

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program:

Biologie

Studijní obor:

Ekologická a evoluční biologie



Martin Kurečka

Interakce mezi motolicemi rodu *Schistosoma* a jejich hostiteli na úrovni metabolomu

Interactions between *Schistosoma* spp. and their hosts at the metabolome level

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: Mgr. Zdeněk Kameník, Ph.D.

Konzultant: prof. RNDr. Petr Horák, Ph.D.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne:

.....

Martin Kurečka

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval mému vedoucímu bakalářské práce Zdeňkovi Kameníkovi a mému konzultantovi Petru Horákovi za čas, trpělivost a cenné připomínky. Zároveň bych chtěl poděkovat všem co mě ve vypracování práce podporovali.

Abstrakt

Motolice rodu *Schistosoma* jsou významní krevní parazité, kteří způsobují v tropických a subtropických zemích závažná chronická onemocnění savců včetně člověka. Léčba těchto onemocnění je problematická, a proto se stále hledají nové molekulární cíle pro vývoj vakcín a účinnějších léčiv. K tomuto účelu je nezbytným předpokladem lepší pochopení interakce mezi parazitem a hostitelem na molekulární úrovni. K porozumění těmto procesům může přispět kvalitativní i kvantitativní studium rozdílů v metabolismu zdravých a infikovaných jedinců pomocí metabolomiky. Práce je rešerší zaměřenou na nízkomolekulární látky v tkáních a tělních tekutinách hostitelů schistosom. Výběr metabolitů je omezen na ty, u kterých byla pozorována změna způsobená alespoň hypoteticky infekcí schistosomami a současně je mechanismus těchto změn v kontextu infekce znám nebo navržen. Součástí práce je také stručný přehled základních metod analytické chemie, které jsou v metabolomice nejčastěji využívány.

Klíčová slova: *Schistosoma* spp; mezihostitel; definitivní hostitel; spektrometrie; metabolomika; nízkomolekulární látky

Abstract

The blood flukes of the genus *Schistosoma* are important parasites that cause serious chronic diseases in mammals, including humans, in tropical and subtropical countries. Treatment of these diseases is challenging; therefore, new molecular targets are still being sought for the development of vaccines and more effective drugs. To achieve this, better understanding of interactions between the parasite and the host at the molecular level is an important prerequisite. These processes can be studied by quantitative and qualitative determination of metabolite differences in healthy and infected individuals using metabolomics. The work represents a review of low molecular weight substances in tissues and body fluids of schistosome hosts, in which a change in concentration of metabolites putatively related to the infection was observed. Only metabolites with a hypothetical or known mechanism of these changes in the context of infection are covered. The thesis also includes a brief overview of basic methods of analytical chemistry, which are used in studies based on metabolomics.

Key words: *Schistosoma* spp.; intermediate host; definitive host; spectrometry; metabolomics; low molecular compounds

Seznam zkratek

NMR – nukleární magnetická rezonance

MS – hmotnostní spektrometrie

CE – kapilární elektroforéze

GC-MS – hmotnostní spektrometrie spojená s plynovou chromatografií

TCA – kyselina trikarboxylová

Obsah

1	Úvod	1
2	Metabolomika v parazitologii	2
2.1	Cílená a necílená metabolomika.....	2
2.2	Metody analytické chemie využívané v metabolomice	3
2.2.1	NMR spektrometrie.....	3
2.2.2	Hmotnostní spektrometrie.....	3
2.2.3	Kapilární elektroforéza.....	3
3	Biologie rodu <i>Schistosoma</i>	4
3.1	Životní cyklus rodu <i>Schistosoma</i>	4
3.2	Patofyziologie infekce schistosomami.....	5
4	Metabolické interakce schistosom a jejich definitivních hostitelů	7
4.1	Glukóza	9
4.2	Organické kyseliny.....	9
4.3	Aminokyseliny.....	10
4.4	Steroidní látky.....	11
4.5	Lipidy a fosfolipidy	12
4.6	Mikrobiální ko-metabolity	12
4.7	Benzenaminy.....	13
4.8	N-nitrosaminy, dusitany a dusičnany.....	14
4.9	Naftalen	14
5	Metabolické interakce schistosom a jejich mezihostitelů	15
5.1	Glukóza a glykogen	16
5.2	Organické kyseliny.....	17
5.3	Aminokyseliny.....	17
5.4	Aminy	18
5.5	Vápník	19
6	Závěr	21
7	Seznam citované literatury	22

1 Úvod

Motolice rodu *Schistosoma* jsou krevní paraziti, kteří způsobují významná chronická onemocnění savců, včetně člověka, která mohou v některých případech končit i smrtí. Mezi nejrozšířenějšími druhy, které jsou i předmětem této práce, patří *S. mansoni*, *S. japonicum* a *S. haematobium*. Tyto druhy se vyskytují převážně v tropických zemích Afriky, Asie, Středního východu a Jižní Ameriky. Dosud neexistuje žádná účinná vakcína a objevuje se rezistence vůči zatím nepoužívanějšímu léku, jímž je praziquantel (Wolstenholme, 2014). Proto se neustále hledají další molekulární cíle pro vývoj vakcín a nové účinnější chemoterapeutika.

Dospělá motolice může žít ve svém hostiteli léta až desetiletí, během kterých hostitel a parazit soutěží o metabolity představující především dostupný zdroj energie. Z toho vyplývá, že metabolismus hostitele je v důsledku napadení motolicí pozměněn. Ke studiu těchto metabolických změn může sloužit metabolomika, která se zabývá chemickou analýzou komplexního souboru nízkomolekulárních látek v biologickém vzorku.

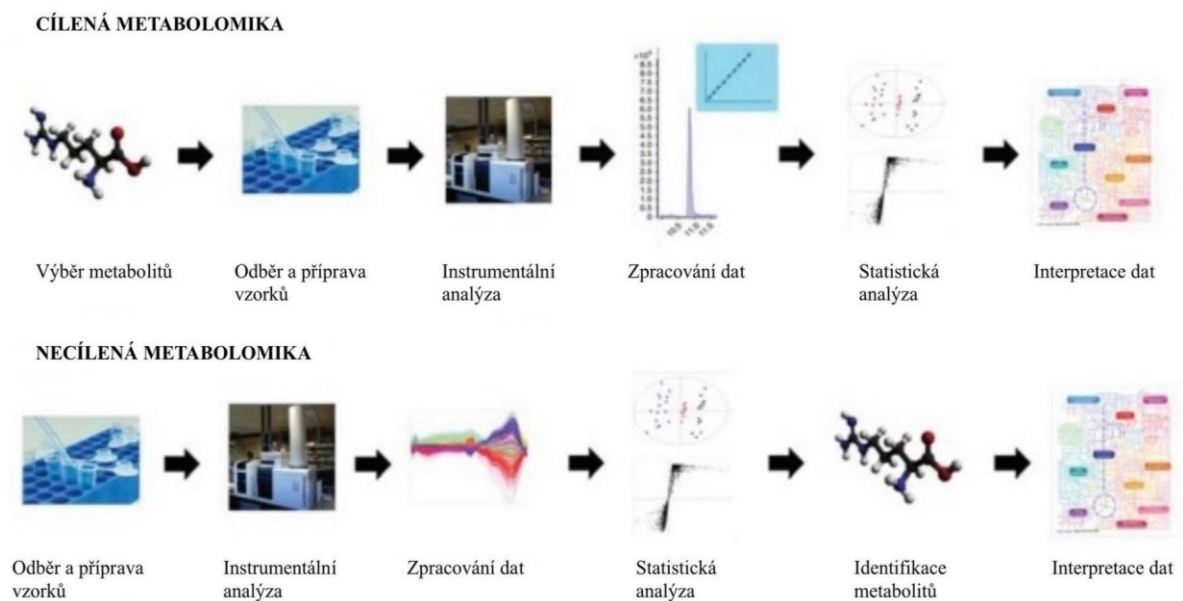
Cílem bakalářské práce je poskytnout souhrnnou literární rešerši nízkomolekulárních látek obsažených v tkáních a tělních tekutinách schistosom a jejich hostitelů. Práce zahrnuje metabolity savčích definitivních hostitelů a plžích mezihostitelů infikovaných motolicemi druhů *S. mansoni*, *S. japonicum* a *S. haematobium*. V úvahu jsou brány pouze metabolity, u kterých byla na základě dostupných informací pozorována nebo navržena souvislost změny jejich koncentrace s infekcí. Informace o tom, zda je změna v koncentraci metabolitů obecnou reakcí hostitele na stresový faktor, je často nejasná a je uvedena, pokud byla dostupná v literatuře. Součástí práce je také přehled metod analytické chemie využívaných v metabolomice.

2 Metabolomika v parazitologii

Metabolomika je poměrně mladý obor, jehož termín zavedl v roce 2001 Oliver Fiehn, a to jako komplexní a kvantitativní analýzu metabolomu biologického systému. Metabolomem se rozumí soubor všech metabolitů, tedy látek s nízkou molekulovou hmotností (<1500 Da) přítomných v biologickém systému (Wishart, 2007). Metabolomika se tedy snaží porozumět fungování organismů na úrovni jejich metabolismu. V parazitologii pak studium metabolomiky může vypadat tak, že se pomocí fyzikálně-chemických metod analyzuje metabolom určitého organismu a metabolomy se mezi sebou srovnávají – např. metabolom hostitele infikovaného a neinfikovaného.

2.1 Cílená a necílená metabolomika

Metabolomickou studii lze na základě jejího uspořádání rozdělit na metabolomiku cílenou a necílenou (Obr.1). V cílené metabolomice se kvantitativně analyzují konkrétní metabolity nebo skupiny metabolitů (např. proteinogenní aminokyseliny, metabolity Krebsova cyklu apod.) (Roberts, 2012), zatímco v případě necílené metabolomiky je snahou pokrýt celý metabolom a následně určit metabolity s konkrétním biologickým významem. V prvotních studiích



Obr. 1: Rozdíl v přístupech u cílené a necílené metabolomiky (Canuto, 2018, modifikováno)

se obvykle využívá necílené metabolomiky, která slouží k postulování pracovní hypotézy (např. biologická role určitého metabolitu) a ta je následně ověřována pomocí cíleného přístupu (Vinayavekhin, 2010).

Necílená metabolomika poskytuje komplexnější data, která je nutné zpracovat s využitím pokročilého software (Zhang, 2016).

2.2 Metody analytické chemie využívané v metabolomice

Existuje široká škála metod analytické chemie, zejména separačních a spektrometrických technik, které lze využít k metabolomickému profilování biologických vzorků. Mezi klíčové techniky, které našly uplatnění v diagnostickém výzkumu parazitů nebo při zkoumání mechanismů působení infekce konkrétními parazitickými druhy, patří nukleární magnetická rezonance (NMR) (Wang, 2004), hmotnostní spektrometrie (MS) (Alsaleh, 2019) s nebo bez chromatografické separace a separační technika kapilární elektroforéza (CE) (Garcia-Perez, 2010). Základní principy těchto metod jsou stručně uvedeny níže.

2.2.1 NMR spektrometrie

NMR spektrometrie využívá interakce atomových jader, které vykazují nenulový jaderný spin s magnetickým polem. Signály generované chemickými látkami ve vzorku odrážejí místní prostředí každého atomu v molekule. Intenzita signálu je přímo úměrná koncentraci detekované chemické skupiny. Tvar, rozdělení a poloha signálu obsahují informace týkající se molekulární struktury (Grant, 1996). Proto je NMR spektrometrie vhodným analytickým nástrojem k objasnění molekulární struktury, což usnadňuje identifikaci biomarkerů. NMR spektrometrie je ale ve srovnání s MS výrazně méně citlivá a lze ji využít zejména k detekci majoritních metabolitů (Holmes, 2010).

2.2.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie pracuje na principu převedení neutrálních chemických látek na nabitě ionty a jejich rozdělení podle poměru hmota/náboj. Pro řadu raných MS prací v parazitologii byla využita plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) (Goumon, 2000). Pro GC-MS jsou k dispozici kvalitní databáze pro identifikaci metabolitů a tato technika zůstává jednou z nejužitečnějších platform v postgenomickém metabolomickém profilování. Limitací GC-MS techniky je pokrytí pouze volatilních látek nebo látek, které lze na volatilní převést derivatizací. V současné době se k metabolomickému profilování úspěšně používají zejména systémy MS spojené s kapalinovou chromatografií (Alsaleh, 2019). Vedle metabolomických aplikací hraje MS také klíčovou roli v proteomických studiích (Holmes, 2010).

2.2.3 Kapilární elektroforéza

Kapilární elektroforéza, která pracuje na principu separace molekul na základě jejich rozdílné pohyblivosti v elektrickém poli, je také rozvíjející se metodou mezi analytickými technikami aplikovanými v metabolomickém profilování. Výhodou CE je relativně levná pořizovací cena i provoz, ale problémy nastávají při identifikaci metabolitů a někdy i horší reprodukovatelnosti této metody (Holmes, 2010).

Motolice rodu *Schistosoma* pro svůj vysoký vliv na člověka zůstává na předních místech v oblasti zájmu četných metabolomických studiích v oblasti parazitologie.

