

**Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta
Kateřinská 32, Praha 2**

**Prohlášení zájemce o nahlédnutí
do závěrečné práce absolventa studijního programu
uskutečňovaného na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy**

Jsem si vědom/a, že závěrečná práce je autorským dílem a že informace získané nahlédnutím do zpřístupněné závěrečné práce nemohou být použity k výdělečným účelům, ani nemohou být vydávány za studijní, vědeckou nebo jinou tvůrčí činnost jiné osoby než autora.

Byl/a jsem seznámen/a se skutečností, že si mohu pořizovat výpisy, opisy nebo kopie závěrečné práce, jsem však povinen/a s nimi nakládat jako s autorským dílem a zachovávat pravidla uvedená v předchozím odstavci.

Příjmení, jméno (hůlkovým písmem)	Číslo dokladu totožnosti vypůjčitele (např. OP, cestovní pas)	Signatura závěrečné práce	Datum	Podpis

Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta

Studijní program: Doktorské studijní programy v biomedicině
Studijní obor: Biochemie a patobiochemie



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

RNDr. Jan Novák

**Imunitní odpověď paratenického hostitele na infekci *Toxocara canis*,
možné ovlivnění průběhu experimentální autoimunitní encefalomyelitidy**

**Immune response of the paratenic host to *Toxocara canis* infection,
possible influence on the course of experimental autoimmune encephalomyelitis**

Dizertační práce

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

Konzultant: prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.

Praha, 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze,

Jan Novák

Podpis

Identifikační záznam:

NOVÁK, Jan. *Imunitní odpověď paratenického hostitele na infekci Toxocara canis, možné ovlivnění průběhu experimentální autoimunitní encefalomyelitidy [Immune response of the paratenic host to Toxocara canis infections, possible influence on the course of experimental autoimmune encephalomyelitis]*. Praha, 2022. 51 stran, 4 přílohy. Dizertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Ústav imunologie a mikrobiologie. Školitel: Horák, Petr.

ABSTRACT

The most complex interactions between host and infectious agent are generated during helminth infections, which represent a significant source of serious health problems worldwide. Because many helminths migrate after entering the host, these infections are characterized by the gradual development of a range of clinical symptoms. These are not only due to the damage to various organs but also to the modified host's immune response. The published studies show that, on the one hand, the immune response is stimulated in order to eliminate the parasite, but on the other hand, helminths possess a number of mechanisms that may lead to immune modulation and thus ensure their long-term survival in the host. An indirect consequence of such a situation may then be an amelioration of the symptoms of autoimmune diseases. Therefore, in order to contribute to the elucidation of the course of the immune response of the paratenic host to one of the most common infections caused by *Toxocara canis*, we also studied the effect of infection on experimental autoimmune encephalomyelitis, a model for multiple sclerosis.

Although *T. canis* is a parasite of canids, it often infects a variety of paratenic hosts, including humans. In these hosts, the larvae survive in various tissues at the L3 larval stage, with a large proportion found in the brain. The pathogenesis of infection is the result of mechanical damage to the tissues and the action of excretory-secretory products of larvae. Our experiments in immunocompetent mice have shown that even a small number of larvae leads to a serologically significant response, which, however, is not accompanied by severe pathological changes. However, after subsequent induction of experimental autoimmune encephalomyelitis, we observed that infection with L3 *T. canis* larvae worsened the course of this model disease. Compared to the uninfected control group, we observed higher clinical symptom scores and higher weight loss in these mice. These negative effects were associated with significant increases in serum cytokine levels, probably as a consequence of dysfunctional regulation of the immune system. In the central nervous system, we found an increased percentage of CD4⁺ cells of non-Treg phenotype, suggesting infiltration of additional CD4⁺ cell populations, which are probably responsible for the worsening course of experimental autoimmune encephalomyelitis in infected mice.

Larval toxocariasis is one of the most globally important tissue parasitoses. Older data from the Czech Republic indicate that almost one out of every five individuals has encountered the infection. These studies indicate seroprevalence levels of 18.4% (1998) and 19% (2006). In comparison, we found a decrease in this value to 3.6% (2020). We suppose that the reduction in seroprevalence is probably associated with increased public hygiene and increased use of anthelmintics in dogs.

The majority of the existing tests for the detection of *T. canis*-specific antibodies is limited by lower specificity because they are based on excretory-secretory antigens that cross-react with sera from patients infected with other helminths. In this part of the work, our goal was to identify recombinant excretory-secretory antigens for the detection of *T. canis*-specific antibodies. The use of these alternative recombinant antigens illustrated their possible diagnostic potential as well as differences in the reactivity of mice and human sera.

Keywords: *Toxocara canis*, experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE, seroprevalence, toxocarosis, recombinant antigens, diagnostics, MOG, helminths, multiple sclerosis

ABSTRAKT

K nejsložitějším interakcím mezi hostitelem a infekčním agens dochází v průběhu infekcí vyvolaných helminty, kteří představují celosvětově významný zdroj závažných zdravotních problémů. Vzhledem k tomu, že řada helmintů po průniku do hostitele migruje, je pro tyto infekce typický postupný rozvoj různých klinických obtíží. Ty jsou způsobeny nejen poškozením různých orgánů, ale i odpovídající imunitní reakcí hostitele. Z literárních údajů vyplývá, že na jedné straně sice dochází ke stimulaci imunitní reakce s cílem zlikvidovat parazita, na druhé straně ale helminti disponují řadou mechanismů, které mohou vést k modulaci imunity, a zajistit tak jejich dlouhodobé přežívání v hostiteli. Nepřímým důsledkem takové situace pak může být zlepšení projevů autoimunitních onemocnění. S cílem přispět k objasnění průběhu imunitní odpovědi paratenického hostitele na jednu z nejčastějších infekcí vyvolanou *Toxocara canis* jsme se proto zabývali i vlivem infekce na experimentální autoimunitní encefalomyelitidu, která je modelem pro studium roztroušené sklerózy.

Přestože je *T. canis* parazitem psovitých šelem, infikuje často celou řadu paratenických hostitelů včetně člověka. V těchto hostitelích hlístice přežívají v různých tkáních ve stadiu L3 larev, přičemž velká část se nalézá v mozku. Patogeneze infekce je výsledkem mechanického poškození tkání a působením exkrečně-sekrecčních produktů larev. Naše experimenty na imunokompetentních myších ukázaly, že již malé množství larev sice vede k sérologicky významné odpovědi, která však není doprovázena závažnými patologickými změnami. Po následném navození experimentální autoimunitní encefalomyelitidy jsme ale zaznamenali, že infekce larvami L3 *T. canis* zhoršila průběh tohoto modelového onemocnění. V porovnání s kontrolní neinfikovanou skupinou jsme u těchto myší zaznamenali horší skóre klinických příznaků a vyšší úbytek hmotnosti. Tyto negativní efekty byly spojeny s velkým zvýšením hladin sérových cytokinů, pravděpodobně jako důsledek nefunkční regulace imunitního systému. V centrální nervové soustavě jsme zjistili zvýšené procento CD4⁺ buněk non-Treg fenotypu, což naznačuje infiltraci dalších populací CD4⁺ buněk, pravděpodobně zodpovědných za zhoršení průběhu experimentální autoimunitní encefalomyelitidy infikovaných myší.

Larvální toxokaróza je řazena mezi globálně nejvýznamnější tkáňové parazitózy. Starší údaje z České republiky uvádějí, že zhruba každý pátý jedinec se s infekcí setkal. Tyto studie uvádějí hodnoty séroprevalence 18,4% (rok 1998) a 19% (rok 2006). V porovnání s nimi jsme zjistili snížení této hodnoty na 3,6% (2020). Domníváme se, že ke snížení séroprevalence došlo zřejmě v souvislosti se zvýšenou hygienou obyvatelstva a používáním antihelmintik u psů.

Většina současných testů k průkazu *T. canis*-specifických protilátek je zatížena nižší specificitou, protože jejím základem jsou exkrečně-sekreční antigeny, které vykazují křížovou reaktivitu se séry pacientů infikovaných jinými helminty. V této části práce byla naším cílem identifikace rekombinantních exkrečně-sekrečních antigenů pro detekci *T. canis*-specifických protilátek. Použití těchto alternativních rekombinantních antigenů ukázalo jejich možný diagnostický potenciál a zároveň i rozdíly v reaktivitě myších a lidských sér.

Klíčová slova: *Toxocara canis*, experimentální autoimunitní encefalomyelitida, EAE, séroprevalence, toxokaróza, rekombinantní antigeny, diagnostika, MOG, helminti, roztroušená skleróza

PODĚKOVÁNÍ

Velmi děkuji všem, bez kterých by tato práce nevznikla. Především chci poděkovat prof. RNDr. Petru Horákovi, Ph.D., ze veškerou podporu, vedení a trpělivost. Moje poděkování patří i prof. RNDr. Libuši Kolářové, CSc. a doc. RNDr. Jiřímu Hrdému, Ph.D. za vedení a možnost konzultací v parazitologii a imunologii. Rád bych také velmi poděkoval členům jejich laboratoří, zejména RNDr. Tomáši Macháčkovi, Ph.D. za detailní konzultace, analýzy a vždy podnětnou a stimulující diskusi nad výsledky experimentů. Poděkování patří i RNDr. Lucii Panské, Ph.D., RNDr. Janě Bulantové, Ph.D., Mgr. Kateřině Skulinové, Mgr. Martinu Majerovi, MUDr. RNDr. Viktoru Černému, Ph.D., Mgr. Marii Kostelanské, Ph.D., Mgr. Olze Novotné, Ing. Petře Petráskové, Bc. Ivaně Markovičové a všem dalším, kteří se vždy ochotně pomocí či radou podíleli na vzniku této práce.

Zvláště děkuji své manželce Zdeňce a svým dětem Adéle a Ondrovi za lásku, podporu, shovívavost a trpělivost.

Chci poděkovat za všechny tyto lidi Bohu, že nám umožnil potkat se a jít spolu kousek cesty a prosím pro ně o požehnání.

FINANČNÍ PODPORA

Grantová agentura Univerzity Karlovy (GAUK 32195)

Institucionální programy Univerzity Karlovy na podporu Specifického vysokoškolského výzkumu (SVV 266260/2016, SVV 260369/2017-2019, SVV 260520/2020-2022)

Institucionální programy Univerzity Karlovy – Programy rozvoje vědních oblastí a Univerzitních výzkumných center (Progres Q25, COOPERATIO IMMUNO 207032)

ZKRATKY

AI	autoimunitní
APC	antigen prezentující buňka (antigen presenting cell)
BBB	hematoencefalická bariéra (blood brain barrier)
CCL2	alternativní název pro MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1)
CCL3	alternativní název pro MIP-1 α (macrophage inflammatory protein 1 α)
CD	skupina T lymfocytů diferencovaná podle povrchových znaků (cluster of differentiation)
CIS	klinicky izolovaný syndrom (clinically isolated syndrome)
CNS	centrální nervová soustava (central nervous system)
CSF	mozkomíšní mok (cerebrospinal fluid)
CTLA4	cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4
DC	dendritické buňky (dendritic cells)
EAE	experimentální autoimunitní encefalomyelitida (experimental autoimmune encephalomyelitis)
EBNA	nukleární antigen viru Epsteina a Barrové (EB virus nuclear antigen)
EBV	virus Epsteina a Barrové (Epstein Barr virus)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ES	exkrečně-sekreční (excretory-secretory)
FoxP3	transkripční faktor charakteristický pro T regulační buňky (forkhead box protein 3)
Gal-9	galektin 9
GFAP	gliový fibrilární kyselý protein (glial fibrillary acidic protein)
HHV-6	lidský herpesvirus 6 (human herpesvirus 6)
HIT	imunomodulační terapie zprostředkovaná helminty nebo jeho produkty (helminth induced therapy)
HLA	lidské leukocytární antigeny (human leucocyte antigens)
IFN- α	interferon alfa
IFN- γ	interferon gama
Ig	imunoglobulin
IL	interleukin
iNOS	indukovatelná syntáza oxidu dusnatého (inducible nitric oxide synthase)
IS	imunitní systém
MAP	glykoprotein asociovaný s myelinem (myelin associated glycoprotein)
MBP	myelinový bazický protein (myelin basic protein)

MGM	makrofágy asociované s meningy (macrophages associated with meninges)
MOG	myelinový oligodendrocytární glykoprotein (myelin oligodendrocyte glycoprotein)
MOG ₃₅₋₅₅	peptid odvozený ze sekvence MOG, 20 aminokyselin v pořadí 35-55
MRI	magnetická resonance
PLP	proteolipidový peptid (proteolipid protein)
PVM	perivaskulární makrofág (perivascular macrophages)
PT	toxin bakterie <i>Bordetella pertussis</i>
RS	roztroušená skleróza
TES	exkrečně sekreční produkty larev <i>Toxocara canis</i>
Th1	CD4 ⁺ buňky Th1 polarizace
Th2	CD4 ⁺ buňky Th2 polarizace
Th17	CD4 ⁺ buňky Th17
TGF- β	transforming growth factor beta
TNF- α	tumor necrosis factor alfa
Treg	regulačních T lymfocyty
Tr1	regulačními T lymfocyty typu 1

OBSAH

ABSTRACT	v
ABSTRAKT	vii
PODĚKOVÁNÍ	ix
FINANČNÍ PODPORA	ix
ZKRATKY.....	x
1. ÚVOD.....	1
1.1. Roztroušená skleróza	1
1.1.1. Charakteristika roztroušené sklerózy	1
1.1.2. Mechanismy vzniku roztroušené sklerózy	2
1.1.3. Role populací CD ⁺ T lymfocytů	4
1.1.4. Virové infekce, genetické predispozice, epigenetické faktory a vliv střevního mikrobiomu	5
1.1.5. Helminti jako imunomodulační terapie RS	7
1.2. Experimentální autoimunitní encefalomyelitida (EAE)	8
1.2.1. Model EAE.....	8
1.2.2. Indukce EAE.....	8
1.2.3. Imunologie EAE	10
1.2.4. Mechanismy imunoregulačního působení helmintů	11
1.2.5. Vliv helmintů na průběh EAE.....	11
1.2.6. Limity laboratorního modelu EAE.....	12
1.3. <i>Toxocara canis</i>	13
1.3.1. Charakteristika, prevalence u psovitých šelem	13
1.3.2. Parateničtí hostitelé a globální séroprevalence v lidské populaci.....	13
1.3.3. Séroprevalence v populaci v ČR	14
1.3.4. Sérologická diagnostika <i>T. canis</i>	14
1.3.5. Důsledky infekce lidské populace, toxokaróza	15
1.3.6. Imunitní odpověď na infekci <i>T. canis</i> v CNS - neurotoxokaróza	16
2. CÍLE PRÁCE	18
3. SEZNAM PUBLIKACÍ.....	19
4. SOUHRN A ZÁVĚR.....	21
5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	24
Příložené publikace	

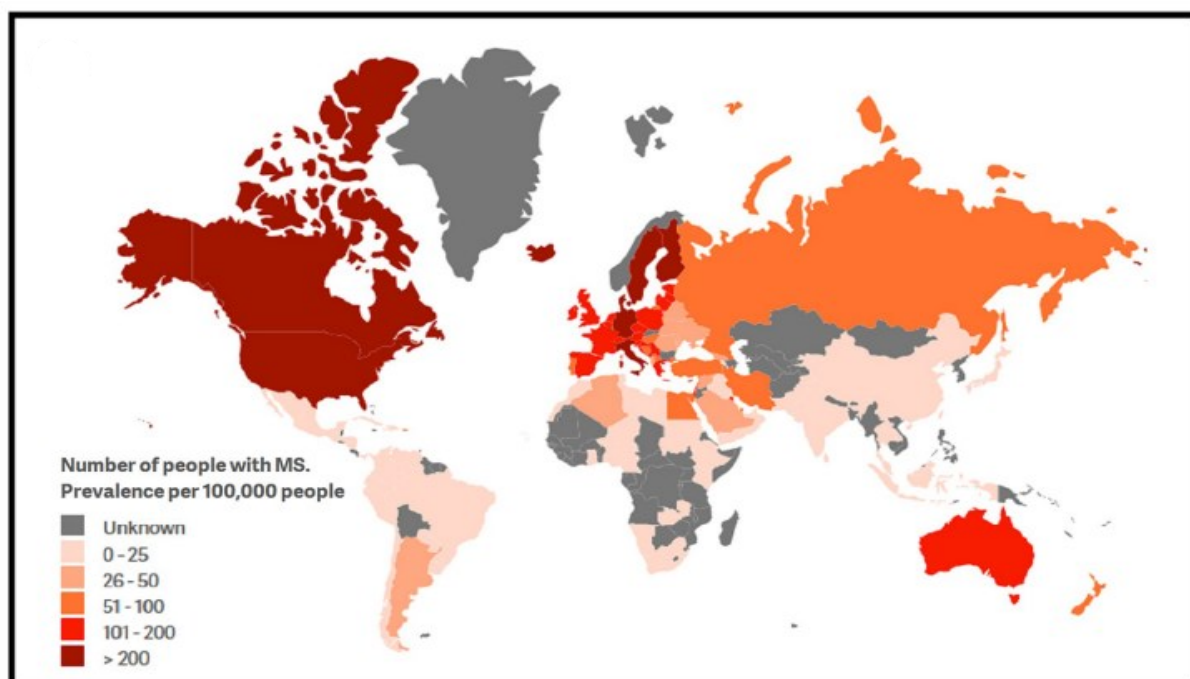
1. ÚVOD

1.1. Roztroušená skleróza

1.1.1. Charakteristika roztroušené sklerózy

Roztroušená skleróza (RS) patří k nejčastějším autoimunitním onemocněním (AI) centrálního nervového systému (CNS). Celkový odhadovaný počet pacientů je 2,8 milionu s frekvencí 35,9 pacientů na 100.000 obyvatel. Odhadovaný nárůst je 2,1 pacientů na 100.000 obyvatel za rok, přičemž největší počty a nárůst registrovaných pacientů je v Evropě, Severní Americe a Austrálii (Obrázek 1). V České republice je odhadem 22.000 pacientů, každý rok přibývá cca 700 dalších (informace prof. Eva Kubala Havrdová). Vyšší výskyt onemocnění je spojen s narůstající zeměpisnou šířkou (Koch-Henriksen & Sorensen, 2010; Sabel *et al.*, 2021) a odlišnou vnímavostí populací, přičemž nejvyšší výskyt je v indoevropské populaci.

Dalším rizikovým faktorem je kouření a socioekonomické faktory spojené s vyšší úrovní hygieny a sanitace související s nižším výskytem infekčních onemocnění včetně nižšího výskytu helmintů (Correale & Gaitan, 2015). Průměrný věk diagnózy je 32 let, výskyt RS je u žen zhruba 2x vyšší než u mužů. V posledních letech byl zaznamenán zvýšený počet pacientů mladších 18 let. I přes velké pokroky v léčbě je toto invalidizující onemocnění závažným zdravotním i sociálním problémem (Walton *et al.*, 2020).



Obrázek 1: Mapa ukazuje rozdíly v četnosti výskytu RS na 100.000 obyvatel. Země, kde nejsou data k dispozici, jsou znázorněny šedou barvou (Walton *et al.*, 2020).

Onemocnění je charakterizováno demyelinizací axonů a vznikem zánětlivých ložisek v bílé hmotě mozkové a míše. Konečná diagnóza se opírá o průkaz těchto ložisek magnetickou rezonancí (MRI). V průběhu onemocnění se objevuje řada nespecifických symptomů, mezi něž patří v počátečních stádiích RS poruchy smyslů a rovnováhy, později se objevují poruchy kognitivních funkcí, poruchy funkce gastrointestinální soustavy, neuralgie trigeminu, neuropsychiatrické poruchy a další symptomy (Ferreira, 2010). Zánětlivá časná fáze se mění v průběhu onemocnění v pozdní degenerativní fázi (Winkelmann *et al.*, 2007). Podle průběhu rozpoznáváme 4 formy RS: (1) relaps-remitentní RS, postihující cca 85-90% pacientů, je charakterizovaná střídáním atak, po kterých dochází k částečné či úplné remisi, (2) na ni často navazující sekundárně progresivní RS, kdy dochází ke zhoršování stavu pacienta bez období remise, (3) primárně progresivní RS, kdy se stav pacienta kontinuálně zhoršuje od počátku diagnostikovaného onemocnění a (4) relabující progresivní RS, nezávažnější formu, ale se závažným, kontinuálně se zhoršujícím průběhem, kdy po atakách prakticky nedochází ke zlepšení (Havrdová, 2002).

