

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



## **Povrch těla hlístic**

Bakalářská práce

**Autor práce: Veronika Jurčíková**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.**

© 2014 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Povrch těla hlístic" 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 neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 30. 3. 2015

---

Veronika Jurčíková

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Jaroslavu Vadlejchovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a pomoc při zpracovávání bakalářské práce. Dále patří velké poděkování mé rodině za trpělivost a podporu.

## Souhrn

Má bakalářská práce shrnuje poznatky o povrchových strukturách hlístic se zaměřením na strukturu pro hlístice nejtypičtější – kutikulu. Zaměřila jsem se na bližší poznání nejen struktury, ale i mechanismu vzniku a funkce kutikuly. Jedná se o složitou strukturu, bez které by hlístice nebyla schopna života.

Ke studiu nejrůznějších aspektů biologie hlístic je nejčastěji využívána půdní hlístice *Caenorhabditis elegans*, ať už pro svou jednoduchost či morfologické vlastnosti vhodné pro laboratorní výzkum. Povrchové struktury u hlístic se mohou lišit jak z vizuálního, tak funkčního hlediska. Rozdíly můžeme pozorovat mezi volně žijícími a parazitujícími hlísticemi a taktéž mezidruhově. Diferenciace povrchových struktur pomáhá k popsání jednotlivých druhů, povrchové struktury jsou totiž v mnoha případech taxonomickými znaky skupin.

V práci jsem se zaměřila především na strukturální podobu, funkci a význam kutikuly. Jelikož se struktura kutikuly mění i v průběhu vývoje hlístice, není popis kutikuly zcela jednoduchý. Přesto již máme celkem ucelenou představu o vzniku, změnách a funkci této povrchové vrstvy.

Dále jsem se zaměřila také na jednotlivé povrchové struktury, které mohou mít nejrůznější funkce. Mohou představovat senzorický orgán, pomocný pohybový orgán apod.

V neposlední řadě se v bakalářské práci zmiňuji o epidermis, která velmi úzce souvisí s nad ní ležící kutikulou, tudíž je pro toto téma neopomenutelná.

**Klíčová slova:** Hlístice, larva, kutikula, svlékání, epidermis

# Nematode body surface

## Summary

Nematode surface structures is the central theme of this thesis, focusing on the structure of the typical nematode feature - cuticle. The focus was placed not only on the further knowledge of the structure but also the mechanism of the formation as well as cuticle's function. Being a complex structure, the nematodes would be unable to survive without it.

In delving more deep into the various aspects of the biology of the nematodes, the soil nematode *Caenorhabditis elegans* is the most commonly used, whether for its simplicity and morphological properties suitable for laboratory research. Both the visual and functional aspects of the nematode surface structures may differ, being most commonly observed in wild and parasitic nematodes, as well as in interspecies. Differentiation of the surface structures helps in the description of the species, as in many cases the surface structures are the groups of taxonomic characters.

In this thesis, the aim was directed mainly towards the structural form, function and significance of the cuticle. As the structure of the cuticle also changes throughout the development of the nematode, the cuticle description is not entirely straightforward. Nevertheless, we already have an overall comprehensive idea of the creation, modification and operation of this surface.

Another focal point was the surface structure, as it, itself, can have different functions, representing a sensory organ, being an auxiliary organ for movement etc.

Lastly, the thesis broaches to subject of the epidermis, which is closely connected with the overlying cuticle being, therefore, indispensable to this topic.

**Keywords:** Nematode, larva, cuticle, molting, epidermis

## Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>7</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>8</b>
<b>3 Literární přehled.....</b>	<b>9</b>
<b>3.1 Charakteristika kmene Nematoda.....</b>	<b>9</b>
3.1.1 Taxonomie .....	9
3.1.2 Morfologie .....	11
3.1.2.1 Svalová soustava .....	11
3.1.2.2 Nervová soustava .....	11
3.1.2.3 Trávicí soustava .....	12
3.1.2.4 Vylučovací soustava.....	12
3.1.3 Reprodukce .....	12
3.1.4 Způsob života.....	13
3.1.5 Životní cyklus .....	14
3.1.5.1 Dauer larva .....	14
3.1.6 Modelový organismus.....	15
<b>3.2 Povrch hlístic .....</b>	<b>16</b>
3.2.1 Kutikula .....	16
3.2.1.1 Struktura kutikuly.....	17
3.2.1.2 Vývoj kutikuly .....	18
3.2.1.3 Svlečení kutikuly .....	19
3.2.1.3.1 Letargus .....	20
3.2.1.3.2 Apolýza.....	20
3.2.1.3.3 Ekdyze.....	21
3.2.1.3.4 Řízení svlečení .....	21
3.2.1.4 Látkové složení .....	22
3.2.1.5 Kolagen-genové mutace.....	23
3.2.2 Epidermis .....	25
3.2.3 Povrchové struktury .....	26
<b>4 Závěr .....</b>	<b>29</b>
<b>5 Seznam použité literatury .....</b>	<b>30</b>
<b>6 Přílohy.....</b>	<b>34</b>

# 1 Úvod

Hlístice představují jedny z nejpočetnějších organismů na světě. Popsáno bylo přes 20 000 druhů, avšak velké množství druhů zůstává stále nepoznaných. Nejen z důvodu neprobádanosti jsou hlístice zájmem mnoha vědců. Mají obrovský význam z hlediska vlivu na člověka, ať už v rámci zemědělství, chovu nebo přímého vlivu na člověka jako jsou nejrůznější onemocnění.

Hlístice obývají nejrůznější stanoviště. Od nejsušších míst až po oceány. Jsou to jedny z nejrozšířenějších mnohobuněčných organismů se širokou ekologickou valencí.

Výzkum hlístic probíhá v laboratořích za specifických podmínek vhodných pro tyto organismy. Jako prvním druhem hlístice sloužící pro studium byla škrkavka *Ascaris suum*. Dnes je největším zájmem vědců půdní hlístice *Caenorhabditis elegans*, jejíž jednoduchost umožňuje snadnější genetickou manipulaci, než je tomu u jiných druhů hlístic.

Hlístice mají několik typických fenotypových znaků a struktur. Jedním z nich je kutikula hlístic na povrchu těla. Hlístice se mohou lišit strukturou kutikulárních vrstev, přítomností, absencí, rozmanitostí či funkcí povrchových struktur. Tyto struktury jsou důležitými morfologickými a taxonomickými znaky.

## **2 Cíl práce**

Cílem této bakalářské práce je vypracovat aktuální literární přehled o povrchu těla hlístic, jeho složení, povrchových strukturách a jednotlivých funkcích těchto struktur.



