

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Ochranné a detoxifikační mechanismy u střevních  
helmintů při expozici rizikovým prvkům**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Radmila Boudová**

**Obor: Speciální chovy**

**Vedoucí práce: Ing. Zuzana Čadková Ph.D., DiS.**

© 2021 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Ochranné a detoxifikační mechanismy u střevních helmintů při expozici rizikovým prvkům" 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 3.5. 2021

---

Radmila Boudová

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Zuzaně Čadkové Ph.D., DiS. za odborné vedení při psaní mé bakalářské práce, za cenné rady a komentáře a za velkou trpělivost a ochotu. Také chci tímto poděkovat svým rodičům, kteří mě v průběhu celého studia i celý můj život podporovali.

# Ochranné a detoxifikační mechanismy u střevních helmintů při expozici rizikovým prvkům

## Souhrn

Cílem této bakalářské práce bylo vytvořit aktuální literární přehled, shrnující dosavadní poznatky o ochranných a detoxifikačních mechanismech střevních helmintů ze skupin tasemnic (*Cestoda*), hlísic (*Nematoda*), motolic (*Trematoda*) a vrtejšů (*Acanthocephala*), které u nich mají plnit ochrannou funkci při expozici rizikovým prvkům a těžkým kovům jakými jsou, například olovo, kadmium, arsen, rtuť a podobně. U obratlovců jsou tyto mechanismy daleko lépe prostudovány, a proto budou sloužit jako výchozí. Z toho následně můžeme porovnat, jestli při expozici rizikovým prvkům mají helminti stejné či podobné mechanismy jako obratlovci, nebo v čem se od svých hostitelů naopak liší.

U střevních helmintů byly nalezeny určité rozdíly již v samotném metabolismu, a to jak v I., tak II. fázi. U helmintů nebyl nalezen cytochrom CYP 450, na kterém závisí v I. fázi oxidační reakce obratlovců. Z II. fáze je pravděpodobně nejdůležitějším enzymem glutathion S transferáza. Co je nezbytné pro střevní helminty, tím jsou antioxidační enzymy především superoxid dismutáza, glutathion peroxidáza nebo peroxiredoxiny, které se tvoří ve velkém množství u různých druhů. I když i zde se také vyskytují určité rozdíly mezi jednotlivými skupinami parazitů. Tato antioxidační ochrana se pravděpodobně vyvinula jako adaptace na parazitický život. Zdá se tedy, že se parazité mohou dobře chránit, jelikož antioxidační enzymy reagují jak na reaktivní radikály, tak přímo na některé rizikové prvky.

Důležité metalothioneiny (MT), které účinkují v detoxifikaci, udržování homeostáze kovů a ochraně proti oxidačnímu stresu, byly nalezeny jen u málo druhů helmintů. Jeho funkce byla ale potvrzena u vrtejšů (*Acanthocephalus lucii* a *Acanthocephalus anguillae*), kdy se jejich tvorba zvýšila v reakci na olovo, a navíc ve vyšší koncentraci než u jejich hostitele. Zajímavá je tvorba fytochelatinů u některých druhů helmintů. Ne však u všech byla prokázána zvýšená tvorba těchto proteinů v souvislosti s nějakým rizikovým prvkem. Velkou roli hrají také různé membránové transportéry, udržující homeostázi a mohou zvýšit rezistenci k těžkým kovům. U helmintů se podařilo nalézt P-glykoproteiny nebo divalentní kovový transportér (DMT1). Ochranné proteiny tepelného šoku (HSP) jsou u helmintů, dá se říct běžné a reagují na různé typy stresu. Jsou tvořeny v různých životních stádiích a slouží také jako adaptace na nové podmínky.

Další proteiny jako tumor supresorový protein p53 či signální dráhy mitogenem aktivované kinázy (MAPK), které reagují na některé rizikové prvky a chrání tak buňku, byly zkoumány a prokázány jen u málo druhů helmintů. I když se jejich funkce jeví jako podobná k těm u obratlovců, bylo by potřeba více výzkumů, prokazujících podobnou funkci v reakci na rizikové prvky.

**Klíčová slova:** parazité, trávicí trakt, rizikové prvky, těžké kovy, antioxidační reakce

# Mechanisms of protection and detoxification in gastrointestinal helminths during risk element exposition

## Summary

The aim of this bachelor's thesis was to create a current literature review summarizing existing knowledge about the protective and detoxification mechanisms of intestinal helminths from the groups of tapeworms (*Cestoda*), nematodes (*Nematoda*), flukes (*Trematoda*) and acanthocephalans (*Acanthocephala*), which should play a protective role in exposure to hazardous elements and heavy metals such as lead, cadmium, arsenic, mercury etc. In vertebrates, these mechanisms are much better studied and will therefore serve as a starting point. From this we can then compare whether helminths have the same or similar mechanisms as vertebrates during risk elements exposure, or how they differ.

In intestinal helminths, certain differences were found in the metabolism itself, both in I. and II. phase. No cytochrome CYP 450 was found in helminths, on which depend the vertebrate's oxidation reactions in phase I. In II. phase, glutathione S transferase is probably the most important enzyme. Necessary for intestinal helminths are antioxidant enzymes, especially superoxide dismutase, glutathione peroxidase or peroxiredoxins, which are formed in large quantities in various species. Although there are also some differences between groups of parasites. This antioxidant protection is probably evolved as an adaptation to parasitic life. Thus, it appears that parasites can be well protected, because antioxidant enzymes respond both to reactive radicals and directly to some risk elements.

Important metallothionein (MT), which act in detoxification, maintenance of metal homeostasis and protection against oxidative stress, has been found in only a few species of helminths. However, its function has been confirmed in acanthocephalans (*Acanthocephalus lucii* and *Acanthocephalus anguillae*), where their production increased in response to lead, and in higher concentrations than in their hosts. The formation of phytochelatins in some species of helminths is interesting. However, not all have been shown to increase the production of these proteins in connection with a risk element. Various membrane transporters also play an important role, maintaining homeostasis and can increase resistance to heavy metals. It was managed to find P-glycoproteins or a divalent metal transporter (DMT1) in helminths. Protective heat shock proteins (HSPs) are common in helminths, as well, and they respond to various types of stress. They are formed at different stages of life and also serve as adaptations to new conditions.

Other proteins, such as the tumor suppressor protein p53 or the mitogen-activated kinase (MAPK) signaling pathways, which respond to certain risk elements and protect the cell, have been investigated and demonstrated in only a few helminth species. Although their function appears to be similar to that of vertebrates, more research would be needed to demonstrate a similar function in response to risk elements.

**Keywords:** parasites, digestive trackt, risk elements, heavy metals, antioxidant reaction



# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>7</b>
<b>2 Cíl práce</b> .....	<b>8</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1 Rizikové prvky</b> .....	<b>9</b>
3.1.1 Charakteristika rizikových prvky.....	9
3.1.2 Toxické účinky v organismu.....	10
<b>3.2 Osud xenobiotik v organismu</b> .....	<b>10</b>
3.2.1 Absorbce.....	11
3.2.2 Distribuce.....	11
3.2.3 Akumulace.....	12
<b>3.2.4 Metabolismus xenobiotik (BIOTRANSFORMACE)</b> .....	<b>12</b>
3.2.3.1 I. fáze biotransformace.....	12
3.2.3.2 II. fáze biotransformace.....	13
3.2.5 Exkrece.....	14
<b>3.3 Oxidační stres</b> .....	<b>14</b>
3.3.1 Volné radikály.....	15
<b>3.3.3 Antioxidanty</b> .....	<b>15</b>
3.3.3.1 Superoxid dismutáza (SOD).....	16
3.3.3.2 Glutathion peroxidáza (GPx).....	16
3.3.3.3 Kataláza (CAT).....	17
3.3.3.4 Thioredoxinový systém.....	17
<b>3.4 Odpověď buňky na stres</b> .....	<b>17</b>
<b>3.4.1 Odpověď na stres vyvolaný rizikovými prvky</b> .....	<b>18</b>
3.4.1.1 Indukce antioxidantních enzymů.....	19
3.4.1.2 Metalothioneiny.....	21
3.4.1.3 Chaperony.....	22
3.4.1.4 GPR proteiny.....	23
3.4.1.5 MAP kináza.....	23
<b>3.5 Rozdíly v metabolismu helmintů</b> .....	<b>24</b>
<b>3.6 Ochranné a detoxifikační mechanismy střevních helmintů</b> .....	<b>25</b>
3.6.1 Ochrana helmintů před reaktivními formami kyslíku/dusík.....	26
3.6.1.1 Antioxidační enzymy.....	26
3.6.2 Metalothioneiny.....	28
3.6.3 Fytochelatiny.....	29
3.6.4 Membránové transportéry.....	30
3.6.5 Proteiny tepelného šoku.....	30
3.6.6 Protein p53.....	32
3.6.7 MAP kináza.....	32
3.6.8 Jiné.....	33
3.6.8.1 SKN1.....	33
3.6.8.2 Gen DAF-2.....	33
<b>4 Závěr</b> .....	<b>35</b>
<b>5 Literatura</b> .....	<b>36</b>
<b>6 Seznam použitých zkratk</b> .....	<b>49</b>





# 1 Úvod

Některé rizikové prvky, například zinek, železo, měď, hořčík nebo selen, mohou být pro organismus zcela nepostradatelné. Naopak jiné z nich jsou nebezpečné a v organismu nežádoucí, hlavně některé těžké kovy, jako kadmium, arsen, olovo nebo rtuť. I když se ale jedná o esenciální prvek, záleží na jeho množství, které je zdraví prospěšné. Může dojít k zvýšení jeho množství a pro organismus se stane vzápětí nebezpečný či toxický. V dnešní době je velkým problémem zvyšování množství především těžkých kovů antropogenní činností. Ty se následně dostávají do těl živočichů hlavně vodou nebo potravou. Proto má každý organismus mnoho mechanismů, které udržují tyto prvky v únosném množství, detoxifikují je a udržují tak homeostázi v buňkách a celkově i v těle.

Pokud tedy již dojde k narušení homeostáze a prvek překročí jisté únosné množství nebo se jedná o prvek velice toxický, zapojují se mechanismy pro zvýšení detoxifikace těchto prvků, anebo dochází k celkovému snížení příjmu prvků do buňky. Také se zapojují různé ochranné mechanismy, které reagují již přímo na přítomnost rizikového prvku a slouží tak jako prevence před buněčným poškozením. Pokud již došlo k poškození, zapojují se opět další ochranné či opravné mechanismy. Pokud již poškození nejde opravit dochází k buněčné smrti. Aby mohla buňka reagovat jsou tu také různé signalizační dráhy, které předávají signál o působení nějakého stresoru mezi buňkami, a tak spolu komunikují, nebo již vedou signál uvnitř buňky a aktivují různé ochranné proteiny.

U některých parazitů byla zjištěna schopnost přijímat a akumulovat těžké kovy z vnitřního prostředí svých hostitelů. A to překvapivě v koncentracích několikanásobně vyšších oproti koncentracím v hostitelově tkáni. Pokud se tedy do helmintů dostávají takto vysoké koncentrace těchto prvků, nabízí se otázka, jak fungují jejich detoxifikační a ochranné mechanismy. Nebo zdali mohou mít nějakou výhodu v porovnání s jejich hostiteli.

V této práci tedy bude cílem shrnout různé ochranné mechanismy u střevních helmintů, které byly potvrzeny u obratlovců jako potřebné a měly by se zapojovat při ochranné reakci na rizikové prvky nebo při udržování jejich homeostáze. Případně zjistit, jestli se u helmintů vyskytuje nějaký odlišný mechanismus. Zaměření je zejména na detoxifikační enzymy a samotný metabolismus rizikových prvků, dále pak na další mechanismy pro detoxifikaci a udržování homeostáze, jako například metalothioneiny nebo membránové transportéry. Další velkou skupinou jsou antioxidační enzymy, důležité pro ochranu před reaktivními formami kyslíku či dusíku, které jsou zvyšovány právě za přítomnosti některých rizikových prvků. Dále jsou popsány stresové proteiny tzv. proteiny tepelného šoku, reagující na širokou škálu stresorů a jsou tak nepostradatelnou součástí buněčné ochrany před poškozením.

## 2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce bylo vytvoření aktuální literární rešerše shrnující dosavadní poznatky o ochranných a detoxifikačních mechanismech střevních helmintů ze skupin tasemnic (*Cestoda*), hlísic (*Nematoda*), motolic (*Trematoda*) a vrtejšů (*Acanthocephla*) při expozici rizikovým prvkům a těžkým kovům jakými jsou například olovo, kadmium, arsen, rtuť a podobně. Popřípadě zjistit, jestli se u helmintů vyskytují nějaké rozdíly oproti obratlovcům, nebo v čem mohou mít výhodu či nevýhodu.

## 3 Literární rešerše

### 3.1. Rizikové prvky

#### 3.1.1 Charakteristika rizikových prvků

Rizikové prvky (RP) zahrnují prvky, které mají významné toxikologické vlastnosti. Jejich riziko spočívá v tom, že při dosažení či překročení prahové koncentrace mohou být škodlivé pro živé organismy a životní prostředí (Kafka & Punčochářová 2002). Mohou se rozdělovat na tři skupiny:

Stopové prvky v organismu nebo v životním prostředí se vyskytují ve velmi nízkých koncentracích. V organismech, pro jejich správné fungování, je přítomnost většiny z nich dokonce nezbytná. Některé jsou součástí různých enzymů. Při jejich nedostatku může naopak docházet k vážným onemocněním (Kafka & Punčochářová 2002). Jedná se například o Fe, I, Cu, Mg, Co, V, Mn nebo Zn.

Těžké kovy (TK) jsou označovány jako kovy s hustotou vyšší než  $5 \text{ g.cm}^3$ . Podle ekotoxikologické terminologie se však používá název těžké kovy pro všechny kovy (Cd, Pb, Hg, Cu, Zn, Cr, Ni, Mn, Fe) i polokovy (Se, As), které jsou nebezpečné pro biotu (Kafka & Punčochářová 2002).

Většina výše zmíněných prvků může mít na organismus toxický účinek, a proto se označují jako prvky toxické. Velikost toxicity má rozmezí od 0 do 1,0. Kdy při nulové hodnotě k poškození organismu nedojde nikdy, naopak při hodnotě 1,0 dojde k poškození ve všech případech. Toxicita je tedy schopnost látky poškozovat nebo pozměňovat živý organismus a může mít vliv i na následující generace (jsou mutagenní) (Babička 2017).

Kafka & Punčochářová (2002) dále uvádí že, TK jsou v životním prostředí všude přítomné a zahrnují všechna skupenství. Vyskytují se v půdě, vodě i ovzduší a účastní se biogeochemických cyklů. Z těchto cyklů mohou vystupovat a kumulovat se například v půdě nebo v živých organismech, což je problém, protože nejsou degradovatelné. Jejich mobilita závisí například na rozpustnosti sloučenin ve vodě, jde-li o sloučeninu nestálou nebo o stabilní komplex a dále schopnost se rozpouštět v kyselinách (hlavně v k. sírové a dusičné, které jsou často přítomné v přírodě). Při vysoké kyselosti vodních srážek či prosakující vodě, se těžké kovy mohou vymývat z půdy, pronikat do vody, rostlin, stromů a živočichů. Některé mikroorganismy, hlavně půdní, umožňují vstup toxických kovů do komplexů s organickými látkami, které jsou zpravidla nebezpečnější než původní forma (např. methylrtuť). V dnešní době je problémem zvyšování množství těžkých kovů antropogenní činností. Hlavními zdroji je spalování fosilních paliv, tabákový kouř, chemický a metalurgický průmysl nebo používání pesticidů v zemědělství.

### 3.1.2 Toxické účinky v organismu

Toxický účinek podle časového průběhu můžeme rozdělit na akutní, chronický a pozdní, kdy se účinky projeví po delší době (např.: mutageneze, teratogenita či karcinogenita). Těžké kovy mohou působit na různá místa organismu a vyvolávají orgánovou nebo funkční toxicitu. Při orgánové toxicitě mohou být účinky hepatotoxické, pulmotoxické, nefrotoxické, dermatotoxické či neurotoxické. Funkční toxicita se může rozdělit na imunotoxicitu, dále alergenitu nebo reprodukční toxicitu, kdy látky škodlivě působí na ženské či mužské reprodukční orgány či mohou škodlivě působit i během vývoje jedince od prenatálního vývoje až do puberty a může postihovat další generace (Babička 2017).

Kafka & Punčochářová (2002) uvádí, že ionty TK působí škodlivě nejprve na buněčné úrovni. Negativně jsou ovlivňovány biochemické reakce (např. enzymatické) a poškozeny cílová místa jako buněčné membrány či organely. Toxicita je zprostředkována vazbou na buněčné membrány, kdy ionty kovu brání transportu živin přes buněčné stěny. Důležitá je při tom tvarová podobnost molekuly nebo částice obsahující kov s molekulou látky, potřebnou pro buňku, což se označuje jako molekulární mimikry. Kovy také vytvářejí elektrofilní kationty. Nebezpečí spočívá v tom, že většina z nich má vysokou afinitu k síře, a tak ohrožují thiolové skupiny v enzymech. Mohou se vázat i na karboxylovou a amino skupinu a poškozovat tak genetickou informaci. Vazbou na fosfátové skupiny způsobují srážení fosfátových biosloučenin nebo urychlují jejich rozklad. Rozdíl v míře toxicity je mezi anorganickým a organickými sloučeninami kovů. Organokovové sloučeniny jsou jedny z nejtoxičtějších sloučenin, protože jsou lipofilní a snadno prochází přes buněčnou membránu (Kafka & Punčochářová 2002). Některé TK vytváří volné radikály, které mohou způsobovat oxidační stres (Valko et al. 2005) nebo mohou způsobovat rakovinu, tím že se naváží na proteiny regulující apoptózu, buněčný cyklus, opravu DNA, metylaci DNA, růst a diferenciaci buňky (Kim et al. 2015) nebo aktivují transkripční faktory, například AP-1 (aktivátorový protein 1), NF- $\kappa$ B (nukleární faktor kappa B) a protein p53 (Valko et al. 2005). TK působí také imunosupresně. Například působením TK při studii na buňkách sleziny došlo k poklesu životaschopnosti lymfocytů i makrofágů (DeGagné et al. 2006).

### 3.2 Osud xenobiotik v organismu

Vstup a působení jakékoli cizorodé látky, v našem případě rizikové prvky, do organismu můžeme rozdělit do dvou fází, a to na dynamickou a kinetickou. Dynamická fáze se týká interakcí látky či jejího metabolitu s cílovou strukturou na povrchu či uvnitř buňky. Kinetická zahrnuje absorpci, distribuci, akumulaci, metabolismus (biotransformace a transport látek a jejich metabolitů) (Skálová et al. 2018). Skálová et al. (2018) dále uvádí že, první ochranou organismu před vstupem xenobiotik jsou bariéry jako je kůže, membrány nebo hematoencefalická bariéra. Další obranou je omezení biologické aktivity a toxicity, a nakonec urychlení eliminace. Velký význam při tom mají enzymy metabolizující xenobiotika, jako jsou transportní proteiny a biotransformační enzymy.