1.1.2. Mechanismy vzniku roztroušené sklerózy

Pro pochopení mechanismů vedoucích ke vzniku RS je nutné detailní porozumění interakcím a komunikaci periferního imunitního systému a CNS. Jako klíčový řídicí systém organismu disponuje CNS řadou specifických mechanismů, které zajišťují optimální podmínky a ochranu při jeho fungování před ohrožujícími vnitřními a vnějšími rizikovými faktory. Toho je dosaženo i určitou izolovaností či separací před účinky vlastního imunitního systému. Označení „imunologicky unikátní“ CNS (Louveau *et al.*, 2015), namísto používaného „imunoprivilegovaného“ postavení CNS, není negací původního konceptu, ale rozšiřuje ho o poznatky o komunikačních kanálech pro vstup a výstup solubilních a buněčných komponent mezi periferními složkami imunitního systému a CNS. Anatomická bariéra CNS je tvořena mozkomíšním mokem (cerebrospinal fluid, CSF) a mozkovými blánami, které obklopují mozek a míchu. Hlavní překážkou, která tvoří přechod mezi krevními kapilárami a mozkovou tkání, je hematoencefalická bariéra (blood brain barrier, BBB), zabraňující průniku solubilních molekul (pokud nemají vlastní transportní systém), buněk IS a patogenů do CNS. Další překážkou je bariéra mezi krevním řečištěm a CSF a bariéra mezi krevním řečištěm a leptomeningy (Shechter *et al.*, 2013). Tato nepropustnost ale není absolutní (Sharif *et al.*, 2018). Existuje řada mechanismů umožňujících překonání této bariéry: (a) Solubilní antigeny z CNS mohou být prostřednictvím CSF transportovány přes cribriformní pláty do hlubokých krčních lymfatických uzlin, kde mohou být prezentovány naivním T lymfocytům je zřejmě obecně

propustnější i pro molekuly malé velikosti do 18 Da (Lao *et al.*, 2019; Pardridge, 2009; Sharif *et al.*, 2018), (c) i za běžných fyziologických podmínek mohou v omezené míře procházet buňky IS do CNS a zpět do periferie, tento proces je pak akcelerován při fyzikálním poškození/poranění (Erickson & Banks, 2022; Kivisakk *et al.*, 2003; Ransohoff & Engelhardt, 2012; Shechter *et al.*, 2013; Shechter *et al.*, 2012). Existence populací perivaskulárních makrofágů (PVM) a populací makrofágů asociovaných s meningy (MGM), které plní roli antigen prezentujících buněk (Faraco *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2011), je podmínkou pro vznik a rozvoj zánětlivých patologií CNS včetně RS (Fabriek *et al.*, 2005; Polfliet *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2011). PVM navíc zhoršují zánětlivý proces i produkcí monocyty-atraktivujících chemokinů CCL2 (MCP-1, monocyte chemoattractant protein 1) a CCL3 (MIP-1 α , macrophage inflammatory protein 1 α) (Hofmann *et al.*, 2002). V modelu experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (EAE) u krysu vede deplece PVM ke zlepšení neurologických symptomů, což ukazuje na jejich možnou roli jako APC v CNS (Polfliet *et al.*, 2002). Prostupnost BBB a bariéry mezi krevním řečištěm a CSF je ovlivněna infekčními agens (viz další odstavec), ale také doznává změn díky stárnutí organismu (Erickson & Banks, 2019). Přehledně shrnuje mechanismy průniku antigenů a buněčných elementů a jejich existenci v CNS ve své práci Macháček (2020).

Na vzniku a rozvoji RS se podílí řada faktorů. Kromě genetických predispozic, častějšího výskytu u žen, stanovení diagnózy typicky mezi 20.—40. rokem věku, etnicity (Lu *et al.*, 2022) a dalších, hrají významnou úlohu i externí faktory včetně mikrobiálních infekcí (viz kap 1.1.4. a 1.1.5). Prvotním impulzem pro rozvoj RS je zánět způsobený infekcí, působením toxinů nebo fyzikálním poškozením CNS v kombinaci s genetickými predispozicemi a dalšími vnějšími faktory. IS rozpozná antigeny odvozené z myelinových proteinů uvolněných z CNS (což může nastat jak v důsledku probíhající infekce CNS, tak v malé míře i za fyziologických podmínek), které jsou v periférii prezentovány antigen prezentujícími buňkami naivním T lymfocytům. Výsledkem je aktivace a klonální expanze autoreaktivních Th1 a Th17 lymfocytů. Analogicky může dojít k tomuto ději, pokud je přítomen v periférii analogický antigen, který ale nepochází z CNS. Tato aktivace, jejíž příčinou je sekvenční analogie či lépe „podobnost antigenu pro IS“, je základem fenoménu molekulárního mimikry (Croxford *et al.*, 2005; Harkiolaki *et al.*, 2009; Olson *et al.*, 2001), kdy je proliferace myelin-autoreaktivních buněk spuštěna např. cizorodým proteinem viru během virové infekce. Stejně tak může dojít k nespecifické aktivaci autoreaktivních Th1 a Th17 buněk, tzv. „bystander“ efektem (Dendrou *et al.*, 2015; Vanderlugt & Miller, 2002). Ve všech těchto případech pak dochází k migraci autoreaktivních buněk do CNS, produkci interleukinu (IL)-1, IL-2, IL-6, IL-17, tumor nekrotizujícího faktoru (TNF)- α a interferonu (IFN)- γ . Výsledkem je zvýšení permeability BBB působením cytokinů/chemokinů

a mikroglíí (Yu *et al.*, 2022) a infiltrace dalších buněk, zejména v periférii aktivovaných B lymfocytů a monocytů. B lymfocyty se dále transformují v plasmatické buňky produkující myelin-specifické protilátky (Barr *et al.*, 2012), monocyty pak v makrofágy (působením CCL3 a IFN- γ) (Vanderlugt & Miller, 2002). Významnou měrou se na patologických procesech podílí i aktivace komplementu, produkce NO, kyslíkových radikálů a přímé působení cytokinů (Duffy *et al.*, 2014; Hemmer *et al.*, 2006).

Společným působením těchto komponent, aktivovaných astrocytů a mikroglíí dochází k degradaci myelinu, poškození neuronů i oligodendrocytů, následnému zpracování a prezentaci antigenů myelinových proteinů APC a kaskádovému opakování celého procesu. Svou roli hraje pravděpodobně i fenomén „rozšiřování epitopů“ („epitope spreading“). Tento kaskádový proces, při kterém dochází k degradaci myelinu, jeho zpracování a prezentaci APC dalším populacím aktivovaných T lymfocytů má za následek rozšiřování antigenní specifity efektorových buněk na další oblasti v rámci jednoho proteinu, ale pravděpodobně zahrnuje i epitopy dalších myelinových proteinů, včetně tzv. kryptických epitopů (Katz-Levy *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 2001; Vanderlugt & Miller, 2002). Ověření, zda tento mechanismus stojí za průběhem relaps-remitentní RS, vyžaduje další experimentální důkazy (Katz-Levy *et al.*, 1999; Neville *et al.*, 2000; Vanderlugt & Miller, 2002). Poškození obalových struktur nervových vláken se týká všech myelinových proteinů: myelinového bazického proteinu (MBP), myelinového oligodendrocytárního glykoproteinu (MOG), glykoproteinu asociovaného s myelinem (MAG) a proteolipidového peptidu (PLP) (Carsique *et al.*, 1995; Ota *et al.*, 1990; Seboun *et al.*, 1996).

1.1.3. Role populací CD⁺ T lymfocytů

Zatímco CD4⁺ Th1 a Th17 linie indukované cytokiny a chemokiny, které jsou produkovány prozánětlivými makrofágy (M1) a mikroglíemi, jsou jednoznačně asociovány s patogenezí RS, vliv Th2 buněk není dosud zcela objasněn. Ve spolupráci s alternativně indukovanými makrofágy a mikroglíemi (M2), indukovanými IL-4, IL-13, ale i IL-3, IL-21 a IL-33 (Gordon, 2003; Hazlett *et al.*, 2010) produkují Th2 buňky cytokiny IL-10, IL-13 a TGF- β , neurotrofické a další faktory. Jejich produkcí se Th2 buňky zřejmě podílejí na reparačních a imunoregulačních procesech v CNS (Chu *et al.*, 2018; Sasaki, 2017). Makrofágy M2 také blokují indukovatelnou syntázu oxidu dusnatého (iNOS), čímž dále zmírňují zánět, podporují angiogenezi a remodelaci tkání (Banerjee *et al.*, 2013; Chu *et al.*, 2018). IL-4, IL-10 a TGF- β pak spolupůsobí jako negativní regulátor Th1 a Th17 linií. Zvýšený poměr Th2/Th1 cytokinů a zvýšení koncentrací IL-4 a IL-10 jsou pak spojeny s úspěšnou léčbou a zlepšením stavu pacientů (Oreja-Guevara et

al., 2012). U pacientů s RS dochází k porušení křehké rovnováhy vzájemných regulací ve prospěch elementů zodpovědných za rozvoj zánětlivé reakce. Vedle již zmíněné role Th1 a Th2 hrají klíčovou úlohu v regulaci této rovnováhy, a tím v rozvoji RS nebo její remisi, $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ T regulační buňky (Treg) (Sakaguchi *et al.*, 1995; Sakaguchi *et al.*, 2011). Treg mají řadu funkcí v regulacích prozánětlivých procesů u řady autoimunitních onemocnění včetně RS (Kleinewietfeld & Hafler, 2014). Pro tento účel disponují Treg širokým spektrem inhibičních mechanismů pro řadu buněk IS: (a) Přítomnost CD25, vysoce afinitní α podjednotky receptoru pro IL-2 (IL-2R α), je odpovědná za vychytávání IL-2 z prostředí, a tím snížení jeho dostupnosti, což omezuje vývoj ostatních linií Th lymfocytů a zároveň vede k dalšímu růstu populace Treg (Palomares *et al.*, 2014). (b) Treg produkují IL-10, TGF- β a IL-13, přičemž TGF- β (spolu s IL-2 a signály z TCR) je zodpovědný za další diferenciaci Treg z naivních Th buněk (Chen *et al.*, 2003) a navíc tyto cytokiny působí inhibičně na diferenciaci jiných efektorových $CD4^+$ Th buněk (Akdis *et al.*, 2011; Palomares *et al.*, 2014). (c) IL-10 produkovaný Treg a interakce povrchového Treg CTLA4 (cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4) a CD80/86 na povrchu makrofágů vede k omezení kostimulace dostupné pro naivní T lymfocyty a také k omezení exprese prozánětlivých cytokinů IL-1, IL-6, IFN- γ a TNF- α makrofágy. Důsledkem je snížená aktivace dalších M1 makrofágů a snížená polarizace $CD4^+$ T buněčné odpovědi směrem k Th1, Th2 a Th17. (d) Treg buňky mohou také prostřednictvím cytokinové deprivace indukovat u efektorových $CD4^+$ Th buněk apoptózu (Pandiyan *et al.*, 2007). Podrobnou genezi vývoje znalostí o Treg buňkách uvádí ve své práci Černý (2019). Vznik a vývoj RS může být tedy ovlivněn sníženou aktivitou regulačních Treg (Ji *et al.*, 2010) nebo sníženou citlivostí efektorových B a T buněk k regulačním mechanismům (Dendrou *et al.*, 2015; Goswami *et al.*, 2022; Kaufmann *et al.*, 2022; Mitsdoerffer & Peters, 2016). Snížení regulační funkce Treg může být dáno také jejich menším počtem (Othy *et al.*, 2020; Venken *et al.*, 2008), nebo nižší produkcí IL-10 produkovaného regulačními T lymfocyty typu 1 (Tr1), které bylo pozorováno ve skupině pacientů s RS (Martinez-Forero *et al.*, 2008). Dalším vysvětlením působení Treg je potlačení aktivity Th17 inhibicí intracelulární Ca^{2+} signalizace a kontaktu Th17 buněk s APC (Othy *et al.*, 2020). Svou roli ve zlepšení stavu pacientů s RS může hrát i pozitivní vliv Treg na remyelinizaci a regeneraci oligodendrocytů (Dombrowski *et al.*, 2017).

1.1.4. Virové infekce, genetické predispozice, epigenetické faktory a vliv střevního mikrobiomu

Velký význam při vzniku RS se přikládá virovým infekcím, zejména infekcím lidskými herpetickými viry a retroviry, zvláště pak virem Epsteinova a Barrové (EBV) a lidským

herpesvirem 6 (HHV-6) (Ferreira, 2010; Marrodan et al., 2019; Salehi et al., 2021; Tao et al., 2022). Klíčovou roli má velmi pravděpodobně primoinfekce EBV v dospělosti. Tuto teorii potvrzuje i nízký výskyt RS u lidí s negativním sérologickým nálezem EBV (Belbasis et al., 2015; Belbasis et al., 2020; Bjornevik et al., 2022). Uvádí se, že tímto virem je promožena většina populace (>90%). Zdá se, že primoinfekce obvykle proběhne v dětství s minimálními příznaky, přičemž dospělá populace je již většinově séropozitivní. Infekce séronegativních dospělých je pak spojena se zvýšeným rizikem RS (Bjornevik et al., 2022; Winter et al., 2020). Vliv má i řada dalších faktorů jako znečištění životního prostředí, kouření, obezita a příjem a metabolismus vitamínu D (Mousavi *et al.*, 2017).

Mezi důležité faktory podílející se na modifikaci rovnováhy vzájemných vztahů mezi vnějšími a vnitřními rizikovými faktory a následným zvýšeným rizikem RS patří řada genetických predispozic. K nejdůležitějším patří asociace RS s HLA haplotypem HLA-DRB1*15:01, HLA-DRB5*0101 a HLA-A*03:01 (Batoulis *et al.*, 2011; Friese *et al.*, 2008; Gregersen *et al.*, 2006). Naproti tomu se zdá, že haplotyp HLA-A*02:01 má spíše protektivní charakter (Batoulis *et al.*, 2011). Mimo lokusy MHC I a II existuje také řada genů, které negativně ovlivňují vznik a průběh RS. Mezi nejdůležitější patří geny pro IL-2 (Dendrou *et al.*, 2009; Hartmann *et al.*, 2014), pro receptory IL-17 (Gregory *et al.*, 2007; Lundmark *et al.*, 2007) a pro TNF- α (Patsopoulos *et al.*, 2013).

Vývoj RS je ovlivněn i epigenetickými faktory (Brooks *et al.*, 2010; Kucukali *et al.*, 2015). Hypermetylace FoxP3 promotoru a genu BACH2 vede ke snížení exprese FoxP3. Tato hypermetylace byla vyšší u skupiny myši s EAE ve srovnání s kontrolní skupinou (Noori-Zadeh *et al.*, 2017). Svou roli sehrává i střevní mikrobiom ovlivňující patogenezi autoimunitních onemocnění včetně RS (Chen *et al.*, 2016). U pacientů s RS byla např. identifikována ve střevním mikrobiomu vyšší četnost rodů *Pseudomonas*, *Mycoplasma*, *Haemophilus*, *Blautia* a *Dorea*, zatímco u zdravých kontrol byla zaznamenána zvýšená četnost rodů *Parabacteroides*, *Prevotella* a dalších (Kinashi & Hase, 2021). Pravděpodobným vysvětlením je, že omezený výskyt přirozených komensálů a zvýšený výskyt patobiontů ve střevním mikrobiomu, jedna z forem tzv. dysbiózy, může vést k prozánětlivé reakci, poškození epitelii a chronickému zánětu a vyústit v syndrom zvýšené propustnosti střev (Leaky gut syndrome). Mikrobiální a další antigeny se strukturální podobností vlastním autoantigenům, které se takto ve zvýšené míře translokují ze střeva, a stávají se tak dostupnými systémové imunitě, pak mohou být v zánětlivém prostředí spouštěčem autoimunitních onemocnění včetně RS (Kinashi & Hase, 2021; Levy *et al.*, 2017; Weiss & Hennet, 2017).

1.1.5. Helmiti jako imunomodulační terapie RS

V posledních letech byl zaznamenán výrazný úspěch v léčbě zejména relaps-remitentní RS. Jednotlivá terapeutika se liší mechanismem účinku, účinností a spektrem nežádoucím účinků. Pro progresivní formy onemocnění jsou ale terapeutické možnosti výrazně omezenější (Dargahi *et al.*, 2017; Hauser & Cree, 2020; Montalban *et al.*, 2017). Všechny terapie RS jsou založené na imunomodulaci a supresi autoimunity. I přes zlepšení dostupnosti a účinnosti léčby zůstávají ale stále skupiny pacientů s progresivními formami RS, u kterých není léčba účinná. Hledání dalších možností účinné a bezpečné léčby vedlo ke studiu využití helmintů v léčbě RS, vzhledem k jejich schopnostem modulovat imunitní systém hostitele.

Dominantní role Th1 a Th17 u autoimunitních onemocnění včetně RS (která je vázána na ekonomicky rozvinuté země s vyšší hygienickou úrovní a vzdálenější od rovníku) (Walton *et al.*, 2020) spolu s vyšší promořeností lidské populace helminty v rozvojových zemích (s nižší úrovní hygieny a příznivějšími klimatickými podmínkami pro vývoj helmintů) (Ma *et al.*, 2018; Pullan *et al.*, 2014), vedly k úvahám a řadě experimentů, které měly za cíl prokázat možné pozitivní ovlivnění autoimunitních onemocnění řízenou infekcí různými druhy helmintů, či použitím částí jejich těl nebo jejich produktů (Elliott *et al.*, 2007; Elliott & Weinstock, 2009; Elliott & Weinstock, 2012; Weinstock & Elliott, 2009). Tyto úvahy byly ve shodě s hygienickou hypotézou (Strachan, 1989) a hypotézou starých přátel (Old Friends Hypothesis) (Bach, 2002; Bach, 2018; Bach, 2021; Rook *et al.*, 2004; Rook *et al.*, 2003). Řada studií s lidskými dobrovolníky infikovanými helminty (HIT, helminth immunotherapy) prokázala zlepšení průběhu RS (Correale & Farez, 2007; Correale *et al.*, 2021; Fleming *et al.*, 2019; Fleming, 2011; Fleming, 2013; Fleming & Weinstock, 2015; Hernandez *et al.*, 2018; Jenkins *et al.*, 2021; Maruszewska-Cheruiyot *et al.*, 2019; Yordanova *et al.*, 2021). Tyto studie ukazují na pozitivní vliv Treg (nárůst populace, zvýšení exprese IL-10, TGF- β a IL-35), B regulačních buněk (Breg) produkujících IL-10 a IL-35 (Correale *et al.*, 2021), polarizace T buněčné odpovědi směrem k Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) a potlačení populací Th1 a Th17, a s tím spojené snížení exprese IL-12, IFN- γ , IL-6, IL-23 a IL-17 (Maizels *et al.*, 2018). Potvrzením pozitivního vlivu na průběh RS je i zhoršení příznaků onemocnění po terapii antihelmintiky (Correale & Farez, 2011). Testy na lidských dobrovolnících nebo přirozeně infikovaných jedincích narážejí ale jak na mnohá etická a legislativní omezení, tak i na omezené možnosti zobecnění z důvodů velikosti vzorků a dostupnosti vhodných kontrol (McSorley & Maizels, 2012).

1.2. Experimentální autoimunitní encefalomyelitida (EAE)

1.2.1. Model EAE

U pacientů s RS lze pouze v omezené míře zkoumat mechanismy vzniku, probíhající procesy a jejich možné ovlivnění *in vivo*. Výjimkou je monitorování a vyhodnocení laboratorních nálezů po aplikaci terapeutických postupů, jejich srovnání s neléčenými pacienty a se zdravou populací a *post mortem* vyšetření CNS. Možnosti výzkumu RS jsou proto výrazně rozšířeny použitím zvířecího modelu, konkrétně experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (EAE). Lze se setkat i s termínem autoimunitní experimentální encefalopatie (Kwilasz et al., 2021; Loram et al., 2015) nebo experimentální alergická encefalomyelitida (Stromnes & Goverman, 2006a). Všechny tyto termíny jsou používány pro označení autoimunitního patologického stavu CNS různých laboratorních zvířat charakterizovaného zánětlivým procesem s přítomností CD4⁺ Th1 a Th17 lymfocytů a mononukleárních buněk a následnou demyelinizací axonů a vzniku lézí. Následné neurologické a patologické změny jsou velmi podobné změnám pozorovaným u pacientů s RS.

1.2.2. Indukce EAE

Pro vyvolání EAE je nejčastěji používán model aktivně indukované EAE (Bittner *et al.*, 2014; Krishnamoorthy & Wekerle, 2009; Stromnes & Goverman, 2006a). K indukci EAE dochází po subkutánní aplikaci antigenů odvozených z myelinových proteinů v kompletním Freundově adjuvans. Současně je intraperitoneálně aplikován toxin bakterie *Bordetella pertussis* (PT), který potlačuje funkci a snižuje počet Treg (Chen *et al.*, 2006) a má řadu dalších účinků, které zvyšují úspěšnost indukce EAE (Hofstetter *et al.*, 2002). V závislosti na způsobu vyvolání EAE, zejména na použitém antigenu, jeho dávce a kmeni laboratorních zvířat (nejčastěji myši) pak lze pozorovat odlišný průběh onemocnění, připomínající svým průběhem různé varianty RS. U kmene myši SJL (H-2s) vykazuje EAE průběh podobný relaps-remitentní RS při indukci PLP, MBP nebo peptidy odvozenými z MBP (MBP₈₄₋₁₀₄), PLP (PLP₁₃₉₋₁₄₁, PLP₁₇₈₋₁₉₁) a z MOG (MOG₉₂₋₁₀₆). Průběh EAE u kmene C57BL/6 (H-2b) při indukci peptidem odvozeným ze sekvence MOG (MOG₃₅₋₅₅) spíše připomíná primárně či sekundárně progresivní variantu RS (Miller *et al.*, 2007; Sonobe *et al.*, 2007; Stromnes & Goverman, 2006a). Kmen B10 PL/J (H-2u) při imunizaci peptidem z MBP (MBP₃₇₋₅₄) a z PLP (PLP₁₇₈₋₁₉₁) vykazoval akutní průběh s následnou remisí bez dalších atak (Batoulis *et al.*, 2011; Miller *et al.*, 2007).

EAE lze také iniciovat pasivní indukcí adoptivním přenosem izolovaných T lymfocytů (pasivně indukovaná EAE) ze slezin a uzlin zvířat s již aktivní EAE vyvolanou aplikací peptidů

odvozených z myelinových proteinů a PT (Krishnamoorthy & Wekerle, 2009; Stromnes & Goverman, 2006b). Tento přístup se využívá zejména při testování nových terapeutických postupů. Další možností pro detailní studium autoimunitních mechanismů jsou modely spontánní EAE, využívající transgenní myši s modifikovanými TCR a BCR receptory. Zvláštní místo pak zauímají transgenní myši s klonem T buněk nesoucích lidské TCR receptory, které umožňují detailní studium jejich funkce (Krishnamoorthy *et al.*, 2007; Krishnamoorthy & Wekerle, 2009).