## 3 Literární přehled

### 3.1 Charakteristika kmene Nematoda

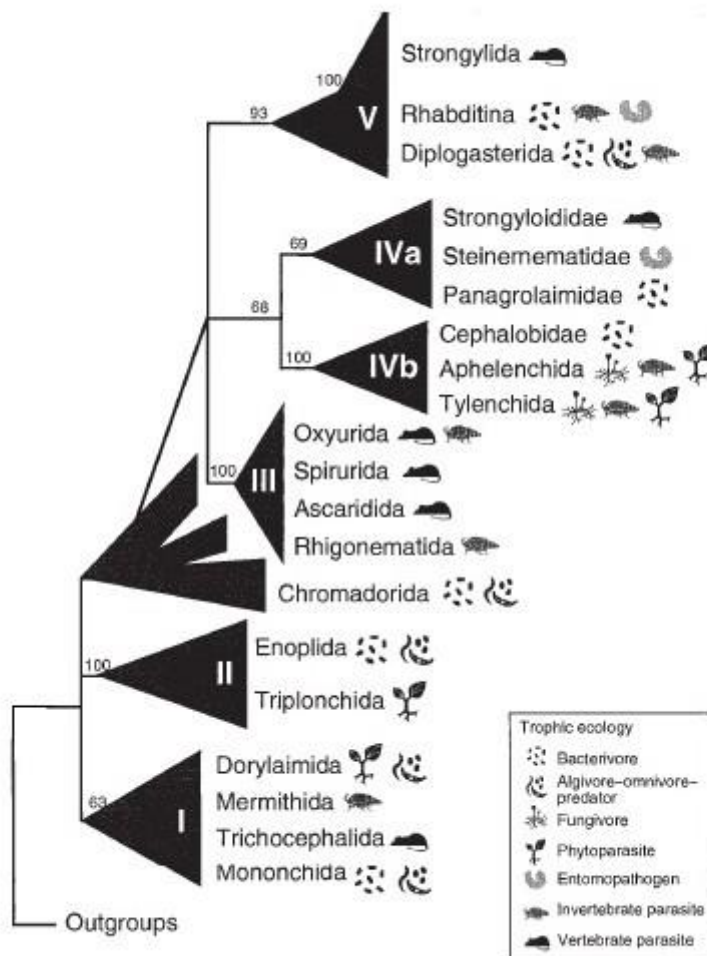
Hlístice jsou různorodý kmen živočichů po stránce biologické i ekologické. Obývají dna oceánů, zamrzlé pustiny a hojně žijí i v půdě, velice často v obrovském množství. Hlístice představují jeden z nejpočetnějších kmenů živočichů. Příkladem může být, že devadesát tisíc hlístic bylo kdysi nalezeno v jednom hniječím jablku a 1074 představitelů tohoto kmene bylo spočítáno v 6,7 ml pobřežního bláta. Bylo popsáno okolo 20 tisíc druhů parazitů obratlovců. Jelikož však hlístice parazitují také na bezobratlých a rostlinách, jejich počet je mnohonásobně větší, nehledě na nespočet ještě nepopsaných druhů. Odhaduje se, že 75% všech druhů hlístic zahrnují hlístice volně žijící v moři, ve sladké vodě a v půdních stanovištích (Kennedy et Harnett, 2001). Většina hlístic jsou malé, nenápadné a zdánlivě nedůležité pro člověka, a proto přitahují pozornost pouze specialistů (Roberts et Janovy, 2009). Hlístice ale nejsou zanedbatelnými živočichy, jedním z nejznámějších a nejdůležitějších rysů tohoto kmene je, že obsahuje velké množství parazitických druhů infikující lidi, domácí zvířata a potravinářské plodiny (Nickle, 1991). Druhové bohatství, ekologická všudypřítomnost a numerická hojnost nejlépe charakterizují kmen hlístice a jejich význam v biologii (Sommer et Ogawa, 2011).

#### 3.1.1 Taxonomie

Fylogenetické vztahy hlístic a zařazení do taxonomického systému jsou předmětem rozsáhlých a dlouhodobých diskuzí. Do této chvíle však nebyl vyřčen definitivní a jednotný výsledek studií. Jelikož mají hlístice špatné fosilní záznamy a vývojové / embryologické údaje jsou nedostatečné, jejich vztah k jiným kmenům je založen z velké části na strukturální charakteristice dospělců (Bush, 2001). Většina odborníků považuje hlístice za samostatný kmen Nemata (=Nematoda) (Nickle, 1991) se dvěma třídami: Enoplea a Chromadorea (Inglis, 1983).

Kmen Nematoda se řadí do skupiny Ecdysozoa, pro kterou je typická přítomnost kutikuly a její svlékání během života daného živočicha. Ecdysozoa podle pořadí zahrnuje dvě skupiny,

Panarthropoda (Tardigrada, Onychophora a Arthropoda) a Cycloneuralia (Nematoda, Nematomorpha, Priapulida, Kinorhyncha and Loricifera). (Blaxter et Koutsovoulos, 2014). Na základě molekulárních a morfologických analýz bylo v nedávné době dokázáno, že hlístice se řadí na sesterskou pozici s kmenem Nematomorpha (Strunovci), je tedy s tímto kmenem v příbuzenském vztahu. Nematoda spolu s Nematomorpha vytváří skupinu živočichů zvanou Nematoida.



Obr. 1: Fylogenetická struktura kmene Nematoda zkoumaná na základě malých podjednotek rRNA (Dorris et al., 1999)

### 3.1.2 Morfologie

Hlístice se vyznačují bilaterální souměrností, jejich tělo je podlouhlé, válcovitého tvaru s kruhovým průřezem a zúžené na obou koncích. Tělní dutinu mají pseudocoelní, udržující tlakem tekutiny vůči kutikule tvar těla. Velikost dospělých hlístic se pohybuje od méně než 1 mm, například v rodu *Caenorhabditis*, do více než 10 m, jako u druhu *Placentanema gigantisma*. Hlístice mají na povrchu těla hypodermis, která tvoří ochrannou bariéru těla. Kromě toho hraje také velice důležitou roli v zajištění přirozené imunity a endokrinní a exokrinní sekreci.

#### 3.1.2.1 Svalová soustava

U hlístice *C. elegans*, svaly tělní stěny působí svou silou na kutikulu, a tím dochází k pohybu hlístice. Ventrální šňůra motorických neuronů inervuje dvě dorzální a dvě ventrální řady 23 svalových buněk, které dávají hlístici schopnost místně a periodicky deformovat její elastickou pokožku, a tím generovat ohybové vlny, které se šíří od hlavy až k ocasu (Lebois et al., 2012). Pohyb hlístic je tedy charakterizován jako vlnivý nebo mrskavý. Mezi svalové buňky a kutikulu je vložena bazální membrána a hypodermální buňky (Francis et Waterston, 1991).

#### 3.1.2.2 Nervová soustava

Nervová soustava hlístic sestává z centrálního, periferního a sympatického systému. U hlístic existují dvě hlavní koncentrace nervových elementů, jeden v oblasti jícnu a jeden v anální oblasti, spojených podélnými nervovými kmeny (Roberts et Janovy, 2009). Jednou z mnoha důležitých součástí nervového systému je obhltnový nervový prstenec. Jelikož jeho umístění je konstantní v rámci jednotlivých druhů, stal se dobrým taxonomickým znakem (Roberts et Janovy, 2009). Dalším taxonomickým znakem je jistě uspořádání sensorických papil na hlavě hlístic. Sensorické orgány hlístic se nazývají sensilly.

### 3.1.2.3 Trávicí soustava

Trávicí systém je u většiny hlístic kompletně vyvinut, ústa jsou umístěna na předním konci těla a konečník v zadní části těla. Ústa jsou obklopena pysky nesoucími smyslové papily (Baron, 1996). Příkladem potravy pro hlístice, které parazitují u zvířat, může být krev, obsah střev aj. Velikost a tvar ústní dutiny se liší mezi jednotlivými druhy a je tedy důležitým taxonomickým znakem (Roberts et Janovy, 2009). Pokračováním trávicí soustavy je hltan se svou svalnatou i žláznatou částí, jehož funkcí je čerpání potravy do střeva, jednoduché střevo a vývod trávicí soustavy, který se však u samic a samců liší. Samice mají pro vyústění trávicí soustavy samostatný anální otvor, kdežto u samců je vývod trávicí soustavy společný s vývodem soustavy pohlavní v místě zvaném kloaka.

### 3.1.2.4 Vylučovací soustava

Vylučovací systém má exkrecně-sekrecní funkci a podílí se také na osmoregulaci. Exkrecní soustava hlístic není jednotná, ale dvě základní buňky tohoto systému jsou přítomny vždy. Jedná se o vylučovací buňku a vylučovací pór. Může se stát, že živočich postrádá vylučovací systém, v tom případě jeho funkci přejímá jiný orgán nebo tkáň. Nickle (1991) jako příklad uvádí hypodermální žlázy, ocasní žlázy nebo prerektum.

### 3.1.3 Reprodukce

Většina hlístic jsou gonochoristé, tedy jedinci odděleného pohlaví, a vykazují značný sexuální dimorfismus. Ten se projevuje rozdílnou velikostí samce a samice. Samicíka dosahuje větších rozměrů těla. Znakem samců je naopak zvlněná část těla, přesněji ocasní části. Sexuální dimorfismus ale není pravidlem, můžeme se setkat i s druhy, u nichž tyto znaky nebudou zřejmé. Jak uvádí Nickle (1991), nejčastěji se se znaky sexuálního dimorfismu setkáváme u parazitických hlístic (především vodních), zřídka však u hlístic volně žijících. Znamé jsou i druhy hermafroditické nebo druhy, které se rozmnožují tzv. partenogenezí. Hermafroditismus je však nejméně běžnou formou reprodukce. Naopak partenogeneze je

druhý nejběžnější způsob rozmnožování, je spojován především s parazitickými hlísticemi. Většina druhů hlístic je oviparních, ale vyskytují se i druhy ovoviviparní a viviparní.

