

A circular inset image showing a microscopic view of L3 larvae of *Parascaris univalens* and *Toxocara canis*. The larvae are small, round, and clustered together, with some showing internal structures.

Initial karakterisering av protein-innehållet i extracellulära vesiklar utsöndrade av *Parascaris univalens* och *Toxocara canis* L3-larver

Kamilla Persson

Självständigt arbete • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Institutionen för husdjurens biovetenskaper
Veterinärprogrammet
Uppsala 2024

Initial karaktärisering av protein-innehållet i extracellulära vesiklar utsöndrade av *Parascaris univalens* och *Toxocara canis* L3-larver

An initial characterization of proteins in extracellular vesicles secreted by Parascaris univalens and Toxocara canis L3 larvae

Kamilla Persson

Handledare: Magnus Åbrink, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Examinator: Gunnar Carlsson, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0862

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2024

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: spolmask, extracellulära vesiklar, *Parascaris univalens*, *Toxocara canis*, vaccin

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Sammanfattning

Infektioner orsakade av spolmaskar drabbar både människor och djur världen över. Spolmaskinfektioner hos djur innebär både hälsomässiga bekymmer och ekonomiska förluster. Med nuvarande behandlingsmetoder riskerar dessa problem att öka på grund av växande resistensutveckling. Behovet av nya, alternativa behandlingsmetoder har ökat intresset för vaccin riktat mot infektiösa larvstadier. Mål för framtida vaccin skulle kunna vara peptider som maskarna utsöndrar via sina exkretoriska sekretoriska produkter (ESPs), i syfte att dämpa värdens immunsvär. I ESP innefattas extracellulära vesiklar (EVs), som är lipidmembranbäddade vesiklar innehållandes bland annat proteiner och miRNA.

Vi har i den här studien initierat en karaktärisering av proteinerna i EVs utsöndrade från L3-larver av spolmaskarterna *Toxocara canis* och *Parascaris univalens* i syfte att finna proteiner involverade i maskens överlevnad i värddjuret. Flera av de proteiner vi identifierade i ESP/EVs har tidigare identifierats i ESP/EVs utsöndrade av andra helminter. Många av proteinerna har potential att modulera värdens immunsvär och på så vis gynna maskens överlevnad. Heat shock proteiner, transthyretinlika proteiner och koppar/zink-superoxiddismutaser är exempel på proteiner som urskilts i ESPs/EVs i flera studier, inklusive vår, och som skulle kunna vara av intresse som mål för ett framtida vaccin. På grund av stora kunskapsluckor krävs dock fler studier på de utsöndrade proteinernas funktion i värddjuret innan det går att avgöra deras relevans i fråga om utvecklingen av ett vaccin. Ytterligare studier om spolmaskars genom är också av stor vikt, eftersom det finns indikationer på att flera av de utsöndrade proteinerna kodas för i hyperdivergenta regioner i arvsmassan. Dessa regioner ger maskarna en god anpassningsförmåga, och ett vaccin riktat mot ett protein kodat för i en hyperdivergent region riskerar därför att driva resistens.

Den sammanställda slutsatsen är att spolmaskars ESP och EV-utsöndrade proteiner ändå utgör potentiella vaccinkandidater, men att vägen till ett vaccin fortfarande är lång och kanske inte helt spikrak.

Nyckelord: spolmask, extracellulära vesiklar, *Parascaris univalens*, *Toxocara canis*, vaccin

Abstract

Infections caused by roundworms affect both humans and animals worldwide. Roundworm infections in animals pose concerns for both health and economic losses. Due to growing resistance development, these problems are at risk of increasing. The need for new, alternative treatment methods has raised interest in vaccines targeting infectious larval stages. Targets for future vaccines could include peptides that the infectious worms secrete via their excretory-secretory products (ESPs), in order to suppress the host's immune response. ESPs include extracellular vesicles (EVs), which are lipid membrane-encapsulated vesicles containing proteins and miRNA, among other components.

In this study, we initiated a characterization of proteins in ESP/EVs secreted from L3 larvae of the roundworm species *Toxocara canis* and *Parascaris univalens* to identify proteins involved in the worm's survival in the host animal. Several of the proteins identified in ESP/EVs have previously been identified in ESP/EVs secreted by other helminths. Some of these proteins have the potential to modulate the host's immune response and thus promote the worm's survival. Heat shock proteins, transthyretin-like proteins, and copper/zinc superoxide dismutases are examples of proteins identified in ESP/EVs by several studies, including ours, that could be of interest as vaccine targets. However, due to gaps in knowledge, further studies on the function of the secreted proteins in the host animal are required before their role in the development of a vaccine can be determined. Further studies on the genomes of roundworms are also crucial, as there are indications that several of the secreted proteins are encoded in hyperdivergent regions of the genome. These regions play a role in the worms' adaptability, and a vaccine targeted against a protein encoded in a hyperdivergent region risks driving resistance.

In conclusion, the secreted proteins of roundworms' ESPs and EVs represent potential vaccine candidates, but the path to a vaccine is still long and most likely not straightforward.

Keywords: roundworm, extracellular vesicles, *Parascaris univalens*, *Toxocara canis*, vaccine

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	7
Förkortningar	8
1. Inledning	10
2. Material och metoder	11
2.1 Litteraturöversikt.....	11
2.2 Framrening av EVs för proteomik	11
3. Litteraturöversikt.....	13
3.1 Taxonomi	13
3.2 Ascariders livscyklar	13
3.3 Prevalens, behandlingsmetoder och resistens	14
3.3.1 <i>Parascaris univalens</i>	14
3.3.2 <i>Toxocara canis</i>	15
3.4 One Health-aspekter.....	16
3.4.1 Djurhälsa.....	16
3.4.2 Human hälsa.....	16
3.4.3 Ekonomi.....	17
3.4.4 Biologisk mångfald.....	18
3.5 Värddjurets immunsvaret mot helmintinfektioner.....	18
3.5.1 Inre faktorerens påverkan på immunsvaret.....	18
3.5.2 Immunsvaret mot larver i tarmen.....	19
3.5.3 Immunsvaret mot larver i lungorna	19
3.5.4 Immunsvaret mot aduler i tarmen.....	20
3.6 Exkretoriska sekretoriska produkter och extracellulära vesiklar.....	21
3.6.1 miRNA nedreglerar genuttryck kopplade till immunsvaret	21
3.6.2 Proteiner dämpar immunsvaret och möjliggör migration.....	22
3.6.3 Plasticitet hos masken kan påverka ESPs innehåll.....	22
3.6.4 Extracellulära vesiklar som vaccinkandidater	23
4. Resultat	24
5. Diskussion	25
5.1 Transthyretin-liknande proteiner	25
5.2 Koppar- och zinksuperoxiddismutaser.....	26
5.3 14-3-3 domain-containing protein	26
5.4 Heat shock-proteiner (HSPs).....	27
5.5 Konklusion.....	28
Referenser.....	29
Tack	35

Tabellförteckning

Tabell 1. Ett urval av proteiner som identifierades vid protomikanalysen..... 24

Förkortningar

AAM	Alternativt aktiverad makrofag
AGO	Argonautprotein
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
Dusp1	Dual specificity protein phosphatase 1
ESPs	Exkretoriska sekretoriska produkter
EVs	Extracellulära vesiklar
HSP	Heatshockprotein
IFN	Interferon
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin
ILC	Innate lymphoid cell
JAK/STAT-signalvägen	Janus kinase/signal transducers and activators of transcription-signalvägen
MAP-kinassignalvägen	Mitogen-activated protein-kinassignalvägen
miRNA	MikroRNA
NLM	Neural larva migrans
OLM	Okulär larva migrans
PBMCs	Mononukleära celler
PBS	Phosphate Buffered Saline
PEST	Penicillin/Streptomycin Solution
PRX	Peroxiredoxin
ROS	Reactive oxygen species
SEP	Swine enzootic pneumonia
SOD	Superoxiddismutas
STAT6	Signal transducer and activator of transcription 6
SVA	Statens Veterinärmedicinska Anstalt
Th-cell	T-hjälparcell
TLP	Transthyretinlikt protein
TNF	Tumor necrosis factor
Treg	Regulatorisk T-cell

TRP	Transthyretinrelaterat protein
TTR	Transthyretin
TSLP	Thymic stromal lymphopoietin
VLM	Visceral larva migrans

1. Inledning

Parasitmaskinfektioner är vanliga hos människor och djur globalt (Eichenberger et al. 2018), och spolmaskar (hönans, grisens, hundens, hästens och människans) står för en betydande del. Spolmaskinfektioner är ofta asymptomatiska, men hög parasitbörda kan ge försämrad tillväxt, tarmvred, ileus och luftvägssymptom både hos människor (Folkhälsomyndigheten 2015) och djur (Thamsborg et al. 2013; SVA 2022, 2023a). I Sverige utgör sporadiska humana spolmaskinfektioner inget större hälsomässigt bekymmer (Folkhälsomyndigheten 2015). Husdjur och produktionsdjur drabbas desto mer, vilket kan vara ekonomiskt kännbart. Till exempel riskeras föl-hälsan på grund av multiresistenta *Parascaris univalens* (Martin et al. 2018), och köttproducenter drabbas på grund av tillväxtproblematik och kassering av organ vid slakt (Vlaminck et al. 2015).

Nya alternativa och effektiva behandlingsmetoder, till exempel vacciner, riktade mot de infektiösa larvstadierna, skulle kunna motverka dagens spolmaskinfektionsproblem. Utsöndrade produkter från parasitmaskarna, till exempel extracellulära vesiklar (EVs), har på senare tid identifierats som potentiella vaccinkandidater (Coakley et al. 2017). EV-baserade vaccin verkar kunna förhindra maskens etablering i värdjuret genom att ”störa ut” parasit-värd-interaktionen. I denna studie har vi initierat en karaktärisering av proteinerna i ESP/EVs utsöndrade från L3 larver av *Toxocara canis* och *Parascaris univalens*. Syftet är att jämföra våra resultat med befintlig litteratur och diskutera olika EV-proteiners potential som vaccinkandidater. Därtill diskuteras spolmaskinfektioner ur ett One Health-perspektiv för att belysa behovet och nyttan av nya alternativa behandlingsmetoder.