### 3.2.1 Absorbce

Absorbce je proces, kdy se xenobiotikum dostává z místa vstupu do krevního oběhu, kde může interagovat s plazmatickými proteiny (například albumin), které mohou sloužit jako jeho transportéry (Knejzlík et al. 2000). Do krve se xenobiotikum dostává především požitím potravy nebo vodou, dále inhalací, transdermálně či kombinací všech typů (Babička 2017). Následně xenobiotikum prochází přes epitel, které tvoří značné množství lipidů a fosfolipidů (nejvíce ve střevě, v řasinkovém epitelu dýchacích cest, kožním epitelu). Právě kvůli velkému množství lipidů v epitelech je patrné že, lipofilním látkám je přístup do organismu usnadněn. Společným znakem těchto tkání je také jejich velký povrch, z toho plyne jejich vysoká resorpční schopnost. Vstup látek do organismu závisí na chemicko-fyzikálních vlastnostech a na zdroji, ve kterém se vyskytuje. Některé xenobiotika, podobající se sloučeninám důležitým pro fyziologickou funkci, se dostávají snáze do organismu pomocí přenašečů na povrchu jednotlivých buněk (Knejzlík et al. 2000).

Absorbci rizikových prvků v organismu lze ovlivnit jak pozitivně, tak negativně. Například vitamin C významně snižuje absorpci kadmia a olova, pravděpodobně proto, že zvyšuje absorpci železa, který je jejich antagonistou. Naopak konzumací mléka se absorpce některých kovů zvyšuje. Pro zamezení vstřebávání kovů se také mohou podávat chelatační činidla, která toxickému účinku zamezí vazbou kovu do iontového komplexu (Kafka & Punčochářová 2002).

### 3.2.2 Distribuce

Distribuce probíhá z krve do cílových orgánů, tkání a buněk. Toxická látka může tedy působit v organismu až po přechodu do krve, s jejíž pomocí je dále transportována na různá cílová místa, kde se může akumulovat. Její distribuce závisí na charakteru toxické látky (rozpuštěnosti ve vodě nebo v tucích, velikosti a geometrii molekuly), chemické stabilitě, místě vstupu toxické látky do organismu a typu expozice (Babička 2017). Také chemická forma kovu a jeho mocnost určuje jak míru absorpce, tak distribuce kovu v organismu, často i typ a sílu toxického efektu (Kafka & Punčochářová 2002). Knejzlík et al. (2000) uvádí že, při distribuci xenobiotik záleží na stavbě stěny krevních kapilár. Například v kapilární síti srdečního svalu jsou endoteliální buňky zabezpečující transport tekutin do intersticia a nejsou tak důležité fyzikálně-chemické vlastnosti látky, proto se mohou do srdečního svalu dostávat cizorodé látky bez jakékoli selekce. Velice ohrožené jsou i játra, kde probíhá mezi nimi a krví, volná výměna látek. Naopak v pankreatu jsou stěny kapilár propustné jen pro látky s nízkou molekulovou hmotností. Značnou překážku pro přechod látek představuje také hemoencefalitická bariéra, která neobsahuje žádné póry. Transport látek do buněk se děje buď volnou difúzí nebo difúzí pomocí přenašečů, dále aktivním transportem či endocytózou.

### 3.2.3 Akumulace

Akumulace rizikových prvků, v souvislosti s jejich specifickými vlastnostmi, znamená hromadění v částech těla, nejvíce tedy v biologicky důležitých orgánech, jako jsou játra, ledviny, kosti, mozek (Babička 2017) u ryb žábry. RP jsou akumulovány v buňkách pravděpodobně tak, že využívají transportní proteiny, které přenášejí esenciální kovy (Tiffany-Castiglioni & Qian 2001).

### 3.2.4 Metabolismus xenobiotik (BIOTRANSFORMACE)

Pokud vstoupí cizí látka do organismu je v naprosté většině metabolizována za pomoci enzymů na jiné deriváty. Pokud jsou ale v těle vhodné fyzikální podmínky (vhodné Ph, redoxní potenciál), nebo cizí sloučenina potká vhodnou molekulu se kterou může reagovat, tak se spontánně změní na jinou sloučeninu bez pomoci enzymů. V posledním případě může být látka vyloučena zcela beze změny (Prescious & Barrett 1989). Obecně je cílem přeměnit lipofilní látku na hydrofilní, která je lépe exkretována (Jakoby 1980).

Dělíme ji na tři fáze. První se nazývá polarizace a probíhá v ní polarizace sloučeniny neboli odkrytí polární skupiny. V druhé fázi neboli konjugaci dochází k navázání endogenního substrátu. Třetí fáze je pouze transportní a látky se v ní vylučují ven z buňky a posléze i ven z těla pomocí transportních proteinů (Ženata 2015).

#### 3.2.4.1 I. fáze biotransformace

První fáze biotransformace se označuje jako konverze a zahrnuje hlavně reakce oxidační, redukční a hydrolytické (Skálová et al. 2018). Do fáze vstupují látky, které nejsou vůbec nebo jen velmi slabě rozpustné ve vodě (nepolární). Proto zde působí široká škála enzymů, které zvýší rozpustnost látek a tím umožní jejich exkreci. Polarizace probíhá zavedením či odkrytím polární skupiny, nejčastěji oxidací, případně redukcí (Ženata 2015). Při reakcích se zavádějí reaktivní skupiny, jako hydroxy- (-OH), karboxy- (-COOH), amino- (-NH<sub>2</sub>) a sulfydryl- (-SH), do molekul (Prescious & Barrett 1989). Enzymy samozřejmě reagují i s nexenobiotickými endogenními substráty, například při syntéze a metabolismu steroidů, metabolismu mastných kyselin nebo syntéze prostaglandinů (Gibson & Skett 1986). Hlavním místem metabolismu xenobiotik u savců jsou játra, dále ledviny, plíce, placenta, kůra nadledvin, střeva a kůže (Brodie & Maickel 1961).

Toxické látky v organismu aktivují příslušné mechanismy (nejčastěji receptory) vedoucí ke zvýšení hladiny neboli indukci enzymů, které následně metabolizují určitou sloučeninu. Indukovatelnost těchto enzymů se mezi jedinci liší v závislosti na přítomnosti či nepřítomnosti různých variant genů kódujících biotransformační enzymy nebo transportéry (Ženata 2015). Hladina biotransformačních enzymů není stálá, ale mění se podle aktuálních podmínek, tedy v závislosti na přítomnosti xenobiotik. Po těchto reakcích už nedochází k akumulaci xenobiotik, ale odchází z organismu ven (Knejzlík et al. 2000). Některé látky ale mohou být v I. fázi místo inaktivace naopak aktivovány jako například prokarcinogeny, z nichž se po enzymatické přeměně stávají karcinogeny. Další nevýhodou při těchto

biotransformačních reakcích je vznik volných radikálů, které mohou poškozovat DNA, proteiny nebo buněčné lipidy (Ženata 2015).

Mezi **oxidační** biotransformační reakce řadíme hydroxylace, dealkylace, oxidační deaminace, oxidační dehalogenace, N a S-oxidace, oxidace alkoholů a aldehydů. **Redukce** se týká azo a nitrosloúčenin, karbonylových sloučenin, peroxidů, aldehydů a ketonů, disulfidů, sulfoxidů, chinonů aj. Enzymové **hydrolýze** podléhají estery, thioestery, epoxidy, glykosidy, amidy, aminy, peptidy, bílkoviny a nukleové kyseliny (Skálová et al. 2018).

Mezi **oxidázy** patří cytochromy. Jsou to jedny z nejvýznamnějších oxidáz. **Cytochromy P450 (CYP 450)** byly nalezeny ve všech studovaných prokaryotních i eukaryotních organismech. Jsou širokou nadrodinou hemoproteinů. Hrají klíčovou roli v metabolismu xenobiotik a jsou rovněž významnými enzymy v metabolismu některých endogenních látek. Vyskytují se v neobvykle vysokém počtu isoform. Patří mezi monooxygenázy, což znamená, že váží vzdušný kyslík, štěpí ho a jeden kyslíkový atom zabudují do molekuly substrátu, druhý potom do molekuly vody. Za určitých podmínek mohou fungovat jako reduktázy i peroxidázy. Donorem elektronů je NADPH a přenos zajišťuje NADPH cytochrom P450 reduktáza (Skálová et al. 2018). Skálová et al. (2018) dále uvádí, že jinou oxidázou je flavinová monooxygenáza, lišící se od cytochromu navázáním na substrát pouze v jednom reakčním kroku a také koenzym NADP<sup>+</sup> přímo interaguje s tímto enzymem a je na něj vázán téměř po celý katalytický cyklus. Další oxidázami jsou například peroxidázy, alkoholdehydrogenázy, aldehyd-ehydrogenázy, xanthinoxidázy aj. **Reduktázy** katalyzují redukční reakce, které zahrnují ztrátu atomu kyslíku nebo adici dvou atomů vodíku. Enzymy z třídy **hydroláz** štěpí látky za účasti vody. Jsou to enzymy tvořené pouze polypeptidovým řetězcem, neobsahují žádnou prostetickou skupinu a nevyužívají žádné kofaktory.

### 3.2.4.2 II. fáze biotransformace

V této fázi dochází k navázání (konjugaci) endogenní molekuly na cizorodou látku, čímž se dále zvýší polarita sloučeniny nebo se může snížit biologická aktivita toxické látky (Ženata 2015). Konjugační reakce vyžaduje dodání energie, a proto se endogenní látka musí většinou před konjugací aktivovat vazbou s makroergním kofaktorem. Hydrofilita konjugátů značně omezuje možnosti jejich pasivní difúze přes membrány. Proto jsou pro přenos vzniklých konjugátů ven z buňky nezbytné transportní membránové proteiny (Skálová et al. 2018). Hlavními enzymy jsou zde UDP glukuronosyl transferázy, sulfotransferázy (přenášejí siřičitanovou SO<sub>3</sub> skupinu), metyltransferázy (přenášejí metylovou CH<sub>3</sub> skupinu), glutation-S-transferázy (přenos glutationu) a řada dalších (Ženata 2015). Skálová et al. (2018) také uvádí že, některé biotransformační reakce mohou být i obousměrné, což znamená, že metabolit vzniklý činností jednoho enzymu může být přeměněn zpět na parentní látku jiným enzymem. Stejně tak konjugáty mohou být hydrolyticky štěpeny zpět na původní xenobiotikum nebo na jiný, často reaktivní metabolit. Expres většiny konjugačních enzymů stejně jako enzymů první fáze je regulována vazbou ligandu na určitý cytosolický nebo nukleární receptor. Naopak inhibovány mohou být zase vazbou určitého inhibitoru na enzym. Na rozdíl od enzymů první fáze může být konjugace dále inhibována blokací syntézy konjugačního činidla, jeho vyčerpáním nebo omezením jeho transportu.

Mezi reakce II. fáze patří glukuronidace, což je konjugace xenobiotika s kyselinou glukuronovou. Tato reakce je hlavní konjugační reakcí xenobiotik u všech savců s výjimkou kočkovitých šelem. Kofaktorem glukuronidace je UDP-glukuronová kyselina (UDP-GA). Glukuronidaci podléhají sloučeniny obsahující nukleofilní heteroatom (O, N, S) (Skálová et al. 2018).

Další důležitou reakcí je konjugace s glutathionem. Thiolová skupina cysteinu propůjčuje glutathionu slabě nukleofilní vlastnosti, díky čemuž je schopen vytvářet konjugáty s xenobiotiky či častěji s jejich metabolity, které mají elektrofilní vlastnosti (epoxidy,  $\alpha$ ,  $\beta$ -nenasycené ketony, alkyl a arylhalogenidy, izokyanáty, chinony aj.). Konjugace může probíhat spontánně nebo za přítomnosti enzymu glutathion-S-transferázy. Pokud reaguje glutathion se silně elektrofilními skupinami (např. halogenidová, sulfonová) nebo se sloučeninami kovů (např. rtuť, platina, kadmium, arsen) dochází k substituci těchto skupin. Jinými reakcemi II. fáze jsou acetylace, metylace, sulfonace, konjugace s aminokyselinami (Skálová et al. 2018).

### 3.2.5 Exkrece

Přeměněné xenobiotikum se z buňky dostává do krve a následně se z organismu vylučuje stolicí, močí nebo potem. Ty látky, které byly biotransformovány v játrech se mohou dostat do žluči a následně do střeva. Někdy ale dojde vlivem bakteriální hydrolyzy konjugátů ke zpětné resorpci a vytvoří se tak enterohepatální oběh (Babička 2017).

## 3.3 Oxidační stres

Oxidační stres nastává při relativní převaze volných radikálů a reaktivních metabolitů nad antioxidanty. Oxidační stres může způsobit mnoho nemocí a poškodit tkáň. Např. při oxidaci lipidů vznikají kancerogenní aldehydy, které se vážou i na bílkoviny, a tak vytvářejí vysoce imunogenní látky (Nohel et al. 2011). Mezi onemocnění, u kterých je popisován vliv oxidačního stresu, patří ateroskleróza, cukrovka, vysoký krevní tlak, ischemické poškození srdce a dalších orgánů, poškození mozku, Parkinsonova a Alzheimerova nemoc a samozřejmě některá nádorová onemocnění. I fyziologické stárnutí člověka je připisováno drobným selháním přirozené antioxidantní ochrany organismu, čímž jsou následně zvýšené volné radikály (Grycová 2013). Pro stanovení volných radikálů se sledují tzv. TBARS (thiobarbituric acid reactive species), malondialdehyd a další produkty lipoperoxidace, stanovují se karbonyly jako produkty oxidace proteinů aj. (Holeček 2010).

Rizikové prvky dále přispívají ke vzniku oxidačního stresu dvojitým způsobem. Redoxně aktivní kovy, jako je železo, měď a chrom, procházejí redoxním cyklem, při kterém vznikají volné radikály. Zatímco redoxně neaktivní kovy, jako je olovo, kadmium, rtuť a další, vyčerpávají hlavní antioxidanty, zejména tedy ty, obsahující thiol. Tím dochází opět k nárůstu volných radikálů (Ercal et al. 2001). Jednou z důležitých reakcí, kdy vznikají volné radikály za pomoci iontů kovů je Fentonova reakce. Při níž iont kovu (Cr, Co, Ni, V) reaguje s peroxidem vodíku za vzniku oxidovaného iontu kovu a hydroxylového radikálu. Nebo Haber-Weissova



reakce, při níž je redukován iont kovu (Cr, V, Co) superoxidem a následně reaguje s peroxidem vodíku, kdy vzniká hydroxylový radikál (Leonard et al. 2004).

### 3.3.1 Volné radikály

Volné radikály jsou atomy obsahující jeden nebo více nepárových elektronů ve valenční slupce. Proto ochotně reagují s mastnými kyselinami, lipidy, aminokyselinami, DNA, proteiny, enzymy a jinými součástmi živé hmoty (Nohel et al. 2011). Taková molekula je tedy vysoce nestabilní a snaží se dostat do rovnovážného stavu tím, že získá ve svém okolí jiný elektron do páru. Potom se stane novým volným radikálem molekula, která elektron ztratila, a tak to pokračuje (Rokyta et al. 2006). Volné radikály mohou vyvolat peroxidaci lipidů a narušit uspořádání membránové lipidové dvojvrstvy. Také mohou deaktivovat membránově vázané receptory a enzymy a zvyšovat tkáňovou propustnost (Girotti 1985). Lipidy buněčných membrán totiž obsahují velké množství polynenasycených mastných kyselin, které jsou náchylné k oxidaci. Peroxidace fosfolipidů s polynenasycenými mastnými kyselinami je pomalá jsou-li v čisté podobě, rychlost peroxidace se však prudce zvyšuje za přítomnosti iontů kovů nebo sloučenin obsahujících hem. Po svém rozběhu je peroxidace autokatalytická. Peroxidy lipidů jsou účinné inhibitory mnoha enzymů. Rozpadají se za vzniku aldehydů, např. malondialdehydu. Aldehydy snadno reagují s aminoskupinami proteinů a poškozují jejich funkce. Při rozpadu peroxidů lipidů může vzniknout singletový kyslík (Marounek 2006). Pro organismus jsou nejdůležitější volné radikály kyslíku a dusíku; dalšími přeměnami z nich mohou vznikat jiné reaktivní látky, které však již nemají nepárový elektron (peroxid vodíku, kyselina chlorná). Tyto látky se spolu s volnými radikály označují společným názvem reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species, ROS) či dusíku (RNS) (Racek & Holeček 1998). K ROS patří superoxid, hydroxylový radikál, peroxy, hydroperoxy, peroxid vodíku, kyselina chlorná, ozon a singletový kyslík. Jako RNS označujeme oxid dusný, dusičitý, nitrosyl, nitroxid, peroxyinitrit, alkylperoxyinitrit (Nohel et al. 2011). Na jejich zvýšeném množství se také podílí strava a prostředí (znečištěné ovzduší, záření, cigarety, chemické látky, léky, pesticidy, průmyslová rozpouštědla) (Grycová 2013).

Na druhou stranu mají ROS v organismu důležitou funkci. Prekurzory a enzymy, které je dokážou generovat, jsou nahromaděny v různých typech bílých krvinek. Účastní se likvidace bakterií ve fagocytech, zneškodňují kvasinky, viry, parazity i nádorové buňky. V osteoklastech přispívají k odstraňování kostní hmoty, a tím umožňují průběžnou přestavbu kosti. Také se účastní průniku spermie do vajíčka, tedy usnadňují oplodnění (Rokyta et al. 2006).

### 3.3.3 Antioxidanty

Proti působení ROS existují v organismech ochranné mechanismy, jichž se zúčastňuje řada antioxidantů. Antioxidanty mohou zabráňovat vzniku řetězových radikálových reakcí, anebo přerušují již probíhající radikálové reakce. Přemění buď zachycené reaktivní formy na neradikálové formy, tedy na relativně stabilní radikály, nebo nabídnou volný elektron k jejich stabilizaci (Nohel et al. 2011). Mimo to svými účinky ovlivňují například funkci žláz

s vnitřní sekrecí, činnost jednotlivých orgánů i endotel lymfatických a žilních cest (zlepšují fyzikální vlastnosti cév žilního a lymfatického řečiště a snižují permeabilitu kapilár mízního řečiště), tlumí místní vznik prozánětlivých prostanoidů (prostaglandinů, leukotrienů) i vznik minizánětů vyvolaných volnými radikály, také zvyšují produkci imunoglobulinů třídy E (Nohel et al. 2011). Mezi antioxidanty neenzymové patří, některé vitaminy (například vitamin C, E), betakaroten, minerály, stopové prvky (například důležitý selen) (Grycová 2013). Rokyta et al. (2006) zmiňují i hormon melatonin nebo kyselinu močovou. Jako antioxidační funkci mohou mít i některé aminokyseliny. Cernei et al. (2014) uvádí, že zejména cystein, který má thiolovou skupinu a díky tomu nukleofilní vlastnosti, je nejvhodnější aminokyselinou pro vazby kovových iontů. Dále methionin, histidin nebo tryptofan. Cystein je i důležitou složkou metalothioneinů nebo glutathionu, proto mohou interagovat s kovy.

Enzymové antioxidanty můžeme dělit z hlediska toho, zda se uplatňují při tvorbě dalších ROS (NADPH-oxidasa, myeloperoxidasa, nitroxidsyntaza, xanthinoxidaza) nebo na zániku ROS či vzájemných přeměnách (Racek & Holeček 1999).

