

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Alena Revalová**

Imunitná odpoveď proti helmintom prenikajúcich kožou so zameraním na schistosomy

Immune response against skin-penetrating helminths with a focus on schistosomes

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Tomáš Macháček

Konzultant: Mgr. Martin Majer

Praha, 2020

### **Prehlásenie:**

Prehlasujem, že som záverečnú prácu vypracovala samostatne a že som uviedla všetky použité informačné zdroje a literatúru. Táto práca ani jej podstatná časť neboli predložené k získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu

V ..... dňa .....

.....

Podpis autora

### **Pod'akovanie**

Obrovská vd'aka patrí školiteľovi Mgr. Tomášovi Macháčkovi a konzultantovi Mgr. Martinovi Majerovi za ich ochotu a nespočetné rady, no najmä za podporu, keď som to najviac potrebovala.

A labríkom. Robia svet lepším.

## **Abstrakt**

Prekonanie kožnej bariéry stavovcov a uniknutie imunitnej odpovedi je zlomovým okamžikom v životnom cykle mnohých helmintov. Táto bakalárska práca zhrňa aktuálne poznatky o priebehu kožnej imunitnej odpovedi ku schistosomám, ktoré využívajú tento spôsob invázie hostiteľa. Infekcia rýchlo aktivuje mechanizmy vrodenej ako aj adaptívnej imunitnej odpovedi u myší ako aj u ľudí. Napriek odlišnostiam medzi ich imunitným systémom, u oboch dochádza pri infekcii k uplatňovaniu komplementových proteínov, granulocytov a najmä CD4<sup>+</sup> T-lymfocytom, ktoré sa zdajú kľúčové pre potlačanie infekcie. Vo viacerých oblastiach imunitnej odpovedi, akými sú zdroje cytokínov IL-10, IL-4 či v expresii koreceptorov stále panuje neistota a sú potrebné ďalšie experimenty. Získanie komplexného obrazu o imunitnej odpovedi pri kožnej infekcii vrátane stanovenia konkrétneho vplyvu imunomodulačného pôsobenia helminta by výrazne zrýchlilo vývoj vakcín.

**Kľúčové slová:** imunitná odpoveď, koža, lymfatické uzliny, helminti, schistosomy

## **Abstract**

Breaching the vertebrate skin and overcoming the local immunity represents a critical step in the life cycles of many helminths. This bachelor thesis summarized the current knowledge of the skin immune response against schistosomes. Both innate and adaptive immune mechanisms are activated soon after the infection. Despite certain differences between mice and humans, complement, granulocytes and especially CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes are considered as key players in anti-schistosomal immunity of both species. However, several aspects of the host immune response, such as the initial source of cytokine IL-4, IL-10 or expression pattern of certain co-receptors remain unclear and warrant further research. A comprehensive understanding of the host immune response in the skin as well as the respective parasite immune evasion strategies is needed to boost vaccine development.

**Keywords:** immune response, skin, lymph nodes, helminths, schistosomes

## Zoznam skratiek

skratka	vysvetlenie slovensky	vysvetlenie anglicky
Ag	antigén	antigen
APC	antigén prezentujúce bunky	antigen-presenting cells
Arg-1	gén kódujúci arginázu	Arginase-1
DAF	faktor urýchľujúci rozpad	decay accelerating factor
DALY	stratené roky života následkom zdravotného stavu	disability-adjusted life-year
DAMPs	molekulárne vzory asociované s nebezpečím	danger-associated molecular patterns
DC	dendritické bunky	dendritic cells
DC-SIGN	receptor dendritických buniek pre intercelulárnu adhéziu molekulu 3	specific intercellular adhesion molecule-3-grabing non-integrin
DPI	receptor prostaglandínu D <sub>2</sub>	prostaglandin D <sub>2</sub> receptor
Fas	apoptický faktor	apoptosis factor 1
FasL	ligand apoptického faktoru	ligand of apoptosis factor 1
FcεR	Fc epsilon receptor	Fc epsilon receptor
Foxp3 <sup>+</sup>	vidlicový box P3	forkhead box P3
HLA-DR	ľudský leukocytový antigén DR-izotypu	human leucocyte antigen DR-isotype
HSP	proteín teplotného šoku	heat-shock protein
ICAM	intercelulárna adhézna molekula	intercellular adhesion molecule
IFN-γ	interferon-γ	interferon-γ
Ig	imunoglobulín	immunoglobulin
IL	interleukín	interleukin
ILC	prirodzené lymfoidné bunky	innate lymphoid cells
iNOS	indukovateľná syntáza oxidu dusnatého	inducible nitric oxide synthase
KC	keratinocyty	keratinocytes
KO	knockout	knockout
L	larválne štádium	larval stage
LC	Langehansove bunky	Langerhans cells

LeX	Lewis X	Lewis X
LNFP III	lakto-N-fukopentatóza III	lacto-N-fucopentaose III
M1	klasicky aktivované makrofágy	classically activated macrophages
M2	alternatívne aktivované makrofágy	alternatively activated macrophages
MBL	manózu viažúci lektín	mannose-binding lectin
mf	mikrofilárie	microfilariae
MHC	hlavný histokompatibilný komplex	major histocompatibility complex
MIP	makrofágový zápalový proteín	macrophage inflammatory protein
moDC	monocytické DC	monocyte-derived DC
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina	messenger ribonucleic acid
MyD88	myeloidný diferenciačný faktor 88	myeloid differentiation primary response 88
p.i.	po infekci	post infection
PAMPs	molekulárne vzory asociované s patogénmi	pathogen-associated molecular patterns
PD-L	ligand membránového proteínu bunečnej smrti	programmed death ligand
PGD <sub>2</sub>	prostaglandín D <sub>2</sub>	prostaglandin D <sub>2</sub>
PGE <sub>2</sub>	prostaglandín E <sub>2</sub>	prostaglandin E <sub>2</sub>
RA	Oslabené rádiovým žiarením	radiation-attenuated
RELM- $\alpha$	molekula podobná rezistínu $\alpha$	resistin-like molecule $\alpha$
SIGNR	receptor pre špecifickú intercelulárnu adhéznu molekulu 3	specific intercellular adhesion molecule- 3 grabbing non-integrin
sLU	spádové lymfatické uzliny	draining lymph nodes
Sm16	rekombinantný proteín <i>S. mansoni</i> 16-kDa	<i>S. mansoni</i> recombinant protein 16-kDa
Sm28GST	<i>S. mansoni</i> 28-kDa glutatión transferáza	<i>S. mansoni</i> 28-kDa glutathion transferase
Smaf	<i>S. mansoni</i> apoptický faktor	<i>S. mansoni</i> apoptic factor
TLR	receptor podobný génu Toll	Toll-like receptor
TNF- $\alpha$	tumor nekrozový faktor	tumor necrosis factor
T-reg	regulačný T-lymfocyt	regulatory T-lymphocyte
TSLP	tymický stromálny lymfopoetín	thymic stromal lymphopoetin

# Obsah

Úvod.....	1
1. Koža a helminti .....	2
1.1. Kožou prenikajúci helminti .....	2
1.2. Koža.....	5
2. Biológia schistosom so zameraním na inváziu kože .....	6
2.1. Penetrácia.....	6
2.2. Transformácia.....	6
2.3. Migrácia.....	7
3. Vrodená Imunita.....	9
3.1. Myši.....	9
3.1.1. Včasná fáza .....	9
3.1.2. Neskorá fáza .....	10
3.1.3. Chronická fáza.....	12
3.2. Človeka.....	12
3.2.1. Včasná fáza .....	12
3.2.2. Neskorá fáza .....	13
3.2.3. Chronická fáza.....	14
4. Adaptívna imunita .....	15
4.1. Myši.....	15
4.1.1. Včasná fáza .....	15
4.1.2. Neskorá fáza .....	15
4.1.3. Chronická fáza.....	16
4.2. Človeka.....	18
4.2.1. Včasná fáza .....	18
4.2.2. Neskorá fáza .....	18
4.2.3. Chronická fáza.....	18
5. Opakovaná infekcia.....	20
5.1. Včasná fáza.....	20
5.2. Neskorá fáza .....	20
5.3. Chronická fáza .....	22
6. Únik pred imunitnou odpoveďou .....	24
6.1. Vrodenou .....	24
6.2. Adaptívnu .....	25
Záver.....	27
Literatúra .....	28

## Úvod

Koža stavovcov neslúži len ako významná mechanická bariéra pred patogénmi, ale zohráva úlohu aj pri mechanizmoch vrodenej a adaptívnej imunitnej odpovedi. Stratégia helmintov, ktorí sa dostávajú do svojich hostiteľov cez kožu, si vyžaduje nie len prekonanie tejto mechanickej bariéry, ale aj schopnosť uniknúť imunitnému systému hostiteľa. Prienik kožou, poškodenie buniek a prítomnosť cudzorodých antigénov sú impulzom vyvolávajúcim spočiatku vrodenu a následne adaptívnu imunitnú odpoveď. Ak chcú kožou prenikajúci helminti uniknúť z kože a pokračovať v ďalšom vývoji, musia sa popasovať s týmito nástrahami.

Odlíšne životné stratégie helmintov umožňujú úspešné infikovanie širokého spektra hostiteľov vrátane človeka. Hodnoty DALY (z angl. disability-adjusted life year) jasne hovoria o vplyve kožou prenikajúcich helmintov na život ľudí (pozri tabuľku 1, str. 4). Výskum imunitnej odpovede v koži, ako vstupnej brány rady helmintov, je jedným z možných smerov vývoja vakcín, ktorý by výrazne uľahčil boj s helmintárnymi nákazami. Práve kožné štádiá helmintov prenikajúcich kožou - schistosom, filárií a mechovcov - sa javia ako potenciálne terče vakcinácie, čím sa na piedestál dostáva práve porozumenie kožnej imunitnej odpovede.

Náročnosť porozumenia priebehu týchto infekcií nespočíva len v *etických* pravidlách, ktoré nedovoľujú ľudské experimenty, ale je to spojené aj s častým výskytom re-infekcií v endemických oblastiach. Opakované nákazy komplikujú možnosť skúmať priebeh prvotných infekcií a okrem toho sa zdá, že patológiami trpia častejšie cestovatelia než samotné obyvateľstvo. Nakoľko vzťah helmint-človek podnietil koevolučný vznik určitej miery rezistencie u populácie v endemických oblastiach a nakoľko je to výsledkom prenosu získanej imunity z rodiča na potomstvo zatiaľ nie je známe. *Netreba* zabúdať ani na koinfekcie s inými patogénmi, ktoré taktiež ovplyvňujú imunitnú odpoveď hostiteľa. Práve tým však vyniká zmysel a dôležitosť experimentálneho testovania infekcií helmintov na laboratórnych zvieratách.

Cieľom tejto rešerše je poskytnúť ucelený prehľad o priebehu imunitnej odpovede u definitívneho hostiteľa pri infekcii schistosomami, čo zahŕňa efektorové mechanizmy hostiteľa ako aj imunomodulačný vplyv parazita. Rešerš sa zameriava na výsledky získané z myšieho modelu a zároveň zahŕňa obmedzené množstvo poznatkov získaných *ex vivo* stimuláciami ľudskej kože či *in vitro* experimentov ľudských bunčných kultúr.

# 1. Koža a helminti

Rada helmintov využíva perkutánnu cestu pre inváziu hostiteľa. Tabuľka 1 (pozri str.4.) predstavuje najčastejších helmintov prenikajúcich ľudskou kožou a ich charakteristiky významné z pohľadu štúdia imunitnej odpovede v koži. Kým pre *Ancylostoma duodenale* a *Strongyloides stercoralis* je perkutánná invázia hostiteľa len jednou z možností ako infikovať hostiteľa, schistosomy a filárie sú na penetrácii kože závislé, keďže koža stavovcov je prostredím nevyhnutným pre priebeh ich životného cyklu. Táto kapitola stručne predstavuje tri väčšie skupiny ľudskou kožou prenikajúcich helmintov – filárií, mechovcov a schistosom vo vzťahu ku kožným prejavom u ľudí.

## 1.1. Kožou prenikajúci helminti

Filárie (Nematoda: Onchocercidae) sa na prvý pohľad odlišujú využívaním vektora na šírenie larválnych štádií. L3 larvy prenikajú do hostiteľa cez ranku vytvorenú saním vektora, vyvíjajú sa do dospelcov a produkujú pre vektora infekčné štádiá – mikrofilárie (mf). Mf migrujú odlišnými tkanivami, čo sa prejavuje aj na odlišných patologických prejavoch. Kým pri lymfatických filariózach, spôsobených parazitmi *Wuchereria bancrofti* a *Brugia malayi*, je hypertrofia kože až druhotným efektom lymfedému, v podkoží či v dermis žijúce *Onchocerca volvulus*, *Loa loa* a *Mansonella streptocerca* výraznejšie zasahujú do kožného imunitného systému človeka.

Reakciou imunitného systému hostiteľa vznikajú okolo dospelcov *O. volvulus* podkožné noduly – onchocerkomy – a práve tie dospelci využívajú na množenie. Kožné prejavy chronickej fáze, akými sú strata elasticity, depigmentácia či lichenizácia (praskanie kože), nevyvolávajú dospelci, ale práve produkované mf. Pokiaľ nie sú nasaté vektorom odumierajú a z poškodených tiel sa uvoľňujú ich endosymbiotické baktérie rodu *Wolbachia* (Brattig *et al.*, 2004). Molekulárne vzory asociované s patogénmi (PAMPs z angl. pathogen-associated molecular patterns) wolbachii sú rozoznávané bunkami vrodenej imunity a reagujú produkciou pro-zápalových cytokínov (Brattig *et al.*, 2000). Hoci sa za patogénny agens pri infekciách filáriami považujú mf, k aktivácii imunitnej odpovede vedúcej k poškodeniu tkaniva počas chronických infekcií *O. volvulus* dochádza predovšetkým reakciou na zanesené baktérie.

Pri infekcii *L. loa* sú kožné prejavy dôsledkom dospelcov v podkoží. Parazit nemá symbiotické wolbachie a mf sú uvoľňované do krvi, z čoho vyplývajú len ojedinelé kožné príznaky. Dospelci migrujú podkožím a pri spomalení vyvolávajú imunitnú odpoveď prejavujúcu sa bolestivým opuchom okolo parazita, tzv. Kalabarským opuchom. Infikovať človeka môžu aj



ďalšie filárie vrátane *Mansonella* spp., ktoré len zriedka vyvolávajú lokálnu dermatitídu či opuch napriek tomu, že dospelci aj mf sa nachádzajú v podkoží (Garcia, 2016). Ojedinele sa vyskytnú aj pacienti s klinickými príznakmi vyvolanými zvieracími parazitmi *Dirofilaria* spp., ktoré spôsobujú podkožné noduly (Khurana *et al.*, 2010; Yaranal *et al.*, 2015). Nie je zrejmé, aké signály larvy filárií využívajú pri migrácii a len málo sa vie o ich receptoroch. Hoci podľa Kassis *et al.* (2014) dokážu reagovať na prítomnosť buniek, nezdá sa, že by reagovali na vylučované chemokíny. Konkrétny mechanizmus orientácie zatiaľ nie je známy. Treba však brať v úvahu aj pôsobenie vylučovaných imunomodulačných látok vektorov, zhrnutých v práci Cupp *et Cupp* (1997), medzi ktorými sú aj apyrázy potláčajúce zápalovú reakciu, čo by mohlo napomáhať aj samotným filáriám v imunitnom úteku. Okrem toho, že vektori šíria larválne štádiá parazitov a modulujú imunitnú odpoveď, mechanickým poškodením kože hostiteľa, umožňujú prienik patogénov.

Larvy mechovcov (Nematoda: Ancylostomatidae) aktívne vyhľadávajú svojich hostiteľov a penetrujú kožou za pomoci hydrolytických enzýmov (Brown *et al.*, 1999). Filariformné L3 larvy mechovcov aktívne v pôde vyhľadávajú definitívneho hostiteľa, prenikajú do kože a často migrujú pozdĺž vlasových folikulov či potných žliaz (Vetter and Van der Linden, 1977). *A. duodenale* a *N. americanus* úspešne prenikajú ľudskou kožou do krvných alebo lymfatických ciev, migrujú hostiteľom a usádzajú sa v tenkom čreve. Penetrácia do kože môže vyvolať zápal prejavujúci sa začervenaním, svrbením či dermatitídou avšak, tieto príznaky nie sú pravidlom (Garcia, 2016). Kožné patológie v podobe podkožných lariev, tzv. *larva migrans cutanea*, spravidla sprevádzajú infekcie zvieracími rodmi, kedy imunitný systém človeka zastaví migrujúce zoonotické L3 larvy pred preniknutím bazálnej membrány (Reichert *et al.*, 2018). *Larva migrans* a s ňou spojené bolestivé svrbenie sa môžu prejaviť až niekoľko týždňov po infekcii (p.i.) (Nevoralová, 2006).

