

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Vliv helmintů a těžkých kovů na produkci antioxidačních  
enzymů *in vitro***

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Adéla Soukupová**

**Obor studia: Výživa a potraviny**

**Vedoucí práce: Ing. Ivo Doskočil, Ph.D.**

**© 2017 ČZU v Praze**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv helmintů a těžkých kovů na produkci antioxidantních enzymů *in vitro*" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21. dubna 2017

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu bakalářské práce Ing. Ivo Doskočilovi, Ph.D. za jeho cenné rady, čas a pomoc při zpracování této práce.

# Vliv helmintů a těžkých kovů na produkci antioxidantních enzymů *in vitro*

## Souhrn

Při výzkumu střevních helmintů bylo sledováno jejich vyrovnané soužití s hostitelským organismem navzdory faktu, že parazité obecně indukují oxidační stres hostitele. Možné vysvětlení způsobu, jakým se parazité vypořádávají s oxidačním stresem vyvolaným volnými radikály, které produkuje hostitelský organismus, se skrývá v antioxidantním systému parazitů. Ten zahrnuje především enzymy (superoxid dismutáza, kataláza a další), které se podílejí na inhibici kovem zprostředkované tvorby volných radikálů.

Někteří parazitičtí helminti mají tedy schopnost usměřňovat antioxidantní obranu svého hostitele ve svůj prospěch. Pokud se helminti nachází v prostředí s vyšší koncentrací těžkých kovů, produkuje jejich imunitní systém mediátory, jejichž aktivita může podporovat obranyschopnost hostitelského organismu a chránit jej tak před škodlivými účinky různých toxických prvků za účelem zvýšení šance na přežití v kontaminovaném prostředí. Prakticky všechny těžké kovy jsou totiž ve vyšších koncentracích pro organismus toxické, protože tvoří se sloučeninami obsahujícími síru, kyslík, nebo dusík komplexy, které svými účinky vedou k buněčným disfunkcím až buněčné smrti.

Kromě toho bylo také prokázáno, že některé druhy helmintů jsou ve srovnání se svými hostiteli schopny bioakumulace vyšších koncentrací toxických prvků, čímž mohou být užiteční i jako bioindikátory znečištění prostředí. S ohledem na akumulaci kovů se jako nejslibnější skupiny organismů ukázaly tasemnice a vrtejši. Příkladem je zástupce *Macracanthorhynchus hirudinaceu*, neboli Vrtejš velký, u kterého bylo zjištěno, že v porovnání s tkáněmi hostitele akumuluje ve svém těle až 160 krát větší koncentrace těžkých kovů.

Cílem práce bylo zpracovat přehledné review, zaměřené na produkci antioxidantních enzymů helminty a vliv těchto enzymů na oxidační stres a imunitní systém hostitelského organismu.

**Klíčová slova:** tasemnice, antioxidanty, kovy, oxidační stres, volné radikály, imunita

# Effect of helminths and heavy metals to the production of antioxidant enzymes *in vitro*

## Summary

Intestinal helminth research revealed their balanced coexistence with the host organism, despite the fact that parasites in general induce oxidative stress of the host. A possible explanation of how parasites deal with oxidative stress caused by free radicals that produce the host organism is hidden in the antioxidant system of parasites. This includes enzymes (superoxide dismutase, catalase and others) involved in the inhibition of metal-mediated free radical formation.

Some parasitic helminths have the ability to direct their host's antioxidant defense to their advantage. If helminths are found in an environment with higher concentrations of heavy metals, their immune system produces mediators whose activity can support the host's immune system and thus protect it from the harmful effects of various toxic elements in order to increase the chance of survival in a contaminated environment. Virtually all heavy metals are in higher concentrations toxic for the organism, because they form complexes containing sulfur, oxygen or nitrogen complexes, which by their effects lead to cellular dysfunctions up to cell death.

In addition, some types of helminths have been shown to be able to bioaccumulate higher concentrations of toxic elements compared to their hosts, which may also be useful in bioindication of environmental pollution. With regard to the accumulation of metals, tapeworms and whippers were shown as the most promising groups of organisms. An example is a *Macracanthorhynchus hirudinate*, that has been found to accumulate up to 160 times higher heavy metal concentration in its body compared to host tissue.

The aim of this bachelor thesis was to prepare a comprehensive review focused on the helminth production of antioxidant enzymes and the effect of these enzymes on the oxidative stress and immune system of the host organism.

**Keywords:** tapeworm, antioxidants, metals, oxidative stress, free radikals, immunity

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Cíl práce</b> .....	<b>2</b>
<b>3 Literární přehled</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1 Oxidační stres</b> .....	<b>3</b>
3.1.1 Volné radikály – reaktivní kyslíkové a dusíkové formy .....	3
<b>3.2 Antioxidační systém</b> .....	<b>9</b>
3.2.1 Neenzymatické antioxidanty .....	10
3.2.2 Enzymatické antioxidanty .....	12
<b>3.3 Parazitičtí helminti</b> .....	<b>14</b>
3.3.1 Kmen Ploštěnci ( <i>Platyhelminthes</i> ).....	15
3.3.2 Kmen Hlístice ( <i>Nematoda</i> ) .....	16
3.3.3 Kmen Vrtejši ( <i>Acanthocephala</i> ) .....	16
<b>3.4 Imunitní obrana a mezidruhové interakce</b> .....	<b>17</b>
3.4.1 Buněčné složky nespecifické imunity.....	18
3.4.2 Humorální složky nespecifické imunity .....	20
3.4.3 Buněčné složky specifické imunity .....	21
3.4.4 Humorální složky specifické imunity .....	22
3.4.5 Adaptace helmintů na imunitní mechanismy hostitele .....	22
3.4.6 Studie vlivu tasemnic na hostitele – <i>in vitro</i> .....	23
3.4.7 Antioxidační aktivita helmintů .....	24
<b>3.5 Odezva organismu na vystavení rizikovým prvkům</b> .....	<b>30</b>
3.5.1 Těžké kovy.....	31
3.5.2 Transformace kovů v organismu .....	34
<b>4 Závěr</b> .....	<b>36</b>
<b>5 Použitá literatura</b> .....	<b>37</b>
<b>6 Seznam použitých zkratk</b> .....	<b>47</b>
<b>7 Seznam použitých obrázků a tabulek</b> .....	<b>49</b>

# 1 Úvod

Navzdory tomu, že parazitičtí helminti indukují oxidační stres v hostitelských organismech bylo u střevních parazitů sledováno vyrovnané soužití mezi hostitelem a parazitem. Možným vysvětlením tohoto jevu je antioxidační systém parazitů, který může sloužit jako obranný mechanismus proti volným radikálům generovaných hostitelským organismem. Antioxidační systém helmintů obsahuje řadu enzymatických i neenzymatických antioxidantů (Chiumiento a Bruschi, 2009). Některé z těchto antioxidantů (kataláza, superoxid dismutáza, vitamín E a další) se podílejí na antioxidačních interakcích proti tvorbě kovem zprostředkovaných volných radikálů. (Chiumiento a Bruschi, 2009). Oxidační stres, zprostředkovaný těžkými kovy má za následek různá poškození organismu, především jater, ledvin, centrální nervové soustavy a DNA (Valko a kol., 2006). Těžké kovy, jako je například olovo, arzen a kadmium, mají k dispozici volné elektrony k vytvoření kovaletních vazeb, které vznikají především mezi toxickým kovem a sulfhydrylovou skupinou proteinů, což vede k jejich disfunkci (Ercal a kol., 2001). Některé druhy helmintů produkují mediátory, kterými brání svůj i hostitelský organismus při vystavení škodlivým účinkům kovů. Zároveň tím zvyšují své šance na přežití v prostředí se zvýšenou koncentrací těžkých kovů (Akintunde a Oboh, 2015). V posledních letech proběhla celá řada molekulárních zkoumání, při kterých se poražilo objasnit mnoho interakcí parazitů s hostitelskými organismy, jak na fyziologické, tak molekulární úrovni (Sures a kol., 2017). Hlavním cílem helmintů, je přežít v hostitelském organismu tak dlouho, jak jen to je možné. Proto si vyvinuli řadu složitých mechanismů, kterými se, pomocí exprese různých molekul, vyhýbají imunitnímu systému hostitelského organismu (Peón a kol., 2012). Obvykle tyto interakce vedou k negativním dopadům na zdraví hostitele (Sures a kol., 2017). Avšak bylo prokázáno, že helminti mohou mít pro hostitelský organismus pozitivní dopad – někteří helminti jsou schopni bioakumulace vyšších koncentrací toxických prvků, než jejich hostitel, čímž mohou sloužit i jako bioindikátory znečištění prostředí (Sures a Siddall, 1999, Poulin, 1999).

## **2 Cíl práce**

Jsou-li těžké kovy přítomny v životním prostředí ve vysokých koncentracích, pak gastrointestinální parazité produkují specifické sloučeniny, které mohou mít příznivý vliv na zdraví hostitelského organismu. Aktivita konkrétních sloučenin, především antioxidačních enzymů, může podporovat hostitelské obranné schopnosti před škodlivými účinky různých prvků, a tím zvyšovat šanci přežití hostitele v kontaminovaném prostředí.

Cílem práce je zpracování přehledného review, zaměřeného na antioxidační enzymy produkované parazitickými helminty a vliv těchto antioxidantů na oxidační stres v hostitelském organismu s vlivem na imunitu hostitele.



## 3 Literární přehled

### 3.1 Oxidační stres

Oxidační stres byl definován jako porucha rovnováhy mezi oxidačním a antioxidačním systémem. Výsledkem této nerovnováhy je vznik volných radikálů (Betteridge, 2000, Havelková, 2006). Volný radikál se charakteristicky stabilizuje získáním či uvolněním elektronu. Tím dojde ke změně struktury prvotní substance na volný radikál a následně proces pokračuje dál, proto má radikálové poškození obvykle podobu řetězové reakce. Reakce je ukončena přítomností takzvaného zhášedce volných radikálů, nebo reakcí dvou volných radikálů za současného vzniku stabilní molekuly. Během života jsou oxidačnímu stresu vystaveny všechny typy biomolekul (Havelková, 2006, Pláteník, 2009). A aby se zabránilo oxidačnímu stresu, buňky vytváří základní antioxidační enzymy (např. SOD, CAT, GPX a další), které detoxikují ROS a opravují jimi způsobené škody. Silný oxidační stres může zapříčinit poškození buněk až jejich usmrcení (Greguška, 1997)

#### 3.1.1 Volné radikály – reaktivní kyslíkové a dusíkové formy

Pojem volný radikál je z chemického hlediska molekula, která má ve valenční sféře nepárové elektrony, tedy lichý počet (Storz a Imlay, 1999). Nepárový elektron, popřípadě elektrony, obvykle dodávají volným radikálům na reaktivitě. Mezi volné radikály řadíme například superoxidový, hydroxylový, peroxylový, alkoxylový a hydroperoxylový radikál. Dalšími radikály jsou oxid dusnatý a dusičitý, které řadíme mezi dusíkové radikály (Fang a kol., 2002). Všechny tyto molekuly jsou schopny alespoň krátkodobé samostatné existence (Storz a Imlay, 1999).

Volné radikály tedy rozdělujeme na dvě základní formy - reaktivní kyslíkové radikály (reactive oxygen species, ROS) a reaktivní dusíkové radikály (reactive nitrogen species, RNS). Stručný popis některých reaktivních forem kyslíku (ROS) viz. Tab. 1 (Sharma a kol., 2014). Obě dvě formy jsou produkty buněčného metabolismu (Valko a kol., 2007). ROS a RNS mohou být dále přeměňovány na jiné, neradikálové reaktivní, formy. Příkladem je peroxid vodíku, kyselina chlorná, kyselina bromná, ozon a singletový kyslík (Fang a kol., 2002). Nejdůležitější skupinu volných radikálů představují ty odvozené od kyslíku (Valko a kol., 2007).

Molekulární kyslík ( $O_2$ ) má jedinečnou elektronovou konfiguraci a je sám o sobě radikálem (Miller a kol., 1990). Připojením jednoho elektronu k molekulárnímu kyslíku dochází ke vzniku superoxidového radikálu. ROS jsou běžně produkovány aerobním buněčným metabolismem, metabolismem arachidonové kyseliny a autooxidací biologických molekul. Další možný vznik ROS je při biotransformačních procesech cizích látek, jako jsou toxiny, drogy, nebo antibiotika. Ke zvýšení buněčné koncentrace ROS může také docházet v konkrétních podmínkách životního prostředí. Příkladem takových podmínek je vystavení organismu ionizujícímu nebo UV záření, dále při vysokých koncentracích solí železa, vysokém tlaku kyslíku, ischemii nebo při epileptických stavech (Chiumiento a Bruschi, 2009). ROS mohou způsobovat poškození všech biologických molekul. Tím dochází k oxidaci proteinů, peroxidaci lipidů, depolymeraci sacharidů a modifikacím DNA. Aby se zabránilo těmto destrukčním procesům, u všech aerobních organismů došlo k vývoji rozsáhlých antioxidačních systémů – enzymatických i neenzymatických. Předpokládá se, že antioxidační enzymy jsou nezbytné i pro parazitické organismy, jelikož je chrání před ROS, které jsou produkovány makrofágy, neutrofilů a eozinofilů hostitelského organismu (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001).

K nadprodukcí RNS může dojít *in vivo* u patologických stavů spojených se zánětlivými procesy, neurotoxicitou a ischemií. Nebo během nervového přenosu aktivovaného skrze N-methyl-D-asparát. Důležitým faktem je, že různé RNS vykazují značné rozdíly ve svých schopnostech podílet se na fyziologické signalizaci (Klatt a Lamas, 2000). Hlavním zdrojem NO v buňkách savců je enzymatická oxidace L-argininu pomocí specifické NO-syntázy (NOS) (Valko a kol., 2007). NO generované tímto enzymem jsou všudypřítomné signální molekuly. Tyto molekuly hrají důležitou roli při regulaci klíčových funkcí imunitního, kardiovaskulárního a nervového systému (Klatt a Lamas, 2000).

