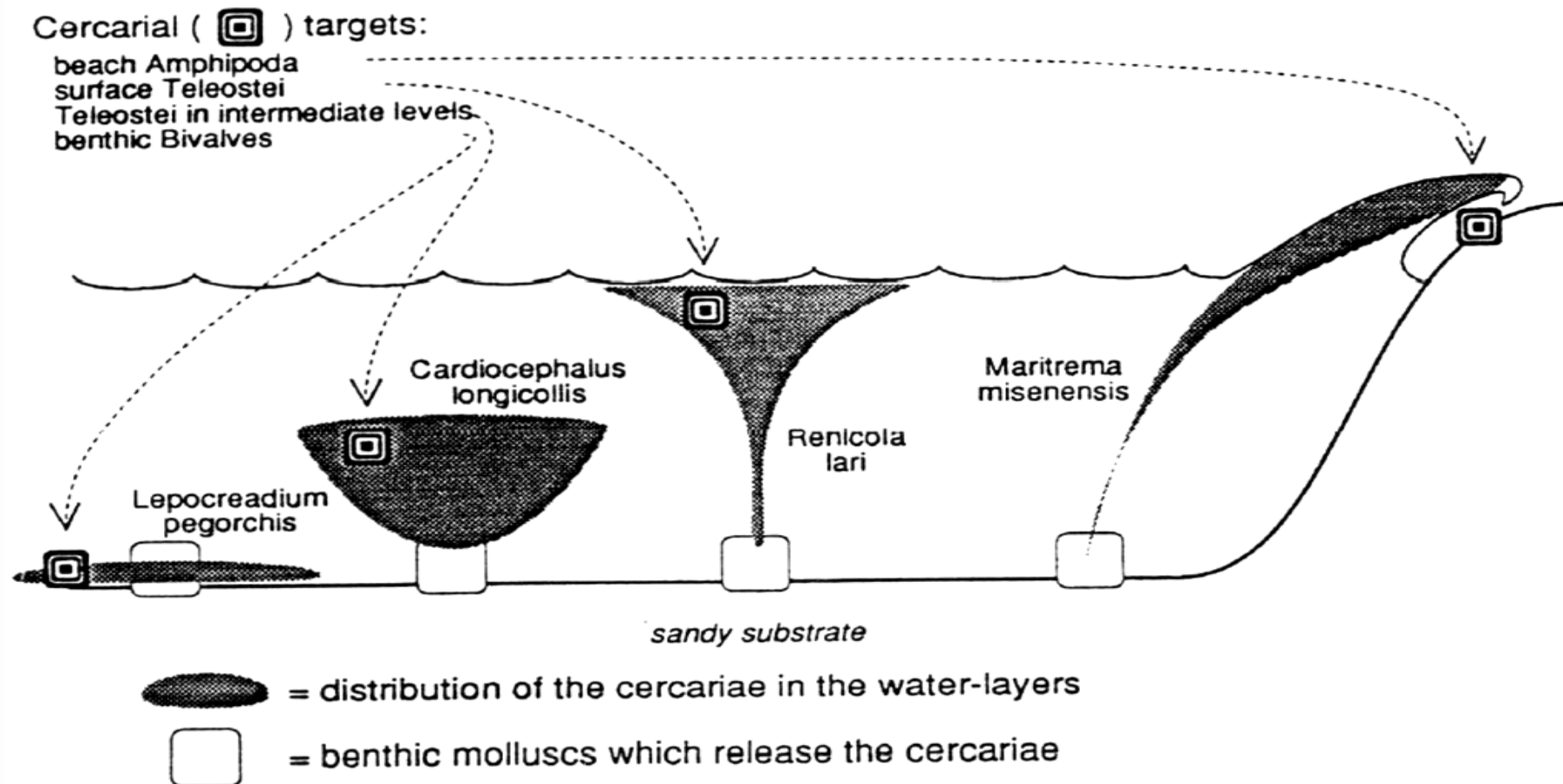


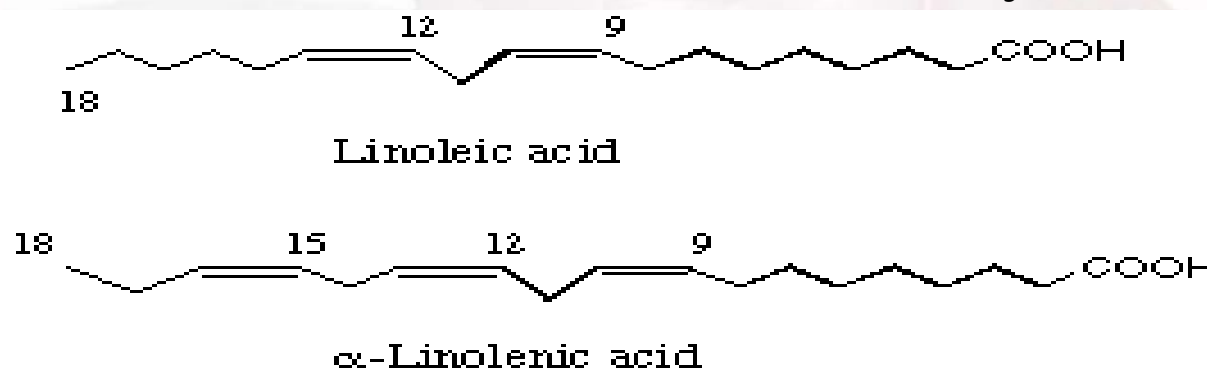
Fig. 2. Meeting-places: the dispersion of cercariae of various trematodes in the water, correlated with the usual position of their downstream or target host (from data collected by Bartoli & Combes, 1986).



# TREMATODA

## Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

- **Cerkárie – orientace** – hledání obratlovčího DH
- **fáze:**
  1. změny pohybu *S. mansoni* vpřed/vzad při zaregistrování hostitelských molekul (mastné kyseliny, L-arginin, malé peptidy s L-argininem), zastínění - *Trichobilharzia*
  2. přisednutí, kontakt a setrvání na kůži – zásadní role L-arginin, ceramidy, cholesterol  
- teplota
  3. penetrační stimuly mastné kyseliny - neutrální pH  
- nasycené 10-12C MK  
- nenasycené MK < 22C - kys. linolová (C18:2)  
- kys. linolenová (C18:3)



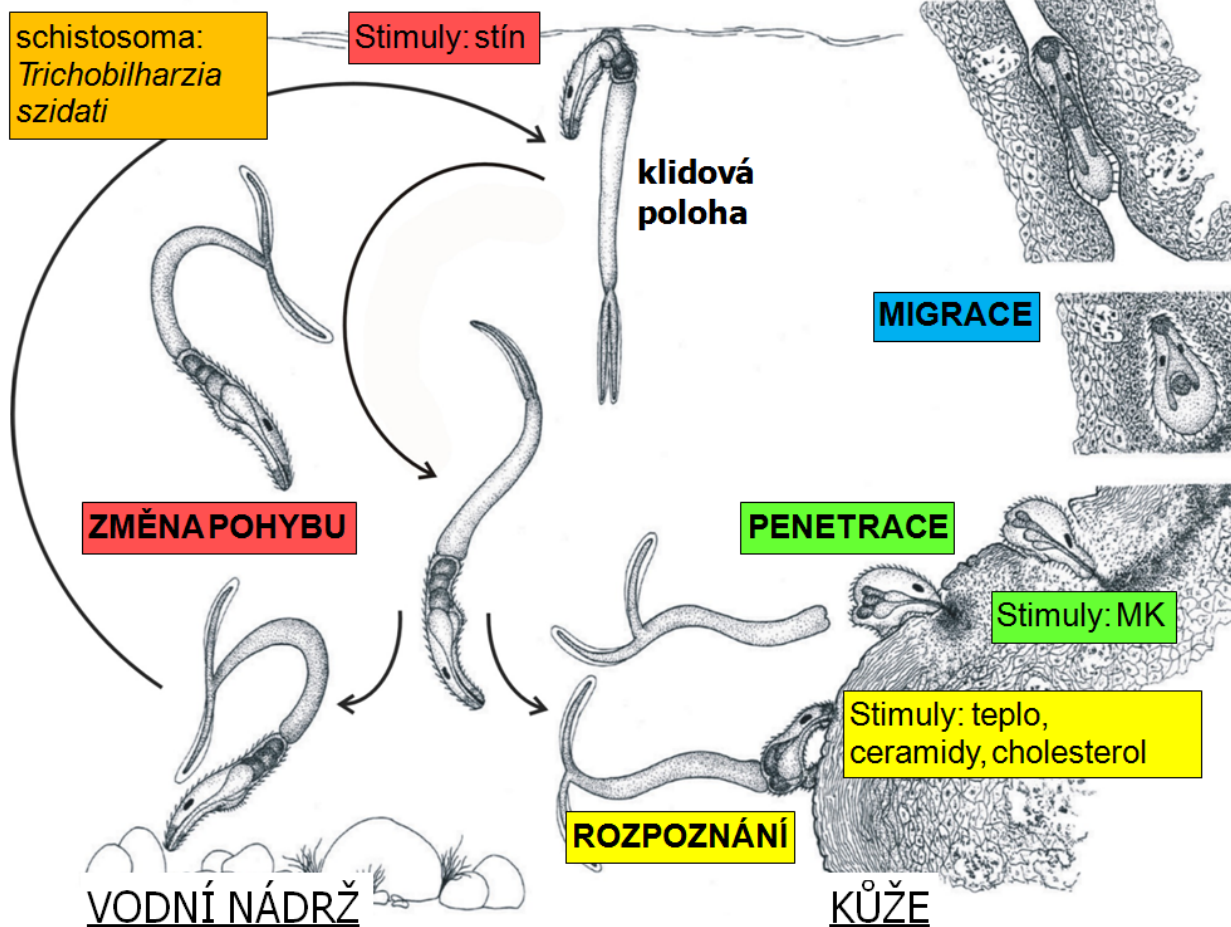
- **Popsány různé typy pohybu u různých druhů schistosom** – sřídání aktivní a pasivní fáze  
např. *S. haematobium* – po opuštění MH cercárie plave rovně na co největší vzdálenost, pak se zastaví a potápí se ke dnufázi nastává pasivní fáze, ve které se cercárie potápí

# TREMATODA

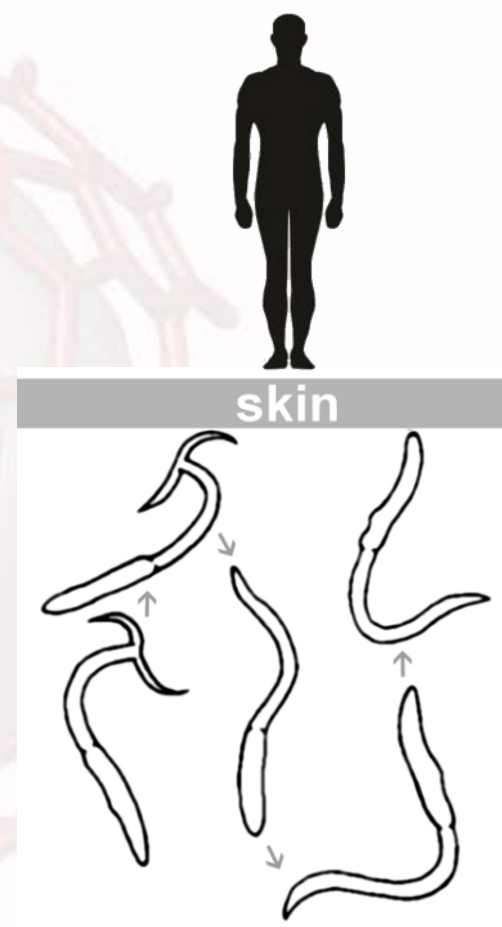
Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