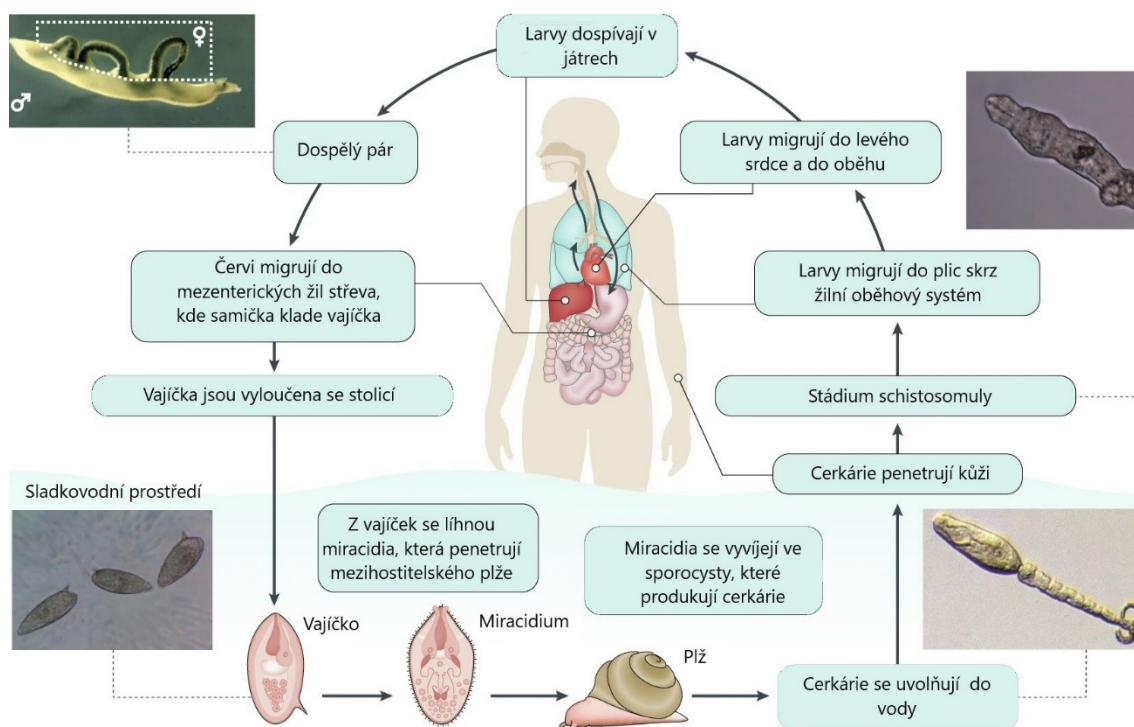
3 Biologie rodu *Schistosoma*

Každý zásah či změna do vnitřního prostředí organismu se může okamžitě projevit změnou jeho metabolismu. Proto je znalost životního cyklu schistosom a fyzických projevů infekce důležitá pro správnou interpretaci naměřených dat. Stav metabolismu hostitele se tak bude odvíjet od toho, v jakém vývojovém stadiu se parazit nachází a k jakým patologiím v těle hostitele dochází.

3.1 Životní cyklus rodu *Schistosoma*

Druhy rodů *Schistosoma* mají složité životní cykly zahrnující mezihostitele – sladkovodního plže a konečného hostitele – savce, včetně člověka (Obr. 2). Na začátku cyklu se vajíčka druhů *S. mansoni* a *S. japonicum* dostávají z lidského hostitele se stolicí nebo v případě *S. haematobium* močí do vnějšího prostředí. Vajíčka se líhnou ve sladké vodě a jako miracidia penetrují *S. mansoni* plže rodu *Biomphalaria*, *S. japonicum* plže rodu *Oncomelania* a *S. haematobium* plže rodu *Bulinus*. V plžích se miracidia přemění na stadium sporocysty, ty se pak asexuálně množí za vzniku sporocyst dceřiných, které produkují buď cercárie, nebo nové dceřiné sporocysty. Plž denně vyloučí stovky cercárií, které aktivně opouštějí mezihostitele a uvolňují se do vodního prostředí.

Cercárie po lokalizaci savčího hostitele penetrují kůži a transformují se do stadia schistosomuly. Schistosomuly zůstávají v kůži několik dní, poté se lymfatickými cévami dostanou do oběhu a 5. až 7. den po penetraci se dostávají do plic. Po asi 2 týdnech se znovu stahují do krve, až dosáhnou portálního jaterního oběhu. Zde setrvávají a pohlavně dospívají v dospělé samečky a samičky. Po setkání s partnerem opačného pohlaví pár migruje do mezenterických žil, páří se a po 4 týdnech začíná samička produkovat vajíčka. Dospělí červi *S. mansoni* a *S. japonicum* se nacházejí převážně v dolních mezenterických žilách, které obklopují tenké či tlusté střevo nebo v pánevním žilním plexu v případě *S. haematobium*. Vejce snesená samičkami se buď šíří krevním tokem do jiných orgánů, nebo pronikají do lumenu střeva a dostávají se do vnějšího prostředí se stolicí. V případě *S. haematobium* vajíčka pronikají do močového měchýře a do vnějšího prostředí odcházejí močí.



Obr. 2: Životní cyklus schistosom na příkladu druhu *S. mansoni* (McManus, 2018, modifikováno).

3.2 Patofyziologie infekce schistosomami

Projevy infekce schistosomami se rozdělují na akutní a chronické. Během akutní fáze tělo reaguje na pronikající cercárie v kůži, na migrující schistosomuly a začátek kladení vajíček schistosomami. Chronická fáze infekce se vyznačuje zánětlivým poškozením orgánů, převážně jater a močového měchýře, a v reakci imunitního systému na vajíčka schistosom.

Akutní fáze

Akutní příznaky infekce mohou zahrnovat rozvoj lehké vyrážky, takzvanou cercáriovou dermatitis. Ta je způsobena imunitními reakcemi na část uhynulých cercárií pronikajících kůží. Dalším příznakem může být takzvaná Katayamská horečka, která je charakterizována horečkou, únavou a suchým kašlem. Příznaky se mohou objevit 2–12 týdnů po infekci v důsledku systémové reakce na antigeny uvolněné migrujícími schistosomulemi nebo na vajíčka kladená dospělými schistosomami, a to převážně u naivních jedinců (Ross, 2007).

Chronická fáze

Hlavní příznaky a organové léze jsou způsobeny zánětlivými reakcemi imunitního systému proti vajíčkům parazita, a to v 5. týdnu po infekci (Cheever, 1994). Patologie jater je jedním z nejvýznamnějších projevů infekce *S. japonicum* a *S. mansoni* u lidí. Vajíčka způsobují zánět jater a ten nakonec vede k fibróze, což je zásadní rys chronické schistosomiázy (Lambertucci, 2000). Tvoří se rozsáhlé léze kolem portálních jaterních žil, takzvaná portální fibróza. Také se projevuje portální hypertenze, gastrointestinální krvácení nebo selhání jater. Při vysoce intenzivní infekce se může vyvinout abnormální zvětšení jater a sleziny tzv. hepatosplenomegalie (Wilson, 2011). Vajíčka druhů *S. mansoni* a *S. japonicum* se snaží

proniknout tkání do lumen střeva, čímž ve střevě vzniká rozsáhlý granulomatózní zánět, povrchové krvácení a vytváření pseudopolypů, které mohou vést ke zhoršení průchodnosti střeva (Lambertucci, 2005; Chen, 2014).

Odlišné projevy onemocnění má takzvaná urogenitální schistosomiáza způsobená dospělými červy *S. haematobium*, kteří žijí na rozdíl od *S. mansoni* a *S. japonicum* v pánevním žilním plexu, a patologická poškození jsou spojena s průchodem vajíček stěnou močového měchýře a ukládáním vajíček do pohlavních orgánů (Gryseels, 2006; Gray, 2011). Průchod vajíček do lumen močového měchýře je často doprovázen odlupováním epiteliálního povrchu a krvácením. Intenzivní zánět tkáně vyvolaný vajíčky může mít za následek ztlustění stěny močového měchýře a tvorby pseudopolypů (Burki, 1986; Hatz, 1990). Zánět a tvorba granulomů kolem ústí močovodu v močovém měchýři mohou blokovat průchod moči a vést k hydronefróze – otoku ledvin v důsledku nahromadění moči a způsobit tak poškození ledvin (Kayange, 2015). Urogenitální schistosomiáza je v některých případech spojena s karcinomem močového měchýře. (Vennervald, 2009). V důsledku poškození pohlavních orgánů může navíc vést infekce *S. haematobium* k infertilitě postižených pacientů (Santos, 2014).

4 Metabolické interakce schistosom a jejich definitivních hostitelů

Následuje souhrn vybraných modulovaných metabolitů zjištěných z tkání definitivních hostitelů *S. mansoni*, *S. japonicum* a *S. haematobium*. Uvedeny jsou pouze metabolity, u kterých byla pozorována nebo navržena souvislost změny jejich koncentrace s infekcí. Přehled těchto metabolitů a změn jejich koncentrací poskytuje tabulka 1 a doplňuje další informace k textu.

Tab. 1: Přehled metabolitů z tkání a tělních tekutin definitivních hostitelů schistosom u nichž došlo ke změně koncentrace v důsledku infekce

metabolit	parazit	tkáň	hostitel	metoda	autor
glukóza*	↑ <i>S. japonicum</i>	plazma	myš, potkan	NMR	Wu 2010, Saric 2010
	↓ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	plazma, játra, slezina	myš, potkan	NMR	Ghanem 1971, Wang 2004, Li 2009, Wu 2010, Li 2011
laktát	↑ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	plazma, moč, játra, slezina	myš	NMR, MAS- NMR	Li 2009, Wu 2010, Li 2011
pyruvát	↑ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, játra	myš, křeček	NMR, MAS- NMR	Wang 2004, Wang 2006, Li 2009, Wu 2010, Li 2011
	↓ <i>S. japonicum</i>	plazma	myš	NMR	Wu 2010
glykogen	↓ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	játra	myš	NMR, MAS- NMR	Wu 2010, Li 2011
2-oxoisovalerát, 2-oxoisokaproát, 2-oxoadipát	↓ <i>S. mansoni</i>	moč	člověk, myš	NMR	Wang 2004, Li 2011, Balog 2011
2-oxoisokaproát, 2-oxo-3- methylvalerát, 2-oxoisovalerát	↑ <i>S. japonicum</i>	moč	myš	NMR	Wu 2010
sukcinát	↓ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i> ,	moč, plazma, mozek	člověk, myš, křeček	NMR	Wang 2004, Wang 2006, Wu 2010, Balog 2011
citrát	↓ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, plazma	člověk, myš, křeček	NMR	Wang 2004, Wang 2006, Wu 2010, Balog 2011
2-oxoglutarát	↓ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, plazma	myš, křeček	NMR	Wang 2004, Wang 2006, Wu 2010
kreatin	↑ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, plazma, játra, ileum, slezina	člověk, myš	MAS- NMR, NMR	Wang 2004, Li 2009, Wu 2010, Balog 2011, Li 2011
	↓ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, plazma	myš	NMR	Wu 2010, Li 2011
prolin	↑ <i>S. mansoni</i>	játra, slezina	myš	MAS- NMR	Li 2009
glycin	↑ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, plazma, játra, ileum, slezina, renální medula	myš	NMR, MAS- NMR	Li 2009, Wu 2010
glutamin	↑ <i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	plazma, játra, slezina, ileum, jejunum, renální medula	myš	NMR, MAS- NMR	Li 2009, Wu 2010

taurin	↑	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, játra, slezina, ileum	myš	MAS- NMR, NMR	Li 2009, Wu, 2010
	↓	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, jejunum	myš	NMR	Wang 2004, Wu 2010, Li 2011
estradiol	↑	<i>S. haematobium</i>	sérum, moč	člověk	LC-MS	Botelho 2009
katechol estrogeny**	↑	<i>S. haematobium</i>	sérum, moč	člověk	LC-MS, LC/UV/M S	Botelho 2009, Santos 2014, Gouveia 2015
glycerofosfolipidy	↓	<i>S. japonicum</i>	sérum	myš	HPLC-MS	Liu 2019
metabolity biosyntézy GPI	↓	<i>S. japonicum</i>	sérum	myš	HPLC-MS	Liu 2019
fenylacetylglycin	↑	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, sérum	myš, křeček	NMR, HPLC-MS	Wang 2004, Wang 2006, Wu 2010, Li 2011, Liu 2019
fosfatidylcholin	↑	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i> , <i>S. haematobium</i>	plazma, játra, slezina, tlusté střevo, ileum	myš, člověk	MAS- NMR, NMR, LC- MS	Li 2009, Wu 2010, Adebayo 2018
	↓	<i>S. japonicum</i>	plazma	myš	NMR	Wu 2010
fosfatidylethanolami n	↑	<i>S. haematobium</i>	plazma	člověk	LC-MS	Adebayo 2018
N-glykolylgangliosid	↑	<i>S. haematobium</i>	plazma	člověk	LC-MS	Adebayo 2018
fenylacetylglutamin	↑	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč	člověk, myš	NMR	Wu 2010, Balog 2011
p-kresol glucuronid	↑	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč	myš, křeček	NMR	Wang 2004, Wang 2006, Li 2011
trimethylamin	↑	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, renální medula	člověk, myš, křeček	MAS- NMR, NMR	Wang 2004, Wang 2006, Li 2009, Wu 2010, Balog 2011, Li 2011
hippurát	↓	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč	člověk, myš, křeček, potkan	NMR	Wang 2004, Wang 2006, Wu 2010, Balog 2011, Li 2011
acetát	↑	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč	člověk, křeček	NMR	Wang 2006, Balog 2011
	↓	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč, plazma	člověk, myš	NMR	Wang, 2004, Wu 2010, Balog 2011, Li 2011
butyrát	↓	<i>S. mansoni</i>	moč	myš	NMR	Wang 2004
propionát	↑	<i>S. mansoni</i>	stolice	myš	NMR	Li 2011
	↓	<i>S. mansoni</i> , <i>S. japonicum</i>	moč	myš, křeček	NMR	Wang 2004, Wang 2006
5-aminovalerát	↑	<i>S. mansoni</i>	stolice	myš	NMR	Li 2011
adrenochrom	↑	<i>S. haematobium</i>	plazma	člověk	LC-MS	Adebayo 2018
3-sukcinoylpyridin	↑	<i>S. haematobium</i>	plazma	člověk	LC-MS	Adebayo 2018
N-nitrosaminy, dusitany, dusičnany**	↑	<i>S. haematobium</i>	moč	člověk	LC-MS	Adebayo 2018
1-nitro-5,6- dihydroxy- dihydrónaftalen**	↑	<i>S. haematobium</i>	moč	člověk	LC-MS	Adebayo 2018

*snížení/zvýšení glukózy závisí na dalších parametrech: době po infekci, míře zátěže - počtu červů v hostiteli,

**metabolity, které by mohly být produkovány schistosomami

MAS-NMR – NMR spektrometrie tuhé fáze, **LC-MS** - kapalinová chromatografie spojená s MS, **HPLC-MS** - vysokoučinná kapalinová chromatografie spojená s MS, **UV** – ultrafialová spektrometrie

↑ - zvýšení koncentrace metabolitu v důsledku infekce

↓ - snížení koncentrace metabolitu v důsledku infekce

4.1 Glukóza

Základním zdrojem energie jak pro schistosomy, tak pro jejich hostitele je glukóza. Dvojice dospělých schistosom žijí v dolních mezenterických žilách hostitele, kde mají přímý přístup k toku živin. Schistosomy každých 5 hodin využijí množství glukózy rovnající se suché hmotnosti červa (Bueding, 1950) a uvolňují do krevního oběhu přibližně stejné množství laktátu (Schiller, 1975; Bueding, 1982). Pokud se schistosomy vyvíjejí v hostiteli, který je vystaven hladovění, je u nich omezena snůška a počet životaschopných vajec (Knauff, 1969; Akpom, 1975) a mohou se projevit anomálie v pohlavní soustavě samečků (Neves, 2001).

