

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra parazitologie



**Antigeny schistosom a imunitní odpověď specifických a
nespecifických hostitelů**

Schistosome antigens and immune response in specific and non-
specific hosts

Bakalářská práce

Libuše Turjanicová

Školitel: RNDr. Libor Mikeš, PhD.

2009

Abstrakt:

Motolice čeledi Schistosomatidae jsou původci závažných onemocnění lidí a hospodářských i volně žijících zvířat. Imunitní systém napadených hostitelů rozvíjí proti těmto parazitům odpověď. Ta je do značné míry tkáňově specifická. V kůži hostitele se vyvíjí většinou odpověď, v plicích se polarizuje spíše k Th1. Vajíčka schistosom mají pozoruhodnou schopnost vyvolat silnou Th2 odpověď. Granulomy kolem vajíček jsou příčinou patologických změn vnitřních orgánů a ve finále až úmrtí hostitele. Imunitní systém reaguje na antigeny vázané na povrchu parazita nebo na antigeny, které sekretuje. Antigeny se liší podle druhu schistosomy, ale také podle vývojového stádia, které je exprimuje. Reakce různých hostitelů na stejný antigen se rozvěž může lišit. Existují léky proti schistosomóze, zatím však nebyla vyvinuta dostatečně účinná vakcína. Antigeny jsou zkoumány kvůli možnému objevu účinné vakcíny a mají i diagnostický význam.

Klíčová slova: Schistosomóza, imunitní odpověď, antigeny, cercariová dermatitida

Abstract:

The trematodes of the family Schistosomatidae are causative agents of serious disease in human beings and both domestic and wild animals. The immune system of infected hosts develops a response against these parasites. This is tissue specific. The skin usually develops Th2 response in the lungs it rather polarizes to Th1. Schistosomes eggs have a remarkable ability to induce a strong Th2 response. Granulomas around the eggs are the cause of pathological changes in inner organs sometimes leading to death of the host. The immune system responds to antigens bound on the surface of the parasite, or to the secreted antigens. Antigens vary according to schistosome species, but also according to the developmental stage, which expresses them. The reaction of different hosts on the same antigen may also vary. There are drugs against schistosomiasis, however, no sufficiently effective vaccine has been developed yet. developed sufficiently effective vaccine. Antigens are being investigated for possible discovery of an effective vaccine and for the purpose of serodiagnostics of schistosomiasis.

Key words: Schistosomiasis, immune response, cercarial dermatitis

Obsah:

Obsah	2
1.1 Abstrakt.....	1
1.2 Abstract	1
2. Úvod.....	3
3. Cyklus.....	5
4.1 Penetrace cercárie do definitivního hostitele.....	7
4.2 Glykokalyx.....	7
5. Migrace.....	7
5.1 Migrace viscerálních druhů.....	8
5.2 Migrace nazálních druhů	9
6.1 Imunitní mechanismy	9
6.1.1 Th1 typ imunitní odpovědi.....	9
6.1.2 Th2 typ imunitní odpovědi.....	10
7. Imunita v Kůži	10
7.1 Cercáriová dermatitida – imunitní reakce nespecifických hostitelů	13
8. Imunita v plicích.....	14
9. Imunita v krvi.....	15
10. Imunita v CNS - <i>T. regenti</i>	16
11.1 Antigeny schistosom.....	16
11.2 Cercárie.....	18
11.3 Schistosomuly.....	19
11.4 Dospělci.....	19
11.5 Vajíčka.....	22
11.6 Antigeny <i>T. regenti</i>	23
12. Vývoj vakcíny.....	23
13. Závěr a poděkování.....	24
14.1 Použitá literatura.....	29
14.2 Sekundární prameny.....	36

2. Úvod

Schistosomy se řadí mezi motolice s dvouhostitelskými cykly vázanými na vodu, jejichž cercárie aktivně napadají hostitele. Jedná se o parazity savců a ptáků, jimž jako mezihostitelé slouží vodní plži. Zástupci čeledi Schistosomatidae jsou na rozdíl od většiny ostatních motolic gonochoristé.

Poprvé byla nákaza schistosomami popsána u člověka v roce 1851 německým lékařem Theodorem Bilharzem. Právě podle objevitele bylo onemocnění, které schistosomy způsobují, dlouho označováno jako bilharzióza. Jedná se o tropické onemocnění s poměrně nízkou mortalitou, ale velkou prevalencí v areálech svého výskytu. Postižení lidé mají vážné zdravotní problémy. Dlouhý chronický průběh onemocnění vede až k úplnému vyřazení z pracovního procesu a způsobuje tak nezanedbatelné ekonomické ztráty. Podle statistik WHO je v současné době (k roku 2002) nakaženo 200 milionů lidí v 74 zemích světa. Stejně tak je schistosomóza zvířat, hlavně dobytka, zásadním veterinárním problémem. Nejenže přináší značné ekonomické problémy, ale také nakažený dobytek může sloužit jako rezervoár pro infekci lidí některými druhy.

Jako specifický hostitel slouží člověk nejčastěji pěti druhům schistosom: *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum* a *S. haematobium*. První čtyři druhy způsobují obvykle chronickou hepatitidu a intestinální fibrózu. *S. haematobium* je asociovaná se vznikem fibrózy, kalcifikace a zúžení močového traktu (McManus and Loukas 2008). Navíc lidé mohou být náhodně nakaženi i zvířecími druhy schistosom, např. *S. bovis*, nebo *S. margrebowiei*, a to nejen savčími, ale také druhy, které napadají ptáky (např. rod *Trichobilharzia*). Ptačí schistosomy se však nedokáží při průniku do nespecifického hostitele vyvinout v dospělce (Horák *et al.* 2002). Tyto ptačí schistosomy při primoinfekci dokážou proniknout do různých hostitelových tkání, např. *T. regenti* do nervové soustavy myši (Hrádková and Horák 2002), nebo *T. szidati* do plic (Horák and Kolářová 2000). Opětovné setkání hostitelova imunitního systému s pronikajícími cercáriemi se projevuje jako cercáriová dermatitida, zánětlivé kožní onemocnění (Horák *et al.* 2002).

Většina dat použitých v této práci byla získána na modelového druhu *S. mansoni*, který je nejlépe prostudován. Cyklus tohoto druhu je běžně udržován v laboratořích. Většinou jsou jako konečných hostitelé s používány různé kmeny myší.

Tato práce si klade za cíl:

- Popsat průběh imunitních reakcí při schistosomóze.
- Seznámit se s nejvýznamnějšími antigeny uvolňovanými jednotlivými stádii.

- Nastítnit budoucí možný vývoj vakcíny proti schistosomóze.

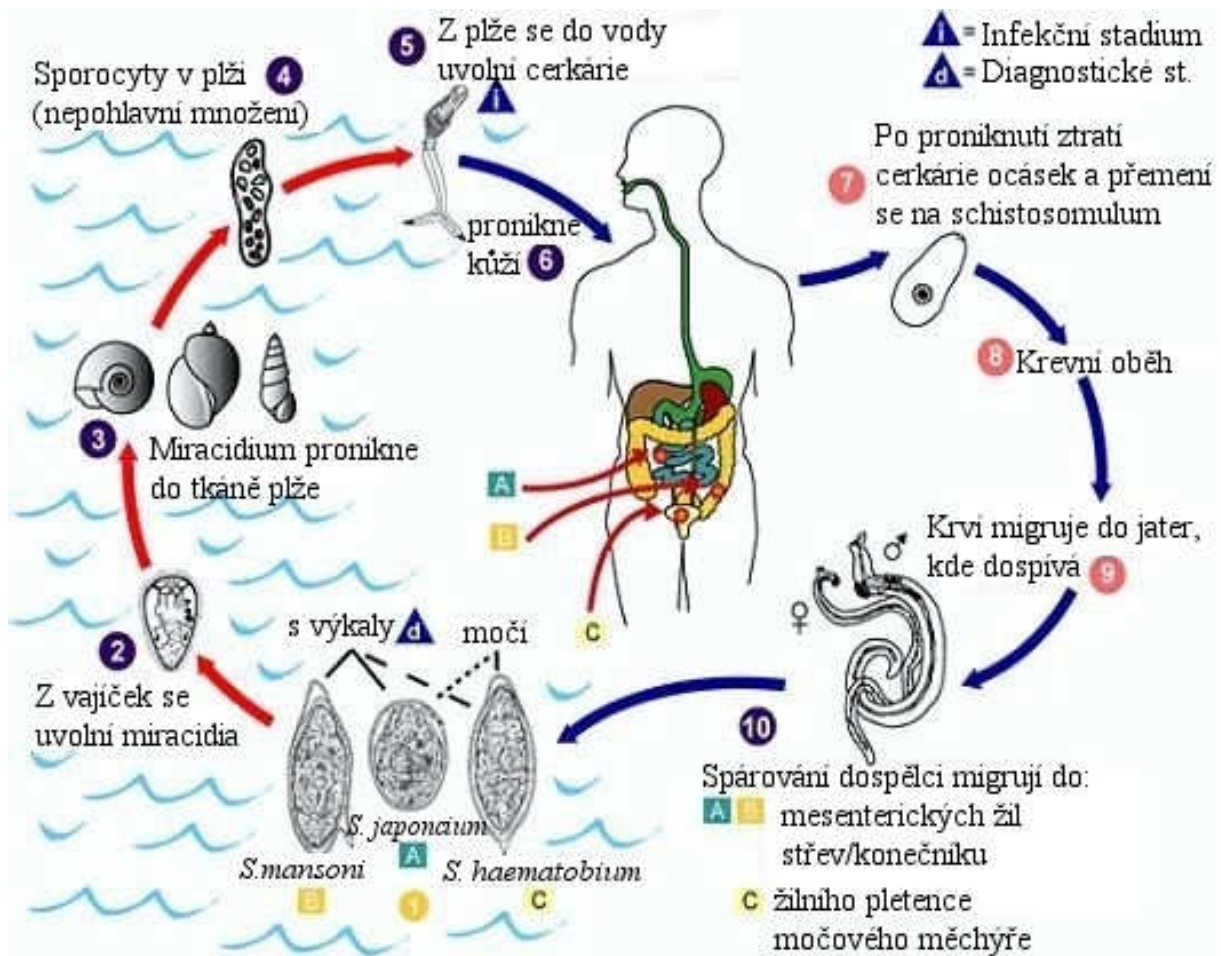
3. Cyklus

Čeď Schistosomatidae je charakteristická dvouhostitelským cyklem zahrnujícím vodního plže jako mezihostitele a teplokrevného obratlovce jako hostitele konečného. Cyklus (viz Obr.1) ve většině případů začíná uvolněním vajíček z hostitele do vody, ta mají často charakteristickou stavbu stěny s různými výběžky a trny. Ve vodě se z vajíčka vlivem změny osmotického tlaku líhne pohyblivé stádium miracidium (Kassim and Gilbertson 1976, Bair and Etger 1973). To aktivně vyhledává ve vodě druhově specifického měkkýše, který slouží jako mezihostitel. Penetruje do jeho svalnaté nohy. V blízkosti místa průniku se vyvíjí v primární (mateřskou) sporocystu, v té vznikají další stádia, sekundární (dceřiné) sporocysty. Ty migrují tělem měkkýše do místa definitivní lokalizace, kterým je hepatopankreas. Zde se uvnitř sekundárních sporocyst vyvíjejí cercárie, stádia, která se cyklicky uvolňují z infikovaného plže a penetrují skrz kůži konečného hostitele.

Další migrace závisí na tom, zda se jedná o viscerální či o nazální druh. Viscerální schistosomy (patří mezi ně všechny druhy schistosom napadající člověka) osidlují vnitřní orgány, dospělci nazálních druhů žijí v tkáních nosní dutiny. Cercárie po nalezení hostitele pronikne přes jeho kůži (viz. penetrace) a mění se na schistosomulu. Ta povětšinou užívá k pohybu po těle hostitele cévní soustavu. Schistosomula během několika dní domigruje do plic. Opustí cévu, nějaký čas zůstává v plicním alveolu a poté se vrací do krevního řečiště. Krevním oběhem je zanesena až do místa definitivní lokalizace, kde je dokončen vývoj v dospělého. Místo definitivní lokalizace se liší podle druhu. V případě *S. japonicum* je to hepatoportální systém zásobující játra (zejména *vena portae*), v případě *S. haematobium* cévy urogenitálního systému a u *S. mansoni* mezenterické cévy (Kumkate *et al.* 2007). Zde se setkávají obě pohlaví. V případě zástupců rodu *Schistosoma* samec sevře samici ve ventrální břišní rýze, neboli *canalis gynaecophorus* a dochází ke kopulaci. Samice vyprodukuje během dne 300 až 3000 vajíček, počty se liší podle druhu. Vajíčka nakladená do cév příslušných orgánů způsobí zánětlivou reakci, díky níž se dostanou do lumen střeva nebo do močových cest a vyjdou ven s výkaly či močí (McManus and Loukas, 2008).

O nazálních druzích není příliš známo. Patří mezi ně např. *Trichobilharzia regenti*, která má mezi schistosomami, díky svému neurotropnímu chování a cyklu, značně specifické postavení. Jedná se o schistosomu parazitující u vrubozobých ptáků. Po penetraci do definitivního hostitele využívá schistosomula jako migrační cestu nervovou soustavu (Horák *et al.* 1999). Způsobuje tak svému hostiteli různé neuromotorické poruchy (Hrádková and Horák 2002). Přes CNS se dostane až do nosní dutiny. Právě v tkáních nosní sliznice žijí dospělci. Další zvláštností této schistosomy

je to, že se na rozdíl od jiných druhů miracidium dostává z vajíčka při izoosmotickém tlaku již v nosní dutině (Horák *et al.* 1998a).



Obr.1 Životní cyklus *S. mansoni*, *S. japonicum* a *S. haematobium*. Přepřacováno z [http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Schistosomiasis.htm]

4.1 Penetrace cercárie do definitivního hostitele

Penetrace do hostitele probíhá u většiny druhů obdobně, jen s malými rozdíly. Cercárie v průběhu penetrace odvrhují vidličnatý ocásek. Pomáhá jim s tím na zadní části těla umístěný svalový límeček. Někteří autoři považují jeho odvržení za počátek transformace v schistosomulu (He *et al.* 2005).

Pro průnik do hostitele jsou cercárie vybaveny několika druhy penetračních žláz. U cercárie *S. mansoni* byla popsána hlavová žláza, 2 páry preacetabulárních (cirkumacetabulárních) a 3 páry postacetabulárních žláz (Stirewalt and Kruidenier 1961; Dorsey 1976). Jedná se vždy o jednobuněčné žlásky.

Penetrační proces má většinou tři kroky. První fáze je přichycení cercárie na povrch kůže. Podnět k trvalému kontaktu s hostitelovou kůží dají cercárii různé mastné kyseliny a hydrofilní

extrakty. V případě druhu *S. mansoni* dají tento stimul ceramidy a diacylglyceroly na povrchu hostitele (Haas *et al.* 1994). Následuje druhá fáze, plazení po povrchu hostitele a hledání vhodného místa k vniknutí do něj. Poslední fází je průnik přes epidermis. Cercárie stimulovaná nenasyčenými mastnými kyselinami z povrchu kůže, kyselinou linolovou a linolenovou (Shiff *et al.* 1972), začne pomocí svalové kontrakce vypouštět z acetabulárních žláz sekretorická granula, jejichž obsah narušuje hostitelovu tkáň. Jejich složení se liší podle toho, zda jsou produkována v preacetabulárních, či v cirkumacetabulárních žlázách. Obsahují proteázy se substrátovou specifitou vůči proteinům hostitelovy kůže.

V sekretech z cirkumacetabulárních žláz byly nalezeny serinové proteázy, nejznámější je cercáriová elastáza (30 kDa) popsána u druhů *S. mansoni* a *S. haematobium*. Tato proteáza štěpí keratin, laminin, kolagen IV, elastin a další složky kůže (McKerrow *et al.* 1985; Marikovsky *et al.* 1990). U *S. japonicum* nebyla v acetabulárních žlázách serinová proteáza nalezena (Chlichlia *et al.* 2005).

Cysteinové peptidázy byly pozorovány u druhů *S. mansoni*, *S. japonicum* (Klinkert *et al.* 1989), ale také u *T. regenti* a *T. szidati* (Mikeš *et al.* 2005). Jedná se o tzv. cathepsiny B a L. Podle hypotézy Dalton *et al.* (1996,1997) slouží k lyzi svrchní zrohovatělé vrstvy kůže. Dalton *et al.* (1997) je pomocí imunolokalizační studie zjistil v postacetabulárních žlázách *S. mansoni*. Byla zaznamenána i přítomnost metaloproteázy u druhu *Schistosoma douthitti* (Amiri 1988), ale jedná se o ojedinělý případ. Dále se v sekretu postacetabulárních žláz objevují lektiny a mucinové polysacharidy. V obsahu preacetabulárních žláz můžeme nalézt velké množství vápníku (Dresden and Asch 1977, Mikeš *et al.* 2005). Zajímavá je přítomnost eikosanoidů. Není zřejmé, zda jsou tyto látky, které vznikají jako produkty degradace mastných kyselin, obsaženy v žlázových sekrecích, či vznikají přeměnou v kůži obsažených mastných kyselin. Mají schopnost utlumit imunitní reakci hostitele a působí jako vazodilatátory (Nevhualu *et al.* 1993).

Ve střevech lidských schistosom byly objeveny střevní cathepsiny, které schistosomy využívají k trávení krevních proteinů. Jednalo se o cathepsiny B, C, D, E, F a L (Caffrey *et al.* 2004). Schistosomy patří mezi prvoústé živočichy, střevní obsah je vyvrhován spolu se zbytky tráveniny a do kontaktu s hostitelem se tak dostanou i střevní proteázy, které působí histoliticky a imunogenně (Skelly and Shomaker 2001). Cathepsin B1 je u rodu *Schistosoma* lokalizován ve střevě (Caffrey *et al.* 2004). (Dvořák *et al.* 2005) pozoroval, že cathepsin B1 obsažený ve střevě *T. regenti* dokáže štěpit i myelin. Dolečková *et al.* (2009) identifikovali novou cathepsin B peptidázu, která je podobná cathepsinu B2 lidských schistosom.

Zástupci čeledi *Schistosomatidae* parazitují pouze u teplotokrevných obratlovců. Chemické a strukturní složení kožního povrchu hostitelů se příliš neliší. Schistosomy vykazují hostitelskou specifitu, ale např. *T. regenti* může na základě stejných signálů penetrovat i do kůže svého

nespecifického hostitele. Nedokáže v něm však dokončit vývoj (Horák *et al.* 2002). Pokud se jedná o první setkání hostitele se schistosomami, může cercárie proniknout kůží a dokonce po určitý čas přežívat v hostitelových tkáních. V jistých případech se schistosomuly *T. regenti* dokáží dostat až do hostitelovy nervové tkáně (Hrádková and Horák 2002). Stejně tak mohou penetrovat do nespecifického hostitele i další druhy ptačích schistosom např. *Trichobilharzia szidati*, jejíž schistosomuly jsou nacházeny v plicích nespecifických hostitelů (Horák and Kolářová 2000). Při opakovaném vystavení nespecifického hostitele ptačím schistosomám způsobují penetrující cercárie onemocnění nazývané „cercáriová dermatitida“ (Horák *et al.* 2002). Jedná se o alergickou kožní reakci, která se projevuje nejčastěji svědící vyrážkou, ale v některých případech i edémy, otoky uzlin a horečkami (Horák *et al.* 2002).

4.2 Glykokalyx

Glykokalyx, kterým je kryto tělo cercárií je značně imunogenní. Vážou se na něj jak lidské, tak zvířecí protilátky (Kemp 1972; Kemp *et al.* 1973 citace dle Samuelson and Caulfield 1985) a je rozpoznáván i lidským komplementem (Samuelson and Caulfield 1986). Je to v podstatě 1-2 µm silná fibrilární síť, která kryje parazitovo tělo. Glykokalyx obsahuje řadu sacharidů, jako je L-fukosa, D-galaktosa, D-glukosamin, D-galaktosamin a D-manosa (Nanduri *et al.* 1991; Xu *et al.* 1994) Je jimi tvořen z 82 % (Nanduri *et al.* 1991). Nanduri *et al.* (1991) pozorovali, že glykokalyx *S. mansoni* nese celkový záporný náboj, který má větší záporný náboj na ocásku, než na těle cercárie. Bylo zjištěno, že i když se cercárie při přeměně v schistosomulu glykokalyxu zbavuje, jsou ještě několik hodin po přeměně na jejím povrchu patrné jeho zbytky (Samuelson and Caulfield 1985).

Glykokalyx, ale i obsah žlázek, jsou bohatým zdrojem antigenů. Podhorský *et al.* (2009) se pokusili použít vazbu specifických lektinů na povrch cercárií *T. szidati*, *T. franki* a *T. regenti*, jako metodu k rozlišení těchto druhů. Navážené lektiny se však významně nelišily. Horák *et al.* (1998) pozorovali, že schistosomula *T. szidati* snižuje a následně úplně eliminuje uhlovodíkové epitopy na svém povrchu. Na ultrastrukturální úrovni je tento proces spojen se ztrátou glykokalyxu. Jedná se nejspíš o způsob, kterým se snaží schistosomy vyhnout imunitní odpovědi.

5. Migrace

Migrace má několik fází. Cercárie a z ní se vyvíjející schistosomula musí proniknout přes různé kožní vrstvy a poté migrovat přes další orgány, než se dostanou na místo konečné lokalizace. Opět se její průběh liší podle toho, zda se jedná o viscerální, či názální skupinu, ale také podle zkoumaného druhu. Například *S. mansoni* a *S. heamatobium* mají podobný průběh migrace, dermálních cév dosáhne 90% schistosomul 72 hodin po infekci (p.i.).

Schistosomuly *S. japonicum* můžeme nalézt v dermálních cévách dokonce už 2 hodiny p.i., většina jich dosáhne 24 hodin p.i. (He *et al.* 2003).

5.1. Migrace viscerálních druhů

Jako příklad zástupce viscerálních druhů nám může posloužit právě *S. mansoni*, jejíž biologie je nejlépe prostudována.

Po penetraci cercárie zůstává v *stratum corneum*. Leží zde rovnoběžně s povrchem těla. Její další migrace probíhá šikmo přes *stratum malpighi*. V této chvíli již probíhá transformační proces na schistosomulu.

Mění při tom svůj metabolismus z aerobního na anaerobní, stavbu tělního povrchu a morfologii. Cercárie aktivně odvrhují svůj glykokalyx, který je značně imunogenní. Transformace se také pojí s přestavbou tegumentu. S jednotkovou (trojvrstevnou) membránou tegumentu, splývají měchýřky s několika vrstevnou stěnou. Stává se z ní tak dvojitá membrána, ta se jeví v elektronovém transmisním mikroskopu jako 7 vrstevná. (Hockley and McLaren 1973)

Poté, podle jedné z teorií, schistosomula *S. mansoni* opustí kůži a pomocí hlavové žlázy, z které vypustí hustou granulární sekreci, pronikne stěnou cévy a dostane se do krevního řečiště (Curwen and Wilson, 2003). Jiní autoři zastávají názor, že hlavová žláza by mohla sloužit k opravě a přestavbě penetrací poškozeného tegumentu (Dorsey 1976). Acetabulární žlázy už jsou v této chvíli prázdné (Stirewalt and Dorsey 1974). Schistosomula se nechá proudem krve zanést do plic, vstupuje do nich plicní arterií.

Načasování příchodu larev do plic se mezi jednotlivými druhy liší. V případě *S. mansoni* vrcholí příchod 5.-6. den p.i., schistosomuly *S. japonicum* domigrují do plic nejčastěji už třetí den p.i. (Gui *et al.*, 1995 citace dle Gobert *et al.*, 2006) V plicích schistosomula prodělává další vývoj. Vyvíjí se v plicních kapilárách. Zvětšuje povrch svého membránového tegumentu, mezi 3. a 8. dnem od infekce až o 52% (Crabtree and Wilson, 1980 citace dle Simpson 1987). Bylo pozorováno, že schistosomuly se mohou během plicní fáze migrace vyživovat hostitelovou plasmou. (Crabtree 1982 citace dle Simpson 1987) Schistosomuly prolamují stěnu kapilár a vstupují do plicních alveolů. Zde se setkávají s nejsilnější imunitní odpovědí (Crabtree and Wilson 1986a citace dle Wilson 2009). Schistosomuly v plicích obvykle zůstávají 3-4 dny (Wilson *et al.* 1986). Z alveolů se schistosomuly dostanou opět do krevního řečiště.

Z plic se schistosomuly dostávají intravaskulární cestou. Opustí plíce a skrz plicní věnu se dostanou do levé části srdce. Jsou pak krevním oběhem distribuovány po celém těle. Vstoupí pak splachnickými arteriemi skrz kapilární pleteně do hepato-portálního systému a zůstanou v játrech. Zbylé schistosomuly se opět kapilárami vrátí do plic a cirkulují tak dlouho, dokud se také nedostanou do místa konečné lokalizace (Wheater and Wilson, 1979; Miller and Wilson

1980; citace dle Simpson 1987) Během migrace portálním systémem schistosomy dospějí a spárují se (McManus and Loukas 2008).

5.2 Migrace nazálních druhů

Krom *T. regenti* je známo několik dalších druhů nazálních schistosom, např. *Schistosoma nasale*. Přesto migrace nazálních druhů nikdy nebyla zkoumána na jiném modelu. Navíc migrace schistosomuly *T. regenti* je značně specifická díky jejímu neurotropnímu chování. Celý průběh je velmi rychlý. Po penetraci kůží schistosomula vyhledává periferní nervy. Byla zde nalezena již 1,5 dne po infekci. V dalších dnech postupuje přes míchu (nálezy již 2 dny po infekci) a mozek (12. den po infekci) až do místa své konečné lokalizace. Zde, ve sliznici nazální dutiny, byli juvenilní červi zaznamenáni už 13. den. (Hrádková and Horák, 2002). Stojí za zmínku, že délka cyklu je odhadována na pouhých 23 – 25 dní od počátku infekce. (Horák *et al.*, 1999; Kolářová *et al.*, 2001).

6.1 Imunitní mechanismy

Povrch těla hostitele je kryt kůží. Ta je zodpovědná za ochranu proti mechanickým, fyzikálním, chemickým i dalším poškozením. Má za úkol zabránit také průniku patogenů z vnějšího prostředí. Při průchodu hostitelovou kůží se cercárie setkávají s molekulami a buněčnými složkami nespecifické (vrozené, neadaptivní) i specifické (adaptivní) imunity.

Nespecifická imunita je vývojově původnější než imunita specifická. Tyto složky imunity jsou v organismu přítomny již před začátkem infekce. Mohou tak zahájit obranu proti patogenu téměř okamžitě (řádově v desítkách minut). Fungují na principu toho, že reagují na strukturní či funkční podobnosti cizorodých struktur. Vybírají ty, které jsou společné pro velké skupiny patogenů. Nespecifická imunita pod sebe zahrnuje fagocytující, ale také cytotoxické buňky (buněčné složky), komplement, lektiny a interferony (humorální složky).

Specifická (získaná) imunitní odpověď se vyvinula později. Na tuto skutečnost se usuzuje z toho důvodu, že tento její typ nalézáme až u obratlovců, kde zdokonaluje práci i zde přítomných složek nespecifické imunity. V těle organismu je přítomno obrovské množství imunitních složek, které jsou schopny vysoce specificky reagovat na struktury, které nejsou tělu vlastní. Humorální složky jsou reprezentovány protilátkami, buněčné složky zastupují hlavně různé druhy lymfocytů.

Klíčovým momentem imunitní odpovědi je rozhodnutí, zda se přikloní k tzv. Th1 či k Th2 reakci.

6.1.1 Th1 typ imunitní odpovědi

Jinak lze tuto reakci označit také jako zánětlivou. Pokud se nezralý CD4+ (cluster of differentiation) T-lymfocyt setká s makrofágem, který na svém MHC II (major histokompatibility

complex) vystavuje fragmenty patogena, může tyto peptidové struktury rozeznat svým TCR (T-cell receptor). T-lymfocytový prekurzor se naváže na infikovaný makrofág pomocí TCR a dalších ligandů a receptorů. Infikovaný makrofág vyše soubor signálů, nejen přes ligandové spojení, ale také humorálně. Produkuje IL-12, který podporuje přeměnu prekurzoru v Th1-lymfocyt, který má za úkol se dělit, aby vznikla skupina klonů rozeznávajících danou strukturu parazita. Samy Th1-lymfocyty produkují IL-2, který má autokrinní funkci. Podporuje jejich množení a proliferaci. Th1-lymfocyty mají za úkol aktivovat makrofágy. Provádějí to sekrecí IFN- γ , který makofágy berou jako signál pro přechod do aktivovaného stavu. Aktivované makrofágy uvolňují do okolí další látky, které stimulují další T-lymfocyty.

Tento typ imunitní odpovědi se obvykle uplatňuje proti intracelulárním parazitům (Hořejší and Bartůňková 2005).

6.1.2 Th2 typ imunitní odpovědi

Prekurzorový T-lymfocyt se může diferenciovat v Th2-lymfocyt pokud se setká s APC (antigen-presenting cell), která má na povrchu MHC II, na kterém je navázán cizorodý fragment, který je T-prekurzorem rozeznán. Důležité je, aby v okolí byla vysoká hladina IL-4, který je pro vývin v Th2-lymfocyt nezbytný. Prekurzorový T-lymfocyt se pomocí TCR, adhezivních molekul a kostimulačních proteinů naváže na APC. Působící signály dají podnět k tomu, aby se z prekurzoru stal Th2-lymfocyt a zahájilo se jeho dělení a proliferace. Hotové Th2-lymfocyty mají za úkol pomocí volných či membránově vázaných cytokinů stimulovat vznik co nejvíce klonů B-lymfocytů, které se vážou na danou patogenní strukturu.

Th2 odpověď je asociovaná s tvorbou protilátek. B-lymfocyty, přeměněné vlivem setkání s antigenem v plazmatické buňky, produkují imunoglobulíny (Ig), které jsou vázány na jejich povrchu (IgM a IgD), nebo jsou jimi sekretovány do okolí (IgG1-IgG4, IgA1, IgA2, IgE). Protilátky opsonizují a neutralizují patogeny a jeho struktury a fungují jako aktivátory komplementu.

Tato imunitní reakce je v těle používána z pravidla v boji proti extracelulárním parazitům (Hořejší and Bartůňková 2005).

7. Imunita v kůži

Zdá se, že imunitní události v kůži na počátku infekce schistosomami, hrají důležitou iniciační roli v pozdějším vzniku získané imunitní odpovědi v podkožních mízních uzlinách a v plicích (Mountford and Trottein, 2004). Podle Harrop *et al.* (2000) jsou právě molekuly, které se uvolňují během penetrace cercárie do kůže, první parazitární proteiny, s kterými se hostitelův imunitní systém setkává.

V jednotlivých vrstvách kůže, jimiž cercárie prochází při penetraci, se mohou setkat s těmito typy hostitelových buněk: v epidermis s keratinocyty, melanocyty, intraepiteliálními lymfocyty nebo Langerhansovými buňkami. V dermis se setkávají s hlavně s fibroblasty, mastocyty a v malém množství s paměťovými T-lymfocyty. Mnohé z těchto buněk mají významný podíl na vzniku imunitní odpovědi v kůži proti invadujícím cercáriím.

Vznik imunitní reakce v kůži byl studován na ozáření oslabených cercáriích. Po té co byl modelový organismus (myš) vystaven těmto cercáriím, se vyvíjela níže popsaná imunitní odpověď.

Schistosomuly penetrující kůží vyvolávají okamžité uvolnění zánětlivých cytokinů, makrofágy produkovaných zánětlivých proteinů (macrophage inflammatory protein) MIP -1 α a MIP-1 β . Ty vedou k rychlému a krátkodobému nástupu produkce IL-6 a IL-1 β (Hogg *et al.* 2003) a v odpovědi na ně jsou uvolněny další cytokiny, včetně IL-12 a IL-18 (Mountford and Trottein 2004). MIP -1 α a MIP - 1 β také fungují jako atraktanty pro monocyty, lymfocyty a nezralé dendritické buňky (Taub *et al.* 1993; Sozzani *et al.* 1997; Ying *et al.* 2001 citace dle Hogg *et al.* 2003a).

