

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra parazitologie

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Linda Vlčková

Patologické procesy v játrech při schistosomóze

Pathogenic effect of schistosomes on the liver tissue

Bakalářská práce

Školitel: prof. RNDr. Petr Horák, PhD.

Praha 2013

Prohlášení

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

V Praze dne 22. srpna 2013

.....

Linda Vlčková

Poděkování

Předně děkuji svému školiteli prof. RNDr. Petru Horákovi, PhD. za rady, kritiku a věnovaný čas. Dále patří velké díky mé rodině za podporu po celou dobu studia, rodině Holíkové za trpělivost při nejhroším bakalářském stresování, Lukášovi, Terezii, Oderské společnosti, Agátě, Danielovi, Tomášovi a dalším za diskuze o bakalářce i o jiných věcech a za, byť skromnější, zážitky letošních prázdnin.

Abstrakt

Motolice rodu *Schistosoma* jsou parazitické červi se složitým životním cyklem, kteří se v dospělosti vyskytují v krevních cévách lidí i zvířat. Samotní červi mohou v hostiteli přežít i desítky let a nepůsobit vážnější problémy, produkují však velké množství vajíček, která se ne vždy dostanou z těla ven, neboť jsou krevním tokem roznesena po těle, kde mohou uvíznout v kapilárách. V případě *S. mansoni* a *S. japonicum* dochází k putování vajíček portálním oběhem do jater a uvíznutí v jaterních sinusoidách. Vajíčka schistosom jsou v sinusoidách cizorodým materiálem, který navíc brání průtoku krve. Dochází také k produkci antigenního materiálu vajíčkem, polarizaci Th2 imunitní odpovědi a tvorbě granulomů kolem vajíček. Imunitní odpověď hostitelského organismu na vajíčko je způsobena jak rozeznáním cizorodého materiálu z povrchu vaječné skořápky, tak vlivem antigenů, které vajíčko produkuje při vývoji miracidia. Kapiláry jsou ucpany a zničeny, vznikají fibrotické léze a portální hypertenze, která působí další vážné komplikace. Studium vajíček a jejich sekreční aktivity je podstatné pro vývoj léčiv proti této chorobě.

Klíčová slova: motolice, helminti, schistosomy, vajíčka, játra, patogenita, imunitní reakce

Abstract

The genus *Schistosoma* represents parasitic worms with a complex life cycle. Adult flukes occur within human and animals vessels. They can live in the host for several decades without causing any severe disturbance, but they produce plenty of eggs, some of which do not pass the intestinal wall to be voided to the outer environment via faeces. These eggs are also carried by the blood flow and entrapped in small capillaries which they cannot pass through. The eggs of *S. mansoni* and *S. japonicum* are transported via portal system to the liver where they become entrapped in liver sinusoids. Schistosome eggs represent a foreign material in liver sinusoids and hamper the blood flow. The eggs also produce some soluble antigenic material. As a consequence polarisation of Th2 immune response develops and formation of the periportal granuloma is initiated. The immune response of the host organism to the entrapped eggs is caused by both the foreign material from the eggshells and the antigens produced by the maturing eggs. Capillaries are obstructed and destroyed. Fibrotic lesions are formed and this in turn leads to portal hypertension which causes further severe complications. Study of the eggs and their secretion activity are important for the development of the treatment against the schistosomiasis disease.

Key words: trematodes, helminths, schistosomes, eggs, liver, pathogenicity, immune response

Obsah

Úvod	1
1 Vajíčka jako hlavní patogenní agens při schistosomóze	2
1.1 Životní cyklus motolic rodu <i>Schistosoma</i>	2
1.2 Vývoj vajíčka.....	3
1.3 Stavba obalu zralého vajíčka	4
1.4 Vaječná sekrece	6
2 Játra jako cílový orgán patogenního působení schistosom.....	8
2.1 Sinusoidy	8
2.2 Jaterní buňky podílející se na patogenezi při schistosomóze	9
2.2.1 Buňky endotelu sinusoid	9
2.2.2 Kupfferovy buňky	9
2.2.3 Hvězdčité jaterní buňky	10
3 Imunitní odpověď organismu při schistosomóze	11
3.1 Th2 typ imunitní odpovědi	11
3.2 Chronická schistosomóza	11
3.3 Regulace imunitní odpovědi hostitelem	13
4 Patologické projevy při chronické schistosomóze.....	15
4.1 Gastrointestinální schistosomóza	15
4.2 Jaterní schistosomóza	15
4.2.1 Granulomy	15
4.2.2 Jaterní portální fibróza	17
4.3 Komplikace spojené s fibrózou jater	18
Závěr.....	19
Literatura	20

Úvod

Schistosomóza, ve starších zdrojích také bilharzióza, je obecné označení chronické choroby způsobované helminty rodu *Schistosoma*. Napadené mohou být různé orgány a tkáně, a podle toho se různí příznaky a obtíže. Ze socioekonomického hlediska jde o celosvětově nevýznamnější helmintózu a po malárii druhou nejvýznamnější nákazu parazity vůbec. Uvádí se, že je na světě nakaženo zhruba 200 miliónů osob (Crompton, 1999; Chitsulo *et al.*, 2000) z tropů a subtropů především z oblastí rozvojových zemí subsaharské Afriky, ale také z oblastí Jižní Ameriky a východní Asie. Rizikovými místy, kde se i cestovatel může nakazit schistosomózou, jsou přírodní sladkovodní nádrže tropů a subtropů s výskytem plžů příslušných rodů, kteří jsou mezipřehoditeli schistosom.

Nejznámějšími a nejrozšířenějšími lidskými krevničkami, jak se schistosomy v češtině nazývají díky jejich výskytu v cévách, jsou *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi* a *S. intercalatum* vyvolávající střevní formu nákazy, a dále *S. haematobium*, která působí močovou formu onemocnění. Hlavním patogenním agens nejsou dospělci, nýbrž vajíčka.

V bakalářské práci se zabýváme schistosomami žijícími v cévách kolem střev, konkrétně *S. mansoni* a *S. japonicum*. *Schistosoma mansoni* je převážně parazitem lidí, zatímco *S. japonicum* je zoonóza infikující divoká i domácí zvířata, a také člověka. Vajíčka těchto dvou druhů schistosom uvíznutá v sinusoidách jater a presinusoidálním prostoru působí v pacientech největší potíže. Vajíčka mohou být krevním řečištěm zanesena i do jiných tkání: sleziny, ledvin, plic, srdce, dělohy či nervové soustavy, o tom však již předložená práce pojednává nebude.

Cílem bakalářské práce je (1) popsat vývoj vajíčka schistosom a jakým způsobem působí komplikace v definitivním hostiteli, (2) popsat imunitní mechanismy definitivního hostitele uplatňující se při chronické schistosomóze v játrech, (3) uvést konkrétní příklady patologií a přidružených komplikací.

1 Vajíčka jako hlavní patogenní agens při schistosomóze

1.1 Životní cyklus motolic rodu *Schistosoma*

Schistosomy mají dvouhostitelský životní cyklus. Vajíčka *S. mansoni* jsou 114 až 180 μm dlouhá a 45-70 μm široká s charakteristickým trnem umístěným laterálně, u *S. japonicum* jsou vajíčka kulatější, měří 70-100 μm na délku a 55-64 μm na šířku a mají méně výrazný trn. Vajíčka se spolu s výkaly dostávají do vodního prostředí, kde se z nich brzy líhne obrvená larva zvaná miracidium, které okamžitě začne aktivně hledat mezihostitele, druhově specifického tropického sladkovodního plže rodu *Biomphalaria* (*S. mansoni*) či *Oncomelania* (*S. japonicum*). Po průniku do svalnaté nohy plže shazuje miracidium obrvený epitel a transformuje se na mateřskou sporocystu (1. generace), která se asexuálně množí, produkuje dceřiné sporocysty (2. generace) žijící ve vnitřních orgánech plže, převážně v hepatopankreatu, a ty pak produkují množství protáhlých cercárií, které tělo plže cyklicky opouští opět do vodního prostředí.

Cercárie vyčkávají ve vodě v polohách typických pro druh, a když se poblíž objeví člověk (nebo jiný teplokrevný živočich), reagují na změnu zastínění a teploty a snaží se vyhledat hostitele. Podnětem k pevnému přichycení na kůži hostitele jsou pro cercárie hlavně hostitelem produkované mastné kyseliny či jejich deriváty, cercárie *S. mansoni* reaguje na ceramidy a diacylglyceroly na povrchu hostitele (Haas *et al.*, 1994). Mastné kyseliny, kyselina linolová a linoleová jsou pro cercárie stimuly pro penetraci pokožky (Shiff *et al.*, 1972). Pomocí sekretů jednobuněčných penetračních žláz (jedné hlavové, dvou párů preacetabulárních a tří párů postacetabulárních) a aktivního pohybu se cercárie zavrtají do kůže, nejjednodušeji vlasovým folikulem. Důležitým produktem penetračních žláz cercárií *S. mansoni* je cercárieová elastáza (McKerrow & Salter, 2002), tedy serinová proteáza štěpící kolagen, elastin, keratin či laminin (Salter *et al.*, 2000; McKerrow & Salter, 2002). Dále produkují penetrační žlázy cysteinové peptidázy degradující keratin, elastin, kolagen a fibronectin (Dalton 1997, Dvořák 2008), či eikosanoidy působících dilataci cév a tlumící imunitní odpověď (Nevhualu *et al.*, 1993) a další látky. Při penetraci odvrhují cercárie vidličnaté ocásky, poměrně rychle se transformují na schistosomy, které se do dvou dnů po penetraci dostanou do krevního nebo lymfatického oběhu, kterým zřejmě orientovaně cestují přes pravé srdce do plic. První schistosomy se dostanou do plic už za dva dny po nákaze (Rheinberg *et al.*, 1998). V plicním alveolu (Dean & Mangold, 1992; Rheinberg *et al.*, 1998) schistosomula po osm dní roste a prodlužuje. Po osmi dnech se juvenil vrací do krevního řečiště a je zanesena do vrátnicové neboli portální žíly vedoucí krev do jater. Celá tato cesta trvá 5 až 8 týdnů.

V portální žíle pak schistosomy dorůstají do velikosti 7 – 20 mm a pohlavně dospívají. Schistosomy jsou na rozdíl od ostatních motolic gonochoristé s výrazným pohlavním dimorfismem, v portální žíle se párují – samice se uloží do *canalis ganaecophorus* samce, kde dochází k páření, a poté po celkem 5 až 8 týdnech od nákazy kladou samice stovky až tisíce vajíček v závislosti na druhu. Tato vajíčka se pomocí vylučovaných proteolytických enzymů a látek podporujících

zánětlivou odpověď hostitelského organismu dostanou stěnou cévy i střeva do lumenu střeva a odtamtud putují s výkaly do vody. To se však stane jen zhruba s polovinou vajíček (Wynn *et al.*, 2004), druhá polovina buď nedostane ze stěny střeva, nebo je unesena proudem krve a může uvíznout v tenkých kapilárách tkání po celém těle, zejména v játrech. To vyvolává převažující Th2 imunitní reakci, která společně s dalšími faktory vede ke tvorbě granulomů, fibrózních lézí a progresivnímu poškození napadených orgánů.

1.2 Vývoj vajíčka

Vajíčka jsou kladena ještě nevyvinutá s relativně jednoduchou organizací – obsah sestává ze zygoty a vitelinních buněk (Obr. 1 – 0) a je chráněn vaječnou skořápkou – k jejich zrání dochází až mimo tělo červa do jednoho týdne po naklazení a je k němu potřeba také živin a růstových faktorů z vnějšku.