- Cerkárie – orientace – hledání obratlovce

*Trichobilharzia szidati*



*Schistosoma mansoni*



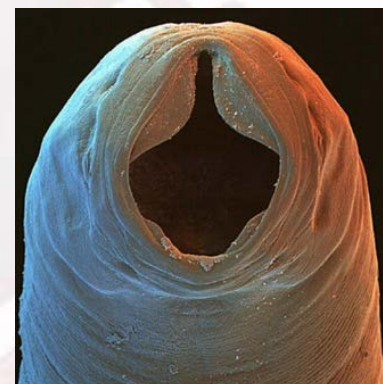
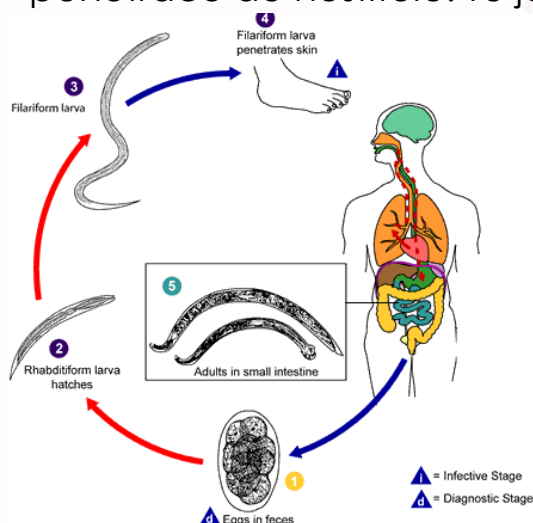
# NEMATODA

Nematoda, Chromatodera, Strongylida **př.** *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale*

- Larvy - infekční L3
- Orientace – zejména v reakci na chemické a fyzikální podněty

## 4 fáze:

1. larva z nehybné fáze na aktivní vlivem tepla nebo vibrací substrátu (k tomu mají larvy přizpůsobené termoreceptory a mechanoreceptory), role vzdušné vlhkosti, světla či proudění v.  
- pohyb plazivým způsobem
2. rozeznávání hostitele – teplota, c.  $\text{CO}_2$  a vlhkost vzduchu
3. **plazí se po povrchu, přitahovaná opět teplotou a hydrofilními a složkami kůže**
4. penetrace do hostitele. To je způsobeno teplem - chemickým složením kůže



## Další prokázané atraktanty

- hydrofilní složky kůže (i stimulace penetrace) - *A. caninum*
- mastné kyseliny - signálu pro penetraci *N. americanus*



# NEMATODA

## Nematoda, Chromatodera, Rhabditida **př.** *Strongyloides stercoralis*

- Larvy - infekční L3
- Orientace – zejména v reakci na chemické a fyzikální podněty
- *Strongyloides stercoralis*

- délka 2,2 mm

- parazit tenkého střeva člověka a psa (pouze samičky)

- požitím kontaminované potravy nebo kontaktem s larvami v mokré hlíně –

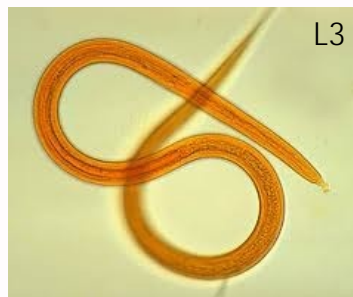
### perkutánní infekce

- průjmy, nechutenství, těžké enteritidy

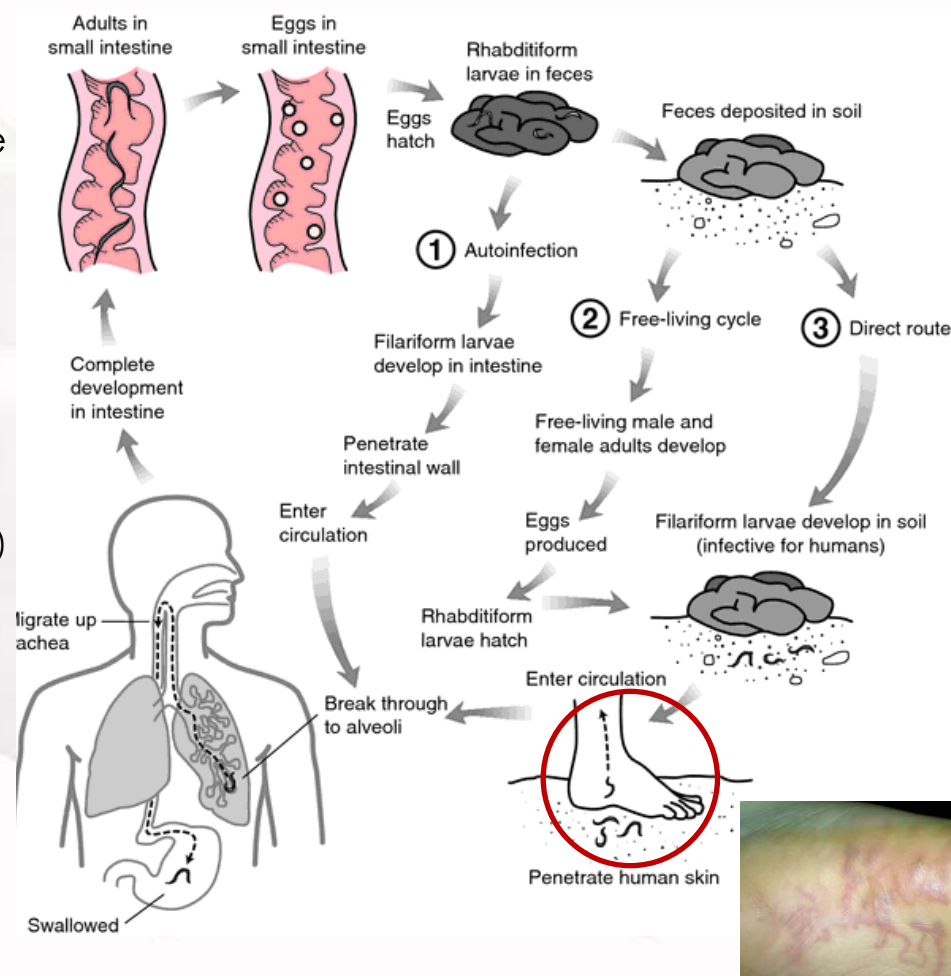
- ŽC: střídání generací (parazitické partenogenetické samice a volně žijící generace obou pohlaví)

- oportunní parazitóza (imunosupresiva, HIV...)

- autoinfekce (larvy se vyvíjí ve střevě až do infekčního stadia – krevní systém)



L3

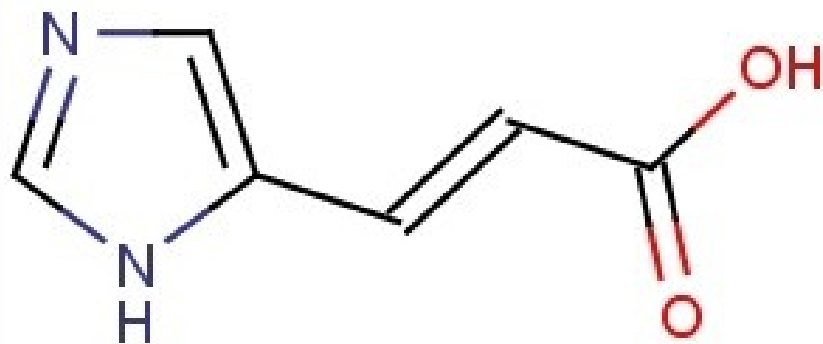


# NEMATODA

Nematoda, Chromatodera, Strongylida **př.** *Strongyloides stercoralis*

- Larvy - infekční L3
  - **Orientace** – zejména v reakci na chemické a fyzikální podněty
- chemické atraktanty:**

- urokanová kyselina (metabolit histidinu), působí už v malých koncentracích, obsažena v kůži a kožních sekretech mnoha savců, kde pravděpodobně plní úlohu protiinfekční bariéry a také gradient NaCl
- pohyb ve směru zvyšujícího gradientu NaCl - *Strongyloides ratti*, opak *Strongyloides stercoralis*
- naopak larvy *S. stercoralis* – opuštění zóny s 2,8 M NaCl

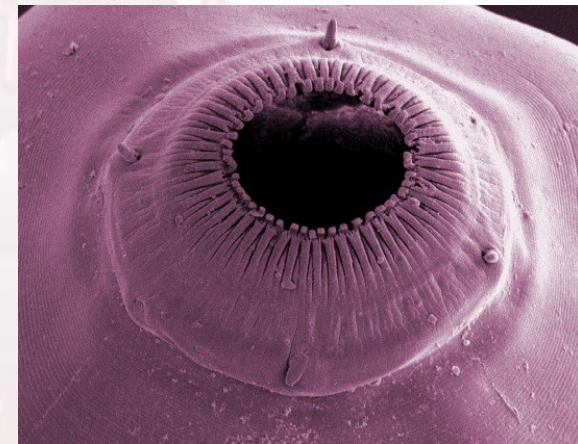
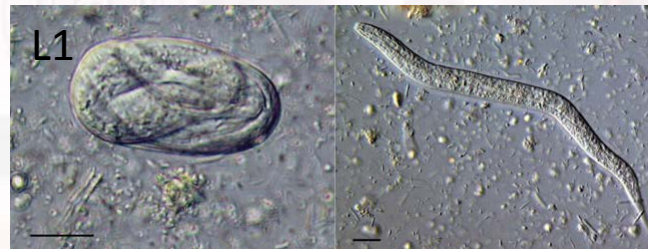
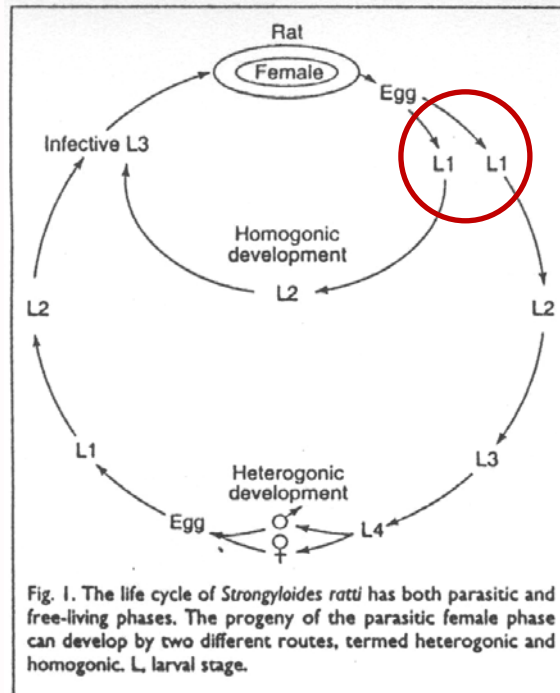


kys. urokanová vliv i na rozpoznání hostitele

# NEMATODA

## Nematoda, Chromatodera, Rhabditida **př.** *Strongyloides ratti*

- rozhodování **L1** larev
  - amfidiální neurony
  - imunoreceptivní neurony (neimunizovaný hostitel: krátký cyklus larev mimo hostitele s nástupem imunity - indukce dlouhého cyklu samic zvýšení podílu samců)
  - termoreceptivní neurony (při nižších teplotách dlouhý cyklus mimo hostitele, při vyšších teplotách indukce krátkého cyklu samic -  $t > 34\text{ }^{\circ}\text{C}$ )



(amfidy u rod *Equinurba*; foto: Mike Kinsell)



# HELMINTI

Některé vybrané látky zapojené do kontaktního rozpoznávání hostitele

## **některé proteiny a glykoproteiny**

Opisthorchis

Romanormis culicivorax (povrch komárů s D-mannosou a D-glukosou)

## **močovina**

Entobdella solae (líhnutí z vajíčka na povrchu ryby)

## **glykosaminoglykany**

Opisthorchis, Trichobilharzia (?)