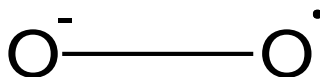
**Tab. 1:** Stručný popis některých reaktivních forem kyslíku (ROS)

Zkratka	Sloučenina	Popis
$O_2^{\bullet-}$	Superoxid	Jednoelektronový stav $O_2$ ; vzniká v mnoha autooxidačních reakcích; spíše nereaktivní forma, ale může uvolňovat $Fe^{2+}$ ze železo-sírových proteinů a feritinu; vzniká z něj spontánně, nebo enzymatickou cestou $H_2O_2$ a je prekurzorem pro kov-katalyzované $\bullet OH$
$H_2O_2$	Peroxid vodíku	Dvou-elektronový redukovaný stav; vzniká z $O_2^{\bullet-}$ spontánně, či enzymatickou katalýzou, nebo přímou redukcí z $O_2$ ; je rozpustný v tucích, tedy schopný difundovat přes membrány
$\bullet OH$	Hydroxylový radikál	Tří-elektronový redukovaný stav; vzniká Fentonovou reakcí a rozkladem peroxyinitritu; extrémně reaktivní
ROOH	Hydroperoxid	Vzniká z reakce radikálů s buněčnými komponenty, jako jsou lipidy a nukleové báze
$\bullet RO$ , $\bullet ROO$	Alkoxy, peroxy	Organické radikály s centrálním kyslíkem
HOCl	Kyselina chlorná	V tucích rozpustná, vysoce reaktivní kyselina; snadno oxiduje proteinové složky, včetně thiolové skupiny, amino skupiny a methioninu.
$ONOO^{\bullet-}$	Peroxyinitrid	Vzniká rychlou reakcí $O_2^{\bullet-}$ a $NO^{\bullet}$ ; rozpustný v tucích, podobná reaktivita jako kyselina chlorná

(Sharma a kol., 2014)

## Superoxid ( $O_2^{\bullet-}$ )

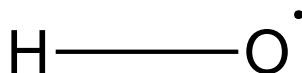
Superoxid je na kyslíku centrováný (Obr. 1), , všeobecně málo reaktivní ROS, působící jako mírné redukční činidlo (Greguška, 1997, Selkirk a kol., 1998). Superoxid je produktem jednoelektronové redukce kyslíku ( $O_2$ ) a je produkován během běžného aerobního metabolismu. Představuje tak fyziologický intracelulární metabolit (Cadenas a Davies, 2000). Superoxid je považován za „primární“ ROS, který dále může reagovat s jinými molekulami a tak generovat „sekundární“ ROS (Valko a kol., 2007). Jedním ze zdrojů superoxidu je vnitřní mitochondriální membrána. Produkce superoxidu, prostřednictvím NADPH dismutázy na membránové úrovni, je zahájena ve specializovaných buňkách s fagocytickou funkcí (makrofágy). Superoxid tak přispívá k baktericidním schopnostem při fagocytóze (Greguška, 1997, Selkirk a kol., 1998).



Obr. 1: Superoxid

## Hydroxylový radikál ( $\bullet OH$ )

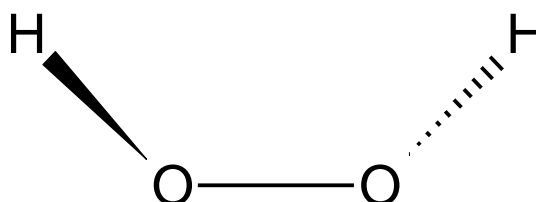
Hydroxylový radikál (Obr. 2) je neutrální forma hydroxidového iontu ( $OH^-$ ). Vyznačuje se vysokou reaktivitou, to z něj dělá značně nebezpečný radikál s velmi krátkým poločasem rozpadu *in vivo* –  $10^{-9}$  s (Pastor a kol., 2000). Pokud dojde k jeho vytvoření, je velmi škodlivý na místě vzniku, protože nemigruje mimo buňku (Greguška, 1997, Selkirk a kol., 1998). Hydroxylový radikál vzniká ze superoxidu a peroxidu vodíku. Reakce jsou katalyzovány ionem kovu, nejčastěji  $Cu^+$  a  $Fe^{2+}$  (Pláteník, 2009). Volný  $Fe^{2+}$  se dále může účastnit tzv. Fentovy reakce, při které vzniká vysoce reaktivní hydroxylový radikál (Valko a kol., 2007).



Obr. 2: Hydroxylový radikál

## Peroxid vodíku (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Peroxid vodíku (Obr. 3) vzniká nejčastěji při enzymatických reakcích. Enzymy, důležité pro tyto reakce, nalezneme v mikrozomech, peroxizomech a mitochondriích. Dále peroxid vodíku vzniká redukcí superoxidu prostřednictvím SOD, a tím značně přispívá ke snížení oxidačních reakcí. Peroxid vodíku pomalu reaguje s organickými substancemi, což mu umožňuje putovat v biologických systémech na značně velké vzdálenosti. V neionizovaném stavu snadno prochází přes lipidové vrstvy, kde může inaktivovat celou řadu funkčních proteinů. Největší význam peroxidu vodíku, v souvislosti s oxidačním poškozením, nespočívá ve vnitřní chemické reaktivitě, ale jako zdroji více reaktivních forem ROS, jako je například hydroxylový radikál (Selkirk a kol., 1998).

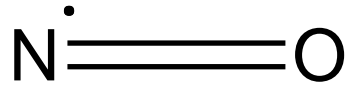


Obr. 3: Peroxid vodíku

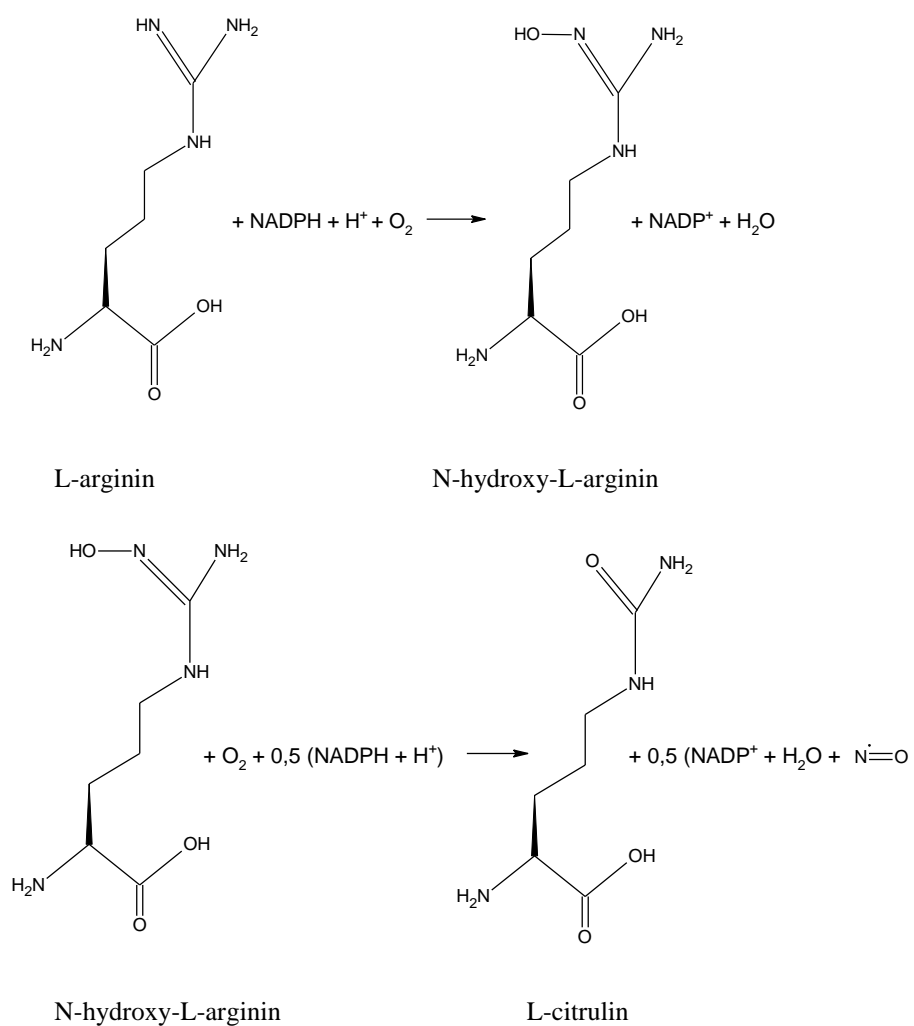
## Oxid dusnatý (NO•)

Oxid dusnatý (Obr. 4) je malá molekula, obsahující jeden nepárový elektron (Valko a kol., 2007). Představuje hlavní RNS, produkovaný neutrofily a makrofágy, pomocí dvoustupňové reakce L-argininu (Obr. 5). Reakce je katalyzována působením syntázy oxidu dusnatého (NOS), ale i bez jejího vlivu, a to prostřednictvím superoxidu (Sorci a Faivre, 2009). Oxid dusnatý je hojný reaktivní radikál, který působí jako důležitá biologická signální molekula v široké škále různých fyziologických procesů – transmise, regulace krevního tlaku, relaxace hladkého svalstva a imunitní regulace (Bergendi a kol., 1999). Ve vodném prostředí má oxid dusnatý poločas rozpadu pouze několik sekund, větší stabilitu má v prostředí s nižší koncentrací kyslíku. Protože je rozpustný ve vodných a lipidových mediích, snadno proniká difúzí skrz cytoplazmu a plazmatickou membránu. V extracelulárním prostředí reaguje oxid dusnatý s kyslíkem a vodou, za vzniku dusičnanů a dusitanových aniontů. Nadprodukce RNS vede

k tzv. dusíkovému stresu, který může způsobovat nitrosylaci, která může způsobovat změny struktury proteinů a tak inhibovat jejich běžné funkce (Valko a kol., 2007).



Obr. 4: Oxid dusnatý



Obr. 5: Syntéza oxidu dusnatého – dvoustupňová reakce L-argininu

## 3.2 Antioxidační systém

U buněk savců došlo k vyvinutí řady antioxidačních systémů (Chiumiento a Bruschi, 2009). Antioxidanty lze definovat jako látky, které se přímo podílejí na vyvazování ROS. Nebo působí nepřímo a regulují antioxidační obranu nebo inhibici ROS (Khlebnikov a kol., 2007). Antioxidanty mohou být endogenní či exogenní (např. součást stravy). Endogenní antioxidanty hrají klíčovou roli při zachování optimálních buněčných funkcí, a tím systémového zdraví. Antioxidační aktivita může být účinná různými způsoby. Prostřednictvím synergie s jinými antioxidanty – inhibice volných radikálů, přerušení autooxidace řetězové reakce a zhasnutí singletového kyslíku. A dalším způsobem jako inhibitory pro-oxidačních enzymů. Antioxidační systém je rozdělen na dvě hlavní skupiny – enzymatické a neenzymatické antioxidanty (Rahman, 2007).

Enzymatické antioxidanty fungují ve dvou různých obranných liniích – primární a sekundární (Carocho a Ferreira, 2013). Enzymy, jako je SOD, CAT a GPX, představují první linii při omezování škod způsobených volnými radikály v místě fosfolipidových membrán a biologických makromolekul (Rahman, 2007). Avšak tyto enzymy nezaručují kompletní obranný účinek, proti oxidačnímu poškození organismu. Protože řada produktů jejich vlastní katalytické aktivity je vysoce reaktivních. Z tohoto důvodu buňky nevyužívají pouze enzymatické ochrany, ale i dalších antioxidačních systémů, které jsou schopny zachytit elektrony v průběhu vzniku radikálů (Chiumiento a Bruschi, 2009). Enzymatický antioxidační systém byl objeven *in vitro* i u celé řady parazitických hlístic (např. PRX, který má zásluhu na odstranění peroxidu vodíku). Objev tohoto enzymového systému představuje významný pokrok směrem k pochopení, jak se parazitické hlístice vypořádávají s oxidačním stresem (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001).

Neenzymatické antioxidanty zahrnují vitamín E a C, thiolové antioxidanty (GSH, thioredoxin a lipoovou kyselinu), melatonin, karotenoidy, flavonoidy a další sloučeniny (Sies a kol., 2005).

### 3.2.1 Neenzymatické antioxidanty

#### Vitamín E

V tucích rozpustný vitamín E, existuje v osmi různých formách. U lidí je  $\alpha$ -tokoferol nejaktivnější formou a je hlavním membránově vázaným antioxidantem (Hensley a kol., 2004). Hlavní funkcí vitamínu E je ochrana proti peroxidaci lipidů (Pryor, 2000), při které  $\alpha$ -tokoferol a kyselina askorbová fungují společně. V průběhu antioxidační reakce je  $\alpha$ -tokoferol převeden na  $\alpha$ -tokoferolový radikál tím, že odštěpí vodík, který následně přijme lipid, nebo lipido-peroxylový radikál.  $\alpha$ -tokoferolový radikál může být převeden na původní  $\alpha$ -tokoferolovou formu pomocí kyseliny askorbové (Sies a kol., 2005).

#### Vitamín C (kyselina askorbová)

Vitamín C je důležitý a výkonný ve vodě rozpustný antioxidant. Primárně spolupracuje s antioxidanty jako je vitamín E, pro který je důležitý k regeneraci  $\alpha$ -tokoferolu v membránách a lipoproteinech. Dále vitamín C kooperuje s karotenoidy a antioxidačními enzymy (Sies a kol., 2005). Je známo, že vitamín C chrání membrány proti oxidaci a má pro-oxidační účinek. Tyto vlastnosti jsou přičítány uvolňování kovových ionů z poškozených buněk (Valko a kol., 2006). Kromě svých antioxidačních účinků, má vitamín C důležitou roli i na molekulární úrovni. Působí jako kofaktor pro dopamin  $\beta$ -hydroxylasy, ovlivňuje koncentrace neurotransmiteru, zlepšuje degradaci lysozomálních bílkovin a zprostředkovává příjem glutamátu (Sánchez-Moreno a kol., 2003).

#### Thiolové antioxidanty – Glutation (GSH)

Glutation, tripeptid  $\gamma$ -glutamylcysteinylglycin, představuje nejdůležitější neenzymatický regulátor intracelulární homeostázy. Je přítomen ve všech typech buněk. GSH existuje jak v redukovaných, tak oxidovaných formách. Za normálních redoxních podmínek je většina GSH v buňce v redukované formě. GSH se v buňkách nachází v jádru, endoplazmatickém retikulu a mitochondriích. GSH může být kromě volných forem také kovalentně vázán na proteiny, prostřednictvím procesu zvaného glutationylace. A tak regulovat jejich funkci, nebo působit jako koenzym v antioxidačním enzymovém systému. GSH může také



přímo vycytávat volné radikály, elektrofilní xenobiotika, nebo může sloužit jako substrát pro GPX a GST. Glutathion-S-transferasa (GST) patří do skupiny cytosolových rozpustných enzymů, které detoxifikují cizorodé toxické látky (Chiumiento a Bruschi, 2009).

### **Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine)**

Melaton je indol-aminový neurohormon, který je syntetizován hlavně šišinkou. Má mnoho účinků na široké spektrum fyziopatologických funkcí. Jednou z hlavních funkcí melatoninu je vazba volných radikálů v metabolismu kyslíku, čímž potenciálně chrání organismus před radikálovým poškozením DNA, proteinů a membrán (Rahimi a kol., 2005).

