

Ministério da Saúde  
Fundação Oswaldo Cruz  
Centro de Pesquisas René Rachou  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Acompanhamento clínico, epidemiológico e  
imunológico de pacientes portadores da fase aguda da  
esquistossomose mansoni, submetidos à terapêutica  
específica com Praziquantel

por

MATHEUS FERNANDES COSTA E SILVA

BELO HORIZONTE  
FEVEREIRO DE 2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Ministério da Saúde  
Fundação Oswaldo Cruz  
Centro de Pesquisas René Rachou  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Acompanhamento clínico, epidemiológico e  
imunológico de pacientes portadores da fase aguda da  
esquistossomose mansoni, submetidos à terapêutica  
específica com Praziquantel

por

MATHEUS FERNANDES COSTA E SILVA

Dissertação apresentada com vistas à obtenção do  
Título de Mestre em Ciências na área de  
concentração Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientação: Dr<sup>a</sup>. Andréa Teixeira Carvalho

Co-orientações: Dr. Rodrigo Corrêa Oliveira

Dr<sup>a</sup>. Denise da Silveira Lemos Guinchetti

BELO HORIZONTE  
FEVEREIRO DE 2009

Catálogo-na-fonte  
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ  
Biblioteca do CPqRR  
Segemar Oliveira Magalhães CRB/6 1975

C837a Costa e Silva, Matheus Fernandes.  
2009

Acompanhamento clínico, epidemiológico e imunológico de pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose mansoni, submetidos à terapêutica específica com Praziquantel / Matheus Fernandes Costa e Silva. – Belo Horizonte, 2009.

XXIII, 192 f.: il; 210 x 297mm.

Bibliografia: f. 185 - 215

Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

1. Esquistossomose mansoni/epidemiologia 2. Esquistossomose mansoni/diagnóstico 3. Esquistossomose mansoni/imunologia 4. Esquistossomose mansoni/quimioterapia 5. Imunofenotipagem/métodos I. Título. II. Teixeira-Carvalho, Andréa (Orientação). III. Corrêa-Oliveira, Rodrigo (Co-orientação). IV. Silveira-Lemos, Denise (Co-orientação)

CDD – 22. ed. – 616.963

Ministério da Saúde  
Fundação Oswaldo Cruz  
Centro de Pesquisas René Rachou  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Acompanhamento clínico, epidemiológico e  
imunológico de pacientes portadores da fase aguda da  
esquistossomose mansoni, submetidos à terapêutica  
específica com Praziquantel

por

MATHEUS FERNANDES COSTA E SILVA

**Foi avaliada pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:**

**Prof. Dr<sup>a</sup>.** Andréa Teixeira Carvalho (**Presidente**)

**Prof. Dr<sup>a</sup>.** Silvana Maria Elói Santos

**Prof. Dr<sup>a</sup>.** Cristina Toscano Fonseca

**Suplente:** Dr. Stefan Michael Geiger

**Dissertação defendida e aprovada em:** 27/02/2009.

## **COLABORADORES**

### **Centro de Pesquisas René Rachou – Belo Horizonte**

Dr. Giovanni Gazzinelli – Laboratório de Imunologia Celular e Molecular

Dr. Cristiano Lara Massara – Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica

Dr. Martin Johannes Enk – Laboratórios de Esquistossomose e Helminologia e Malacologia Médica

Dr. Paulo Marcos Zech Coelho – Laboratório de Esquistossomose

Dr. Olindo Assis Martins Filho – Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração

### **Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte-MG**

Dr. José Augusto Nogueira Machado

Dra. Maria Carolina Barbosa Álvares

### **Universidade Federal de Minas Gerais-ICB/Departamento de Bioquímica e Imunologia**

Dr. Alfredo Miranda de Góes

## **SUPORTE FINANCEIRO:**

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CPqRR/FIOCRUZ: Centro de Pesquisas René Rachou/Fundação Oswaldo Cruz

**Dedico esse trabalho aos meus pais e meus irmãos que sempre estiveram presentes em todos os momentos. Agradeço pelo apoio e ensinamentos que foram fundamentais para essa conquista**

## **Agradecimentos**

À Dr<sup>a</sup>. Andréa Teixeira Carvalho, agradeço por me abrir as portas da ciência e pela orientação durante todo esse percurso. Seu imenso apoio e ensinamentos foram fundamentais para a conclusão desse trabalho. Obrigado por sempre acreditar em mim, seus exemplos de dedicação, respeito, caráter e companheirismo muito contribuíram para minha formação científica até o presente momento. Sinto-me extremamente realizado em finalizar esse trabalho sob sua orientação. MUITO OBRIGADO.

Ao Dr. Rodrigo Corrêa Oliveira, meu imenso agradecimento por ter me aceitado em seu laboratório durante a iniciação científica e desenvolvimento do presente trabalho. O seu esforço para que possamos desenvolver um trabalho com tranquilidade e acima de tudo com qualidade foi fundamental para a conclusão desse trabalho. Obrigado por suas sugestões e apoio.

À Dr<sup>a</sup>. Denise da Silveira Lemos Guinchetti, meu eterno agradecimento por todos os ensinamentos, incentivos, apoio em todos os momentos, conversas, atenção e acima de tudo pela amizade desde a iniciação científica. Sua contribuição para minha formação e conclusão desse trabalho foi enorme. MUITO OBRIGADO por sempre acreditar em mim.

À Vanessa Peruhype Magalhães Pascoal pela confiança e amizade. Seus incentivos e ensinamentos foram essenciais para minha formação. Sou imensamente grato por toda sua ajuda durante essa caminhada. MUITO OBRIGADO pela oportunidade de abrir as portas da ciência.

Ao Dr. Olindo Assis Martins Filho por me aceitar em seu laboratório. Seu exemplo de profissionalismo, competência e dedicação são exemplos para todos aqueles que estão começando na carreira científica. Muito Obrigado.



Aos colaboradores desse trabalho, Dr. Giovanni Gazzinelli, Dr. Cristiano Lara Massara, Dr. Martin Johannes Enk, Dr. Paulo Marcos Zech Coelho, Dr. José Augusto Nogueira Machado, Dr<sup>a</sup>. Maria Carolina Barbosa Álvares, Dr. Alfredo Miranda de Góes que confiaram e sempre estiveram disponíveis durante a realização desse trabalho.

Aos órgãos financiadores que proporcionaram a realização desse trabalho.

À Biblioteca do CPqRR em prover acesso gratuito local e remoto à informação técnico-científica em saúde custeada com recursos públicos federais, integrante do rol de referências dessa dissertação, também pela catalogação e normalização da mesma.

À Clari Lopes Gandra Martins e Roberta Félix agradeço pela enorme disponibilidade e competência. Muito obrigado por sempre facilitar nosso trabalho.

Ao corpo técnico dos Laboratórios de Imunologia Celular e Molecular e Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração pela disponibilidade e auxílio nos experimentos.

Aos amigos dos Laboratórios de Imunologia Celular e Molecular e Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração pelo agradável convívio, amizade e auxílio em todos os momentos que precisei.

À minha amiga Helena Barbosa meu imenso agradecimento por toda sua ajuda. Sua colaboração foi fundamental para a realização desse trabalho. MUITO OBRIGADO pelo apoio, incentivos, disponibilidade e por sua amizade.

Ao meu amigo Pedro Henrique agradeço por todo auxílio durante a realização desse trabalho. MUITO OBRIGADO pela amizade e apoio em todos os momentos que precisei. Sua contribuição para a realização desse trabalho foi de extrema importância.