Samičí pohlavní soustavu tvoří ve většině případů dva vaječníky, na které navazují vejcovody, děloha a pochva. Vyústěním pohlavní soustavy samic je vulva. Jelikož však její umístění není u všech druhů hlístic stejné, považujeme její lokaci za jeden z taxonomických znaků. Obecný vzor struktury reprodukčního systému u samic je podobný jako u samců, s výjimkou pohlavního otvoru, který je u samic nezávislý na trávicím systému (Roberts et Janovy, 2009).

Samčí pohlavní soustava se skládá z jednoho varlete, semenného váčku, chámovodu a kopulačních orgánů, kterými jsou spikuly, spikulární váček, telamon a gubernakulum. Struktura spikulů se liší mezi druhy, ale je poměrně konstantní mezi jednotlivci v rámci druhů, velikost a morfologie je jedním z nejvýznamnějších taxonomických znaků (Roberts et Janovy, 2009). Gubernakulum a telamon jsou podpůrné struktury spikul.

#### 3.1.4 Způsob života

Pochopení evolučního původu tohoto kmene a jejich mechanismů, pomocí nichž nachází a napadají své budoucí hostitele a získávají si prostřednictvím nich potravu, přináší důležité poznatky pro nejen základní, ale i lékařské (humánní i veterinární) vědy. Hlístice jsou typické vytvářením vztahu s jinými organismy. Za nejčastější způsob života, jakým hlístice žijí, se dá považovat parazitismus. Čermáková a kol. (2009) definují parazita jako organismus, který po celý svůj život nebo po určité období využívá jiný organismus (hostitele, mezihostitele). Většina suchozemských rostlin a větší zvířata jsou spojeny s alespoň jedním druhem parazitické hlístice, a většina lidské populace má zkušenosti s parazitismem hlístic v průběhu jejich života (Blaxter et Koutsovoulos, 2014).

Mimo parazitismu jsou u hlístic známé i symbiotické vztahy. Behaviorální adaptace pravděpodobně hrály klíčovou roli v umožnění hlísticím využívat různorodosti stanovišť (Lewis et al., 2002).

### 3.1.5 Životní cyklus

Životní cyklus všech hlístic sestává z vajíčka, 4 larválních stádií (L1, L2, L3, L4) a pátého stádia, dospělé, ve kterém se reprodukční a související struktury stanou plně rozvinuté a funkční (Lee, 2002). Po vylíhnutí z vajíčka dochází u hlístic k růstu těla po 4 larvální stádia, oddělená svlékáním kutikuly a vytvářením nové, než dosáhnou dospělosti (Příloha č. 1). U infekčních larev parazitických hlístic dochází k situaci, kdy ke svlečení staré kutikuly nedojde, ale nová kutikula se přesto vytvoří.

Vývoj hlístic může trvat 2-4 dny v závislosti na teplotě (Porta-de-la-Riva et al., 2012) a každé stádium má své charakteristické rysy. Za optimálních růstových podmínek v laboratoři s bohatou nabídkou bakteriálního krmiva, může *C.elegans* dokončit svůj životní cyklus za tři dny při 20 ° C (Sommer et Ogawa, 2011).

#### 3.1.5.1 Dauer larva

Velká ztráta vody představuje pro suchozemská zvířata vážný problém, který má ve většině případů až fatální následky. Některé organismy však mají schopnost tento stres zvládnout. Tomuto mechanismu říkáme anhydrobióza.

Dauer larva je specifická forma životního stádia a má své jedinečné morfologické znaky, díky kterým je odolná vůči špatným environmentálním podmínkám a odlišuje se od ostatních vývojových stádií. Jedná se o uzavřená ústa, přestavěný hltan a silnější kutikulu.

Do Dauer stadia se hlístice dostává z důvodu nedostatku potravy, vysoké teploty aj. K přežití a přizpůsobení těchto podmínek jí pomáhá přestavba pokožky. Kutikula tohoto stadia je nepropustná a mnohem silnější, než je tomu u ostatních larev. Kromě přežití jsou Dauer larvy speciálně přizpůsobeny k přesunu na nová stanoviště, a tím zvyšují šance na nalezení nového zdroje potravy (Sommer et Ogawa, 2011).

Rozhodnutí, zda přejít do stádia Dauer larvy může zásadně ovlivnit kvalitu života, nesprávné rozhodnutí by totiž mohlo způsobit předčasnou smrt nebo menší počet potomstva.

Přechod do klidového stadia se uskutečňuje na základě určitých stimulů, kterými jsou nedostatek potravy, vysoká teplota a vysoká hustota populace. Hlístice přijme signály a přesměruje svůj vývoj do Dauer stadia, kdy nepřijímá potravu. V tomto stavu bez potravy dokáže hlístice vydržet až několik měsíců. Když se podmínky životního prostředí stávají pro hlístici přijatelné, přechází z klidového stadia do dospělosti.

### 3.1.6 Modelový organismus

Jako modelový organismus sloužící k získání co nejkvalitnějších informací se využívala škrkavka *Ascaris suum*. Předpokladem byla zcela jistě velikost tohoto druhu. Díky tomu mohla být prováděna pitva a rozbor tkání (hltanu, podkoží).

Od počátku 70. let je ale ke studiu biologie a genetiky hlístic využíván druh *C. elegans*. Předpokladem jsou jeho klíčové vlastnosti, jako je krátký generační cyklus nebo jednoduchost tohoto druhu. Další výhodou je fakt, že je hlístice průhledná, což vědcům usnadňuje pozorování mnohých vnitřních procesů. *C. elegans* je typickou hlísticí z hlediska chování, vývoje, embryogeneze i struktury. I když se jedná o volně žijící druh, bylo navrženo, aby se stala modelem pro výzkum parazitických druhů. Dnes je genom *C. elegans* jedním z nejmenších a nejintenzivněji studovaných živočišných genomů (Gravato-Nobre et kol., 2011). Genetickými a molekulárně biologickými studii *C. elegans* byly zjištěny důležité principy vývoje, neurobiologie, dlouhověkosti nebo metabolické homeostázy a poskytly základ pro pochopení biologických procesů (Sommer et Ogawa, 2011).

## 3.2 Povrch hlístic

Tělní stěna, která zahrnuje kutikulu, podkoží a somatické svalstvo, je strukturálně proměnná v celém kmeni Nematoda. (Baldwin et Hirschmann, 1974). Extrakutikulární komponenty na vnějším povrchu těla parazitických hlístic se nazývají povrchový plášť neboli glykokalyx (Lin et McClure, 1996). Tato struktura leží nad epikutikulou. Má celkový záporný náboj. V elektronové mikroskopii ji můžeme vidět jako amorfni vrstvu. Glykokalyx dosahuje tloušťky okolo 5 - 30 nm, je bohatý na glykoproteiny a proteiny. Je také charakteristický přítomností sacharidů. Tloušťka a obsah jednotlivých molekul povrchové vrstvy se mění v závislosti na druhu hlístice. Kompozici povrchu těla může také změnit interakce hlístice s hostitelem. Povrch těla má v tomto vztahu nenahraditelnou roli, představuje pro hlístici ochranu před imunitním systémem hostitele. Původ povrchového pláště není stále ještě přesvědčivě vysvětlen. Někteří vědci předpokládali, že povrchový plášť pochází z produktů uvolněných z vylučovacích pórů (Spiegel et McClure, 1995). Jiná teorie poukazuje na možný vznik povrchového pláště přes transkutikulární dráhu, kdy transport mohou usnadňovat kutikulární póry (Lee, 2002).

### 3.2.1 Kutikula

Všechny hlístice mají na povrchu těla mnohvrstevnou strukturu zvanou kutikula, která má zásadní význam pro jejich rozvoj a přežití (Page et kol., 2014).

Cox et kol. (1981) popisují kutikulu na volně žijící půdní hlístici *C. elegans* jako vícevrstevnou extracelulární strukturu, která zcela, s výjimkou malých otvorů do hltanu, řitního otvoru, vylučovacích pórů a vulvy obklopuje živočicha.