Schistosomy na počátku infekce způsobují poruchy glukózové tolerance hostitele (Ghanem, 1971; Saule, 2005), projevující se zvýšenými hladinami glukózy v krvi (Saule, 2005; Wu, 2010). Prvotní fáze infekce je spojena s exponenciálním vývojem parazitů (Oordt, 1988). Změny v metabolismu glukózy pozorované brzy po infekci jsou připisovány aktivní manipulaci parazita endokrinním a imunitním systémem hostitele (Saule, 2002). V pozdějších fázích se infekce projeví poklesem glukózy v krvi a poklesem glukózy a glykogenu v játrech, společně s akumulací laktátu a pyruvátu v moči. To je pravděpodobně důsledek začínající produkce vajíček schistosomami a následného poškození jater (Ghanem, 1971; Wang, 2004; Wang, 2006; Li, 2009; Wu, 2010; Li, 2011). Velké množství energie z glykolýzy během infekce spotřebovává také imunitní systém. Snížené hladiny glukózy a vysoké hladiny laktátu byly pozorovány i ve slezině (Li, 2009). Při zvýšené spotřebě glukózy schistosomami a imunitním systémem mohou savci využívat alternativní cesty k udržení narušené energetické rovnováhy. Místo energie z glykolýzy mohou využívat například energii z oxidace lipidů a využívat další energetické metabolity jako lysin, glutamin nebo tyrosin (Li, 2011).

4.2 Organické kyseliny

Při infekci vyvolané *S. mansoni* lze pozorovat změny v koncentraci 2-oxokyselin, a to sníženou koncentraci 2-oxoisovalerátu, 2-oxoisokaproátu a 2-oxoadipátu v moči (Wang, 2004; Li, 2011; Balog, 2011). Tyto tři metabolity pocházejí z valinu, leucinu a aminoacidipátu (Li, 2011), hromadí se v játrech hostitelů infikovaných *S. mansoni* (Li, 2009) a odrážejí narušení metabolismu aminokyselin v důsledku dysfunkce jater (Li, 2011; Balog, 2011). U infekce *S. japonicum* se výše uvedené změny neprokázaly, a naopak dochází ke zvýšení 2-oxoisokaproátu, 2-oxo-3-methyl-valerátu a 2-oxoisovalerátu v moči. To značí indukci ketogeneze, která je výsledkem degradace aminokyselin s rozvětveným řetězcem (Wu, 2010).

Při infekci *S. japonicum* a *S. mansoni* dochází k výraznému snížení meziproductů cyklu kyseliny trikarboxylové (TCA) včetně sukcinátu, citrátu a 2-oxoglutarátu v moči, a to jak

u lidí, tak u jiných savců (Wang, 2004; Wang, 2006; Wu, 2010; Balog, 2011). Tyto alternace v cyklu TCA mohou být způsobeny narušením mitochondriální funkce a projevily se i u zvířat vystavených fyziologickému nebo toxikologickému stresu (Nicholson, 1983; Connor, 2010). Snížené množství citrátu může navíc vést k poškození ledvin skrze srážení vápenatých solí v ledvinách a způsobit tak poruchu jejich funkce (Nicholson, 1985).

Infekce schistosomami způsobuje hyperkontraktilitu střevního hladkého svalstva, která vyžaduje zvýšené množství energie. Tento požadavek na energii lze kompenzovat prostřednictvím metabolismu kreatinu, který je důležitým zdrojem energie pro svalovou kontrakci (Li, 2011). Relativně vysoké hladiny kreatinu byly pozorovány v ileu myši infikovaných *S. mansoni* (Li, 2009).

4.3 Aminokyseliny

Fibróza jater vyvolaná vaječnými granulomy vede nejen ke strukturální změně jater (Silva, 2000), ale způsobuje také funkční změny, např. sníženou oxidativní deaminaci aminokyselin (Garson, 1954). Ta se projevuje hromaděním aminokyselin v játrech a snížením jejich koncentrace v plazmě (Wu, 2010). Obdobné hromadění aminokyselin se projevuje i při chronické hepatitidě (Cho, 2001). Zvýšené hladiny aminokyselin se prokázaly také v tenkém střevě, což je pravděpodobně způsobeno hyperkontraktilitou hladkého svalstva. K té dochází v důsledku infekce a může vést k vyšší úrovni štěpení bílkovin pomocí enzymů z pankreatu a střevních žláz (Martin, 2006).

Prolin a glycin

V játrech hostitelů byly zjištěny nadprůměrné koncentrace aminokyselin prolinu a glycinu (Li, 2009; Wu, 2010), které jsou hlavními aminokyselinami zapojujícími se do syntézy kolagenu. Kolagen se hromadí v játrech při fibróze ve snaze o reparaci poškozené tkáně (Maher, 1990) a navíc se rychlost jeho syntézy zvyšuje s rostoucí koncentrací volného prolinu v médiu (Dunn, 1977). Na hydroxylaci prolinu a glycinu při tvorbě kolagenu se podílí kyselina askorbová, jejíž koncentrace v játrech byla také vyšší (Li, 2009). Nadprůměrné hladiny volného prolinu lze částečně připsat také produkci vajíček *S. mansoni*, ve kterých dochází k výrazné upregulaci enzymů spojených s produkcí prolinu (Isseroff, 1983).

Glutamin

Dále jsou pak v játrech, ale také ve slezině, ledvinách a mozku přítomny zvýšené hladiny glutaminu (Li, 2009). Glutamin zde může hrát důležitou roli při detoxikaci amoniaku, jehož koncentrace je při jaterní fibróze v játrech vyšší (Zaki, 1983) kvůli snížené schopnosti jater amoniak metabolizovat. Glutamin je také zapojen do energetického metabolismu jako důležitý zdroj energie v mitochondriích a může být využíván lymfocyty při reakci imunitního systému na vajíčka schistosom (Klimberg, 1996; Yaqoob, 1997). V ledvinách pozitivně korelují hladiny

glutaminu se závažností infekce. Glutamin společně s glycerylfosforylcholinem, jehož hladiny byly v ledvinách rovněž vyšší (Li, 2009), mají osmotickou funkci v mozku a vnitřní části ledvin (Miller, 2000). Narušení jejich hladin může vést k osmotickému poškození buněk těchto tkání (Takahashi, 1991).

Taurin

Koncentrace taurinu v moči během infekce v čase kolísá (Wu, 2010; Li, 2011). Ve třetím týdnu infekce jsou přítomny nadměrné koncentrace taurinu v moči (Wu, 2010) a od čtvrtého týdne se snižují (Wang, 2004; Wu, 2010; Li, 2011). Kolem čtvrtého týdne dochází k začátku produkce vajíček schistosomami (He, 1980; Doenhoff, 2004), které mohou koncentraci taurinu v moči ovlivnit. Ve vyšších hladinách byl detekován také v ileu, slezině (Li, 2009) a játrech infikovaných myší (Li, 2009; Wu, 2010). Taurin je multifunkční metabolit, který má antioxidační a protizánětlivé účinky (Das, 1998), má vliv na svalovou kontraktilitu a stabilizaci buněčných membrán (Huxtable, 1992; Martin, 2006). Může tak hrát ochrannou funkci buněk při jejich membránových abnormalitách pozorovaných během infekce (Wu, 2010). Taurin je také klíčový metabolit pro tvorbu žluči. Žlučové kyseliny konjugované s taurinem, zejména kyseliny taurocholová a tauroursodeoxycholová, zvyšují produkci vajec *S. mansoni* v *in vitro* systému, což s velkou pravděpodobností souvisí s koevolučními mechanismy mezi hostitelem a parazitem (Badr, 1999).

4.4 Steroidní látky

Urogenitální schistosomiáza způsobená *S. haematobium* se projevuje značným snížením prekurzorů lidských steroidních hormonů, které jsou důležité pro produkci estradiolu, estrogenu a testosteronu (Adebayo, 2018). Předpokládá se, že by růst a reprodukce schistosom mohly záviset na těchto hostitelských hormonech, což se prokázalo ve studii na jiných helmintech (Miyashita, 2011). Na základě toho by se dalo očekávat, že infekce způsobuje snížení hladiny těchto hormonů, avšak koncentrace estradiolu byla u infikovaných osob naopak zvýšená (Botelho, 2009). Jedním z možných vysvětlení tohoto jevu je, že schistosomy přímo produkují molekuly estradiolu. To by bylo v souladu s překvapivým zjištěním, že nejenom ze séra nakažených osob, ale i ze schistosom a jejich vajíček byly izolovány a charakterizovány nové katechol estrogenu, molekuly podobné estradiolu (Botelho, 2009; Santos, 2014; Gouveia, 2015). Některé z těchto molekul by mohly být významnými biomarkery infekce a stavu patologií (Adebayo, 2018). Dříve se předpokládalo, že rakovina močového měchýře a infertilita žen, ke které docházelo u osob trpících urogenitální schistosomiázou, je vyvolaná tkáňovou apoptózou způsobenou imunitní reakcí proti vajíčkům schistosom (Botelho, 2010; Botelho, 2013). Alternativním vysvětlením ale je, že z katechol estrogenů, které vznikají hydroxylací estrogenu a estronu, mohou oxidací jejich hydroxylových skupin vznikat reaktivní produkty. Tyto reaktivní produkty mohou vést k tvorbě estrogen-DNA aduktů, depurinaci, mutacím a rakovině (Botelho, 2013; Gouveia, 2019).

4.5 Lipidy a fosfolipidy

Schistosomiáza se projevuje snížením množství lipidů v krevní plazmě (Adebayo, 2018; Liu, 2019). Mnoho proteinů včetně těch, které se podílejí na rozvoji patologických stavů, interaguje s lipidy buněčných membrán (Lladó, 2014), a proto mohou změny v hladinách lipidů vést i ke změnám v proteinové aktivitě. Podobná změna metabolismu lipidů je spojena s rozvojem nádorových onemocnění (Perrotti, 2016) a může k ní dojít i před rozvojem nádoru (Azordegan, 2013). Specifické lipidové metabolity proto mohou sloužit jako užitečné markery včasné diagnostiky ještě před rozvojem rakoviny močového měchýře během chronické urogenitální schistosomiázy způsobené *S. haematobium* (Adebayo, 2018).

Je známo, že schistosomy vyžadují imunitní prvky savčího hostitele jako stimulanty pro svůj vývoj a projevují sníženou patogenезi vyvolanou kladením vajíček (Davies, 2001; Tang, 2013). Bylo zjištěno, že imunodeficientní myši jsou obohaceny o některé metabolické dráhy lipidů. Například fenylacetylglycin, produkt metabolismu fenylalaninu, je biomarkerem pro poruchy spojené s mitochondriální beta oxidací mastných kyselin a abnormální akumulací fosfolipidů (Delaney, 2004). U imunodeficientních myši byla hladina fenylacetylglycinu více než čtyřikrát vyšší (Liu, 2019). Dále kyselina eikosatetraenová blokuje přeměnu kyseliny arachidonové na protizánětlivé i prozánětlivé eikosanoidy duální inhibicí cyklooxygenázové a lipoxygenázové dráhy. Vyšší zastoupení kyseliny eikosatetraenové u imunodeficientních myši by naznačovalo narušení zánětlivé odpovědi na infekci schistosomami (Liu, 2019).

Některé lipidy byly ve zvýšené míře nalezeny u pacientů s pokročilou urogenitální schistosomiázou způsobenou *S. haematobium*. Hladiny fosfatidylcholinu a fosfatidylethanolaminu byly vyšší zvláště u pacientů s projevem patologie močového měchýře (Adebayo, 2018). Zvýšení těchto metabolitů by mohlo indikovat rakovinu močového měchýře (Bagnoli, 2016). Dále byl přítomen ve zvýšeném množství gangliosid N-glykolylgangliosid u pacientů s patologií močového měchýře. Gangliosidy, což jsou glykosfingolipidy obsahující kyselinu sialovou, se nacházejí hlavně v plazmatické membráně a mají funkci v buněčné signalizaci (Adebayo, 2018). Tyto molekuly jsou nadměrně exprimovány u různých forem karcinomu (Krengel, 2014) a změny v jejich koncentraci mohou nastat i před samotným rozvojem rakoviny (Azordegan, 2013).