Čerstvě nakladené vajíčko je obecně menší než zralé vajíčko a obsahuje kromě 40 – 45 menších vitelinních buněk (Jurberg *et al.*, 2009) s množstvím mitochondrií, lipidových kapének, váčků a granulárních, nejspíš glykogenových inkluzí také rýhující se embrya (Obr. 1 – 1), jehož buňky vykazují známky proteosyntézy (Ashton *et al.*, 2001; Jurberg *et al.*, 2009) a dělí se. Vaječný obal sice již má vytvořenou rigidní pórovitou skořáčku, ale ještě nedisponuje podskořápkovým komplexem, který se vytvoří až během zrání (Ashton *et al.*, 2001). Vitelinní buňky se nachází v těsném kontaktu s vnitřním povrchem skořáčky (Ashton *et al.*, 2001).

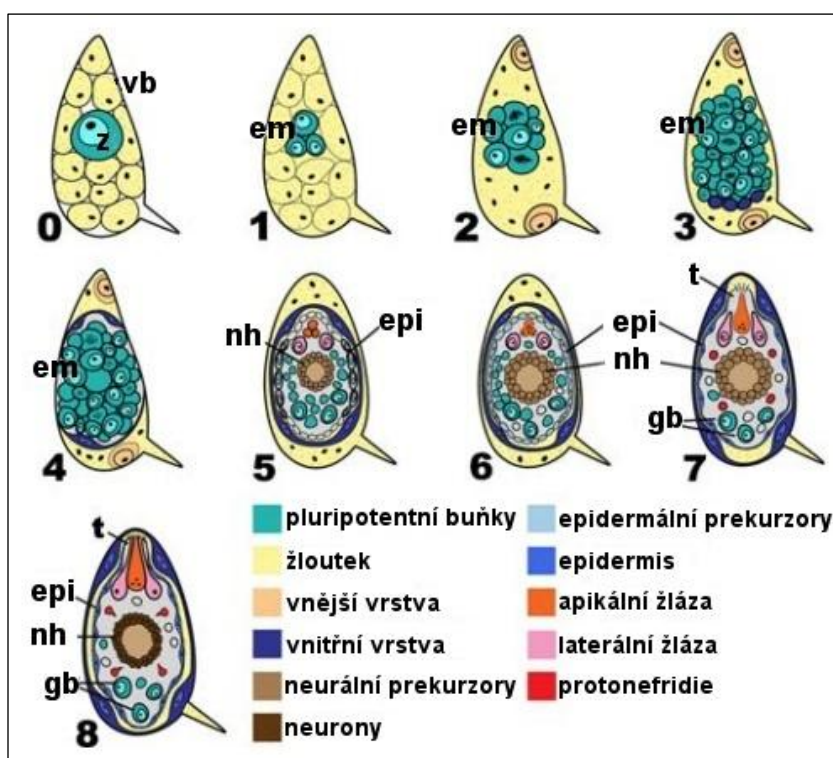
Vaječná skořápka se na rozdíl od ostatních vrstev komplexu vaječných obalů miracidia tvoří ještě v těle samice, konkrétně v ootypu. Shluk vitelinních buněk v určitý okamžik produkuje prekurzory budoucí skořáčky. Tyto prekurzorové proteiny obklopí vitelinní buňky a jednu buňku zárodečnou a vlivem tyrozináz dojde k jejich spojení do rigidního útvaru – skořáčky (deWalick *et al.*, 2011) s charakteristickým laterálním trnem. Poté je vajíčko nakladeno do kapiláry hostitele.

V raném stadiu vývoje již nakladeného vajíčka nejprve dojde ke tvorbě žloutkového syncytia z vitelinních buněk a oddělení několika makromer od rýhujícího se embrya (stereoblastuly), které adherují k vaječné skořápce (Obr. 1 – 2). Posléze dají vzniknout vnější podskořápkové vrstvě (Jurberg *et al.*, 2009). Embryo stále nabývá na objemu a protahuje se (Obr. 1 – 3). Adherované makromery se začínají diferencovat a vsouvat se mezi skořáčku a žloutek a postupně se mění v souvislou vrstvu cytoplasmy o tloušťce 200 – 300 μm a kompletně uzavírají vaječný obsah – vzniká vnější podskořápková vrstva neboli Reynoldova vrstva (Ashton *et al.*, 2001; Jurberg *et al.*, 2009).

Některé periferní buňky embrya zřejmě tvoří mezi vyvíjejícím se miracidem a vnější podskořápkovou vrstvou tenká syncytiální vnitřní podskořápková vrstva (Obr. 1 – 4), dříve také zvaný von Lichtenbergův obal (Neill *et al.*, 1988; Ashton *et al.*, 2001). V průběhu vývoje se tento obal odděluje od embrya, ztlušťuje a zcela obklopí vaječný obsah (Jurberg *et al.*, 2009). Tato vnitřní podskořápková vrstva obsahuje množství ribozomů a rozsáhlý komplex drsného endoplazmatického

retikula, což poukazuje na proteosyntetickou aktivitu (Ashton *et al.*, 2001). Současně s tvorbou vnitřních podskořápkových vrstev se začínají se tvořit orgány miracidia (Jurberg *et al.*, 2009).

Vnější podskořápková vrstva fúzuje se žloutkem, který je postupně vytlačován rostoucím embryem na okraj, až zůstane jen v malém množství na pólech (Jurberg *et al.*, 2009). Vnější podskořápková vrstva se stává tenkou, granulární strukturou, vnitřní podskořápková vrstva má syncytiální charakter (Jurberg *et al.*, 2009). Dochází k dalšímu vývoji orgánů a tkání budoucího miracidia (Obr. 1 – 5, 6, 7). Z podskořápkových vrstev jsou produkovány proteiny sekretované vajíčkem do hostitele a zahrnující také glykoproteiny IPSE/alfa-1, kappa-5 či omega-1 (Schramm *et al.*, 2006; Mathieson *et al.*, 2011), které jsou antigenní povahy. Vyvinuté miracidium (Obr. 1 – 8) přiléhá svými ciliemi poměrně těsně k vnitřnímu obalu miracidia a nachází se v množství volného elektrodenzního materiálu (Ashton *et al.*, 2001).



Obr. 1: Schéma vývoje vajíčka *S. mansoni*; vb – vitelinní buňky, z – zygot, em – embryo, nh – neurální hmota, epi – epitel, gb – germinální buňky. (Jurberg *et al.*, 2009)

1.3 Stavba obalu zralého vajíčka

Vaječná skořápka je nepropustná vytvrzená vrstva s póry (Race *et al.*, 1969) tvořená proteiny vázanými příčnou vazbou. Nejhojněji zastoupeným proteinem typickým pro skořápku je p14, který byl také charakterizován jako první (Bobek *et al.*, 1986). Gen pro tento protein (F10) je nejčastějším transkriptem v samicích schistosom (Ojopi *et al.*, 2007), exprimuje se pouze v ootypu dospělých samic uvnitř vajíčka tvořícího vaječnou skořápku a nachází se ve všech vitelinních buňkách. Tento protein má na svém řetězci hojně zastoupené aminokyseliny glycin a tyrosin (deWalick *et al.*, 2011). U méně častého proteinu p48 převažují tyrosin a lysin (deWalick *et al.*, 2011). Proces, jehož výsledkem je

příčná vazba, je znám jako chinonové vytvrzení (deWalick *et al.*, 2011) a dochází při něm za přítomnosti tyrozináz k tvorbě chinonových vazeb. Vaječná skořápka je syntetizovaná ještě v těle samice z p14, p48 a různých dalších proteinů a glykoproteinů. Společně tvoří tyto proteiny velmi rigidní proteinovou strukturu s nepravidelnou texturou na vnější straně (Race *et al.*, 1969).

Do skořápky jsou inkorporovány také obvykle intracelulární proteiny. Prokázána byla přítomnost intracelulárních strukturních proteinů aktinu a tubulinu a také známých antigenů schistosom p40 (Stadecker & Hernandez, 1998), Hsp70 (Cass *et al.*, 2007) a glykolytických enzymů (deWalick *et al.*, 2011), u nichž byl dříve spor, zda jsou či nejsou sekrečními produkty vajíčka. Byla prokázána také přítomnost dalších antigenů, například fosfoenolpyruvát karboxykinázy (PEPCK) (Asahi *et al.*, 2000) a thioredoxin peroxidázy (TPx) (Williams *et al.*, 2001). Tyto proteiny indukují buněčnou (Asahi *et al.*, 1999; Williams *et al.*, 2001) či protilátkovou odpověď (Mutapi *et al.*, 2005) v hostiteli právě díky tomu, že jsou obvykle intracelulární. Tato odpověď vede k primární zánětlivé odpovědi díky Th1 polarizaci, která je velmi brzy potlačena a nahrazena Th2 imunitní odpovědí a vznikem granulomu.

Vajíčka schistosom obsahují a sekretují glykoproteiny nesoucí imunogenní glykany, které jsou detekovatelné v moči nemocných (Robijn *et al.*, 2007). Na glykoproteinech jsou navázány řetězce oligosacharidů neboli glykanů. Analýzy ukázaly přítomnost glykanových epitopů LDN a Lewis X na povrchu vaječné skořápky (deWalick *et al.*, 2011), které jsou známé svou imunogenicitou. Lewis X je součástí povrchu lidských buněk, kde se účastní buněčné signalizace. Schistosomy jej využívají jako molekulární mimikry a k regulaci imunitní odpovědi hostitele (Wuhrer *et al.*, 2000). Epitop Lewis X vyvolává silnou protilátkovou odpověď IgM a nižší IgG a IgA (Nyame *et al.*, 1997), LDN a jeho deriváty vyvolávají převážně odpověď IgM a IgG (van Remoortere *et al.*, 2001).

Vnější podskořápková vrstva se vyvíjí těsně pod skořápkou. Zralá vnější podskořápková vrstva dosáhne tloušťky 500 – 600 nm a má charakter syncytia s cytoplazmou obsahující váčky a mikroagregáty endoplazmatického retikula, která je rozdělena na jasně ohraničené úseky. Přítomnost jasně identifikovatelných jader v cytoplazmě vnější vrstvy naznačuje buněčný původ, dobře patrné jsou také mitochondrie, které značí metabolickou aktivitu v této oblasti. Na proteosyntetickou aktivitu zase poukazuje přítomnost drsného endoplazmatického retikula. Podle výskytu agregátů granulózního materiálu se dá předpokládat, že zralá vnější podskořápková vrstva slouží k transportu živin dovnitř a sekreci vaječných antigenů (Ashton *et al.*, 2001; Jurberg *et al.*, 2009).

Vnitřní vrstva má také charakter syncytia a přímo přiléhá k vnější podskořápkové vrstvě. Tvoří bariéru proti prosté pasivní difúzi mezi extracelulárními tekutinami hostitele a vlastním vyvíjejícím se miracidem, z čehož vyplývá, že zprostředkovává aktivní, možná selektivní transport do vajíčka a ven (Neill *et al.*, 1988). Tento vnitřní obal obsahuje množství ribozomů a rozsáhlý komplex drsného endoplazmatického retikula, což poukazuje na proteosyntetickou aktivitu (Ashton *et al.*, 2001).