Kutikula hlístic je velmi flexibilní a odolný exoskeleton, který představuje nepropustné rozhraní mezi hlísticí a vnějším prostředím (Page et Johnstone, 2007; Perry et Wharton, 2011). Tato několikavrstevná dynamická struktura živočicha nejen chrání a udržuje tvar jeho těla, ale poskytuje mu možnost pohybu, zajišťuje interakci mezi jedincem a hostitelským organismem a zprostředkovává výměnu látek, a tím příjem potravy pro hlístice. U parazitických druhů hlístic představuje kutikula ochranu před imunitním útokem hostitele



(Blaxter, 1993), u hlístic volně žijících ochranu před nejrůznějšími predátory. Předpokládá se, že kutikula neumožňuje živočichům růst těla, proto v určitých životních fázích dochází k jejímu svlékání. I přesto, že ze strukturálního hlediska je tato struktura robustní a inertní, dochází k průchodu malých sloučenin přes její povrch. Tvorba kutikuly a její svlékání jsou rozhodující pro vývoj hlístic (Kim et al., 2010).

Kutikula se zakládá z hypodermis, která rovněž zajišťuje sekreci jak kutikule externí, tak i interní. Základní struktura, syntéza a složení tohoto exoskeletonu je relativně konzervativní v celém kmeni Nematoda (Kennedy et Harnett, 2001).

### 3.2.1.1 Struktura kutikuly

Roberts et Janovy (2009) kutikulu rozdělují na 3 oblasti, a to kortikální, mediální a bazální zónu. Přejechy jednotlivých zón mohou být často obtížně specifikovatelné. Každá vrstva má svou speciální funkci a odůvodnění. (Příloha č. 2)

Toto třívrstvé uspořádání se vyskytuje ve třech hlavních ekologických skupinách hlístic, zejména v těch, které parazitují u zvířat nebo rostlin, u jejich infekčních larev, a u volně žijících hlístic (Bird, 1971). Jsou však známy i druhy hlístic, které mají pouze dvě hlavní kutikulární vrstvy, kortikální a bazální.

Kutikulární vrstvy se liší rozpustností v sulfhydrylových redukčních činidlech, náchylností k různým proteolytickým enzymům a ve složení aminokyselin (Cox et kol., 1981). Struktura a tloušťka kutikuly se liší mezi druhy hlístic a často také mezi vývojovými stádii stejného druhu (Reddigari et al., 1985). Variabilita v tloušťce kutikuly je pravděpodobně částečně ovlivněna velikostí těla dospělých forem hlístic.

Epikutikulu označovanou jako trilaminární vrstva nalezneme nad kortikální zónou, je bohatá na lipidy a její tloušťka se pohybuje okolo 20 nm. Jedná se o nejvzdálenější vrstvu kutikuly ležící pod povrchovým pláštěm.

Kortikální zónu můžeme rozdělit na vnější trilaminární vrstvu o tloušťce asi 400 nm a vnitřní granulózní vrstvu o tloušťce 300 - 320 nm. V této vrstvě se vyskytuje kutikulín.

Kutikulární mediální zóna (matrix), 400 - 600 nm silná, je jemně vláknitá, s vlákny uspořádanými po obvodu, pravděpodobně spirálovitě (Nicholas et Stewart, 1997).

Bazální zóna, asi 160 nm silná, obsahuje vlákna převážně radiální. Všechny tři vrstvy bazální zóny jsou tvořeny vlákny obsahujícími kolagen. Vlákněné vrstvy jsou důležité součástí hydrostatické kostry u větších hlístic (Roberts et Janovy, 2009). Bazální zóna se upíná stejnojmennou membránou k podkoží.

Přítomnost různých vrstev různé tloušťky je závislá na stupni a druhu analyzované hlístice; například, mediální vrstva se vzpěrami je u *C. elegans* k dispozici pouze v dospělosti (Kennedy et Harnett, 2001).

Reddigari et al. (1985) při svém pozorování popsali rozdíl v morfologii kutikuly dvou vývojových stádií: Kutikula druhého vývojového stadia (L2) byla viděna jako tří pásmová struktura skládající se z vnější elektron-husté kortikální zóny, čirého středního pásma se vzpěrami a pruhované bazální vláknité zóny. Nad kortikální zónou ležela třívrstvá epikutikula. Kutikula dospělé hlístice měla dvě primární zóny - kortikální a bazální. Nad kortikální zónou ležela elektron-hustá epikutikula. Kortikální zóna, která nebyla jasně rozeznatelná, byla rozmanitě tloušťky a obsahovala síť z tenkých vláken zřejmě prostupující od bazální zóny, která v kutikule dospělé hlístice převládala (Reddigari et al, 1986).

Page a Johnstone (2007) rozdělují kutikulu hlístice na širokou hřbetní a břišní část pokrývající hřbetní a ventrální podkoží a na úzké boční části zvané cervikální křídélka (alae). Tyto podélné struktury se liší od ostatních částí pokožky jednak směsí proteinů, jednak ultrastrukturou.

### 3.2.1.2 Vývoj kutikuly

Kutikula je syntetizována a vylučována podkladovými epiteliálními buňkami, převážně podkožím, ale také specializovanými epitelovými buňkami, které lemují otvory hltanu, vulvy,

konečníku a vylučovacích pórů (Fritz et Behm, 2009). Prvním krokem při tvorbě nové kutikuly, je syntéza epikutikuly. V průběhu syntézy kutikuly je materiál vylučován z apikální membrány podkoží a poté polymeruje na vnějším povrchu membrány, kde zůstává v těsném kontaktu jako zralá kutikula (McMahon et al., 2003).

Kutikula se syntetizuje na konci embryogeneze a na konci každého larválního stádia před svlékáním. S výjimkou prvního kola syntézy kutikuly, dochází k syntéze pod stávající kutikulou a vyžaduje její posunutí z povrchu membrány před, nebo souběžně se sekrecí a polymerací nové kutikuly (McMahon et al., 2003). Kutikula v jednotlivých vývojových stádiích hlístic není totožná, liší se od sebe navzájem strukturálně i chemicky. Vznik a vývoj kutikuly je podmíněn více než 150 kolagenními geny.

Embryonální plášť podobný svou ultrastrukturou epikutikule, může být předchůdcem epikutikuly z vývojové fáze L1 (Chisholm et Xu, 2012).

### 3.2.1.3 Svlékání kutikuly

Svlékání, tedy pravidelné zbavování se a resyntéza kutikuly k přizpůsobení růstu těla je hlavním rysem životního cyklu hlístice (Chisholm et Xu, 2012).

Svlékání označuje proces, kdy je kutikula z předchozí fáze nahrazována kutikulou novou, pro živočicha přijatelnější v ohledu na rostoucí velikost jeho těla. Z toho vyplývá, že ke svlékání kutikuly dochází pouze do dosažení dospělosti. V dospělosti již díky neměnné velikosti těla u hlístic ke svlékání nedochází.

Kutikula je syntetizována celkem pětkrát během životního cyklu hlístic, poprvé v průběhu pozdní embryogeneze, a následně na konci každého larválního stádia před svlékáním (Roberts et Janovy, 2009).

Svlékání není považováno za striktně hypodermální jev. Důležitá je především koordinace chování zvířete, dostatečný vývoj tkání a synchronizace se svrhováním a vytvářením nové kutikuly. Různé druhy hlístic podstupují svlékání v různých časových intervalech a v reakci

na různé aktivační události v oblasti jejich životního prostředí (Lee, 2002). K procesu svlékání dochází vždy po deseti hodinách a jedno svlékání trvá přibližně 2 hodiny (Lee, 2002).

Nickle (1991) dodává, že je jediný druh hlístice, u kterého v dospělosti dochází ke svlékání. Je to druh *Deladenus siricidicola*. Nejedná se však o pravé svlékání, ale spíše o jakýsi druh adaptace tohoto živočicha.

Svlékání kutikuly je rozděleno do těchto tří fází: letargus, apolýza a ekdyze. Ve fázi letargu dochází k poklesu činnosti obecně, zmínit lze například krmení. Následuje oddělení staré kutikuly, která definuje apolýzu. Odvržení staré kutikuly a syntéza nové během fáze ekdyze dokončuje proces svlékání hlístice.

#### 3.2.1.3.1 Letargus

První fáze svlékání zvaná letargus je chvíle, kdy je odlupována stará kutikula z podkoží. K tomu dochází v místě mezi epidermis a starou kutikulou. K oddělení staré kutikuly od epidermis je nezbytné zrušení spojení mezi epidermis a kutikulárním matrix. Toto spojení by mohlo být přerušeno mnohými mechanismy, z nichž je možné jmenovat např. změnu složení kutikuly nebo snížení komplexu receptor-ligand. Letargus je charakteristický především dobou nečinnosti. Nečinnost je přímým důsledkem změn ve struktuře svaloviny a její funkce (Kennedy et Harnett, 2001).