2. Material och metoder

2.1 Litteraturoversikt

Litteratursökning gjordes i databaserna PubMed, Scopus, Web of Science, Primo och Google Scholar. Sökord som användes var exempelvis ”immune”, ”prevalence”, ”resistance”, och ”extracellular vesicles” kombinerat med ”*Toxocara canis*”, *Parascaris*, *Ascaris*, ”nematode” eller ”helminth” genom att använda ”AND”. I första hand har vetenskapliga artiklar använts. Böcker, encyklopedier och översiktsartiklar har använts då det ansetts lämpligt, till exempel för att beskriva områden av stor bredd.

2.2 Framrening av EVs för proteomik

Ägg från *Toxocara canis* och *Parascaris univalens* renades fram från hund- och hästfaeces. Hundfaeces med konstaterad förekomst av spolmaskägg mottogs från SVA, och hästfaeces hämtades från gårdar med sedan tidigare känd spolmaskproblematik.

Faeces och kranvatten mixades med stavmixer. Blandningen silades sedan genom grövre sil för att få bort stora partiklar, för att sedan silas med en 150 mikrometers sil. Ytterligare filtrering genom ett 110-mikrometersfilter gjordes och äggen fångades samtidigt av ett 75 mikrometers filter med tappkran. Genom tappkranen samlades äggen i 50 mL-rör, vilka fylldes upp med kranvatten och centrifugerades i 425 g i 3 minuter. Äggen samlades i pelleten, supernatanten avlägsnades och röret fylldes upp med nytt kranvatten och centrifugerades igen. Detta gjordes flera gånger för att få bort så mycket faeces, grus och annan ”smuts” som möjligt. Efter 5–6 tvättar flotterades äggen i 10 ml kranvatten med 40 ml Milton-2-lösning (natriumhypoklorit 2 % v/v i natriumklorid 16,5 %). Efter flotationen tvättades Milton-2-lösningen bort genom samma princip som vid tidigare beskrivna tvätt.

Äggen förvarades i värmeskåp hållandes 26-28 grader i cirka tre veckor för embryonering och utveckling till L3-larver. Dagen innan kläckning tillsattes formalin i sådan mängd att koncentrationen blev 1% procent. Äggen kläcktes

därefter mekaniskt med sju fulla slag i en glas-homogenisator i 10 ml PBS + 0.01% Tween. De nykläckta L3-larverna fick migrera över ett 3D printat 25 mikrometers filter för att skilja dem från döda larver och äggskal innan de tvättades med vatten (fyra gånger) och DMEM-medium + PEST (fyra gånger). Detta gjordes genom centrifugering i 3000 rpm innan de förvarades i 5 ml DMEM-medium + PEST i ett 37 graders värmeskåp.

Konditionerat medium samlades från larverna med 24 h eller 48 h intervall och användes för att rena fram extracellulära vesiklar med hjälp av QIAGENs ExoEasy kit. I det steg där de extracellulära vesiklarna separerades från resten av den exkretoriska sekretoriska produkten sparades ”flowthrough” innehållandes ESP-resterna. Prover innehållandes EVs, ESP (konditionerat medium) och ”flowthrough” skickades till SciLife Lab i Uppsala för proteomik-analys.

Ett urval av de identifierade proteinerna diskuteras i uppsatsen. Proteiner med eventuella immunosuppressiva egenskaper och proteiner unika för nematoder valdes ut efter att ha slagit upp proteinerna i UniProt, PubMed och Scopus. Urvalet begränsades ytterligare av mängden befintlig litteratur.

3. Litteraturöversikt

3.1 Taxonomi

Infektiösa maskar, eller helminter, kan delas upp i tre fyla: *Acanthocephala* (hakmaskar), *Plathyhelminthes* (plattmaskar), vilka i sin tur delas upp i *Cestoda* (bandmaskar) och *Trematoda* (sugmaskar), samt *Nematoda* (rundmaskar) (Ballweber & Messonnier 2001a). Till rundmaskarna hör familjen *Ascarididae* (spolmaskar, även kallade ascarider), vilka släktena *Parascaris*, *Toxocara* och *Ascaris* ligger under. Även släktena *Toxascaris* och *Baylisascaris* hör till ascariderna (Artfakta u.å.)

Vår studie fokuserar på *Toxocara canis*, hundens spolmask, och *Parascaris univalens*, hästens spolmask. Även *Ascaris suum*, grisens spolmask, och *Ascaris lumbricoides*, människans spolmask kommer att beskrivas i litteraturöversikten eftersom kunskaper om dessa kan vara relevanta även för *T. canis* och *P. univalens*, tack vare deras släktskap och liknande parasitära egenskaper.

Både *Parascaris univalens* och *Parascaris equorum* förekommer i litteraturen. Eftersom det på senare tid har konstaterats att *Parascaris univalens* dominerar globalt (Nielsen et al. 2014; Martin et al. 2018) kommer *Parascaris* spp i den här uppsatsen att benämnas *Parascaris univalens*.

3.2 Ascariders livscyklar

Alla nematoder, och således alla ascarider, har samma utvecklingsstadier; ägg, larvstadierna L1, L2, L3 och L4, omogen adult och mogen adult (Ballweber & Messonnier 2001a). Livscykeln för *Ascaris suum*, *Parascaris univalens* och *Toxocara canis* är till stora delar mycket lika och kommer att beskrivas övergripande nedan.

Spolmasklivscykeln börjar då fertiliserade ägg följer med värdjurets faeces ut i miljön. I äggen når larverna det tredje, och infektiösa, utvecklingsstadiet (L3) efter cirka fyra veckor. Äggen smittar nästa värd fekal-oralt, och kläcks sedan i värdjurets tunntarm (Ballweber & Messonnier 2001b; c; CDC 2019). Hundar och människor kan därtill smittas av *Toxocara canis* genom att äta infekterade

parateniska värdar, vilka utgörs av flera fågel- och däggdjursarter. Tikar kan dessutom föra smittan vidare till sina valpar intrauterint och galaktogent (CDC 2019).

När äggen har kläckts penetrerar de tunntarmsväggen och påbörjar sin hepatotracheala vandring. Via levern tar sig larverna till hjärtat och vidare till lungorna. Från lungkaviteten tar sig larverna till pharynx via trachea, varefter de sväljs och når tunntarmen igen. Där mognar de först till L4:or innan de blir äggläggande aduler (Ballweber & Messonnier 2001c; Mehlhorn 2016a; CDC 2019). Prepatensperioden vid fekal-oral smitta är ungefär två månader för både *Toxocara canis*, *Parascaris univalens* och *Ascaris suum* (Ballweber & Messonnier 2001c, b; d)

Det är främst i unga djur som larverna kan överleva och fullfölja sin livscykel (Ballweber & Messonnier 2001b; c; CDC 2019). *Toxocara canis* kan dock lägga sig vilande i olika vävnader hos den vuxna hunden efter att ha penetrerat tarmväggen. Vid dräktighet kan larverna reaktiveras och på så vis orsaka tidigare nämnda galaktogena och intrauterina överföring (CDC 2019).

3.3 Prevalens, behandlingsmetoder och resistens

Detta avsnitt fokuserar på de arter som ingick i vår studie – *Parascaris univalens* och *Toxocara canis*. *Ascaris* spp nämns medvetet inte här eftersom extrapolering till de för studien relevanta arterna inte är möjlig.

3.3.1 *Parascaris univalens*

Prevalens

År 2009 undersöktes spolmaskprevalensen hos föl på nio svenska stora stuterier. Studien visade att 48% av de provtagna fölen var infekterade (Osterman Lind & Christensson 2009). Globalt redovisas liknande siffror: 38% i Storbritannien (Relf et al. 2013), 53% i Saudiarabien (Alanazi et al. 2017), 58% i Australien (Armstrong et al. 2014) och 30,5% i Frankrike (Laugier et al. 2012).

Behandlingsmetoder

Föl födda på stuterier ska avmaskas med avseende på spolmask vid 8–10 veckors ålder enligt rekommendation av Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt (SVA). Vid 16–18 veckors ålder ska fölen avmaskas igen, och i januari-februari rekommenderas träckprov för att undersöka om ytterligare behandling behövs. I första hand ska fenbendazol eller pyrantel användas, då resistensen mot ivermektin och moxidektin är mer utbredd (SVA 2022).

Resistens

Ivermektinresistens hos *Parascaris univalens* sågs vid fem av sex svenska stuterier i en studie av Osterman Lind och Christensson (2009). Några år senare rapporterades också resistens mot pyrantel och tendenser till försämrad effektivitet av fenbendazol (Martin et al. 2018). Resistens mot dessa substanser har också uppmärksammats globalt. Ivermektin- och fenbendazol-resistens har till exempel rapporterats i Saudiarabien (Alanazi et al. 2017) och i Australien, där man också har sett pyrantelresistens (Armstrong et al. 2014).

3.3.2 *Toxocara canis*

Prevalens

Rostami *et al.* (2020) undersökte i en metaanalys prevalensen av *Toxocara canis* hos hundar i olika delar av världen. I Europa låg prevalensen på 10,8%, vilket ungefär motsvarar den globala prevalensen på 11,1%. Högst prevalens sågs i Mellanöstern (19,2%) och i Afrika (18,5%) (Rostami et al. 2020).

