

Schistosoma japonicum-associated morbidity and its mechanisms among children and young adults in the Philippines

Schistosoma japonicum infectie onder kinderen en jongvolwassenen op de Filippijnen; studies over
morbiditeit en pathogenese

(met een samenvatting in het Nederlands)

PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van de graad van doctor
aan de Universiteit Utrecht
op gezag van de rector magnificus, prof. dr. W.H. Gispen,
ingevolge het besluit van het college van promoties
in het openbaar te verdedigen
op donderdag 7 december 2006 des ochtends te 10.30 uur

door

Hannah Marije Coutinho

geboren op 19 december 1975 te Amsterdam

Promotor

Prof. dr. J.L.L. Kimpen

Co-promotoren

Dr. J.F. Friedman

Dr. J.D. Kurtis

Schistosoma japonicum-associated morbidity and its mechanisms among children and young adults in the Philippines

This thesis presents results from a prospective longitudinal treatment-reinfection study in *Schistosoma japonicum* infected children, adolescents and young adults, carried out in Leyte, the Philippines, between October 2002 and November 2004. The aim of this thesis was to describe nutritional morbidity and hepatic fibrosis in the context of *S. japonicum* infection and reinfection following treatment with praziquantel. Furthermore, potential immunological mechanisms involved in these morbidities were evaluated. In addition, the potential immunomodulatory role of the puberty-associated hormone dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS) in the age-related decline in the prevalence of nutritional morbidity was evaluated.

In *Chapter 1* we address the background of the studies presented in this thesis. Chronic schistosomiasis remains a global public health problem, affecting more than 200 million people in 77 countries, the majority of whom are school-age children and adolescents. The complex life cycle and immunobiology of schistosomes in general, and *Schistosoma japonicum* in particular, complicate control efforts. Relatively few studies have addressed morbidity associated with *S. japonicum* infection, which is endemic in China and several countries in South-East Asia, including the Philippines.

Hepatic fibrosis, a major complication of chronic schistosomiasis, develops in a minority of infected individuals and occurs mostly in males. The central mechanism responsible for fibrosis presumably involves a dysregulated host immune response, with uncontrolled production of the pro-fibrotic T-helper 2 (Th2) cytokines interleukin (IL)-4, IL-5 and IL-13. However, most of this knowledge is derived from murine studies of *S. mansoni*. No studies have evaluated the involvement of these cytokines in *S. japonicum*-associated hepatic fibrosis.

Undernutrition and anemia are a major public health problem among school-age children in the developing world. Chronic helminth infections, including schistosomiasis, are an important determinant of nutritional morbidity in this age group, but the mechanisms involved have not been elucidated. The proinflammatory cytokines IL-1, IL-6 and tumor necrosis factor (TNF)- α have been implicated as central mediators of undernutrition and anemia in chronic inflammatory diseases. It is unknown whether these cytokines play a role in schistosomiasis-associated nutritional morbidity. Moreover, no studies have addressed co-existence between nutritional and hepatic morbidity in the context of chronic schistosomiasis.

The age-related decline in the prevalence of undernutrition and anemia after adolescence is thought to result from the reduced prevalence and intensity of parasite infections. In addition, hormonal changes of puberty, in particular the sharp increase in DHEAS, which downregulates proinflammatory immune responses, may reduce inflammation-associated nutritional morbidity. This novel hypothesis has not been previously investigated.

Chapter 2 describes nutritional changes, based on repeated anthropometric and serum hemoglobin measurements during an 18-month period, among *S. japonicum* infected children and adolescents aged 7-20 years who were treated with praziquantel. Analyses were adjusted for socio-economic status (SES), sex and either pubertal status or age. Z-scores, which represent age- and sex-adjusted deviations of an individual's nutritional status relative to that of a healthy reference population, improved modestly but significantly over time. Body-mass index Z-score (BMIZ) in children who were wasted at baseline improved the most (0.41 [95% CI: 0.26-0.56] Z-score unit). Height-for-age Z-score (HAZ) improved only in children who were stunted at baseline (0.17 [95% CI: 0.12-0.21] Z-score unit). Improvement in hemoglobin peaked at 15 months and only occurred in 1) subjects who