## **aminokyseliny (L-arginin)**

zásadní pro Schistosoma mansoni

x S. japonicum nevyužívá chemické signály

## **mastné kyseliny**

schistosomy, Diplostomum

# VÍCE

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra parazitologie



## **Mezihostitelská specifita miracidii motolic**

Intermediate host specificity of trematode miracidia

Bakalářská práce

Lucie Náhunková

Školitel: Prof. RNDr. Petr Horák, Ph.D.

Praha 2010

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra parazitologie**

Studijní program Biologie

Studijní obor Biologie



Terezie Vojtová

**Orientace helmintů při hledání hostitele**  
Orientation of helminths during host seeking

# 3.

---

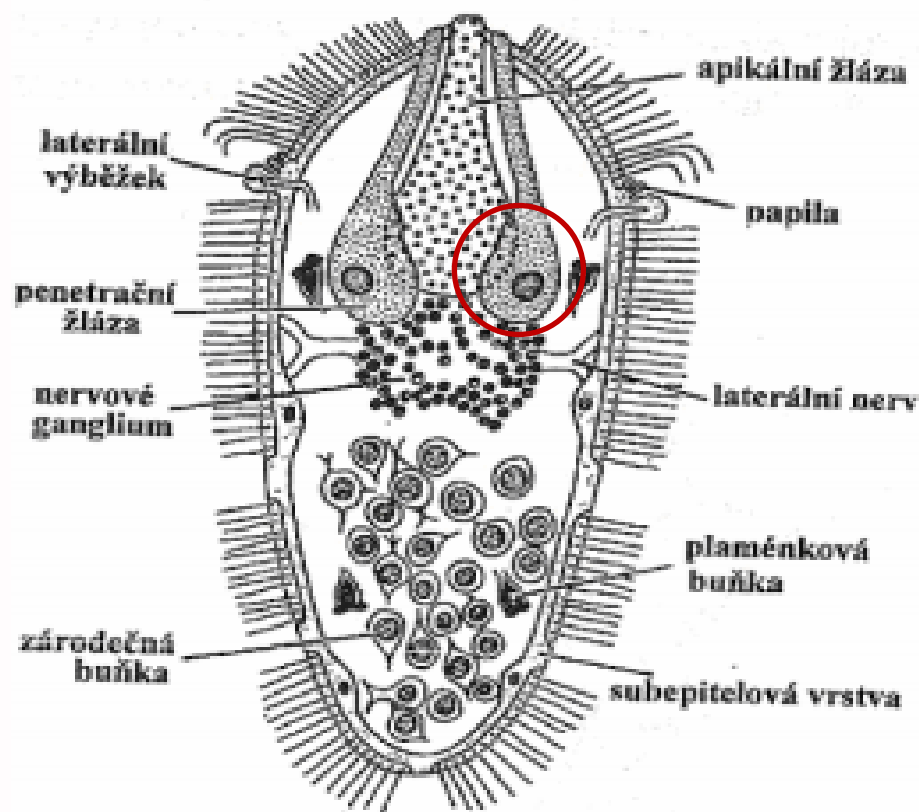
## PRŮNIKY

A faint background illustration featuring a large, textured grey sphere representing a cell or protein, surrounded by several green, yellow, and blue molecular structures. To the right, a prominent orange and red stick-model chemical structure is visible, consisting of interconnected hexagonal and pentagonal rings.

# TREMATODA

Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

Miracidia – penetrace do MH (plže)



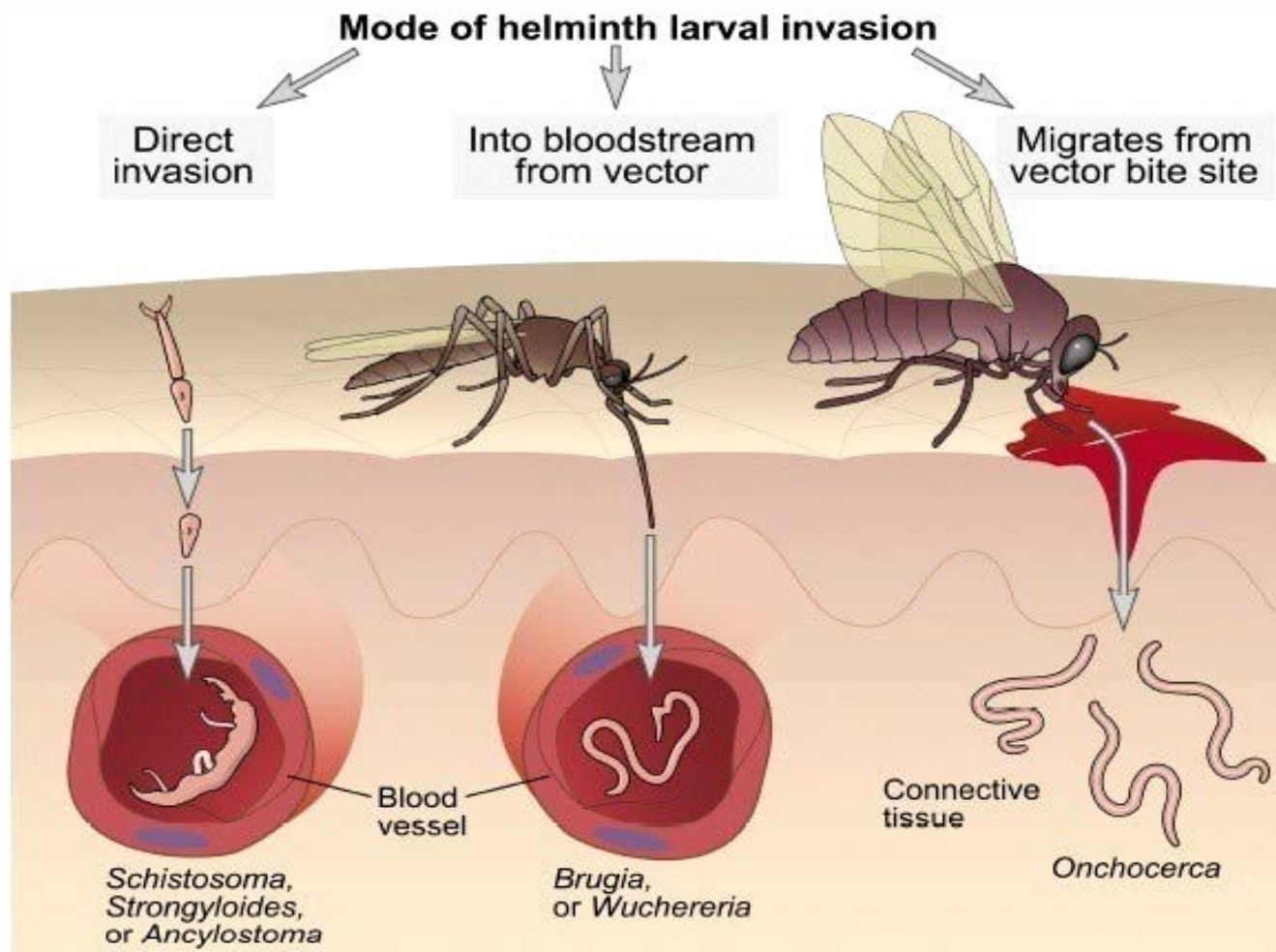
*Trichobilharzia regenti* – penetrační žláza





# TREMATODA

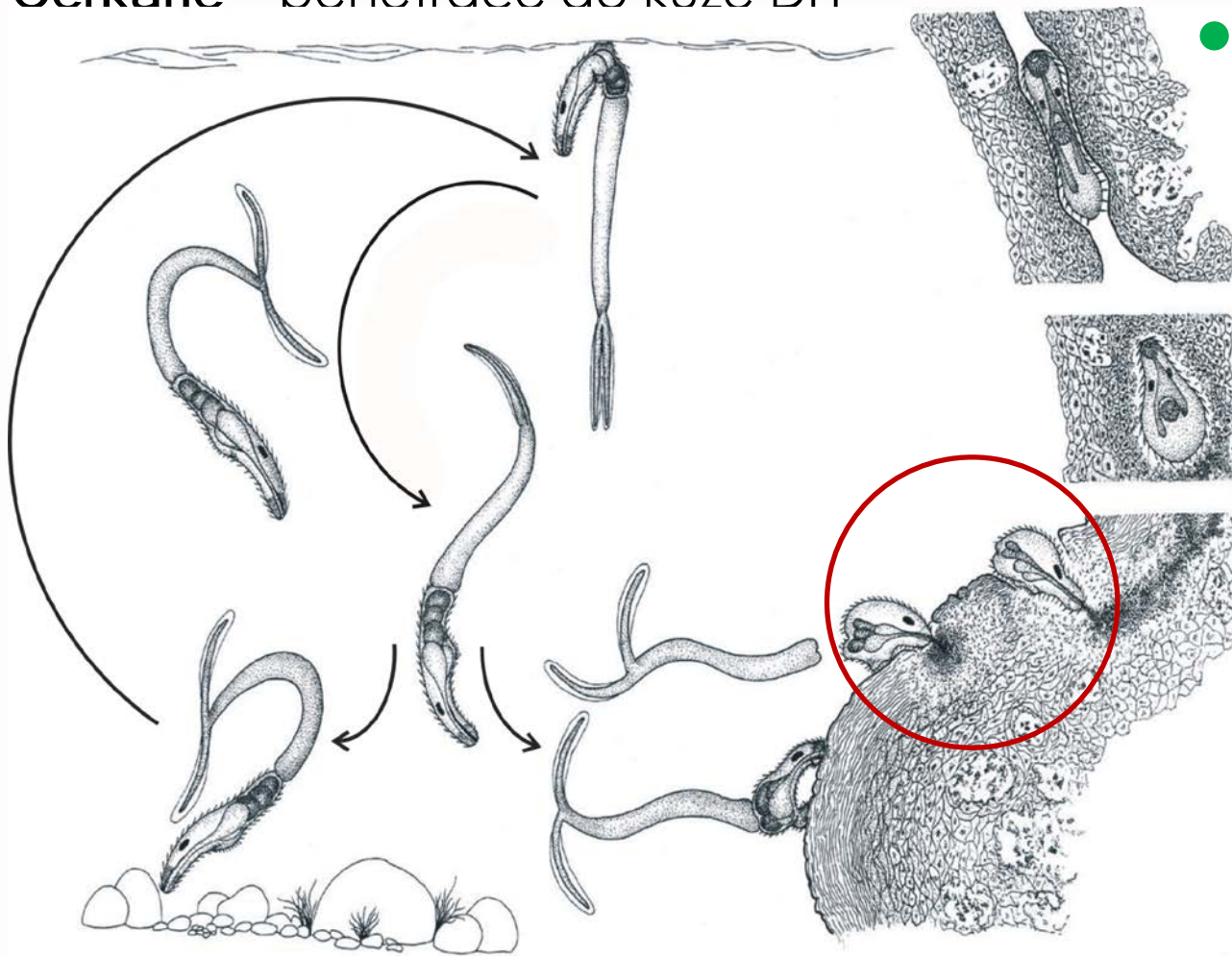
## Průnik helmintů do obratlovce



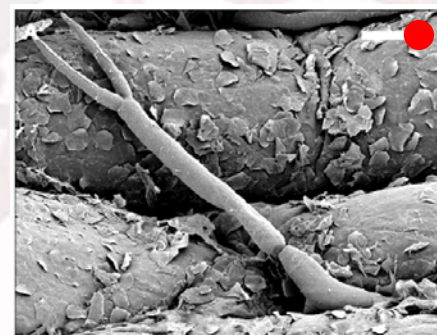
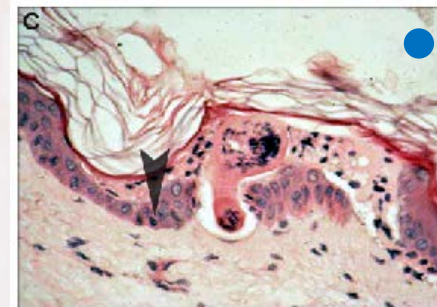
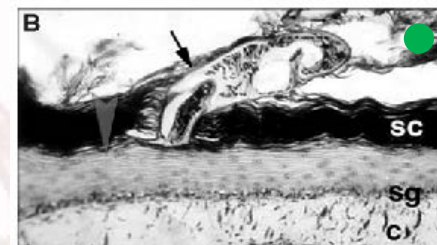
# TREMATODA