Senzitizace kůže způsobená cercárií je asociována s produkcí IL-1 β . Produkují ho Langerhansovy buňky (LC) a funguje jako autokrinní signál pro migraci do dermis (Enk *et al.* 1993 citace dle Kimber *et al.* 1998) a působí také na keratinocyty (KC), které stimuluje k uvolňování TNF- α (Kimber and Cumberbatch, 1992 citace dle Angeli *et al.* 2001), který dává LC sekundární signál k opuštění epidermis. Za normálních podmínek jsou LC spojeny s keratinocyty pomocí E-cadherinu (Tang *et al.* 1993). Při setkání s patogenem, v tomto případě s cercárií, LC pohltnou jeho antigeny, vlivem IL-1 β a TNF- α klesne exprese E-cadherinu, LC se uvolní ze sousedství KC a migrují do nejbližší lymfatické uzliny. LC jsou vlastně antigen prezentující dendritické buňky, které vystaví fragmenty parazitárních antigenů na svých MHC II třídě, kde je rozeznávají naivní T-lymfocyty, které se tímto způsobem stimulují k pomnožení (Romani *et al.* 2003a citace dle Kumkate *et al.* 2007). Recentní práce, např. Kumkate *et al.* (2007) však rozpoutaly diskusi, zda LC nemají v imunitních událostech spojených s penetrací cercárií spíše regulační než stimulační roli. Stoitzner *et al.* (2006) rozvíjí teorii, že hlavní úloha CD 207+ LC spočívá spíše než v iniciaci imunitních mechanismů v křížové prezentaci antigenů navázaných na MHC I dalším APC v kožních lymfatických uzlinách.

LC samy produkují řadu cytokinů, např. IL-1 β , IL-6, IL-12 a IL-15 (Enk *et al.* 1993). T-lymfocyty aktivované pomocí LC migrují zpět do kůže a záleží na druhu a koncentraci cytokinů, s kterými se zde setkají, zda se vyvinou v Th1 nebo Th2 lymfocyty.

Při průniku hostitelovou kůží způsobují schistosomy hostiteli edémy a dilataci periferních cév. Vzápětí následuje vtok neutrofilů a později i dalších buněk do kůže (Hogg *et al.* 2003). Je

zajímavé, že se liší složení sekretovaných cytokinů podle druhu penetrující schistosomuly. Vlivem infekce cercáriemi *S. haematobium* se zvýšily hladiny IL-1ra, IL-10 a TNF α , podobně reagoval imunitní systém při napadení *S. mansoni*. Penetrace cercárie *S. japonicum* vyvolala vzestup sekrece IL- β , IL-1ra, IL-2, IL-8, IL-10, IL-15, IL-18 a TNF- α (He, *et al.* 2003).

Keratinocyty ovlivňují imunitní odpověď v kůži tím, že produkují další různé cytokiny a to jak prozánětlivé, např. IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-7 a IL-12, tak také ty, co zánět potlačují, např. IL-1ra a IL-10 (Chu and Morris 1989).

Polařizace k Th1 odpovědi je zprostředkována pomocí dvou cytokinů - INF- γ a IL-2. K Th2 se imunitní odpověď přikloní, pokud jsou do prostředí sekretovány IL-4, IL-5, IL-10 a IL-13. Makrofágy jsou podle Bentley *et al.* (1981) první buněčný typ aktivovaný penetrací cercárie. Akumulují se kolem schistosomuly (Crabtree and Wilson 1986). Tyto akumulované makrofágy mohou zabít schistosomulu dvěma odlišnými mechanismy. První je nezávislý na přítomnosti protilátek navázaných na povrchu schistosomuly. Je zprostředkován makrofágy aktivovanými pomocí IFN- γ , které zabijí schistosomulu produkcí toxických metabolitů, např. pomocí NO (James 1986). Pro spuštění druhého způsobu zabití schistosomul, je potřeba aby na jejich povrchu byly navázány antiparazitální protilátky. Makrofágy se tak díky nim mohou navázat na schistosomulu a vypustit na jejich tegument sekretorická granula (Butterworth 1984).

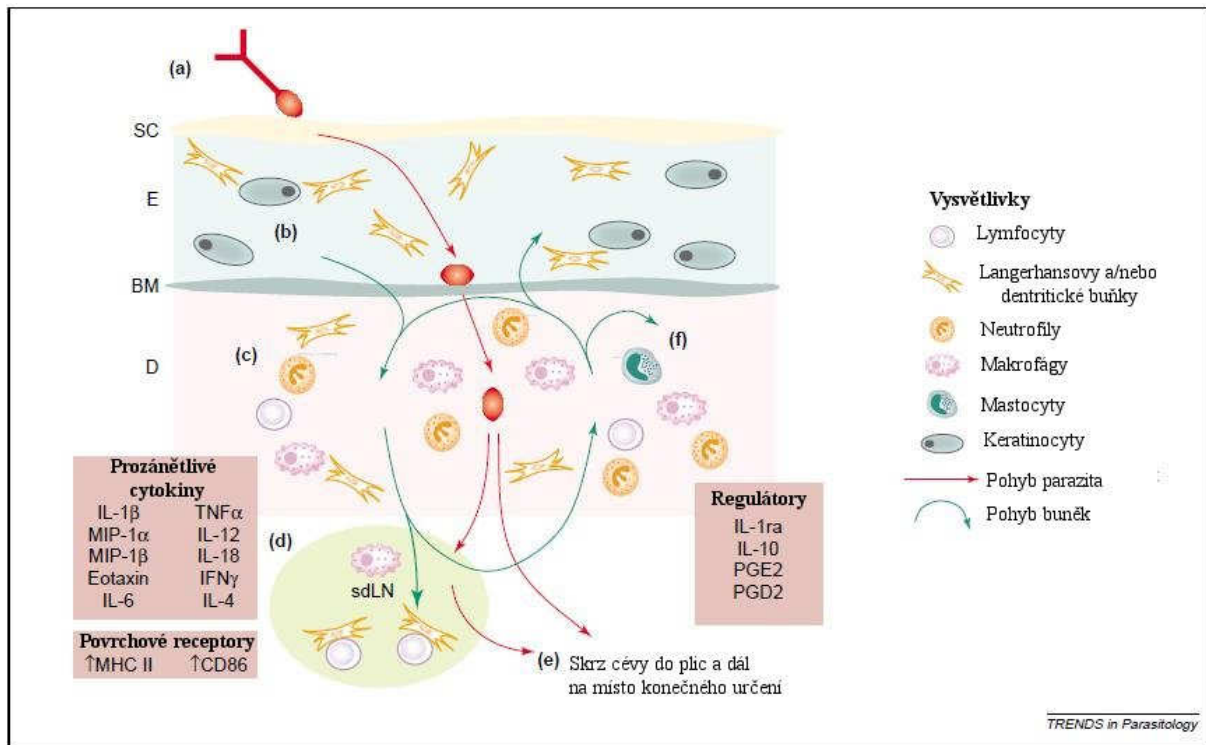
Přesto je imunitním systémem rozpoznána a zadržena v kůži jen velmi malá část penetrujících schistosom (Wilson, 2009). Podle Mangold and Dean (1983) překoná kožní bariéru během 5-7 dnů po infekci, při použití myšního modelu, až 90% cercárií *S. mansoni*. Schistosomy si totiž vyvinuly celou řadu mechanismů, jejichž pomocí unikají imunitnímu systému hostitele.

Jedním ze způsobů vyhnutí je odhození glykokalyxu při přeměně cercárie v schistosomulu. Glykokalyx aktivuje alternativní cestu komplementu (Dias da Silva and Kazatchkine 1980) a stimuluje produkci protilátek (Kemp *et al.* 1973; Horák *et al.* 1998b).

Dalším způsobem úniku je využití působení eikosanoidů na regulaci imunitního systému hostitele. Mezi eikosanoidy můžeme zařadit i prostaglandiny. Bylo popsáno, že syntéza i velmi malého množství (pmol) prostaglandinu-E₂ (PGE₂), tlumí produkci IL-12 a zvyšují sekreci IL-10 (Van der Pouw Kraan *et al.* 1995, Enk and Katz 1992). Působením parazita na kyselinu arachidonovou vzniká PGE₂ (Ruzicka and Printz, 1984 citace dle Ramaswamy *et al.* 2000), který působí na myši i lidské keratinocyty a stimuluje je k produkci IL-10. Dokáže tak utlumit vznikající kožní zánětlivou reakci (Ramaswamy *et al.* 2000).

Další prostaglandin, který ovlivňuje imunitní pochody při kožní infekci *S. mansoni*, je PGD₂. Působí na kožní Langerhansovy buňky a zpomaluje jejich migraci do lymfatických uzlin (Angeli *et al.* 2001)

V neposlední řadě dokáže *S. mansoni* mocí serinové proteázy (28 kDa), rozštěpit navázané komplementové proteiny C3, C3b a C9 (Marikovský *et al.* 1990).



Obr.2 Migrace a imunitní odpověď v kůži, proti ozáření oslabené cercárii (*S. mansoni*) v myším modelu. Vysvětlivky: BM, bazální membrána, E, epidermis, D, dermis, SC, *stratum corneum*, sdLN, podkožní lymfatická uzlina. Přepřacováno od Mountford and Trottein (2004)

7.1 Cercáriová dermatitida – imunitní reakce nespecifických hostitelů:

Zdá se, že ptačí schistosomy penetrují rychleji, než druhy napadající savce. Platí to jak pro průnik kůží specifického i nespecifického hostitele. Cercárie *T. szidati* pro plný vstup do lidské kůže potřebuje 4 min (Haas and Haerberlein 2009).

Cercáriová dermatitida způsobovaná ptačími druhy schistosom, nejčastěji rodem *Trichobilharzia* (Horák *et al.* 2002), je alergická hypersenzitivní kožní reakce, která se vyvíjí po opakované penetraci cercárií do kůže nespecifických hostitelů. Některé druhy ptačích schistosom (*T. szidati*, *T. regenti* atd.) dokážou proniknout do těla savců, ale většina jich zahyne během několika dnů po vniknutí (Haas and Pietsch, 1991; Kouřilová *et al.*, 2004). Pronikající cercárie mohou nějaký čas přežívat v hostitelových tkáních, dokážou se transformovat na schistosomulu, ale nedokážou vývoj dokončit.

Kolem místa průniku se vytvoří edém (Horák *et al.* 2002). Otok je vyvolán mastocyty a makrofágy produkovaným histaminem (van Loveren *et al.*, 1997 citace dle Kouřilová *et al.*

2004). Do místa průniku jsou navíc atrahovány leukocyty jako neutrofilů, eosinofilů, makrofágů, CD4+ lymfocytů a mastocytů (Kouřilová *et al.* 2004).

Kouřilová *et al.* (2004) objasnili mechanismy imunitní odpovědi při primárním, ale také při opětovném setkání nesespecifického hostitele s penetrujícími ptačími schistosomami.

Při prvním setkání nesespecifického hostitele bývá imunitní reakce mírnější. Po první infekci způsobené *T. regenti* je prvních několik hodin po penetraci (1-6) zánět provázen uvolňováním IL-1 β , IL-6 a IL-12p40. Antigenem stimulované lymfocyty odpovídají na první setkání s pronikajícími cerkáriemi smíšenou Th1/Th2 cytokinovou odpovědí. Při opakovaném vystavení cerkáriím *T. regenti* (4x) byla zaznamenána jasná Th2 polarizace s dominantní sekrecí IL-4 a IL-5. Tato polarizace byla dokázána i zvýšením antigeně specifických sérových protilátek IgM, IgG1 a IgE, následujícím po hostitelově několikanásobné infekci (Lichtenbergová *et al.* 2008).

8. Imunita v plicích

Pľíce hrají podle Wilson *et al.* (1986) hlavní roli v eliminaci přichozících schistosomů.

Schistosomuly v plicích běžně setrvávají 3-4 dny, během nichž se vyvíjí a připravují k opětovnému vstupu do krevního řečiště (Wilson *et al.* 1986). Harrop *et al.* (2000) naznačují, že pľíce mohou být místem, v kterém schistosomula několik dnů zůstává a změny, které zde probíhají, jí přizpůsobí k další migraci. Proto je v tomto období citlivá k zásahu imunitního systému.

Schistosomuly přicházející do pľic vyvolávají zánětlivou reakci, shlukne se kolem nich buněčný infiltrát, který je složen převážně s CD4+ lymfocytů a makrofágů (von Lichtenberg *et al.* 1985; Crabtree and Wilson 1986). Zdá se, že tyto buňky vytvoří bariéru, která brání schistosomule v další migraci (Crabtree and Wilson 1986; Coulson and Wilson 1988). Dean and Mangold (1992) popsali, že takto zachycená larva se během několika dnů zmenšuje a chřadne. Neumírá však v plicích. Jednou z možností odsrtnění těchto larev je pomocí řasinkového epitelu v trachei, který je vnese ven. Poté jsou eventuálně vyloučeny gastrointestinálním traktem.

IFN- γ , produkovaný CD4+ Th1 lymfocytů (Smythies *et al.* 1992) je klíčový cytokin, protože je to předpokládaný aktivátor makrofágů (Menson and Wilson 1989). Ty splňují funkci efektorových buněk (James 1986 citace dle Smythies *et al.* 1992). Imunitní odpověď v plicích je závislá na CD4+ Th-lymfocyttech (Vignali *et al.* 1989 citace dle Mountford *et al.* 1995). U myši vakcinované ozářenými cerkáriemi, příchod parazita do pľic rychle vyvolá kontaktní zánět.

Produkce IFN- γ stimuluje produkci NO tím, že působí na syntázu oxidu dusnatého (Kamijo *et al.* 1993). NO však nehraje hlavní roli v eliminaci schistosom v plicích (Wilson 1998). Bylo zjištěno, že přítomnost erytrocytů eliminuje cytotoxický účinek NO, v krevním řečišti jsou tak schistosomuly před jeho působením chráněny (Coulson *et al.* 1998).

Antigeny získané z plicní schistosomuly jsou účinné stimulatory proliferace lymfocytů a sekrece Th1 cytokinů, účinnější než antigeny cercárií nebo kožních schistosomul (Mountford *et al.* 1995)

9. Imunita v krvi

S. mansoni, ale i další druhy viscerálních schistosom, patří mezi parazity, kteří stráví většinu svého života v intravaskulárním prostředí (Oswald *et al.* 1994) a dokáží zde přežít až několik desítek let (Harris *et al.* 1984). Schistosomuly a dospělci schistosom jsou kryty plně vyvinutým heptalaminárním tegumentem (neodermis). Jedná se vlastně o zdvojenou cytoplazmatickou membránu, která kryje syncytium na povrchu parazita (van Hellemond *et al.* 2006). McLaren and Hockley (1977) a Wiest *et al.* (1988) se domnívají, že tato struktura, která je přítomna na povrchu krevních zástupců digeneí, je důležitá adaptace pomáhající parazitově přežít v krevním prostředí.

V krevní plasmě jsou přítomny komplementové proteiny. V krevním řečišti se dospělci schistosom setkávají se silnou protilátkovou odpovědí. Braschi and Wilson (2006) pozorovali, že se na povrch tegumentu *S. mansoni* váže komplementový protein C3 a hostitelovy imunoglobuliny IgM, IgG1 a IgG3 (viz obr. 3)

Schistosom však disponují schopnostmi, která znepříjemňuje hostiteli boj s těmito parazity. Dokážou totiž hostitelovu imunitní odpověď utlumit či se jí úspěšně vyhnout (Angeli *et al.* 2001, Ramaswamy *et al.* 2000). Výčet jejich únikových mechanismů je velmi pestrý a jistě budou postupně odhaleny i další způsoby, jimiž působí na hostitelovu imunitu.

DAF- dendritické buňky, které jsou součástí imunitního systému hostitele mají na svém povrchu 70 kDa membránový protein (delay/decay accelerating factor), jehož pomocí imunitní systém hostitele tlumí aktivaci alternativní a klasické cesty komplementu přes C3 konvertázu (Mendof *et al.* 1984). Schistosomy jsou schopné tento protein zakomponovat do vlastní membrány a účinně se tak bránit napadení komplementovými proteiny (Fatima *et al.* 1991).

Paramyosin, vázaný v membráně tegumentu schistosom je také schopný zamezit aktivaci komplementové kaskády. Váže na se na C1q a díky tomu se nemůže rozvinout klasická cesta komplementové aktivace (Husler *et al.* 1996).

Schistosomy také využívají k maskování svých tegumentárních antigenních epitopů membránové komponenty získané z hostitelových erytrocytů. Schistosomula *S. mansoni* exkretuje do svého okolí monopalmitoyl-PC, který vzniká jako odpadní produkt při periodické obměně tegumentu. Působí lysi erytrocytů. Části membrán z lizovaných erytrocytů použije parazit k vlastnímu maskování (Caulfield and Cianci 1985, Golan *et al.* 1986 citace dle van Hellemond *et al.* 2006).

Membrána tegumentu také obsahuje pro schistosomy specifický lyso-fosfatidyl serin (lyso-PS). Tato molekula je schopna aktivovat Toll like receptor 2. Působí na dendritické buňky, potlačuje produkci IL-12, a tak indukuje vznik Th2 imunitní odpovědi. Tento imuno-supresivní mechanismus tak nejspíše napomáhá dlouhému přežívání parazita uvnitř hostitele (van der Kleij *et al.* 2002).

10. Imunita v CNS – *T. regenti*:

T. regenti, na rozdíl od všech známých druhů čeledi Schistosomatidae, migruje do místa konečného určení nervovou soustavou. Penetruje kůží, prochází periferními nervy. Prostřednictvím míchy a prodloužené míchy domigruje do mozku. Zde pokračuje přes hemisféry a bulbus olfactorius do nosní dutiny (Horák *et al.* 1999, Hrádková and Horák 2002).

Jak popisuje Lichtenbergová *et al.* (2009), po nákaze myšího modelu cercáriemi *T. regenti*, můžeme již po 2 dnech sledovat začátek infekce v CNS. Histologická vyšetření, která provedli Kolářová *et al.* (2001), ukázala, že se vyvíjí silná zánětlivá reakce kolem schistosomul, která vede až k eosinofilní meningitidě. Byly pozorovány dystrofní a nekrotické změny neuronů. Také byla zaznamenána zvýšená proliferace astrocytů v šedé i bílé hmotě míchy. Parazit vyvolává expresi MHC II na povrchu astrocytů a také se díky jeho přítomnosti zvyšuje exprese ICAM-1 na povrchu endotelia. ICAM-1 je adhezivní molekula, která usnadňuje vtok CD4+ lymfocytů a makrofágů (Lichtenbergová *et al.* 2009).

Jsou také zaznamenány případy lidské neuroschistosomózy. Je způsobena vajíčky schistosom, hlavně druhy *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. haematobium*, která jsou do CNS zanesena krevním řečištěm. Zdá se, že míra poškození CNS je závislá na přítomnosti parazitových vajec v nervové tkáni a na hostitelově imunitní odpovědi (Scrimgeour and Gajdušek 1985; Pittella 1997 citace dle Ferrari *et al.* 2008).

11.1 Antigeny schistosom

Antigeny by se daly definovat jako látky (molekuly), které jsou při setkání s buňkami imunitního systému rozpoznány a na něž je imunitní systém schopen zareagovat tvorbou specifických protilátek, nebo specifické buněčné odpovědi. Takovéto molekuly jsou samozřejmě součástí těla parazitů. Při setkání s nimi se aktivuje hostitelův imunitní systém. Životní cyklus schistosom je velmi složitý. Jednotlivá životní stádia se proto odlišují nejen morfologicky, ale také strukturním složením svého těla. Liší se tudíž i antigeny, které jsou jednotlivými stádii exprimovány.

Antigeny lze obecně rozdělit na dva typy, sekreční a membránově vázané. Jak napovídá název, sekreční antigeny jsou uvolňovány z parazita do prostředí, vázané jsou zakotveny na jeho povrchu. Kromě toho můžeme vyčlenit antigeny somatické, tvořící strukturní a cytoplazmatickou složku v těle parazita.

Přehled nejdůležitějších antigenů je uveden v tabulce 1. V textu pod tabulkou jsou charakterizovány nejvýznamnější antigeny, které jsou oproti jiným lépe prozkoumány, jsou používány v diagnostice, nebo jsou kandidáty na výrobu vakcíny. Zaměřila jsem se převážně na antigeny *S. mansoni*, protože jsou nejlépe prostudovány a existuje o nich nejvíce literatury.

Tabulka antigenů schistosom

	ZKRATKA	NÁZEV	VELIKOST [kDA]	CHARAKTERISTIKA LOKALIZACE PROTEINU	STÁDIUM
1.	Sm28GST	Glutathion-S transferáza	28	Detoxifikační enzym Protein lokalizovaný v tegumentu, v parenchymu, v epitelu jícnu a genitálií	Všechna vývojová stadia krom nedozrálých vajíček
2.	SG3PDH	Glyceraldehyd-3 fosfát dehydrogenáza	42	Metabolický Povrchový protein enzym	Schistosomuly; Dospělci
3.	PGK	Fosfoglycerát kináza	45	Metabolický enzym Tegument	Schistosomuly; Dospělci
4.	Smp80	Calpain	80	Ca ²⁺ dependentní cysteinová peptidáza Tegument a pod ním ležící svalovina	Dospělci
5.	Le^X	Lewis X antigen		Povrchový glykoprotein	Všechna vývojová stadia
6.	Sm97	Paramyosin	97	Svalový protein Tegument a pod ním ležící svalovina	Schistosomuly; Dospělci
7.	IrV-5	Irradiation-associated vaccine antigen	200	Tegumentární protein a v penetračních žlázách	Plicní schistosomuly; Cerkárie
8.	Sm14/FABP	Mastné kyseliny vázající protein	14,8	Membránový protein a epitel střeva	Schistosomuly
9.	Sm 23/Sj23	Tetraspaninový membránový protein	23	Membránový a střevní antigen	Dospělci
10.	Sm28 (TPI)	Triosa-fosfát isomeráza	28	Glykolitický enzym, u všech stádií na povrchu, u některých navíc ve střevě	Nově transformovaná schistosomula
11.	Sm 29		29	Tegumentární membránový protein	Schistosomuly; Dospělci

12.	SOD	Superoxid dismutáza		Tegumentární a střevní epitel	
13.	Sm TSP-1	Tetraspanin		Integrální membránový protein	Dospělci
14.	Sm TSP-2	Tetraspanin		Integrální membránový protein	Dospělci
15.	SmRP44	Fruktoso 1,6 bisfosfát adoláza	44		Dospělci
16.	Sm31	Cathepsin B		Střevní cysteinová proteáza	Cerkárie, Schistosomuly,; Dospělci
17.	Sm32	Hemoglobináza		Asparaginilová endopeptidáza	Cerkárie. Schistosomuly; Dospělci
18.	Sm22,6/ Sj22,6		22,6	Protein obsažený v tegumentu s sliznici	Schistosomuly; Dospělci
19.	Sm 22,3/ RP26		22		Dospělci
20.	Sm30	Cerkáriová elastáza	30	Circumacetabulární žlázy	Cerkárie

Tabulka 1. Antigeny schistosom *S. mansoni*, *S. haematobium* a *S. japonicum*

Vysvětlivky: 18 .(Webster *et al.* 1996; Stein and David 1986; Fitzsimmon *et al.* 2007)

Odhlování cirkulujících antigenů schistosom v séru a moči pacientů pomáhá při imunologické diagnostice při určování nákazy schistosomórou (Simpson and Smithers 1985).

Z výše uvedených antigenů jsou k této diagnostice využívány tyto:

RP26, který odpovídá na 99% genu Sm22,3. S 89% citlivostí detekuje akutní fázi schistosomózy, lze ho využívat jako imunodiagnostický marker. Nativní protein byl nalezen pouze ve frakci z dospělců (Makarova *et al.* 2003).

Sm31/Sm32 jsou považovány za užitečné antigeny pomáhající v diagnostice schistosomózy zvláště v endemických oblastech (El-Sayed *et al.* 1998). Ruppel *et al.* 1990 zjistil, že se s jejich pomocí dají na 98% odhalit jedinci vylučující vejce schistosom.

11.2 Cerkárie

Při transformaci cercárie v schistosomulu je uvolněno určité množství molekul. Podle Mountford and Harrop (1998) je to přibližně 12 hlavních proteinů, kterých se cercárie zprostí během prvních 3 hodin transformace. Většina těchto proteinů je zatím neznámá (Harrop *et al.* 1999). Nicméně bylo již popsáno několik molekul antigenů, asociovaných s tímto vývojovým stadiem.

Jedním z nich je 30 kDa **cerkáriová elastáza**. Je obsažena v cirkum acetabulárních žlázách cercárií. Bylo zjištěno, že je tento enzym silně rozpoznáván séry získanými od lidí infikovaných *S. mansoni*, *S. japonicum* a *S. haematobium* (Toy *et al.* 1987 citace dle Baghat and Ruppel 2002). Baghat *et al.* (2001) však pozorovali, že i když experimentální iminuzace vede k produkci protilátek, během přirozené infekce cercáriová elastáza nedokáže vyvolat jasnou protilátkovou odpověď.

Dalším jsou **Sm31/Sm32** proteázy. Sm31 byl charakterizován jako u schistosom přítomný cathepsin B. Byl nalezen v acetabulárních žlázách (Dalton *et al.* 1997). Sm32 byla určena jako asparaginylní endopeptidáza (Tort *et al.* 1999), která je lokalizovaná v hlavové žláze cercárie (El Meanawy *et al.* 1990). Hlavně jsou však tyto dvě proteázy lokalizovány ve střevě schistosomul a dospělců (Caffrey *et al.* 2004).

11.3 Schistosomuly

Mezi potenciálními zdroji antigenů tohoto stádia lze zahrnout hlavovou žlázu, zárodečné střevo a materiál odhozený z tegumentu během jeho přestavby (Mountford and Harrop 1998). Bylo zjištěno, že antigeny získané z plicní schistosomuly vyvolávají zvýšení produkce INF- γ , v daleko menším množství podporují uvolňování IL-4.

Většina antigenů přítomných u schistosomul, je lokalizována i v dospělém stádiu. Proto se důležitými antigeny, které mají obě stádia, společně zabývám v kapitole 11.4.

11.4 Dospělci:

Na antigeny je velmi bohatý povrch dospělých červů zvaný tegument (neodermis). Tegument by se dal popsat jako syncytium kryté dvouvrstevnou membránou obklopující celou schistosomu (van Hellemond *et al.* 2006). Antigeny asociované s tegumentem jsou zobrazeny na obr. 3.

Výskyt **Sm28/Sh GTS** (glutathion S-transferázy 28) byl pozorován u všech vývojových stádií s výjimkou nedospělých vajec (Porchet *et al.* 1994). Byl zaznamenán v tegumentu, v parenchymu, v epitelu jícnu i v epitelu genitálií (Liu *et al.* 1996). Jejím hlavním úkolem, je detoxifikace produktů vznikajících při oxidativním metabolismu na membráně (Walker *et al.* 1993 citace dle Boulanger *et al.* 1995). Bylo zjištěno, že tato molekula, použitá k imunizaci zvířecího modelu (pavián), vede k potlačení fekundity schistosom (Boulanger *et al.* 1991). Indukuje signifikantní IgE a IgA protilátkovou odpověď, která koreluje s rezistencí pacientů (Al-Sherbiny *et al.* 2003).

42 kDa bend získaný ze solubilního extraktu dospělých jedinců *S. mansoni* odpovídá **SG3DPH** (glyceraldehyd-3 fosfát dehydrogenáze). V séru přirozeně rezistentních pacientů byla tato molekula rozpoznána IgG1, IgG3 a IgA protilátkami. Také vyvolává sekreci IL-4 a INF- γ a proliferaci lymfocytů u jedinců se silnou produkcí vajec. Jedná se o možného kandidáta na výrobu vakcíny (El Ridi *et al.* 2001).

Smp80 je velkou podjednotkou **calpainu**. Jedná se o vápníkem aktivovanou neutrální cysteinovou proteázu. Calpain byl imunolokalizován u dospělých červů ve vnitřní membráně tegumentu (Braschi and Wilson 2006) a v pod ním ležící svalovině. Zjistilo se také, že se účastní membránového obměny (Siddiqui *et al.* 1993 citace dle McManus and Loukas 2008). U paviánů imunizovaných DNA vakcínou založenou na Sm80 se redukovalo o 38% množství červů. U očkovaných zvířat tato vakcína vyvolala produkci IgG (IgG1 a IgG3) a IgM protilátek. Také bylo zaznamenáno, že krevní periferní mononukleární buňky v reakci na tuto vakcínu produkovaly ve zvýšené míře Th1 (IL-2 a INF- γ) i TH2 (IL-4 a IL-10) cytokiny. I přes vznik smíšené reakce se zdá, že dominantní protektivní imunitní odpověď je Th1 typu. Tento výsledek naznačil, že calpain je vynikajícím kandidátem na výrobu vakcíny (Ahmad *et al.* 2009).

Tetraspaniny, jsou transmembránové proteiny, které prochází čtyřikrát přes membránu a hrají roli v buněčné signalizaci eukaryot, zejména při interakci mezi imunitními efektoevými buňkami a jejich ligandy (Hemler 2001). Tetraspaniny pravděpodobně tvoří součást intramembránové sítě, která tvoří oporu pro zakotvení dalších proteinových komponentů (Andre *et al.* 2006). Některé tetraspaninové proteiny jsou obsaženy i v tegumentu schistosom.

Sm23 (u *S. mansoni*) a jeho analog u *S. japonicum* **Sj23** jsou přítomny v tegumentu dospělců (Harn *et al.* 1985 citace dle Loukas *et al.* 2007). Jedná se o tetraspaniny (Wright *et al.* 1991). Sm23 vyvolává Th2 odpověď s produkcí IgG3 protilátek, negativně koreluje produkce IgG4 a IL-10 (Al-Sherbiny *et al.* 2003). Byl vybrán do nezávislého testu WHO, který hledal potenciální vakcínové kandidáty (Berquist and Colley, 1998).

SmTSP-1 a **SmTSP-2** jsou nově objevené proteiny z rodiny tetraspaninů (Smyth *et al.* 2003), které jsou součástí vnější membrány tegumentu (Braschi and Wilson 2006). TSP-2 byl silně rozpoznáván IgG1 a IgG3 ze séra přirozeně rezistentních jedinců. Nebyl však rozeznán IgG protilátkami chronický nemocných pacientů. Po vakcinaci myšího modelu rekombinantním TPS-2 bylo zaznamenáno 57% a 64% snížení množství dospělých červů a poškození jater granulomy, které vznikají kolem vajec. Vakcinace pomocí rekombinantního TPS-1 nedosáhla tak dobrých výsledků. Zdá se že TSP-2 je další možnou variantou na vývoj vakcíny (Tran *et al.* 2006).

Sm14/FABP je antigen popsáný jako mastné kyseliny vázající protein (Moser *et al.* 1991). Bylo zjištěno, že je tento cytosolický protein lokalizován v bazální lamině tegumentu a ve střevním epitelu schistosomul a dospělců (Brito *et al.* 2002). Vyvolává signifikantní zvýšení IgG3 protilátek a také indukuje produkci INF- γ (Al-Sherbiny *et al.* 2003).

Protilátky ze séra myší vakcinovaných rekombinantním **IrV-5** se vážali na 200kDa velký polypeptid, který je přítomen na povrchu nově transformovaných schistosomul (Soisson *et al.* 1992). Po inokulaci paviánů rekombinantním IrV-5 bylo dosaženo 27,7% průměrné ochrany. Také bylo zaanamenáno znatelné zmenšení velikosti granulomů (Soisson *et al.* 1993).

SOD (superoxid dismutáza) byla imunolokalizována v tegumentu a v subtegumentální tkáni *S. mansoni* (Hong *et al.* 1993). Jedná se o vnější superoxid dismutázu, která inhibuje toxicitu granulocytů proti ve vejcích probíhajícímu cyklu trikarboxilových kyselin (Kazura *et al.* 1985). SOD kodující cDNA byla klonována a tento rekombinantní protein byl rozeznán séry nemocných pacientů (Siddiqui *et al.* 2003).

PGK fosfoglycerát kináza je 45 kDa velká molekula obsažená v tegumentu schistosomul a dospělých červů (Lee *et al.* 1995).