were anemic at baseline (peak improvement: 8.3 [95% CI: 6.0-10.6] g/L) and 2) males (peak improvement 4.7 [95% CI: 2.9-6.6] g/L). Reinfection was inversely associated with improvement in hemoglobin. High intensity reinfection at 18 months was associated with significantly less absolute growth from baseline compared to lower intensity and no reinfection at 18 months. Taken together, these results strengthen the causal relationship between *S. japonicum*, and undernutrition and anemia. Based on the peak improvement in hemoglobin and the plateau in improvement of BMIZ at 15 months post-treatment, in addition to the adverse effects of reinfection on absolute growth, annual treatment intervals are recommended to reduce schistosomiasis-associated nutritional morbidity.

In *Chapter 3* we present the results from longitudinal analyses evaluating the hypothesis that *S. japonicum*-associated undernutrition among children and adolescents is mediated, in part, by proinflammatory cytokines. After adjustment for sex, age, geohelminth egg counts and SES, *S. japonicum* intensity was associated with decreased serum albumin and Z-scores, and with increased levels of serum C-reactive protein (CRP) and IL-6. CRP was associated with decreased albumin, BMIZ and upper-arm muscle area Z-score (UMAZ). IL-6 showed a trend of association with decreased UMAZ. Production of IL-1 and TNF- α by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in response to stimulation with crude worm antigen (SWAP) was associated with decreased albumin (both IL-1 and TNF- α) and HAZ (TNF- α only). These results suggest that *S. japonicum*-associated undernutrition may, in part, be mediated by proinflammatory cytokines. Undernutrition in this context likely results from a combination of anorexia, metabolic changes and body protein redistribution, leading to cachexia. Consequently, the potential effectiveness of nutritional supplementation alone to reduce nutritional morbidity in areas endemic for *S. japonicum* may be limited. This should be combined with schistosomiasis control strategies.

Chapter 4 describes results from longitudinal analyses evaluating the association between reinfection with *S. japonicum* following treatment with praziquantel, and anemia and iron status, among 7-30 year old *S. japonicum* infected individuals. In addition, the potential types of anemia in this context were evaluated. After 18 months, reinfection with *S. japonicum* was associated with a 3.9 (95% CI: 1.6 - 6.3) g/L lower mean hemoglobin and 1.70 (95% CI: 1.10 - 2.61) times higher odds of all-cause anemia, compared to no reinfection. Reinfection was associated with iron deficiency anemia (IDA) in the high reinfection intensities only. Conversely, reinfection was associated with non-iron deficiency anemia (NIDA) in all reinfection intensities. Furthermore, reinfection was associated with serum IL-6 and CRP, both of which were associated with NIDA. Rapid reinfection led to a reversal of the positive effect of treatment on hemoglobin, within one year of treatment. Our results provide strong evidence for the causal relationship between *S. japonicum* infection and anemia. There is no direct method to assess the presence of anemia of chronic disease, also called anemia of inflammation. However, exclusion of iron deficiency and other causes of anemia, in addition to the associations we found between NIDA and inflammatory markers (CRP and IL-6), justify the interpretation that NIDA represents anemia of inflammation in this population. Based on these results, we conclude that the principle mechanism involved in *S. japonicum*-associated anemia is that of proinflammatory cytokine-mediated anemia. Iron deficiency plays a role in high intensity infections only. Consequently, anemia in areas endemic for *S. japonicum* is unlikely to be ameliorated by iron therapy alone.