### **3.3.3.1 Superoxid dismutáza (SOD)**

SOD urychluje dismutaci superoxidu za vzniku peroxidu vodíku. Jedná se pravděpodobně o nejběžnější radikál, ze kterého mohou vznikat jiné nebezpečnější formy kyslíku, jako již zmíněný peroxid vodíku, hydroxylový radikál, peroxyinitrit či kyselina chlorná. Proto je důležité ho včas odbourat. Peroxid vodíku je dále odbourán pomocí katalázy či peroxidázy. Existují tři typy SOD, lišící se kofaktorem, kterým je atom kovu:  $Mn^{2+}$ SOD (v mitochondriích),  $Fe^{2+}$ SOD (extracelulární) a  $Cu^{2+}/Zn^{2+}$ SOD (v cytoplazmě). SOD se vyskytuje (až na pár výjimek) ve všech aerobních organismech.  $Cu/Zn$ SOD je z hlediska fylogeneze nejmladší a nachází se v buňkách vyšších eukaryotických organismů (rostlin i živočichů) (Racek & Holeček 1999).

### **3.3.3.2 Glutathion peroxidáza (GPx)**

Glutathion je tripeptid, celým názvem gama-glutamyl-cysteinyglycin. GSH má antioxidační funkci právě kvůli obsahu sulfhydrylové skupiny v přítomném cysteinu (Kopřiva 2011).

Racek a Holeček (1999) uvádějí, že peroxidázy jsou enzymy katalyzující redukci mnoha peroxidů na alkoholy. V živočišné i rostlinné říši je jich více druhů. Některé jsou nespecifické a oxidují více různých substrátů, jiné naopak potřebují jen specifický substrát. GPx katalyzují přeměnu peroxidu vodíku na vodu a zároveň oxidaci redukováného glutathionu (GSH) na oxidovanou formu glutathionu, který má disulfidový můstek (GSSG). Aby mohl enzym plynule odbourávat peroxid vodíku, musí být oxidovaná forma GSSG opět redukována na GSH, což zajišťuje glutathion reduktáza, která využívá koenzym NADPH.

Také u GPx existují tři typy, vyskytující se v různých místech buňky. Jedná se o cGPx (cytoplazmatická), eGPx v krevní plazmě (extracelulární). V aktivním místě mají aminokyselinu selenocystein. Posledním typem je pGPx (fosfolipidová) vázaná v membráně. Tento enzym redukuje nejen peroxid vodíku, ale na rozdíl od předchozích dvou typů i lipidové hydroperoxydy, které přeměňuje na hydroxylové deriváty lipidů. Tím chrání fosfolipidy buněčných membrán před lipoperoxidací (Racek & Holeček 1999). Odlišujeme také GPx nezávislou a závislou na selenu (Sáez & Están-Capell 2017).

### 3.3.3.3 Kataláza (CAT)

CAT patří mezi tetramerní hemoproteiny. Její funkcí je katalyzovat heterolytické štěpení dvou molekul peroxidu vodíku za vzniku kyslíku a vody. Působí ve vysokých koncentracích jen na peroxid vodíku, čímž se liší od peroxidáz, které oxidují ještě jiný substrát. CAT je enzym schopný kromě redukce, i oxidaci peroxidu vodíku, čímž se podstatně liší od peroxidáz (Matoušková et al. 2014).

### 3.3.3.4 Thioredoxinový systém

Thioredoxinový systém zahrnuje thioredoxin, peroxiredoxin a thioredoxin reduktázu. Tyto enzymy hrají důležitou roli v odbourávání peroxidu vodíku. Thioredoxin daruje elektrony peroxiredoxinu na odstranění peroxidu vodíku a zároveň thioredoxin reduktáza spolu s kofaktorem NADPH udržuje v redukovaném stavu thioredoxin (Pannala & Dash 2015).

Savčí buňky mají dva systémy thioredoxinu, a to cytosolický a mitochondriální. Thioredoxin reduktáza se dělí na tři isoformy: na cytosolickou, mitochondriální a thioredoxin glutathion reduktázu. Peroxiredoxiny zahrnují šest členů (Prx1–6) (Pannala & Dash 2015). Všechny tyto enzymy mají ve svém aktivním místě cystein. Kromě odstraňování peroxidu vodíku, ovlivňují i regulaci buněčné diferenciaci, proliferace či apoptózi a účastní se buněčné signalizace (Sáez & Están-Capell 2017).

## 3.4 Odpověď buňky na stres

Buněčná stresová reakce je reakce na změny extracelulárních podmínek, které poškozují strukturu a funkci makromolekul, přičemž různé stresory spouštějí různé buněčné reakce. Buňky reagují na stres různými způsoby, od aktivace cest pro přežití, až po vyvolání buněčné smrti (Fulda et al. 2010). Jakákoli odchylka od homeostáze může být pro buňky stresorem. Reakcí na stres může být vyvolání příslušných opravných mechanismů, vyvolání mechanismů pro dočasnou adaptaci na stres nebo, pokud toto nepomůže nastupuje autofágie nebo programovaná buněčná smrt (jako apoptóza, nekróza, pyroptóza). Neschopnost opravit poškození nebo dlouhodobé vystavení stresu může přispívat k buněčnému stárnutí. Dlouhodobé působení stresu může také vyvolat karcinogenezi (Milisav 2011). Stresové reakce mohou spouštět buňky nebo imunitní systém. Odpovědi z neimunitních buněk se označuje jako odpověď na intracelulární stres a zahrnuje odpověď na oxidační stres, tepelný šok (HSR), nesbalené proteiny (UPR), DNA poškození a autofáгии (Land 2018). Reakce buněk imunitních se označuje jako extracelulární stres a zahrnuje imunitní buňky (T a B lymfocyty) a cytokiny. Aby se mohly tyto odpovědi uskutečnit musejí být zapojeny příslušné geny a k tomu odpovídající transkripční faktory, v našem případě nejčastěji nukleární faktor Nf-kB. Tento faktor je důležitý pro růst a dělení buňky, zároveň ale se z něj proto může stát onkogen. Důležitým proteinem je p53, který chrání buňku před DNA poškozením a pomáhá s opravou již poškozené DNA. Dále reaguje na intracelulární stresory jako hypoxii, nízkou hladinu

glukózy nebo na některé toxiny. Funkce p53 spočívá tedy v regulaci genů pro zabránění buněčného dělení, zastavení buněčného cyklu a apoptózu, dokud nedojde k opravě poškození (Milisav 2011).

Odpověď na oxidační stres je zprostředkován, jak již bylo zmíněno výše, antioxidační obranou. HSR odpověď je indukovaná jakýmkoli stresory, které mohou způsobit špatné sbalování proteinů. Proti tomu zasahují proteiny tepelného šoku (HSP), které fungují jako prevence nebo reakce na již špatně vytvořené proteiny (Land 2018). Pokud dojde k nárůstu špatně složených proteinů na úkor chaperonů (HSP), dochází ke stresu endoplazmatického retikula (ER stres) a následně k indukci odpovědi UPR (unfolding protein response) (Milisav 2011). Tyto reakce mají vést k opětovnému navození homeostáze buňky. Podle stresu se tedy buňka rozhodne buď pro dráhy antiapoptické či proapoptické. Apoptózu zahájí indukci kaspázy nebo Bcl-2, která vyvolá membránovou permabilitu a uvolnění cytochromu c z mitochondrií. Pokud je narušen poměr mezi pro a anti apoptickými proteiny dochází k rezistenci k apoptóze, což může vyvolat karcinogenezi (Fulda et al. 2010). Rizikové prvky sami o sobě indukují stresové odpovědi, nebo buňka reaguje na poškození, které vyvolávají.

### **3.4.1 Odpověď na stres vyvolaný rizikovými prvky**

Jednou z možností, jak snížit možné riziko škodlivého účinku vyvolaného rizikovými prvky, je samotná regulace jejich množství a udržení homeostáze. To mají na starosti specifické transportéry, které transportují kovy dovnitř či pryč z buňky (Bird 2015). Existuje velké množství takových transportérů neboli iontových pump, které zprostředkovávají aktivní transport látek přes membrány za spotřeby ATP. Například skupina zinkových proteinových transportérů tzv. ZIP transportéry, jsou přítomny u rostlin, hub, prvoků a živočichů, mohou přenášet nejen zinek ale i mangan, železo i toxické kadmium (Guerinot 2000). Nebo ABC (ATP-binding cassette) transportéry jsou důležitou skupinou velkého množství proteinů, které byly nalezeny také jak u prokaryot, tak i eukaryot. Transportují různé biologické sloučeniny například léky, žlučové kyseliny, peptidy, steroidy, ionty, fosfolipidy a podílejí se na toleranci a detoxifikaci iontů kovů. K ABC transportérům patří protein MRP (multidrug resistance protein) nebo členy P-glykoproteinů (PGP-1 a PGP-3) (Ganguly 2018). Tyto proteiny mohou způsobit multidrogovou (mnohočetnou lékovou) rezistenci (MDR). Podobnost k ní má multixenobiotická rezistence (MXR), která byla pozorována převážně u vodních živočichů (Bard 2000). Takto rezistentní buňky mají různé mutace, zvyšující odolnost k léčivům či xenobiotikům. Je například snížena resorpce těchto látek buňkou, je urychlena biotransformace, rychlejší inaktivace a exkrece (Nosková et al. 2000). Při expozici RP (Cd, As, Hg, Cr) je v různé míře zvýšena či snížena exprese genů například pro ABC transportéry, které jsou aktivovány především transkripčním faktorem Nrf2, regulující antioxidační enzymy (aktivace genů abcc 2-4 kromě abcc1) (Torre et al. 2012). Důležitou rodinou jsou transportéry Nramp (natural resistance associated macrophage protein) přítomny v různých organismech od bakterií po člověka, transportující jak esenciální, tak toxické prvky. Nramp1 transportéry přenášejí kovy přes membránu makrofágů. Nramp2 transportér neboli DMT1 (divalent metal transporter) transportují kovy přes buňky duodema. Přenášejí hlavně železo ale také další dvojmocné kovy, jako Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Cd i Pb (Nevo & Nelson 2006).

Další možností, jak snížit toxicitu některých RP je pak tvorba komplexů s proteiny jako glutathion nebo metalothioneiny (Sandbichler & Höckner 2016). Aby měla buňka sílu se vůbec bránit je zapojeno mnoho mechanismů. Pro zajímavost zmíním, že za přítomnosti kadmia bylo pozorováno zvýšení produkce energie v mitochondriích, nebo naopak při utlumení mitochondriálního štěpení docházelo ke snížení degradace mitochondrií (Sandbichler & Höckner 2016). V epiteliálních buňkách myši byla pozorována zvýšená tvorba cytokeratinu, tvořící cytoskelet, jako ochrana před buněčnou smrtí indukovanou kadmiiem (Lau & Chiu 2007).

### 3.4.1.1 Indukce antioxidačních enzymů

Jak již bylo zmíněno, rizikové prvky podporují tvorbu reaktivních forem kyslíku. Na ochranu proti samotným RP nebo ROS jsou indukovány antioxidační enzymy. Sklálova et al. (2012) uvádí, že enzymová indukce je definována jako zvýšení aktivity specifického enzymu, pomocí zvýšení jeho syntézy nebo snížení jeho degradace. Indukce enzymů je závislá na prvotní zvýšené expresi genu pro určitý enzym. Regulaci genů zprostředkovávají nukleární receptory či transkripční faktory. Nukleární receptory po navázání ligandu v cytoplazmě aktivují transkripční kaskádu dějů, spouštějící expresi cílových genů v jádře. Transkripční faktory se po navázání specifického ligandu váží na regulační místo v promotorové oblasti cílového genu a zahajují transkripční aktivaci a přepis genetické informace do mRNA.

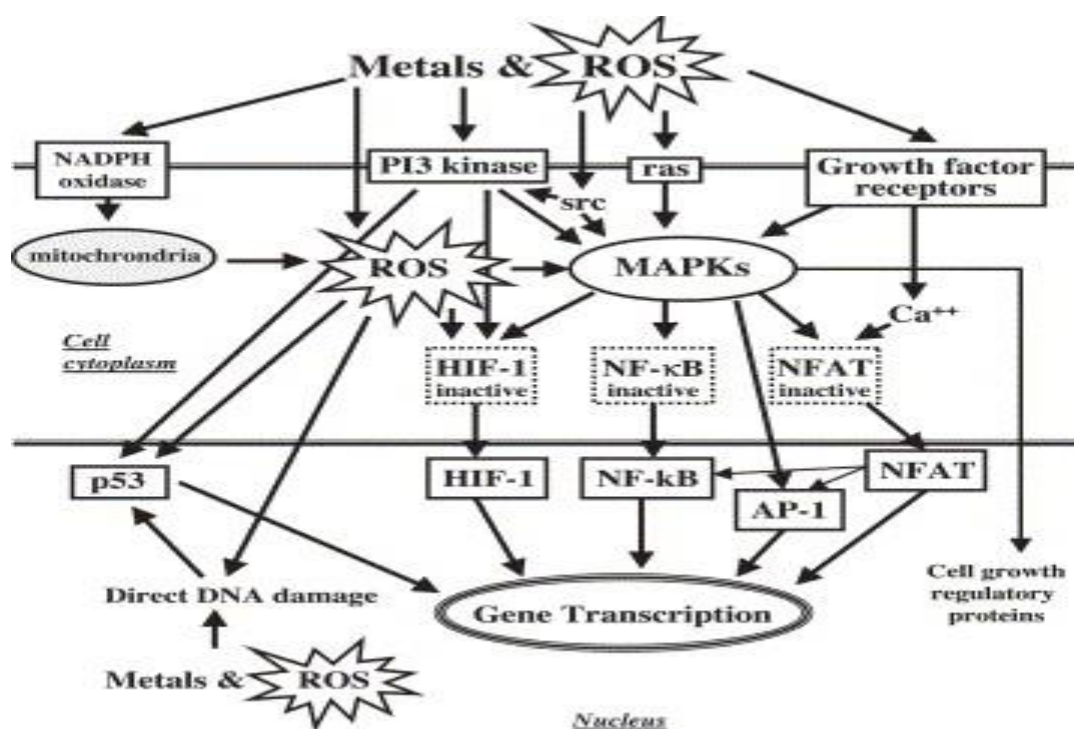
Například vysoké hladiny glutathionu jsou důležité pro ochranu buňky před oxidačním poškozením (Sun & Oberley 1996). Narušení hladin tohoto antioxidantu přítomností ROS nebo RP, způsobí aktivaci transkripčních faktorů, jako je nukleární faktor kappa B (NF- $\kappa$ B), aktivátorový protein 1 (AP 1), nukleární faktor aktivovaných T buněk (NFAT) a hypoxií indukovatelný faktor 1 (HIF1), které se podílejí na aktivaci genů pro buněčné přežití, proliferaci, stresovou odpověď i odpověď na zánětlivou reakci. Aktivace transkripčních faktorů je docílena signálními kaskádami, které přenášejí informace z extracelulárního do intracelulárního prostředí buňky (Birben et al. 2012). Při přítomnosti ROS jsou jejich prvním cílem tyrosinkinázové receptory na povrchu buňky, následně tyrozin fosfatázy nebo serin/threonin kinázy slouží jako dráhy pro vedení signálu a aktivují další signální dráhy v buňce. Všechny tyto dráhy vedou k aktivaci genů pro zánětlivou nebo antioxidační odpověď (Birben et al. 2012). Pro aktivaci genů jsou zde důležité dva nukleární faktory NF- $\kappa$ B a Nrf2.

**NF- $\kappa$ B** (nukleární faktor kappa B) je inhibován inhibítoem I $\kappa$ B. Následkem přítomnosti ROS je I $\kappa$ B fosforylován a odtržen od nukleárního faktoru, který se přesune do jádra, kde aktivuje geny s antioxidační funkcí. Kromě toho reguluje expresi geny pro imunitní, zánětlivou odpověď, buněčný růst a buněčnou smrt (Ward et al. 1996). Samotné RP mohou aktivovat ale i inhibovat tento faktor, a to interakcí s ním samotným nebo s I $\kappa$ B. Například za přítomnosti arsenu nebyla vyžadována degradace inhibitoru k aktivaci NF- $\kappa$ B nebo byl aktivován pomocí členů rodiny mitogenem aktivované protein kinázy (MAPK) (Chen & Shi 2002). Tento nukleární faktor může interagovat s Nrf2 tak, že se navzájem regulují (Lingappan 2018).

**Nrf2** (nuclear factor erythroid 2 related factor 2) je regulátorem buněčné resistance k oxidačnímu stresu, tím že také indukuje geny pro antioxidační odpověď. Nrf2 reguluje kromě

nich i enzymy I. a II. fáze (Shinkai & Kaji 2012) a také řídí expresi řady genů pro zánětlivou odpověď, růst buněk nebo buněčný cyklus. Tyto geny kódují například velké množství cytokinů, chemokinů, stresových proteinů, apoptotických nebo antiapoptotických proteinů a několik onkogenů (Chen & Shi 2002). Za normálních podmínek je nukleární faktor vázán na inhibitor Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) a tím inaktivován (Shinkai & Kaji 2012). Simmons et al. (2011) uvádí, že ROS nebo některé RP aktivují opět signalizační dráhy jako mitogenem aktivovanou protein kinázu (MAPK), protein kinázu C (PKC) a fosfatidylinositol 3 kinázu (PI3K), které fosforylují inhibitor nebo i samotný nukleární faktor, čímž ho aktivují. RP mohou navíc přímo aktivovat tento faktor redukcí sulfhydrylových skupin v inhibitoru. Aktivovaný nukleární faktor se dále přemísť do jádra, kde se naváže na element pro antioxidantní odpověď (ARE) umístěný na cílových genech pro antioxidantní enzymy.

U některých apoptotických proteinů byla také zjištěna role v antioxidantní obraně. Například gen Bcl-2 inhibuje buněčnou smrt, protože dokáže zabránit ztrátě cytochromu c z mitochondrií. Nebo že buňky s nadměrnou expresí tohoto genu mají vyšší hladiny glutathionu (Mirkovic et al. 1997). Také odpověď na nesbalené proteiny (UPR) zahájí aktivaci ochranných proteinů, jako například antioxidantních enzymů nebo proteinů potřebných k biosyntéze glutathionu (Fulda et al. 2010).