1.4 Vaječná sekrece

Zralé vajíčko sekretuje proteiny, jež reakcí imunitního systému pomáhají při průchodu tkáněmi (Doenhoff *et al.*, 1978). Z vajíček se póry ve vaječné skořápce uvolňují do vnějšího prostředí různé glykoproteiny, které souhrnně nazýváme rozpustnými antigeny vajíčka (soluble egg antigens, SEA) (Cass *et al.*, 2007). Děje se tak až po několika dnech od naklazení, jak potvrzuje nepřítomnost glykoproteinů IPSE/alfa-1 a omega-1 ve vaječné skořápce (deWalick *et al.*, 2011). Obecně jsou antigeny látkami, které jsou rozpoznávány imunitním systémem, který na ně nějak zareaguje s cílem je zničit nebo zneškodnit. Zdrojem SEA je zřejmě oblast mezi skořápkou a embryem – diferenciací vnější a vnitřní podskořápkové vrstvy je vývojově spojena se sekrecí antigenů a imunolokalizací vajíčka v tkáni (Ashton *et al.*, 2001). SEA podporují vznik zánětu kolem uvíznutého vajíčka a tvorbu granulomu (Boros & Lukacs, 1992), což je hlavním důvodem jejich tvorby (Ashton *et al.*, 2001). Vyvolávají totiž T buněčnou odpověď ve tkáni, což ve střevech na rozdíl od jater napomáhá průchodu vajíčka střevní stěnou a konečnému vyloučení (Doenhoff *et al.*, 1978; Ashton *et al.*, 2001). U *S. mansoni* byly popsány tři glykoproteiny, které hrají roli v imunitní odpovědi hostitele na vajíčko: IPSE/alfa-1 je hlavním aktivátorem bazofilů, které jsou stimulovány k uvolnění IL-4, IL-13 a histaminu, a tedy napomáhají iniciaci Th2 odpovědi (Schramm *et al.*, 2003; Schramm *et al.*, 2006; Schramm *et al.*, 2007), kappa-5 je rozpoznáván IgE na povrchu bazofilech, které po navázání degranulují (Schramm *et al.*, 2009; Meevissen *et al.*, 2011), a omega-1 (Fitzsimmons *et al.*, 2005) je hepatotoxický glykoprotein, který spouští Th2 imunitní odpověď organismu (Everts *et al.*, 2009).

Tab. 1: Souhrn hlavních antigenů vajíček schistosom

Antigen	Charakteristika, lokalizace	Odpověď imunitního systému
p14 a p48	nejhojněji zastoupené stavební proteiny vaječné skořápky	Th1 buněčná odpověď
p40	chaperon, u <i>S. mansoni</i> inkorporován do skořápky vajíčka	silná Th1 buněčná odpověď (stimulace produkce IFN- γ a IL-2)
Hsp70	chaperon, hlavní antigen na povrchu skořápky vajíčka <i>S. mansoni</i>	protilátková odpověď IgG
fosfoenolpyruvát karboxykináza	u <i>S. mansoni</i> inkorporován do skořápky vajíčka	silná Th1 buněčná odpověď (stimulace produkce IFN- γ , IL-2 a malého množství IL-5)
thioredoxin peroxidáza	u <i>S. mansoni</i> inkorporován do skořápky vajíčka, původem z podskořápkové vrstvy	Th1 i Th2 buněčná odpověď (stimulace produkce IFN- γ , IL-2, malého množství IL-5, aktivace makrofágů)
(F-)LDN(-F)	glykanový epitop na povrchu skořápky	protilátky IgM, IgG

Lewis X, LeX	glykanový epitop na povrchu skořápky	protilátky IgM, IgG, IgA, indukce sekrece IL-10
IPSE/alfa-2	součást SEA, z podskořápkové vrstvy	indukce bazofilů k uvolnění IL-4, IL-13 a Th2 buněk, produkce IL-10
kappa-6	součást SEA, z podskořápkové vrstvy	rozpoznávání IgE, degranulace bazofilů
omega-2	součást SEA, z podskořápkové vrstvy	hepatotoxický, spouští Th2 imunitní odpověď pomocí dendritických buněk

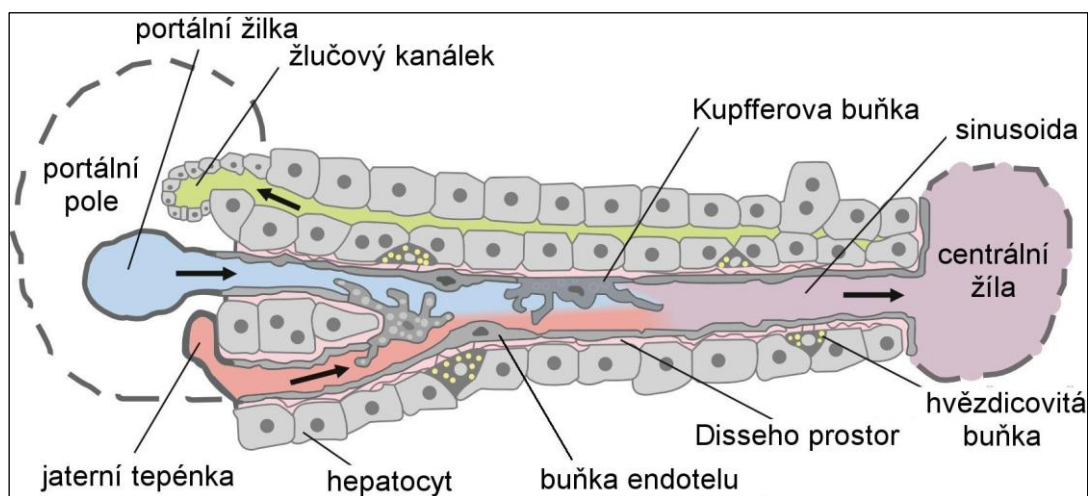
2 Játra jako cílový orgán patogenního působení schistosom

Játra mají v těle nezastupitelnou roli. Probíhá v nich řada dějů včetně metabolismu živin a detoxifikace krve. Portální žíla, součást funkčního oběhu jater, přivádí do jater krev ke zpracování látek vstřebaných ze střeva, ale také žaludku, sleziny, pankreatu a žlučníku.

Morfologická jednotka jater – jaterní lalůček – je tvořen trámci jaterních buněk (hepatocyty) ve dvou řadách paprscitě orientovaných nejčastěji v penta- či hexagonální struktuře. Do portálního pole v kontaktu třech lalůčků směřuje žlučový kanálek a z něj odstupují do středu lalůčku terminální větve jaterní tepny a portální žíly, střed lalůčku pak tvoří centrální žíla. V sinusoidách se z portální žíly a jaterních tepen míchá krev spolu s živinami, kyslíkem a dalšími látkami. Tyto látky jsou zpracovány, odpad se vyloučí do žlučových kanálků a krev pokračuje do těla centrální žilou.

2.1 Sinusoidy

Jaterní sinusoidy tvoří síť přivodných a odvodných fenestrováných kapilár tvořených endotelovými buňkami, začínají na periférii lalůčku a pokračují mezi trámci hepatocytů s bohatou enzymatickou výbavou. Hepatocyty zpracovávají rozpuštěné látky z krve a také tvoří žluč, která je odváděna žlučovými kanálky. Sinusoidy vedou krev z terminálních větví portální žíly a jaterní tepny do žíly centrální. Jaterní sinusoidy jsou obklopeny hvězdicovitými buňkami nacházejícími se v Disseho prostoru, které v klidovém stadiu skladují vitamín A a ovlivňují portální tlak pomocí kontraktilních proteinů. V sinusoidách se vyskytují jaterní makrofágy zvané Kupfferovy buňky zastávající funkci imunitního dozoru. V játrech a portálním systému se nachází také množství roztroušených lymfocytů, které se mohou rychle účastnit imunitní reakce v této oblasti. Jsou jimi buňky přirozené imunity (NK) s cytolytickou aktivitou i buňky adaptivní imunity (T a B-buňky). Dendritické buňky jsou v játrech zastoupeny hojně v klidovém stadiu, po aktivaci migrují přes Disseho prostor lymfou do lymfatických uzlin, kde aktivují T buňky.



Obr. 2: Stavba jaterní sinusoidy, šipky znázorňují směr toku krve, resp. žluči (Frevort a Engelmann 2005, upraveno)

2.2 Jaterní buňky podílející se na patogenezi při schistosomóze

2.2.1 Buňky endotelu sinusoid

Buňky endotelu sinusoid (BES) jsou ploché fenestrované buňky bez bazální laminy tvořící bariéru (avšak poměrně snadno propustnou) mezi krví a hepatocyty. BES fungují jako filtr z lumenu sinusoidy do Disseho prostoru (Malarkey *et al.*, 2005). Při schistosomóze hrají pravděpodobně roli v angiogenezi (Andrade & Santana, 2010) spojené s tvorbou granulomů (Shariati *et al.*, 2011). Jejich funkce byla zkoumaná hlavně na kultuře buněk izolované z pupečnickové žíly. Když jsou BES aktivovány vlivem SEA produkovaných vajíčky schistosom, začnou exprimovat více VEGF (Loeffler *et al.*, 2002), proliferovat a migrovat, čímž tvoří nové kapilární struktury (Freedman & Ottesen, 1988; Kanse *et al.*, 2005). Angiogeneze je důležitá v raných stádiích tvorby granulomu, postupem času se ale tvorba nových kapilár v místě tvorby granulomu snižuje a starší granulomy jsou avaskulární, nicméně mají kapilární síť kolem sebe (Baptista & Andrade, 2005).

BES jsou přítomny spolu s Kupfferovými buňkami také při imunitní odpovědi (Connolly *et al.*, 2010). Pomocí MHC II mohou BES vystavovat fragmenty antigenů a aktivovat tak T buňky k polarizaci Th2 imunitní odpovědi. BES napomáhají odstranit nežádoucí menší rozpustný materiál pomocí pinocytózy. Exprimují také různé adhezivní molekuly, díky kterým jsou schopné zprostředkovat adhezi imunitní buněk a jejich interakci s hepatocyty (Knolle & Limmer, 2003; Warren *et al.*, 2006).

2.2.2 Kupfferovy buňky

Kupfferovy buňky (KB) jsou tkáňové makrofágy nacházející se v lumenu jaterních sinusoid jako buňky adherované na endotel. KB exprimují řadu receptorů. Fc receptory, scavenger (uklízeční), Toll-like a také množství receptorů pro cytokiny a růstové faktory. Jsou velmi aktivní při pohlcování toxinů a vychytávání a fagocytóze cizorodých látek, které se do sinusoid dostanou převážně z trávicího traktu, a antigen poté prezentují na svém povrchu. Mohou také projít do Disseho prostoru a fagocytovat apoptický hepatocyt.

Jako makrofágy mohou být KB aktivovány na klasicky aktivované makrofágy, které se pak účastní zánětlivé odpovědi (např. proti bakteriím), nebo na alternativně aktivované makrofágy. Alternativně jsou makrofágy aktivovány působením cytokinů IL-4, IL-13, stimulací imunokomplexy přes Toll-like receptory nebo vystavením protizánětlivým stimulům (Reyes & Terrazas, 2007). Podílejí se na Th2 imunitní odpovědi uplatňující se při boji s infekcemi způsobenými helminty, kdy pomocí produkce cytokinu IL-10 regulují imunitní odpověď hostitele, a tím i imunopatologii. K patogenezi naopak přispívají tím, že pomocí povrchového proteinu Fizz-1 a produkcí TGF- β stimulují hvězdicovité jaterní buňky k transdiferenciaci na myofibroblasty (Liu *et al.*, 2004) produkující kolagen a další složky ECM. IL-4 a IL-13 indukují vychytávání L-argininu z extracelulárního prostoru, který je v buňce degradován, což vede k produkci prolinu, složky

kolagenu (Wynn *et al.*, 2004). Ve schistosomóze se KB uplatňují při boji proti uvíznutým vajíčkům v jaterní sinusoidě, a to indukcí tvorby granulomů a fibrózy.