Biológia zvieracích ako aj ľudských zástupcov schistosom (Trematoda: Schistosomatidae) s ohľadom na kožu je veľmi podobná a je podrobne prebratá v kap. 2. Podobne ako u mechovcov, výrazné kožné prejavy sa spájajú najmä so zoonotickými zástupcami – v Európe najmä vtáčimi *T. szidati*, *T. regenti* – ktoré nie sú schopné unikať imunitnému systému človeka, usadiť sa a dospieť. Penetrácia vtáčimi schistosomami vyvoláva alergickú reakciu, ktorá sa pri opakovaných expozíciách prejavuje rýchlym nástupom pro-zápalovej odpovede, vedie k rýchlemu usmrteniu parazita (Kouřilová *et al.*, 2004) a k výraznej dermatitíde (Macháček *et al.*, 2018). Dermatitídu, aj keď menej často, môžu spôsobiť aj ľudské schistosomy (Langenberg *et al.*, 2020).

**Tabuľka 1.** Prehľad najčastejších kožou prenikajúcich helmintov spôsobujúci kožné patológie u ľudí

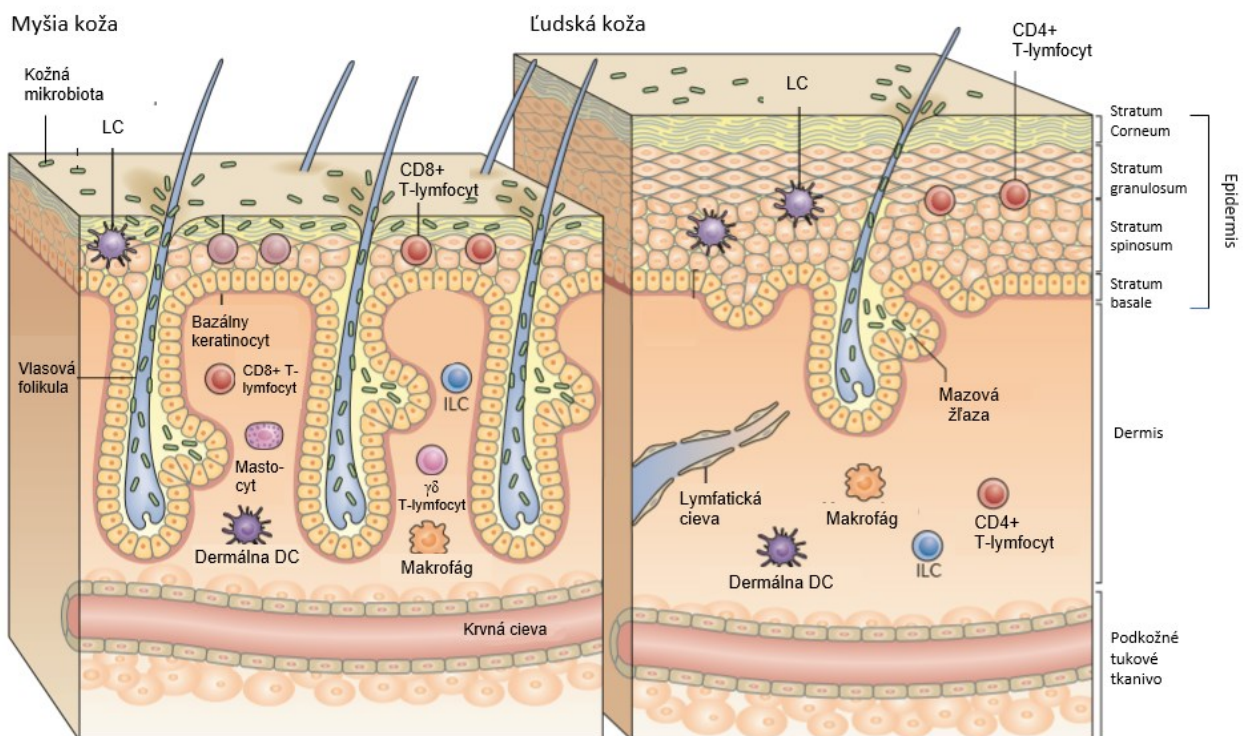
parazit	kožné štádium	spôsob prieniku do kože	Vektor/medzihostiteľ	kožné prejavy	DALY
Schistosomy					1,76 mil
<i>Schistosoma</i> spp	cerkárie, schistosomuly	aktívna penetrácia	ulitník	cerkariálna dermatitída	
<i>Trichobilharzia</i> spp..	cerkárie, schistosomuly	aktívna penetrácia	ulitník	cerkariálna dermatitída	
Filárie					3.3 mil
<i>Brugia malayi</i>	L3	migrácia rankou	komár	hypertrofia kože	
<i>Dirofilaria</i> spp.	L3	migrácia rankou	komár	podkožné noduly	
<i>Loa loa</i>	L3, dospelci	zanesené na dermis	ovád	Kalabarský opuch	
<i>Mansonella streptocerca</i>	L3, dospelci	migrácia rankou	pakomárik	dermatitída	
<i>Onchocerca volvulus</i>	L3, dospelci, mf	zanesené na dermis	muchnička	noduly, papierová koža	
<i>Wuchereria bancrofti</i>	L3	migrácia rankou	komár	hypertofia kože	
Mechovci					1,83 mil
<i>Ancylostoma duodenale</i>	filariformné larvy (L3)	aktívna penetrácia		dermatitída, svrbenie	
<i>Necator americanus</i>	filariformné larvy (L3)	aktívna penetrácia		dermatitída, svrbenie	
<i>A. braziliense</i>	filariformné larvy (L3)	aktívna penetrácia		larva migrans	
<i>A. caninum</i>	filariformné larvy (L3)	aktívna penetrácia		larva migrans	
<i>U. stenocephala</i>	filariformné larvy (L3)	aktívna penetrácia		larva migrans	
<i>Strongyloides stercoralis</i>	filariformné larvy (L3)	aktívna penetrácia		dermatitída, svrbenie	

farebné značenie: človek ako špecifický hostiteľ, človek náhodným hostiteľom; mf – mikrofilárie; L3 – 3. laválne štádium

hodnoty DALY zahŕňajú špecificky ľudských parazitov prevzaté z review (Kwarteng *et al.*, 2016; McSorley and Maizels, 2012), kožné prejavy podľa monografie (Garcia, 2016)

## 1.2. Koža

Aj keď bunecné zložky kožného imunitného systému (pozri obrázok 1.) sú spoločne s humorálnymi zložkami pripravené bojovať s preniknutými patogénmi, nedokážu zabrániť usídleniu špecifických, ľudskou kožou prenikajúcich helmintov. Papierová koža pri infekcii *O. volvulus*, dermatitída pri schistosomách či larvy migrans z mechovcov sú dokonca skôr výsledkom agresívnej imunitnej odpovede, než samotným pôsobením parazita. Naopak, helminti svojimi imunomodulačnými schopnosťami, regulujú rovnováhu medzi Th1 a Th2 odpoveďou, ako zhrňajú Fallon *et* Mangan (2007). Častým sprievodným javom kožných infekcií je svrbenie s čím sa spája zvýšené riziko zanesenia baktérií, čo je ďalšia komplikácia pre imunitný systém hostiteľa. Sofistikovane rozmiestnené imunitné bunky v koži reagujú na cudzorodé štruktúry, narúša sa homeostáza hostiteľského organizmu, narúša sa pokojné spolunažívanie hostiteľa s kožným mikrobiota a aj vďaka alarmujúcim signálom narušených epitelialných buniek sa spúšťa imunitná odpoveď.



**Obrázok 1.** Porovnanie myšej a ľudskej kože s dôrazom na rezidentné imunitné bunky

LC – Langerhansove bunky; ILC – prirodzené lymfoidné bunky; prevzaté a upravené z Pasparakis *et al.* (2014)

## 2. Biológia schistosom so zameraním na inváziu kože

### 2.1. Penetrácia

Cerkárie schistosom uvoľnené z medzihostiteľských ulitníkov aktívne vyhľadávajú definitívnych hostiteľov, stavovcov. Aby šetrili svoje glykogénne zásoby (Lawson and Wilson, 1980), plávajú až po zaznamenaní určitých stimulov, akými môže byť dopadnutie tieňa (Haas *et al.*, 1994), mastné kyseliny, L-arginín (Haerberlein and Haas, 2008) alebo až samotný fyzický kontakt so substrátom (Haas *et al.*, 1987). Po nájdení vhodného hostiteľa sa prichytávajú ku koži ústnou prísavkou a acetabulom (Gordon and Griffiths, 1951) ale pre zotrvanie na pokožke vyžadujú ďalšie signály. Tými môže byť opäť prítomnosť L-arginínu (Granzer and Haas, 1986), cholesterolu či ceramidov (Haas *et al.*, 2008) ako aj vyššia teplota substrátu (Haas *et al.*, 1994). Po nájdení a rozoznaní hostiteľa nastáva ďalší kľúčový moment pre cercárie a tým je invázia hostiteľa. Penetráciu cercárii podnecuje prítomnosť mastných kyselín (Shiff *et al.*, 1972). Vylučovaním obsahu pre-acetabulárnych žliaz a pohybom chvostíka prenikajú do hostiteľa (Gordon and Griffiths, 1951). Pri tomto procese cercárie menia svoju morfológiu a migrujú hlbšie do krvného či lymfatického obehu.

Penetráciou vhodného hostiteľa schistosomy eliminujú možnosť byť rozoznané a zastavené imunitným systémom hostiteľa. Schistosomy *S. mansoni* a *S. haematobium*, dokážu dokončiť svoj cyklus len v niekoľkých špecifických hostiteľoch od čoho sa odvíjajú ich vysoké nároky na penetračné stimuly. Za dôležitý stimulus sa považujú predovšetkým mastné kyseliny. Tie zohrávajú úlohu aj pri imunitnom úteku parazita (pozri kap. 6.) kde slúžia ako substrát na syntézu metabolitov kyseliny arachidonovej – prostaglandínu E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), prostaglandínu D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>).

### 2.2. Transformácia

Morfologická premena larválnych štádií umožňuje migráciu hostiteľom ako aj únik pred imunitným systémom. Voľne plávajúce cercárie po penetrácii absolvujú celú radu morfologických, fyziologických a metabolických zmien, ktorými sa transformujú na schistosomuly (Stirewalt and Cousin, 1983). Na začiatku strácajú svoj charakteristický chvostík, ktorý im vo vodnom prostredí slúži na pohyb. Howelis *et* Gazzinelli (1974) predpokladali oddelenie chvostíka za výsledok mechanického poškodenia cercárii pri prieniku do tela hostiteľa. Hara *et al.* (1993) pripisujú túto zmenu prítoku Ca<sup>2+</sup> iontov do cercárii pod vplyvom mastných kyselín. Z povrchu telovej časti sa stráca glykokalyx (Stirewalt and Cousin, 1983), ktorý obsahuje mucíny bohaté na fukózu a glukózu (Nanduri *et al.*, 1991). Na čerstvo transformovaných schistosomulách ostane len <0,1-0,5 μm tenká vrstva z pôvodného 1-2 μm

glykokalyxu (Samuelson and Caulfield, 1985) a jednoduchá jednovrstevná membrána cercárií sa mení za dvojitú členitú membránu (Stirewalt and Cousin, 1983). Podľa Samuelson *et* Caulfield (1985) je tegument schistosomul kompletne pokrytý novovzniknutou membránou už dve hodiny od počiatku *in vitro* transformácie. Incani *et* McLaren (1984) v koži infikovaných myší zaznamenali dvojitú membránu u väčšiny schistosomul až 6 h p.i. Táto zdanlivo malá odlišnosť, ako jedna z mnohých, poukazuje na dôležitosť kombinácie *in vitro* a *in vivo* experimentov a zároveň na potrebu kritického pohľadu na priebeh experimentov.

Glykokalyx obsahuje množstvo glykolipidov (Weiss *et al.*, 1986) a glykoproteínov (Dalton *et al.*, 1987), ktoré sú rozoznávané imunitným systémom hostiteľa. Keďže k redukcii glykokalyxu dochádza len v telovej časti cercárií (Samuelson and Caulfield, 1985), glykokalyx chvostíka pôsobí ako výrazný zdroj antigénov (Ag). Kým Gordon *et* Griffiths (1951) predpokladali, že všetky chvostíky cercárií sú uvoľňované do vody, Incani *et* McLaren (1984) ukázali prítomnosť chvostíkov v epidermis niekoľko hodín p.i., vďaka čomu sa chvostík stáva ideálnym terčom imunity.

### 2.3. Migrácia

Schistosomulám *S. mansoni* trvá niekoľko dní pokiaľ preniknú kožou myší do krvných alebo lymfatických ciev (Gui *et al.*, 1995). Hoci infekcia cercáriami prebieha v ráde niekoľkých minút (Paveley *et al.*, 2009) a do epidermis dokáže väčšina cercárií úspešne preniknúť už v priebehu 8 h p.i., v oblasti bazálnej membrány dochádza k výraznému spomaleniu penetrácie (zhrnuté v He *et al.* 2005). Bourke *et al.* (2015) sa domnievajú, že je to dôsledok imunitnej odpovede hostiteľa, ktorý bráni schistosomulám v migrácii zvýšeným množstvom keratínu v danej oblasti vďaka zvýšenej proliferácii keratinocytov. Jeremias *et al.* (2015) naopak navrhujú, že schistosomuly počas spomalenia môžu naväzovať hostiteľské molekuly (pozri podkap. 6.1.). Proti sebe tak stoja nie len dve odlišné hypotézy, ale dve bazálne odlišné stratégie – efektorový mechanizmus hostiteľa a únik pred imunitnou odpoveďou.

Penetračné žľazy zaberajú veľkú časť tela cercárií a zohrávajú významnú úlohu v biológii schistosom. Dva páry pre-acetabulárnych žliaz a tri páry post-acetabulárnych spoločne ústia v hlavovej časti (Morris, 1971). Vylučovaním exkrece-sekrecných (ES) produktov z týchto žliaz sa cercárie prichytávajú na hostiteľa a prenikajú kožou. Okrem iného obsahujú aj proteolytické enzýmy (Horizonte, 1966), ktorými štiepia jednotlivé zložky kože vrátane bunčných štruktúr a extracelulárnej matrix (McKerrow *et al.*, 1983). Obsah žliaz sa nenachádza len pred migrujúcim parazitom ale aj okolo tela cercárií, čím proteázy pravdepodobne napomáhajú aj zhadzovaniu glykokalyxu (Fishelson *et al.*, 1992). Antigéne

molekuly v ES produktoch sú rozpoznávané bunkami vrodenej imunity prostredníctvom vzory rozpoznávajúcich receptorov (PRR, z angl. pattern-recognition receptors) (Jenkins *et al.*, 2005) a pôsobia teda ako aktivátory imunitnej odpovede hostiteľa (pozri podkap. [3.1.2.](#)).

ES produkty, podobne ako alergény, vyvolávajú degranuláciu mastocytov, bazofilov a následnú alergickú reakciu. Okrem enzýmov obsahujú aj prostaglandíny, ktorými je iniciované uvoľňovanie IL-4 z mastocytov (Crunkhorn and Willis, 1971). Uvoľňovaný cytokín IL-4 podporuje izotypový prešmyk protilátok IgG na IgE čím sa zosilňuje táto reakcia a vedie k ešte vyššej produkcii histamínu spolu s ďalšími mediátormi (Machado *et al.*, 1996) pri opakovaných infekciách. Imunitný systém hostiteľa reaguje na obsah penetračných žliaz ako na alergény.

Priebeh imunitnej odpovede v koži pri infekcii schistosomami je objektom záujmu vedeckej komunity takmer od polovice minulého storočia. Ťažko povedať, či napriek tomu, alebo práve kvôli tomu, nedošlo ku konsenzu o vhodných časových míľnikoch na vykonávanie experimentov. Na uľahčenie orientácie v časovom slede imunologických udalostí po infekcii (p.i.) schistosomami v koži je v tejto práci použité rozdelenie na včasnú (0 h – 24 h p.i.), neskorú (24 h – 72 h p.i.) a chronickú (72 h a viac p.i.) fázu kožnej imunitnej odpovede. Pri určovaní časových úsekov boli zohľadnené výsledky výskumných prác tak, aby čo najpresnejšie vystihovali charakter imunitnej odpovede v jednotlivých fázach a boli jednotne použité pre vrodenu ako aj adaptívnu imunitnú odpoveď. Ak nie je uvedené inak, výsledky sú z experimentov využívajúcich myši a *S. mansoni*, ktoré sú najčastejšie využívané modelové organizmy pre výskum infekcie schistosomami. Podobná biológia schistosom je predpokladom na možnú aplikáciu získaných poznatkov do určitej miery aj pri *S. haematobium* či *S. japonicum*. Porozumenie komplexity imunitnej odpovedi v koži pri infekciách schistosomami spočíva v pochopení biológie parazita v kombinácii s časopriestorovým sledom imunitných reakcií hostiteľa.