4.6 Mikrobiální ko-metabolity

Vajíčka schistosom se dostávají přímo do kontaktu s trávicím traktem hostitele. Za takových okolností lze u hostitelů očekávat změny v koncentraci mikrobiálních ko-metabolitů (Yap, 2010). Ty se obvykle projevují změnou koncentrace aromatických sloučenin v moči (Balog, 2011). Reakce hostitelů na infekci *S. mansoni* a *S. japonicum* se projevuje typicky zvýšenou koncentrací fenylacetylglutaminu, p-kresolu a trimethylaminu a sníženou koncentrací hippurátu. (Wang, 2004; Wang, 2006; Wu, 2010; Balog, 2011; Li, 2011; García-Pérez, 2008). K produkci

trimethylaminu dochází intestinální degradací složek potravy, např. cholinu a karnitinu, střevní mikrobiotou (Smith, 1994; Seibel, 2002). p-kresol vzniká degradací bílkovin a jeho produkce je závislá na potravě bohaté na tyrosin, pH střevního traktu a složení mikrobioty (Smith, 1996). Konkrétně *Clostridium difficile* a *Lactobacillus* jsou známí svou produkcí p-kresolu dekarboxylací p-hydroxyfenylacetátu (Yokoyama, 1981).

Dále byly v moči myší infikovaných krevničkou zjištěny snížené koncentrace mastných kyselin s krátkým řetězcem, především acetátu, butyrátu a propionátu, (Wang, 2004; Wang, 2006; Wu, 2010). Objevily se však i opačné výsledky u acetátu, který naopak vykazoval zvýšené hodnoty u dětí infikovaných *S. mansoni* (Balog, 2011) a na modelu křečka infikovaného *S. japonicum* (Wang, 2006). Tyto mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou produkovány bakteriemi v tlustém střevě fermentací neabsorbované vlákniny a poskytují tak zdroj energie pro metabolismus tlustého střeva.

V pozdních časových bodech infekce byl identifikován 5-aminovalelát ve vyšších koncentracích ve vzorcích extrahovaných ze stolice infikovaných hostitelů (Li, 2011). Tento metabolit mohou produkovat Gram pozitivní anaerobní bakterie *Clostridium sticklandii* a *Clostridium valericum* patřící do proteolytických klostridií z prolinu (Elsden, 1976; Hardman, 1960). Jak již bylo zmíněno dříve, vajíčka schistosom se dostávají do přímého kontaktu se střevní mikroflórou a byla u nich pozorována upregulace enzymů souvisejících s produkcí prolinu (Isseroff, 1983). Tento prolin vylučovaný vajíčky schistosom by mohly využívat klostridie k produkci zvýšeného množství 5-aminovalelátu.

Produkce všech těchto metabolitů je závislá na druhu bakterií a střevním prostředí (Walker, 2005). Schistosomy by proto mohly stimulovat nebo zvýhodňovat kmeny bakterií produkující výše uvedené mikrobiální metabolity ve zvýšené míře a tím přímo ovlivňovat složení střevní mikrobioty (Nobre, 2004; Li, 2011). Z výše pozorovaných změn se zdá, že může dojít k trojí interakci, a to mezi hostitelem, parazitem a mikrobiotou hostitele. Podobné účinky by mohly být společné pro všechny infekce vyvolané hlísty (Saric, 2008; Wang, 2009).

4.7 Benzenaminy

Při urogenitální schistosomiáze způsobené *S. haematobium* byly u pacientů přítomny zvýšené hladiny benzenaminů, např. adrenochromu a 3-sukcinylnpyridinu (Adebayo, 2018). Adrenochrom (také adrenochrom-*O*-chinon) je toxický chinonový metabolit katecholaminů, konkrétně epinefrinu. Vzniká jako výsledek oxidačních aktivit, je neurotoxický a má psychedelické vlastnosti (Baez, 1997). Stejně jako jiné chinony je adrenochrom schopen tvořit reaktivní formy kyslíku s patologickými důsledky. V případě infekce *S. haematobium* by tyto reaktivní formy kyslíku mohly způsobovat patologii močového měchýře. Těmto patologiím mohou předcházet glutathiontransferázy (GST), enzymy, které mají schopnost vylučovat toxické látky tvořící volné radikály (Baez, 1997). Některé druhy volných radikálů však mají

schopnost inhibovat GST, což bylo zjištěno u infekce *S. haematobium* (Sheweita, 2004). Volné radikály se schopností inhibice GST by mohly být odvozeny z adrenochromu (Adebayo, 2018).

4.8 N-nitrosaminy, dusitany a dusičnany

N-nitrosaminy (zejména *N*-nitrosodimethylamin), dusitany a dusičnany byly detekovány ve významných množstvích v moči pacientů s urogenitální schistosomiázou (Mostafa, 1999) a mohly by hrát roli v karcinogenezi močového měchýře. V hojném množství byl zjištěn 3-sukcinoylpyridin, metabolit nikotinu a vedlejší produkt *N*-nitrosaminu, a to u pacientů trpících urogenitální schistosomiázou (Adebayo, 2018). Tento metabolit nikotinu je běžný také v moči kuřáků tabáku (Felicia, 2000). Účastníci studií však uvedli, že v minulosti nekouřili, z čehož lze usuzovat, že produkce těchto metabolitů je typická pro infekci *S. haematobium* a následnou indukci rakoviny močového měchýře.

4.9 Naftalen

Sloučenina na bázi naftalenu, 1-nitro-5,6-dihydroxy-dihydronaftalen, byla hojná u pacientů s urogenitální schistosomiázou bez příznaků patologie močového měchýře (Adebayo, 2018). Naftalen je klasifikován jako 2B karcinogen, protože v určitých dávkách vykazují metabolity naftalenu genotoxickou a mutagenní aktivitu (Bogen, 2008). Naftalen je běžný jako látka znečišťující životní prostředí v ovzduší a jeho chronické vdechování může vyvolat nádory dýchacího traktu. Podobným mechanismem jako jiné slabé karcinogeny reagují vzniklé metabolity s DNA za vzniku depurinačních aduktů (Saeed, 2009). Významné jsou také dihydroxydihydronaftaleny, které vznikají pomocí cytochromů P450 v rámci metabolismu některých xenobiotik. Je možné, že stejně jako molekuly podobné estrogenům mohou být produkovány *S. haematobium*. Tímto parazitem mohou být produkovány také benzenoidy a jejich příbuzné molekuly (Adebayo, 2018).

5 Metabolické interakce schistosom a jejich meziphostitelů

V této kapitole je uveden souhrn modulovaných metabolitů v tkáních meziphostitelů *S. mansoni*, *S. japonicum* a *S. haematobium*. V úvahu jsou brány pouze metabolity, u kterých byla pozorována nebo navržena souvislost změny jejich koncentrace s infekcí. Přehled těchto metabolitů a změn jejich koncentrací poskytuje tabulka 2 a doplňuje další informace k textu.

Tab. 2: Přehled metabolitů z tkání a tělních tekutin meziphostitelů schistosom u nichž došlo ke změně koncentrace v důsledku infekce

metabolit	parazit	tkáň	hostitel	metoda	autor	
glukóza*	N	<i>S. mansoni</i>	hemolymfa	<i>B. glabrata</i>	MS	Faro 2013, Mendes 2019
	↑	<i>S. mansoni</i>	hemolymfa, hlavonožní region, pohlavní a trávicí žlázy	<i>B. glabrata</i>	MS, TLC	Jarusiewicz 2006, Faro 2013, Mendes 2019
	↓	<i>S. mansoni</i>	hemolymfa, pohlavní žlázy, trávicí žlázy, DGG	<i>B. glabrata</i>	MS, TLC	Cheng 1971, Jarusiewicz 2006, Faro 2013, Mendes 2019
glykogen	↓	<i>S. mansoni</i>	hlavonožní region	<i>B. glabrata</i>	MS	Faro 2013
maltóza	↓	<i>S. mansoni</i>	DGG	<i>B. glabrata</i>	TLC	Jarusiewicz 2006
síranové sacharidy	↑	<i>S. mansoni</i>	bílkovinná žláza	<i>B. glabrata</i>	PAS reakce	Faro 2013
kyselina octová	↓	<i>S. mansoni</i>	trávicí žláza	<i>B. glabrata</i> , <i>B. alexandrina</i>	HPLC	Massa 2007, Elseoud 2010
kyselina fumarová	↓	<i>S. mansoni</i>	trávicí žláza	<i>B. glabrata</i> , <i>B. alexandrina</i>	HPLC	Massa 2007
kyselina jablečná	↓	<i>S. mansoni</i>	trávicí žláza, hemolymfa	<i>B. glabrata</i> , <i>B. alexandrina</i>	HPLC	Massa 2007, Elseoud 2010
kyselina pyrohroznová	↓	<i>S. mansoni</i>	trávicí žláza	<i>B. glabrata</i> , <i>B. alexandrina</i>	HPLC	Massa 2007
kyselina šťavelová	↓	<i>S. mansoni</i>	hemolymfa	<i>B. alexandrina</i>	HPLC	Elseoud 2010
kyselina mléčná	↓	<i>S. mansoni</i>	trávicí žláza	<i>B. glabrata</i>	HPLC	Massa 2007
Kyselina jantarová	↓	<i>S. mansoni</i>	trávicí žláza	<i>B. glabrata</i>	HPLC	Massa 2007
serin	↓	<i>S. mansoni</i>	hemolymfa, trávicí žláza	<i>B. glabrata</i>	HPLC	Schnell 1985
glutamin	↓	<i>S. mansoni</i>	hemolymfa, trávicí žláza	<i>B. glabrata</i>	HPLC	Schnell 1985
lysin	↓	<i>S. mansoni</i>	trávicí žláza	<i>B. glabrata</i>	HPLC	Pachuski 2002
dopamin	↓	<i>S. mansoni</i>	plasma, CNS	<i>B. glabrata</i>	HPLC	Manger 1996
L-DOPA	↓	<i>S. mansoni</i>	plasma, CNS	<i>B. glabrata</i>	HPLC	Manger 1996
serotonin	↓	<i>S. mansoni</i>	plasma	<i>B. glabrata</i>	HPLC	Manger 1996
vápník	↑	<i>S. mansoni</i> , <i>S. haematobium</i>	tkáň	<i>B. glabrata</i> , <i>B. alexandrina</i> , <i>B. truncatus</i>	ICP-AES, AAS	Ong 2004, Mostafa 2007
	N	<i>S. mansoni</i>	ulita	<i>B. glabrata</i>	IEC	White 2005
	↓	<i>S. mansoni</i> , <i>S. haematobium</i>	hemolymfa, ulita	<i>B. glabrata</i> , <i>B. alexandrina</i> , <i>B. truncatus</i>	AAS	Mostafa 2007

*snížení/zvýšení glukózy závisí na dalších parametrech: době po infekci, počtu červů v hostiteli

TLC – chromatografie na tenké vrstvě, HPLC – vysokoučinná kapalinová chromatografie, PAS reakce (periodic acid schiff) - reakce důkazu sacharidů, ICP-AES – emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, AAS – atomová absorpční spektrometrie, IEC – ionexová chromatografie, AAS – atomová absorpční spektrometrie, IEC – ionexová chromatografie

↑ – zvýšení koncentrace metabolitu v důsledku infekce

↓ – snížení koncentrace metabolitu v důsledku infekce

5.1 Glukóza a glykogen

K vývoji v plžích využívají larvy *S. mansoni* hlavně glukózu a arginin. Vyvíjející se *S. mansoni* využívá nejméně 12,6 % glukózy absorbované plžem (Christie, 1974). Mezi dva hlavní sacharidy, které využívá *Biomphalaria glabrata*, patří glukóza a maltóza (Cline, 1999). Obsah glukózy v hemolymfě plžů infikovaných *S. mansoni* se mění v čase podle toho, jak se parazit vyvíjí v hostiteli. Na počátku infekce je obsah glukózy a glykogenu v hemolymfě stabilní, a to až do 14. dne (Mendes, 2019; Faro, 2013). Množství glukózy je totiž regulováno mechanismem glykemické homeostázy, pomocí které *B. glabrata* udržuje a reguluje hladinu glukózy, když je vystavena jakémukoli environmentálnímu stresu. Proto se její koncentrace v hemolymfě udržuje stabilní (Thompson, 1986). Pro udržení glykemické homeostázy se vyčerpávají zásoby glykogenu uložené v bílkovinné a trávicí žláze (hepatopankreatu) plžů (Christie, 1974; Faro, 2013; Mendes, 2019). Larvální stadia krevničky, sporocysty i cercárie také uvolňují exkrecečně-sekreceční produkty, které hydrolyzují uložené zásoby glykogenu v buňkách trávicí žlázy na menší uhlohydráty, především glukózu a maltózu (Jarusiewicz, 2006).