## Průnik helmintů do obratlovce

### Cerkárie – penetrace do kůže DH



*Trichobilharzia szidati*, *T. regenti*, *S. mansoni*



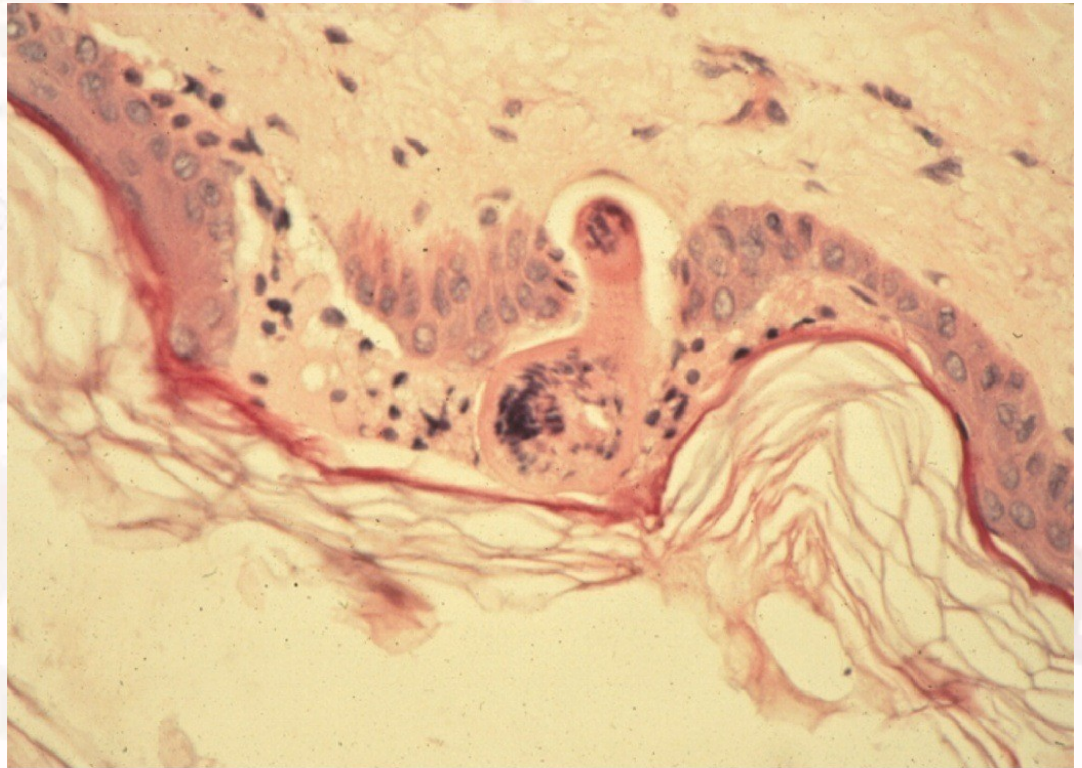
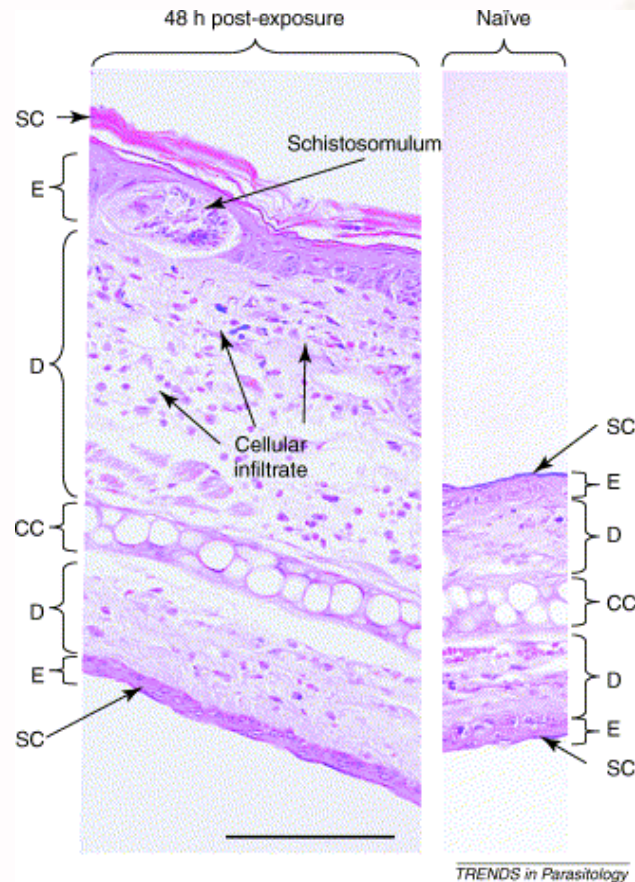


# TREMATODA

## Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

### Orientace larev v těle hostitele

- orientace dle gradientu L-argininu (orientace v kůži)
- vnímání světla a tmy
- registrace koncentrací D-glukózy (hledání cév)



McKerrow JH, et al. 2006.

Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 1:497–536

# TREMATODA

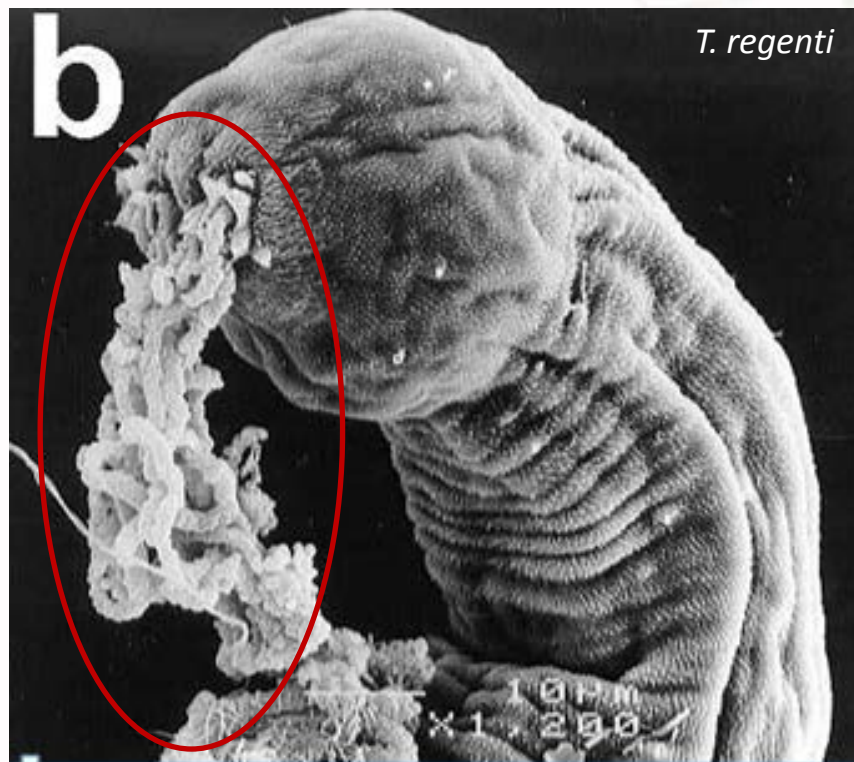
Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

Cerkárie – penetrace do kůže DH

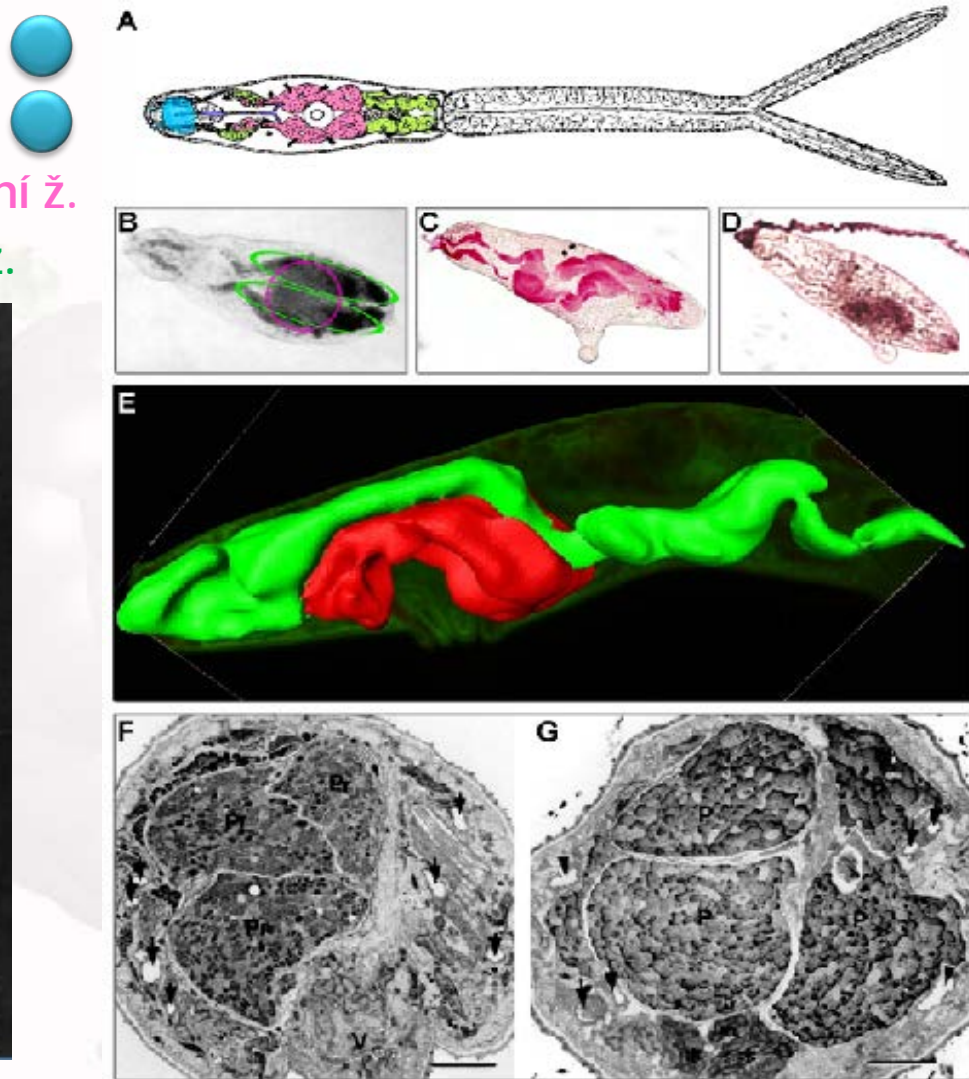
penetrační žlázy - **hlavová žláza**

- **cirkumacetabulární ž.**

- **postacetabulární ž.**



**Produkty penetračních žláz**



(Bruckner 1974, Ligasová et al. 2011, Dorsey et al. 2002, M. Kašný).



# TREMATODA

## Průnik helmintů do obratlovce

penetrace schistosom kůží a kožní reakce

- cercariová dermatitida



# TREMATODA

## Digenea

Cerkárie – produkty penetračních žláz

Významné složky – proteolytické enzymy (peptidázy) => dlouhodobý výzkum

J Infect Dis. 1956 Jul-Aug;99(1):1-14.

**Quantitative studies of the collagenase-like enzymes of cercariae of *Schistosoma mansoni* and the larvae of *Strongyloides ratti*.**

LEE CL, LEWERT RM.