2.2.3 Hvězdicovité jaterní buňky

Hvězdicovité jaterní buňky (HJB) jsou hlavním zdrojem kolagenu a ECM při schistosomóze (Booth *et al.*, 2004). Někdy jsou označovány také jako stelátní (z angl. hepatic stellate cell) nebo Itovy buňky. Nachází se v subendotelovém Disseho prostoru. Jde o speciální buňky obsahující kontraktilní proteiny, které mohou být aktivovány endotelinem a podílí se na kontrakci sinusoidy a tím regulaci krevního toku játry (Reynaert *et al.*, 2002). V klidovém stadiu skladují HJB vitamín A a tuk (Blomhoff & Wake, 1991; Friedman, 2003). Při zaznamenání poškození okolní tkáně ztrácejí HJB tukové kapénky a schopnost skladovat vitamín A, prolifерují, cytokin IL-13 indukuje HJB k transdiferenciaci na myofibroblasty (Friedman, 2000) a k produkci růstového faktoru pojivové tkáně (connective tissue growth factor), což stimuluje kolagenní produkci. Aktivované HJB exprimují také desmin a leptin. Leptin zvyšuje schopnost buněk prouduvat kolagen (Tang *et al.*, 2002). Disseho prostor je „ucpán“ hromadící se ECM, to zamezuje přísunu rozpuštěných látek k hepatocytům (Friedman, 2003). Buňky v těsné blízkosti vajíčka jsou pod antifibrotickým vlivem vajíčka způsobeným produkcí SEA, a tak dochází k fibrotickým změnám uvnitř granulomu až po smrti miracidia. Aktivované myofibroblasty produkují kolagen I, III, IV, laminin a vlákna aktinu (Andrade *et al.*, 1999; Singh *et al.*, 2004). HJB jsou zřejmě hlavním zdrojem jaterního kolagenu s hlavní rolí při parazitem indukované fibróze (Anthony *et al.*, 2010) a remodelaci tkáně (Booth *et al.*, 2004).

Aktivované HJB také exprimují membránové proteiny účastnící se prezentace antigenu (Vinas *et al.*, 2003), např. exprimují membránové receptory IgG a po navázání IgG stimuluji proliferaci a diferenciaci dalších HJB (Shen *et al.*, 2005).

3 Imunitní odpověď organismu při schistosomóze

Reakce organismu na napadení motolicemi rodu *Schistosoma* probíhá z imunologického hlediska ve dvou jasněji odlišitelných fázích, akutní a chronické, a uplatňují se zde hlavně dva typy imunitních odpovědí, a to částečně antagonistické Th1 a Th2 nazvané podle přítomných subpopulací pomocných T buněk. Níže se zmíníme také o další subpopulaci T buněk, tzv. Treg, které při schistosomóze přispívají k regulaci granulomatózní odpovědi.

3.1 Th2 typ imunitní odpovědi

Jedná se o typ imunitní reakce, která je využívána pro boj s extracelulárními parazity a při které dochází díky spolupráci s B-lymfocyty k protilátkové odpovědi. Klíčové jsou efektorové Th2 buňky. SEA jsou vycitány lidskými dendritickými buňkami (dendritic cell, DC) pomocí C-lektinů (van Liempt *et al.*, 2007) a prezentovány na MHC II (major histocompatibility complex) na povrchu DC v lymfatických uzlinách nezralým prekurzorovým T buňkám. Za přítomnosti dalších adhezivních molekul, kostimulačních proteinů, interleukinu 4 a interleukinu 2 (IL-4 a IL-2) a TCR (T buněčný receptor rozpoznávající antigenní peptidy navázané na MHC) dochází ke změně v efektorovou Th2 buňku, a dále k jejímu dělení. Zralé efektorové Th2 lymfocyty pak dodávají potřebné signály B-buňkám prostřednictvím sekretovaných (IL-4, IL-5, IL-6) nebo membránově vázaných (CD40L) cytokinů, a stimulují tím vznik klonů B-lymfocytů vázajících se na danou antigenní strukturu i dalších antigen prezentujících buněk (antigen presenting cell, APC). B-buňky se po setkání s antigenem diferencují v plazmatické buňky produkující množství solubilních (IgA, IgE, IgG) a povrchových (IgD a IgM) protilátek (imunoglobulinů). Ty slouží k opsonizaci (pouze v případě solubilních) a neutralizaci patogena a aktivují komplement. (Schramm & Haas, 2010)

U infikovaných myší s Th2 polarizovanou odpovědí docházelo k rozvoji velkých granulomů bohatých na eozinofily (Hoffmann *et al.*, 2001). Charakteristicky dochází také k fibrogenzi s masivní pozitivní regulací prekurzorů kolagenu (prokolagenů) a ke zvýšení exprese IL-13 (Hoffmann *et al.*, 2001; Sandler *et al.*, 2003). Výsledkem signalizace Th2 cytokinů IL-4, IL-13 a IL-21 jsou alternativně aktivované makrofágy (Sandler *et al.*, 2003; Burke *et al.*, 2009). Alternativně aktivované makrofágy (aktivované za přítomnosti Th2 cytokinů IL-4 a IL-13) na rozdíl od klasicky aktivovaných (aktivované Th1 buňkami) postrádají schopnost prezentace antigenu a produkce NO (Edwards *et al.*, 2006), zato podporují fibrogenzi z fibroblastů (Song *et al.*, 2000). Mají také inhibiční účinek na proliferaci T lymfocytů (Schebesch *et al.*, 1997). Jejich funkcí je tedy hojení, nikoliv zabíjení patogenů.

3.2 Chronická schistosomóza

Při přílivu prvních vajíček do jater se imunitní odpověď „přepne“ z Th1 odpovědi na Th2 odpověď, pro kterou je typická zvýšená exprese cytokinů IL-4, IL-5, IL-10 a IL-13 (Pearce *et al.*, 1991; Oswald *et al.*, 2001; Bartley *et al.*, 2006). Kolem 8. týdne po vstupu schistosom do hostitele

Th2 odpověď vrcholí a následně je utlumována (Pearce *et al.*, 1991; Wynn *et al.*, 2004). V chronické fázi choroby dochází ke tvorbě granulomů a rozvoji fibrózy v jaterní tkáni.

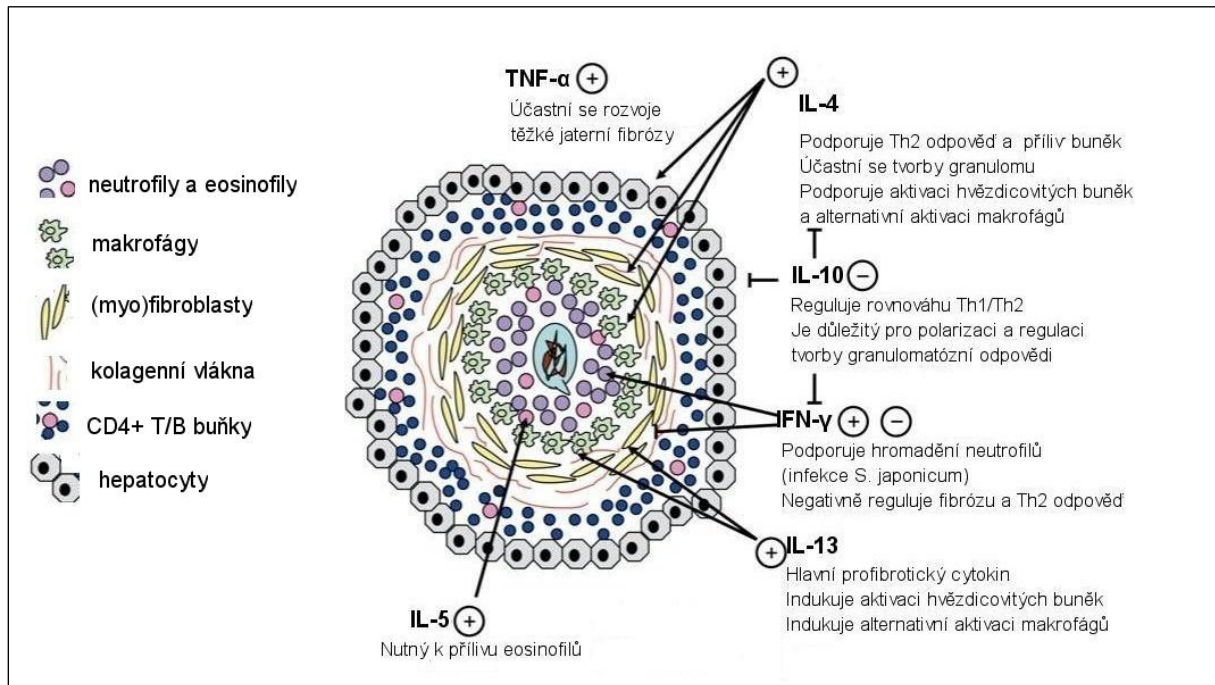
Cytokin IL-10 hraje významnou roli při přechodu z Th1 odpovědi na Th2 odpověď a brání rozvoji vážnější patologie. V časných stádiích granulomatózní odpovědi potlačuje IL-10 produkci prozánětlivých Th1 cytokinů, jako jsou IFN- γ , IL-2, IL-3, TNF- α (Hesse *et al.*, 2004; Wynn *et al.*, 2004), a to pravděpodobně regulací exprese IL-12/IL-2R, což dále zmírňuje expresi IFN- γ přispívající ke tvorbě granulomů (Rezende *et al.*, 1997). IL-10 je podstatný také pro regulaci Th2 odpovědi (Hoffmann *et al.*, 2000; Sadler *et al.*, 2003).

IL-4 řídí rozvoj granulomatózní odpovědi (Fallon *et al.*, 2000), je zodpovědný za velikost granulomů, indukuje proliferaci Th2 lymfocytů produkujících cytokiny a je důležitý pro iniciaci produkce IL-5 a IL-13 buňkami asociujícími s granulomy (Fallon *et al.*, 2000; Sugimoto *et al.*, 2005). Samotný IL-4 se na rozvoji fibrózy podílí pouze tím, že zvyšuje efekt IL-13, který má naopak ve fibrogenezi důležitou roli. Společně však mají IL-4 a IL-13 vliv na proliferaci hvězdicovitých buněk produkujících kolagen (Sugimoto *et al.*, 2005).

IL-5 je potřebný pro příliv eozinofilů, které jsou hlavním zdrojem Th2 cytokinů v granulomu, včetně IL-13, tzn. IL-5 nepřímo přispívá k polarizaci imunitní odpovědi (Rumbley *et al.*, 1999; Reiman *et al.*, 2006) i fibrogenezi. Exprese IL-5 je regulovaná IL-2 (Cheever *et al.*, 1993).