Chapter 5 describes cross-sectional associations between severity of *S. japonicum*-associated hepatic fibrosis, nutritional morbidity and serum proinflammatory cytokines in a cohort of 7-30 year old *S. japonicum* infected individuals. Hepatic fibrosis was present in 8.9% of the cohort, the

majority of which consisted of mild (grade I) fibrosis. Severe fibrosis (grade II or III) was only seen in males. Furthermore, males had 3.3-fold higher odds of any fibrosis compared to females, independent of age and intensity of infection. Compared to subjects without fibrosis, individuals with mild and, even more so, severe fibrosis had significantly lower BMI and BMIZ, a higher prevalence of anemia, and higher serum levels of CRP and IL-6. Furthermore, individuals with severe fibrosis had significantly higher levels of IL-1 compared to those with no or mild fibrosis. These findings suggest that even mild fibrosis is associated with nutritional morbidity and underscore the importance of early recognition and treatment. In addition, our data are consistent with the hypothesis that hepatic fibrosis causes undernutrition and anemia by systemically increasing levels of the proinflammatory cytokines IL-1 and IL-6.

Chapter 6 describes results from cross-sectional analyses evaluating associations between *S. japonicum*-specific cytokine profiles, sex, and presence and progression of hepatic fibrosis among 7-30 year old *S. japonicum*-infected subjects. After adjustment for potential confounders, IL-10 produced by PBMC in response to crude worm and egg antigen (soluble worm antigen preparation [SWAP] and soluble egg antigen [SEA], respectively), and IL-4 in response to SWAP, were associated with presence of baseline fibrosis. In a subgroup of subjects who had fibrosis at baseline, IL-4 in response to SWAP, and IL-5 and IL-13 in response to both SWAP and SEA were associated with persistent fibrosis at 12 months post-treatment. Males showed consistently stronger Th2 cytokine responses to both SWAP and SEA compared to females. These results suggest an independent role of Th2-biased cytokine responses to *S. japonicum* antigens in persistent hepatic fibrosis. Furthermore, they indicate that Th2 cytokines may contribute to the male-biased prevalence of fibrosis.

Chapter 7 describes cross-sectional associations between DHEAS, nutritional status and serum inflammatory markers in a cohort of individuals aged 7-30 years. Independent of age, SES and helminth infections (*S. japonicum*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichuria* and hookworm egg count), increased levels of DHEAS were associated with improved nutritional status and decreased prevalence of NIDA in both males and females. DHEAS showed a dose-dependent inverse relationship with CRP and serum IL-6. These inflammatory markers, in turn, were consistently associated with nutritional morbidity. These results are consistent with the hypothesis that the puberty-associated rise in DHEAS downmodulates proinflammatory immune responses; thereby DHEAS reduces nutritional morbidity in a population with a high burden of chronic helminth infections. This not previously described regulatory mechanism of inflammation-related nutritional morbidity emphasizes the importance of treating pre-pubescent children for helminth infections.

Chapter 8 summarizes the main results and conclusions of this thesis and discusses the implications for public health policy and future research. In an area in the Philippines with intense transmission, infection with *S. japonicum* is causally related to undernutrition and anemia in children and adolescents. This is mediated, in part, by proinflammatory cytokines, in particular IL-6. Anemia of inflammation is the central mechanism responsible for anemia associated with *S. japonicum* infection. Iron deficiency is relevant in high intensity infections only. The rise of the anti-inflammatory hormone DHEAS during pubertal development may be partly responsible for the age-related decline in the prevalence of inflammation-associated nutritional morbidity in developing countries with a high burden of helminth infections. Taken together, these results underscore the importance of a combined approach to target undernutrition and anemia in areas endemic for schistosomiasis. This should involve strategies aimed at the prevention and treatment of schistosomiasis combined with dietary supplementation and treatment of other helminth infections.

Co-existence of hepatic fibrosis and nutritional morbidity is common, and may be explained by increased levels of proinflammatory cytokines due to fibrosis. Even mild fibrosis is associated with undernutrition and anemia, emphasizing the importance of early recognition and treatment of fibrosis.

S. japonicum-specific Th2 cytokines, IL-4, IL-5 and IL-13, are associated with persistence of hepatic fibrosis. This is in line with the results from studies investigating the immunology of *S. mansoni* infection. Males produce higher levels of these pro-fibrotic cytokines compared to females. This may explain the male-biased prevalence of fibrosis that others and we have reported. Prevalence and severity of both nutritional and hepatic morbidity are greater among males, and this may be related to enhanced or uncontrolled cytokine production. Therefore, in areas endemic for schistosomiasis, males should be regarded as a separate risk group.