### 3. Vrodená Imunita

Penetrácia cercárií narúša homeostázu kože mechanickým poškodením, zanesením cudzorodých štruktúr mikrobiota ako aj vlastnými cercariálnymi Ag do hostiteľského tkaniva. Zložky kožnej vrodenej imunity definitívneho hostiteľa rýchlo reagujú na prítomnosť larválnych štádií za vzniku akútneho zápalu v mieste infekcie. Prejavuje sa takmer okamžitým zhrubnutím kože, ktoré ustáva začiatkom chronickej fáze (Incani and McLaren, 1984).

#### 3.1. Myši

##### 3.1.1. Včasná fáza

Prvými hostiteľskými bunkami, ktoré prichádzajú do kontaktu s parazitom sú keratinocyty (KC) a Langerhansove bunky (LC, z angl. Langerhans cells) v epidermis. KC rýchlo reagujú syntézou pro-zápalových mediátorov IL-1 $\alpha$  a IL-1 $\beta$ . Bourke *et al.* (2015) preukázali nezávislosť aktivácie KC od mechanického poškodenia a to priamou stimuláciou ES produktami cercárií. Pro-zápalové IL-1 vyvolá rýchly prítok neutrofilov do narušenej epidermis z krvného obehu. Neutrofilily rozoznávajú antigénne molekuly schistosom, naväzujú sa na glycoalyx cercárií (Incani and McLaren, 1984) a pohlcujú aj ES produkty uvoľňované z penetračných žliaz (Paveley *et al.*, 2009). Infekciou *S. mansoni* sú v blízkosti parazita okamžite aktivované LC, ktoré fagocytujú Ag a prezentujú ich na MHC II komplexe (MHC, z angl. major histocompatibility complex). Ich aktivácia sa prejavuje výrazným vetvením a zvyšovaním expresie CD86 (Angeli *et al.*, 2001).

K redukcii počtu schistosomul dochádza od začiatku infekcie prostredníctvom komplementu. Machado *et al.* (1975) *in vitro* preukázali efektívne ničenie schistosomul sprostredkované alternatívnou dráhou aktivácie komplementu a podľa Ouaiissi *et al.* (1980a) je tegument zničený už v priebehu pár hodín. Ouaiissi *et al.* (1980a) inkubovali schistosomuly so sérom z morčiat ako zdrojom komplementu na základe preukázanej vysokej účinnosti práve v experimente Machado *et al.* (1975), kde porovnávali efektivitu komplementu rôznych živočíšnych druhov. Komplementový proteín C3b (Ouaiissi *et al.*, 1980b) sa nedokáže naviazať na novovzniknutú membránu schistosomul, ale viaže sa na zostatkový glykokalyx (Howelis *et al.*, 1974). Napriek množstvu sacharidov na glycoalyxe experiment Lawrence *et al.* (2009) nepreukázali *in vivo* vplyv lektínovej dráhy komplementu na priebeh infekcie. Skúmaniu tejto dráhy aktivácie pri infekciách schistosomami nebol zatiaľ venovaný dostatok pozornosti. Hoci viacerí autori sa venovali úlohe komplementu pri ničení schistosomul u hlodavcov, podľa (Samuelson and Caulfield, 1986) kvantitatívne odlišnosti vo výsledkoch *in vivo* nezhodnocujú reálnu efektivitu tohto efektorového mechanizmu, ale iba dokazujú, že cercárie premenou na schistosomuly

unikajú naväzovaniu komplementu. Funkcie komplementu sú však preukázateľné aj *in vivo*. Na infikovaných myšiach s využitím ľudských frakcií komplementu Santoro *et al.* (1982) preukázali naväzovanie C3 ako aj C4, čo značí aj možnosť klasickej cesty aktivácie komplementu (Tavares *et al.*, 1978), ktorá bude prebratá v kap. 5. o viacnásobných infekciách.

Mediátory uvoľnené z epidermálnych buniek, neutrofilov spolu s komplementom vedú už počas včasnej fáze k aktivácii imunitných efektorových mechanizmov v dermis. Mastocyty sa v malom množstve nachádzajú pod bazálnou membránou a postupne degranulujú (Cook *et al.*, 2011). Ich uvoľnené mediátory narúšajú tesné spoje endoteliálnych aj epiteliálnych buniek (De Benedetto *et al.*, 2015) a mastocyty tak vyvolávajú vazodilatáciu, opuch a diapedézu leukocytov do dermis (Benditt *et al.* Langunoff, 1964 cit. podľa Incani *et al.* McLaren 1984).

### 3.1.2. Neskorá fáza

Z pohľadu histológie je neskorá kožná fáza obdobím migrácie schistosomul dermis (He *et al.*, 2005), z imunologického hľadiska obdobím zmiešaného cytokínového profilu. Výrazné zhrubnutie dermis je spôsobené proliferáciou KC a fibroblastov stimulovaných cez IL-1 (Maas-Szabowski *et al.*, 2000) ako aj proliferáciou a prílivom leukocytov (Bourke *et al.*, 2015). Práve leukocyty dominujú zapálenej dermis a až takmer polovicu z nich tvoria MHC II<sup>+</sup> bunky (Cook *et al.*, 2011). Nejedná sa len o dermálne rezidentné DC (DC, z angl. dendritic cells) a makrofágy, ktoré sú stálou súčasťou dermis, ale aj o monocytické DC (moDC) aktivované zápalom. Ako monocyty sú privolané epidermálnymi bunkami cez tymický stromálny lymfopoetín (TSLP) do dermis, kde diferencujú (Bourke *et al.*, 2015). V dermis tak prichádzajú do kontaktu s Ag schistosom a z mikrobiota, ktoré rozoznávajú prostredníctvom PRR. Produkciou cytokínov definujú lokálne prostredie, ktoré ovplyvňuje ďalší priebeh imunitnej odpovede (Jenkins and Mountford, 2005; Paveley *et al.*, 2011).

Hoci schopnosť rozoznávať PAMPs (z angl. pathogen-associated molecular patterns) a DAMPs (z angl. danger-associated molecular patterns) cez receptor podobný génu Toll (TLR z angl. Toll-like receptor) je vo všeobecnosti spájaná s indukovaním pro-zápalovej odpovede, z makrofágov dochádza len k miernej produkcii IL-12 a k výraznej produkcii IL-10 a IL-6 (Jenkins *et al.*, 2005). Produkcia pro-zápalových cytokínov bunkami vrodenej imunity je zrejme odpoveďou najmä na zanesené baktérie mikrobiota (Paveley *et al.*, 2009), zatiaľ čo produkciu IL-10 stimulujú okrem baktérii (Sanin *et al.*, 2015) aj ES produkty (Sanin and Mountford, 2015). Konkrétne TLR-4 sa účastní dráhy vedúcej k produkcii IL-10 a IL-12 z makrofágov po stimulácii parazitárnymi Ag, pričom sa na signalizácii podieľa myeloidný diferenciálny faktor 88 (MyD88, z angl. myeloid differentiation primary response 88) (Jenkins



*et al.*, 2005). K produkcii IL-6 a čiastočne aj IL-12 dochádza aj prostredníctvom signalizácie cez manózový receptor (MR), ktorý rozoznáva glykány, a viaže predovšetkým ES produkty (Paveley *et al.*, 2011). Makrofágy s pohltými ES produktami schistosom produkujú menej zápalových cytokínov no stávajú sa zdrojom IL-4 (Paveley *et al.*, 2011), ktoré následne inhibuje syntázu oxidu dusnatého (iNOS, z angl. inducible nitric oxide synthase) (Dewals *et al.*, 2010), pričom podľa Sanin *et Mountford* (2015) je za to zodpovedný proteín 16-kDa *S. mansoni* (pozri kap. 6.) a okrem TLR-4 k signalizácii je využívaný aj TLR-3. Na signalizačných kaskádach pri infekcii schistosom sa podieľajú viaceré PRR ale ich vplyv a konkrétne signalizačné dráhy sú stále predmetom skúmania.

Výsledky Paveley *et al.* (2009) preukazujú, že pri stimulácii makrofágov ES produktami skutočne dochádza k inhibícii transkripcie mRNA pre iNOS zatiaľ čo vzrastá množstvo mRNA arginázy. To naznačuje polarizáciu makrofágov k alternatívnej aktivácii (M2) a následne možnému potlačaniu zápalu cez orientáciu odpovede k typu 2. Klasicky aktivované makrofágy (M1) sú *in vitro* schopné ničiť vnútorné štruktúry schistosomul cez NO (McLaren and James, 1985), ktorý pôsobí ako inhibitor mitochondriálnej respirácie cerkárií. Pri transformácii dochádza k premene metabolizmu z aeróbného na anaeróbny, vďaka čomu prestávajú byť cerkárie náchylné k ničeniu prostredníctvom NO (Found *et al.*, 1997). A ani nízka hladina iNOS v infikovanej koži nenasvedčuje uplatňovanie M1 (Ramaswamy *et al.*, 1997). Na udržovanie homeostázy medzi M1 a M2 pôsobia dermálne DC (Hogg *et al.*, 2003a), ktoré taktiež rozoznávajú PAMPs a DAMPs a vo zvýšenej miere transkribujú mRNA pre iNOS, IL-12, IL-6, TNF- $\alpha$  (Paveley *et al.*, 2009), čím zabraňujú M2 polarizácii vyvolanej ES produktami. Aktiváciu dermálnych DC okrem ES produktov (Paveley *et al.*, 2009) stimuluje aj tegument schistosomul (Durães *et al.*, 2009). Zatiaľ čo ES produkty a mikrobiota naviazaním na TLR vyvolávajú prevažne produkciu pro-zápalových mediátorov (Paveley *et al.*, 2009), naviazanie povrchového glykánu lakto-N-fukopentatózy III (LFNPIII) s terminálnym Lewis X (LeX) na TLR-4 vedie k Th2 odpovedi (Durães *et al.*, 2009; Thomas *et al.*, 2003) cez miernu produkciu IL-10 (Paveley *et al.*, 2009). Prítomnosť LeX na viacerých životných štádiách schistosom (Smit *et al.*, 2015) tak môže do značnej miery ovplyvňovať imunitnú odpoveď.

V dermis taktiež narastá počet granulocytov, avšak ich počet nekoreluje s ich efektivitou v potlačaní infekcie. Najpočetnejšie sú opäť neutrofilny (Cook *et al.*, 2011), ktoré sa skôr než na samotnom ničení parazita podieľajú na zvyšovaní efektivity komplementu (Incani and McLaren, 1981) podnecovaním dráhy alternatívnej aktivácie (Camous *et al.*, 2011). Zrejme produkciou eotaxinu aktivované fibroblasty (Miyamasu *et al.*, 1999) privolávajú na miesto

infekcie eozinofily (Hogg *et al.*, 2003a), ktoré sa ale nejavajú ako efektorové bunky pri potlačaní infekcie *S. mansoni*. Nezdá sa, že by redukovali počet schistosomul ani za prítomnosti IL-5 (Swartz *et al.*, 2006), ktoré sa považuje za kľúčové pre diferenciáciu a funkciu eozinofilov (Sher *et al.*, 1990). Eozinofily sú ale významným zdrojom IL-4 (Swartz *et al.*, 2006).

### 3.1.3. Chronická fáza

S preniknutím väčšiny schistosomul do ciev nastáva chronická fáza kožnej imunitnej odpovede, sprevádzaná rapídym úbytkom leukocytov z miesta infekcie (Paveley *et al.*, 2009) a prevažujúcimi proti-zápalovými cytokínmi (Hogg *et al.*, 2003a). Hladina IL-10 dosahuje najvyššie hodnoty a spoločne s IL-4 (Hogg *et al.*, 2003b) vytvára podmienky pre smerovanie kožnej imunitnej odpovede k typu 2. Efektorové mechanizmy vrodenej imunitnej odpovedi ustávajú a hlavnú rolu zohráva adaptívna imunita.

## 3.2. Človeka

Rýchlosť migrácie cercárií a úspešnosť v prenikaní do ciev sú porovnateľné v ľudskej aj myšej koži ako zhrnul He *et al.* (2005) a nemajú tak zásadný vplyv na odlišnosti v priebehu infekcie. Napriek tomu sú pozorovateľné rozdiely v uplatňovaní ako aj v efektívite jednotlivých imunitných efektorových mechanizmov.

### 3.2.1. Včasná fáza

Infekcia *S. mansoni* vyvolá ako aj u myši zápal prejavujúci sa zhrubnutím kože (He *et al.*, 2002). Hoci prítomnosť TLR na ľudských KC (Baker *et al.*, 2003) dáva predpoklad pre rýchlu indukciu pro-zápalovej odpovede, Ramaswamy *et al.* (1995) preukázali len nesignifikantnú produkciu cytokínov IL-1 $\alpha$  a IL-1 $\beta$  po stimulácii KC cercáriami. Táto produkcia negatívne koreluje so syntézou regulačného cytokínu IL-1ra (Ramaswamy *et al.*, 1995) a IL-10 (Ramaswamy *et al.*, 2000). No aj napriek zvýšenej miere syntéze týchto regulačných cytokínov He *et al.* (2002) zaznamenali v epidermis nárast mRNA pre IL-1 a TNF- $\alpha$ . Táto transkripcia IL-1 je zrejme skôr odpoveďou na mikrobiálne PAMPs a DAMPs než na Ag cercárií. Penetrácia vyvolá podobne ako u myši aktiváciu LC (He *et al.*, 2002) ako aj dermálnych DC (Winkel *et al.*, 2018).

Napriek pomerne nízkej hladine pro-zápalových mediátorov dochádza pri infekcii k opuchu a infiltrácii granulocytov. Na miesto infekcie sú priťahované vďaka chemokínom IL-4 a IL-5 uvoľneným z degranulovaných mastocytov a bazofilov. Serotonín a histamín umožňujú samotnú diapedézu leukocytov a vazodilatáciu (Machado *et al.*, 1996). V neutrofiloch a eozinofiloch dochádza už pár minút od stimulácie k produkcii H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a pri kontakte

s komplementom-značenými parazitmi dochádza k ich oxídativnému vzplanutiu, čím uvoľňujú vzniknuté kyslíkové radikály (Kazura *et al.*, 1981).

Komplement z ľudského séra poškodzuje povrch cercárií (Samuelson and Caulfield, 1986) s vyššou efektivitou ako u myší (Machado *et al.*, 1975). Práca Klabunde *et al.* (2000) poukazuje, že sacharidové zložky na povrchu cercárií môžu do istej miery viazať manózu viažúci lektín (MBL z ang. mannose-binding lectin), ale zatiaľ sa nepreukázala účinnosť tejto dráhy komplementu pri infekcii. Za efektívnu dráhu sa považuje alternatívna aktivácia a to aj pri ničení, aj pri opsonizácii (Da Silva and Kazatchkine, 1980). Recentný výskum Da'dara *et Krautz-Peterson* (2014) preukázal, že komplement spôsobuje aj lýzu vezikul vylučovaných z penetračných žliaz, čím však napomáha parazitovi, ktorý benefituje z vyššieho množstva vlastných ES produktov. Ale ani napriek vylučovaným proteázam či zníženej hladine prozápalových cytokínov komplement nestráca svoj zápalový potenciál a napomáha lákať neutrofile do infikovanej kože (Camous *et al.*, 2011).

### 3.2.2. Neskorá fáza

Najvyšší počet cirkulujúcich leukocytov v krvi nastáva začiatkom neskej fáze (Turner *et al.*, 2013) odkiaľ smerujú do infikovanej dermis (He *et al.*, 2002). *In vitro* ľudské neutrofile (McLaren *et al.*, 1981) a aj eozinofily (Dessein *et al.*, 1981) ničia larválne štádiá schistosom. Eozinofily sú dokonca účinnejšie (McKean *et al.*, 1981) a ich efektivita sa prejavuje najmä v spolupráci s komplementom (Dessein *et al.*, 1981). K degradácii schistosomul dochádza uvoľňovaním hlavného bazického proteínu (Butterworth *et al.*, 1979) a eozinofilného kationtového proteínu (McLaren *et al.*, 1981) na povrch parazita (Caulfield *et al.*, 1985), pričom z vonkajšej vrstvy tegumentu sa tvoria praskajúce výbežky a mikrovili (McLaren *et al.*, 1981). Komplement sprostredkováva väzbu medzi bunkami vrodenej imunity a parazitom a zároveň pôsobí ako samostatný efektorový mechanizmus.