Aos pacientes que aceitaram participar desse estudo. Obrigado pela oportunidade de aprendizado.

Aos meus amigos, Rayssan, Daniel, Kassem, Olinto, Lívia, Juninho, Lilian, Vinícius, Paula, Jerusa...MUITO OBRIGADO por estarem comigo em todos os momentos. A amizade de vocês é algo muito valioso.

Aos meus tios e primos, em especial ao meu tio Doze, que sempre esteve disposto a me ajudar nos momentos que precisei. MUITO OBRIGADO por tudo.

Aos meus avós agradeço pelo amor, incentivos e imenso carinho. Vocês também foram fundamentais para minha educação. MUITO OBRIGADO.

Aos meus pais agradeço pelo carinho, incentivo e total apoio. Muitas vezes vocês deixaram de viver seus sonhos para realizarem os meus. Sem dúvida nenhuma essa conquista é nossa. MUITO OBRIGADO por sempre acreditarem em mim.

Aos meus irmãos André e Lucas agradeço por todos os conselhos, incentivos e por estarem sempre do meu lado. Essa vitória também é de vocês, MUITO OBRIGADO.

A Deus pela força e coragem para enfrentar todos os momentos difíceis, permitindo que eu superasse os obstáculos dessa árdua caminhada. MUITO OBRIGADO por estar sempre presente em minha vida.







## Sumário






















Lista de figuras .....	XIII
Lista de tabelas .....	XVI
Lista de abreviaturas e símbolos .....	XVII
Resumo .....	XXII
Abstract .....	XXIII
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
2.1 <i>Objetivo geral</i> .....	28
2.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	28
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>29</b>
3.1 <i>Aspectos epidemiológicos e ciclo biológico da infecção pelo S. mansoni</i> .....	30
3.2 <i>Formas Clínicas da Esquistossomose</i> .....	32
3.3 <i>A importância da Ultrassonografia no diagnóstico e Avaliação da patogênese da Esquistossomose</i> .....	35
3.4 <i>Aspectos gerais da resposta imune na Esquistossomose</i> .....	40
3.5 <i>Tratamento para a Esquistossomose</i> .....	47
<b>4 POPULAÇÃO, MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>51</b>
4.1 <i>Descrição da área estudada</i> .....	52
4.2 <i>Pesquisa malacológica</i> .....	55
4.3 <i>Caracterização da população avaliada</i> .....	57
4.3.1 <i>Crêterios de inclusãõ</i> .....	58
4.3.2 <i>Crêterios de exclusãõ</i> .....	58
4.4 <i>Exame parasitológico de fezes</i> .....	60
4.5 <i>Avaliação de parâmetros clínicos</i> .....	61
4.6 <i>Avaliação da função hepática</i> .....	61
4.7 <i>Avaliação de parâmetros hematológicos</i> .....	61
4.8 <i>Exame ultrassonográfico</i> .....	62
4.9 <i>Imunofenotipagem ex vivo de leucócitos do sangue periférico</i> .....	64
4.10 <i>Aquisição e análise ex vivo do fenótipo celular de eosinófilos e neutrófilos do sangue periférico por citometria de fluxo</i> .....	67
4.11 <i>Aquisição e análise ex vivo do fenótipo celular de linfócitos do sangue periférico por citometria de fluxo</i> .....	70
4.12 <i>Aquisição e análise ex vivo de linfócitos T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> HIGH do sangue periférico por citometria de fluxo</i> .....	71
4.13 <i>Análise estatística dos dados</i> .....	72







<b>5 RESULTADOS</b> .....	73
<b>5.1 TÓPICO I:</b> .....	75
<i>“Abordagem epidemiológica e avaliação do impacto da infecção pelo S. mansoni nos parâmetros clínico-laboratoriais e ultrassonográficos de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose antes e após terapêutica específica com praziquantel”</i> .....	75
<b>5.1.1 Identificação das espécies e o percentual de moluscos eliminando cercárias de S. mansoni, encontrados em uma casa de campo no município de Igarapé, Minas Gerais</b> .....	76
<b>5.1.2 Dados epidemiológicos e intensidade de infecção da população avaliada</b> .....	77
<b>5.1.3 Principais sinais e sintomas clínicos apresentados pelos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes da terapêutica específica com praziquantel</b> .....	80
<b>5.1.4 Avaliação da função hepática de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</b> .....	82
<b>5.1.5 Avaliação do perfil hematológico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</b> .....	84
<b>5.1.6 Caracterização ultrassonográfica de indivíduos não infectados e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose antes e após terapêutica específica com praziquantel</b> .....	88
<b>5.2 TÓPICO II:</b> .....	94
<i>Avaliação de parâmetros fenotípicos de leucócitos circulantes na infecção aguda pelo Schistosoma mansoni, antes e após terapêutica específica com praziquantel”</i> .....	94
<b>5.2.1 Análise ex vivo do número de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular por eosinófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</b> .....	95
<b>5.2.2 Análise ex vivo do número de receptores de quimiocinas em eosinófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica com praziquantel</b> .....	98
<b>5.2.3 Análise ex vivo do número de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular por neutrófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</b> .....	100
<b>5.2.4 Análise ex vivo do número de receptores de quimiocinas em neutrófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</b> .....	103

<i>5.2.5 Análise ex vivo do número absoluto de linfócitos T (CD3<sup>+</sup>), linfócitos T auxiliares (CD4<sup>+</sup>) e linfócitos T citotóxicos/supressores (CD8<sup>+</sup>) do sangue periférico de pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</i> .....	105
<i>5.2.6 Análise ex vivo do número de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular por linfócitos TCD4<sup>+</sup> do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</i> .....	107
<i>5.2.7 Análise ex vivo do número de linfócitos T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>HIGH</sup> do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</i> .....	110
<i>5.2.8 Análise ex vivo do número de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular por linfócitos TCD8<sup>+</sup> do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</i> .....	112
<i>5.2.9 Análise ex vivo do número de receptores de quimiocinas em linfócitos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel</i> .....	114
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	119
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	140
<b>8 ANEXOS</b> .....	142
<b>9 REFERÊNCIAS</b> .....	185

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Desenho esquemático, ilustrando o funcionamento do aparelho de Ultrassonografia.....	36
<b>Figura 2:</b> Casa de campo localizada na zona rural de Igarapé, município pertencente à zona metropolitana de Belo Horizonte - MG. Vista geral da casa de campo, onde é possível observar a piscina de água natural abastecida pelo córrego Igarapé.....	53
<b>Figura 3:</b> Casa de campo localizada na zona rural de Igarapé, município pertencente à zona metropolitana de Belo Horizonte - MG. Represa próxima a casa, onde toda a água utilizada pelos turistas era desprezada.....	54
<b>Figura 4:</b> Coleta de caramujos realizada em coleção aquática da casa de campo para avaliação de possíveis focos de infecção pelo <i>S. mansoni</i> .....	56
<b>Figura 5:</b> Análise de eosinófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni por citometria de fluxo.....	69
<b>Figura 6:</b> Análise de neutrófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni por citometria de fluxo.....	69
<b>Figura 7:</b> Análise de linfócitos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni por citometria de fluxo .....	70
<b>Figura 8:</b> Análise de linfócitos T CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>HIGH</sup> do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni por citometria de fluxo .....	71
<b>Figura 9:</b> Análise do perfil hematológico, série vermelha, de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 16) e após (AGD-PT  = 13) terapêutica específica com praziquantel .....	86
<b>Figura 10:</b> Análise do perfil hematológico, série branca, de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 16) e após (AGD-PT  = 13) terapêutica específica com praziquantel .....	87
<b>Figura 11:</b> Imagens ultrassonográficas do fígado de um indivíduo saudável e de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose .....	90
<b>Figura 12:</b> Imagens ultrassonográficas da parede da veia porta de um indivíduo saudável e de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose.....	91
<b>Figura 13:</b> Imagens ultrassonográficas do baço de um indivíduo saudável e de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose .....	92
<b>Figura 14:</b> Imagens ultrassonográficas de linfonodos periportais de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose .....	93