Samenvatting

Schistosoma japonicum infectie onder kinderen en jongvolwassenen op de Filippijnen; studies over morbiditeit en pathogenese

Dit proefschrift bevat resultaten van een longitudinaal onderzoek bij met *Schistosoma japonicum* geïnfecteerde kinderen, adolescenten en jongvolwassenen, uitgevoerd op Leyte, de Filippijnen, tussen oktober 2002 en september 2004. Het beschrijft ondervoeding, anemie en leverfibrose ten gevolge van *S. japonicum* infectie en reïnfectie na behandeling met praziquantel. Ook worden potentiële immunologische mechanismen geëvalueerd die een rol spelen bij deze ziektebeelden. Daarnaast wordt onderzocht welke rol het met de puberteit geassocieerde hormoon dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS) speelt bij de afname van de prevalentie van ondervoeding en anemie met toenemende leeftijd.

In *Hoofdstuk 1* presenteren we de achtergronden van de studies die in dit proefschrift zijn opgenomen. Chronische schistosomiasis is en blijft een wereldwijd gezondheidsprobleem en komt voor bij meer dan 200 miljoen mensen in 77 landen, voornamelijk kinderen van schoolgaande leeftijd en adolescenten. De complexe levenscyclus en immunobiologie van de schistosomen in het algemeen, en *Schistosoma japonicum* in het bijzonder, compliceren pogingen deze ziekte onder controle te krijgen. Er is relatief weinig onderzoek gedaan naar morbiditeit gerelateerd aan *S. japonicum* infectie, een ziekte die endemisch is in China en verscheidene landen in Zuid-Oost Azië, waaronder de Filippijnen.

Leverfibrose, een belangrijke complicatie van chronische schistosomiasis, ontwikkelt zich bij een minderheid van geïnfecteerde personen en komt met name voor bij mannen. Het centrale mechanisme dat verantwoordelijk is voor fibrose is vermoedelijk een verstoorde immuun respons van de gastheer. Hierbij is sprake van ongecontroleerde productie van de pro-fibrotische T-helper 2 (Th2) cytokines interleukine (IL)-4, IL-5 en IL-13. De meeste kennis hierover komt echter van experimentele onderzoeken bij muizen geïnfecteerd met *S. mansoni*. De betekenis van deze cytokines bij leverfibrose ten gevolge van *S. japonicum* is niet onderzocht.

Ondervoeding en anemie zijn grote gezondheidsproblemen bij kinderen van schoolgaande leeftijd in ontwikkelingslanden. Chronische worm infecties, waaronder schistosomiasis, zijn een belangrijke determinant van ondervoeding en anemie in deze leeftijdsgroep, maar de betrokken mechanismen zijn niet opgehelderd. De proinflammatoire cytokines IL-1, IL-6 en tumor necrosis factor (TNF)- α zijn centrale mediators van ondervoeding en anemie bij chronisch inflammatoire ziekten. Het is echter onbekend of deze cytokines een rol spelen bij dergelijke morbiditeit ten gevolge van schistosomiasis. Ook is de combinatie van ondervoeding, anemie en leverfibrose ten gevolge van schistosomiasis niet onderzocht.

Verondersteld wordt dat de afname van de prevalentie van ondervoeding en anemie na de adolescentie het gevolg is van de verminderde prevalentie en intensiteit van parasitaire infecties. Daarnaast spelen hormonale veranderingen tijdens de puberteit mogelijk een rol hierbij, in het bijzonder de aanzienlijke stijging van DHEAS, een hormoon dat de proinflammatoire immuun respons afzwakt. Deze nieuwe hypothese is niet eerder onderzocht.