Rostami *et al.* (2019) har också undersökt seroprevalensen av *Toxocara* spp hos människor i en metaanalys. Globalt låg seroprevalensen på 19%. Någon uppskattning av den globala seroprevalensen av specifikt *T. canis* hos människor finns ännu inte (Gazzinelli-Guimaraes och Nutman 2018).

Behandlingsmetoder

Valpar uppfödda på kennel ska från och med andra till tredje levnadsveckan avmaskas med benzimidazolpreparat var fjärde vecka (ex. fenbendazol (FASS u.å.)) eller med pyrantel varannan vecka enligt SVAs rekommendationer (SVA 2023a). Tiken avmaskas i samband med valparnas avmaskning för att bryta smittcykeln valp och tik emellan. Detta görs tills valparna lämnar uppfödaren. Träckprov från valpen kan tas då den är fyra veckor för att försäkra sig om att den är fri från spolmask om man inte avmaskar rutinmässigt. Preparat godkända för avmaskning av hundar med avseende på spolmask är, förutom benzimidazoler och pyrantel, makrocycliska laktoner (ex. moxidektin) (SVA 2023a).

Resistens

Utbudet av studier som undersöker anthelmintikaresistens hos hundens spolmask tycks vara obefintligt. Ändå finns teorier om förekomsten av anthelmintikaresistens hos *Toxocara canis*. Von Samson-Himmelstjerna *et al* (2021) menar att selektionen för resistens kanske är mindre hos *Toxocara canis* än hos *Parascaris univalens*. Detta eftersom valpar rör sig på en mer begränsad yta än föl och ofta i inomhusmiljö, vilket underlättar saneringen av en ny, eventuellt resistent, generation av ägg. Emellertid persisterar (multi)-resistenta *Parascaris univalens*-ägg på betena och kan därför spridas vidare (von Samson-Himmelstjerna et al.

2021). Huruvida detta är en sanning är svårt att avgöra eftersom resistensläget hos *Toxocara canis* är okänt.

3.4 One Health-aspekter

Helmintinfektioner är några av de vanligaste infektionerna globalt hos människor och djur (Eichenberger et al. 2018). Nedan beskrivs hur infektioner av spolmaskarna *Parascaris univalens*, *Toxocara canis* och *Ascaris* spp. påverkar djurhälsan, den humana hälsan, ekonomin och den biologiska mångfalden. *Ascaris* spp. inkluderas här för att dess likhet till de andra spolmaskarterna kan ge ledtrådar om egenskaper man ännu ej har utforskat i *P. univalens* och *T. canis*. Därtill är *Ascaris* spp. viktiga när human hälsa kopplad till spolmaskinfektioner diskuteras.

3.4.1 Djurhälsa

Spolmaskinfektioner ger oftast milda symptom hos våra djur. Föl infekterade med *Parascaris univalens* kan ha dålig tillväxt och aptit, ruggig päls och hängbuk. Därtill kan larvernas migration genom lungan ge näsflöde och hosta. Om parasitbördan är hög, kan obstruktion eller ruptur av tunntarmen förekomma (SVA 2022). Valpar infekterade med *Toxocara canis* och grisar infekterade med *Ascaris suum* visar liknande symptom (Thamsborg et al. 2013; SVA 2023a)

Förutom att orsaka sjukdom påverkar spolmaskar immunförsvarets funktion. Till exempel minskar effekten av vaccin mot *Mycoplasma hyopneumoniae* hos grisar infekterade med *A. suum* (Steenhard et al. 2009). *Mycoplasma hyopneumoniae* orsakar Swine Enzootic Pneumonia (SEP), vilket är en mycket smittsam, men sällan dödlig, luftvägssjukdom som korrelerar med dålig tillväxt hos unga grisar (SVA 2023b).

Djurhälsan påverkas också av den anthelmintikaresistens som idag ses globalt hos *Parascaris univalens* (Laugier et al. 2012; Armstrong et al. 2014; Alanazi et al. 2017; Martin et al. 2018). Om våra medicinska metoder för behandling av spolmaskinfektioner blir verkningslösa äventyras djurhälsan.

3.4.2 Human hälsa

Även den humana hälsan påverkas av parasitmaskinfektioner. Cirka 24% av världens befolkning uppskattas vara smittade av jordöverförda, intestinala parasitmaskar. De flesta smittade är barn i låginkomstområden med dålig tillgång till rent vatten (WHO 2023). År 2021 estimerades 732 miljoner människor i endemiska områden vara infekterade med *Ascaris* spp. (Holland et al. 2022).

Spolmaskinfektion hos människa ger liknande symptom som hos djuren; oftast inga alls, men näringsbrist och tarmvred eller ileus förekommer. Därtill kan astmaliknande symptom ses när larverna vandrar genom lungan

(Folkhälsomyndigheten 2015). Vid toxocariasis kan visceral (VLM), okulär (OLM) och neural (NLM) larva migrans förekomma. Larvernas visceral invasion ger feber, viktning, hosta och utslag, deras okulära invasion kan ge synskador, och den ovanliga, neurala invasionen kan orsaka eosinofil meningoencephalit och dödsfall (CDC 2019).

Spolmaskinfektioner orsakar också indirekta hälsoeffekter hos människor. Korrelation mellan pågående infektion av *Ascaris lumbricoides* och ökad risk för astma har påvisats i en meta-analysstudie av Leonardi-Bee *et al* (2006). En annan meta-analysstudie visar på mer positiva effekter av pågående *A. suum*-infektion, nämligen en minskad risk för hudsensibilisering av vanligt förekommande allergener (Feary *et al.* 2011).

Spolmaskinfektioner påverkar vacciners effekt även hos människor. Mononukleära celler (PBMCs) från koleravaccinerade personer infekterade med *Ascaris lumbricoides* producerar mindre IL-2 vid exponering för kolera-antigen jämfört med PBMCs från vaccinerade icke-infekterade individer. Detta tyder på en sämre effekt av vaccinet hos den infekterade gruppen och visar på ascariders immundämpande egenskaper (Cooper *et al.* 2001). Även immunsvaret mot olika infektiösa agens kan påverkas av en pågående spolmaskinfektion. Till exempel uppföras denguevirus mer i mastceller som behandlats med ESPs från *Parascaris univalens* eller *Ascaris suum* än icke-behandlade mastceller (Wiharta *et al.* 1985).

3.4.3 Ekonomi

Spolmaskinfektioner medför också ekonomiska bekymmer. *Ascaris suum*s vandring genom levern ger upphov till partier med fibros, så kallade ”white spots” (Ballweber & Messonnier 2001b) och förekomsten av dessa är negativt korrelerad med daglig tillväxt hos tillväxtgrisar (Vlaminck *et al.* 2015). En långsammare tillväxt innebär antingen att grisen behöver födas längre, eller att grisen skickas till slakt vid en lägre vikt, vilka båda innebär en ekonomisk förlust för djurhållaren. Dessutom kasseras ”white spots”-levrar på slakteriet (se artikel 45 i EU-kommissionens genomförandeförordning (2019/627)) vilket ger ytterligare förluster.

Förutom att spolmaskinfektioner hos produktionsdjur innebär ekonomiska utmaningar för människan, kan en svår ekonomisk situation vara associerad med ökad risk för spolmaskinfektion hos människor. Dhaka *et al* (2020) visade en korrelation mellan socioekonomisk status och helmintförekomst hos indiska barn. Prevalensen av intestinala parasiter var högre hos barn med en socioekonomiskt svår bakgrund, jämfört med barn från ”överklassen” och ”övre medelklassen” (Dhaka *et al.* 2020).

3.4.4 Biologisk mångfald

Avermektinet ivermektin är en substans som används för behandling av spolmask och andra, både invärtes och utvärtes, parasiter hos husdjur (FASS u.å.). Rester av substansen kan följa med faeces från behandlade djur ut i miljön (McCracken 1993). Detta har visat sig affektera både dyngbaggar och växter.

Hos dyngbaggen *Scarabaeus cicatricosus* påverkar ivermektinet, på ett dosberoende vis, luktsinne, kommunikation och rörelseförmåga, vilket orsakar paralytisk och död (Verdú et al. 2015). Minskad sensorisk kapacitet ses redan vid exponering för lägre doser ivermectin än de nivåer som tidigare uppmätts i gödsel från nötkreatur behandlade med substansen. Författarna förutspår att även andra dynglevande insekter hotas av substansens förekomst i miljön (Verdú et al. 2015).

Även växter påverkas av ivermektin. Minskad rottillväxt hos modellväxten *Sinapis alba* har påvisats och ivermektins påverkan på andra växter, särskilt betesväxter, bör därför undersökas vidare. Eftersom ivermektin kan persistera lång tid i miljön riskerar kontamination av betena att ge negativa effekter på betesfloran på sikt (Vokřál et al. 2019).

3.5 Värddjurets immunsvaret mot helmintinfektioner

Få studier är gjorda på hästens immunsvaret mot *Parascaris univalens*. *Ascaris suum* och *Toxocara canis* är mer studerade, både i musmodeller (exempelvis Pecinali et al. 2005; Enobe et al. 2006; Gazzinelli-Guimarães et al. 2013) och i deras respektive värddjur (exempelvis Junginger et al. 2012; Midttun et al. 2018). Immunförsvaret står inför en utmaning när det kommer till att bekämpa helminter, då de ofta migrerar genom kroppen och uttrycker olika antigen i samband med att de byter utvecklingsstadium (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018). Det typ 2-svar som generellt förknippas med helmintinfektioner kommer beskrivas nedan. Därtill diskuteras, på grund av få källor, kort det specifika immunsvaret mot spolmask.

3.5.1 Inre faktorers påverkan på immunsvaret

Medfödda egenskaper såsom kön, ålder och genetisk bakgrund påverkar hur effektivt värdens immunsvaret mot en spolmaskinfektion är.