60 let!

J Proteome Res. 2015 Nov 6;14(11):4623-34. doi: 10.1021/acs.jproteome.5b00465. Epub 2015 Sep 29.

**Proteomic Analysis on Cercariae and Schistosomula in Reference to Potential Proteases Involved in Host Invasion of *Schistosoma japonicum* Larvae.**

Liu M<sup>1</sup>, Ju C<sup>2</sup>, Du XF<sup>1</sup>, Shen HM<sup>2</sup>, Wang JP<sup>1</sup>, Li J<sup>1</sup>, Zhang XM<sup>3</sup>, Feng Z<sup>2</sup>, Hu W<sup>1,2,3</sup>.

Annu Rev Pathol. 2006;1:497-536.

**Proteases in parasitic diseases.**

McKerrow JH<sup>1</sup>, Caffrey C, Kelly B, Loke P, Sajid M.

## CHAPTER 4

2009 Peptidases of Trematodes

Martin Kašný,\* Libor Mikeš,\* Vladimír Hampl,\*  
Jan Dvořák,<sup>†</sup> Conor R. Caffrey,<sup>†</sup> John P. Dalton,\*  
and Petr Horák\*

# PEPTIDÁZY

---

## Digenea **PROČ?**

Cerkárie – produkty penetračních žláz

## proteolytické enzymy (peptidázy)

Motolice tvoří významnou skupinu parazitických helmintů, jak z hlediska humánní tak veterinární medicíny.

Je známo více jak 18 000 druhů motolic, přičemž minimálně 18 druhů je patogenních pro člověka.

(V průběhu svých komplikovaných životních cyklů mohou být jednotlivá stadia motolic jednotlivých druhů lokalizována téměř v jakékoliv části [orgánu] obratlovčího organismu).

Mezi nejvýznamější lidské patogeny patří zástupci čeledi Schistosomatidae, rodu *Schistosoma*, e.g. ***Schistosoma mansoni*** - podle WHO je schistosomóza 2. nejvýznamější parazitózou (600 mil. lidí je ohroženo, 200 mil. lidí nakaženo a 1 1000 ročně zemře).

Mezi nejvýznamější zvířecí patogeny patří zástupci čeledi Fasciolidae, rodu *Fasciola*, e.g. ***Fasciola hepatica*** - fasciolóza (až 600 mil USD ekonomické ztráty).

# PEPTIDÁZY

---

## Digenea

Cerkárie – produkty penetračních žláz

### proteolytické enzymy (peptidázy) - **PROČ?**

Peptidázy jsou naprosto esenciální pro život všech druhů organismů; včetně motolic.

Peptidázy hydrolyzují peptidické vazby peptidů či bílkovin - až milion peptidických vazeb/s (=> bez katalytického působení peptidáz by štěpení peptidické vazby mohlo trvat roky).

Jsou kódovány nejméně 2% všech známých genů všech organismů.

(14% z min. 500 známých lidských peptidáz je zkoumáno jako potenciální chemoterapeutické cíle)

Jsou (nejen) pro motolice nepostradatelné např. během penetrace, trávení (metabolismu) nebo modulace imunitní odpovědi hostitele ve svůj prospěch.

Jsou významnými virulentními faktory parazitárních onemocnění (tematodóz).

**esenciální nástroje schistosom a fasciol atd. = cíl pro vývoj vakcín a chemoterapie**



# PEPTIDÁZY

## Základní rozdělení peptidáz podle místa jejich působení.

<b>Endopeptidázy</b>	Štěpí peptidickou vazbu "uvnitř" polypeptidového řetězce.	
	Oligopeptidázy	Štěpí peptidickou vazbu "uvnitř" peptidů ale ne protein.
<b>Exopeptidázy</b>	Odštěpují z krátké peptidy z polypeptidového řetězce od N- či C-konce.	
	Aminopeptidázy	Odštěpují jednotlivé aminokyseliny z N-konce.
	Carboxypeptidázy	Odštěpují jednotlivé aminokyseliny z C-konce.
	Dipeptidyl-peptidázy	Odštěpují dipeptidy z N-konce.
	Tripeptidyl-peptidázy	Odštěpují tripeptidy z N-konce.
	Peptidyl-dipeptidázy	Odštěpují dipeptidy z C-konce.
<b>Omega-peptidázy</b>	Dipeptidázy	Odštěpují dipeptidy z N- z C-konce.
	Štěpí peptidickou vazbu bez preference z N- či C-konce.	

# PEPTIDÁZY

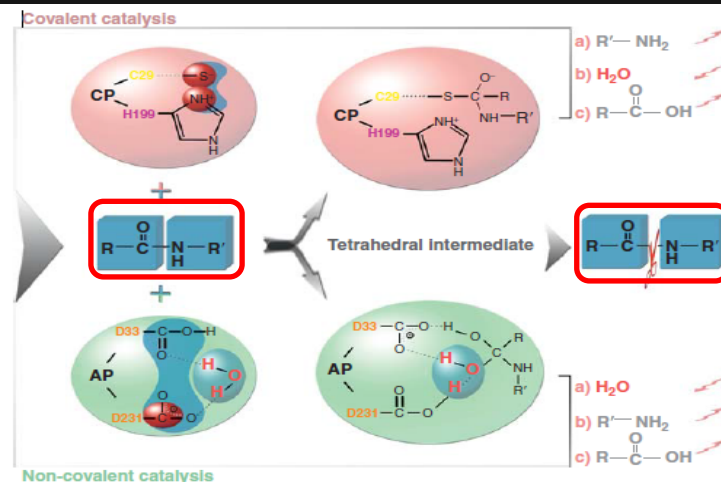
## Základní rozdělení peptidáz podle katalytického typu.

Protease class	Role in pathogenesis	Comment
Cysteine	Tissue invasion ( <i>Entamoeba</i> and <i>Fasciola</i> ) Nutrient degradation (trypanosomes, helminthes, malaria) Immune evasion ( <i>Trypanosoma cruzi</i> ) Processing other key proteins (malaria, <i>Leishmania</i> )	Cysteine proteases most common in protozoa and primitive metazoa and may reflect a common reducing environment and anaerobic metabolism
Serine	Anticoagulation (helminthes) Tissue invasion (schistosomes) Processing other key proteins (malaria)	Trypsin family serine proteases implicated in anticoagulation and invasion Subtilisin family serine proteases in protein processing
Aspartyl	Nutrient degradation (helminthes, malaria)	Interesting parallel use by helminthes and malaria parasites for hemoglobin degradation
Metalloproteases	Anticoagulation (helminthes) Tissue invasion (helminth larvae) Nutrient degradation (malaria)	Most evidence from studies of hookworm anticoagulation and tissue invasion

# PEPTIDÁZY

## Základní rozdělení peptidáz podle katalytického typu.

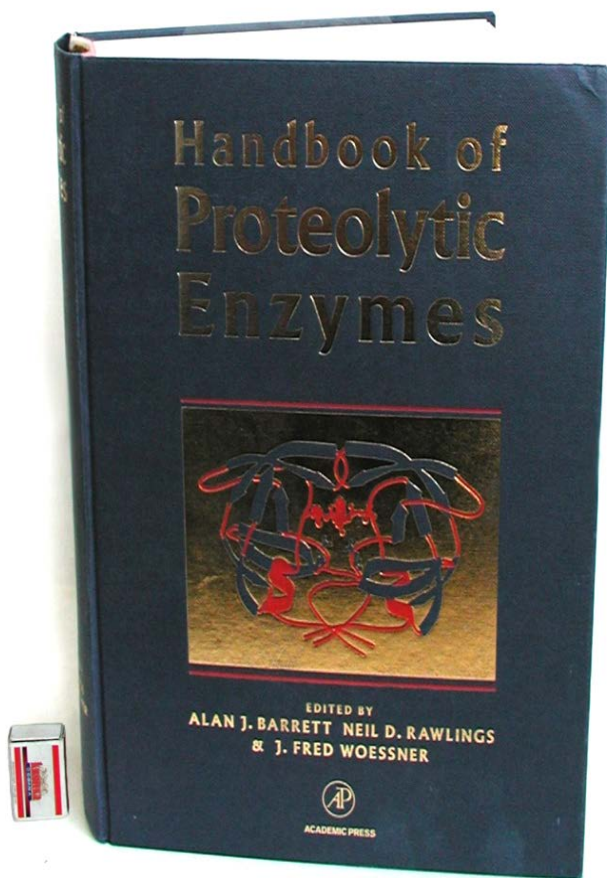
Serine	S	The nucleophile attack during catalysis is facilitated by reactive group at AA side chain, a hydroxyl group ( $\text{OH}^-$ ) of serine and TPs or a sulphhydryl group ( $\text{SH}^-$ ) of CPs. Catalytic triad of serine peptidases: Ser195, Asp102, His57 (numbered for chymotrypsin, e.g. Hedstrom, 2002) Catalytic triad of CPs: Cys25, His159, Asn175 (numbered for papain, e.g. Lecaille et al., 2002) Catalytic triad of TPs: Thr is conserved in active sites of all proteasomes (Guerra-Sá et al., 2005). All known threonine-type peptidases are N-terminal nucleophile peptidases (Rawlings et al., 2008).
Cysteine	C	
Threonine	T	
Aspartic	A	The nucleophile attack during catalysis is usually facilitated by an activated water molecule and followed by formation of tetrahedral intermediate. <sup>b</sup> The water molecule is bound by the side chains of aspartic residues of APs or by metal ions (e.g. one or two zinc ions, $\text{Zn}^{2+}$ ) of MPs Catalytic diad of APs: Asp32 and Asp 215 (numbered for pepsin (e.g. Dunn, 2002) Catalytic zinc site of MPs is usually formed by His, Glu, Asp or Cys, which supply ligands for zinc (e.g. Auld, 2004).
Metallo	M	
Glutamic		
Unknown		The mechanisms of catalysis are similar to APs including an activated water molecule and tetrahedral intermediate. The water molecule is bound by the side chains of glutamic acid and glutamine residues Catalytic diad of APs: Gln24 and Glu110 (numbered for aspergilloglutamic peptidase (e.g. Rawlings et al., 2008).
		The peptidases of unknown catalytic type, that is, proteins where the sequence is known to belong to peptidases, but the mechanisms of catalysis are not determined (Rawlings et al., 2008).



**FIGURE 4.1** Chemical mechanisms of peptidase catalysis. *Notes:* Five catalytic types of peptidases are generally defined by two chemical mechanisms determining how the tetrahedral intermediate is established. (The tetrahedral intermediate reaction is a chemical process during which the trigonal double-bonded carbon atom is converted to tetrahedral one.) The nucleophilic attack of cysteine, serine and threonine peptidases is mediated via reactive group ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{S}^-$ ) of the peptidase side chain (covalent catalysis), whereas for MPs and APs nucleophilic attack is provided by an activated water molecule (non-covalent catalysis). Pink oval: CP, cysteine peptidase (*T. regenti* cathepsin B1, Q4VRW9); green oval: AP, aspartic peptidase (*S. mansoni* cathepsin D, P91802). Scissors show the cleaved peptide bond of peptide substrate. In yellow and purple, catalytic residues of CP active site Cys29/His199; in orange: catalytic residues of AP active site Asp33/Asp231. Letters a–c; refer to the order of molecules 'entering' and 'leaving' the reaction (water and products of cleavage/reaction). The example of reaction scheme of peptide substrate degradation by 'CP peptidase group' (pink oval) shows how the nucleophilic thiolate of cysteine attacks the double-bonded carbon leading to a tetrahedral intermediate formation. This reaction step is followed by an additional intermediate step, not included in peptidase–substrate reactions of the 'AP peptidase group'. The tetrahedral intermediate is transformed into an acyl-enzyme intermediate (acylation; release of C-terminal substrate part), which is subsequently hydrolyzed via water molecule to the second tetrahedral intermediate, and finally transformed to the recovered enzyme (deacylation; release of N-terminal substrate part) (not shown). The tetrahedral intermediate is formed by mediation of Asp231 AA—deprotonating the water molecule and Asp33 AA—protonating carbonyl oxygen atoms of the cleaved peptide bond. It is followed by hydrogen transfer from the Asp231 residue to the nitrogen of the peptide bond, which leads to breaking of the peptidase bond, releasing two products (C-terminal substrate and N-terminal substrate part) and simultaneous enzyme recovery.