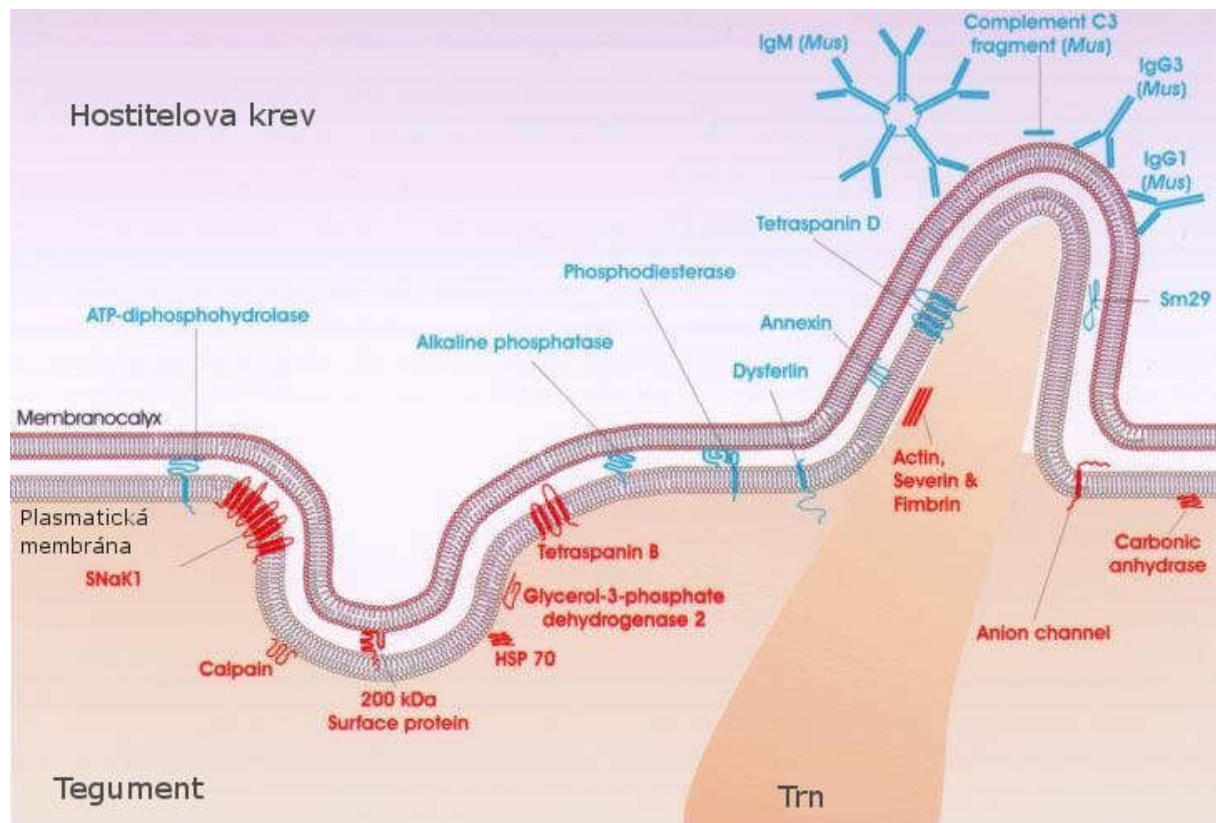
Sm97 (paramyosin) je exprimován na povrchu tegumentu plicní schistosomuly a v penetračních žlázách cercárie *S. mansoni* (Gobert and McManus 2005). Je to 97 kDa velký myofibrilární protein, který byl objeven u bezobratlých. Jednou z jeho důležitých vlastností je schopnost inhibovat komplement (Deng *et al.* 2003). Myši vakcinované rekombinantním paramyosinem vykazovali signifikantní 26-33% rezistenci k změnám spojeným s infekcí *S. mansoni*. Také stimuloval T-lymfocyty k produkci IFN- γ , který aktivoval makrofágy (Pearce *et al.* 1988).

Fruktoso 1,6 bisfosfát adoláza z dospělců *S. mansoni* je 44kDa protein. U myší vakcinovaných tímto proteinem se vyvinulo velké množství IgG, respektive IgG1 protilátek, IgG2a izotyp byl přítomen na nízké úrovni. Marques *et al.* (2007) tvrdí, že tento antigen nejen že stimuluje imunitní odpověď, ale také může zprostředkovat ochranu proti změnám spojeným s infekcí a proti vzniku granulomů. Je podle nich další uchazeč na přípravu vakcíny.

Lewis-X antigen (LNFP III) byl identifikován jako imunoreaktivní oligosacharid obsažený v rozpustném vaječném antigenu (Ko *et al.* 1990), později byl nalezen na povrchu všech stádií (Cummings and Nyame 1996). V séru nakažených myší a křečků byla zaznamenána vysoká hladina IgG a IgM protilátek, které specificky rezeznávali Le^x (Nyame *et al.* 1997). Podle Nyame *et al.* (1998) je exprese Le^x charakteristická pouze pro rod *Schistosoma*. Schistosomy ovlivňují jeho pomocí hostitelskou protektivní imunitu skrze indukci sekrece IL-10.

Sm29 je tegumentální protein nacházející se na povrchu schistosomul, ale také u obou pohlaví dospělých schistosom (*S. mansoni*). Braschi and Wilson (2006) se domnívali, že je tento protein sekretován a není membránově vázaný. Cardoso *et al.* (2006) však zjistili, že má C terminální membránově vázanou doménu. Při sledování protilátkové odpovědi u přirozeně rezistentních jedinců a u re-infikovaných pacientů bylo zjištěno, že je silně rozpoznáván IgG1 a IgG3 protilátkami (Cardoso *et al.* 2006). Použitím tohoto proteinu (rSm29) k vakcinaci myšího modelu bylo dosaženo zvýšené produkce INF- γ , TNF- α a IL-10 a absence IL-4. Také dokáže stimulovat peritoneální makrofágy k produkci IL-12, který polarizuje imunitní odpověď k TH1 fenotypu. Tento protein je novým kandidátem na výrobu vakcíny (Cardoso *et al.* 2006).

Zajímavé je i zjištění, že u schistosom získaných z myši vakcinovaných rekombinantním Sm29 byla snížena exprese u 96% sledovaných genů, mezi kterými bylo mnoho těch, které kódují povrchové proteiny. Zdá se totiž, že v odpovědi na imunitní útok schistoma tlumí expresi silných antigenů, mezi které většina povrchových proteinů patří (Cardoso *et al.* 2008).



Obr. 3. Tegumnet dospělé *S. mansoni* v krevním řečišti myši. Přepřacováno dle Braschi and Wilson 2006

11.5 Vajíčka

Vajíčka schistosom mají pozoruhodnou schopnost potlačit již vzniklou Th1 odpověď a silně polarizovat imunitní odpověď k Th2 (Pearce *et al.* 1991; Pearce and MacDonald 2002 citace dle McManus and Loukas 2008). Th2 lymfocyty uvolňují IL-13, cytokin, který stimuluje myofibroblasty k tvorbě kolagenu. Kolem vajíček se vytvářejí granulomy a játra jsou postižena fibrozou (Mentink-Kane and Wynn 2004; Wynn *et al.* 2004 citace dle Pearce and Freitas 2008). Formace granulomů a fibróza jsou hlavními příčinami nemoci a úmrtnosti. Přesto se zdá, že je tento proces prospěšný pro hostitele, protože blokuje účinky hepatotoxických antigenů uvolňovaných z vajíčka parazita (Henri *et al.* 2002). Polarizace k Th2 imunitní odpovědi byla dlouho považovaná za původce těchto patologií. Recentní data však naznačují, že předchozí výsledky byly matoucí, a že ve skutečnosti je příčinou morbidity Th1 typ buněčné odpovědi (Fallon 2000, Morais *et al.* 2002 citace dle Morais *et al.* 2008).

Antigeny, které vyvolávají tuto silnou Th2 odpověď, jsou však zatím neznámé (Pearce and Freitas 2008).

Rozpustný antigenní extrakt získaný z vajíček *S. mansoni* působí přímo na lidské krevní basofily. Jak bylo zjištěno Falcone *et al.* (1996), po inkubaci bazofilů (dárce, se nikdy předtím se schistosomiázou nesetkali) s extraktem, byla pozorována silná degranulace, vypouštění histaminu, sulfuleukotrienů a také se zvýšila produkce IL-4 těmito buňkami. Další analýza odhalila, že původcem degranulace a exprese klíčových cytokinů IL-4 a IL-13 bazofily je glykoprotein IPSE, který je součástí extraktu z vajíček (Schramm *et al.* 2003).

11. 6 Antigeny *T. regenti*

Také při infekci nespecifického hostitele, jsou jeho imunitním systémem rozpoznávány antigeny uvolněné schistosomou. Séra z pacientů, kteří prodělali cercáriovou dermatitidu, obsahovala specifické IgG proti TrH (homogenát z cercárie) i TrE/S (cercariální exkrečně/sekreční produkty) antigenům. Stejně tak v sérech z re-infikovaných myší se vyvinuly antigen specifické IgM a IgG1 protilátky a zvýšila se celková produkce IgE (Lichtenbergová *et al.* 2008). Lidské i myší protilátky (IgE a IgG1) se specificky vážaly na 34 kDa velkou molekulu (Lichtenbergová *et al.* 2008), které byla později rozeznána, jako glyceraldehyd 3-fosfát dehydrogenáza (Kašný *et al.* 2009). Další protein, který byl rozpoznán silnou IgG1 a IgE reakcí, byl identifikován jako 25 kDa trioso-fosfát izomeráza (Kašný *et al.* 2009).

12. Vývoj vakcín:

Schistosomóza je velmi rozšířené onemocnění. Trpí jím víc než 200 milionů lidí. Je proto velmi žádoucí vyvinout účinnou vakcínu. Dalším důvodem této snahy jsou zaznamenané případy snižující se citlivosti na používané léčivo, paraziquantel (PZQ) (Doenhoff and Pica-Mattocchia, 2006; Gryseels *et al.* 2006). Od komerčně vyráběné vakcíny se očekává, že by měla obsahovat neutralizující protilátky, které by blokovaly klíčové parazitární proteiny, podílející se např. na trávení krve nebo migraci tkáněmi (Loukas *et al.* 2006). Naneštěstí je příprava účinné vakcíny ztížena mnoha faktory.

Z etických důvodů nemohou být k výzkumu používáni lidé, většinou se jako modelový organismus volí různé kmeny myší. Vlastnosti imunitních odpovědí lidí a myší si jsou v mnohém podobné, ale také se od sebe odlišují, není proto jisté, jak by vakcína vytvořená pomocí myšího modelu fungovala (Abath *et al.* 2006). V případě přípravy vakcíny proti *S. japonicum* je situace ztížena i tím, že tato schistosoma má širokou hostitelskou základnu, krom člověka napadá další druhy živočichů, kteří fungují jako rezervoár pro reinfekce lidí. Proto je nutné vytvořit veterinární vakcínu, která by bránila přenosu parazitů na rezervoárová zvířata (McManus and Loukas, 2008).

Kůže je místem, do kterého by měl být zaměřen vývoj anti-larvální vakcíny (Mountford and Trottein, 2004). Vakcinace závislá na IgE protilátkách může představovat problém, protože by mohla potenciálně indukovat anafylaktický šok po vakcinaci (McManus and Loukas, 2008).

Jeden ze zkoumaných způsobů navození protektivní imunity hostitele, je prováděn pomocí oslabených larev schistosom. Oslabení bylo dosaženo ozářením (UV, nebo γ -záření) těchto larev. Ozáření musí být optimální, příliš silně ozářené cercárie (80 krad) zahynou během sedmi dnů v kůži a nejsou tak schopny navodit protektivní imunitu (Constant *et al.* 1990). Ozářené cercárie penetrují pomaleji kožními vrstvami, procházejí se zpožděním i podkožními lymfatickými uzlinami a opoždují i svůj příchod do plic (Mastin *et al.* 1983). Díky tomu získá imunitní systém dostatek času ke své aktivaci. Může vylepšovat imunitní rozpoznávání proti vystaveným antigenům (Dillon *et al.* 2008 citace dle Cardoso *et al.* 2008). Studie (na myších) používající ozářené cercárie ukazují, že ochrana může být vyvolána jak smíšenou Th1/Th2, stejně tak i Th1 odpovědí a také polarizací k Th2 (Wynn and Hoffmann 2000). Zatím není možné používat tuto vakcinaci pro lidi, ale je přijatelné, aby se zahájil její vývoj za účelem veterinární léčby (McManus and Loukas 2008).

Velké naděje se vkládají do vývoje vakcín na základě antigenů uvolňovaných jednotlivými stádii. Tyto antigeny se liší i druhově. WHO vybrala šest kandidátů, které podrobila nezávislým testům. Jednalo se o tyto antigeny *S.mansoni*: Sm97 (paramyosin), GST (glutathion S-transferáza 28), rIrV5, Sm23, TPI (triósofosfát izomeráza) a Sm14. Bohužel ani jeden z antigenů nedokázal splnit vytčený cíl, vyvolat alespoň 40% ochranu (Berquist and Colley, 1998).

V endemické oblasti výskytu schistosomózy (Brazílie) existuje malá skupina lidí, která je přirozeně rezistentní. To znamená, že byla vystavena parazitu, ale nebyla nakažena (pět let byly prováděny kontroly stolice na výskyt vajíček) a nikdy nebyla léčena PZQ (Correa-Oliveira *et al.* 2000). Imunitní odpověď na antigeny (ze schistosomuly a dospělce *S. mansoni*) této rezistentní skupinky byla porovnávána s odpovědí pacientů s chronickým stádiem onemocnění. U rezistentních pacientů po stimulaci těmito antigeny stouply hladiny Th1 i Th2 cytokinů (Bahia-Oliveira *et al.* 1996), u chronicky nemocných se zvýšila jen produkce Th2 cytokinů (Roberts *et al.* 1993). To naznačuje, že rezistence těchto osob je založena hlavně na vzniku Th1 odpovědi (Correa-Oliveira *et al.* 2000). Tato skupina je velmi přínosná při vývoji vakcíny. Zkoumá se, zda jejich sérum reaguje na předkládané antigeny.

V současné době se objevuje nový typ vakcinace, který používá plazmidové DNA. Tyto vakcíny jsou schopny generovat jak buněčnou tak humorální imunitní odpověď. Po vpravení plazmidu do buňky začne tato sám syntetizovat antigen a podpoří vývoj imunitní odpovědi. Tyto vakcíny však zatím byly úspěšně použity pouze ve veterinární medicíně (Ulmer *et al.* 2006).

13. Závěr a poděkování

V této práci jsem se snažila shrnout dosavadní poznatky o imunitní odpovědi vedené hostiteli proti jednotlivým stádiím schistosom. Tato imunitní odpověď se proměňuje s postupem migrace parazita tělem hostitele. Při průniku kůží vyvolává penetrující cercárie a později po transformaci i kožní schistosomula Th2 imunitní odpověď. Průnik se projeví vznikem edému a dilatací cév. Platí to i pro penetraci ptačích schistosom. Při opakovaném průniku do nespecifického hostitele vyvolají cercáriovou dermatitidu, kožní alergickou reakci.

V plicích se schistosomula setkává s výraznou Th1 imunitní odpovědí. Plíce, jsou místem, kde dochází k největší eliminaci schistosom. Plicní schistosomula je zadržena buňčným infiltrátem, který jí obklopí. To může vest k postupnému úhynu zachycená larvy.

V krevním řečišti, kde stráví schistosomy většinu svého života, jsou vystaveny silnému útoku sérových protilátek. Ovládají však řadu únikových mechanismů, které jim pomáhají se hostitelově imunitní opovědi vyhnout. Dokážou navázané protilátky a komplementové proteiny rozštěpit.

Imunita v CNS je spojena s druhem *T. regenti*. Tato ptačí schistosoma migruje na místo svého určení nervovou soustavou. Při primo infekci nespecifického hostitele může proniknout i do jeho nervové soustavy. Imunitní systém hostitele, se jí snaží eliminovat, dochází tak ale k poškození vlastní nervové tkáně, což se projevuje navenek různými neuromotorickými poruchami

Dalším mým vytčeným cílem bylo popsat nejvýznamnější antigeny schistosom. Antigenní struktury pocházející z parazita dají podnět k vzniku imunitní opovědi, která pokud je správně polarizovaná, vede až k eliminaci parazita. Je důležité se zabývat výzkumem v této oblasti, protože mnohé z objevených antigenů by mohly být klíčem k vývoji vakcíny proti schistosomóze. Farmaceutické firmy nabízejí léčiva proti této chorobě, ale v případě nejpoužívanějšího praziquantelu již byla zaznamenána snížená citlivost parazitů.

. Diagnostika schistosomózy se provádí několika způsoby. Klasická cesta je přes detekci vajec v moči či stolici pacientů., ale nejpoužívanější je imunodiagnostika.

Svoji budoucí práci chci zaměřit na charakterizaci imunitní odpovědi specifického hostitele (*Anas platyrhynchos f. domestica*) proti antigenům ptačí schistosomy *T. regenti*. Chtěla bych zjistit, na které antigeny specifický hostitel reaguje a porovnat je s již známými antigeny, na něž reagují nespecifičtí hostitelé. Také se chci pokusit o diagnostikovat nákazu *T. regenti* přímo z krve hostitele. V současné době je nutné nakaženého práka usmrtit a ověřit přítomost parazita pomocí pitvy. V budoucnu by mohla být nákaza odhalena pomocí specifického antigenu, který by byl rozpoznán protilátkami ptáků nakažených touto schistosomou.

Na závěr bych chtěla na tomto místě poděkovat svému školiteli Liboru Mikešovi za obrovskou trpělivost cenné rady, připomínky, články a, bez kterých by tato práce nevznikla.

Stejně tak děkuji své rodině a přátelům za to, že mě drželi nad vodou i v období nejhorší „bakalářské krize“.

14.1 Použitá literatura

ABATH, F. G. C., MORAIS, C. N. L., MONTENEGRO, C. E. L., WYNN T. A., MONTENEGRO, S. M. L. (2006). Immunopathogenic mechanisms in schistosomiasis: what can be learnt from human studies? *Trends in Parasitology* 22, 85-91.

AHMAD, G., ZHANG, W., TORBEN, W., DAMIAN, R. T., WOLF, R. F., WHITE, G. L., CHAVEZ-SUAREZ, M., KENNEDY, R. C., SIDDIQU, A. A. (2009). Protective and antifecundity effects of Sm-p80-based DNA vaccine formulation against *Schistosoma mansoni* in a nonhuman primate model. *Vaccine* 27, 2830-2837.

AL-SHERBINY, M., OSMAN, A., BARAKAT, R., EL MORSHEDY, H. , BERGQUIST, R., OLDS, R. (2003). In vitro cellular and humoral responses to *Schistosoma mansoni* vaccine candidate antigens. *Acta Tropica* 88, 117–130.

ANDRÉ, M., LE CAER, J. P., GRECO, C., PLANCHON, S., EL NEMER, W., BOUCHEIX, C., RUBINSTEIN, E., CHAMOT-ROOKE, J., LE NAOUR, F. (2006). Proteomic analysis of the tetraspanin web using LC-ESI-MS/MS and MALDI-FTICR-MS. *Proteomics* 6, 1437–1449

ANGELI, V., FAVEEUW, CH., 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. *Journal of Experimental Medicine* 193, 1135-1147

AMIRI, P., SAKANARI, J., BASCH, P., NEWPORT, G., MCKERROW, J. H. (1988). The *Schistosomatium douthitti* cercarial elastase is biochemically und sructurally distinct from that of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 28, 113-120.

BAHGAT, M., FRANCKLOW, K., DOENHOFF, M. J., LI, Y. L., RAMZY, R. M. R., KIRSTEN, C., RUPPEL, A. (2001). Infection induces antibodies against the cercarial secretions, but not against the cercarial elastases of *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum* and *Trichobilharzia ocellata*. *Parasite Immunology* 23, 557-565.

BAHGAT, M., RUPPEL, A. (2002). Biochemical comparison of the serine protease (elastase) activities in cercarial secretions from *Trichobilharzia ocellata* and *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research* 88, 495–500.

BAHIA-OLIVERA, L.M., SIMPSON, A.J., ALVES-OLIVERA, L.F., CARVALHO-QUEIROZ, C., SILVEIRA, A.M., VIANA, I.R., CUNHA-MELO, J.R., HAGAN, P., GAZZINELLI, G. AND CORREA-OLIVEIRA, R. (1996). Evidence that cellular immune responses to soluble and membrane associated antigens are independently regulated during human *Schistosomiasis mansoni*. *Parasite Immunology* 18, 53-63.

BAIR, R.D., ETGES, F.J. (1973). *Schistosoma mansoni*: factors affecting hatching of eggs. *Experimental Parasitology* 33, 155-167.

BENTLEY, A. G., CARLISLE, A. S., PHILLIPS, S. M. (1981). Ultrastructural analysis of the cellular response to *Schistosoma mansoni*: initial and challenge infections in the rat. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 30(1), 102-112.

BERGQUIST, N. R., COLLEY, D. G.(1998). Schistosomiasis Vaccines:Research to Development. *Parasitology Today* 14, 99-104.

BOULANGER, D., REID, G. D. F., STURROCK, R. F., WOLOWCZUK, I., BALLOUL, J. M., GREZEL, D., PIERCE, R. J., OTIENO, M. F., GUERRET, S., GRIMAUD, J. A., BUTTERWORTH, A. E., CAPRON, A. (1991). Immunization of mice and baboons with the recombinant Sm28GST affects both worm viability and fecundity after experimental infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasite immunology* 13, 473-490

BOULANGER, D., WARTER, A., TROTTEIN, F., MAUNY, F., BREMOND, P., AUDIBERT, F., COURET, D., KADRI, S., GODIN, C., SELLIN, E., PIERCE, R. J., LECOCQ, J. P., SELLIN, B., CAPRON, A. (1995). Vaccination of patas monkeys experimentally infected with *Schistosoma haematobium* using a recombinant glutathione S-transferase cloned from *S. mansoni*. *Parasite Immunology* 17, 361-369.

BRASCHI, S., WILSON, R. A. (2006). Proteins exposed at the adult schistosome surface revealed by biotinylation. *Molecular & Cellular Proteomics* 5, 347-356.

BRITO, C. F. A., OLIVEIRA, G. C., OLIVEIRA, S. C., STREET, M., RIENGROJPITAK, S., WILSON, R. A., SIMPSON, A. J. G., CORREA-OLIVEIRA R. (2002). Sm14 gene expression in different stages of the *Schistosoma mansoni* life cycle and immunolocalization of the Sm14 protein within the adult worm. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35, 377-381.

BUTTERWORTH, A. E. (1984). Cell-mediated damage to helminths. *Advance Parasitology* 23, 143-235.

CAFFREY, C. R., MCKERROW, J. H., SALTER, J. P., SAJID, M. (2004). Blood 'n' guts: an update on schistosome digestive peptidases. *Trends in Parasitology* 20, 241-248.

CAPRON, A., DESSAINT, J. P., CAPRON, M., PIERCE, R. J. (1992). Schistosomiasis: From effector and regulation mechanisms in rodents to vaccine strategies in humans. *Immunological investigations* 21, 409-422

CARDOSO, F. C., MACEDO, G. C., GAVA, E., KITTEN, G. T., MATI, V. L., DE MELO, A. L., CALIARI, M. V., ALMEIDA, G. T., VENANCIO, T. M., VERJOVSKI-ALMEIDA, S., OLIVEIRA, S. C. (2008). *Schistosoma mansoni* Tegument Protein Sm29 Is Able to Induce a Th1-Type of Immune Response and Protection against Parasite Infection. *Plos Neglected Tropical Diseases* 2, 1-10

CARDOSO, F., PACIFICO, R.N., MORTARA, R.A., S.C. OLIVEIRA, S.C. (2006). Human antibody responses of patients living in endemic areas for schistosomiasis to the tegumental protein Sm29 identified through genomic studies. *Clinical and Experimental Immunology* 144, 382-391.

CHLICHLIA, K., SCHAUWIENOLD, B., KIRSTEN, C., DOENHOFF, M. J., FISHELSON, Z., RUPPEL, A. (2005). *Schistosoma japonicum* reveals distinct reactivity with antisera directed to proteases mediating host infection and invasion by cercariae of *S. mansoni* or *S. haematobium*. *Parasite Immunology* 27, 97-102.

CHU, T., MORRIS, J. (1989). Allogeneic stimulation by human keratinocytes. *CLINICAL RESEARCH* 37, A708-A708

CRABTREE, J. E. (1982). An Ultrastructural Study of the Migrating Schistosomulum of *Schistosoma mansoni*. *D Phil Thesis*, University of York.

CRABTREE, J. E., WILSON, R. A. (1986A). The role of pulmonary cellular reaction in the resistance of vaccinated mice to *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology* 8, 265-285.

CONSTANT, S. L., MOUNTFORD, A. P., WILSON, R. A. (1990). Phenotypic analysis of the cellular responses in regional lymphoid organs of mice vaccinated against *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 99, 39-45.

CORRÊA-OLIVEIRA, R., CALDAS, I.R., GAZZINELLI, G. (2000). Natural versus Drug-induced Resistance in *Schistosoma mansoni* Infection. *Parasitology Today* 16, 397-399.

COULSON, P. S., SMYTHIES, L. E., BETTS, C., MABBOTT, N. A., STERNBERG, J. M., WEI, X. G., LIEWT, F. Y., WILSON, R. A. (1998). Nitric oxide produced in the lungs of mice immunized with the

radiation-attenuated schistosome vaccine is not the major agent causing challenge parasite elimination. *Immunology* 93, 55-63.

CUMMINGS, R. D., NYAME, A. K. (1996). Glycobiology of schistosomiasis. *FASEB J.*, 10, 838-848.

CURWEN, R.S. AND WILSON, R.A. (2003). Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends in Parasitology* 19, 63-66(4).

DALTON, J.P., CLOUGH, K.A., JONES, M.K., BRINDLEY, P.J. (1997). The cysteine proteinases of *Schistosoma mansoni* cercariae. *Parasitology* 114, 105–112.

DALTON, J.P., CLOUGH, K.A., JONES, M.K., BRINDLEY, P.J. (1996). Characterization of the cathepsinlike cysteine proteinases of *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity* 64,1328–1334.

DAY, S. R., DALTON, J. P., CLOUGH, K. A., LEONARDO, L., TIU W. U., BRINDLEY, P. L. (1995). Characterization and cloning of the cathepsin L proteinases of *Schistosoma japonicum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 217,1-9.

DEAN, D. A., MANGOLD, B.L. (1992). Evidence that both normal and immune elimination of *Schistosoma mansoni* take place at the lung stage of migration prior to parasite death. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 47, 238-248

DENG, J., GOLD, D., LOVERDE, P. T., FISHELSON, Z.(2003). Inhibition of the complement membrane attack complex by *Schistosoma mansoni* paramyosin. *Infection and Immunity* 71, 6402–6410

DIAS DA SILVA, W., KAZATCHKINE, M. D. (1980). *Schistosoma mansoni*: Activation of the alternative pathway of human complement by schistosomula. *Experimental Parasitology* 50, 278-286

DOENHOFF, M. J., PICA-MATTOCCIA, L. (2006). Praziquantel for the treatment of schistosomiasis: its use for control in areas with endemic disease and prospects for drug resistance. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 4, 199-210.

DOLEČKOVÁ, K., KAŠNÝ, M., MIKEŠ, L., CARTWRIGHT, J., JEDELSKÝ, P., SCHNEIDER, E. L., DVOŘÁK, J., MOUNTFORD, A. P., CRAIK, CH. S., HORÁK, P. (2009). The functional expression and characterization of a cysteine peptidase from the invasive stage of the neuropathogenic schistosome *Trichobilharzia regenti*. *International Journal for Parasitology* 39: 201-211

DORSEY, C. H. (1976). *Schistosoma mansoni*: description of the head gland of cercariae and schistosomules at the ultrastructural level. *Experimental Parasitology* 39, 444-459.

DRESDEN, M. H., ASCH, H. L. (1977). Calcium carbonate of the preacetabular glands of *Schistosoma mansoni* cercariae. *The Journal of Parasitology* 63(1), 163-165.

DVOŘÁK, J., DELCROIX, M., ROSSI, A., VOPÁLENSKÝ, V., POSPIŠEK, M., ŠEDINOVÁ, M., MIKEŠ, L., SAJID, M., SALI, A., MCKERROW, J. H., HORÁK, P., CAFFREY, C. R. (2005). Multiple cathepsin B isoforms in schistosomula of *Trichobilharzia regenti*: identification, characterization and putative role in migration and nutrition. *International Journal for Parasitology* 35, 895-910.

DVOŘÁK, J., MASHIYAMA, S.T., BRASCHI, S., SAJID, M., KNUDSEN, G.M., HANSELL, E., LIM, K. CH., HSIEH, I., BAGHAT, M., MACKENZIE, B., MEDZIHRADSKY, K. F., BABBITT, P. C., CAFFREY, C. R., MCKERROW, J. H. (2008). Differential use of protease families for invasion by schistosome cercariae. *Biochimie* 90, 345–348.

EL MEANAWY, M. A., AJI, T., PHILLIPS, N. F., DAVIS, R. E, SALATA, R. A., MALHOTRA, I., MCCLAIN, D., AIKAWA, M., DAVIS, A. H. (1990). Definition of the complete *Schistosoma mansoni* hemoglobinase mRNA sequence and gene expression in developing parasites. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 43, 67–78.

- EL RIDI, R., FAROUK, F., SHERIF, M., AL-SHERBINY, M., OSMAN, A., EL GENGEHI, N., SHOEMAKER, C. B. (1998).** T and B Cell Reactivity to a 42-kDa Protein Is Associated with Human Resistance to Both *Schistosomiasis Mansoni* and *Haematobium*. *The Journal of Infectious Diseases* 177, 1364–72.
- EL RIDI, R., SHOEMAKER, C. B., FAROUK, F., EL SHERIF, N. H., AFIFI, A. (2001).** Human T- and B-Cell Responses to *Schistosoma mansoni* Recombinant Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase Correlate with Resistance to Reinfection with *S. mansoni* or *Schistosoma haematobium* after Chemotherapy. *Infection and Immunity* 69, 237–244.
- EL-SAYED, L. H., GHONEIM, H., DEMIAN, S. R., EL-SAYED, M. H., TAWFIK, N. M., SAKR, I., ABOU-BASHA, L. M., RENGANATHAN, E., KLINKERT, M. Q., ABOU-RAWASH, N. (1998).** Diagnostic significance of *Schistosoma mansoni* proteins Sm31 and Sm32 in human schistosomiasis in an endemic area in Egypt. *Tropical Medicine & International Health* 3,721-727.
- ENK, A. H., ANGELONI, V. L., UDEY, M. C., KATZ, S. I. (1993).** An essential role for langerhans cell-derived IL-1-beta in the initiation of primary immune-response in skin. *Journal of Immunology* 150, 3698-3704
- ENK, A. H., KATZ, S. I. (1992).** Identification and induction of keratinocyte-derived IL-10. *Journal of Immunology* 149, 92-95.
- FALCONE, F. H., DAHINDEN, C. A., GIBBS, B. F., NOLL, T., AMON, U., HEBESTREIT, H., ABRAHAMSEN, O., KLAUCKE, J., SCHLAAK, M., HAAS, H. (1996).** Human basophils release interleukin-4 after stimulation with *Schistosoma mansoni* egg antigen. *European Journal of Immunology* 26, 1147–1155.
- FATIMA, M., HORTA, M., RAMALHOPINTO, F. J. (1991).** Role of human decay-accelerating factor in the evasion of *Schistosoma mansoni* from the complement-mediated killing in vitro. *Journal of Experimental Medicine* 174, 1399-1406
- FERRARI, T. C.A., GAZZINELLI, G., CORRÊA-OLIVEIRA, R. (2008).** Immune response and pathogenesis of neuroschistosomiasis mansoni. *Acta Tropica* 108, 83–88.
- FITZSIMMONS, C. M., MCBEATH, R., JOSEPH, S., JONES, F. M., WALTER, K., HOFFMANN, K. F., KARIUKI, H. C., MWATHA, J. K., KIMANI, G., KABATEREINE, N. B., VENNERVALD, B. J., OUMA, J. H., DUNNE, D. W. (2007).** Factors affecting human IgE and IgG responses to allergen-like *Schistosoma mansoni* antigens: molecular structure and patterns of in vivo exposure. *International Archives of Allergy and Immunology* 142, 40–50.
- GOBERT, G.N., CHAI, M., MCMANUS, D.P. (2006).** Biology of the schistosome lung-stage schistosomulum. *Parasitology* 134, 453-460.
- GRYSEELS, B., POLMAN, K., CLERINX, J., KESTENS, L. (2006).** Human schistosomiasis. *Parasitology International* 74, 2169-2176.
- HAEBERLEIN, S., HAAS, W. (2008).** Chemical attractants of human skin for swimming *Schistosoma mansoni* cercariae. *Parasitology Research* 102, 657-662
- HAAS, W. (1994).** Physiological analyses of host-finding behaviour in trematode cercariae: adaptations for transmission success. *Parasitology* 109, 15-19.
- HAAS, W., HAEBERLEIN, S. (2009).** Penetration of cercariae into the living human skin: *Schistosoma mansoni* vs. *Trichobilharzia szidati* *Parasitology Research*, in press DOI 10.1007/s00436-009-1516-8
- HAAS, W., HABERL, B. (1997).** Host recognition by trematode miracidia and cercariae. In: *Advances In Trematode Biology* (Fried B., Graczyk T. K., eds), CRC Press, 197-227.
- HASS, W., HARBEL, B., SCHMALFUSS, G., KHAYYAL, M. A. (1994).** *Schistosoma haematobium* cercarial host-finding and host-recognition differs from that of *S. mansoni*. *Journal of Parasitology* 80, 345-353.