Alternativní méně užívanou možností studia demyelinizačního procesu a EAE jsou infekce viry. Infekce picornavirem Theilerovy myši encefalomyelitidy (TMEV, Theiler's murine encephalomyelitis virus) vede zřejmě mechanismem rozšiřování epitopů k demyelinizaci spojené také se zvýšenou koncentrací adhezivních molekul ICAM-1 a LFA-1 (Dalcanto *et al.*, 1995; Miller *et al.*, 1997; Njenga *et al.*, 2004; Olson *et al.*, 2003; Vanderlugt & Miller, 2002). Mechanismus molekulárního mimikry (Croxford *et al.*, 2005; Harkiolaki *et al.*, 2009) stojí za demyelinizací po infekci Semliki forest virem (SFV, Semliki forest virus) (Mokhtarian *et al.*, 1996; Mokhtarian *et al.*, 1994; Mokhtarian *et al.*, 1999). V omezené míře je také využíván virus myši hepatitidy (MHV, mouse hepatitis virus), kmen MHV-A59 a jeho rekombinantní kmen MHV-RSA59. Důsledkem infekce tímto virem je akutní dvoufázové zánětlivé onemocnění CNS (podobné RS) spojené s demyelinizací (Biswas *et al.*, 2016; Lavi *et al.*, 1984).

Demyelinizační procesy podobné EAE je možné vyvolat i aplikací řady chemikálií. Mezi ně patří cuprizon, lysolecithin a ethidium bromid (Ruther *et al.*, 2017; Torre-Fuentes *et al.*, 2020; Wolf *et al.*, 2018). Tyto modely jsou užívány zejména pro detailní studium demyelinizačních a remyelinizačních mechanismů a možností jejich ovlivnění (Bieber *et al.*, 2003; Blakemore & Franklin, 2008; Procaccini *et al.*, 2015).

V současnosti je pro studium EAE u různých laboratorních zvířat používán jako standardní zejména model aktivně indukované EAE s průběhem připomínajícím chronický průběh primárně či sekundárně progresivní varianty RS (Miller *et al.*, 2007; Procaccini *et al.*, 2015). Modelovými zvířaty jsou myši kmene C57BL/6J nebo potkani kmene Dark Agouti. EAE je indukována subkutánní injekcí suspenze peptidu MOG₃₅₋₅₅ s Freundovým adjuvans a intraperitoneální aplikací PT. Je dosud nevysvětleno, proč u myši C57BL/6J vyvolává nižší dávka MOG₃₅₋₅₅ peptidu spíše relaps-remitentní variantu EAE, zatímco vyšší dávka spíše chronickou variantu (Batoulis *et al.*, 2011; Berard *et al.*, 2010). U experimentálních zvířat dochází k postupnému ochrnutí začínajícímu na ocase a zadních končetinách, následně pak k celkové paralýze, inkontinenci a smrti (Miller *et al.*, 2007). Průběh onemocnění lze monitorovat pomocí hodnocení symptomů na definované stupnici, měřením hmotnosti zvířat,

zjišťováním histologických změn v CNS, měřením koncentrací cytokinů a velikosti populací buněk IS (Bittner *et al.*, 2014; Pino & Cardona, 2011; Procaccini *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2008). Studium aktivní EAE vyvolané MOG₃₅₋₅₅ vedlo k detailnímu pochopení úlohy B buněk, monocytů a subpopulací CD4⁺ a CD8⁺ T lymfocytů (Bullard *et al.*, 2007; Hjelmstrom *et al.*, 1998) u tohoto experimentálního modelového onemocnění.

1.2.3. Imunologie EAE

Na vzniku a rozvoji EAE u myši C57BL/6J se podílejí Th1 buňky produkující IFN- γ a TNF- α , jak bylo prokázáno adoptivním transferem Th1 buněk s deficitním transkripčním faktorem T-bet, který je klíčový pro Th1 diferenciaci. Myši s T-bet deficitem byly rezistentní k vyvolání EAE (Abreu, 1982; Baron *et al.*, 1993; Bettelli *et al.*, 2004; Segal & Shevach, 1996; Sospedra & Martin, 2005). Dalším důležitým hráčem jsou pak Th17 buňky produkující IL-17 a TNF- α . K diferenciaci dochází v přítomnosti IL-12 a IL-23, které jsou produkovány makrofágy a dendritickými buňkami (Oppmann *et al.*, 2000). Oba tyto cytokiny sdílejí subjednotku receptoru IL-12 β 1 pro IL-12 (Becher *et al.*, 2002; Oppmann *et al.*, 2000). Na diferenciaci v Th17 buňky se významně podílí také IL-6 a TGF- β . Jak Th1, tak Th17 jsou klíčové pro vznik a rozvoj EAE, přičemž se zdá, že za závažnější průběh EAE je odpovědná populace Th17 (Jager *et al.*, 2009). Studie s IFN- γ a IL-17 deficientními laboratorními modely ukázaly, že IFN- γ není nezbytný pro indukci EAE (Wensky *et al.*, 2005), ale u pacientů s RS jeho podání způsobovalo zhoršení stavu. U myši s deficiencí receptoru pro IL-17A byl popsán nižší výskyt EAE s mírnějším průběhem (Hu *et al.*, 2010; Komiyama *et al.*, 2006), což svědčí pro jeho klíčovou roli v patogenezi. Tato zjištění byla potvrzena i u pacientů s RS, kde podávání IL-17 neutralizujících monoklonálních protilátek bylo spojeno se snížením počtu relapsů (Elain *et al.*, 2014). Stejně jako u pacientů s RS, i u myši s EAE jsou pro regulaci zánětlivých procesů důležité Treg buňky (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺) indukované TGF- β . Tato zjištění byla potvrzena snížením závažnosti symptomů EAE adoptivním transferem Treg (Kohm *et al.*, 2002) a nižším protektivním účinkem Treg po podání monoklonální protilátky CD25 jako receptoru pro IL-2 (Reddy *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2004). Mechanismy regulace linií Treg jsou analogické jako u RS a jsou detailně popsány v kapitole 1.1.4. Kromě klasického vnímání diferenciace CD4⁺ Th buněk do Th subpopulací je třeba vzít v rámci regulace imunitní odpovědi v úvahu i určitou fenotypovou plasticitu CD4⁺ Th linií. Th17 mohou být za určitých podmínek konvertovány v Th1, event. mohou získat i určité vlastnosti Th2. Diferencovaný fenotyp CD4⁺ Th buněk tedy nemusí být jejich konečnou podobou. Tento fenomén se netýká pouze Th17 populace, ale

zřejmě i Treg a Th1 (Batoulis *et al.*, 2011; Murphy & Stockinger, 2010; Qiu *et al.*, 2020; Sakaguchi *et al.*, 2013).

1.2.4. Mechanismy imunoregulačního působení helmintů

Infekce helminty obvykle vede k řadě procesů, které mohou ovlivnit různými způsoby imunitní systém hostitele (Loukas *et al.*, 2021; Maizels, 2020; Maizels & McSorley, 2016; Ruiz-Manzano *et al.*, 2019). Antigeny helmintů a ES imunomodulační komponenty mohou prostřednictvím DC indukovat diferenciaci směrem k Th2 a Treg liniím, což má za následek inhibici Th1 a Th17 polarizace. Indukované Treg produkují cytokiny IL-10 a TGF- β , kdy TGF- β zprostředkovává konverzi na M2 makrofágy a IL-10 indukuje u B buněk produkci IgG4. TGF- β (s přítomným IL-2) vede k další expanzi populace Treg. Výsledkem je navození tolerance. Jiným mechanismem regulace je působení molekul produkovaných helminty se strukturální a funkční podobností cytokinům. Příkladem je molekula imitující TGF- β (Hp-TGM) přítomná v ES produktech *Heligmosomoides polygyrus*, která aktivuje TGF- β signalizaci vazbou na TGF- β receptor s následnou expanzí Treg a navození tolerance (Johnston *et al.*, 2017) prostřednictvím potlačení Th2, produkce IL-13 a následně inhibice indukce M2 a produkce mucinu. Další ES komponenta *Heligmosomoides polygyrus*, označená jako alarmin release inhibitor (Hp-ARI) inhibuje produkci IL-33, a tím aktivaci přirozených lymfoidních buněk typu 2 (ILC2) a aktivaci M2. (Ryan *et al.*, 2020). Další možností je produkce inhibitorů cysteinových proteáz s protizánětlivým účinkem (Coronado *et al.*, 2019; Schierack *et al.*, 2003), kde je principem inhibice zpracování a prezentace antigenu, a také produkce proteinů podobajících se cytokinům a jejich receptorům a ovlivňujících jejich funkci (Bancroft *et al.*, 2019; Loukas *et al.*, 2021).

1.2.5. Vliv helmintů na průběh EAE

Imunomodulační potenciál helmintů a pozitivní vliv na autoimunitní a alergická onemocnění byl prokázán mnoha studii na laboratorních zvířatech (McSorley & Maizels, 2012). Výjimkou nebyla ani EAE, kde byl studován potenciál helmintů jako možná alternativa léčby RS. HIT by tak mohla představovat experimentální doplňující terapii ke stávající imunosupresivní léčbě, zvláště u pacientů s progresivními formami RS, které špatně odpovídají na současnou terapii (Dargahi *et al.*, 2017; Hauser *et al.*, 2021). V léčbě EAE byla dosud testována široká škála helmintů a jejich produktů. (Borhani Zarandi *et al.*, 2017; Constantinescu *et al.*, 2011; Charabati *et al.*, 2020; Navi *et al.*, 2020; Rad *et al.*, 2022). Naprostá většina studií ukázala na pozitivní účinek HIT, zejména v případech, kdy infekce nebo aplikace produktů

helmintů předcházela indukci EAE, tedy jako profylaxe onemocnění. Mezi velkou skupinu helmintů, která měla pozitivní vliv na EAE, patří např. *Heligmosomoides polygyrus* (Donskow-Lysoniewska *et al.*, 2018; Donskow-Lysoniewska *et al.*, 2012; Donskow-Lysoniewska *et al.*, 2019; Wilson *et al.*, 2010), *Trichinella spiralis* (Gruden-Movsesijan *et al.*, 2010; Kuijk *et al.*, 2012; Radovic *et al.*, 2015; Sofronic-Milosavljevic *et al.*, 2013), *Trichinella pseudospiralis* (Wu *et al.*, 2010), *Trichuris suis* (Kuijk *et al.*, 2012), *Schistosoma mansoni* (La Flamme *et al.*, 2003; Sewell *et al.*, 2003; Zhu *et al.*, 2012), *Schistosoma japonicum* (Zheng *et al.*, 2008), *Taenia crassiceps* (Peon *et al.*, 2017; Reyes *et al.*, 2011; Reyes *et al.*, 2009; Terrazas *et al.*, 2017), *Fasciola hepatica* (Finlay *et al.*, 2016; Finlay *et al.*, 2015; Lund *et al.*, 2016; Walsh *et al.*, 2009), *Nippostrongylus brasiliensis* (Tran *et al.*, 2017), *Dicrocoelium dendriticum* (Navi *et al.*, 2020; Rad *et al.*, 2022) a *Toxocara canis* (Borhani Zarandi *et al.*, 2017). Existují také studie, ve kterých nebyl pozorován žádný účinek na EAE, např. infekce larvami *Strongyloides venezuelensis* (Chiuso-Minicucci *et al.*, 2011) a podání ES proteinu 62 parazita hlodavců *Acanthocheilonema viteae* (Doonan *et al.*, 2018). Pouze v jedné studii byl popsán negativní vliv na EAE, kdy podání rekombinantního galektinu 9 (rT1-gal) *Toxascaris leonina* inhibovalo remisi onemocnění (Bing *et al.*, 2015).

Společnými rysy studií s pozitivním účinkem bylo zejména snížení periferní i CNS lokalizované exprese IFN- γ a IL-12, ale i IL-17, IL-6 a TNF- α . Naopak byly zjištěny zvýšené koncentrace a exprese IL-10 a TGF- β , ale i IL-4 a IL-5. Tomu odpovídaly i změny četnosti populací Th buněk, kdy v periférii i v CNS bylo zaznamenáno méně CD4⁺ T buněk obecně a méně CD4⁺ Th1 a Th17. Naopak došlo často ke zvětšení populací Treg a Th2 (Charabati *et al.*, 2020).

1.2.6. Limity laboratorního modelu EAE

I přes veškeré pokroky, kterých bylo dosaženo na modelu EAE, často vedoucí k novým terapeutickým postupům, je však třeba s opatrností interpretovat zjištěná fakta, zejména s ohledem na jejich aplikaci v managementu RS. Důvodem jsou zejména mezidruhové rozdíly imunitního systému a použití inbredních kmenů laboratorních zvířat, ve srovnání s outbrední lidskou populací, razantní až agresivní způsob indukce EAE a odlišný průběh EAE u kmene myši C57BL/6 ve srovnání s relaps-remitentní RS jako nejčastěji se vyskytujícím typem RS. Další rozdíly spočívají v lokalizaci zánětlivého procesu (u myši zejména míchy, na rozdíl od RS, kde je dominantně zasažen mozek) a dominantní rolí CD4⁺ buněk u EAE. Nejasná je u EAE také role B buněk, které naopak u RS hrají důležitou roli (Dendrou *et al.*, 2015; Procaccini *et al.*, 2015; Ransohoff, 2012).

1.3. *Toxocara canis*

1.3.1. Charakteristika, prevalence u psových šelem

Toxocara canis (Werner, 1782), (škrkavka psí), kmen *Nematoda*, řád *Ascarida* je světově rozšířený parazit psových šelem. (Příbuzným parazitem je u kočkovitých šelem *Toxocara cati*, která má analogický cyklus. Tato práce je zaměřena pouze na *T. canis*.) Vajíčka se dostávají do prostředí s fekáliemi v nezralé formě, po cca 2-5 týdnech v nich za příznivých podmínek dochází k vývoji larvy stadia L3. Z těchto zralých vajíček se po pozření definitivním hostitelem v gastrointestinálním traktu uvolní larva L3, která po penetraci střevní stěny migruje do plicní tkáně (a dalších tkání), posléze do jícnu, po vykašlání je spolknuta a dokončuje svůj vývoj do dospělosti v tenkém střevě. U starších jedinců je část larev nalézána v různých tkáních v klidovém stadiu. Tyto larvy mohou být aktivovány a uvolněny v průběhu březosti a plod jimi může být infikován transplacentárně. Štěňata mohou být po narození infikována i prostřednictvím mateřského mléka. Globální prevalence psů je 11,1% (Rostami et al., 2020), v Evropě pak 10,8%. Pokud vycházíme z celkového odhadovaného počtu cca 900 miliónů psů, pak to znamená cca 100 miliónů infikovaných psů. Procento infikovaných psů závisí na věku zvířete, sociodemografických, zeměpisných a klimatických podmínkách. Psovitě šelmy, včetně volně žijících, tak představují velký rezervoár tohoto parazita (Rostami et al., 2020; Waindok et al., 2021).

1.3.2. Parateničtí hostitelé a globální séroprevalence v lidské populaci

Kromě psových šelem může být infikována i řada dalších paratenických hostitelů (Strube et al., 2013; Wu & Bowman, 2020), včetně člověka (Holland, 2017; Ma et al., 2018; Ma et al., 2020). Kromě savců (Dubinský et al., 1995; Krucken et al., 2017) mohou být infikováni i ptáci a bezobratlí (Cardillo et al., 2016; Sasmal et al., 2008). V těchto hostitelích *T. canis* nedokončí svůj vývoj, ale larvy po migraci zůstávají v klidovém stadiu v různých tkáních po dlouhou dobu (Glickman & Summers, 1983). Po pozření psovitými šelmami (nebo jinými paratenickými hostiteli) mohou být tyto hostitelé dalším zdrojem infekce.

Většina infekcí člověka je způsobena neúmyslným pozřením zralých vajíček spolu s kontaminovanou potravou, vodou nebo půdou v důsledku špatné hygieny, u dětí pak i geofágií (Manini et al., 2012). Minoritní cestou může být i konzumace syrového infikovaného masa jiných paratenických hostitelů obsahujícího larvy L3 (Yoshikawa et al., 2008). Podle výsledků epidemiologických studií a analýz se předpokládá, že je globálně infikováno 1,4 miliardy lidí a

průměrná séroprevalence je 19% (Ma *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2020; Rostami *et al.*, 2019; Strube *et al.*, 2020a). Tento odhad řadí *T. canis* mezi původce jedné z nejčastějších parazitárních infekcí člověka, a to i v rozvinutých zemích. Největší výskyt (>80%) byl zaznamenán v tropických a subtropických oblastech. V Evropě je podle těchto analýz séroprevalence cca 11%. Velké rozdíly mezi jednotlivými zeměmi jsou vysvětlitelné zeměpisnými faktory a souvisejícími klimatickými podmínkami, jako je teplota a vlhkost, které ovlivňují zrání vajíček (Azam *et al.*, 2012; Keegan & Holland, 2013; Ma *et al.*, 2020). Roli hrají i sociodemografické faktory (Antolová *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2018) jako výše příjmů (Rostami *et al.*, 2019), veterinární péče (odčervování), úroveň hygieny a zaměstnání spojená s kontaktem se zvířaty (Bojanich *et al.*, 2015; Cong *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2017). Větší riziko infekce je u mužské populace (Rostami *et al.*, 2019).

1.3.3. Séroprevalence v populaci v ČR

V České republice byla v roce 1998 zjištěna na náhodně vybraném vzorku zdravé populace séroprevalence 18,4%, přičemž rozdíly v jednotlivých regionech byly od 5,8% do 36% (Uhlíková & Hübner, 1998). Další studie v roce 2006 uvádí 19% (rozmezí 18-20 %) (Kolářová, 2006). Zajímavé výsledky přineslo i testování 62 pacientů s RS, kde byla zjištěna 1,6% pozitivita (Posová *et al.*, 2017), viz tabulka č. 1. Ve studiích provedených v dalších evropských zemích jsou průměrné hodnoty zdravé populace v rozmezí 4-30% (Rostami *et al.*, 2019).

Vzorek populace	Datum publikace	Séroprevalence (%)	Publikace
Obecná populace ČR	1998	18,4 %	(Uhlíková & Hübner, 1998)
Vzorky zaslané do NRL pro tkáňové helmintózy	2006	19%	(Kolářová, 2006)
Pacienti s RS	2017	1,6%	(Posová <i>et al.</i> , 2017)

Tabulka č. 1. Publikované studie týkající se séroprevalence *T. canis* v ČR.

1.3.4. Sérologická diagnostika *T. canis*

Standardem pro diagnostiku infekce *T. canis* jsou sérologické testy prokazující přítomnost specifických protilátek, zejména ELISA a Western Blot (WB) (Desavigny, 1975; Desavigny *et al.*, 1979; Fillaux & Magnaval, 2013). Většina těchto testů je založena na využití exkrečně-sekrecčních (TES) antigenů, které produkují larvy L3 v průběhu *in vitro* kultivace do

kultivačního média (Desavigny, 1975). Na těchto antigenech jsou pak detekovány navázané specifické imunoglobuliny, nejčastěji IgG, případně IgM, nebo specifické IgG podtřídy (IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4). Výsledky ELISA testů je doporučeno doplnit WB testem (Ma et al., 2018; Ma et al., 2020; Noordin et al., 2005). Potvrzení WB testem je doporučeno zejména v oblastech s možným výskytem dalších parazitů, zejména helmintů (Fillaux & Magnaval, 2013). ELISA testy založené na detekci TES antigen-specifických IgG mají určité limity v senzitivitě (97%) a specifitě (36%) (Ma et al., 2018; Noordin et al., 2005; Noordin et al., 2020), což může vést k falešně pozitivním výsledkům. Tato skutečnost je ovlivněna křížovými reakcemi protilátek po infekci jinými zástupci rodu *Toxocara*, ale i dalšími helminty jako např. *Ascaris lumbricoides* (Fillaux & Magnaval, 2013; Ishida et al., 2003). Další zvýšení senzitivity a specifity bylo a je zaměřeno na možné využití rekombinantních TES antigenů, jejichž reaktivita by mohla při zachování vysoké senzitivity vést i ke zvýšení specifity při infekci *T. canis*. Identifikované rTES-26, rTES-30 a rTES-120 měly vyšší specifitu (Wickramasinghe et al., 2008; Yunus et al., 2018) a jejich kombinace v testech měla i dostatečnou senzitivitu. Vyšší specifita je spojena také s TES antigeny s molekulovou hmotností 24, 28, 32, 35, 132, 147 a 200 kDa (Fillaux & Magnaval, 2013; Magnaval et al., 1991; Maizels et al., 1984). Přes velké pokroky v oblasti využití rekombinantních antigenů v sérologických testech je většina komerčních ELISA souprav založena na využití TES antigenů získaných kultivací larev L3.

Při hodnocení sérologických studií je třeba mít na paměti možné limity jejich interpretace a rozdíly mezi jednotlivými studii. Při porovnání vzorku je třeba zohlednit věkové kategorie, pohlaví, lokalitu (jak zeměpisnou, tak rozdíly město/venkov), sociodemografický a ekonomický status vzorku populace včetně data, kdy byla studie provedena, profesi, zda je vyšetřovaný majitelem zvířete a další. Podobné úskalí je i v hodnocení použitých testů z pohledu senzitivity a specifity, nastavení hodnoty cut-off v testu, použitého ředění vzorku, blokujících agens, typu a koncentrace použitého antigenu a sekundárních (s detekčním značkou konjugovaných) protilátek. I přes možné odlišnosti způsobené uvedenými faktory je zřejmé, že kontakt s parazitem a promořenost lidské populace *T. canis* jsou velmi vysoké (Ma et al., 2020).