Toxocara canis utnyttjar den honliga reproduktiva cykeln genom att reaktiveras från sitt vilande tillstånd i vävnaden hos den dräktiga tiken (CDC 2019). Prolaktininjektioner till icke-dräktiga möss triggas en migration av larver från hjärna och skelettmuskulatur till mammarkörtlarna. Detta tyder på att åtminstone galaktogen överföring beror på hormonella förändringar hos modern (Jin et al. 2008).

Åldersrelaterad immunitet ses mot patent infektion av både *Parascaris univalens* hos hästar (Clayton & Duncan 1979) och *Toxocara canis* hos hundar (CDC 2019).

Patent infektion i vuxen ålder kan förekomma hos hund vid immunosuppression, orsakad av exempelvis stress eller tumörer (SVA 2023a).

3.5.2 Immunsvar mot larver i tarmen

När helmintlarver får kontakt med tarmepitelet startar ett akut inflammatoriskt svar. Epiteliale celler frisätter alarminerna TSLP, IL-25 och IL-33 (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018). Även mastceller utsöndrar dessa alarminer i den akuta fasen av en helmintinfektion (Vukman et al. 2016). Detta inducerar ett typ 2-immunsvar som i ett akut skede drivs av "innate lymphoid cells" typ 2 (ILC2s) genom utsöndring av cytokinerna IL-4, IL-5, IL-9 och IL-13. Dessa cytokiner driver eosinofili, alternativ aktivering av makrofager (AAMs) (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018) och differentieringen av Th2-celler. Differentierade Th2-celler utsöndrar också typ 2-cytokiner och driver B-cellernas "switch" till produktion av IgE-antikroppar och plasmacells-utmognad. Ett typ 2-svar drivet av Th2-celler, med tillhörande IgE-antikroppar, krävs för att kroppen ska kunna göra sig av med larverna (Anthony et al. 2007).

IgE-antikroppar binder till Fc-receptorer på mastceller och eosinofiler, vilka degranulerar då antikropparna binder antigen. Mastceller frisätter histamin och prostaglandin, vilket leder till ett influx av vätska i tarmen och ökad kontraktilitet i tarmväggen. Larverna sköljs då ut ur tarmen (Anthony et al. 2007). Eosinofiler frisätter bland annat eosinofilt peroxidase, eosinofilt katjoniskt protein och oxidanter då de binder antigen. Dessa skadar eller dödar vissa, men inte alla, helminter (Shin et al. 2009). Därtill utsöndrar eosinofiler flera proinflammatoriska cytokiner, exempelvis IL-1, IL-4, IL-6, TNF α och GM-CSF (Shin et al. 2009). Utsöndring av IL-4 bidrar till rekrytering och utmognad av Th2-celler (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018). På så vis hjälper eosinofiler till att bygga upp ett starkt typ 2-svar. Även AAMs bidrar till ett förstärkt Th2-svar genom att trycka ner Th1 och Th17-svaret. AAMs skyddar också tarmen genom återuppbyggnad av skadad vävnad (Anthony et al. 2007) och utsöndring av antiinflammatoriskt IL-10 (Coakley et al. 2017).

Eftersom Th2-celler inte aktiveras i den akuta fasen hos en naiv infekterad individ, hinner larverna vandra vidare genom kroppen innan typ 2-svaret med IgE-antikroppar hunnit bildas. Expulsion av larver sker således främst vid upprepad infektion, tack vare Th2-cellminnet (Anthony et al. 2007).

3.5.3 Immunsvar mot larver i lungorna

Effekten av *Ascaris suum*s migration genom lungorna har undersökts i musmodeller (exempelvis Enobe et al. 2006; Gazzinelli-Guimaraes et al. 2013) varför

spolmaskars effekt på immunsvaret i lungorna kommer beskrivas med *Ascaris suum* som exempel.

Antalet *Ascaris suum*-larver i lungorna hos infekterade möss når sin topp 8 dagar efter infektion. Toppen dalar dock fort, då inga, eller nästintill inga, larver återfinns dag 14 (Enobe et al. 2006; Gazzinelli-Guimarães et al. 2013). Störst förekomst av eosinofiler i lungorna ses dag 14, och då är också eosinofilin och celltalet i det bronkeoalveolära lavaget (BAL) som högst. En kraftig lokal inflammation (typ 2) följer alltså piken av antalet larver i lungorna (Enobe et al. 2006).

Cytokinprofilen i lungorna domineras av IL-6, IL-5 och TNF hos infekterade möss. IL-5 ökar först och tros ligga bakom rekryteringen av eosinofiler till lungorna. Den troligaste källan är ILC2s eftersom Th2-celler inte har hunnit aktiveras. En stark positiv korrelation mellan IL-6 utsöndrat av neutrofiler och antalet larver i lungorna ses (Gazzinelli-Guimarães et al. 2013). När larverna lämnar lungan ersätts de av AAMs och eosinofiler, vilka skyddar mot reinfektion och bidrar till reparation av den skadade vävnaden (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018).

En kraftigare inflammation i lungan hos möss ses vid upprepade infektion med *Ascaris* spp. Detta resulterar förvisso i en ökad eliminering av larver från lungorna, men sker på bekostnad av lungfunktionen (Nogueira et al. 2016). Ett kraftigare immunsvaret sker som tidigare nämnt också i tarmen vid reinfektion, vilket Anthony et al. (2007) kopplar till Th2-cellminnet.

3.5.4 Immunsvaret mot aduler i tarmen

När larverna återkommer till tunntarmen utvecklas de till aduler och infektionen övergår från akut till kronisk (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018). Infektionen kan bestå i flera år – *Ascaris suum* kan till exempel överleva i upp till två år i tarmen hos infekterade grisar (Midttun et al. 2018)

HelminTERS kroniska uppehåll i tarmen möjliggörs genom att det akuta svaret styrs om till ett modifierat Th2-svar. Det modifierade Th2-svaret leder till en expansion av regulatoriska T-celler (Tregs) och att B-celler genomgår klassbyte till att producera IgG4 (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018). Att reaktionsschemat gäller även för spolmask har visats i hundar infekterade med *Toxocara canis*. Infekterade hundar har en signifikant högre nivå av den till Tregs relaterade transkriptionsfaktorn Foxp3 i duodenala villi än friska hundar (Junginger et al. 2012). Reaktionsschemat går troligtvis att extrapolera även på andra spolmaskarter.

Tregs utsöndrar det antiinflammatoriska cytokinet IL-10, vilket dämpar både det medfödda och adaptiva immunsvaret (Anthony et al. 2007). Miljön blir mer tillåtande för masken. Förutom en expansion av Tregs till följd av ett modifierat Th2-svar, så leder etableringen av aduler i tunntarmen till en förändrad komposition av mikrobiotan. Detta resulterar i en större population av bakterier som

producerar short chain fatty acids (SCFAs), vilka ytterligare bidrar till en expansion av Tregs (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018).

3.6 Exkretoriska sekretoriska produkter och extracellulära vesiklar

Helmintinfektioners kroniska natur är en effekt av värdens och parasitens co-evolution. Värdens överlevnad ligger inte bara i dess eget intresse, eftersom parasitens är beroende av sin värd (Anthony et al. 2007).

Helminter har utvecklat olika strategier för att överleva i värdjuret. Till exempel kan *Toxocara canis* undvika eosinofiler genom att ömsa sitt antikroppsbeklädda ytskikt (Maizels 2013). Helminterna är också drivande i immunosuppressionen som möjliggör kronisk infektion (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018). Midttun *et al* (2018) visade till exempel att flera gener kopplade till inflammation hos grisar nedreglerades i intestinala celler vid kronisk *Ascaris suum*-infektion (Midttun et al. 2018).

Helminters immunomodulerande förmåga har kopplats till utsöndrandet av vissa lipid-, protein- och kolhydratskomponenter i deras exkretoriska och sekretoriska produkter (ESPs). Extracellulära vesiklar (EVs) är lipid-membran-omgärdade vesiklar innehållandes mRNA, mikroRNA (miRNA), proteiner och DNA (Marcilla et al. 2014) och har på senare tid uppmärksammats som en del av helminters ESPs (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018). Vesiklars/exosomers roll i cell-cellkommunikationen hos däggdjur har länge varit känd (Buck et al. 2014), men kunskapen om EVs roll i kommunikationen mellan parasit och värd är desto nyare (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018). Nedan ges exempel på hur EVs kan modulera immunsvaret vid olika typer av helmintinfektioner och hur EVs kan ha en roll i framtida vaccin.

3.6.1 miRNA nedreglerar genuttryck kopplade till immunsvaret

miRNAs är korta, icke-kodande RNA-sekvenser som kan trycka ner translation av mRNA (Svensk MeSH u.å.). Buck *et al.* (2014) fann miRNA i vesiklar från den icke-migrerande intestinala nematoden *Heligmosomoides polygyrus*. Flera identifierade miRNAs förutspåddes utifrån sin sekvens binda till och degradera flera olika mRNAs om de togs upp av celler. Ett upptag av EVs från *H. polygyrus* visades därefter i en *in vitro*-modell med murina epiteliala tunntarmsceller. Upptaget av EVs resulterade i en signifikant nedreglering av generna *Il33r* och *Dusp1* i tunntarmscellerna (Buck et al. 2014).

Flera miRNAs som direkt riktar in sig på genen för *Dusp1* identifierades i vesiklarna. *Dusp1* är en regulator av MAP-kinasignalvägen, vilken bidrar till uppreglering av IL-10 och nedreglering av IL-6 (Buck et al. 2014). Ett omvänt

förhållande av dessa cytokiner har tidigare visat sig gynnsamt för *H. polygyrus* (Smith & Maizels 2014).