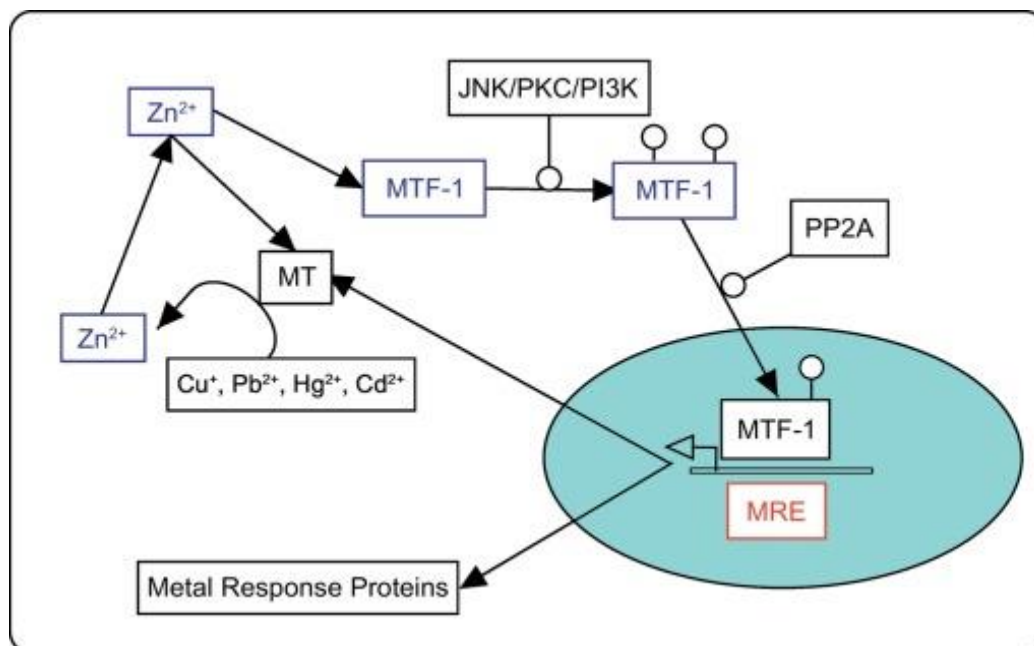


Obrázek 1: Indukce antioxidantních enzymů (Leonard et al. 2004)

### 3.4.1.2 Metalothioneiny

Metalothioneiny (MT) jsou důležité pro detoxifikaci rizikových prvků ale také slouží jako rezerva esenciálních kovů nebo jako regulátor transkripčních faktorů. Jejich indukci způsobují kromě RP také ROS, cytokiny i interferony (Vašák 2005). Dále jsou indukovány radiací, protirakovinovými léky nebo glutikortikoidy (Sato & Kondoh 2002). Existují čtyři typy metalothioneinů (MT-1 - MT-4). Přičemž MT-1 a MT-2 mají klíčovou roli v detoxifikaci kovů (Coyle et al. 2002). MT jsou rodinou malých, kov vázajících proteinů, bohatých na cystein, které za normálních okolností vážou zinek nebo měď. A snaží se udržet homeostázi zinku i za stresových situací (Sato & Kondoh 2002). Jinak mají ale vyšší afinitu k neesenciálním kovům, jako  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{1+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ , a  $\text{Pt}^{2+/4+}$ , které se mohou navázat místo zinku (Kägi & Kojima 1987). Pokud k tomu dojde, zinek se vyváže z komplexu MT, což aktivuje MTF-1 (metal-responsive transcription factor-1) (Irving & Williams 1953). Nebo také při zvýšení množství některého z kovů v buňce, je následně tento transkripční faktor v inaktivní stavu fosforylován a přemístí se do buněčného jádra, kde se naváže na MRE (metal responsive element) ležící na promotoru cílového genu a aktivuje transkripci genu pro MT (Smirnova et al. 2000).

Transkripční faktor kromě aktivace může naopak potlačit tvorbu některých tříd metalothioneinů interakcí s jinými transkripčními faktory (Grzywacz et al. 2015). MTF1 může být aktivován i odpovědí na tepelný stres (HSR) nebo nukleárním faktorem Nf-kB, které sami reagují na zvýšení některých rizikových prvků (Chen & Shi 2002) nebo možná až na poškození způsobené nebezpečnými prvky (Grzywacz et al. 2015). Bylo také zjištěno, že tento transkripční faktor neaktivuje jen MT ale také geny s antioxidační funkcí (Bonaventura et al. 2015). Hultberg et al. (1998) uvádí, že funkce MT je důležitá ale není tvořen ihned při přítomnosti RP, po tuto dobu slouží jako primární ochrana glutathionem.



Obrázek 2: Indukce metalothioneinů (Park & Jeong 2018)

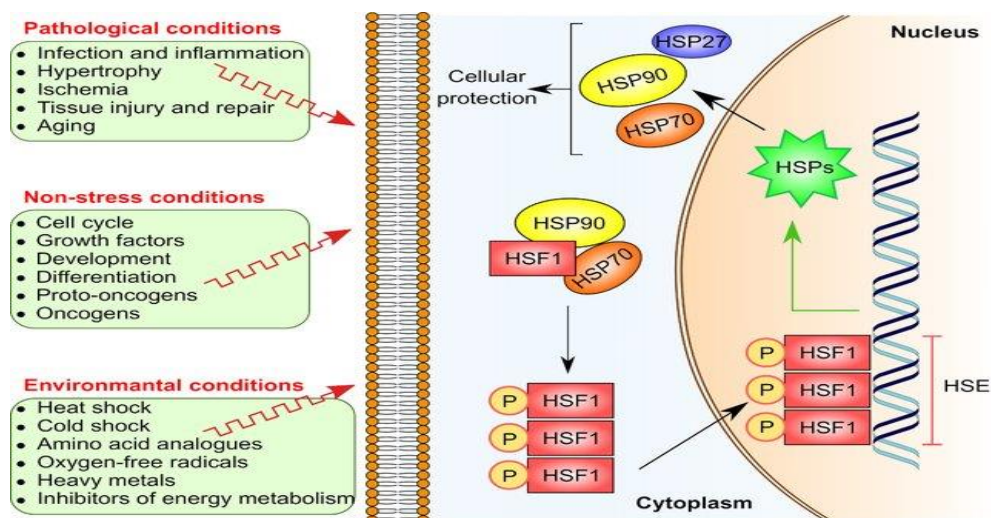


### 3.4.1.3 Chaperony

Chaperony slouží jako prevence nebo jako reakce na špatně sbalené proteiny, ke kterým může dojít při různých typech stresu (chlad, teplo, UV záření, ionizující záření, ROS, léky, rizikové prvky (Fulda et al. 2010). Patří sem HSP (heat shock protein) neboli stresové proteiny. Regulaci těchto proteinů má na starosti transkripční faktor HSF-1 (heat shock factor 1). Pokud se tento faktor aktivuje, přesune se do jádra, kde se naváže na HSE (heat shock element), umístěný na promotoru cílového genu a aktivuje ho (Vihervaara & Sistone 2014). Richter et al. (2010) dále uvádějí, že HSP (tedy HSP70 a HSP90) jsou tvořeny i za normálních okolností a pomáhají se správným složením nově tvořených proteinů. A také tyto dva proteiny inaktivují HSF-1 tím, že se na něj naváží, pokud není buňka vystavena stresu. Pokud k němu dojde, proteiny se odtrhnou od HSF-1 a aktivují geny pro odpověď na tepelný šok.

Buňky obratlovců mají různé HSF. Například HSF-1 je nezbytný pro reakci na tepelný šok a je také nutný pro vývojové procesy, HSF-2 a HSF-4 jsou důležité pro vývoj a diferenciaci buňky. Další HSF-3 se vyskytuje pouze v ptačích buňkách (Pirkkala et al. 2001). Proteiny tepelného šoku jsou pojmenovány a seskupeny do podskupin podle molekulových hmotností: 110, 90, 70, 60, 40, 30 a 15 kDa (Samali & Orrenius 1998). Zvláštním chaperonem je HSP32 neboli hemooxygenáza, protože má oproti jiným stresovým proteinům enzymatickou aktivitu. Degraduje hemoglobin na biliverdin a ten pak na bilirubin, který zabraňuje peroxidaci lipidů (Beyersmann & Hechtenberg 1997). Fulda et al. (2010) uvádí, že HSP chrání buňku buď přímo prostřednictvím inhibice cest buněčné smrti nebo nepřímo, interakcí s proteiny pro ochranu a přežití buňky. Například u Hsp27 i Hsp70 bylo prokázáno přímé blokování proapoptotických cest, včetně uvolnění cytochromu c z mitochondrií.

V reakci na RP byla zjištěna spolupráce mezi transkripčními faktory HSF-1 a MTF-1. MTF-1 ovlivňuje HSF-1 tak, že reguluje jeho schopnost spouštět transkripci cílových genů, naopak HSF-1 nijak neovlivňuje MTF-1 (Saydam et al. 2003). Ovelgönne et al. (1995) doplňuje, že zvýšená exprese MTF-1 způsobil snížení exprese HSF-1 v případě expozice zinku, naopak při přítomnosti kadmia, MTF-1 zvýšil expresi HSP70.



Obrázek 3: Indukce proteinů tepelného šoku (Hoter & Naim 2019)



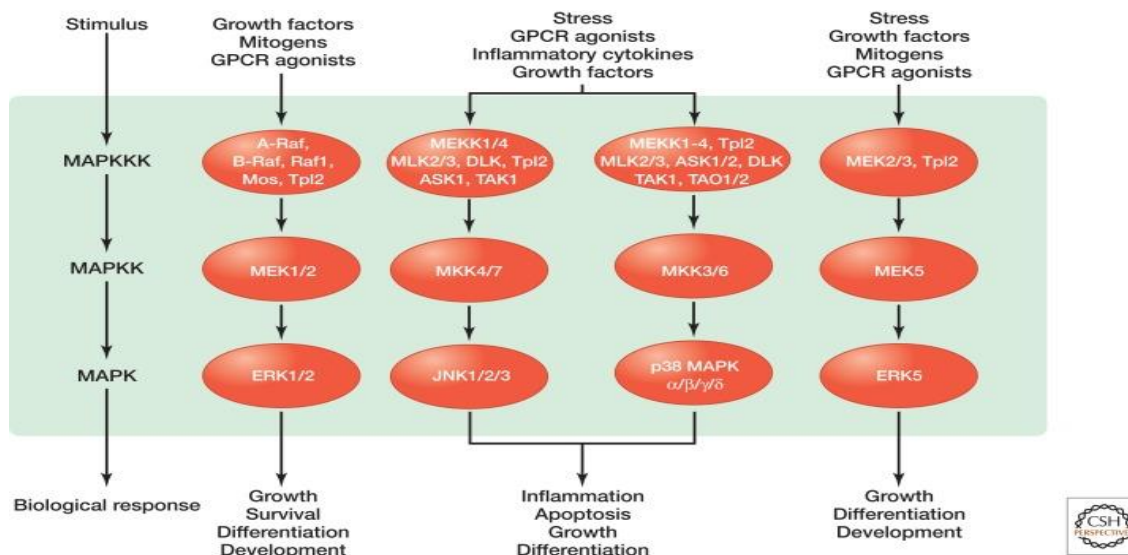
### 3.4.1.4 GRP proteiny

V endoplazmatickém retikulu se nově vznikající proteiny skládají do svých přirozených formací. Procházejí posttranslačním zpracováním, včetně glykosylaci, tvorby disulfidových vazeb nebo oligomerizace. Pokud je buňka vystavena stresovým faktorům, jako je nedostatek glukózy, porucha homeostázy vápníku, přítomnost ROS nebo rizikových prvků, dochází opět ke špatně sbaleným proteinům (Schröder & Kaufman 2005). Endoplazmatické retikulum je hlavním zásobníkem vápníku pro buňku a při vstupu RP, jako je kadmium, se tato homeostáze naruší. Vstup kadmia je celkem snadný, protože má spolu s vápníkem jednak stejné oxidační číslo a také podobnou strukturu. Ionty kadmia ( $\text{Cd}^{2+}$ ) se naváží místo vápníku ( $\text{Ca}^{2+}$ ) na vápníkové pumpy, tím vstupují do buňky a poškozují endoplazmatické retikulum (Sandbichler & Höckner 2016). Následně dojde k hromadění rozložených proteinů v endoplazmatickém retikulu (ER stres). Na to reagují různé ochranné proteiny ale i dráhy pro apoptózu. Tento jev je pojmenován jako odpověď na nesbalené proteiny (Unfolding Protein Response, UPR) (Schröder & Kaufman 2005). Tato odpověď dočasně utlumí tvorbu proteinů a zároveň aktivuje tři hlavní transkripční faktory ATF4, ATF6 a XBP1, které zapojí příslušné geny pro stresovou odpověď (Jennings 2013). Dochází také k aktivaci nukleárního faktoru Nf-kB (Deng et al. 2004).

Mezi stresové proteiny (chaperony) endoplazmatického retikula, a tedy hlavní pro odpověď UPR, patří glukózou regulované proteiny (GRP), plní podobnou funkci jako proteiny tepelného šoku (HSP) (Fulda et al. 2010). Jsou to například GRP94 nebo GRP78, které byly identifikovány jako proteiny vážící vápník a také slouží jako jeho zásobárny (Shinkai & Kaji 2012). Co se týče samotných RP bylo zjištěno, že přítomnost arsenu, olova a rtuti způsobila indukci stresových proteiny GRP78 a GRP94. V reakci na kadmium se zvýšil protein GRP78. (Rana 2020).

### 3.4.1.5 MAP kináza

Mitogenem aktivované proteinové kinázy (MAPK) jsou superrodinou evolučně konzervovaných kináz eukaryotických buněk. Podílejí se na mnoha různých buněčných procesech jako proliferace, diferenciace, přežití buněk či naopak apoptóze tím, že indukují příslušné geny. Je rozdělena do tří rodin: ERK (extracellular signal regulated kinases), JNK (Jun amino-terminal kinases) a p38 MAPK/ SAPK (stress activated protein kinases). Každá kaskáda je iniciována specifickými extracelulárními podněty a vede k aktivaci konkrétní MAPK. Na stres reagují především JNK a p38 MAPK (Pejchal et al. 2009). Zahájení kaskády způsobí podnět z receptorů na povrchu buněk a následně dojde k fosforylaci MAPKKK (Morrison 2012). Aktivovaná MAPKKK dále fosforyluje MAPKK a ta dále fosforyluje tripeptid Thr-X-Tyr určité MAP kinázy (X je buď glutamát, prolin nebo glycin podle ERK/JNK/p38) (Cowan & Storey 2003). Aktivovaná MAPK fosforyluje různé substráty v cytosolu a jádru, které způsobí změny ve funkci proteinů a genové expresi, které provádějí příslušnou biologickou odpověď. I samotné rizikové prvky, jako kadmium nebo rtuť, aktivují dráhy ERK, JNK a p38 MAPK (Matsuoka & Igisu 2002).



Obrázek 4: Signální kaskáda členů rodiny MAPK (Morrison 2012)

### 3.5 Rozdíly v metabolismu helmintů

Metabolismus helmintů je především studován pro nalezení účinných anthelmintik. Pokud je rozdíl v metabolismu mezi hostitelem a parazitem, může se vytvořit látka na inhibici určitého detoxikačního enzymu, který není sám o sobě ani jeho metabolity škodlivý pro hostitele a parazit ho naopak sám není schopen metabolizovat (Precious & Barrett 1989). Mnoho detoxifikačních enzymů je také používáno jako antigeny pro rozpoznání přítomnosti parazita v těle nebo pro aktivaci imunitního systému hostitele. Jako například glutathion-S-transferáza při schizostomiáze (Brophy & Barrett 1990).

Hlavní obranou pro obratlovce proti těmto látkám jsou antioxidantní enzymy, které jsou přítomné především v játrech. Mnoho oxidačních reakcí je závislých na hemoproteinu cytochromu CYP 450. CYP 450 byl nalezen u rostlin, bakterií, hub, prvoků, ale u parazitických ani u volně žijících hístic (*Nematoda*) a ploštěnců (*Platyhelminthes*) zatím nebyl prokázán. To zřejmě omezuje jejich schopnost detoxifikace (Precious & Barrett 1989). Bylo navrženo několik teorií, které by vyřešily odpověď na absenci tohoto enzymu, zcela běžného u ostatních živočichů. Precious & Barrett (1989) uvádí možné příčiny. Například je možné, že absence CYP 450 u helmintů je adaptace na život uvnitř hostitele, který metabolizuje xenobiotika jako první a parazit metabolizuje látky až sekundárně. Nebo není potřeba pro endogenní reakce, protože hydroxylace a denaturace mastných kyselin (závislé na CYP 450, cytochrom b<sub>5</sub>) nebyla u helmintů zjištěna. Je také možné, že střevní helminté tyto proteiny postrádají, kvůli nízké koncentraci kyslíku ve střevě a CYP 450 je na kyslíku závislý. Ale i u volně žijících helmintů existují také výjimky, které nemají tento protein, a tak se může jednat jen o zvláštnost. Jerina & Daly (1973) naopak doplňují že absence těchto proteinů a oxidace ale může být výhodou, jelikož se při těchto reakcích tvoří řada volných radikálů a oxidů arenu, které mohou způsobit tkáňové poškození.

Parazitě mají omezenou schopnost metabolizovat xenobiotika v **1. fázi biotransformace** provádějí jen jednoduché redukční a hydrolyzační reakce (Barrett 1989). Oxidace byla zjištěna u škrkavky dětské (*Ascaris lumbricoides*) a tasemnice ovčí (*Moniezia expansa*) (Barrett 1989). Meunier & Meunier (1985) uvádějí, že tak jako u mikroorganismů nebo hmyzu existují reakce podobné k CYP 450, u helmintů by to mohla být peroxidáza, která je strukturálně podobná. Le Patourel & Wright (1974) doplňují, že alternativou v I. fázi je i sulfoxidace, která je u savců spojena s flavinovou monooxygenázou nebo s CYP 450, naopak u parazitů (*A. lumbricoides* a *M. expansa*) spíše spojována jen s flavinovou monooxygenázou. Douch & Gahagan (1977) zjistili, že redukcí jsou u parazitů metabolizovány azo a nitro sloučeniny. Munir & Barrett (1985) prokázali i redukcí aldehydů u tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) a hlístice *Heligmosomoides polygyrus*. Köhler & Bachmann (1981) u *H. polygyrus* a *A. lumbricoides* i redukcí některých ketonů.

Helminti mají omezené schopnosti i v **2. fázi biotransformace**. Zdá se, že pro parazity je zde nejdůležitějším enzymem GST. Zvláště u tasemnic a dvojrodých (Digenea), kteří mají tzv. nahý tegument byla zjištěna vysoká aktivita tohoto enzymu na rozdíl od hlístic (Brophy 1989). Brophy & Barrett (1990) dále uvádějí, že GST u helmintů je přítomna v různých izoenzymech ale nejsou biochemicky homologní k žádné ze tří rodin (Alpha, Mu, Pi) té savčí. Oproti savcům mají helminti nízkou hladinu mikrozomální GST a daleko více té cytosolické. U savců mezi nimi není takový rozdíl. GST váže velké množství anthelmintik, ale není jasný důkaz o tom, že je dokáže konjugovat s glutathionem jako je tomu u savců. Dále může vázat hydroperoxydy lipidů nebo reaktivní karbonyly po peroxidaci lipidů. Také je indukována volnými radikály z efektorových buněk hostitele. Lamoureux & Rusness (1987) uvádí, že konjugáty s GSH jsou často naopak silnými inhibitory GST a je málo studií, které potvrzují, zda je helminti dokážou dále metabolizovat nebo exkretovat. GST helmintů tak může mít imunopatogenní význam.

### 3.6 Ochranné a detoxifikační mechanismy střevních helmintů

Výše bylo popsán metabolismus helmintů, důležitý při základní ochraně před škodlivými xenobiotiky a jejich následné exkreci. V této kapitole budou popsány různé obranné mechanismy, zjištěné u střevních helmintů v souvislosti s přítomností rizikových prvků.