Bílkovinná žláza je exokrinní žláza v samičím reprodukčním traktu těchto plžů. Vylučuje perivitelinovou tekutinu, která obaluje a vyživuje každé oplodněné vejce (Looker, 1979). Základní složkou perivitelinové tekutiny je galaktogen syntetizovaný z glukózy, který vyživuje embryo během jeho vývoje uvnitř vajíčka a jedince během počátečních období po vylíhnutí. Proces parazitární kastrace vychází z kombinace přímých procesů – destrukcí tkání ovotestis a nepřímých procesů – například hladověním plžů způsobeným parazitárním účinkem vyvíjejících se larev. Tato kombinace vede k poklesu dostupných živin pro základní metabolické procesy a reprodukci infikovaných plžů (Faro, 2013). Zvýšení obsahu glykogenu bylo pozorováno také v hlavonožním regionu, kde se nachází parazitární sporocysty. Pravděpodobně se jedná o důsledek mobilizace zásob glykogenu za účelem výživy parazitárních sporocyst (Mendes, 2019; Faro, 2013; Bezerra, 1999b).

Asi po 3. týdnu je glykemická homeostáze narušena a hladiny glukózy v hemolymfě u plžů vystavených *S. mansoni* významně klesají (Cheng, 1971a; Faro, 2013). K tomu dochází, protože mobilizace glykogenu z trávicí žlázy byla již nedostatečná k udržení glykemických hladin plžů. Zároveň se snížením koncentrace glukózy v hemolymfě došlo k oscilacím obsahu glykogenu v trávicí žláze a v hlavonožní oblasti. Mezi 3. a 5. týdnem se hladiny glykogenu příliš neliší od kontrol (Faro, 2013).

Od 6. do 9. týdne infekce byly pozorovány zvýšené hladiny glukózy v hemolymfě a oscilace v obsahu glykogenu v trávicí žláze. Během tohoto období by cercárie mohly vyžadovat jen nízkou zásobu energie, protože se již vytvořily. Mezi 7. a 9. týdnem došlo ke snížení hladin glykogenu v hlavonožní oblasti, pravděpodobně v důsledku uvolňování cercárií do vnějšího prostředí (Faro, 2013).

Pokud se *B. glabrata* nachází v estivaci, období dormance, během kterého plži přežívají mimo vodu (Richards, 1967), jsou larvy krevniček schopny v plži toto období přežít (Badger, 2018) a dokončit svůj vývoj (Barbosa, 1958). Při srovnání plžů infikovaných a neinfikovaných v období estivace nebyl zjištěn signifikantní rozdíl hladin glukózy nebo maltózy v trávicí žláze. Larvy krevniček v této době pravděpodobně sníží spotřebu obou sacharidů s cílem přežití plže během nepříznivého období, což jim samotným umožní přežít a dokončit svůj životní cyklus (Jarusiewicz, 2006).

V sekretovaných granulích bílkovinné žlázy plžů infikovaných *S. mansoni* byly identifikovány síranové sacharidy (sulfátované glykosaminoglykany) s polysacharidovou povahou. Paleta sacharidů produkovaných nebo modifikovaných krevničkou tak zřejmě bude daleko širší (Faro, 2013).

5.2 Organické kyseliny

Parazitičtí helminti jsou závislí na sacharidech jakožto zdroji energie. Jedním z klíčových rysů katabolismu sacharidů je vylučování široké škály organických (karboxylových) kyselin. Infekce *S. mansoni* způsobuje významné snížení koncentrace kyseliny octové, fumarové, jablečné a pyrohroznové v trávicí žláze ve srovnání s neinfikovanými *B. glabrata* (Massa, 2007) a *Biomphalaria alexandrina* (Elseoud, 2010). V hemolymfě tato snížení nebyla u *B. glabrata* (Massa, 2007) pozorována a u *B. alexandrina* byla signifikantně snížena jen u dvou kyselin (Elseoud, 2010). Zajímavý je rozdíl mezi koncentrací organických kyselin u plžů vystavených estivaci a *S. mansoni*. Zatímco u plžů vystavených estivaci byl zjištěn nárůst v koncentracích kyseliny mléčné, jantarové, jablečné a octové (Bezerra, 1999b), u plžů vystavených infekci *S. mansoni* byl zjištěn pokles koncentrací těchto organických kyselin v trávicí žláze. To by mohlo naznačovat hlavní rozdíl v metabolických událostech mezi estivovanými a parazitovanými plži (Massa, 2007).

Snížení koncentrace organických kyselin v trávicí žláze u *B. glabrata* pravděpodobně odráží jejich možné využití u vyvíjejících se sporocyst a cercárií. Tato larvální stadia obývají intertubulární prostory trávicí žlázy a způsobují mechanické a lytické poškození buněk trávicí žlázy hepatopankreatu. Poškození hepatopankreatu pravděpodobně vede k úniku organických kyselin, které jsou opět využívány larvami krevniček. Navíc zvýšená metabolická aktivita spojená s přítomností larev může urychlit opětovné využití organických kyselin hostitelskými buňkami v zažívací žláze (Thompson, 1997).

5.3 Aminokyseliny

Infekce larvou *S. mansoni* se v hemolymfě a tkáních *B. glabrata* projevuje celkovým snížením koncentrace aminokyselin (Targett, 1962; Senft, 1967; Gilbertson, 1967). Některé aminokyseliny jsou kvantitativně redukovány více než jiné (Targett, 1962). Oproti neinfikovaným plžům byl pokles hladin volných aminokyselin v hemolymfě identifikován

nejpozději v desátém dnu infekce a celková hladina volných aminokyselin byla snížena přibližně na polovinu po 32 dnech od infekce (Gilberson, 1967). K podobnému snížení došlo také v tkáních a trávicí žláze (Schnell, 1985).

V hemolymfě a tkáních infikovaných plžů byly sníženy zejména koncentrace serinu a glutaminu, zatímco hladiny lysinu, citrulinu, arginino-sukcinátu, kyseliny asparagové a kyseliny glutamové zůstaly buď konstantní, nebo byly mírně zvýšeny (Schnell, 1985). V trávicí žláze plže byly pak zjištěny zvláště snížené hladiny lysinu. Lysin je pravděpodobně esenciální aminokyselinou pro vyvíjející se stadia parazita, protože tuto aminokyselinu parazit neumí syntetizovat *de novo* a musí ji tak získat z prostředí plže (Pachuski, 2002). Snížené množství aminokyselin však bylo zjištěno také u plžů vystavených hladovění (Stanislawski, 1979).

5.4 Aminy

U bezobratlých živočichů včetně plžů bylo dokumentováno mnoho různých bioaminů (Klemm, 1985; WALKER, 1986), které jsou známé pro svou funkci neurotransmiterů a neuromodulátorů. U plžů *B. glabrata* hrají serotonin (5-hydroxytryptamin) a dopamin (3,4-dihydroxytyramin) důležitou roli v časném vývoji embrya (Chiang, 1974; Manger, 1996) a jsou zapojeny do regulace reprodukční aktivity plžů na různých úrovních (Hartwig, 1980; De Jong-Brink, 1982; Hirai, 1988; Khotimechenko, 1989; Ram, 1993). Předpokládá se, že tyto molekuly mohou být potenciálním nástrojem parazita pro manipulaci plžem, vedoucí až k parazitární kastraci, která je u plžů nakažených schistosomami běžná. Kromě toho mohou biogenní aminy působit chemotakticky na miracidia krevniček ve vnějším prostředí pro vyhledání a penetraci plže (Chiang, 1974; Etges, 1975). Zdá se také, že parazit vyžaduje serotonin plže pro přechod ze stadia miracidia do stadia sporocysty. Parazit by tedy mohl biogenní aminy využívat pro svůj vlastní růst a vývoj a k manipulaci se svým hostitelem (Boyle, 2000; Yoshino, 2001; Boyle, 2003; Boyle, 2005).

Bylo zjištěno, že infekce schistosomami vede k významným snížením biogenních hladin monoaminů jak v centrální nervové soustavě, tak v plazmě plžů. Hladina serotoninu byla v plazmě snížena již týden po infekci a zůstala snižená po celou dobu infekce. Snížené koncentrace dopaminu a dopaminového prekurzoru, 3,4-dihydroxyfenylalaninu v plazmě a centrálním nervovém systému se projevila až v pozdější fázi infekce.

Plži vystavení serotoninu vykazují zvýšený reprodukční výkon a nakažení plži vlivem serotoninu obnovují snášení vajec na úroveň před infekcí. (Santhanagopalan, 2000). Dopamin stimuluje produkci perivitelinové tekutiny nutné pro výživu a vývoj životaschopných vajíček. Děje se tak skrze dopaminové receptory typu D1 prostřednictvím signálních molekul cAMP (cyklický 3',5'-adenosinmonofosfát) (Mukai, 2004). Nabízí se několik mechanismů, kterými by parazit mohl vyvolat sníženou hladinu těchto aminů. Larvy krevničky by mohly přímo

vyčerpávat aminy z hemolymfy plže za účelem svého vlastního růstu a vývoje. Další možností je, že larvy schistosom mohou způsobit patofyziologické narušení aminerního systému plžů nebo narušit syntézu a sekreci bioaminů hostitele, či působit na hostitelské receptory molekulami pocházejícími z parazita (Manger, 1996).

Funkce a mechanismus těchto aminů v plži a jejich souvislost s parazitární kastrací však stále není plně objasněna a pochopena. Výzkum této problematiky komplikuje to, že jsou jejich hladiny v plži vysoce variabilní (McCaman, 1984; Manger, 1996; Santhanagopalan, 2000), a to i u jedinců udržovaných za stejných laboratorních podmínek (Santhanagopalan, 2000). Náročná je i jejich chemická analýza z důvodu nestability nebo reaktivity s jinými sloučeninami (Lacković, 1981).

5.5 Vápník

Největším středem zájmu se při studiu udržení iontové rovnováhy v prostředí měkkýšího mezihostitele v průběhu infekce schistosomami stal vápník, který hraje důležitou roli v biologii plže (Žbikowska, 2003). Nejnápadnější funkci plní při formování ulity plže (Marxen, 2003). Vápník je ale významný také v energetickém metabolismu, neboť je jako enzymový kofaktor zapojen v glykolýze a v cyklu TCA, čili je potřebný při zvýšených energetických požadavcích plže (Becker, 1980; Tunholi, 2011; Tunholi-Alves, 2014). Hraje také zásadní roli v přenosu nervových signálů na nervosvalové ploténce (Van Nieuwmegen, 1976; Jin, 2000; Zsombok, 2000) a je důležitý i při imunitní odpovědi plžů (Zelck, 1995). Dále je zapojen v reprodukci plžů (Mažuran, 1999), a tak by mohl být součástí procesů parazitární kastrace. Vápník je pro plže tak důležitý, že jeho koncentrace ve vodě ovlivňuje výskyt plžů ve vodním systému (Young, 1974). Vápník je klíčový také pro parazita, a proto přijímá velké množství vápníku z prostředí svého hostitele pro svůj vývoj a metabolické požadavky (Tunholi-Alves, 2014; Shaw, 1987).

Bylo pozorováno, že za podmínek proměnlivých koncentrací vápníku ve vodě i při parazitaci motolicí jsou plži schopni udržovat vysokou koncentraci CaCO_3 ve svých ulitách (White, 2005; Mostafa, 2007). Byla stanovena hypotéza o hyperkalcifikaci, tedy že larvy motolic indukují zvýšení obsahu vápníku v ulitách svých měkkýších mezihostitelů (Kirichuk, 2002; Žbikowska, 2003; Pinheiro, 2001). Snaha o potvrzení této hypotézy nepřinesla jednoznačné závěry. Byly popsány případy, kdy se hypotéza hyperkalcifikace u infikovaných plžů potvrdila (Cheng, 1971b; Malek, 1974; Sluifers, 1980), i případy, kdy se množství vápníku v ulitách infikovaných plžů nijak nelišilo od kontrol (White, 2005), ale také případy hypotézu vyvracející, kdy došlo ke snížení množství vápníku v ulitách infikovaných plžů (Mostafa, 2007). Cerkárie sekvstrují ve svých preacetabulárních žlázách velké množství vápníku a k takové sekvestraci pravděpodobně dochází na úkor vápníku v ulitě a hemolymfě plžů

(Davies, 1984). Ke sníženému množství vápníku v ulitách infikovaných plžů může docházet právě u plžů, kteří aktivně vylučují cercárie (Mostafa, 2007).

V měkkých částech plžů infikovaných schistosomami byla koncentrace vápníku podstatně vyšší než u neinfikovaných plžů (Ong, 2004; Mostafa, 2007). Naproti tomu v hemolymfě byly zjištěny nižší koncentrace vápníku u infikovaných plžů. Na modelu *B. glabrata* bylo zjištěno významné vyčerpání vápníku pouhých 48 hodin po infekci *S. mansoni* (Shaw, 1987). To může být zapříčiněno tím, že se tento ion přesouvá z hemolymfy do tkání hostitele v reakci na zánětlivé reakce způsobené parazitem (Mostafa, 2007; Tunholi-Alves, 2014). Pokles vápníku v hemolymfě exponovaných plžů lze připsat vyšší spotřebě tohoto iontu jak parazitem, který absorbuje vápník pro svůj vývoj a metabolické požadavky, tak kvůli zvýšeným energetickým potřebám měkkýšů v průběhu infekce (Tunholi-Alves, 2014).

6 Závěr

Bakalářská práce měla za cíl podat souhrnný přehled nízkomolekulárních látek z tkání a tělních tekutin hostitelů vybraných druhů schistosom, u kterých byla v literatuře změna koncentrace v důsledku parazitace buď prokázána, nebo popsána hypotetická souvislost s infekcí. Rešerše tedy popisuje interakci mezi parazitem a hostitelem na úrovni metabolismu. Odpověď na otázku, zda změny v koncentracích jednotlivých metabolitů jsou specifické pro infekci schistosomami, nebo zda se jedná o obecnou reakci hostitele na jakýkoliv stresový faktor, je často nejednoznačná a je diskutována tam, kde byla v literatuře dostupná relevantní data. V textu jsou zmíněny také některé metabolity, o kterých se předpokládá, že by je mohl produkovat parazit s cílem manipulace svým hostitelem.