Hansen *et al* (2019) var först med att visa att också *Ascaris suum* utsöndrar EVs. I dessa identifierades miRNAn som tros nedreglera flera olika gener kopplade till värdens immunsvaret, exempelvis generna för IL-13, IL-25 och IL-33 (Hansen *et al.* 2019). En utsläckning av dessa skulle kunna gynna maskens överlevnad, då effekten blir ett fördröjt och svagare typ 2-svar, oförmöget att generera en ursköljning av maskarna från tarmen.

3.6.2 Proteiner dämpar immunsvaret och möjliggör migration

Även proteiner har identifierats i EVs. Från *H. polygyrus* har bland annat tetraspaniner, heatshock-proteiner (HSPs) och argonautprotein (AGO), proteiner homologa med proteiner i EVs utsöndrade av däggdjursceller, identifierats (Buck *et al.* 2014). HSPs, exempelvis immundämpande HSP70, har också isolerats från EVs från *Ascaris suum*. *Ascaris suum* utsöndrar också proteaser, vilka föreslås vara involverade i larvernas migration, samt vara immunmodulerande då de kan bryta ner vävnad, intestinala muciner och ytreceptorer på immunceller. Därtill utsöndrar *Ascaris suum* kinaser, oxidaser, reduktaser och peptidaser, samt galectin (Hansen *et al.* 2019), en lektin med immunmodulerande egenskaper (Liu 2005).

3.6.3 Plasticitet hos masken kan påverka ESPs innehåll

Ferguson *et al.* (2023) visar i en studie att värdjurets immunmiljö påverkar hakmasken *Nippostrongylus brasiliensis* transkriptionella landskap. En nedreglering av gener kopplade till *N. brasiliensis* immunsupprimerande egenskaper sågs efter 15 generationers uppehälle i STAT6-knockoutmöss – möss inkapabla att generera ett starkt typ 2-svar. Flera av proteinerna som dessa gener kodar för, exempelvis transthyretinlika proteiner, återfinns i ESPs (Ferguson *et al.* 2023).

Hakmaskar anpassade till immunmiljön i STAT6-fria möss i 24 generationer genererade ett starkare immunsvaret i vildtypsmöss än hakmaskar anpassade till vildtypsimmunmiljön. Trots det överlevde och reproducerade sig de knockoutanpassade maskarna lika bra som de vildtypsanpassade. De knockoutanpassade maskarnas transkriptionella landskap återanpassades nästan helt till vildtypsimmunmiljön efter en enda exponering. Dessa fynd tyder på att *N. brasiliensis*, och kanske även andra helminter, är plastiska och anpassningsbara till den miljö de befinner sig i (Ferguson *et al.* 2023). Maskarna verkar helt enkelt inte slösa resurser på immunosuppression när de inte behöver det, och anpassar därför snabbt sina ESPs efter rådande omständigheter.

Förutom plasticitet på transkriptionsnivå har en genetisk anpassningsförmåga påvisats i både *H. polygyrus* (Stevens *et al.* 2023) och den frilevande nematoden

Caenorhabditis elegans (Lee et al. 2021). Genetisk drift till trots har den självförökande *C. elegans* och den på laboratorium mångårigt inavlade *H. bakeri* (i annan litteratur felaktigt benämnd som *H. polygyrus*, enligt Stevens et al (2023)) hyperdivergenta, heterozygota regioner i genomet (Lee et al. 2021; Stevens et al. 2023). Hyperdiversiteten i *C. elegans* genom finns i regioner som kodar för proteiner involverade i sensorisk perception och respons på patogener och stress, vilket tyder på att hyperdiversiteten har varit avgörande för dess goda anpassningsförmåga (Lee et al. 2021).

Hyperdivergenta regioner kan påverka innehållet i helminters ESPs. I *H. bakeri*s hyperdivergenta regioner finns gener för transthyretin-likade proteiner (TLPs), vilka verkar immunomodulerande genom att binda cytokiner. Även koppar- och zinksuperoxiddismutaser (Cu/Zn SODs) kodas för i dessa regioner. Dessa skyddar *H. bakeri* mot reactive oxygen species (ROS) från värdjurets immunsvär. Både TLPs och Cu/Zn SODs är en del av *H. bakeri* ESPs (Stevens et al. 2023). Hyperdiversitet i delar av genomet som är involverade i immunmodulering kan tänkas vara viktig för co-evolutionen med värdjuret.

3.6.4 Extracellulära vesiklar som vaccinkandidater

Med insikten att antikroppsbundna EVs inte inaktiverar AAMs gjorde Coakley et al (2017) ett lyckat försök att immunisera möss med ESPs, ESP-supernatant och EVs från *H. polygyrus*. Vaccinering med EVs gav antikroppar korsreaktiva med produkter i ESP och ESP-supernatant, men också EV-specifika antikroppar, vilka hade kapacitet att stoppa infektionen. EVs utgör därmed en kandidat till framtida vaccin mot helmintinfektioner. Även enskilda EV-antigen kan utgöra möjliga vaccinkandidater (Coakley et al. 2017). Stevens et al (2023) tidigare nämnda upptäckt av hyperdivergenta regioner i *H. bakeri* genom talar dock för att vaccin mot EV-antigen kan bli en utmaning. Att rikta ett vaccin mot proteiner som kodas för i hyperdivergenta regioner skulle kunna innebära risk för snabb resistensutveckling (Stevens et al. 2023). För att i framtiden kunna rikta vaccin mot EV-antigen kodade för i mer konserverade regioner krävs mer kunskap om olika helminters genom.

4. Resultat

Proteomikanalys av EVs, konditionerat medium (ESP) och ESP utan EVs (flowthrough) utsöndrade av *Parascaris*- och *Toxocara*-L3:or gjordes vid två olika tillfällen. Vid första analysen hade endast de två av flowthrough-proverna tillräckligt hög proteinkoncentration, och vid det andra tillfället kontaminerades proverna av en okänd polymer, vilken störde analysen. Trots detta erhöles resultat från det andra försökets samtliga prover, men troligtvis finns fler peptider i proverna än vad resultatet visade. I tabell 1 presenteras ett urval av de peptider som återfanns i EVs, ESP och flowthrough från *Toxocara canis* och *Parascaris univalens*. Dessa peptider jämförs med befintlig litteratur och diskuteras sedan med fokus på deras potentiella roll i ett framtida vaccin.

Tabell 1. Ett urval av proteiner som identifierades vid proteomikanalysen.

Identifierade peptider	ESP	EVs	Flowthrough
Transthyretin-lik protein 15 (ttr-15)	P		
Transthyretin-lik protein 46 (ttr-46)		T	T
Cu/Zn SODs		T	P+T
14-3-3 domain-containing protein		P	
HSP70			T

ESP/EVs/Flowthrough anger vilken fraktion proteinet återfanns i. P=Parascaris univalens, T=Toxocara canis

5. Diskussion

5.1 Transthyretin-lik proteiner

Transthyretin-lik proteiner (TLPs) är unika för nematoder och har fått sitt namn av deras strukturella likhet till däggdjursproteinet transthyretin (TTR) (Sauer-Eriksson et al. 2009). 57 gener för TLPs (TTR-1 till TTR-57) förekommer hos nematoden *C. elegans*. En viss begreppsförvirring råder kring TLPs, som ibland benämns som transthyretinrelaterade proteiner (TRPs). TRPs förekommer hos mikrober, växter och djur och har större strukturell likhet till TTR än vad TLPs har (Sauer-Eriksson et al. 2009).

TTR, TRPs och TLPs har vitt skilda funktioner. TTR, också känt som prealbumin, transporterar framförallt sköldkörtelhormon (Richardson & Cody 2009). TRPs är involverade i nedbrytningen av puriner, men bidrar inte till hormontransport, trots sin strukturella likhet med TTR. TLPs biologiska roll är inte identifierad, men man vet att deras aminosyrasekvens och struktur skiljer sig mer från TTR än vad TRPs gör (Sauer-Eriksson et al. 2009).

TLPs finns hos många andra nematoder och visade sig i vårt försök utsöndras av L3-larver av både *Parascaris univalens* och *Toxocara canis*. Transthyretin-lik protein 15 (ttr-15) återfanns i ESP från *Parascaris univalens* och transthyretin-lik protein 46 (ttr-46) återfanns både i flowthrough (ESP utan EVs) och EVs från *Toxocara canis*. Hansen et al (2019) fann flera TLPs utsöndrade av adulta *Ascaris suum* i sin studie. De undersökte proteininnehållet i hela ESP, i EVs och i EV-depleted supernatant (motsvarande vår flowthrough). I alla tre fraktioner fanns både ttr-15 och ttr-46, tillsammans med flera andra TLPs (Hansen et al. 2019). Funktionen av TLPs diskuteras inte av Hansen et al. (2019), men andra studier indikerar en immunmodulerande roll. Ett TLP, HcTTR, utsöndrat av nematoden *Haemonchus contortus* kan binda till cytokinen IL-4 och blockera IL-4-inducerad proliferation av mononukleära celler (Tian et al. 2019).

I jakten på en vaccinkandidat skulle TLPs kunna vara ett mål, men kunskapen om TLPs är fortfarande sparsam varför det krävs fler studier om deras funktion. Något som talar emot TLPs vaccinkandidatpotential är att flera proteiner i den transthyretin-lik familjen ligger i hyperdivergenta regioner hos *H. bakeri* (Stevens et al. 2023). Om detta gäller även för TLPs hos *Parascaris univalens* och *Toxocara*

canis innebär det att vaccin riktade mot dessa proteiner riskerar att driva på mutationsförändringar och göra vaccinen overksamma.

5.2 Koppar- och zinksuperoxiddismutaser

Koppar- och zinksuperoxiddismutaser (Cu/Zn SODs) är antioxidanter som bidrar till neutraliseringen av superoxider. Superoxider och andra reaktiva syreradikaler, ”reactive oxygen species” (ROS), bildas i aeroba organismer vid exempelvis mitokondrierespiration och metaboliska reaktioner. ROS kan skada DNA och andra makromolekyler. Enzymer som neutraliserar ROS är därför viktiga för alla aeroba organismer (Henkle-Dührsen & Kampkötter 2001).

