

Паразит-хозяин Стратегия выживания

Пахарукова М.Ю.

ARTICLES

The genome of the blood fluke *Schistosoma mansoni*

Wang et al. *Genome Biology* 2011, **12**:R107
<http://genomebiology.com/2011/12/10/R107>



RESEARCH

Open Access

The draft genome of the carcinogenic human liver fluke *Clonorchis sinensis*



ARTICLE

Received 3 Mar 2014 | Accepted 11 Jun 2014 | Published 9 Jul 2014

DOI: 10.1038/ncomms5378

OPEN

The *Opisthorchis viverrini* genome provides insights into life in the bile duct

Паразит-хозяин

- Нет эффективного способа культивирования в лаборатории
- Функции кодируемых белков неизвестны
- Функциональность метаболических систем
- Выбор эффективного белка мишени для антипаразитарной терапии

1 Superclass: Basic Domains

(Basic-helix-loop-helix)

- 1.1 Class: Leucine zipper factors ([bZIP](#))
 1.1.1 Family: AP-1(-like) components; includes ([c-Fos/c-Jun](#))
 1.1.2 Family: CREB
 1.1.3 Family: C/EBP-like factors
 1.1.4 Family: bZIP / PAR
 1.1.5 Family: Plant G-box binding factors
 1.1.6 Family: ZIP only
- 1.2 Class: Helix-loop-helix factors ([bHLH](#))
 1.2.1 Family: Ubiquitous (class A) factors
 1.2.2 Family: Myogenic transcription factors ([MyoD](#))
 1.2.3 Family: Achaete-Scute
 1.2.4 Family: Tal/Twist/Atonal/Hen
- 1.3 Class: Helix-loop-helix / leucine zipper factors ([bHLH-ZIP](#))
 1.3.1 Family: Ubiquitous bHLH-ZIP factors; includes USF ([USF1, USF2](#)); SREBP ([SREBP](#))
 1.3.2 Family: Cell-cycle controlling factors; includes [c-Myc](#)
- 1.4 Class: NF-1
 1.4.1 Family: NF-1 ([A, B, C, X](#))
- 1.5 Class: RF-X
 1.5.1 Family: RF-X ([1, 2, 3, 4, 5, ANK](#))
- 1.6 Class: bHSH

2 Superclass: Zinc-coordinating DNA-binding domains

- 2.1 Class: Cys4 zinc finger of nuclear receptor type
 2.1.1 Family: Steroid hormone receptors
 2.1.2 Family: Thyroid hormone receptor-like factors
- 2.2 Class: diverse Cys4 zinc fingers
 2.2.1 Family: GATA-Factors
- 2.3 Class: Cys2His2 zinc finger domain
 2.3.1 Family: Ubiquitous factors, includes [TFIIB, Sp1](#)
 2.3.2 Family: Developmental / cell cycle regulators; includes [Krüppel](#)
 2.3.4 Family: Large factors with NF-6B-like binding properties
- 2.4 Class: Cys6 cysteine-zinc cluster
- 2.5 Class: Zinc fingers of alternating composition

3 Superclass: Helix-turn-helix

- 3.1 Class: Homeo domain
 3.1.1 Family: Homeo domain only; includes [Ubx](#)
 3.1.2 Family: POU domain factors; includes [Oct](#)
 3.1.3 Family: Homeo domain with LIM region
 3.1.4 Family: homeo domain plus zinc finger motifs
- 3.2 Class: Paired box
 3.2.1 Family: Paired plus homeo domain
 3.2.2 Family: Paired domain only
- 3.3 Class: Fork head / winged helix
 3.3.1 Family: Developmental regulators; includes [forkhead](#)
 3.3.2 Family: Tissue-specific regulators
 3.3.3 Family: Cell-cycle controlling factors
 3.3.0 Family: Other regulators
- 3.4 Class: Heat Shock Factors
 3.4.1 Family: HSF
- 3.5 Class: Tryptophan clusters
 3.5.1 Family: Myb
 3.5.2 Family: Ets-type
 3.5.3 Family: [Interferon regulatory factors](#)
- 3.6 Class: TEA (transcriptional enhancer factor) domain
 3.6.1 Family: TEA ([TEAD1, TEAD2, TEAD3, TEAD4](#))

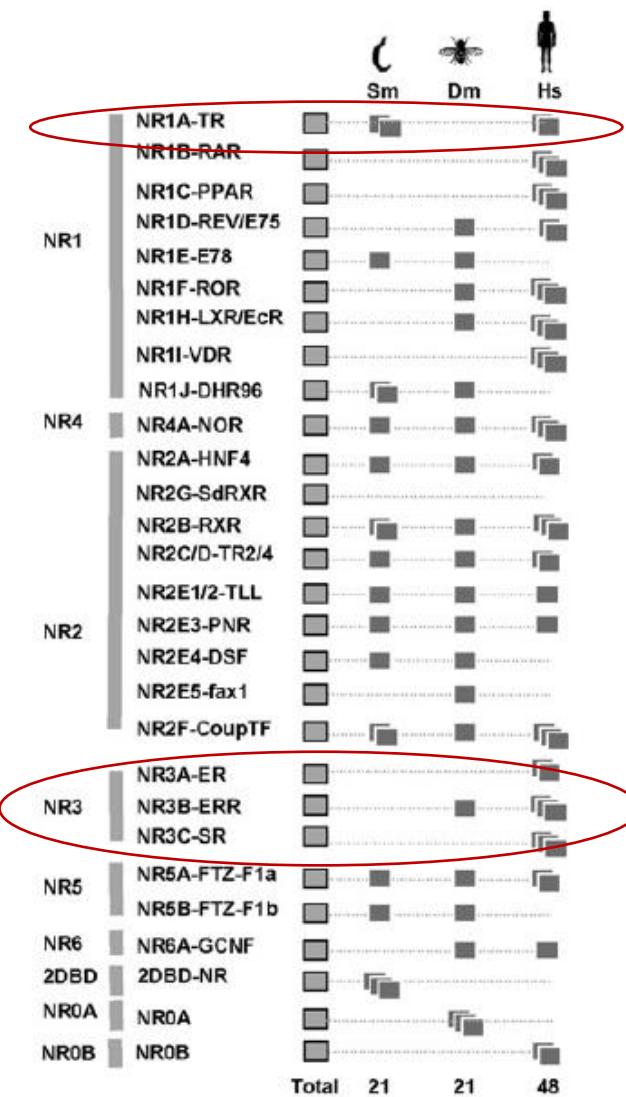
4 Superclass: beta-Scaffold Factors with Minor Groove Contacts

- 4.1 Class: RHR ([Rel homology region](#))
 4.1.1 Family: Rel/ankyrin; [NF-kappaB](#)
 4.1.2 Family: ankyrin only
 4.1.3 Family: [NFAT](#) (Nuclear Factor of Activated T-cells) ([NFATC1, NFATC2, NFATC3](#))
- 4.2 Class: STAT
 4.2.1 Family: [STAT](#)
- 4.3 Class: p53
 4.3.1 Family: [p53](#)
- 4.4 Class: MADS box
 4.4.1 Family: Regulators of differentiation; includes ([Mef2](#))
 4.4.2 Family: Responders to external signals, SRF ([serum response factor](#)) ([SRF](#))
- 4.5 Class: beta-Barrel alpha-helix transcription factors
- 4.6 Class: TATA binding proteins
 4.6.1 Family: TBP
 4.7.1 Family: [SOX genes, SRY](#)
 4.7.2 Family: TCF-1 ([TCF1](#))
 4.7.3 Family: HMG2-related, [SSRP1](#)
 4.7.5 Family: MATA
- 4.8 Class: Heteromeric CCAAT factors
 4.8.1 Family: Heteromeric CCAAT factors
- 4.9 Class: Granihead
 4.9.1 Family: Granihead
- 4.10 Class: Cold-shock domain factors
 4.10.1 Family: csd

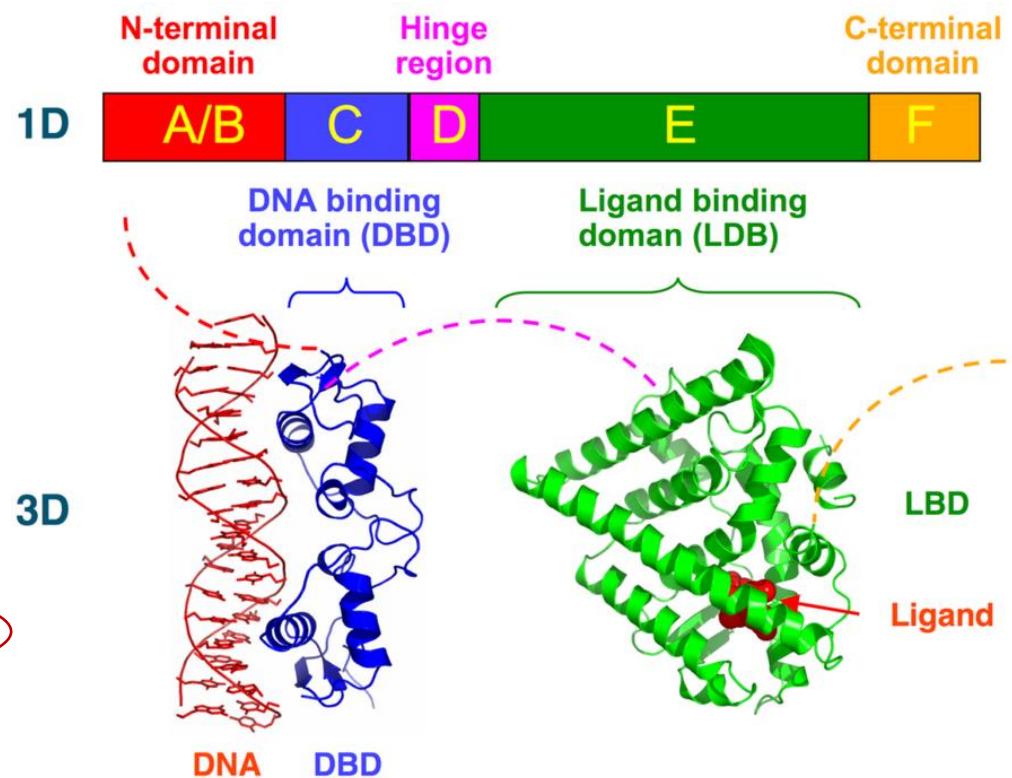
0 Superclass: Other Transcription Factors

- 0.1 Class: Copper fist proteins
- 0.2 Class: HMGI(Y) ([HMGA1](#))
 0.2.1 Family: HMGI(Y)
- 0.3 Class: Pocket domain
- 0.4 Class: E1A-like factors
- 0.5 Class: AP2/EREBP-related factors
 0.5.1 Family: [AP2](#)
 0.5.2 Family: EREBP
 0.5.3 Superfamily: [AP2/B3](#)
 0.5.3.1 Family: ARF
 0.5.3.2 Family: ABI
 0.5.3.3 Family: RAV

21 Nuclear Hormone Receptors in Trematoda



Ядерные рецепторы – лиганд (гормон)
активируемые транскрипционные факторы

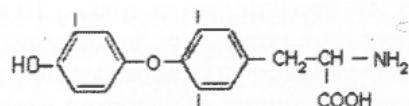


Функциональность?

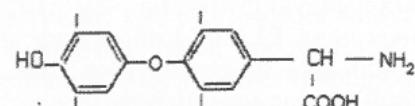
- Ядерные рецепторы (Тиреоидный рецептор)



Схема 2. Химическая структура тиреоидных гормонов



Трийодтиронин



Тироксин



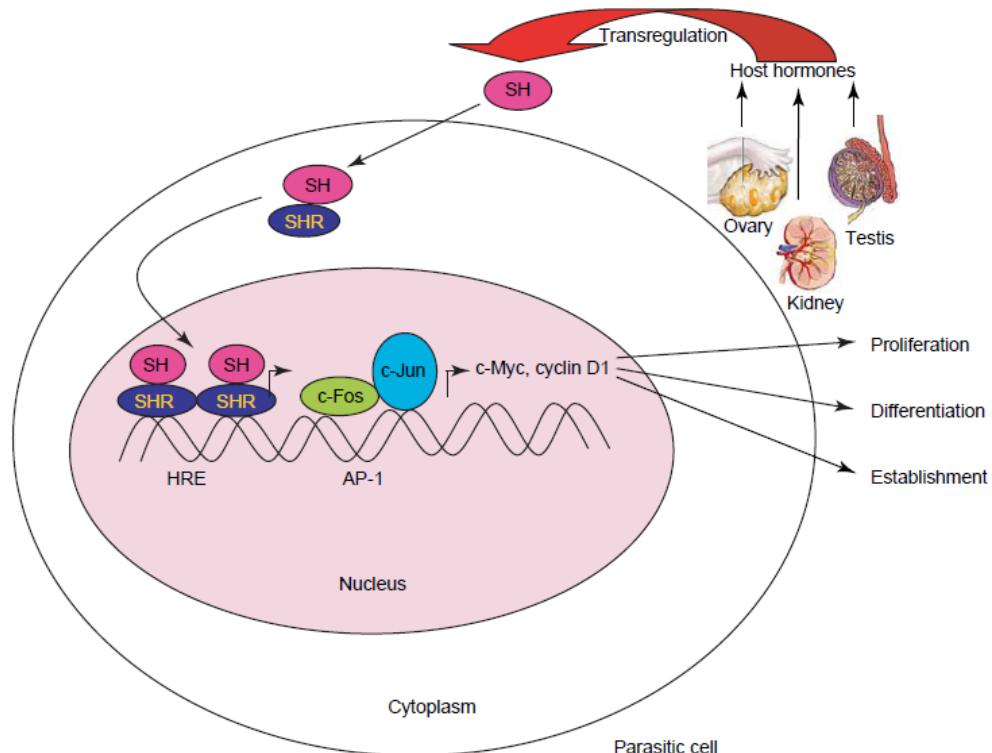
Метаморфоз
Дифференцировка
развитие

Parasite regulation by host hormones: an old mechanism of host exploitation?

Гипотеза трансрегуляции - гормоны, содержащиеся в крови хозяина, могут быть также использованы паразитом для регуляции собственного метаболизма или метаморфоза

Регуляция тиреоидного гормона является важным звеном в эволюции хордовых. У амфибий и рыб – важный регулятор метаморфоза.

Гомологи THR найдены in platyhelminthes, mollusks and crustaceans и отсутствуют полностью у круглых червей (Nematoda) и членистоногих Arthropoda.