### **Karotenoidy**

Karotenoidy jsou především barevné pigmenty přítomné v rostlinách a mikroorganismech. Karotenoidy obsahují konjugované dvojně vazby a jejich antioxidační aktivita vzniká v důsledku schopnosti delokalizace nepárových elektronů (Mortensen a kol., 2001). To je dále zodpovědné za schopnost karotenoidů uhasit singletový kyslík bez degradace a také za chemickou reaktivitu karotenoidů s volnými radikály (Stahl a Sies, 2003). Důležitými faktory v účinnosti karotenoidů jako antioxidantů je jejich koncentrace a parciální tlak kyslíku. Karotenoidy, zejména pak  $\beta$ -karoten vykazuje antioxidační vlastnosti při nízkém parciálním tlaku kyslíku (Rahman, 2007). Epidemiologické studie odhalily, že zvýšená konzumace stravy bohaté na karotenoidy je v korelaci se sníženým rizikem onemocnění, která souvisejí s věkem (Mortensen a kol., 2001).

### **Rostlinné fenolové sloučeniny – Flavonoidy**

Flavonoidy jsou rozsáhlá skupina nízkomolekulárních všudypřítomných sekundárních rostlinných metabolitů, které jsou nedílnou součástí lidské stravy (Rahman, 2007). Flavonoidy jsou benzo- $\gamma$ -pyron deriváty, sestávající se z fenolových a pyranových kruhů (Schroeter a kol., 2002). V molekule obsahují dva benzenové kruhy, které spojuje tříuhlíkový řetězec, ten je u většiny flavonoidů součástí pyranového kruhu. Všechny tyto tři kruhy bývají běžně

substituovány hydroxyskupinami nebo methoxyskupinami. A pouze stupeň substituce a oxidace rozlišuje jednotlivé deriváty (Velíšek, 2002). V potravinách jsou flavonoidy přítomny především ve formě glykosidů a polymerů (Rahman, 2007). Biologické vlastnosti flavonoidů jsou určeny rozsahem, povahou a polohou substituentů, a počtem hydroxylových skupin (Schroeter a kol., 2002). Tyto faktory také určují, zda se jedná o flavonoid působící jako antioxidant, nebo jako modulátor enzymové aktivity, nebo zda má antimutagenní nebo cytotoxické účinky. Avšak nejčastěji uváděným účinkem flavonoidů je zabraňování oxidačnímu stresu. Jsou tedy schopny vychytávat peroxylové radikály a jsou účinnými inhibitory peroxidace lipidů. Také mohou tvořit cheláty s redoxně aktivními kovy, a tím zabránit katalytickému rozkladu peroxidu vodíku (Rahman, 2007). Nicméně, za určitých podmínek se flavonoid může projevit jako prooxidant, což je přímo úměrné celkovému počtu hydroxylových skupin (Cao a kol., 1997).

### 3.2.2 Enzymatické antioxidanty

#### Superoxid dismutáza (SOD)

SOD je enzym, katalyzující superoxidové radikály na peroxid vodíku a kyslík. Peroxid vodíku sám o sobě může způsobovat oxidační poškození. Ale důležitějším faktem je, že je zdrojem reaktivnějších forem ROS. Z tohoto důvodu SOD nejsou prospěšné, chybí-li systém pro odstranění peroxidu vodíku. Enzymatický systém, který se vypořádá s tímto ROS, byl prokázán *in vitro* u parazitických hlístic (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001). SOD se nachází v mitochondriích, cytosolu, ale i v extracelulárním prostředí. Enzymatická aktivita SOD je ovlivněna přítomností ionů v aktivním místě působení. Pomocí mědi a zinku pro buněčnou a extracelulární SOD. A pomocí manganu pro mitochondriální SOD (Chiumiento a Bruschi, 2009). U eukaryotických organismů existují tedy tři typy SOD:

- buněčná CuZn SOD (C-CuZn SOD)
- extracelulární CuZn SOD (EC-CuZn SOD)
- mitochondriální Mn SOD

Cytoplazmatická C-CuZn SOD je dimer, složený ze dvou identických podjednotek, z nichž každá z nich obsahuje atom mědi a zinku. Je široce distribuována v cytosolu buňky a v buněčném jádře, ale zcela chybí v mitochondriích (Chiumiento a Bruschi, 2009).

Mitochondriální Mn SOD je tetramerní protein, kódovaný v jádře, syntetizovaný v cytosolu a importovaný do matrixu mitochondrií (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001).

Extracelulární EC-CuZn SOD je tetramerní glykoprotein, složený ze čtyř totožných podjednotek. Každá z podjednotka obsahuje atom mědi a zinku. Extracelulární SOD se nachází vně buněk (v plazmě), v lymfě a mozkomíšním moku (Adachi a Marklund, 1989).

### **Kataláza (CAT)**

Enzym CAT se nachází v peroxizomech a cytosolu buněk. CAT katalyzuje rozklad peroxidu vodíku na molekulární kyslík a vodu (Sies a kol., 2005). Trojrozměrná struktura CAT byla definována jako tetramer, složený ze čtyř podjednotek, z nichž každá obsahuje hematin jako prostetickou skupinu (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001). Některé CAT jsou schopné vázat NADPH. Předpokládá se, že důvodem těchto vazeb je zamezení tvorby Sloučeniny II., která je neaktivní. Ale mechanismus, kterým reakce probíhá, je zatím nejasný (Chelikani a kol., 2004).

### **Glutation peroxidáza (GPX)**

Existují tři druhy, selen obsahující, GPX – cytosolová (C-GPX), fosfolipido-peroxidová (PH-GPX) a extracelulární (P-GPX) (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001). Tyto enzymy katalyzují v podstatě stejné reakce, rozdílné jsou jejich struktury a lokalizace (Brigelius-Flohé, 1999). GPX enzymy katalyzují, prostřednictvím oxidace GSH, redukci peroxidu vodíku a alkyhydroperoxidu. Dále GPX snižuje koncentrace celé řady organických hydroperoxidů.

Cytosolová C-GPX je lokalizována, jak už název napovídá, v cytosolu buněk a matrixu mitochondrií. C-GPX nemůže působit přímo na hydroperoxydy, které jsou esterifikované ve fosfolipidech. Nejprve vyžaduje aktivitu fosfolipázy A2, aby došlo k uvolnění hydroperoxidu mastné kyseliny. Na rozdíl od PH-GPX může komunikovat přímo s peroxidovanými lipidy, které jsou esterifikované ve fosfolipidech a integrované v membráně. S peroxidem vodíku reagují jen v menší míře (Ursini a kol., 1985, Brigelius-Flohé a kol., 1994). Dalším typem je P-GPX, je syntetizována v plazmě a játrech a reaguje s fosfolipidovými

hydroperoxydy, stejně jako s peroxidem vodíku a alkyhydroperoxydy (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001).

### **Peroxiredoxin (PRX)**

Tato skupina PRX enzymů zahrnuje 1-Cys a 2-Cys peroxidázy. Bylo prokázáno, že PRX katalyzují redukci peroxidu vodíku na vodu a alkyhydroperoxidů na odpovídající alkoholy. PRX jsou odlišné od jiných peroxidáz v tom, že nemají kofaktory, jako jsou například kovy nebo protetické skupiny (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001). Thioredoxin peroxidázy (TPX) jsou ze skupiny 2-Cys PRX, u kterých bylo prokázáno, že redukují peroxid vodíku za současného využití elektronů z thioredoxinového systému. PRX ze skupiny 1-Cys jsou schopné snížit peroxidy v přítomnosti malého thiolu, jako je například dithiothreitol (DDT) (Seo a kol., 2000). PRX ovlivňují řadu buněčných procesů, které jsou citlivé na koncentraci ROS. Bylo prokázáno, že PRX eliminují potenciálně škodlivé ROS. Dále mohou hrát důležitou roli při signální transdukcii a genové expresi, v důsledku změn koncentrací ROS (Henkle-Dührsen a Kampkötter, 2001).

PRX prezentují 0,2 – 0,4 % celkových rozpustných proteinů, což činí z PRX nejhojnější skupinu antioxidantních enzymů v cytosolu většiny tkání. PRX enzymy byly objeveny i v celém životním cyklu parazitických hlístic. Kde jsou aktivní jak při řešení vnitřního, tak i vnějšího oxidačního stresu (Rhee a kol., 1999).

### **3.3 Parazitičtí helminti**

Helminti jsou bivalentně souměrné mnohobuněčné organismy. Jedná se o velmi různorodou skupinu živočichů, s velmi variabilním ontogenetickým vývojem. Do skupiny helmintů řadíme zástupce neodermátních platyhelmintů (Trematoda, Cestoda, Monogenea), hlístic (Nematoda) a vrtejšů (Acanthocephala).

Helminti během svého vývoje využívají jednoho, či více hostitelů a prochází různým počtem morfologicky odlišných larválních stádií, využívajících několik typů hostitele. V definitivním hostiteli dochází k pohlavnímu dospívání a následně sexuální reprodukci helmintů (Volf a Horák, 2007).

### 3.3.1 Kmen Ploštěnci (*Platyhelminthes*)

#### Třída Motolice (*Trematoda*)

Odhaduje se, že třída Motolice obsahuje více než 20 tisíc druhů. Motolice jsou rozděleny do dvou podtříd (Digenea, Aspidogastrea), téměř všechny motolice jsou parazité měkkýšů a obratlovců. Všechny druhy jsou endoparazité, přežívající ve žlučových cestách, zažívacím traktu, nebo cévním systému konečného hostitele (Chiumiento a Bruschi, 2009).

Velikost většiny helmintů třídy Trematoda se pohybuje do několika milimetrů. Avšak existují i výjimky, které mají až několik metrů (čeled' Didymozoida). Tělo mají Trematoda dorzoventrálně zploštělé, kopinatého či oválného tvaru, s jednou či více přísavkami, které mají především přichycovací funkci. U některých zástupců však přísavky mohou být nahrazeny jinými strukturami (Volf a kol., 2007).

#### Třída Tasemnice (*Cestoda*)

U tasemnic se jedná o třídu obligátních parazitů ve střevech obratlovců (Shuker, 2001). Skupina má přes 5000 známých druhů tasemnic, až na pár výjimek jde o parazity s vícehostitelským životním cyklem. Z medicínského hlediska může jít o závažné patogeny, a to především ve stádiu larev napadajících obratlovce.

Tělo tasemnici je rozděleno na skolex (hlavičku) a segmentovanou strobilu (tělo). Významným taxonomickým znakem jsou nápadné přichycovací orgány, které najdeme na skolexu. Strobila tasemnic je tvořena samostatnými reprodukčními jednotkami, které představují články (proglotidy). Tasemnice mohou mít tělo nečlánkované (monozoické), tedy tvořené jedním článkem. Nebo jejich tělo může být tvořeno více články (polyzoické) (Volf a kol., 2007). Je zajímavé, že tasemnicím chybí všechny části zažívacího systému. Místo toho využívají živin svého hostitele, které absorbují celým povrchem těla (Shuker, 2001).

#### Třída Jednorodí (*Monogenea*)

Třída *Monogenea*, nebo také v češtině označována jako žábrolísti. Jedná se o parazity s vysokou specifitou k druhu hostitele i orgánové lokalizaci. Nejčastěji však parazitují na rybách, pro které mohou být nebezpečnými patogeny. *Monogenea* je kosmopolitně rozšířená skupina, která zahrnuje přes 5000 druhů (Volf a kol., 2007). Třída *Monogenea* se

vyznačuje tím, že většina jejích členů jsou ektoparazité, tedy že žijí na vnější straně orgánů svého hostitele (nejčastěji kůže a žábry) (Shuker, 2001). Avšak mezi nimi lze najít jedince, kteří jsou endoparazité (např. kloaka obojživelníků, střevo ryb apod.).

Jedná se o helminty velmi malých rozměrů (0,03 až 20 mm). Pro klasifikaci mezi jednotlivými taxony slouží opisthaptor. Jedná se o výrazný přichycovací orgán, který se nachází v zadní části těla dospělých jedinců. Dalším výrazným poznávacím rysem mohou být typická vyústění hlavových žláz. Sekrety z nich napomáhají přichycení na hostitele (Volf a kol., 2007).

### **3.3.2 Kmen Hlístice (*Nematoda*)**

Hlístice jsou kmenem, u kterého bylo rozpoznáno a popsáno přes 20 tisíc druhů, což z nich dělá jednu z nejpočetnějších a nejrozšířenějších skupin živočichů. Jedná se o parazity obratlovců, bezobratlých a rostlin, přičemž spousta jedinců žije i volným způsobem života. U některých druhů dochází ke střídání parazitujících a volně žijících generací. Parazitické hlístice obratlovců nejčastěji nalezneme v trávicím traktu.

Velikost a délka těla je u hlístic různorodá (Volf a kol., 2007). Nejmenší hlístice jsou mikroskopických rozměrů, jiné druhy dosahují přes metr délky (Shuker, 2001). Typickým rysem těla hlístic je jeho kruhový průřez (Volf a kol., 2007).

### **3.3.3 Kmen Vrtejši (*Acanthocephala*)**

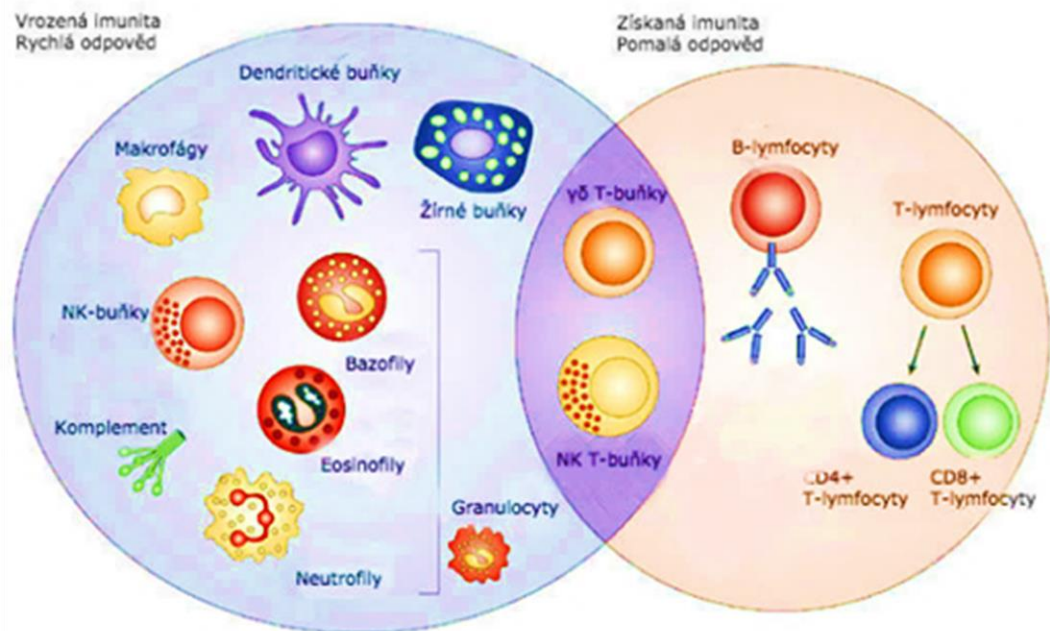
*Acanthocephala*, neboli vrtejši, patří mezi pseudocoelní organismy rozšířené po celém světě. U tohoto kmene bylo objeveno a popsáno asi 1100 druhů (Volf a kol., 2007). Vrtejši v dospělosti parazitují výhradně v tenkém střevě obratlovců. Nejčastějším konečným hostitelem bývají ryby a ptáci. Vrtejši nemají, stejně jako tasemnice, trávicí soustavu. Výživa je tedy zajišťována příjmem živin celým povrchem těla.