1.3.5. Důsledky infekce lidské populace, toxokaróza

Vzhledem k vysoké promořenosti lidské populace je *T. canis* jedním z nejrozšířenějších zoonotických patogenů člověka, který může mít závažné zdravotní i socioekonomické důsledky, zejména v subtropických a tropických oblastech a v ekonomicky znevýhodněných komunitách (Antolova et al., 2015; Holland, 2017; Ma et al., 2018). Larvy penetrují střevní mukózu a migrují do jater, plic, kosterního svalstva a dalších orgánů včetně CNS. Výsledkem

je lokální zánětlivá reakce spojená s eosinofilií, zvýšenou produkcí cytokinů a specifických protilátek. Přestože většina infekcí člověka proběhne asymptomaticky, u některých jedinců, v závislosti na infekční dávce a následné reakci a stavu imunitního systému, se může objevit řada symptomů označovaných jako larvální toxokaróza. Podle převažujících klinických projevů lze rozlišit 4 formy tohoto onemocnění: (1) Viscerální toxokaróza (*visceral larva migrans*), (2) oční toxokaróza (*ocular larva migrans*), (3) neurotoxokaróza (NT, též cerebrální toxokaróza, *neural larva migrans*) a (4) skrytá (covert, common toxocarosis) toxokaróza (Fan *et al.*, 2015; Finsterer & Auer, 2007; Ma *et al.*, 2018; Nicoletti, 2020; Pivetti-Pezzi, 2009; Taylor *et al.*, 1988). Mezi málo časté, avšak velmi závažné diagnózy spojené s infekcí *T. canis* patří u viscerální toxokarózy granulomatózní hepatitida, myokarditida, astma, u oční toxokarózy pak např. chronická endoftamitida, retinitida, vitritida a makulární edém (obě vedoucí často ke slepotě) S NT jsou spojené meningitida, encefalitida a patrně i řada neurodegenerativních diagnóz (např. schizofrenie, různé formy demence, narušení mentálních funkcí). Skrytá toxokaróza se projevuje celou řadou nescifických symptomů pod obrazem různých diagnóz. Většina uvedených diagnóz je spojena se zvýšeným titrem specifických protilátek, jak shrnuje Ma *et al.* (2018). Vzhledem k širokému spektru možných diagnóz asociovaných s velmi rozšířenou infekcí *T. canis* je zapotřebí dalších studií, které by vyjasnily mechanismy působení, roli této infekce v rozvoji onemocnění i rizika s ní spojená.

1.3.6. Imunitní odpověď na infekci *T. canis* v CNS - neurotoxokaróza

Neurotoxokaróza (*neural larva migrans*) je přímým důsledkem migrace, přítomnosti a setrvání L3 larev v CNS. Přestože je věnována velká pozornost systémové imunitní odpovědi na infekci *T. canis*, studiu imunitní odpovědi v CNS se dostává jen malé pozornosti. U lidí je tato diagnóza velmi vzácná (Axelerad *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2021; Nicoletti, 2020), a proto nabývá na důležitosti studium patogeneze, exprese cytokinů a dalších markerů neurotoxokarózy na myších modelech (Fan, 2020; Strube *et al.*, 2020b).

Pro infekce myši je charakteristická somatická migrace L3 larev tkáněmi, kdy je posléze největší procento nalézáno v CNS a lze je definovat 3 fázemi (Strube *et al.*, 2020b) – akutní (0-14 dní po infekci), subakutní (14-28 dní po infekci) a chronickou (28 dní a více). Navíc se zdá, že migrace do CNS má dva vrcholy, první kolem 7. dne po infekci a druhý začínající 35. den po infekci (Janecek *et al.*, 2014). Migrace je také zřejmě usnadněna při opakované infekci (Kolbeková *et al.*, 2011). Obecným trendem se zdá být kontinuální akumulace L3 larev v CNS (Strube *et al.*, 2020b). Přítomnost L3 larev v CNS je spojena s neurobehaviorálními změnami

jako jsou motorické dysfunkce, poruchy rovnováhy, snížení aktivity a agresivity a změny ve schopnosti učení se a paměti (Cox & Holland, 1998; Dolinsky *et al.*, 1985; Hamilton *et al.*, 2006; Janecek *et al.*, 2017). Zajímavá je pravděpodobná korelace s velikostí infekční dávky (Cox & Holland, 1998; Cox & Holland, 2001). Tyto změny jsou vysvětlitelné patologickými změnami zahrnujícími hemoragie, nekrózu a poškození axonů, demyelinizaci, gliózu a infiltraci eozinofilů, jak přehledně shrnuje Strube *et al.* (2020b). Dalším možným vysvětlením je snížení koncentrace neurotransmiterů (GABA, dopamin, serotonin)(Othman *et al.*, 2010), které může také přispět k uvedeným změnám v chování (Lucki, 1998).

Přítomnost larev *T. canis* v CNS vede k aktivaci mikroglíí a makrofágů. Není zcela jasné, zda za aktivaci mikroglíí stojí makrofágy M1 či alternativně aktivované M2 (Springer *et al.*, 2019). Aktivace Th1 odpovědi indukovaná M1 (produkcí IL-1 β , IL-6, TNF- α), která je odpovědná za neuropatologické změny, byla zaznamenána zejména na úrovni transkripce, ale koncentrace byly obvykle zvýšené jen mírně, jak shrnuje Strube *et al.* (2020b). *T. canis* také zvyšuje expresi iNOS v gliových buňkách, což může napomáhat další destrukci (Othman *et al.*, 2010). Naproti tomu aktivované M2 jsou odpovědné za imunoregulaci a remodelaci tkáně (Subramaniam & Federoff, 2017), a pozitivní vliv má i gliový fibrilární kyselý protein (GFAP) produkováný astrocyty (Eid *et al.*, 2015; Liao *et al.*, 2008). Zvýšená Th2 odpověď a sekrece protizánětlivých cytokinů IL-4, IL-5 a IL-13 obvykle koresponduje se snížením prozánětlivé Th1 a Th17 odpovědi, jejímž výsledkem je i snížení produkce IFN- γ , TNF- α , IL-6 a IL-17. Waindok a Strube (2019) ve své studii ukázali, že v průběhu infekce dochází ke kontinuálnímu snižování koncentrací IL-1 α , IL-1 β , IFN- γ , TNF- α a IL-6 a zároveň ke zvyšování koncentrací IL-4 a IL5 již od akutní fáze infekce. Kromě toho může docházet i k aktivaci Treg a produkci IL-10 a TGF- β (Černý, 2019; Loukas *et al.*, 2021; McSorley *et al.*, 2013). To usnadňuje dlouhodobé přežívání larev v imunologicky unikátním prostředí CNS. Důsledkem může být dlouhodobá aktivace Th2 a Treg v CNS, kde larvy nejsou obklopeny infiltrátem leukocytů, což může být způsobeno i omezeným vstupem komponent IS (Holland & Hamilton, 2013).

2. CÍLE PRÁCE

Toxocara canis je široce studovaným parazitem již mnoho let. Přesto je mnoho oblastí, které vyžadují další výzkum, a to vzhledem k tomu, že se jedná o světově velmi rozšířeného helminta s dopadem na zdraví lidské populace. Předložená práce se zabývá imunitní odpovědí paratenického hostitele na infekci *T. canis*, vlivem této infekce na vznik a průběh autoimunitního onemocnění, konkrétně experimentální autoimunitní encefalomyelitidy jako modelu pro studium roztroušené sklerózy, vývojem séroprevalence v populaci v České republice a potenciálně ve skupině pacientů s roztroušenou sklerózou. Dílčí cíle této práce jsou:

- Popsat dynamiku specifických protilátek při různých infekčních dávkách u myší, a to s cílem definovat dávku, která je schopna vyvolat infekci, ale nemá vliv u infikovaných zvířat na změny v chování a motorice.
- Objasnit vliv infekce *T. canis* na vznik a průběh experimentální autoimunitní encefalomyelitidy u myší, zjistit koncentrace vybraných cytokinů a četnost populace Treg.
- Vyhodnotit současnou séroprevalenci *T. canis* u lidí a její vývoj v čase v populaci ČR, a to srovnáním získaných dat s dříve publikovanými studiemi.
- Ověřit možnosti použití nových rekombinantních ES antigenů *T. canis* v sérologické diagnostice.

3. SEZNAM PUBLIKACÍ

Kapitoly „Materiál a metody“ a „Výsledky dizertační práce“ jsou uvedeny v následujících publikacích. U každé publikace je uveden i podíl na jejich vzniku. Publikace jsou řazeny podle data.

V tištěné verzi práce jsou publikace součástí této práce a jsou umístěné na konci jako přílohy. V elektronické verzi dizertační práce jsou umístěné jako zvláštní doplněk s omezeným přístupem vzhledem k právním normám a licencím časopisů omezujícím volné šíření obsahu.

Publikace č. 1

Novák, J., Panská, L., Macháček, T., Kolářová, L. and Horák P. (2017). Humoral response of mice infected with *Toxocara canis* following different infection schemes. *Acta Parasitologica*, **62(4)**, 823-835. doi: [10.1515/ap-2017-0099](https://doi.org/10.1515/ap-2017-0099)

Journal Impact Factor (5 let): 1,427 (2021): 1,535

Podíl na vzniku publikace: Plánování a provedení experimentů (příprava infekčního materiálu, infekce, odběr vzorků, příprava antigenů, ELISA testy), interpretace dat, psaní manuskriptu. Korespondující autor.

Publikace č. 2

Skulinová, K., Novák, J., Kašný M., Kolářová L. (2020). Seroprevalence of larval toxocarosis in the Czech Republic. *Acta Parasitologica*, **65(1)**, 68-76. doi: [10.2478/s11686-019-00121-0](https://doi.org/10.2478/s11686-019-00121-0)

Journal Impact Factor (5 let): 1,427 (2021): 1,535

Podíl na vzniku publikace: interpretace dat, revize manuskriptu.

Publikace č. 3

Skulinová, K., Novák, J., Kolářová L., Kašný M. (2022). Antigenic proteins from the excretory–secretory products of *Toxocara canis* larvae and evaluation of their potential for immunodiagnostics of larval toxocarosis. *Acta Parasitologica*, **67(2)**, 705-713. doi: [10.1007/s11686-021-00485-2](https://doi.org/10.1007/s11686-021-00485-2)

Journal Impact Factor (5 let): 1,427 (2021): 1,535

Podíl na vzniku publikace: Provádění experimentů (příprava infikovaných a kontrolních myších sér, ELISA testování myších a lidských sér před testováním s novými antigeny), příprava TES antigenů, revize manuskriptu.

Publikace č. 4

Novák, J., Macháček, T., Majer, M., Kostelanská, M., Skulinová, K., Černý, V., Kolářová, L., Hrdý, J. and Horák P. (Accepted for publication August 2022, on-line September 2nd 2022). *Toxocara canis* infection worsens the course of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Parasitology*, **148(4)**. doi: [10.1017/S0031182022001238](https://doi.org/10.1017/S0031182022001238)

Journal Impact Factor (5 let): 3,437 (2021): 3,243

Podíl na vzniku publikace: Plánování a provedení experimentů (příprava infekčního materiálu, infekce, indukce EAE, odběr a zpracování vzorků, příprava antigenů, ELISA testy, identifikace populací buněk průtokovou cytometrií, CBA stanovení cytokinů), interpretace dat, psaní manuskriptu. Korespondující autor.

4. SOUHRN A ZÁVĚR

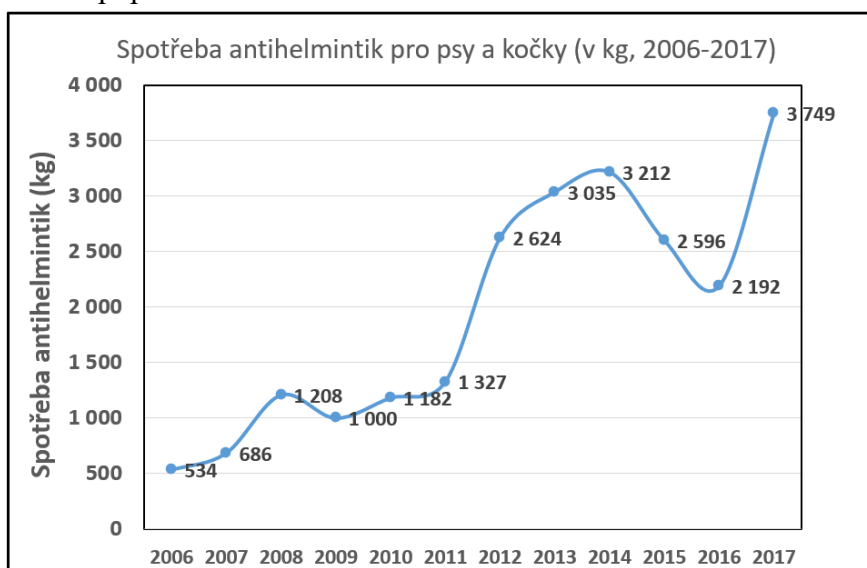
Tato práce se zabývala vztahem parazita *Toxocara canis* a paratenických hostitelů a reakcí imunitního systému hostitelů na jeho přítomnost. Vzhledem ke své globální přítomnosti u člověka a mnoha dalších hostitelů představuje *T. canis* ideální model pro studium vlivu této infekce na imunitní systém hostitele a jeho regulaci s ohledem na zvýšený výskyt alergických a autoimunitních onemocnění. I přes skutečnost, že se jedná o jednoho z nejrozšířenějších parazitů, a přes detailní znalost jeho patogenity, reakcí a regulací imunitního systému zůstává stále otevřená otázka jeho role právě u autoimunitních onemocnění včetně roztroušené sklerózy. Ke studiu těchto mechanismů, vzhledem k omezeným možnostem studia na lidské populaci, jsou využívány laboratorní zvířecí modely. Klíčové je odlišení patologických důsledků samotné infekce a projevů laboratorně navozeného testovaného onemocnění.

Na myším modelu jsme ověřovali, jaká je minimální velikost infekční dávky *T. canis*, která je schopna vyvolat infekci, ale nemá vliv u infikovaných zvířat na změny v chování a motorice - **publikace 1: Novák et al. (2017)**. K infekci myši jsou využívána vajíčka *T. canis* obsahující larvu stadia L3. Alternativně a méně často jsou používány izolované larvy kultivované *in vitro*, což byl postup používaný v našich experimentech. Při infekci larvami lze vizuálně kontrolovat jejich životnost a při podání v napájecí vodě lze efektivně kontrolovat podanou infekční dávku. Výhodou této aplikace je i minimalizace stresu laboratorních zvířat. Zjistili jsme, že i podání minimální dávky 10 larev denně vyvolalo sérologicky prokazatelnou infekci již po 12 dnech. První specifické protilátky se objevily ve třídě IgM a IgG1 - **publikace 1: Novák et al. (2017)**.

Převaha pozitivních výsledků HIT u EAE nás vedla k experimentu, kdy jsme infikovali dvěma dávkami (každá 100 larev) L3 larev *T. canis* myši C57BL/6J a v chronické fázi infekce (s předpokladem přítomnosti larev v CNS) jsme indukovali EAE. Zvolili jsme takovou infekční dávku, která nevede k viditelnému poškození a změnám chování myši - **publikace 1: Novák et al. (2017)**, abychom mohli pozorovat symptomy EAE. Překvapivě jsme zjistili negativní působení předcházející infekce jak z pohledu monitorovaných symptomů EAE, tak z pohledu úbytků hmotnosti zvířat. U infikované skupiny s EAE byly zjištěny také výrazně zvýšené hladiny monitorovaných cytokinů IL-1 α , IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-17, IL-4 a IL-10 ve srovnání s neinfikovanými zvířaty. V CNS bylo pozorováno více CD4⁺ T buněk non-Treg fenotypu. Zhoršení příznaků by pak mohlo být vysvětleno přítomností prozánětlivých Th1 a Th17 buněk - **publikace 4, Novák et al. (2022)**. Je otázkou, zda uvedená infekční dávka byla dostatečně malá a zda by ještě nižší dávka měla stejný prozánětlivý efekt. Za úvahu stojí i možná profylaktická či terapeutická aplikace izolovaných ES produktů, u které odpadá přímý patologický vliv migrace larev v CNS. V tomto smyslu zajímavá, i když s našimi výsledky

poněkud kontrastující, je studie Borhani Zarandi *et al.* (2017), ve které byl popsán pozitivní vliv ES produktů *T. canis* na průběh EAE. V této studii byly použity ES produkty, které byly získány kultivací dospělců v kultivačním médiu, což je méně obvyklý způsob získávání ES produktů.

Asociace infekce parazitem a konkrétního onemocnění v lidské populaci, v našem případě RS, lze studovat jen několika omezenými přístupy. Jedním z nich je monitorování séroprevalence pomocí specifických protilátek proti parazitovi u skupiny pacientů s definovaným onemocněním a u kontrolní skupiny zdravých (normálních), demograficky odpovídajících jedinců. Otázkou, která je aktuální pro infekci *Toxocara canis*, je i dynamika výskytu protilátek v čase a porovnatelnost výsledků z časově předcházejících studií. Ve skupině pacientů, jejichž séra byla zaslána do Národní referenční laboratoře pro tkáňové helmintózy v letech 2012-2016, byla zjištěna séroprevalence 3,6% - **publikace 2: Skulinová *et al.* (2020)**, což je výrazné snížení ve srovnání s předcházejícími publikacemi, kde byla zjištěna séroprevalence 18,4% (Uhlíková & Hübner, 1998) a 19% (Kolářová, 2006). Vzhledem k tomu, že séra pacientů zaslaná do Národní referenční laboratoře pro tkáňové helmintózy v naší studii můžeme považovat za suspektní z pohledu možného vyššího výskytu infekce helminty, lze předpokládat i nižší výskyt (než uvedených 3,6%) této infekce v současné zdravé populaci. Lze spekulovat o mnoha příčinách poklesu. Jedním z možných faktorů může být i zlepšená veterinární péče majitelů psů a koček, konkrétně jejich pravidelné odčervování. Podařilo se nám získat data o spotřebě anthelmintik pro psy a kočky za roky 2006-2017, viz obrázek 2, který ukazuje, že spotřeba mezi roky 2006 a 2017 se zvýšila několikanásobně. To může vést k nižší expozici *T. canis* v běžné lidské populaci.



Obrázek 2: Vývoj spotřeby anthelmintik pro psy a kočky v ČR v kg za rok. Z komerčních důvodů nebylo možné rozlišit jednotlivé preparáty. Data byla poskytnuta MVDr. Lenkou Kouteckou, CSc. a MVDr. Jiřím Burešem z Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv.

Naše dosud nepublikované výsledky ze sérologických přehledů z let 1996 (8,3% séropozitivity), 2001 (4,9%) a zdravých dárců krve z roku 2020 (3,5%) jsou ve shodě se současným trendem, přičemž rozdíly publikovaných výsledků z roku 1998 (18,3%)(Uhlíková & Hübner, 1998) s námi zjištěnou hodnotou v roce 1996 (8,3%) mohou jít na vrub rozdílům mezi vzorky studované populace a použité metodice. Zajímavé z pohledu možného ovlivnění RS infekcí *T. canis* je studie zjišťující séroprevalenci u pacientů s RS, kde byla zjištěna hodnota 1,6% (1 pozitivní pacient z 62)(Posová *et al.*, 2017). Naše dosud nepublikované vyšetření 411 pacientů s RS ukázalo 1,7% pozitivních vzorků. To je v dobré shodě s předcházející studií a ve srovnání se zdravou populací lze spekulovat, že nižší promořenost lidské populace hlísticí *T. canis* může být spojena s vyšším rizikem vzniku RS.

Sérologická diagnostika (identifikace specifických protilátek různými metodami) *T. canis* má řadu aspektů, které mohou ovlivnit interpretaci výsledků. Cílem identifikace vhodných antigenů je dosažení maxima citlivosti a specificity pro detekci *T. canis*-specifických protilátek. Připravili jsme a otestovali řadu rekombinantních ES antigenů (Tc-TES-26 (25-30 kDa), Tc-ASA (45-50 kDa), Tc-PDP (25-30 kDa) a Tc-ASP (25-30 kDa)), které v ELISA testech reagovaly s myšimi i lidskými séry infikovaných jedinců a které mohou být potenciálním základem pro další vývoj sérologických testů - **publikace 3: Skulinová *et al.* (2022).**

Závěrem můžeme shrnout, že tato práce ukázala, že k sérologicky detekovatelné infekci myši dochází již po 12 dnech i při podání malé dávky a infekce *T. canis* vede ke zhoršení EAE u myši. Prokázali jsme také snižující se výskyt této infekce v běžné lidské populaci České republiky a využitelnost rekombinantních antigenů pro sérologickou diagnostiku. Na rozdíl od zhoršení průběhu EAE u myši ukázaly naše dosud nepublikované výsledky nižší séroprevalenci ve skupině pacientů s RS ve srovnání s kontrolní skupinou, což nepřímo ukazuje na možný protektivní účinek ve vztahu k RS. Další směřování naší práce by mělo vést k potvrzení pozitivního vlivu infekce *T. canis* u pacientů s RS a potenciálně i s dalšími autoimunitními onemocněními.