Rozvoj Th2 odpovědi po usazení vajíček v játrech indukuje také zvýšení počtu alternativně aktivovaných makrofágů v granulomech (Gordon, 2003). Ustanovení Th2 odpovědi bohaté na eozinofily a indukce alternativně aktivovaných makrofágů významně podporují cytokiny IL-4 a IL-13 (Fallon *et al.*, 2000), což jsou hlavní stimuly pro vývoj jaterní fibrózy, které jsou produkovány bazofily vlivem glykoproteinu IPSE/alfa-1 (Schramm *et al.*, 2006). IPSE/alfa-1 spolu s dalšími proteiny produkován vajíčkem. Zároveň dochází k degranulaci bazofilů v okolí vajíčka či vypuštění histaminu (Schramm *et al.*, 2003). Alternativně aktivované makrofágy zřejmě přispívají k fibróze tím, že stimulují Th2 buňky k produkci IL-13, což je cytokin podporující v myofibroblastech syntézu kolagenu a fibrogenezi. U alternativně aktivovaných makrofágů dochází k hydrolýze L-argininu, a to vlivem enzymu arginázy posíleným působením IL-4, IL-10 a IL-13. Hydrolýza vede ke vzniku močoviny a L-ornithinu, který je mimo jiné také prekurzorem kolagenu. Navíc může i povrchová molekula Fizz-1 alternativně aktivovaných makrofágů indukovat aktivaci myofibroblastů z hvězdicovitých buněk (Liu *et al.*, 2004; Wilson *et al.*, 2007; Burke *et al.*, 2009) a zvyšovat expresi svalového aktinu a kolagenu I. Ačkoliv je tvorba granulomů a fibróza hlavními příčinami morbidity a mortality při viscerální schistosomóze, zdá se, že se jedná o proces ochraňující hostitele před ještě větším poškozením a časnější smrtí. Mnohem větší poškození v menším časovém horizontu totiž způsobuje nikoliv Th2 odpověď, ale zánětlivá Th1 odpověď vedoucí k apoptóze (Fallon *et al.*, 2000), které u Th2 odpovědi zabraňuje také povrchová molekula Fizz-1 alternativně aktivovaných makrofágů. Jelikož je vajíčko obaleno materiálem, zamezuje se tak opakovanému vystavování tkáně antigenům uvolňujícím se z vajíček (Henri *et al.*, 2002).

Fibróza je podporovaná cytokiny produkovanými buňkami při Th2 odpovědi, tedy IL-4, IL-5 a IL-13 (Cheever *et al.*, 1994; Reiman *et al.*, 2006). Většina poznatků ohledně schistosomózy pochází z pokusů na zvířecích modelech, především na myších; regulace jaterní fibrózy u lidí ale může být mnohem složitější a zahrnovat širší spektrum mediátorů regulujících rozvoj choroby.



Obr. 3: Hlavní komponenty a cytokiny účastnící se granulomatózní odpovědi proti vajíčkům schistosom v játrech (Burke *et al.*, 2009)

3.3 Regulace imunitní odpovědi hostitelem

Aby bylo zabráněno nadměrné chronické morbiditě a bylo podpořeno přežití hostitele, je potřeba Th1 a Th2 odpověď regulovat.

Při přechodu z Th1 odpovědi na Th2 odpověď s nástupem kladení vajíček hraje roli IL-10. Tlumí aktivitu klasicky aktivovaných makrofágů v Th1 odpovědi (Mosser, 2003) nebo brání nadměrné Th2 odpovědi (Sadler *et al.*, 2003).

Významným regulačním mechanismem jsou také Treg (regulační T buňky). Jde o speciální subpopulaci T buněk, které běžně v organismu potlačují aktivaci autoreaktivních buněk a vznik autoimunitních onemocnění. Při napadení organismu kontrolují rozsah imunitní odpovědi vůči patogenu, v případě schistosomózy regulují rozsah granulofibrotické odpovědi. Imunitní reakce regulují pomocí produkce cytokinů IL-10 a TGF- β (Hesse *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2006). Treg můžeme rozdělit na dvě hlavní skupiny, přirozené (nTreg) a indukovatelné (iTreg).

Přirozené Treg jsou po vývoji v thymu a aktivaci APC atrahovány do místa zánětu na periferiích, kam migrují krevní cestou. Přispívají k regulaci patologie způsobené schistosomami, a to jak potlačením Th1 odpovědi, tak předcházením rozvoje nadměrné Th2 odpovědi během vývoje granulomů a fibrózy (Hesse *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2006).

Indukovatelné Treg se po stimulaci antigenem vyvíjejí mimo thymus v periferních tkáních, v našem případě v lymfatických uzlinách mezenteria, odkud se následně rozšiřují do jater a sleziny (Singh *et al.*, 2005). Nejsilnějšími stimuly pro aktivaci efektorových buněk a atrahování Treg buněk jsou pravděpodobně SEA (soluble egg antigens), tedy molekuly pocházející z parazitů. iTreg zahrnují buňky produkující IL-10, TNF- β a IL-5, ale neprodukují téměř žádné IL-2 a IL-4.

K zachování imunologické stability slouží také množství neimunitních mechanismů, např. signály z Kupfferových buněk či hepatocytů, které komunikují s imunitním systémem a upravují tak rozsah imunitní odpovědi, což vede k udržení imunologické homeostázy.

4 Patologické projevy při chronické schistosomóze

Patologie při schistosomóze je důsledkem uvíznutí vajíček schistosom v játrech a dalších orgánech. Dochází ke granulomatózní odpovědi, následně pak dochází k portální hypertenzi, jaterní fibróze a dalším potížím.

Po několika měsících od nákazy a projevů akutní schistosomózy může docházet k orgánově specifickým projevům onemocnění spojeným s životem červů v portálním systému a kladením vajíček. Tímto začíná chronická fáze choroby.

4.1 Gastrointestinální schistosomóza

Gastrointestinální neboli střevní schistosomóza působená *S. mansoni* a *S. japonicum* se v časně fázi projevuje ztrátou chuti k jídlu, vracející se bolestí v oblasti břicha a lehce zvýšenou teplotou. Při těžších infekcích dochází k silným křečím v břiše, bolestivému vyprazdňování a krvavým průjmům s příměsí hlenu. Tyto příznaky jsou způsobeny granulomatózní odpovědí na vajíčka schistosom ve střevní sliznici, která vede v pozdější fázi k pseudopolypóze, tvorbě vřídků zvaných bilharziomy, a také dochází k lokálnímu krvácení a anémii (Boros, 1989; Friedman *et al.*, 2005). Krvácení v průběhu choroby vedoucí k anémii může být v dospělosti sdruženo se ztrátou vitality a u dětí s růstovými retardacemi a poruchami chování (Gryseels *et al.*, 2006). Právě anémie byla nejčastějším průvodním jevem u nakaženého endemického obyvatelstva (King *et al.*, 2005).

4.2 Jaterní schistosomóza

Vajíčka, která nejsou schopna projít střevní sliznicí do lumenu střeva, mohou být proudem krve zanesena portálním oběhem do tenkých kapilár (sinusoid) jater, kde uvíznou. Rozsah napadení může být různý, od přítomnosti několika málo granulomů rozptýlených v jaterní tkáni až po portální fibrózu s chronickou granulomatózní odpovědí a vážnými obstruktivními cévními lézemi.

Vliv na patogenezi má množství dospělých červů produkujících vajíčka, a to také s přihlédnutím k druhu – *S. japonicum* produkuje 10 x více vajíček denně než *S. mansoni*. Nejspíše ji také ovlivňují i další faktory jako genetické pozadí hostitele nebo přidružené infekce, například hepatitida B a C (Kamal & Khalifa, 2006). Při menším množství červů jsou játra vystavena menšímu počtu vajíček, a tak je možné ustanovit rovnováhu mezi imunitní odpovědí na nově deponovaná vajíčka a resorpcí starších lézí s malou nebo žádnou klinickou manifestací. To se většinou děje v endemických oblastech, kde může být až 90 % všech nakažených pouze s lehkým průběhem choroby (Boros, 1989).

4.2.1 Granulomy

Pokud uvízne vajíčko v jaterní sinusoidě, je brzy opouzdřeno eozinofily, neutrofilly (Burke *et al.*, 2009), a později také fibroblasty a kolagenními vlákny. Dochází ke tvorbě tzv. periovolárního granulomu. Jak granulom roste, dojde k protržení kapiláry a případnému přeskupení okolního jaterního parenchymu, úměrně k tomu dochází k portální hypertenzi.

Přestože jsou procesy následující po uvíznutí vajíčka v kapiláře a tvorbě granulomu příčinou morbidity a v některých případech i smrti hostitele, není v „zájmu“ parazita svého hostitele zničit. Stejně tak hostitelova imunita je řízena tak, aby co nejrychleji zničila patogena, ale zároveň co nejméně poškodila organismus. Dlouhodobá zánětlivá odpověď by obzvláště při množství deponovaných vajíček denně (v řádu stovek) působila velké škody v tkáni vlivem apoptózy. Pro rozvoj granulomatózní odpovědi a přežití hostitele je klíčový správný výběr T buněčné odpovědi. Hlavní část antigenní produkce vajíčka SEA vyvolává CD4+ T buněčnou odpověď, která je převážně Th2 polarizovaná. Současně dochází k produkci cytokinu IL-10, který hraje ústřední roli v regulaci tvorby granulomu a následné fibrózy (Rezende *et al.*, 1997). B-buňky, součást Th2 imunitní odpovědi, jsou pro patologii indukovanou vajíčky schistosom zapotřebí v rané fázi infekce, ne tak již pro tvorbu granulomu v pozdější fázi infekce (Jankovic *et al.*, 1998; Ji *et al.*, 2008).

Granulomatózní odpověď kolem vajíček schistosom můžeme rozdělit do pěti patologických stadií (Burke *et al.*, 2009): slabě reaktivní, exsudativní (výpotkový), exsudativně produktivní, produktivní a involuční stadium.

Ačkoliv by se díky již nepozorovatelným fragmentům kapilár a žlučových kanálků na histologických preparátech mohlo zdát, že se granulomy tvoří v jaterním parenchymu, není tomu tak. První léze se začínají tvořit většinou v jaterní sinusoidě a první poškozenou linií buněk jsou v granulomech bohatě obsažené endotelové buňky. Slabě reaktivní stadium je charakteristické pozvolnou akumulací neutrofilů a eozinofilů okolo čerstvě uvíznutého vajíčka, což vede ke tvorbě neutrofilového abscesu, tedy velkého granulomu s nekrotickým středem, který je typický pro exsudativní (výpotkové) stadium. Proliferaci endotelu a zvýšení produkce VEGF (vascular endothelial growth factor) s rolí v angiogenezi indukují SEA (Freedman & Ottesen, 1988; Loeffler *et al.*, 2002). V cévní proliferaci indukované uvíznutým vajíčkem se uplatňují jak buňky endotelu, tak hvězdicovité jaterní buňky se schopností transformovat se na myofibroblasty důležité při remodelaci cév syntézou ECM (extracelulární matrix) (Baptista & Andrade, 2005). Jak granulomy „dozrávají“ do exsudativně produktivního stadia, začínají se na periferii objevovat makrofágy a epiteloidní buňky a postupně nahrazují oblast s leukocyty. Na periferii se objevují také fibrocyty a tvoří vnější „obal“ kolem makrofágů a epiteloidních buněk. Během produktivního stadia začínají být fibrocyty a kolagenní vlákna nápadnější a lymfocyty, makrofágy, plasmatické buňky a eozinofily tvoří další „obal“ na periferii léze. Fibrocyty a kolagenní vlákna se posléze stanou převládající složkou granulomu, kdežto počet ostatních buněk se snižuje (Hurst *et al.*, 2000). Na periferii granulomu byla naměřena vysoká exprese α -aktinu hladkého svalstva (α -smooth muscle actin, α SMA) (Bartley *et al.*, 2006). Vajíčko začíná během produktivního stadia degenerovat a rozpadat se. Při degeneraci vajíčka jsou granulomy již značně redukovány a mohou vykazovat známý hyalinizace kolagenních vláken (vazivo se mění v bezstrukturní, hyalinní hmotu), vajíčko je typicky rozpadlé a může začít kalcifikovat (Hurst *et al.*, 2000). Kolem později deponovaných vajíček se postupem času tvoří stále menší fibrotické

granulomy, u kterých na periférii převládají makrofágy nad eozinofily. Dochází k destrukci okolí usazeného vajíčka.