Cross-kingdom hormonal signaling: an insight from thyroid hormone functions in marine larvae

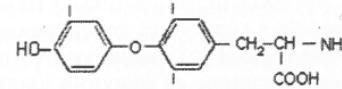
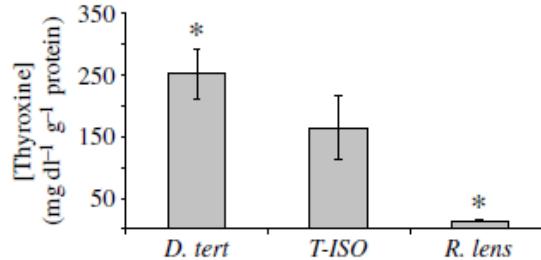
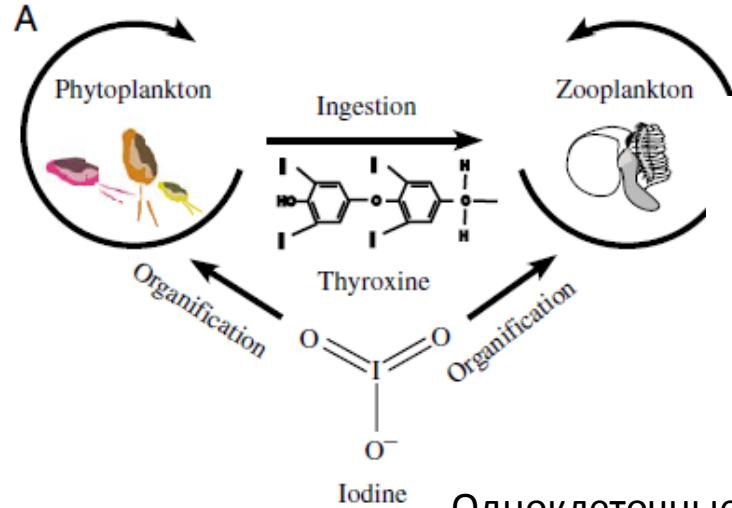
The Journal of Experimental Biology 208, 4355-4361

Published by The Company of Biologists 2005

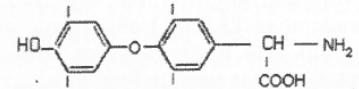
doi:10.1242/jeb.01877

Andreas Heyland* and Leonid L. Moroz

Схема 2. Химическая структура тиреоидных гормонов



Трийодтиронин



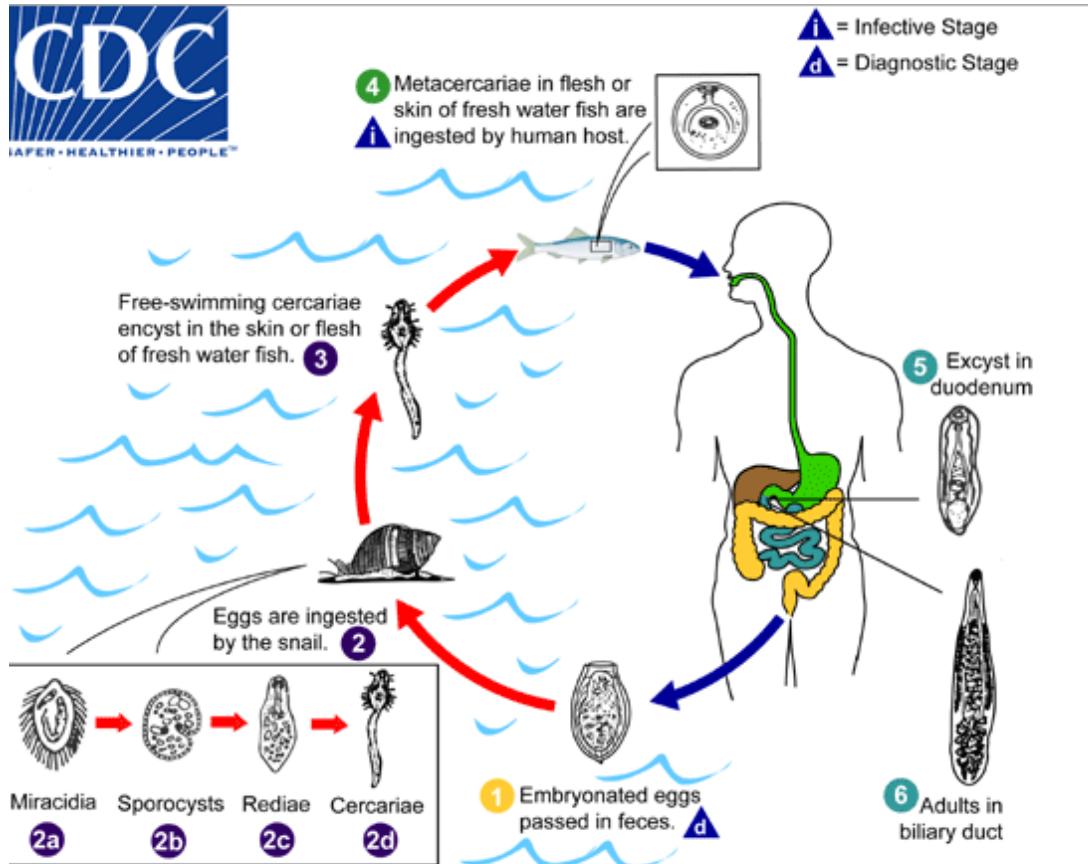
Тироксин



Одноклеточные водоросли *Dunaliella tertiolecta*, *Isochrysis aff. galbana* и *Rhodomonas lens* содержат тироксин У актинии *Aiptasia pulchella* (Cnidaria), tyrosine and six other amino acids (histidine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine and valine) получает из симбионтов водорослей. *Leodia* (Иглокожие, Echinodermata) – тироксин необходим для регуляции метаморфоза, перехода из личиночной во взрослую стадию. Экзогенный TH способствует ускорению метаморфоза.

В отсутствии своей системы синтеза тиреоидных гормонов, источником гормонов является фиторациоn

Жизненный цикл *Opisthorchis felineus*



- Смена трех хозяев
- Одна свободноживущая стадия
- шесть жизненных форм
- Чередование стадий с бесполым и половым размножением

Гомология ДНК-связывающего домена THR

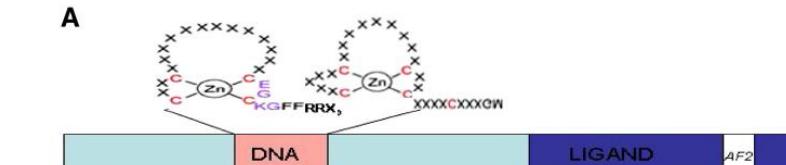
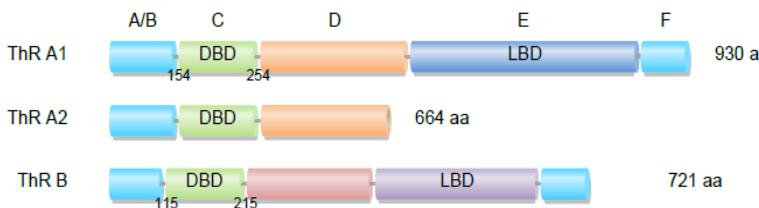
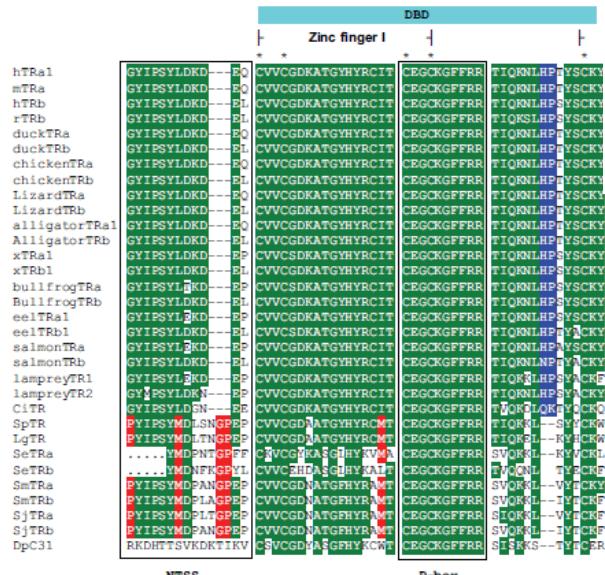
Qiu et al. *Parasites & Vectors* 2012, 5:172
<http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/172>



Open Access

RESEARCH

Molecular characterization of thyroid hormone receptor beta from *Schistosoma japonicum* and assessment of its potential as a vaccine candidate antigen against schistosomiasis in BALB/c mice



Тиреоидные рецепторы у trematod

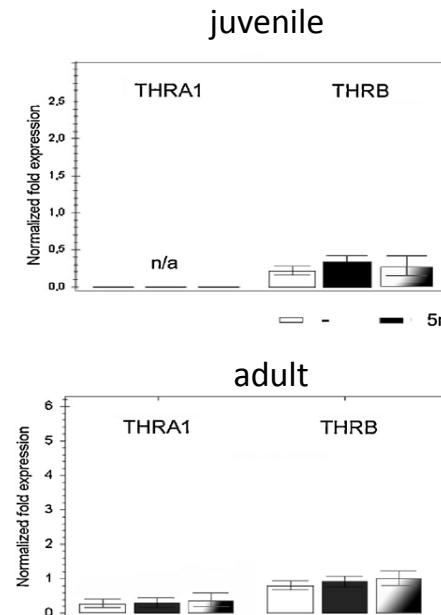
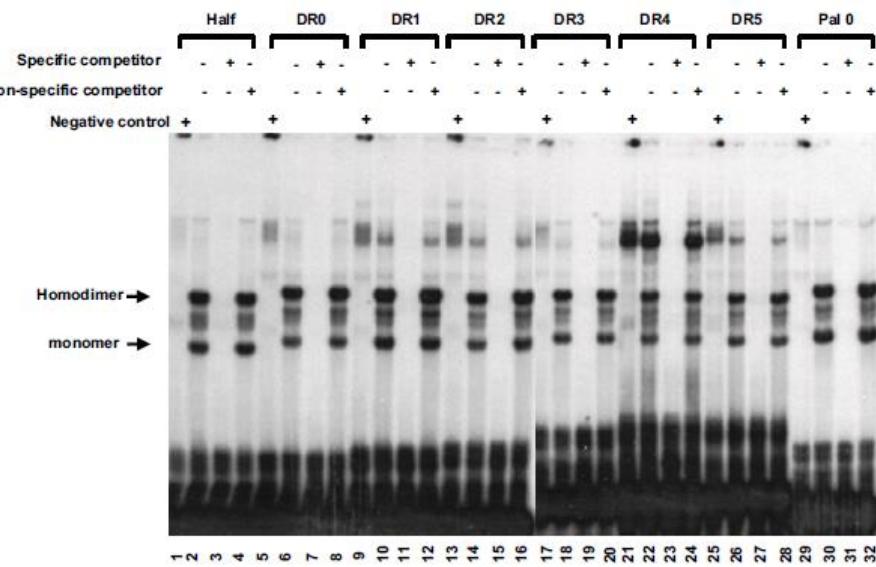
BMC Evolutionary Biology



Research article

Open Access

Thyroid hormone receptor orthologues from invertebrate species
with emphasis on *Schistosoma mansoni*

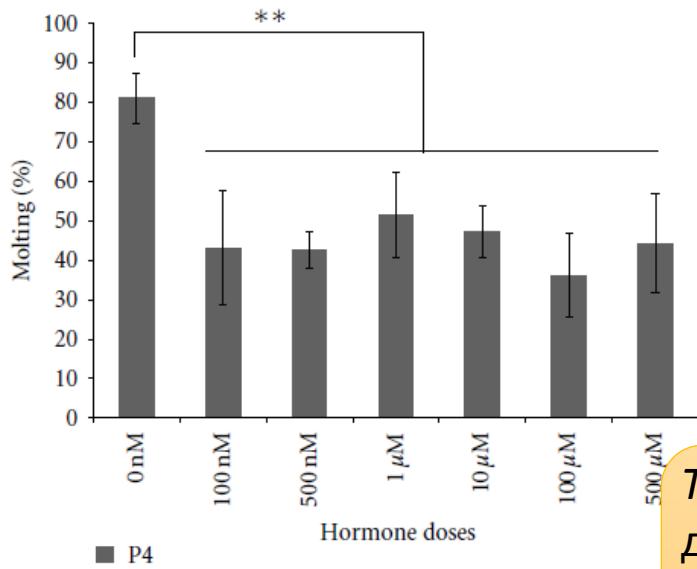


Нет специфичности распознавания сайтов связывания в ДНК

Фенотипических изменений не было при содержании *in vitro* в течение 21 дня.

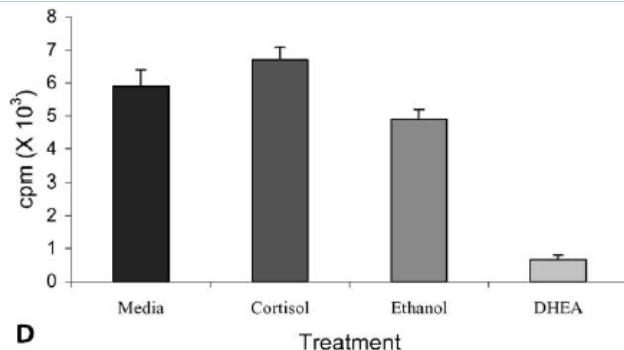
Экзогенные тиреоидные гормоны не влияют на экспрессию генов-мишеней

Sex Steroids Effects on the Molting Process of the Helminth Human Parasite *Trichinella spiralis*



Эффект прогестерона на метаморфоз (линьку) *Trichinella spiralis*
! Нет дозозависимости

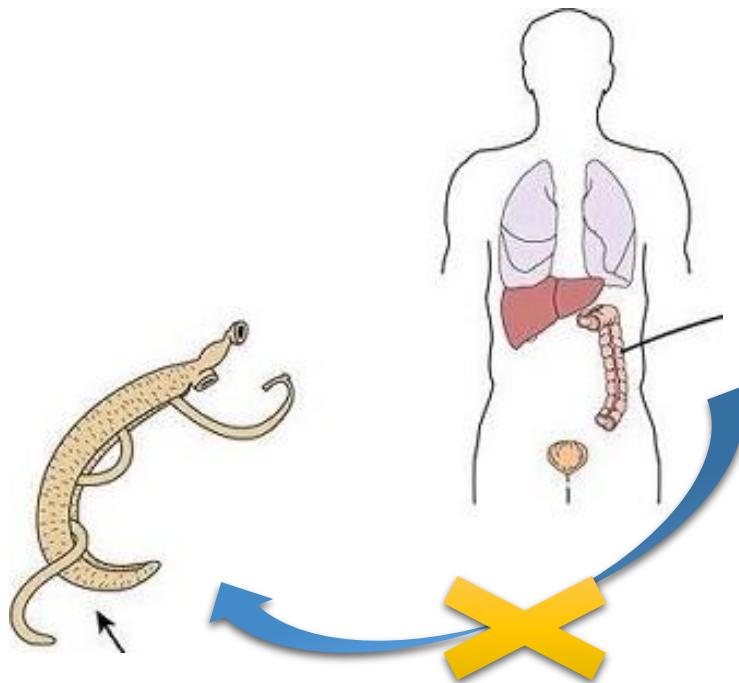
Dehydroepiandrosterone decreases while cortisol increases in vitro growth and viability of *Entamoeba histolytica*



Taenia crassiceps у грызунов развивается лучше и достигает половой зрелости раньше, у самок животных, чем у самцов, т.е. гормональный статус самок более благоприятен.