- HAAS, W., PIETSCH, U. (1991).** Migration of *Trichobilharzia ocellata* schistosomula in the duck and in the abnormal murine host. *Parasitology Research* 77, 642–644.
- HANCOCK, K., MOHAMED, Y. B., HAICHOU, X., NOH, J., DOTSON, E. M., TSANG, V. C. W. (1997).** A recombinant protein from *Schistosoma mansoni* useful for the detection of *S. mansoni* and *Schistosoma haematobium* antibodies. *Journal of Parasitology* 83, 612–618.
- HARN, D. A., GU, W., OLIGINO, L. D., MITSUYAMA, M., GEBREMICHAEL, A., RICHTER, D. (1992).** A protective monoclonal antibody specifically recognizes and alters the catalytic activity of schistosome triose-phosphate isomerase. *The Journal of Immunology* 148, 562–567.
- HARRIS, A. R., RUSSELL, R. J., CHARTERS, A. D. (1984).** A review of schistosomiasis in immigrants in Western Australia, demonstrating the unusual longevity of *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 78, 385–388.
- HARROP, R., JENNINGS, N., MOUNTFORD, A.P., COULSON, P.S., WILSON, R.A. (2000).** Characterization, cloning and immunogenicity of antigens released by transforming cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 121, 385–394.
- HE, Y., CHEN, L., RAMASWAMY, K. (2003).** *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, and *S. japonicum*: early events associated with penetration and migration of schistosomula through human skin. *Experimental Parasitology* 102, 99–108.
- HE, Y. X., SALAFSKY, B., RAMASWAMY, K. (2005).** Comparison of skin invasion among three major species of *Schistosoma*. *Trends in parasitology* 21, 201–203.
- HEMLER, M. E. (2001).** Specific tetraspanin functions. *The Journal of Cell Biology* 155, 1103–1107.
- HENRI, S., CHEVILLARD, C., MERGANI, A., PARIS, P., GAUDART, J., CAMILLA, C., DESSEIN, H., MONTERO, F., ELWALI, N. M. A., SAEED, O. K., MAGZOUB, M., DESSEIN, A. J. (2002).** Cytokine Regulation of Periportal Fibrosis in Humans Infected with *Schistosoma mansoni*: IFN- γ Is Associated with Protection Against Fibrosis and TNF- γ with Aggravation of Disease. *The Journal of Immunology* 169, 929–936
- HERWITSON, J. P., HAMBLIN, P. A., MOUNTFORD, A. P. (2005).** Immunity induced by the radiation-attenuated schistosome vaccine. *Parasite Immunology* 27, 271–280.
- HOCKLEY, D. J., MCLAREN, D. J. (1973).** *Schistosoma mansoni*: changes in the outer membrane of the tegument during development from cercaria to adult worm. *International Journal for Parasitology* 3, 13–25.
- HOGG, K.G., KUMKATE, S., ANDERSON, S., MOUNTFORD, A.P. (2003a).** Interleukin-12 p40 secretion by cutaneous CD11c⁺ and F4/80⁺ cells is a major feature of the innate immune response in mice that develop Th1-mediated protective immunity to *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity* 71, 3563–3571.
- HORÁK, P., DVOŘÁK, J., KOLÁŘOVÁ, L., TREFIL, L. (1999).** *Trichobilharzia regenti*, a pathogen of the avian and mammalian central nervous systems. *Parasitology* 119, 577–581.
- HORÁK, P., KOLÁŘOVÁ, L. (2000).** Survival of bird schistosomes in mammalian lungs. *International Journal for Parasitology* 30, 65–68.
- HORÁK, P., KOLÁŘOVÁ, L., ADEMA, C. M. (2002).** Biology of the schistosome genus *Trichobilharzia*. *Advances in Parasitology* 52, 155–233.
- HORÁK, P., KOLÁŘOVÁ, L., DVOŘÁK, J. (1998).** *Trichobilharzia regenti* n. sp. (Schistosomatidae, Bilharziellinae), a new nasal schistosome from Europe. *Parasite* 5, 349–357.
- HORÁK, P., KOVÁŘ, L., KOLÁŘOVÁ, L., NEBESAŘOVÁ, J. (1998).** Cercaria-schistosomulum surface transformation of *Trichobilharzia szidati* and its putative immunological impact. *Parasitology* 116: 139–147
- HOŘEJŠÍ, V., BARTUŇKOVÁ, J. (2005).** *Základy imunologie*, Triton Praha.

- HRÁDKOVÁ, K., HORÁK P. (2002).** Neurotropic behaviour of *Trichobilharzia regenti* in ducks and mice. *Journal of Helminthology* 76, 137-141.
- HUSLER, T., LOCKERT, D. H., SIMS, P. J. (1996).** Role of a disulfide-bonded peptide loop within human complement C9 in the species-selectivity of complement inhibitor CD59. *Biochemistry* 35, 3263–3269
- JAMES, S. L. (1996).** Activated macrophages as effector-cells of protective immunity to schistosomiasis. *Immunologic Research* 5, 139-148
- KAMIJO, R., SHAPIRO, D., LE, J., HUANG, S., AGUET, M., VILCEK, J. (1993).** Generation of nitric oxide and induction of major histocompatibility complex class II antigen in macrophages from mice lacking the interferon gamma receptor. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 90, 6626–6630.
- KASSIM, O., GILBERTSON, D.E. (1976).** Hatching of *Schistosoma mansoni* eggs and observations on motility of miracidia. *The Journal of Parasitology* 62, 715-720.
- KAŠNÝ, M., LICHTENBERGOVÁ, L., KOLÁŘOVÁ, L., HORÁK, P. (2009).** Identification and characterization of dominant antigens of the bird schistosome *Trichobilharzia regenti*. *Abstract book – 3rd Workshop on Bird Schistosomes and Cercarial Dermatitis*, 21.
- KAZURA, J. W., DE BRITO, P., RABBEGE, J., AIKAWA, M. (1985).** Role of granulocyte oxygen products in damage of *Schistosoma mansoni* eggs in vitro. *J Clin Invest.* 75, 1297–1307.
- KIMBER, I., DEARMAN, R. J., CUMBERBATCH, M., HUBY, R. J. D. (1998).** Langerhans cells and chemical allergy. *Current Opinion in Immunology* 10, 614-619
- KLINKERT, M.Q., FELLEISEN, R., LINK, G., RUPPEL, A., BECK, E. (1989).** Primary structures of Sm31/ 32 diagnostic proteins of *Schistosoma mansoni* and their identification as proteases. *Molecular and Biochemical Parasitology* 33, 113–122.
- KO, I. A., DRAGER, U. C., HARN, D. A. (1990).** A *Schistosoma mansoni* epitope recognized by a protective monoclonal antibody is identical to the stage-specific embryonic antigen-1. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 87, 4159–4163
- KOLÁŘOVÁ, L. (2001).** Central nervous system as a target of helminth migration in humans. *Helminthologia* 38, 237-241.
- KOLÁŘOVÁ, L., HORÁK, P., CADA, F. (2001):** Histopathology of CNS and nasal infections caused by *Trichobilharzia regenti* in vertebrates. *Parasitology Research* 87,644-50.
- KOLÁŘOVÁ, L., SÝKORA, J., BAH, B.A. (1994).** Serodiagnosis of cercarial dermatitis with antigens of *Trichobilharzia szidati* and *Schistosoma mansoni*. *Central European Journal of Public Health* 2, 19-22.
- KOUŘILOVÁ, P., HOGG, K.G., KOLÁŘOVÁ, L., MOUNTFORD, A.P. (2004).** Cercarial dermatitis caused by bird schistosomes comprises both immediate and late phase cutaneous hypersensitivity reactions. *The Journal of Immunology* 172, 3766–3774.
- KUMKATE, S., JENKINS, G.R., PAVELEY, R.A., HOGG, K.G., 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*. *International Journal for Parasitology* 37, 209–220.
- LAWSON, J. R., WILSON, R. A. (1980a).** Metabolic changes associated with the migration of the schistosomulum of *Schistosoma mansoni* in the mammal host. *Parasitology* 81, 325-336
- LEE K. W., SHALABY, K. A, THAKUR, A., MEDHAT, A. M, KARIM, A. M., LOVERDE, P. T. (1995).** Cloning of the gene for phosphoglycerate kinase from *Schistosoma mansoni* and characterization of its gene product. *Molecular and Biochemical Parasitology* 71, 221-231

- LICHTENBERGOVÁ, L., HORÁK, P., KOLÁŘOVÁ, L. (2009).** The pathogenic effect of *Trichobilharzia regenti* migration on mouse nervous tissue. *Abstract book – 3rd Workshop on Bird Schistosomes and Cercarial Dermatitis*, 20.
- LICHTENBERGOVÁ, L., KOLBEKOVÁ, P., KOUŘILOVÁ P., KAŠNÝ, M., MIKEŠ, L., HAAS, H., SCHRAMM, G., HORÁK, P., KOLAROVÁ, L., MOUNTFORD, A. P. (2008):** Antibody responses induced by *Trichobilharzia regenti* antigens in murine and human hosts exhibiting cercarial dermatitis. *Parasite Immunology* 30: 585-595
- LIU, J. L., FONTAINE, J., CAPRON, A., GRZYCH, J. M.(1996).** Ultrastructural localization of Sm28 GST protective antigen in *Schistosoma mansoni* adult worms. *Parasitology* 113, 377-391
- LOPES, D. O., PAIVA, L. F., MARTINS, M. A., CARDOSO, F. C., RAJÃO, M. A., PINHOA, J. M., CALIARI, M. V., CORREA-OLIVEIRA, R., MELLO, S. M., LEITEB, L. C. C., OLIVEIRA, S. C. (2009).** Sm21.6 a novel EF-hand family protein member located on the surface of *Schistosoma mansoni* adult worm that failed to induce protection against challenge infection but reduced liver pathology. *Vaccine* 27, 4127–4135
- LOUKAS, A., BETHONY, J. M., BROOKER, S., HOTEZ, P. J.(2006).** Hookworm vaccines-past, present and future. *Lancet Infect. Dis.* 6, 733-741
- LOUKAS, A., TRAN, M., PEARSON, M. S. (2007).** Schistosome membrane proteins as vaccines. *International Journal for Parasitology* 37, 257-263
- MAKAROVA, E., GOES, T.S., MARCATTO, A. L. M., LEITE, M. F., GOES, A. M. (2003).** Serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis using *Schistosoma mansoni* recombinant protein RP26. *Parasitology International* 52, 269–279
- MANGOLD, B. L., DEAN D. A. (1983).** Autoradiographic analysis of *Schistosoma mansoni* migration from skin to lungs in naive mice. Evidence that most attrition occurs after the skin phase. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 32, 785-789.
- MARIKOVSKY, M., ARNON, R., FISHELSON, Z.(1990).** *Schistosoma mansoni*: localization of the 28 kDa secreted protease in cercaria. *Parasite Immunology* 12, 389-401
- MARIKOVSKY, M., FISHELSON, Z., ARNON, R. (1988).** Purification and characterization of proteases secreted by transforming schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 30, 45-54.
- MARQUES, H. H., ZOUAIN, C. S., TORRES, C. B. B., OLIVEIRA, J. S., ALVES, J. B., GOES, A. M. (2008).** Protective effect and granuloma down-modulation promoted by RP44 antigen a fructose 1,6 biphosphate aldolase of *Schistosoma mansoni*. *Immunobiology* 213, 437–446
- MASTIN, A.J., BICKLE, Q.D., WILSON, R.A. (1983).** *Schistosoma mansoni*: migration and attrition of irradiated and challenge schistosomula in the mouse. *Parasitology* 87, 87–102.
- MCKERROW, J. H., PINO-HEISS, S., LINDQUIST, R., WERB, Z. (1985).** Purification and characterization of an elastinolytic proteinase secreted by cercariae of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Biological Chemistry* 260, 3703-3707.
- MCKERROW, J. H., PINO-HEISS, S., LINDQUIST, R., WERB, Z. (1985).** Purification and characterization of an elastinolytic proteinase secreted by cercariae of *Schistosoma mansoni*. *The Journal Of Biological Chemistry* 260, 3703-3704.
- MCLAREN, D. J., HOCKLEY, D. J. (1977).** Blood flukes have a double outer membrane. *Nature* 269, 147-149.
- MCMANUS, D. P., LOUKAS, A.(2008).** Current Status of Vaccines for Schistosomiasis. *Clinical Microbiology Reviews* 21, 225-242

- MEDOF, M.E., KINOSHITA, T., NUSSENZWEIG, V. (1984).** Inhibition of complement activation on the surface of cells after incorporation of decay acceleration factor (DAF) into their membranes. *J. Exp. MED* 160, 1558-1578
- MENSON, E. N., WILSON, R.A. (1989).** Lung-phase immunity to *Schistosoma mansoni*. Flow cytometric analysis of macrophage activation states in vaccinated mice. *The Journal of Immunology* 143, 2342-2348.
- MIKEŠ, L., ZIDKOVÁ, L., KAŠNÝ, M., DVOŘÁK, J., HORÁK, P. (2005).** *In vitro* stimulation of penetration gland emptying by *Trichobilharzia szidati* and *T. regenti* (Schistosomatidae) cercariae. Quantitative collection and partial characterization of the products. *Parasitology Research* 96, 230-241.
- MORAIS, C. N. L., SOUZA, J. R., MELO, W. G., AROUCHA, M. L., DOMINGUES, A. L. C., WYNN, T., ABATH, F.G.C., MONTENEGRO, S. M. L. (2002).** Studies on the production and regulation of interleukin, IL-13, IL-4 and Interferon- γ in human schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97, 113-114.
- MOSER, D., TENDLER, M., GRIFFITHS, G., KLINKERT, M. Q. (1991).** A 14-kDa *Schistosoma mansoni* polypeptide is homologous to a gene family of fatty acid binding proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 266, 8447-54.
- MOUNTFORD, A.P., HARROP, R. (1998).** Vaccination against Schistosomiasis: The case for lung-stage antigens. *Parasitology Today* 14, 109-114.
- MOUNTFORD, A.P., HARROP, R., WILSON, A. (1995).** Antigens derived from lung-stage larvae of *Schistosoma mansoni* are efficient stimulators of proliferation and gamma interferon secretion by lymphocytes from mice vaccinated with attenuated larvae. *Infection and Immunity* 63, 1980-1986.
- MOUNTFORD, A.P., TROTTEIN, F. (2004).** Schistosomes in the skin: a balance between immune priming and regulation. *Trends in Parasitology* 20, 221-226.
- NANDURI, J., JAMES, DENNIS, E., ROSENBERYS, T. L., MAHMOUD, A. A. F., TARTAKOFFN, A. M. (1991).** Glycocalyx of bodies versus tails of *Schistosoma mansoni* cercariae lectin-binding, size, charge, and electron microscopic characterization. *The Journal of Biological Chemistry* 266, 1341-1347.
- NEVHUTALU, P.A., SALAFSKY, B., HAAS, W., CONWAY, T. (1993).** *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata*: comparison of secreted cercarial eicosanoids. *Journal of Parasitology* 79, 130-133.
- NYAME, A. K., DEBOSE-BOYD, R., LONG, T. D., TSANG, V. C. W., CU, R. D. (1998).** Expression of Le^x antigen in *Schistosoma japonicum* and *S.haematobium* and immune responses to Le^x in infected animals: lack of Le^x expression in other trematodes and nematodes. *Glycobiology* 8, 615-624.
- NYAME, A. K., B-PILCHER, TSANG, J., V. C. W., CUMMINGS, R. D. (1997).** Rodents infected with *Schistosoma mansoni* produce cytolytic IgG and IgM antibodies to the Lewis x antigen. *Glycobiology* 7, 207-215
- OSWALD, I. P., ELTOUM, I., WYNN, T. A., SCHWARTZ, B., CASPAR, P., PAULIN, D., SHER, A., JAMES, S. L. (1994).** Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill an intravascular parasite, *Schistosoma mansoni*, through the production of nitric oxide. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 91, 999-1003.
- PEARCE, E. J., CASPAR, P., GRZYCH, J. M., LEWES, F. A., SHER, A. (1991).** Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Experimental Medicine* 173, 159-166
- PEARCE, E. J., FREITAS, T. C. (2008).** Reverse genetics and study of the immune response to schistosomes. *Parasite Immunology* 30, 215-221.
- PEARCE, E. J., JAMES, S. L., HIENY, S., LANAR, D. E., SHER, A. (1988).** Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by vaccination with schistosome paramyosin (Sm97), a nonsurface parasite antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 5678-5682

- PEARCE, E. J., MACDONALD, A. S. (2002).** The immunobiology of schistosomiasis. *Nature reviews Immunology* 2, 499-511.
- PODHORSKÝ M., HŮZOVÁ Z., MIKEŠ L., HORÁK P. (2009).** Cercarial dimensions and surface structures as a tool for species determination of *Trichobilharzia* spp. *Acta Parasitologica* 54, 28-36
- PORCHET, E., MCNAIR, A., CARON, A., KUSNIERZ, J. P., ZEMZOUMI, K., CAPRON, A. (1994).** Tissue expression of the *Schistosoma mansoni* 28 kDa glutathione S-transferase. *Parasitology* 109, 565-572.
- RAMASWAMY, K., KUMAR, P., HE, Y.(2000).** A role for parasite-induced PGE2 in IL-10-mediated host immunoregulation by skin stage schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Immunology* 165, 4567–4574.
- RATCLIFFE, E. C., WILSON, R. A. (1991).** The magnitude and kinetics of delayed-type hypersensitivity responses in mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 103, 65–75.
- RICHTER, D., HARN, D. A. (1993).** Candidate vaccine antigens identified by antibodies from mice vaccinated with 15- or 50-kilorad-irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity* 61, 146–154.
- ROBERTS, M., BUTTERWORTH, A.E., KIMANI, G., KAMAU, T., FULFORD, A.J., DUNNE, D.W., OUMA, J.H., STURROCH, R.F. (1993).** Immunity after treatment of human schistosomiasis: association between cellular responses and resistance to reinfection. *Infection and Immunity* 61, 4984-4993.
- RUPPEL, A., IDRIS, M. A., SULEIMAN, S. M., HILALI, A. M. H. (1990).** *Schistosoma mansoni* diagnostic antigens (SM31/12): A seroepidemiological study in the Sudan. *Tropical Medicine and Parasitology* 41, 127–130.
- RUPPEL, A., SHI, Y. E., WEI, D. X., DIESFELD, H. J.(1987).** Sera of *Schistosoma japonicum*-infected patients cross-react with diagnostic 31/32 kD proteins of *S. mansoni*. *Clinical and Experimental Immunology* 69, 291–298.
- SAMUELSON, J. C., CAULFIELD, J. P. (1986).** Cercarial glycoalyx of *Schistosoma mansoni* activates human complement. *Infection and Immunity* 51 (1), 181-186.
- SAMUELSON, J. C., CAULFIELD, J. P. (1985).** The cercarial glycoalyx of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Cell biology* 100, 1423-1434.
- SCHRAMM, G., FALCONE, F. H., GRONOW, A., HAISCH, K., MAMAT, U., DOENHOFF, M. J., OLIVEIRA, G., GALLE, J., DAHINDEN, C. A., HAAS H. (2003).** Molecular characterization of an Interleukin-4-inducing factor from *Schistosoma mansoni* eggs. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 278, No. 20, 18384–18392.
- SCRIMGEOUR, E.M., GAJDUSEK, D.C. (1985).** Involvement of the central nervous system in *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection: a review. *Brain* 108, 1023–1038.
- SHIFF, C. J., LEY, H. E., KRIEL, R. L., CMELIK, S. H. W.(1972).** Influence of human skin lipids on cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 58, 476-480
- SIDDIQUI, A. A., ZHOU, Y., PODESTA, R. B., KARCZ S. R., TOGNON, C. E., STREJAN, G. H., DEKABAN, G. A., CLARKE, M. W. (1993).** Characterization of Ca(2+)-dependent neutral protease (calpain) from human blood flukes, *Schistosoma mansoni*. *Biochim. Biophys. Acta* 1181, 37-44.
- SIMPSON, A. J. G.(1987).** The biology of schistosomes from genes to catrines, edyted by Rollins D., Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich, Publischsers London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, sydney, Tokyo, Toronto.

- SIMPSON, A. J. G., SMITHERS, S. R. (1985).** Schistosomes surface, egg and circulating antigens. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 120, 205–239.
- SKELLY, P. J., SHOEMAKER, C. B.(2001).** *Schistosoma mansoni* proteases Sm31 (Cathepsin B) and Sm32 (Legumain) are expressed in the cecum and protonephridia of cercariae. *The Journal of Parasitology* 87, 1218-1221.
- SMYTH, D., MCMANUS, D. P., SMOUT, M. J., LAHA, T., ZHANG, W., LOUKAS, A. (2003).** Isolation of cDNAs encoding secreted and transmembrane proteins from *Schistosoma mansoni* by a signal sequence trap method. *Infection and Immunity* 71, 2548–2554.
- SMYTHIES, L. E., BETTS, C., COULSON, P. S., DOWLING, M. A., WILSON, R. A. (1996).** Kinetics and mechanism of effector focus formation in the lungs of mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology* 18, 359–369.
- SMYTHIES, L. E., PEMBERTON, R. M., COULSON, P. S., MOUNTFORD, A. P., WILSON, R. A. (1992).** T cell-derived cytokines associated with pulmonary immune mechanisms in mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Immunology* 148, 1512-1518.
- SOISSON, L. M. A., MASTERSON, C. P., TOM, T. D., MCNALLY, M. T., LOWELL, G. H., STRAND, M.(1992).** Induction of protective immunity in mice using a 62-kDa recombinant fragment of a *Schistosoma mansoni* surface antigen. *The Journal of Immunology* 149, 3612-3620
- SOISSON, L. A., REID, G. D., FARAH, I. O., NYINDO, M., STRAND, M. (1993).** Protective immunity in baboons vaccinated with a recombinant antigen or radiation-attenuated cercariae of *Schistosoma mansoni* is antibody- dependent. *The Journal of Immunology* 151, 4782-4789
- STEIN, L. D., AND J. R. DAVID. (1986).** Cloning of a developmentally regulated tegument antigen of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 20,253–264.
- STIREWALT, M. A., DORSEY, C. H. (1974),** *Schistosoma mansoni*: cercarial penetration to host epidermis at the ultrastructural level. *Experimental Parasitology* 35, 1-15.
- STIREWALT, M. A., KRUIDENIER, F.J (1961).** Activity of the acetabular secretory apparatus of cercariae of *Schistosoma mansoni* under experimental conditions. *Experimental Parasitology* 11, 191-211.
- STOITZNER, P., TRIPP, C. H., EBERHART, A., PRICE, K.M., JUNG, J. Y., BURSCH, L., RONCHESE, F., ROMANI, N. (2006).** Langerhans cells cross-present antigen derived from skin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, 7783–7788.
- TANG, A., AMAGAI, M., GRANGER, L.G., STANLEY, J.R., UDEY, M.C. (1993).** Adhesion of epidermal Langerhans cells to keratinocytes is mediated by E-cadherin. *Nature* 361,82–85.
- TORT, J., BRINDLEY, P. J., KNOX, D., WOLFE, K. H., DLATON, J. P. (1999).** Proteinases and associated genes of parasitic helminths. *Advances in Parasitology* 43, 161-266.
- TRAN, M.H., PEARSON, M.S., BETHONY, J.M., SMYTH, D.J., JONES, M.K., DUKE, M., DON, T.A., MCMANUS, D.P., CORREA-OLIVEIRA, R., LOUKA, A. (2006).** Tetraspanins on the surface of *Schistosoma mansoni* are protective antigens against schistosomiasis. *Nature Medicine* 12, 835-840.
- ULMER, J. B., WAHREN, B., LIU, M. A. (2006).** Gene-based vaccines: recent technical and clinical advances. *Trends in Molecular Medicine* 12, 216-222.
- VAN DER KLEIJ, D., LATZ, E., BROUWERS, J. F. H. M., KRUIZE, Y. C. M., SCHMITZ, M., KURT-JONES, E. A., ESPEVIK, T., DE JONG, E. C., KAPSENBERG, M. L., GOLENBOCK, D. T., TIELENS, A. G. M., YAZDANBAKHS, M. (2002).** A Novel Host-Parasite Lipid Cross-talk. Schistosomal lyso-phosphatidylserine activates toll-like receptor 2 and affects immune polarization. *The Journal of Biological Chemistry* 277, 48122-48129.

VAN DER POWW KRAAN, T. C., BOELJE, L. C., SMEENK, R. J., WIJDENES, J., AARDEN, L. A. (1995). Prostaglandin-E2 is a potent inhibitor of human interleukin-12 production. *Journal of Experimental Medicine* 181, 775-779.

VAN HELLEMOND, J. J., RETRA, K., BROUWERS, J. F. H. M., VAN BALKOM, B. W. M., YAZDANBAKHSI, M., SHOEMAKER, CH. B., TIELENS, A. G. M. (2006). Functions of the tegument of schistosomes: Clues from the proteome and lipidome. *International Journal for Parasitology* 36, 691-699.

VON LICHTENBERG, F., CORREA-OLIVEIRA, R., SHER A. (1985). The fate of challenge schistosomula in the murine anti-schistosome vaccine model. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 34, 96-106.

WEBSTER, M., FULFORD, A. J., BRAUN, G., OUMA, J. H., KARIUKI, H. C., HAVERCROFT, J. C., GACHUHI, K., STURROCK, R. F., BUTTERWORTH, A. E., DUNNE, D. W. (1996). Human immunoglobulin E responses to a recombinant 22.6-kilodalton antigen from *Schistosoma mansoni* adult worms are associated with low intensities of reinfection after treatment. *Infection and Immunity* 64, 4042-4046.

WIEST, P. M., TARTAKOFF, M. A., AIKAWA, M., MAHMOUD, A. A. F. (1988). Inhibition of surface membrane maturation in schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 85, 3825-3829.

WILSON, R. A. (1998). Interferon gamma is a key cytokine in lung phase immunity to schistosomes but what is its precise role? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 31, 157-161.

WILSON, R.A. (2009). The saga of schistosome migration and attrition. *Parasitology* 1-12.

WILSON, R. A., COULSON, P. S., DIXON, B. (1986). Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* in mice vaccinated with radiation-attenuated cercariae, and normal mice: an attempt to identify the timing and site of parasite death. *Parasitology*, 92-101.

WRIGHT, M. D., MELDER, A. M., DAVERN, K. M., MITCHELL, G. F. (1991). Serologic reactivities of the 23-kDa integral membrane proteins of schistosomes. *The Journal of Immunology* 147, 4338-4342.

WYNN, T.A., HOFFMANN, K.F. (2000). Defining a schistosomiasis vaccination strategy – is it really Th1 versus Th2? *Parasitol Today* 16, 497–501.

XU, X. F., STACK, R. J., RAO, N., CAULFIELD, J. P. (1994). *Schistosoma mansoni*: Fractionation and Characterization of the Glycocalyx and Glycogen-like Material from Cercariae. *Experimental parasitology* 79, 399-409.

13.2 Sekundární prameny:

CALFIELD, J. P., CIANCI, C. M. (1985). Human erythrocytes adhering to schistosomula of *Schistosoma mansoni* lyse and fail to transfer membrane components to the parasite. *Journal of Cell Biology* 101, 158-166.

CRABTREE, J. E., WILSON, R. A. (1980). *Schistosoma mansoni*: a scanning electron microscope study of the developing schistosomulum. *Parasitology* 81, 553-564.

DILLON, G. P., FELTWELL, T., SKELTON, J., COULSON, P. S., WILSON, R. A. (2008). Altered patterns of gene expression underlying the enhanced immunogenicity of radiation-attenuated schistosomes. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2, 240.

ENK, A. H., ANGELONI, V. L., UDEY, M. C., KATZ, S. I. (1993). An essential role for Langerhans cell-derived IL-1b in the initiation of primary immune responses in skin. *Journal of Immunology* 150, 3698–3704.

FALLON, P. G. (2000). Immunopathology of schistosomiasis: a cautionary tale of mice and men. *Immunology Today* 21, 29-35.

- GOLAN, D. E., BROWN, C. S., CIANCI, C. M., FURLONG, S. T., CAULFIELD, J. P. (1986).** Schistosomula of *Schistosoma mansoni* use lypophosphatidylcholin to lyse adherent human red blood cells and immobilize red cell membrane components. *Journal of Cell Biology* 103, 819-828.
- GUI, M., KUSEL, J. R., SHI, R.E., RUPPEL, A. (1995).** *Schistosoma japonicum* a *S. mansoni*: comparison of larval migration patterns in mice. *Journal of Helminthology* 69, 19-25.
- HARN, D. A., MITSUYAMA, M., HUGUENEL, E. D., DAVID, J. R. (1985).** *Schistosoma mansoni*: detection by monoclonal antibody of a 22,000- dalton surface membrane antigen which may be blocked by host molecules on lung stage parasites. *The Journal of Immunology* 135, 2115-2120
- JAMES, S. L. (1986).** Activated macrophages as effector cells of progenera: acquired resistance in mice. *Experimental Parasitology* 55, I.
- KEMP, W. M. (1972).** Serology of the cercarienhüllen reaktion of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 58, 686-692.
- KEMP, W. M., DAMIAN, R. T., GREENE, N. D. (1973).** *Schistosoma mansoni*: immunohistochemical localization of the CHR reaction in the glycocalyx of cercaria, *Exp. Far.sited.* 33, 27-33.
- KIMBER, I., CUMBERBATCH, M. (1992).** Stimulation of Langerhans cell migration by TNFa. *Journal of Investigative Dermatology* 99, 48-50.
- LEVY, S., SHOHAM, T. (2005).** The tetraspanin web modulates immunesignalling complexes. *Nature Reviews Immunology* 5, 136-148.
- MILLER, P., WILSON, R. A. (1980).** Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from the lungs to the hepatic portal systém. *Parasitology* 80, 267-288
- MENTINK-KANE, M. M., WYNN, T. A. (2004).** Oppositing roles for IL-13 and IL-13 receptor $\alpha 2$ in health and disease. *Immunological Reviews* 202, 191-202.
- PITTELLA, J. E. H. (1997).** Neuroschistosomiasis. *Brain Pathology* 7, 649-662.
- ROMANI, N., HOLZMANN, S., TRIPP, C.H., KOCH, F., STOITZNER, P. (2003).** Langerhans cells – dendritic cells of the epidermis. *Apmis* 111, 725-740
- RUZICKA, T., PRINTZ, M. P. (1984).** Arachidonic acid metabolism in skin: a review. *Reviews of Physiology, Biochemistry & Pharmacology* 100, 122.
- SIDDIQUI, A. A., ZHOU, Y., PODESTA, R. B., KARCZ, S. R., TOGNON, C. E., STREJAN, G. H., DEKABAN, G. A., CLARKE, M. W. (1993).** Characterization of Ca (2+)- depemdent neutral protease (calpain) from human blood flukes, *Schistosoma mansoni*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1181, 37-44.
- SOZZANI, S., LUINI, W., BORSATTI, A., POLENTARUTTI, N., ZHOU, D., PIEMONTI, L., D'AMICO, G., POWER, C. A., WELLS, T. N., GOBBI, M., ALLAVENA, P., MANTOVANI, A. (1997).** Receptor expression and responsiveness of human dendritic cells to a defined set of CC and CXC chemokines. *Journal of Immunology* 159, 1993-2000.
- TAUB, D. D., CONLON, K., LLOYD, A. R., OPPENHEIM, J. J., AND KELVIN, D. J. (1993).** Preferential migration of activated CD4_ and CD8_ T cells in response to MIP-1_ and MIP-1_. *Science* 260, 355-358.
- TOY, L. PETTIT, M., WANG, Y. F., HEDSTROM, R., MCKERROW, J. H. (1987).** The immune response to stage-specific proteolytic enzymes of *Schistosoma mansoni*. In: Macinnis, A. J. (ed) *Molecular paradigms for eradication of helminth parasites*. UCLA Symp Mol Cell Biol 60, 85-103.

VAN LOVEREN, H., REDEGELD, F., MATSUDA, H., BUCKLEY, T., TEPPEMA, J. S., GARSSEN, J. (1997). Mast cells. In. *Skin Immune System*, 2nd Ed. J. D. Bos, ed. CRC Press, New York, p. 159.

VIGNALI, D. A. A., CROCKER, P., BICKLE, Q., D., COBBOLD, S., WALDMAN, H., TAYLOR, M. G.(1989). A role of CD4+ but not CD8+ T cells in immunity to *Schistosoma mansoni* induced by 20krad-irradiated and Ro11-3128 terminated infection. *Immunology* 67, 466-472

WALKER, J., CROWLEY, P., MOREMAN, A.D., BARRETT J. (1993). Biochemical properties of cloned glutathione S-transferases from *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 61, 255-264

WHEATER, P. R., WILSON, R. A. (1979). *Schistosoma mansoni*: a histological study of migration in the laboratory mouse. *Parasitology* 79, 49-62

WYNN, T. A., THOMPSON, R. W., CHEEVER, A. W., MENTIK-KANE, M. M. (2004). Immunopathogenesis of schistosomiasis. *Immunological Reviews* 201, 156-167.

YING, S., MENG, Q., BARATA, L. T., KAY, A. B. (2001). Macrophage inflammatory protein-1_α and C-C chemokine receptor-1 in allergen-induced skin late-phase reactions: relationship to macrophages, neutrophils, basophils, eosinophils and T lymphocytes. *Clinical and Experimental Allergy* 31,1724–1731.