Nejprve je důležité popsat, jak se RP do helminta vůbec dostávají. Příjem kovů intestinálními parazity popisují Sures & Sidall (1999) tak, že si helminti neumí tvořit vlastní mastné kyseliny ani cholesterol, a tak je vstřebávají společně s organokovovými sloučeninami z lumen střev hostitele. Žlučové kyseliny jsou pro parazity potřebné k aktivaci jejich larvální fáze, zejména u cystakantů vrtejšů. Také posléze zvyšují absorpční schopnost v dospělém jedinci.

### 3.6.1 Ochrana helmintů před reaktivními formami kyslíku/dusíku

Helminti se v těle hostitele setkávají s mnoha různými toxickými látkami. Mezi ně patří škodlivé látky z potravy hostitele, které se vytvořily sekundárním metabolismem, dále hostitelem přijaté škodliviny z životního prostředí včetně těžkých kovů a samozřejmě anthelmintika (Barrett 1989). Střevní helminti musejí být odolní i před samotnými trávicími enzymy. Bylo zjištěno, že například boubele tasemnice kočičí (*Taenia taeniaeformis*) mají silný inhibitor trávicích enzymů jako jsou trypsin a chemotrypsin (Leid & Suquet 1986).

Velké nebezpečí spočívá v reaktivních formách kyslíku, produkovanými imunitním systémem (makrofágy, leukocyty, eozinofily), které jsou součástí i některých antiparazitárních vakcín. Velké množství antioxidantních enzymů helmintů tedy mohlo vzniknout v důsledku anaerobního prostředí nebo ochranou před ROS z hostitelského imunitního systému (Chiumiento & Bruschi 2009). Chiumiento & Bruschi (2009) dále uvádějí, že pokud by se ROS dostaly do kontaktu s povrchem helminta, došlo by k lipidové peroxidaci tvořící cytotoxické karbonyly, které by poškodily biologickou strukturu a mohly vézt ke smrti parazita. U helmintů s aerobním metabolismem, jako jsou střevní hlístice, se mitochondriální antioxidanty podílejí ne na obraně ale na výrobě energie.

Kromě toho mají antioxidantní enzymy i funkci útočnou a mohou tak poškozovat buňky hostitele. Například hlístice měchovec americký (*Necator americanus*) vypouští superoxid dismutázu při které, jak již bylo zmíněno, vzniká dismutací superoxidu peroxid vodíku. Katalázu netvoří, a tak peroxid vodíku poškozuje hostitelské imunitní buňky. Další důležitou ochrannou strategií je pro parazita schopnost modulovat imunitní odpovědi hostitele (Chiumiento & Bruschi 2009). Leid & Suquet (1986) uvádí, že byl dále nalezen proteazový inhibitor inhibující leukocytární odpověď hostitele. Podle Ansariho & Williamse (1976) parazit sice čelí efektorovým buňkám hostitele, ale ty se nezdaří být závažnou hrozbou pro parazita. Navíc jsou již po krátké době obranné reakce proti parazitovi výrazně potlačeny.

#### 3.6.1.1 Antioxidantní enzymy

Výzkumů týkající se tvorby antioxidantních enzymů helmintů v reakci na rizikové prvky, které mohou být příčinou zvýšené tvorby reaktivních forem, je málo. Výzkum na volně žijící hlístici háďátka obecném (*Caenorhabditis elegans*) potvrdil zvyšující hladinu katalázy se zvyšujícím se množstvím olova. Expres katalázového genu byla 3,7x ve vyšší míře v reakci na olovo (Vigneshkumar et al. 2013). Nicméně další nalezené antioxidantní enzymy byly popsány především při obraně proti ROS z hostitelského imunitního systému.

Bylo zjištěno, že každý druh parazita produkuje vlastní antioxidantní ochranu v různém množství ve srovnání s jinými parazity (Dzik 2006). Například hlístice *Heligmosomoides polygyrus* tvoří dvakrát více SOD a čtyřikrát více CAT a glutathion reduktázy než hlístice *Nippostrongylus brasiliensis*, proto také je *N. brasiliensis* ze střeva hostitele vyloučen asi za 10-12 dní po infekci, zatímco *H. polygyrus* umí ve střevě přežít několik měsíců (Smith & Bryant 1989). Obecně nejvíce enzymů produkují v invazivní fázi. Také v průběhu jednotlivých životních stádiích od larvy do dospělého parazité produkují různé množství enzymatických antioxidantů (Dzik 2006). Většinou méně enzymů produkují mladé formy parazitů než

dospělci, například mladá motolice jaterní (*Fasciola hepatica*) tvoří až 20x méně SOD a glutathion-S-transferázy než dospělec. Larvální stadia krevničky střešní (*Schistosoma mansoni*) netvoří SOD ani GPx (Mei & LoVerde 1997). Dospělec svalovce stočeného (*Trichinella spiralis*) má také daleko více antioxidantních enzymů než jeho larva, což ale není pro larvy nijak nebezpečné, protože jsou chráněny antioxidantními enzymy dospělců. Navíc během larválního stádia nejsou rozpoznány hostitelskými buňkami a neútočí na ně (Bass & Szejda 1979). Naopak enzymatická schopnost SOD u *Nippostrongylus brasiliensis* klesá, čím je parazit starší (Batra et al. 1993).

Callahan et al. (1988) uvádí, že obecně u helmintů jsou nejčastější obranou proti ROS enzymy jako SOD nebo peroxiredoxiny. Naopak běžný enzym u savců, jako na selenu závislá GPx, nebyla zatím nalezena u hlístic. CAT je zjištěna jen u několika málo parazitů. Například Kotze & McClure (2001) popisují tento enzym u vlasovky slezové (*Haemonchus contortus*) nebo Eckelt et al. (1998) u škrkavky prasečí (*Ascaris suum*). Níže jsou uvedeny antioxidantní enzymy, které byly zjištěny u jednotlivých zástupců motolic, tasemnic a hlístic.

## **Motolice**

U krevničky střešní (*S. mansoni*) byly nalezeny dva typy SOD, a to cytosolická Cu/Zn SOD a membránová (extracelulární) jednopeptidová SOD (SP-SOD). CAT u ní nalezena nebyla ale nízká aktivita GPx ano, a to nejvíce v jejím tegumentu (Mkoji et al. 1988). Dospělci také tvoří PRX a vajíčka vylučují thio-redoxin (TRX), společně tyto enzymy pomáhají vajíčkům přežít útok ROS od hostitele (Alger et al. 2002). Nejprodukovanějším enzymem je GST, které je 10x více než SOD a 100x více než GPx (Mei & LoVerde 1997). U motolice jaterní (*Fasciola hepatica*) se tvoří také dva typy SOD, jak cytosolická (Cu/Zn SOD), tak extracelulární (Kim et al. 2000). Ochranu proti peroxidu vodíku zprostředkovává hlavně PRX. Protože, stejně jako u krevničky střešní, u motolice jaterní také nebyla zjištěna tvorba CAT. Ochranu proti peroxidu vodíku zprostředkovává hlavně PRX (McGonigle et al. 1997). Dalšími důležitými enzymy jsou GST (Sexton et al. 1990) nebo TRX (Salazar-Calderon et al. 2000).

## **Tasemnice**

U tasemnice kočičí (*Taenia taeniaeformis*) byla nalezena Cu/Zn SOD (Leid and Suquet 1986). Salinas & Cardozo (1998) zjistili tvorbu thiol peroxidázy (TPx) a Salinas and Cardozo (2000) dále našli i oba typy SOD u měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*). Zatímco u měchožila bublinatého (*Echinococcus multicularis*) byla prokázána jen tvorba GST (Liebau et al. 1996). Cancela et al. (2019) uvádí, že se u měchožila zhoubného v reakci na peroxid vodíku netvořily antioxidantní enzymy jako SOD, PRX nebo TRX, jak by se dalo čekat. Zvýšenou tvorbu prokazovala GST a detoxifikační enzymy jako aldo, keto reduktáza nebo karbonyl reduktáza. Studie na tasemnici krysí (*Hymenolepis diminuta*) provedená Czechtovou et al. (2012) prokázala, že nejvyšší hladiny za přítomnosti ROS dosahovala GST. Dále i hladiny Cu/Zn SOD byly vysoké. Důležitý enzym při ochraně proti ROS byla i GPx, a to jak na selenu závislá, tak i na selenu nezávislá GPx spolu s glutathion reduktázou. GSH byl nejstabilnějším enzymem.

Bylo také zjištěno, že se hladiny antioxidantních enzymů liší v různých částech těla parazita. Ukázalo se, že nejvyšší hladiny GSH dosahovaly v gravidní děloze a nejnižší v nezralých proglotidech. Naopak MnSOD a na selenu nezávislá GPx měla nejvyšší hladiny v nezralých proglotidech. Na selenu závislá GPx byla přítomná ve všech částech těla v podobném množství. Cu/Zn SOD dosahovala nejvyššího množství ve všech částech těla v podobné míře. CAT byla u tasemnice krysí nalezena také ale jen v zanedbatelné míře (Czeczot et al. 2012). McGonigle et al. (1998) uvádí, že u tasemnice krysí je CAT odbourávající peroxid vodíku tvořena jen v malém množství a nejlepší alternativou je pravděpodobně PRX.

## Hlístice

Dospělý měchovec americký (*Necator americanus*) tvoří GST (Brophy & Pritchard 1994) a Cu/Zn SOD (Taiwo et al. 1999). CAT a GPx je u tohoto druhu přítomná jen v malém množství (Chiumiento & Bruschi 2009). *Nippostrongylus brasiliensis* a *Heligmosomoides polygyrus* mají vysoké množství CAT, přičemž *H. polygyrus* více (Smith & Bryant 1989). U *N. brasiliensis* byla dále prokázána GPx (Batra et al. 1990) i SOD (Batra et al. 1993). PRX byl nalezen u škrkavky prasečí (*Ascaris suum*) ve všech životních stádiích, která je pravděpodobně hlavním antioxidantním enzymem (Tsuji et al. 2000). Liebau et al. (1997) uvádí, že i GST je důležitým enzymem u tohoto parazita. Brophy et al. (1995) našli GST u hlístice *H. polygyrus*, přičemž uvádějí, že se ji tvoří v nadměrném množství během chronické infekce. Van Rossum et al. (2004) potvrdili GST také u vlasovky slezové (*Haemonchus contortus*). Svalovec stočený (*Trichinella spiralis*) tvoří Cu/Zn SOD. Enzym CAT nebyla prokázána ani u jedné z životních stádií tohoto parazita (Kazura & Meshnick 1984).

### 3.6.2 Metalothioneiny

Tyto proteiny byly nalezeny u rostlin, hub, bezobratlých i obratlovců. Důkazů o přítomnosti metalothioneinů (MT) u parazitů je však málo. Peterlová et al. (2007) při pokusu na okounovi říčním (*Perca fluviatilis*) a jeho parazitech vrtejších *Acanthocephalus lucii* a *Acanthocephalus anguillae* při expozici olova, potvrzuje tvorbu MT u obou parazitů, přičemž u *A. lucii* (asi o 10 %) více oproti druhému parazitovi. Navíc MT vrtejších dosahovaly vyšších hladin (až o 15%), oproti gonádám jejich hostitele. Dále byl MT zkoumán a potvrzen pouze u neparazitické volně žijící hlístice háďátka obecného (*Caenorhabditis elegans*) za přítomnosti kadmia (Slice et al. 1990). Höckner et al. (2011) uvádí, že u háďátka se tvoří dva typy MT (MT1 i MT2). MT1 je nejvíce tvořen v hlitanu a pravděpodobně slouží jako sensor pro esenciální nebo toxické kovy. MT2 má za normálních podmínek zanedbatelnou roli, ale v přítomnosti nějakého kovu se začne, stejně jako MT1, silně tvořit ve střevě. Radtke et al. (1995) uvádí, že zatím nebyl nalezen transkripční faktor MTF-1. Ale na promotoru genu *Cemtl-2* byl přítomen MRE (metal responsive element), a tak je možné, že právě ten zastává roli MTF-1. Vigneshkumar et al. (2011) také potvrdil u háďátka reakci na olovo u obou typů MT1 i MT2, přičemž MT1 se tvořil v daleko vyšší míře.

### 3.6.3 Fytochelatiny

Oproti většině živočichů mají někteří parazité navíc fytochelatiny, které by mohly podobnou funkcí doplňovat metalothioneiny, které byly potvrzeny, jak již bylo zmíněno, jen u málo druhů parazitů.

Fytochelatiny jsou tvořeny z glutaminu, cysteinu a glycinu a váží kovy jako Cd, As, Hg, Ag, Zn a Cu pomocí thiolových skupin cysteinu (Cobbett & Goldsbrough 2002). Tyto thilové skupiny jsou u bezobratlých využívány jako biomarkery kontaminace těžkých kovů. Poprvé byly objeveny v kvasinkách *Schizosaccharomyces pombe* (Merlos et al. 2014). Dále byly popsány u rostlin, řas, hub, bakterií, mikroorganismů a u několika živočichů (např. z kmene kroužkvců, měkkýšů, žahavců nebo ploštěnců) (Bundy & Kille 2014). Ale ne u všech živočichů byla zjištěna přímá souvislost s detoxifikací kovů (Merlos et al. 2014).

Kromě detoxifikace kovů pomáhají vázat xenobiotika s glutathionem. Tvorbu těchto kov vázajících peptidů katalyzuje enzym fytochelatin syntáza (PCS) z GSH (Rigouin et al. 2013a). Na rozdíl od MT není sekvence PCS geneticky kódována. Také proto se MT mohou vyskytovat v několika izoformách, které mají odlišnou afinitu k určitým iontům kovů naopak PCS, které nejsou geneticky kódovány váží všechny ionty kovů stejně (Kägi 1991).

Gen kódující PCS nazván *ce-pcs-1* byl nalezen u volně žijící hlístice *Caenorhabditis elegans* a podle výzkumu zprostředkovává detoxifikaci kadmia (Vatamaniuk et al. 2001). Nalezeny u ní byly tři typy PCS (PCS2, PC3, PC4), přičemž PCS2 byl tvořen v nejvyšší míře (Schwartz et al. 2010). Nicméně jiný výzkum ukázal, že pro háďátka byl daleko důležitější ABC transporter (CeHMT-1), protože při odstranění jeho genu byla pozorována vyšší citlivost na kov než při odstranění genu *ce-pcs-1* pro PCS (Vatamaniuk et al. 2005).

Gen pro PCS (SmPCS) byl dále nalezen u krevničky střešní (*Schistosoma mansoni*) ve všech životních stádiích, přičemž nejvíce v samičí dospělé formě. Byla potvrzena zvýšená exprese PCS v reakci na xenobiotika i na RP, a to až 5x více v reakci na železo a měď, 3x více na kadmium a v malé míře také na zinek. Také při pokusu vložit gen SmPCS z krevničky do kvasinky, se zvýšila její tolerance na kov při expozici kadmia z 50  $\mu$ M na 1000  $\mu$ M (Ray & Williams 2011). Naopak výzkum na tomto parazitu provádějící Rigouin et al. (2013a) ukázal, že přítomnost kadmia nemá na tvorbu fytochelatinů žádný vliv. Podle Rigouin et al. (2013a) je tento enzym spíše spojen s udržováním homeostáze kovů a xenobiotik než přímo s detoxifikací. Protože při zvýšení hladiny tohoto enzymu dále došlo i k expresi několika dalších genů účinkujících v metabolismu GSH (GST26, GST28,  $\gamma$ -glutamyl transferáza,  $\gamma$ -glutamylcystein syntáza) (Rigouin et al. 2013a). Rigouin et al. (2013b) objevili gen PCS v dalším parazitovi, a to měchovci *Ancylostoma ceylanicum* (AcePCS), u kterého byl také potvrzen ve všech stádiích a také nejvíce u dospělce, ale samčího pohlaví. U tohoto parazita ale nebyla potvrzena přímá schopnost regulace kovů a ani zvýšení jeho hladiny v reakci na kadmium. Geny pro PCS byly dále objeveny u hlístic: vlasovky slezové (*Haemonchus contortus*), měchovci americkém (*Necator americanus*), *Heligmosomoides polygyrus* a škrkavky prasečí (*Ascaris suum*), u tasemnic: měchožilu zhoubném (*Echinococcus granulosus*), měchožilu bublinatém (*Echinococcus multilocularis*) a tasemnici dlouhočlenné *Taenia solium* a u motolice *Clonorchis sinensis*. Tyto geny naopak nebyly potvrzeny u studovaných hlísticích *Parascaris unvalens*, háďeti střešním (*Strongyloides stercoralis*) tenkohlavci lidském (*Trichuris trichiura*) a svalovci stočeném (*Trichinella spiralis*) (Rigouin et al. 2013b).



### 3.6.4 Membránové transportéry

Aktivní transport látek pomocí membránových transportérů je důležitý jak pro rostliny, tak pro živočichy. U parazitů jsou tyto transportéry studovány opět hlavně pro vývoj účinných anthelmintik, protože kromě jejich funkce transportovat látky do buňky a ven, jsou u parazitů spojovány s problémem rezistence vůči anthelmintikům. Jako u lékové rezistence, zde také dochází k zvýšení tvorby určitých enzymů nebo k zvýšení či snížení exprese některého z transportérů v reakci na určitý lék. Anebo k mutaci určitých genů, které opět způsobí odolnost vůči některým anthelmintikům tím, že je zvýšena či snížena exprese genů pro nějaký enzym nebo právě transportér (Kellerová et al 2019). U parazitů byly nalezeny a zkoumány ABC transportéry jako již zmíněné P-glykoproteiny a multidrogové rezistentní proteiny (MRP).

U modelového neparazitického háďátka *Caenorhabditis elegans* byly detekovány čtyři homologní geny k savčímu P-glykoproteinu a MRP a to *pgp-1, 2, 3, 4* a *mrp-1, 2, 3, 4*. Podle výzkumu jsou geny *pgp-1* a *pgp-3* důležité pro rezistenci k lékům i rezistenci k těžkým kovům, jako kadmium a arsen, protože při pokusu laboratorně odstranit geny *pgp-1* a *mrp-1*, došlo k úmrtí parazita asi za 1-2 dny, zatímco háďátka bez laboratorního zákroku žili až 6 dní (Broeks et al. 1996). Homology k savčím P-glykoproteinům byly popsány také u motolic *Schistosoma mansoni* (geny SMDR1, SMDR2), *Fasciola hepatica* (FhMDR1), *Fasciola gigantica* a hlístice *Haemonchus contortus* (Kumkate & Chunchob 2008) a tasemnice *Echinococcus granulosus* (Kerboeuf et al. 2003) ale u všech byly popsány bohužel jen za přítomnosti anthelmintik.

Smyth et al. (2006) popsali homologní gen k dalšímu savčímu kovovému transportéru DMT1 (divalent metal transporter 1) v reakci na železo u krevničky *Schistosoma mansoni* pojmenovaný SmDMT1A. U krevničky střešní byl exprimován ve vajíčkách, miracidíích, cercáriích, schistozostomulách a dospělcích, zatímco SmDMT1B byl exprimován ve všech výše uvedených stádiích kromě miracidíí. SmDMT1B se také vyskytuje v nižších hladinách než SmDMT1A ve vajíčkách a cercáriích. U dospělců je lokalizován nejvíce v tegumentu, což naznačuje, že je přes tento transportér získáváno železo a udržována jeho homeostáze.