5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abreu, S. L.** (1982). Suppression of experimental allergic encephalomyelitis by interferon. *Immunological Communications*, **11(1)**, 1-7. doi: 10.3109/08820138209050718.
- Akdis, M., Burgler, S., Cramer, R., Eiwegger, T., Fujita, H., Gomez, E., Klunker, S., Meyer, N., O'Mahony, L., Palomares, O., Rhyner, C., Quaked, N., Schaffartzik, A., Van De Veen, W., Zeller, S., Zimmermann, M. and Akdis, C. A.** (2011). Interleukins, from 1 to 37, and interferon-gamma: Receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **127(3)**, 701-721. doi: 10.1016/j.jaci.2010.11.050.
- Antolová, D., Jarčuška, P., Janičko, M., Madarasová-Gecková, A., Halanová, M., Cislaková, L., Kalinová, Z., Reiterová, K., Škutová, M., Pella, D., Mareková, M. and HepaMeta, T.** (2015). Seroprevalence of human *Toxocara* infections in the Roma and non-Roma populations of Eastern Slovakia: a cross-sectional study. *Epidemiology and Infection*, **143(10)**, 2249-2258. doi: 10.1017/s0950268814003665.
- Axelerad, A. D., Stroe, A. Z., Gogu, A. E., Pusztai, A., Jianu, D. C., Daniel, D. and Axelerad, D. D.** (2021). Clinical spectrum of symptoms in cerebral toxocariasis (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, **21(5)**, Article Number 521. doi: 10.3892/etm.2021.9953.
- Azam, D., Ukpai, O. M., Said, A., Abd-Allah, G. A. and Morgan, E. R.** (2012). Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. *Parasitology Research*, **110(2)**, 649-656. doi: 10.1007/s00436-011-2536-8.
- Bach, J. F.** (2002). Mechanisms of disease: The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *New England Journal of Medicine*, **347(12)**, 911-920. doi: 10.1056/NEJMra020100.
- Bach, J. F.** (2018). The hygiene hypothesis in autoimmunity: the role of pathogens and commensals. *Nature Reviews Immunology*, **18(2)**, 105-120. doi: 10.1038/nri.2017.111.
- Bach, J. F.** (2021). Revisiting the hygiene hypothesis in the context of autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article Number 615192. doi: 10.3389/fimmu.2020.615192.
- Bancroft, A. J., Levy, C. W., Jowitt, T. A., Hayes, K. S., Thompson, S., McKenzie, E. A., Ball, M. D., Dubaissi, E., France, A. P., Bellina, B., Sharpe, C., Mironov, A., Brown, S. L., Cook, P. C., MacDonald, A. S., Thornton, D. J. and Grencis, R. K.** (2019). The major secreted protein of the whipworm parasite tethers to matrix and inhibits interleukin-13 function. *Nature Communications*, **10**, Article Number 2344. doi: 10.1038/s41467-019-09996-z.

- Banerjee, S., Cui, H. C., Xie, N., Tan, Z., Yang, S. Z., Icyuz, M., Thannickal, V. J., Abraham, E. and Liu, G.** (2013). miR-125a-5p Regulates differential activation of macrophages and inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, **288(49)**, 35428-35436. doi: 10.1074/jbc.M112.426866.
- Baron, J. L., Madri, J. A., Ruddle, N. H., Hashim, G. and Janeway, C. A.** (1993). Surface expression of alpha-4 integrin by CD4+ T-cells is required for their entry into brain parenchyma. *Journal of Experimental Medicine*, **177(1)**, 57-68. doi: 10.1084/jem.177.1.57.
- Barr, T. A., Shen, P., Brown, S., Lampropoulou, V., Lawrie, S., O'Connor, R. A., Anderton, S. M., Bar-Or, A., Fillatreau, S. and Gray, D.** (2012). B cell depletion therapy ameliorates autoimmune disease through ablation of IL-6 producing B cells. *Immunology*, **137**, 107-108. doi: 10.1084/jem.20111675.
- Batoulis, H., Recks, M. S., Addicks, K. and Kuerten, S.** (2011). Experimental autoimmune encephalomyelitis - achievements and prospective advances. *Apmis*, **119(12)**, 819-830. doi: 10.1111/j.1600-0463.2011.02794.x.
- Becher, B., Durell, B. G. and Noelle, R. J.** (2002). Experimental autoimmune encephalitis and inflammation in the absence of interleukin-12. *Journal of Clinical Investigation*, **110(4)**, 493-497. doi: 10.1172/jci200215751.
- Belbasis, L., Bellou, V., Evangelou, E., Ioannidis, J. P. A. and Tzoulaki, L.** (2015). Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet Neurology*, **14(3)**, 263-273. doi: 10.1016/s1474-4422(14)70267-4.
- Belbasis, L., Bellou, V., Evangelou, E. and Tzoulaki, I.** (2020). Environmental factors and risk of multiple sclerosis: Findings from meta-analyses and Mendelian randomization studies. *Multiple Sclerosis Journal*, **26(4)**, 397-404. doi: 10.1177/1352458519872664.
- Berard, J. L., Wolak, K., Fournier, S. and David, S.** (2010). Characterization of relapsing-remitting and chronic forms of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice. *Glia*, **58(4)**, 434-445. doi: 10.1002/glia.20935.
- Betelli, E., Sullivan, B., Szabo, S. J., Sobel, R. A., Glimcher, H. and Kuchroo, V. K.** (2004). Loss of T-bet, but not STAT1, prevents the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Experimental Medicine*, **200(1)**, 79-87. doi: 10.1084/jem.20031819.
- Bieber, A. J., Kerr, S. and Rodriguez, M.** (2003). Efficient central nervous system remyelination requires T cells. *Annals of Neurology*, **53(5)**, 680-684. doi: 10.1002/ana.10578.
- Bing, S. J., Ha, D., Ahn, G., Cho, J., Kim, A., Park, S. K., Yu, H. S. and Jee, Y.** (2015). Galectin isolated from parasite inhibits remission of experimental autoimmune encephalomyelitis by

- up-regulating autoantibody. *Clinical and Experimental Immunology*, **180(3)**, 419-431. doi: 10.1111/cei.12594.
- Biswas, K., Chatterjee, D., Addya, S., Khan, R. S., Kenyon, L. C., Choe, A., Cohrs, R. J., Shindler, K. S. and Das Sarma, J.** (2016). Demyelinating strain of mouse hepatitis virus infection bridging innate and adaptive immune response in the induction of demyelination. *Clinical Immunology*, **170**, 9-19. doi: 10.1016/j.clim.2016.07.004.
- Bittner, S., Afzali, A. M., Wiendl, H. and Meuth, S. G.** (2014). Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG(35-55)) induced experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in C57BL/6 mice. *Jove-Journal of Visualized Experiments*, **86(1-2)**, Article Number e51275. doi: 10.3791/51275.
- Bjornevik, K., Cortese, M., Healy, B. C., Kuhle, J., Mina, M. J., Leng, Y. M., Elledge, S. J., Niebuhr, D. W., Scher, A. I., Munger, K. L. and Ascherio, A.** (2022). Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*, **375(6578)**, 296-301. doi: 10.1126/science.abj8222.
- Blakemore, W. F. and Franklin, R. J. M.** (2008). Remyelination in experimental models of toxin-induced demyelination. In *Advances in Multiple Sclerosis and Experimental Demyelinating Diseases*, Vol. 318 (ed. Rodriguez, M.), pp. 193-212. doi: 10.1007/978-3-540-73677-6_8.
- Bojanich, M. V., Alonso, J. M., Caraballo, N. A., Scholler, M. I., Lopez, M. D., Garcia, L. M. and Basualdo, J. A.** (2015). Assessment of the presence of *Toxocara* eggs in soils of an arid area in central-western Argentina. *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo*, **57(1)**, 73-76. doi: 10.1590/s0036-46652015000100010.
- Borhani Zarandi, M., Hoseini, S., Jalouison, F., Etebar, F. and Vojgani, M.** (2017). Evaluate *Toxocara canis* excretory-secretory antigens in experimental allergic encephalomyelitis (EAE). *Iran J Vet Med*, **11(2)**, 175-182. doi: 10.22059/IJVM.2017.61638.
- Brooks, W. H., Le Dantec, C., Pers, J. O., Youinou, P. and Renaudineau, Y.** (2010). Epigenetics and autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*, **34(3)**, J207-J219. doi: 10.1016/j.jaut.2009.12.006.
- Bullard, D. C., Hu, X. Z., Adams, J. E., Schoeb, T. R. and Barnum, S. R.** (2007). p150/95 (CD11c/CD18) expression is required for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *American Journal of Pathology*, **170(6)**, 2001-2008. doi: 10.2353/ajpath.2007.061016.
- Cardillo, N., Prous, C. G., Krivokapich, S., Pittaro, M., Ercole, M., Perez, M., Pasqualetti, M., Farina, F., Rosa, A., Gatti, G. and Ribicich, M.** (2016). First report of *Toxocara cati* in the

- domestic land snail *Rumina decollata*. *Revista Argentina De Microbiologia*, **48(5)**, 206-209. doi: 10.1016/j.ram.2016.04.004.
- Carsique, R., Phamdin, D., Boespflugtanguy, O., Goodkin, D. E., Lathrop, M., Rimmler, J., Haines, J. L., Oksenberg, J., Fizames, C., Lincoln, R., Pericakvance, M. A., Gusella, J. F., Roses, A. D., Weissenbach, J., Dautigny, A., Hauser, S. L. and Seboun, E.** (1995). Genetic susceptibility to multiple sclerosis: The role of MAG, MBP, MOG, OMGP, and PLP. *American Journal of Human Genetics*, **57(4)**, 1872-1872. Meeting Abstract
- Cong, W., Zhang, X. X., Zhou, N., Yu, C. Z., Chen, J., Wang, X. Y., Li, B., Qian, A. D. and Zhu, X. Q.** (2014). *Toxocara* seroprevalence among clinically healthy individuals, pregnant women and psychiatric patients and associated risk factors in Shandong province, eastern China. *Plos Neglected Tropical Diseases*, **8(8)**, Article Number e3082. doi: 10.1371/journal.pntd.0003082.
- Constantinescu, C. S., Farooqi, N., O'Brien, K. and Gran, B.** (2011). Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). *British Journal of Pharmacology*, **164(4)**, 1079-1106. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01302.x.
- Coronado, S., Zakzuk, J., Regino, R., Ahumada, V., Benedetti, I., Angelina, A., Palomares, O. and Caraballo, L.** (2019). *Ascaris lumbricoides* cystatin prevents development of allergic airway inflammation in a mouse model. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article Number 2280. doi: 10.3389/fimmu.2019.02280.
- Correale, J. and Farez, M.** (2007). Association between parasite infection and immune responses in multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, **61(2)**, 97-108. doi: 10.1002/ana.21067.
- Correale, J. and Farez, M. F.** (2011). The impact of parasite infections on the course of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, **233(1-2)**, 6-11. doi: 10.1016/j.jneuroim.2011.01.002.
- Correale, J. and Gaitan, M. I.** (2015). Multiple sclerosis and environmental factors: the role of vitamin D, parasites, and Epstein-Barr virus infection. *Acta Neurologica Scandinavica*, **132**, 46-55. doi: 10.1111/ane.12431.
- Correale, J., Marrodan, M. and Contentti, E. C.** (2021). Interleukin-35 is a critical regulator of immunity during helminth infections associated with multiple sclerosis. *Immunology*, **164(3)**, 569-586. doi: 10.1111/imm.13389.
- Cox, D. M. and Holland, C. V.** (1998). The relationship between numbers of larvae recovered from the brain of *Toxocara canis*-infected mice and social behaviour and anxiety in the host. *Parasitology*, **116**, 579-594. doi: 10.1017/s0031182098002649.
- Cox, D. M. and Holland, C. V.** (2001). Relationship between three intensity levels of *Toxocara canis* larvae in the brain and effects on exploration, anxiety, learning and memory in the murine host. *Journal of Helminthology*, **75(1)**, 33-41. doi: 10.1079/joh200028.

- Croxford, J. L., Olson, J. K., Anger, H. A. and Miller, S. D.** (2005). Initiation and exacerbation of autoimmune demyelination of the central nervous system via virus-induced molecular mimicry: Implications for the pathogenesis of multiple sclerosis. *Journal of Virology*, **79(13)**, 8581-8590. doi: 10.1128/jvi.79.13.8581-8590.2005.
- Cserr, H. F., Harlingberg, C. J. and Knopf, P. M.** (1992). Drainage of brain extracellular fluid into blood and deep cervical lymph and its immunological significance. *Brain Pathology*, **2(4)**, 269-276. doi: 10.1111/j.1750-3639.1992.tb00703.x.
- Černý, V.** (2019). Immunoregulatory characteristics of immune cells of children of allergic and non-allergic mothers and the possibility of their modulation with probiotic E. coli strain O83:K24:H31. Dizertační práce. <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/125444>.
- Dalcanto, M. C., Melvold, R. W., Kim, B. S. and Miller, S. D.** (1995). 2 Models of multiple-sclerosis - experimental allergic encephalomyelitis (EAE) and Theilers murine exncephalomyelitis virus (TMEV) infection - a pathological and immunological comparison. *Microscopy Research and Technique*, **32(3)**, 215-229. doi: 10.1002/jemt.1070320305.
- Dargahi, N., Katsara, M., Tselios, T., Androutsou, M. E., de Courten, M., Matsoukas, J. and Apostolopoulos, V.** (2017). Multiple sclerosis: Immunopathology and treatment update. *Brain Sciences*, **7(7)**, Article Number 78. doi: 10.3390/brainsci7070078.
- Dendrou, C. A., Fugger, L. and Friese, M. A.** (2015). Immunopathology of multiple sclerosis. *Nature Reviews Immunology*, **15(9)**, 545-558. doi: 10.1038/nri3871.
- Dendrou, C. A., Plagnol, V., Fung, E., Yang, J. H. M., Downes, K., Cooper, J. D., Nutland, S., Coleman, G., Himsforth, M., Hardy, M., Burren, O., Healy, B., Walker, N. M., Koch, K., Ouwehand, W. H., Bradley, J. R., Wareham, N. J., Todd, J. A. and Wicker, L. S.** (2009). Cell-specific protein phenotypes for the autoimmune locus IL2RA using a genotype-selectable human bioresource. *Nature Genetics*, **41(9)**, 1011-1015. doi: 10.1038/ng.434.
- DeSavigny, D. H.** (1975). In vitro maintenance of *T. canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for the uses in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *Journal of Parasitology*, **61**, 781-782.
- DeSavigny, D. H., Voller, A. and Woodruff, A. W.** (1979). Toxocariasis - serological diagnosis by enzyme Immunoassay. *Journal of Clinical Pathology*, **32(3)**, 284-288. doi: 10.1136/jcp.32.3.284.
- Dolinsky, Z. S., Hardy, C. A., Burright, R. G. and Donovan, P. J.** (1985). The progression of behavioral and pathological effects of the parasite *Toxocara canis* in the mouse. *Physiology & Behavior*, **35(1)**, 33-42. doi: 10.1016/0031-9384(85)90168-4.

- Dombrowski, Y., O'Hagan, T., Dittmer, M., Penalva, R., Mayoral, S. R., Bankhead, P., Fleville, S., Eleftheriadis, G., Zhao, C., Naughton, M., Hassan, R., Moffat, J., Falconer, J., Boyd, A., Hamilton, P., Allen, I. V., Kissenpfennig, A., Moynagh, P. N., Evergren, E., Perbal, B., Williams, A. C., Ingram, R. J., Chan, J. R., Franklin, R. J. M. and Fitzgerald, D. C.** (2017). Regulatory T cells promote myelin regeneration in the central nervous system. *Nature Neuroscience*, **20(5)**, 674-680. doi: 10.1038/nn.4528.
- Donskow-Lysoniewska, K., Krawczak, K., Bocian, K. and Doligalska, M.** (2018). The effects of intestinal nematode L4 stage on mouse experimental autoimmune encephalomyelitis. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis*, **66(3)**, 231-243. doi: 10.1007/s00005-017-0489-z.
- Donskow-Lysoniewska, K., Krawczak, K. and Doligalska, M.** (2012). *Heligmosomoides polygyrus*: EAE remission is correlated with different systemic cytokine profiles provoked by L4 and adult nematodes. *Experimental Parasitology*, **132(2)**, 243-248. doi: 10.1016/j.exppara.2012.07.009.
- Donskow-Lysoniewska, K., Krawczak, K., Machcinska, M., Glaczynska, M. and Doligalska, M.** (2019). Effects of intestinal nematode treatment on CD11b activation state in an EAE mouse model of multiple sclerosis. *Immunobiology*, **224(6)**, 817-826. doi: 10.1016/j.imbio.2019.08.004.
- Doonan, J., Thomas, D., Wong, M. H., Ramage, H. J., Al-Riyami, L., Lumb, F. E., Bell, K. S., Fairlie-Clarke, K. J., Suckling, C. J., Michelsen, K. S., Jiang, H. R., Cooke, A., Harnett, M. M. and Harnett, W.** (2018). Failure of the anti-inflammatory parasitic worm product ES-62 to provide protection in mouse models of type I diabetes, multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Molecules*, **23(10)**, Article Number 2669. doi: 10.3390/molecules23102669.
- Dubinský, P., Havasiová Reiterová, K., Petko, B., Hovorka, I. and Tomašovicová, O.** (1995). Role of small mammals in the epidemiology of toxocariasis. *Parasitology*, **110(2)**, 187-193. doi: 10.1017/s0031182000063952.
- Duffy, S. S., Lees, J. G. and Moalem-Taylor, G.** (2014). The contribution of immune and glial cell types in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis International*, **2014**, Article Number 285245. doi: 10.1155/2014/285245.
- Eid, M. M., El-Kowrany, S. I., Othman, A. A., El Gendy, D. I. and Saied, E. M.** (2015). Immunopathological changes in the brain of immunosuppressed mice experimentally infected with *Toxocara canis*. *Korean Journal of Parasitology*, **53(1)**, 51-58. doi: 10.3347/kjp.2015.53.1.51.

- Elain, G., Jeanneau, K., Rutkowska, A., Mir, A. K. and Dev, K. K.** (2014). The selective anti-IL17A monoclonal antibody secukinumab (AIN457) attenuates IL17A-induced levels of IL6 in human astrocytes. *Glia*, **62(5)**, 725-735. doi: 10.1002/glia.22637.
- Elliott, D. E., Summers, R. W. and Weinstock, J. V.** (2007). Helminths as governors of immune-mediated inflammation. *International Journal for Parasitology*, **37(5)**, 457-464. doi: 10.1016/j.ijpara.2006.12.009.
- Elliott, D. E. and Weinstock, J. V.** (2009). Helminthic therapy: Using worms to treat immune-mediated disease. In *Pathogen-Derived Immunomodulatory Molecules*, Vol. 666 (ed. Fallon, P. G.), pp. 157-166. doi: 10.1007/978-1-4419-1601-3_12
- Elliott, D. E. and Weinstock, J. V.** (2012). Helminth-host immunological interactions: prevention and control of immune-mediated diseases. In *Year in Immunology*, Vol. 1247 (ed. Rose, N. R.), pp. 83-96. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06292.x
- Engelhardt, B., Vajkoczy, P. and Weller, R. O.** (2017). The movers and shapers in immune privilege of the CNS. *Nature Immunology*, **18(2)**, 123-131. doi: 10.1038/ni.3666.
- Erickson, M. A. and Banks, W. A.** (2019). Age-associated changes in the immune system and blood-brain barrier functions. *International Journal of Molecular Sciences*, **20(7)**, Article Number 1632. doi: 10.3390/ijms20071632.
- Erickson, M. A. and Banks, W. A.** (2022). Transcellular routes of blood-brain barrier disruption. *Experimental Biology and Medicine*, **247(9)**, 788-796. doi: 10.1177/15353702221080745.
- Fabrick, B. O., Van Haastert, E. S., Galea, I., Polfliet, M. M. J., Dopp, E. D., Van den Heuvel, M. M., Van den Berg, T. K., De Groot, C. J. A., Van der Valk, P. and Dijkstra, C. D.** (2005). CD163-positive perivascular macrophages in the human CNS express molecules for antigen recognition and presentation. *Glia*, **51(4)**, 297-305. doi: 10.1002/glia.20208.
- Fan, C. K.** (2020). Pathogenesis of cerebral toxocariasis and neurodegenerative diseases. In *Toxocara and Toxocariasis Advances in Parasitology*, Vol. 109 (ed. Bowman, D. D.), pp. 233-259. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.008.
- Fan, C. K., Holland, C. V., Loxton, K. and Barghouth, U.** (2015). Cerebral toxocariasis: Silent progression to neurodegenerative disorders? *Clinical Microbiology Reviews*, **28(4)**, 663-686. doi: 10.1128/cmr.00067-15.
- Faraco, G., Park, L., Anrather, J. and Iadecola, C.** (2017). Brain perivascular macrophages: characterization and functional roles in health and disease. *Journal of Molecular Medicine-Imm*, **95(11)**, 1143-1152. doi: 10.1007/s00109-017-1573-x.
- Ferreira, M. L. B.** (2010). Cognitive deficits in multiple sclerosis A systematic review. *Arquivos De Neuro-Psiquiatria*, **68(4)**, 632-641. doi: 10.1590/s0004-282x2010000400029.