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra parazitologie



**Antigeny schistosom a imunitní odpověď specifických a
nespecifických hostitelů**

Schistosome antigens and immune response in specific and non-
specific hosts

Bakalářská práce

Libuše Turjanicová

Školitel: RNDr. Libor Mikeš, PhD.

2009

Abstrakt:

Motolice čeledi Schistosomatidae jsou původci závažných onemocnění lidí a hospodářských i volně žijících zvířat. Imunitní systém napadených hostitelů rozvíjí proti těmto parazitům odpověď. Ta je do značné míry tkáňově specifická. V kůži hostitele se vyvíjí většinou odpověď, v plicích se polarizuje spíše k Th1. Vajíčka schistosom mají pozoruhodnou schopnost vyvolat silnou Th2 odpověď. Granulomy kolem vajec jsou příčinou patologických změn vnitřních orgánů a ve finále až úmrtí hostitele. Imunitní systém reaguje na antigeny vázané na povrchu parazita nebo na antigeny, které sekretuje. Antigeny se liší podle druhu schistosomy, ale také podle vývojového stádia, které je exprimuje. Reakce různých hostitelů na stejný antigen se rozvěž může lišit. Existují léky proti schistosomóze, zatím však nebyla vyvinuta dostatečně účinná vakcína. Antigeny jsou zkoumány kvůli možnému objevu účinné vakcíny a mají i diagnostický význam.

Klíčová slova: Schistosomóza, imunitní odpověď, antigeny, cercariová dermatitida

Abstract:

The trematodes of the family Schistosomatidae are causative agents of serious disease in human beings and both domestic and wild animals. The immune system of infected hosts develops a response against these parasites. This is tissue specific. The skin usually develops Th2 response in the lungs it rather polarizes to Th1. Schistosomes eggs have a remarkable ability to induce a strong Th2 response. Granulomas around the eggs are the cause of pathological changes in inner organs sometimes leading to death of the host. The immune system responds to antigens bound on the surface of the parasite, or to the secreted antigens. Antigens vary according to schistosome species, but also according to the developmental stage, which expresses them. The reaction of different hosts on the same antigen may also vary. There are drugs against schistosomiasis, however, no sufficiently effective vaccine has been developed yet. developed sufficiently effective vaccine. Antigens are being investigated for possible discovery of an effective vaccine and for the purpose of serodiagnostics of schistosomiasis.

Key words: Schistosomiasis, immune response, cercarial dermatitis

Obsah:

Obsah	2
1.1 Abstrakt.....	1
1.2 Abstract	1
2. Úvod.....	3
3. Cyklus.....	5
4.1 Penetrace cercárie do definitivního hostitele.....	7
4.2 Glykokalyx.....	7
5. Migrace.....	7
5.1 Migrace viscerálních druhů.....	8
5.2 Migrace nazálních druhů	9
6.1 Imunitní mechanismy	9
6.1.1 Th1 typ imunitní odpovědi.....	9
6.1.2 Th2 typ imunitní odpovědi.....	10
7. Imunita v Kůži	10
7.1 Cercáriová dermatitida – imunitní reakce nespecifických hostitelů	13
8. Imunita v plicích.....	14
9. Imunita v krvi.....	15
10. Imunita v CNS - <i>T. regenti</i>	16
11.1 Antigeny schistosom.....	16
11.2 Cercárie.....	18
11.3 Schistosomuly.....	19
11.4 Dospělci.....	19
11.5 Vajíčka.....	22
11.6 Antigeny <i>T. regenti</i>	23
12. Vývoj vakcíny.....	23
13. Závěr a poděkování.....	24
14.1 Použitá literatura.....	29
14.2 Sekundární prameny.....	36

2. Úvod

Schistosomy se řadí mezi motolice s dvouhostitelskými cykly vázanými na vodu, jejichž cercárie aktivně napadají hostitele. Jedná se o parazity savců a ptáků, jimž jako mezihostitelé slouží vodní plži. Zástupci čeledi Schistosomatidae jsou na rozdíl od většiny ostatních motolic gonochoristé.

Poprvé byla nákaza schistosomami popsána u člověka v roce 1851 německým lékařem Theodorem Bilharzem. Právě podle objevitele bylo onemocnění, které schistosomy způsobují, dlouho označováno jako bilharzióza. Jedná se o tropické onemocnění s poměrně nízkou mortalitou, ale velkou prevalencí v areálech svého výskytu. Postižení lidé mají vážné zdravotní problémy. Dlouhý chronický průběh onemocnění vede až k úplnému vyřazení z pracovního procesu a způsobuje tak nezanedbatelné ekonomické ztráty. Podle statistik WHO je v současné době (k roku 2002) nakaženo 200 milionů lidí v 74 zemích světa. Stejně tak je schistosomóza zvířat, hlavně dobytka, zásadním veterinárním problémem. Nejenže přináší značné ekonomické problémy, ale také nakažený dobytek může sloužit jako rezervoár pro infekci lidí některými druhy.

Jako specifický hostitel slouží člověk nejčastěji pěti druhům schistosom: *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum* a *S. haematobium*. První čtyři druhy způsobují obvykle chronickou hepatitidu a intestinální fibrózu. *S. haematobium* je asociovaná se vznikem fibrózy, kalcifikace a zúžení močového traktu (McManus and Loukas 2008). Navíc lidé mohou být náhodně nakaženi i zvířecími druhy schistosom, např. *S. bovis*, nebo *S. margrebowiei*, a to nejen savčími, ale také druhy, které napadají ptáky (např. rod *Trichobilharzia*). Ptačí schistosomy se však nedokáží při průniku do nespecifického hostitele vyvinout v dospělce (Horák *et al.* 2002). Tyto ptačí schistosomy při primoinfekci dokážou proniknout do různých hostitelových tkání, např. *T. regenti* do nervové soustavy myši (Hrádková and Horák 2002), nebo *T. szidati* do plic (Horák and Kolářová 2000). Opětovné setkání hostitelova imunitního systému s pronikajícími cercáriemi se projevuje jako cercáriová dermatitida, zánětlivé kožní onemocnění (Horák *et al.* 2002).

Většina dat použitých v této práci byla získána na modelového druhu *S. mansoni*, který je nejlépe prostudován. Cyklus tohoto druhu je běžně udržován v laboratořích. Většinou jsou jako konečných hostitelé s používány různé kmeny myší.

Tato práce si klade za cíl:

- Popsat průběh imunitních reakcí při schistosomóze.
- Seznámit se s nejvýznamnějšími antigeny uvolňovanými jednotlivými stádii.

- Nastítnit budoucí možný vývoj vakcíny proti schistosomóze.

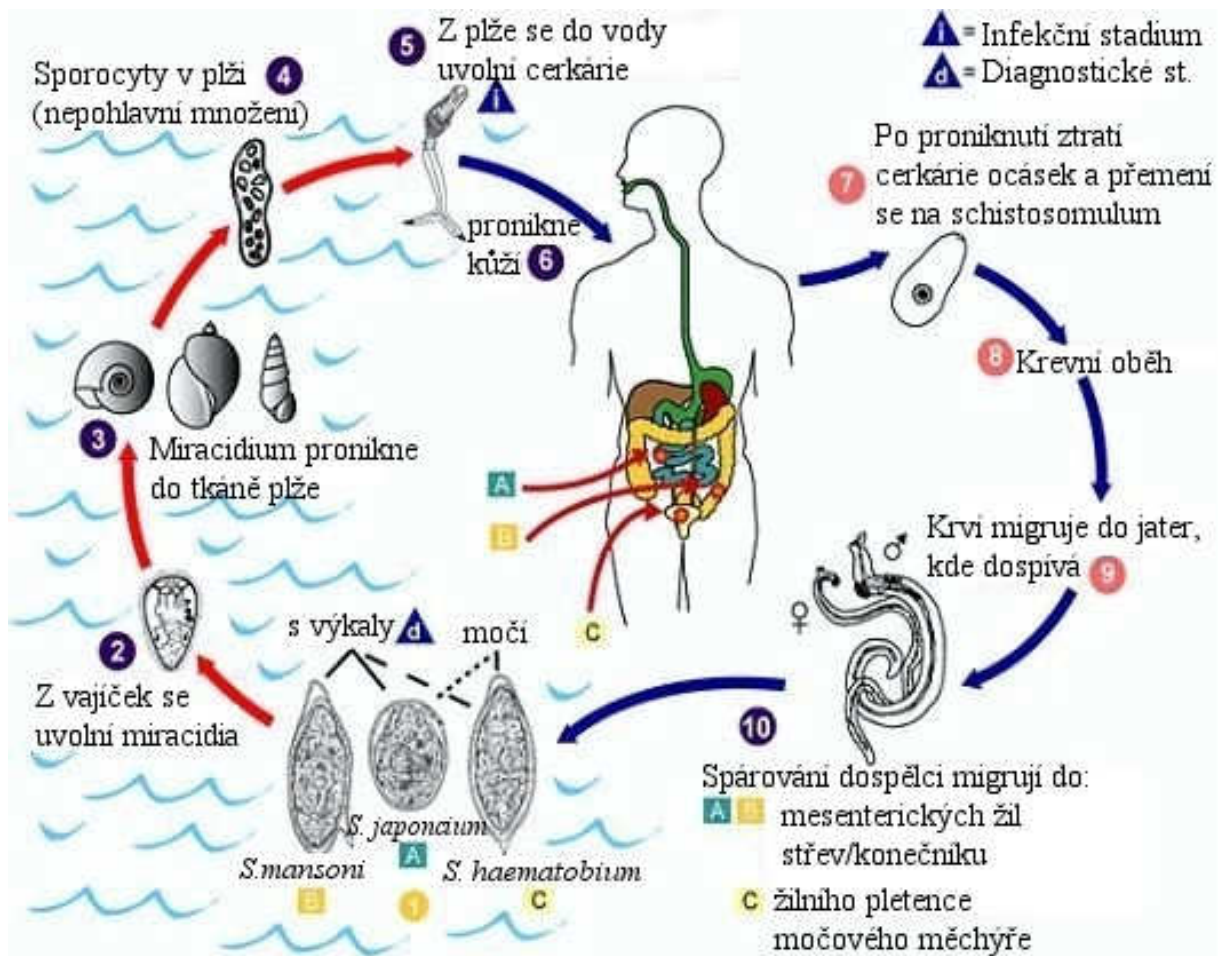
3. Cyklus

Čeď Schistosomatidae je charakteristická dvouhostitelským cyklem zahrnujícím vodního plže jako mezihostitele a teplokrevného obratlovce jako hostitele konečného. Cyklus (viz Obr.1) ve většině případů začíná uvolněním vajíček z hostitele do vody, ta mají často charakteristickou stavbu stěny s různými výběžky a trny. Ve vodě se z vajíčka vlivem změny osmotického tlaku líhne pohyblivé stádium miracidium (Kassim and Gilbertson 1976, Bair and Etger 1973). To aktivně vyhledává ve vodě druhově specifického měkkýše, který slouží jako mezihostitel. Penetruje do jeho svalnaté nohy. V blízkosti místa průniku se vyvíjí v primární (mateřskou) sporocystu, v té vznikají další stádia, sekundární (dceřiné) sporocysty. Ty migrují tělem měkkýše do místa definitivní lokalizace, kterým je hepatopankreas. Zde se uvnitř sekundárních sporocyst vyvíjejí cercárie, stádia, která se cyklicky uvolňují z infikovaného plže a penetrují skrz kůži konečného hostitele.

Další migrace závisí na tom, zda se jedná o viscerální či o nazální druh. Viscerální schistosomy (patří mezi ně všechny druhy schistosom napadající člověka) osidlují vnitřní orgány, dospělci nazálních druhů žijí v tkáních nosní dutiny. Cercárie po nalezení hostitele pronikne přes jeho kůži (viz. penetrace) a mění se na schistosomulu. Ta povětšinou užívá k pohybu po těle hostitele cévní soustavu. Schistosomula během několika dní domigruje do plic. Opustí cévu, nějaký čas zůstává v plicním alveolu a poté se vrací do krevního řečiště. Krevním oběhem je zanesena až do místa definitivní lokalizace, kde je dokončen vývoj v dospělého. Místo definitivní lokalizace se liší podle druhu. V případě *S. japonicum* je to hepatoportální systém zásobující játra (zejména *vena portae*), v případě *S. haematobium* cévy urogenitálního systému a u *S. mansoni* mezenterické cévy (Kumkate *et al.* 2007). Zde se setkávají obě pohlaví. V případě zástupců rodu *Schistosoma* samec sevře samici ve ventrální břišní rýze, neboli *canalis gynaecophorus* a dochází ke kopulaci. Samice vyprodukuje během dne 300 až 3000 vajíček, počty se liší podle druhu. Vajíčka nakladená do cév příslušných orgánů způsobí zánětlivou reakci, díky níž se dostanou do lumen střeva nebo do močových cest a vyjdou ven s výkaly či močí (McManus and Loukas, 2008).

O nazálních druzích není příliš známo. Patří mezi ně např. *Trichobilharzia regenti*, která má mezi schistosomami, díky svému neurotropnímu chování a cyklu, značně specifické postavení. Jedná se o schistosomu parazitující u vrubozobých ptáků. Po penetraci do definitivního hostitele využívá schistosomula jako migrační cestu nervovou soustavu (Horák *et al.* 1999). Způsobuje tak svému hostiteli různé neuromotorické poruchy (Hrádková and Horák 2002). Přes CNS se dostane až do nosní dutiny. Právě v tkáních nosní sliznice žijí dospělci. Další zvláštností této schistosomy

je to, že se na rozdíl od jiných druhů miracidium dostává z vajíčka při izoosmotickém tlaku již v nosní dutině (Horák *et al.* 1998a).



Obr.1 Životní cyklus *S. mansoni*, *S. japonicum* a *S. haematobium*. Přepřacováno z [http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Schistosomiasis.htm]

4.1 Penetrace cercárie do definitivního hostitele

Penetrace do hostitele probíhá u většiny druhů obdobně, jen s malými rozdíly. Cercárie v průběhu penetrace odvrhují vidličnatý ocásek. Pomáhá jim s tím na zadní části těla umístěný svalový límeček. Někteří autoři považují jeho odvržení za počátek transformace v schistosomulu (He *et al.* 2005).

Pro průnik do hostitele jsou cercárie vybaveny několika druhy penetračních žláz. U cercárie *S. mansoni* byla popsána hlavová žláza, 2 páry preacetabulárních (cirkumacetabulárních) a 3 páry postacetabulárních žláz (Stirewalt and Kruidenier 1961; Dorsey 1976). Jedná se vždy o jednobuněčné žlásky.

Penetrační proces má většinou tři kroky. První fáze je přichycení cercárie na povrch kůže. Podnět k trvalému kontaktu s hostitelovou kůží dají cercárii různé mastné kyseliny a hydrofilní

extrakty. V případě druhu *S. mansoni* dají tento stimul ceramidy a diacylglyceroly na povrchu hostitele (Haas *et al.* 1994). Následuje druhá fáze, plazení po povrchu hostitele a hledání vhodného místa k vniknutí do něj. Poslední fází je průnik přes epidermis. Cercárie stimulovaná nenasyčenými mastnými kyselinami z povrchu kůže, kyselinou linolovou a linolenovou (Shiff *et al.* 1972), začne pomocí svalové kontrakce vypouštět z acetabulárních žláz sekretorická granula, jejichž obsah narušuje hostitelovu tkáň. Jejich složení se liší podle toho, zda jsou produkována v preacetabulárních, či v cirkumacetabulárních žlázách. Obsahují proteázy se substrátovou specifitou vůči proteinům hostitelovy kůže.

V sekretech z cirkumacetabulárních žláz byly nalezeny serinové proteázy, nejznámější je cercáriová elastáza (30 kDa) popsaná u druhů *S. mansoni* a *S. haematobium*. Tato proteáza štěpí keratin, laminin, kolagen IV, elastin a další složky kůže (McKerrow *et al.* 1985; Marikovsky *et al.* 1990). U *S. japonicum* nebyla v acetabulárních žlázách serinová proteáza nalezena (Chlichlia *et al.* 2005).

Cysteinové peptidázy byly pozorovány u druhů *S. mansoni*, *S. japonicum* (Klinkert *et al.* 1989), ale také u *T. regenti* a *T. szidati* (Mikeš *et al.* 2005). Jedná se o tzv. cathepsiny B a L. Podle hypotézy Dalton *et al.* (1996,1997) slouží k lyzi svrchní zrohovatělé vrstvy kůže. Dalton *et al.* (1997) je pomocí imunolokalizační studie zjistil v postacetabulárních žlázách *S. mansoni*. Byla zaznamenána i přítomnost metaloproteázy u druhu *Schistosoma douthitti* (Amiri 1988), ale jedná se o ojedinělý případ. Dále se v sekretu postacetabulárních žláz objevují lektiny a mucinové polysacharidy. V obsahu preacetabulárních žláz můžeme nalézt velké množství vápníku (Dresden and Asch 1977, Mikeš *et al.* 2005). Zajímavá je přítomnost eikosanoidů. Není zřejmé, zda jsou tyto látky, které vznikají jako produkty degradace mastných kyselin, obsaženy v žlázových sekrecích, či vznikají přeměnou v kůži obsažených mastných kyselin. Mají schopnost utlumit imunitní reakci hostitele a působí jako vazodilatátory (Nevhualu *et al.* 1993).

Ve střevech lidských schistosom byly objeveny střevní cathepsiny, které schistosomy využívají k trávení krevních proteinů. Jednalo se o cathepsiny B, C, D, E, F a L (Caffrey *et al.* 2004). Schistosomy patří mezi prvoústé živočichy, střevní obsah je vyvrhován spolu se zbytky tráveniny a do kontaktu s hostitelem se tak dostanou i střevní proteázy, které působí histoliticky a imunogenně (Skelly and Shomaker 2001). Cathepsin B1 je u rodu *Schistosoma* lokalizován ve střevě (Caffrey *et al.* 2004). (Dvořák *et al.* 2005) pozoroval, že cathepsin B1 obsažený ve střevě *T. regenti* dokáže štěpit i myelin. Dolečková *et al.* (2009) identifikovali novou cathepsin B peptidázu, která je podobná cathepsinu B2 lidských schistosom.

Zástupci čeledi *Schistosomatidae* parazitují pouze u teplotokrevných obratlovců. Chemické a strukturní složení kožního povrchu hostitelů se příliš neliší. Schistosomy vykazují hostitelskou specifitu, ale např. *T. regenti* může na základě stejných signálů penetrovat i do kůže svého

nespecifického hostitele. Nedokáže v něm však dokončit vývoj (Horák *et al.* 2002). Pokud se jedná o první setkání hostitele se schistosomami, může cercárie proniknout kůží a dokonce po určitý čas přežívat v hostitelových tkáních. V jistých případech se schistosomuly *T. regenti* dokáží dostat až do hostitelovy nervové tkáně (Hrádková and Horák 2002). Stejně tak mohou penetrovat do nespecifického hostitele i další druhy ptačích schistosom např. *Trichobilharzia szidati*, jejíž schistosomuly jsou nacházeny v plicích nespecifických hostitelů (Horák and Kolářová 2000). Při opakovaném vystavení nespecifického hostitele ptačím schistosomám způsobují penetrující cercárie onemocnění nazývané „cercáriová dermatitida“ (Horák *et al.* 2002). Jedná se o alergickou kožní reakci, která se projevuje nejčastěji svědící vyrážkou, ale v některých případech i edémy, otoky uzlin a horečkami (Horák *et al.* 2002).

4.2 Glykokalyx

Glykokalyx, kterým je kryto tělo cercárií je značně imunogenní. Vážou se na něj jak lidské, tak zvířecí protilátky (Kemp 1972; Kemp *et al.* 1973 citace dle Samuelson and Caulfield 1985) a je rozpoznáván i lidským komplementem (Samuelson and Caulfield 1986). Je to v podstatě 1-2 µm silná fibrilární síť, která kryje parazitovo tělo. Glykokalyx obsahuje řadu sacharidů, jako je L-fukosa, D-galaktosa, D-glukosamin, D-galaktosamin a D-manosa (Nanduri *et al.* 1991; Xu *et al.* 1994) Je jimi tvořen z 82 % (Nanduri *et al.* 1991). Nanduri *et al.* (1991) pozorovali, že glykokalyx *S. mansoni* nese celkový záporný náboj, který má větší záporný náboj na ocásku, než na těle cercárie. Bylo zjištěno, že i když se cercárie při přeměně v schistosomulu glykokalyxu zbavuje, jsou ještě několik hodin po přeměně na jejím povrchu patrné jeho zbytky (Samuelson and Caulfield 1985).

Glykokalyx, ale i obsah žlázek, jsou bohatým zdrojem antigenů. Podhorský *et al.* (2009) se pokusili použít vazbu specifických lektinů na povrch cercárií *T. szidati*, *T. franki* a *T. regenti*, jako metodu k rozlišení těchto druhů. Navážené lektiny se však významně nelišily. Horák *et al.* (1998) pozorovali, že schistosomula *T. szidati* snižuje a následně úplně eliminuje uhlovodíkové epitopy na svém povrchu. Na ultrastrukturální úrovni je tento proces spojen se ztrátou glykokalyxu. Jedná se nejspíš o způsob, kterým se snaží schistosomy vyhnout imunitní odpovědi.

5. Migrace

Migrace má několik fází. Cercárie a z ní se vyvíjející schistosomula musí proniknout přes různé kožní vrstvy a poté migrovat přes další orgány, než se dostanou na místo konečné lokalizace. Opět se její průběh liší podle toho, zda se jedná o viscerální, či názální skupinu, ale také podle zkoumaného druhu. Například *S. mansoni* a *S. heamatobium* mají podobný průběh migrace, dermálních cév dosáhne 90% schistosomul 72 hodin po infekci (p.i.).

Schistosomuly *S. japonicum* můžeme nalézt v dermálních cévách dokonce už 2 hodiny p.i., většina jich dosáhne 24 hodin p.i. (He *et al.* 2003).

5.1. Migrace viscerálních druhů

Jako příklad zástupce viscerálních druhů nám může posloužit právě *S. mansoni*, jejíž biologie je nejlépe prostudována.

Po penetraci cercárie zůstává v *stratum corneum*. Leží zde rovnoběžně s povrchem těla. Její další migrace probíhá šikmo přes *stratum malpighi*. V této chvíli již probíhá transformační proces na schistosomulu.

Mění při tom svůj metabolismus z aerobního na anaerobní, stavbu tělního povrchu a morfologii. Cercárie aktivně odvrhují svůj glykokalyx, který je značně imunogenní. Transformace se také pojí s přestavbou tegumentu. S jednotkovou (trojvrstevnou) membránou tegumentu, splývají měchýřky s několika vrstevnou stěnou. Stává se z ní tak dvojitá membrána, ta se jeví v elektronovém transmisním mikroskopu jako 7 vrstevná. (Hockley and McLaren 1973)

Poté, podle jedné z teorií, schistosomula *S. mansoni* opustí kůži a pomocí hlavové žlázy, z které vypustí hustou granulární sekreci, pronikne stěnou cévy a dostane se do krevního řečiště (Curwen and Wilson, 2003). Jiní autoři zastávají názor, že hlavová žláza by mohla sloužit k opravě a přestavbě penetrací poškozeného tegumentu (Dorsey 1976). Acetabulární žlázy už jsou v této chvíli prázdné (Stirewalt and Dorsey 1974). Schistosomula se nechá proudem krve zanést do plic, vstupuje do nich plicní arterií.

Načasování příchodu larev do plic se mezi jednotlivými druhy liší. V případě *S. mansoni* vrcholí příchod 5.-6. den p.i., schistosomuly *S. japonicum* domigrují do plic nejčastěji už třetí den p.i. (Gui *et al.*, 1995 citace dle Gobert *et al.*, 2006) V plicích schistosomula prodělává další vývoj. Vyvíjí se v plicních kapilárách. Zvětšuje povrch svého membránového tegumentu, mezi 3. a 8. dnem od infekce až o 52% (Crabtree and Wilson, 1980 citace dle Simpson 1987). Bylo pozorováno, že schistosomuly se mohou během plicní fáze migrace vyživovat hostitelovou plasmou. (Crabtree 1982 citace dle Simpson 1987) Schistosomuly prolamují stěnu kapilár a vstupují do plicních alveolů. Zde se setkávají s nejsilnější imunitní odpovědí (Crabtree and Wilson 1986a citace dle Wilson 2009). Schistosomuly v plicích obvykle zůstávají 3-4 dny (Wilson *et al.* 1986). Z alveolů se schistosomuly dostanou opět do krevního řečiště.

Z plic se schistosomuly dostávají intravaskulární cestou. Opustí plíce a skrz plicní věnu se dostanou do levé části srdce. Jsou pak krevním oběhem distribuovány po celém těle. Vstoupí pak splachnickými arteriemi skrz kapilární pleteně do hepato-portálního systému a zůstanou v játrech. Zbylé schistosomuly se opět kapilárami vrátí do plic a cirkulují tak dlouho, dokud se také nedostanou do místa konečné lokalizace (Wheater and Wilson, 1979; Miller and Wilson

1980; citace dle Simpson 1987) Během migrace portálním systémem schistosomy dospějí a spárují se (McManus and Loukas 2008).

5.2 Migrace nazálních druhů

Krom *T. regenti* je známo několik dalších druhů nazálních schistosom, např. *Schistosoma nasale*. Přesto migrace nazálních druhů nikdy nebyla zkoumána na jiném modelu. Navíc migrace schistosomuly *T. regenti* je značně specifická díky jejímu neurotropnímu chování. Celý průběh je velmi rychlý. Po penetraci kůží schistosomula vyhledává periferní nervy. Byla zde nalezena již 1,5 dne po infekci. V dalších dnech postupuje přes míchu (nálezy již 2 dny po infekci) a mozek (12. den po infekci) až do místa své konečné lokalizace. Zde, ve sliznici nazální dutiny, byli juvenilní červi zaznamenáni už 13. den. (Hrádková and Horák, 2002). Stojí za zmínku, že délka cyklu je odhadována na pouhých 23 – 25 dní od počátku infekce. (Horák *et al.*, 1999; Kolářová *et al.*, 2001).

6.1 Imunitní mechanismy

Povrch těla hostitele je kryt kůží. Ta je zodpovědná za ochranu proti mechanickým, fyzikálním, chemickým i dalším poškozením. Má za úkol zabránit také průniku patogenů z vnějšího prostředí. Při průchodu hostitelovou kůží se cercárie setkávají s molekulami a buněčnými složkami nespecifické (vrozené, neadaptivní) i specifické (adaptivní) imunity.

Nespecifická imunita je vývojově původnější než imunita specifická. Tyto složky imunity jsou v organismu přítomny již před začátkem infekce. Mohou tak zahájit obranu proti patogenu téměř okamžitě (řádově v desítkách minut). Fungují na principu toho, že reagují na strukturní či funkční podobnosti cizorodých struktur. Vybírají ty, které jsou společné pro velké skupiny patogenů. Nespecifická imunita pod sebe zahrnuje fagocytující, ale také cytotoxické buňky (buněčné složky), komplement, lektiny a interferony (humorální složky).

Specifická (získaná) imunitní odpověď se vyvinula později. Na tuto skutečnost se usuzuje z toho důvodu, že tento její typ nalézáme až u obratlovců, kde zdokonaluje práci i zde přítomných složek nespecifické imunity. V těle organismu je přítomno obrovské množství imunitních složek, které jsou schopny vysoce specificky reagovat na struktury, které nejsou tělu vlastní. Humorální složky jsou reprezentovány protilátkami, buněčné složky zastupují hlavně různé druhy lymfocytů.

Klíčovým momentem imunitní odpovědi je rozhodnutí, zda se přikloní k tzv. Th1 či k Th2 reakci.

6.1.1 Th1 typ imunitní odpovědi

Jinak lze tuto reakci označit také jako zánětlivou. Pokud se nezralý CD4+ (cluster of differentiation) T-lymfocyt setká s makrofágem, který na svém MHC II (major histokompatibilit)

complex) vystavuje fragmenty patogena, může tyto peptidové struktury rozeznat svým TCR (T-cell receptor). T-lymfocytový prekurzor se naváže na infikovaný makrofág pomocí TCR a dalších ligandů a receptorů. Infikovaný makrofág vyše soubor signálů, nejen přes ligandové spojení, ale také humorálně. Produkuje IL-12, který podporuje přeměnu prekurzoru v Th1-lymfocyt, který má za úkol se dělit, aby vznikla skupina klonů rozeznávajících danou strukturu parazita. Samy Th1-lymfocyty produkují IL-2, který má autokrinní funkci. Podporuje jejich množení a proliferaci. Th1-lymfocyty mají za úkol aktivovat makrofágy. Provádějí to sekrecí IFN- γ , který makofágy berou jako signál pro přechod do aktivovaného stavu. Aktivované makrofágy uvolňují do okolí další látky, které stimulují další T-lymfocyty.

Tento typ imunitní odpovědi se obvykle uplatňuje proti intracelulárním parazitům (Hořejší and Bartůňková 2005).

6.1.2 Th2 typ imunitní odpovědi

Prekurzorový T-lymfocyt se může diferenciovat v Th2-lymfocyt pokud se setká s APC (antigen-presenting cell), která má na povrchu MHC II, na kterém je navázán cizorodý fragment, který je T-prekurzorem rozeznán. Důležité je, aby v okolí byla vysoká hladina IL-4, který je pro vývin v Th2-lymfocyt nezbytný. Prekurzorový T-lymfocyt se pomocí TCR, adhezivních molekul a kostimulačních proteinů naváže na APC. Působící signály dají podnět k tomu, aby se z prekurzoru stal Th2-lymfocyt a zahájilo se jeho dělení a proliferace. Hotové Th2-lymfocyty mají za úkol pomocí volných či membránově vázaných cytokinů stimulovat vznik co nejvíce klonů B-lymfocytů, které se vážou na danou patogenní strukturu.

Th2 odpověď je asociovaná s tvorbou protilátek. B-lymfocyty, přeměněné vlivem setkání s antigenem v plazmatické buňky, produkují imunoglobulíny (Ig), které jsou vázány na jejich povrchu (IgM a IgD), nebo jsou jimi sekretovány do okolí (IgG1-IgG4, IgA1, IgA2, IgE). Protilátky opsonizují a neutralizují patogeny a jeho struktury a fungují jako aktivátory komplementu.

Tato imunitní reakce je v těle používána z pravidla v boji proti extracelulárním parazitům (Hořejší and Bartůňková 2005).

7. Imunita v kůži

Zdá se, že imunitní události v kůži na počátku infekce schistosomami, hrají důležitou iniciační roli v pozdějším vzniku získané imunitní odpovědi v podkožních mízních uzlinách a v plicích (Mountford and Trottein, 2004). Podle Harrop *et al.* (2000) jsou právě molekuly, které se uvolňují během penetrace cercárie do kůže, první parazitární proteiny, s kterými se hostitelův imunitní systém setkává.

V jednotlivých vrstvách kůže, jimiž cercárie prochází při penetraci, se mohou setkat s těmito typy hostitelových buněk: v epidermis s keratinocyty, melanocyty, intraepiteliálními lymfocyty nebo Langerhansovými buňkami. V dermis se setkávají s hlavně s fibroblasty, mastocyty a v malém množství s paměťovými T-lymfocyty. Mnohé z těchto buněk mají významný podíl na vzniku imunitní odpovědi v kůži proti invadujícím cercáriím.

Vznik imunitní reakce v kůži byl studován na ozáření oslabených cercáriích. Po té co byl modelový organismus (myš) vystaven těmto cercáriím, se vyvíjela níže popsaná imunitní odpověď.

Schistosomuly penetrující kůží vyvolávají okamžité uvolnění zánětlivých cytokinů, makrofágy produkovaných zánětlivých proteinů (macrophage inflammatory protein) MIP-1 α a MIP-1 β . Ty vedou k rychlému a krátkodobému nástupu produkce IL-6 a IL-1 β (Hogg *et al.* 2003) a v odpovědi na ně jsou uvolněny další cytokiny, včetně IL-12 a IL-18 (Mountford and Trottein 2004). MIP-1 α a MIP-1 β také fungují jako atraktanty pro monocyty, lymfocyty a nezralé dendritické buňky (Taub *et al.* 1993; Sozzani *et al.* 1997; Ying *et al.* 2001 citace dle Hogg *et al.* 2003a).