На шистосомах показано, что экзогенный тиреоидный гормон тироксин, когда его назначают мышам, усиливает рост и развитие шистосом, но диета с дефицитом йода приводит к слаборазвитым trematodам, неспособных к размножению

гипотеза «трансрегуляции»



Прямых
доказательств не
получено. Механизм
не показан



Contents lists available at ScienceDirect

General and Comparative Endocrinology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ygcen

Taenia solium

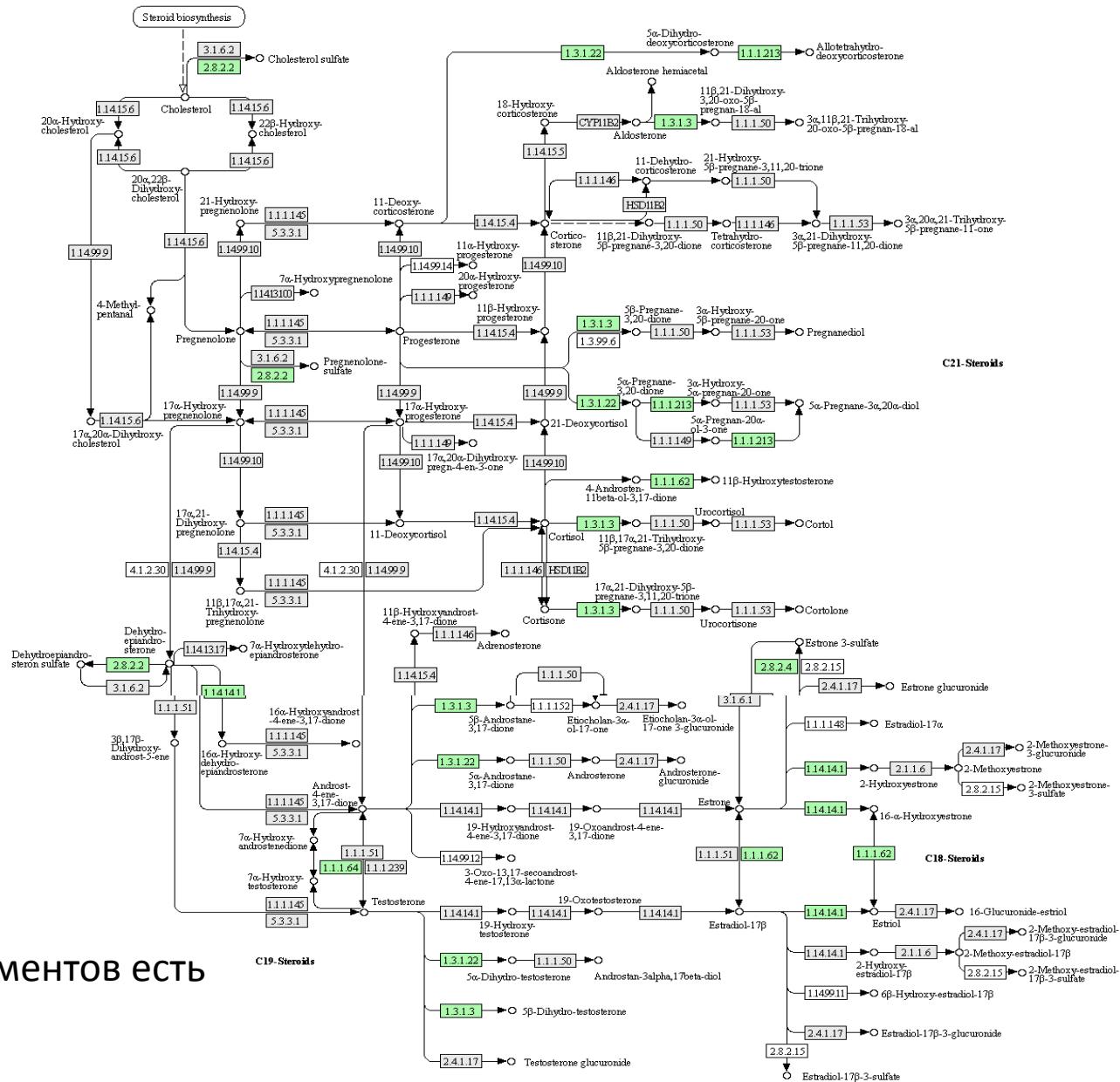
Taenia solium tapeworms synthesize corticosteroids and sex steroids
in vitro

Цестоды могут синтезировать тестостерон,
кортикоиды, если в качестве
предшественника им предоставить
прогестерон

Паразиты не имеют полный стероидогенный путь,
однако часть из этих ферментов есть.

Steroid hormone biosynthesis

KEGG PATHWAY



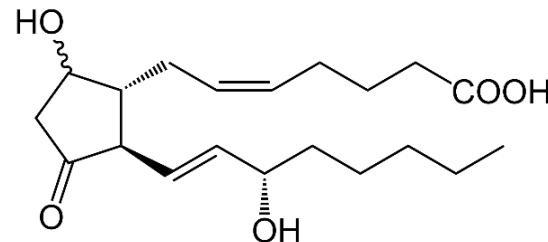
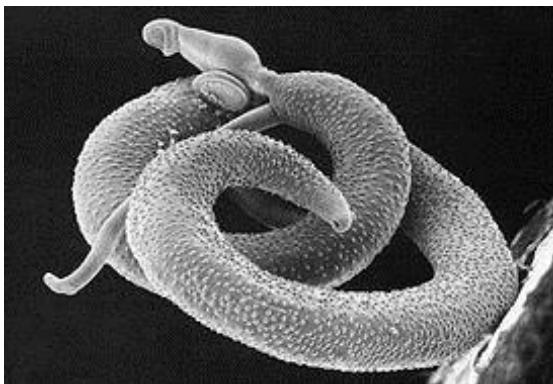
Clonorchis sinensis

Гены некоторых ферментов есть

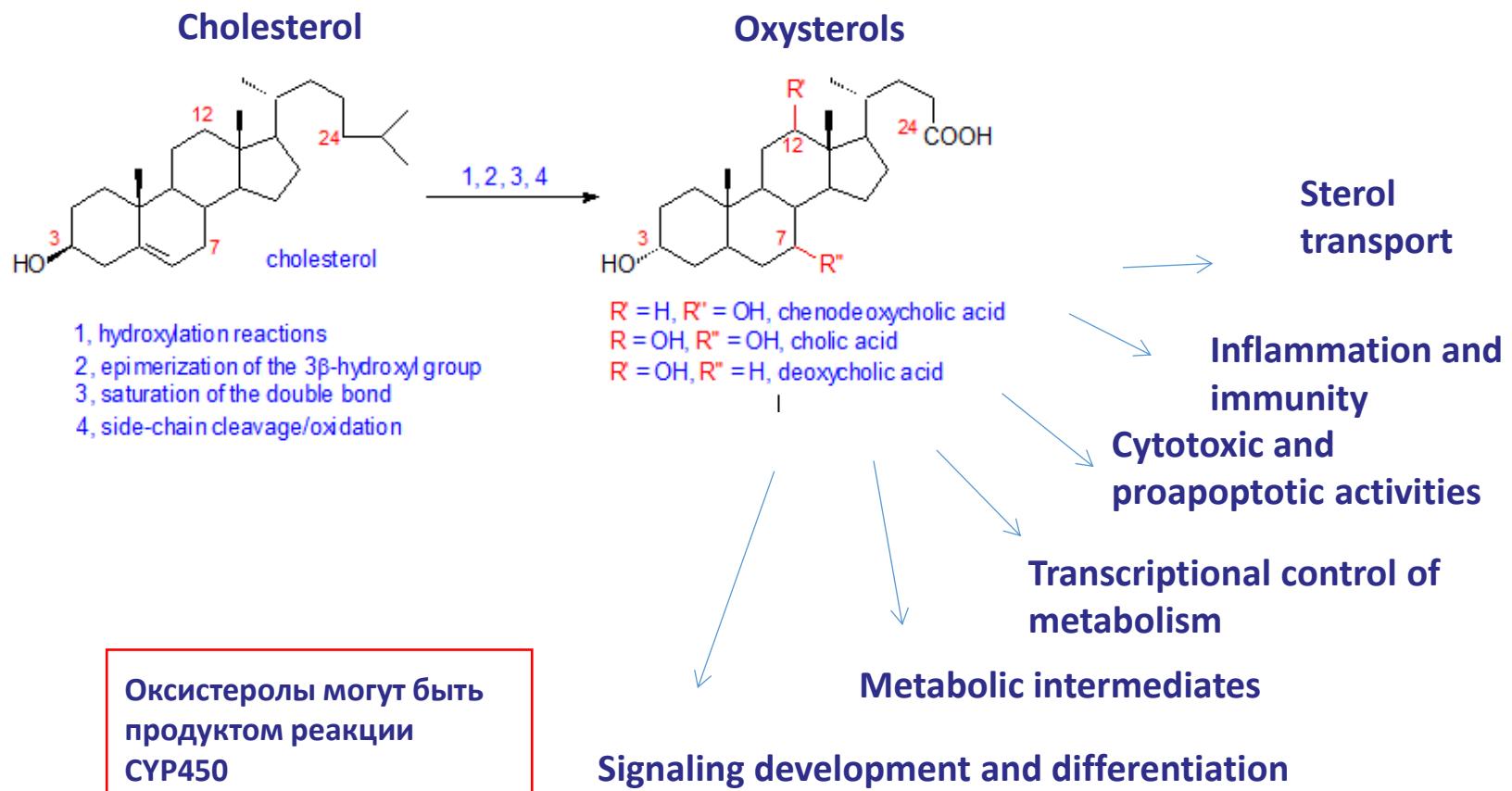
Manipulation of vascular function by blood flukes?

Akram Da'darah and Patrick J. Skelly

Schistosomes and eicosanoids Eicosanoids are important signaling molecules derived from essential fatty acids. There are four families of eicosanoids—the prostaglandins, prostacyclins, the thromboxanes and the leukotrienes. Шистосомы производят Prostaglandin D2 (PGD2) and prostaglandin E2 (PGE2)- вазодилататоры. В меньшем количестве производят вазоконстрикторы leukotriene B4 (LTB4) and leukotriene C4 (LTC4).

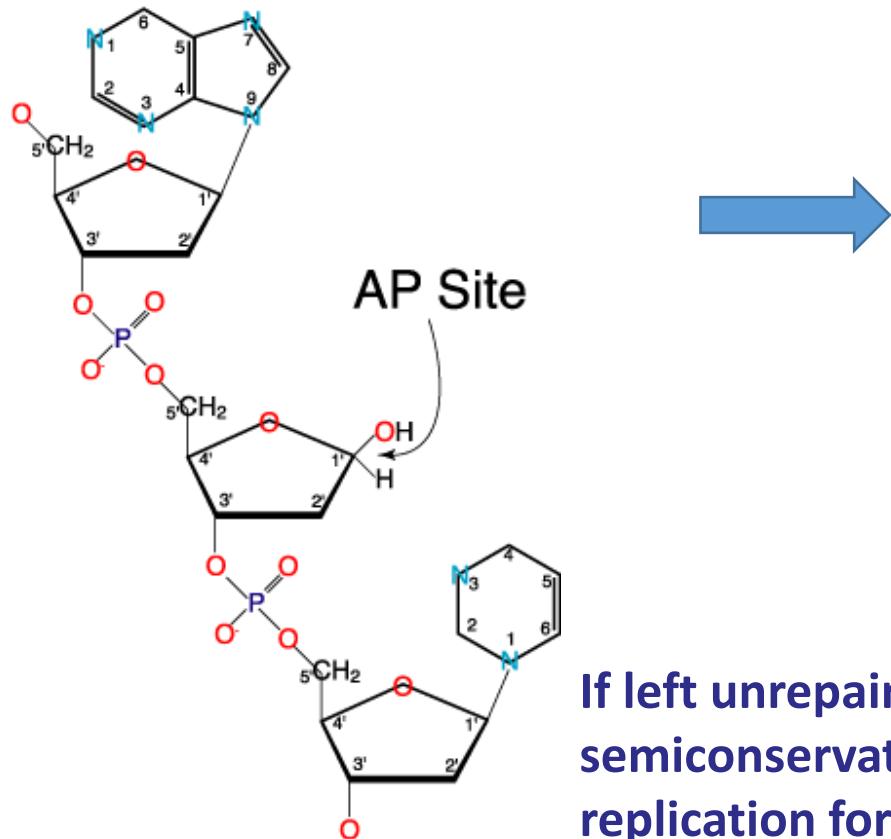


Оксистеролы – это продукты окисления холестерола



Оксистеролы обладают провоспалительной активностью, а также мутагенными свойствами. Основные оксистеролы в организме - желчные кислоты (холевая и дезоксихолевая кислоты и продукты их конъюгации). Модификация холестерола по положениям С 3, 7, 12, 17, 24

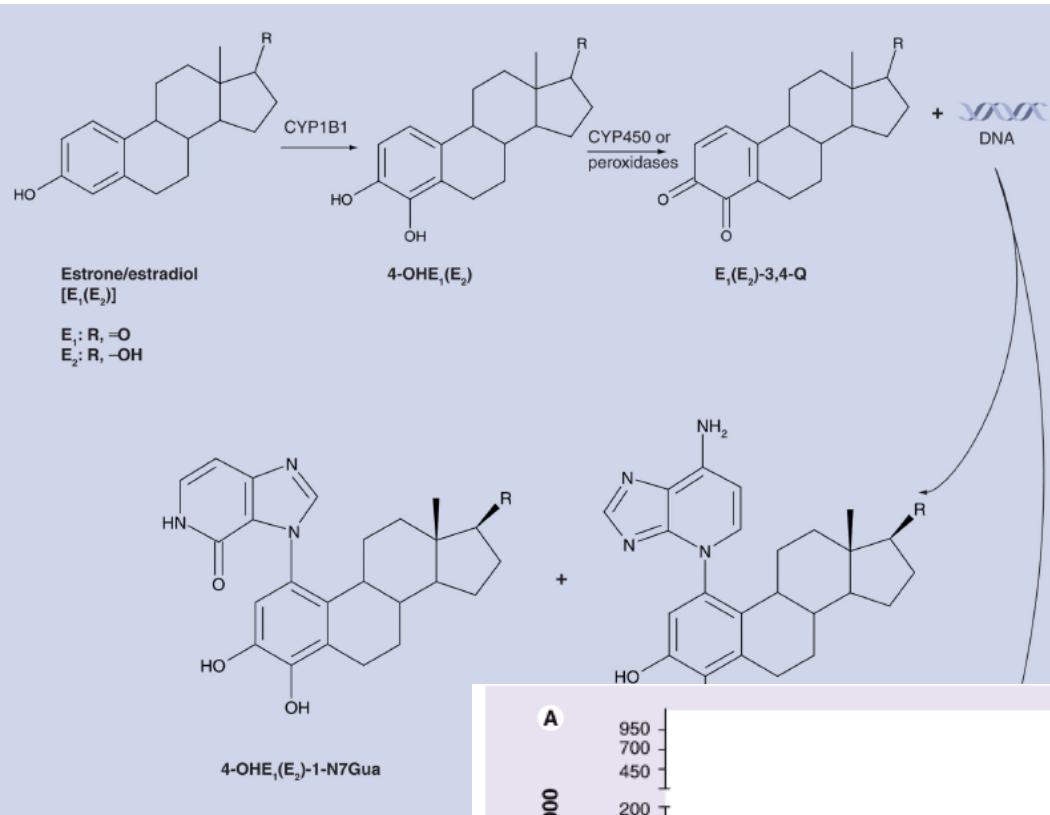
AP site (apurinic/apyrimidinic site)