Postupná modulace granulomatózní odpovědi cytokinem IL-13 a jeho receptorem ke tvorbě menších granulomů by mohla být považovaná za ochranu hostitele, neboť ačkoliv stále přibývá nově deponovaných vajíček, snižuje se portální tlak vůči nepůvodní jaterní hmotě (Andrade, 2009). Na rozdíl od jaterní tkáně se granulomy v plicích a střešní sliznici tvoří stále stejně velké (Silva *et al.*, 2000). Tyto rozdíly by mohla mít na svědomí účast neuroendokrinního systému jater při infekci. Hvězdicovité jaterní buňky jsou jaterními neurogliemi, které produkují a odpovídají na neuropřenašeče sympatiku, čímž podporují vznik jaterní fibrózy (Oben *et al.*, 2004).

4.2.2 Jaterní portální fibróza

Infekce *S. mansoni* může vést až ke vzniku fibrózy v játrech. Fibróza je reakcí na odumírání nebo poškození hepatocytů vlivem zánětu, obstrukce kapiláry, infekce a toxického působení. Objevuje se, když běžné hojivé procesy již nestačí a začne se hromadit velké množství ECM. Fibróza je při schistosomóze pod imunologickou regulací a vlivem stejných cytokinů, které se podílejí na tvorbě granulomů, např. IL-13 a jeho receptoru na makrofázích (Wynn *et al.*, 2004).

Velkou roli při remodelaci ECM a vaskulárních lézí hrají hvězdicovité jaterní buňky, které jsou jak kontraktálními buňkami, tak regulátory vaskulárního vývoje, neboť exprimuje receptor pro VEGF (Ankoma-Sey *et al.*, 2000), se schopností migrace do napadené oblasti a transformace na myofibroblasty produkující hlavně kolagen či fibronektin. Aktivuje je cytokin IL-13 produkovaný Th2 polarizovanými buňkami (Friedman, 2000).

Při schistosomóze se fibróza projevuje nejdříve jako malá lokální oblast s chronickou infekcí a ukládáním nadbytečného množství ECM v perioulárních granulomech rozestých v portálním systému. Vlivem usazování vajíček, která indukují tvorbu granulomů, dochází také k blokaci malých portálních řečišť: při infekci *S. mansoni* v centrální části jater, u *S. japonicum* hlavně na perifériích (Manzella *et al.*, 2008). To vede ke vzniku kolaterálních větví z větších žil portálního systému (portokavální anastomózy) a odklonění krevního toku z portálního systému rovnou do tělního oběhu. Cévní proliferace se odehrává také v časných perioulárních granulomech (Silva *et al.*, 2006), ale brzy se postupně odklání na periférii, kde tvoří „límeč“ kolem granulomu, zatímco střed granulomu může být avaskulární. Když je narušena rovnováha mezi imunitní odpovědí na nově deponovaná vajíčka a resorpcí starších lézí, začne se nadbytečná ECM hromadit. Při fúzi několika granulomů v pokročilé fázi infekce jsou nově vytvořena malá krevní řečiště nápadná ve tkáni mezi granulomy (Baptista & Andrade, 2005). Navzdory vysoké proliferací aktivite nových kapilár je jich mnoho zničeno s přísunem nových vajíček, které v nich opět uvíznou, a větve portální žíly tak mohou být částečně nebo zcela blokovány. Dochází ke vzniku portální hypertenze a tvorbě dalších kolaterálních větví z větších cév portálního systému.

Pokud je histologicky nalezeno malé množství granulomů ve středně velkých nebo velkých portálních prostorách s rozpoznatelnými fragmenty artérií a žlučových kanálků, poukazuje to na rozvinutou jaterní schistosomózu. Již proběhla destrukce periportálního cévního řečiště, došlo ke zvýšení jaterního portálního tlaku a tvorbě malých, nových cév odstupujících od středně velkých nebo velkých portálních cév. Zvýšení portálního tlaku podporuje přívod jak krve, tak nakladených vajíček, která opět uvíznou v nových kapilárách. Vlivem toho je stále větší oblast zasažena hojivými procesy, tedy periportální fibrózou, která se rozvíjí okolo větví portálních žil. Ve vážných případech způsobuje fibróza hepatosplenomegálii zpočátku beze změn funkce jater. V souvislosti se zahrazením portálních žil může dojít až k hyperplázii a hypertrofii jaterní artérie. (Boros, 1989)

4.3 Komplikace spojené s fibrózou jater

Se vznikem fibrózy (nejen při schistosomóze) souvisí řada sdružených komplikací. Tvorbu edémů v játrech může vést ke tvorbě výpotku v dutině břišní (ascites). V důsledku zvýšení portálního tlaku se tvoří portokavální anastomózy. Ty mohou vajíčka dopravit z portálních žil rovnou do tělního krevního oběhu, přes pravé srdce až do plic, kde mohou uvíznutá vajíčka přispívat ke vzniku embolie. Obstrukce plicních cév může vést až ke vzniku plicní fibrózy, a tím plicní hypertenze. Portální hypertenze je také příčinou vzniku *caput medusae* (viditelně rozšířené podkožních cév v oblasti kolem pupku), hemeroidů nebo jícnových varixů. Jícnové varixy jsou uváděny jako nejvážnější důsledek portální hypertenze, kdy dojde k rozšíření portokaválních spojek a jejich ruptuře v jícnu, která způsobuje gastrointestinální krvácení většinou s fatálním koncem, neboť díky narušené funkci jater již může být snížena syntéza koagulačních faktorů. Z důvodu narušení jaterních funkcí může docházet i k selhání ledvin, neboť nedochází k účinné detoxifikaci. Zasažení sleziny vajíčky vede k jejímu zvětšení, a to také s hrozbou krvácení do dutiny břišní. Zanešení vajíček do dělohy může způsobit neplodnost, v centrální nervové soustavě se pak projevuje meningoencefalitidou, epilepsií, paraplegií či poškozením zraku.

Chronická schistosomóza trvá u nákazy *S. mansoni* 5 až 15 let, zatímco u nákazy *S. japonicum* nastupuje chronická fáze díky většímu počtu vajíček dříve a s větší razancí. Mezi akutní a chronickou fází je při nákaze *S. japonicum* jen malý nebo žádný interval (Gryseels *et al.*, 2006).

Díky vyřazení fagocytárního systému v játrech při ucpání sinusoidy s Kupfferovými buňkami může být závěr chronické schistosomózy navíc komplikován koinfekcemi, např. virem hepatitidy C, virem hepatitidy B (Kamal & Khalifa, 2006).

Závěr

Při nákaze hostitele motolicemi *S. mansoni* a *S. japonicum* působí nejpodstatnější komplikace vajíčka, která jsou nakladena v portální žíle a krevním tokem zanesena do sinusoid jater, kde uvíznou. Vajíčka se po dobu sedmi týdnů od naklazení vyvíjí, dochází ke tvorbě podskořápkových vrstev, a také rýhování a organogenezi embrya.

V sinusoidách jater působí vajíčka jako cizorodý materiál. Kromě antigenů na povrchu skořápky uvolňuje vajíčko z podskořápkové vrstvy také sekrety (SEA), které jsou zřejmě důležité pro průchod vajíčka stěvnou, neboť vyvolávají zánětlivou reakci. Vlivem polarizované Th2 imunitní odpovědi se v játrech kolem vajíček tvoří granulomy, které ochraňují jaterní parenchym před dlouhodobým působením SEA. Zároveň ale blokují sinusoidy, ničí je i okolí a brání průtoku krve. Přesto jde o protektivní reakci organismu, jejímž cílem je chránit jaterní tkáň před sekrečními proteiny, které by působily imunitní reakci vedoucí k rozsáhlé nekróze tkáně.

Z větších cév jsou odkláněna nová kapilární řečiště, která ale mohou být opět ucpana vajíčky a následně tvořícími se granulomy. V pokročilé infekci se tvoří rozsáhlé fibrotické oblasti. V portální žíle se vlivem destrukce kapilár zvyšuje krevní tlak, který je příčinou dalších komplikací.

Schistosomóza je v tropech a subtropích velmi rozšířenou chorobou. Zkoumání jejího průběhu a příčin je důležité pro vývoj léčiv a vakcín či pro její případnou eradikaci. V současné době se pro léčbu používá praziquantel, vůči kterému si však může parazit vyvinout rezistenci. Jsou snahy o vytvoření léku, který by spolu s likvidací samotného parazita také omezoval rozvoj fibrózy.

V diplomové práci bych chtěla navázat na poznatky učiněné při tvorbě bakalářské práce. Předmětem zkoumání bude nosní sliznice vodních ptáků, konkrétně kachen, ve které dospělí červi motolice *Trichobilharzia regenti* žijí, páří se a kladou vajíčka. Miracidia se líhnou přímo ve sliznici, odkud se dostávají do vodního prostředí. K vylíhnutí miracidia ale nedojde vždy. Náplní další práce by tak mohlo být zkoumání možné sekreční aktivity vajíčka, vliv vajíčka na okolní tkáň a mechanismy jejího poškození. Lze předpokládat podobnosti ale i rozdíly ve výsledcích oproti rodu *Schistosoma*, neboť jde o jinou tkáň a parazit se v ní neocitá nedopatřením.