K aktivácii ľudských DC dochádza okrem aktivácie cez TLR aj prostredníctvom DC-SIGN (z angl. dendritic cells - specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin), ktoré viaže glykosfingolipidy s terminálnym motívom LeX, vrátane LNFPIII (Meyer *et al.*, 2005). Aj keď myší receptor SIGNR1<sup>1</sup> (z angl. specific intracellular adhesion molecules-3 grabbing non-integrin) *in vitro* taktiež viaže LeX a ďalšie glykány schistosom (Kawauchi *et al.*, 2014), *in vivo* výsledky zatiaľ nepreukázali vplyv tohto receptora na priebeh infekcie. Podľa experimentov (Saunders *et al.*, 2009) sa knockout SIGNR1 neprejaví na infekčnej záťaži<sup>2</sup> či

<sup>1</sup> Myší homológ ľudského DC-SIGN (Kawauchi *et al.*, 2014)

<sup>2</sup> Merané hodnoty zahŕňali počet vajčiek, eozinofilov, veľkosť granulómu, hladiny IL-4, IFN- $\gamma$ , IL-10, TNF- $\alpha$  a i.

zmenou cytokínovej produkcie hepatocytmi. Nevie sa toho veľa ale ani o funkcii samotného DC-SIGN. Hoci Kuipers *et al.* (2020) preukázali na využívanie tohto receptora na fagocytózu vezikul s ES produktami, bunky po fagocytóze zvyšovali expresiu receptorov a produkciu cytokínov so značne odlišným potenciálom<sup>3</sup> pre priebeh imunitnej odpovede.

Glykány v ES produktoch a kožné mikrobiota sú aj pri ľudských infekciách stimulmi pre produkciu IL-12 a TNF- $\alpha$  (Turner *et al.*, 2013). Winkel *et al.* (2018) po *ex vivo* penetrácii cercárií ľudskou kožou nezaznamenala signifikantné hladiny IL-4, IL-12 a ani IFN- $\gamma$ . Penetrácia cercáriami zato vyvolala produkciu IL-10, IL-6 a MIP-1. Podľa He *et al.* (2002) je zdrojom IL-10 aj epidermis napriek tomu, že tam dochádza aj k produkcii IL-1ra. V epidermis však taktiež prevláda imunoregulačný IL-10.

### 3.2.3. Chronická fáza

Schistosomuly zmenou povrchu redukujú naväzovanie komplementu (Inciani and McLaren, 1981), čo sa prejavuje na zníženej náchylnosti k ničeniu granulocytmi v chronickej fázi (Dessein *et al.*, 1981; Kazura *et al.*, 1981). Efektorové mechanizmy vrodenej imunity ustávajú a do popredia sa dostáva adaptívna imunita.

---

<sup>3</sup> Namerali zvýšenú produkciu cytokínov IL-6, IL-12 a zároveň IL-10, zvýšenú expresiu CD80, CD86 a zároveň PDL1

## 4. Adaptívna imunita

Ucelená imunitná odpoveď je tvorená vzájomnou interakciou vrodenej a adaptívnej imunity a až tým je definovaný konkrétny charakter uplatňovaných mechanizmov. Diferenciované CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty zohrávajú kľúčovú úlohu pri utváraní a udržovaní cytokínového prostredia a nie len v koži majú rozhodujúce slovo na výsledný priebeh imunitnej odpovede hostiteľa pri infekcii schistosomami (Vignali *et al.*, 1989).

### 4.1. Myši

#### 4.1.1. Včasná fáza

Autori starších prác sa domnievali, že LC pri infekcii schistosomami migrujú do LU (Gui *et al.*, 1995; Kimber and Cumberbatch, 1992), čím umožnia proliferáciu a diferenciaciu CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov (Nuriya *et al.*, 1996). Na základe okamžitej zvýšenej expresie MHC II a CD86 v epidermis infikovaných myší (Angeli *et al.*, 2001) predpokladali uplatňovanie tohto efektorového mechanizmu aj pri infekcii *S. mansoni*. Ich výskum ale naopak preukázal, že infekcia inhibuje vyvolanú migráciu LC buniek a to aj napriek zvýšeným hladinám TNF- $\alpha$  a pro-zápalových cytokínov v epidermis, ktoré *in vitro* postačujú na stimulovanie LC migrácie. V kontraste s tým ale boli výskumy preukazujúce hromadenie cercariálneho materiálu v spádových lymfatických uzlinách (sLU) už na začiatku neskorej fázy (Mountford *et al.*, 1988). Kumkate *et al.* (2007) pomohol objasniť tento jav, keď poukázal na odlišné populácie MHC II<sup>+</sup> buniek akumulujúcich sa v sLU a zároveň na odlišné populácie CD207<sup>+</sup> buniek v myšej koži. Napomohlo k tomu aj fluorescenčné značenie cercariálneho materiálu, ktoré umožnilo pozorovať migráciu buniek podieľajúcich sa na fagocytóze. Paveley *et al.* (2009) definovali tieto bunky ako makrofágy a DC, ktoré sú odvodené z monocytov. Na miesto infekcie ich privolávajú epidermálne bunky reagujúce na poškodenie cez produkciu TSLP (Bourke *et al.*, 2015). V závere včasnej fázy DC a makrofágy opúšťajú infikovanú kožu a ako APC migrujú do sLU (Paveley *et al.*, 2009).

#### 4.1.2. Neskorá fáza

Emigráciou týchto APC z miesta infekcie tak Paveley *et al.*, (2009) vysvetlili akumuláciu materiálu parazitného pôvodu v sLU, ku ktorému dochádza ešte pred samotnou migráciou LC. Medzi akumulujúcimi sa bunkami je aj populácia CD207<sup>+</sup> buniek, ktorá je dermálneho pôvodu a odlišuje sa tak od LC (Kumkate *et al.*, 2007). APC produkujúce IL-12 a TNF- $\alpha$  (Durães *et al.*, 2009) migrujú do parakortexu sLU (Kumkate *et al.*, 2007), kde priamym kontaktom s naivnými CD4<sup>+</sup> T-lymfocytmi umožňujú ich diferenciaciu (Hall *et al.*, 2004).

Vzhľadom na vyššiu efektivitu fagocytózy cercariálneho materiálu a vyššiu expresiu MHC II sa DC zdajú byť významnejšie pre aktiváciu T-lymfocytov než makrofágy (Paveley *et al.*, 2009). Pozitívnu spätnú väzbou zrelé DC cez IL-12 podporujú svoju vlastnú aktiváciu, expresiu koreceptorov CD40 a CD86 ako aj samotnú migráciu do sLU (Durães *et al.*, 2009; Hogg *et al.*, 2003b). DC tak majú predpoklady na iniciáciu diferenciácie CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov k Th1 lymfocytom (Hogg *et al.*, 2003a), ktoré by dokázali viesť k protektívnej imunitnej odpovedi (Kumar and Ramaswamy, 1999). V priebehu neskorej fáze Kumar *et al.* (1999) nezaznamenali v koži nárast cytokínov IL-2 či IFN- $\gamma$ , ktoré by boli príznačné pre aktivované T-lymfocyty a prezrádzali by tak aktivovanú adaptívnu imunitnú odpoveď.

#### 4.1.3. Chronická fáza

Začiatkom chronickej fáze signifikantne klesá počet CD207<sup>+</sup> MHC II<sup>+</sup> buniek z infikovanej epidermis (Kumkate *et al.*, 2007), čo podporuje navrhnutú inhibíciu migrácie LC (Angeli *et al.*, 2001). Emigrujúce LC sa pripájajú k emigrujúcim dermálnym MHC II<sup>+</sup> bunkám 4 deň p.i., kedy Paveley *et al.* (2009) zaznamenali najvýraznejší pokles APC buniek z infikovanej kože. Kvôli nízkej početnosti LC v kombinácii s ich oneskorenou migráciou ich nemožno považovať za hlavné stimulatory proliferácie T-lymfocytov ani napriek konzistentnej expresii MHC II po aktivácii. Napriek tomu ale môžu zohrávať rolu v regulácii imunitnej odpovede (Kumkate *et al.*, 2007).

Neschopnosť hostiteľa stabilne udržať zvýšené hodnoty pro-zápalových mediátorov p.i. schistosomami sa javí ako dôvod umožňujúci rozvoj infekcie (Pearce *et al.*, 1991). Produkované IFN- $\gamma$  a IL-12 v sLU začiatkom chronickej fáze indukujú vznik Th1 efektorových buniek (Hogg *et al.*, 2003a), ktoré následne podporujú polarizáciu makrofágov na M1 spojenú s produkciou NO (James, 1986), čo v kombinácii s pro-zápalovou reakciou môže viesť k eliminácii parazita z kože. Produkcia IFN- $\gamma$  a IL-12 v sLU však postupne klesá zatiaľ čo hladiny IL-4 pretrvávajú zvýšené (Hogg *et al.*, 2003b). Viacerí autori poukazovali na antagonistický efekt IL-10 na hostiteľom indukovanú odpoveď typu 1 pri infekcii *S. mansoni* (Hogg *et al.*, 2003b; Pearce *et al.*, 1991). Napriek tomu, že pri mnohých infekciách helmintami, ako zhrňajú autori review White *et al.* (2020), majú regulačné T-lymfocyty (T-reg) regulačnú funkciu a produkujú IL-10, pomerne recentné výskumy nepreukázali zvýšené množstvo T-reg v sLU (Prendergast *et al.*, 2015) a ani zvýšenú produkciu IL-10 týmito bunkami v priebehu kožnej fáze infekcie *S. mansoni* (Redpath *et al.*, 2015). Zdrojom IL-10 v infikovanej koži a následne aj v sLU sa na základe *in vitro* experimentov zdajú byť makrofágy stimulované ES produktami (Jenkins *et al.*, 2005), ktoré negatívne pôsobia na proliferáciu CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov

znižovaním expresie MHC II a koreceptorov na DC (Hogg *et al.*, 2003b). Znižujúci potenciál prezentovať MHC II pozoroval Kumkate *et al.* (2007) už pri samotnej migrácii APC do sLU. Výsledkom tejto regulácie DC cez IL-10 je pokles v množstve Th1 lymfocytov (Hogg *et al.*, 2003b) a proliferácia CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov produkujúcich IL-4 a IL-10 (Redpath *et al.*, 2015). Pre chronickú kožnú fázu je tak charakteristická zmiešaná Th1/Th2 odpoveď.

Th2 lymfocyty produkciou cytokínov podporujú M2 polarizáciu makrofágov (Prendergast *et al.*, 2016), ktoré sa podieľajú na hojení poškodeného tkaniva a zvyšujú tak životaschopnosť infikovaného jedinca. Jednotlivé mechanizmy využívané makrofágmi pri hojení tkaniva zhŕňa review Gause *et al.* (2013). Inhibujú poškodzovanie buniek hostiteľa ako aj parazita a samotné pôsobia ako zdroj IL-4 (Cook *et al.*, 2011). Th2 lymfocytmi produkovaný IL-5 pôsobí chemoatraktívne pre eozinofily (Sher *et al.*, 1990), ktoré uvoľňovaním IL-4 taktiež spätne-upevňujú polarizáciu k Th2 (Swartz *et al.*, 2006). Signalizácia vrodenu imunitou podnecuje aktiváciu imunitného systému, no rozhodujúcu úlohu v charaktere uplatňovaných mechanizmov v mieste infekcie má imunita adaptívna.

Ešte niekoľko týždňov p.i. T-lymfocyty produkujú aj pro-zápalové cytokíny (Prendergast *et al.*, 2015) a až prítomnosť vajčiek schistosom vyvoláva u hostiteľa jednoznačnú polarizáciu k Th2 odpovedi (Pearce *et al.*, 1991). Počas kožnej chronickej fáze sa už len minimum schistosomul nachádza v koži (He *et al.*, 2002) ale ich prítomnosť, hoci nesignifikantnú, zaznamenali v sLU (Gui *et al.* 1995; Mountford *et al.*, 1988). Zdá sa však, že samotnou migráciou cez sLU neovplyvňujú priebeh imunitnej odpovedi, keďže migrácia nespôsobuje redistribúciu imunitných buniek v sLU a ani nedochádza k zachyteniu parazita v týchto orgánoch (Riengrojpitak *et al.*, 1998). Migrujúce schistosomuly stratou chvostíka a glykokalyxu redukovali množstvo antigénnych zložiek, čím sa stali menej rozoznateľné pre imunitný systém hostiteľa. Možno sa domnievať, že migrujúce schistosomuly práve vďaka redukcii antigénnych zložiek nevyvolávajú priamu aktiváciu imunitných buniek v sLU.

Intenzívna proliferácia lymfocytov spojená s vyšším prítokom krvi sa počas chronickej fáze prejavuje narastajúcou váhou sLU (Constant and Wilson, 1992), ktorá vrcholí okolo 5 dňa p.i. a len s minimálnym poklesom sa udržuje po dobu niekoľkých týždňov (Gui *et al.*, 1995). Okrem proliferácie T-lymfocytov (McWilliam *et al.*, 2013) na infekcii potkanov poukázal zvýšenou hladinou IgM na proliferáciu B-lymfocytov, napriek tomu, že nenastáva významný nárast v celkovom množstve Ig. Produkovaním cytokínu IL-4, lymfocyty Th2 podporujú izotypový prešmyk IgM na IgE, čo sa ale prejavuje až niekoľko týždňov p.i. ako reakcia na Ag vajčiek, keďže tvorbu Ag-špecifických IgE len minimálne vyvolávajú larválne štádiá. Samotné

IgE tak nemajú vplyv na kožnú fázu imunitnej odpovedi pri prvotnej infekcii (El Ridi *et al.*, 2001), ale vo výraznej miere sa uplatňujú pri sekundárnej infekcii.

## 4.2. Človeka

### 4.2.1. Včasná fáza

Takmer okamžitá produkcia TNF- $\alpha$  a IL-1 v ľudskej epidermis spolu so zvýšenou expresiou ľudského leukocytového antigénu (HLA-DR z angl. human leukocyte antigen – DR isotype) na LC (He *et al.*, 2002) dáva opäť predpoklad rýchlej aktivácie adaptívnej imunity (Kimber and Cumberbatch, 1992). Inhibícia migrácie ľudských LC po stimulácii schistosomami nebola zatiaľ testovaná. Takayama *et al.* (1999) preukázali možnú inhibíciu migrácie ľudských LC vplyvom IL-4, čím nie je možné zamietnuť túto reguláciu aj pri infekcii schistosomami. *In vitro* stimulácia cerkárkami podobne ako aj u myši vyvoláva aktiváciu moDC, ktorú Winkel *et al.* (2018) preukázali na základe zvýšenej expresie kostimulačných signálov CD80, CD86 a CD40. Nenastala ale očakávaná zvýšená expresia HLA-DR, ktorá by bola znakom zvýšenej fagocytózy. Dá sa predpokladať, že je to dôsledok *in vitro* experimentu, ktorý neumožnil transformáciu cerkárií a ani kombinovanú stimuláciu s ES produktami, čo podľa výsledkov Turner *et al.* (2013) môže pôsobiť ako vhodnejší stimul pre fagocytózu.

### 4.2.2. Neskorá fáza

V myšom modeli bolo možné považovať dermálne DC za iniciátorov pro-zápalovej odpovede, ale ľudské DC sú po stimulácii cerkárkami výrazným zdrojom IL-10 a ihneď od aktivácie podporujú proti-zápalovú odpoveď. Emigrované dermálne DC z kožného explantátu vo výraznej miere produkujú IL-10, čo môže viesť k znižovaniu ich vlastného APC potenciálu (Winkel *et al.*, 2018).

### 4.2.3. Chronická fáza

Začiatkom chronickej fáze, kedy by sa dala očakávať intenzívna proliferácia CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov, emigrované DC už nemajú zvýšenú expresiu HLA-DR ani koreceptorov CD80. Práve naopak, exprimujú ligandy pre membránové proteíny bunecnej smrti PD-L1 (PD-L, z angl. programmed death-ligand) a PD-L2, ktoré majú imunoregulačnú funkciu a potláčaním aktivácie adaptívnej imunitnej odpovedi hostiteľa môžu uľahčovať rozvoj infekcie (Winkel *et al.*, 2018). *In vitro* spomaľujú CD4<sup>+</sup> proliferáciu a podľa Brown *et al.* (2003) expresia PD-L1 spolu s PD-L2 vedie k potláčaniu produkcie IFN- $\gamma$  ako aj IL-10 z aktivovaných CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov. Winkel *et al.* (2018) v závere navrhli aj možné uplatňovanie T-reg ako potenciálneho zdroja IL-10, avšak nie je to podporené infekčnými modelmi.