<b>Figura 15:</b> Número de moléculas co-estimuladoras CD28 (A), CD80 (B) e CD86 (C), moléculas de ativação CD23 (D), CD25 (E), HLA-DR (F) e CD69 (G), receptor de IgG (FcγR1) CD64 (H) e moléculas de adesão CD62L (I), CD11a (J), CD13 (K), CD18 (L), CD44 (M) e CD54 (N) por eosinófilos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11 e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel.....	97
<b>Figura 16:</b> Número de receptores de quimiocinas CCR2 (A), CCR5 (B), CCR3 (C) e CXCR3 (D) por eosinófilos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel.....	99
<b>Figura 17:</b> Número de moléculas co-estimuladoras CD28 (A), CD80 (B) e CD86 (C), moléculas de ativação CD23 (D), CD25 (E), HLA-DR (F) e CD69 (G), receptor de IgG (FcγR1) CD64 (H) e moléculas de adesão CD62L (I), CD11a (J), CD13 (K), CD18 (L), CD44 (M) e CD54 (N) por neutrófilos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel.....	102
<b>Figura 18:</b> Número de receptores de quimiocinas CCR2 (A), CCR5 (B), CCR3 (C) e CXCR3 (D) por neutrófilos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel.....	104
<b>Figura 19:</b> Número de linfócitos T (CD3 <sup>+</sup> ) (A), linfócitos T auxiliares (CD4 <sup>+</sup> ) (B) e linfócitos T citotóxicos/supressores (CD8 <sup>+</sup> ) (C) do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel .....	106
<b>Figura 20:</b> Número de moléculas co-estimuladoras CD28 (A), moléculas de ativação CD25 (B), HLA-DR (C) e CD69 (D), e moléculas de adesão CD62L (E) e CD18 (F) por linfócitos T CD4 <sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel.....	109
<b>Figura 21:</b> Número de células T reguladoras do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel .....	111

<b>Figura 22:</b> Número de moléculas co-estimuladoras CD28 (A), moléculas de ativação CD25 (B), HLA-DR (C) e CD69 (D) e moléculas de adesão CD62L (E) e CD18 (F) por linfócitos T CD8 <sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel .....	113
<b>Figura 23:</b> Número de receptores de quimiocinas CCR2 (A), CCR5 (B), CCR3 (C) e CXCR3 (D) por linfócitos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  = 09) e após (AGD-PT  = 11) terapêutica específica com praziquantel .....	115
<b>Figura 24:</b> Principais alterações imunofenotípicas provocadas pela infecção pelo <i>S. mansoni</i> .....	116
<b>Figura 25:</b> Impacto da quimioterapia específica com praziquantel na infecção pelo <i>S. mansoni</i> .....	117
<b>Figura 26:</b> Alterações imunofenotípicas provocadas pela quimioterapia específica com praziquantel .....	118



## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> – Caracterização da população avaliada .....	60
<b>Tabela 2</b> – Anticorpos utilizados para imunofenotipagem de leucócitos circulantes.....	65
<b>Tabela 3</b> – Dados demográficos e intensidade de infecção dos indivíduos que entraram em contato com águas contaminadas com cercárias de <i>S. mansoni</i> em uma casa de campo, município de Igarapé, Minas Gerais .....	79
<b>Tabela 4</b> – Sinais e sintomas clínicos mais freqüentemente apresentados pelos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes da terapêutica específica com praziquantel .....	81
<b>Tabela 5</b> – Avaliação da função hepática de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel.....	83
<b>Tabela 6</b> – Medidas das variáveis ultrassonográficas de indivíduos não infectados e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose antes e após terapêutica específica com praziquantel .....	89

## **Lista de abreviaturas e símbolos**

**γ-GT** – Gama-glutamil transferase

**ADCC** – Citotoxicidade celular dependente de anticorpo

**AGD-AT** – Grupo de pacientes apresentando a forma clínica aguda da esquistossomose

**AGD-PT** – Grupo de pacientes que apresentavam a forma clínica aguda da esquistossomose, após terapêutica específica com praziquantel

**AIDS** – Síndrome da imunodeficiência adquirida

**ALT** – Alanina amino transferase

**APCs** – Células apresentadoras de antígenos

**ASE** – Antígeno secretado e excretado de ovos de *S. mansoni*

**AST** – Aspartato amino transferase

**BAP** – Medida do baço em mm, ântero-posterior

**BLON** – Medida do baço em mm, eixo longitudinal

**BSA** – Albumina bovina sérica

**CC** – Receptor de quimiocina

**CXC** – Receptor de quimiocina

**CCR2** – Receptor de quimiocinas para migração de linfócitos T, monócitos, basófilos, eosinófilos, células dendríticas

**CCR3** – Receptor de quimiocinas para migração de eosinófilos, basófilos, mastócitos, linfócitos T

**CCR5** – Receptor de quimiocinas para migração de linfócitos Th1, NK, células dendríticas, monócitos

**CD** – “*Cluster of differentiation*”

**CD3** – Marcador de superfície para linfócitos T

**CD4** – Co-receptor para moléculas do complexo de histocompatibilidade principal de classe II. Expresso em subgrupos de timócitos, linfócitos T, monócitos e macrófagos