#### 3.2.1.3.2 Apolýza

Druhá fáze s názvem apolýza zahrnuje oddělení staré kutikuly. Hlístice se v této fázi rychle otáčí kolem své podélné osy, což napomáhá uvolnění staré kutikuly. Nová kutikula vzniká z vnějšíku na buněčné membráně podkoží a představuje tak skutečný extracelulární matrix (Kennedy et Harnett, 2001). Jako první při syntéze kutikuly vznikají epikutikulární a kortikulární vrstvy. (Page et kol., 2014) prokázali, že oxidační stav disulfidových vazeb v kutikule hlístic je klíčovým prvkem v tomto procesu.

### 3.2.1.3.3 Ekdyze

V poslední fázi zvané ekdyze dochází, jak už bylo řečeno, ke svléknutí staré kutikuly. Dochází k zpřetrhání posledních vazeb mezi novou a starou kutikulou. Bezprostředně před svlékáním dochází k pohybu hltau a žlázové sekrety, převážně složené z proteáz, jsou uvolněny na pomoc odstranění staré pokožky (Kennedy et Harnett, 2001). Proteiny hlístic, jako je MLT-10, jsou nezbytné pro syntézu kutikuly a následné svlékání. V této fázi můžeme pozorovat specifické chování hlístic, jako je jejich rotace či kontrakce těla. Spojení staré kutikuly je přerušeno v tzv. fázi „spánku“ hlístice. Hlístice se aktivně pohybuje a dochází k protržení přední špičky kutikuly a k jejímu natrávení. Správnému natrávení napomáhá protein NAS-37. Proces svlékání je tímto u konce a hlístici je umožněno opustit starou kutikulu.

### 3.2.1.3.4 Řízení svlékání

Cysteinové proteázy hlístic (jako serinové proteázy, metalloproteázy a asparagové proteázy) mají potenciální roli v degradaci staré kutikuly, odbourávání kutikulárních bílkovin a aktivaci enzymů svlékání zpracováním svých proenzymů (Page et al., 2014). U *C. elegans* byly nalezeny cathepsin-L cysteinové proteázy (Ce-CPL-1). Jejich exprese je nejvyšší cca 4 hodiny před začátkem procesu svlékání, dá se tedy předpokládat, že mají vliv na odlupování staré kutikuly v první fázi svlékání. Page a al. (2014) dodávají, že by mohly být zapojeny do post-embryonálního vývoje prostřednictvím degradace povrchových struktur vajíček a kutikulárních proteinů.

Svlékání kutikuly vyžaduje cholesterol, biosyntézu předchůdců všech steroidních hormonů, jakož i nízkou hustotou lipoproteinového receptoru (LDL) (Frand et al., 2005).

Celkové načasování a koordinace je pravděpodobně pod kontrolou dosud neznámých endokrinních steroidních hormonů působících přes epidermální jaderné hormonální receptory, které zahrnují NHR-23 a NHR-25 (Chisholm et Xu, 2012). NAS-37 a NAS-36, dva geny, které jsou zásadní pro svlékání, jsou pravděpodobně zodpovědné za degradaci kutikuly před samotným svlékáním nebo mohou regulovat vznik nové kutikuly zpracováním zvláštních

prekurzorů proteinů extracelulárního matrix (Frand et al., 2005). NAS-36 a NAS-37 ale také kódují enzymy, kvůli kterým v případě, že zmutují, dochází k vadám spojených se svlékáním kutikuly, konkrétně je to neschopnost odstranit předchozí kutikulu.

Hyp7 je velká post-mitotická syncytiální buňka hypodermálního původu, která pokrývá tělo hlístice, syntetizuje a vylučuje kutikulu a je základem kolagenní kutikuly (Page et Johnstone, 2007). Tato buňka se tedy svou činností zapojuje do procesu svlékání. Její funkcí je zabezpečení tvorby nové kutikuly.

Řada enzymů se podílí na svlékání staré kutikuly a remodelačním procesu, jehož výsledkem je vývoj nové pokožky (Ford a kol., 2005).

Mnoho genů zapříčiňujících svlékání, které jsou zachovány u parazitických hlístic je zodpovědných za lidské nemoci, a představují tak atraktivní cíle pro pesticidy a farmaceutický vývoj (Frاند et al., 2005).

I když se jedná o poměrně často zkoumaný jev, nelze říci, že by byl proces svlékání kutikuly úplně jasný. Existují totiž dva rozdílné názory na to, jaké vrstvy jsou doopravdy svlékány. První teorie uvádí, že dochází ke svlékání kutikuly se všemi jejími vrstvami. Druhá však popisuje svlékání pouze epikutikuly, ostatní vrstvy se rozpouštějí.

#### 3.2.1.4 Látkové složení

Kutikula hlístic je bohatá na kolageny, lipidy i glykoproteiny. Všechny tyto extracelulární struktury hrají důležitou roli při integritě zvířete a jeho interakci s prostředím (Chisholm et Xu, 2012). Kutikulou nemyslíme tvrdý a nepřizpůsobivý obal organismu, kutikula naopak pracuje na bázi korelace se svalovým tonem a hydrostatickou kostrou.

Jedná se o vysoce strukturovaný extracelulární matrix (ECM), který se skládá převážně z překřížených kolagenů, dále z nerozpustných proteinů zvaných kutikulíny, které jsou propojeny kovalentními vazbami a spojených glykoproteinů a lipidů (Page et Johnstone, 2007).

Extracelulární matrix je důležitý v mnoha biologických procesech, včetně interakce buňka-buňka, signální transdukce, buněčné přilnavosti, a metastázích rakoviny (Kim et al., 2010).

Kolageny tvoří 80 % komponent extracelulárního matrix. Jsou to všudypřítomné strukturální proteiny s charakteristickým opakováním sekvence Gly-XY tripeptid, kde X je často prolin a Y hydroxyprolin (Page et Johnstone, 2007, příloha č. 3). První aminokyselinou v této sekvenci je glycin. Oproti kolagenům obratlovců obsahují monomery kolagenů více přerušení v rámci opakování glycin-XY a dosahují velikosti pouze okolo 35kDa. Biogeneze kolagenu je složitý vícestupňový proces s modifikacemi, který se vyskytuje jak intra-, tak extracelulárně a vyžaduje funkci řady enzymů (Page et al., 2014). Pro syntézu kolagenu je nezbytně nutná přítomnost osmi konkrétních posttranslačních enzymů. Mnohé z nich mohou být atraktivními cíli pro farmaceutický průmysl z hlediska vývoje léků. Většina kolagenů je syntetizována hypodermálními buňkami a švy buněk (Kim et al., 2010).

Druhou velkou skupinou a důležitou složkou tvořící kutikulu jsou nerozpustné kutikulíny. Společně s kolageny mají to, že se vyznačují vysokým obsahem prolinu, hydroxyprolinu a glycinu. Kutikulíny se vyskytují ve vnějších kortikálních a epikutikulárních vrstvách, kde vytvářejí nepropustnou bariéru. Nalézt je ale můžeme také v cervikálních křídélkách.

Póry, které kutikulou procházejí, mají negativní náboj, a proto představují elektrostatickou bariéru pro přechod velkých organických aniontů (Lee, 2002).

Bylo dokázáno, že k tvorbě kutikuly je zapotřebí aktivity nejrůznějších enzymů. Enzymy jsou zde potřebné k pre-sekreci, syntéze jednotlivých proteinů jako je kolagen, k post-sekreci a k odstranění předchozí vývojové fáze kutikuly v procesu zvaném jako svlékání (Page et al., 2014).

### 3.2.1.5 Kolagen-genové mutace

Genová rodina, kódující kutikulární kolageny se skládá ze 154 genů. Většina těchto genů je regulována jak časově, tak kvantitativně. Exprese některých z nich probíhá v době syntézy kutikuly, z čehož můžeme odvozovat, že tyto geny kódují kutikulární proteiny. Kutikulární proteiny jsou syntetizovány vysokou rychlostí při svlékání kutikuly a nižší rychlostí mezi

jednotlivými svlékáními (Kramer, 1994). U některých z těchto genů dochází k mutacím, které mají za následek nejrůznější morfologické vady těla. Kolagen genové mutace pomáhají v chápání funkce kolagenu a jeho role, kterou hraje ve struktuře kutikuly (Kennedy et Harnett, 2001).