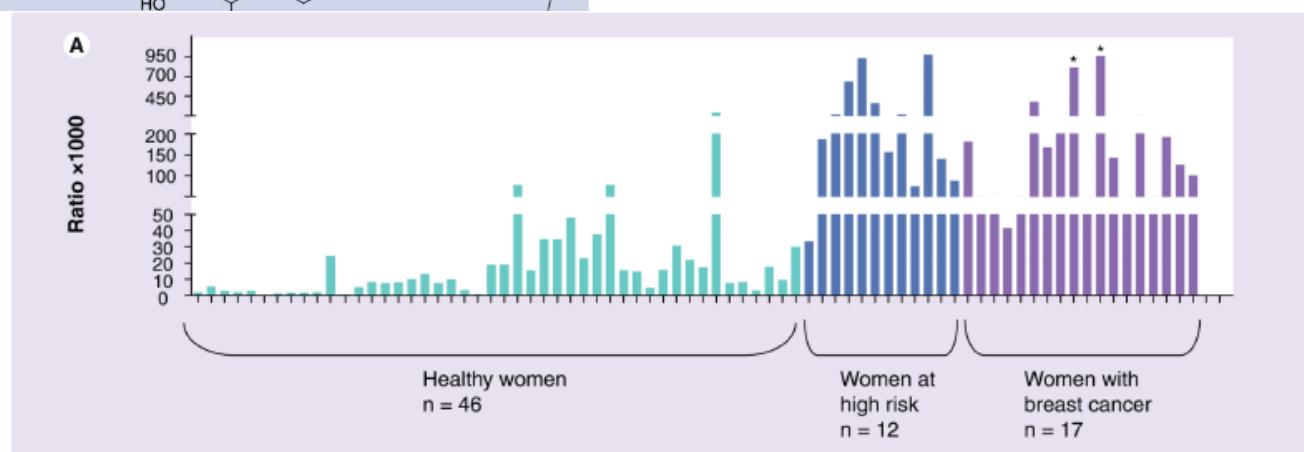
При репликации возникают мутации на месте AP сайта

If left unrepaired, AP sites can lead to mutation during semiconservative replication. They can cause replication fork stalling and are bypassed by translesion synthesis. In E. coli, adenine is preferentially inserted across from AP sites, known as the "A rule"

Depurinating estrogen–DNA adducts in the etiology and prevention of breast and other human cancers

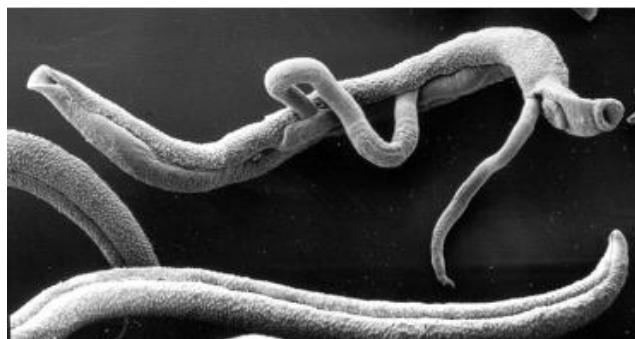


Количество эстроген-ДНК аддуктов в моче здоровых людей, людей из группы риска и больных раком груди

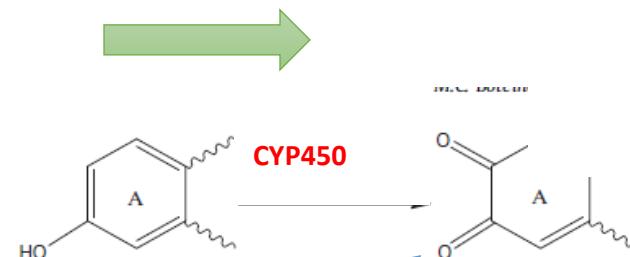




Schistosoma haematobium: Identification of new estrogenic molecules with estradiol antagonistic activity and ability to inactivate estrogen receptor in mammalian cells

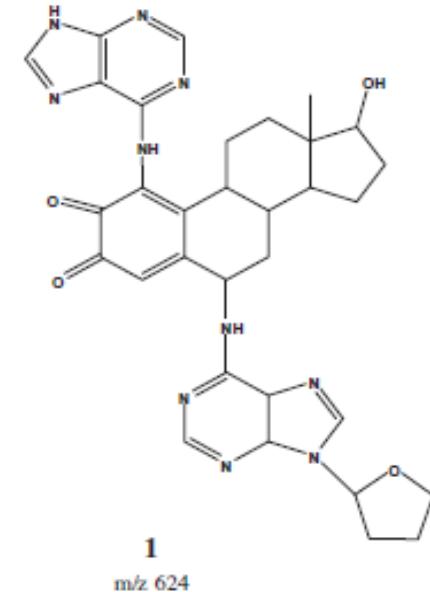


Самец и самка
S. haematobium

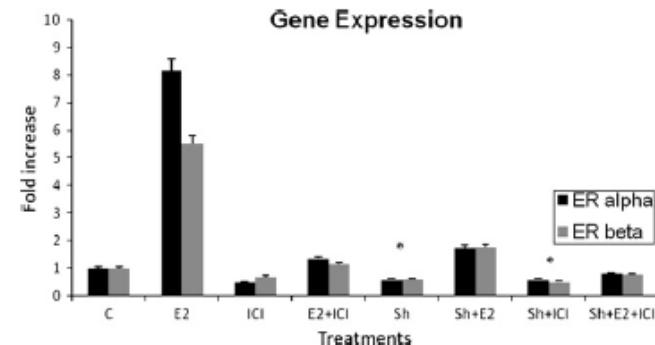


Scheme 3. Hydroxylation of both C-2 and C-3 on a steroid molecule by CYP450 enzyme.

Окисление С2,С3
положение кольца А

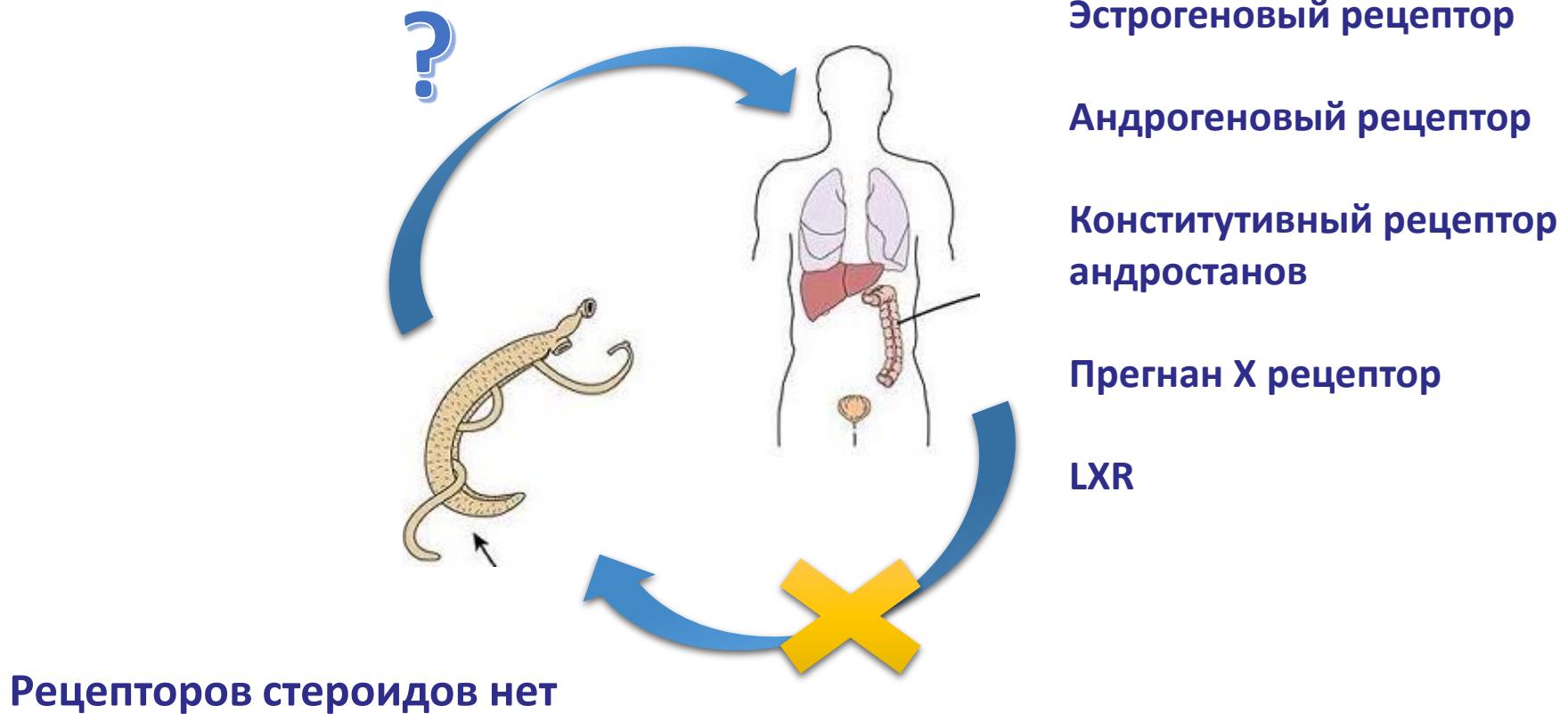


2,3-Катехол эстрогены



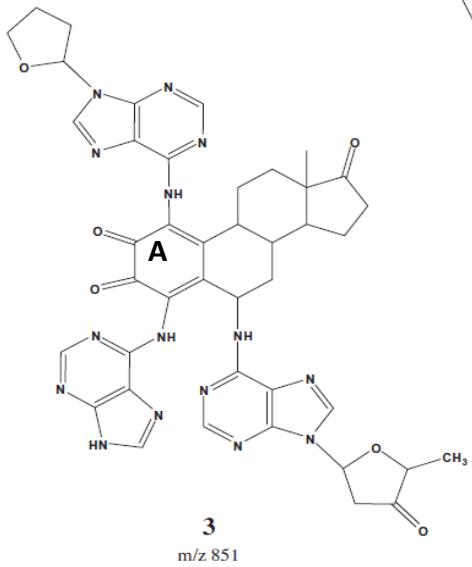
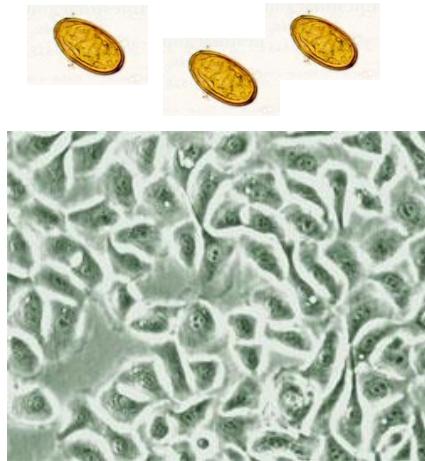
New estrogenic molecules previously unknown, present in schistosome worm extracts and sera of Schistosoma-infected individuals. The existence of an estrogenic molecule that antagonizes the activity of estradiol.

гипотеза «трансрегуляции»

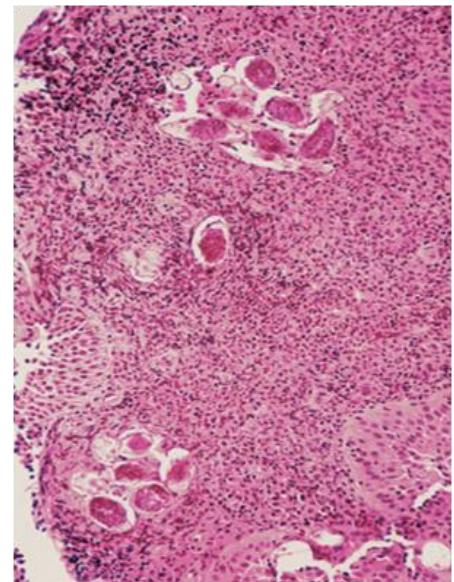
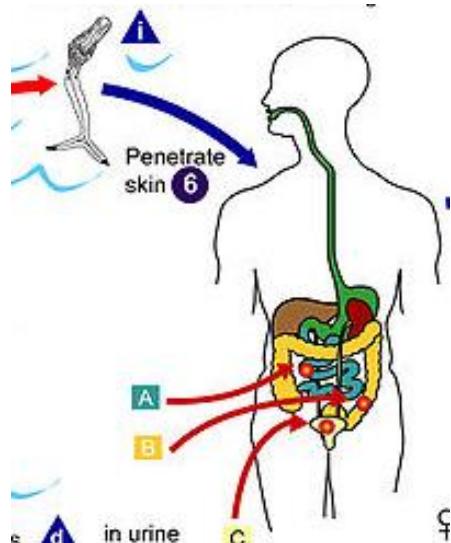




Tumour-like phenotypes in urothelial cells after exposure to antigens from eggs of *Schistosoma haematobium*: An oestrogen-DNA adducts mediated pathway?

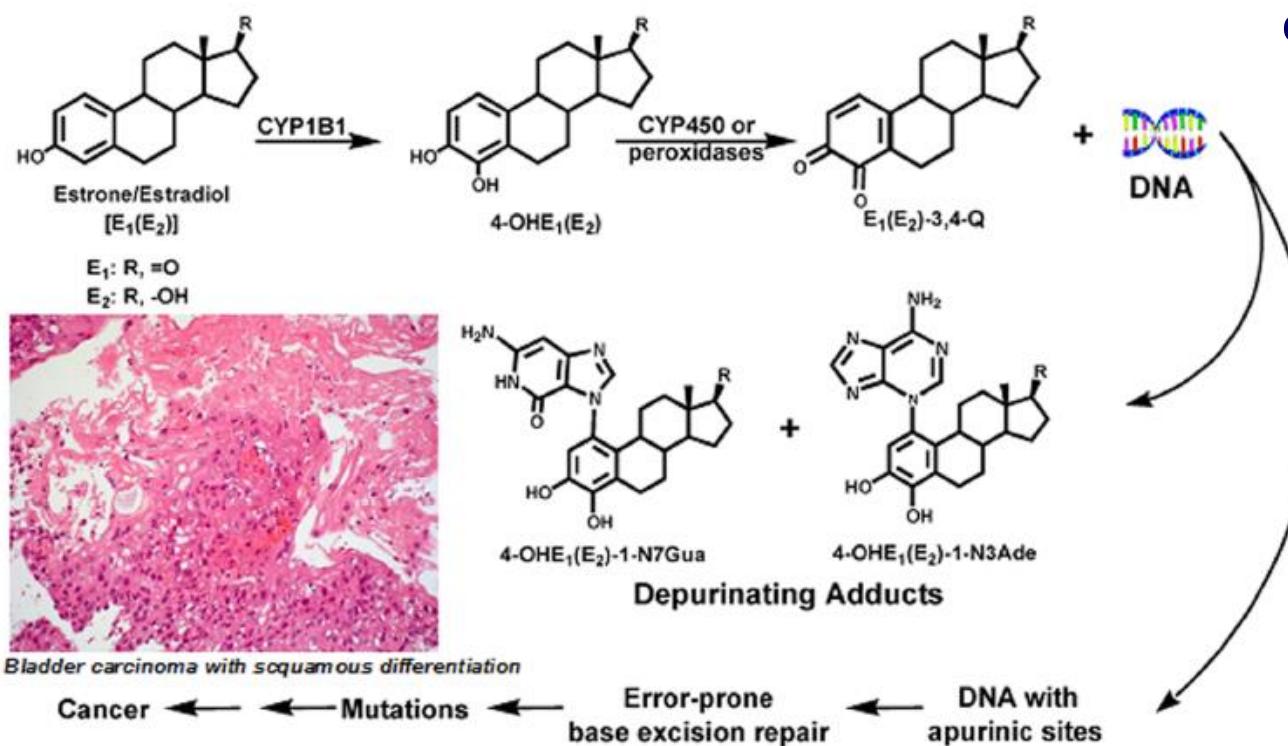


Снижение апоптоза
Стимуляция митоза
Увеличение числа мутаций



Эти соединения обладают повышенной генотоксичностью и снижают апоптоз клеток эпителия мочевого пузыря