Hoofdstuk 2 beschrijft veranderingen in de voedingstoestand, gebaseerd op herhaalde antropometrische en hemoglobine metingen gedurende een periode van 18 maanden, onder met *S. japonicum* geïnfecteerde kinderen en adolescenten in de leeftijd van 7 tot 20 jaar na behandeling met praziquantel. De betreffende analyses werden gecorrigeerd voor sociaal-economische status (SES), geslacht en of puberteit stadium ofwel leeftijd. Z-scores verbeterden licht, maar wel

significant gedurende follow-up. Deze Z-scores vertegenwoordigen een voor leeftijd en geslacht gecorrigeerde afwijking van iemands voedingstoestand ten opzichte van een gezonde referentie populatie. De Z-score voor body-mass-index (BMIZ) verbeterde het meest bij kinderen die een gering gewicht voor de leeftijd (wasting) hadden aan het begin van de studie (0.41 [95% CI: 0.26-0.56] Z-score eenheid). De Z-score voor lengte/leeftijd (HAZ) verbeterde alleen bij kinderen die een geringe lengte voor de leeftijd (stunting) hadden aan het begin van de studie (0.17 [95% CI: 0.12-0.21] Z-score eenheid). Verbetering van het hemoglobine gehalte piekte na 15 maanden en werd alleen gezien bij 1) personen die anemie hadden aan het begin van de studie (piek verbetering: 8.3 [95% CI: 6.0-10.6] g/L) en 2) jongens (piek verbetering: 4.7 [95% CI: 2.9-6.6] g/L). Reïnfectie was omgekeerd evenredig geassocieerd met verbetering van het hemoglobine gehalte. Na 18 maanden was reïnfectie met hoge intensiteit ten opzichte van lage intensiteit/geen reïnfectie geassocieerd met significant minder absolute groei. Deze resultaten ondersteunen het causale verband tussen *S. japonicum* enerzijds, en ondervoeding en anemie anderzijds. Gezien de piek in verbetering van het hemoglobine gehalte en plateau in verbetering van de BMIZ 15 maanden na behandeling, alsmede de nadelige effecten van reïnfectie op de absolute groei, worden jaarlijkse behandelings-intervallen aanbevolen teneinde ondervoeding en anemie ten gevolge van schistosomiasis te reduceren.

In *Hoofdstuk 3* presenteren we de resultaten van longitudinale analyses die als doel hadden de hypothese te evalueren dat ondervoeding ten gevolge van *S. japonicum* bij kinderen en adolescenten ten dele wordt bewerkstelligd door proinflammatoire cytokines. Na correctie voor geslacht, leeftijd, aantal wormeieren en SES, was de intensiteit van *S. japonicum* infectie geassocieerd met een verlaagd serum albumine en lagere Z-scores, en met een verhoogde concentratie C-reactive protein (CRP) en IL-6. CRP was geassocieerd met een verlaagd serum albumine, lagere BMIZ en Z-score voor de omtrek van de bovenarmspier (UMAZ). Er was een trend van associatie tussen IL-6 en een verlaagde UMAZ. Productie van IL-1 en TNF- α door mononucleaire cellen uit perifere bloed (PBMC) als reactie op stimulatie met ongezuiverd worm antigeen (SWAP) was geassocieerd met een verlaagd serum albumine (zowel IL-1 als TNF- α) en lagere HAZ (alleen TNF- α). Deze resultaten suggereren dat ondervoeding ten gevolge van *S. japonicum* mogelijk ten dele wordt bewerkstelligd door proinflammatoire cytokines. Ondervoeding in deze context is waarschijnlijk het resultaat van een combinatie van anorexie, metabole veranderingen en herverdeling van lichaamseiwit; dit leidt tot cachexie. Het potentiële effect van enkel en alleen voedingssuppletie teneinde ondervoeding en anemie te reduceren in gebieden die endemisch zijn voor *S. japonicum* zal waarschijnlijk beperkt zijn. Dit zal gecombineerd moeten worden met de bestrijding van schistosomiasis.