Eosinofiler, neutrofiler och monocyter/makrofager använder sig av ROS för att försvara sig mot infektiösa agens, inklusive nematoder. SODs har hittats i ESPs från flera nematoder och förutsätts utgöra ett försvar mot värdens ROS (Henkle-Dührsen & Kampkötter 2001). SODs omvandlar superoxid till väteperoxid, en annan ROS, och kan således inte ensamt oskadliggöra effekten av ROS. Med hjälp av peroxiredoxiner (PRX) kan dock väteperoxid reduceras till vatten (Henkle-Dührsen & Kampkötter 2001).

L3:or av *Parascaris univalens* och *Toxocara canis* visade sig i vårt försök utsöndra Cu/Zn SODs. Vi fann SODs i EVs och flowthrough från *T. canis* och i flowthrough från *P. univalens*. Hansen *et al* (2019) redovisar inte i sin studie att adulta *Ascaris suum* utsöndrar SODs. Däremot fann de ett förmodat PRX i *A. suum*s extracellulära vesiklar (Hansen *et al.* 2019). Något PRX återfanns inte i våra prover.

Precis som TLPs, kodas Cu/Zn SODs för i hyperdivergenta regioner i *H. polygyrus* genom (Stevens *et al.* 2023). Om Cu/Zn SODs skulle visa sig vara möjliga vaccinkandidater återstår frågan ifall de skulle vara lämpliga, i och med risken att driva resistens om samma hyperdiversitet ses i spolmaskarnas genom.

5.3 14-3-3 domain-containing protein

Gadahi *et al.* (2016) fann att *Haemonchus contortus* 14-3-3 domain-containing protein påverkade cytokinuttrycket i blodmonocyter från getter *in vitro*. Ju högre koncentration av 14-3-3 domain-containing protein som monocyterna utsattes för, desto lägre blev produktionen av IL-4, medan produktionen av IL-10, IL-17 och IFN- γ ökade (Gadahi *et al.* 2016).

Det 14-3-3-domain-containing protein som Gahadi *et al* (2016) undersökte har enligt databasen UniProt 90% sekvensidentitet med det 14-3-3 domain-containing protein vi fann i EVs från *Parascaris univalens*. Endast fem aminosyror skiljer proteinerna åt längdsmässigt, vilket tillsammans med överensstämmelsen i sekvens indikerar liknande funktion proteinerna emellan.

Eftersom 14-3-3 domain-containing protein dämpar IL-4, som är drivande i utvecklingen och rekryteringen av Th2-celler (Gazzinelli-Guimaraes & Nutman 2018), finns skäl att tro att ett vaccin riktat mot proteinet skulle ha ringa effekt mot en akut, primär infektion. Detta eftersom Th2-cellerna aktiveras efter att larverna har lämnat tarmen. Fördelaktigt är om ett framtida vaccin mot spolmask kan möjliggöra expulsion av L3-larver redan innan de påbörjar sin hepatotracheala vandring.

5.4 Heat shock-proteiner (HSPs)

Heat shock proteiner är konserverade proteiner som finns hos alla organismer. De är chaperoner, och har som främsta funktion att vika proteiner i celler (Zininga et al. 2018). De viker nysyntetiserade peptidkedjor under fysiologiska förhållanden och upprätthåller cellfunktionen genom att vika om felvikta proteiner under patologiska förhållanden. Länge ansågs HSPs endast förekomma intracellulärt, men det har visat sig att de också utsöndras vid cellstress (Kravats et al. 2022).

Förutom att vara chaperoner, så kan HSPs ha en roll i immunsvaret. HSP70 har till exempel visat sig vara både inflammatoriskt och antiinflammatoriskt. Det har kopplats dels till ökad utsöndring av de proinflammatoriska cytokinerna TNF- α , IL-1 β och IL-6 från PBMCs (Asea et al. 2000), dels till expansion av IL-10-utsöndrande Treg-celler (Wieten et al. 2007). Därtill frisätter HSP70-aktiverade mastceller kymaser, vilka bryter ned HSP70 och alarminerna IL-33 och HMGB1. På så vis kan mastcellskymas, och indirekt HSP70, bidra till en dämpning av immunsvaret vid akut cellskada (Roy et al. 2014).

Expansionen av Tregs som svar på HSPs utsöndrade av stressade celler tros bero på selektionen av T-celler i thymus. HSP-reaktiva T-celler verkar undkomma den negativa selektionen, och kan således reagera på endogena HSPs. De celler som är utsatta för cellstress ökar sitt uttryck av HSPs, men då de ofta saknar co-stimulatoriska molekyler antar HSP-specifika T-celler en regulatorisk fenotyp vid interaktion med cellerna. HSPs är konserverade molekyler, och är således relativt lika mellan arter. Delade epitoper kan därför innebära att en regulatorisk fenotyp uttrycks även vid interaktion med exogena HSPs (Wieten et al. 2007), exempelvis HSPs utsöndrade av spolmaskar.

HSPs har i åtskilliga studier visat sig ingå helminters ESPs (exempelvis Buck et al. 2014; Sperotto et al. 2017; Hansen et al. 2019). Vi fann i vårt försök ett protein i HSP70-familjen i flowthrough från *Toxocara canis*-larver, samt ett "short HSP" i *Parascaris univalens* EVs. Hansen *et al.* identifierade flera HSPs i EVs, ESP och ESP utan EVs utsöndrade av adulta *Ascaris suum*, varav några tillhörde HSP70-familjen.

Helminthers utsöndrande av HSPs skulle kunna vara en strategi att dämpa immunsvaret i förmån för en mer tillåtande miljö, både genom att aktivera Tregs

och genom att påverka mastceller att frisätta kymas. Detta gör HSPs till intressanta proteiner att utforska som eventuella vaccinkandidater.

5.5 Konklusion

Spolmaskinfektioner är ett problem ur ett One Health-perspektiv. Vacciner mot spolmaskinfektioner skulle förebygga hälsobekymmer både hos människor och djur. Därtill skulle anthelmintikaanvändningen och resistensutvecklingen mot dessa preparat minskas. Spolmaskars ESPs och EV-proteiner skulle kunna vara bra kandidater för framtida vaccin.

I den här studien har vi identifierat flera olika peptider i ESP och EVs från *Parascaris univalens* och *Toxocara canis*, och med förfining av framreningen av EVs kommer ytterligare peptider att kunna identifieras. Flera av proteinerna i vår studie har potential att bidra till spolmaskarnas undvikande av immunförsvaret; SODs genom sin antioxidativa funktion, HSPs genom att aktivera Tregs, och 14-3-3-domain-containing protein genom att dämpa utsöndringen av IL-4. Att även TLPs kan ha en immunsupprimerande roll hos *P. univalens* och *Toxocara canis* är inte omöjligt, då ett TLP utsöndrat av *Haemonchus contortus* har visat sig binda, och på så vis blockera, IL-4.

Då kunskapen om nämnda proteiners funktion i interaktionen mellan parasit och värd är skral, krävs fler studier för att förstå deras betydelse för maskens överlevnad, och således deras potential som mål i ett vaccin. En försvårande omständighet i jakten på en vaccinkandidat är nematoders hyperdiversitet. Trots år av inavel har *H. bakeri* visat sig ha regioner i genomet med stor heterozygotism. Flera av de proteiner som kodas för i dessa regioner återfinns i ESPs och EVs, till exempel SODs och TLPs. Om denna hyperdiversitet förekommer även hos spolmaskar kan detta innebära en utveckling av resistens även mot vaccin.

Den sammanställda slutsatsen är att spolmaskars ESP och EV-utsöndrade proteiner ändå utgör potentiella vaccinkandidater, men att vägen till ett vaccin fortfarande är lång och eventuellt inte helt spikrak.

Referenser

- Alanazi, A.D., Mukbel, R.M., Alyousif, M.S., AlShehri, Z.S., Alanazi, I.O. & Al-Mohammed, H.I. (2017). A field study on the anthelmintic resistance of *Parascaris* spp. in Arab foals in the Riyadh region, Saudi Arabia. *Veterinary Quarterly*, 37 (1), 200–205. <https://doi.org/10.1080/01652176.2017.1334981>
- Anthony, R.M., Rutitzky, L.I., Urban, J.F., Stadecker, M.J. & Gause, W.C. (2007). Protective immune mechanisms in helminth infection. *Nature Reviews Immunology*, 7 (12), 975–987. <https://doi.org/10.1038/nri2199>
- Armstrong, S.K., Woodgate, R.G., Gough, S., Heller, J., Sangster, N.C. & Hughes, K.J. (2014). The efficacy of ivermectin, pyrantel and fenbendazole against *Parascaris equorum* infection in foals on farms in Australia. *Veterinary Parasitology*, 205 (3), 575–580. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.028>
- Asea, A., Kraeft, S.-K., Kurt-Jones, E.A., Stevenson, M.A., Chen, L.B., Finberg, R.W., Koo, G.C. & Calderwood, S.K. (2000). HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nature Medicine*, 6 (4), 435–442. <https://doi.org/10.1038/74697>
- Ballweber, L.R. & Messonnier, S.P. (2001a). Chapter 3 - Introduction to the Endoparasites. I: Ballweber, L.R. & Messonnier, S.P. (red.) *Veterinary Parasitology*. Butterworth-Heinemann. 53–76. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-7261-0.50006-5>
- Ballweber, L.R. & Messonnier, S.P. (2001b). Chapter 4 - Parasites of the Gastrointestinal Tract I—Nematodes. I: Ballweber, L.R. & Messonnier, S.P. (red.) *Veterinary Parasitology*. Butterworth-Heinemann. 82–86. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-7261-0.50007-7>
- Ballweber, L.R. & Messonnier, S.P. (2001c). Chapter 4 - Parasites of the Gastrointestinal Tract I—Nematodes. I: Ballweber, L.R. & Messonnier, S.P. (red.) *Veterinary Parasitology*. Butterworth-Heinemann. 96–100. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-7261-0.50007-7>
- Ballweber, L.R. & Messonnier, S.P. (2001d). Chapter 4 - Parasites of the Gastrointestinal Tract I—Nematodes. I: Ballweber, L.R. & Messonnier, S.P. (red.) *Veterinary Parasitology*. Butterworth-Heinemann. 148–152. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-7261-0.50007-7>
- Buck, A.H., Coakley, G., Simbari, F., McSorley, H.J., Quintana, J.F., Le Bihan, T., Kumar, S., Abreu-Goodger, C., Lear, M., Harcus, Y., Ceroni, A., Babayan, S.A., Blaxter, M., Ivens, A. & Maizels, R.M. (2014). Exosomes secreted by nematode parasites transfer small RNAs to mammalian cells and modulate innate immunity. *Nature Communications*, 5 (1), 5488. <https://doi.org/10.1038/ncomms6488>
- CDC (2019). *Toxocariasis*. <https://www.cdc.gov/dpdx/toxocariasis/index.html> [2024-01-02]
- Clayton, H.M. & Duncan, J.L. (1979). The development of immunity to *Parascaris equorum* infection in the foal. *Research in Veterinary Science*, 26 (3), 383–384. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)32899-6](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)32899-6)