Některé změny v koncentracích metabolitů mohly být projevem zvýšených energetických nároků hostitele při infekci a/nebo důsledkem spotřeby daného metabolitu parazitem. Jednalo se především o metabolity týkající se energetického metabolismu jako glukóza a organické kyseliny. U plžích mezihostitelů se jednalo mimo výše zmíněné o vápník a močovinu. Některé změny odrážejí patofyziologická poškození projevující se hromaděním aminokyselin v játrech a střevě definitivních hostitelů.

Další látky se zdály být spojeny s manipulací parazita svým hostitelem. Pro definitivní hostitele to byly steroidní látky podobné estrogenu, N-nitrosaminy a jedna sloučenina na bázi naftalenu pozorovaná při infekci *S. haematobium*. Má se za to, že jsou přímo produkovány schistosomami a mohou v konečném důsledku způsobit rakovinné bujení. Některé látky jako fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin, N-glykolylgangliosid a adrenochrom zjištěné ve zvýšených koncentracích by mohly sloužit jako včasné biomarkery rizika rozvoje rakoviny. Další zajímavostí u definitivních hostitelů je, že může docházet k trojí interakci, a to mezi parazity, hostiteli a hostitelským mikrobiomem. Parazit by mohl měnit složení mikrobioty, které by se odrazilo ve změněné koncentraci mikrobiálních metabolitů. Za zmínku stojí také zvýšení glukózy v plazmě definitivních hostitelů v počáteční fázi infekce, které může být výsledkem manipulace parazita s hostitelským endokrinním a imunitním systémem. U plžích mezihostitelů byly diskutovány zvláště biogenní aminy, které by mohl parazit využívat pro manipulaci a parazitární kastraci hostitele.

Metabolomika v tomto poli výzkumu hraje důležitou roli a může pomoci vytvářet nové cenné hypotézy, které však musí čekat na své potvrzení dalšími metodami výzkumu.

7 Seznam citované literatury

- Adebayo, A. S., S. D. Mundhe, H. O. Awobode, O. S. Onile, A. M. Agunloye, R. D. Isokpehi, Y. S. Shouche, B. Santhakumari, C. I. Anumudu, a M. H. Hsieh. 2018. "Metabolite profiling for biomarkers in *Schistosoma haematobium* infection and associated bladder pathologies". *PLOS Neglected Tropical Diseases* 12(4).
- Akpom, C. A., a K. S. Warren. 1975. "Calorie and protein malnutrition in chronic murine schistosomiasis mansoni: effect on the parasite and the host". *Journal of Infectious Diseases* 132(1): 6-14.
- Alsaleh, M., P. Sithithaworn, N. Khuntikeo, W. Loilome, P. Yongvanit, N. Chamadol, T. Hughes, T. O'Connor, R. H. Andrews, E. Holmes, a S. D. Taylor-Robinson. 2019. "Characterisation of the urinary metabolic profile of liver fluke-associated cholangiocarcinoma". *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 9 (6): 657-675.
- Azordegan, N., V. Fraser, K. Le, L. Hillyer, D. W. L. Ma, G. Fischer, a M. H. Moghadasian. 2013. "Carcinogenesis alters fatty acid profile in breast tissue". *Molecular and Cellular Biochemistry* 374(1-2): 223-232.
- Badger, L.I., a J.P.O. Oyerinde. 2018. "Effect of aestivation of *Biomphalaria pfeifferi* on the survival and infectivity of *Schistosoma mansoni* cercariae". *British Journal of Biomedical Science* 61(3): 138-141.
- Badr, S. G. E., L. Pica-Mattocchia, R. Moroni, M. Angelico, a D. Cioli. 1999. "Effect of bile salts on oviposition in vitro by *Schistosoma mansoni*". *Parasitology Research* 85(5): 421-423.
- Baez, S., J. Segura-Aguilar, M. Widersten, A. Johansson, a B. Mannervik. 1997. "Glutathione transferases catalyse the detoxication of oxidized metabolites (o-quinones) of catecholamines and may serve as an antioxidant system preventing degenerative cellular processes". *Biochemical Journal* 324(1): 25-28.
- Bagnoli, M., A. Granata, R. Nicoletti, B. Krishnamachary, Z. M. Bhujwalla, R. Canese, F. Podo, S. Canevari, E. Iorio, a D. Mezzanzanica. 2016. "Choline metabolism alteration: a focus on ovarian cancer". *Frontiers in Oncology* 6(0).
- Balog, C. I. A., A. Meissner, S. Göraler, M. R. Bladergroen, B. J. Vennervald, O. A. Mayboroda, a A. M. Deelder. 2011. "Metabonomic investigation of human *Schistosoma mansoni* infection". *Molecular BioSystems* 7(5).
- Barbosa, F. S., a I. Barbosa. 1958. "Dormancy during the larval stages of the trematode *Schistosoma mansoni* in snails estivating on the soil of dry natural habitats". *Ecology* 39(4): 763-764.
- Becker, W. 1980. "Metabolic interrelation ships of parasitic trematodes and mollusks, especially *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*". *Zeitscherift für Parasitenkunden* 63(0): 101-111.

- Bezerra, J. C., A. Kemper, a W. Becker. 1999b. "Profile of organic acid concentrations in the digestive gland and hemolymph of *Biomphalaria glabrata* under estivation". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94(6): 779-784.
- Bogen, K. T., J. M. Benson, G. S. Yost, J. B. Morris, A. R. Dahl, H. J. Clewell, K. Krishnan, a C. J. Omiecinski. 2008. "Naphthalene metabolism in relation to target tissue anatomy, physiology, cytotoxicity and tumorigenic mechanism of action". *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 51(2): 27-36.
- Botelho, M.C., M. Crespo, A. Almeida, P. Vieira, M.L. Delgado, L. Araujo, J.C. Machado, a J.M. Correia da Costa. 2009. "*Schistosoma haematobium* and *Schistosomiasis mansoni*: Production of an estradiol-related compound detected by elisa". *Experimental Parasitology* 122(3): 250-253.
- Botelho, M. C., N. Vale, M. J. Gouveia, G. Rinaldi, J. Santos, L. L. Santos, P. Gomes, P. J. Brindley, a J. M. Correia da Costa. 2013. "Tumour-like phenotypes in urothelial cells after exposure to antigens from eggs of *Schistosoma haematobium*: An estrogen–DNA adducts mediated pathway?". *International Journal for Parasitology* 43(1): 17-26.
- Botelho, M. C., R. Soares, N. Vale, R. Ribeiro, V. Camilo, R. Almeida, R. Medeiros, P. Gomes, J. C. Machado, a J. M. Correia da Costa. 2010. "*Schistosoma haematobium*: Identification of new estrogenic molecules with estradiol antagonistic activity and ability to inactivate estrogen receptor in mammalian cells". *Experimental Parasitology* 126 (4): 526-535.
- Boyle, J. P., J. F. Hillyer, a T. P. Yoshino. 2003. "Pharmacological and autoradiographical characterization of serotonin transporter-like activity in sporocysts of the human blood fluke, *Schistosoma mansoni*". *Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 189(8): 631-641.
- Boyle, J. P., a T. P. Yoshino. 2005. " Serotonin-induced muscular activity in *Schistosoma mansoni* larval stages: importance of 5-HT transport and role in daughter sporocyst production ". *Journal of Parasitology* 91(3): 542-550.
- Boyle, J. P., J. V. Zaide, a T. P. Yoshino. 2000. "*Schistosoma mansoni*: effects of serotonin and serotonin receptor antagonists on motility and length of primary sporocysts *in vitro*". *Experimental Parasitology* 94(4): 217-226.
- Bueding, E. 1950. "Carbohydrate metabolism of *Schistosoma mansoni*". *The Journal of General Physiology* 33(5): 475-495.
- Bueding, E., a J. Fisher. 1982. "Metabolic requirements of schistosomes". *The Journal of Parasitology* 68(2).
- Burki, A., M. Tanner, E. Burnier, W. Schweizer, R. Meudt, a A. Degrémont. 1986. "Comparison of ultrasonography, intravenous pyelography and cystoscopy in detection of urinary tract lesions due to *Schistosoma haematobium*". *Acta Trop.* 43(2): 139-151.

- Canuto, G., J. L. Costa, P. Cruz, A. Souza, A. Faccio, A. Klassen, K. Rodrigues, a M. Tavares. 2018. "Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas ". *Química Nova* 41(1): 75-91.
- Cline, D. J., B. Fried, a J. Sherma. 1999. "TLC and GC-MS identification of glucose and maltose in *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda), and use of quantitative TLC to determine the effect of starvation on the amounts of these carbohydrates". *Acta Chromatographica* 9(): 79–86.
- Connor, S. C., W. Wu, B. C. Sweatman, J. Manini, J. N. Haselden, D. J. Crowther, a C. J. Waterfield. 2010. "Effects of feeding and body weight loss on the ¹H-NMR-based urine metabolic profiles of male Wistar Han Rats: Implications for biomarker discovery". *Biomarkers* 9(2): 156-179.
- Das, S. 1998. "Taurine can ameliorate inflammatory bowel disease in rats". *Advances in Experimental Medicine and Biology* 442(): 291-298.
- Davies, S. J. 2001. "Modulation of blood fluke development in the liver by hepatic CD4 lymphocytes". *Science* 294(5545): 1358-1361.
- Davies, T. W., a D. A. Erasmus. 1984. "An ultrastructural study of the effect of parasitism by larval *Schistosoma mansoni* on the calcium reserves of the host, *Biomphalaria glabrata*". *Cell Tissue Res* 236(): 643–649.
- Jong-Brink, M., H. M. Koop, W. F. de Roos, and J. M. Bergamin-Sassen. 1982. "Regulation of secretory activity in the albumen gland of the pulmonate snail *Lymnaea stagnalis* (L.)". *International Journal of Invertebrate Reproduction* 5(4): 207-219.
- Delaney, J., W. A. Neville, A. Swain, A. Miles, M. S. Leonard, a C. J. Waterfield. 2004. "Phenylacetylglutamine, a putative biomarker of phospholipidosis: Its origins and relevance to phospholipid accumulation using amiodarone treated rats as a model". *Biomarkers* 9(3): 271-290.
- Doenhoff, M., P. Chiodini, a J. Hamilton. 2004. "Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies?". *Trends in Parasitology* 20(1): 35-39.
- Domschke, A., W. F. March, S. Kabilan, a C. Lowe. 2006. "Initial clinical testing of a holographic non-invasive contact lens glucose sensor". *Diabetes Technol Ther.* 8(1): 89-93.
- Dunn, M., M. Rojkind, K. Warren, P. Hait, L. Rifas, a S. Seifter. 1977. "Liver collagen synthesis in murine schistosomiasis". *Journal of Clinical Investigation* 59(4): 666-674.
- Elsden, S. R., M. G. Hilton, a J. M. Waller. 1976. "The end products of the metabolism of aromatic amino acids by clostridia". *Archives of Microbiology* 107(3): 283-288.
- Elseoud, S., N. A. Fattah, H. E. E. Din, H. A. Al, H. Mossalem, a N. Elleboudy. 2010. "Carboxylic acids as biomarkers of *Biomphalaria alexandrina* snails infected with *Schistosoma mansoni*". *The Korean Journal of Parasitology* 48(2).
- Etges, F. J., O. S. Carter, a G. Webbe. 1975. "Behavioral and developmental physiology of schistosome larvae as related to their molluscan hosts". *Annals of the New York Academy of Sciences* 266(1): 480-496.

- Faro, M., M. Perazzini, L. Corrêa, C. Mello-Silva, J. Pinheiro, E. Mota, S. de Souza, Z. de Andrade, a A. Júnior. 2013. "Biological, biochemical and histopathological features related to parasitic castration of *Biomphalaria glabrata* infected by *Schistosoma mansoni*". *Experimental Parasitology* 134(2): 228-234.
- Felicia, N. D., G.K. Rekha, a S. E. Murphy. 2000. "Characterization of cytochrome P450 2A4 and 2A5-catalyzed 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) metabolism". *Archives of Biochemistry and Biophysics* 384(2): 418-424.
- Garcia-Perez, I., A. C. Alves, S. Angulo, J. V. Li, J. Utzinger, T. M. D. Ebbels, C. Legido-Quigley, J. K. Nicholson, E. Holmes, a C. Barbas. 2010. "Bidirectional correlation of NMR and capillary electrophoresis fingerprints: A new approach to investigating *Schistosoma mansoni* infection in a mouse model". *Analytical Chemistry* 82(1): 203-210.
- García-Pérez, I., P. Whitfield, A. Bartlett, S. Angulo, C. Legido-Quigley, M. Hanna-Brown, a C. Barbas. 2008. "Metabolic fingerprinting of *Schistosoma mansoni* infection in mice urine with capillary electrophoresis". *Electrophoresis* 29(15): 3201-3206.
- Garson, S., D. Heyneman, a J. Daugherty. 1954. "The effect of *Schistosoma mansoni* infections on liver function in mice". *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 3 (3): 511-517.
- Ghanem, M. H., M. Said, a F. K. Guirgis. 1971. "Glucose intolerance in hepatic schistosomiasis". *J Trop Med Hyg* 74(9): 189-194.
- Gilberson, D.E., F.J. Etges, a .J.D. Ogle. 1967. "Free amino acids of *Australorbis glabratus* hemolymph: Comparison of four geographic strains and effect of infection by *Schistosoma mansoni*". *J Parasitol.* 53(3): 565-568.
- Goumon, Y., F. Casares, S. Pryor, L. Ferguson, B. Brownawell, P. Cadet, C. M. Rialas, I. D. M. Welters, D. Sonetti, a G. B. Stefano. 2000. "*Ascaris suum* , an Intestinal Parasite, Produces Morphine". *The Journal of Immunology* 165(1): 339-343.
- Gouveia, M. J., J. Santos, P. J. Brindley, G. Rinaldi, C. Lopes, L. L. Santos, J. M. C. da Costa, a N. Vale. 2015. "Estrogen-like metabolites and DNA-adducts in urogenital schistosomiasis-associated bladder cancer". *Cancer Letters* 359(2): 226-232.
- Gouveia, M. J., P. J. Brindley, G. Rinaldi, F. Gärtner, J. M. C. da Costa, a N. Vale. 2019. "Infection with carcinogenic helminth parasites and its production of metabolites induces the formation of DNA-adducts". *Infectious Agents and Cancer* 14(1): 41.
- Grant, D.M., a R.K. Harris. 1996. "Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance".
- Gray, D. J., A. G. Ross, Y.-S. Li, a D. P. McManus. 2011. "Diagnosis and management of schistosomiasis". *BMJ* 342 (1): d2651-d2651.
- Gryseels, B., K. Polman, J. Clerinx, a L. Kestens. 2006. "Human schistosomiasis". *Lancet* 368 (): 1106–1118.
- Hardman, J. K., a T. C. Stadtman. 1960. "Metabolism of ω -amino acids". *Journal of Bacteriology* 79 (4): 549-552.