- Fillaux, J. and Magnaval, J. F.** (2013). Laboratory diagnosis of human toxocariasis. *Veterinary Parasitology*, **193(4)**, 327-336. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.028.
- Finlay, C. M., Stefanska, A. M., Walsh, K. P., Kelly, P. J., Boon, L., Lavelle, E. C., Walsh, P. T. and Mills, K. H. G.** (2016). Helminth products protect against autoimmunity via innate type 2 cytokines IL-5 and IL-33, which promote eosinophilia. *Journal of Immunology*, **196(2)**, 703-714. doi: 10.4049/jimmunol.1501820.
- Finlay, C. M., Stefanska, A. M., Walsh, P. T., Lavelle, E. C. and Mills, K. H. G.** (2015). Helminth-induced IL-5 and IL-33 protect against experimental autoimmune encephalomyelitis. *Irish Journal of Medical Science*, **184**, 15-15. Meeting Abstract.
- Finsterer, J. and Auer, H.** (2007). Neurotoxocariosis. *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo*, **49(5)**, 279-287. doi: 10.1590/S0036-46652007000500002.
- Fleming, J., Hernandez, G., Hartman, L., Maksimovic, J., Nace, S., Lawler, B., Risa, T., Cook, T., Agni, R., Reichelderfer, M., Luzzio, C., Rolak, L., Field, A. and Fabry, Z.** (2019). Safety and efficacy of helminth treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis: Results of the HINT 2 clinical trial. *Multiple Sclerosis Journal*, **25(1)**, 81-91. doi: 10.1177/1352458517736377.
- Fleming, J. O.** (2011). Helminths and multiple sclerosis: Will old friends give us new treatments for MS? *Journal of Neuroimmunology*, **233(1-2)**, 3-5. doi: 10.1016/j.jneuroim.2011.01.003.
- Fleming, J. O.** (2013). Helminth therapy and multiple sclerosis. *International Journal for Parasitology*, **43(3-4)**, 259-274. doi: 10.1016/j.ijpara.2012.10.025.
- Fleming, J. O. and Weinstock, J. V.** (2015). Clinical trials of helminth therapy in autoimmune diseases: rationale and findings. *Parasite Immunology*, **37(6)**, 277-292. doi: 10.1111/pim.12175.
- Friese, M. A., Jakobsen, K. B., Friis, L., Etzensperger, R., Craner, M. J., McMahon, R. M., Jensen, L. T., Huygelen, V., Jones, E. Y., Bell, J. I. and Fugger, L.** (2008). Opposing effects of HLA class I molecules in tuning autoreactive CD8(+) T cells in multiple sclerosis. *Nature Medicine*, **14(11)**, 1227-1235. doi: 10.1038/nm.1881.
- Glickman, L. T. and Summers, B. A.** (1983). Experimental *Toxocara canis* infection in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *American Journal of Veterinary Research*, **44(12)**, 2347-2354.
- Gordon, S.** (2003). Alternative activation of macrophages. *Nature Reviews Immunology*, **3(1)**, 23-35. doi: 10.1038/nri978.
- Goswami, T. K., Singh, M., Dhawan, M., Mitra, S., Emran, T. B., Rabaan, A. A., Al Mutair, A., Al Alawi, Z., Alhumaid, S. and Dhama, K.** (2022). Regulatory T cells (Tregs) and their

therapeutic potential against autoimmune disorders - Advances and challenges. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, **18(1)**, Article Number e2035117. doi: 10.1080/21645515.2022.2035117.

Gregersen, J. W., Kranc, K. R., Ke, X. Y., Svendsen, P., Madsen, L. S., Thomsen, A. R., Cardon, L. R., Bell, J. I. and Fugger, L. (2006). Functional epistasis on a common MHC haplotype associated with multiple sclerosis. *Nature*, **443(7111)**, 574-577. doi: 10.1038/nature05133.

Gregory, S. G., Schmidt, S., Seth, P., Oksenberg, J. R., Hart, J., Prokop, A., Caillier, S. J., Ban, M., Goris, A., Barcellos, L. F., Lincoln, R., McCauley, J. L., Sawcer, S. J., Compston, D. A. S., Dubois, B., Hauser, S. L., Garcia-Blanco, M. A., Pericak-Vance, M. A., Haines, J. L. and Multiple Sclerosis Genetics, G. (2007). Interleukin 7 receptor a chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. *Nature Genetics*, **39(9)**, 1083-1091. doi: 10.1038/ng2103.

Gruden-Movsesijan, A., Ilic, N., Mostarica-Stojkovic, M., Stosic-Grujicic, S., Milic, M. and Sofronic-Milosavljevic, L. (2010). Mechanisms of modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by chronic *Trichinella spiralis* infection in Dark Agouti rats. *Parasite Immunology*, **32(6)**, 450-459. doi: 10.1111/j.1365-3024.2010.01207.x.

Hamilton, C. M., Stafford, P., Pinelli, E. and Holland, C. V. (2006). A murine model for cerebral toxocariasis: characterization of host susceptibility and behaviour. *Parasitology*, **132**, 791-801. doi: 10.1017/s0031182006009887.

Harkioliaki, M., Holmes, S. L., Svendsen, P., Gregersen, J. W., Jensen, L. T., McMahon, R., Friese, M. A., van Boxel, G., Etzensperger, R., Tzartos, J. S., Kranc, K., Sainsbury, S., Harlos, K., Mellins, E. D., Palace, J., Esiri, M. M., van der Merwe, P. A., Jones, E. Y. and Fugger, L. (2009). T cell-mediated autoimmune disease due to low-affinity crossreactivity to common microbial peptides. *Immunity*, **30(3)**, 348-357. doi: 10.1016/j.immuni.2009.01.009.

Hartmann, F. J., Khademi, M., Aram, J., Ammann, S., Kockum, I., Constantinescu, C., Gran, B., Piehl, F., Olsson, T., Codarri, L. and Becher, B. (2014). Multiple sclerosis-associated IL2RA polymorphism controls GM-CSF production in human T-H cells. *Nature Communications*, **5**, Article Number 6056. doi: 10.1038/ncomms6056.

Hauser, S. L. and Cree, B. A. C. (2020). Treatment of multiple sclerosis: A review. *American Journal of Medicine*, **133(12)**, 1380-1390. doi: 10.1016/j.amjmed.2020.05.049.

Hauser, S. L., Kappos, L., Montalban, X., Craveiro, L., Chognot, C., Hughes, R., Koendgen, H., Pasquarelli, N., Pradhan, A., Prajapati, K. and Wolinsky, J. S. (2021). Safety of ocrelizumab in patients with relapsing and primary progressive multiple sclerosis. *Neurology*, **97(16)**, 1546-1559. doi: 10.1212/wnl.0000000000012700.

- Havrdová** (2002). Roztroušená skleróza, 3. vydání. Praha Triton
- Hazlett, L. D., McClellan, S. A., Barrett, R. P., Huang, X., Zhang, Y. F., Wu, M. H., van Rooijen, N. and Szliter, E.** (2010). IL-33 shifts macrophage polarization, promoting resistance against *Pseudomonas aeruginosa* keratitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **51(3)**, 1524-1532. doi: 10.1167/iovs.09-3983.
- Hemmer, B., Nessler, S., Zhou, D., Kieseier, B. and Hartung, H. P.** (2006). Immunopathogenesis and immunotherapy of multiple sclerosis. *Nature Clinical Practice Neurology*, **2(4)**, 201-211. doi: 10.1038/ncpneuro0154.
- Hernandez, G. L., Ganansky, C., Sandor, M., Fleming, J. and Fabry, Z.** (2018). The effect of helminth-induced immunomodulatory therapy (HINT) in relapsing remitting multiple sclerosis. *Journal of Immunology*, **200(1)**, 54.5. Meeting Abstract
- Hjelmstrom, P., Juedes, A. E., Fjell, J. and Ruddle, N. H.** (1998). Cutting edge: B cell-deficient mice develop experimental allergic encephalomyelitis with demyelination after myelin oligodendrocyte glycoprotein sensitization. *Journal of Immunology*, **161(9)**, 4480-4483.
- Hofmann, N., Lachnit, N., Streppel, M., Guntinas-Lichius, O., Witter, B., Flugel, A., Neiss, W. F. and Angelov, D. N.** (2002). Role of spinal perivascular phagocytes during experimental allergic encephalomyelitis in rats. *Glia*, **S82**, P318. Meeting Abstract.
- Hofstetter, H. H., Shive, C. L. and Forsthuber, T. G.** (2002). Pertussis toxin modulates the immune response to neuroantigens injected in incomplete Freund's adjuvant: Induction of Th1 cells and experimental autoimmune encephalomyelitis in the presence of high frequencies of Th2 cells. *Journal of Immunology*, **169(1)**, 117-125. doi: 10.4049/jimmunol.169.1.117.
- Holland, C. V.** (2017). Knowledge gaps in the epidemiology of *Toxocara*: the enigma remains. *Parasitology*, **144(1)**, 81-94. doi: 10.1017/s0031182015001407.
- Holland, C. V. and Hamilton, C. M.** (2013). The significance of cerebral toxocariasis: a model system for exploring the link between brain involvement, behaviour and the immune response. *Journal of Experimental Biology*, **216(1)**, 78-83. doi: 10.1242/jeb.074120.
- Hu, Y., Ota, N., Peng, I., Refino, C. J., Danilenko, D. M., Caplazi, P. and Ouyang, W. J.** (2010). IL-17RC is required for IL-17A- and IL-17F-dependent signaling and the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology*, **184(8)**, 4307-4316. doi: 10.4049/jimmunol.0903614.
- Charabati, M., Donkers, S. J., Kirkland, M. C. and Osborne, L. C.** (2020). A critical analysis of helminth immunotherapy in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, **26(12)**, 1448-1458. doi: 10.1177/1352458519899040.

- Chen, J., Chia, N., Kalari, K. R., Yao, J. Z., Novotna, M., Soldan, M. M. P., Luckey, D. H., Marietta, E. V., Jeraldo, P. R., Chen, X. F., Weinschenker, B. G., Rodriguez, M., Kantarci, O. H., Nelson, H., Murray, J. A. and Mangalam, A. K.** (2016). Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Scientific Reports*, **6**, Article Number 28484. doi: 10.1038/srep28484.
- Chen, W. J., Jin, W. W., Hardegen, N., Lei, K. J., Li, L., Marinos, N., McGrady, G. and Wahl, S. M.** (2003). Conversion of peripheral CD4(+)CD25(-) naive T cells to CD4(+)CD25(+) regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *Journal of Experimental Medicine*, **198(12)**, 1875-1886. doi: 10.1084/jem.20030152.
- Chen, X., Winkler-Pickett, R. T., Carbonetti, N. H., Ortaldo, J. R., Oppenheim, J. J. and Howard, O. M. Z.** (2006). Pertussis toxin as an adjuvant suppresses the number and function of CD4(+)CD25(+) T regulatory cells. *European Journal of Immunology*, **36(3)**, 671-680. doi: 10.1002/eji.200535353.
- Chiuso-Minicucci, F., Van, D. B., Zorzella-Pezavento, S. F. G., Peres, R. S., Ishikawa, L. L. W., Rosa, L. C., Franca, T. G. D., Turato, W. M., Amarante, A. F. T. and Sartori, A.** (2011). Experimental autoimmune encephalomyelitis evolution was not modified by multiple infections with *Strongyloides venezuelensis*. *Parasite Immunology*, **33(5)**, 303-308. doi: 10.1111/j.1365-3024.2011.01279.x.
- Chu, F. N., Shi, M. C., Zheng, C., Shen, D. H., Zhu, J., Zheng, X. Y. and Cui, L.** (2018). The roles of macrophages and microglia in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology*, **318**, 1-7. doi: 10.1016/j.jneuroim.2018.02.015.
- Ishida, M. M. I., Rubinsky-Elefant, G., Ferreira, A. W., Hoshino-Shimizu, S. and Vaz, A. J.** (2003). Helminth antigens (*Taenia solium*, *Taenia crassiceps*, *Toxocara canis*, *Schistosoma mansoni* and *Echinococcus granulosus*) and cross-reactivities in human infections and immunized animals. *Acta Tropica*, **89(1)**, 73-84. doi: 10.1016/j.actatropica.2003.09.005.
- Jager, A., Dardalhon, V., Sobel, R. A., Bettelli, E. and Kuchroo, V. K.** (2009). Th1, Th17, and Th9 effector cells induce experimental autoimmune encephalomyelitis with different pathological phenotypes. *Journal of Immunology*, **183(11)**, 7169-7177. doi: 10.4049/jimmunol.0901906.
- Janecek, E., Beineke, A., Schnieder, T. and Strube, C.** (2014). Neurotoxocarosis: marked preference of *Toxocara canis* for the cerebrum and *T. cati* for the cerebellum in the paratenic model host mouse. *Parasites & Vectors*, **7**, Article Number 194. doi: 10.1186/1756-3305-7-194.
- Janecek, E., Waindok, P., Bankstahl, M. and Strube, C.** (2017). Abnormal neurobehaviour and impaired memory function as a consequence of *Toxocara canis*- as well as *Toxocara cati*-

- induced neurotoxocarosis. *Plos Neglected Tropical Diseases*, **11(5)**, Article Number e0005594. doi: 10.1371/journal.pntd.0005594.
- Jenkins, T. P., Pritchard, D. I., Tanasescu, R., Telford, G., Papaikovou, M., Scotti, R., Cortes, A., Constantinescu, C. S. and Cantacessi, C.** (2021). Experimental infection with the hookworm, *Necator americanus*, is associated with stable gut microbial diversity in human volunteers with relapsing multiple sclerosis. *Bmc Biology*, **19(1)**, Article Number 74. doi: 10.1186/s12915-021-01003-6.
- Ji, Q. Y., Perchellet, A. and Goverman, J. M.** (2010). Viral infection triggers central nervous system autoimmunity via activation of CD8(+) T cells expressing dual TCRs. *Nature Immunology*, **11(7)**, 628-634. doi: 10.1038/ni.1888.
- Johnston, C. J. C., Smyth, D. J., Kodali, R. B., White, M. P. J., Harcus, Y., Filbey, K. J., Hewitson, J. P., Hinck, C. S., Ivens, A., Kemter, A. M., Kildemoes, A. O., Le Bihan, T., Soares, D. C., Anderton, S. M., Brenn, T., Wigmore, S. J., Woodcock, H. V., Chambers, R. C., Hinck, A. P., McSorley, H. J. and Maizels, R. M.** (2017). A structurally distinct TGF-beta mimic from an intestinal helminth parasite potently induces regulatory T cells. *Nature Communications*, **8**, Article Number 01886-6. doi: 10.1038/s41467-017-01886-6.
- Katz-Levy, Y., Neville, K. L., Girvin, A. M., Vanderlugt, C. L., Pope, J. G., Tan, L. J. and Miller, S. D.** (1999). Endogenous presentation of self myelin epitopes by CNS-resident APCs in Theiler's virus-infected mice. *Journal of Clinical Investigation*, **104(5)**, 599-610. doi: 10.1172/jci7292.
- Katz-Levy, Y., Neville, K. L., Padilla, J., Rahbe, S., Begolka, W. S., Girvin, A. M., Olson, J. K., Vanderlugt, C. L. and Miller, S. D.** (2000). Temporal development of autoreactive Th1 responses and endogenous presentation of self myelin epitopes by central nervous system-resident APCs in Theiler's virus-infected mice. *Journal of Immunology*, **165(9)**, 5304-5314. doi: 10.4049/jimmunol.165.9.5304.
- Kaufmann, M., Schaupp, A. L., Sun, R., Coscia, F., Dendrou, C. A., Cortes, A., Kaur, G., Evans, H. G., Mollbrink, A., Navarro, J. F., Sonner, J. K., Mayer, C., DeLuca, G. C., Lundeberg, J., Matthews, P. M., Attfield, K. E., Friese, M. A., Mann, M. and Fugger, L.** (2022). Identification of early neurodegenerative pathways in progressive multiple sclerosis. *Nature Neuroscience*, **25(7)**, 944-955. doi: 10.1038/s41593-022-01097-3.
- Keegan, J. D. and Holland, C. V.** (2013). A comparison of *Toxocara canis* embryonation under controlled conditions in soil and hair. *Journal of Helminthology*, **87(1)**, 78-84. doi: 10.1017/s0022149x12000065.
- Kida, S., Pantazis, A. and Weller, R. O.** (1993). CSF drains directly from the subarachnoid space into nasal lymphatics in the rat - anatomy, histology and immunological significance.

Neuropathology and Applied Neurobiology, **19(6)**, 480-488. doi: 10.1111/j.1365-2990.1993.tb00476.x.

- Kinashi, Y. and Hase, K.** (2021). Partners in Leaky gut syndrome: Intestinal dysbiosis and autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article Number 673708. doi: 10.3389/fimmu.2021.673708.
- Kivisakk, P., Mahad, D. J., Callahan, M. K., Trebst, C., Tucky, B., Wei, T., Wu, L. J., Baekkevold, E. S., Lassmann, H., Staugaitis, S. M., Campbell, J. J. and Ransohoff, R. M.** (2003). Human cerebrospinal fluid central memory CD4(+) T cells: Evidence for trafficking through choroid plexus and meninges via P-selectin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100(4)**, 8389-8394. doi: 10.1073/pnas.1433000100.
- Kleinewietfeld, M. and Hafler, D. A.** (2014). Regulatory T cells in autoimmune neuroinflammation. *Immunological Reviews*, **259(1)**, 231-244. doi: 10.1111/imr.12169.
- Kohm, A. P., Carpentier, P. A., Anger, H. A. and Miller, S. D.** (2002). Cutting edge: CD4(+)CD25(+) regulatory T cells suppress antigen-specific autoreactive immune responses and central nervous system inflammation during active experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology*, **169(9)**, 4712-4716. doi: 10.4049/jimmunol.169.9.4712.
- Koch-Henriksen, N. and Sorensen, P. S.** (2010). The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurology*, **9(5)**, 520-532. doi: 10.1016/s1474-4422(10)70064-8.
- Kolářová, L.** (2006). Tkáňové helmintózy. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*, **12(4)**, 131-134.
- Kolbepková, P., Větvicka, D., Svoboda, J., Skirnisson, K., Leissová, M., Syrůček, M., Marečková, H. and Kolářová, L.** (2011). *Toxocara canis* larvae reinfesting BALB/c mice exhibit accelerated speed of migration to the host CNS. *Parasitology Research*, **109(5)**, 1267-1278. doi: 10.1007/s00436-011-2371-y.
- Komiyama, Y., Nakae, S., Matsuki, T., Nambu, A., Ishigame, H., Kakuta, S., Sudo, K. and Iwakura, Y.** (2006). IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology*, **177(1)**, 566-573. doi: 10.4049/jimmunol.177.1.566.
- Krishnamoorthy, G., Holz, A. and Wekerle, H.** (2007). Experimental models of spontaneous in the central nervous system. *Journal of Molecular Medicine-Jmm*, **85(11)**, 1161-1173. doi: 10.1007/s00109-007-0218-x.

- Krishnamoorthy, G. and Wekerle, H.** (2009). EAE: An immunologist's magic eye. *European Journal of Immunology*, **39(8)**, 2031-2035. doi: 10.1002/eji.200939568.
- Krucken, J., Blumke, J., Maaz, D., Demeler, J., Ramunke, S., Antolova, D., Schaper, R. and von Samson-Himmelstjerna, G.** (2017). Small rodents as paratenic or intermediate hosts of carnivore parasites in Berlin, Germany. *Plos One*, **12(3)**, Article Number e0172829. doi: 10.1371/journal.pone.0172829.
- Kucukali, C. I., Kurtuncu, M., Coban, A., Cebi, M. and Tuzun, E.** (2015). Epigenetics of multiple sclerosis: An updated review. *Neuromolecular Medicine*, **17(2)**, 83-96. doi: 10.1007/s12017-014-8298-6.
- Kuijk, L. M., Klaver, E. J., Kooij, G., van der Pol, S. M. A., Heijnen, P., Bruijns, S. C. M., Kringel, H., Pinelli, E., Kraal, G., de Vries, H. E., Dijkstra, C. D., Bouma, G. and van Die, I.** (2012). Soluble helminth products suppress clinical signs in murine experimental autoimmune encephalomyelitis and differentially modulate human dendritic cell activation. *Molecular Immunology*, **51(2)**, 210-218. doi: 10.1016/j.molimm.2012.03.020.
- Kwilasz, A. J., Todd, L. S., Duran-Malle, J. C., Schrama, A. E. W., Mitten, E. H., Larson, T. A., Clements, M. A., Harris, K. M., Litwiler, S. T., Wang, X. H., Van Dam, A. M., Maier, S. F., Rice, K. C., Watkins, L. R. and Barrientos, R. M.** (2021). Experimental autoimmune encephalopathy (EAE)-induced hippocampal neuroinflammation and memory deficits are prevented with the non-opioid TLR2/TLR4 antagonist (+)-naltrexone. *Behavioural Brain Research*, **396**, Article Number 112896. doi: 10.1016/j.bbr.2020.112896.
- La Flamme, A. C., Ruddenklau, K. and Backstrom, B. T.** (2003). Schistosomiasis decreases central nervous system inflammation and alters the progression of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Infection and Immunity*, **71(9)**, 4996-5004. doi: 10.1128/iai.71.9.4996-5004.2003.
- Lao, K. J., Ji, N. C., Zhang, X. H., Qiao, W. W., Tang, Z. S. and Gou, X. C.** (2019). Drug development for Alzheimer's disease: review. *Journal of Drug Targeting*, **27(2)**, 164-173. doi: 10.1080/1061186x.2018.1474361.
- Lavi, E., Gilden, D. H., Highkin, M. K. and Weiss, S. R.** (1984). Persistence of mouse hepatitis-virus A59 RNA in a slow virus demyelinating infection in mice as detected by insitu hybridization. *Journal of Virology*, **51(2)**, 563-566. doi: 10.1128/jvi.51.2.563-566.1984.
- Lee, K. P., Shen, P. C., Shih, Y. C., Chou, C. M., Tsai, C. S., Sun, Y. T. and Fan, C. K.** (2021). The first two cases of neurotoxocariasis in Taiwan. *Journal of the Formosan Medical Association*, **120(7)**, 1520-1525. doi: 10.1016/j.jfma.2021.01.025.