### 3.6.5 Proteiny tepelného šoku

Parazité stejně jako ostatní živočichové jsou během života vystaveni mnoha stresorům, proto jsou pro ně obranné mechanismy jako proteiny tepelného šoku nezbytné. U parazitů byly zjištěny velké i malé proteiny tepelného šoku (small, sHSP) o hmotnost 15-30 kDa, které se mezi sebou u různých druhů sekvenčně liší ale sekundární a terciální struktura je stejná. Někteří členové sHSP jsou spojovány s  $\alpha$  krystalinem (HSP28) obratlovců (Pérez-Morales & Espinoza 2015). Podle zvýšené exprese HSP genů za stresových podmínek, nemají tyto proteiny ani u parazitů pouze funkci ochrannou před špatně sbalenými proteiny (tzv. molekulární chaperony), ale také přímo reagují na stresové situace (Pérez-Morales & Espinoza 2015).

U některých parazitů byla zjištěna reakce sHSP pouze na určitý typ stresoru. Jako například u hlístice *Ostertagia ostertagi*, u které byl zjištěn gen OoHSP18. Tento protein reagoval na teplotní stres ale už ne na peroxid vodíku nebo anthelmintikum (Vercauteren et al. 2007).



Arizono et al. (2011) našli u hlístice *Nippostrongylus brasiliensis* zvýšenou expresi genu Nb-HSP12.6 v reakci na imunitní odpověď hostitele. Wu et al. (2007) našli gen Ts-sHSP u svalovce stočeného (*Trichinella spiralis*) a jeho exprese se zvýšila při působení chladu i tepla. Vargas-Prada et al. (2000) zase potvrdily zvýšenou hladinu HSP na stres z chladu (4 °C) i tepla (43 °C) u tasemnice dlouhočlenné (*Taenia solium*) a tasemnice *Taenia crassiceps*. U *T. crassiceps* se za tepelného stresu tvořily nejvíce HSP80, HSP70 a HSP60. Po delší době i další HSP o malé molekulové hmotnosti 27, 31, 33 a 38 kDa. Na chlad reagovaly HSP31 a HSP80. U tasemnice dlouhočlenné byly zaznamenány zvýšené hladiny HSP80 a HSP70 v reakci na teplo.

U některých parazitů mohou být různé členové HSP tvořeni specificky pro různá stadia vývoje, což má pravděpodobně roli při adaptaci na nové stresové podmínky (Pérez-Morales & Espinoza 2015). Například hlístice *Nippostrongylus brasiliensis* má dva geny, kódující členy sHSP (Nb-HSP20 a NbHSP12.6) a jejich exprese se liší mezi jednotlivými stadii vývoje. Nb-HSP20 je detekován v dospělých jedincích a ve vajíčkách, ale není v žádném z larválních stadií (Tweedie et al. 1993). Arizono et al. (2011) naproti tomu uvádějí, že Nb-HSP12.6 se nachází u larev L3 a dospělých, ale ne ve vajíčkách ani v larvách L1 nebo L2. *Schistosoma mansoni* tvoří stresový protein p40 nejvíce ve vajíčkách a miraciích a v menším množství v dospělých (Nene et al. 1986). U hlístice *Trichinella spiralis* byla exprese genu Ts-sHSP nejvyšší u larev 28-48 hodin po infekci, u dospělých byla sice nižší, ale pořád dosti vysoká. Naopak u nově vylíhlých larev nebyla exprese skoro detekovatelná (Wu et al. 2007). U hlístice *Ostertagia ostertagi* byl protein více tvořen v dospělých oproti larvám (Vercauteren et al. 2007). Gen Fh-HSP35 $\alpha$  byl exprimován v embryu motolice *Fasciola hepatica*, přičemž se hladiny zvyšují ve vajíčku 9. den vývoje a stoupají se stářím vajíčka (Moxon et al. 2010). Geny Sra-HSP-17.1 a Sra-HSP17.2 byly nalezeny u hlístice *Strongyloides ratti*, přičemž nejvíce u dospělých samic (Younis et al. 2011).

sHSP parazitů mají kromě obranné funkce i jinou funkci, a to jako cíl v imunitní odpovědi hostitele a slouží jako antigen. Dokážou indukovat určitou imunitní odpověď hostitele (je imunogenní). Například protein p40 motolice *Schistosoma mansoni* indukuje imunitní odpověď typu Th1 s aktivací IL-2 a interferon gama (IFN- $\gamma$ ) u myši (Pérez-Morales & Espinoza 2015). U některých sHSP parazitů nebyla ještě popsána funkce. Například p40-2 krevničky *S. mansoni* nebo Tsp36 tasemnice bezbranné (*Taenia saginata*). HSP20 vlasovky *Haemonchus contortus* nebyl regulován ani tepelným šokem ani vývojovými stadii parazita, narozdíl od příbuzných druhů (*Ostertagia ostertagi*, *Nippostrongylus brasiliensis*), u kterých byla tato schopnost proteinu prokázána (Pérez-Morales & Espinoza 2015).

Také tzv. velké HSP byly nalezeny u mnoha parazitů. Jeden z nich, HSP70, který je pravděpodobně nejběžnější u obratlovců, byl nalezen u motolice *Echinostoma friedi* při akutní i chronické infekční fázi a u motolice *Echinostoma caproni* měl schopnost imunogeneze. Tento protein byl nalezen i u motolice *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica* (Abaza 2014). Také u krevničky *Schistosoma mansoni* byl tvořen v miraciích, sporocystách, dospělých ale už ne v cercáriích ani v reakci na teplotní stres (42 °C) (Neumann et al. 1993). Dále krevnička tvořila i proteiny HSP86 a HSP60 v cercáriích. U hlístice *Strongyloides ratti* byl nalezen SrHSP60. HSP 60, 70 a 90 byly zase identifikovány u hlístice *Trichinella spiralis* (Abaza 2014). Měchožil *Echinococcus granulosus* také prokázal schopnost tvorby HSP70 v reakci na peroxid vodíku

Sures & Radzuweit (2007) pozorovali u cystakantu vrtejše kachního (*Polymorphus minutus*) zvýšeny hladiny HSP70 v reakci na přítomnost paladia.

Co se týče stresových proteinů endoplazmatického retikula tzv. glukózou regulované proteiny u helmintů, podařil se zjistit jen GRP78 u tasemnic *Echinococcus multilocularis* a *Echinococcus granulosus* (Mühlschlegela et al. 1995).

### 3.6.6 Protein p53

U neparazitického hád'átka *Caenorhabditis elegans* byl zjištěn homolog k savčímu proteinu p53, pojmenovaný cep-1. Mimo jiné stresové proteiny, tento protein pozitivně reagoval na přítomnost kadmia, olova i arsenu, přičemž nejvíce na kadmium (Roh et al. 2006). Funkce proteinu p53 by tedy mohla mít stejnou ochranou funkci jako u savců. Byl zaznamenán u motolic *Clonorchis sinensis* a *Schistosoma mansoni*. U tasemnice *Echinococcus multilocularis* byl také nalezen podobný protein pojmenovaný Emp53. Pokus o inhibici tohoto proteinu znamenal potlačení apoptózy při poškození DNA v larválním stádiu parazita (boubel). Při expozici peroxidu vodíku byl tento protein také zvýšen, což naznačuje, že se jedná o důležitý ochranný protein při oxidačním stresu potřebný k navození apoptózy následkem poškození DNA i u parazitů (Cheng et al. 2015).

### 3.6.7 MAP kináza

Při sledování obranných mechanismů v reakci na těžké kovy u hád'átka *Caenorhabditis elegans*, byla nalezena dráha KGB-1 podobná rodině mitogenem aktivované protein kináze (MAPK) obratlovců, přesněji k jednomu z jejích členů, a to JNK (c-Jun N-terminální kináza). Podle výzkumu zprostředkovává rezistenci k TK (Kim et al. 2004). Další signální dráha PMK1 podobná k p38 MAPK obratlovců, je potřebná k rezistenci vůči bakteriální infekci (Troemel et al. 2006). Také hraje roli v odpovědi na oxidační stres, protože fosforyluje transkripční faktor SKN1, který aktivuje příslušné geny pro antioxidační a detoxifikační odpověď (Inoue et al. 2005). Obě tyto dráhy během stresu komunikovaly, nebylo prozatím zjištěno přesně jak tato signalizace probíhá (Vigneshkumar et al. 2013). Při studii Vigneshkumar et al. (2013) našli také antimikrobiální gen *lys-7*, který hraje důležitou roli v rezistenci k bakteriím. Ze všech studovaných genů byl jako jediný exprimován ve vysoké míře v reakci na stres vyvolaný olovem, v malé míře byl pak aktivován i gen *clec60* také odpovědný za obranu proti bakteriím. Studie dále ukázala, že enzym kataláza ovlivňuje gen *lys-7*, protože zvýšení hladin tohoto enzymu vyvolá zvýšenou expresi genu *lys-7*. Podle Mizuno et al. (2004) se také zdá, že i další dráhy jako MEK-1 a SEK-1 působí koordinovaně v reakci na expozici TK.

Gelmedin et al. (2008) zkoumaly dráhu EmMPK2 u boubele tasemnice *Echinococcus multilocularis*, ale jen při expozici anthelmintik. Jedná se opět o homolog k savčí dráze p38 MAPK. Vykazoval významně vyšší schopnost autofosforylace než u lidí. U této tasemnice byla prozatím nalezena kaskáda MAPKKK EmRaf a ERK podobné k již nalezené dráze MAPK EmMPK1 u tohoto parazita (Gelmedin et al. 2008).

## 3.6.8 Jiné

### 3.6.8.1 SKN1

Tento transkripční faktor byl nalezen bohužel jen u modelové hlístice *Caenorhabditis elegans*. SKN1 (protein skinhead-1) je důležitý pro udržení homeostáze, dlouhověkosti, dále pro embryonální vývoj a ochranu vůči oxidačnímu stresu (Blackwell et al. 2015). Jedná se o ortolog k savčímu nukleárnímu faktoru Nrf2 a stejně jako tento faktor, zprostředkovává detoxifikační, antioxidační odpověď a další ochranu buněk tím, že reguluje příslušné geny. Naopak tlumí geny, které snižují dlouhověkost a odolnost ke stresu (Oliveira et al. 2009). Podle VanDuyn et al. (2010) jsou tyto proteiny lokalizovány na neuronech a střevních buňkách. Při pokusu snížit expresi genu pro SKN1, byl pozorován vyšší výskyt neurodegenerace za přítomnosti methylrtuti.

SKN1 řídí i příslušné geny v odpovědi na špatně sbalené proteiny, a tak hraje důležitou roli v ochranně před stresem endoplazmatického retikula (Blackwell et al. 2015). Také byla snaha zjistit, jestli má tento protein svůj inhibitor, jako je tomu u Nrf2 obratlovců. Úspěšně se podařilo najít transkripční faktor WDR-23, který by tuto funkci splňoval (Choe et al. 2009).

### 3.6.8.2 Gen DAF-2

Jiný výzkum na hád'átku *Caenorhabditis elegans* prokázal, že geny DAF-2, AGE-1 a DAF-16 mohou být významnými proteiny při ochraně vůči stresu z těžkých kovů, zejména u kadmia a mědi. Jsou důležité při vývoji, regulaci stárnutí a dlouhověkosti (Baryte et al. 2001).

AGE-1 má být ortolog k fosfatidylinositol-3-OH kináze (PI3K) u obratlovců, která reguluje metabolismus, přežití buňky, proliferaci, diferenciaci a růst (naopak ale může tato kináza zapříčinit onkogenezi (Fruman et al. 2017)). DAF-16 je ortologem k transkripčním faktorům FOXO (forkhead box protein O). Aktivuje geny pro odpověď na oxidační stres a na xenobiotika, proteiny tepelného šoku, vrozenou imunitu, metabolismus nebo autofágii (Hesp et al. 2015). DAF-2 je ortologem k inzulinu podobný růstový faktor 1 (IGF1), který má důležitou roli v růstu, diferenciaci a přežívání buněk (Kučera et al. 2016). DAF2 tedy reguluje vývoj jedince, odpověď na oxidační stres, teplotní toleranci nebo toleranci k patogenům (Gami & Wolkow 2006).

Pro tento výzkum byly použity kmeny hád'átka, které mají mutace v genech DAF-2, DAF-16 a AGE-1. Z nichž především DAF-2 a AGE-1 zvýšily přežití jedinců při expozici kadmia a mědi oproti divoké formě hád'átka. V takto mutovaných jedincích byla zvýšena hladina metalothioneinů, přičemž nejvíce při mutaci DAF-2 oproti AGE-1. Mutace u DAF-16 nijak životaschopnost hád'átka nezlepšila (Baryte et al. 2001). Yan et al. (2017) našli gen DAF-2 u parazitické hlístice *Angiostrongylus cantonensis* (Acan-daf-2), parazitující v plicích tepnách krysy a potkanů a transgenozí tohoto genu do mutantního kmene *C. elegans* zjistili podobnou funkci. Exprese tohoto genu byla naměřena nejvíce v larválním stádiu L3 a zaznamenali ji jen ve střevech parazita, zatímco u hád'átka byla exprese nalezena i v neuronech.

Tento gen byl také objeven u hlístic *Haemonchus contortus*, u kterého byla zvýšena činnost tohoto genu v larvě L3 (Li et al. 2014) a stejně tomu tak bylo i u *Strongyloides*

*stercoralis* (Massey et al. 2014) dále byl objeven u *Ascaris suum*, *Parastrongyloides trichosuri* a *Trichinella spiralis* (Yan et al. 2017). U těchto parazitů byla exprese genu pozorován jen při vývoji parazitů, tzn. při jednotlivých stádiích parazitů. U háďátka má tento gen důležitou funkci při pozastavení vývoje a vytvoření jeho larvy dauer za nepříznivých a stresových podmínek, aby byl chráněn. Je zde hypotéza, že parazitickým hlísticím tento gen nejvíce pomáhá při pozastavení vývoje při infekčním larválním stádiu L3 ve vnějším prostředí, kde musí také odolávat nepříznivým podmínkám. Tato L3 je podobná larvě dauer tím, že nepřijímají potravu a jsou rezistentní ke stresu vnějšího prostředí (Hotez et al. 1993).

## 4 Závěr

Ochranné a detoxifikační mechanismy jsou nezbytné pro všechny organismy. U obratlovců, především u savců, jsou daleko prozkoumanější než u parazitů. U parazitů jsou tyto mechanismy zkoumány především pro vytvoření účinných anthelmintik. U helmintů bylo provedeno daleko méně výzkumů, týkajících se reakcí přímo na rizikové prvky. Nicméně podle dostupných informací o mechanismech, které mají souvislost s ochrannou funkcí vůči těmto prvkům, bylo u helmintů oproti obratlovcům, zjištěno několik rozdílů. Některé detoxifikační a ochranné mechanismy překvapivě chybí anebo nebyly zatím zjištěny. Některé jsou přítomny u mnoha druhů jak obratlovců, tak bezobratlých a jsou tzv. evolučně konzervovány. Jiné mechanismy jsou homologní k těm u obratlovců a plní tedy podobnou funkci.

Co se týče metabolismu helmintů, vyskytují se určité rozdíly oproti obratlovcům. Mají omezené schopnosti biotransformace xenobiotik v I. i II. fázi. Například cytochrom CYP 450 důležitý a běžně se vyskytující enzym u savců v I. fázi nebyl u helmintů potvrzen. Protože se ale jedná o parazity žijící v anaerobním prostředí, může se jednat pouze o jejich adaptaci a alternativou k cytochromu může být například peroxidáza. Z II. fáze je pravděpodobně nejdůležitější glutathion S transferáza (GST). U helmintů je vytvořena účinná antioxidační ochrana, která je adaptací na podmínky, ve kterých žijí. Jelikož čelí velkému množství reaktivních forem od imunitního systému hostitele, produkují antioxidační enzymy již jejich vajíčka. Jsou zde ale také rozdíly, například jeden z běžných enzymů kataláza u obratlovců se tvoří pouze u pár druhů helmintů. Také jsou rozdíly v tvorbě různých typů enzymů u různých skupin helmintů i mezi jednotlivými životními stádii. Co se týče metalothioneinů opět zcela běžných u savců, je zajímavé, že se potvrdily pouze u pár parazitů. Zajímavý je výskyt fytochelatinů u některých helmintů, které jsou známé především u rostlin. Mohli by tak nahrazovat možnou absenci metalothioneinů. I když některé výzkumy nepotvrdily přímou schopnost detoxifikace rizikových prvků. Dalším detoxifikačním mechanismem jsou membránové transportéry, nezbytné k udržování homeostáze rizikových prvků. Jedná se například o P-glykoproteiny nebo divalentní kovové transportéry (DMT1).

Velké i malé proteiny tepelného šoku (HSP) jsou naopak přítomné u mnoho druhů helmintů, také u nich reagují na různé typy stresorů. Navíc se tvoří různě v jednotlivých životních stádiích jedince a slouží tedy také jako adaptace na nové podmínky. Další důležité proteiny, jako p53 nebo mitogenem aktivovaná protein kináza (MAPK), byly nalezeny a zkoumány opět pouze u pár druhů, ale zdá se, že plní podobnou funkci jako u obratlovců, což je zabránění karcinogeneze. Poslední zmiňovaný transkripční faktor SKN1, který má být ortologem k nukleárnímu faktoru Nrf2 a gen DAF2 (ortolog k IGF1) byly zatím zkoumány v reakci na těžké kovy jen na neparazitickém háďátku *Caenorhabditis elegans*. Nicméně, protože se potvrdila jejich důležitá ochranná funkce, mohou být předmětem dalších výzkumů. Závěrem lze tedy říct, že se každý živočišný druh setkává s mnoha nebezpečnými látkami z vnějšího prostředí, na které musí být schopen reagovat, proto není zas tak překvapivé, že se u široké škály druhů vyvinuly podobné ochranné mechanismy. Některé rozdíly u střevních mechanismů můžeme vysvětlit tak, že se jedná o adaptaci na jejich parazitický způsob života. Nicméně pro celkový přehled a porozumění způsobu ochrany střevních helmintů vůči rizikovým prvkům je potřeba více výzkumů.

## 5 Literatura

Abaza SM. 2014. Heat shock proteins and parasitic diseases: Part 1. *Parasitologists United Journal* **7**(2): 93-103. DOI: 10.4103/1687-7942.149556.

Alger HM, Sayed AA, Stadecker MJ. 2002. Molecular and enzymatic characterisation of *Schistosoma mansoni* thioredoxin. *International Journal for Parasitology* **32**(10): 1285-1292. DOI: 10.1016/S0020-7519(02)00108-X.

Ansari A, Williams JF. 1976. The Eosinophilic Response of the Rat to Infection with *Taenia taeniaeformis*. *The Journal of Parasitology* **62**(5): 728-736. DOI: 10.2307/3278951.

Arizono N, Yamada M, Tegoshi T, Takaoka Y, Ohta M, Sakaeda T. 2011. Hsp12.6 Expression Is Inducible by Host Immunity in Adult Worms of the Parasitic Nematode *Nippostrongylus brasiliensis*. *PLoS ONE* **6**(3) (e18141) DOI: 10.1371/journal.pone.0018141.

Babička L. 2017. Toxicky významné látky v potravinách. Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, Praha. ISBN: 978-80-88019-28-2.