- Hartwig, H. G., P. Brisson, I. Lyncker, a J. P. Collin. 1980. "Aminergic systems in pulmonate gastropod molluscs". *Cell And Tissue Research* 210(2).
- Hatz, C., L. Savioli, J. Dhunpath, a U. M. Kisumku. 1990. "Measurement of schistosomiasis-related morbidity at community level in areas of different endemicity". *Bulletin of the World Health Organization* 68(6): 777 - 787.
- He, Y.X., a H. Z. Yang. 1980. "Physiological studies on the post-cercarial development of *Schistosoma japonicum*". *Acta Zoologica Sinica* 26(1): 32-41.
- Hirai, S., T. Kishimoto, A. L. Kadam, H. Kanatani, a S. S. Koide. 1988. "Induction of spawning and oocyte maturation by 5-hydroxytryptamine in the surf clam". *Journal of Experimental Zoology* 245(3): 318-321.
- Holmes, E. 2010. "The evolution of metabolic profiling in parasitology". *Parasitology* 13(9): 1437-1449.
- Huxtable, R. J. 1992. "Physiological actions of taurine". *Physiological Reviews* 72(1): 101-163.
- Cheever, E. A., J. G. Macedonia, J. E. Mosimann, a A. W. Cheever. 1994. "Kinetics of egg production and egg excretion by *Schistosoma mansoni* and *S. japonicum* in mice infected with a single pair of worms". *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 50(3): 281-295.
- Cheng, T. C. 1971b. "Enhanced growth as a manifestation of parasitism and shell deposition in parasitized molluscs". *Cheng T (ed) Aspects of the biology of symbiosis.*: 103–137.
- Cheng, T., a F. Lee. 1971a. "Glucose levels in the mollusc *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*". *Journal of Invertebrate Pathology* 18(3): 395-399.
- Chen, M. 2014. "Assessment of morbidity due to *Schistosoma japonicum* infection in China". *Infectious Diseases of Poverty* 3(1).
- Chiang, P. K., J. G. Bourgeois, a E. Bueding. 1974. "5-Hydroxytryptamine and Dopamine in *Biomphalaria glabrata*". *The Journal of Parasitology* 60(2): 264-271.
- Cho, S., M. Kim, H. Kim, Y. Kim, W. Choi, S. Shin, K. Hong, Y. Kim, J. Lee, a C. Suh. 2001. "Chronic hepatitis: *In Vivo* proton MR spectroscopic evaluation of the liver and correlation with histopathologic findings". *Radiology* 221(3): 740-746.
- Christie, J., W. Foster, a L. Stauber. 1974. "14C Uptake by *Schistosoma mansoni* from *Biomphalaria glabrata* exposed to 14C-glucose". *Journal of Invertebrate Pathology* 23(3): 297-302.
- Isseroff, H., K. Bock, A. Owczarek, a K. Smith. 1983. "Schistosomiasis: Proline production and release by ova". *The Journal of Parasitology* 69(2).
- Jarusiewicz, J. A., J. Sherma, a B. Fried. 2006. "Thin layer chromatographic analysis of glucose and maltose in estivated *Biomphalaria glabrata* snails and those infected with *Schistosoma mansoni*". *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 145(3-4): 346-349.
- Jin, W., A. Sugaya, T. Tsuda, H. Ohguchi, a E. Sugaya. 2000. "Relationship between large conductance calcium-activated potassium channel and bursting activity". *Brain Research* 860(1-2): 21-28.

- Kayange, N. M., L. R. Smart, J. E. Tallman, E. Y. Chu, D. W. Fitzgerald, K. J. Pain, a R. N. Peck. 2015. "Kidney disease among children in sub-Saharan Africa: systematic review". *Pediatric Research* 77(2): 272-281.
- Khotimechenko, Y.S., a I.I. Deridovich. 1989. "The effect of dopamine and haloperidol on cAMP in the gonad of the bivalve mollusc *Mizuhopecten yessoensis* and the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*". *Comp. Biochem. Physiol.* 92C(): 2326.
- Kirichuk, G., a I. A. Pershko. 2002. "The effect of the trematode invasion and accumulation of heavy metals onto the pond snail". *Parazitologia* 36(4): 295–303.
- Klemm, N. 1985. "The Distribution of Biogenic Monoamines in Invertebrates". *Neurobiology*: 280-296.
- Klimberg, V. S., a J. L. McClellan. 1996. "Glutamine, cancer, and its therapy". *American journal of surgery* 172(5): 418-424.
- Knauff, R. F., and K. S. Warren. 1969. "The Effect of Calorie and Protein Malnutrition on Both the Parasite and the Host in Acute Murine Schistosomiasis Mansoni". *Journal of Infectious Diseases* vol. 120 (issue 5): 560-575.
- Krengel, U., a P. A. Bousquet. 2014. "Molecular Recognition of Gangliosides and Their Potential for Cancer Immunotherapies". *Frontiers in Immunology* 5().
- Lacković, Z., M. Parenti, a N. H. Neff. 1981. "Simultaneous determination of femtomole quantities of 5-hydroxytryptophan, serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid in brain using HPLC with electrochemical detection". *European Journal of Pharmacology* 69(3): 347-352.
- Lambertucci, J. R., J. C. Serufo, R. Gerspacher-Lara, A. Rayes, R. Teixeira, V. Nobre, a C. Antunes. 2000. "*Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control". *Acta Tropica* 77(1): 101-109.
- Lambertucci, J. R., I. Voietá, a A. J. A. Barbosa. 2005. "Colonic polyps in hepatosplenic schistosomiasis mansoni". *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38(1): 80-81.
- Li, J., E. Holmes, J. Saric, J. Keiser, S. Dirnhofer, J. Utzinger, a Y. Wang. 2009. "Metabolic profiling of a *Schistosoma mansoni* infection in mouse tissues using magic angle spinning-nuclear magnetic resonance spectroscopy". *International Journal for Parasitology* 39(5): 547-558.
- Li, J., J. Saric, Y. Wang, J. Keiser, Jürg Utzinger, a E. Holmes. 2011. "Chemometric analysis of biofluids from mice experimentally infected with *Schistosoma mansoni*". 4(1).
- Liu, R., F. Ye, Q. Zhong, S. Wang, T. Chai, H. Dong, a Z. Ming. 2019. "Comparative serum metabolomics between SCID mice and BALB/c mice with or without *Schistosoma japonicum* infection: Clues to the abnormal growth and development of schistosome in SCID mice". *Acta Tropica* 200 ().
- Lladó, V., D. J. López, M. Ibarguren, M. Alonso, J. B. Soriano, P. V. Escribá, a X. Busquets. 2014. "Regulation of the cancer cell membrane lipid composition by NaCHOLEate". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1838(6): 1619-1627.

- Looker, D., a F. Etges. 1979. "Effect of *Schistosoma mansoni* infection on fecundity and perivitelline fluid composition in *Biomphalaria glabrata*". *The Journal of Parasitology* 65(6): 880-885.
- Malek, E.A., a T. C. Cheng. 1974. In *Medical and economic malacology*, 394. New York: Academic Press.
- Manger, P., J. Li, B. M. Christensen, a T. P. Yoshino. 1996. "Biogenic monoamines in the freshwater snail, *Biomphalaria glabrata*: Influence of infection by the human blood fluke, *Schistosoma mansoni*". *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 114(3): 227-234.
- Martin, F., E. Verdu, Y. Wang, M. Dumas, I. Yap, O. Cloarec, G. Bergonzelli, I. Corthesy-Theulaz, S. Kochhar, E. Holmes, J. Lindon, S. Collins, a J. Nicholson. 2006. "Transgenomic Metabolic Interactions in a Mouse Disease Model: Interactions of *Trichinella spiralis* Infection with Dietary *Lactobacillus paracasei* Supplementation". *Journal of Proteome Research* 5(9): 2185-2193.
- Marxen, J. C., M. Nimtz, W. Becker, a K. Mann. 2003. "The major soluble 19.6 kDa protein of the organic shell matrix of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* is an N-glycosylated dermatopontin". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 1650(1-2): 92-98.
- Massa, D. R., M. J. Chejlava, B. Fried, a J. Sherma. 2007. "High performance column liquid chromatographic analysis of selected carboxylic acids in *Biomphalaria glabrata* patently infected with *Schistosoma mansoni*". *Parasitology Research* 101(4): 925-928.
- Mažuran, N., V. Hršak, M. Tomić, a D. Papeš. 1999. "Effects of CaCl₂ and CaBr₂ on the fecundity of *Planorbarius corneus L*". *Chemosphere* 38(10): 2345-2355.
- McCaman, M. W., J. K. Ono, a R. E. McCaman. 1984. "5-Hydroxytryptamine Measurements in Molluscan Ganglia and Neurons Using a Modified Radioenzymatic Assay". *Journal of Neurochemistry* 43 (1): 91-99.
- McManus, D. P., D. W. Dunne, M. Sacko, J. Utzinger, B. J. Vennervald, a X. Zhou. 2018, modifikováno. "Schistosomiasis". *Nature Reviews Disease Primers* 4(1).
- Mendes, T., E. Carrilho, A. Afonso, C. Galinaro, F. Cabral, a S. Allegretti. 2019. "Proteomic, metabolic and immunological changes in *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*". *International Journal for Parasitology* 49(13-14): 1049-1060.
- Miller, T., R. Hanson, a P. Yancey. 2000. "Developmental changes in organic osmolytes in prenatal and postnatal rat tissues". *125 (1): 45-56.*
- Miyashita, H., H. Nakagawa, K. Kobayashi, M. Hoshi, a M. Matsumoto. 2011. "Effects of 17β-estradiol and bisphenol A on the formation of reproductive organs in planarians". *The Biological Bulletin* 220(1): 47-56.
- Mostafa, M. H., S. A. Sheweita, a P. J. O'Connor. 1999. "Relationship between schistosomiasis and bladder cancer". *Clinical Microbiology Reviews* 12(1): 97-111.

- Mostafa, O. M. 2007. "Effects of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infections on calcium content in their intermediate hosts". *Parasitology Research* 101(4): 963-966.
- Mukai, S. T., L. Kiehn, a A. S. M. Saleuddin. 2004. "Dopamine stimulates snail albumen gland glycoprotein secretion through the activation of a D1-like receptor". *Journal of Experimental Biology* 207(14): 2507-2518.
- Neves, R. H., J. R. Machado-Silva, M. Pelajo-Machado, S. A. Oliveira, E. M. Coutinho, H. L. Lenzi, a D. C. Gomes. 2001. "Morphological aspects of *Schistosoma mansoni* adult worms isolated from nourished and undernourished mice: a comparative analysis by confocal laser scanning microscopy". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96(7): 1013-1016.
- Nicholson, J. K., J. A. Timbrell, a P. J. Sadler. 1985. "Proton NMR spectra of urine as indicators of renal damage. Mercury-induced nephrotoxicity in rats.". *Molecular Pharmacology* 27(6): 644-651.
- Nicholson, J. K., Marion D. Kendall, a D. Osborn. 1983. "Cadmium and mercury nephrotoxicity". *Nature* 304(5927): 633-635.
- Nobre, V., J. C. Serufo, O. S. Carvalho, C. L. G. F. Mendonça, S. G. Santos, E. M. Mota, D. Gomes, E. Braga, C. M. F. Antunes, H. L. Lenzi, a J. R. Lambertucci. 2004. "Alteration in the endogenous intestinal flora of swiss webster mice by experimental *Angiostrongylus costaricensis* infection". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99(7): 717-720.
- Ong, J.H.L., M. Chejlava, B. Fried, K.M. Koehnlein, G.L. Bosavage, a J. Sherma. 2004. "Effects of *Schistosoma mansoni* infection on inorganic elements in the snail *Biomphalaria glabrata*". *Journal of Helminthology* 78(4): 343-346.
- Oordt, B. E. P., A. G. M. Tielens, a S. G. van den Bergh. 1988. "The energy metabolism of *Schistosoma mansoni* during its development in the hamster". *Parasitology Research* 75(1): 31-35.
- Pachuski, J., B. Fried, a J. Sherma. 2002. "HPTLC analysis of amino acids in *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*". *journal of liquid chromatography & related technologies* 25(13-15): 2345-2349.
- Perrotti, F., C. Rosa, I. Cicalini, P. Sacchetta, P. Del Boccio, D. Genovesi, a D. Pieragostino. 2016. "Advances in lipidomics for cancer biomarkers discovery". *International Journal of Molecular Sciences* 17(12).
- Pinheiro, J., E. Gomes, a G. Chagas. 2001. "Aminotransferases activity in the hemolymph of *Bradybaena similaris* (Gastropoda, Xanthonychidae) under starvation". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96(8): 1161-1164.
- Ram, J. L., G. W. Crawford, J. U. Walker, J. J. Mojares, N. Patel, P. P. Fong, a K. Kyojuka. 1993. "Spawning in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*): Activation by internal or external application of serotonin". *Journal of Experimental Zoology* 265(5): 587-598.
- Richards, C. S. 1967. "Estivation of *Biomphalaria glabrata* (Basommatophora: Planorbidae)". *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 16(6): 797-802.