Hoofdstuk 4 beschrijft de resultaten van longitudinale analyses die als doel hadden het verband te evalueren tussen reïnfectie met *S. japonicum* na behandeling met praziquantel, en anemie en ijzerstatus. Dit werd onderzocht bij personen in de leeftijd van 7 tot 30 jaar die met *S. japonicum* geïnfecteerd waren. Daarnaast werd geëvalueerd welk type anemie centraal staat in deze context. Na 18 maanden was reïnfectie met *S. japonicum* geassocieerd met een gemiddeld 3.9 (95% CI: 1.6-6.3) g/L lager hemoglobine gehalte en 1.70 (95% CI: 1.10-2.61) keer verhoogde kans op anemie vergeleken met geen reïnfectie. In analyses van het type anemie was alleen reïnfectie met hoge intensiteit geassocieerd met ijzerebreksanemie (IDA). Daarentegen waren alle intensiteiten van reïnfectie geassocieerd met anemie door andere oorzaken dan ijzerebrek (NIDA). Voorts was reïnfectie geassocieerd met serum IL-6 en CRP, die beiden waren geassocieerd met NIDA. Snelle reïnfectie leidde tot een omkering van het positieve effect van behandeling op het hemoglobine gehalte, binnen een jaar na behandeling. Onze resultaten leveren sterk bewijs voor het causale verband tussen *S. japonicum* infectie en anemie. Er bestaat geen directe methode om de

aanwezigheid van anemie der chronische ziekte vast te stellen. Echter, het uitsluiten van ijzergebrek en andere oorzaken van anemie, alsmede de aanwezigheid van associaties tussen NIDA en markers van ontsteking (CRP en IL-6), rechtvaardigen de interpretatie dat NIDA in deze populatie anemie der chronische ziekte vertegenwoordigt. Op basis van deze resultaten concluderen we dat anemie ten gevolge van *S. japonicum* voornamelijk bewerkstelligd wordt door proinflammatoire cytokines. Ijzergebrek speelt alleen een rol bij infecties van hoge intensiteit. Derhalve is het onwaarschijnlijk dat anemie in gebieden waar *S. japonicum* endemisch is zal verbeteren door middel van enkel en alleen ijzertherapie.

Hoofdstuk 5 beschrijft een dwarsdoorsnede onderzoek naar het verband tussen de ernst van leverfibrose ten gevolge van *S. japonicum*, ondervoeding en anemie, en serum proinflammatoire cytokines. Dit werd onderzocht in een cohort van personen in de leeftijd van 7 tot 30 jaar die met *S. japonicum* geïnfecteerd waren. Leverfibrose was aanwezig bij 8.9% van het cohort en bestond met name uit milde (graad I) fibrose. Ernstige fibrose (graad II of III) kwam alleen bij mannen voor. Voorts hadden zij een 3.3-maal hogere kans op fibrose vergeleken met vrouwen, onafhankelijk van leeftijd en intensiteit van de infectie. Vergeleken met personen zonder fibrose hadden personen met milde, en, in nog sterkere mate, ernstige fibrose een significant lagere BMI en BMIZ, een hogere prevalentie van anemie en een hogere serum concentratie CRP en IL-6. Deze bevindingen suggereren dat zelfs milde fibrose gepaard gaat met ondervoeding en anemie, en benadrukken het belang van vroege herkenning en behandeling. Bovendien ondersteunen onze bevindingen de hypothese dat leverfibrose leidt tot ondervoeding en anemie via een verhoogde concentratie van de proinflammatoire cytokines IL-1 en IL-6.

Hoofdstuk 6 beschrijft de resultaten van een dwarsdoorsnede onderzoek met als doel verbanden te evalueren tussen voor *S. japonicum* specifieke cytokine profielen, geslacht, en aanwezigheid en progressie van leverfibrose. Dit werd onderzocht bij met *S. japonicum* geïnfecteerde personen in de leeftijd van 7 tot 30 jaar. Na correctie voor factoren die dit verband potentieel kunnen beïnvloeden (confounders) waren IL-10 geproduceerd door PBMC als reactie op ongezuiverd worm en ei antigeen (respectievelijk SWAP en SEA), en IL-4 als reactie op SWAP, geassocieerd met aanwezigheid van fibrose aan het begin van de studie. In een subgroep van personen met fibrose aan het begin van de studie waren IL-4 in reactie op SWAP, en IL-5 en IL-13 in reactie op zowel SWAP als SEA, geassocieerd met persisterende fibrose 12 maanden na behandeling. Mannen hadden een consistent sterkere Th2 cytokine respons in reactie op zowel SWAP als SEA vergeleken met vrouwen. Deze resultaten suggereren dat een dominante Th2 cytokine respons in reactie op antigenen van *S. japonicum* een onafhankelijke rol speelt bij het persisteren van leverfibrose. Voorts duiden onze resultaten op een mogelijke rol van Th2 cytokines bij de hogere prevalentie van fibrose bij mannen.