Bard SM. 2000. Multixenobiotic resistance as a cellular defense mechanism in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology* **48**(4): 357-389. DOI: 10.1016/S0166-445X(00)00088-6.

Barrett J. 1989. Detoxification Reactions in Parasitic Helminths. Pages 109-114 in Bennet E, Behm C a Bryant Ch, editors. *Comparative Biochemistry of Parasitic Helminths*. Springer, Dordrecht. Dostupné z: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-0833-8\\_9#citeas](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-0833-8_9#citeas)

Barsyte D, Lovejoy DA, Lithgow GJ. 2001. Longevity and heavy metal resistance in *daf-2* and *age-1* long-lived mutants of *Caenorhabditis elegans*. *The FASEB Journal* **15**(3): 627-634. DOI: 10.1096/fj.99-0966com.

Bass DA, Szejda P. 1979. Mechanisms of killing of newborn larvae of *Trichinella spiralis* by neutrophils and eosinophils. Killing by generation of hydrogen peroxide in vitro. *Journal of Clinical Investigation* **64**(6): 1558-1564. DOI: 10.1172/JCI109616.

Batra S, Singh SP, Gupta S, Katiyar JC, Srivastava VM. 1990. Reactive oxygen intermediates metabolizing enzymes in *Ancylostoma ceylanicum* and *Nippostrongylus brasiliensis*. *Free Radical Biology and Medicine* **8**(3): 271-274. DOI: 10.1016/0891-5849(90)90074-s.

Batra S, Srivastava JK, Gupta S, Katiyar JC, Srivastava VM. 1993. Role of reactive oxygen species in expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* from rats. *Parasitology* **106**: 185-192. DOI: 10.1017/s0031182000074989.

Beyersmann D, Hechtenberg S. 1997. Cadmium, Gene Regulation, and Cellular Signalling in Mammalian Cells. *Toxicology and pharmacology* **144**: 247-261.

Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal* **5**(1): 9-19. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.

- Bird AJ. 2015. Cellular sensing and transport of metal ions: implications in micronutrient homeostasis. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **26**(11): 1103-1115. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2015.08.002.
- Blackwell TK, Steinbaugh MJ, Hourihan JM, Ewald CY, Isik M. 2015. SKN-1/Nrf, stress responses, and aging in *Caenorhabditis elegans*. *Free Radical Biology and Medicine* **88**: 290-301. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.008.
- Bonaventura P, Benedetti G, Albarède F, Miossec P. 2015. Zinc and its role in immunity and inflammation. *Autoimmunity Reviews* **14**(4): 277-285. DOI: 10.1016/j.autrev.2014.11.008.
- Brodie, BB, Maickel, PP. 1961. *International Pharmacology Meeting* **6**: 299-324.
- Broeks A, Gerrard B, Allikmets R, Dean M, Plasterk RH. 1996. Homologues of the human multidrug resistance genes MRP and MDR contribute to heavy metal resistance in the soil nematode *Caenorhabditis elegans*. *The EMBO Journal* **15**(22): 6132-6143. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1996.tb01001.x.
- Brophy PM, Barrett J. 1990. Glutathione transferase in helminths. *Parasitology* **100**(2): 345-349. DOI: 10.1017/S0031182000061369.
- Brophy PM, Ben-Smith A, Brown A, Behnke JM, Pritchard DI. 1995. Differential expression of glutathione S-transferase (GST) by adult *Heligmosomoides polygyrus* during primary infection in fast and slow responding hosts. *International Journal for Parasitology* **25**(5): 641-645. DOI: 10.1016/0020-7519(94)00151-D.
- Brophy PM, Pritchard DI. 1994. Parasitic helminth glutathione S-transferases: an update on their potential as targets for immunotherapy and chemotherapy. *Experimental Parasitology* **79**(1): 89–96. DOI: 10.1006/expr.1994.1067.
- Bundy JG, Kille P. 2014. Metabolites and metals in Metazoa – what role do phytochelatin play in animals? *Metallomics* **6**(9): 1576–1582. DOI: 10.1039/c4mt00078a.
- Callahan HL, Crouch RK, James ER. 1988. Helminth anti-oxidant enzymes: a protective mechanism against host oxidants? *Parasitology Today* **4**(8):218-225. DOI: 10.1016/0169-4758(88)90162-7.
- Cancela M., Paes, JA, Moura H, Barr JR, Zaha A, Ferreira H. 2019. Unraveling oxidative stress response in the cestode parasite *Echinococcus granulosus*. *Scientific Reports* **9**(1): 15876. DOI: 10.1038/s41598-019-52456-3.
- Cernei N, Heger Z, Zítka O, Vojtěch A, Kizek R. 2014. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies* **3**: 49-52.
- Cobbett C, Goldsbrough P. 2002. Phytochelatin and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual Review of Plant Biology* **53**: 159–182. DOI: 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135154.

Cowan KJ, Storey KB. 2003. Mitogen-activated protein kinases: new signaling pathways functioning in cellular responses to environmental stress. *The Journal of Experimental Biology* **206**(7):1107-1115. DOI: 10.1242/jeb.00220.

Coyle PJC, Philcox LCC, Roffe AM. 2002. Metallothionein: the multipurpose protein. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* **59**(4): 627-647. DOI:10.1007/s00018-002-8454-2.

Czczot H, Skrzycki M, Majewska M, Podsiad M, Salamatin R, Grytner-Ziecina B. 2012. Enzymatic antioxidant system in the cestode *Hymenolepis diminuta* after chronic infection of the rat. *Open Life Sciences* **7**(6): 987-995. DOI: 10.2478/s11535-012-0087-3.

DeGagné J, Fortier M, Chevalier G, Fournier M. 2006. Cellular response of mouse splenocytes to heavy metals exposure. *Toxicological & Environmental Chemistry* **88**(2): 235-258. DOI:10.1080/02772240500333756.

Deng J, Lu PD, Zhang Y, Scheuner D, Kaufman RJ, Sonenberg N, Harding HP, Ron D. 2004. Translational Repression Mediates Activation of Nuclear Factor Kappa B by Phosphorylated Translation Initiation Factor 2. *Molecular and Cellular Biology* **24**(23): 10161-10168. DOI: 10.1128/MCB.24.23.10161-10168.2004.

Douch PGC. Gahagan HM. 1977. *Xenobiotica* **7**: 301-307.

Dzik JM. 2006. Molecules released by helminth parasites involved in host colonization. *Acta Biochimica Polonica* **53**(1): 33-64. DOI: 10.18388/abp.2006\_3361.

Eckelt VH, Liebau E, Walter RD, Henkle-Dürsen K. 1998. Primary sequence and activity analyses of a catalase from *Ascaris suum*. *Molecular Biochemical Parasitology* **95**(2): 203-214. DOI: 10.1016/s0166-6851(98)00092-9.

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): 529-39. DOI: 10.2174/1568026013394831.

Fruman DA, Chiu H, Hopkins BD, Bagrodia S, Cantley LC, Abraham RT. 2017. The PI3K Pathway in Human Disease. *Cell* **170**(4): 605-635. DOI: 10.1016/j.cell.2017.07.029.

Fulda S, Gorman AM, Hori O, Samali A. 2010. Cellular Stress Responses: Cell Survival and Cell Death. *International Journal of Cell Biology* **2010**: 1-23. DOI: 10.1155/2010/214074.

Gami MS, Wolkow CA. 2006. Studies of *Caenorhabditis elegans* DAF-2/insulin signaling reveal targets for pharmacological manipulation of lifespan. *Aging Cell* **5**(1): 31-7. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2006.00188.x.

Ganguly B. 2018. Half-molecule ABC transporters and heavy metal detoxification in animals. Pages 89-98 in Gautam A, Pathak Ch, editors. *Metallic Contamination and Its Toxicity*. Daya publishing house, Nové Dilli.



Gelmedin V, Caballero-Gamiz R, Brehm K. 2008. Characterization and inhibition of a p38-like mitogen-activated protein kinase (MAPK) from *Echinococcus multilocularis*: Antiparasitic activities of p38 MAPK inhibitors. *Biochemical Pharmacology* **76**(9): 1068-1081. DOI: 10.1016/j.bcp.2008.08.020.

Gibson GG, Skett P. 1986. *Introduction to Drug Metabolism* Chapman and Hall. Springer, New York. DOI: 10.1007/978-1-4899-3188-7.

Girotti AW. 1985. Mechanisms of lipid peroxidation. *Journal of free radicals in biology & medicine*. **1**(2):87-95. DOI: 10.1016/0748-5514(85)90011-x.

Grycová L. 2013. Volné radikály, antioxidanty. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/volne-radikaly-antioxidanty/>.

Grzywacz. 2015. Metal responsive transcription factor 1 (MTF-1) regulates zinc dependent cellular processes at the molecular level. *Acta Biochimica Polonica*: **62**(3): 491-498. DOI: 10.18388/abp.2015\_1038.

Guerinot ML. 2000. The ZIP family of metal transporters. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1465**(1-2): 190-198. DOI: 10.1016/S0005-2736(00)00138-3.

Hendrick JP, Hartl F. 1993. Molecular Chaperone Functions of Heat-Shock Proteins. *Annual Review of Biochemistry* **62**(1): 349-384. DOI: 10.1146/annurev.bi.62.070193.002025.

Hesp K, Smant G, Kammenga JE. 2015. *Caenorhabditis elegans* DAF-16/FOXO transcription factor and its mammalian homologs associate with age-related disease. *Experimental Gerontology* **72**: 1-7. DOI: 10.1016/j.exger.2015.09.006.

Höckner M, Dallinger R, Stürzenbaum SR. 2011. Nematode and snail metallothioneins. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* **16**(7): 1057-1065. DOI: 10.1007/s00775-011-0826-3.

Holeček V. 2010. Oxidační stres u nádorových onemocnění. *Klinická biochemie a metabolismus* **18**(4): 225–230.

Hotez P, Hawdon J, Schad GA. 1993. Hookworm larval infectivity, arrest and amphiparatensis: the *Caenorhabditis elegans* Daf-c paradigm. *Parasitology of Today* **9**(1): 23-26.

Hultberg B, Andersson A, Isaks A. 1998. Alterations of thiol metabolism in human cell lines induced by low amounts of copper, mercury or cadmium ions. *Toxicology* **126**(3): 203-212. DOI: 10.1016/S0300-483X(98)00016-X.

Chen F, Shi X. 2002. Signaling from toxic metals to NF-kappaB and beyond: not just a matter of reactive oxygen species. *Environmental Health Perspectives* **110**(5): 807-811. DOI: 10.1289/ehp.02110s5807.

- Cheng Z, Zhu S, Wang L, Liu F, Tian H, Pengsakul T, Wang Y. 2015. Identification and characterisation of Emp53, the homologue of human tumor suppressor p53, from *Echinococcus multilocularis*: its role in apoptosis and the oxidative stress response. *International Journal for Parasitology* **45**(8): 517-526. DOI: 10.1016/j.ijpara.2015.02.010.
- Chiumiento L, Bruschi F. 2009. Enzymatic antioxidant systems in helminth parasites. *Parasitology Research* **105**(3): 593-603. DOI: 10.1007/s00436-009-1483-0.
- Choe KP, Przybysz AJ, Strange K. 2009. The WD40 repeat protein WDR-23 functions with the CUL4/DDB1 ubiquitin ligase to regulate nuclear abundance and activity of SKN-1 in *Caenorhabditis elegans*. *Molecular Cellular Biology*. **29**(10): 2704-2715. DOI: 10.1128/MCB.01811-08.
- Inoue H, Hisamoto N, An JH, Oliveira RP, Nishida N, Blackwell TK, Matsumoto K. 2005. The *C. elegans* p38 MAPK pathway regulates nuclear localization of the transcription factor SKN-1 in oxidative stress response. *Genes & Development* **19**(19): 2278-2283. DOI: 10.1101/gad.1324805.
- Irving H, Williams RJP. 1953. The stability of transition-metal complexes. *Journal of Chemical Society*: 3192-3210. DOI: 10.1039/JR9530003192.
- Jakoby WB. 1980. *Enzymatic Basis of Detoxication* **1**: 1-6.
- Jennings P. 2013. Stress response pathways, toxicity pathways and adverse outcome pathways. *Archives of Toxicology* **87**(1): 13-14. DOI: 10.1007/s00204-012-0974-4.
- Jerina, DM, Daly, JW. 1973. Arene Oxides: A New Aspect of Drug Metabolism. *Science* **185**: 573-582. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/1738950?seq=1>
- Kafka Z, Punčochářová J. 2002. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy* **96**: 611-617.
- Kägi JHR, Kojima Y. 1987. Chemistry and Biochemistry of Metallothionein. *Experientia Supplementum* **52**: 25-61. DOI: 10.1007/978-3-0348-6784-9\_3.
- Kägi JHR. 1991. Overview of metallothionein. *Methods In Enzymology* **205**: 613–626. DOI: 10.1016/0076-6879(91)05145-L.
- Kazura JW, Meshnick SR. 1984. Scavenger enzymes and resistance to oxygen-mediated damage in *Trichinella spiralis*. *Molecular Biochemical Parasitology* **10**(1): 1–10. DOI: 10.1016/0166-6851(84)90013-6.
- Kellerová P, Matoušková P, Lamka J, Vokřál I, Szotáková B, Zajíčková M, Pasák M, Skálová L. 2019. Ivermectin-induced changes in the expression of cytochromes P450 and efflux transporters in *Haemonchus contortus* female and male adults. *Veterinary Parasitology* **273**: 24-31. DOI: 10.1016/j.vetpar.2019.07.006.

- Kerboeuf D, Blackhall W, Kaminsky R, von Samson-Himmelstjerna G. 2003. P-glycoprotein in helminths: function and perspectives for anthelmintic treatment and reversal of resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents* **22**(3): 332-346. DOI: 10.1016/S0924-8579(03)00221-8.
- Kim DH, Liberati NT, Mizuno T, Inoue H, Hisamoto N, Matsumoto K, Ausubel FM. 2004. Integration of *Caenorhabditis elegans* MAPK pathways mediating immunity and stress resistance by MEK-1 MAPK kinase and VHP-1 MAPK phosphatase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**(30): 10990–10994. DOI: 10.1073/pnas.0403546101.
- Kim HS, Kim YJ, Seo YR. 2015. An Overview of Carcinogenic Heavy Metal: Molecular Toxicity Mechanism and Prevention. *Journal of Cancer Prevention*. **20**(4): 232-240. DOI:10.15430/JCP.2015.20.4.232.
- Kim TS, Jung Y, Na BK, Kim KS, Chung PR. 2000. Molecular cloning and expression of Cu/Zn-containing superoxide dismutase from *Fasciola hepatica*. *Infection and Immunity* **68**: 3941–3948. DOI: 10.1128/IAI.68.7.3941-3948.2000.
- Knejzlík Z, Káš J, Ruml T. 2000. Mechanismus vstupu xenobiotik do organismu a jejich detoxikace. *Chemické listy* **94**: 913-918.
- Kohler, P, Bachmann, R. 1981. *Molecular and Biochemical Parasitology* **4**: 325-336.
- Kopřiva V. 2011. Glutathion-aktuální biomolekula. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/GLUTATHION.pdf>
- Kotze AC, McClure SJ. 2001. *Haemonchus contortus* utilises catalase in defence against exogenous hydrogen peroxide in vitro. *International Journal for Parasitology* **31**(14): 1563–1571. DOI: 10.1016/S0020-7519(01)00303-4.
- Kučera R, Topolčan O, Pecen L, Šimánek V. 2016. IGF1 (insulin-like growth factor 1), základní charakteristika, signální dráha, závislost na věku a pohlaví. *Klinická biochemie a metabolismus* **24**(1): 4-19.
- Kumkate S, Chunchob S. 2008. Expression of ATP-binding cassette multidrug transporters in the giant liver fluke *Fasciola gigantica* and their possible involvement in the transport of bile salts and anthelmintics. *Molecular and Cellular Biochemistry* **317**(1-2): 77-84. DOI: 10.1007/s11010-008-9833-2.
- Lamoureux GL, Rusness DG. 1987. Synergism of diazinon toxicity and inhibition of diazinon metabolism in the house fly by tridiphane: Inhibition of glutathione S-transferase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **27**(3): 318-329. DOI: 10.1016/0048-3575(87)90061-7.
- Land WG. 2018. Cell-Autonomous (Cell-Intrinsic) Stress Responses. Pages 377-426 in Land WG, editor. *Damage-Associated Molecular Patterns in Human Diseases*. Springer, DOI: 10.1007/978-3-319-78655-1\_18
- Lau AT, Chiu J. 2007. The Possible Role of Cytokeratin 8 in Cadmium-Induced Adaptation and Carcinogenesis. *Cancer Research* **67**(5): 2107-2113. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3771.

- Le Patourel GNJ, Wright DJ. 1974. Pesticide Biochemistry and Physiology **4**: 444-452.
- Leid RW, Suquet CM. 1986. A superoxide dismutase of metacestodes of *Taenia taeniaeformis*. *Molecular Biochemical Parasitology* **18**(3): 301–311. DOI: 10.1016/0166-6851(86)90087-3.
- Leonard SS, Harris GK, Shi X. 2004. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radical Biology and Medicine* **37**(12): 1921-1942. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.09.010.
- Liebau E, Eckelt VH, Wildenburg G, Teesdale-Spittle P, Brophy P, Walter RD, Henke-Dührsen. 1997. Structural and functional analysis of a glutathione S-transferase from *Ascaris suum*. *Biochemical Journal* **324**(2): 659-666. DOI: 10.1042/bj3240659.
- Liebau E, Müller V, Lucius R, Walter RD, Henke-Dührsen K. 1996. Molecular cloning, expression and characterization of a recombinant glutathione S-transferase from *Echinococcus multilocularis*. *Molecular Biochemical Parasitology* **77**(1): 49–56. DOI: 10.1016/0166-6851(96)02578-9.
- Lingappan K. 2018. NF- $\kappa$ B in oxidative stress. *Current Opinion in Toxicology* **7**: 81-86. DOI: 10.1016/j.cotox.2017.11.002.
- Linhart I. 2012. *Toxikologie: Interakce škodlivých látek s živými organismy, jejich mechanismy, projevy a důsledky*. VŠCHT, Praha. ISBN 978-80-7080-806-1.
- Marounek M. 2006. *Povaha a mechanismus účinku antioxidantů, význam ve výživě zvířat a lidí*. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha.
- Matoušková M, Ruttkay-Nedecký B, Kizek R. 2014. Antioxidační enzymy-biochemické markery oxidačního stresu. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies* **3**: 53—56.
- Matsuoka M, Igisu H. 2002. Effects of heavy metals on mitogen-activated protein kinase pathways. *Environmental Health and Preventive Medicine* **6**(4): 210-217. DOI: 10.1007/BF02897972.
- McGonigle S, Curley GP, Dalton JP. 1997. Cloning of peroxiredoxin, a novel antioxidant enzyme, from the helminth parasite *Fasciola hepatica*. *Parasitology* **115**:101–104. DOI: 10.1017/s0031182097001170.
- McGonigle S, Dalton JP, James ER. 1998. Peroxidoxins: A New Antioxidant Family. *Parasitology Today* **14**(4): 139-145. DOI: 10.1016/S0169-4758(97)01211-8.
- Mei H, LoVerde. 1997. *Schistosoma mansoni*: The Developmental Regulation and Immunolocalization of Antioxidant Enzymes. *Experimental Parasitology* **86**(1): 69-78. DOI: 10.1006/expr.1997.4150.
- Merlos MA, Michálek P, Kryštofová O, Zítka O, Adam V, Kizek R. 2014. The role of phytochelatins in plant and animals: A review. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies* **1**(4): 22-27.