**CD8** – Co-receptor para MHC de classe I. Expresso em subgrupos de timócitos e linfócitos T citotóxicos

**CD11a** – Molécula envolvida na adesão de leucócitos

**CD11b** – Molécula envolvida na adesão de leucócitos

**CD13** – Molécula expressa em granulócitos

**CD14** – Marcador para população de monócitos

**CD16** – Molécula de identificação de células NK; receptor de baixa afinidade para IgG

**CD18** – Molécula de adesão celular expressa em leucócitos

**CD23** – Marcador de ativação em leucócitos

**CD25** – Marcador de ativação em leucócitos

**CD28** – Molécula co-estimuladora de proliferação

**CD44** – Molécula envolvida na adesão de leucócitos

**CD54** – Molécula envolvida na adesão de leucócitos

**CD62L** – Molécula de adesão celular expressa em leucócitos

**CD64** – Receptor de IgG

**CD69** – Molécula de ativação de leucócitos

**CD80** – Molécula de co-regulação de ativação celular

**CD86** – Molécula de co-regulação de ativação celular

**cDNA** – DNA complementar

**CONEP** – Comitê Nacional de Ética em Pesquisa

**CPqRR** – Centro de Pesquisas René Rachou

**CT** – Grupo controle

**CX3** – Receptor de quimiocina

**CX** – Receptor de quimiocina

**CXCR3** – Receptor de quimiocina para migração de fibroblastos e linfócitos T Tipo 1 ativados

**CYCHR** – Cychrome

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**EOS** – Eosinófilos

**ECP** – Peroxidase Catiônica Eosinofílica

**EDN** – Neurotoxina derivada de eosinófilos

**EDTA** – Etilenodiaminotetracético

**ELISA** – Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

**EMR2** – Receptor-2 para mucina

**EPO** - Peroxidase eosinofílica

**FACScan** – Fluorescence Activated Cell Sorter

**FcεRII** – Receptor de baixa afinidade de IgE

**FCγRI** – Receptor para Fc de IgG

**FITC** – Isotiocianato de fluorescência

**FL** – Fluorescência

**FLS** – Facs Lysing Solution

**FSC** – Forward Scatter

**G-CSF** – Fator estimulador de colônia de granulócitos

**GM-CSF** – Fator estimulador de colônia de macrófagos e granulócitos

**HLA-DR** - Molécula de MHC de classe II expressa na superfície de células humanas

**ICAM-1** – Molécula de adesão celular 1

**Ig** – Imunoglobulina

**IL** – Interleucina

**ILT-4** – Transcrito 4 para imunoglobulina

**LDAP** – Medida do lobo direito do fígado em mm, ântero-posterior

**LDLON** – Medida do lobo direito do fígado em mm, secção longitudinal

**LEAP** – Medida do lobo esquerdo do fígado em mm, ântero-posterior

**LELON** – Medida do lobo esquerdo do fígado em mm, secção longitudinal

**LHMM** – Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica

**LINF** – Linfócitos

**LPS** – Lipopolissacarídeo

**MAPK** – Proteínas quinases ativadoras de mitógeno

**MBP** – Proteína básica principal

**MFF** – Macs Facs Fix

**MHC** – Complexo Principal de Histocompatibilidade

**MONO** – Monócitos

**NEUT** – Neutrófilos

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**OPG** – Ovos por grama de fezes

**PAF** – Fator Agregador de Plaquetas

**PBMC** – Células mononucleares do sangue periférico

**PBS** – Tampão Fosfato Salínico

**PCR** – Reação em cadeia da polimerase

**PE** – Ficoeritrina

**Percp** – Proteína Clorofila Piridinina

**PGE<sub>2</sub>** – Prostaglandinas

**PMA** – Acetato mirístico de forbol

**SCID** – Doença da imunodeficiência combinada severa

**SEA** – Antígenos solúveis do ovo

**SSC** – Side Scatter

**SWAP** – Antígenos de vermes adultos

**TC** – Tricolor

**T<sub>REG</sub>** – Células T reguladoras (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> <sup>HIGH</sup>)

**UFMG** – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

**VCAM-1** – Molécula de adesão celular vascular-1

**VP** – Veia porta

**XC** – Receptor de quimiocina

## Resumo

Nesse estudo foi realizada avaliação epidemiológica e acompanhamento clínico-laboratorial e imunológico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni. Nosso objetivo foi investigar as principais alterações clínicas, ultrassonográficas e imunofenotípicas provocadas pela infecção pelo *Schistosoma mansoni* e o impacto que a quimioterapia específica com praziquantel teria nesse contexto. Os pacientes avaliados nesse estudo (grupo AGD-AT) adquiriram a forma clínica aguda da infecção pelo *S. mansoni* na zona rural de Igarapé, município da região metropolitana de Belo Horizonte, MG. Amostras de fezes e sangue periférico dos pacientes foram coletadas para realização do exame parasitológico e hemograma, respectivamente. Os pacientes foram submetidos à anamnese detalhada a fim de avaliar as principais manifestações clínicas observadas durante a fase aguda da infecção. Posteriormente, os pacientes foram submetidos ao exame de ultrassom para avaliar comprometimento hepático e/ou esplênico. O perfil imunofenotípico dos leucócitos do sangue periférico dos pacientes também foi realizado por citometria de fluxo. Os resultados mostraram que dos 38 pacientes previamente avaliados (idade: 01-65 anos; sexo: 16 homens, 22 mulheres), 34 (89,5%) apresentaram exame parasitológico de fezes positivo para ovos do *S. mansoni*. No entanto devido aos critérios de exclusão adotados para esse estudo, dezesseis pacientes foram acompanhados. Os resultados da anamnese demonstraram que os sintomas/sinais clínicos mais frequentes foram dor de cabeça (62,5%), febre e cólica abdominal (ambos com 56,3% de frequência), diarreia, tosse, emagrecimento e astenia (todos com 43,8% de frequência). Com relação ao perfil hematológico, observou-se redução significativa do número de hemácias ( $\text{mm}^3$ ), da concentração de hemoglobina (g/dL), do percentual do hematócrito, aumento do número de plaquetas ( $\text{mm}^3$ ) e aumento da global de leucócitos ( $\text{mm}^3$ ) dos pacientes do grupo AGD-AT, refletido nas populações de eosinófilos, neutrófilos e linfócitos, quando comparados aos indivíduos saudáveis (grupo CT). As alterações ultrassonográficas mais comumente observadas foram linfonodomegalia periportal (88%), hepatomegalia (88%) e espessamento ecogênico incipiente da parede da veia porta-Fibrose grau I (75%). Na avaliação do perfil imunofenotípico, os dados mostraram aumento do número absoluto de linfócitos T CD3<sup>+</sup> dos pacientes do grupo AGD-AT, refletido nas subpopulações CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, quando comparados aos indivíduos do grupo CT. Além disso, leucócitos circulantes dos pacientes do grupo AGD-AT apresentaram ativação celular determinada pela expressão de moléculas co-estimuladoras CD28, CD80 e CD86 e moléculas de ativação como, CD25, HLA-DR e CD69. Foi observado também aumento das moléculas de adesão celular CD18, CD44 e CD54 do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT. Com relação aos receptores de quimiocinas foi observado aumento da expressão de CCR5 e CXCR3 do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT. Contudo, embora, a maioria dos aspectos clínico-laboratoriais e imunofenotípicos avaliados dos pacientes do grupo AGD-AT retornaram à normalidade após quimioterapia específica com praziquantel, as principais alterações ultrassonográficas e algumas alterações imunológicas ainda permanecem (hepatomegalia, esplenomegalia, fibrose periportal incipiente, bem como aumento do número absoluto de CD28, CD80, CD86, CD18, CCR2, CXCR3 em eosinófilos, diminuição de CD62L em neutrófilos, aumento de linfócitos T CD8<sup>+</sup> e de CD18 em linfócitos T CD4<sup>+</sup>). A permanência dessas alterações, mesmo um ano após o tratamento, sugere um impacto a longo prazo da terapêutica específica pós-fase aguda da infecção esquistossomótica sobre o estado geral dos pacientes.