Literatura

- Andrade ZA. (2009). Schistosomiasis and liver fibrosis. *Parasite Immunology* **31**, 656-663.
- Andrade ZA, Guerret S & Fernandes ALM. (1999). Myofibroblasts in schistosomal portal fibrosis of man. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* **94**, 87-93.
- Andrade ZA & Santana TS. (2010). Angiogenesis and schistosomiasis. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* **105**, 436-439.
- Ankoma-Sey V, Wang Y & Dai ZH. (2000). Hypoxic stimulation of vascular endothelial growth factor expression in activated rat hepatic stellate cells. *Hepatology* **31**, 141-148.
- Anthony B, Allen JT, Li YSS & McManus DP. (2010). Hepatic stellate cells and parasite-induced liver fibrosis. *Parasites & Vectors* **3**.
- Asahi H, Hernandez HJ & Stadecker MJ. (1999). A novel 62-kilodalton egg antigen from *Schistosoma mansoni* induces a potent CD4(+) T helper cell response in the C57BL/6 mouse. *Infection and Immunity* **67**, 1729-1735.
- Asahi H, Osman A, Cook RM, LoVerde PT & Stadecker MJ. (2000). *Schistosoma mansoni* phosphoenolpyruvate carboxykinase, a novel egg antigen: Immunological properties of the recombinant protein and identification of a T-cell epitope. *Infection and Immunity* **68**, 3385-3393.
- Ashton PD, Harrop R, Shah B & Wilson RA. (2001). The schistosome egg: development and secretions. *Parasitology* **122**, 329-338.
- Baptista AP & Andrade ZA. (2005). Angiogenesis and schistosomal granuloma formation. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* **100**, 183-185.
- Bartley PB, Ramm GA, Jones MK, Ruddell RG, Li YS & McManus DP. (2006). A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of *Schistosoma japonicum* egg-induced fibrosis. *International Journal for Parasitology* **36**, 993-1001.
- Blomhoff R & Wake K. (1991). Perisinusoidal stellate cells of the liver - important roles in retinol metabolism and fibrosis. *Faseb Journal* **5**, 271-277.
- Bobek L, Rekosh DM, Vankeulen H & Loverde PT. (1986). Characterization of a female-specific cDNA derived from a developmentally regulated messenger RNA in the human blood fluke *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **83**, 5544-5548.
- Booth M, Mwatha JK, Joseph S, Jones FM, Kadzo H, Ireri E, Kazibwe F, Kemijumbi J, Kariuki C, Kimani G, Ouma JH, Kabatereine NB, Vennervald BJ & Dunne DW. (2004). Periportal fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection is associated with low IL-10, low IFN-gamma, high TNF-alpha, or low RANTES, depending on age and gender. *Journal of Immunology* **172**, 1295-1303.
- Boros DL. (1989). Immunopathology of *Schistosoma mansoni* infection. *Clinical Microbiology Reviews* **2**, 250-269.
- Boros DL & Lukacs NW. (1992). The role of egg antigens, cytokines in granuloma-formation in murine Schistosomiasis mansoni. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* **87**, 75-79.

- Burke ML, Jones MK, Gobert GN, Li YS, Ellis MK & McManus DP. (2009). Immunopathogenesis of human schistosomiasis. *Parasite Immunology* **31**, 163-176.
- Cass CL, Johnson JR, Califf LL, Xu T, Hernandez HJ, Stadecker MJ, Yates JR & Williams DL. (2007). Proteomic analysis of *Schistosoma mansoni* egg secretions. *Molecular and Biochemical Parasitology* **155**, 84-93.
- Cheever AW, Williams ME, Wynn TA, Finkelman FD, Seder RA, Cox TM, Hieny S, Caspar P & Sher A. (1994). Anti-IL-4 treatment of *Schistosoma-mansoni* infected mice inhibits development of T-cells and non-B, non-T cells expressing Th2 cytokines while decreasing egg-induced hepatic-fibrosis. *Journal of Immunology* **153**, 753-759.
- Cheever AW, Xu YH, Sher A, Finkelman FD, Cox TM & Macedonia JG. (1993). *Schistosoma-japonicum* infected mice show reduced hepatic fibrosis and eosinophilia and selective inhibition of interleukin-5 secretion by CD4+ cells after treatment with anti-interleukin-2 antibodies. *Infection and Immunity* **61**, 1288-1292.
- Chitsulo L, Engels D, Montresor A & Savioli L. (2000). The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Tropica* **77**, 41-51.
- Connolly MK, Bedrosian AS, Malhotra A, Henning JR, Ibrahim J, Vera V, Cieza-Rubio NE, Hassan BU, Pachter HL, Cohen S, Frey AB & Miller G. (2010). In hepatic fibrosis, liver sinusoidal endothelial cells acquire enhanced immunogenicity. *Journal of Immunology* **185**, 2200-2208.
- Crompton DWT. (1999). How much human helminthiasis is there in the world? *Journal of Parasitology* **85**, 397-403.
- Dean DA & Mangold BL. (1992). Evidence that both normal and immune elimination of *Schistosoma mansoni* take place at the lung stage of migration prior to parasite death. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **47**, 238-248.
- deWalick S, Bexkens ML, van Balkom BWM, Wu YP, Smit CH, Hokke CH, de Groot PG, Heck AJR, Tielens AGM & van Hellemond JJ. (2011). The proteome of the insoluble *Schistosoma mansoni* eggshell skeleton. *International Journal for Parasitology* **41**, 523-532.
- Doenhoff M, Musallam R, Bain J & McGregor A. (1978). Studies on host-parasite relationship in *Schistosoma mansoni* infected mice - immunological dependence of parasite egg excretion. *Immunology* **35**, 771-778.
- Edwards JP, Zhang X, Frauwirth KA & Mosser DM. (2006). Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations. *Journal of Leukocyte Biology* **80**, 1298-1307.
- Everts B, Perona-Wright G, Smits HH, Hokke CH, van der Ham AJ, Fitzsimmons CM, Doenhoff MJ, van der Bosch J, Mohrs K, Haas H, Mohrs M, Yazdanbakhsh M & Schramm G. (2009). Omega-1, a glycoprotein secreted by *Schistosoma mansoni* eggs, drives Th2 responses. *Journal of Experimental Medicine* **206**, 1673-1680.
- Fallon PG, Richardson EJ, McKenzie GJ & McKenzie ANJ. (2000). Schistosome infection of transgenic mice defines distinct and contrasting pathogenic roles for IL-4 and IL-13: is a profibrotic agent. *Journal of Immunology* **164**, 2585-2591.
- Fitzsimmons CM, Schramm G, Jones FM, Chalmers IW, Hoffmann KE, Grevelding CG, Wuhler M, Hokke CH, Haas H, Doenhoff MJ & Dunne DW. (2005). Molecular characterization of

- omega-1: A hepatotoxic ribonuclease from *Schistosoma mansoni* eggs. *Molecular and Biochemical Parasitology* **144**, 123-127.
- Freedman DO & Ottesen EA. (1988). Eggs of *Schistosoma mansoni* stimulate endothelial cell proliferation invitro. *Journal of Infectious Diseases* **158**, 556-562.
- Friedman JF, Kanzaria HK & McGarvey ST. (2005). Human schistosomiasis and anemia: the relationship and potential mechanisms. *Trends in Parasitology* **21**, 386-392.
- Friedman SL. (2000). Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *Journal of Biological Chemistry* **275**, 2247-2250.
- Friedman SL. (2003). Liver fibrosis - from bench to bedside. *Journal of Hepatology* **38**, S38-S53.
- Gordon S. (2003). Alternative activation of macrophages. *Nature Reviews Immunology* **3**, 23-35.
- Gryseels B, Polman K, Clerinx J & Kestens L. (2006). Human schistosomiasis. *Lancet* **368**, 1106-1118.
- Haas W, Haberl B, Schmalfluss G & Khayyal MT. (1994). *Schistosoma haematobium* cercarial host-finding and host recognition differs from that of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* **80**, 345-353.
- Henri S, Chevillard C, Mergani A, Paris P, Gaudart J, Camilla C, Dessein H, Montero F, Elwali N, Saeed OK, Magzoub M & Dessein AJ. (2002). Cytokine regulation of periportal fibrosis in humans infected with *Schistosoma mansoni*: IFN-gamma is associated with protection against fibrosis and TNF-alpha with aggravation of disease. *Journal of Immunology* **169**, 929-936.
- Hesse M, Piccirillo CA, Belkaid Y, Prufer J, Mentink-Kane M, Leusink M, Cheever AW, Shevach EM & Wynn TA. (2004). The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10-producing innate effector and regulatory T cells. *Journal of Immunology* **172**, 3157-3166.
- Hoffmann KF, Cheever AW & Wynn TA. (2000). IL-10 and the dangers of immune polarization: Excessive type 1 and type 2 cytokine responses induce distinct forms of lethal immunopathology in murine schistosomiasis. *Journal of Immunology* **164**, 6406-6416.
- Hoffmann KF, McCarty TC, Segal DH, Chiamonte M, Hesse M, Davis EM, Cheever AW, Meltzer PS, Morse HC & Wynn TA. (2001). Disease fingerprinting with cDNA microarrays reveals distinct gene expression profiles in lethal type-1 and type-2 cytokine-mediated inflammatory reactions. *Faseb Journal* **15**, 2545-+.
- Hurst MH, Willingham AL & Lindberg R. (2000). Tissue responses in experimental *Schistosomiasis japonica* in the pig: A histopathologic study of different stages of single low- or high-dose infections. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **62**, 45-56.
- Jankovic D, Cheever AW, Kullberg MC, Wynn TA, Yap G, Caspar P, Lewis FA, Clynes R, Ravetch JV & Sher A. (1998). CD4+ T cell-mediated granulomatous pathology in schistosomiasis is downregulated by a B cell-dependent mechanism requiring Fc receptor signaling. *Journal of Experimental Medicine* **187**, 619-629.
- Ji F, Liu ZJ, Cao JP, Li N, Zuo JX, Chen Y, Wang XZ & Sun J. (2008). B cell response is required for granuloma formation in the early infection of *Schistosoma japonicum*. *Plos One* **3**.

- Jurberg AD, Goncalves T, Costa TA, de Mattos ACA, Pascarelli BM, de Manso PPA, Ribeiro-Alves M, Pelajo-Machado M, Peralta JM, Coelho PMZ & Lenzi HL. (2009). The embryonic development of *Schistosoma mansoni* eggs: proposal for a new staging system. *Development Genes and Evolution* **219**, 219-234.
- Kamal SM & Khalifa KE. (2006). Immune modulation by helminthic infections: worms and viral infections. *Parasite Immunology* **28**, 483-496.
- Kanse SM, Liang O, Schubert U, Haas H, Preissner KT, Doenhoff MJ & Dennis RD. (2005). Characterisation and partial purification of *Schistosoma mansoni* egg-derived pro-angiogenic factor. *Molecular and Biochemical Parasitology* **144**, 76-85.
- King CH, Dickman K & Tisch DJ. (2005). Reassessment of the cost of chronic helminthic infection: a meta-analysis of disability-related outcomes in endemic schistosomiasis. *Lancet* **365**, 1561-1569.
- Knolle PA & Limmer A. (2003). Control of immune responses by scavenger liver endothelial cells. *Swiss Medical Weekly* **133**, 501-506.
- Liu TJ, Dhanasekaran SM, Jin H, Hu B, Tomlins SA, Chinnaiyan AM & Phan SH. (2004). FIZZ1 stimulation of myofibroblast differentiation. *American Journal of Pathology* **164**, 1315-1326.
- Loeffler DA, Lundy SK, Singh KP, Gerard HC, Hudson AP & Boros DL. (2002). Soluble egg antigens from *Schistosoma mansoni* induce angiogenesis-related processes by up-regulating vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *Journal of Infectious Diseases* **185**, 1650-1656.
- Malarkey DE, Johnson K, Ryan L, Boorman G & Maronpot RR. (2005). New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicologic Pathology* **33**, 27-34.
- Manzella A, Ohtomo K, Monzawa S & Lim JH. (2008). Schistosomiasis of the liver. *Abdominal Imaging* **33**, 144-150.
- Mathieson W, Castro-Borges W & Wilson RA. (2011). The proteasome-ubiquitin pathway in the *Schistosoma mansoni* egg has development- and morphology-specific characteristics. *Molecular and Biochemical Parasitology* **175**, 118-125.
- McKerrow JH & Salter J. (2002). Invasion of skin by *Schistosoma cercariae*. *Trends in Parasitology* **18**, 193-195.
- Meevissen MHJ, Balog CIA, Koeleman CAM, Doenhoff MJ, Schramm G, Haas H, Deelder AM, Wuhrer M & Hokke CH. (2011). Targeted glycoproteomic analysis reveals that kappa-5 is a major, uniquely glycosylated component of *Schistosoma mansoni* egg antigens. *Molecular & Cellular Proteomics* **10**.
- Mosser DM. (2003). The many faces of macrophage activation. *Journal of Leukocyte Biology* **73**, 209-212.
- Mutapi F, Mduluz T & Roddam AW. (2005). Cluster analysis of schistosome-specific antibody responses partitions the population into distinct epidemiological groups. *Immunology Letters* **96**, 231-240.
- Neill PJG, Smith JH, Doughty BL & Kemp M. (1988). The ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* egg. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **39**, 52-65.