Z těchto defektů můžeme zmínit největší rodinu kutikulárních mutantů s názvem Dumpy, kdy je tělo hlístice krátké a zavalité. V současné době existuje 27 jedinečných dpy genů (Kennedy et Harnett, 2001), z nichž můžeme zmínit například dpy-10, dpy-7 nebo dpy-13. Tyto geny jsou důležité z důvodu kódování kolagenních mutantů.

Rodina mutantů Roller způsobuje šroubovité stočení hlístice. Stočení je vzhledem k jejich podélné ose buď pravotočivé, nebo levotočivé. Tyto hlístice mají také vnitřní orgány šroubovitě stočeny a výsledkem toho se pohybují v kruhu místo normálního sinusového pohybu (Kennedy et Harnett, 2001). Pouze gen rol-6 kóduje kutikulární kolageny.

Hlístice z genové rodiny SquaT mají tělo krátké, zavalité a zkroucené. Zmínit můžeme geny sqt-1 a sqt-3, oba kódují kutikulární kolageny.

Mutace genové rodiny Blister znamená, že má hlístice na povrchu kutikuly puchýřky. Existuje šest BLI genů, dva z nich (bli-1 a bli-2) kódují kutikulární kolageny.

Existují tzv. nulové mutace, které nemají žádný vliv na strukturu kutikuly. Nicméně, i některé nulové mutace mohou měnit morfologii kutikuly. Jedná se například o geny dpy-10 a dpy-13. Mají silné fenotypy, a tím pádem jsou nutné pro normální strukturu a funkci kutikuly (Kennedy et Harnett, 2001).



### 3.2.2 Epidermis

Kutikula je vylučována na povrchu hlístic z vrstvy zvané epidermis (pokožka). Proto hraje klíčovou roli ve vzniku a vývoji kutikuly.

Epidermis je mnohobuněčná nebo syncytiální vrstva, v závislosti na daném druhu hlístic (Lee, 2002). Je významná především tvorbou a sekrecí kutikuly a přítomností proprioreceptorů, které vnímají polohu těla. Kutikula je syntetizována základní ektodermální buněčnou vrstvou nazývanou podkoží (hypodermis), která obklopuje tělo zvířete (McMahon et al., 2003).

Vrstva epidermálních buněk spojená pásovými desmosomy vytváří vnější povrch hlístice. Desmosomy rozdělují povrch každé buňky v epitelu do dvou topologicky a funkčně odlišných stran. (Hedgecock et al., 1987). Apikální strana buněk vylučuje kutikulu, flexibilní exoskeleton pokrývající povrch zvířete. Zatímco bazální strana podporuje tělní stěnu svalů a většinu nervového systému.

Morfogeneze epidermis zahrnuje jak samostatně generované změny tvaru epidermálních buněk a jejich postavení, tak interakce s vnitřními tkáněmi, včetně rozvoje nervového systému a tělní stěny svalů (Chisholm et Hardin, 2005).

V pokožce hlístic nalezneme mnoho cytoskeletárních útvarů. Celá řada z nich je zodpovědná za změny tvaru buněk v embryu. Aktomyosin se specializuje na udávání tvaru buněk epidermálního protažení. V dorzální a ventrální epidermis mají aktinové svazky schopnost změnit polohu sekrečních vezikul a mají vztah k tvorbě obvodové kutikuly.

Bazální (vnitřní) povrch epidermis je lemován bazální membránou, která zajišťuje epiteliální integritu, umožňuje adhezi mezi epidermis a svaly a poskytuje tolerantní prostředí pro migraci buněk a axonů (Chisholm et Xu, 2012).

Velice úzce je s vývojem epidermis propojen vývoj nervového systému. V pokožce dochází k migracím buněk s využitím neuronů. Po určitém vývoji pokožka umožňuje vedení axonů v prostředí epidermis. Téměř všechny neurony rozšiřují své axony v prostoru mezi epidermis

a bazální membránou, v tomto prostoru se vyvíjí také exkreční buňky (Chisholm et Xu, 2012).

### 3.2.3 Povrchové struktury

U mnoha druhů hlístic můžeme pozorovat nejrůznější kutikulární specializace, jako jsou hřebeny, papily, trny a mnohé další, kterými se bude zabývat následující text. Tyto modifikace se vyskytují ve větší či menší míře v různých místech kutikuly. Značení na povrchu kutikuly jsou rozmanitá a složitá, a byla značně používána taxonomy pro pomoc při identifikaci různých druhů (Bird, 1971). Rozmanitost povrchových vlastností může mít adaptivní a fylogenetický význam (Chen et al, 2004).

Dle Nickle (1991) se dají kutikulární útvary rozdělit do dvou kategorií: na ornamentální a senzorické struktury. Ornamentace jsou důležité z taxonomického hlediska, podávají informace o daném živočichovi. Jelikož jsou tyto znaky neměnné, mohou sloužit k diferenciaci jednotlivých druhů.

Příčné drážky, zvané strie jsou přítomny u larválních stádií a dospělců většiny hlístic (Lee, 2002). Toto příčné uspořádání jim dává segmentovaný vzhled. V místech, kde jsou strie zřetelné, dávají hlístici kroužkový vzhled. Tyto pravidelné příčné drážky jsou známé jako kroužkování, a pokožka, která leží mezi nimi, tvoří mezikruží (Bird et Bird, 1991). Tato mezikruží nalezneme u některých vodních hlístic, u hlístic parazitujících u zvířat, i u parazitů rostlin. Šířka mezikruží je proměnlivá, obvykle je ale největší v přední a zadní části těla hlístice (Bird et Bird, 1991). Kroužkování umožňuje ohýbání tělní stěny během pohybu. Lee (2002) uvádí dospělé *Ascaris suum* jako příklad velké hlístice s výrazným kroužkováním s mnoha striemi.

Výběžky se vyskytují na povrchu kutikuly mnoha skupin volně žijících mořských a sladkovodních hlístic. Při pohledu pod světelným mikroskopem, se výběžky často objevují jako nepatrné kruhové oblasti, které jsou často uspořádány do vzoru (Bird, 1971). Na povrchu kutikuly se u většiny hlístic nacházejí rovněž póry. Sestávají z prohloubeniny na povrchu kutikuly a kanálu, který prochází od póru směrem dolů kutikulou až k epidermis.

Mnohé druhy vodních hlístic mají na svém povrchu nejrůznější štětiny a štěrby. Některé štětiny jsou inervovány, slouží tedy jako mechanoreceptory. Naopak štětiny, které inervovány nejsou, představují pouze další pokryv těla hlístice a u některých druhů mohou napomáhat pohybu těla hlístice.

Papily nebo štětiny mají hmatovou funkci a jejich počet a umístění je důležitý taxonomický znak (Bush, 2001). Papily nalezneme v cervikální oblasti těla hlístice, v oblasti pysků nebo v kaudální části těla. Ocasní papily jsou důležité z taxonomického hlediska, nacházejí se u obou pohlaví, i když výraznější jsou u samců (Bush, 2001).

V přední části těla jsou umístěny smyslové struktury, které mohou zahrnovat některé kombinace žláz, papil nebo štětín (Bush, 2001). Amfidy představují jedny z největších smyslových orgánů. Každý amfid v podstatě sestává z amfidální žlázy, nervového svazku, a amfidálního kanálu (Baldwin et Hirschmann, 1974). Nejvýraznější amfidy můžeme pozorovat u vodních a volně žijících hlístic, naopak u parazitických forem jsou amfidy z velké části redukovány.

Hřebeny jsou vyvýšené struktury na povrchu těla, které se mohou objevovat po celé délce těla, na submediální i na boční ploše. Tyto struktury se vyskytují u mnoha skupin volně žijících i parazitických hlístic, například u skupiny Rhabditida. Seskupení nebo vzor podélných a šikmých kutikulárních hřebenů jsou známá jako „synlope“ (Bird et Bird, 1991)

Alae neboli cervikální křidélka jsou kutikulární zesílení, která najdeme na laterálních a sublaterálních částech těla hlístice. Rozdělit je můžeme na ocasní, krční a podélné. Kaudální neboli ocasní alae se vyskytují v zadní části těla hlístic jako kopulační burza, tedy pouze u samečků. Krční alae je vytvořeno z kortikální a mediální vrstvy kutikuly. Podélná alae nalezneme na bočních stranách těla hlístice. Z funkčního hlediska, pravděpodobně pomáhají lokomoci a mohou umožnit mírné změny v šířce zvířat (Bird, 1971).