# PEPTIDÁZY

## proteolytické enzymy (peptidázy)



Dnes (21.1.2016) MEROPS verze 9.13

**MEROPS**  
the Peptidase Database

Release 8.00A

The *MEROPS* database is an information resource for peptidases (also termed proteases, proteinases and proteolytic enzymes) and the proteins that inhibit them. The Summary page describing a given peptidase can be reached by use of an index under its **Name**, **MEROPS Identifier** or source **Organism**. The Summary describes the classification and nomenclature of the peptidase and offers links to supplementary pages showing sequence identifiers, the structure if known, literature references and more.

The *MEROPS* database uses an hierarchical, structure-based classification of the peptidases. In this, each peptidase is assigned to a **Family** on the basis of statistically significant similarities in amino acid sequence, and families that are thought to be homologous are grouped together in a **Clan**. There is a Summary page for each family and clan, and these again have indexes. Each of the Summary pages offers links to supplementary pages.

Please use the Menu in the side-bar to navigate through the database, and consult the **About** pages to discover more. To reach the Inhibitors side of *MEROPS* click the button at the top of the sidebar.

The *MEROPS* team are Neil D. Rawlings and Alan J. Barrett at the Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge CB10 1SA, UK ([merops@sanger.ac.uk](mailto:merops@sanger.ac.uk)). We thank the Wellcome Trust for financial support.

**Use us and cite us!**  
Many authors find it useful to include data from *MEROPS* in their publications, and that is very much what we are here for, but please cite the appropriate publication as well as the URL when you do so. This is: Rawlings, N.D., Morton, F.R., Kok, C.Y., Kong, J. & Barrett, A.J. (2008) *MEROPS* the peptidase database. *Nucleic Acids Res* **36**, D320-D325. Thank you!

[MEROPS home](#) [Add this page to your favorites!](#)

© 2008 WTS! [Terms of use](#)

Page created 14-Feb-2008

cca ½ are cysteine peptidases



# TREMATODA

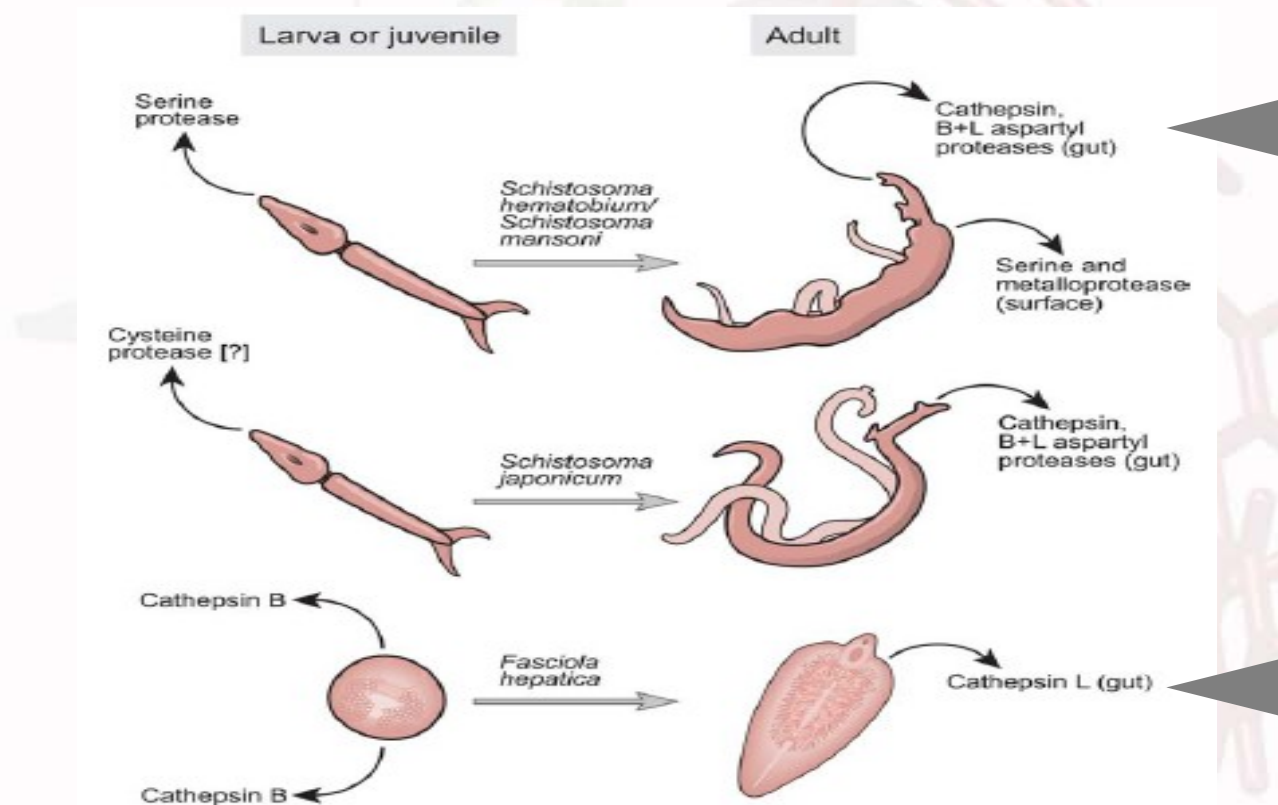
Digenea, **př.** Schistosomatidae a Fasciolidae

## Dospělci a larvální stádia

**peptidázy larválních stádií** (velmi často pro migraci tkáněmi nebo imunitní únik)

**peptidázy dospělců** (velmi často pro střevní trávení, antikoagulaci a imunitní únik)

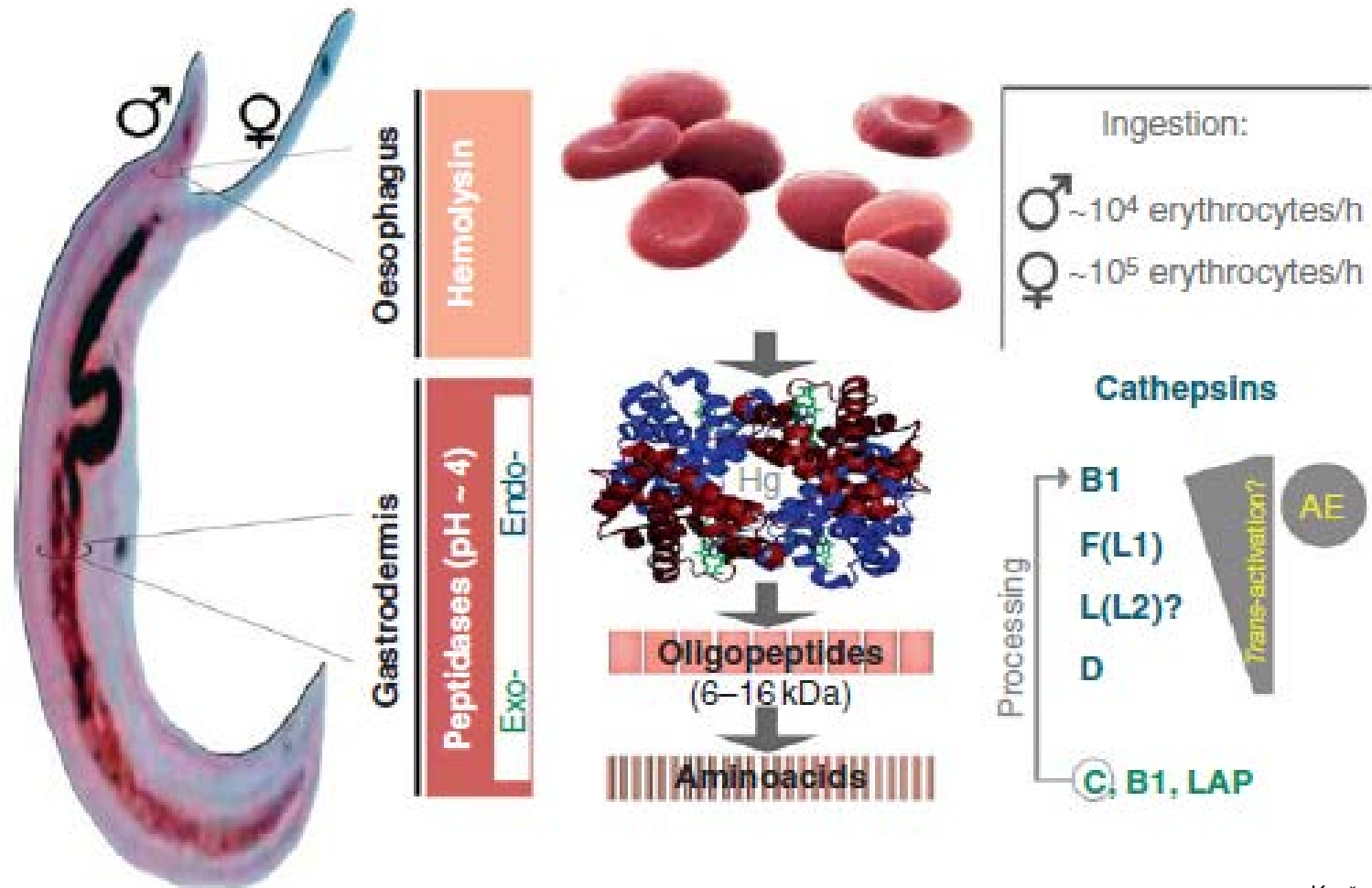
ontogenetické změny ve spektru nebo účinku peptidáz



# PEPTIDÁZY

Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

Dospělci - proteolytické enzymy (peptidázy) – trávení krve



# TREMATODA

Digenea, Plagiorchida, **př.** Fasciolidae

*Fasciola hepatica*

-velikost až 3 cm

-hostitel: ovce, skot, jeleni, člověk (hlavně Jižní Amerika, Egypt, Irán, Pyrenejský poloostrov)

-od r. 1970 více jak **300 000 klinických případů člověka** (celosvětově)

-odhad infikovaných 2,4 milionu

## Stimuly:

líhnutí z cysty – kys. glykocholová

penetrační aktivita – kys. deoxycholová, duodenální proteiny

-mechanické rozrušení

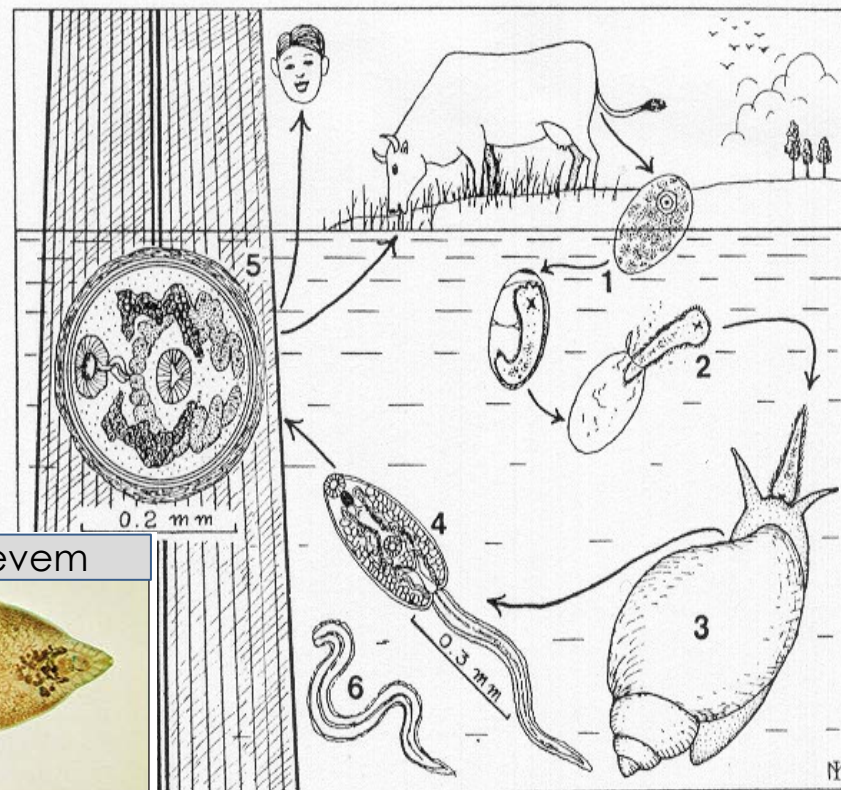
-působení pepsinu, trypsinu

-zvýšená teplota (37-39°C)