Urinary Estrogen Metabolites and Self-Reported Infertility in Women Infected with *Schistosoma haematobium*



Катехол эстрогены, конъюгированные с основаниями ДНК

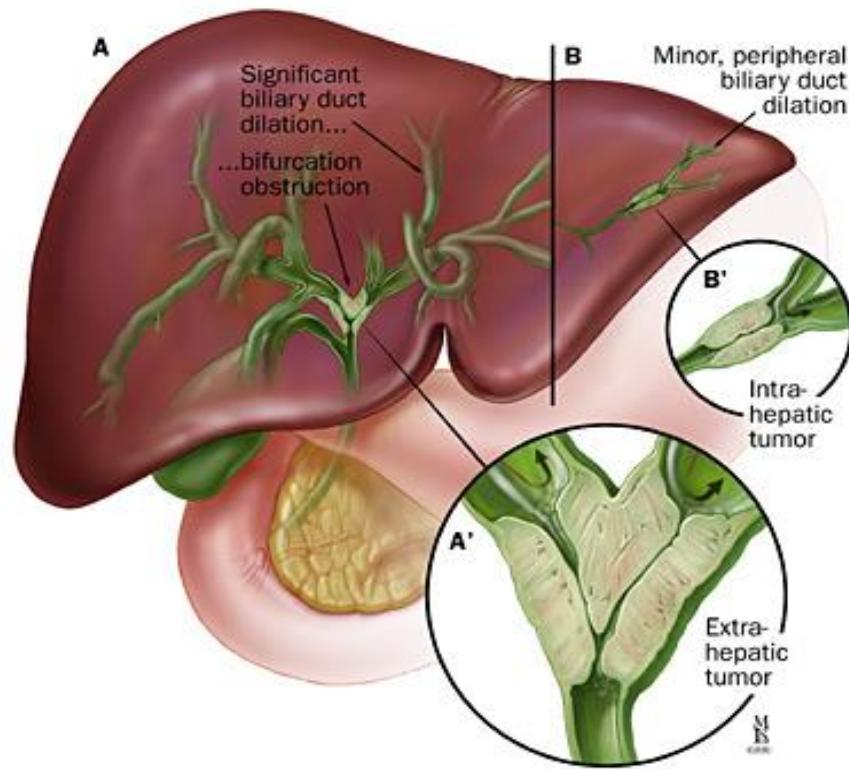
93 women. The catechol-estrogens/ DNA adducts were associated with schistosomiasis (OR 3.35; 95% CI 2.32–4.84). metabolites was positively associated with infertility (OR 4.33; 95% CI 1.13–16.70; P#0.05).

Liver flukes infection is strongly associated with cholangiocarcinoma

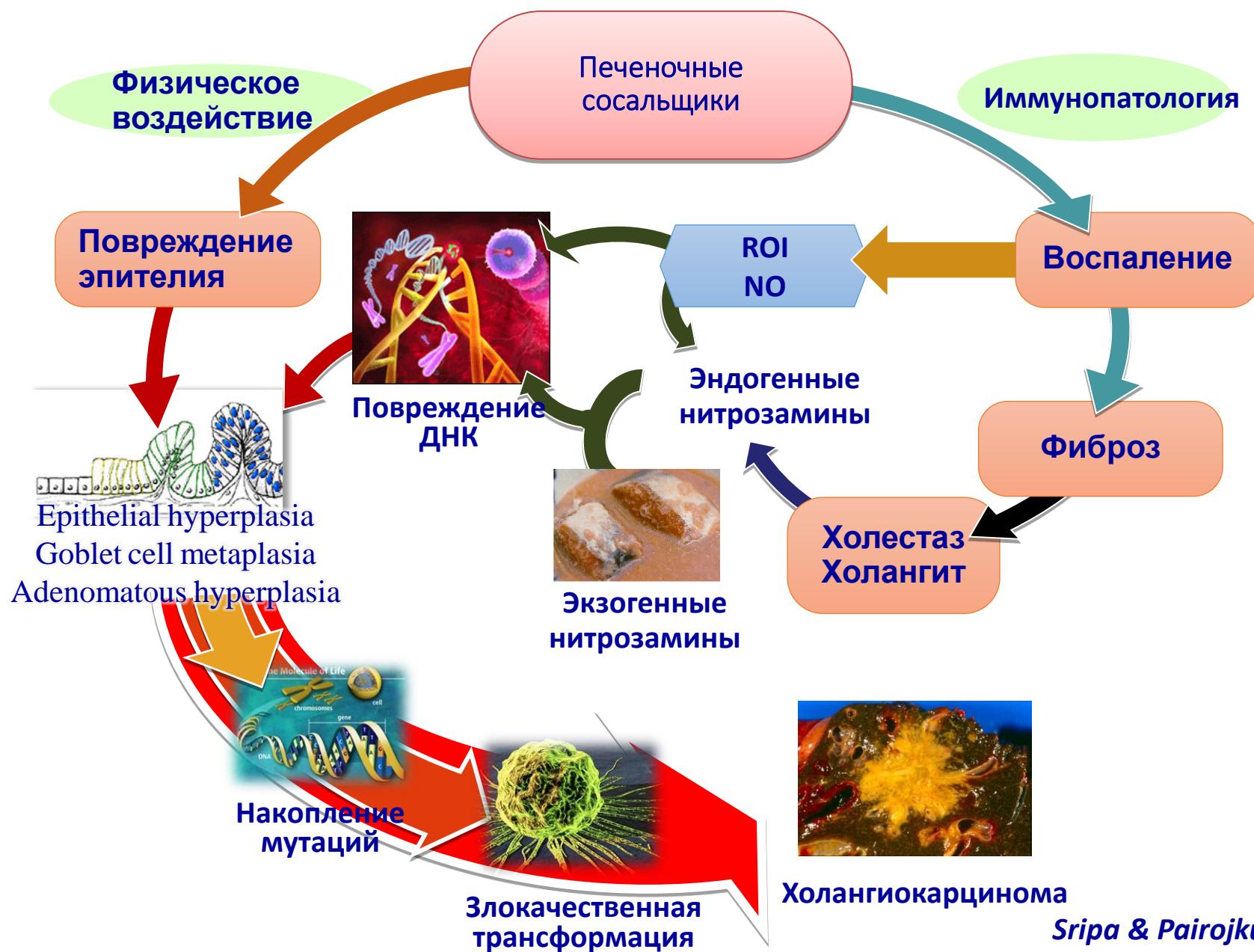
International Agency for
Research on Cancer:
O. viverrini and *C. sinensis*
were both classified as
“carcinogenic to humans”
(Group 1)

www.thelancet.com/oncology Vol 10 April 2009

Carcinogenic potential
of *O. felineus* is not studied



Cholangiocarcinoma (CCA)

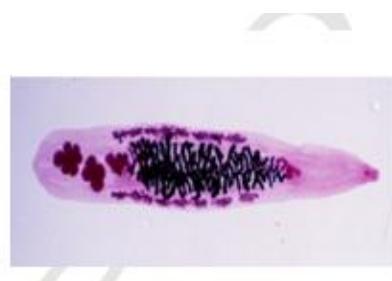




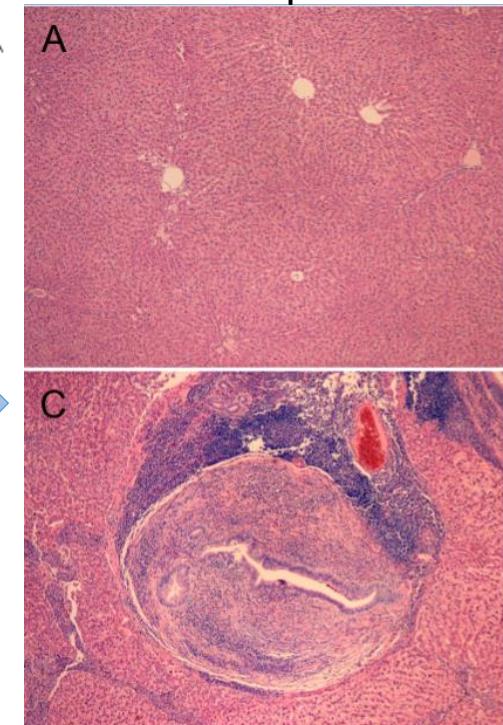
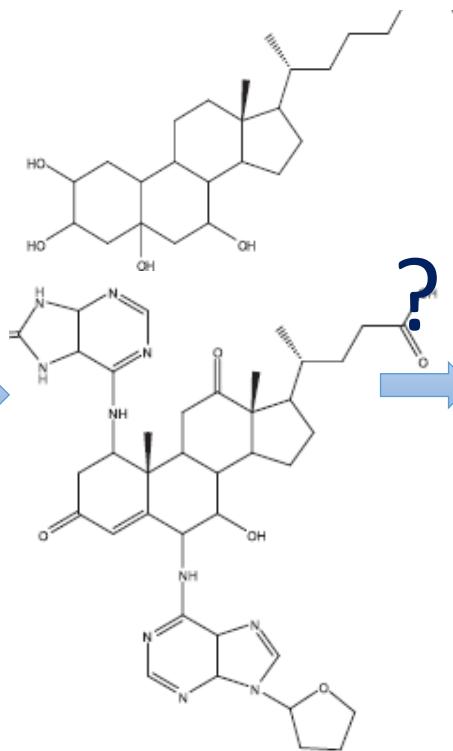
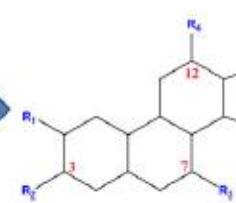
Carcinogenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* oxysterols detected by LC-MS/MS survey of soluble fraction parasite extract



контроль



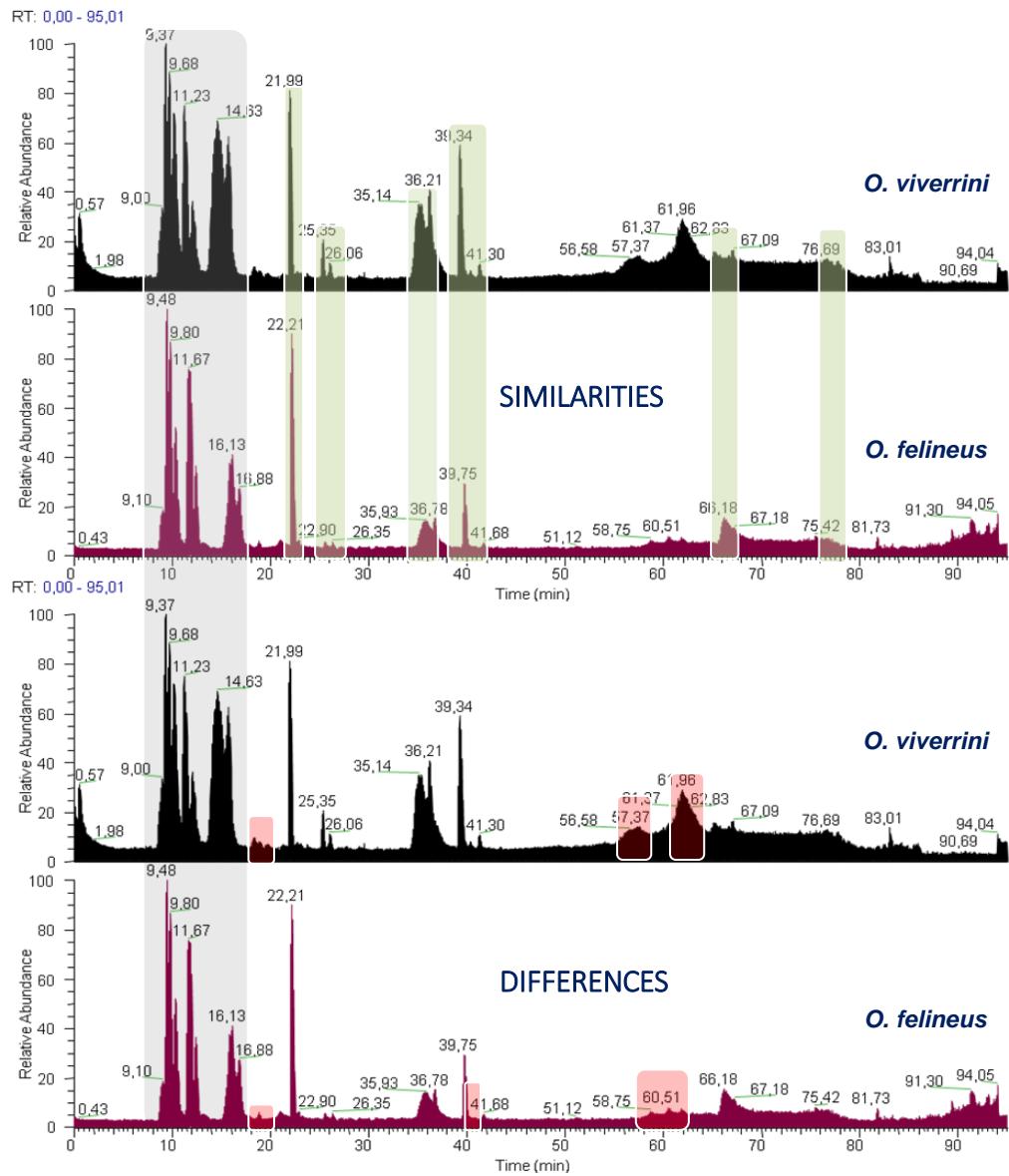
?