Kutikulární výdutě jsou tvořeny rozšířením střední kutikulární zóny a jsou obvykle vyplněny tekutinou (Lee, 2002). Výdutě se dají popsat jako otok části kutikuly, který je podobný puchýři.

Kutikulární trny a háčky se vyskytují u několika skupin hlístic, nejběžnější jsou ale u druhů parazitujících na zvířatech a u volně žijících hlístic (Lee, 2002).

Nickle (1991) popisuje trny, jako nebuněčné kutikulární výčnělky bez svaloviny a nervových spojení. Trny mají rozdílnou funkci napříč nejrůznějšími druhy hlístic. U některých z nich mohou trny představovat kutikulární zesílení, u jiných například pomůcku k pohybu hlístice. Trny jsou rozšířením kortikální a mediální kutikulární zóny.

Vyvýšeniny jsou terminální kutikulární projekce ocasu, které mohou být poměrně komplikované u některých druhů (Bird et Bird, 1991). Vyvýšeniny mohou být také užitečné z taxonomického hlediska.

Kordony jsou kutikulární projekce, které u hlístic zaujímají asi jednu třetinu délky těla. Přesněji je to od pseudolabia v oblasti úst směrem k zadní části těla. Jejich funkce není vědcům doposud známá, avšak dá se předpokládat, že mohou být zapojeny do procesu krmení hlístic.

## 4 Závěr

Hlístice představují velice rozmanitou skupinu organismů vyskytující se na nejrůznějších stanovištích. Dle způsobu života jsou u nich vyvinuty povrchové struktury na nejrůznější úrovni a s různou funkcí. Z toho vyplývá, že parazitické druhy hlístic budou mít odlišné povrchové struktury od hlístic volně žijících.

Specifický povrch těla umožňuje hlísticím pohyb, přežití v hostitelské buňce a mnoho dalších funkcí, které jsou pro život hlístice neopomenutelnou součástí.

Kutikula a její proměny v jednotlivých fázích vývoje se řadí do popředí výzkumu mnoha vědců. Její struktura je v průběhu vývoje proměnlivá. Velkého zájmu se dočkalo studium Dauer larvy, kdy hlístice nepřijímá potravu, je speciálně přizpůsobená nepříznivým vnějším podmínkám, a je schopna přežít.

I když je u hlístic popsáno přes 20 000 druhů, stále zůstává mnoho druhů pro nás neznámých. Můžeme tedy očekávat další poznatky, objevy nových druhů a nových informací, ať už o povrchových strukturách, potravní strategii, pohybu apod. Při psaní této bakalářské práce jsem se ujistila o velkém množství informací, které tento kmen popisují, ale jsem si jistá, že výzkumy nám přinesou ještě mnoho dalších překvapujících závěrů.

## 5 Seznam použité literatury

- Baldwin, J. G., Hirschmann, H. 1974. Body Wall Fine Structure of the Anterior Region of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* Males. *Journal of Nematology*. 7 (2), 175-193.
- Baron, S. 1996. *Medical Microbiology*. Galveston. 4th edition. ISBN: 0963117211
- Bird, A. F. 1971. *The Structure of Nematodes*. Academia Press. New York.
- Bird, A. F., Bird J. 1991. *The Structure of Nematodes*. Academic Press. New York. 2 edition. p. 317. ISBN: 0120996510.
- Blaxter, M. L. 1993. Cuticle Surface Proteins of Wild Type and Mutant *Caenorhabditis elegans*. *The Journal of Biological Chemistry*. 268, 6600-6609.
- Blaxter, M., Koutsovoulos, G. 2014. *The evolution of parasitism in Nematoda*. Cambridge University Press. *Parasitology*. 1-14.
- Bush, A. O., Fernández, J. C., Seed R. 2001. *Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites*. Cambridge University Press. Cambridge. p. 567. ISBN: 0521662788
- Cox, G. N., Kusch, M., Edgar, R. S. 1981. Cuticle of *Caenorhabditis elegans* : Its Isolation and Partial Characterization. *The Journal of Cell Biology*. 90, 7-17.
- Čermáková, Z., Valenta, Z., Buchta, V. 2009. Parazitičtí helminti člověka, I. část – úvod do světa červů. *Folia gastroenterol hepatology*. 7 (1), 21-24.
- Dorris, M., De Ley, P., Blaxter M.,L. 1999. Molecular Analysis of Nematode Diversity and the Evolution of Parasitism. *Parasitology Today*. 15(5). 188 – 193.

Ford, L., Guiliano, D. B., Oksov, Y., Debnath, A. K., Liu, J., Williams, S. A., Blaxter, M. L., Lustigman, S. 2005. Multifunctional Roles during Development Onchocerca volvulus, with Potential Protease Inhibitor, Ov-SPI-1, from Characterization of a Novel Filarial Serine of the Parasite. The Journal of Biological Chemistry. 280 (49), 40845-40856

Francis, R., Waterston, R. H. 1991. Muscle Cell Attachment in *Caenorhabditis elegans*. The Rockefeller University Press. The Journal of Cell Biology. 114 (3), 465-479.

Frand, A. R., Russel, S., Ruvkun, G. 2005. Functional genomic analysis of *C. elegans* molting. PLoS Biol 3 (10), 1719-1733.

Fritz, J. A., Behm, C. A. 2009. CUTI-1: A Novel Tetraspan Protein Involved in *C. elegans* CUTicle Formation and Epithelial Integrity. PLoS ONE. 4 (4), 1-10.

Gravato-Nobre, M. J., Stroud, D., O'Rourke, D., Darby, c., Hodgkin, J. 2011. Glycosylation Genes Expressed in Seam Cells Determine Complex Surface Properties and Bacterial Adhesion to the Cuticle of *Caenorhabditis elegans*. Genetics Society of America. 18, 141–155.

Hedgecock E. M., Culotti J. G., Hall D. H., Stern B. D. 1987. Genetics of cell and axon migrations in *Caenorhabditis elegans*. Development. 100:365–382.

Chen, Z. X., Chen, S. Y., Dickson, D. W. 2004. Nematology advances and perspectives, Volume II, Nematode management and utilization. China. Tsinghua university press. p. 1234. ISBN: 7302068178.

Chisholm, A. D., Hardin J. Epidermal Morphogenesis. Wormbook [online]. 2005 [cit. 2015-1-29]. Dostupné z [http://www.wormbook.org/chapters/www\\_epidermalmorphogenesis/epidermalmorphogenesis.html](http://www.wormbook.org/chapters/www_epidermalmorphogenesis/epidermalmorphogenesis.html)

Chisholm, A. D., Xu, S. 2012. The *C. elegans* epidermis as a model skin. II: differentiation and physiological roles. Wiley Interdisciplinary Reviews Developmental Biology. 1(6): 879–902

Inglis, W. G. 1983. An Outline Classification of the Phylum Nematoda. Australian Journal of Zoology. 31(2): 243 – 255.

Kennedy, M. W., Harnett, W. 2001. Parasitic *nematodes*: Molecular biology, Biochemistry and Immunology. CABI Publishing. New York. p. 486. ISBN 0851994237.

Kim, T. H., Kim, Y. J., Cho, J. W., Shim, J. 2010. A novel zinc-carboxypeptidase SURO-1 regulates cuticle formation and body morphogenesis in *Caenorhabditis elegans*. Elsevier B.V. FEBS Letters. 585, 121–127.

Kramer, J. M. 1994. Structures and functions of collagens in *Caenorhabditis elegans*. The FASEB Journal. 8, 329-336.

Lebois F., Sauvage P., Py Ch., Cardoso O., Ladoux B., Hersen P., Meglio J. M. 2012. Locomotion Control of *Caenorhabditis elegans* through Confinement. Biophysical Journal. 102, 2791-2798.

Lee, D. L. 2002. The Biology of Nematodes. CRC Press. New York. p. 635. ISBN: 0415272114.

Lewis, E. E., Campbell, J. F., Sukhdeo, M. V. K. 2002. CABI Publishing. New York. P. 358. ISBN 0 85199 615 9

Lin, H. J., McClure, M. 1996. Surface Coat of *Meloidogyne inkognita*. Journal of Nematology. 28(2), 216-224.