-nízký redoxpotenciál

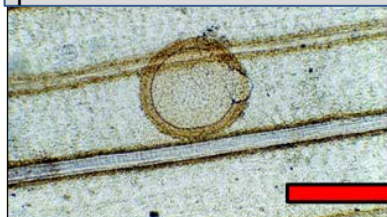
-přítomnost CO<sub>2</sub>

-přítomnost žluči



perorální infekce

metacerkárie, NEJ, penetrace střevem



# TREMATODA

Digenea, Plagiorchida, **př.** Fasciolidae

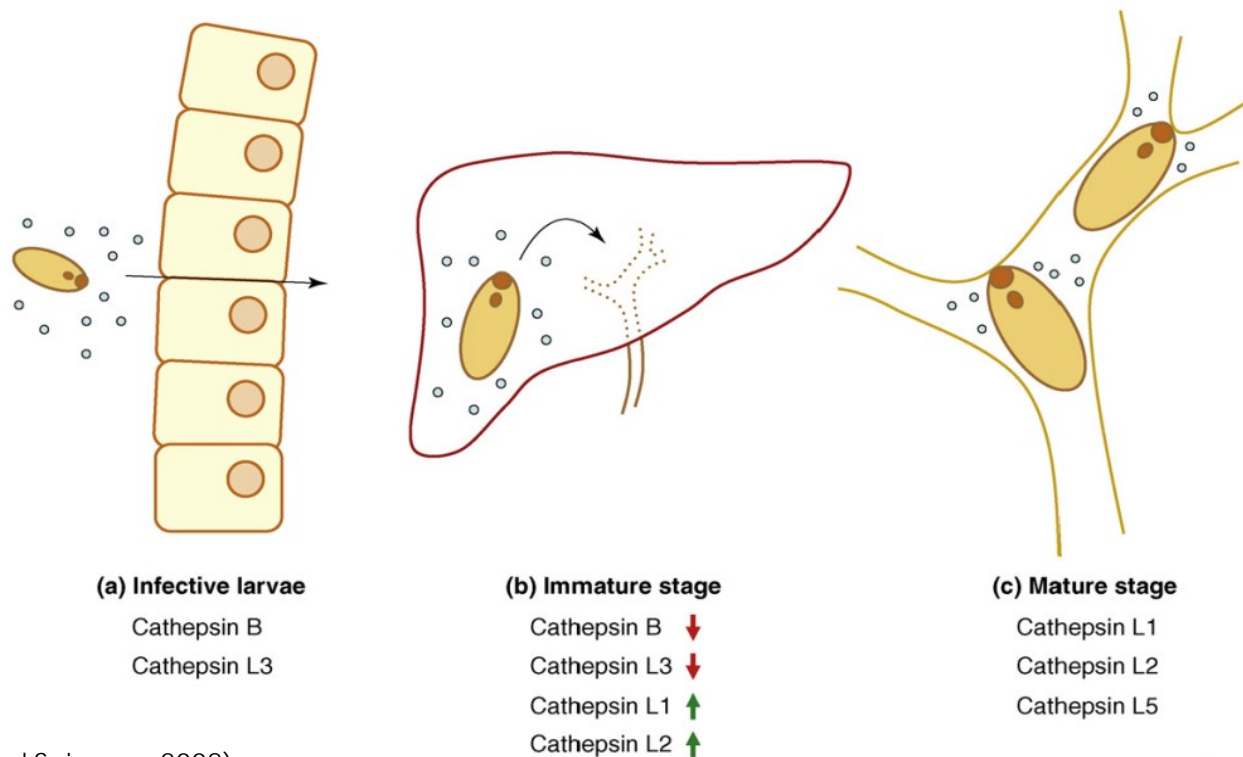
*Fasciola hepatica*

Ontogenetické změny v expresi katepsinů

(a) průnik střevem do břišní dutiny

(b) migrace jaterním parenchymem

(c) pobyt ve žlučovodech





# TREMATODA

---

Digenea, Diplostomida, **př.** Schistosomatidae

Cerkárie – produkty penetračních žláz

Významné složky – **proteolytické enzymy** => dlouhodobý výzkum

- **25-31 kDa cercariální elastáza**

- chymotrypsin-like peptidáza
- u některých schistosom (např. *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*)  
zřejmě hlavní enzym pro penetraci (jinde asi cysteinové peptidázy - katepsiny)
- lokalizace zejména v cirkumacetabulárních žlázách
- substráty: elastin, kolagen, želatina, keratin, laminin, proteoglykany, fibronectin, imunogl.


- **cysteinové peptidázy (papain-like) - katepsiny B (případně L)**

- katepsiny B jako penetrační peptidázy u cercárií schistosom *Schistosoma japonicum* a *Trichobilharzia regenti* (postacetabulární žlázy)
- i cysteinové peptidázy podíl na degradaci tkání: keratin, kolagen, fibronectin, myelin basic protein (migrace nervovou tkání), elastin (náhrada za chybějící serinovou cercariální elastázu?)
- katepsiny B i L - další význam u migrujících larev a dospělců jako trávicí enzymy






# TREMATODA

Digenea

proteolytické enzymy (peptidázy) – ptačí schistosomy  
- fasciolidní motolice



**Laboratory of Helminthology**  
Charles University in Prague, Czech Republic

 <b>TEAM</b> MEMBERS	 <b>PAPERS</b>	 <b>R trichobilharzia</b> RESEARCH	 <b>R fascioloides</b> RESEARCH
 <b>GRANTS</b>	 <b>VÝUKA</b>	 <b>PARASITOLOGY</b>	 <b>ALUMNI</b>

Department of Parasitology, Faculty of Science, Charles University in Prague  
Viničná 7, 12844 Prague 2, Czech Republic  
Tel. (+420) 221951823; Fax. (+420) 224919704; [petrhorak@petrhorak.eu](mailto:petrhorak@petrhorak.eu)  
Copyright © 2016 by Petr Horák

# TREMATODA



## proteolytické enzymy (peptidázy) v Praze

*T. regenti* TrCB1  
(Dvořák et al. 2005)

*T. regenti* TrCB2  
(Dolečková et al. 2010)

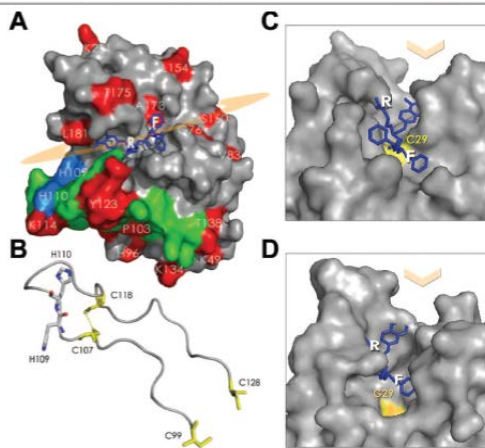
### CATHEPSINS B1 AND B2 OF *TRICHOILARZIA* SPP., BIRD SCHISTOSOMES CAUSING CERCARIAL DERMATITIS

Martin Kašný,<sup>\*1</sup> Libor Mikeš,<sup>1</sup> Kateřina Dolečková,<sup>1</sup> Vladimír Hampl,<sup>1</sup>  
Jan Dvořák,<sup>2</sup> Marian Novotný<sup>3</sup> and Petr Horák<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Parasitology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic; <sup>2</sup>Institute of Parasitology, Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic, Budějovice, Czech Republic;

<sup>3</sup>Department of Cell Biology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic.

\*Corresponding Author: M. Kašný—Email: kasa@post.cz



*Fascioloides magna* cathepsin L1

Vlastnosti exkrečně–sekrečních proteinů motolice

*Fascioloides magna*

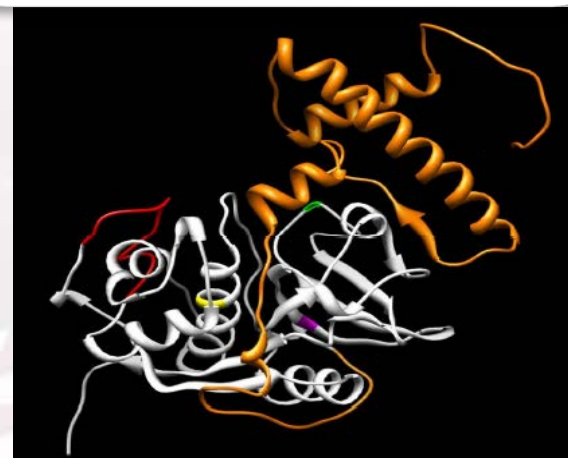
Characterization of excretory-secretory proteins of liver fluke

*Fascioloides magna*

Kateřina Beránková

Diplomová práce

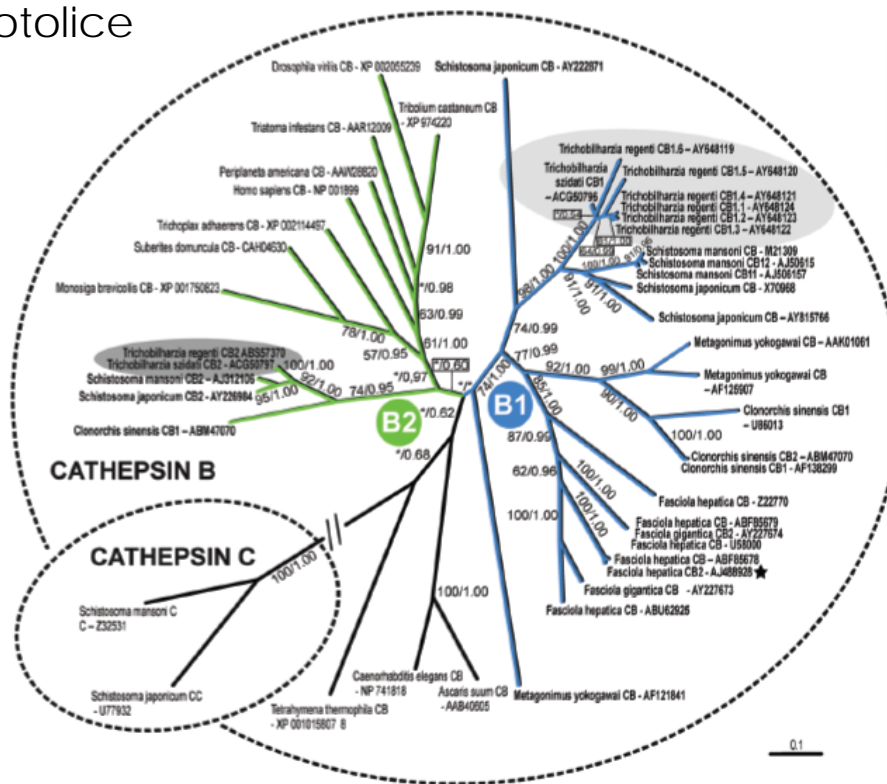
Školitel: RNDr. Martin Kašný, Ph.D.