Dospělí jedinci mají válcovité tělo, o délce od 1 mm do více než 60 cm (Shuker, 2001). Tělo vrtejšů dělíme do dvou částí – přední část (praesoma) a zadní část (metasoma). Přední část zahrnuje především chobotek, který slouží k přichycení vrtejšů ve střevě hostitele. V zadní části se nachází především reprodukční orgány (Volf a kol., 2007).

### 3.4 Imunitní obrana a mezidruhové interakce

Imunitní obrana může být vnímána jako jeden z nejvíce sofistikovaných produktů mezidruhových interakcí. Je výsledkem častých a dlouhých "závodů ve zbrojení" mezi hostiteli a parazity. V důsledku toho hostitelé vyvinuli komplexní strategie, aby se zabránilo negativním účinkům parazitů, a parazité si vyvinuli mnoho adaptivních odpovědí, jak odolávat a vyhnout se obraně hostitele (Medzhitov a Janeway, 1997). Schopnost sebeobrany existuje jak u jednobuněčných organismů, které mohou produkovat mikrobicidní molekuly, tak u obratlovců, kde dosahuje vysoké složitosti. Ti vlastní širokou škálu efektorů, které se vypořádávají s patogenními vetřelci (Sorci a Faivre, 2009).

Imunitní systém lze rozdělit do dvou mechanismů – nespecifická (přírozená) a specifická (získaná) imunita (Obr. 6). Mezi krví a tkáněmi dochází ke stálé migraci molekul a buněk imunitního systému. Přírozená imunitní odpověď je v první linii obranného mechanismu organismu. Proti antigenům působí velmi rychle avšak nespecificky. Oproti tomu získaná imunita, kterou tvoří T-lymfocyty a B-lymfocyty, působí proti konkrétním antigenům, tato odezva je však podstatně pomalejší (Hořejší a Bartůňková, 2009, Ferenčík a kol., 2009).



Obr. 6: Složky imunitního systému (upraveno dle Drahoff, 2004)

Imunitní odpověď organismu rozdělujeme do dvou typů – Th1 a Th2. První typ ovlivňuje především odpověď buněk. Th1 je namířena proti vnitrobuněčným patogenům, protože brání jejich pronikání a následnému rozmnožování. Produkty Th1 odpovědi jsou nejčastěji – interleukiny (IL-2 a IL-12) a cytokin interferon gamma (INF- $\gamma$ ). Tyto látky brání vnitrobuněčným patogenům pronikání a rozmnožování. Th2 odpověď patří do mechanismu specifické imunity, která je zacílena na ochranu mezibuněčných prostor před parazity, toxickými látkami a bakteriemi (Jílek, 2008).

### **3.4.1 Buněčné složky nespecifické imunity**

#### **Makrofágy**

Makrofágy jsou buňkami s obrannými funkcemi, patřící do nespecifické imunity (Obr. 6). Jejich nejdůležitější funkcí je fagocytóza odumřelých buněk. Makrofágy jsou v různých tkáních popsány pod rozdílnými názvy – mikroglia (v mozku), Kupfferovy buňky (v játrech), Langerhansovy buňky (v kůži) osteoklasty (v kůži). Z monocytů, cirkulujících v hojné míře v krvi, pochází značná část tkáňových makrofágů (Jílek, 2014). Prozánětlivý cytokin INF- $\gamma$  je významnou sloučeninou, která je produkována makrofágy při boji proti helmintózám (Toman, 2009). Makrofágy mohou být polarizovány do dvou odlišných fenotypů (M1 a M2): M1 – klasicky indukované Th1 cytokiny; M2 – alternativně aktivované makrofágy (klasifikované jako M2a, M2b, M2c a M2d) a vyvolané Th2 cytokiny (Mosser a Edwards, 2008). M1 dále produkují signální proteiny, zvané cytokiny. Prozánětlivé cytokiny jako IL-1 a IL-12, posouvají imunitní reakci směrem k Th1 (Edwards a kol., 2006).

#### **Granulocyty**

Do nespecifické imunity patří i granulocyty, které dělíme do tří skupin – neutrofilů, eozinofilů a bazofilů (Obr. 7). Granulocyty se vyvíjí v kostní dřeni a následně zralé cestují krevním oběhem. Nejvyšší obsah neutrofilů se nachází v krvi, kterou putují k místu zánětu, kde pohlcují nežádoucí mikroorganismy (Horejší a Bartunková, 2009). Mikroorganismů se zbavují dvojí rozdílnou cestou – oxidativní nebo neoxidativní. Oxidativní cestou je takzvané respirační vzplanutí, při kterém dochází ke krátkodobému zvýšení spotřeby kyslíku. Při neoxidativní cestě dochází k uvolňování enzymů a spotřeba kyslíku se nijak nemění. Bazofily, se aktivně účastní obrany proti parazitárním helmintózám, dále dokáží pohltit bakterie a indukovat



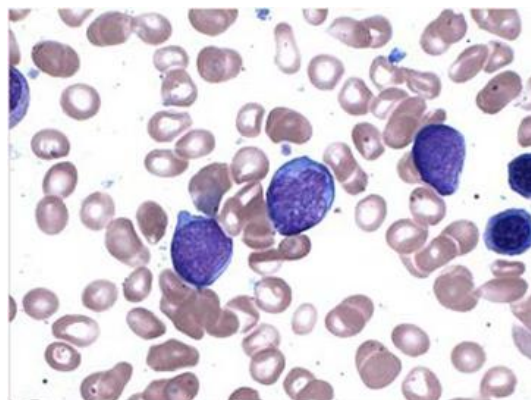
zánětlivé reakce. Poslední typ granulocytů, eozinofily, mají schopnost zabíjet parazitické organismy pomocí vlastních toxických kyslíkových metabolitů (Toman, 2009).



**Obr. 7:** Neutrofil, eozinofil, bazofil (upraveno dle transferfaktory.ru)

### **NK-buňky**

Nejdůležitější funkcí NK-buněk (Obr. 8) je zajištění likvidace patogenů, které jsou schopny rozpoznávat pomocí exprese MHC gp. I. Některé viry a nádorové buňky jsou schopny potlačit expresi MHC gp. I., a tak se bránit napadení aktivovanými cytotoxickými T-lymfocyty. Další jejich funkcí je likvidace parazitů a nádorových buněk (Ferenčík, 2005). Aktivované NK-buňky produkují chemokiny a cytokiny ( $\text{INF-}\gamma$  a  $\text{TNF-}\beta$ ), receptory pro  $\text{INF-}\gamma$  a  $\text{TNF-}\beta$  se nachází na povrchu NK-buněk. Podle těchto receptorů je možné NK-buňky identifikovat (Kopecký a Kopecký, 2009).

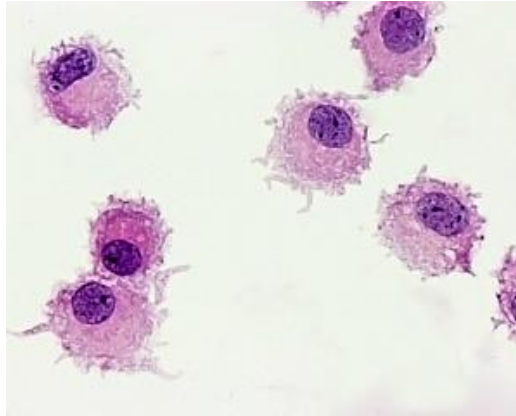


**Obr. 8:** NK-buňky (upraveno dle study.com)

### **Dendritické buňky**

Dendritické buňky (Obr. 9) jsou nejdůležitějším typem buněk prezentujících antigen, který tvoří důležitou roli v adaptivním imunitním systému. Pouze dendritické buňky mají

schopnost indukovat primární imunitní odpovědi u neaktivních nebo klidových T-lymfocytů. Produkty dendritických buněk – cytokiny, spolu s dalšími faktory, pomáhají udržovat jejich imunitní paměť. Samotné dendritické buňky jsou považovány za spojovací článek mezi specifickou a nespecifickou imunitní odpovědí buněk (Šterzl a kol., 2005, Hořejší a Bartůňková, 2009).



**Obr. 9:** Dendritické buňky (upraveno dle washington.edu)

### 3.4.2 Humorální složky nespecifické imunity

#### Cytokiny

Cytokiny jsou produkovány buňkami imunitního systému. Jedná se o signální molekuly bílkovinné povahy, jejichž hlavním úkolem je předávání informací mezi jednotlivými buňkami (Toman, 2009). Cytokiny působí na několik různých buněk – na buňky, které je produkují, na buňky ve své blízkosti, nebo na vzdálené tkáně, po transportu krevním řečištěm (Hořejší a Bartůňková, 2009) Cytokiny lze rozdělit do několika skupin, podle jejich účinků:

- Interleukiny – rozhodují zda se bude jednat o Th1 nebo Th2 odpověď imunity při napadení parazity ( IL-4, IL-10 a IL-12 )
- Interferony – půdoby proti virům
- Chemokiny – přivolávají leukocyty do míst se zánětlivou reakcí
- TGF – transformují růstové faktory
- CSF – „Faktory stimulující kolonie“, diferencují granulocyty, monocyty myeloidní buňky
- TNF – „Tumor nekrotizující faktory“, regulují zánět (Toman, 2009, Hořejší a Bartůňková, 2009).

## **Komplementy**

Komplementy jsou skupina zahrnujících 30 až 40 membránových a sérových glykoproteinů, nacházejících se na povrchu buněk krevního séra, a které fungují jako složka humorální nespecifické imunity. Tyto proteiny komunikují a kooperují mezi sebou navzájem, ale i s dalšími složkami imunitní ochrany organismu. Mezi hlavní a nejdůležitější složku komplementů řadíme proteiny C1 – C9. Podstatou aktivace jednotlivých složek je kaskádovitá reakce, která je zahájena přeměnou komponentu C1. Protein C3 je ústřední složkou, jeho fragmenty se jsou schopny kovaletně vázat na povrch mikroorganismů (Hořejší a Bartůňková, 2009).

## **Interferony (INF)**

Interferony jsou proteiny nespecifické imunity, které jsou produkovány především některými buňkami imunitního systému (např. dendritickými buňkami), ale i buňkami, které jsou infikované virem. Interferony navozují takzvaný aktivovaný stav – navázaním se na specifické receptory buněk (infikovaných i zdravých). Aktivovaný stav buněk indukuje systézu enzymů, které následně potlačují replikaci virů (Hořejší a Bartůňková, 2009).

### **3.4.3 Buněčné složky specifické imunity**

#### **T-lymfocyty**

T-lymfocyty jsou součástí buněčné specifické imunity. Prekurzory T-lymfocytu putují z kostní dřeně do thymu, kde dochází k jejich zrání a selekci (Toman, 2009). T-lymfocyty dělíme do dvou skupin, dle jejich úlohy v imunitním systému a přítomnosti povrchového receptoru – Th-lymfocyty (CD4<sup>+</sup>) a Tc-lymfocyty (CD8<sup>+</sup>).

- Th-lymfocyty (CD4<sup>+</sup>) – pomocné lymfocyty, produkují cytokiny
  - T1 – podpora buněčné části imunity
  - T2 – podpora protilátkové odpovědi
- Tc-lymfocyty (CD8<sup>+</sup>) – pomocí extracelulárně uvolněných toxinů ničí buňky napadené virem nebo rakovinné buňky (Šterzl a kol., 2005).

### 3.4.4 Humorální složky specifické imunity

#### B-lymfocyty

B-lymfocyty jsou buňkami specifického imunitního systému, které vnikají a dozrávají v kostní dřeni. Zralé buňky následně putují do sekundárních lymfatických orgánů, kde dochází k jejich maturaci s antigeny (Toman, 2009). S těmito antigeny mohou reagovat velmi specificky díky povrchovým antigenním receptorům (Ferenčík, 2005). Aktivované B-lymfocyty se po kontaktu s antigenem diferencují na plazmatické buňky a vytváří protilátky. Další možností přeměny B-lymfocytů je na paměťové B-buňky, které mají za úkol pamatovat si kontakt s daným antigenem, aby při opakovaném setkání s antigenem došlo k rychlejší a intenzivnější tvorbě protilátek – IgA, IgD, IgE, IgG a IgM (Ferenčík, 2005). Protilátky tvoří čtyři řetězce (dva těžké a dva lehké), které do jedné molekuly propojují disulfidové můstky (Hořejší a Bartůňková, 2009).

### 3.4.5 Adaptace helmintů na imunitní mechanismy hostitele

U helmintů došlo k vyvinutí různých adaptací pro přenos mezi hostitelskými organismy a následné přežití v těle hostitele. Tyto adaptační mechanismy lze rozdělit do dvou skupin – morfologické adaptace a adaptace na molekulární úrovni. Do první skupiny, tedy mezi morfologické adaptace, patří například redukce některých soustav a orgánů nebo vytvoření přichycovacích orgánů. Významnou řadu imunomodulačních aktivit můžeme pozorovat napříč třemi taxonomickými skupinami (*Nematoda*, *Cestoda* a *Trematoda*) (Hewitson a kol., 2009).

Mezi adaptace na molekulární úrovni řadíme mechanismy, pomocí kterých helminti hledají své hostitele, následně do nich pronikají a posléze i mechanismy které umožňují jejich vývoj v hostiteli. K orientaci, ve stádiu hledání hostitele, slouží chemické signály. Po proniknutí do organismu hostitele helmint migruje do cílové tkáně, kde posléze významně ovlivňuje imunitní systém hostitele (Volf a kol., 2007). Modulace imunitního systému helminty je s největší pravděpodobností zprostředkována rozpustnými mediátory, které komunikují s imunitním systémem hostitele (Akintunde a Oboh, 2015). Reakcí hostitelského organismu na parazitického helminta je charakteristická Th2 odpověď. Při té je blokována Th1 odpověď a efektorové mechanismy. Tento mechanismus zajišťuje helmintům přežití v modifikovaném Th2 prostředí (Hewitson a kol., 2009).