## Abstract

In this study was performed an epidemiological survey as well as clinical and immunological monitoring of patients with acute phase of schistosomiasis mansoni. Our objective was to investigate the main clinical, ultrasonographic and immunophenotypic features of the infection caused by *Schistosoma mansoni* and the impact of the specific chemotherapy with praziquantel about these parameters. The study population acquired the acute phase of *S. mansoni* infection in the rural district from Igarapé municipality in the metropolitan area of Belo Horizonte, Brazil. Samples of peripheral blood and feces of patients (AT-AGD group) were collected to perform blood and parasitological examinations, respectively. The patients were submitted to a detailed medical analysis in order to assess the main clinical manifestations observed during this phase of infection. Subsequently, the patients were evaluated by ultrasound to assess hepatic/splenic commitment. *Ex vivo* immunophenotyping of peripheral blood leucocytes from patients was also performed by flow cytometry. The results showed that among 38 patients evaluated (age: 01-65 years; 16 males, 22 females), 34 (89.5%) had positive stool examination for the *S. mansoni* eggs. However, due to the exclusion criteria adopted, sixteen patients were monitored during the study. The results of medical history showed that the clinical symptoms/signs more frequently found were headache (62.5%), fever and abdominal colic (both with frequency of 56.3%), diarrhea, cough, weight loss and asthenia (all with frequency of 43,8%). The analysis of hematological profile showed significant reduction in the concentration of hemoglobin (g/dL) and in the percentage of hematocrit, increased number of platelets ( $\text{mm}^3$ ) and increased leukocytes ( $\text{mm}^3$ ), mainly owing to the increased populations of eosinophils, neutrophils and lymphocytes, as compared to control group (CT group). The ultrasonographic alterations more commonly observed were periportal lymphadenopathy (88%), hepatomegaly (88%) and incipient periportal echogenicity defined as thickening-Fibrosis degree I (75%). The analysis of immunological profile demonstrated increase in the absolute number of total T lymphocytes ( $\text{CD3}^+$ ) of the AT-AGD, owing to the increased of  $\text{CD4}^+$  and  $\text{CD8}^+$  counts, as compared to control group. Moreover, circulating leukocytes from AT-AGD showed a cell activation pattern determined by increased counts of co-stimulatory molecules as CD28, CD80 and CD86 as well as activation molecules such as CD25, HLA-DR and CD69. It was also observed an increase in the adhesion molecules as CD18, CD44 and CD54 in the AT-AGD group as compared to control group. Considering the analysis of chemokine receptors was observed an increased expression of CCR5 and CXCR3 in the AT-AGD- group as compared to control group. Nonetheless, although the majority of clinical/laboratory and immunophenotypic aspects evaluated in AT-AGD group returned to the normal levels after specific chemotherapy with praziquantel, the main ultrasonographic alterations and several immunological changes have still been maintained such as hepatomegaly, splenomegaly, incipient periportal fibrosis, besides of increase in the absolute number of CD28, CD80, CD86, CD18, CCR2, CXCR3 by eosinophils, decrease of frequency of CD62L in neutrophils as well as increase of frequencies of T  $\text{CD8}^+$  lymphocytes subset and CD18 in T  $\text{CD4}^+$  lymphocytes. Taken together, the maintenance of these changes after one year post-treatment suggest a long time impact from specific chemotherapy after acute phase of schistosomiasis mansoni in general status from patients.



## **1 INTRODUÇÃO**

A infecção pelo *Schistosoma mansoni* pode induzir quatro diferentes formas clínicas no hospedeiro definitivo: a forma aguda e três formas crônicas (intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica) (Pessoa & Martins 1977, Bina 1981). Embora as formas crônicas sejam mais prevalentes e mais associadas à morbidade em áreas endêmicas, a forma aguda é potencialmente mais grave, sendo relatadas altas taxas de mortalidade, principalmente na China, em pacientes infectados pelo *Schistosoma japonicum* (Rabello 1995).

O estudo da fase aguda da esquistossomose humana traz inúmeros questionamentos relacionados aos aspectos de identificação e delimitação do período recente de infecção pelo *S. mansoni*, através de critérios clínicos e laboratoriais que necessitam ser claramente definidos. Outro aspecto importante desses estudos é a análise da resposta imune humoral e, principalmente, celular que são ainda pouco exploradas e que certamente são componentes importantes no desenvolvimento das formas clínicas e mesmo cura dessa infecção. Além disso, considerando-se a intensa estimulação do sistema imune e o processo inflamatório desencadeado durante os estágios iniciais da infecção pelo *S. mansoni*, é possível que os eventos imunológicos precoces determinem a dimensão do processo patológico da doença e atuem como ponte para o entendimento de evolução da forma clínica aguda para crônica. É importante ressaltar que as manifestações clínicas iniciais da infecção pelo parasito não são comuns em moradores de área endêmica para a esquistossomose e podem ocorrer somente em indivíduos que não tem nenhum relato de exposição prévia ao parasito e que se infectaram após o primeiro contato com o *S. mansoni* em uma área endêmica para a doença (Pearce & Macdonald 2002). De acordo com alguns autores, uma das explicações para ausência de sintomatologia na fase inicial da infecção seria a sensibilização “*in útero*” dos indivíduos residentes em área endêmica como consequência da infecção materna, permitindo que esses indivíduos respondam de forma diferente daqueles que estariam entrando em contato pela primeira vez com esse parasito (Eloi-Santos 1989, Novato-Silva 1992, Lambertucci 1993).

A abordagem diagnóstica da fase aguda da esquistossomose mansoni, baseia-se em aspectos clínicos, epidemiológicos, laboratoriais (presença de ovos do *S. mansoni* nas fezes, eosinofilia e detecção de anticorpos específicos) (Makarova et al. 2003). Entretanto, o diagnóstico torna-se, frequentemente, um desafio para o médico, pois além da inespecificidade de sinais e sintomas clínicos, a presença de ovos nas fezes pode não ser facilmente detectável pelo exame parasitológico.

Nesse contexto, embora existam vários estudos na literatura descrevendo avaliações clínico-laboratoriais e a resposta imunológica em pacientes portadores das formas clínicas crônicas da esquistossomose, escassos são os estudos que avaliam essa resposta durante a forma aguda da infecção humana. Dessa forma, considerando a complexidade dos eventos imunológicos relacionados à infecção pelo *S. mansoni*, e das limitações na identificação de pacientes portadores da fase aguda da infecção, esse estudo torna-se relevante por buscar melhor compreensão da resposta imune celular durante essa fase clínica, além de novos parâmetros clínico-laboratoriais que auxiliem na identificação de pacientes portadores da fase aguda da infecção.



### ***2.1 Objetivo Geral***

Avaliar aspectos clínicos, epidemiológicos e imunológicos de uma microepidemia de esquistossomose fase aguda no município de Igarapé, Minas Gerais, antes e após terapêutica específica com praziquantel.

### ***2.2 Objetivos Específicos***

**Antes e após terapêutica específica com praziquantel:**

**2.2.1** Avaliar parâmetros clínico-laboratoriais e epidemiológicos de pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose;

**2.2.2** Caracterizar alterações morfológicas no fígado e baço de pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose;

**2.2.3** Caracterizar *ex vivo* o perfil fenotípico (marcadores de ativação, co-estimulação e adesão celular) de leucócitos do sangue periférico de pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose.

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**

A esquistossomose, também conhecida como bilharziose, é uma doença parasitária crônica causada pelo trematódeo digenético do gênero *Schistosoma*. O primeiro relato da ocorrência da doença foi em 1851, quando o médico Theodor Bilharz, ao realizar necropsia em um camponês egípcio no Cairo, encontrou vermes nas veias mesentéricas desse paciente e denominou-os de esquistossomos. Posteriormente, em 1858, Weiland denominou esse helminto de *Schistosoma*, devido à característica do verme adulto macho apresentar corpo fendido. Em 1902, Manson encontrou, em doentes nas Antilhas, ovos com uma espícula lateral e sugeriu que poderia ser uma nova espécie de *Schistosoma*, posteriormente, Sambon em 1907 classificou-a como *S. mansoni*.