Experimenty Winkel *et al.* (2018) tak preukázali, že naivné CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty sa orientujú smerom k Th2 po aktivácii DC stimulovanými cerkárkami, o čom svedčí znížený pomer medzi produkovaným IFN- $\gamma$  k IL-4. Výskum napospol preukázal súlad s experimentami na myších modeloch o prevládajúcej Th2 odpovedi počas chronickej kožnej fáze infekcie. Zdá sa, že v ľudskej koži dochádza k výraznejšej syntéze imunoregulačného IL-10, pričom nie je možné zamietnuť ani možnosť uplatňovania T-reg. Cytokín IL-10 v kombinácii s IL-1ra z KC (Ramaswamy *et al.*, 1996) prispieva k jednoznačnejšej orientácii k odpovedi typu 2. Cytokíny Th2 lymfocytov u ľudí taktiež podporujú funkciu M2 makrofágov, izotypový prešmyk na IgE ako aj proliferáciu eozinofilov. Tieto mechanizmy adaptívnej imunity miesto eliminácie parazita vo finále uľahčujú samotný priebeh infekcie.

**Tabuľka 2.** Porovnanie faktorov podieľajúcich sa na polarizácii imunitnej odpovede v koži počas neskoršej fáze pri priebehu prvotnej a viacnásobnej infekcie myši

Merané hodnoty v koži	0 - 1	0 - 4	1 - 4
# buniek	=	↑	↑
<i>neutrofily</i>	↑	=	↓
<i>eozinofily</i>	NA	NA	↑
<i>APC</i>	=	↑	↑
cytokíny, chemokíny			
<i>IL-12</i>	=	↑	↑
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	=	=	=
<i>TSLP</i>	=	=	=
<i>IL-4</i>	=	↑	↑
<i>IL-10</i>	=	↑	↑
mRNA - APC			
<i>iNOS</i>	↑	NA	↓
<i>IFN-<math>\gamma</math></i>	NA	NA	↓
<i>Arg-1</i>	NA	↑	↑
<i>RELM-<math>\alpha</math></i>	NA	↑	↑

Porovnávanie hladiny prvotnej infekcie/stimulácie s neinfikovanou kontrolou 0 - 1. Porovnávanie 4-násobnej stimulácie ku kontrolnej skupine 0 - 4. Porovnanie 4-násobnej stimulácie k prvotnej stimulácii 1 - 4. # značí početnosť; farebné značenie: faktory podporujúce pro-zápalovú odpoveď, faktory regulujúce proti-zápalovú odpoveď; APC značia dermálne emigrujúce MHC II<sup>+</sup> bunky; mRNA – APC značí syntézu mRNA APC; zhrnuté na základe výsledkov (Cook *et al.*, 2011; Prendergast *et al.*, 2016; Sanin *et al.*, 2015)

## 5. Opakovaná infekcia

Imunitnej odpovedi k reinfekciám sa zúčastňujú totožné imunitné mechanizmy hostiteľa ale sú do značnej miery regulované priebehom prvotnej infekcie. Práve pri týchto reinfekciách ešte viac vyniká imunomodulačná schopnosť parazita. Stanoviť konkrétne pôsobenie schistosom na priebeh reinfekcie v koži sa pokúsili autori Sombetzki *et al.* (2018). Ukázalo sa, že zatiaľ čo samčekovia *S. mansoni* indukujú produkciu pro-zápalových cytokínov, samičky produkujú cytokíny a chemokíny podporujúce zápal len minimálne. Naopak, v hostiteľských bunkách vyvolávajú zvýšenú expresiu regulačných génov, vrátane mRNA pre IL-10. Interpretácia výsledkov z infekcie zmiešaným pohlavím nie je tak jednoznačná. Na prvý pohľad sa môže zdať, že sa prejavuje kombinovaným vplyvom samičiek a samčekov, avšak *netreba* zabúdať na reaktivitu imunitného systému k vajíčkam. Nateraz nie je možné jednoznačne stanoviť konkrétny vplyv prebiehajúcej infekcie na kožnú fázu pri opakovanej expozícii. Výsledky experimentov ale umožňujú aspoň predstavu o celkovom priebehu imunitnej odpovede. Interakcia medzi vrodenu a adaptívnou imunitou pri reinfekciách je natoľko prepojená, že oddelenie týchto zložiek by narúšalo integritu textu o priebehu imunitnej odpovedi, kvôli čomu je kapitola členená len podľa časových úsekov. Obsah tvoria poznatky získané z myších experimentov a v závere je doplnená kľúčová charakteristika ľudskej infekcie.

### 5.1. Včasná fáza

Pro-zápalovú reakciu sprevádza výraznejšia celularita v infikovanej koži, ku ktorej okrem pro-zápalových mediátorov napomáha aj výrazne zvýšená expresia intracelulárnej adhéznej molekuly 1 (ICAM-1) na epidermálnych aj endoteliálnych bunkách v okolí parazita (Ramaswamy *et al.*, 1997). Zhrubnutie kože je už v počiatkoch infekcie porovnateľné maximálnemu zhrubnutiu pri prvotnej infekcii a spomalená migrácia cercárií (Ramaswamy *et al.*, 1997) je tak najmä výsledkom akumulácie imunitných buniek v okolí parazita (Incanni and McLaren, 1984).

### 5.2. Neskorá fáza

Neskorá fáza opakovanej infekcie má charakter Th2 podobne ako chronická fáza infekcie prvotnej. Úlohu APC zohrávajú opäť DC a makrofágy, avšak majú značne zníženú schopnosť fagocytovať a následne prezentovať Ag. Cook *et al.* (2011) preukázali, že 4x infekcia takmer úplne potlačí schopnosť APC stimulovať Ag-špecifickú proliferáciu CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov znížením expresie koreceptorov CD80 a CD86 na DC. Prendergast *et al.* (2015) *in vivo* ako aj *in vitro* stimuláciou buniek sLU získaných z IL-10 deficientných myší preukázal rozhodujúcu

úlohu cytokínu IL-10 na znižovaní proliferácie CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov. Jedným z regulačných mechanizmov na ktoré má IL-10 efekt sa zdá byť zvýšená expresia apoptického receptora Fas na emigrujúcich APC (Cook *et al.*, 2011) ako aj na CD4<sup>+</sup> T-lymfocytoch (Prendergast *et al.*, 2015), ktorá je predpokladom zvýšenej apoptózy buniek. Pri viacnásobnej infekcii dochádza v porovnaní s prvotnou k výraznejšiemu nástupu proti-zápalových cytokínov (pozri tabuľku 2, str.19.)

Keďže ani opakovaná infekcia nevedie k signifikantnému nárastu Foxp3<sup>+</sup> T-reg v sLU (pozri tabuľku 3. str. 22), v porovnaní s prvotnou infekciou (Cook *et al.*, 2011), Foxp3<sup>+</sup> T-reg zrejme nie sú zdrojom IL-10 zodpovedajúcim za potlačanie CD4<sup>+</sup> proliferácie (Prendergast *et al.*, 2015). Abdel Aziz *et al.* (2018) nedávno preukázali zníženú proliferáciu Foxp3<sup>+</sup> T-reg u IL-4 $\alpha$  deficientných myší infikovaných *S. mansoni*, čím sa možno domnievať, že práve nízka hladina IL-4 v sLU (Prendergast *et al.*, 2015) neumožňuje vznik Foxp3<sup>+</sup> T-reg uplatňujúcich sa v kožnej fázi infekcie.

M2 makrofágy sú zrejme zodpovedné za počiatočnú polarizáciu k Th2 cez produkciu IL-10. Produkujú okrem IL-10 aj IL-4, IL-5 aj IL-13, čo je totožná reakcia akú vyvoláva naviazanie alergénov na MR (Royer *et al.*, 2010), čím opäť vyniká pôsobenie ES produktov. Makrofágy upevňujú svoju vlastnú polarizáciu k M2, čím sa stávajú neúčinné pri opakovaných nákazách (Paveley *et al.*, 2011). Cook *et al.* (2011) potvrdili výraznú M2 orientáciu zníženou transkripciou mRNA pre iNOS, a naopak, zvýšenými hladinami transkriptu pre arginázu a molekuly podobnej rezistínu (RELM- $\alpha$ , z angl. resistin-like molecule alpha), ktoré sa taktiež spájajú s M2 makrofágmi a podporovaním Th2 lymfocytov (Cook *et al.*, 2012). Využitím Rag2<sup>-/-</sup> myší, ktoré neprodukujú zrelé T a B -lymfocyty, sa ukázalo, že síce makrofágy sa podieľajú na produkcii IL-10, ale významnejší producenti sú práve z radov T-lymfocytov (Sanin *et al.*, 2015). Na základe predošlých *in vitro* experimentov Prendergast *et al.* (2015) usúdili, že sa pravdepodobne jedná o CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty, keďže vplyvom infekcie nenastáva signifikantná proliferácia ostatných pozorovaných populácií T buniek vrátane Foxp3<sup>+</sup> T-reg či CD8<sup>+</sup> T-lymfocytov.

Regulačný cytokín IL-10 zohráva jednoznačne dôležitú úlohu no napriek tomu sa zdá byť priebeh viacnásobnej infekcie podriadený IL-4. Aj keď IL-10, vplýva na znižovanie Ag-prezentujúcej schopnosti buniek, znižuje proliferáciu CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov a podporuje Th2 odpoveď v infikovanej koži, v prípade IL-4 $\alpha$  KO myší nedochádza k uplatňovaniu týchto regulačných mechanizmov (Prendergast *et al.*, 2016). Zvýšené množstvo eozinofilov (Inciani and McLaren, 1984) a ich produkcia IL-4 (Swartz *et al.*, 2006) nabáda k myšlienke o ich

nadradenosti v tejto imunitnej kaskáde, no Cook *et al.* (2011) vyvrátili túto hypotézu, keď pridaním eozinofilov k CD4<sup>+</sup> T-lymfocytom nenastalo potlačenie proliferácie lymfocytov. Aj keď eozinofily do určitej miery prispievajú k tejto regulácii, či už produkciou IL-4 alebo podporovaním Th2 odpovedi, v infikovanej koži majú regulačnú funkciu aj ďalšie, zatiaľ neznáme, prvky.

**Tabuľka 3.** Porovnanie vplyvu faktorov na priebeh imunitnej odpovede v sLU pri prvotnej ako aj pri viacnásobnej infekcii myši

Merané hodnoty v sLU	0 - 1	0 - 4	1 - 4
# buniek	↑	↑	↓
proliferácia T-lymfocytov	↑	=	↓
Ag-CD4 <sup>+</sup> T-lymfocyty	↑	=	↓
Foxp3 <sup>+</sup> T-lymfocyt	↓	↓	=
cytokíny			
IFN-γ	↑	=	↓
IL-4	↑	=	↓
IL-10	↑	=	↓
Markery			
Fas na CD4 <sup>+</sup> T	=	↑	↑
FasL na CD4 <sup>+</sup> T	=	↑	↑

Porovnávanie hladiny prvotnej infekcie/stimulácie s neinfikovanou kontrolou 0 - 1. Porovnávanie 4-násobnej stimulácie ku kontrolnej skupine 0 - 4. Porovnanie 4-násobnej stimulácie k prvotnej stimulácii 1 - 4. ; # značí početnosť; farebné značenie: faktory podporujúce pro-zápalovú odpoveď, faktory regulujúce proti-zápalovú odpoveď, CD4<sup>+</sup> T značí CD4<sup>+</sup> T-lymfocyt; Ag-CD4<sup>+</sup> T-lymfocyt – Ag-špecifický CD4<sup>+</sup> T-lymfocyt; zhrnuté na základe výsledkov Prendergast *et al.* (2015)

### 5.3. Chronická fáza

Preniknutie cercárií do kože vyvolá už pri sekundárnej infekcii signifikantný nárast Ig (McWilliam *et al.*, 2013), pričom narastá množstvo Ag-špecifických IgG aj IgM v sLU (Smit *et al.*, 2016). Zrejme aj pričinením zníženej Ag-špecifickej CD4<sup>+</sup> proliferácie, kým plazmatické bunky syntetizujú signifikantné množstvo protilátok rozoznávajúcich epitopy cercárií, schistosomuly majú už transformovaný povrch (McWilliam *et al.*, 2013; Samuelson and Caulfield, 1985), ktorý v prípade *S. japonicum* nie je rozoznávaný týmito Ig. K syntéze Ig dochádza v sLU v určitej miere aj po opustení schistosomul kože, zrejme kvôli odhodnoteným glykánovým štruktúram, keďže väčšina IgM je namierená práve proti terminálnym štruktúram membránových glykánov (Smit *et al.*, 2015). Smit *et al.* (2015) aj preukázali, že Ag-špecifické

Ig krížovo reagujú k vajíčkam ako aj s cerkárkami *S. mansoni*, čím sa upriamila pozornosť na možnosť rozoznávania Ag kožných štádií aj Ig zo séra.

Oponizácia buniek parazita Ig umožňuje klasickú cestu aktivácie komplementu, čím sa až zdvojnásobuje efektívnosť komplementu v ničení schistosomul (Tavares *et al.*, 1978). Podľa Incani *et McLaren* (1981) k tomu postačuje pomoc buď od IgG alebo aj od IgM. Naviazané Ig sprostredkujú väzbu medzi schistosomulami a granulocytmi čím uľahčuje ich aktiváciu (Incani and McLaren, 1981). Antigény schistosom sú rozpoznávané IgE, ktoré sú už z prvotnej infekcie naviazané na mastocyty a bazofily a naviazanie Ag spúšťa degranuláciu.

Význam IgE vyniká najmä pri reinfekciách ľudí, kde okrem degranulácie bazofilov a mastocytov (Machado *et al.*, 1996) umožňujú aj na protilátkach závislú cytotoxicitu. Signifikantný nárast eozinofilov v sére (Turner *et al.*, 2013), ku ktorému dochádza vplyvom T-lymfocytov (Lenzi *et al.*, 1985), sa odrazí na následnom zvýšenom množstve v infikovanej koži. Eozinofily sa viažu na opsonizované schistosomuly, a mechanizmom rovnakým ako v prípade pomoci od komplementu (prebrané v podkap. 3.2.2.), ničia tegument parazita. Túto väzbu medzi schistosomulami a eozinofilmi sprostredkováva FcεRI (Fc epsilon receptor) (Gounni *et al.*, 1994).

Poznatky o priebehu imunitnej odpovede v koži slúžia ako odrazový mostík pre vývoj vakcín. Preukázanie vzniku protektívnej imunity v myšiach infikovaných RA (rádiovo-značenými) larvami schistosom ako napríklad v experimente Mountford *et al.* (1988), vyvolalo diskusiu v ich možné využitie na ľudskú vakcináciu. Okrem toho, že sa len ťažko dajú predstaviť pozitívne ohlasy ľudí na takto zvolený druh vakcinácie, RA larvy niekedy viedli aj k prepuknutiu infekcie, kvôli čomu sa od nich definitívne upustilo v nahliadaní ako potenciálnych ľudských vakcín. Výsledky týchto experimentov ale preukázali dôležitosť Th1 odpovede hostiteľa, ktorú práve RA larvy nie sú zvyčajne schopné potlačiť (Hogg *et al.*, 2003b).

Tým sa vložila nádej do adjuvantov indukujúcich Th1 polarizáciu, akými sú Freund či CpG (de Melo *et al.*, 2014). Nejednoznačnejšie sa zdá byť zvolenie vhodných imunogénov, čo sa ale snažia osvetliť glykomické štúdie posledných rokov (McWilliam *et al.*, 2013) (van Diepen *et al.*, 2015) (Mickum *et al.*, 2016), ktoré naznačujú možné využitie anti-glykánových protilátok aj na základe krížovej reaktivity k zdieľaným glykánom na viacerých životných štádiách. Sami autori (Hokke and van Diepen, 2017) však pripúšťajú, že aktuálne poznatky o glykánových štruktúrach helmintov sú zatiaľ veľmi limitované. Odhalenie ďalších glykánov a antigénnych štruktúr helmintov by mohlo priniesť viac svetla do vývoja vakcín.