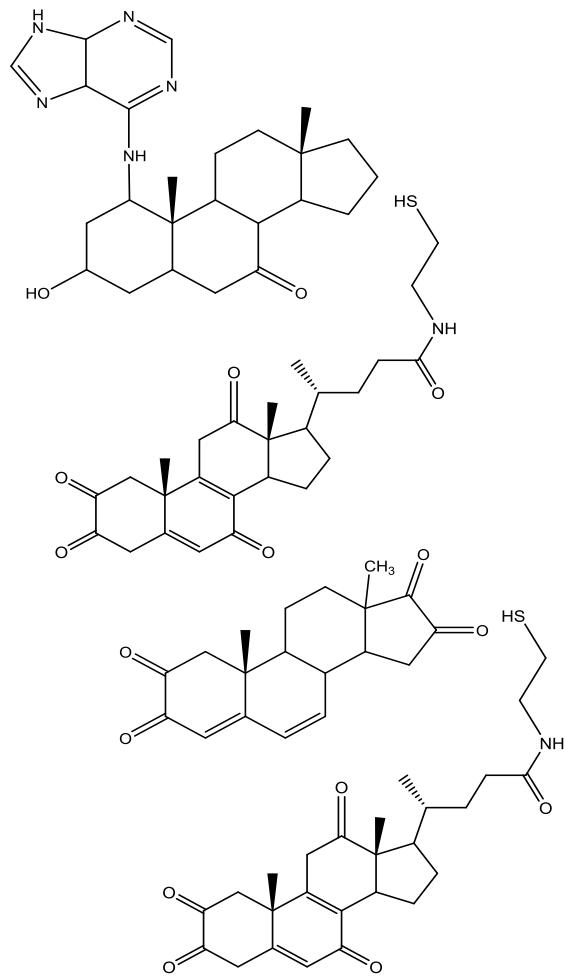
описторхоз

В лизате Ов найдены метаболиты С-2 and С-3 холестерола и дальнейшее их окисление до катехол-эстрогенов

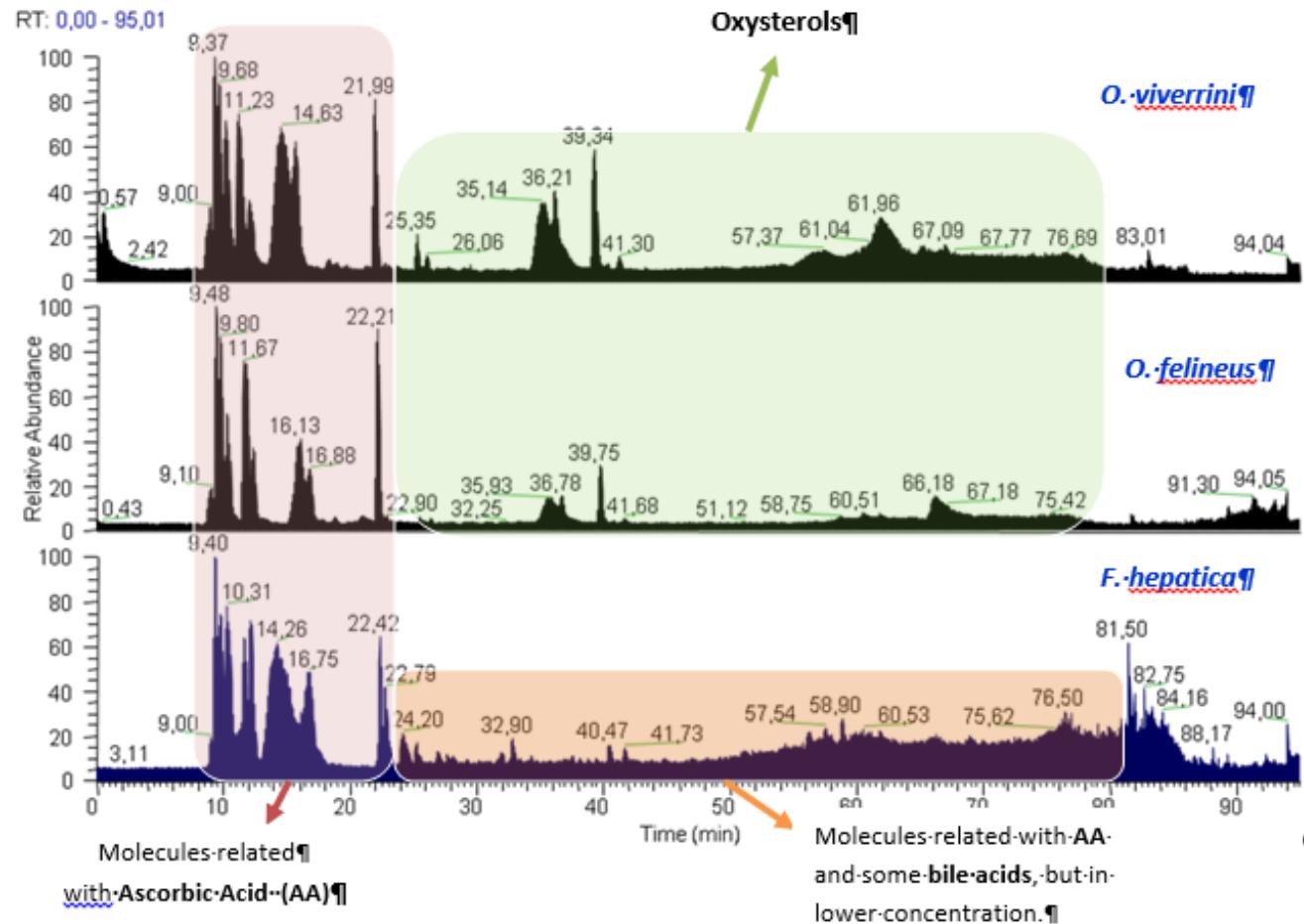
LC-MS/MS analysis of OV and OF samples



Parasite specific oxysterols
Postulate Structure



Связь способности синтеза специфических оксистеролов и индукции рака печени



F. hepatica не вызывает развитие рака печени.

У *F. hepatica* нет специфических оксистеролов

Figure 2. Resume of MS spectra obtained by LC-MS/MS: comparison between *Ov*, *Of* and *Fh*.

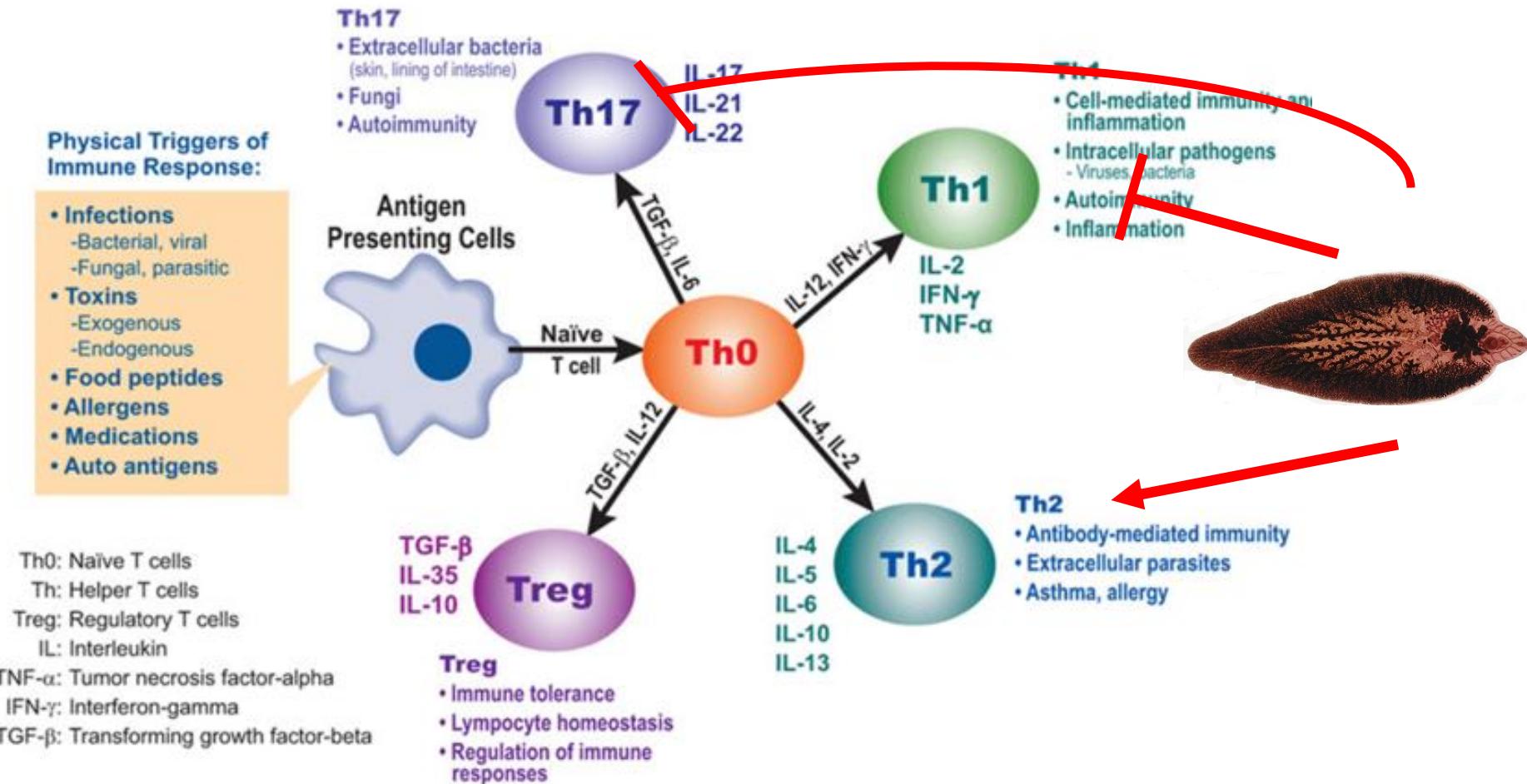
Секреторно-экскреторные белки

Пероксиредоксины
Протеазы и ингибиторы протеаз
Гранулин

“Moonlighting” proteins

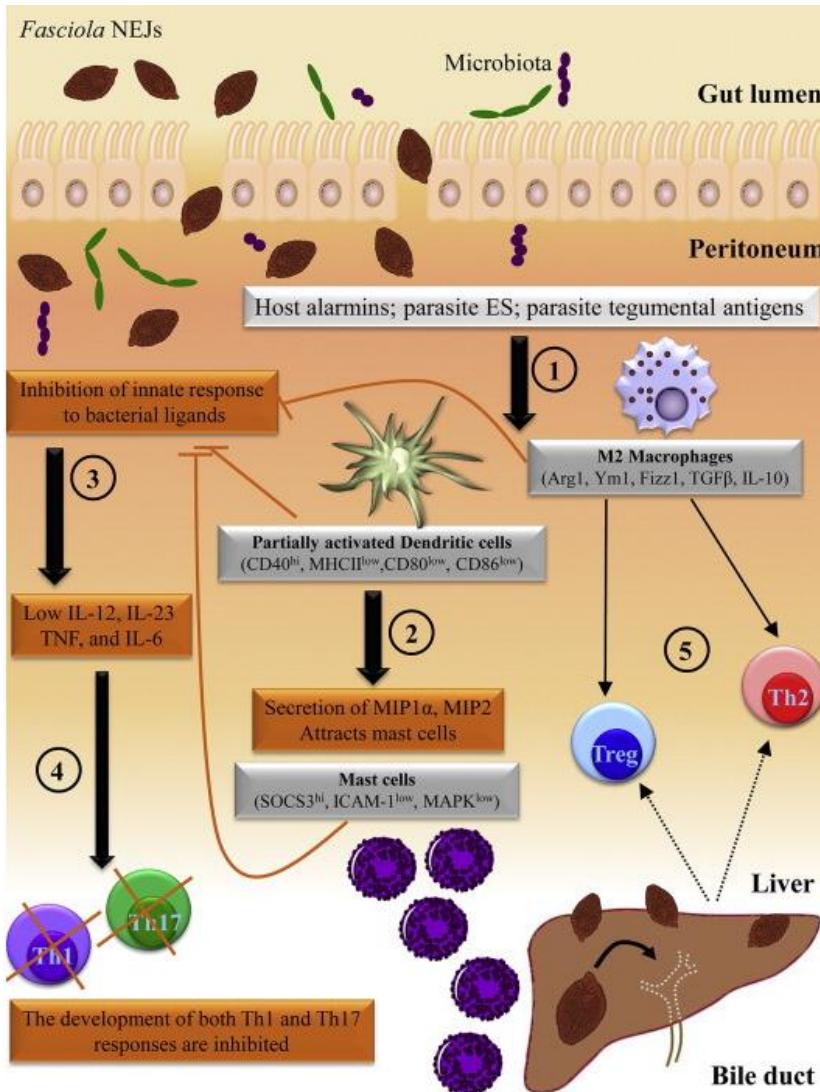
actin beta/gamma 1
tubulin beta
paramyosin
AF527456_1calcium binding p
ubiquitin C
sterol regulatory element-bind
gamma-tubulin complex comp
cullin 1
serine/threonine-protein phos
innexin unc-9
putative serine-rich repeat pro
protein tyrosine phosphatase
protocadherin-9
protein CIP2A
nuclear factor interleukin-3-re
splicing factor arginine/serine
programmed cell death 6-inter
polycomb protein Su(z)12
integrin alpha-5
coiled-coil domain-containing
ecdysone-induced protein 78C
ankyrin repeat domain-contain
patatin-like phospholipase dor
exocyst complex component 6
terminal uridylyltransferase 7
zinc finger CCCH domain-conta
ATPase family AAA domain-co
cell division cycle 2-like
telomerase protein component
FH1/FH2 domain-containing pr
neurofibromin 1
hypothetical protein T265_048
DNA polymerase alpha subuni
Ca(2+)/calmodulin-responsive
striated muscle preferentially
putative spectrin beta chain, b
plectin, partial
rootletin
twitchin, partial
annexin A7
cathepsin D
syntenin-1
myosin regulatory light chain
helminth defence molecule-1
hypothetical protein T265_105
hypothetical protein T265_158
putative major vault protein
annexin A7
hypothetical protein T265_062
tRNA (adenine-N(1)-)methyltr
hypothetical protein T265_052
unknown transmembrane prot
myosin heavy chain
venom allergen-like (VAL) 8 pr
Ras-related protein Rac1, part
AF461710_1myoglobin
glutathione S-transferase
tegumental protein
Ras homolog gene family mem
endophilin-B1
hypothetical protein T265_105
hypothetical protein T265_036
hypothetical protein T265_041
cript-related
tubulin alpha chain
taurocyamine kinase
tetraspanin 2A
hypothetical protein T265_131
hypothetical protein CLF_1087
COMPASS component SWD1
tubulin alpha

ТИП ИММУННОГО ОТВЕТА



В итоге возникает целый каскад реакций иммунотета, который приводит к определенному иммунному статусу. Так приспособился организм человека бороться с паразитами, вирусами, бактериями. Это стандартная схема. Паразиту, чтобы выжить нужно бороться с этими механизмами.

Продолжительность жизни *F. hepatica* до 20 лет у овец



Попадая в организм хозяина вместе с пищей, *Fasciola hepatica* попадает в ткани кишечника проходя через эпителий с помощью протеаз cathepsin B и cathepsin L.

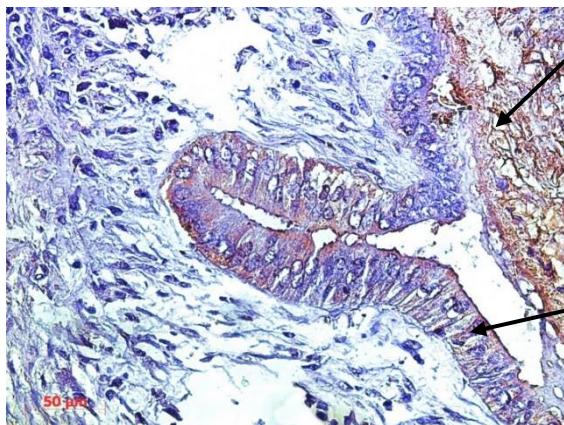
Белки *F. hepatica* (FhCL1, FhPrx и FhHDM-1) и антигены тегумента способствуют развитию фенотипа макрофагов характерного для M2 фенотипа.

Клетки врожденного иммунитета неспособны реагировать на стимуляцию бактериальными токсинами

как результат не развивается ответ Th1- and Th17

Фасциолы проникают через ткани кишечника в печень в течение нескольких дней.