- Coakley, G., McCaskill, J.L., Borger, J.G., Simbari, F., Robertson, E., Millar, M., Marcus, Y., McSorley, H.J., Maizels, R.M. & Buck, A.H. (2017). Extracellular Vesicles from a Helminth Parasite Suppress Macrophage Activation and Constitute an Effective Vaccine for Protective Immunity. *Cell Reports*, 19 (8), 1545–1557. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.05.001>
- Cooper, P.J., Chico, M., Sandoval, C., Espinel, I., Guevara, A., Levine, M.M., Griffin, G.E. & Nutman, T.B. (2001). Human Infection with *Ascaris lumbricoides* Is Associated with Suppression of the Interleukin-2 Response to Recombinant Cholera Toxin B Subunit following Vaccination with the Live Oral Cholera Vaccine CVD 103-HgR. *Infection and Immunity*, 69 (3), 1574–1580. <https://doi.org/10.1128/iai.69.3.1574-1580.2001>
- Dhaka, R., Verma, R., Parmar, A., Chayal, V., Kalhan, M., Bhalla, K., Chawla, S., Agrawal, G., Kumar, G. & Sachdeva, A. (2020). Association between the socioeconomic determinants and soil-transmitted helminthiasis among school-going children in a rural area of Haryana. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 9 (7), 3712–3715. https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe_383_20
- Eichenberger, R.M., Sotillo, J. & Loukas, A. (2018). Immunobiology of parasitic worm extracellular vesicles. *Immunology & Cell Biology*, 96 (7), 704–713. <https://doi.org/10.1111/imcb.12171>
- Enobe, C.S., Araújo, C.A., Perini, A., Martins, M.A., Macedo, M.S. & Macedo-Soares, M.F. (2006). Early stages of *Ascaris suum* induce airway inflammation and hyperreactivity in a mouse model. *Parasite Immunology*, 28 (9), 453–461. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2006.00892.x>
- FASS (u.å.). *FASS djurläkemedel - ATC-register*. <https://www.fass.se/LIF/atcregister?userType=1&atcCode=QP54AA01> [2024-01-07]
- Feary, J., Britton, J. & Leonardi-Bee, J. (2011). Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 66 (4), 569–578. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02512.x>
- Ferguson, A.A., Inclan-Rico, J.M., Lu, D., Bobardt, S.D., Hung, L., Gouil, Q., Baker, L., Ritchie, M.E., Jex, A.R., Schwarz, E.M., Rossi, H.L., Nair, M.G., Dillman, A.R. & Herbert, D.R. (2023). Hookworms dynamically respond to loss of Type 2 immune pressure. *PLOS Pathogens*, 19 (12), e1011797. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011797>
- Folkhälsomyndigheten (2015). *Sjukdomsinformation om spolmaskinfektion*. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittykydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/spolmaskinfektion/> [2024-01-25]
- Gadahi, J.A., Ehsan, M., Wang, S., Zhang, Z., Wang, Y., Yan, R., Song, X., Xu, L. & Li, X. (2016). Recombinant protein of *Haemonchus contortus* 14-3-3 isoform 2 (rHcftt-2) decreased the production of IL-4 and suppressed the proliferation of goat PBMCs in vitro. *Experimental Parasitology*, 171, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.10.014>
- Gazzinelli-Guimarães, P.H., Gazzinelli-Guimarães, A.C., Silva, F.N., Mati, V.L.T., Dhom-Lemos, L. de C., Barbosa, F.S., Passos, L.S.A., Gaze, S., Carneiro, C.M., Bartholomeu, D.C., Bueno, L.L. & Fujiwara, R.T. (2013). Parasitological and immunological aspects of early *Ascaris* spp. infection in mice. *International Journal for Parasitology*, 43 (9), 697–706. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.02.009>
- Gazzinelli-Guimaraes, P.H. & Nutman, T.B. (2018). Helminth parasites and immune regulation. *F1000Research*. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15596.1>
- Hansen, E.P., Fromm, B., Andersen, S.D., Marcilla, A., Andersen, K.L., Borup, A., Williams, A.R., Jex, A.R., Gasser, R.B., Young, N.D., Hall, R.S.,

- Stensballe, A., Ovchinnikov, V., Yan, Y., Fredholm, M., Thamsborg, S.M. & Nejsum, P. (2019). Exploration of extracellular vesicles from *Ascaris suum* provides evidence of parasite–host cross talk. *Journal of Extracellular Vesicles*, 8 (1), 1578116. <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1578116>
- Henkle-Dührsen, K. & Kampkötter, A. (2001). Antioxidant enzyme families in parasitic nematodes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 114 (2), 129–142. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(01\)00252-3](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(01)00252-3)
- Holland, C., Sepidarkish, M., Deslyper, G., Abdollahi, A., Valizadeh, S., Mollalo, A., Mahjour, S., Ghodsian, S., Ardekani, A., Behniafar, H., Gasser, R.B. & Rostami, A. (2022). Global prevalence of *Ascaris* infection in humans (2010–2021): a systematic review and meta-analysis. *Infectious Diseases of Poverty*, 11 (1), 113. <https://doi.org/10.1186/s40249-022-01038-z>
- Jin, Z., Akao, N. & Ohta, N. (2008). Prolactin evokes lactational transmission of larvae in mice infected with *Toxocara canis*. *Parasitology International*, 57 (4), 495–498. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2008.06.006>
- Junginger, J., Schwittlick, U., Lemensieck, F., Nolte, I. & Hewicker-Trautwein, M. (2012). Immunohistochemical investigation of Foxp3 expression in the intestine in healthy and diseased dogs. *Veterinary Research*, 43 (1), 23. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-23>
- Kravats, A.N., Wickner, S. & Camberg, J.L. (2022). Molecular Chaperones. I: *Reference Module in Life Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822563-9.00061-5>
- Laugier, C., Sevin, C., Ménard, S. & Maillard, K. (2012). Prevalence of *Parascaris equorum* infection in foals on French stud farms and first report of ivermectin-resistant *P. equorum* populations in France. *Veterinary Parasitology*, 188 (1), 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.02.022>
- Lee, D., Zdraljevic, S., Stevens, L., Wang, Y., Tanny, R.E., Crombie, T.A., Cook, D.E., Webster, A.K., Chirakar, R., Baugh, L.R., Sterken, M.G., Braendle, C., Félix, M.-A., Rockman, M.V. & Andersen, E.C. (2021). Balancing selection maintains hyper-divergent haplotypes in *Caenorhabditis elegans*. *Nature Ecology & Evolution*, 5 (6), 794–807. <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01435-x>
- Liu, F.-T. (2005). Regulatory Roles of Galectins in the Immune Response. *International Archives of Allergy and Immunology*, 136 (4), 385–400. <https://doi.org/10.1159/000084545>
- Maizels, R.M. (2013). *Toxocara canis*: Molecular basis of immune recognition and evasion. *Veterinary Parasitology*, 193 (4), 365–374. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.032>
- Marcilla, A., Martin-Jaular, L., Trelis, M., de Menezes-Neto, A., Osuna, A., Bernal, D., Fernandez-Becerra, C., Almeida, I.C. & del Portillo, H.A. (2014). Extracellular vesicles in parasitic diseases. *Journal of Extracellular Vesicles*, 3, 10.3402/jev.v3.25040. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.25040>
- Martin, F., Höglund, J., Bergström, T.F., Karlsson Lindsjö, O. & Tydén, E. (2018). Resistance to pyrantel embonate and efficacy of fenbendazole in *Parascaris univalens* on Swedish stud farms. *Veterinary Parasitology*, 264, 69–73. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.11.003>
- McCracken, D.I. (1993). The potential for avermectins to affect wildlife. *Veterinary Parasitology*, 48 (1), 273–280. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90162-G](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90162-G)
- Mehlhorn, H. (red.) (2016a). *Ascaris*. *Encyclopedia of Parasitology*. Springer. 229–230. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43978-4_282
- Mehlhorn, H. (2016b). *Ascaris* Species of Animals. Mehlhorn, H. (red.) (Mehlhorn, H., red.) *Encyclopedia of Parasitology*. Springer. 231–232. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43978-4_3517