- Nevhutalu PA, Salafsky B, Haas W & Conway T. (1993). *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata* - comparison of secreted cercarial eicosanoids. *Journal of Parasitology* **79**, 130-133.
- Nyame AK, Pilcher JB, Tsang VCW & Cummings RD. (1997). Rodents infected with *Schistosoma mansoni* produce cytolytic IgG and IgM antibodies to the Lewis x antigen. *Glycobiology* **7**, 207-215.
- Oben JA, Roskams T, Yang S, Lin H, Sinelli N, Torbenson M, Smedh U, Moran TH, Li Z, Huang J, Thomas SA & Diehl AM. (2004). Hepatic fibrogenesis requires sympathetic neurotransmitters. *Gut* **53**, 438-445.
- Ojopi EPB, Oliveira PSL, Nunes DN, Paquola A, DeMarco R, Gregorio SP, Aires KA, Menck CFM, Leite LCC, Verjovski-Almeida S & Dias-Neto E. (2007). A quantitative view of the transcriptome of *Schistosoma mansoni* adult-worms using SAGE. *Bmc Genomics* **8**, 11.
- Oswald IP, Dozois CM, Barlagne R, Fournout S, Johansen MV & Bogh HO. (2001). Cytokine mRNA expression in pigs infected with *Schistosoma japonicum*. *Parasitology* **122**, 299-307.
- Pearce EJ, Caspar P, Grzych JM, Lewis FA & Sher A. (1991). Down-regulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *Journal of Experimental Medicine* **173**, 159-166.
- Race GJ, Michaels RM, Martin JH, Larsh JE & Matthews JL. (1969). *Schistosoma mansoni* eggs - an electron microscopic study of shell pores and microbarbs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **130**, 990-&.
- Reiman RM, Thompson RW, Feng CG, Hari D, Knight R, Cheever AW, Rosenberg HF & Wynn TA. (2006). Interleukin-5 (IL-5) augments the progression of liver fibrosis by regulating IL-13 activity. *Infection and Immunity* **74**, 1471-1479.
- Reyes JL & Terrazas LI. (2007). The divergent roles of alternatively activated macrophages in helminthic infections. *Parasite Immunology* **29**, 609-619.
- Reynaert H, Thompson MG, Thomas T & Geerts A. (2002). Hepatic stellate cells: role in microcirculation and pathophysiology of portal hypertension. *Gut* **50**, 571-581.
- Rezende SA, SilvaTeixeira DN, Drummond SC & Goes AM. (1997). IL-10 plays a role in the modulation of human granulomatous hypersensitivity against *Schistosoma mansoni* eggs induced by immune complexes. *Scandinavian Journal of Immunology* **46**, 96-102.
- Rheinberg CE, Mone H, Caffrey CR, Imbert-Establet D, Jourdane J & Ruppel A. (1998). *Schistosoma haematobium*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, and *S. rodhaini* in mice: relationship between patterns of lung migration by schistosomula and perfusion recovery of adult worms. *Parasitology Research* **84**, 338-342.
- Robijn MLM, Koeleman CAM, Hokke CH & Deelder AM. (2007). *Schistosoma mansoni* eggs excrete specific free oligosaccharides that are detectable in the urine of the human host. *Molecular and Biochemical Parasitology* **151**, 162-172.
- Rumbley CA, Sugaya H, Zekavat SA, El Refaei M, Perrin PJ & Phillips SM. (1999). Activated eosinophils are the major source of Th2-associated cytokines in the schistosome granuloma. *Journal of Immunology* **162**, 1003-1009.

- Sadler CH, Rutitzky LI, Stadecker MJ & Wilson RA. (2003). IL-10 is crucial for the transition from acute to chronic disease state during infection of mice with *Schistosoma mansoni*. *European Journal of Immunology* **33**, 880-888.
- Salter JP, Lim KC, Hansell E, Hsieh I & McKerrow JH. (2000). Schistosome invasion of human skin and degradation of dermal elastin are mediated by a single serine protease. *Journal of Biological Chemistry* **275**, 38667-38673.
- Sandler NG, Mentink-Kane MM, Cheever AW & Wynn TA. (2003). Global gene expression profiles during acute pathogen-induced pulmonary inflammation reveal divergent roles for Th1 and Th2 responses in tissue repair. *Journal of Immunology* **171**, 3655-3667.
- Schebesch C, Kodelja V, Muller C, Hakij N, Bisson S, Orfanos CE & Goerdts S. (1997). Alternatively activated macrophages actively inhibit proliferation of peripheral blood lymphocytes and CD4(+) T cells in vitro. *Immunology* **92**, 478-486.
- Schramm G, Falcone FH, Gronow A, Haisch K, Mamat U, Doenhoff MJ, Oliveira G, Galle J, Dahinden CA & Haas H. (2003). Molecular characterization of an interleukin-4-inducing factor from *Schistosoma mansoni* eggs. *Journal of Biological Chemistry* **278**, 18384-18392.
- Schramm G, Gronow A, Knobloch J, Wippersteg V, Grevelding CG, Galle J, Fuller H, Stanley RG, Chiodini PL, Haas H & Doenhoff MJ. (2006). IPSE/alpha-1: A major immunogenic component secreted from *Schistosoma mansoni* eggs. *Molecular and Biochemical Parasitology* **147**, 9-19.
- Schramm G & Haas H. (2010). Th2 immune response against *Schistosoma mansoni* infection. *Microbes and Infection* **12**, 881-888.
- Schramm G, Hamilton JV, Balog CIA, Wuhler M, Gronow A, Beckmann S, Wippersteg V, Grevelding CG, Goldmann T, Weber E, Brattig NW, Deelder AM, Dunne DW, Hokke CH, Haas H & Doenhoff MJ. (2009). Molecular characterisation of kappa-5, a major antigenic glycoprotein from *Schistosoma mansoni* eggs. *Molecular and Biochemical Parasitology* **166**, 4-14.
- Schramm G, Mohrs K, Wodrich M, Doenhoff MJ, Pearce EJ, Haas H & Mohrs M. (2007). Cutting edge: IPSE/alpha-1, a glycoprotein from *Schistosoma mansoni* eggs, induces IgE-dependent antigen-independent IL-4 production by murine basophils in vivo. *Journal of Immunology* **178**, 6023-6027.
- Shariati F, Perez-Arellano JL, Carranza C, Lopez-Aban J, Vicente B, Arefi M & Muro A. (2011). Evaluation of the role of angiogenic factors in the pathogenesis of schistosomiasis. *Experimental Parasitology* **128**, 44-49.
- Shen H, Zhang MN, Kaita K, Minuk GY, Rempel J & Gong YW. (2005). Expression of Fc fragment receptors of immunoglobulin G (Fc gamma Rs) in rat hepatic stellate cells. *Digestive Diseases and Sciences* **50**, 181-187.
- Shiff CJ, Ley HE, Kriel RL & Cmelik SHW. (1972). Influence of human skin lipids on cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* **58**, 476-&.
- Silva LM, Fernandes ALM, Barbosa A, Oliveira IR & Andrade ZA. (2000). Significance of schistosomal granuloma modulation. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* **95**, 353-361.

- Silva LM, Ribeiro-dos-Santos R, Soares MBP & Andrade ZA. (2006). Characterization of the vascular changes in schistosomal portal (pipestem) fibrosis of mice. *Acta Tropica* **98**, 34-42.
- Singh KP, Gerard HC, Hudson AP & Boros DL. (2004). Dynamics of collagen, MMP and TIMP gene expression during the granulomatous, fibrotic process induced by *Schistosoma mansoni* eggs. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **98**, 581-593.
- Singh KP, Gerard HC, Hudson AP, Reddy TR & Boros DL. (2005). Retroviral Foxp3 gene transfer ameliorates liver granuloma pathology in *Schistosoma mansoni* infected mice. *Immunology* **114**, 410-417.
- Song EW, Ouyang N, Horbelt M, Antus B, Wang MH & Exton MS. (2000). Influence of alternatively and classically activated macrophages on fibrogenic activities of human fibroblasts. *Cellular Immunology* **204**, 19-28.
- Stadecker MJ & Hernandez HJ. (1998). The immune response and immunopathology in infection with *Schistosoma mansoni*: a key role of major egg antigen Sm-p40. *Parasite Immunology* **20**, 217-221.
- Sugimoto R, Enjoji M, Nakamuta M, Ohta S, Kohjima M, Fukushima M, Kuniyoshi M, Arimura E, Morizono S, Kotoh K & Nawata H. (2005). Effect of IL-4 and IL-13 on collagen production in cultured LI90 human hepatic stellate cells. *Liver International* **25**, 420-428.
- Tang M, Potter JJ & Mezey E. (2002). Leptin enhances the effect of transforming growth factor in increasing type I collagen formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **297**, 906-911.
- Taylor A, Verhagen J, Blaser K, Akdis M & Akdis CA. (2006). Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor-beta: the role of T regulatory cells. *Immunology* **117**, 433-442.
- van Liempt E, van Vliet SJ, Engering A, Vallejo JJG, Bank CMC, Sanchez-Hernandez M, van Kooyk Y & van Die I. (2007). *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens are internalized by human dendritic cells through multiple C-type lectins and suppress TLR-induced dendritic cell activation. *Molecular Immunology* **44**, 2605-2615.
- van Remoortere A, van Dam GJ, Hokke CH, van den Eijnden DH, van Die I & Deelder AM. (2001). Profiles of immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies against defined carbohydrate epitopes in sera of *Schistosoma*-infected individuals determined by surface plasmon resonance. *Infection and Immunity* **69**, 2396-2401.
- Vinas O, Bataller R, Sancho-Bru P, Gines P, Berenguer C, Enrich C, Nicolas JM, Ercilla G, Gallart T, Vives J, Arroyo V & Rodes J. (2003). Human hepatic stellate cells show features of antigen-presenting cells and stimulate lymphocyte proliferation. *Hepatology* **38**, 919-929.
- Warren A, Le Couteur DG, Fraser R, Bowen DG, McCaughan GW & Bertolino P. (2006). T lymphocytes interact with hepatocytes through fenestrations in murine liver sinusoidal endothelial cells. *Hepatology* **44**, 1182-1190.
- Williams DL, Asahi H, Botkin DJ & Stadecker MJ. (2001). Schistosome infection stimulates host CD4(+) T helper cell and B-cell responses against a novel egg antigen, thioredoxin peroxidase. *Infection and Immunity* **69**, 1134-1141.
- Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, Ramalingam TR, Thompson R & Wynn TA. (2007). Immunopathology of schistosomiasis. *Immunology and Cell Biology* **85**, 148-154.

- Wuhrer M, Dennis RD, Doenhoff MJ, Lochnit G & Geyer R. (2000). *Schistosoma mansoni* cercarial glycolipids are dominated by Lewis X and pseudo-Lewis Y structures. *Glycobiology* **10**, 89-101.
- Wynn TA, Thompson RW, Cheever AW & Mentink-Kane MM. (2004). Immunopathogenesis of schistosomiasis. *Immunological Reviews* **201**, 156-167.