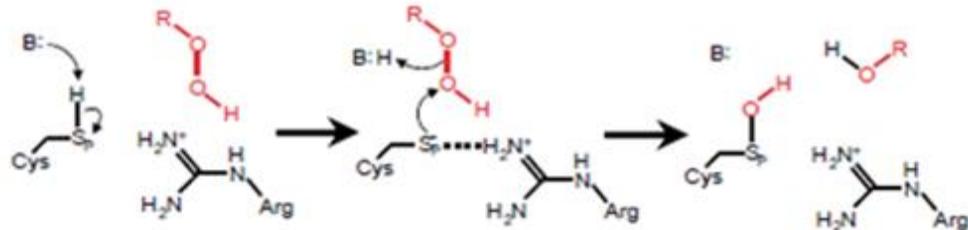
ТрХ Тиоредоксин пероксидаза



описторх

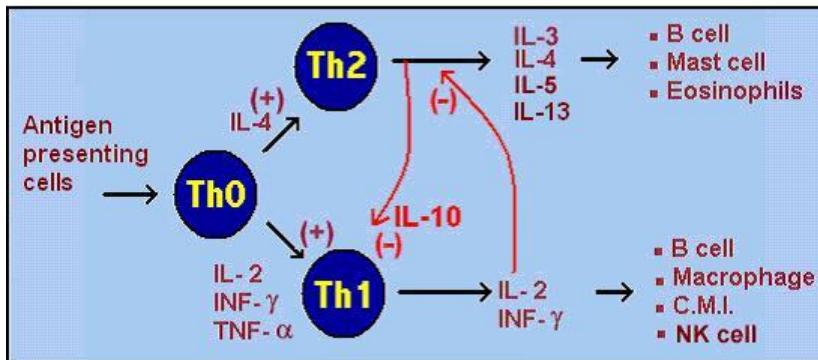
Эпителий
желчных
протоков

Внутриклеточный белок антиоксидантной защиты

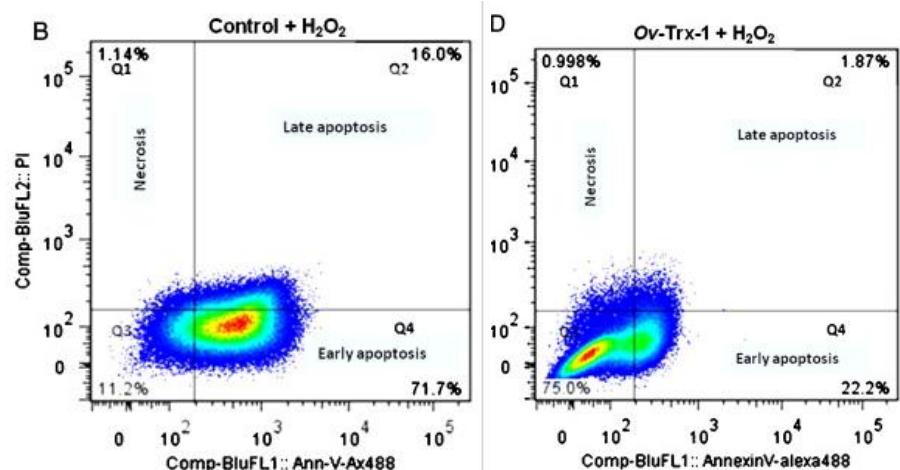


ТрХ обнаруживается в клетках эпителия протоков.

ТрХ снижает апоптоз холангиоцитов



Избегание иммунного ответа

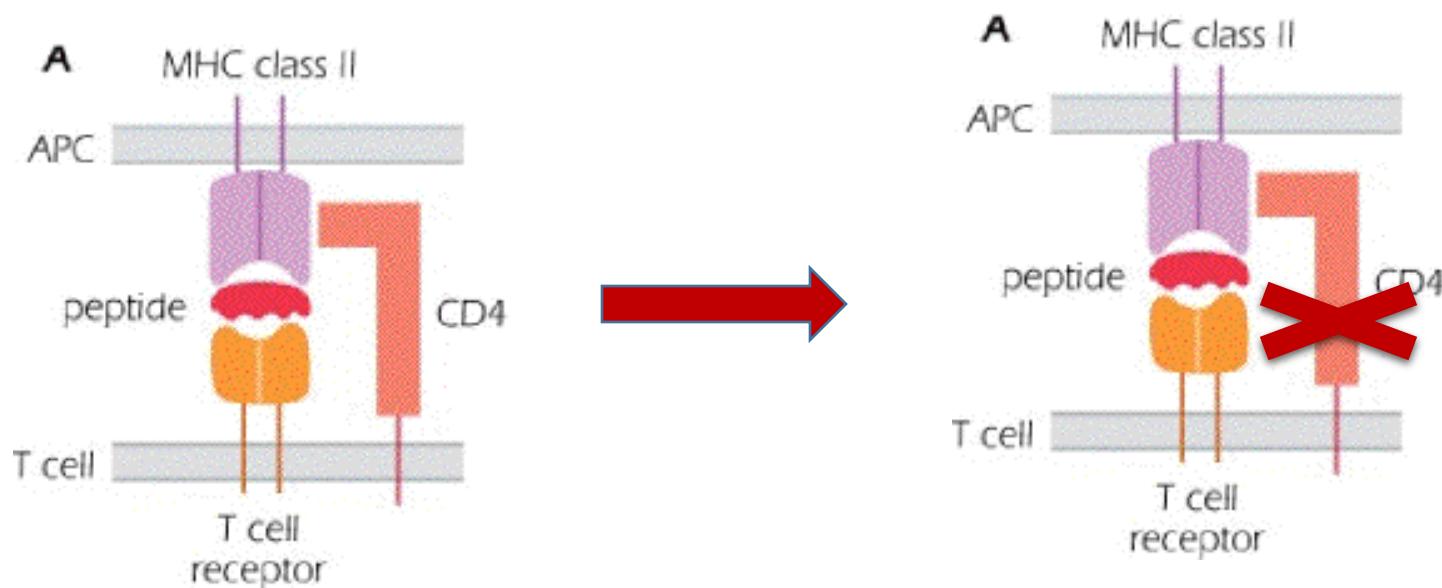


cathepsin L cysteine proteinases

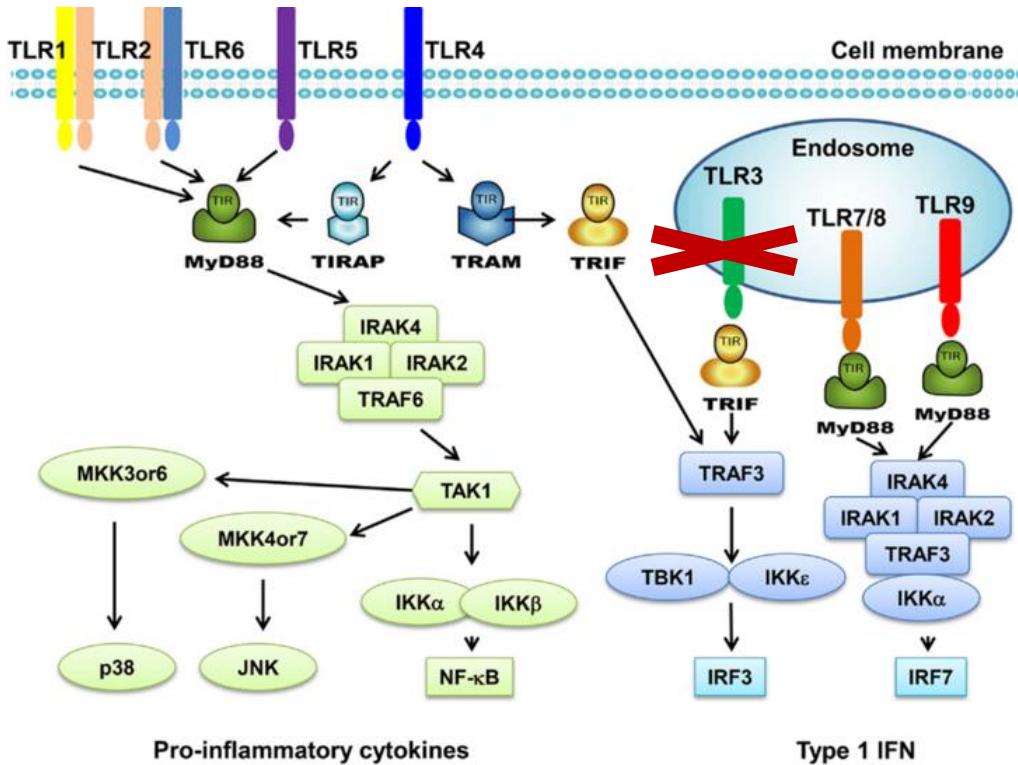
До 80% белков в секреторном продукте – это цистеиновые протеазы

Гидролизуют иммуноглобулины хозяина, preventing antibody-mediated killing mechanisms from operating at this early stage in infection

cathepsin L5 (FhCL5) может изменять функцию Т клеток, разрушая CD4 рецепторы на поверхности, снижение TH1 ответа



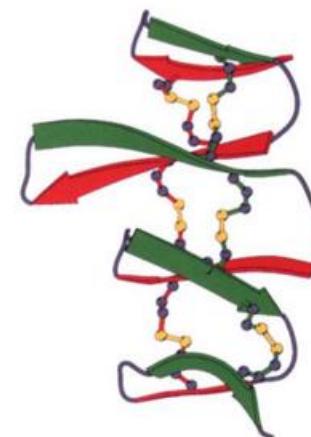
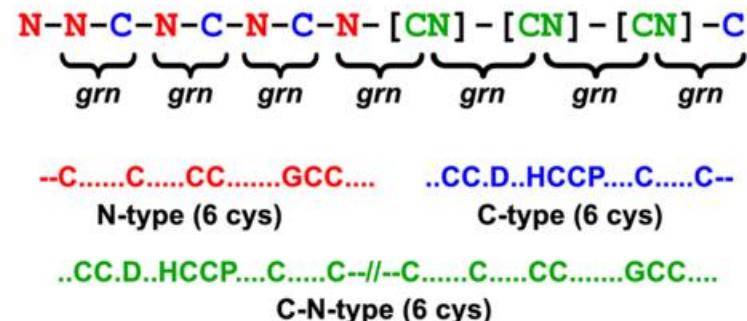
Катепсины L разрушают Toll-like receptor 3 в эндосомах макрофагов



Катепсины
разрушают toll-like
receptor (TLR) 3
внутри эндосомы
макрофагов.
Нарушается
презентация
антигена, снижается
индуциция IFN
гамма, снижение
Th1 ответа

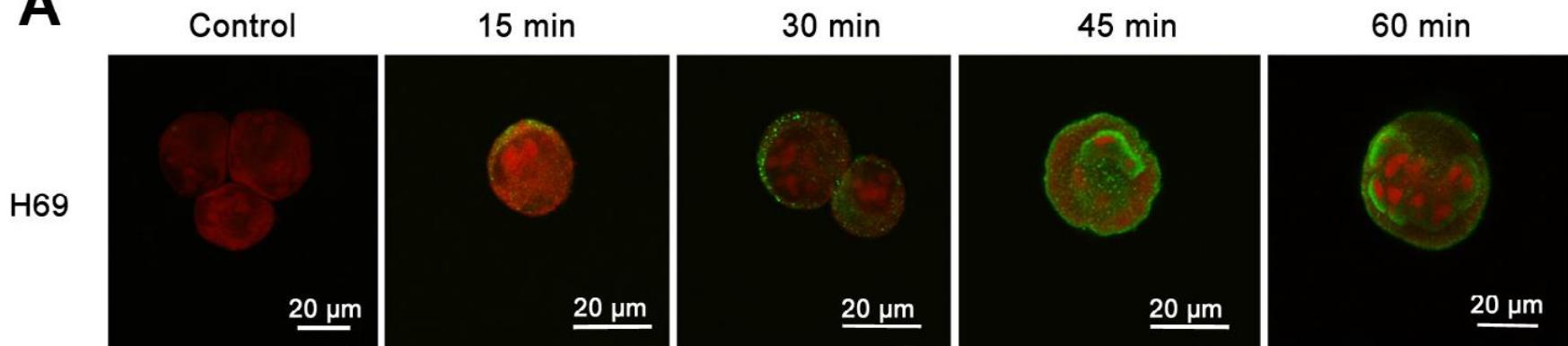
Гранулин – гомолог человеческого програнулина

- Маленький секретируемый белок 6 kDa, получается в результате протеолиза предшественника програнулина
- Регулирует пролиферацию эпителиальных клеток
- Повышенная экспрессия ассоциирована с различными видами рака, including breast cancer, clear renal carcinoma, invasive ovarian carcinoma and glioblastoma.

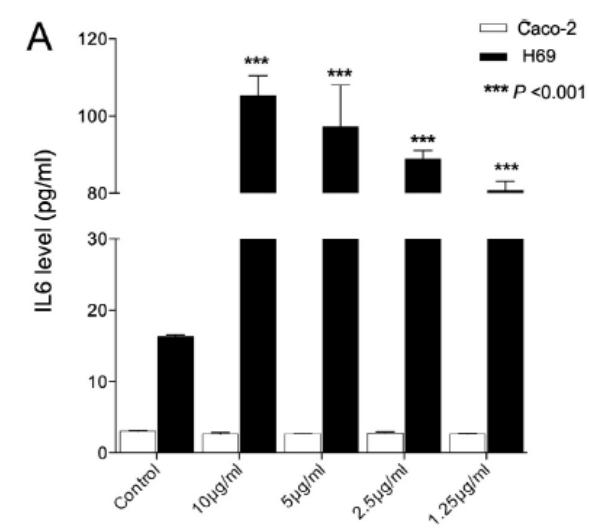
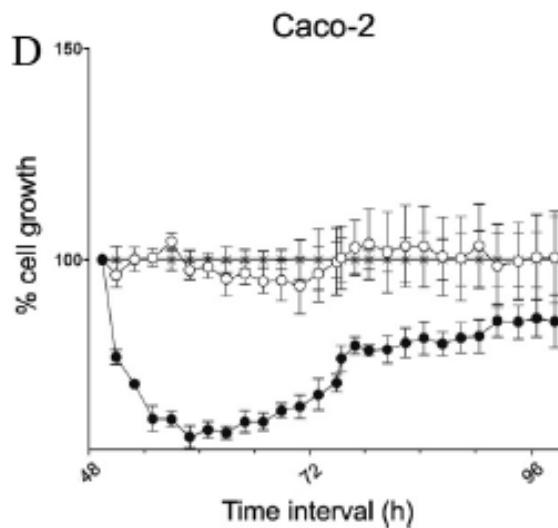
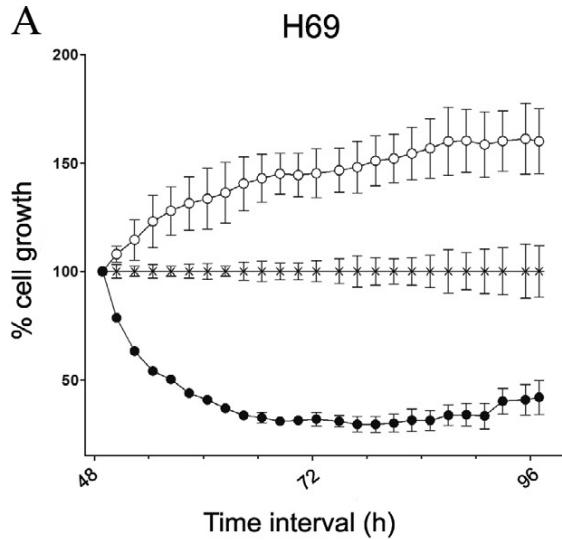