Hoofdstuk 7 beschrijft, in een dwarsdoorsnede onderzoek, de verbanden tussen DHEAS, voedingstoestand en serum markers van ontsteking in een cohort van personen in de leeftijd van 7 tot 30 jaar. Onafhankelijk van leeftijd, SES en worminfecties (aantal eieren van *S. japonicum*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichuria* en mijnworm) waren hogere concentraties DHEAS geassocieerd met een verbetering van de voedingstoestand en met een verlaagde prevalentie van NIDA bij zowel mannen als vrouwen. DHEAS liet een omgekeerd evenredige dosisrespons relatie zien met CRP en serum IL-6. Deze markers van ontsteking waren op hun beurt consistent geassocieerd met ondervoeding en anemie. Deze resultaten komen overeen met de hypothese dat de met de puberteit geassocieerde stijging van DHEAS de proinflammatoire immuun respons afzwakt; op deze wijze bewerkstelligt DHEAS een afname van de prevalentie van ondervoeding en anemie in een populatie waar chronische worminfecties veelvuldig voorkomen. Dit niet eerder beschreven

regulerende mechanisme van ondervoeding en anemie ten gevolge van ontsteking benadrukt het belang om prepuberale kinderen te behandelen voor worminfecties.

Hoofdstuk 8 vat de hoofdbevindingen en conclusies van dit proefschrift samen en bediscussieert de gevolgen voor beleid op het gebied van openbare gezondheidszorg en toekomstig onderzoek. In een gebied op de Filipijnen met intensieve transmissie is *S. japonicum* causaal gerelateerd aan ondervoeding en anemie bij kinderen en adolescenten. Dit wordt ten dele bewerkstelligd door proinflammatoire cytokines, in het bijzonder door IL-6. Het belangrijkste type anemie ten gevolge van *S. japonicum* is anemie der chronische ziekte. Ijzergebrek is alleen relevant bij infecties van hoge intensiteit. De stijging van het anti-inflammatoire hormoon DHEAS tijdens de puberteitsontwikkeling kan mede verantwoordelijk zijn voor de afname van de prevalentie van ondervoeding en anemie na de puberteit in ontwikkelingslanden waar worminfecties veelvuldig voorkomen. Gezamenlijk onderstrepen deze resultaten het belang van een gecombineerde aanpak van ondervoeding en anemie in gebieden waar schistosomiasis endemisch is. Hierbij moeten strategieën gericht op de preventie en behandeling van schistosomiasis gecombineerd worden met voedingssuppletie en behandeling van overige worminfecties.

Co-existentie van leverfibrose, ondervoeding en anemie komt frequent voor, en zou verklaard kunnen worden door verhoogde concentraties van proinflammatoire cytokines als gevolg van fibrose. Zelfs milde leverfibrose is geassocieerd met ondervoeding en anemie, en dit benadrukt het belang van vroege herkenning en behandeling.

Voor *S. japonicum* specifieke Th2 cytokines, IL-4, IL-5 en IL-13, zijn geassocieerd met het persisteren van leverfibrose. Dit sluit aan bij bevindingen van studies naar de immunologie van *S. mansoni* infectie. Mannen produceren hogere concentraties van deze pro-fibrotische cytokines vergeleken met vrouwen. Dit zou kunnen verklaren waarom de prevalentie van fibrose hoger is onder mannen, hetgeen door ons en anderen is gerapporteerd. De prevalentie en ernst van zowel ondervoeding en anemie als leverfibrose zijn groter onder mannen, en dit hangt mogelijk samen met een verhoogde of ongecontroleerde cytokine productie. In gebieden waar schistosomiasis endemisch is dienen mannen derhalve beschouwd te worden als een speciale risicogroep.