Meunier G, Meunier B. 1985. Peroxidase-catalyzed O-demethylation reactions. Quinone-imine formation from 9-methoxyellipticine derivatives. *Journal of Biological Chemistry* **260**(19): 10576-10582. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)85124-4.

Milisav I. 2011. Cellular Stress Responses. Pages 215-232 in Wislet-Gendebien S, editors. *Advances in Regenerative Medicine*. University of Ljubljana, Slovinsko. Dostupné z: <https://www.intechopen.com/books/advances-in-regenerative-medicine/cellular-stress-responses>

Mirkovic N, Voehringer DW, Story MD, McConkey DJ, McDonnell TJ, Meyn RE. 1997. Resistance to radiation-induced apoptosis in Bcl-2-expressing cells is reversed by depleting cellular thiols. *Oncogene* **15**: 1461–1470. DOI: 10.1038/sj.onc.1201310.

Mizuno T, Hisamoto N, Tereda T, Kondo T, Adachi M, Nishida E, Kim DH, Ausubel FM, Mtsumoto K. 2004. The *Caenorhabditis elegans* MAPK phosphatase VHP-1 mediates a novel JNK-like signaling pathway in stress response. *The EMBO Journal* **23**(11): 2226-2234. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600226.

Mkoji GM, Smith JM, Prichard RK. 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 DOI: 10.1016/0020-7519(88)90101-4.

Morrison DK. 2012. MAP Kinase Pathways. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **4**(11) (a011254) DOI: 10.1101/cshperspect.a011254.

Moxon JV, Lacourse EJ, Wright HA, Perally S, Prescott MC, Gillard JL, Barrett J, Hamilton JV, Brophy PM. 2010. Proteomic analysis of embryonic *Fasciola hepatica*: Characterization and antigenic potential of a developmentally regulated heat shock protein. *Veterinary Parasitology* **169**(1-2): 62-75. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.12.031.

Munir WA, Barrett, JB. 1985. *Parasitology* **19**: 145-156.

Mühlschlegela F, Froscha P, Castroa A, Apfelb H, Müllera A, Frosch M. 1995. Molecular cloning and characterization of an *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* stress protein homologous to the mammalian 78 kDa glucose regulated protein. *Molecular and Biochemical Parasitology* **74**(2): 245-250

Nene V, Dunne DW, Johnson KS, Taylor DW, Cordingley JS. 1986. Sequence and expression of a major egg antigen from *Schistosoma mansoni*. Homologies to heat shock proteins and alpha-crystallins. *Molecular and Biochemical Parasitology* **21**(2): 179-188. DOI: 10.1016/0166-6851(86)90021-6.

Neumann S, Ziv E, Lantner F, Schechter I. 1993. Regulation of HSP70 gene expression during the life cycle of the parasitic helminth *Schistosoma mansoni*. *European Journal of Biochemistry* **212**(2): 589-96. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1993.tb17697.x.

- Nevo Y, Nelson N. 2006. The NRAMP family of metal-ion transporters. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **1763**(7): 609-620. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2006.05.007.
- Nohel P, Rokyta R, Holeček V, Vlasák R. 2011. Oxidační stres, jeho stanovení, nemoci jím způsobené a jeho snižování antioxidanty. *Vesmír* **90**(6): 357.
- Nosková V, Hajdúch M, Mihál V, Cwiertka K. 2000. Mechanizmy mnohočetné lékové rezistence a jejich význam pro klinickou praxi I.: Typická MDR. *Klinická onkologie* **13**(2): 4-9.
- Oliveira RP, Abate JP, Dilks K, Landis J, Ashraf J, Murphy CT, Blackwell TK. 2009. Condition-adapted stress and longevity gene regulation by *Caenorhabditis elegans* SKN-1/Nrf. *Aging Cell* **8**: 524-541. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2009.00501.x.
- Ovelgönne J, Souren JEM, Wiegant FAC, Van Wijk R. 1995. Relationship between cadmium-induced expression of heatshock genes, inhibition of protein synthesis and cell death. *Toxicology* **99**(1-2): 19-30. DOI: 10.1016/0300-483X(94)02990-C.
- Pannala VR, Dash RK. 2015. Mechanistic characterization of the thioredoxin system in the removal of hydrogen peroxide. *Free Radical Biology and Medicine* **78**: 42-55 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.508.
- Park Ch, Jeong J. 2018. Synergistic cellular responses to heavy metal exposure: A minireview. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **1862**(7): 1584-1591 DOI: 10.1016/j.bbagen.2018.04.003.
- Pejchal J, Österreicher J, Zárybnická L, Šinkorová Z, Tichý A, Vávrová J. 2009. *Vojenské zdravotnické listy* **78**(4): 158-169.
- Pérez-Morales D, Espinoza B. 2015. The role of small heat shock proteins in parasites. *Cell Stress and Chaperones* **20**(5): 767-780. DOI: 10.1007/s12192-015-0607-y.
- Pirkkala L, Nykanen P, Sistonen L. 2001. Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond. *The FASEB Journal* **15**(7): 1118-1131. DOI: 10.1096/fj00-0294rev.
- Precious WY, Barrett J. 1989. Xenobiotic metabolism in helminths. *Parasitology Today*. **5**(5): 156-160. DOI: 10.1016/0169-4758(89)90080-X.
- Racek J, Holeček V. 1999. Enzymy a volné radikály. *Chemické listy* **93**: 774-780.
- Radtke F, Georgiev O, Muller HP, Brugnera E, Schaffner W. 1995. Functional domains of the heavy metal-responsive transcription regulator MTF-1. *Nucleic Acids Research* **23**(12): 2277-2286.
- Rana SVS. 2020. Endoplasmic Reticulum Stress Induced by Toxic Elements—a Review of Recent Developments. *Biological Trace Element Research* **196**(1): 10-19. DOI: 10.1007/s12011-019-01903-3.

- Ray D, Williams DL. 2011. Characterization of the phytochelatin synthase of *Schistosoma mansoni*. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **5**(5) (e1168). DOI: 10.1371/journal.pntd.0001168.
- Rigouin C, Nylin E, Cogswell AA, Schaumlöffel D, Dobritzsch D, Williams DL, Dalton JP. 2013a. Towards an Understanding of the Function of the Phytochelatin Synthase of *Schistosoma mansoni*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **7**(1) (e2037) DOI: 10.1371/journal.pntd.0002037.
- Rigouin C, Vermeire JJ, Nylin E, Williams DL. 2013b. Characterization of the phytochelatin synthase from the human parasitic nematode *Ancylostoma ceylanicum*. *Molecular and Biochemical Parasitology* **191**(1): 1-6. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2013.07.003.
- Richter K, Haslbeck M, Buchner J. 2010. The Heat Shock Response: Life on the Verge of Death. *Molecular Cell* **40**(2): 253-266 [cit. 2021-01-23]. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.10.006.
- Roh JY, Lee J, Choi J. 2009. Assessment of stress-related gene expression in the heavy metal-exposed nematode *Caenorhabditis elegans*: A potential biomarker for metal-induced toxicity monitoring and environmental risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**(11): 2946-2956. DOI: 10.1897/05-676R.1.
- Rokyta R, Holeček V, Stopka P. 2006. Volné radikály. *Vesmír* **85**(10): 617.
- Sáez GT, Están-Capell N. 2017. Sáez G.T., Están-Capell N. 2014. Antioxidant Enzymes in Schwab M, editor. *Encyclopedia of Cancer*. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-662-46875-3\_7210.
- Salazar-Calderon M, Nfartin-Alonso JM, Ruiz de Eguino AD, Casais R, Marin MS, Parra F. 2000. *Fasciola hepatica*: heterogenous expression and functional characterisation of a thioredoxin peroxidase. *Experimental Parasitology* **95**(1): 63–70. DOI: 10.1006/expr.2000.4495.
- Salinaz, Cardozo. 2000. *Echinococcus granulosus*: Heterogeneity and Differential Expression of Superoxide Dismutases. *Experimental Parasitology* **94**(1):56-9. DOI: 10.1006/expr.1999.4464.
- Samali A, Orrenius S. 1998. Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis. *Cell Stress and Chaperones* **3**(4): 228-236. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9880235/>
- Sandbichler A, Höckner M. 2016. Cadmium Protection Strategies—A Hidden Trade-Off? *International Journal of Molecular Sciences* **17**(2): 139. DOI: 10.3390/ijms17010139.
- Sato M, Kondoh M. 2002. Recent Studies on Metallothionein: Protection Against Toxicity of Heavy Metals and Oxygen Free Radicals. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* **196**(1): 9-22. DOI: 10.1620/tjem.196.9.
- Saydam N, Steiner F, Georgiev O, Schaffner W. 2003. Heat and heavy metal stress synergize to mediate transcriptional hyperactivation by metal-responsive transcription factor MTF-1. *J Biol Chem* **278**(34): 31879-31883. DOI: 10.1074/jbc.M302138200.

Sexton JL, Milner AR, Panaccio M, Waddington J, Wijffels G, Chandler D, Thompson C, Wilson L, Spithill TW, Mitchell G et al. 1990. Glutathione S-transferase: novel vaccine against *Fasciola hepatica* infection in sheep. *Journal of Immunology* **145**(11): 3905–3910. DOI: 10.1016/S0020-7519(01)00303-4.

Shinkai Y, Kaji T. 2012. Cellular Defense Mechanisms against Lead Toxicity in the Vascular System. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **35**(11): 1885-1891. DOI: 10.1248/bpb.b212018.

Schröder M, Kaufman RJ. 2005. The mammalian unfolded protein response. *Annual Review of Biochemistry* **74**(1): 739-789. DOI: 10.1146/annurev.biochem.73.011303.074134.

Schwartz MS, Benci JL, Selote DS, Sharma AK, Chen AG, Dang H, Fares H, Vatamaniuk OK. 2010. Detoxification of multiple heavy metals by a half-molecule ABC transporter, HMT-1, and coelomocytes of *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One* **5**(3) (e9564). DOI: 10.1371/journal.pone.0009564.

Simmons SO, Fan Ch, Yeoman K, Wakefield J, Ramabhadran R. 2011. NRF2 Oxidative Stress Induced by Heavy Metals is Cell Type Dependent. *Current Chemical Genomics* **5**: 1-12 DOI: 10.2174/1875397301105010001.

Skálová L. a kolektiv. 2018. *Metabolismus léčiv a jiných xenobiotik*. Karolínium. Karlova Univerzita, Praha.

Slice LW, Freedman JH, Rubin CS. 1990. Purification, characterization, and cDNA cloning of a novel metallothionein-like, cadmium-binding protein from *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Biological Chemistry* **265**(1): 256-263.

Smirnova IV, Bittel DC, Ravindra R, Jiang H, Andrews GK. 2000. Zinc and Cadmium Can Promote Rapid Nuclear Translocation of Metal Response Element-binding Transcription Factor-1. *Journal of Biological Chemistry* **275**(13): 9377-9384. DOI: 10.1074/jbc.275.13.9377.

Smith NC, Bryant C. 1989. The effect of antioxidants on the rejection of *Nippostrongylus brasiliensis*. *Parasite Immunology* **11**(2): 161-167. DOI: 10.1111/j.1365-3024.1989.tb00656.x.

Smyth DJ, Glanfield A, McManus DP, Hacker E, Blair D, Anderson GJ, Jones MK. 2006. Two Isoforms of a Divalent Metal Transporter (DMT1) in *Schistosoma mansoni* Suggest a Surface-associated Pathway for Iron Absorption in Schistosomes. *Journal of Biological Chemistry* **281**(4): 2242-2248. DOI: 10.1074/jbc.M511148200.

Sun Y, Oberley LW. 1996. Redox regulation of transcriptional activators. *Free Radical Biology and Medicine* **21**(3): 335-348. DOI: 10.1016/0891-5849(96)00109-8.

Sures B, Radszuweit H. 2007. Pollution-induced heat shock protein expression in the amphipod *Gammarus roeseli* is affected by larvae of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala). *Journal of Helminthology* **81**(2): 191-197. DOI: 10.1017/S0022149X07751465.



- 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. DOI: 10.1006/expr.1999.4437.
- Taiwo FA, Brophy PM, Pritchard DI, Brown A, Wardlaw A, Patterson LH. 1999. Cu/Zn superoxide dismutase in excretory-secretory products of human hookworm *Necator americanus*. An electron paramagnetic spectrometry study. *European Journal of Biochemistry* **264**(2): 434–438. DOI: 10.1046/j.1432-1327.1999.00626.x.
- Tiffany-Castiglioni E, Qian Y. 2001. Astroglia as Metal Depots: Molecular Mechanisms for Metal Accumulation, Storage and Release. *NeuroToxicology* **22**(5): 577-592. Dostupné z: doi:10.1016/S0161-813X(01)00050-X.
- Torre CD, Zaja R, Loncar J. 2012. Interaction of ABC transport proteins with toxic metals at the level of gene and transport activity in the PLHC-1 fish cell line. *Chemico-Biological Interactions* **198**(1-3): 9-17. DOI: 10.1016/j.cbi.2012.04.008.
- Troemel ER, Chu SW, Reinke V, Lee SS, Ausubel FM, Kim DH. 2006. p38 MAPK regulates expression of immune response genes and contributes to longevity in *C. elegans*. *PLoS Genet* **2**(11): e183. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020183.
- Tsuji N, Kasuga-Aoki H, Isobe T. 2000. Cloning and characterisation of a peroxiredoxin from the swine roundworm *Ascaris*. *International Journal for Parasitology* **30**(2): 125-128. DOI: 10.1016/S0020-7519(99)00180-0.
- Tweedie S, Grigg ME, Ingram L, Selkirk ME. 1993. The expression of a small heat shock protein homologue is developmentally regulated in *Nippostrongylus brasiliensis*. *Molecular and Biochemical Parasitology* **61**(1): 149-153. DOI: 10.1016/0166-6851(93)90168-W.
- Valko M, Morris H, Cronin MTD. 2005. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Medicinal Chemistry* **12**(10): 1161-1208. DOI: 10.2174/0929867053764635.
- VanDuyn N, Settivari R, Wong G, Nass R. 2010. SKN-1/Nrf2 Inhibits Dopamine Neuron Degeneration in a *Caenorhabditis elegans* Model of Methylmercury Toxicity. *Toxicological Sciences* **118**(2): 613–624. DOI: 10.1093/toxsci/kfq285.
- van Rossum AJ, Jefferies JR, Rijsewijk FA, LaCourse EJ, Teesdale-Spittle P, Barrett J, Tait A, Brophy PM. 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. DOI: 10.1128/iai.72.5.2780-2790.2004.
- Vargas-Prada L, Solís CF, Laclette JP. 2001. Heat shock and stress response of *Taenia solium* and *T. crassiceps* (Cestoda). *Parasitology* **122**(5): 583-588. DOI: 10.1017/S0031182001007764.
- Vašák M. 2005. Advances in metallothionein structure and functions. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **19**(1): 13-17. DOI: 10.1016/j.jtemb.2005.03.003.
- Vatamaniuk OK, Bucher EA, Sundaram MV, Rea PA. 2005. CeHMT-1, a Putative Phytochelatin Transporter, Is Required for Cadmium Tolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Biological Chemistry* **280**(25): 23684-23690. DOI: 10.1074/jbc.M503362200.

Vatamaniuk OK, Bucher EA, Ward JT, Rea PA. 2001. A New Pathway for Heavy Metal Detoxification in Animals. *Journal of Biological Chemistry* **276**(24): 20817-20820. DOI: 10.1074/jbc.C100152200.

Vercauteren I, De Maere V, Vercruyse J, Stevens M, Gevaert K, Claerebout E. 2007. A small heat shock protein of *Ostertagia ostertagi*: Stage specific expression, heat inducibility, and protection trial. *Journal of Parasitology* **92**(6): 1244-1250. DOI: 10.1645/GE-871R.1.

Vigneshkumar B, Pandian SK, Balamurugan K. 2013. Catalase activity and innate immune response of *Caenorhabditis elegans* against the heavy metal toxin lead. *Environmental Toxicology* **28**(6): 313-321. DOI: 10.1002/tox.20722.

Vihervaara A, Sistonen L. 2014. HSF1 at a glance. *Journal of Cell Science* **127**(2): 261-266. DOI:10.1242/jcs.132605.

Ward RJ, Zhang Y, Crichton RR, Piret B, Piette J, De Witte P. 1996. Identification of the nuclear transcription factor NF $\kappa$ B in rat brain after in vivo ethanol administration. *FEBS Letters* **389**(2): 119-122. DOI: 10.1016/0014-5793(96)00545-5.

Wu Z, Nagano I, Boonmars T, Takahashi Y. 2007. Thermally induced and developmentally regulated expression of a small heat shock protein in *Trichinella spiralis*. *Parasitology Research* **101**(1): 201-212. DOI: 10.1007/s00436-007-0462-6.

Yan B, Sun W, Shi X, Huang L, Chen L, Wang S, Yan L, Liang S, Huang H. 2017. *Angiostrongylus cantonensis* daf-2 regulates dauer, longevity and stress in *Caenorhabditis elegans*. *Veterinary Parasitology* **240**: 1-10. DOI: 10.1016/j.vetpar.2017.04.025.

Younis AE, Geisinger F, Ajonina-Ekoti I, Soblik H, Steen H, Mitreva M, Erttmann K, Perbandt M, Liebau E, Brattig NW. 2011. Stage-specific excretory-secretory small heat shock proteins from the parasitic nematode *Strongyloides ratti*-putative links to host's intestinal mucosal defense system. *FEBS Journal* **278**(18): 3319-3336. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08248.x.

Ženata O. 2015. Biotransformace v každodenním životě. *Živa* **4**: 157

## 6 Seznam použitých zkratek

AP 1	aktivátorový protein 1
CAT	kataláza
DMT1	divalentní kovový transporter
ERK	extracelulárním signálem reagonovaná kináza
GPx	glutathion peroxidáza
GRP	glukózou regulovaný protein
GSH	glutathion
GST	glutathion S transferáza
HIF1	hypoxií indukovatelný faktor 1
HSF-1	faktor tepelného šoku
HSP	protein tepelného šoku (heat shock protein)
HSR	odpověď na tepelný šok (heat shock response)
IGF1	inzulínu podobný růstový faktor 1
JNK	c-Jun N-terminální kinázy
kDa	kiloDallton
MAPK	mitogenem aktivovaná protein kináza
MRP	multidrogový rezistentní protein
MT	metallothionein
MTF-1	metal responsive transcription factor
Nf-kB	nukleární faktor kappa B
Nrf2	nuclear factor erythroid 2
PCS	fytochelatin syntáza
PERK	protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase
PGP	P-glykoprotein
PRX	peroxiredoxin
ROS	reaktivní kyslíkové radikály (reactive oxygen species)
RP	rizikové prvky
SKN1	protein skinhead 1
SOD	superoxid dismutáza
TK	těžké kovy
TRX	thioredoxin
UPR	odpověď na nesbalené proteiny (unfolding protein response)