Klíčovou roli v komplexním procesu imunitní reakce při helmintózách hrají makrofágy. Ty mohou být polarizovány do dvou odlišných fenotypů (M1 a M2). Hlavním cílem helmintů v hostitelském organismu je přežít tak dlouho, jak jen to je možné a to generováním stavu tolerance. Tento stav je pro parazita prospěšný, jelikož hostitel poskytuje výživu, ochranu a stabilní podmínky pro růst. Prvními buňkami se kterými se setkají helminti jsou dendritické buňky a makrofágy. Helminti si vyvinuli složité mechanismy, při kterých se pomocí exprese určitých molekul vyhýbají imunitní obraně hostitele. Jeden z těchto mechanismů využívá dopadu povrchových proteinů nebo vylučovacích/sekrečních produktů (ESP) parazitů na makrofágy. Oba fenotypy (M1 i M2) jsou zapojeny do parazitární invaze v různé míře v závislosti na druhu parazita a životním cyklu (Peón a kol., 2012).

Th1 a Th2 buňky se rozlišují produkovanými cytokiny, reakcemi kterými na ně odpovídají a procesy, kterých se účastní. Th1 buňky vytváří prozánětlivé cytokiny IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  a IL-2, které stimulují fagocytózu a destrukci mikrobiálních patogenů. Th 2 produkuje IL-4, IL-5, IL-6 a IL-13, ty stimulují látkovou produkci proti extracelulárním parazitům. Do rozvoje orgánově specifických autoimunitních onemocnění je zapojena Th1 odpověď. Mezi taková onemocnění patří například artritida, sclerosis multiplex a nespecifická střevní zánětlivá onemocnění (IBD, inflammatory bowel disease) (Kokešová, 2009).

#### **3.4.6 Studie vlivu tasemnic na hostitele – *in vitro***

Ve studii Baška a kol. (2013) byly stimulovány BOMA (hovězí buněčné linie monocytů/makrofágů) a BOMAC (hovězí makrofágové buněčné linie) nativními nebo rekombinantními antigeny u *F. Hepatica* a následně hodnoceny úrovně IFN- $\gamma$ , IL-4 a TNF- $\alpha$ . Při pokusech byl pozorován pokles sekrece prozánětlivého TNF- $\alpha$  po stimulaci buněčných linií ESP. Další změny exprese vykazovalo 23 genů (u 12 genů byla pozorována zvýšená a u 11 snížená regulace). Úroveň uvolňování IL-4 dosáhla nejvyššího bodu 2. a 6. týden od infekce. Další výsledky ukazují, že sekrece IFN- $\gamma$  dosahuje svého maxima 22 až 5. týden po infekci.

Hladiny exprese povrchových molekul a uvolňování cytokinů a chemokinů lidských dendritických buněk, odvozených od monocytů, byly stanovovány po vystavení ES produktů u *H. contortus*, nebo po vystavení kombinaci ESP s bakteriálním liposacharidem (LPS). ESP v tomto případě vyvolaly slabou reakci a pouze částečné zrání dendritických buněk.

Dále sekrety snižují některé aspekty silné Th1/Th2 reakce vyvolané LPS (Rehman a kol., 2015).

Studie McKay (2009) se zabývala vlivem *H. diminuta* na imunitní systém definitivního hostitele, v tomto případě potkanů a myši. U infikovaných jedinců byly zdokumentovány zvýšené hladiny molekul a buněk, které jsou typicky spojené se spontánním vypuzením gastrointestinálních helmintů (jako je IgE, IgG, eozinofily a Th2 cytokiny). Navzdory tomu, má *H. diminuta* schopnost potlačit nebo přeměřovat imunitní odezvy svého hostitele prostřednictvím ESP.

### 3.4.7 Antioxidační aktivita helmintů

ROS, které jsou produkovány hostitelským organismem v průběhu parazitární infekce, hrají důležitou roli jako mediátory při interakci mezi hostitelem a parazitem. (Maizels a Yazdanbakhsh, 2003) Parazité, kteří se vyznačují vysokou enzymovou antioxidační aktivitou, mohou přežít v těle hostitele po velmi dlouhou dobu. Jejich antioxidační systémy mohou být použity jako součást obrany proti ROS produkováných hostitelem. Obecně jsou hlísti dobře vybaveni různými antioxidačními enzymy (Skrzycki a kol., 2011). Produkce takových enzymů je výsledkem potřeby adaptace na stres. Další funkcí těchto enzymů je zabránit interakcím mezi ROS a povrchem parazitů, čímž se zabrání produkci lipidových peroxidů, které vytváří cytotoxické karbonyly, molekuly zodpovědné za útok na biologické struktury parazitů a jeho následné usmrcení. Koexistence vztahu hostitel/parazit může být úspěšně dosaženo, pokud parazit zasahuje do imunitní reakce hostitele a to buď tím, že ovlivňuje aktivitu efektorových buněk, nebo se brání proti ROS (Oliveira a Oliveira, 2002).

ROS mají buněčnou toxicitu především pro parazity, jako je *Schistosoma*, *Angiostrongylus*, *Dirofilaria*, kteří jsou nuceni změnit svůj metabolismus z aerobního na anaerobní v určitých fázích svého životního cyklu, čímž zamezují produkci ROS ve svých buňkách, které by dále zvýšilo jejich oxidační stres (Chiumiento a Bruschi, 2009). Každý parazit vytváří své vlastní antioxidační systémy v různých množstvích v porovnání s jinými parazity (Drzik, 2006).

Studie Smith a Bryant (1988) provedená na dvou střevních hlísticích, které infikovaly hlodavce, *Nippostrongylus brasiliensis* a *Nematospiroides dubius/Heligmomoides polygyrus*,

ukázaly, že dospělí jedinci *N. brasiliensis* byli ze střeva hostitele vyloučeni za 10 – 12 dní po nákaze, zatímco jedinci *N. dubius* / *H. polygyrus* přežili až po dobu několika měsíců. Rozdíl je způsoben skutečností, že tyto dva druhy hlístic nemají podobnou enzymatickou antioxidační aktivitu. *N. dubius* produkuje dvojnásobné množství SOD a čtyřnásobné množství CAT a glutathion reduktasy, než *N. brasiliensis*. Enzymatická antioxidační aktivita u parazitických hlístic nezáleží pouze na druhu, ale také na vývojové fázi, v které se daný parazit nachází. Během vývoje parazita v hostiteli lze sledovat různé fáze, které mají odlišnou morfologii, ale i rozdílnou schopnost přizpůsobit se vnějšímu prostředí, jakož i hostiteli. S tím souvisí různé množství produkce antioxidačních enzymů podle úlohy každé fáze, například ve fázi invaze je pozorována vysoká produkce těchto enzymů (Drzik, 2006). Kromě své úlohy proti obrannému systému hostitele, může antioxidační aktivita hlístů zřejmě sloužit jako obranný mechanismus proti volným radikálům, což doprovází vychytávání toxických prvků. Tato adaptace umožňuje parazitu přežít v zažívacím traktu, kde je ohrožen vysokou úrovní znečišťujících látek z životního prostředí, přijímaných z tráveniny. Bylo také prokázáno, že antioxidační látky produkované sekrečním systémem parazitů se zdají být schopny měnit antioxidační aktivitu hostitelského organismu (Dautremepuits, 2002). Přehled parazitů a jejich taxonomické zařazení viz Tab. 2 (Volf a kol., 2007).

**Tab. 2:** Přehled parazitů a jejich taxonomické zařazení

Kmen	Třída	Zástupci	Zástupci
	Motolice	<i>Fasciola hepatica</i>	Motolice jaterní
	(Trematoda)	<i>Schistosoma mansoni</i>	Krevnička střevní
Ploštěnci (Platyhelminthes)	Tasemnice (Cestoda)	<i>Taenia taeniaeformis</i>	Tasemnice kočičí
		<i>Echinococcus granulosus</i>	Měchožil zhoubný
		<i>Echinococcus multilocularis</i>	Měchožil bublinatý
		<i>Ligula intestinalis</i>	Řemenatka ptačí
		<i>Monobothrium wagneri</i>	-
		<i>Contluaria capillarioides</i>	-
		<i>Mesocestoides perlatus</i>	-
		<i>Cladotaenia globitera</i>	-
		<i>Hymenolepis diminuta</i>	Tasemnice krysí
		Hlístice (Nematoda)	Secernentea/ Phasmida
<i>Haemonchus contortus</i>	Vlasovka slezová		
<i>Onchocerca volvulus</i>	Vlasovec kožní		
Chromadorea	<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>		-
	<i>Ascaris suum</i>		Škrkavka prasečí
	<i>Nematospiroides dubius/ Heligmosomoides polygyrus</i>		-
Adenophorea	<i>Trichinella spiralis</i>		Svalovec stočený
	<i>Trichinella pseudospiralis</i>		-
Secernentea	<i>Necator americanu</i>		Měchovec americký
	<i>Haemonchus contortuss</i>		Vlasovka slezová
Vrtejší (Acanthocephala)	Palaeacanthocephala	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	-
		<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>	Vrtejš velký

(Volf a kol., 2007)



## ***Trematoda***

### ***Fasciola hepatica***

U této do podtřídy *Digenea* patřící motolice byly objeveny a charakterizovány dvě formy Cu/Zn SOD – cytosolová a extracelulární. Díky tomu superoxidové anionty nemohou pronikat biologickými membránami, v tomto ohledu je účinnější extracelulární SOD. Pokud se cytosolová SOD nachází v dostačující koncentraci, tak také poskytuje dostačující ochranu proti extracelulární superoxidové toxicitě (Kim a kol., 2000). Extracelulární SOD byla nalezena v sekrečních produktech dospělých jedinců i po 3 – 5 týdnech kultivace, kde již nebyla zaznamenána žádná aktivita CAT. Hlavními detoxifikačními faktory hydroperoxidů u tohoto parazita jsou PRX. Dalším hojně zastoupeným antioxidantem u *F. hepatica* je GST, byly identifikovány čtyři isoenzymy (GST-1, GST-7, GST-47, GST- 51), které se vyznačují různou enzymatickou specifičností a lokalizací (Salvatore, 1995). *F. hepatica* je vybavena také dalším antioxidačním systémem – cytochrom c peroxidase, která využívá cytochrom c jako donor elektronů k oxidaci ROS (Campos et al., 1999).

### ***Schistosoma mansoni***

U *S. Mansoni* byly objeveny dvě SOD. Jedna cytosolová Cu/Zn SOD (CT-SOD) a druhá extracelulární, která obsahuje peptidový signál (SP-SOD). Obě dvě formy jsou zastoupeny v dospělých jedincích – v tegumentu (osemeni) a střevním epitelu. Nedávné studie ukázaly, že cytosolová SOD může představovat modelovou vakcínu proti tomuto parazitu (Chiumiento a Bruschi, 2009). *S. Mansoni* postrádá CAT, ale vyznačuje se nízkou aktivitou GPX, ten je přítomen hlavně v osemeni u dospělých stadií (Mkoji a kol., 1988). Důležitou roli v obraně proti *S. Mansoni* hraje PRX, zejména 2-Cys PRX, který využívá účinné elektrony pocházející ze systému TRX a GSH, což vysvětluje jeho distribuci do různých buněčných míst, což je odlišné od PRX savčího hostitele (Sayed, Williams, 2004). Kromě toho, enzymatická aktivita tohoto PRX je rozhodující pro přežití vajíček během přepravy z mezenterických kapilár do střeva. TRX, vylučovaný vajíčky, může působit s hlistovým PRX a tak chránit vajíčko před útoky ROS z hostitelského organismu (Alger a kol., 2002). Dalším antioxidantem zastoupeným u *S. Mansoni* je GST, ty hrají důležitou roli v obraně proti ROS. GST jsou dokonce až desetkrát více účinné než SOD a stokrát více než GPX (Chiumiento a Bruschi, 2009).

## *Nematoda*

*Necator americanus* má enzymatickou aktivitu v podobě GST a to u dospělých hlístic, kromě toho je v sekrečních produktech přítomen Cu/Zn SOD. Naopak CAT a GPX jsou přítomny pouze jen v malých množstvích (Taiwo a kol., 1999). U druhu *Nippostrongylus brasiliensis* byla popsána přítomnost GPX a SOD, jehož enzymatická úroveň se zmenčuje v průběhu zrání, je tedy nižší u více zralých parazitálních fází (Chiumiento a Bruschi, 2009). *Ascaris suum*, u tohoto druhu je ve všech stádiích životního cyklu parazita přítomen enzym PRX, což naznačuje důležitou roli jako hlavní detoxifikační prostředek ROS (Tsuji a kol., 2000). Dalším antioxidačním enzymem, který byl u *A. suum* objeven je GST (AsGST1), který vykazuje specifickou s řadou modelových substrátů a vedlejších produktů peroxidace lipidů (Liebau a kol., 1997). *Haemonchus contortus*, krevsající parazit přežvýkavců, vytváří GST enzym, který je schopný vázat hematin, což naznačuje alternativní roli tohoto enzymu v detoxifikaci nebo transportu hem skupiny hostitele, nebo jiné příbuzné skupiny (Van Rossum a kol., 2004).

## *Onchocerca volvulus*

V současné době je k dispozici nejvíce informací na antioxidační systém přítomný v *O. volvulus*. U tohoto parazita byly popsány jak MnSOD, tak Cu/ZnSOD, intracelulární i extracelulární (Chiumiento a Bruschi, 2009). *O. Volvulus* neprodukuje CAT, ale v endosymbióze bakterie tohoto *Filaria*, *Wolbachia*, je přítomen DNA kódující enzym, je schopen nepřímo syntetizovat CAT také pro parazita (Henkle-Dührsen a kol., 1995). Dalšími enzymy charakterizovanými u tohoto parazita jsou tři formy GST, které jsou charakterizované svou rozdílnou lokací v parazitu. OvGST1 je neglykosylovaná dimerní molekula, lokalizovaná na povrchu, zejména výčnělcích pokožky a v syncytiální epidermis (intracelulární kutikule) parazita (Chiumiento a Bruschi, 2009). OvGST2, protein, distribuovaný uvnitř syncytiální epidermis, stejně jako v děložním epitelu dospělých jedinců. Různé lokalizace OvGST1 a OvGST2 naznačují zřetelnou roli těchto dvou enzymatických forem – OvGST1 je vylučován parazitem z podkoží do pokožky a působí na rozhraní hostitel/parazit, čímž je ochranou proti imunitní obraně hostitele, naopak OvGST2 se používá jako antioxidant ve fyziologickém buněčném metabolismu (Wildenburg a kol., 1998). Třetí forma GST, OvGST3, je citlivá na oxidační stres, čímž je vymezena klíčová úloha tohoto enzymu – antioxidační obrana parazita (Liebau a kol., 2000). U *O. volvulus* byly dále charakterizovány

dva PRX enzymy – OvPRX1 a OvPRX2. Zejména OvPRX2 byl zaznamenán ve větší míře a lokalizován v pokožce a střevě dospělého jedince. Enzym GPX zdá se chybět, ale tento nedostatek může být kompenzován sekrecí GST během dospělé fáze parazita (Chiumiento a Bruschi, 2009).