A constatação da infecção mais remota causada pelo *S. mansoni* data de 1910, quando Ruffer detectou a presença de ovos calcificados nos rins de múmias egípcias da vigésima dinastia (1250-1000 a.C.). Através da detecção de antígenos do parasito, também em tecidos de múmias egípcias, Miller et al. (1992) demonstraram que desde 3000 a.C. a humanidade convive com a esquistossomose.

Acredita-se que a esquistossomose foi introduzida no Brasil, pelos portos de Salvador e Recife, em meados do século XVI, com o comércio de escravos africanos portadores da infecção (Lambertucci et al. 1987, Amaral & Porto 1994). Estabelecidos os primeiros focos, devido ao encontro de moluscos suscetíveis para o desenvolvimento das larvas desse parasito, a doença se dispersou, inicialmente por contiguidade e, posteriormente, pelas migrações internas e em decorrência da distribuição dos caramujos contaminados (Lambertucci et al. 1987, Amaral & Porto 1994). O *S. mansoni* teve sua presença confirmada no Brasil, através da descrição de quatro casos, por Pirajá da Silva em 1908 (Coura & Amaral 2004).

### ***3.1 Aspectos epidemiológicos e ciclo biológico da infecção pelo S. mansoni***

A esquistossomose é considerada um problema de saúde pública mundial, principalmente nos países em desenvolvimento, situados em áreas tropicais e subtropicais como na África, Ásia e América do Sul, sendo que o maior número de casos atinge a população de baixa renda (Katz & Peixoto 2000). De acordo com dados apresentados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 1973, aproximadamente 200 milhões de indivíduos estavam infectados e outros 600 milhões apresentavam potencial risco de infecção. Estudos recentes (Steinmann et al. 2006, Wilson et al. 2007) demonstram um aumento

significativo do número de indivíduos infectados em todo o mundo. Dados atuais sugerem que 700 milhões de indivíduos encontram-se expostos ao risco de infecção e 200 milhões estão infectados apenas no continente africano (Wilson et al. 2007).

Dentre as diversas espécies de *Schistosoma*, duas são consideradas predominantemente parasitos humanos (*S. mansoni* e *Schistosoma hematobium*), sendo que a primeira é responsável pela infecção esquistossomótica no Brasil, onde se estimam no mínimo 2,5 milhões de indivíduos infectados e cerca de 25 milhões de indivíduos expostos ao risco de infecção (Katz & Peixoto 2000). A área endêmica para a esquistossomose no país abrange cerca de dezenove estados. Ocorre de forma endêmica e focal desde os estados do Maranhão até Minas Gerais, com certa penetração no Espírito Santo. Apresenta, ainda, focos isolados no Distrito Federal e nos estados do Pará, Piauí, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Goiás e Tocantins (Coura & Amaral 2004). No estado de Minas Gerais, a doença é prevalente numa área de 300.000 Km<sup>2</sup>, ou seja, em 519 dos 853 municípios, sendo 1.000.000 o número estimado de pessoas infectadas (Katz 1998).

Nos países onde a esquistossomose é endêmica, o controle desta enfermidade torna-se um grande desafio para os órgãos de saúde pública. O Brasil está inserido neste contexto pelas seguintes razões: (a) disseminação ampla do hospedeiro intermediário, além da capacidade do molusco desenvolver mecanismos de escape contra a ação de moluscicidas e agentes de controle biológico; (b) custos elevados relacionados à implementação de condições sanitárias, associados ao intenso contato da população rural com água poluída; (c) longo prazo necessário para implementação de medidas de educação sanitária e adesão da comunidade a programas de combate à esquistossomose; (d) o tratamento individual ou em massa tem se mostrado eficiente para o controle da morbidade, porém não reduz a prevalência devido às reinfecções; (e) a proteção individual é pouco provável, exceto para grupos específicos de pessoas expostas; (f) e por fim, até os dias atuais, não existe uma vacina eficaz para prevenir a esquistossomose (Coura & Amaral 2004).

A propagação e a manutenção da doença em uma determinada região dependem de inúmeros fatores, como a existência de um clima apropriado, condições sócio-econômicas precárias, indivíduos infectados eliminando ovos, existência de hospedeiros intermediários e do contato de pessoas susceptíveis com águas contendo cercárias. Neste contexto, a infecção ocorre quando o hospedeiro definitivo entra em contato com águas infestadas por cercárias liberadas pelo hospedeiro intermediário, o caramujo *Biomphalaria glabrata*. O processo de



penetração das cercárias pode levar de 5 a 15 minutos (Coelho 1995) e durante a penetração, as cercárias perdem a cauda e sofrem transformações estruturais e fisiológicas, originando os esquistossômulos (Gordon & Griffiths 1951). Os esquistossômulos adaptam-se às condições fisiológicas do hospedeiro definitivo, migram pelo tecido subcutâneo em direção aos vasos sanguíneos e, através da circulação, são carreados passivamente até os pulmões. Posteriormente, os vermes jovens migram para o sistema porta hepático onde se alimentam, diferenciam-se em machos e fêmeas, e nas veias mesentéricas inferiores acasalam-se, iniciando a postura de ovos. Parte dos ovos alcança a luz intestinal e são eliminados para o meio externo junto com as fezes. Em contato com a água, os ovos eclodem liberando o miracídio, larva ciliada, que infecta o caramujo. No caramujo, o miracídio passa por um processo de reprodução assexuada que leva à formação das cercárias, fechando assim o ciclo biológico do parasito (Leiper 1915).

### ***3.2 Formas clínicas da Esquistossomose***

A infecção pelo *S. mansoni* pode induzir diferentes manifestações clínicas no hospedeiro definitivo, o que é dependente de alguns fatores como, localização do parasito, intensidade do parasitismo e resposta imune do indivíduo contra a infecção.

Do ponto de vista clínico, a maioria dos indivíduos residentes em área endêmica para a esquistossomose são portadores de infecção crônica que ocorre por volta do sexto mês após a exposição, podendo evoluir para as diferentes formas clínicas da doença. A forma clínica intestinal, a mais frequente, é caracterizada por episódios ocasionais de diarreia mucossanguinolenta com dor ou desconforto abdominal; já a forma clínica hepatointestinal, além dos sintomas intestinais, caracteriza-se também pela presença de hepatomegalia; a forma clínica hepatoesplênica, pode manifestar-se sob a forma compensada, quando é observado um quadro de hepatoesplenomegalia com menor grau de hipertensão portal, ou descompensada, forma mais grave, quando se inicia a formação de circulação colateral, varizes esofagianas com anemia acentuada, desnutrição e quadro de hiperesplenismo (Pessoa 1967).

Por outro lado, a forma clínica aguda acomete, normalmente, indivíduos não residentes em áreas endêmicas, ou seja, que não possuem exposição prévia aos antígenos do parasito (Hiatt et al. 1979, Wynn et al. 2004, Gryseels et al. 2006, Manzella et al. 2008). Essa fase tem sido descrita como uma síndrome toxêmica e seus sinais e sintomas mais comuns são

febre, mal-estar, diarreia, vômitos, anorexia, cefaleia, dor abdominal, perda de peso, tosse seca e hepatoesplenomegalia, acompanhado por eosinofilia acentuada e leucocitose (Gazzinelli et al. 1985, Neves 1992, De Jesus et al. 2002, Wynn et al. 2004, Gryseels et al. 2006, Manzella et al. 2008). De acordo com alguns autores, esses sinais e sintomas são causados, provavelmente, por imunocomplexos circulantes (Hiatt et al. 1980, Wynn et al. 2004) e pela elevação do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) (De Jesus et al. 2002, Wynn et al. 2004).