Senzitizace kůže způsobená cercárií je asociována s produkcí IL-1 β . Produkují ho Langerhansovy buňky (LC) a funguje jako autokrinní signál pro migraci do dermis (Enk *et al.* 1993 citace dle Kimber *et al.* 1998) a působí také na keratinocyty (KC), které stimuluje k uvolňování TNF- α (Kimber and Cumberbatch, 1992 citace dle Angeli *et al.* 2001), který dává LC sekundární signál k opuštění epidermis. Za normálních podmínek jsou LC spojeny s keratinocyty pomocí E-cadherinu (Tang *et al.* 1993). Při setkání s patogenem, v tomto případě s cercárií, LC pohltnou jeho antigeny, vlivem IL-1 β a TNF- α klesne exprese E-cadherinu, LC se uvolní ze sousedství KC a migrují do nejbližší lymfatické uzliny. LC jsou vlastně antigen prezentující dendritické buňky, které vystaví fragmenty parazitárních antigenů na svých MHC II třídách, kde je rozeznávají naivní T-lymfocyty, které se tímto způsobem stimulují k pomnožení (Romani *et al.* 2003a citace dle Kumkate *et al.* 2007). Recentní práce, např. Kumkate *et al.* (2007) však rozpoutaly diskusi, zda LC nemají v imunitních událostech spojených s penetrací cercárií spíše regulační než stimulační roli. Stoitzner *et al.* (2006) rozvíjí teorii, že hlavní úloha CD 207+ LC spočívá spíše než v iniciaci imunitních mechanismů v křížové prezentaci antigenů navázaných na MHC I dalším APC v kožních lymfatických uzlinách.

LC samy produkují řadu cytokinů, např. IL-1 β , IL-6, IL-12 a IL-15 (Enk *et al.* 1993). T-lymfocyty aktivované pomocí LC migrují zpět do kůže a záleží na druhu a koncentraci cytokinů, s kterými se zde setkají, zda se vyvinou v Th1 nebo Th2 lymfocyty.

Při průniku hostitelovou kůží způsobují schistosomy hostiteli edémy a dilataci periferních cév. Vzápětí následuje vtok neutrofilů a později i dalších buněk do kůže (Hogg *et al.* 2003). Je

zajímavé, že se liší složení sekretovaných cytokinů podle druhu penetrující schistosomuly. Vlivem infekce cercáriemi *S. haematobium* se zvýšily hladiny IL-1ra, IL-10 a TNF α , podobně reagoval imunitní systém při napadení *S. mansoni*. Penetrace cercárie *S. japonicum* vyvolala vzestup sekrece IL- β , IL-1ra, IL-2, IL-8, IL-10, IL-15, IL-18 a TNF- α (He, *et al.* 2003).

Keratinocyty ovlivňují imunitní odpověď v kůži tím, že produkují další různé cytokiny a to jak prozánětlivé, např. IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-7 a IL-12, tak také ty, co zánět potlačují, např. IL-1ra a IL-10 (Chu and Morris 1989).

Polařizace k Th1 odpovědi je zprostředkována pomocí dvou cytokinů - INF- γ a IL-2. K Th2 se imunitní odpověď přikloní, pokud jsou do prostředí sekretovány IL-4, IL-5, IL-10 a IL-13. Makrofágy jsou podle Bentley *et al.* (1981) první buněčný typ aktivovaný penetrací cercárie. Akumulují se kolem schistosomuly (Crabtree and Wilson 1986). Tyto akumulované makrofágy mohou zabít schistosomulu dvěma odlišnými mechanismy. První je nezávislý na přítomnosti protilátek navázaných na povrchu schistosomuly. Je zprostředkován makrofágy aktivovanými pomocí IFN- γ , které zabijí schistosomulu produkcí toxických metabolitů, např. pomocí NO (James 1986). Pro spuštění druhého způsobu zabití schistosomul, je potřeba aby na jejich povrchu byly navázány antiparazitální protilátky. Makrofágy se tak díky nim mohou navázat na schistosomulu a vypustit na jejich tegument sekretorická granula (Butterworth 1984).

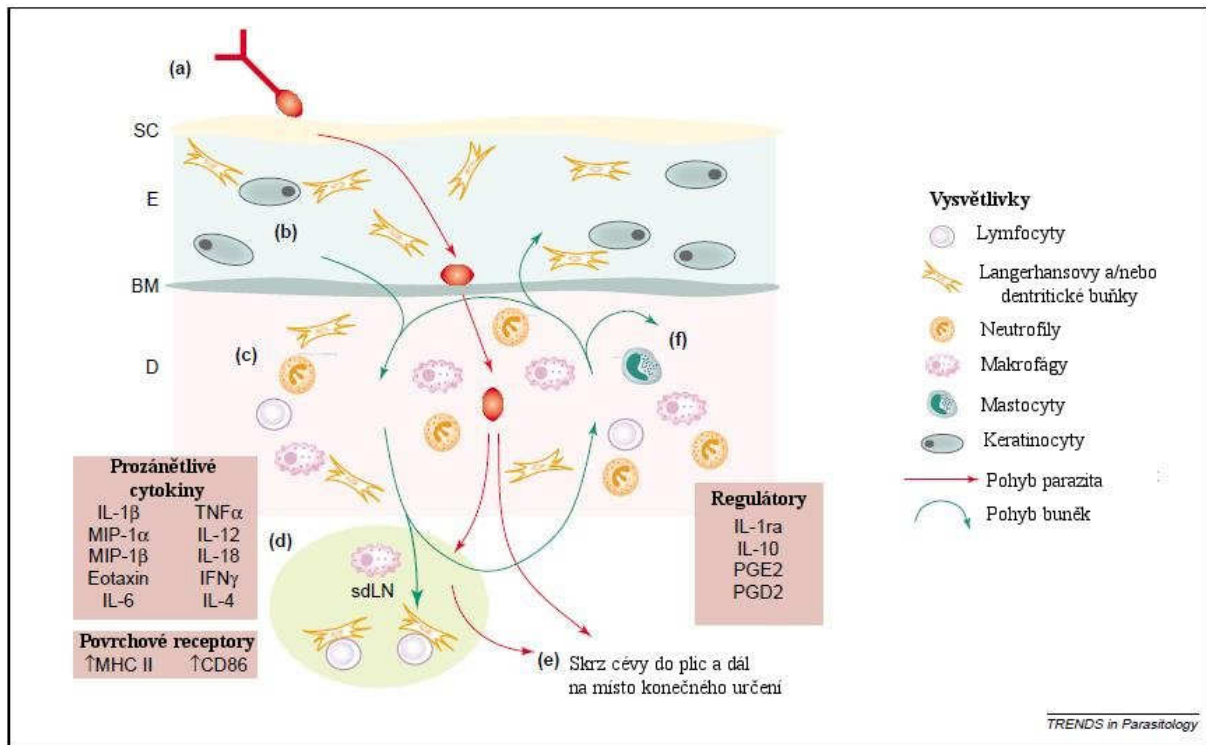
Přesto je imunitním systémem rozpoznána a zadržena v kůži jen velmi malá část penetrujících schistosom (Wilson, 2009). Podle Mangold and Dean (1983) překoná kožní bariéru během 5-7 dnů po infekci, při použití myšního modelu, až 90% cercárií *S. mansoni*. Schistosomy si totiž vyvinuly celou řadu mechanismů, jejichž pomocí unikají imunitnímu systému hostitele.

Jedním ze způsobů vyhnutí je odhození glykokalyxu při přeměně cercárie v schistosomulu. Glykokalyx aktivuje alternativní cestu komplementu (Dias da Silva and Kazatchkine 1980) a stimuluje produkci protilátek (Kemp *et al.* 1973; Horák *et al.* 1998b).

Dalším způsobem úniku je využití působení eikosanoidů na regulaci imunitního systému hostitele. Mezi eikosanoidy můžeme zařadit i prostaglandiny. Bylo popsáno, že syntéza i velmi malého množství (pmol) prostaglandinu-E₂ (PGE₂), tlumí produkci IL-12 a zvyšují sekreci IL-10 (Van der Pouw Kraan *et al.* 1995, Enk and Katz 1992). Působením parazita na kyselinu arachidonovou vzniká PGE₂ (Ruzicka and Printz, 1984 citace dle Ramaswamy *et al.* 2000), který působí na myši i lidské keratinocyty a stimuluje je k produkci IL-10. Dokáže tak utlumit vznikající kožní zánětlivou reakci (Ramaswamy *et al.* 2000).

Další prostaglandin, který ovlivňuje imunitní pochody při kožní infekci *S. mansoni*, je PGD₂. Působí na kožní Langerhansovy buňky a zpomaluje jejich migraci do lymfatických uzlin (Angeli *et al.* 2001)

V neposlední řadě dokáže *S. mansoni* mocí serinové proteázy (28 kDa), rozštěpit navázané komplementové proteiny C3, C3b a C9 (Marikovský *et al.* 1990).



Obr.2 Migrace a imunitní odpověď v kůži, proti ozáření oslabené cercárii (*S. mansoni*) v myším modelu. Vysvětlivky: BM, bazální membrána, E, epidermis, D, dermis, SC, *stratum corneum*, sdLN, podkožní lymfatická uzlina. Přepřacováno od Mountford and Trottein (2004)

7.1 Cercáriová dermatitida – imunitní reakce nespecifických hostitelů:

Zdá se, že ptačí schistosomy penetrují rychleji, než druhy napadající savce. Platí to jak pro průnik kůží specifického i nespecifického hostitele. Cercárie *T. szidati* pro plný vstup do lidské kůže potřebuje 4 min (Haas and Haerberlein 2009).

Cercáriová dermatitida způsobovaná ptačími druhy schistosom, nejčastěji rodem *Trichobilharzia* (Horák *et al.* 2002), je alergická hypersenzitivní kožní reakce, která se vyvíjí po opakované penetraci cercárií do kůže nespecifických hostitelů. Některé druhy ptačích schistosom (*T. szidati*, *T. regenti* atd.) dokážou proniknout do těla savců, ale většina jich zahyne během několika dnů po vniknutí (Haas and Pietsch, 1991; Kouřilová *et al.*, 2004). Pronikající cercárie mohou nějaký čas přežívat v hostitelových tkáních, dokážou se transformovat na schistosomulu, ale nedokážou vývoj dokončit.

Kolem místa průniku se vytvoří edém (Horák *et al.* 2002). Otok je vyvolán mastocyty a makrofágy produkovaným histaminem (van Loveren *et al.*, 1997 citace dle Kouřilová *et al.*

2004). Do místa průniku jsou navíc atrahovány leukocyty jako neutrofilny, eosinofily, makrofágy, CD4+ lymfocyty a mastocyty (Kouřilová *et al.* 2004).

Kouřilová *et al.* (2004) objasnili mechanismy imunitní odpovědi při primárním, ale také při opětovném setkání nespecifického hostitele s penetrujícími ptačímí schistosomami.

Při prvním setkání nespecifického hostitele bývá imunitní reakce mírnější. Po první infekci způsobené *T. regenti* je prvních několik hodin po penetraci (1-6) zánět provázen uvolňováním IL-1 β , IL-6 a IL-12p40. Antigenem stimulované lymfocyty odpovídají na první setkání s pronikající cerkárií smíšenou Th1/Th2 cytokinovou odpovědí. Při opakovaném vystavení cerkáriím *T. regenti* (4x) byla zaznamenána jasná Th2 polarizace s dominantní sekrecí IL-4 a IL-5. Tato polarizace byla dokázána i zvýšením antigeně specifických sérových protilátek IgM, IgG1 a IgE, následujícím po hostitelově několikanásobné infekci (Lichtenbergová *et al.* 2008).

8. Imunita v plicích

Plíce hrají podle Wilson *et al.* (1986) hlavní roli v eliminaci přichozích schistosomul.

Schistosomuly v plicích běžně setrvávají 3-4 dny, během nichž se vyvíjí a připravují k opětovnému vstupu do krevního řečiště (Wilson *et al.* 1986). Harrop *et al.* (2000) naznačují, že plíce mohou být místem, v kterém schistosomula několik dnů zůstává a změny, které zde probíhají, ji přizpůsobí k další migraci. Proto je v tomto období citlivá k zásahu imunitního systému.

Schistosomuly přicházející do plic vyvolávají zánětlivou reakci, shlukne se kolem nich buněčný infiltrát, který je složen převážně s CD4+ lymfocytů a makrofágů (von Lichtenberg *et al.* 1985; Crabtree and Wilson 1986). Zdá se, že tyto buňky vytvoří bariéru, která brání schistosomule v další migraci (Crabtree and Wilson 1986; Coulson and Wilson 1988). Dean and Mangold (1992) popsali, že takto zachycená larva se během několika dnů zmenšuje a chřadne. Neumírá však v plicích. Jednou z možností odsrtnění těchto larev je pomocí řasinkového epitelu v trachei, který je vnese ven. Poté jsou eventuálně vyloučeny gastrointestinálním traktem.

IFN- γ , produkovaný CD4+ Th1 lymfocyty (Smythies *et al.* 1992) je klíčový cytokin, protože je to předpokládaný aktivátor makrofágů (Menson and Wilson 1989). Ty splňují funkci efektorových buněk (James 1986 citace dle Smythies *et al.* 1992). Imunitní odpověď v plicích je závislá na CD4+ Th-lymfocytech (Vignali *et al.* 1989 citace dle Mountford *et al.* 1995). U myši vakcinované ozářenými cerkáriemi, příchod parazita do plic rychle vyvolá kontaktní zánět.

Produkce IFN- γ stimuluje produkci NO tím, že působí na syntázu oxidu dusnatého (Kamijo *et al.* 1993). NO však nehraje hlavní roli v eliminaci schistosom v plicích (Wilson 1998). Bylo zjištěno, že přítomnost erytrocytů eliminuje cytotoxický účinek NO, v krevním řečišti jsou tak schistosomuly před jeho působením chráněny (Coulson *et al.* 1998).

Antigeny získané z plicní schistosomuly jsou účinné stimulatory proliferace lymfocytů a sekrece Th1 cytokinů, účinnější než antigeny cercárií nebo kožních schistosomul (Mountford *et al.* 1995)

9. Imunita v krvi

S. mansoni, ale i další druhy viscerálních schistosom, patří mezi parazity, kteří stráví většinu svého života v intravaskulárním prostředí (Oswald *et al.* 1994) a dokáží zde přežít až několik desítek let (Harris *et al.* 1984). Schistosomuly a dospělci schistosom jsou kryty plně vyvinutým heptalaminárním tegumentem (neodermis). Jedná se vlastně o zdvojenou cytoplazmatickou membránu, která kryje syncytium na povrchu parazita (van Hellemond *et al.* 2006). McLaren and Hockley (1977) a Wiest *et al.* (1988) se domnívají, že tato struktura, která je přítomna na povrchu krevních zástupců digeneí, je důležitá adaptace pomáhající parazitově přežít v krevním prostředí.

V krevní plasmě jsou přítomny komplementové proteiny. V krevním řečišti se dospělci schistosom setkávají se silnou protilátkovou odpovědí. Braschi and Wilson (2006) pozorovali, že se na povrch tegumentu *S. mansoni* váže komplementový protein C3 a hostitelovy imunoglobuliny IgM, IgG1 a IgG3 (viz obr. 3)

Schistosom však disponují schopnostmi, která znepříjemňuje hostiteli boj s těmito parazity. Dokážou totiž hostitelovu imunitní odpověď utlumit či se jí úspěšně vyhnout (Angeli *et al.* 2001, Ramaswamy *et al.* 2000). Výčet jejich únikových mechanismů je velmi pestrý a jistě budou postupně odhaleny i další způsoby, jimiž působí na hostitelovu imunitu.

DAF- dendritické buňky, které jsou součástí imunitního systému hostitele mají na svém povrchu 70 kDa membránový protein (delay/decay accelerating factor), jehož pomocí imunitní systém hostitele tlumí aktivaci alternativní a klasické cesty komplementu přes C3 konvertázu (Mendof *et al.* 1984). Schistosomy jsou schopné tento protein zakomponovat do vlastní membrány a účinně se tak bránit napadení komplementovými proteiny (Fatima *et al.* 1991).

Paramyosin, vázaný v membráně tegumentu schistosom je také schopný zamezit aktivaci komplementové kaskády. Váže na se na C1q a díky tomu se nemůže rozvinout klasická cesta komplementové aktivace (Husler *et al.* 1996).

Schistosomy také využívají k maskování svých tegumentárních antigenních epitopů membránové komponenty získané z hostitelových erytrocytů. Schistosomula *S. mansoni* exkretuje do svého okolí monopalmitoyl-PC, který vzniká jako odpadní produkt při periodické obměně tegumentu. Působí lysi erytrocytů. Části membrán z lizovaných erytrocytů použije parazit k vlastnímu maskování (Caulfield and Cianci 1985, Golan *et al.* 1986 citace dle van Hellemond *et al.* 2006).

Membrána tegumentu také obsahuje pro schistosomy specifický lyso-fosfatidyl serin (lyso-PS). Tato molekula je schopna aktivovat Toll like receptor 2. Působí na dendritické buňky, potlačuje produkci IL-12, a tak indukuje vznik Th2 imunitní odpovědi. Tento imuno-supresivní mechanismus tak nejspíše napomáhá dlouhému přežívání parazita uvnitř hostitele (van der Kleij *et al.* 2002).

10. Imunita v CNS – *T. regenti*:

T. regenti, na rozdíl od všech známých druhů čeledi Schistosomatidae, migruje do místa konečného určení nervovou soustavou. Penetruje kůží, prochází periferními nervy. Prostřednictvím míchy a prodloužené míchy domigruje do mozku. Zde pokračuje přes hemisféry a bulbus olfactorius do nosní dutiny (Horák *et al.* 1999, Hrádková and Horák 2002).

Jak popisuje Lichtenbergová *et al.* (2009), po nákaze myšího modelu cercáriemi *T. regenti*, můžeme již po 2 dnech sledovat začátek infekce v CNS. Histologická vyšetření, která provedli Kolářová *et al.* (2001), ukázala, že se vyvíjí silná zánětlivá reakce kolem schistosomul, která vede až k eosinofilní meningitidě. Byly pozorovány dystrofní a nekrotické změny neuronů. Také byla zaznamenána zvýšená proliferace astrocytů v šedé i bílé hmotě míchy. Parazit vyvolává expresi MHC II na povrchu astrocytů a také se díky jeho přítomnosti zvyšuje exprese ICAM-1 na povrchu endotelia. ICAM-1 je adhezivní molekula, která usnadňuje vtok CD4+ lymfocytů a makrofágů (Lichtenbergová *et al.* 2009).

Jsou také zaznamenány případy lidské neuroschistosomózy. Je způsobena vajíčky schistosom, hlavně druhy *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. haematobium*, která jsou do CNS zanesena krevním řečištěm. Zdá se, že míra poškození CNS je závislá na přítomnosti parazitových vajec v nervové tkáni a na hostitelově imunitní odpovědi (Scrimgeour and Gajdušek 1985; Pittella 1997 citace dle Ferrari *et al.* 2008).

11.1 Antigeny schistosom

Antigeny by se daly definovat jako látky (molekuly), které jsou při setkání s buňkami imunitního systému rozpoznány a na něž je imunitní systém schopen zareagovat tvorbou specifických protilátek, nebo specifické buněčné odpovědi. Takovéto molekuly jsou samozřejmě součástí těla parazitů. Při setkání s nimi se aktivuje hostitelův imunitní systém. Životní cyklus schistosom je velmi složitý. Jednotlivá životní stádia se proto odlišují nejen morfologicky, ale také strukturním složením svého těla. Liší se tudíž i antigeny, které jsou jednotlivými stádii exprimovány.

Antigeny lze obecně rozdělit na dva typy, sekreční a membránově vázané. Jak napovídá název, sekreční antigeny jsou uvolňovány z parazita do prostředí, vázané jsou zakotveny na jeho povrchu. Kromě toho můžeme vyčlenit antigeny somatické, tvořící strukturní a cytoplazmatickou složku v těle parazita.

Přehled nejdůležitějších antigenů je uveden v tabulce 1. V textu pod tabulkou jsou charakterizovány nejvýznamnější antigeny, které jsou oproti jiným lépe prozkoumány, jsou používány v diagnostice, nebo jsou kandidáty na výrobu vakcíny. Zaměřila jsem se převážně na antigeny *S. mansoni*, protože jsou nejlépe prostudovány a existuje o nich nejvíce literatury.

Tabulka antigenů schistosom

	ZKRATKA	NÁZEV	VELIKOST [kDA]	CHARAKTERISTIKA LOKALIZACE PROTEINU	STÁDIUM
1.	Sm28GST	Glutathion-S transferáza	28	Detoxifikační enzym Protein lokalizovaný v tegumentu, v parenchymu, v epitelu jícnu a genitálií	Všechna vývojová stadia krom nedozrálých vajíček
2.	SG3PDH	Glyceraldehyd-3 fosfát dehydrogenáza	42	Metabolický Povrchový protein enzym	Schistosomuly; Dospělci
3.	PGK	Fosfoglycerát kináza	45	Metabolický enzym Tegument	Schistosomuly; Dospělci
4.	Smp80	Calpain	80	Ca ²⁺ dependentní cysteinová peptidáza Tegument a pod ním ležící svalovina	Dospělci
5.	Le^X	Lewis X antigen		Povrchový glykoprotein	Všechna vývojová stadia
6.	Sm97	Paramyosin	97	Svalový protein Tegument a pod ním ležící svalovina	Schistosomuly; Dospělci
7.	IrV-5	Irradiation-associated vaccine antigen	200	Tegumentární protein a v penetračních žlázách	Plicní schistosomuly; Cerkárie
8.	Sm14/FABP	Mastné kyseliny vázající protein	14,8	Membránový protein a epitel střeva	Schistosomuly
9.	Sm 23/Sj23	Tetraspaninový membránový protein	23	Membránový a střevní antigen	Dospělci
10.	Sm28 (TPI)	Triosa-fosfát isomeráza	28	Glykolitický enzym, u všech stádií na povrchu, u některých navíc ve střevě	Nově transformovaná schistosomula
11.	Sm 29		29	Tegumentární membránový protein	Schistosomuly; Dospělci

12.	SOD	Superoxid dismutáza		Tegumentární a střevní epitel	
13.	Sm TSP-1	Tetraspanin		Integrální membránový protein	Dospělci
14.	Sm TSP-2	Tetraspanin		Integrální membránový protein	Dospělci
15.	SmRP44	Fruktoso 1,6 bisfosfát adoláza	44		Dospělci
16.	Sm31	Cathepsin B		Střevní cysteinová proteáza	Cerkárie, Schistosomuly,; Dospělci
17.	Sm32	Hemoglobináza		Asparaginilová endopeptidáza	Cerkárie. Schistosomuly; Dospělci
18.	Sm22,6/ Sj22,6		22,6	Protein obsažený v tegumentu s sliznici	Schistosomuly; Dospělci
19.	Sm 22,3/ RP26		22		Dospělci
20.	Sm30	Cerkáriová elastáza	30	Circumacetabulární žlázy	Cerkárie

Tabulka 1. Antigeny schistosom *S. mansoni*, *S. haematobium* a *S. japonicum*

Vysvětlivky: 18 .(Webster *et al.* 1996; Stein and David 1986; Fitzsimmon *et al.* 2007)

Odhlování cirkulujících antigenů schistosom v séru a moči pacientů pomáhá při imunologické diagnostice při určování nákazy schistosomórou (Simpson and Smithers 1985).

Z výše uvedených antigenů jsou k této diagnostice využívány tyto:

RP26, který odpovídá na 99% genu Sm22,3. S 89% citlivostí detekuje akutní fázi schistosomózy, lze ho využívat jako imunodiagnostický marker. Nativní protein byl nalezen pouze ve frakci z dospělců (Makarova *et al.* 2003).

Sm31/Sm32 jsou považovány za užitečné antigeny pomáhající v diagnostice schistosomózy zvláště v endemických oblastech (El-Sayed *et al.* 1998). Ruppel *et al.* 1990 zjistil, že se s jejich pomocí dají na 98% odhalit jedinci vylučující vejce schistosom.

11.2 Cerkárie

Při transformaci cercárie v schistosomulu je uvolněno určité množství molekul. Podle Mountford and Harrop (1998) je to přibližně 12 hlavních proteinů, kterých se cercárie zprostí během prvních 3 hodin transformace. Většina těchto proteinů je zatím neznámá (Harrop *et al.* 1999). Nicméně bylo již popsáno několik molekul antigenů, asociovaných s tímto vývojovým stadiem.

Jedním z nich je 30 kDa **cerkáriová elastáza**. Je obsažena v cirkum acetabulárních žlázách cercárií. Bylo zjištěno, že je tento enzym silně rozpoznáván séry získanými od lidí infikovaných *S. mansoni*, *S. japonicum* a *S. haematobium* (Toy *et al.* 1987 citace dle Baghat and Ruppel 2002). Baghat *et al.* (2001) však pozorovali, že i když experimentální iminuzace vede k produkci protilátek, během přirozené infekce cercáriová elastáza nedokáže vyvolat jasnou protilátkovou odpověď.

Dalším jsou **Sm31/Sm32** proteázy. Sm31 byl charakterizován jako u schistosom přítomný cathepsin B. Byl nalezen v acetabulárních žlázách (Dalton *et al.* 1997). Sm32 byla určena jako asparaginylní endopeptidáza (Tort *et al.* 1999), která je lokalizovaná v hlavové žláze cercárie (El Meanawy *et al.* 1990). Hlavně jsou však tyto dvě proteázy lokalizovány ve střevě schistosomul a dospělců (Caffrey *et al.* 2004).

11.3 Schistosomuly

Mezi potenciálními zdroji antigenů tohoto stádia lze zahrnout hlavovou žlázu, zárodečné střevo a materiál odhozený z tegumentu během jeho přestavby (Mountford and Harrop 1998). Bylo zjištěno, že antigeny získané z plicní schistosomuly vyvolávají zvýšení produkce INF- γ , v daleko menším množství podporují uvolňování IL-4.

Většina antigenů přítomných u schistosomul, je lokalizována i v dospělém stádiu. Proto se důležitými antigeny, které mají obě stádia, společně zabývám v kapitole 11.4.

11.4 Dospělci:

Na antigeny je velmi bohatý povrch dospělých červů zvaný tegument (neodermis). Tegument by se dal popsat jako syncytium kryté dvouvrstevnou membránou obklopující celou schistosomu (van Hellemond *et al.* 2006). Antigeny asociované s tegumentem jsou zobrazeny na obr. 3.

Výskyt **Sm28/Sh GTS** (glutathion S-transferázy 28) byl pozorován u všech vývojových stádií s výjimkou nedospělých vajec (Porchet *et al.* 1994). Byl zaznamenán v tegumentu, v parenchymu, v epitelu jícnu i v epitelu genitálií (Liu *et al.* 1996). Jejím hlavním úkolem, je detoxifikace produktů vznikajících při oxidativním metabolismu na membráně (Walker *et al.* 1993 citace dle Boulanger *et al.* 1995). Bylo zjištěno, že tato molekula, použitá k imunizaci zvířecího modelu (pavián), vede k potlačení fekundity schistosom (Boulanger *et al.* 1991). Indukuje signifikantní IgE a IgA protilátkovou odpověď, která koreluje s rezistencí pacientů (Al-Sherbiny *et al.* 2003).

42 kDa bend získaný ze solubilního extraktu dospělých jedinců *S. mansoni* odpovídá **SG3DPH** (glyceraldehyd-3 fosfát dehydrogenáze). V séru přirozeně rezistentních pacientů byla tato molekula rozpoznána IgG1, IgG3 a IgA protilátkami. Také vyvolává sekreci IL-4 a INF- γ a proliferaci lymfocytů u jedinců se silnou produkcí vajec. Jedná se o možného kandidáta na výrobu vakcíny (El Ridi *et al.* 2001).

Smp80 je velkou podjednotkou **calpainu**. Jedná se o vápníkem aktivovanou neutrální cysteinovou proteázu. Calpain byl imunolokalizován u dospělých červů ve vnitřní membráně tegumentu (Braschi and Wilson 2006) a v pod ním ležící svalovině. Zjistilo se také, že se účastní membránového obměny (Siddiqui *et al.* 1993 citace dle McManus and Loukas 2008). U paviánů imunizovaných DNA vakcínou založenou na Sm80 se redukovalo o 38% množství červů. U očkovaných zvířat tato vakcína vyvolala produkci IgG (IgG1 a IgG3) a IgM protilátek. Také bylo zaznamenáno, že krevní periferní mononukleární buňky v reakci na tuto vakcínu produkovaly ve zvýšené míře Th1 (IL-2 a INF- γ) i TH2 (IL-4 a IL-10) cytokiny. I přes vznik smíšené reakce se zdá, že dominantní protektivní imunitní odpověď je Th1 typu. Tento výsledek naznačil, že calpain je vynikajícím kandidátem na výrobu vakcíny (Ahmad *et al.* 2009).

Tetraspaniny, jsou transmembránové proteiny, které prochází čtyřikrát přes membránu a hrají roli v buněčné signalizaci eukaryot, zejména při interakci mezi imunitními efektoevými buňkami a jejich ligandy (Hemler 2001). Tetraspaniny pravděpodobně tvoří součást intramembránové sítě, která tvoří oporu pro zakotvení dalších proteinových komponentů (Andre *et al.* 2006). Některé tetraspaninové proteiny jsou obsaženy i v tegumentu schistosom.

Sm23 (u *S. mansoni*) a jeho analog u *S. japonicum* **Sj23** jsou přítomny v tegumentu dospělců (Harn *et al.* 1985 citace dle Loukas *et al.* 2007). Jedná se o tetraspaniny (Wright *et al.* 1991). Sm23 vyvolává Th2 odpověď s produkcí IgG3 protilátek, negativně koreluje produkce IgG4 a IL-10 (Al-Sherbiny *et al.* 2003). Byl vybrán do nezávislého testu WHO, který hledal potenciální vakcínové kandidáty (Berquist and Colley, 1998).

SmTSP-1 a **SmTSP-2** jsou nově objevené proteiny z rodiny tetraspaninů (Smyth *et al.* 2003), které jsou součástí vnější membrány tegumentu (Braschi and Wilson 2006). TSP-2 byl silně rozpoznáván IgG1 a IgG3 ze séra přirozeně rezistentních jedinců. Nebyl však rozeznán IgG protilátkami chronický nemocných pacientů. Po vakcinaci myšího modelu rekombinantním TPS-2 bylo zaznamenáno 57% a 64% snížení množství dospělých červů a poškození jater granulomy, které vznikají kolem vajec. Vakcinace pomocí rekombinantního TPS-1 nedosáhla tak dobrých výsledků. Zdá se že TSP-2 je další možnou variantou na vývoj vakcíny (Tran *et al.* 2006).

Sm14/FABP je antigen popsáný jako mastné kyseliny vázající protein (Moser *et al.* 1991). Bylo zjištěno, že je tento cytosolický protein lokalizován v bazální lamině tegumentu a ve střevním epitelu schistosomul a dospělců (Brito *et al.* 2002). Vyvolává signifikantní zvýšení IgG3 protilátek a také indukuje produkci INF- γ (Al-Sherbiny *et al.* 2003).

Protilátky ze séra myší vakcinovaných rekombinantním **IrV-5** se vážaly na 200kDa velký polypeptid, který je přítomen na povrchu nově transformovaných schistosomul (Soisson *et al.* 1992). Po inokulaci paviánů rekombinantním IrV-5 bylo dosaženo 27,7% průměrné ochrany. Také bylo zaanamenáno znatelné zmenšení velikosti granulomů (Soisson *et al.* 1993).

SOD (superoxid dismutáza) byla imunolokalizována v tegumentu a v subtegumentální tkáni *S. mansoni* (Hong *et al.* 1993). Jedná se o vnější superoxid dismutázu, která inhibuje toxicitu granulocytů proti ve vejcích probíhajícímu cyklu trikarboxilových kyselin (Kazura *et al.* 1985). SOD kodující cDNA byla klonována a tento rekombinantní protein byl rozeznán séry nemocných pacientů (Siddiqui *et al.* 2003).

PGK fosfoglycerát kináza je 45 kDa velká molekula obsažená v tegumentu schistosomul a dospělých červů (Lee *et al.* 1995).