- Levy, M., Kolodziejczyk, A. A., Thaïss, C. A. and Elinav, E.** (2017). Dysbiosis and the immune system. *Nature Reviews Immunology*, **17**(4), 219-232. doi: 10.1038/nri.2017.7.
- Liao, C. W., Fan, C. K., Kao, T. C., Ji, D. D., Su, K. E., Lin, Y. H. and Cho, W. L.** (2008). Brain injury-associated biomarkers of TGF-beta1, S100B, GFAP, NF-L, tTG, AbetaPP, and tau were concomitantly enhanced and the UPS was impaired during acute brain injury caused by *Toxocara canis* in mice. *Bmc Infectious Diseases*, **8**, Article Number 84. doi: 10.1186/1471-2334-8-84.
- Loram, L. C., Strand, K. A., Taylor, F. R., Sloane, E., Van Dam, A. M., Rieger, J., Maier, S. F. and Watkins, L. R.** (2015). Adenosine 2A receptor agonism: A single intrathecal administration attenuates motor paralysis in experimental autoimmune encephalopathy in rats. *Brain Behavior and Immunity*, **46**, 50-54. doi: 10.1016/j.bbi.2015.01.014.
- Loukas, A., Maizels, R. M. and Hotez, P. J.** (2021). The yin and yang of human soil-transmitted helminth infections. *International Journal for Parasitology*, **51**(13-14), 1243-1253. doi: 10.1016/j.ijpara.2021.11.001.
- Louveau, A., Harris, T. H. and Kipnis, J.** (2015). Revisiting the mechanisms of CNS immune privilege. *Trends in Immunology*, **36**(10), 569-577. doi: 10.1016/j.it.2015.08.006.
- Lu, M., Shi, H., Korner, H. and Taylor, B. V.** (2022). Alterations of subset and cytokine profile of peripheral T helper cells in PBMCs from multiple sclerosis patients or from individuals with MS risk SNPs near genes CYP27B1 and CYP24A1. *Cytokine*, **153**, Article Number 155866. doi: 10.1016/j.cyto.2022.155866.
- Lucki, I.** (1998). The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biological Psychiatry*, **44**(3), 151-162. doi: 10.1016/s0006-3223(98)00139-5.
- Lund, M. E., Greer, J., Dixit, A., Alvarado, R., McCauley-Winter, P., To, J., Tanaka, A., Hutchinson, A. T., Robinson, M. W., Simpson, A. M., O'Brien, B. A., Dalton, J. P. and Donnelly, S.** (2016). A parasite-derived 68-mer peptide ameliorates autoimmune disease in murine models of type 1 diabetes and multiple sclerosis. *Scientific Reports*, **6**, Article Number 37789. doi: 10.1038/srep37789.
- Lundmark, F., Duvefelt, K., Iacobaeus, E., Kockum, I., Wallstrom, E., Khademi, M., Oturai, A., Ryder, L. P., Saarela, J., Harbo, H. F., Celius, E. G., Salter, H., Olsson, T. and Hillert, J.** (2007). Variation in interleukin 7 receptor a chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. *Nature Genetics*, **39**(9), 1108-1113. doi: 10.1038/ng2106.
- Ma, G. X., Holland, C. V., Wang, T., Hofmann, A., Fan, C. K., Maizels, R. M., Hotez, P. J. and Gasser, R. B.** (2018). Human toxocariasis. *Lancet Infectious Diseases*, **18**(1), E14-E24. doi: 10.1016/s1473-3099(17)30331-6.

- Ma, G. X., Rostami, A., Wang, T., Hofmann, A., Hotez, P. J. and Gasser, R. B.** (2020). Global and regional seroprevalence estimates for human toxocariasis: A call for action. In *Toxocara and Toxocariasis*, Advances in Parasitology, Vol. 109 (ed. Bowman, D. D.), pp. 275-290. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.011
- MagnaVal, J. F., Fabre, R., Maurieres, P., Charlet, J. P. and Delarrard, B.** (1991). Application of the western blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis. *Parasitology Research*, **77(8)**, 697-702. doi: 10.1007/bf00928685.
- Macháček, T.** (2020). The immune response of naive mice infected with the neuropathogenic schistosome *Trichobilharzia regenti*. Dizertační práce. <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/123330>
- Maizels, R. M.** (2020). Regulation of immunity and allergy by helminth parasites. *Allergy*, **75(3)**, 524-534. doi: 10.1111/all.13944.
- Maizels, R. M., Desavigny, D. and Ogilvie, B. M.** (1984). Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* infective larvae. *Parasite Immunology*, **6(1)**, 23-37. doi: 10.1111/j.1365-3024.1984.tb00779.x.
- Maizels, R. M. and McSorley, H. J.** (2016). Regulation of the host immune system by helminth parasites. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **138(3)**, 666-675. doi: 10.1016/j.jaci.2016.07.007.
- Maizels, R. M., Smits, H. H. and McSorley, H. J.** (2018). Modulation of host immunity by helminths: The expanding repertoire of parasite effector molecules. *Immunity*, **49(5)**, 801-818. doi: 10.1016/j.immuni.2018.10.016.
- Manini, M. P., Marchioro, A. A., Colli, C. M., Nishi, L. and Falavigna-Guilherme, A. L.** (2012). Association between contamination of public squares and seropositivity for *Toxocara spp.* in children. *Veterinary Parasitology*, **188(1-2)**, 48-52. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.03.011.
- Marrodan, M., Alessandro, L., Farez, M. F. and Correale, J. E.** (2019). The role of infections in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, **25(7)**, 891-901. doi: 10.1177/1352458518823940.
- Martinez-Forero, I., Garcia-Munoz, R., Martinez-Pasamar, S., Inoges, S., De Cerio, A. L. D., Palacios, R., Sepulcre, J., Moreno, B., Gonzalez, Z., Fernandez-Diez, B., Melero, I., Bendandi, M. and Villoslada, P.** (2008). IL-10 suppressor activity and ex vivo Tr1 cell function are impaired in multiple sclerosis. *European Journal of Immunology*, **38(2)**, 576-586. doi: 10.1002/eji.200737271.
- Maruszewska-Cheruiyot, M., Donskow-Lysoniewska, K. and Doligalska, M.** (2019). Helminth therapy - local and systemic activity, on example of inflammatory bowel diseases and multiple

- sclerosis. *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej*, **73**, 645-653. doi: 10.5604/01.3001.0013.6092.
- McSorley, H. J., Hewitson, J. P. and Maizels, R. M.** (2013). Immunomodulation by helminth parasites: Defining mechanisms and mediators. *International Journal for Parasitology*, **43(3-4)**, 301-310. doi: 10.1016/j.ijpara.2012.11.011.
- McSorley, H. J. and Maizels, R. M.** (2012). Helminth infections and host immune regulation. *Clinical Microbiology Reviews*, **25(4)**, 585-608. doi: 10.1128/cmr.05040-11.
- Miller, S. D., Karpus, W. J. and Davidson, T. S.** (2007). Experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse. *Current Protocols in Immunology*, **Chapter: Unit-15.1**. doi: 10.1002/0471142735.im1501s77.
- Miller, S. D., Katz-Levy, Y., Neville, K. L. and Vanderlugt, C. L.** (2001). Virus-induced autoimmunity: Epitope spreading to myelin autoepitopes in Theiler's virus infection of the central nervous system. *Advances in Virus Research*, **56**, 199-217. doi: 10.1016/s0065-3527(01)56008-x.
- Miller, S. D., Vanderlugt, C. L., Begolka, W. S., Pao, W., Yauch, R. L., Neville, K. L., KatzLevy, Y., Carrizosa, A. and Kim, B. S.** (1997). Persistent infection with Theiler's virus leads to CNS autoimmunity via epitope spreading. *Nature Medicine*, **3(10)**, 1133-1136. doi: 10.1038/nm1097-1133.
- Mitsdoerffer, M. and Peters, A.** (2016). Tertiary lymphoid organs in central nervous system autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, **7**, Article Number 00451. doi: 10.3389/fimmu.2016.00451.
- Mokhtarian, F., Shi, Y. and Grob, D.** (1996). Epitopes of Semliki forest virus which evoke crossreactive immune response with peptides of the central nervous system. *Faseb Journal*, **10(6)**, 2092-2092. Meeting Abstract.
- Mokhtarian, F., Shi, Y., Zhu, P. F. and Grob, D.** (1994). Immune responses, and autoimmune outcome, during virus infection of central nervous system. *Cellular Immunology*, **157(1)**, 195-210. doi: 10.1006/cimm.1994.1216.
- Mokhtarian, F., Zhang, Z. G., Shi, Y., Gonzales, E. and Sobel, R. A.** (1999). Molecular mimicry between a viral peptide and a myelin oligodendrocyte glycoprotein peptide induces autoimmune demyelinating disease in mice. *Journal of Neuroimmunology*, **95(1-2)**, 43-54. doi: 10.1016/s0165-5728(98)00254-9.
- Montalban, X., Hauser, S. L., Kappos, L., Arnold, D. L., Bar-Or, A., Comi, G., de Seze, J., Giovannoni, G., Hartung, H. P., Hemmer, B., Lublin, F., Rammohan, K. W., Selmaj, K., Traboulsee, A., Sauter, A., Masterman, D., Fontoura, P., Belachew, S., Garren, H.,**

- Mairon, N., Chin, P., Wolinsky, J. S. and Investigators, O. C.** (2017). Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, **376(3)**, 209-220. doi: 10.1056/NEJMoa1606468.
- Mousavi, S. E., Heydarpour, P., Reis, J., Amiri, M. and Sahraian, M. A.** (2017). Multiple sclerosis and air pollution exposure: Mechanisms toward brain autoimmunity. *Medical Hypotheses*, **100**, 23-30. doi: 10.1016/j.mehy.2017.01.003.
- Murphy, K. M. and Stockinger, B.** (2010). Effector T cell plasticity: flexibility in the face of changing circumstances. *Nature Immunology*, **11(8)**, 674-680. doi: 10.1038/ni.1899.
- Navi, Z., Fata, A., Rad, M. J., Mogaddas, E., Mahmoudi, M., Rastin, M., Bazaz, M. M., Arab, F. L., Negah, S. S. and Heidari, A. R.** (2020). *Dicrocoelium* ova can block the induction phase of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Parasite Immunology*, **42(12)**, Article Number 12792. doi: 10.1111/pim.12792.
- Neville, K. L., Matis, L. and Miller, S. D.** (2000). Myelin-specific tolerance attenuates disease severity in a virally induced model of multiple sclerosis. *Faseb Journal*, **14(6)**, A1199-A1199. Meeting Abstract.
- Nicoletti, A.** (2020). Neurotoxocariasis. In *Toxocara and Toxocariasis, Advances in Parasitology*, Vol. 109 (ed. Bowman, D. D.), pp. 219-231. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.007.
- Njenga, M. K., Marques, C. and Rodriguez, M.** (2004). The role of cellular immune response in Theiler's virus-induced central nervous system demyelination. *Journal of Neuroimmunology*, **147(1-2)**, 73-77. doi: 10.1016/j.jneuroim.2003.10.042.
- Noordin, R., Smith, H. V., Mohamad, S., Maizels, R. M. and Fong, M. Y.** (2005). Comparison of IgG-ELISA and IgG4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis. *Acta Tropica*, **93(1)**, 57-62. doi: 10.1016/j.actatropica.2004.09.009.
- Noordin, R., Yunus, M. H., Farrizam, S. N. T. and Arifin, N.** (2020). Serodiagnostic methods for diagnosing larval toxocariasis. In *Toxocara and Toxocariasis, Advances in Parasitology*, Vol. 109 (ed. Bowman, D. D.), pp. 131-152. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.003.
- Noori-Zadeh, A., Mesbah-Namin, S. A. and Saboor-Yaraghi, A. A.** (2017). Epigenetic and gene expression alterations of FOXP3 in the T cells of EAE mouse model of multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, **375**, 203-208. doi: 10.1016/j.jns.2017.01.060.
- Novák, J., Macháček, T., Majer, M., Kostelanská, M., Skulinová, K., Černý, V., Kolářová, L., Hrdý, J. and Horák, P.** (2022). *Toxocara canis* infection worsens the course of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Parasitology*, **148(4)**. doi: 10.1017/S0031182022001238.

- Novák, J., Panská, L., Macháček, T., Kolářová, L. and Horák, P.** (2017). Humoral response of mice infected with *Toxocara canis* following different infection schemes. *Acta Parasitologica*, **62(4)**, 823-835. doi: 10.1515/ap-2017-0099.
- Olson, J. K., Croxford, J. L. and Miller, S. D.** (2001). Virus-induced autoimmunity: Potential role of viruses in initiation, perpetuation, and progression of T-cell-mediated autoimmune disease. *Viral Immunology*, **14(3)**, 227-250. doi: 10.1089/088282401753266756.
- Olson, J. K., Croxford, J. L. and Miller, S. D.** (2003). Theiler's murine encephalomyelitis virus-induced CNS autoimmunity. *Asm News*, **69(9)**, 449-455.
- Oppmann, B., Lesley, R., Blom, B., Timans, J. C., Xu, Y. M., Hunte, B., Vega, F., Yu, N., Wang, J., Singh, K., Zonin, F., Vaisberg, E., Churakova, T., Liu, M. R., Gorman, D., Wagner, J., Zurawski, S., Liu, Y. J., Abrams, J. S., Moore, K. W., Rennick, D., de Waal-Malefyt, R., Hannum, C., Bazan, J. F. and Kastelein, R. A.** (2000). Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity*, **13(5)**, 715-725. doi: 10.1016/s1074-7613(00)00070-4.
- Oreja-Guevara, C., Ramos-Cejudo, J., Aroeira, L. S., Chamorro, B. and Diez-Tejedor, E.** (2012). TH1/TH2 cytokine profile in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with glatiramer acetate or natalizumab. *Bmc Neurology*, **12**, Article Number 95. doi: 10.1186/1471-2377-12-95.
- Ota, K., Matsui, M., Milford, E. L., Mackin, G. A., Weiner, H. L. and Hafler, D. A.** (1990). T-cell recognition of an immunodominant myelin basic protein epitope in multiple sclerosis. *Nature*, **346(6280)**, 183-187. doi: 10.1038/346183a0.
- Othman, A. A., Abdel-Aleem, G. A., Saied, E. M., Mayah, W. W. and Elatrash, A. M.** (2010). Biochemical and immunopathological changes in experimental neurotoxocariasis. *Molecular and Biochemical Parasitology*, **172(1)**, 1-8. doi: 10.1016/j.molbiopara.2010.03.006.
- Othy, S., Jairaman, A., Dynes, J. L., Dong, T. X., Tune, C., Yeromin, A. V., Zavala, A., Akunwafo, C., Chen, F. Y., Parker, I. and Cahalan, M. D.** (2020). Regulatory T cells suppress Th17 cell Ca²⁺ signaling in the spinal cord during murine autoimmune neuroinflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **117(33)**, 20088-20099. doi: 10.1073/pnas.2006895117.
- Palomares, O., Martin-Fontecha, M., Lauener, R., Traidl-Hoffmann, C., Cavkaytar, O., Akdis, M. and Akdis, C. A.** (2014). Regulatory T cells and immune regulation of allergic diseases: roles of IL-10 and TGF-beta. *Genes and Immunity*, **15(8)**, 511-520. doi: 10.1038/gene.2014.45.

- Pandiyan, P., Zheng, L. X., Ishihara, S., Reed, J. and Lenardo, M. J.** (2007). CD4(+) CD25(+) Foxp3(+) regulatory T cells induce cytokine deprivation -mediated apoptosis of effector CD4(+) T cells. *Nature Immunology*, **8(12)**, 1353-1362. doi: 10.1038/ni1536.
- Pardridge, W. A.** (2009). Alzheimer's disease drug development and the problem of the blood-brain barrier. *Alzheimers & Dementia*, **5(5)**, 427-432. doi: 10.1016/j.jalz.2009.06.003.
- Patsopoulos, N. A., Barcellos, L. F., Hintzen, R. Q., Schaefer, C., Van Duijn, C. M., Noble, J. A., Raj, T., Gourraud, P. A., Stranger, B. E., Oksenberg, J., Olsson, T., Taylor, B. V., Sawcer, S., Hafler, D. A., Carrington, M., De Jager, P. L., De Bakker, P. I. W., Imsgc and Anzgene** (2013). Fine-mapping the genetic association of the major histocompatibility complex in multiple sclerosis: HLA and non-HLA effects. *Plos Genetics*, **9(11)**, Article Number 1003926. doi: 10.1371/journal.pgen.1003926.
- Peon, A. N., Ledesma-Soto, Y., Olguin, J. E., Bautista-Donis, M., Sciutto, E. and Terrazas, L. I.** (2017). Helminth products potently modulate experimental autoimmune encephalomyelitis by downregulating neuroinflammation and promoting a suppressive microenvironment. *Mediators of Inflammation*, **2017**, Article Number 8494572. doi: 10.1155/2017/8494572.
- Pino, P. A. and Cardona, A. E.** (2011). Isolation of brain and spinal cord mononuclear cells using percoll gradients. *Jove-Journal of Visualized Experiments*, **48**, Article Number 2348. doi: 10.3791/2348.
- Pivetti-Pezzi, P.** (2009). Ocular toxocariasis. *International Journal of Medical Sciences*, **6(3)**, 129-130. Editorial Material.
- Polfliet, M. M. J., van de Veerdonk, F., Dopp, E. A., van Kesteren-Hendriks, E. M. L., van Rooijen, N., Dijkstra, C. D. and van den Berg, T. K.** (2002). The role of perivascular and meningeal macrophages in experimental allergic encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology*, **122(1-2)**, 1-8. doi: 10.1016/s0165-5728(01)00445-3.
- Posová, H., Hrušková, Z., Havrdová, E. and Kolářová, L.** (2017). *Toxocara spp.* seronegativity in Czech patients with early form of multiple sclerosis clinically isolated syndrome. *Epidemiologie Mikrobiologie Imunologie*, **66(3)**, 124-127.
- Procaccini, C., De Rosa, V., Pucino, V., Formisano, L. and Matarese, G.** (2015). Animal models of multiple sclerosis. *European Journal of Pharmacology*, **759**, 182-191. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.03.042.
- Pullan, R. L., Smith, J. L., Jasrasaria, R. and Brooker, S. J.** (2014). Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasites & Vectors*, **7**, Article Number 37. doi: 10.1186/1756-3305-7-37.

- Qiu, R. Z., Zhou, L. Y., Ma, Y. J., Zhou, L. L., Liang, T., Shi, L., Long, J. and Yuan, D. P.** (2020). Regulatory T cell plasticity and stability and autoimmune diseases. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, **58(1)**, 52-70. doi: 10.1007/s12016-018-8721-0.
- Rad, M. J., Navi, Z., Heidari, A. R., Arab, F. L., Tabasi, N., Rastin, M., Rezaiyan, M. K., Moghaddas, E. and Mahmoudi, M.** (2022). Evaluation of the immunoregulatory effect of *Dicrocoelium dendriticum* eggs on inflammatory and anti-inflammatory cytokines in EAE model. *Parasite Immunology*, **44**, Article Number e12942. doi: 10.1111/pim.12942.
- Radovic, I., Gruden-Movsesijan, A., Ilic, N., Cvetkovic, J., Mojsilovic, S., Devic, M. and Sofronic-Milosavljevic, L.** (2015). Immunomodulatory effects of *Trichinella spiralis*-derived excretory-secretory antigens. *Immunologic Research*, **61(3)**, 312-325. doi: 10.1007/s12026-015-8626-4.
- Ransohoff, R. M.** (2012). Animal models of multiple sclerosis: the good, the bad and the bottom line. *Nature Neuroscience*, **15(8)**, 1074-1077. doi: 10.1038/nn.3168.
- Ransohoff, R. M. and Engelhardt, B.** (2012). The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. *Nature Reviews Immunology*, **12(9)**, 623-635. doi: 10.1038/nri3265.
- Reddy, J., Illes, Z., Zhang, X. M., Encinas, J., Pyrdol, J., Nicholson, L., Sobel, R. A., Wucherpfennig, K. W. and Kuchroo, V. K.** (2004). Myelin proteolipid protein-specific CD4(+) CD25(+) regulatory cells mediate genetic resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101(43)**, 15434-15439. doi: 10.1073/pnas.0404444101.
- Reyes, J. L., Espinoza-Jimenez, A. F., Gonzalez, M. I., Verdin, L. and Terrazas, L. I.** (2011). *Taenia crassiceps* infection abrogates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Cellular Immunology*, **267(2)**, 77-87. doi: 10.1016/j.cellimm.2010.11.006.
- Reyes, J. L., Espinoza, A. F. and Terrazas, L. I.** (2009). *Taenia crassiceps* infection and its antigens abrogate experimental autoimmune encephalomyelitis, a role for alternatively activated macrophages (AAM). *Journal of Immunology*, **182**. Meeting Abstract.
- Rook, G. A. W., Adams, V., Hunt, J., Palmer, R., Martinelli, R. and Brunet, L. R.** (2004). Mycobacteria and other environmental organisms as immunomodulators for immunoregulatory disorders. *Springer Seminars in Immunopathology*, **25(3-4)**, 237-255. doi: 10.1007/s00281-003-0148-9.
- Rook, G. A. W., Martinelli, R. and Brunet, L. R.** (2003). Innate immune responses to mycobacteria and the downregulation of atopic responses. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, **3(5)**, 337-342. doi: 10.1097/01.all.0000092602.76804.ad.