A fase aguda da esquistossomose é clinicamente dividida em pré-postural e pós-postural. A fase aguda pré-postural inicia-se com a penetração das cercárias através da pele do hospedeiro definitivo, podendo desencadear, dentro de vinte e quatro horas, um quadro de dermatite cercariana, caracterizada por prurido, erupção urticariforme, eritema/edema, pequenas pápulas e dor (Torres 1976, Boros 1989). Esse tipo de manifestação clínica é geralmente mais intenso em caso de reinfecções, onde há participação de mastócitos liberando histamina, moléculas do sistema do complemento, eosinófilos e imunoglobulina (Ig) E (Torres 1976). A fase pré-postural pode durar de dez a trinta dias após exposição e apresenta sintomatologia variada como, mal-estar, febre, náuseas, cefaleia, e anorexia, entretanto, alguns indivíduos podem permanecer assintomáticos (Veronesi & Foccacia 2004). Além disso, caracteriza-se também, por uma série de eventos imunológicos como, reação de hipersensibilidade mediada por IgE, resposta imune celular anti-esquistossômulo, resposta imune pulmonar, produção de anticorpos IgM e/ou IgG anti-esquistossômulo e produção de IgA anti-antígenos do parasito (Diaz-Rivera et al. 1956, Alves-Brito et al. 1992, Rabello et al. 1995). De acordo com alguns autores, nessa fase, os indivíduos infectados apresentam um perfil misto de citocinas, com predomínio de uma resposta Tipo 1, caracterizada pela produção de interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) (Rezende et al. 1997, Corrêa-Oliveira et al. 1998).

Após o período de instalação e maturação do *S. mansoni* no sistema porta-hepático, inicia-se a postura de ovos, caracterizando a fase aguda pós-postural que ocorre entre o quinquagésimo e centésimo vigésimo dia após a infecção. Essa fase caracteriza-se por sintomas como, mal-estar, febre alta, náuseas, cefaleia, anorexia, calafrios, tosse, sudorese, diarreia, emagrecimento, eosinofilia, leucocitose e hepatoesplenomegalia (Veronesi & Foccacia 2004). Com relação aos aspectos imunológicos em modelos experimentais, alguns autores demonstraram reação de hipersensibilidade do tipo granulomatosa e um perfil de

resposta imune misto com presença de citocinas tanto do Tipo 1 como do Tipo 2 (Grzych et al. 1991, Pearce et al. 1991, Lukacs & Boros 1993).

De acordo com alguns autores, a incidência da fase aguda da esquistossomose é, certamente, subestimada e pouco compreendida. A importância desse estágio da doença tem sido descrita, principalmente, em indivíduos de área urbana, turistas e viajantes que visitam regiões tropicais endêmicas (Lunde & Ottsen 1980, Evengard et al. 1990, Rabello 1995). Segundo ENK et al. (2003), o crescimento do turismo rural no Brasil tem contribuído consideravelmente para aparecimento de novos surtos da esquistossomose. A maioria das áreas rurais escolhidas como lazer funciona sem infra-estrutura adequada de saneamento, com impacto negativo no meio ambiente, resultando em poluição e contaminação com agentes infecciosos, como por exemplo, as cercárias, com isso, muitas pessoas que nunca entraram em contato com a doença, se infectam e podem desenvolver a fase aguda da esquistossomose. De acordo com Neves (2003), essa fase da infecção é subestimada por várias razões, como avaliação médica inadequada e dificuldades no diagnóstico clínico, uma vez que apresenta manifestações clínicas comuns a outras infecções.

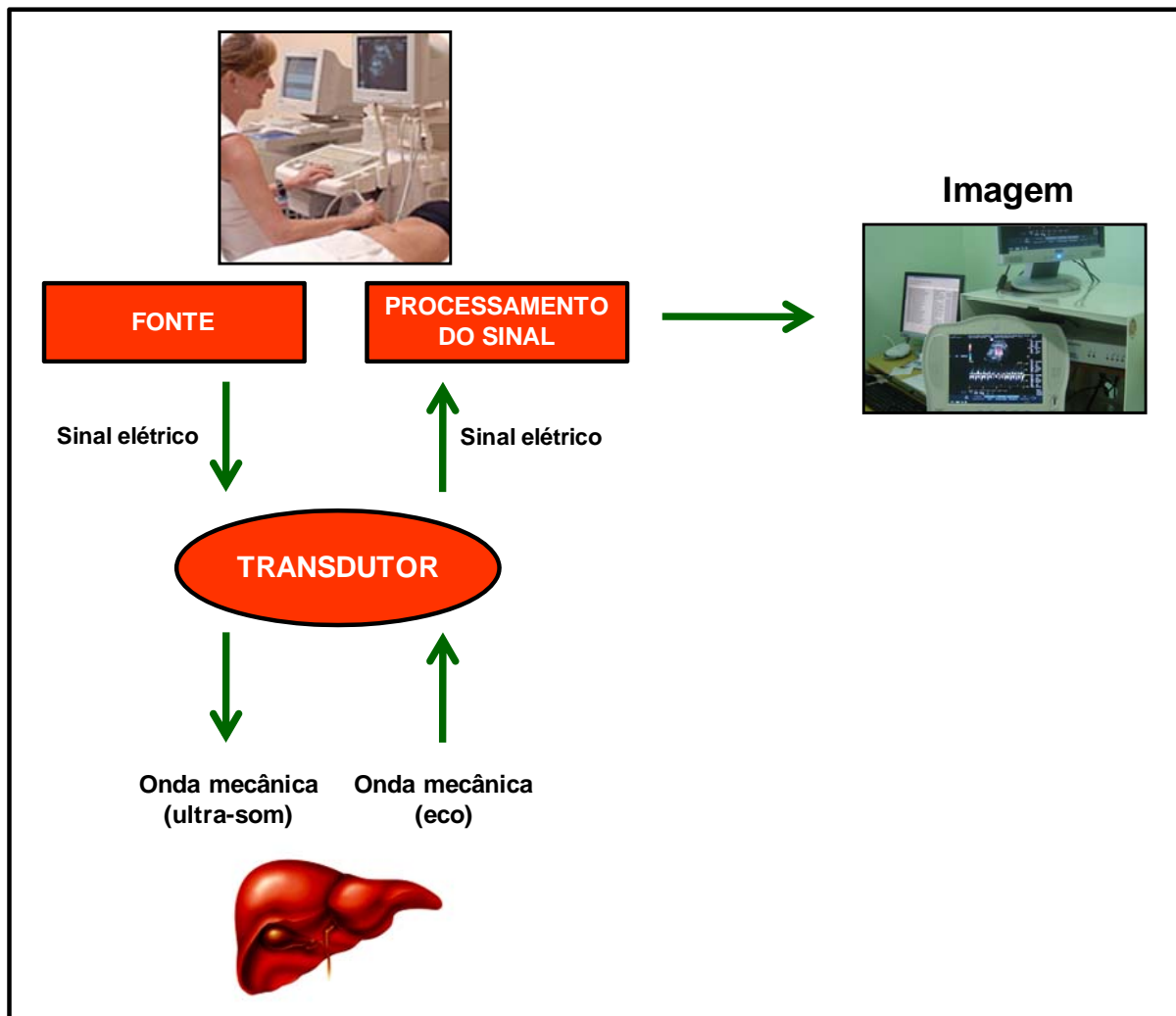
A abordagem diagnóstica da fase aguda da esquistossomose mansoni, baseia-se em aspectos clínicos, epidemiológicos, laboratoriais (presença de ovos do *S. mansoni* nas fezes, eosinofilia e detecção de anticorpos específicos) (Makarova et al. 2003). Entretanto, o diagnóstico torna-se, frequentemente, um desafio para o médico, pois além da inespecificidade de sinais e sintomas clínicos, a presença de ovos nas fezes pode não ser facilmente detectável pelo exame parasitológico.