### ***Trichinella spp.***

Dospělí jedinci a larvy ve svalech *T. spiralis*, mají vynikající antioxidační obranu ve srovnání s "novorozenými larvami", protože musí čelit silné imunitní odpovědi na střevní úrovni a ve svalech (Bass a Szejda, 1979). U *Trichinella pseudospiralis*, stejně jako *Trichinella spiralis*, byly rozpoznány dvě enzymatické formy SOD. U larválního stádia je ve svalech přítomna pouze jedna forma – Cu/Zn SOD (Chiumiento a Bruschi, 2009). Zatímco u dospělých jedinců jsou přítomny dvě odlišné formy (Rhoads, 1983). Doposud nebyla zdokumentována, v jednotlivých fázích vývoje parazita, přítomnost CAT, která by redukovala hydroperoxydy (Chiumiento a Bruschi, 2009).

### ***Cestoda***

U tasemnice nebyl objeven žádný enzym, který by byl schopen metabolizovat peroxid vodíku, jako například CAT, lipoxygenasa, GPX nebo NADPH peroxidasa. Avšak u *Taenia taeniaeformis* je přítomna Cu/Zn SOD, také u *Echinococcus granulosus* byla objevena enzymatická aktivita, a to SOD a TPX, zatímco u *Echinococcus multilocularis* aktivita GST (Callahan a kol., 1988).

### ***Hymenolepis diminuta***

Každá část strobila tasemnic má odlišnou strukturu a funkci. U *H. diminuta* bylo zjištěno, že přední část strobila je metabolicky aktivnější, než zadní část. To může být příčinou vysoké koncentrace prvků, zjištěných v předních částech tasemnice (Horáková a kol., 2016). *H. diminuta* parazitují na různých druzích savců (včetně člověka), ale jejich nejčastějším konečným hostitelem bývají hlodavci. Tento druh je velmi dobře uzpůsoben k životu v nepříznivých podmínkách tenkého střeva potkanů. Antioxidační aktivita *H. diminuta*

zahrnuje GSH spolu s antioxidačními enzymy (SOD, CAT a GST). Aktivita SOD je poměrně vysoká ve všech částech *H. diminuta*, oproti tomu CAT projevuje, ve srovnání s ostatními antioxidačními enzymy, jen druhořadou aktivitu. Největší podíl na celkové aktivitě enzymatického systému tvoří GST a SOD. GST přeměňuje toxické metabolity. Konjugací toxických metabolitů s GSH vznikají více rozpustné a lépe vylučitelné sloučeniny (Czczot a kol., 2012).

### ***Acanthocephala***

U vrtejšů byl popsán antioxidační systém, který zahrnuje glutathion peroxidasu, glutathion reduktasu, GST a vitamín E (Radovanović a kol., 2015). Dále byla zjištěna vysoká aktivita GST u *Pomphorhynchus laevis*, u kterých je i popsána extrémně zvýšená koncentrace některých toxických prvků. Vzhledem k tomu hraje GST klíčovou roli v eliminaci exogenních látek, jeho vysoká aktivita umožňuje parazitům přežít v přítomnosti vysokých koncentrací toxických prvků (Sures a Siddall, 1999).

## **3.5 Odezva organismu na vystavení rizikovým prvkům**

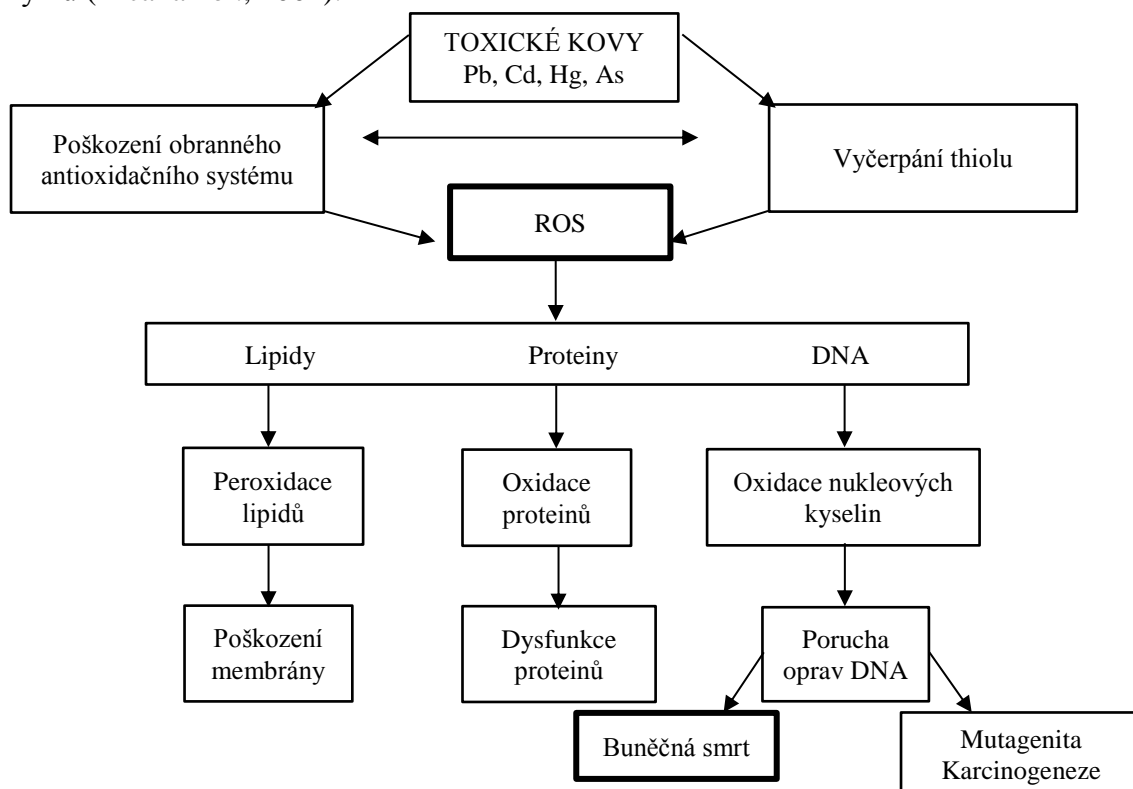
Některé z výše uvedených enzymatických antioxidantů (např. SOD, CAT a GPX) či neenzymatických antioxidantů (např. Vitamín C, vitamín E a karotenoidy) a další se podílejí na antioxidačních interakcích organismu proti tvorbě volných radikálů, zprostředkovaných kovy (Valko a kol., 2006). Prakticky všechny těžké kovy jsou v dostatečně vysoké koncentraci pro člověka toxické. Vzhledem ke koncentraci, ve které se vyskytují v životním prostředí, jsou olovo, arsen a rtuť předmětem největšího zájmu. Kovy tvoří komplexy s buněčnými sloučeninami obsahujícími síru, kyslík, nebo dusík. Takové komplexy deaktivují enzymové systémy nebo mění proteinové struktury, což následně vede k buněčné disfunkci a smrti. Oxidační stres, způsobený hromaděním různých toxických prvků, zahrnuje vážná poškození tkání a hlenu zažívacího traktu, poškození jater (hepatotoxicitu), DNA (genotoxicitu), centrálního nervového systému (neurotoxicitu) a ledvin (nephrotoxicitu) (Sharma a kol., 2014)

Vystavení organismu toxickým prvkům může výrazně snížit aktivitu antioxidantů (např. CAT, SOD, redukovaný glutathion), při současném zvýšení malondialdehydu a peroxidu vodíku (Akintunde a Oboh, 2015). Důležitou roli, v detoxikaci těžkých kovů a vychytávání volných

radikálů, hraje metalothionein (MT). MT je protein s nízkou molekulovou hmotností, jenž se vyskytuje prakticky v každém živém organismu (Waeytens a kol., 2009). Exprese MT může být značně ovlivněna celou řadou kovů, které genovou expresi aktivují (Liu a kol., 2007).

### 3.5.1 Těžké kovy

Během posledních dvou desetiletí je termín "těžké kovy" používán pro označení skupiny kovů a polokovů. Všechny takzvané těžké kovy a jejich sloučeniny mají vysoce toxické, nebo ekotoxické vlastnosti (Duffus, 2002). Těžké kovy (arzen, olovo, rtuť, kadmium a pod) mají k dispozici elektron pro vytvoření kovalentní vazby. Tyto vazby vznikají především mezi těžkým kovem a sulfhydrylovou skupinou proteinů. Interakce těžkých kovů s GSH je nezbytnou součástí reakce mnoha toxických kovů. Je-li GSH vyčerpáno nějakým kovem, GSH syntetizující systémy zahájí syntézu více GSH z cysteinu přes  $\gamma$ -glutamyllový cyklus. GSH však není účinně dodáváno, pokud vyčerpání GSH pokračuje z důvodu chronické expozice kovem. Některé z antioxidantních enzymů mohou tuto nerovnováhu ovlivňovat (Obr. 10). Avšak většina z nich podléhá negativnímu působení kovů, způsobeném navázáním kovů na aktivní místa enzymů (Ercal a kol., 2001).



**Obr. 10:** Mechanismy vzniku oxidačního stresu způsobeného těžkými kovy (upraveno dle Ercal a kol., 2001)

## **Arzen (As)**

Arzen je jedním z nejvýznamnějších světových toxických prvků, který je široce distribuován v půdě, vodě, potravě, prachu a některých chemických látkách. Běžně se vyskytuje v různých chemických formách. Jeho toxicita, pohyblivost v životním prostředí a zapojení do metabolismu organismů obvykle závisí právě na formě, ve které je prvek přítomen (Xing a kol., 2015). Organické formy arsenu jsou obecně netoxické. Naproti tomu anorganické formy arsenu, především trojmocné a pětímocné sloučeniny (např. oxid arsenitý  $\text{As}_2\text{O}_3$ ) jsou velmi toxické.  $\text{As}_2\text{O}_3$  je jedna z nejvíce toxických forem, často používaná jako pesticid. Trojmocné sloučeniny arsenu, za zvýšené koncentrace ROS v buňkách, reagují jako sulfhydrylová činidla především s proteiny a enzymy. Důsledkem toho dochází k poškození buněk a zvýšení rizika rakoviny. Uvádí se, že trojmocné sloučeniny mohou mít vliv na celou řadu orgánů, zejména jater, ledvin a kůže (Fowler, 1983). Při pokusech na drůbeži bylo zjištěno, že orgány podílející se na absorpci, akumulaci a vylučování jsou na arzen velmi citlivé (Falnoga a kol., 2000). Pokusy s  $\text{As}_2\text{O}_3$ , dokázaly, že způsobuje zánětlivou reakci v žaludku, žaludečních žlázách, dvanáctníku, lačníku, kyčelníku a slepém střevu u kohoutů.

Toxicita arsenu klesá při methylovaní organických forem, například na kyselinu methylarzonovou (MMA) a kyselinu dimethylarzinovou (DMA) (Vahter, 1998). Methylace je považována za detoxifikační mechanismus, protože methylované formy arsenu jsou méně toxické, méně reaktivní a jsou rychleji vylučovány močí. Aby mohlo dojít k methylaci, musí být pětímocný arzen nejdříve redukován na trojmocný, k čemuž dochází skrz reakci arsenu s redukovanou formou GSH. Míra methylace však klesá se zvyšující se koncentrací anorganického arsenu (Del Razo a kol., 1997).

## **Kadmium (Cd)**

Vystavení organismu působení kadmia může způsobit akutní i chronické poškození různých orgánů (např. jater, ledvin, plic atd.), kde dochází k jeho kumulaci. Tvorba ROS s následným růstem oxidačního stresu je jedním z několika mechanismů toxicity kadmia. Dlouhodobá expozice vede ke zvýšení lipoperoxidace a způsobuje inhibici aktivity CAT, SOD a GPX, což vede k oxidačním poškozením jater, ledvin a varlat. K inhibici mitochondriální MnSOD dochází v důsledku nahrazení manganu kadmiem (Casalino a kol., 2002). Možným chelátovým činidlem pro kadmium je ve vodě rozpustný antioxidant thiamin (vitamín  $\text{B}_1$ ).

Thiamin zabraňuje oxidačnímu poškození na buněčné membráně prostřednictvím přímé interakce s volnými radikály. Inhibiční mechanismus kadmia pro CAT je pravděpodobně způsoben imidazolovým zbytkem vazby His-74, která je nezbytná v rozkladu peroxidu vodíku (Gaurav a kol., 2010).

### **Olovo (Pb)**

Olovo je všudypřítomný ekologicky trvalý toxin, který způsobuje neurologická, hematologická, gastrointestinální, reprodukční, oběhová a imunologická poškození. Olovo se chová jako katalyzátor oxidačních reakcí a vytváří tak ROS. Toxicita olova je multifaktoriální, protože olovo přímo přerušuje aktivaci enzymu, inhibuje absorpci stopových prvků, váže se na thiolovou skupinu lipidů (přerušuje tak syntézu strukturálních proteinů), mění homeostázu vápníku a snižuje hladinu dostupných sulfhydrylových antioxidačních rezerv v těle (Ercal a kol., 2001). Olovo má vysokou afinitu k místům, která vážou vápník. Mechanismus zahrnuje substituci  $\text{Ca}^{2+}$  olovem, což má vliv na všechny fyziologické/biochemické procesy buněk, které vyžadují vápník (Sharma a kol., 2014).

Toxicita olova vede k poškození volnými radikály přes dvě oddělené, ačkoliv související cesty. První je tvorba ROS, včetně hydroperoxidů, singletového kyslíku a peroxidu vodíku. A druhou cestou je přímé vyčerpání antioxidačních rezerv (Lyn, 2006).

Olovo inhibuje sulfhydrylovou funkční skupinu hned několika enzymů (SOD, CAT, GPX, GSH). GPX, CAT a SOD jsou potenciálním cílem pro toxicitu olova, protože tyto antioxidační enzymy jsou závislé na různých základních stopových prvcích, důležitých pro jejich správnou molekulární strukturu a aktivitu (Patra a kol., 2011).