Гранулин trematodes

A



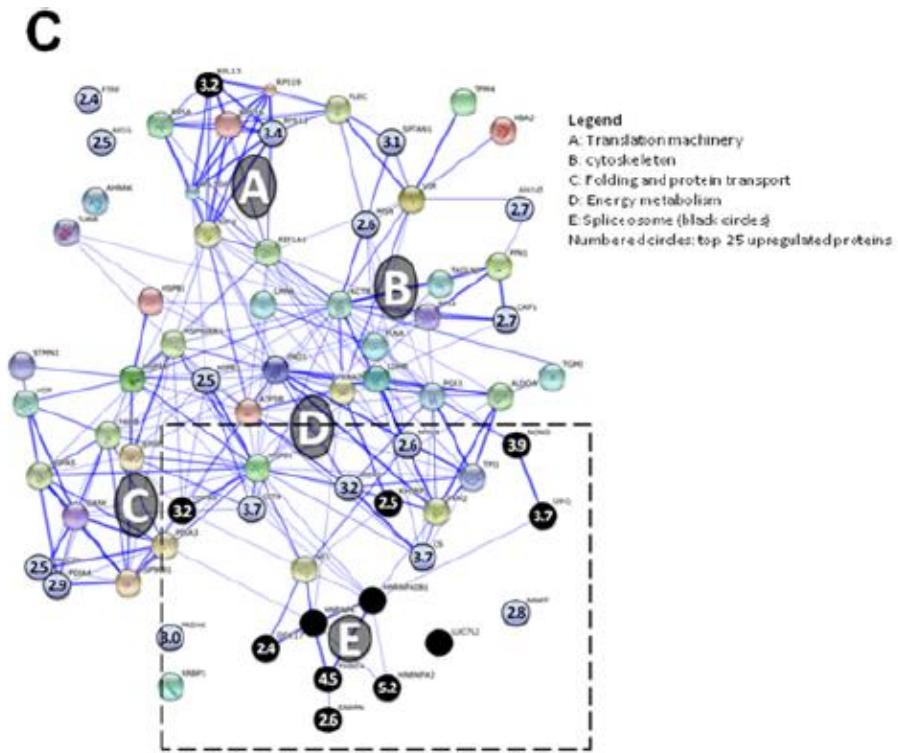
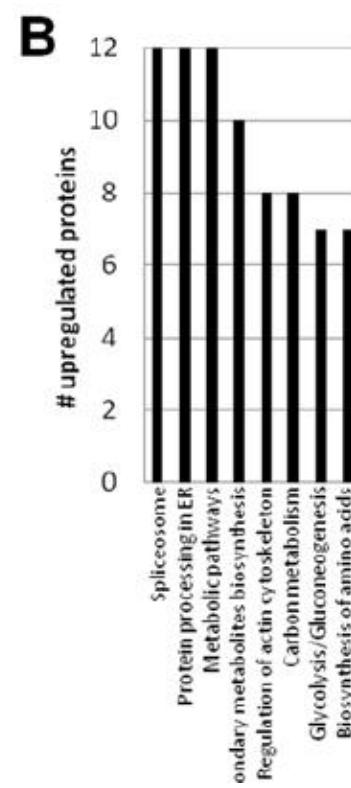
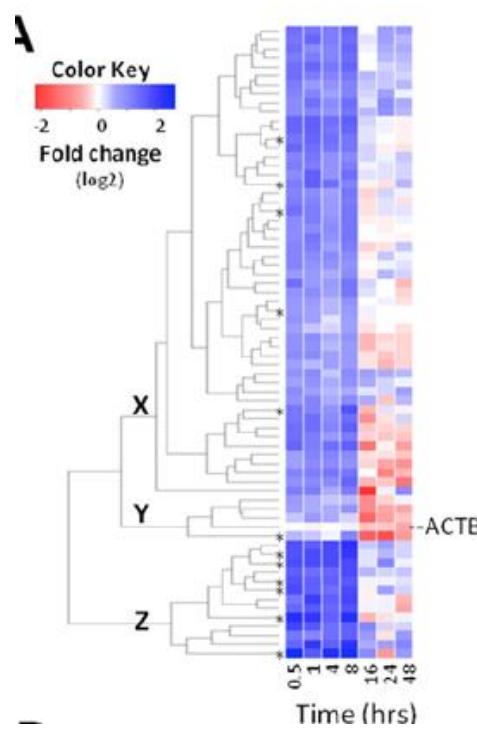
A



Гранулин попадает внутрь холангиоцитов и увеличивает пролиферацию и синтез IL6

RESEARCH ARTICLE

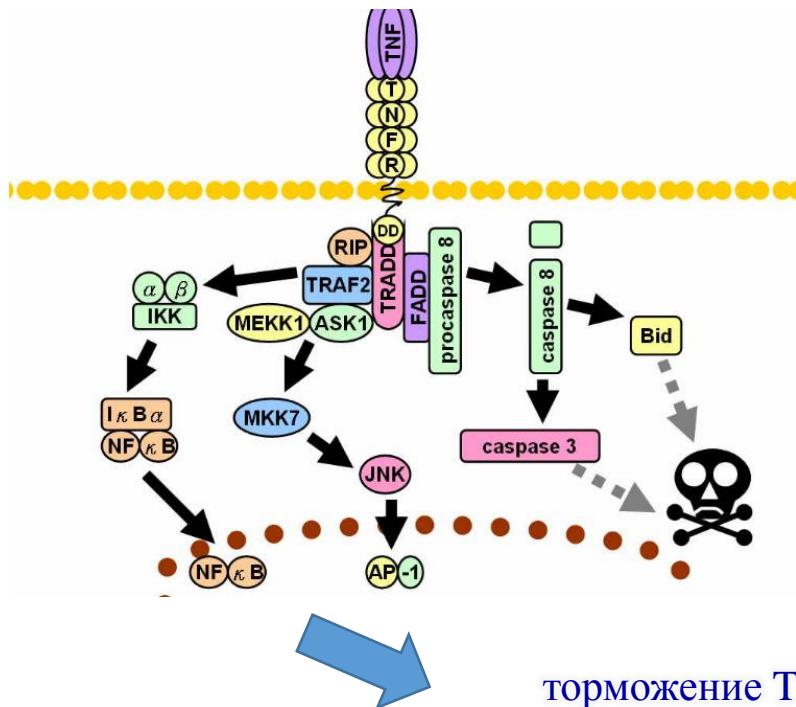
Carcinogenic Parasite Secretes Growth Factor That Accelerates Wound Healing and Potentially Promotes Neoplasia



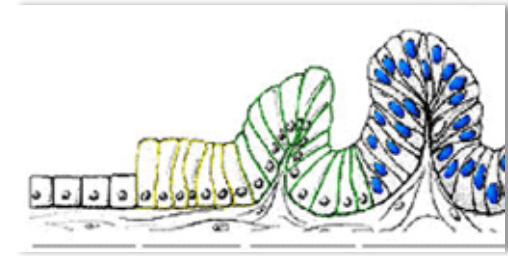
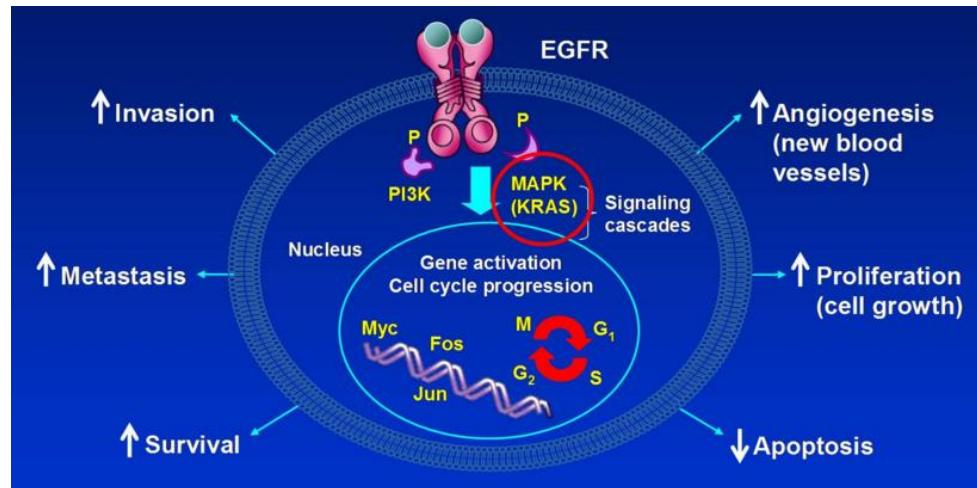
Clustered heatmap of 70 proteins for which expression levels were modulated.

Human Granulin

Parasitic Granulin



Гранулин млекопитающих действует через TNF receptors на поверхности клеток и является антагонистом TNF пути передачи сигнала. В отличие от этого Гранулин паразита не связывает TNFR. Гранулин паразита действует через MAPK и EGFR pathways

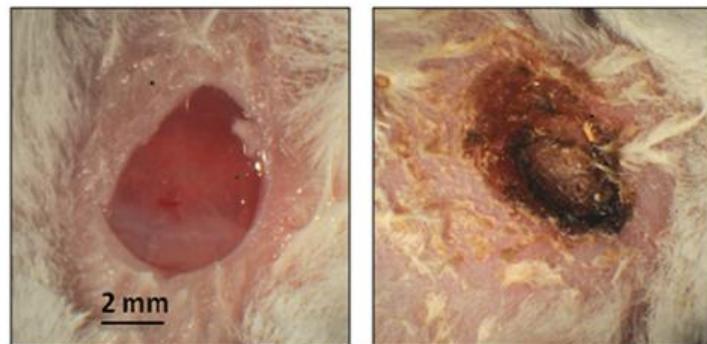


Epithelial hyperplasia
Goblet cell metaplasia
Adenomatous hyperplasia

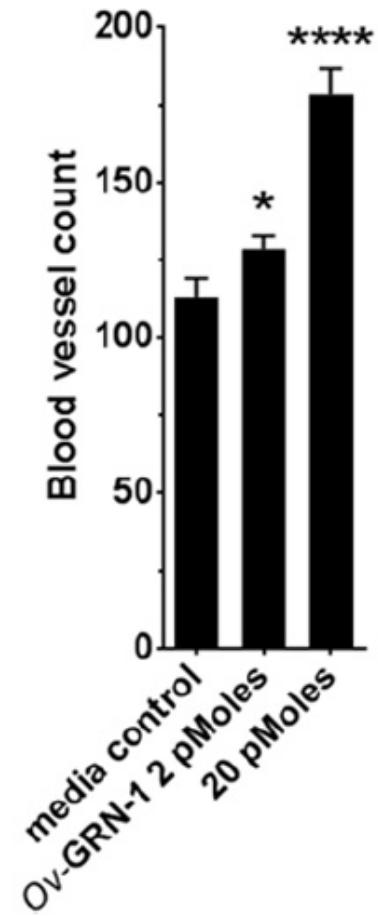
Гранулин увеличивает скорость заживления ран. Рост кровеносных сосудов

A

Ov-GRN-1



TRX
control

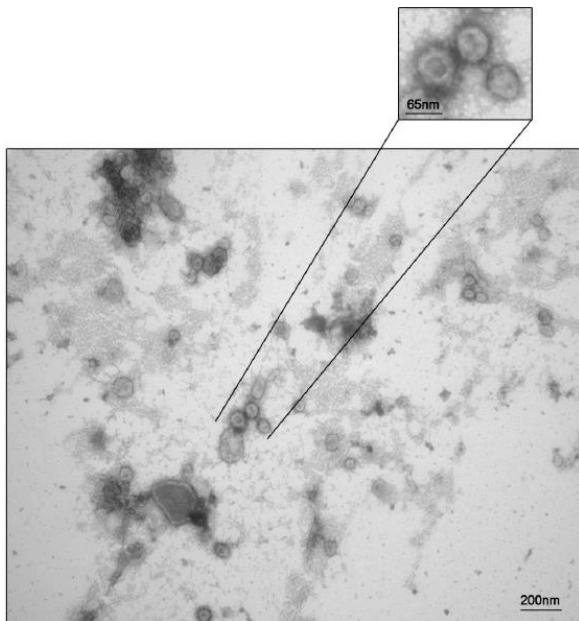


Подавление Th1 ответа приводит к ослаблению защиты организма от бактериальной и вирусной инфекции

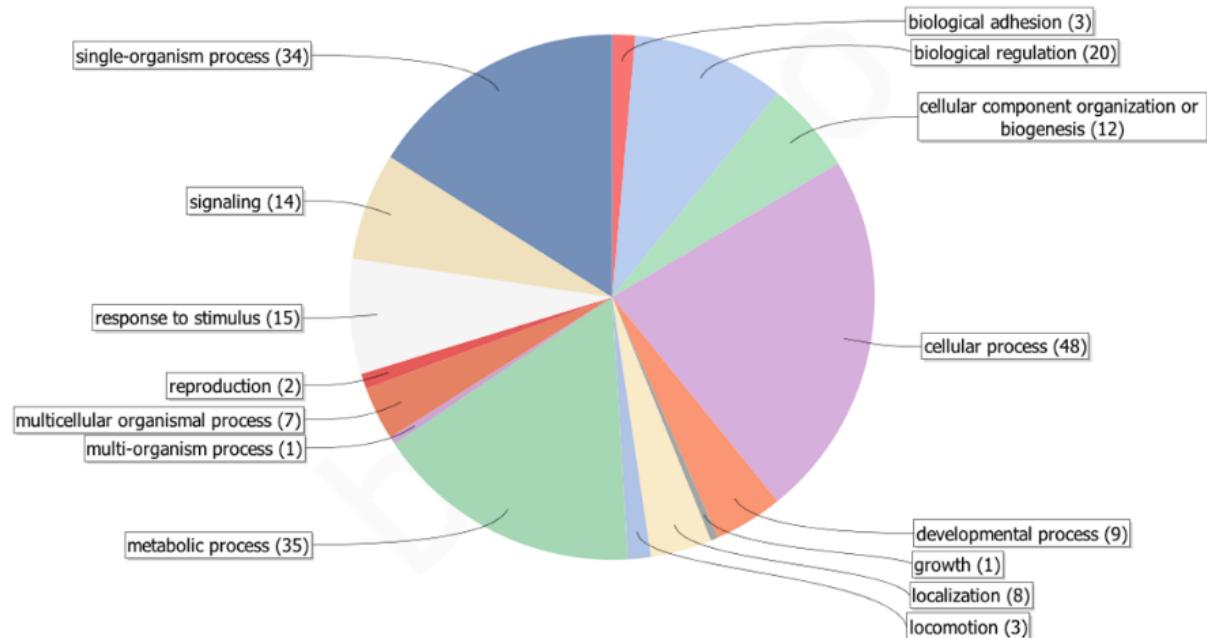
- Коинфекция шистосомы и HIV / малярии 
 - Неэффективность вакцинации против БЦЖ (туберкулез) вакцин, холерного токсина или токсина дифтерии
 - Развитие вторичных инфекций на фоне паразитозов
- Слабая
эффективность
лечения

Carcinogenic Liver Fluke Secretes Extracellular Vesicles That Promote Cholangiocytes to Adopt a Tumorigenic Phenotype

Sujitra Chaiyadet,^{1,4,a} Javier Sotillo,^{4,a} Michael Smout,⁴ Cinzia Cantacessi,^{4,5} Malcolm K. Jones,^{6,7} Michael S. Johnson,⁸ Lynne Turnbull,⁸ Cynthia B. Whitchurch,⁸ Jeremy Potriquet,⁶ Manut Laothaviroj,² Jason Mulvenna,⁶ Paul J. Brindley,⁹ *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(4), 2222–2234



Graph Level 2 Pie Chart [Biological Process]



Микровезикулы в своем составе содержат 111 белков