Mechanizmy imunitného úteku poskytujú ďalší potenciálny cieľ vakcinácie. Zásahom do týchto mechanizmov by parazit stratil schopnosť imunitného útoku a naopak, hostiteľ by si zachoval, poprípadne prinavrátil, schopnosť eliminovať parazita.

## 6. Únik pred imunitnou odpoveďou

Doba migrácie kožou je len zlomok z celkovej dĺžky života schistosom v definitívnom hostiteľovi a predsa si schistosomy vyvinuli mnohé mechanizmy úteku pred kožným imunitným systémom hostiteľa. Dôvodom je nevyhnutnosť prekonať túto kožnú bariéru, aby dokázali preniknúť do ciev, dospieť a produkovať vajíčka. Schistosomy na ochranu pred imunitným systémom podstupujú morfológické zmeny, syntetizujú imunomodulačné látky a zasahujú do priebehu imunitnej odpovede.

### 6.1. Vrodenou

Transformované schistosomuly zhadzovaním glykokalyxu a cercariálneho chvostíka stratia 80% svojho antigénneho povrchu už 48 h p.i. (Dessein *et al.*, 1981), čo má zásadný vplyv na znižovanie účinnosti efektorových mechanizmov vrodenej imunity. Novo vzniknutá dvojité membrána nie je síce rezistentná k lýze membránovým útočným komplexom (MAC, z angl. membrane attack complex) ale redukovaním glykánov na povrchu klesá možnosť aktivácie ako aj klasickej (Dessein *et al.*, 1981) tak aj alternatívnej cesty komplementovej kaskády, čím klesá počet naväzovaných komplementových proteínov. Na transformovanom povrchu schistosomul sa tvorí menej MAC a k tomu aj samotný proces zhadzovania glykokalyxu zhadzuje už vytvárajúce sa komplexy (Da'dara and Krautz-Peterson, 2014). Keďže komplement sprostredkováva väzbu medzi granulocytmi a parazitom, obmedzenie tejto väzby znižuje aj počet uplatňujúcich sa eozinofilov (Dessein *et al.*, 1981), makrofágov (Sher *et al.*, 1982) a neutrofilov (Incani and McLaren, 1981), ktoré by sa po naviazaní efektívne podieľali na ničení schistosomul. Zhadzovaním glykokalyxu a odvrhnutím cercariálneho chvostíka sa transformovaná schistosomula stáva menej atraktívnou pre vrodenú imunitu hostiteľa.

Zaujímavý pohľad na už spomínané spomalenie migrácie spomínanej v podkap. [2.3.](#) poskytuje práca Jeremias *et al.* (2015) o endocytóze a následnej obnove adsorbovaných molekúl na povrch schistosomul. Kým o využívaní molekulárneho maskovania dospelcami schistosom nie sú pochybnosti (Fátima *et al.*, 1991), využívanie tohto mechanizmu imunitného úteku kožnými štádiami nie je dostatočne preskúmané. Aj keď sa nezdalo, že by prítomnosť hostiteľských molekúl pri transformácii bola rozhodujúca pre usadenie schistosom (Brink *et al.*, 1977), už Ouaisi *et al.* (1980b) si uvedomili možnosť naväzovania hostiteľských proteínov, vynímajúc

proteínov komplementu. Výskum Jeremias *et al.* (2015) nasvedčuje, že s dlhším pobudnutím v koži schistosomuly prezentujú viaceré pohltené molekuly. Či im to do nejakej miery napomáha aj pri samotnom úniku kožou nie je jasné.

Penetrujúce schistosomy indukujú syntézu proti-zápalových cytokínov z epiteliálnych ako aj imunitných buniek hostiteľa. KC pod vplyvom ES produktov produkujú IL-10 (Ramaswamy *et al.*, 2000) ako aj IL-1ra a naopak, potláčajú produkciu pro-zápalového IL-1 (Ramaswamy *et al.*, 1996). Na stimulácii sa podieľajú konkrétne proteíny, akým je v prípade IL-1ra proteín Sm16 (Ramaswamy *et al.*, 1996), alebo aj eikosanoidy. Aj keď sa eikosanoidy nachádzajú v ES produktoch cerkárií (Angeli *et al.*, 2001), ich množstvo nie je dostatočné na reguláciu imunitnej odpovede a ako substrát na ďalšiu syntézu PGE<sub>2</sub> preto využívajú aj kyselinu arachidonovú z povrchu hostiteľa (Fusco *et al.*, 1985). Napriek tomu významné množstvá PGE<sub>2</sub> sú produkované až hostiteľskými keratinocytmi, avšak opäť až po stimulácii cekáriami (Ramaswamy *et al.*, 2000). Ťažko si predstaviť, že toto navyšovanie množstva PGE<sub>2</sub> by nebolo cieleňé. Ramaswamy *et al.* (2000) preukázal, že práve PGE<sub>2</sub> je faktor vyvolávajúci produkciu IL-10 z hostiteľských keratinocytov, ktorý má nezastupiteľnú úlohu v potláčaní pro-zápalovej odpovede pri infekciách schistosomami (Hogg *et al.*, 2003b).

PGE<sub>2</sub> môže podľa (Crunkhorn and Willis, 1971) spolu s cerkáriálnymi proteázami spúšťať aj degranuláciu mastocytov (pozri podkap. 2.3. a tým sa podieľať na vazodilatácii (Machado *et al.*, 1996). Je možné, že rozšírenie ciev a uvoľnenie tesných endoteliálnych spojov (Benedetto *et al.*, 2015) napomáha schistosomulám preniknúť do krvného obehu. Degranuláciou mastocytov by mohli schistosomuly zámerne indukovať aj kvôli vylučovaniu cytokínov IL-4 a IL-5 a napomáhať tak polarizácii k Th2 odpovedi (El Ridi *et al.*, 2001). Cytokíny IL-4 a IL-13 môžu zas viesť k polarizácii makrofágov na M2 (Doyle *et al.*, 1994), čím sa znižuje možnosť poškodzovania schistosomul NO (McLaren and James, 1985). PGE<sub>2</sub> tak možno považovať za jednu z kľúčových molekúl imunitného úteku schistosomul v koži.

## 6.2. Adaptívnou

Makrofágy pod vplyvom ES produktov znižujú syntézu iNOS nezávisle od cytokínového prostredia (Paveley *et al.*, 2009) a znižujú svoj Ag-prezentujúci potenciál. Už spomínaný proteín Sm16 je pravdepodobný regulátor Ag-špecifickej proliferácie T-lymfocytov. Ramaswamy *et al.* (1996) to tvrdili len na základe nižšej miery fagocytózy ES produktov, čo však nemuselo nutne znamenať aj zníženú T-proliferáciu. Presvedčivejšie výsledky priniesol až výskum Sanin *et al.* (2015), ktorí konkretizovali rolu Sm16 v potláčaní M1 polarizácie makrofágov a preukázali moduláciu v procese fagocytózy tohto proteínu. Sm16

spomaľuje transport fagocytovaných ES do fagolyzozómu, vedie k spomalenému spracovaniu Ag a tým následne klesá pro-zápalová a stimulačná kapacita makrofágov. Schistosomy svojimi ES produktami tak zasahujú do Ag-prezentujúcich schopnosti hostiteľských buniek a potláčajú vznik Th1 efektorových buniek.

Cerkárie ES produktami, konkrétne syntézou PGD<sub>2</sub>, inhibujú migráciu LC do sLU (Angeli *et al.*, 2001). Na syntéze tohto prostaglandínu sa podieľa regulačný enzým Sm28GST (28-kDa glutatión transferáza), ktorý cercárie uvoľňujú do epidermis. Migrácia je inhibovaná signalizáciou cez prostaglandín D<sub>2</sub> receptor (DP1). Očakávalo by sa teda, že umožnenie migrácie LC u DP1 deficientných myší povedie ku silnej Th1 odpovedi a eliminácii parazita. Experimenty Hervé *et al.* (2003) však preukázali, že dochádza k zníženiu pomeru medzi pro-zápalovým IFN- $\gamma$  a proti-zápalovým IL-10, pričom hladiny IL-4 nie sú signifikantne zmenené. Infekcia schistosomami u týchto myší tak vedie k výraznej Th2 odpovedi. Larválne štádiá regulujú aktiváciu adaptívnej odpovede aj reguláciou kostimulačných signálov na APC. Odlišné výsledky experimentov Jenkins *et Mountford* (2005), Cook *et al.* (2011), Prendergast *et al.* (2015) a ani Kuipers *et al.* (2020) zatiaľ neumožňujú jednoznačne vysloviť stanovisko do akej miery dochádza k tejto regulácii vplyvom samotných schistosom. A keď nie je známy jednoznačný vplyv ES produktov na expresiu odlišných markerov, ES produkty sú schopné priamo pôsobiť na proliferáciu T-lymfocytov. Konkrétnou molekulou má byť podľa Chen *et al.* (2002) apoptický faktor *S. mansoni* SmaF, ktorá ako sa zdá, pôsobí na zvyšovanie expície Fas a FasL čím podnecuje ich apoptózu a vedie tak k zníženej proliferácii T-lymfocytov.

Mechanizmy imunitného úteku nevypovedajú len o sofistikovanosti parazita, ale odrážajú aj prepracovanosť imunitného systému hostiteľa, ktorému sa parazit musel prispôsobiť. Je zaujímavé sledovať pôsobenie jednotlivých mechanizmov imunitného úteku v porovnaní s ich efektom v celkovom obraze imunitnej odpovede. Príkladom môže byť Sm16, ktorý ako sa zdá výrazne ovplyvňuje cytokínovú produkciu a aktiváciu APC, avšak pri knockoute sa zdá byť nahraditeľný. Podľa (Bernardes *et al.*, 2019) absencia Sm16 nevedie k signifikantnej redukcii počtu dospelcov. Práve opačný efekt je pozorovateľný pri umožnenej migrácii LC. Vznik protektívnej odpovede k schistosomám je spájaný s Th1 odpoveďou, v kontraste s čím je Th2 odpoveď u DP1 KO myší, ktorá napriek očakávaniam vedie k signifikantnému zníženiu množstva životaschopných jedincov. Je zrejmé, že imunitný útek parazita nie je založený len na jednoduchom potlačení imunitnej odpovede hostiteľa, ale je to komplexný súbor vybalansovaných mechanizmov.



## Záver

Napriek tomu, že zhrnúť imunitnú odpoveď v koži pri infekciách schistosomami sa zdá byť jasne definovaný cieľ práce, ani dnes nie je možné s určitosťou popísať všetky uplatňujúce sa imunitné mechanizmy. Nejednoznačnosť výsledkov nepramení len z odlišného vykonávania experimentov, rozdielnej stimulácie či infekčnej dávky, ale aj zo stále rozvíjajúcich sa poznatkov imunológie. Napríklad až recentné výskumy odhaľujúce existenciu rozdielnych populácií DC objasnili nezhody v starších prácach o aktivácii adaptívnej imunity. Objavenie odlišného pôvodu DC a LC ako aj nových bunčných markerov, vrátane CD207, sa zdajú byť jedným z prelomových poznatkov pre porozumenie aktivácie adaptívnej imunitnej odpovedi a to nie len pri infekciách schistosomami.

Mnohé oblasti kožnej imunity vo vzťahu k schistosomám stále nie sú objasnené. Experimenty nasvedčujú uplatňovanie prirodzených lymfoidných buniek (ILC, z angl. innate lymphoid cells) v chronickom štádiu infekcie za prítomnosti vajíčok (Hesse *et al.*, 2004) ale v experimentoch o priebehu kožnej infekcie ostali nepovšimnuté. CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty síce neostali takto zanedbané no väčšina experimentov nesiahala ďalej než k ich fenotypovej a funkčnej charakterizácii. Neistota panuje aj o zdroji IL-10 v infikovanej koži. Hoci výsledky *in vitro* experimentov poukazujú na makrofágy, chýbajú podporujúce *in vivo* experimenty. V hre sú stále aj T-reg, ktoré by už aj v kožnej fázi mohli regulovať priebeh imunitnej odpovede a na druhú stranu experiment Sanin *et al.* (2015) využitím Rag2<sup>-/-</sup> myší nevyklúčili, ba skôr pozdvihli, úlohu CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov ale len pri reinfekciách.

Aj keď sa zdá, že o potláčaní pro-zápalovej odpovede hostiteľa už po penetrácii cercáriami niet pochyb, výskumy (Magalhães *et al.*, 2019) o možnosti priamej stimulácie eozinofilov cez PGD<sub>2</sub> predostierajú možnosť cielene vyvolávaného zápalu parazitom. Do akej miery môže ísť o imunomodulačný mechanizmus, ktorým parazit bráni usídleniu ďalších jedincov pri reinfekciách alebo či je to len artefakt koevolúcie, či dokonca ide pre parazita o nežiadúci postranný dôsledok, nie je známe. Podobný otáznik visí aj nad produkovanými Ig hostiteľa. Či ich tvorba skutočne slúži ako efektorový mechanizmus hostiteľa potláčajúci sekundárnu infekciu a či krížová reaktivita Ig medzi vajíčkami a larválnymi štádiami nie je skôr jedným z mnohých imunomodulačných mechanizmov parazita ostáva nevyjasnené.

Skúmanie imunitnej odpovedi v koži ponúka stále mnohé neprebádané oblasti a porozumenie týchto princípom môže nájsť využitie nielen v klinickej praxi. To, čo nedokážu zložky imunitného systému samotného hostiteľa možno raz dokážu vakcíny.

## Literatúra

Abdel Aziz, N., Nono, J.K., Mpotje, T., and Brombacher, F. (2018). The Foxp3<sup>+</sup> regulatory T-cell population requires IL-4R $\alpha$  signaling to control inflammation during helminth infection. *PLoS Biol.* *16*, e2005850.

Angeli, V., Faveeuw, C., Roye, O., Fontaine, J., Teissier, E., Capron, A., Wolowczuk, I., Capron, M., and Trottein, F. (2001). Role of the parasite-derived prostaglandin D2 in the inhibition of epidermal Langerhans cell migration during schistosomiasis infection. *J. Exp. Med.* *193*, 1135–1147.

Baker, B.S., Ovigne, J.M., Powles, A. V., Corcoran, S., and Fry, L. (2003). Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol.* *148*, 670–679.

\*De Benedetto, A., Yoshida, T., Fridy, S., Park, J.-E., Kuo, I.-H., and Beck, L. (2015). Histamine and skin barrier: are histamine antagonists useful for the prevention or treatment of atopic dermatitis? *J. Clin. Med.* *4*, 741–755.

Bernardes, W.P. de O.S., de Araújo, J.M., Carvalho, G.B., Alves, C.C., de Moura Coelho, A.T., Dutra, I.T.S., Teixeira, S.S.F., de Azambuja Ribeiro, R.I.M., de Moraes Mourão, M., de Silva-Pereira, R.A., *et al.* (2019). Sm16, a *Schistosoma mansoni* immunomodulatory protein, fails to elicit a protective immune response and does not have an essential role in parasite survival in the definitive host. *J. Immunol. Res.* *2019*, eCollection 2019.

Bourke, C.D., Prendergast, C.T., Sanin, D.E., Oulton, T.E., Hall, R.J., and Mountford, A.P. (2015). Epidermal keratinocytes initiate wound healing and pro-inflammatory immune responses following percutaneous schistosome infection. *Int. J. Parasitol.* *45*, 215–224.

Brattig, N.W., Rathjens, U., Ernst, M., Geisinger, F., Renz, A., and Tischendorf, F.W. (2000). Lipopolysaccharide-like molecules derived from *Wolbachia* endobacteria of the filaria *Onchocerca volvulus* are candidate mediators in the sequence of inflammatory and antiinflammatory responses of human monocytes. *Microbes Infect.* *2*, 1147–1157.

Brattig, N.W., Bazzocchi, C., Kirschning, C.J., Reiling, N., Büttner, D.W., Ceciliani, F., Geisinger, F., Hochrein, H., Ernst, M., Wagner, H., *et al.* (2004). The major surface protein of *Wolbachia* endosymbionts in filarial nematodes elicits immune responses through TLR2 and TLR4. *J. Immunol.* *173*, 437–445.

Brink, L.H., McLaren, D.J., and Smithers, S.R. (1977). *Schistosoma mansoni*: a comparative study of artificially transformed schistosomula and schistosomula recovered after cercarial penetration of isolated skin. *Parasitology* *74*, 73–86.

Brown, A., Girod, N., Billett, E.E., and Pritchard, D.I. (1999). *Necator americanus* (human hookworm)

aspartyl proteinases and digestion of skin macromolecules during skin penetration. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60, 840–847.