- Roberts, L. D., A. L. Souza, R. E. Gerszten, a C. B. Clish. 2012. "Targeted metabolomics". *Current Protocols in Molecular Biology* 98(1).
- Ross, A. G., D. Vickers, G. R. Olds, S. M. Shah, a D. P. McManus. 2007. "Katayama syndrome". *The Lancet Infectious Diseases* 7(3): 218-224.
- Saeed, M., S. Higginbotham, N. Gaikwad, D. Chakravarti, E. Rogan, a E. Cavalieri. 2009. "Depurinating naphthalene–DNA adducts in mouse skin related to cancer initiation". *Free Radical Biology and Medicine* 47(7): 1075-1081.
- Santhanagopalan, V., a T. P. Yoshino. 2000. "Monoamines and their metabolites in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*". *Comparative Biochemistry and Physiology A - molecular and integrative physiology* 125(4): 469-478.
- Santos, J., M. J. Gouveia, N. Vale, M. L. Delgado, A. Gonçalves, J. M. T. Silva, C. Oliveira, P. Xavier, P. Gomes, L. L. Santos, C. Lopes, A. Barros, G. Rinaldi, P. J. Brindley, J. M. C. da Costa, M. Sousa, M. C. Botelho, a D. J. Diemert. 2014. "Urinary estrogen metabolites and self-reported infertility in women infected with *Schistosoma haematobium*". *PLoS ONE* 9(5): e96774.
- Saric, J., J. Li, Y. Wang, J. Keiser, J. Bundy, E. Holmes, J. Utzinger, a D. Blair. 2008. "Metabolic profiling of an *Echinostoma caproni* infection in the mouse for biomarker discovery". *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2(7).
- Saule, P., J. Vicogne, M. Delacre, L. Macia, A. Tailleux, C. Dissous, C. Auriault, a I. Wolowczuk. 2005. "Host glucose metabolism mediates T4 and IL-7 action on *Schistosoma mansoni* development". *Journal of Parasitology* 91(4): 737-744.
- Saule, P., E. Adriaenssens, M. Delacre, O. Chassande, M. Bossu, C. Auriault, a I. Wolowczuk. 2002. "Early variations of host thyroxine and interleukin-7 favor *Schistosoma mansoni* development". *Journal of Parasitology* 88(5): 849-855.
- Seibel, B. A., a P. J. Walsh. 2002. "Trimethylamine oxide accumulation in marine animals: relationship to acylglycerol storage". *Journal of Experimental Biology* 205(3): 297-306.
- Senft, A.W. 1967. "Studies in arginine metabolism by schistosomes Arginine depletion in mammals and snails infected with *S. mansoni* or *S. hematobium*". *Comparative Biochemistry and Physiology* 21(2): 299-306.
- Shaw, M., a D. Erasmus. 1987. "*Biomphalaria glabrata*: changes in calcium reserves following parasitism by larval *Schistosoma mansoni*". *Parasitology* 95(2): 267-276.
- Sheweita, S. A, F. G El-Shahat, M. A Bazeed, M. R. Abu El-Maati, a P. J. O'Connor. 2004. "Effects of *Schistosoma haematobium* infection on drug-metabolizing enzymes in human bladder cancer tissues". *Cancer Letters* 205(1): 15-21.
- Schiller, E. L., E. Bueding, V. M. Turner, a J. Fisher. 1975. "Aerobic and anaerobic carbohydrate metabolism and egg production of *Schistosoma mansoni* In vitro". *The Journal of Parasitology* 61(3).

- Schnell, Sibylle, Wilhelm Becker, a Andreas Winkler. 1985. "Amino acid metabolism in the freshwater pulmonate *Biomphalaria glabrata* infected with the trematode *Schistosoma mansoni*". *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 81(4): 1001-1008.
- Silva, L., A. Fernandes, A. Barbosa Jr, I. Oliveira, a Z. Andrade. 2000. "Significance of schistosomal granuloma modulation". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 95(3): 353-361.
- Sluiter, J. F., C. M. Brussaard-Wüst, a E. A. Meuleman. 1980. "The relationship between miracidial dose, production of cercariae, and reproductive activity of the host in the combination *Trichobilharzia ocellata* and *Lymnaea stagnalis*". *Zeitschrift für Parasitenkunde Parasitology Research* 63(1): 13-26.
- Smith, E. A., a G.T. Macfarlane. 1996. "Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism". *Journal of Applied Bacteriology* 81(3): 288-302.
- Smith, J. L., J. S. Wishnok, a W. M. Deen. 1994. "Metabolism and excretion of methylamines in rats". *Toxicology and Applied Pharmacology* 125 (2): 296-308.
- Stanislawski, E., W. Becker, a G. Müller. 1979. "Alterations of the free amino acid content in the hemolymph of *Biomphalaria glabrata* (pulmonata) in starvation and after infection with *Schistosoma mansoni* (trematoda)". *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 63(4): 477-482.
- Takahashi, H., R. C. Koehler, S. W. Brusilow, and R. J. Traystman. 1991. "Inhibition of brain glutamine accumulation prevents cerebral edema in hyperammonemic rats". *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 261(3): H825-H829.
- Tang, H., Z. Ming, R. Liu, T. Xiong, C. G. Grevelding, H. Dong, M. Jiang, a W. Ho. 2013. "Development of adult worms and granulomatous pathology are collectively regulated by T- and B-Cells in mice infected with *Schistosoma japonicum*". *PLoS ONE* 8(1).
- Targett, G. A. T. 1962. "The amino-acid composition of blood from snail hosts of schistosomiasis". *Trop Med Parasitol.* 56(1): 61-66.
- Thompson, S., a R. Lee. 1986. "Comparison of starvation and infection by *Schistosoma mansoni* on tissue viability and the ³¹P NMR spectrum of *Biomphalaria glabrata*". *Zeitschrift für Parasitenkunde Parasitology Research* 72(3): 417-421.
- Thompson, S. N., B. Fried, a J. Sherma. 1997. "Physiology and biochemistry of snail-larval trematode relationships". *Advances in trematode biology*: 149–195.
- Tunholi-Alves, V. M., V. M. Tunholi, J. Garcia, S. F. Costa-Neto, A. Maldonado, M. A. J. Santos, S. C. Thiengo, a J. Pinheiro. 2014. "Changes in the calcium metabolism of *Biomphalaria glabrata* experimentally infected with *Angiostrongylus cantonensis*". *Journal of Helminthology* 88(2): 160-165.

- Tunholi, V. M., D. Lustrino, V. M. Tunholi-Alves, J. S. Garcia, C. C. C. Mello-Silva, A. Maldonado, M. L. A. Rodrigues, a J. Pinheiro. 2011. "Influence of *Echinostoma paraensei* (Lie and Basch, 1967) infection on the calcium content in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818)". *Experimental Parasitology* 129(3): 266-269.
- Nieuwmegen, M. E., J. L. Bos, N. D. De With, T. Sminia, J. Wondergem, a M. P. Witter. 1976. "Structure and function of the calcium cells of the freshwater pulmonate snail *Lymnaea stagnalis*". *Netherlands Journal of Zoology* 27(2): 195-208.
- Vennervald, B. J., a K. Polman. 2009. "Helminths and malignancy". *Parasite Immunology* 31(11): 686-696.
- Vinayavekhin, N., a A. Saghatelian. 2010. "Untargeted metabolomics". *Curr Protoc Mol Biol* 90(1): 30-31.
- Walker, A. W., S. H. Duncan, E. C. W. Leitch, M. W. Child, a H. J. Flint. 2005. "pH and peptide supply can radically alter bacterial populations and short-chain fatty acid ratios within microbial communities from the human colon". *Applied and Environmental Microbiology* 71(7): 3692-3700.
- Walker, R. J. 1986. "Transmitters and modulators". *The Mollusca*: 279-485.
- Wang, Y., E. Holmes, J. Nicholson, O. Cloarec, J. Chollet, M. Tanner, B. Singer, a J. Utzinger. 2004. "Metabonomic investigations in mice infected with *Schistosoma mansoni*: An approach for biomarker identification". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(34): 12676-12681.
- Wang, Y., J. Utzinger, S. Xiao, J. Xue, J. K. Nicholson, M. T., Burton H. Singer, a Elaine Holmes. 2006. "System level metabolic effects of a *Schistosoma japonicum* infection in the Syrian hamster". *Molecular and Biochemical Parasitology* 146(1): 1-9.
- Wang, Y., S. Xiao, J. Xue, B. H. Singer, J. Utzinger, a E. Holmes. 2009. "Systems metabolic effects of a *Necator americanus* infection in Syrian hamster". *Journal of Proteome Research* 8(12): 5442-5450.
- White, M., M. Chejlava, B. Fried, a J. Sherma. 2005. "Effects of various larval digeneans on the calcium carbonate content of the shells of *Helisoma trivolvis*, *Biomphalaria glabrata*, and *Physa* sp". *Parasitology Research* 95(4): 252-255.
- Wilson, S., B. J. Vennervald, D. W. Dunne, a K. E. Lyke. 2011. "Chronic hepatosplenomegaly in african school children: A common but neglected morbidity associated with schistosomiasis and malaria". *PLoS Neglected Tropical Diseases* 5(8).
- Wishart, D. S., D. Tzur, C. Knox, R. Eisner, A. C. Guo, N. Young, D. Cheng, K. Jewell, D. Arndt, S. Sawhney, C. Fung, L. Nikolai, M. Lewis, M.-A. Coutouly, I. Forsythe, P. Tang, S. Shrivastava, K. Jeroncic, P. Stothard, G. Amegbey, D. Block, D. D. Hau, J. Wagner, J. Miniaci, M. Clements, M. Gebremedhin, N. Guo, Y. Zhang, G. E. Duggan, G. D. MacInnis, A. M. Weljie, R. Dowlatabadi, F. Bamforth, D. Clive, R. Greiner, L. Li, T. Marrie, B. D. Sykes, H. J. Vogel, a

- L. Querengesser. 2007. "HMDB: the human metabolome database". *Nucleic Acids Research* 35(Database): D521-D526.
- Wolstenholme, A. J., a R. J. Martin. 2014. "Anthelmintics – From Discovery to Resistance". *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 4(3): 218-219.
- Wu, J., E. Holmes, J. Xue, S. Xiao, B. H. Singer, H. Tang, J. Utzinger, a Y. Wang. 2010. "Metabolic alterations in the hamster co-infected with *Schistosoma japonicum* and *Necator americanus*". *International Journal for Parasitology* 40(6): 695-703.
- Wu, J., W. Xu, Z. Ming, H. Dong, H. Tang, Y. Wang, a P. Brindley. 2010. "Metabolic changes reveal the development of schistosomiasis in mice". *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4(8).
- Yap, I. K. S., M. Angley, K. A. Veselkov, E. Holmes, J. C. Lindon, a J. K. Nicholson. 2010. "Urinary metabolic phenotyping differentiates children with autism from their unaffected siblings and age-matched controls". *Journal of Proteome Research* 9(6): 2996-3004.
- Yaqoob, P., a P. Calder. 1997. "Glutamine requirement of proliferating T lymphocytes". *Nutrition* 13(7-8): 646-651.
- Yokoyama, M. T., a J. R. Carlson. 1981. "Production of skatole and para-cresol by a rumen *Lactobacillus* sp.". *Applied and Environmental Microbiology* 41(1): 71-76.
- Yoshino, T. P., J. P. Boyle, a J. E. Humphries. 2001. "Receptor-ligand interactions and cellular signalling at the host-parasite interface". *Parasitology* 123(7): 143-157.
- Young, J. O., a J. H. Harris. 1974. "The occurrence of some invertebrate animals in the littoral zone of some lowland lakes in Cheshire and Shropshire". *Naturalist* 928(): 25-32.
- Zaki, A., E. Wardle, J. Canalese, R. Ede, a R. Williams. 1983. "Potential toxins of acute liver failure and their effects on blood-brain barrier permeability". *Experientia* 39(9): 988-991.
- Żbikowska, E. 2003. "The effect of Digenea larvae on calcium content in the shells of *Lymnaea stagnalis* (L.) individuals". *Journal of Parasitology* 89(1): 76-79.
- Zelck, U., W. Becker, a C. Bayne. 1995. "The plasma proteins of *Biomphalaria glabrata* in the presence and absence of *Schistosoma mansoni*". 19(3): 181-194.
- Zhang, X., X. Zhu, C. Wang, H. Zhang, a Z. Cai. 2016. "Non-targeted and targeted metabolomics approaches to diagnosing lung cancer and predicting patient prognosis". *Oncotarget* 7(39): 63437-63448.
- Zsombok, A., S. Schrofner, A. Hermann, a H. Kerschbaum. 2000. "Nitric oxide increases excitability by depressing a calcium activated potassium current in snail neurons". *Neuroscience Letters* 295(3): 85-88.