### **Rtuť (Hg)**

Rtuť se v přírodě vyskytuje v různých chemických formách, z nichž všechny mohou mít ve vysokých dávkách toxické účinky. Jedná se o vysoce reaktivní přechodný prvek, nulový oxidační stav ( $\text{Hg}^0$ ) existuje jako pára nebo jako tekutý kov. Rtuť také existuje jako kationt, v oxidačním stupni  $\text{Hg}^+$  a  $\text{Hg}^{2+}$ . Tyto formy mají toxické účinky na řadu orgánů, jako mozek, ledviny a plíce. Nejčastější organickou formou je metylртуť, která vzniká v důsledku methylace

anorganické formy. Všechny formy rtuti mají toxické účinky na řadu orgánů, v závislosti na formě rtuti, úrovni, době trvání a cestě expozice (Zalups, 2000). Toxicita  $Hg^+$  a  $Hg^{2+}$  probíhá zejména prostřednictvím molekulární interakce, vazbou na sulfhydrylové skupiny, přítomné v různých molekulách (GSH, cystein apod.) (Sharma a kol., 2014).

$Hg^{2+}$  indukuje tvorbu peroxidu vodíku a stimuluje činnost Cu/Zn SOD, ale neovlivňuje další antioxidační enzymy, jako je CAT a GPX. Avšak byla zjištěna zvýšená aktivita CAT, GPX a obsah GSH v játrech, ledvinách a mozku u myši, vystavených až 1 mg  $HgCl_2$  na kg živé váhy za den po dobu 14 dnů (Ercal a kol., 2001).

### **Zinek (Zn) a selen (Se)**

Zinek je esenciální stopový prvek, vystupující jako kofaktor v řadě enzymatických systémů. Je kofaktorem zejména pro SOD a GPX, které hrají důležitou roli v udržování redoxní homeostázy.

Selen je schopný katalyzovat degradaci ROS, organických hydroperoxidů, nebo organických volných radikálů. Dále je potřebný k provedení syntézy a enzymatické aktivity SOD a GPX suplementace (Bettger, 1993).

### **3.5.2 Transformace kovů v organismu**

Parazité jsou již po dlouhou dobu označováni jako důležité patogenní organismy jak u zvířat, tak lidí. V posledních letech se však, díky celé řadě molekulárních zkoumání, podařilo získat podrobnější znalosti o fyziologických a molekulárních interakcích parazitů s jejich hostiteli. Tyto interakce ovlivňují fyziologickou homeostázu hostitele, což často vede k negativním dopadům na jeho zdraví (Sures a kol., 2017). Kromě toho, ale bylo také prokázáno, že některé druhy parazitních helmintů, jsou schopni bioakumulace vyšších koncentrací toxických prvků, než jejich hostitelský organismus, čímž mohou být užiteční například jako bioindikátory znečištění prostředí (Sures a Siddall, 1999, Poulin, 1999) Neslibnějšími skupinami parazitických hlístů, s ohledem na akumulaci kovů v terestrických podmínkách, se ukázaly skupiny tasemnic a vrtejšů. Studie Sures (2004) provedená na bolivijských prasatech, infikovaných *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Kmen



Acanthocephala), bylo zjištěno, že některé kovy (např. Ba, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr a Se) jsou ve srovnání se svaly, játry, ledvinami a střevy hostitele, až  $160 \times$  více akumulovány v těle *M. hirudinaceus*. Další studie Sures (2004) byla prováděna na *Moniliformis moniliformis* (Kmen Acanthocephala), parazitující na krysách. Po perorálním podávání kadmia bylo zjištěno, že *M. moniliformis* obsahují 20, 30, a 119 krát více kadmia, než ledviny, játra a střeva hostitele. Podobné výsledky byly získány i po experimentálních perorálních expozicích olova. Další parazitické organismy, na kterých byla prováděna tato studie, jsou zapsány v Tab. 3. V tabulce jsou dále zaznamenány poměry koncentrací kovů v parazitických tkáních ve vztahu ke koncentracím kovů v hostitelských orgánech.

Tab. 3: Hromadění kovů v parazitech

Parazit	Hostitel	Místo výskytu	Kov	Poměr C <sub>parazit</sub> /C <sub>hostitel</sub>	Parazit	Hostitel	Místo výskytu	Kov	Poměr C <sub>parazit</sub> /C <sub>hostitel</sub>
<i>A. megarhynchus</i>	<i>Notothenia coriiceps</i>	Jižní Shetlandy (Antarktida)	Al, Ag, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni, Pb, Sr	0,3 – 2200	<i>L. intestinales</i>	<i>Abramis brama</i> (Cejn velký)	Sladkovodní nádrže na jižní Moravě	Cd, Cr, Pb	3 – 18
<i>P. laevis</i>	<i>Barbus barbus</i> (Parma obecná)	Dunaj (Rakousko)	Cd, Pb, Zn	26 – 407		<i>Rutilus rutilus</i> (Plotice obecná)	Sladkovodní nádrže na jižní Moravě	Cd, Cr, Pb	3 – 18
	<i>Barbus barbus</i> (Parma obecná)	Dunaj (Maďarsko)	As, Ak, Ag, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Mg, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn, Ti, V, Zn	0,2 – 600		<i>Blicca bjoerkna</i> (Cejnek malý)	Sladkovodní nádrže na jižní Moravě	Cd, Cr, Pb	2 – 17
	<i>Leuciscus cephalus</i> (Jelec tloušť)	Ruhr (Německo)	Cd, Pb	400 – 2700		<i>Phalacrocorax carbo</i> (Kormorán velký)	Morava	Cd, Pb	2 – 4
<i>M. hirudinaceus</i>	<i>Sus scrofa f. domestica</i> (Prase domácí)	Jatka, La Paz (Bolívie)	Ba, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Se, Sr	0,4 – 163	<i>M. wagneri</i>	<i>Tinca tinca</i> (Lín obecný)	Ruhr (Německo)	Cd, Pb	1 – 150

(Sures, 2004)

## 4 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat review, zaměřeného na antioxidační enzymy parazitických helmintů a jak tyto antioxidanty působí na oxidační stres hostitelského organismu. Zároveň vysvětlit, jak parazité působí na samotný imunitní systém hostitele. A jakým způsobem a do jaké míry přispívají k detoxifikaci těžkých kovů z těla hostitele.

Lze konstatovat, že u parazitických helmintů došlo k různému vývoji antioxidační enzymatické aktivity. Ta může zřejmě sloužit jako obrana proti imunitnímu systému hostitelského organismu, ale i jako obrana proti volným radikálům a s tím souvisejícím vylučováním toxických prvků.

Studie provedená na dvou střevních parazitech (*N. brasiliensis* a *N. dubius*) hlodavců prokázala, že tyto dva druhy mají rozlišnou enzymatickou antioxidační aktivitu. *N. brasiliensis* ve střevě hostitele vydrželi pouhých 10 – 12 dní od nákazy, oproti tomu jedinci *N. dubius* přežili v těle hostitele až po dobu jednoho měsíce. Vysvětlením je fakt, že jedinci *N. dubius* produkovali až dvojnásobné množství SOD a až čtyřnásobné množství CAT.

Většina těžkých kovů výrazně snižuje aktivitu antioxidantů (jako např. SOD, CAT a redukovaný glutation), což má negativní dopad na organismus vystavený vyšším koncentracím kovů. Avšak na řadě studií bylo prokázáno, že některé druhy helmintů výrazně přispívají k detoxifikaci organismu od těžkých kovů – pomocí bioakumulace kovů ve vlastním těle. Ukázalo se, že nejslibnějšími skupinami v bioakumulačních vlastnostech jsou zástupci tasemnic a vrtejšů. Důkazem toho je *M. hirudinaceus*, Vstejš velký, v jehož těle byly naměřeny koncentrace těžkých kovů až 160 krát větší než u hostitelského organismu.

## 5 Použitá literatura

- Adachi, T., Marklund, S. L. 1989. Interactions between human extracellular superoxide dismutase C and sulfated polysaccharides. *Journal of Biological Chemistry*. 264 (15). 8537-8541.
- Akintunde, J. K., Oboh, G. 2015. Depletion of cellular adenosine triphosphate and hepatocellular damage in rat after subchronic exposure to leachate from anthropogenic recycling site. *Human & experimental toxicology*. 34(11). 1083-1095.
- Alger, H. M., Sayed, A. A., Stadecker, M. J., Williams, D. L. 2002. Molecular and enzymatic characterisation of *Schistosoma mansoni* thioredoxin. *International Journal for Parasitology*. 32 (10). 1285-1292.
- Bąska, P., Zawistowska-Deniziak, A., Zdziarska, A., Wasyl, K., Wiśniewski, M., Cywińska, A., Klockiewicz, M., Januszkiewicz, K., Wędrychowicz, H. 2013. Fasciola hepatica — the pilot study of in vitro assessing immune response against native and recombinant antigens of the fluke. *Acta Parasitologica*. 58(4). 453-461.
- Bass, D. A., Szejda, P. 1979. Mechanisms of killing of newborn larvae of *Trichinella spiralis* by neutrophils and eosinophils: killing by generators of hydrogen peroxide in vitro. *Journal of Clinical Investigation*. 64 (6). 1558-1564.
- Bergendi, L., Beneš, L., Ďuračková, Z., Ferenčík, M. 1999. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sciences*. 65 (18). 1865-1874.
- Betteridge, D. J. 2000. What is Oxidative Stress?. *Metabolism*. 49 (2). 3-8.
- Bettger, W. J. 1993. Zinc and selenium, site-specific versus general antioxidation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 71 (9). 721-724.
- Brigelius-Flohé, R. 1999. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radical Biology and Medicine*. 27 (9). 951-965.
- Brigelius-Flohé, R., Aumann, K. D., Blöcker, H., Gross, G., Kiess, M., Klöppel, K. D., Maiorino, M., Roveri, A., Schuckelt, R., Ursini, F., Wingender, E., Flohé, L. 1994. Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase – genomic DNA, cDNA, and deduced amino acid sequence. *Journal of Biological Chemistry*. 269 (10). 7342-7348.

- Cadenas, E., Davies, K. J. A. 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*. 29 (3). 222-230.
- Callahan, H. L., Crouch, R. K., James, E. R. 1988. Helminth anti-oxidant enzymes: a protective mechanism against host oxidants?. *Parasitology Today*. 4 (8). 218-225.
- Campos, É. G., Hermes-Lima, M., Smith, J. M., Prichard, R. K. 1999. Characterisation of *Fasciola hepatica* cytochrome c peroxidase as an enzyme with potential antioxidant activity in vitro. *International Journal for Parasitology*. 29 (5). 655-662.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R. L. 1997. Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. *Free Radical Biology and Medicine*. 22 (5). 749-760.
- Casalino, E., Calzaretti, G., Sblano, C., Landriscina, C. 2002. Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. *Toxicology*. 179 (1). 37-50.
- Czeczot, H., Skrzycki, M., Majewska, M., Podsiad, M., Salamatin, R., Grytner-Zięcina, B. 2012. Enzymatic antioxidant system in the cestode *Hymenolepis diminuta* after chronic infection of the rat. *Open Life Sciences*. 7 (6). 987-995.
- Dautremepuits, C. 2002. Antioxidant response modulated by copper in healthy or parasitized carp (*Cyprinus carpio* L.) by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1573 (1). 4-8.
- Del Razo, L. M., García-Vargas, G. G., Albores, A., Vargas, H., Gonsebatt, M. E., Montero, R., Ostrosky-Wegman, P., Kelsh, M., Cebrián, M. E. 1997. Altered profile of urinary arsenic metabolites in adults with chronic arsenicism. *Archives of Toxicology*. 71 (4). 211-217.
- Dranoff, G. 2004. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 4 (1). 11-22.
- Drzik, J. M., 2006. Molecules released by helminth parasites involved in host colonization. *Acta Biochimica Polonica*. 53 (1). 33-64.
- Duffus, J. H. 2002. "Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. 74 (5). 793-807.

- Edwards, P. E., Zhang, X., Frauwirth, K. A., Mosser, D. M. 2006. Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations. *Journal of leukocyte biology*. 80 (6). 1298-1307.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., Aykin-Burns, N. 2001. Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal induced Oxidative Damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 1 (6). 529-539.
- Falnoga, I., Stibilj, V., Tušek-Žnidarič, M., Šlejkovec, Z., Mazej, D., Jačimović, R., Ščančar, J. 2000. Effect of arsenic trioxide on metallothionein and its conversion to different arsenic metabolites in hen liver. *Biological trace element research*. 78 (1). 241-254.
- Fang, Y. Z., Yang, S., Wu, G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 18 (10). 872-879.
- Ferenčík, M., Rovenský, J., Shoenfeld, Y., Mařha, V. 2005. *Imunitní systém: Informace pro každého*. Grada. Praha. 236 s. ISBN 80-247-1196-6.
- Fowler, B. A. (ed.). 1983. *Biological and environmental effects of arsenic*. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam. p. 280. ISBN: 0-444-41597-1/0-444-80513-3.
- Gaurav, D., Preet, S., Dua, K. K. 2010. Chronic cadmium toxicity in rats: treatment with combined administration of vitamins, amino acids, antioxidants and essential metals. *Journal of Food and Drug Analysis*. 18 (6). 464-470.
- Greguška, O. 1997. Kyslíkové radikály, oxid dusnatý a antioxidačný systém v klboch postihnutých zápalom. *Rheumatologia*. 11 (3). 161-166.
- Havelková, A. 2006. Oxidační stres, lidské choroby a biomarkery. *Bioprospect: Bulletin Biotechnologických společností v České republice a Slovenské republice*. 16 (3). 24-25.
- Henkle-Dührsen, K., Kampkötter, A. 2001. Antioxidant enzyme families in parasitic nematodes. *Molecular and biochemical parasitology*. 114 (2). 129-142.
- Henkle-Dührsen, K., Tawe, W., Warnecke, C., Walter, D. 1995. Characterization of the manganese superoxide dismutase cDNA and gene from the human parasite *Onchocerca volvulus*. *Biochemical Journal*. 308 (2). 441-446.

- Hensley, K., Benaksas, E. J., Bolli, R., Comp, P., Grammas, P., Hamdheydari, L., Mou, S., Pye, Q. N., Stoddard, M. F., Wallis, G., Williamson, K. S., West, M., Wechter, W. J., Floyd, R. A. 2004. New perspectives on vitamin E:  $\gamma$ -tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*. 36 (1). 1-15.
- Hewitson, J. P., Grainger, J. R., Maizels, R. M. 2009. Helminth immunoregulation: The role of parasite secreted proteins in modulating host immunity. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 167 (1). 1-11.
- Horáková, B., Čadková, Z., Száková, J., Jankovská, I. 2016. The identification of risk and essential elements along the strobila of the rat tapeworm *Hymenolepis diminuta*. *Journal of Helminthology*. 2016 (90). 1-6.
- Hořejší, V., Barůňková, J., 2009. *Základy imunologie*. Triton. Praha. 316 s. ISBN: 978-80-7387-280-9.
- Chelikani, P., Fita, I., Loewen, P. C. 2004. Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 61 (2). 192-208.
- Chiumiento, L., Bruschi, F. 2009. Enzymatic antioxidant systems in helminth parasites. *Parasitology research*. 105 (3). 593-603.
- Jílek, P. 2008. *Základy imunologie*. Anyway. Praha. 79 s. ISBN: 978-80-254-2422-3.
- Jílek, P. 2014. *Imunologie: stručně, jasně, přehledně*. Grada. Praha. 96 s. ISBN: 978-80-247-4822-1.
- Khlebnikov, A. I., Schepetkin, I. A., Domina, N. G., Kirpotina, L. N., Quinn, M. T. 2007. Improved quantitative structure–activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 15 (4). 1749-1770.
- Kim, T. S., Jung, Y., Na, B. K., Kim, K. S., Chung, P. R. 2000. Molecular Cloning and Expression of Cu/Zn-Containing Superoxide Dismutase from *Fasciola hepatica*. *Infection and Immunity*. 68 (7). 3941-3948.
- Klatt, P., Lamas, S. 2000. Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress. *European journal of biochemistry*. 267 (16). 4928-4944.