Brown, J.A., Dorfman, D.M., Ma, F.-R., Sullivan, E.L., Munoz, O., Wood, C.R., Greenfield, E.A., and Freeman, G.J. (2003). Blockade of programmed death-1 ligands on dendritic cells enhances T cell activation and cytokine production. *J. Immunol.* 170, 1257–1266.

Butterworth, A.E., Wassom, D.L., Gleich, G.J., Loegering, D.A., and David, J.R. (1979). Damage to schistosomula of *Schistosoma mansoni* induced directly by eosinophil major basic protein. *J. Immunol.* 122, 221–229.

Camous, L., Roumenina, L., Bigot, S., Brachemi, S., Frémeaux-Bacchi, V., Lesavre, P., and Halbwachs-Mecarelli, L. (2011). Complement alternative pathway acts as a positive feedback amplification of neutrophil activation. *Blood* 117, 1340–1349.

Caulfield, J.P., Lenzi, H.L., Elsas, P., and Dessein, A.J. (1985). Ultrastructure of the attack of eosinophils stimulated by blood mononuclear cell products on schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Pathol.* 120, 380–390.

Chen, L., Rao, K.V.N., He, Y.X., and Ramaswamy, K. (2002). Skin-stage schistosomula of *Schistosoma mansoni* produce an apoptosis-inducing factor that can cause apoptosis of T cells. *J. Biol. Chem.* 277, 34329–34335.

Constant, S.L., and Wilson, R.A. (1992). *In vivo* lymphocyte responses in the draining lymph nodes of mice exposed to *Schistosoma mansoni*: preferential proliferation of T cells is central to the induction of protective immunity. *Cell. Immunol.* 139, 145–161.

Cook, P.C., Aynsley, S.A., Turner, J.D., Jenkins, G.R., Van Rooijen, N., Leeto, M., Brombacher, F., and Mountford, A.P. (2011). Multiple helminth infection of the skin causes lymphocyte hypo-responsiveness mediated by Th2 conditioning of dermal myeloid cells. *PLoS Pathog.* 7, e1001323.

Cook, P.C., Jones, L.H., Jenkins, S.J., Wynn, T.A., Allen, J.E., and MacDonald, A.S. (2012). Alternatively activated dendritic cells regulate CD4<sup>+</sup> T-cell polarization *in vitro* and *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 9977–9982.

Crunkhorn, P., and Willis, A.L. (1971). Cutaneous reactions to intradermal prostaglandins. *Br. J. Pharmacol.* 41, 49–56.

\*Cupp, E.W., and Cupp, M.S. (1997). Black fly (Diptera: Simuliidae) salivary secretions: importance in vector competence and disease. *J. Med. Entomol.* 34, 87–94.

Da'dara, A.A., and Krautz-Peterson, G. (2014). New insights into the reaction of *Schistosoma mansoni* cercaria to the human complement system. *Parasitol. Res.* 113, 3685–3696.

Dalton, J.P., Lewis, S.A., Aronstein, W.S., and Strand, M. (1987). *Schistosoma mansoni*: Immunogenic glycoproteins of the cercarial glycocalyx. *Exp. Parasitol.* 63, 215–226.

Dessein, A., Samuelson, J.C., Butterworth, A.E., Hogan, M., Sherry, B.A., Vadas, M.A., and David, J.R. (1981). Immune evasion by *Schistosoma mansoni*: loss of susceptibility to antibody or complement-dependent eosinophil attack by schistosomula cultured in medium free of macromolecules. 82, 357–374.

Dewals, B.G., Marillier, R.G., Hoving, J.C., Leeto, M., Schwegmann, A., and Brombacher, F. (2010). IL-4R $\alpha$ -independent expression of mannose receptor and Ym1 by macrophages depends on their IL-10 responsiveness. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 4, e689.

van Diepen, A., van der Plas, A.J., Kozak, R.P., Royle, L., Dunne, D.W., and Hokke, C.H. (2015). Development of a *Schistosoma mansoni* shotgun O-glycan microarray and application to the discovery of new antigenic schistosome glycan motifs. *Int. J. Parasitol.* 45, 465–475.

Doyle, A.G., Herbein, G., Montaner, L.J., Minty, A.J., Caput, D., Ferrara, P., and Gordon, S. (1994). Interleukin-13 alters the activation state of murine macrophages *in vitro*: Comparison with interleukin-4 and interferon- $\gamma$ . *Eur. J. Immunol.* 24, 1441–1445.

Durães, F. V., Carvalho, N.B., Melo, T.T., Oliveira, S.C., and Fonseca, C.T. (2009). IL-12 and TNF- $\alpha$  production by dendritic cells stimulated with *Schistosoma mansoni* schistosomula tegument is TLR4- and MyD88-dependent. *Immunol. Lett.* 125, 72–77.

\*Fallon, P.G., and Mangan, N.E. (2007). Suppression of Th2-type allergic reactions by helminth infection. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 220–230.

Fátima, M., Horta, M., and Ramalho-Pinto, J.F. (1991). Role of human decay-accelerating factor in the evasion of *Schistosoma mansoni* from the complement-mediated killing *in vitro*. *J. Exp. Med.* 174, 1399–1406.

Fishelson, Z., Amiri, P., Friend, D.S., Marikovsky, M., Petitt, M., Newport, G., and McKerrow, J.H. (1992). *Schistosoma mansoni*: Cell-specific expression and secretion of a serine protease during development of cercariae. *Exp. Parasitol.* 75, 87–98.

Fouad, A.S., Oswald, I.P., Caspar, P., Hieny, S., Keefer, L., Sher, A., and James, S.L. (1997). Developmental differences determine larval susceptibility to nitric oxide-mediated killing in a murine model of vaccination against *Schistosoma mansoni*. *Infect. Immun.* 65, 219–226.

Fusco, A.C., Salafsky, B., and Kevin, M.B. (1985). *Schistosoma mansoni*: eicosanoid production by cercariae. *Exp. Parasitol.* 59, 44–50.

\*Garcia, L.S. (2016). *Diagnostic medical parasitology* (Washington, DC, USA: ASM Press).

\*Gause, W.C., Wynn, T.A., and Allen, J.E. (2013). Type 2 immunity and wound healing: evolutionary refinement of adaptive immunity by helminths. *Nat. Rev. Immunol.* *13*, 607–614.

Gordon, R., and Griffiths, R. (1951). Observations on the means by which the cercariae of *Schistosoma mansoni* penetrate mammalian skin, together with an account of certain morphological changes observed in the newly penetrated larvae. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* *45*, 227–243.

Gounni, A.S., Lamkhioued, B., Ochial, K., Tanaka, Y., Delaporte, E., Capron, A., Kinet, J.P., and Capron, M. (1994). High-affinity IgE receptor on eosinophils is involved in defence against parasites. *Nature* *367*, 183–186.

Granzer, M., and Haas, W. (1986). The chemical stimuli of human skin surface for the attachment response of *Schistosoma mansoni* cercariae. *Int. J. Parasitol.* *16*, 575–579

Gui, M., Kusel, J.R., Shi, Y.E., and Ruppel, A. (1995). *Schistosoma Japonicum* and *S. Mansoni*: Comparison of larval migration patterns in mice. *J. Helminthol.* *69*, 19–25.

Haas, W., Granzer, M., and Garcia, E.G. (1987). Host identification by *Schistosoma japonicum* cercariae. *J. Parasitol.* *73*, 568–577.

Haas, W., Haberl, B., Schmalfuss, G., and Khayyal, M.T. (1994). *Schistosoma haematobium* cercarial host-finding and host-recognition differs from that of *S. mansoni*. *J. Parasitol.* *80*, 345–353.

Haas, W., Haeberlein, S., Behring, S., and Zoppelli, E. (2008). *Schistosoma mansoni*: Human skin ceramides are a chemical cue for host recognition of cercariae. *Exp. Parasitol.* *120*, 94–97.

Haeberlein, S., and Haas, W. (2008). Chemical attractants of human skin for swimming *Schistosoma mansoni* cercariae. *Parasitol. Res.* *102*, 657–662.

Hall, C.A., Eugenio, M.D., and Damian, R.T. (2004). *Schistosoma mansoni*: antigen-presenting cells emigrating from skin exposed to attenuated cercariae activate lymphoid cells and transfer protection in C57Bl/6 mice. *J. Parasitol.* *90*, 733–739.

Hara, I., Hara, S., Salafsky, B., and Shibuya, T. (1993). *Schistosoma mansoni*: Fatty acid-induced cercarial tail loss does not involve eicosanoid production and chemoreceptors. *Exp. Parasitol.* *77*, 484–488.

He, Y.X., Chen, L., and Ramaswamy, K. (2002). *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, and *S. japonicum*: early events associated with penetration and migration of schistosomula through human skin. *Exp. Parasitol.* *102*, 99–108.

He, Y.X., Salafsky, B., and Ramaswamy, K. (2005). Comparison of skin invasion among three major species of *Schistosoma*. *Trends Parasitol.* *21*, 201–203.

Hervé, M., Angeli, V., Pinzar, E., Wintjens, R., Faveeuw, C., Narumiya, S., Capron, A., Urade, Y.,

Capron, M., Riveau, G., *et al.* (2003). Pivotal roles of the parasite PGD2 synthase and of the host D prostanoid receptor 1 in schistosome immune evasion. *Eur. J. Immunol.* *33*, 2764–2772.

Hesse, M., Piccirillo, C.A., Belkaid, Y., Prufer, J., Mentink-Kane, M., Leusink, M., Cheever, A.W., Shevach, E.M., and Wynn, T.A. (2004). The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10-producing innate effector and regulatory T cells. *J. Immunol.* *172*, 3157–3166.

Hogg, K.G., Kumkate, S., Anderson, S., and Mountford, A.P. (2003a). Interleukin-12 p40 secretion by cutaneous CD11c<sup>+</sup> and F4/80<sup>+</sup> cells is a major feature of the innate immune response in mice that develop Th1-mediated protective immunity to *Schistosoma mansoni*. *Infect. Immun.* *71*, 3563–3571.

Hogg, K.G., Kumkate, S., and Mountford, A.P. (2003b). IL-10 regulates early IL-12-mediated immune responses induced by the radiation-attenuated schistosome vaccine. *Int. Immunol.* *15*, 1451–1459.

\*Hokke, C.H., and van Diepen, A. (2017). Helminth glycomics – glycan repertoires and host-parasite interactions. *Mol. Biochem. Parasitol.* *215*, 47–57.

Horizonte, B. (1966). Purification and characterization of the proteolytic enzyme complex of cercarial extract. *Comp. Biochem. Physiol. B* *18*, 689–700.

Howelis, R.E., Ramalho-Pinto, F.J., Gazzinelli, G., De Oliveira, C., Figueiredo, E.A., and Pellegrino, J. (1974). *Schistosoma mansoni*: mechanism of cercarial tail and its significance to host penetration. *36*, 373–385.

Inciani, R.N., and McLaren, D.J. (1981). Neutrophil-mediated cytotoxicity to schistosomula of *Schistosoma mansoni in vitro*: studies on the kinetics of complement and/or antibody-dependent adherence and killing. *Parasite Immunol.* *3*, 107–126.

Inciani, R.N., and McLaren, D.J. (1984). Histopathological and ultrastructural studies of cutaneous reactions elicited in naive and chronically infected mice by invading schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Int. J. Parasitol.* *14*, 259–276.

James, S.L. (1986). Activated macrophages as effector cells of protective immunity to schistosomiasis. *Immunol. Res.* *5*, 139–148.

Jenkins, S.J., and Mountford, A.P. (2005). Dendritic cells activated with products released by schistosome larvae drive Th2-type immune responses, which can be inhibited by manipulation of CD40 costimulation. *Infect. Immun.* *73*, 395–402.

Jenkins, S.J., Hewitson, J.P., Ferret-Bernard, S., and Mountford, A.P. (2005). Schistosome larvae stimulate macrophage cytokine production through TLR4-dependent and -independent pathways. *Int. Immunol.* *17*, 1409–1418.

De Jesus Jeremias, W., Da Cunha Melo, J.R., Baba, E.H., Coelho, P.M.Z., and Kusel, J.R. (2015). The

skin migratory stage of the schistosomulum of *Schistosoma mansoni* has a surface showing greater permeability and activity in membrane internalisation than other forms of skin or mechanical schistosomula. *Parasitology* 142, 1143–1151.

Kassis, T., Skelton, H.M., Lu, I.M., Moorhead, A.R., and Dixon, J.B. (2014). An integrated *in vitro* imaging platform for characterizing filarial parasite behavior within a multicellular microenvironment. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, e3305.

Kawauchi, Y., Igarashi, M., and Kojima, N. (2014). C-type lectin receptor SIGNR1 expressed on peritoneal phagocytic cells with an immature dendritic cell-like phenotype is involved in uptake of oligomannose-coated liposomes and subsequent cell maturation. *Cell. Immunol.* 287, 121–128.

Kazura, J.W., Fanning, M.M., Blumer, J.L., and Mahmoud, A.A.F. (1981). Role of cell-generated hydrogen peroxide in granulocyte-mediated killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* *in vitro*. *J. Clin. Invest.* 67, 93–102.

Khurana, S., Singh, G., Bhatti, H., and Malla, N. (2010). Human subcutaneous dirofilariasis in India: A report of three cases with brief review of literature. *Indian J. Med. Microbiol.* 28, 394.

\*Kimber, I., and Cumberbatch, M. (1992). Stimulation of Langerhans cell migration by tumor necrosis factor  $\alpha$ . *J. Investig. Dermatology* 99, 48–50.

Klabunde, J., Berger, J., Jensenius, J.C., Klinkert, M.Q., Zelck, U.E., Kremsner, P.G., and Kun, J.F.J. (2000). *Schistosoma mansoni*: adhesion of mannan-binding lectin to surface glycoproteins of cercariae and adult worms. *Exp. Parasitol.* 95, 231–239.

Kouřilová, P., Hogg, K.G., Kolářová, L., and Mountford, A.P. (2004). Cercarial dermatitis caused by bird schistosomes comprises both immediate and late phase cutaneous hypersensitivity reactions. *J. Immunol.* 172, 3766–3774.

Kuipers, M.E., Nolte-‘t Hoen, E.N.M., van der Ham, A.J., Ozir-Fazalalikhani, A., Nguyen, D.L., de Korne, C.M., Koning, R.I., Tomes, J.J., Hoffmann, K.F., Smits, H.H., *et al.* (2020). DC-SIGN mediated internalisation of glycosylated extracellular vesicles from *Schistosoma mansoni* increases activation of monocyte-derived dendritic cells. *J. Extracell. Vesicles* 9, 1753420.

Kumar, P., and Ramaswamy, K. (1999). Vaccination with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni* preferentially induced the accumulation of interferon- $\gamma$  producing T cells in the skin and skin draining lymph nodes of mice. *Parasitol. Int.* 48, 109–119.

Kumkate, S., Jenkins, G.R., Paveley, R.A., Hogg, K.G., and Mountford, A.P. (2007). CD207+ Langerhans cells constitute a minor population of skin-derived antigen-presenting cells in the draining lymph node following exposure to *Schistosoma mansoni*. *Int. J. Parasitol.* 37, 209–220.

\*Kwarteng, A., Ahuno, S.T., and Akoto, F.O. (2016). Killing filarial nematode parasites: role of treatment options and host immune response. *Infect. Dis. Poverty* 5, 86.

Langenberg, M.C.C., Hoogerwerf, M.A., Koopman, J.P.R., Janse, J.J., Kos-van Oosterhoud, J., Feijt, C., Jochems, S.P., de Dood, C.J., van Schuijlenburg, R., Ozir-Fazalalikhani, A., *et al.* (2020). A controlled human *Schistosoma mansoni* infection model to advance novel drugs, vaccines and diagnostics. *Nat. Med.* 26, 326–332.

Lawrence, R.A., Carter, T., Bell, L. V., Else, K.J., Summerfield, J., and Bickle, Q. (2009). Altered antibody responses in mannose-binding lectin-A deficient mice do not affect *Trichuris muris* or *Schistosoma mansoni* infections. *Parasite Immunol.* 31, 104–109.

Lawson, J.R., and Wilson, R.A. (1980). The survival of the cercariae of *Schistosoma mansoni* in relation to water temperature and glycogen utilization. *Parasitology* 81, 337–348.

Lenzi, H.L., Mednis, A.D., and Desein, A.J. (1985). Activation of human eosinophils by monokines and lymphokines: source and biochemical characteristics of the eosinophil cytotoxicity-enhancing activity produced by blood mononuclear cells. *Cell. Immunol.* 94, 333–346.