- Midttun, H.L.E., Acevedo, N., Skallerup, P., Almeida, S., Skovgaard, K., Andresen, L., Skov, S., Caraballo, L., van Die, I., Jørgensen, C.B., Fredholm, M., Thamsborg, S.M., Nejsun, P. & Williams, A.R. (2018). Ascaris Suum Infection Downregulates Inflammatory Pathways in the Pig Intestine In Vivo and in Human Dendritic Cells In Vitro. *The Journal of Infectious Diseases*, 217 (2), 310–319. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix585>
- Nielsen, M.K., Wang, J., Davis, R., Bellaw, J.L., Lyons, E.T., Lear, T.L. & Goday, C. (2014). Parascaris univalens—a victim of large-scale misidentification? *Parasitology Research*, 113 (12), 4485–4490. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4135-y>
- Nogueira, D.S., Gazzinelli-Guimarães, P.H., Barbosa, F.S., Resende, N.M., Silva, C.C., de Oliveira, L.M., Amorim, C.C.O., Oliveira, F.M.S., Mattos, M.S., Kraemer, L.R., Caliarì, M.V., Gaze, S., Bueno, L.L., Russo, R.C. & Fujiwara, R.T. (2016). Multiple Exposures to Ascaris suum Induce Tissue Injury and Mixed Th2/Th17 Immune Response in Mice. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10 (1), e0004382. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004382>
- Osterman Lind, E. & Christensson, D. (2009). Anthelmintic efficacy on Parascaris equorum in foals on Swedish studs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51 (1), 45. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-51-45>
- Pecinali, N.R., Gomes, R.N., Amendoeira, F.C., Bastos, A.C.M.P., Martins, M.J.Q.A., Pegado, C.S., Bastos, O.M.P., Bozza, P.T. & Castro-Faria-Neto, H.C. (2005). Influence of murine Toxocara canis infection on plasma and bronchoalveolar lavage fluid eosinophil numbers and its correlation with cytokine levels. *Veterinary Parasitology*, 134 (1), 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.06.022>
- Relf, V.E., Morgan, E.R., Hodgkinson, J.E. & Matthews, J.B. (2013). Helminth egg excretion with regard to age, gender and management practices on UK Thoroughbred studs. *Parasitology*, 140 (5), 641–652. <https://doi.org/10.1017/S0031182012001941>
- Richardson, S.J. & Cody, V. (red.) (2009). *Recent Advances in Transthyretin Evolution, Structure and Biological Functions*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00646-3>
- Rostami, A., Riahi, S.M., Hofmann, A., Ma, G., Wang, T., Behniafar, H., Taghipour, A., Fakhri, Y., Spotin, A., Chang, B.C.H., Macpherson, C.N.L., Hotez, P.J. & Gasser, R.B. (2020). Chapter Twenty-Eight - Global prevalence of Toxocara infection in dogs. I: Bowman, D.D. (red.) *Advances in Parasitology*. Academic Press. 561–583. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.017>
- Roy, A., Ganesh, G., Sippola, H., Bolin, S., Sawesi, O., Dagälv, A., Schlenner, S.M., Feyerabend, T., Rodewald, H.-R., Kjellén, L., Hellman, L. & Åbrink, M. (2014). Mast Cell Chymase Degrades the Alarmins Heat Shock Protein 70, Biglycan, HMGB1, and Interleukin-33 (IL-33) and Limits Danger-induced Inflammation*. *Journal of Biological Chemistry*, 289 (1), 237–250. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.435156>
- von Samson-Himmelstjerna, G., Thompson, R.A., Krücken, J., Grant, W., Bowman, D.D., Schnyder, M. & Deplazes, P. (2021). Spread of anthelmintic resistance in intestinal helminths of dogs and cats is currently less pronounced than in ruminants and horses – Yet it is of major concern. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 17, 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2021.07.003>
- Sauer-Eriksson, A.E., Linusson, A. & Lundberg, E. (2009). Transthyretin-Related and Transthyretin-like Proteins. I: Richardson, S.J. & Cody, V. (red.) *Recent Advances in Transthyretin Evolution, Structure and Biological Functions*. Springer. 109–122. https://doi.org/10.1007/978-3-642-00646-3_7

- Shin, M.H., Lee, Y.A. & Min, D.-Y. (2009). Eosinophil-Mediated Tissue Inflammatory Responses in Helminth Infection. *The Korean Journal of Parasitology*, 47 (Suppl), S125–S131. <https://doi.org/10.3347/kjp.2009.47.S.S125>
- Smith, K.A. & Maizels, R.M. (2014). IL-6 controls susceptibility to helminth infection by impeding Th2 responsiveness and altering the Treg phenotype in vivo. *European Journal of Immunology*, 44 (1), 150–161. <https://doi.org/10.1002/eji.201343746>
- Sperotto, R.L., Kremer, F.S., Aires Berne, M.E., Costa de Avila, L.F., da Silva Pinto, L., Monteiro, K.M., Caumo, K.S., Ferreira, H.B., Berne, N. & Borsuk, S. (2017). Proteomic analysis of *Toxocara canis* excretory and secretory (TES) proteins. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 211, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2016.09.002>
- Steenhard, N.R., Jungersen, G., Kokotovic, B., Beshah, E., Dawson, H.D., Urban, J.F., Roepstorff, A. & Thamsborg, S.M. (2009). *Ascaris suum* infection negatively affects the response to a *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination and subsequent challenge infection in pigs. *Vaccine*, 27 (37), 5161–5169. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.05.075>
- Stevens, L., Martínez-Ugalde, I., King, E., Wagah, M., Absolon, D., Bancroft, R., Gonzalez de la Rosa, P., Hall, J.L., Kieninger, M., Kloch, A., Pelan, S., Robertson, E., Pedersen, A.B., Abreu-Goodger, C., Buck, A.H. & Blaxter, M. (2023). Ancient diversity in host-parasite interaction genes in a model parasitic nematode. *Nature Communications*, 14 (1), 7776. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43556-w>
- SVA (2022). *Avmaskning av häst*. <https://www.sva.se/sport-och-sallskapsdjur/hast/parasiter-hos-hast/avmaskning-av-hast/> [2024-01-06]
- SVA (2023a). *Spolmask hos hund*. <https://www.sva.se/amnesomraden/djursjukdomar-a-o/spolmask-hos-hund/> [2024-01-03]
- SVA (2023b). *Swine Enzootic Pneumonia (SEP) hos gris*. <https://www.sva.se/amnesomraden/djursjukdomar-a-o/swine-enzootic-pneumonia-sep-hos-gris/> [2024-01-25]
- Svensk MeSH (u.å.). *MikroRNA*. <https://mesh.kib.ki.se/term/D035683/micromnas> [2024-01-05]
- Thamsborg, S.M., Nejsum, P. & Mejer, H. (2013). Chapter 14 - Impact of *Ascaris suum* in Livestock. I: Holland, C. (red.) *Ascaris: The Neglected Parasite*. Elsevier. 363–381. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396978-1.00014-8>
- Tian, X., Lu, M., Wang, W., Jia, C., Muhammad, E., Yan, R., Xu, L., Song, X. & Li, X. (2019). HcTTR: a novel antagonist against goat interleukin 4 derived from the excretory and secretory products of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Research*, 50 (1), 42. <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0661-z>
- Verdú, J.R., Cortez, V., Ortiz, A.J., González-Rodríguez, E., Martínez-Pinna, J., Lumaret, J.-P., Lobo, J.M., Numa, C. & Sánchez-Piñero, F. (2015). Low doses of ivermectin cause sensory and locomotor disorders in dung beetles. *Scientific Reports*, 5 (1), 13912. <https://doi.org/10.1038/srep13912>
- Vlaminck, J., Düsseldorf, S., Heres, L. & Geldhof, P. (2015). Serological examination of fattening pigs reveals associations between *Ascaris suum*, lung pathogens and technical performance parameters. *Veterinary Parasitology*, 210 (3), 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.04.012>
- Vokráľ, I., Michaela, Š., Radka, P., Jirí, L., Lukáš, P., Dominika, S., Kateřina, L., Barbora, S. & Lenka, S. (2019). Ivermectin environmental impact: Excretion profile in sheep and phytotoxic effect in *Sinapis alba*.

- Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 944–949.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.097>
- Vukman, K.V., Lalor, R., Aldridge, A. & O'Neill, S.M. (2016). Mast cells: new therapeutic target in helminth immune modulation. *Parasite Immunology*, 38 (1), 45–52. <https://doi.org/10.1111/pim.12295>
- WHO (2023). *Soil-transmitted helminth infections*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections> [2024-01-26]
- Wieten, L., Broere, F., van der Zee, R., Koerkamp, E.K., Wagenaar, J. & van Eden, W. (2007). Cell stress induced HSP are targets of regulatory T cells: A role for HSP inducing compounds as anti-inflammatory immuno-modulators? *FEBS Letters*, 581 (19), 3716–3722.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.04.082>
- Wiharta, A.S., Hotta, H., Hotta, S., Matsumura, T., Sujudi & Tsuji, M. (1985). Increased Multiplication of Dengue Virus in Mouse Peritoneal Macrophage Cultures by Treatment with Extracts of Ascaris-Parascaris Parasites. *Microbiology and Immunology*, 29 (4), 337–348.
<https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1985.tb00832.x>
- Zininga, T., Ramatsui, L. & Shonhai, A. (2018). Heat Shock Proteins as Immunomodulants. *Molecules*, 23 (11), 2846.
<https://doi.org/10.3390/molecules23112846>

Tack

Jag vill rikta ett stort tack till Magnus Åbrink som sedan vårvintern 2023 har låtit mig vara en del av det spännande projekt som den här uppsatsen bygger på. Inte trodde jag att det var möjligt att få mig att tycka att parasitmaskar är världens grej, men det har du lyckats med. Jag vill också tacka för all hjälp och pepp som jag har fått under skrivprocessen, vilken har varit avgörande för att komma i mål med den här uppsatsen.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Du hittar en länk till SLU:s publiceringsavtal på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.