- Kokešová, A. 2009. Imunomodulační účinky probiotik v klinické praxi. *Pediatric pro praxi*. 10 (3). 169-174.
- Kopecký, J., Kopecký O., 2009. NK buňky, chemokiny a chemokinové receptory. *Klin Onkol*. 23 (1). 5-9.
- Liebau, E., Eckelt, V. H. O., Wildenburg, G., Teesdale-Spittle, P., Brophy, P. M., Walter, R. D., Henkle-Dührsen, K. 1997. Structural and functional analysis of a glutathione S-transferase from *Ascaris suum*. *Biochemical Journal*. 324 (2). 659-666.
- Liebau, E., Eschbach, M. -L., Tawe, W., Sommer, A., Fischer, P., Walter, R. D., Henkle-Dührsen, K. 2000. Identification of a stress-responsive *Onchocerca volvulus* glutathione S-transferase (Ov-GST-3) by RT-PCR differential display. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 109 (2). 101-110.
- Liu, J., Cheng, M. L., Yang, Q., Shan, K. R., Shen, J., Zhou, Y., Zhang, X., Dill, A. L., Waalkes, M. P. 2007. Blood metallothionein transcript as a biomarker for metal sensitivity: low blood metallothionein transcripts in arsenicosis patients from Guizhou, China. *Environmental health perspectives*. 115 (7). 1101-1106 .
- Lyn, P. 2006. Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative Medicine Review*. 11 (2). 114-127.
- Maizels, R. M., Yazdanbakhsh, M. 2003. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nature Reviews Immunology*. 3 (9). 733-744.
- McKay, D. M. 2010. The immune response to and immunomodulation by *Hymenolepis diminuta*. *Parasitology*. 137 (3). 385-394.
- Medzhitov, R., Janeway, C. A. 1997. Innate Immunity: The Virtues of a Nonclonal System of Recognition. *Cell*. 91 (3). 295-298.
- Miller, D. M., Buettner, G. R., Aust, S. D., 1990. Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radical Biology and Medicine*. 8(1). 95-108
- Mkoji, G. M., Smith, J. M., Prichard, R. K. 1988. Antioxidant systems in *Schistosoma mansoni*: Correlation between susceptibility to oxidant killing and the levels of scavengers of



- hydrogen peroxide and oxygen free radicals. *International Journal for Parasitology*. 18 (5). 661-666.
- Mosser, D. M., Edwards, J.P. 2008. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature reviews immunology*. 8 (12). 958-969.
- Mortensen, A., Skibsted, L. H., Truscott, T. G. 2001. The Interaction of Dietary Carotenoids with Radical Species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 385 (1). 13-19.
- Oliveira, P. L., Oliveira, M. F. 2002. Vampires, Pasteur and reactive oxygen species. *FEBS Letters*. 525 (1-3). 3-6.
- Pastor, N., Weinstein, H., Jamison, E., Brenowitz, M. 2000. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *Journal of Molecular Biology*. 304 (1). 55-68.
- Patra, R. C., Rautray, A. K., Swarup, D. 2011. Oxidative Stress in Lead and Cadmium Toxicity and Its Amelioration. *Veterinary Medicine International*. 2011 (2011). 1-9.
- Peón, A. N., Espinoza-Jiménez, A., Terrazas, L. I. 2012. Immunoregulation by *Taenia crassiceps* and its antigens. *BioMed research international*. 2013 (2013). 1-13.
- Pláteník, J. 2009. Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. *Interní medicína pro praxi*. 11 (1). 30-33.
- Poulin, R. 1999. The functional importance of parasites in animal communities: many roles at many levels?. *International Journal for Parasitology*. 29 (6). 903-914.
- Pryor, W. A. 2000. Vitamin E and heart disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 28 (1). 141-164.
- Radovanović, T. B., Prokić, M. D., Gavrić, J. P., Despotović, S. G., Gavrilović, B. R., Borković-Mitić, S. S., Pavlović, S. Z., Saičić, Z. S. 2015. Glutathione-dependent enzyme activities and concentrations of glutathione, vitamin E and sulfhydryl groups in barbel (*Barbus barbus*) and its intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Ecological Indicators*. 2015 (54). 31-38.

- Rahimi, R., Nikfar, S., Larijani, B., Abdollahi, M. 2005. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 59 (7). 365-373.
- Rahman, K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*. 2 (2). 219-236.
- Rehman, Z. U., Knight, J. S., Koolaard, J., Simpson, H. V., Pernthaner, A. 2015. Immunomodulatory effects of adult *Haemonchus contortus* excretory/secretory products on human monocyte-derived dendritic cells. *Parasite Immunology*. 37 (12). 657-669.
- Rhee, S. G., Kang, S. W., Netto, L. E., Seo, M. S., Stadtman, E. R. 1999. A family of novel peroxidases, peroxiredoxins. *BioFactors*. 10 (2-3). 207-209.
- Rhoads, M. L. 1983. *Trichinella spiralis*: Identification and purification of superoxide dismutase. *Experimental Parasitology*. 56 (1). 41-54.
- Salvatore, L. 1995. Biochemical analysis of recombinant glutathione S-transferase of *Fasciola hepatica*. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 69 (2). 281-288.
- Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., Ancos, B., Plaza, L., Olmedilla, B., Granado, F., Martín, A. 2003. Effect of orange juice intake on vitamin C concentrations and biomarkers of antioxidant status in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 78 (3). 454-460.
- Sayed, A. A., Williams, D. L. 2004. Biochemical Characterization of 2-Cys Peroxiredoxins from *Schistosoma mansoni*. *Journal of Biological Chemistry*. 279 (25). 26159-26166.
- Selkirk, M. E., Smith, V. P., Thomas, G. R., Gounaris, K. 1998. Resistance of filarial nematode parasites to oxidative stress. *International Journal for Parasitology*. 28 (9). 1315-1332.
- Selkirk, M. E., Smith, V. P., Thomas, G. R., Gounaris, K. 1998. Resistance of filarial nematode parasites to oxidative stress. *International Journal for Parasitology*. 28 (9). 1315-1332.
- Seo, M. S., Kang, S. W., Kim, K., Baines, I. C., Lee, T. H., Rhee, S. G. 2000. Identification of a New Type of Mammalian Peroxiredoxin That Forms an Intramolecular Disulfide as a Reaction Intermediate. *Journal of Biological Chemistry*. 275 (27). 20346-20354.

- Sharma, B., Singh, S., Siddiqi, N. J. 2014. In: Jaeschke, H. (ed.) Biomedical Implications of Heavy Metals Induced Imbalances in Redox Systems. BioMed Research International. 2014 (2014). 1-26.
- Shuker, K. 2001. The hidden powers of animals: uncovering the secrets of nature. Readers Digests. Pleasantville. p. 240. ISBN: 1-84028-526-5 / 0-7621-0328-0.
- Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P. E., Williams, R. J., Cadenas, E., Rice-Evans, C. 2002. MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of Aging*. 23 (5). 861-880.
- Sies, H., Stahl, W., Sevanian, A. 2005. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *The Journal of nutrition*. 135 (5). 969-972.
- Skrzycki, M., Majewska, M., Podsiad, M., Czczot, H., Salamatin, R., Twarowska, J., Grytner-Zięcina, B. 2011. *Hymenolepis diminuta*: Experimental studies on the antioxidant system with short and long term infection periods in the rats. *Experimental Parasitology*. 129 (2). 158-163.
- Smith, N. C., Bryant, C. 1989. The effect of antioxidants on the rejection of *Nippostrongylus brasiliensis*. *Parasite Immunology*. 11 (2). 161-167.
- Sorci, G., Faivre, B. 2009. Inflammation and oxidative stress in vertebrate host-parasite systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 364 (1513). 71-83.
- Stahl, W., Sies, H. 2003. Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*. 24 (6). 345-351.
- Storz, G., Imlay, J. A. 1999. Oxidative stress. *Current opinion in microbiology*. 2 (2). 188- 194.
- Sures, B. 2004. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. *Trends in parasitology*. 20 (4). 170-177.
- Sures, B., Nachev, M., Selbach, C., Marcogliese, D. J. 2017. Parasite responses to pollution: what we know and where we go in 'Environmental Parasitology'. *Parasites & Vectors*. 10 (1). 1-19.

- Sures, B., Siddall, R. 1999. Pomphorhynchus laevis: The Intestinal Acanthocephalan as a Lead Sink for its Fish Host, Chub (*Leuciscus cephalus*). *Experimental Parasitology*. 93 (2). 66-72.
- Šterzl, I., Holub, M., Kamínková, E., Čechová, D., Marečková, H., Tlaskalová, H., Říhová, B., Humlová, Z., Malíčková, K., Petanová, J. 2005. *Základy imunologie pro zubní a všeobecné lékaře*. Karolinum. Praha. 208 s. ISBN: 9788024609720.
- Taiwo, F. A., Brophy, P. M., Pritchard, D. I., Brown, A., Wardlaw, A., Patterson, L. H. 1999. Cu/Zn superoxide dismutase in excretory-secretory products of the human hookworm *Necator americanus*. An electron paramagnetic spectrometry study. *European Journal of Biochemistry*. 264 (2). 434-438.
- Toman, M. 2009. *Veterinární imunologie*. Grada. Praha. 392 s. ISBN: 978-80-247-2464-5.
- Tsuji, N., Kasuga-Aoki, H., Isobe, T., Yoshihara, S. 2000. Cloning and characterisation of a peroxiredoxin from the swine roundworm *Ascaris suum*. *International Journal for Parasitology*. 30 (2). 125-128.
- Ursini, F., Maiorino, M., Gregolin, C. 1985. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*. 839 (1). 62-70.
- Vahter, M. 1998. Methylation of inorganic arsenic in different mammalian species and population groups. *Science progress*. 82 (1). 69-88.
- Valko, M., Leibfritz, D., Mancel, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 39 (1). 44- 84.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Mancel, J., Izakovic, M., Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160 (1). 1-40.
- Van Rossum, A. J., Jefferies, J. R., Rijsewijk, F. A. M., LaCourse, E. J., Teesdale-Spittle, P., Barrett, J., Tait, A., Brophy, P. M. 2004. Binding of Hematin by a New Class of Glutathione

Transferase from the Blood-Feeding Parasitic Nematode *Haemonchus contortus*. *Infection and Immunity*. 72 (5). 2780-2790.

Velíšek, J. 2002. *Chemie potravin 3*. OSSIS. Tábor. 368 s. ISBN 80-86659-02-X.

Volf, P., Horák, P., Čepička, I., Flegr, J., Lukeš, J., Mikeš, L., Svobodová, M., Vávra, J., Votýpka, J. 2007. *Paraziti a jejich biologie*. TRITON. Praha. 318 s. ISBN: 978-80-7387-008-9.

Waeysens, A., De Vos, M., Laukens, D. 2009. Evidence for a Potential Role of Metallothioneins in Inflammatory Bowel Diseases. *Mediators of Inflammation*. 2009 (2009). 1-9.

Wildenburg, G., Liebau, E., Henkle-Dührsen, K. 1998. *Onchocerca volvulus*: Ultrastructural Localization of Two GlutathioneS-Transferases. *Experimental Parasitology*. 88 (1). 34-42.

Xing, M., Zhao, P., Guo, G., Guo, Y., Zhang, K., Tian, L., He, Y., Chai, H., Zhang, W. 2015. Inflammatory Factor Alterations in the Gastrointestinal Tract of Cocks Overexposed to Arsenic Trioxide. *Biological trace element research*. 167 (2). 288-299.

Zalups, R. K. 2000. Molecular interactions with mercury in the kidney. *Pharmacological Reviews*. 52 (1). 113-144.

## 6 Seznam použitých zkratek

BOMA	hovězí buněčné linie monocytů/makrofágů
BOMAC	hovězí makrofágové buněčné linie
CAT	kataláza
CD4 <sup>+</sup> a CD8 <sup>+</sup>	diferenční skupiny povrchových glykoproteinů u T-lymfocytů
CSF	faktory stimulující kolonie
DDT	dithiothreitol
DMA	kyselina dimethyl-arzinová
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ESP	vylučovacích/sekreční produkty
GPX	glutathion peroxidáza
GSH	glutathion
GST	glutathion-S-transferasa
Ig	imunoglobuliny
IBD	nespecifická střevní zánětlivá onemocnění
IL	interleukiny
INF	interferon
LPS	liposacharid
MHC gp. I	glykoprotein první třídy
MMA	kyselina methyl-arzonová
MT	metalothionein
NOS	syntáza oxidu dusnatého
PRX	peroxiredoxin
RNS	reaktivní dusíkové radikály
ROS	reaktivní kyslíkové radikály
SOD	superoxid dismutáza

TGF	transformující růstový faktor
Th1, Th2	helper lymfocytů
TNF	faktor nádorové nekrózy
TPX	thioredoxin peroxidázy
UV	ultrafialové

## 7 Seznam použitých obrázků a tabulek

Obr. 1: Superoxid.....	6
Obr. 2: Hydroxylový radikál.....	6
Obr. 3: Peroxid vodíku.....	7
Obr. 4: Oxid dusnatý.....	8
Obr. 5: Syntéza oxidu dusnatého – dvoustupňová reakce L-argininu .....	8
Obr. 6: Složky imunitního systému .....	17
Obr. 7: Neutrofil, eozinofil, bazofil .....	19
Obr. 8: NK-buňky .....	19
Obr. 9: Dendritické buňky .....	20
Obr. 10: Mechanismy vzniku oxidačního stresu způsobeného těžkými kovy .....	31
Tab. 1: Stručný popis některých reaktivních forem kyslíku (ROS) .....	5
Tab. 2: Přehled parazitů a jejich taxonomické zařazení .....	26
Tab. 3: Hromadění kovů v parazitech.....	35