Maas-Szabowski, N., Stark, H.J., and Fusenig, N.E. (2000). Keratinocyte growth regulation in defined organotypic cultures through IL-1-induced keratinocyte growth factor expression in resting fibroblasts. *J. Invest. Dermatol.* 114, 1075–1084.

Macháček, T., Turjanicová, L., Bulantová, J., Hrdý, J., Horák, P., and Mikeš, L. (2018). Cercarial dermatitis: a systematic follow-up study of human cases with implications for diagnostics. *Parasitol. Res.* 117, 3881–3895.

Machado, A.J., Gazzinelli, G., Pellegrino, J., and da Silva, W.D. (1975). *Schistosoma mansoni*: the role of the complement C3-activating system in the cercaricidal action of normal serum. *Exp. Parasitol.* 38, 20–29.

Machado, D.C., Horton, D., Harrop, R., Peachell, P.T., and Helm, B.A. (1996). Potential allergens stimulate the release of mediators of the allergic response from cells of mast cell lineage in the absence of sensitization with antigen-specific IgE. *Eur. J. Immunol.* 26, 2972–2980.

Magalhães, K.G., Luna-Gomes, T., Mesquita-Santos, F., Corrêa, R., Assunção, L.S., Atella, G.C., Weller, P.F., Bandeira-Melo, C., and Bozza, P.T. (2019). Schistosomal lipids activate human eosinophils via toll-like receptor 2 and PGD2 receptors: 15-LO role in cytokine secretion. *Front. Immunol.* 10, 1–11.

McKean, J.R., Anwar, A.R.E., and Kay, A.B. (1981). *Schistosoma mansoni*: complement and antibody damage, mediated by human eosinophils and neutrophils, in killing schistosomula *in vitro*. *Exp. Parasitol.* 51, 307–317.



- McKerrow, J.H., Keene, W.E., Jeong, K.H., and Werb, Z. (1983). Degradation of extracellular matrix by larvae of *Schistosoma mansoni*. I. Degradation by cercariae as a model for initial parasite invasion of host. *Lab. Invest.* 49, 195–200.
- McLaren, D.J., and James, S.L. (1985). Ultrastructural studies of the killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by activated macrophages *in vitro*. *Parasite Immunol.* 7, 315–331.
- McLaren, D.J., McKean, J.R., Olsson, I., Venge, P., and Kay, A.B. (1981). Morphological studies on the killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by human eosinophil and neutrophil cationic proteins *in vitro*. *Parasite Immunol.* 3, 359–373.
- \*McSorley, H.J., and Maizels, R.M. (2012). Helminth infections and host immune regulation. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 585–608.
- McWilliam, H.E.G., Driguez, P., Piedrafita, D., Maupin, K.A., Haab, B.B., McManus, D.P., and Meeusen, E.N. (2013). The developing schistosome worms elicit distinct immune responses in different tissue regions. *Immunol. Cell Biol.* 91, 477–485.
- de Melo, T.T., de Sena, I.C., Araujo, N., and Fonseca, C.T. (2014). Antibodies are involved in the protective immunity induced in mice by *Schistosoma mansoni* schistosomula tegument (Smteg) immunization. *Parasite Immunol.* 36, 107–111.
- Meyer, S., Van Liempt, E., Imberty, A., Van Kooyk, Y., Geyer, H., Geyer, R., and Van Die, I. (2005). DC-SIGN mediates binding of dendritic cells to authentic pseudo-Lewis Y glycolipids of *Schistosoma mansoni* cercariae, the first parasite-specific ligand of DC-SIGN. *J. Biol. Chem.* 280, 37349–37359.
- Mickum, M.L., Prasanphanich, N.S., Song, X., Dorabawila, N., Mandalasi, M., Lasanajak, Y., Luyai, A., Secor, W.E., Wilkins, P.P., Van Die, I., *et al.* (2016). Identification of antigenic glycans from *Schistosoma mansoni* by using a shotgun egg glycan microarray. *Infect. Immun.* 84, 1371–1386.
- Miyamasu, M., Nakajima, T., Misaki, Y., Izumi, S., Tsuno, N., Kasahara, T., Yamamoto, K., Morita, Y., and Hirai, K. (1999). Dermal fibroblasts represent a potent major source of human eotaxin: *in vitro* production and cytokine-mediated regulation. *Cytokine* 11, 751–758.
- Morris, G.P. (1971). The fine structure of the tegument and associated structures of the cercaria of *Schistosoma mansoni*. *Zeitschrift Für Parasitenkd.* 36, 15–31.
- Mountford, A.P., Coulson, P.S., and Wilson, R.A. (1988). Antigen localization and the induction of resistance in mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 97, 11–25.
- Nanduri, J., Dennis, J.E., Rosenberry, T.L., Mahmoud, A.A.F., and Tartakoff, A.M. (1991). Glycocalyx of bodies versus tails of *Schistosoma mansoni* cercariae lectin-binding, size, charge, and electron microscopic characterization. *J. Biol. Chem.* 266, 1341–1347.

Nevoralová, Z. (2006). *Larva migrans cutanea*. Čas. Lék. Čes. 145, 325-327.

Nuriya, S., Yagita, H., Okumura, K., and Azuma, M. (1996). The differential role of CD86 and CD80 co-stimulatory molecules in the induction and the effector phases of contact hypersensitivity. Int. Immunol. 8, 917–926.

Ouaissi, A.M., Santoro, F., and Capron, A. (1980a). *Schistosoma mansoni*: ultrastructural damages due to complement on schistosomula *in vitro*. Exp. Parasitol. 50, 74–82.

Ouaissi, M.A., Santoro, F., and Capron, A. (1980b). Interaction between *Schistosoma mansoni* and the complement system. Receptors for C3b on cercariae and schistosomula. Immunol. Lett. 1, 197–210.

\*Pasparakis, M., Haase, I., and Nestle, F.O. (2014). Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. Nat. Rev. Immunol. 14, 289–301.

Paveley, R.A., Aynsley, S.A., Cook, P.C., Turner, J.D., and Mountford, A.P. (2009). Fluorescent imaging of antigen released by a skin-invading helminth reveals differential uptake and activation profiles by antigen presenting cells. PLoS Negl. Trop. Dis. 3, e528.

Paveley, R.A., Aynsley, S.A., Turner, J.D., Bourke, C.D., Jenkins, S.J., Cook, P.C., Martinez-Pomares, L., and Mountford, A.P. (2011). The mannose receptor (CD206) is an important pattern recognition receptor (PRR) in the detection of the infective stage of the helminth *Schistosoma mansoni* and modulates IFN $\gamma$  production. Int. J. Parasitol. 41, 1335–1345.

\*Pearce, B.E.J., Caspar, P., Grzych, J., Lewis, F.A., and Sher, A. (1991). Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. J. Exp. Med. 173, 159–166.

Prendergast, C.T., Sanin, D.E., Cook, P.C., and Mountford, A.P. (2015). CD4<sup>+</sup> T cell hyporesponsiveness after repeated exposure to *Schistosoma mansoni* larvae is dependent upon interleukin-10. Infect. Immun. 83, 1418–1430.

Prendergast, C.T., Sanin, D.E., Mountford, A.P., Prendergast, C.T., Sanin, D.E., Mountford, A.P., and Davies, S.J. (2016). Alternatively activated mononuclear phagocytes from the skin site of infection and the impact of IL-4R $\alpha$  signalling on CD4<sup>+</sup> T cell survival in draining lymph nodes after repeated exposure to *Schistosoma mansoni* cercariae. PLoS Negl. Trop. Dis. 10, e0004911.

Ramaswamy, K., Salafsky, B., Lykken, M., and Shibuya, T. (1995). Modulation of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-1RA production in human keratinocytes by schistosomulae of *Schistosoma mansoni*. Immunol. Infect. Dis. 5, 100–107.

Ramaswamy, K., Salafsky, B., Potluri, S., He, Y.X., Li, J.W., and Shibuya, T. (1996). Secretion of an anti-inflammatory, immunomodulatory factor by schistosomulae of *Schistosoma mansoni*. J. Inflamm.

46, 13–22.

Ramaswamy, K., He, Y.X., and Salafsky, B. (1997). ICAM-1 and iNOS expression increased in the skin of mice after vaccination with  $\gamma$ -irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Exp. Parasitol.* *86*, 118–132.

Ramaswamy, K., Kumar, P., and He, Y.-X. (2000). A role for parasite-induced PGE2 in IL-10-mediated host immunoregulation by skin stage schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *J. Immunol.* *165*, 4567–4574.

Redpath, S.A., van der Werf, N., MacDonald, A.S., Maizels, R.M., and Taylor, M.D. (2015). *Schistosoma mansoni* larvae do not expand or activate Foxp3+ regulatory T cells during their migratory phase. *Infect. Immun.* *83*, 3881–3889.

Reichert, F., Pilger, D., Schuster, A., Lesshaft, H., Guedes de Oliveira, S., Ignatius, R., and Feldmeier, H. (2018). Epidemiology and morbidity of hookworm-related *cutaneous larva migrans* (hrcm): results of a cohort study over a period of six months in a resource-poor community in Manaus, Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* *12*, e0006662.

El Ridi, R., Ragab, S., Lewis, S., and Afifi, A. (2001). Role of IgE in primary murine *Schistosomiasis mansoni*. *Scand. J. Immunol.* *53*, 24–31.

Riengrojpitak, S., Anderson, S., and Wilson, R.A. (1998). Induction of immunity to *Schistosoma mansoni*: interaction of schistosomula with accessory leucocytes in murine skin and draining lymph nodes. *Parasitology* *117*, 301–309.

Royer, P.-J., Emara, M., Yang, C., Al-Ghouleh, A., Tighe, P., Jones, N., Sewell, H.F., Shakib, F., Martinez-Pomares, L., and Ghaemmaghami, A.M. (2010). The mannose receptor mediates the uptake of diverse native allergens by dendritic cells and determines allergen-induced T Cell polarization through modulation of IDO activity. *J. Immunol.* *185*, 1522–1531.

Samuelson, J.C., and Caulfield, J.P. (1985). The cercarial glycocalyx of *Schistosoma mansoni*. *J. Cell Biol.* *100*, 1423–1434.

Samuelson, J.C., and Caulfield, J.P. (1986). Cercarial glycocalyx of *Schistosoma mansoni* activates human complement. *Infect. Immun.* *51*, 181–186.

Sanin, D.E., and Mountford, A.P. (2015). Sm16, a major component of *Schistosoma mansoni* cercarial excretory/secretory products, prevents macrophage classical activation and delays antigen processing. *Parasit. Vectors* *8*, 1.

Sanin, D.E., Prendergast, C.T., Bourke, C.D., and Mountford, A.P. (2015). Helminth infection and commensal microbiota drive early IL-10 production in the skin by CD4+ T Cells that are functionally

suppressive. PLOS Pathog. 11, e1004841.

Santoro, F., Vandemeulebroucke, B., Liebart, M.C., and Capron, A. (1982). *Schistosoma mansoni*: role *in vivo* of complement in primary infection of mice. Exp. Parasitol. 54, 40–46.

Saunders, S.P., Walsh, C.M., Barlow, J.L., Mangan, N.E., Taylor, P.R., McKenzie, A.N.J., Smith, P., and Fallon, P.G. (2009). The C-type lectin SIGNR1 binds *Schistosoma mansoni* antigens *in vitro*, but SIGNR1-deficient mice have normal responses during schistosome infection. Infect. Immun. 77, 399–404.

Sher, A., James, S.L., Simpson, A.J., and Lazdins, J.K. (1982). Macrophages as effector cells of protective immunity in murine schistosomiasis.III. Loss of susceptibility to macrophage-mediated killing during maturation of *S. mansoni* schistosomula from the skin to the lung stage . J. Immunol. 128, 1876–1879.

Sher, A., Coffman, R.L., Hieny, S., Scott, P., and Cheever, A.W. (1990). Interleukin 5 is required for the blood and tissue eosinophilia but not granuloma formation induced by infection with *Schistosoma mansoni*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 87, 61–65.

Shiff, C.J., Cmelik, S.H.W., Ley, H.E., and Kriel, R.L. (1972). The influence of human skin lipids on the cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. J. Parasitol. 58, 476–480.

Da Silva, W.D., and Kazatchkine, M.D. (1980). *Schistosoma mansoni*: activation of the alternative pathway of human complement by schistosomula. Exp. Parasitol. 50, 278–286.

Smit, C.H., Homann, A., Van Hensbergen, V.P., Schramm, G., Haas, H., Van Diepen, A., and Hokke, C.H. (2015). Surface expression patterns of defined glycan antigens change during *Schistosoma mansoni* cercarial transformation and development of schistosomula. Glycobiology 25, 1465–1479.

Smit, C.H., Kies, C.L., McWilliam, H.E.G., Meeusen, E.N.T., Hokke, C.H., and van Diepen, A. (2016). Local antiglycan antibody responses to skin stage and migratory schistosomula of *Schistosoma japonicum*. Infect. Immun. 84, 21–33.

Sombetzki, M., Koslowski, N., Rabes, A., Seneberg, S., Winkelmann, F., Fritzsche, C., Loebermann, M., and Reisinger, E.C. (2018). Host defense versus immunosuppression: unisexual infection with male or female *Schistosoma mansoni* differentially impacts the immune response against invading cercariae. Front. Immunol. 9, 861.

Stirewalt, M.A., and Cousin, C.E. (1983). *Schistosoma mansoni* : stimulus and transformation of cercariae into schistosomules. Exp. Parasitol. 56, 358–368.

Swartz, J.M., Dyer, K.D., Cheever, A.W., Ramalingam, T., Pesnicak, L., Domachowske, J.B., Lee, J.J.,

Lee, N.A., Foster, P.S., Wynn, T.A., *et al.* (2006). *Schistosoma mansoni* infection in eosinophil lineage-ablated mice. *Blood* 108, 2420–2427.

Takayama, K., Yokozeki, H., Ghoreishi, M., Satoh, T., Katayama, I., Umeda, T., and Nishioka, K. (1999). IL-4 inhibits the migration of human Langerhans cells through the downregulation of TNF receptor II expression. *J. Invest. Dermatol.* 113, 541–546.

Tavares, C.A.P., Gazzinelli, G., Mota-Santos, T.A., and Da Silva, W.D. (1978). *Schistosoma mansoni*: complement-mediated cytotoxic activity *in vitro* and effect of de complementation on acquired immunity in mice. *Exp. Parasitol.* 46, 145–151.

Thomas, P.G., Carter, M.R., Atochina, O., Da’Dara, A.A., Piskorska, D., McGuire, E., and Harn, D.A. (2003). Maturation of dendritic cell 2 phenotype by a Helminth glycan uses a Toll-like receptor 4-dependent mechanism. *J. Immunol.* 171, 5837–5841.

Turner, J.D., Meurs, L., Dool, P., Bourke, C.D., Mbow, M., Dièye, T.N., Mboup, S., Polman, K., and Mountford, A.P. (2013). Schistosome infection is associated with enhanced whole-blood IL-10 secretion in response to cercarial excretory/secretory products. *Parasite Immunol.* 35, 147–156.

Vetter, J.C.M., and Van der Linden, L.M.E. (1977). Skin penetration of infective hookworm larvae. I. The path of migration of infective larvae of *Ancylostoma braziliense* in canine skin. *Zeitschrift Für Parasitenkd.* 53, 255–262.

Vignali, D.A.A., Crocker, P., Bickle, Q.D., Cobbold, S., Waldmann, H., and Taylor, M.G. (1989). A role for CD4+ but not CD8+ T cells in immunity to *Schistosoma mansoni* induced by 20 krad-irradiated and ro 11-3128-terminated infections. *Immunology* 67, 466–472.

Weiss, J.B., Magnani, J.L., and Strand, M. (1986). Identification of *Schistosoma mansoni* glycolipids that share immunogenic carbohydrate epitopes with glycoproteins. *J. Immunol.* 136, 4275–4282.

\*White, M.P.J., McManus, C.M., and Maizels, R.M. (2020). Regulatory T-cells in helminth infection: induction, function and therapeutic potential. *Immunology* 160, 248–260.

Winkel, B.M.F., Dalenberg, M.R., De Korne, C.M., Feijt, C., Langenberg, M.C.C., Pelgrom, L., Ganesh, M.S., Yazdanbakhsh, M., Smits, H.H., De Jong, E.C., *et al.* (2018). Early induction of human regulatory dermal antigen presenting cells by skin-penetrating *Schistosoma mansoni* cercariae. *Front. Immunol.* 9, 2510.

Yaranal, P.J., Priyadarshini, M.M., and Purushotham, B. (2015). Human subcutaneous dirofilariasis of forearm an unusual presentation. *Indian J. Dermatol.* 60, 103.

\* sú značené sekundárne citácie