# TREMATODA

## proteolytické enzymy (peptidázy) v Praze – fylogenetika

cathepsin B1 a B2 - motolice



**Figure 3.** Phylogenetic tree of cathepsin B protein sequences. The cathepsin B peptidases split into two groups, cathepsins B1 and B2 (blue and green branch). Cathepsins B1/2 of trematodes are highlighted by bold labels and cathepsins of *Trichobilharzia* by grey ovals (*T. regenti*/*T. szidati* CB1—light gray oval and CB2—dark gray oval). All cathepsin B sequences are supplemented by GenBank accession number. The black star indicates cathepsin B1 of *Fasciola hepatica* which was previously incorrectly named as cathepsin B2. The tree was constructed using maximum likelihood method in RAXML (PROTGAMMAWAG model of amino acid change).<sup>76</sup> Values at internal branches represent maximum likelihood bootstraps/Bayesian posterior probabilities (asterisk designates values lower than 50% or 0.50). Cathepsin C sequences were chosen as outgroups to root the tree. To illustrate relationships to nontrematode peptidases the representative cathepsins B from other large groups of organisms were included in the tree (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>).<sup>77</sup>



# TREMATODA

## Další biologicky aktivní molekuly

### Eikosanoidy

- produkty metabolismu (oxidace) volných nenasycených mastných kyselin

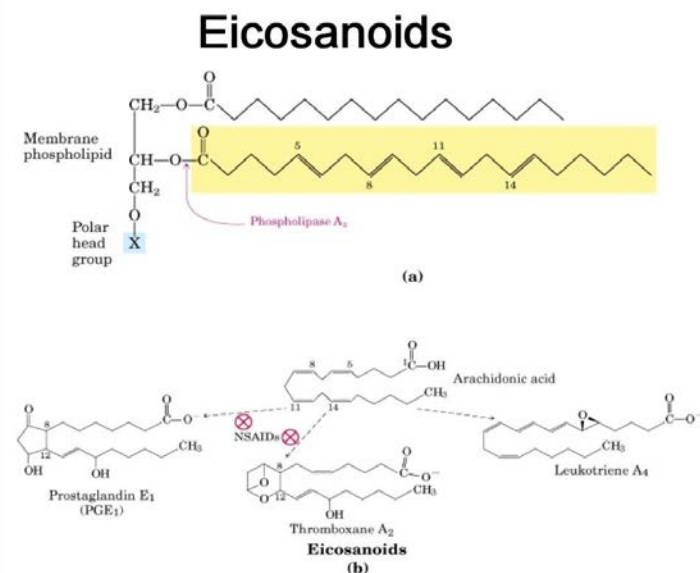
(k. linolenová, k. linolová)

- eikosanoidy cercárií schistosom

**leukotrieny** – korelace s penetrací cercárií kůží

leukotrien B<sub>4</sub> – Ca<sup>2+</sup> ionofor - možná podíl na uvolňování Ca<sup>2+</sup> depend. peptidáz schistosom

**prostaglandiny** – korelace s transformací cercárií na další stadium, vasodilatační účinek



Studie: Imunosupresivní role PGE, LTB<sub>4</sub> a 15-HETE, která je známa, má podle všeho vliv na schopnost krevničky vyhnout se působení imunitního systému hostitele, aby jím nebyla napadána (Fusco et al., 1986).

V dalších pokusech založených na předchozích výsledcích byl pak vliv imunosupresivních eikosanoidů potvrzen podáním inhibitorů biosyntézy eikosanoidů, který výrazně snížil schopnost parazita napadat hostitele a penetrovat skrz jeho pokožku (Salafsky a Fusco, 1987).

# TREMATODA

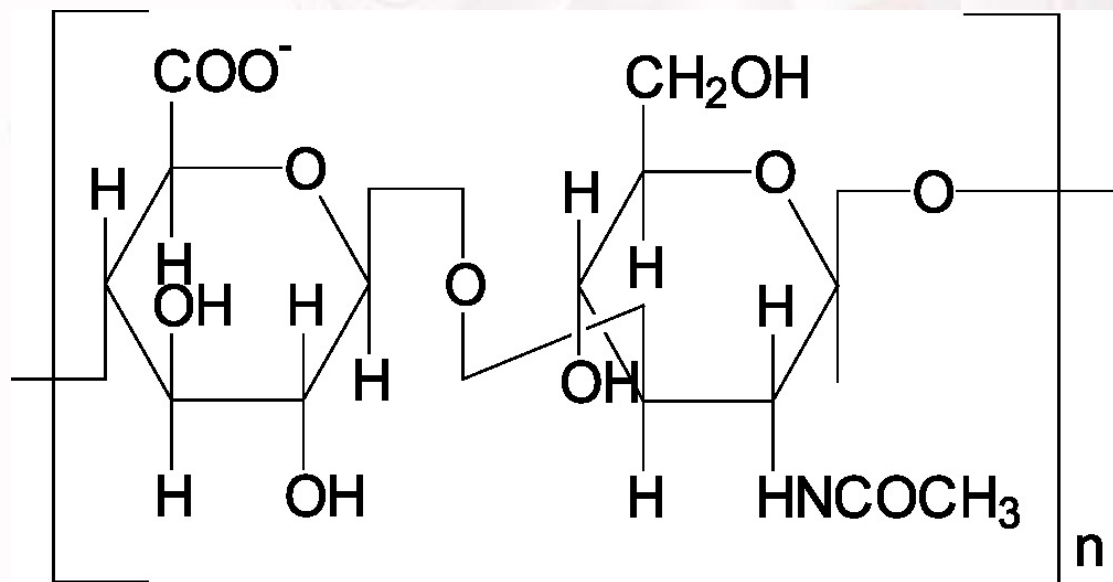
## Další biologicky aktivní molekuly

### Hyaluronidáza – histolytický enzym

kromě schistosom i u dalších helmintů

štěpí hyaluronan (= kyselina hyaluronová)

- glykosaminoglykan (GAG = nejčastější heteropolysacharidy v lidském těle složen z opakujících se disacharidových jednotek – (D-glukuronová kyselina + N-acetyl-D-glukosamin)<sub>n</sub>

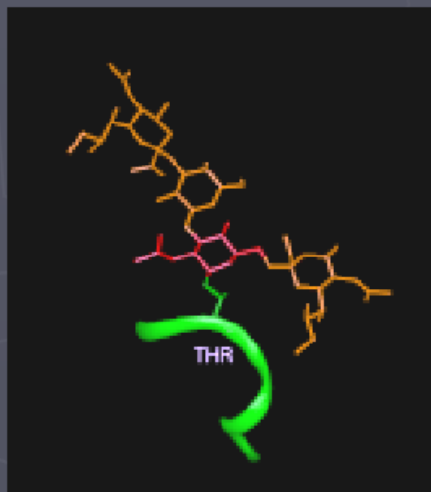
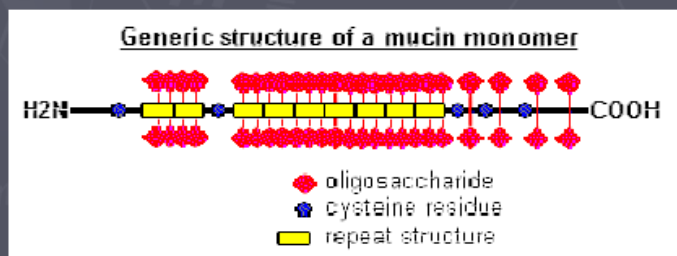
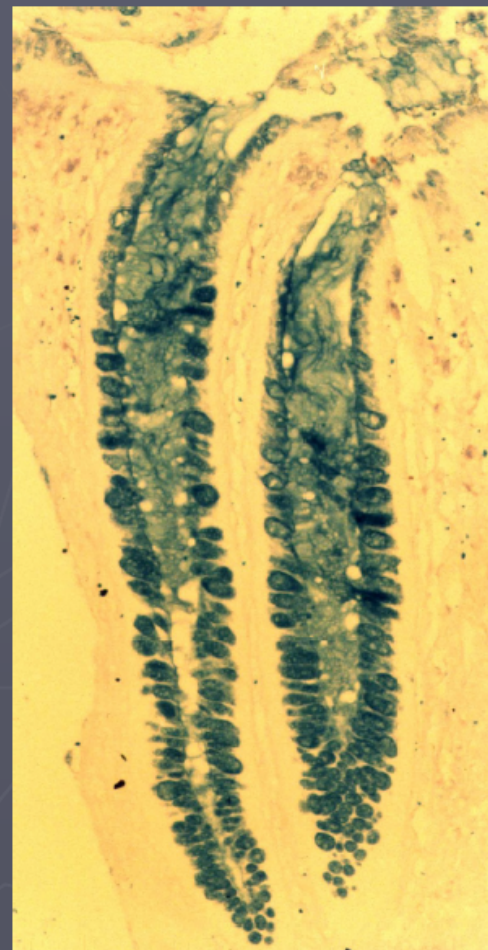


# TREMATODA

## Další biologicky aktivní molekuly

### Muciny

- ▶ součást mukusu (hlenu) ve střevě či na povrchu (ryby) hostitele - ochranný pokryv epitelů
- ▶ glykoproteiny s převažující O-glykosylací, O-glykosidická vazba, sacharid (obv. GalNAc) → hydroxylová skupina, obvykle na serinu nebo threoninu
- ▶ sekretované tvoří gel polymerů spojených přes S=S můstky, membránově vázané jsou monomerní



# TREMATODA

## Další biologicky aktivní molekuly

### Muciny – význam v interakci parazita a hostitele

- obrana hostitele proti parazitovi
  - ▶ vypuzení echinostom ze střeva
  - ▶ vypuzení hlístic *Strongyloides* ze střeva (vysoce sulfátované muciny), *Trichinella* (muciny vysoce sialované)
- **rozpoznávání hostitele a následná penetrace**
  - ▶ cercárie *Opisthorchis*: složky kožního hlenu ryby (degradovatelné hyaluronidázou) stimulují přichycení, lepší průnik hlenem po aplikaci hyaluronidázy
  - ▶ cercárie *Acanthostomum*: kožní hlen ryby bohatý na NeuNAc stimuluje přichycení
  - ▶ přichycení cercárií echinostom k povrchu plžů
- imunitní únik parazita (mimikry/maskování)
  - ▶ E-S produkty a povrchové složky L3 larev *Toxocara canis* odpovídají komponentám mukusu
- potrava červů
  - ▶ muciny ve střevě *Nippostrongylus*



# TREMATODA

## Další biologicky aktivní molekuly

Lektiny – proteiny vázající cukry, různé fce

- ▶ proteiny nebo glykoproteiny neenzymatické a neimunoglobulinové povahy
- ▶ dělení lektinů: řada různých skupin
  - **typu C** (→ různé ligandy) – vazba vyžaduje  $\text{Ca}^{2+}$  ionty
    - ▶ selektiny – speciální C-lektiny – buněčné interakce
      - typu L – T-lymfocytární (targeting k lymfatickým uzlinám)
      - typu E – endoteliální (interakce s neutrofily a monocyty)
      - typu P – endoteliální (interakce s neutrofily a monocyty) a na krevních destičkách (vazba k endoteliím)
      - ligand = především sialovaný Lewis-X antigen (tetrasacharid)
  - **typu S** (→  $\beta$ -galaktosidy) = galektiny
  - **ostatní:** např. i TNF, IL1, IL2
  - >32 známých nebo hypotetických lektinů u helmintů

<http://www.schistosomes.cz/lectins.htm>

## ZÁVĚR

---

- helminti rozpoznávají hostitele ve vnějším prostředí
- helminti mají nástroje pro průnik do těla hostitele
- helminti se orientují ve vnitřním prostředí hostitele