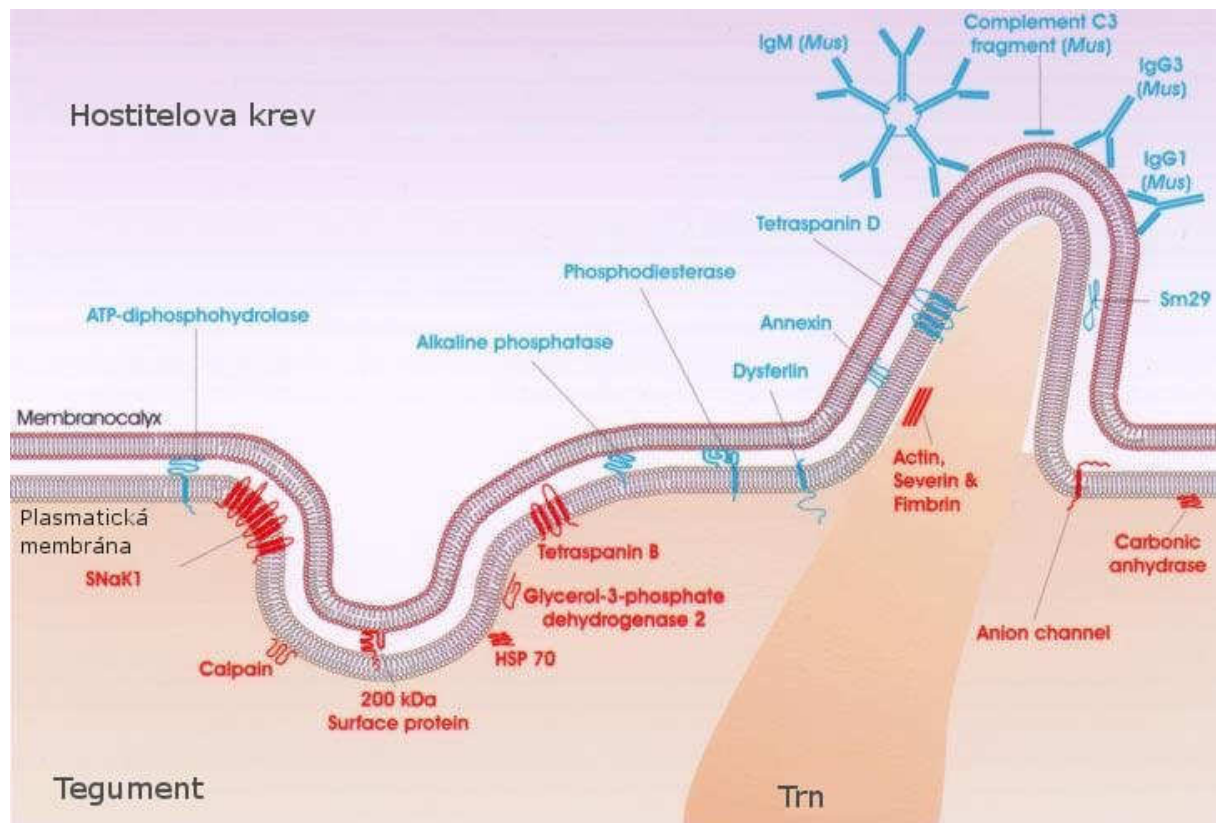
Sm97 (paramyosin) je exprimován na povrchu tegumentu plicní schistosomuly a v penetračních žlázách cercárie *S. mansoni* (Gobert and McManus 2005). Je to 97 kDa velký myofibrilární protein, který byl objeven u bezobratlých. Jednou z jeho důležitých vlastností je schopnost inhibovat komplement (Deng *et al.* 2003). Myši vakcinované rekombinantním paramyosinem vykazovali signifikantní 26-33% rezistenci k změnám spojeným s infekcí *S. mansoni*. Také stimuloval T-lymfocyty k produkci IFN- γ , který aktivoval makrofágy (Pearce *et al.* 1988).

Fruktoso 1,6 bisfosfát adoláza z dospělců *S. mansoni* je 44kDa protein. U myší vakcinovaných tímto proteinem se vyvinulo velké množství IgG, respektive IgG1 protilátek, IgG2a izotyp byl přítomen na nízké úrovni. Marques *et al.* (2007) tvrdí, že tento antigen nejen že stimuluje imunitní odpověď, ale také může zprostředkovat ochranu proti změnám spojeným s infekcí a proti vzniku granulomů. Je podle nich další uchazeč na přípravu vakcíny.

Lewis-X antigen (LNFP III) byl identifikován jako imunoreaktivní oligosacharid obsažený v rozpustném vaječném antigenu (Ko *et al.* 1990), později byl nalezen na povrchu všech stádií (Cummings and Nyame 1996). V séru nakažených myší a křečků byla zaznamenána vysoká hladina IgG a IgM protilátek, které specificky rezeznávali Le^x (Nyame *et al.* 1997). Podle Nyame *et al.* (1998) je exprese Le^x charakteristická pouze pro rod *Schistosoma*. Schistosomy ovlivňují jeho pomocí hostitelskou protektivní imunitu skrze indukci sekrece IL-10.

Sm29 je tegumentální protein nacházející se na povrchu schistosomul, ale také u obou pohlaví dospělých schistosom (*S. mansoni*). Braschi and Wilson (2006) se domnívali, že je tento protein sekretován a není membránově vázaný. Cardoso *et al.* (2006) však zjistili, že má C terminální membránově vázanou doménu. Při sledování protilátkové odpovědi u přirozeně rezistentních jedinců a u re-infikovaných pacientů bylo zjištěno, že je silně rozpoznáván IgG1 a IgG3 protilátkami (Cardoso *et al.* 2006). Použitím tohoto proteinu (rSm29) k vakcinaci myšího modelu bylo dosaženo zvýšené produkce INF- γ , TNF- α a IL-10 a absence IL-4. Také dokáže stimulovat peritoneální makrofágy k produkci IL-12, který polarizuje imunitní odpověď k TH1 fenotypu. Tento protein je novým kandidátem na výrobu vakcíny (Cardoso *et al.* 2006).

Zajímavé je i zjištění, že u schistosom získaných z myši vakcinovaných rekombinantním Sm29 byla snížena exprese u 96% sledovaných genů, mezi kterými bylo mnoho těch, které kódují povrchové proteiny. Zdá se totiž, že v odpovědi na imunitní útok schistoma tlumí expresi silných antigenů, mezi které většina povrchových proteinů patří (Cardoso *et al.* 2008).



Obr. 3. Tegumnet dospělé *S. mansoni* v krevním řečišti myši. Přepřacováno dle Braschi and Wilson 2006

11.5 Vajíčka

Vajíčka schistosom mají pozoruhodnou schopnost potlačit již vzniklou Th1 odpověď a silně polarizovat imunitní odpověď k Th2 (Pearce *et al.* 1991; Pearce and MacDonald 2002 citace dle McManus and Loukas 2008). Th2 lymfocyty uvolňují IL-13, cytokin, který stimuluje myofibroblasty k tvorbě kolagenu. Kolem vajíček se vytvářejí granulomy a játra jsou postižena fibrozou (Mentink-Kane and Wynn 2004; Wynn *et al.* 2004 citace dle Pearce and Freitas 2008). Formace granulomů a fibróza jsou hlavními příčinami nemoci a úmrtnosti. Přesto se zdá, že je tento proces prospěšný pro hostitele, protože blokuje účinky hepatotoxických antigenů uvolňovaných z vajíčka parazita (Henri *et al.* 2002). Polarizace k Th2 imunitní odpovědi byla dlouho považovaná za původce těchto patologií. Recentní data však naznačují, že předchozí výsledky byly matoucí, a že ve skutečnosti je příčinou morbidity Th1 typ buněčné odpovědi (Fallon 2000, Morais *et al.* 2002 citace dle Morais *et al.* 2008).

Antigeny, které vyvolávají tuto silnou Th2 odpověď, jsou však zatím neznámé (Pearce and Freitas 2008).

Rozpustný antigenní extrakt získaný z vajíček *S. mansoni* působí přímo na lidské krevní basofily. Jak bylo zjištěno Falcone *et al.* (1996), po inkubaci bazofilů (dárce, se nikdy předtím se schistosomiázou nesetkali) s extraktem, byla pozorována silná degranulace, vypouštění histaminu, sulfoleukotrienů a také se zvýšila produkce IL-4 těmito buňkami. Další analýza odhalila, že původcem degranulace a exprese klíčových cytokinů IL-4 a IL-13 bazofily je glykoprotein IPSE, který je součástí extraktu z vajíček (Schramm *et al.* 2003).

11. 6 Antigeny *T. regenti*

Také při infekci nespecifického hostitele, jsou jeho imunitním systémem rozpoznávány antigeny uvolněné schistosomou. Séra z pacientů, kteří prodělali cercáriovou dermatitidu, obsahovala specifické IgG proti TrH (homogenát z cercárie) i TrE/S (cercariální exkrečně/sekreční produkty) antigenům. Stejně tak v sérech z re-infikovaných myší se vyvinuly antigen specifické IgM a IgG1 protilátky a zvýšila se celková produkce IgE (Lichtenbergová *et al.* 2008). Lidské i myší protilátky (IgE a IgG1) se specificky vážaly na 34 kDa velkou molekulu (Lichtenbergová *et al.* 2008), které byla později rozeznána, jako glycerinaldehyd 3-fosfát dehydrogenáza (Kašný *et al.* 2009). Další protein, který byl rozpoznán silnou IgG1 a IgE reakcí, byl identifikován jako 25 kDa trioso-fosfát izomeráza (Kašný *et al.* 2009).

12. Vývoj vakcín:

Schistosomóza je velmi rozšířené onemocnění. Trpí jím víc než 200 milionů lidí. Je proto velmi žádoucí vyvinout účinnou vakcínu. Dalším důvodem této snahy jsou zaznamenané případy snižující se citlivosti na používané léčivo, paraziquantel (PZQ) (Doenhoff and Pica-Mattocchia, 2006; Gryseels *et al.* 2006). Od komerčně vyráběné vakcíny se očekává, že by měla obsahovat neutralizující protilátky, které by blokovaly klíčové parazitární proteiny, podílející se např. na trávení krve nebo migraci tkáněmi (Loukas *et al.* 2006). Naneštěstí je příprava účinné vakcíny ztížena mnoha faktory.

Z etických důvodů nemohou být k výzkumu používáni lidé, většinou se jako modelový organismus volí různé kmeny myší. Vlastnosti imunitních odpovědí lidí a myší si jsou v mnohém podobné, ale také se od sebe odlišují, není proto jisté, jak by vakcína vytvořená pomocí myšího modelu fungovala (Abath *et al.* 2006). V případě přípravy vakcíny proti *S. japonicum* je situace ztížena i tím, že tato schistosoma má širokou hostitelskou základnu, krom člověka napadá další druhy živočichů, kteří fungují jako rezervoár pro reinfekce lidí. Proto je nutné vytvořit veterinární vakcínu, která by bránila přenosu parazitů na rezervoárová zvířata (McManus and Loukas, 2008).

Kůže je místem, do kterého by měl být zaměřen vývoj anti-larvální vakcíny (Mountford and Trottein, 2004). Vakcinace závislá na IgE protilátkách může představovat problém, protože by mohla potenciálně indukovat anafylaktický šok po vakcinaci (McManus and Loukas, 2008).

Jeden ze zkoumaných způsobů navození protektivní imunity hostitele, je prováděn pomocí oslabených larev schistosom. Oslabení bylo dosaženo ozářením (UV, nebo γ -záření) těchto larev. Ozáření musí být optimální, příliš silně ozářené cercárie (80 krad) zahynou během sedmi dnů v kůži a nejsou tak schopny navodit protektivní imunitu (Constant *et al.* 1990). Ozářené cercárie penetrují pomaleji kožními vrstvami, procházejí se zpožděním i podkožními lymfatickými uzlinami a opoždí i svůj příchod do plic (Mastin *et al.* 1983). Díky tomu získá imunitní systém dostatek času ke své aktivaci. Může vylepšovat imunitní rozpoznávání proti vystaveným antigenům (Dillon *et al.* 2008 citace dle Cardoso *et al.* 2008). Studie (na myších) používající ozářené cercárie ukazují, že ochrana může být vyvolána jak smíšenou Th1/Th2, stejně tak i Th1 odpovědí a také polarizací k Th2 (Wynn and Hoffmann 2000). Zatím není možné používat tuto vakcinaci pro lidi, ale je přijatelné, aby se zahájil její vývoj za účelem veterinární léčby (McManus and Loukas 2008).

Velké naděje se vkládají do vývoje vakcín na základě antigenů uvolňovaných jednotlivými stádii. Tyto antigeny se liší i druhově. WHO vybrala šest kandidátů, které podrobila nezávislým testům. Jednalo se o tyto antigeny *S.mansoni*: Sm97 (paramyosin), GST (glutathion S-transferáza 28), rIrV5, Sm23, TPI (triósofosfát izomeráza) a Sm14. Bohužel ani jeden z antigenů nedokázal splnit vytčený cíl, vyvolat alespoň 40% ochranu (Berquist and Colley, 1998).

V endemické oblasti výskytu schistosomózy (Brazílie) existuje malá skupina lidí, která je přirozeně rezistentní. To znamená, že byla vystavena parazitu, ale nebyla nakažena (pět let byly prováděny kontroly stolice na výskyt vajíček) a nikdy nebyla léčena PZQ (Correa-Oliveira *et al.* 2000). Imunitní odpověď na antigeny (ze schistosomuly a dospělce *S. mansoni*) této rezistentní skupinky byla porovnávána s odpovědí pacientů s chronickým stádiem onemocnění. U rezistentních pacientů po stimulaci těmito antigeny stouply hladiny Th1 i Th2 cytokinů (Bahia-Oliveira *et al.* 1996), u chronicky nemocných se zvýšila jen produkce Th2 cytokinů (Roberts *et al.* 1993). To naznačuje, že rezistence těchto osob je založena hlavně na vzniku Th1 odpovědi (Correa-Oliveira *et al.* 2000). Tato skupina je velmi přínosná při vývoji vakcíny. Zkoumá se, zda jejich sérum reaguje na předkládané antigeny.

V současné době se objevuje nový typ vakcinace, který používá plazmidové DNA. Tyto vakcíny jsou schopny generovat jak buněčnou tak humorální imunitní odpověď. Po vpravení plazmidu do buňky začne tato sám syntetizovat antigen a podpoří vývoj imunitní odpovědi. Tyto vakcíny však zatím byly úspěšně použity pouze ve veterinární medicíně (Ulmer *et al.* 2006).

13. Závěr a poděkování

V této práci jsem se snažila shrnout dosavadní poznatky o imunitní odpovědi vedené hostiteli proti jednotlivým stádiím schistosom. Tato imunitní odpověď se proměňuje s postupem migrace parazita tělem hostitele. Při průniku kůží vyvolává penetrující cercárie a později po transformaci i kožní schistosomula Th2 imunitní odpověď. Průnik se projeví vznikem edému a dilatací cév. Platí to i pro penetraci ptačích schistosom. Při opakovaném průniku do nespecifického hostitele vyvolají cercáriovou dermatitidu, kožní alergickou reakci.

V plicích se schistosomula setkává s výraznou Th1 imunitní odpovědí. Plíce, jsou místem, kde dochází k největší eliminaci schistosom. Plicní schistosomula je zadržena buňčným infiltrátem, který jí obklopí. To může vest k postupnému úhynu zachycená larvy.

V krevním řečišti, kde stráví schistosomy většinu svého života, jsou vystaveny silnému útoku sérových protilátek. Ovládají však řadu únikových mechanismů, které jim pomáhají se hostitelově imunitní opovědi vyhnout. Dokážou navázané protilátky a komplementové proteiny rozštěpit.

Imunita v CNS je spojena s druhem *T. regenti*. Tato ptačí schistosoma migruje na místo svého určení nervovou soustavou. Při primo infekci nespecifického hostitele může proniknout i do jeho nervové soustavy. Imunitní systém hostitele, se jí snaží eliminovat, dochází tak ale k poškození vlastní nervové tkáně, což se projevuje navenek různými neuromotorickými poruchami

Dalším mým vytčeným cílem bylo popsat nejvýznamnější antigeny schistosom. Antigenní struktury pocházející z parazita dají podnět k vzniku imunitní opovědi, která pokud je správně polarizovaná, vede až k eliminaci parazita. Je důležité se zabývat výzkumem v této oblasti, protože mnohé z objevených antigenů by mohly být klíčem k vývoji vakcíny proti schistosomóze. Farmaceutické firmy nabízejí léčiva proti této chorobě, ale v případě nejpoužívanějšího praziquantelu již byla zaznamenána snížená citlivost parazitů.

. Diagnostika schistosomózy se provádí několika způsoby. Klasická cesta je přes detekci vajec v moči či stolici pacientů., ale nejpoužívanější je imunodiagnostika.

Svoji budoucí práci chci zaměřit na charakterizaci imunitní odpovědi specifického hostitele (*Anas platyrhynchos f. domestica*) proti antigenům ptačí schistosomy *T. regenti*. Chtěla bych zjistit, na které antigeny specifický hostitel reaguje a porovnat je s již známými antigeny, na něž reagují nespecifičtí hostitelé. Také se chci pokusit o diagnostikovat nákazu *T. regenti* přímo z krve hostitele. V současné době je nutné nakaženého práka usmrtit a ověřit přítomost parazita pomocí pitvy. V budoucnu by mohla být nákaza odhalena pomocí specifického antigenu, který by byl rozpoznán protilátkami ptáků nakažených touto schistosomou.

Na závěr bych chtěla na tomto místě poděkovat svému školiteli Liboru Mikešovi za obrovskou trpělivost cenné rady, připomínky, články a, bez kterých by tato práce nevznikla.

Stejně tak děkuji své rodině a přátelům za to, že mě drželi nad vodou i v období nejhorší „bakalářské krize“.

14.1 Použitá literatura

ABATH, F. G. C., MORAIS, C. N. L., MONTENEGRO, C. E. L., WYNN T. A., MONTENEGRO, S. M. L. (2006). Immunopathogenic mechanisms in schistosomiasis: what can be learnt from human studies? *Trends in Parasitology* 22, 85-91.

AHMAD, G., ZHANG, W., TORBEN, W., DAMIAN, R. T., WOLF, R. F., WHITE, G. L., CHAVEZ-SUAREZ, M., KENNEDY, R. C., SIDDIQU, A. A. (2009). Protective and antifecundity effects of Sm-p80-based DNA vaccine formulation against *Schistosoma mansoni* in a nonhuman primate model. *Vaccine* 27, 2830-2837.

AL-SHERBINY, M., OSMAN, A., BARAKAT, R., EL MORSHEDY, H. , BERGQUIST, R., OLDS, R. (2003). In vitro cellular and humoral responses to *Schistosoma mansoni* vaccine candidate antigens. *Acta Tropica* 88, 117–130.

ANDRÉ, M., LE CAER, J. P., GRECO, C., PLANCHON, S., EL NEMER, W., BOUCHEIX, C., RUBINSTEIN, E., CHAMOT-ROOKE, J., LE NAOUR, F. (2006). Proteomic analysis of the tetraspanin web using LC-ESI-MS/MS and MALDI-FTICR-MS. *Proteomics* 6, 1437–1449

ANGELI, V., FAVEEUW, CH., 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. *Journal of Experimental Medicine* 193, 1135-1147

AMIRI, P., SAKANARI, J., BASCH, P., NEWPORT, G., MCKERROW, J. H. (1988). The *Schistosomatium douthitti* cercarial elastase is biochemically und sructurally distinct from that of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 28, 113-120.

BAHGAT, M., FRANCKLOW, K., DOENHOFF, M. J., LI, Y. L., RAMZY, R. M. R., KIRSTEN, C., RUPPEL, A. (2001). Infection induces antibodies against the cercarial secretions, but not against the cercarial elastases of *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum* and *Trichobilharzia ocellata*. *Parasite Immunology* 23, 557-565.

BAHGAT, M., RUPPEL, A. (2002). Biochemical comparison of the serine protease (elastase) activities in cercarial secretions from *Trichobilharzia ocellata* and *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research* 88, 495–500.

BAHIA-OLIVERA, L.M., SIMPSON, A.J., ALVES-OLIVERA, L.F., CARVALHO-QUEIROZ, C., SILVEIRA, A.M., VIANA, I.R., CUNHA-MELO, J.R., HAGAN, P., GAZZINELLI, G. AND CORREA-OLIVEIRA, R. (1996). Evidence that cellular immune responses to soluble and membrane associated antigens are independently regulated during human *Schistosomiasis mansoni*. *Parasite Immunology* 18, 53-63.

BAIR, R.D., ETGES, F.J. (1973). *Schistosoma mansoni*: factors affecting hatching of eggs. *Experimental Parasitology* 33, 155-167.

BENTLEY, A. G., CARLISLE, A. S., PHILLIPS, S. M. (1981). Ultrastructural analysis of the cellular response to *Schistosoma mansoni*: initial and challenge infections in the rat. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 30(1), 102-112.

BERGQUIST, N. R., COLLEY, D. G.(1998). Schistosomiasis Vaccines:Research to Development. *Parasitology Today* 14, 99-104.

BOULANGER, D., REID, G. D. F., STURROCK, R. F., WOLOWCZUK, I., BALLOUL, J. M., GREZEL, D., PIERCE, R. J., OTIENO, M. F., GUERRET, S., GRIMAUD, J. A., BUTTERWORTH, A. E., CAPRON, A. (1991). Immunization of mice and baboons with the recombinant Sm28GST affects both worm viability and fecundity after experimental infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasite immunology* 13, 473-490

BOULANGER, D., WARTER, A., TROTTEIN, F., MAUNY, F., BREMOND, P., AUDIBERT, F., COURET, D., KADRI, S., GODIN, C., SELLIN, E., PIERCE, R. J., LECOCQ, J. P., SELLIN, B., CAPRON, A. (1995). Vaccination of patas monkeys experimentally infected with *Schistosoma haematobium* using a recombinant glutathione S-transferase cloned from *S. mansoni*. *Parasite Immunology* 17, 361-369.

BRASCHI, S., WILSON, R. A. (2006). Proteins exposed at the adult schistosome surface revealed by biotinylation. *Molecular & Cellular Proteomics* 5, 347-356.

BRITO, C. F. A., OLIVEIRA, G. C., OLIVEIRA, S. C., STREET, M., RIENGROJPITAK, S., WILSON, R. A., SIMPSON, A. J. G., CORREA-OLIVEIRA R. (2002). Sm14 gene expression in different stages of the *Schistosoma mansoni* life cycle and immunolocalization of the Sm14 protein within the adult worm. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35, 377-381.

BUTTERWORTH, A. E. (1984). Cell-mediated damage to helminths. *Advance Parasitology* 23, 143-235.

CAFFREY, C. R., MCKERROW, J. H., SALTER, J. P., SAJID, M. (2004). Blood 'n' guts: an update on schistosome digestive peptidases. *Trends in Parasitology* 20, 241-248.

CAPRON, A., DESSAINT, J. P., CAPRON, M., PIERCE, R. J. (1992). Schistosomiasis: From effector and regulation mechanisms in rodents to vaccine strategies in humans. *Immunological investigations* 21, 409-422

CARDOSO, F. C., MACEDO, G. C., GAVA, E., KITTEN, G. T., MATI, V. L., DE MELO, A. L., CALIARI, M. V., ALMEIDA, G. T., VENANCIO, T. M., VERJOVSKI-ALMEIDA, S., OLIVEIRA, S. C. (2008). *Schistosoma mansoni* Tegument Protein Sm29 Is Able to Induce a Th1-Type of Immune Response and Protection against Parasite Infection. *Plos Neglected Tropical Diseases* 2,1-10

CARDOSO, F., PACIFICO, R.N., MORTARA, R.A., S.C. OLIVEIRA, S.C. (2006). Human antibody responses of patients living in endemic areas for schistosomiasis to the tegumental protein Sm29 identified through genomic studies. *Clinical and Experimental Immunology* 144, 382-391.

CHLICHLIA, K., SCHAUWIENOLD, B., KIRSTEN, C., DOENHOFF, M. J, FISHELSON, Z., RUPPEL, A. (2005). *Schistosoma japonicum* reveals distinct reactivity with antisera directed to proteases mediating host infection and invasion by cercariae of *S. mansoni* or *S. haematobium*. *Parasite Immunology* 27, 97-102.

CHU, T., MORRIS, J. (1989). Allogeneic stimulation by human keratinocytes. *CLINICAL RESEARCH* 37, A708-A708

CRABTREE, J. E. (1982). An Ultrastructural Study of the Migrating Schistosomulum of *Schistosoma mansoni*. *D Phil Thesis*, University of York.

CRABTREE, J. E., WILSON, R. A. (1986A). The role of pulmonary cellular reaction in the resistance of vaccinated mice to *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology* 8, 265-285.

CONSTANT, S. L., MOUNTFORD, A. P., WILSON, R. A. (1990). Phenotypic analysis of the cellular responses in regional lymphoid organs of mice vaccinated against *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 99, 39-45.

CORRÊA-OLIVEIRA, R., CALDAS, I.R., GAZZINELLI, G. (2000). Natural versus Drug-induced Resistance in *Schistosoma mansoni* Infection. *Parasitology Today* 16, 397-399.

COULSON, P. S., SMYTHIES, L. E., BETTS, C., MABBOTT, N. A., STERNBERG, J. M., WEI, X. G., LIEWT, F. Y., WILSON, R. A. (1998). Nitric oxide produced in the lungs of mice immunized with the

radiation-attenuated schistosome vaccine is not the major agent causing challenge parasite elimination. *Immunology* 93, 55-63.

CUMMINGS, R. D., NYAME, A. K. (1996). Glycobiology of schistosomiasis. *FASEB J.*, 10, 838-848.

CURWEN, R.S. AND WILSON, R.A. (2003). Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends in Parasitology* 19, 63-66(4).

DALTON, J.P., CLOUGH, K.A., JONES, M.K., BRINDLEY, P.J. (1997). The cysteine proteinases of *Schistosoma mansoni* cercariae. *Parasitology* 114, 105-112.

DALTON, J.P., CLOUGH, K.A., JONES, M.K., BRINDLEY, P.J. (1996). Characterization of the cathepsinlike cysteine proteinases of *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity* 64,1328-1334.

DAY, S. R., DALTON, J. P., CLOUGH, K. A., LEONARDO, L., TIU W. U., BRINDLEY, P. L. (1995). Characterization and cloning of the cathepsin L proteinases of *Schistosoma japonicum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 217,1-9.

DEAN, D. A., MANGOLD, B.L. (1992). Evidence that both normal and immune elimination of *Schistosoma mansoni* take place at the lung stage of migration prior to parasite death. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 47, 238-248

DENG, J., GOLD, D., LOVERDE, P. T., FISHELSON, Z.(2003). Inhibition of the complement membrane attack complex by *Schistosoma mansoni* paramyosin. *Infection and Immunity* 71, 6402-6410

DIAS DA SILVA, W., KAZATCHKINE, M. D. (1980). *Schistosoma mansoni*: Activation of the alternative pathway of human complement by schistosomula. *Experimental Parasitology* 50, 278-286

DOENHOFF, M. J., PICA-MATTOCCIA, L. (2006). Praziquantel for the treatment of schistosomiasis: its use for control in areas with endemic disease and prospects for drug resistance. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 4, 199-210.

DOLEČKOVÁ, K., KAŠNÝ, M., MIKEŠ, L., CARTWRIGHT, J., JEDELSKÝ, P., SCHNEIDER, E. L., DVOŘÁK, J., MOUNTFORD, A. P., CRAIK, CH. S., HORÁK, P. (2009). The functional expression and characterization of a cysteine peptidase from the invasive stage of the neuropathogenic schistosome *Trichobilharzia regenti*. *International Journal for Parasitology* 39: 201-211

DORSEY, C. H. (1976). *Schistosoma mansoni*: description of the head gland of cercariae and schistosomules at the ultrastructural level. *Experimental Parasitology* 39, 444-459.

DRESDEN, M. H., ASCH, H. L. (1977). Calcium carbonate of the preacetabular glands of *Schistosoma mansoni* cercariae. *The Journal of Parasitology* 63(1), 163-165.

DVOŘÁK, J., DELCROIX, M., ROSSI, A., VOPÁLENSKÝ, V., POSPIŠEK, M., ŠEDINOVÁ, M., MIKEŠ, L., SAJID, M., SALI, A., MCKERROW, J. H., HORÁK, P., CAFFREY, C. R. (2005). Multiple cathepsin B isoforms in schistosomula of *Trichobilharzia regenti*: identification, characterization and putative role in migration and nutrition. *International Journal for Parasitology* 35, 895-910.

DVOŘÁK, J., MASHIYAMA, S.T., BRASCHI, S., SAJID, M., KNUDSEN, G.M., HANSELL, E., LIM, K. CH., HSIEH, I., BAGHAT, M., MACKENZIE, B., MEDZIHRADSKY, K. F., BABBITT, P. C., CAFFREY, C. R., MCKERROW, J. H. (2008). Differential use of protease families for invasion by schistosome cercariae. *Biochimie* 90, 345-348.

EL MEANAWY, M. A., AJI, T., PHILLIPS, N. F., DAVIS, R. E, SALATA, R. A., MALHOTRA, I., MCCLAIN, D., AIKAWA, M., DAVIS, A. H. (1990). Definition of the complete *Schistosoma mansoni* hemoglobinase mRNA sequence and gene expression in developing parasites. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 43, 67-78.

- EL RIDI, R., FAROUK, F., SHERIF, M., AL-SHERBINY, M., OSMAN, A., EL GENGEHI, N., SHOEMAKER, C. B. (1998).** T and B Cell Reactivity to a 42-kDa Protein Is Associated with Human Resistance to Both *Schistosomiasis Mansoni* and *Haematobium*. *The Journal of Infectious Diseases* 177, 1364–72.
- EL RIDI, R., SHOEMAKER, C. B., FAROUK, F., EL SHERIF, N. H., AFIFI, A. (2001).** Human T- and B-Cell Responses to *Schistosoma mansoni* Recombinant Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase Correlate with Resistance to Reinfection with *S. mansoni* or *Schistosoma haematobium* after Chemotherapy. *Infection and Immunity* 69, 237–244.
- EL-SAYED, L. H., GHONEIM, H., DEMIAN, S. R., EL-SAYED, M. H., TAWFIK, N. M., SAKR, I., ABOU-BASHA, L. M., RENGANATHAN, E., KLINKERT, M. Q., ABOU-RAWASH, N. (1998).** Diagnostic significance of *Schistosoma mansoni* proteins Sm31 and Sm32 in human schistosomiasis in an endemic area in Egypt. *Tropical Medicine & International Health* 3,721-727.
- ENK, A. H., ANGELONI, V. L., UDEY, M. C., KATZ, S. I. (1993).** An essential role for langerhans cell-derived IL-1-beta in the initiation of primary immune-response in skin. *Journal of Immunology* 150, 3698-3704
- ENK, A. H., KATZ, S. I. (1992).** Identification and induction of keratinocyte-derived IL-10. *Journal of Immunology* 149, 92-95.
- FALCONE, F. H., DAHINDEN, C. A., GIBBS, B. F., NOLL, T., AMON, U., HEBESTREIT, H., ABRAHAMSEN, O., KLAUCKE, J., SCHLAAK, M., HAAS, H. (1996).** Human basophils release interleukin-4 after stimulation with *Schistosoma mansoni* egg antigen. *European Journal of Immunology* 26, 1147–1155.
- FATIMA, M., HORTA, M., RAMALHOPINTO, F. J. (1991).** Role of human decay-accelerating factor in the evasion of *Schistosoma mansoni* from the complement-mediated killing in vitro. *Journal of Experimental Medicine* 174, 1399-1406
- FERRARI, T. C.A., GAZZINELLI, G., CORRÊA-OLIVEIRA, R. (2008).** Immune response and pathogenesis of neuroschistosomiasis mansoni. *Acta Tropica* 108, 83–88.
- FITZSIMMONS, C. M., MCBEATH, R., JOSEPH, S., JONES, F. M., WALTER, K., HOFFMANN, K. F., KARIUKI, H. C., MWATHA, J. K., KIMANI, G., KABATEREINE, N. B., VENNERVALD, B. J., OUMA, J. H., DUNNE, D. W. (2007).** Factors affecting human IgE and IgG responses to allergen-like *Schistosoma mansoni* antigens: molecular structure and patterns of in vivo exposure. *International Archives of Allergy and Immunology* 142, 40–50.
- GOBERT, G.N., CHAI, M., MCMANUS, D.P. (2006).** Biology of the schistosome lung-stage schistosomulum. *Parasitology* 134, 453-460.
- GRYSEELS, B., POLMAN, K., CLERINX, J., KESTENS, L. (2006).** Human schistosomiasis. *Parasitology International* 74, 2169-2176.
- HAEBERLEIN, S., HAAS, W. (2008).** Chemical attractants of human skin for swimming *Schistosoma mansoni* cercariae. *Parasitology Research* 102, 657-662
- HAAS, W. (1994).** Physiological analyses of host-finding behaviour in trematode cercariae: adaptations for transmission success. *Parasitology* 109, 15-19.
- HAAS, W., HAEBERLEIN, S. (2009).** Penetration of cercariae into the living human skin: *Schistosoma mansoni* vs. *Trichobilharzia szidati* *Parasitology Research*, in press DOI 10.1007/s00436-009-1516-8
- HAAS, W., HABERL, B. (1997).** Host recognition by trematode miracidia and cercariae. In: *Advances In Trematode Biology* (Fried B., Graczyk T. K., eds), CRC Press, 197-227.
- HASS, W., HARBEL, B., SCHMALFUSS, G., KHAYYAL, M. A. (1994).** *Schistosoma haematobium* cercarial host-finding and host-recognition differs from that of *S. mansoni*. *Journal of Parasitology* 80, 345-353.