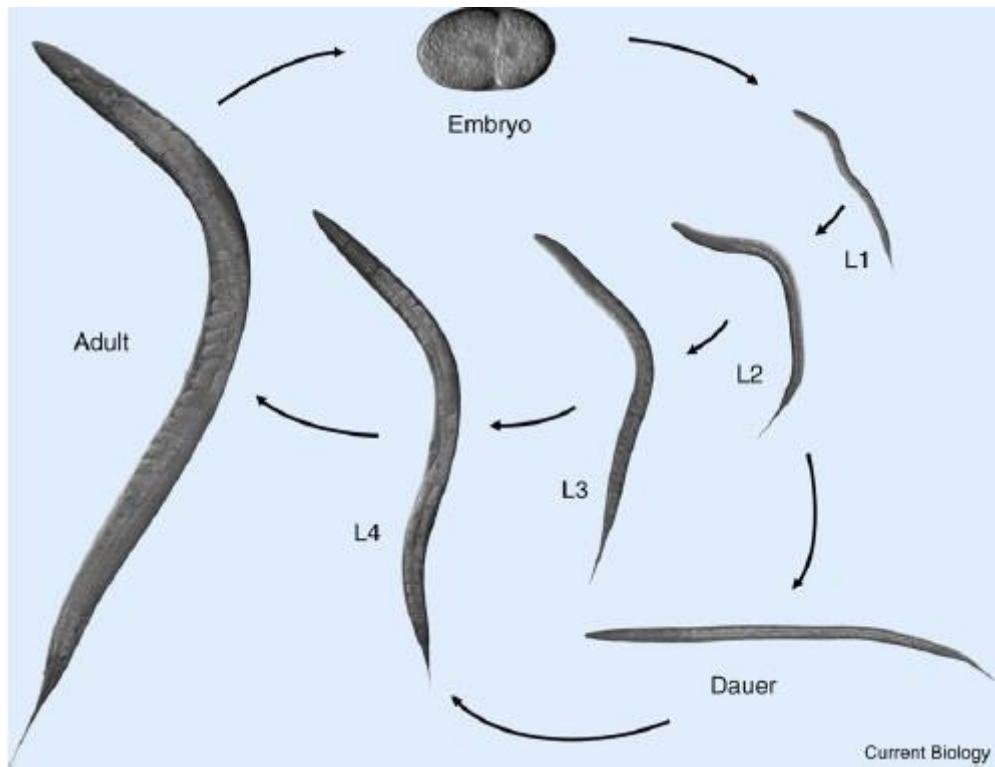
McMahon, L., Muriel, J. M., Roberts, B., Quinn M., Johnstone, I.L. 2003. Two Sets of Interacting Collagens Form Functionally Distinct Substructures within a *Caenorhabditis elegans* Extracellular Matrix. Molecular Biology of the Cell. 14, 1366–1378.

Nickle, W. R. 1991. Manual of agricultural Nematology. CRC Press. New York. p. 1064. ISBN 0824783972

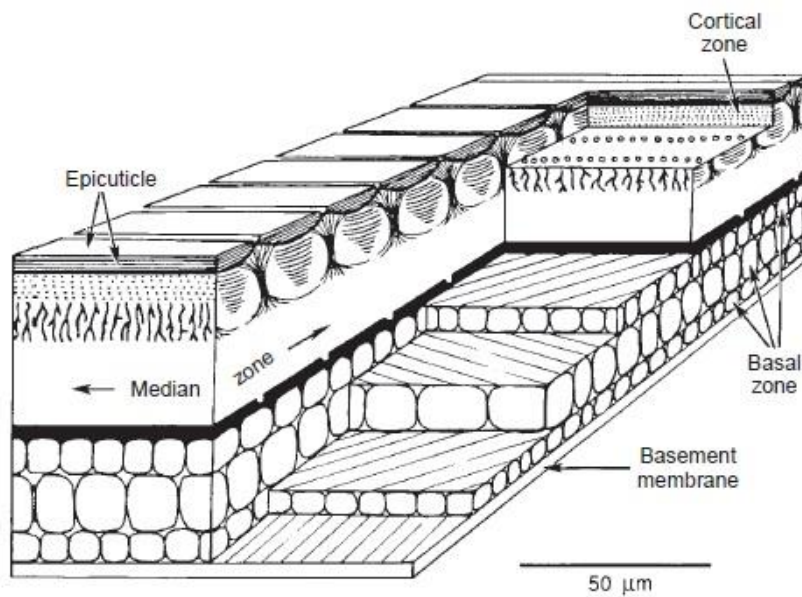


- Nicholas, W. L., Stewart, A. C. 1997. Ultrastructure of *Gonionchus australis* (Xyalidae, Nematoda). *Journal of Nematology*. 29 (2), 133-240.
- Page, A. P., Johnstone, I. L. The cuticle. *Wormbook* [online]. 2007 [cit. 2014-10-26]. Dostupné z [http://www.wormbook.org/chapters/www\\_cuticle/cuticle.html](http://www.wormbook.org/chapters/www_cuticle/cuticle.html).
- Page, A. P., Stepek, G., Winter, A. D., Pertab, D. 2014. Enzymology of the nematode cuticle: A potential drug target?. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 4, 133–141.
- Perry, R. N., Wharton, D. A. 2011. *Molecular and physiological basis of nematode survival*. CAB International. Wallingford. p. 320. ISBN: 9781845936877
- Porta-de-la-Riva, M., Fontrodona, L., Villanueva, A., Cerón, J. Basic *Caenorhabditis elegans* Methods: Synchronization and Observation. *J. Vis. Exp.* (64), e401910.3791/4019, DOI : 10.3791/4019 (2012).
- Reddigari, S. R., Jansma, P. L., Premachandran, D., Hussey, R. S. 1986. Cuticular Collagenous Proteins of Second-stage Juveniles and Adult Females of *Meloidogyne incognita*: Isolation and Partial Characterization. *Journal of Nematology*. 18 (3), 294-302.
- Roberts, L. S., Janovy, J. 2009. *Foundations of parasitology*. McGraw-Hill. New York. p. 728. ISBN: 9780073028279
- Sommer, R. J., Ogawa A. 2011. Hormone Signaling and Phenotypic Plasticity in Nematode Development and Evolution. *Current Biology*. 21, 758–766.
- Spiegel, Y., McClure, M. A. 1995. The Surface Coat of Plant-Parasitic Nematodes: Chemical Composition, Origin and Biological Role. *Journal of Nematology*. 27(2), 127-134.

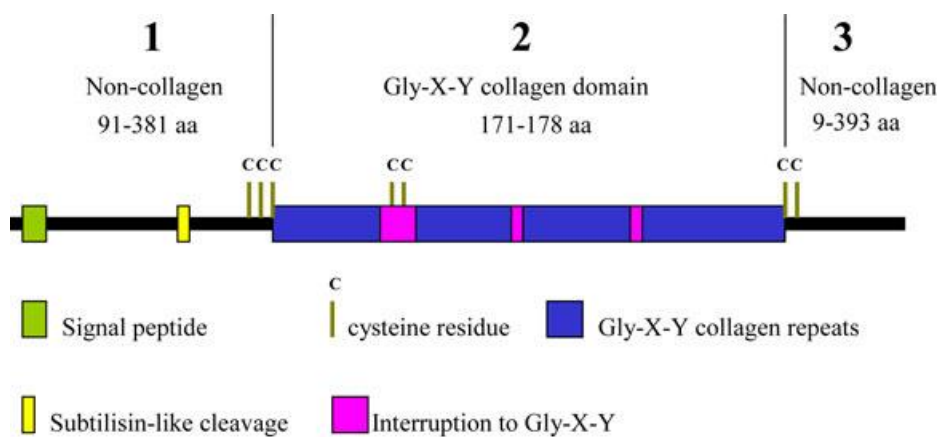
## 6 Přílohy



Příloha č. 1: Životní cyklus hlístice *C. elegans* (Sommer et Ogawa, 2011)



**Příloha č. 2:** Rozčlenění kutikuly hlístice *Ascarisuum* (Bird et Bird, 1991).



**Příloha č. 3:** Schematické znázornění typického kutikulárního kolagenu. (Převzaté z: [http://www.wormbook.org/chapters/www\\_cuticle/cuticle.html](http://www.wormbook.org/chapters/www_cuticle/cuticle.html).)