- Rostami, A., Riahi, S. M., Hofmann, A., Ma, G. X., Wang, T., Behniafar, H., Taghipour, A., Fakhri, Y., Spotin, A., Chang, B. C. H., Macpherson, C. N. L., Hotez, P. J. and Gasser, R. B.** (2020). Global prevalence of *Toxocara* infection in dogs. In *Toxocara and Toxocariasis, Advances in Parasitology*, Vol. 109 (ed. Bowman, D. D.), pp. 561-583. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.017
- Rostami, A., Riahi, S. M., Holland, C. V., Taghipour, A., Khalili-Fomeshi, M., Fakhri, Y., Omrani, V. F., Hotez, P. J. and Gasser, R. B.** (2019). Seroprevalence estimates for toxocariasis in people worldwide: A systematic review and meta-analysis. *Plos Neglected Tropical Diseases*, **13(12)**, Article Number 0007809. doi: 10.1371/journal.pntd.0007809.
- Ruiz-Manzano, R. A., Hernandez-Cervantes, R., Del Rio-Araiza, V. H., Palacios-Arreola, M. I., Nava-Castro, K. E. and Morales-Montor, J.** (2019). Immune response to chronic *Toxocara canis* infection in a mice model. *Parasite Immunology*, **41(12)**, Article Number 12672. doi: 10.1111/pim.12672.
- Ruther, B. J., Scheld, M., Drey Mueller, D., Clarner, T., Kress, E., Brandenburg, L. O., Swartenbroekx, T., Hoornaert, C., Ponsaerts, P., Fallier-Becker, P., Beyer, C., Rohr, S. O., Schmitz, C., Chrzanowski, U., Hochstrasser, T., Nyamoya, S. and Kipp, M.** (2017). Combination of cuprizone and experimental autoimmune encephalomyelitis to study inflammatory brain lesion formation and progression. *Glia*, **65(12)**, 1900-1913. doi: 10.1002/glia.23202.
- Ryan, S. M., Eichenberger, R. M., Ruscher, R., Giacomini, P. R. and Loukas, A.** (2020). Harnessing helminth-driven immunoregulation in the search for novel therapeutic modalities. *Plos Pathogens*, **16(5)**, Article Number 1008508. doi: 10.1371/journal.ppat.1008508.
- Sabel, C. E., Pearson, J. F., Mason, D. F., Willoughby, E., Abernethy, D. A. and Taylor, B. V.** (2021). The latitude gradient for multiple sclerosis prevalence is established in the early life course. *Brain*, **144**, 2038-2046. doi: 10.1093/brain/awab104.
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M. and Toda, M.** (1995). Immunological self-tolerance maintained by activated T-cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25) - breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune-diseases. *Journal of Immunology*, **155(3)**, 1151-1164.
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M. and Toda, M.** (2011). Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25) breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *Journal of Immunology*, **186(7)**, 3808-3821.

- Sakaguchi, S., Vignali, D. A. A., Rudensky, A. Y., Niec, R. E. and Waldmann, H.** (2013). The plasticity and stability of regulatory T cells. *Nature Reviews Immunology*, **13(6)**, 461-467. doi: 10.1038/nri3464.
- Salehi, Z., Beheshti, M., Nomanpour, B., Khosravani, P., Naseri, M., Sahraian, M. A. and Izad, M.** (2021). The association of EBV and HHV-6 viral load with different NK and CD8(+) T cell subsets in the acute phase of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Cell Journal*, **23(6)**, 626-632. doi: 10.22074/cellj.2021.7308.
- Santos, P. C., Lehmann, L. M., Lorenzi, C., Hirsch, C., Telmo, P. L., Mattos, G. T., Cadore, P. S., Klafke, G. B., Berne, M. E. A., Goncalves, C. V. and Scaini, C. J.** (2015). The seropositivity of *Toxocara spp.* antibodies in pregnant women attended at the University Hospital in Southern Brazil and the factors associated with infection. *Plos One*, **10(7)**, Article Number 0131058. doi: 10.1371/journal.pone.0131058.
- Santos, P. C., Telmo, P. L., Lehmann, L. M., Lorenzi, C., Hirsch, C., Mattos, G. T., Klafke, G. B., Berne, M. E. A., Goncalves, C. V. and Scaini, C. J.** (2017). Frequency of *Toxocara spp.* antibodies in umbilical cords of newborns attended at the University Hospital in Southern Brazil and factors associated with infection. *Acta Tropica*, **170**, 43-47. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.02.003.
- Sasaki, A.** (2017). Microglia and brain macrophages: An update. *Neuropathology*, **37(5)**, 452-464. doi: 10.1111/neup.12354.
- Sasmal, N. K., Pahari, T. K. and Laha, R.** (2008). Experimental infection of the cockroach *Periplaneta americana* with *Toxocara canis* and the establishment of patent infections in pups. *Journal of Helminthology*, **82(2)**, 97-100. doi: 10.1017/s0022149x07875936.
- Seboun, E., Carsique, R., PahmDinh, D., BoespflugTanguy, O., Goodkin, D. E., Lathrop, M., Rimmler, J., Haines, J. L., Oksenberg, J., Fizames, C., Lincoln, R., PericakVance, M. A., Gusella, J. F., Roses, A. D., Weissenbach, J., Dautigny, A. and Hauser, S. L.** (1996). Genetic susceptibility to multiple sclerosis: The role of MAG, MBP, MOG, OMGP, and PLP. *Neurology*, **46(2)**, 34004. Meeting Abstract.
- Segal, B. M. and Shevach, E. M.** (1996). IL-12 unmasks latent autoimmune disease in resistant mice. *Journal of Experimental Medicine*, **184(2)**, 771-775. doi: 10.1084/jem.184.2.771.
- Sewell, D., Qing, Z., Reinke, E., Elliot, D., Weinstock, J., Sandor, M. and Fabry, Z.** (2003). Immunomodulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by helminth ova immunization. *International Immunology*, **15(1)**, 59-69. doi: 10.1093/intimm/dxg012.

- Sharif, Y., Jumah, F., Coplan, L., Krosser, A., Sharif, K. and Tubbs, R. S.** (2018). Blood brain barrier: A review of its anatomy and physiology in health and disease. *Clinical Anatomy*, **31(6)**, 812-823. doi: 10.1002/ca.23083.
- Shechter, R., London, A. and Schwartz, M.** (2013). Orchestrated leukocyte recruitment to immune-privileged sites: absolute barriers versus educational gates. *Nature Reviews Immunology*, **13(3)**, 206-218. doi: 10.1038/nri3391.
- Shechter, R., Miller, O., Yovel, G., Rosenzweig, N., London, A., Rist, J., Kim, K. W., Jung, S. and Schwartz, M.** (2012). Orchestrated monocyte trafficking via the blood-cerebrospinal fluid-barrier following spinal cord injury. *Journal of Neuroimmunology*, **253(1-2)**, 6-7. Meeting Abstract.
- Schierack, P., Lucius, R., Sonnenburg, B., Schilling, K. and Hartmann, S.** (2003). Parasite-specific immunomodulatory functions of filarial cystatin. *Infection and Immunity*, **71(5)**, 2422-2429. doi: 10.1128/iai.71.5.2422-2429.2003.
- Skulinová, K., Novák, J., Kašný, M. and Kolářová, L.** (2020). Seroprevalence of larval toxocarosis in the Czech Republic. *Acta Parasitologica*, **65(1)**, 68-76. doi: 10.2478/s11686-019-00121-0.
- Skulinová, K., Novák, J., Kolářová, L. and Kašný, M.** (2022). Antigenic proteins from the excretory-secretory products of *Toxocara canis* larvae and evaluation of their potential for immunodiagnosics of larval toxocarosis. *Acta Parasitologica*, **67(2)**, 705-713. doi: 10.1007/s11686-021-00485-2.
- Sofronic-Milosavljevic, L., Radovic, I., Ilic, N., Majstorovic, I., Cvetkovic, J. and Gruden-Movsesijan, A.** (2013). Application of dendritic cells stimulated with *Trichinella spiralis* excretory-secretory antigens alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Medical Microbiology and Immunology*, **202(3)**, 239-249. doi: 10.1007/s00430-012-0286-6.
- Sonobe, Y., Jin, S., Wang, J., Kawanokuchi, J., Takeuchi, H., Mizuno, T. and Suzumura, A.** (2007). Chronological changes of CD4(+) and CD8(+) T cell subsets in the periphery and CNS during the course of EAE. *Neuroscience Research*, **58**, S106-S106. doi: 10.1016/j.neures.2007.06.1187.
- Sospedra, M. and Martin, R.** (2005). Immunology of multiple sclerosis. *Annual Review of Immunology*, **23**, 683-747. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115707.
- Springer, A., Heuer, L., Janecek-Erfurth, E., Beineke, A. and Strube, C.** (2019). Histopathological characterization of *Toxocara canis*- and *T. cati*-induced neurotoxocarosis in the mouse model. *Parasitology Research*, **118(9)**, 2591-2600. doi: 10.1007/s00436-019-06395-7.
- Strachan, D. P.** (1989). Hay-fever, hygiene, and household size. *British Medical Journal*, **299(6710)**, 1259-1260. doi: 10.1136/bmj.299.6710.1259.

- Stromnes, I. M. and Goverman, J. M.** (2006a). Active induction of experimental allergic encephalomyelitis. *Nature Protocols*, **1(4)**, 1810-1819. doi: 10.1038/nprot.2006.285.
- Stromnes, I. M. and Goverman, J. M.** (2006b). Passive induction of experimental allergic encephalomyelitis. *Nature Protocols*, **1(4)**, 1952-1960. doi: 10.1038/nprot.2006.284.
- Strube, C., Heuer, L. and Janecek, E.** (2013). *Toxocara spp.* infections in paratenic hosts. *Veterinary Parasitology*, **193(4)**, 375-389. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.033.
- Strube, C., Raulf, M. K., Springer, A., Waindok, P. and Auer, H.** (2020a). Seroprevalence of human toxocarosis in Europe: A review and meta-analysis. In *Toxocara and Toxocariasis, Advances in Parasitology*, Vol. 109 (ed. Bowman, D. D.), pp. 375-418. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.014
- Strube, C., Waindok, P., Raulf, M. K. and Springer, A.** (2020b). *Toxocara*-induced neural larva migrans (neurotoxocarosis) in rodent model hosts. In *Toxocara and Toxocariasis, Advances in Parasitology*, Vol. 109 (ed. Bowman, D. D.), pp. 189-218. doi: 10.1016/bs.apar.2020.01.006.
- Subramaniam, S. R. and Federoff, H. J.** (2017). Targeting microglial activation states as a therapeutic avenue in parkinson's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **9**, Article Number 00176. doi: 10.3389/fnagi.2017.00176.
- Tao, C. R., Simpson-Yap, S., Taylor, B., Blizzard, L., Lucas, R., Ponsonby, A. L., Broadley, S., van der Mei, I. and AusLong Ausimmune Investigators, G.** (2022). Markers of Epstein-Barr virus and Human Herpesvirus-6 infection and multiple sclerosis clinical progression. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, **59**, Article Number 103561. doi: 10.1016/j.msard.2022.103561.
- Taylor, M. R. H., Oconnor, P., Keane, C. T., Mulvihill, E. and Holland, C.** (1988). The expanded spectrum of toxocaral disease. *Lancet*, **1(8587)**, 692-695. doi: 10.1016/s0140-6736(88)91486-9.
- Terrazas, C., Ruiz-Rosado, J. D., Amici, S. A., Jablonski, K. A., Martinez-Saucedo, D., Webb, L. M., Cortado, H., Robledo-Avila, F., Oghumu, S., Satoskar, A. R., Rodriguez-Sosa, M., Terrazas, L. I., Guerau-de-Arellano, M. and Partida-Sanchez, S.** (2017). Helminth-induced Ly6C(hi) monocyte-derived alternatively activated macrophages suppress experimental autoimmune encephalomyelitis. *Scientific Reports*, **7**. Article Number 40814. doi: 10.1038/srep40814.
- Torre-Fuentes, L., Moreno-Jimenez, L., Pytel, V., Matias-Guiu, J. A., Gomez-Pinedo, U. and Matias-Guiu, J.** (2020). Experimental models of demyelination and remyelination. *Neurologia*, **35(1)**, 32-39. doi: 10.1016/j.nrl.2017.07.002.

- Tran, G. T., Wilcox, P. L., Dent, L. A., Robinson, C. M., Carter, N., Verma, N. D., Hall, B. M. and Hodgkinson, S. J.** (2017). Interleukin-5 mediates parasite-induced protection against experimental autoimmune encephalomyelitis: Association with induction of antigen-specific CD4(+) CD25(+) T regulatory cells. *Frontiers in Immunology*, **8**, Article Number 01453. doi: 10.3389/fimmu.2017.01453.
- Uhlíková, M. and Hübner, J.** (1998). Seroprevalence of *Toxocara canis* infection in Czech Republic. *Central European Journal of Public Health*, **6(3)**, 195-198.
- Vanderlugt, C. L. and Miller, S. D.** (2002). Epitope spreading in immunemediated diseases: Implications for immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, **2(2)**, 85-95. doi: 10.1038/nri724.
- Venken, K., Hellings, N., Broekmans, T., Hensen, K., Rummens, J. L. and Stinissen, P.** (2008). Natural naive CD4(+)CD25(+)CD127(low) regulatory T cell (Treg) development and function are disturbed in multiple sclerosis patients: Recovery of memory treg homeostasis during disease progression. *Journal of Immunology*, **180(9)**, 6411-6420. doi: 10.4049/jimmunol.180.9.6411.
- Waindok, P., Raue, K., Grilo, M. L., Siebert, U. and Strube, C.** (2021). Predators in northern Germany are reservoirs for parasites of one health concern. *Parasitology Research*, **120(12)**, 4229-4239. doi: 10.1007/s00436-021-07073-3.
- Waindok, P., Strube, C.** (2019). Neuroinvasion of *Toxocara canis*- and *T. cati*-larvae mediates dynamic changes in brain cytokine and chemokine profile. *Journal of Neuroinflammation*, **16**, Article Number 147. doi: 10.1186/s12974-019-1537-x.
- Walsh, K. P., Brady, M. T., Finlay, C. M., Boon, L. and Mills, K. H. G.** (2009). Infection with a helminth parasite attenuates autoimmunity through TGF-beta-mediated suppression of Th17 and Th1 responses. *Journal of Immunology*, **183(3)**, 1577-1586. doi: 10.4049/jimmunol.0803803.
- Walton, C., King, R., Rechtman, L., Kaye, W., Leray, E., Marrie, R. A., Robertson, N., La Rocca, N., Uitdehaag, B., van der Mei, I., Wallin, M., Helme, A., Napier, C. A., Rijke, N. and Baneke, P.** (2020). Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition. *Multiple Sclerosis Journal*, **26(14)**, 1816-1821. doi: 10.1177/1352458520970841.
- Weinstock, J. V. and Elliott, D. E.** (2009). Helminths and the IBD hygiene hypothesis. *Inflammatory Bowel Diseases*, **15(1)**, 128-133. doi: 10.1002/ibd.20633.
- Weiss, G. A. and Hennet, T.** (2017). Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **74(16)**, 2959-2977. doi: 10.1007/s00018-017-2509-x.

- Weller, R. O., Kida, S. and Zhang, E. T.** (1992). Pathways of fluid drainage from the brain - morphological aspects and immunological significance in rat and man. *Brain Pathology*, **2(4)**, 277-284. doi: 10.1111/j.1750-3639.1992.tb00704.x.
- Wensky, A. K., Furtado, G. C., Marcondes, M. C. G., Chen, S. H., Manfra, D., Lira, S. A., Zagzag, D. and Lafaille, J. J.** (2005). IFN-gamma determines distinct clinical outcomes in autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology*, **174(3)**, 1416-1423. doi: 10.4049/jimmunol.174.3.1416.
- Wickramasinghe, S., Yatawara, L., Nagataki, M., Takamoto, M., Watanabe, Y., Rajapakse, R., Uda, K., Suzuki, T. and Agatsuma, T.** (2008). Development of a highly sensitive IgG-ELISA based on recombinant arginine kinase of *Toxocara canis* for serodiagnosis of visceral larva migrans in the murine model. *Parasitology Research*, **103(4)**, 853-858. doi: 10.1007/s00436-008-1067-4.
- Wilson, M. S., Taylor, M. D., O'Gorman, M. T., Balic, A., Barr, T. A., Filbey, K., Anderton, S. M. and Maizels, R. M.** (2010). Helminth-induced CD19(+)CD23(hi) B cells modulate experimental allergic and autoimmune inflammation. *European Journal of Immunology*, **40(6)**, 1682-1696. doi: 10.1002/eji.200939721.
- Winkelmann, A., Engel, C., Apel, A. and Zettl, U. K.** (2007). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, **254**, 35-42. doi: 10.1007/s00415-007-2010-9.
- Winter, J. R., Jackson, C., Lewis, J. E. A., Taylor, G. S., Thomas, O. G. and Stagg, H. R.** (2020). Predictors of Epstein-Barr virus serostatus and implications for vaccine policy: A systematic review of the literature. *Journal of Global Health*, **10(1)**, Article Number 010404. doi: 10.7189/jogh.10.010404.
- Wolf, Y., Shemer, A., Levy-Efrati, L., Gross, M., Kim, J. S., Engel, A., David, E., Chappell-Maor, L., Grozovski, J., Rotkopf, R., Biton, I., Eilam-Altstadter, R. and Jung, S.** (2018). Microglial MHC class II is dispensable for experimental autoimmune encephalomyelitis and cuprizone-induced demyelination. *European Journal of Immunology*, **48(8)**, 1308-1318. doi: 10.1002/eji.201847540.
- Wu, T. and Bowman, D. D.** (2020). Visceral larval migrans of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* in non-canid and non-felid hosts. In *Toxocara and Toxocariasis, Advances in Parasitology*, Vol. 109 (ed. Bowman, D. D.), pp. 63-88. doi: 10.1016/bs.apar.2020.02.001
- Wu, Z. L., Nagano, I., Asano, K. and Takahashi, Y.** (2010). Infection of non-encapsulated species of *Trichinella* ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis involving suppression of Th17 and Th1 response. *Parasitology Research*, **107(5)**, 1173-1188. doi: 10.1007/s00436-010-1985-9.

- Yordanova, I. A., Ebner, F., Schulz, A. R., Steinfelder, S., Rosche, B., Bolze, A., Paul, F., Mei, H. E. and Hartmann, S.** (2021). The worm-specific immune response in multiple sclerosis Patients receiving controlled *Trichuris suis* ova immunotherapy. *Life-Basel*, **11(2)**, Article Number 11020101. doi: 10.3390/life11020101.
- Yoshikawa, M., Nishiofuku, M., Moriya, K., Ouji, Y., Ishizaka, S., Kasahara, K., Mikasa, K. I., Hirai, T., Mizuno, Y., Ogawa, S., Nakamura, T., Maruyama, H. and Akao, N.** (2008). A familial case of visceral toxocariasis due to consumption of raw bovine liver. *Parasitology International*, **57(4)**, 525-529. doi: 10.1016/j.parint.2008.08.002.
- Yu, Z. W., Fang, X., Liu, W. L., Sun, R., Zhou, J. T., Pu, Y. Y., Zhao, M., Sun, D. Y., Xiang, Z. H., Liu, P., Ding, Y. Q., Cao, L. and He, C.** (2022). Microglia regulate blood-brain barrier integrity via MiR-126a-5p/MMP9 axis during inflammatory demyelination. *Advanced Science*, **9(24)**, Article Number 202104552. doi: 10.1002/advs.202105442.
- Yunus, M. H., Farrizam, S. N. T., Karim, I. Z. A. and Noordin, R.** (2018). A lateral flow rapid test for human toxocariasis developed using three *Toxocara canis* recombinant antigens. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **98(1)**, 32-38. doi: 10.4269/ajtmh.17-0632.
- Zhang, X. M., Koldzic, D. N., Izikson, L., Reddy, J., Nazareno, R. F., Sakaguchi, S., Kuchroo, V. K. and Weiner, H. L.** (2004). IL-10 is involved in the suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells. *International Immunology*, **16(2)**, 249-256. doi: 10.1093/intimm/dxh029.
- Zhang, Z., Zhang, Z. Y., Schittenhelm, J., Wu, Y., Meyermann, R. and Schluesener, H. J.** (2011). Parenchymal accumulation of CD163(+) macrophages/microglia in multiple sclerosis brains. *Journal of Neuroimmunology*, **237(1-2)**, 73-79. doi: 10.1016/j.jneuroim.2011.06.006.
- Zheng, X. P., Hu, X. Q., Zhou, G. Y., Lu, Z. Q., Qiu, W., Bao, H. and Dai, Y. Q.** (2008). Soluble egg antigen from *Schistosoma japonicum* modulates the progression of chronic progressive experimental autoimmune encephalomyelitis via Th2-shift response. *Journal of Neuroimmunology*, **194(1-2)**, 107-114. doi: 10.1016/j.jneuroim.2007.12.001.
- Zhu, B., Trikudanathan, S., Zozulya, A. L., Sandoval-Garcia, C., Kennedy, J. K., Atochina, O., Norberg, T., Castagner, B., Seeberger, P., Fabry, Z., Harn, D., Khoury, S. J. and Guleria, I.** (2012). Immune modulation by lacto-N-fucopentaose III in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clinical Immunology*, **142(3)**, 351-361. doi: 10.1016/j.clim.2011.12.006.