- HAAS, W., PIETSCH, U. (1991).** Migration of *Trichobilharzia ocellata* schistosomula in the duck and in the abnormal murine host. *Parasitology Research* 77, 642–644.
- HANCOCK, K., MOHAMED, Y. B., HAICHOU, X., NOH, J., DOTSON, E. M., TSANG, V. C. W. (1997).** A recombinant protein from *Schistosoma mansoni* useful for the detection of *S. mansoni* and *Schistosoma haematobium* antibodies. *Journal of Parasitology* 83, 612–618.
- HARN, D. A., GU, W., OLIGINO, L. D., MITSUYAMA, M., GEBREMICHAEL, A., RICHTER, D. (1992).** A protective monoclonal antibody specifically recognizes and alters the catalytic activity of schistosome triose-phosphate isomerase. *The Journal of Immunology* 148, 562–567.
- HARRIS, A. R., RUSSELL, R. J., CHARTERS, A. D. (1984).** A review of schistosomiasis in immigrants in Western Australia, demonstrating the unusual longevity of *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 78, 385–388.
- HARROP, R., JENNINGS, N., MOUNTFORD, A.P., COULSON, P.S., WILSON, R.A. (2000).** Characterization, cloning and immunogenicity of antigens released by transforming cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 121, 385–394.
- HE, Y., CHEN, L., RAMASWAMY, K. (2003).** *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, and *S. japonicum*: early events associated with penetration and migration of schistosomula through human skin. *Experimental Parasitology* 102, 99–108.
- HE, Y. X., SALAFSKY, B., RAMASWAMY, K. (2005).** Comparison of skin invasion among three major species of *Schistosoma*. *Trends in parasitology* 21, 201–203.
- HEMLER, M. E. (2001).** Specific tetraspanin functions. *The Journal of Cell Biology* 155, 1103–1107.
- HENRI, S., CHEVILLARD, C., MERGANI, A., PARIS, P., GAUDART, J., CAMILLA, C., DESSEIN, H., MONTERO, F., ELWALI, N. M. A., SAEED, O. K., MAGZOUB, M., DESSEIN, A. J. (2002).** Cytokine Regulation of Periportal Fibrosis in Humans Infected with *Schistosoma mansoni*: IFN- γ Is Associated with Protection Against Fibrosis and TNF- γ with Aggravation of Disease. *The Journal of Immunology* 169, 929–936
- HERWITSON, J. P., HAMBLIN, P. A., MOUNTFORD, A. P. (2005).** Immunity induced by the radiation-attenuated schistosome vaccine. *Parasite Immunology* 27, 271–280.
- HOCKLEY, D. J., MCLAREN, D. J. (1973).** *Schistosoma mansoni*: changes in the outer membrane of the tegument during development from cercaria to adult worm. *International Journal for Parasitology* 3, 13–25.
- HOGG, K.G., KUMKATE, S., ANDERSON, S., MOUNTFORD, A.P. (2003a).** Interleukin-12 p40 secretion by cutaneous CD11c⁺ and F4/80⁺ cells is a major feature of the innate immune response in mice that develop Th1-mediated protective immunity to *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity* 71, 3563–3571.
- HORÁK, P., DVOŘÁK, J., KOLÁŘOVÁ, L., TREFIL, L. (1999).** *Trichobilharzia regenti*, a pathogen of the avian and mammalian central nervous systems. *Parasitology* 119, 577–581.
- HORÁK, P., KOLÁŘOVÁ, L. (2000).** Survival of bird schistosomes in mammalian lungs. *International Journal for Parasitology* 30, 65–68.
- HORÁK, P., KOLÁŘOVÁ, L., ADEMA, C. M. (2002).** Biology of the schistosome genus *Trichobilharzia*. *Advances in Parasitology* 52, 155–233.
- HORÁK, P., KOLÁŘOVÁ, L., DVOŘÁK, J. (1998).** *Trichobilharzia regenti* n. sp. (Schistosomatidae, Bilharziellinae), a new nasal schistosome from Europe. *Parasite* 5, 349–357.
- HORÁK, P., KOVÁŘ, L., KOLÁŘOVÁ, L., NEBESAŘOVÁ, J. (1998).** Cercaria-schistosomulum surface transformation of *Trichobilharzia szidati* and its putative immunological impact. *Parasitology* 116: 139–147
- HOREJŠÍ, V., BARTUŇKOVÁ, J. (2005).** *Základy imunologie*, Triton Praha.

- HRÁDKOVÁ, K., HORÁK P. (2002).** Neurotropic behaviour of *Trichobilharzia regenti* in ducks and mice. *Journal of Helminthology* 76, 137-141.
- HUSLER, T., LOCKERT, D. H., SIMS, P. J. (1996).** Role of a disulfide-bonded peptide loop within human complement C9 in the species-selectivity of complement inhibitor CD59. *Biochemistry* 35, 3263–3269
- JAMES, S. L. (1996).** Activated macrophages as effector-cells of protective immunity to schistosomiasis. *Immunologic Research* 5, 139-148
- KAMIJO, R., SHAPIRO, D., LE, J., HUANG, S., AGUET, M., VILCEK, J. (1993).** Generation of nitric oxide and induction of major histocompatibility complex class II antigen in macrophages from mice lacking the interferon gamma receptor. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 90, 6626–6630.
- KASSIM, O., GILBERTSON, D.E. (1976).** Hatching of *Schistosoma mansoni* eggs and observations on motility of miracidia. *The Journal of Parasitology* 62, 715-720.
- KAŠNÝ, M., LICHTENBERGOVÁ, L., KOLÁŘOVÁ, L., HORÁK, P. (2009).** Identification and characterization of dominant antigens of the bird schistosome *Trichobilharzia regenti*. *Abstract book – 3rd Workshop on Bird Schistosomes and Cercarial Dermatitis*, 21.
- KAZURA, J. W., DE BRITO, P., RABBEGE, J., AIKAWA, M. (1985).** Role of granulocyte oxygen products in damage of *Schistosoma mansoni* eggs in vitro. *J Clin Invest.* 75, 1297–1307.
- KIMBER, I., DEARMAN, R. J., CUMBERBATCH, M., HUBY, R. J. D. (1998).** Langerhans cells and chemical allergy. *Current Opinion in Immunology* 10, 614-619
- KLINKERT, M.Q., FELLEISEN, R., LINK, G., RUPPEL, A., BECK, E. (1989).** Primary structures of Sm31/ 32 diagnostic proteins of *Schistosoma mansoni* and their identification as proteases. *Molecular and Biochemical Parasitology* 33, 113–122.
- KO, I. A., DRAGER, U. C., HARN, D. A. (1990).** A *Schistosoma mansoni* epitope recognized by a protective monoclonal antibody is identical to the stage-specific embryonic antigen-1. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 87, 4159–4163
- KOLÁŘOVÁ, L. (2001).** Central nervous system as a target of helminth migration in humans. *Helminthologia* 38, 237-241.
- KOLÁŘOVÁ, L., HORÁK, P., CADA, F. (2001):** Histopathology of CNS and nasal infections caused by *Trichobilharzia regenti* in vertebrates. *Parasitology Research* 87,644-50.
- KOLÁŘOVÁ, L., SÝKORA, J., BAH, B.A. (1994).** Serodiagnosis of cercarial dermatitis with antigens of *Trichobilharzia szidati* and *Schistosoma mansoni*. *Central European Journal of Public Health* 2, 19-22.
- KOUŘILOVÁ, P., HOGG, K.G., KOLÁŘOVÁ, L., MOUNTFORD, A.P. (2004).** Cercarial dermatitis caused by bird schistosomes comprises both immediate and late phase cutaneous hypersensitivity reactions. *The Journal of Immunology* 172, 3766–3774.
- KUMKATE, S., JENKINS, G.R., PAVELEY, R.A., HOGG, K.G., 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*. *International Journal for Parasitology* 37, 209–220.
- LAWSON, J. R., WILSON, R. A. (1980a).** Metabolic changes associated with the migration of the schistosomulum of *Schistosoma mansoni* in the mammal host. *Parasitology* 81, 325-336
- LEE K. W., SHALABY, K. A, THAKUR, A., MEDHAT, A. M, KARIM, A. M., LOVERDE, P. T. (1995).** Cloning of the gene for phosphoglycerate kinase from *Schistosoma mansoni* and characterization of its gene product. *Molecular and Biochemical Parasitology* 71, 221-231

- LICHTENBERGOVÁ, L., HORÁK, P., KOLÁŘOVÁ, L. (2009).** The pathogenic effect of *Trichobilharzia regenti* migration on mouse nervous tissue. *Abstract book – 3rd Workshop on Bird Schistosomes and Cercarial Dermatitis*, 20.
- LICHTENBERGOVÁ, L., KOLBEKOVÁ, P., KOUŘILOVÁ P., KAŠNÝ, M., MIKEŠ, L., HAAS, H., SCHRAMM, G., HORÁK, P., KOLAROVÁ, L., MOUNTFORD, A. P. (2008):** Antibody responses induced by *Trichobilharzia regenti* antigens in murine and human hosts exhibiting cercarial dermatitis. *Parasite Immunology* 30: 585-595
- LIU, J. L., FONTAINE, J., CAPRON, A., GRZYCH, J. M.(1996).** Ultrastructural localization of Sm28 GST protective antigen in *Schistosoma mansoni* adult worms. *Parasitology* 113, 377-391
- LOPES, D. O., PAIVA, L. F., MARTINS, M. A., CARDOSO, F. C., RAJÃO, M. A., PINHOA, J. M., CALIARI, M. V., CORREA-OLIVEIRA, R., MELLO, S. M., LEITEB, L. C. C., OLIVEIRA, S. C. (2009).** Sm21.6 a novel EF-hand family protein member located on the surface of *Schistosoma mansoni* adult worm that failed to induce protection against challenge infection but reduced liver pathology. *Vaccine* 27, 4127–4135
- LOUKAS, A., BETHONY, J. M., BROOKER, S., HOTEZ, P. J.(2006).** Hookworm vaccines-past, present and future. *Lancet Infect. Dis.* 6, 733-741
- LOUKAS, A., TRAN, M., PEARSON, M. S. (2007).** Schistosome membrane proteins as vaccines. *International Journal for Parasitology* 37, 257-263
- MAKAROVA, E., GOES, T.S., MARCATTO, A. L. M., LEITE, M. F., GOES, A. M. (2003).** Serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis using *Schistosoma mansoni* recombinant protein RP26. *Parasitology International* 52, 269–279
- MANGOLD, B. L., DEAN D. A. (1983).** Autoradiographic analysis of *Schistosoma mansoni* migration from skin to lungs in naive mice. Evidence that most attrition occurs after the skin phase. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 32, 785-789.
- MARIKOVSKY, M., ARNON, R., FISHELSON, Z.(1990).** *Schistosoma mansoni*: localization of the 28 kDa secreted protease in cercaria. *Parasite Immunology* 12, 389-401
- MARIKOVSKY, M., FISHELSON, Z., ARNON, R. (1988).** Purification and characterization of proteases secreted by transforming schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 30, 45-54.
- MARQUES, H. H., ZOUAIN, C. S., TORRES, C. B. B., OLIVEIRA, J. S., ALVES, J. B., GOES, A. M. (2008).** Protective effect and granuloma down-modulation promoted by RP44 antigen a fructose 1,6 biphosphate aldolase of *Schistosoma mansoni*. *Immunobiology* 213, 437–446
- MASTIN, A.J., BICKLE, Q.D., WILSON, R.A. (1983).** *Schistosoma mansoni*: migration and attrition of irradiated and challenge schistosomula in the mouse. *Parasitology* 87, 87–102.
- MCKERROW, J. H., PINO-HEISS, S., LINDQUIST, R., WERB, Z. (1985).** Purification and characterization of an elastinolytic proteinase secreted by cercariae of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Biological Chemistry* 260, 3703-3707.
- MCKERROW, J. H., PINO-HEISS, S., LINDQUIST, R., WERB, Z. (1985).** Purification and characterization of an elastinolytic proteinase secreted by cercariae of *Schistosoma mansoni*. *The Journal Of Biological Chemistry* 260, 3703-3704.
- MCLAREN, D. J., HOCKLEY, D. J. (1977).** Blood flukes have a double outer membrane. *Nature* 269, 147-149.
- MCMANUS, D. P., LOUKAS, A.(2008).** Current Status of Vaccines for Schistosomiasis. *Clinical Microbiology Reviews* 21, 225-242

- MEDOF, M.E., KINOSHITA, T., NUSSENZWEIG, V. (1984).** Inhibition of complement activation on the surface of cells after incorporation of decay acceleration factor (DAF) into their membranes. *J. Exp. MED* 160, 1558-1578
- MENSON, E. N., WILSON, R.A. (1989).** Lung-phase immunity to *Schistosoma mansoni*. Flow cytometric analysis of macrophage activation states in vaccinated mice. *The Journal of Immunology* 143, 2342-2348.
- MIKEŠ, L., ZIDKOVÁ, L., KAŠNÝ, M., DVOŘÁK, J., HORÁK, P. (2005).** *In vitro* stimulation of penetration gland emptying by *Trichobilharzia szidati* and *T. regenti* (Schistosomatidae) cercariae. Quantitative collection and partial characterization of the products. *Parasitology Research* 96, 230-241.
- MORAIS, C. N. L., SOUZA, J. R., MELO, W. G., AROUCHA, M. L., DOMINGUES, A. L. C., WYNN, T., ABATH, F.G.C., MONTENEGRO, S. M. L. (2002).** Studies on the production and regulation of interleukin, IL-13, IL-4 and Interferon- γ in human schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97, 113-114.
- MOSER, D., TENDLER, M., GRIFFITHS, G., KLINKERT, M. Q. (1991).** A 14-kDa *Schistosoma mansoni* polypeptide is homologous to a gene family of fatty acid binding proteins. *The Journal of Biological Chemistry* 266, 8447-54.
- MOUNTFORD, A.P., HARROP, R. (1998).** Vaccination against Schistosomiasis: The case for lung-stage antigens. *Parasitology Today* 14, 109-114.
- MOUNTFORD, A.P., HARROP, R., WILSON, A. (1995).** Antigens derived from lung-stage larvae of *Schistosoma mansoni* are efficient stimulators of proliferation and gamma interferon secretion by lymphocytes from mice vaccinated with attenuated larvae. *Infection and Immunity* 63, 1980-1986.
- MOUNTFORD, A.P., TROTTEIN, F. (2004).** Schistosomes in the skin: a balance between immune priming and regulation. *Trends in Parasitology* 20, 221-226.
- NANDURI, J., JAMES, DENNIS, E., ROSENBERYS, T. L., MAHMOUD, A. A. F., TARTAKOFFN, A. M. (1991).** Glycocalyx of bodies versus tails of *Schistosoma mansoni* cercariae lectin-binding, size, charge, and electron microscopic characterization. *The Journal of Biological Chemistry* 266, 1341-1347.
- NEVHUTALU, P.A., SALAFSKY, B., HAAS, W., CONWAY, T. (1993).** *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata*: comparison of secreted cercarial eicosanoids. *Journal of Parasitology* 79, 130-133.
- NYAME, A. K., DEBOSE-BOYD, R., LONG, T. D., TSANG, V. C. W., CU, R. D. (1998).** Expression of Le^x antigen in *Schistosoma japonicum* and *S.haematobium* and immune responses to Le^x in infected animals: lack of Le^x expression in other trematodes and nematodes. *Glycobiology* 8, 615-624.
- NYAME, A. K., B-PILCHER, TSANG, J., V. C. W., CUMMINGS, R. D. (1997).** Rodents infected with *Schistosoma mansoni* produce cytolytic IgG and IgM antibodies to the Lewis x antigen. *Glycobiology* 7, 207-215
- OSWALD, I. P., ELTOUM, I., WYNN, T. A., SCHWARTZ, B., CASPAR, P., PAULIN, D., SHER, A., JAMES, S. L. (1994).** Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill an intravascular parasite, *Schistosoma mansoni*, through the production of nitric oxide. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 91, 999-1003.
- PEARCE, E. J., CASPAR, P., GRZYCH, J. M., LEWES, F. A., SHER, A. (1991).** Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Experimental Medicine* 173, 159-166
- PEARCE, E. J., FREITAS, T. C. (2008).** Reverse genetics and study of the immune response to schistosomes. *Parasite Immunology* 30, 215-221.
- PEARCE, E. J., JAMES, S. L., HIENY, S., LANAR, D. E., SHER, A. (1988).** Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by vaccination with schistosome paramyosin (Sm97), a nonsurface parasite antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 5678-5682

- PEARCE, E. J., MACDONALD, A. S. (2002).** The immunobiology of schistosomiasis. *Nature reviews Immunology* 2, 499-511.
- PODHORSKÝ M., HŮZOVÁ Z., MIKEŠ L., HORÁK P. (2009).** Cercarial dimensions and surface structures as a tool for species determination of *Trichobilharzia* spp. *Acta Parasitologica* 54, 28-36
- PORCHET, E., MCNAIR, A., CARON, A., KUSNIERZ, J. P., ZEMZOUMI, K., CAPRON, A. (1994).** Tissue expression of the *Schistosoma mansoni* 28 kDa glutathione S-transferase. *Parasitology* 109, 565-572.
- RAMASWAMY, K., KUMAR, P., HE, Y.(2000).** A role for parasite-induced PGE2 in IL-10-mediated host immunoregulation by skin stage schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Immunology* 165, 4567–4574.
- RATCLIFFE, E. C., WILSON, R. A. (1991).** The magnitude and kinetics of delayed-type hypersensitivity responses in mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 103, 65–75.
- RICHTER, D., HARN, D. A. (1993).** Candidate vaccine antigens identified by antibodies from mice vaccinated with 15- or 50-kilorad-irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity* 61, 146–154.
- ROBERTS, M., BUTTERWORTH, A.E., KIMANI, G., KAMAU, T., FULFORD, A.J., DUNNE, D.W., OUMA, J.H., STURROCH, R.F. (1993).** Immunity after treatment of human schistosomiasis: association between cellular responses and resistance to reinfection. *Infection and Immunity* 61, 4984-4993.
- RUPPEL, A., IDRIS, M. A., SULEIMAN, S. M., HILALI, A. M. H. (1990).** *Schistosoma mansoni* diagnostic antigens (SM31/12): A seroepidemiological study in the Sudan. *Tropical Medicine and Parasitology* 41, 127–130.
- RUPPEL, A., SHI, Y. E., WEI, D. X., DIESFELD, H. J.(1987).** Sera of *Schistosoma japonicum*-infected patients cross-react with diagnostic 31/32 kD proteins of *S. mansoni*. *Clinical and Experimental Immunology* 69, 291–298.
- SAMUELSON, J. C., CAULFIELD, J. P. (1986).** Cercarial glycoalyx of *Schistosoma mansoni* activates human complement. *Infection and Immunity* 51 (1), 181-186.
- SAMUELSON, J. C., CAULFIELD, J. P. (1985).** The cercarial glycoalyx of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Cell biology* 100, 1423-1434.
- SCHRAMM, G., FALCONE, F. H., GRONOW, A., HAISCH, K., MAMAT, U., DOENHOFF, M. J., OLIVEIRA, G., GALLE, J., DAHINDEN, C. A., HAAS H. (2003).** Molecular characterization of an Interleukin-4-inducing factor from *Schistosoma mansoni* eggs. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 278, No. 20, 18384–18392.
- SCRIMGEOUR, E.M., GAJDUSEK, D.C. (1985).** Involvement of the central nervous system in *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection: a review. *Brain* 108, 1023–1038.
- SHIFF, C. J., LEY, H. E., KRIEL, R. L., CMELIK, S. H. W.(1972).** Influence of human skin lipids on cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 58, 476-480
- SIDDIQUI, A. A., ZHOU, Y., PODESTA, R. B., KARCZ S. R., TOGNON, C. E., STREJAN, G. H., DEKABAN, G. A., CLARKE, M. W. (1993).** Characterization of Ca(2+)-dependent neutral protease (calpain) from human blood flukes, *Schistosoma mansoni*. *Biochim. Biophys. Acta* 1181, 37-44.
- SIMPSON, A. J. G.(1987).** The biology of schistosomes from genes to catrines, edyted by Rollins D., Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich, Publischsers London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, sydney, Tokyo, Toronto.

- SIMPSON, A. J. G., SMITHERS, S. R. (1985).** Schistosomes surface, egg and circulating antigens. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 120, 205–239.
- SKELLY, P. J., SHOEMAKER, C. B.(2001).** *Schistosoma mansoni* proteases Sm31 (Cathepsin B) and Sm32 (Legumain) are expressed in the cecum and protonephridia of cercariae. *The Journal of Parasitology* 87, 1218-1221.
- SMYTH, D., MCMANUS, D. P., SMOUT, M. J., LAHA, T., ZHANG, W., LOUKAS, A. (2003).** Isolation of cDNAs encoding secreted and transmembrane proteins from *Schistosoma mansoni* by a signal sequence trap method. *Infection and Immunity* 71, 2548–2554.
- SMYTHIES, L. E., BETTS, C., COULSON, P. S., DOWLING, M. A., WILSON, R. A. (1996).** Kinetics and mechanism of effector focus formation in the lungs of mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology* 18, 359–369.
- SMYTHIES, L. E., PEMBERTON, R. M., COULSON, P. S., MOUNTFORD, A. P., WILSON, R. A. (1992).** T cell-derived cytokines associated with pulmonary immune mechanisms in mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Immunology* 148, 1512-1518.
- SOISSON, L. M. A., MASTERSON, C. P., TOM, T. D., MCNALLY, M. T., LOWELL, G. H., STRAND, M.(1992).** Induction of protective immunity in mice using a 62-kDa recombinant fragment of a *Schistosoma mansoni* surface antigen. *The Journal of Immunology* 149, 3612-3620
- SOISSON, L. A., REID, G. D., FARAH, I. O., NYINDO, M., STRAND, M. (1993).** Protective immunity in baboons vaccinated with a recombinant antigen or radiation-attenuated cercariae of *Schistosoma mansoni* is antibody- dependent. *The Journal of Immunology* 151, 4782-4789
- STEIN, L. D., AND J. R. DAVID. (1986).** Cloning of a developmentally regulated tegument antigen of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 20,253–264.
- STIREWALT, M. A., DORSEY, C. H. (1974),** *Schistosoma mansoni*: cercarial penetration to host epidermis at the ultrastructural level. *Experimental Parasitology* 35, 1-15.
- STIREWALT, M. A., KRUIDENIER, F.J (1961).** Activity of the acetabular secretory apparatus of cercariae of *Schistosoma mansoni* under experimental conditions. *Experimental Parasitology* 11, 191-211.
- STOITZNER, P., TRIPP, C. H., EBERHART, A., PRICE, K.M., JUNG, J. Y., BURSCH, L., RONCHESE, F., ROMANI, N. (2006).** Langerhans cells cross-present antigen derived from skin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, 7783–7788.
- TANG, A., AMAGAI, M., GRANGER, L.G., STANLEY, J.R., UDEY, M.C. (1993).** Adhesion of epidermal Langerhans cells to keratinocytes is mediated by E-cadherin. *Nature* 361,82–85.
- TORT, J., BRINDLEY, P. J., KNOX, D., WOLFE, K. H., DLATON, J. P. (1999).** Proteinases and associated genes of parasitic helminths. *Advances in Parasitology* 43, 161-266.
- TRAN, M.H., PEARSON, M.S., BETHONY, J.M., SMYTH, D.J., JONES, M.K., DUKE, M., DON, T.A., MCMANUS, D.P., CORREA-OLIVEIRA, R., LOUKA, A. (2006).** Tetraspanins on the surface of *Schistosoma mansoni* are protective antigens against schistosomiasis. *Nature Medicine* 12, 835-840.
- ULMER, J. B., WAHREN, B., LIU, M. A. (2006).** Gene-based vaccines: recent technical and clinical advances. *Trends in Molecular Medicine* 12, 216-222.
- VAN DER KLEIJ, D., LATZ, E., BROUWERS, J. F. H. M., KRUIZE, Y. C. M., SCHMITZ, M., KURT-JONES, E. A., ESPEVIK, T., DE JONG, E. C., KAPSENBERG, M. L., GOLENBOCK, D. T., TIELENS, A. G. M., YAZDANBAKHS, M. (2002).** A Novel Host-Parasite Lipid Cross-talk. Schistosomal lyso-phosphatidylserine activates toll-like receptor 2 and affects immune polarization. *The Journal of Biological Chemistry* 277, 48122-48129.

VAN DER POWW KRAAN, T. C., BOELJE, L. C., SMEENK, R. J., WIJDENES, J., AARDEN, L. A. (1995). Prostaglandin-E2 is a potent inhibitor of human interleukin-12 production. *Journal of Experimental Medicine* 181, 775-779.

VAN HELLEMOND, J. J., RETRA, K., BROUWERS, J. F. H. M., VAN BALKOM, B. W. M., YAZDANBAKHS, M., SHOEMAKER, CH. B., TIELENS, A. G. M. (2006). Functions of the tegument of schistosomes: Clues from the proteome and lipidome. *International Journal for Parasitology* 36, 691-699.

VON LICHTENBERG, F., CORREA-OLIVEIRA, R., SHER A. (1985). The fate of challenge schistosomula in the murine anti-schistosome vaccine model. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 34, 96-106.

WEBSTER, M., FULFORD, A. J., BRAUN, G., OUMA, J. H., KARIUKI, H. C., HAVERCROFT, J. C., GACHUHI, K., STURROCK, R. F., BUTTERWORTH, A. E., DUNNE, D. W. (1996). Human immunoglobulin E responses to a recombinant 22.6-kilodalton antigen from *Schistosoma mansoni* adult worms are associated with low intensities of reinfection after treatment. *Infection and Immunity* 64, 4042-4046.

WIEST, P. M., TARTAKOFF, M. A., AIKAWA, M., MAHMOUD, A. A. F. (1988). Inhibition of surface membrane maturation in schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 85, 3825-3829.

WILSON, R. A. (1998). Interferon gamma is a key cytokine in lung phase immunity to schistosomes but what is its precise role? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 31, 157-161.

WILSON, R.A. (2009). The saga of schistosome migration and attrition. *Parasitology* 1-12.

WILSON, R. A., COULSON, P. S., DIXON, B. (1986). Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* in mice vaccinated with radiation-attenuated cercariae, and normal mice: an attempt to identify the timing and site of parasite death. *Parasitology*, 92-101.

WRIGHT, M. D., MELDER, A. M., DAVERN, K. M., MITCHELL, G. F. (1991). Serologic reactivities of the 23-kDa integral membrane proteins of schistosomes. *The Journal of Immunology* 147, 4338-4342.

WYNN, T.A., HOFFMANN, K.F. (2000). Defining a schistosomiasis vaccination strategy – is it really Th1 versus Th2? *Parasitol Today* 16, 497–501.

XU, X. F., STACK, R. J., RAO, N., CAULFIELD, J. P. (1994). *Schistosoma mansoni*: Fractionation and Characterization of the Glycocalyx and Glycogen-like Material from Cercariae. *Experimental parasitology* 79, 399-409.

13.2 Sekundární prameny:

CALFIELD, J. P., CIANCI, C. M. (1985). Human erythrocytes adhering to schistosomula of *Schistosoma mansoni* lyse and fail to transfer membrane components to the parasite. *Journal of Cell Biology* 101, 158-166.

CRABTREE, J. E., WILSON, R. A. (1980). *Schistosoma mansoni*: a scanning electron microscope study of the developing schistosomulum. *Parasitology* 81, 553-564.

DILLON, G. P., FELTWELL, T., SKELTON, J., COULSON, P. S., WILSON, R. A. (2008). Altered patterns of gene expression underlying the enhanced immunogenicity of radiation-attenuated schistosomes. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2, 240.

ENK, A. H., ANGELONI, V. L., UDEY, M. C., KATZ, S. I. (1993). An essential role for Langerhans cell-derived IL-1b in the initiation of primary immune responses in skin. *Journal of Immunology* 150, 3698–3704.

FALLON, P. G. (2000). Immunopathology of schistosomiasis: a cautionary tale of mice and men. *Immunology Today* 21, 29-35.

- GOLAN, D. E., BROWN, C. S., CIANCI, C. M., FURLONG, S. T., CAULFIELD, J. P. (1986).** Schistosomula of *Schistosoma mansoni* use lypophosphatidylcholin to lyse adherent human red blood cells and immobilize red cell membrane components. *Journal of Cell Biology* 103, 819-828.
- GUI, M., KUSEL, J. R., SHI, R.E., RUPPEL, A. (1995).** *Schistosoma japonicum* a *S. mansoni*: comparison of larval migration patterns in mice. *Journal of Helminthology* 69, 19-25.
- HARN, D. A., MITSUYAMA, M., HUGUENEL, E. D., DAVID, J. R. (1985).** *Schistosoma mansoni*: detection by monoclonal antibody of a 22,000- dalton surface membrane antigen which may be blocked by host molecules on lung stage parasites. *The Journal of Immunology* 135, 2115-2120
- JAMES, S. L. (1986).** Activated macrophages as effector cells of progenera: acquired resistance in mice. *Experimental Parasitology* 55, I.
- KEMP, W. M. (1972).** Serology of the cercarienhüllen reaktion of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 58, 686-692.
- KEMP, W. M., DAMIAN, R. T., GREENE, N. D. (1973).** *Schistosoma mansoni*: immunohistochemical localization of the CHR reaction in the glycocalyx of cercaria, *Exp. Far.sited.* 33, 27-33.
- KIMBER, I., CUMBERBATCH, M. (1992).** Stimulation of Langerhans cell migration by TNFa. *Journal of Investigative Dermatology* 99, 48-50.
- LEVY, S., SHOHAM, T. (2005).** The tetraspanin web modulates immunesignalling complexes. *Nature Reviews Immunology* 5, 136-148.
- MILLER, P., WILSON, R. A. (1980).** Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from the lungs to the hepatic portal systém. *Parasitology* 80, 267-288
- MENTINK-KANE, M. M., WYNN, T. A. (2004).** Oppositing roles for IL-13 and IL-13 receptor $\alpha 2$ in health and disease. *Immunological Reviews* 202, 191-202.
- PITTELLA, J. E. H. (1997).** Neuroschistosomiasis. *Brain Pathology* 7, 649-662.
- ROMANI, N., HOLZMANN, S., TRIPP, C.H., KOCH, F., STOITZNER, P. (2003).** Langerhans cells – dendritic cells of the epidermis. *Apmis* 111, 725-740
- RUZICKA, T., PRINTZ, M. P. (1984).** Arachidonic acid metabolism in skin: a review. *Reviews of Physiology, Biochemistry & Pharmacology* 100, 122.
- SIDDIQUI, A. A., ZHOU, Y., PODESTA, R. B., KARCZ, S. R., TOGNON, C. E., STREJAN, G. H., DEKABAN, G. A., CLARKE, M. W. (1993).** Characterization of Ca (2+)- depemdent neutral protease (calpain) from human blood flukes, *Schistosoma mansoni*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1181, 37-44.
- SOZZANI, S., LUINI, W., BORSATTI, A., POLENTARUTTI, N., ZHOU, D., PIEMONTI, L., D'AMICO, G., POWER, C. A., WELLS, T. N., GOBBI, M., ALLAVENA, P., MANTOVANI, A. (1997).** Receptor expression and responsiveness of human dendritic cells to a defined set of CC and CXC chemokines. *Journal of Immunology* 159, 1993-2000.
- TAUB, D. D., CONLON, K., LLOYD, A. R., OPPENHEIM, J. J., AND KELVIN, D. J. (1993).** Preferential migration of activated CD4_ and CD8_ T cells in response to MIP-1_ and MIP-1_. *Science* 260, 355-358.
- TOY, L. PETTIT, M., WANG, Y. F., HEDSTROM, R., MCKERROW, J. H. (1987).** The immune response to stage-specific proteolytic enzymes of *Schistosoma mansoni*. In: Macinnis, A. J. (ed) *Molecular paradigms for eradication of helminth parasites*. UCLA Symp Mol Cell Biol 60, 85-103.

VAN LOVEREN, H., REDEGELD, F., MATSUDA, H., BUCKLEY, T., TEPPEMA, J. S., GARSSEN, J. (1997). Mast cells. In. *Skin Immune System*, 2nd Ed. J. D. Bos, ed. CRC Press, New York, p. 159.

VIGNALI, D. A. A., CROCKER, P., BICKLE, Q., D., COBBOLD, S., WALDMAN, H., TAYLOR, M. G.(1989). A role of CD4+ but not CD8+ T cells in immunity to *Schistosoma mansoni* induced by 20krad-irradiated and Ro11-3128 terminated infection. *Immunology* 67, 466-472

WALKER, J., CROWLEY, P., MOREMAN, A.D., BARRETT J. (1993). Biochemical properties of cloned glutathione S-transferases from *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 61, 255-264

WHEATER, P. R., WILSON, R. A. (1979). *Schistosoma mansoni*: a histological study of migration in the laboratory mouse. *Parasitology* 79, 49-62

WYNN, T. A., THOMPSON, R. W., CHEEVER, A. W., MENTIK-KANE, M. M. (2004). Immunopathogenesis of schistosomiasis. *Immunological Reviews* 201, 156-167.

YING, S., MENG, Q., BARATA, L. T., KAY, A. B. (2001). Macrophage inflammatory protein-1_α and C-C chemokine receptor-1 in allergen-induced skin late-phase reactions: relationship to macrophages, neutrophils, basophils, eosinophils and T lymphocytes. *Clinical and Experimental Allergy* 31,1724–1731.