Alguns avanços metodológicos foram propostos com o intuito de caracterizar melhor a fase aguda da infecção pelo *S. mansoni*. Dentre esses avanços, podemos mencionar a avaliação abdominal ultrassonográfica que demonstrou um aumento inespecífico do fígado e baço, bem como linfadenomegalia peripancreática e periportal durante a fase aguda da doença (Lambertucci et al. 1994, Rabello 1994). Outra metodologia proposta para identificar a fase aguda da esquistossomose foi a detecção de anticorpos IgG e IgM específicos para hemocianina do molusco marinho *Megathura cremulata*, mais conhecido como Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH), que apresenta um epitopo comum com a superfície do esquistossômulo (Mansour et al. 1989, Alves-Brito et al. 1992, Rabello et al. 1993). Esses autores detectaram a presença de anticorpos IgG anti-KLH no soro de pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose, porém não observaram a presença desses anticorpos no soro

de pacientes portadores das formas crônicas da esquistossomose ou portadores de outras doenças infecciosas e indivíduos não infectados. Entretanto, Verweij et al. (1995), relataram que esse diagnóstico não poderia ser universalmente confirmado e, além disso, anticorpos anti-KLH foram detectados no soro de pacientes infectados por outros helmintos (Thors & Linder 1998). Em 2003, Makarova et al. identificaram uma proteína recombinante de 26kDA (RP26) do *S. mansoni* que foi utilizada para diferenciar a fase aguda da fase crônica da esquistossomose em ensaios de ELISA. O clone de cDNA que codificava a proteína RP26 apresentou 99% de identidade com o gene Sm22.3 do *S. mansoni* e os resultados mostraram que 89% dos soros foram positivos no grupo de pacientes com esquistossomose aguda e somente 26% foram positivos no grupo de pacientes portadores da fase crônica da doença. Baseado nesses resultados, os autores indicaram que a proteína RP26 poderia ser utilizada como reagente para o imunodiagnóstico da fase aguda da esquistossomose.

### ***3.3 A importância da Ultrassonografia no Diagnóstico e Avaliação da patogênese da Esquistossomose***

A ultrassonografia ou ecografia é um método de diagnóstico por imagens, desenvolvido a partir da década de setenta, que se baseia nas diferentes propriedades dos tecidos orgânicos à passagem de um feixe de ultrassons, isto é, sons de alta frequência e baixo comprimento de onda (Hatz 2001, Richter 2003). Esse tipo de avaliação proporciona o diagnóstico e a avaliação tecidual mediante reflexões dessas ondas sonoras focadas em órgãos internos. O transdutor ultrassonográfico, um cristal vibratório eletricamente acionado, transmite e recebe ondas sonoras de alta frequência que são utilizadas para a produção de imagens. Essas ondas são traduzidas em impulsos elétricos que são convertidos em imagens bidimensionais exibidas no monitor de vídeo, em formato digitalizado em escalas de cinza. As ondas sonoras usadas para obtenção de imagens são geradas por oscilações longitudinais do transdutor contra a superfície do tecido (geralmente a pele) (Magalhães 2002). A velocidade do som sofre discretas variações de acordo com os diferentes tipos de tecido, que apresentam graus variados de absorção, refração e transmissão dessas ondas, o que ajuda a caracterizar o tecido. É um procedimento seguro, não invasivo, sem os riscos da radiação, não provoca danos ao organismo, relativamente barato, rápido, podendo ser portátil e assim, utilizado para trabalhos no campo (Hatz 2001, Richter 2003).



**Figura 1:** Desenho esquemático, ilustrando o funcionamento do aparelho de ultrassonografia. O computador (fonte) emite um sinal elétrico que é transmitido ao transdutor. Em seguida, no transdutor, esse sinal elétrico é transformado em onda mecânica (ultrassom) que atinge o órgão de interesse. Após atingir o órgão avaliado, essa onda é refletida em forma de eco ao transdutor, onde é gerado um novo sinal elétrico que será processado e convertido em imagem no monitor.

A ultrassonografia é considerada método de eleição na investigação de qualquer suspeita de doença hepática (Cerri & Oliveira 2002). O fígado é um órgão que permite excelente análise sonográfica através dos cortes subcostais e intercostais em todas as direções, com o transdutor orientado no sentido cranial, caudal, longitudinal, transversal e oblíquo. A textura do parênquima hepático é homogênea, sendo identificadas estruturas vasculares no seu interior, que correspondem aos vasos portais e veias hepáticas. A artéria hepática e os ductos biliares são visualizados próximos ao hilo quando mais calibrosos. As veias hepáticas não têm paredes ecogênicas demonstráveis e dirigem-se cefalicamente, aumentando de calibre até penetrar na veia cava inferior. Os vasos do sistema portal possuem parede refringente nítida e vão se tornando calibrosos em direção caudal, até formarem o tronco da veia porta (Magalhães 2002).

Estudos ultrassonográficos vêm sendo conduzidos como ferramenta complementar à avaliação clínica do paciente portador da fase crônica da esquistossomose mansônica, principalmente na identificação de fibrose periportal (Barata et al. 1999, Silva et al. 2006). Nesse caso, as principais alterações observadas em pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica grave são espessamento ecogênico da parede da veia porta e de seus ramos, da parede da vesícula biliar, aumento do lobo esquerdo do fígado e redução do direito (Gerspacher-Lara et al. 1999, Silva et al. 2006). Entretanto, estudos ultrassonográficos que avaliam os possíveis danos hepáticos provocados pelo *S. mansoni*, durante a fase aguda da infecção, ainda são escassos.

Lambertucci et al. (1994) demonstraram um aumento do fígado e baço em pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose, porém nenhuma alteração na textura do parênquima hepático foi observada. Além disso, esses autores observaram linfonodos periportais aumentados com alterações características em sua morfologia. Bogliolo (1958) descreveu algumas alterações patológicas em quatro pacientes que morreram durante a fase aguda da esquistossomose. Segundo o autor, os pacientes apresentavam: a) disseminação miliar generalizada de granulomas e ovos de *S. mansoni*, predominantemente no fígado, e também, nos intestinos delgado e grosso, pulmões, baço e linfonodos mesentéricos; b) os granulomas estavam em um estágio inicial de formação (fase necrótico-exsudativa) e c) o baço apresentava esplenite aguda. De acordo com Barata et al. (1999), em hospitais, a biópsia hepática era rotineiramente realizada em pacientes com febre prolongada de origem indeterminada e com evidências laboratoriais de envolvimento hepático. Achados como

granulomas em fase necrótico-exsudativa eram considerados sinais patognomônicos da fase aguda da esquistossomose. Atualmente porém, esse procedimento cirúrgico não é mais eticamente aceito (Espírito-Santo et al. 2008) e dessa forma, a ultrassonografia torna-se uma ferramenta auxiliar importante no diagnóstico da esquistossomose mansoni (Richter et al. 2001; Lambertucci et al. 2001, Silva et al. 2006, Manzella et al. 2008).

Homeida et al. (1988a), compararam a eficiência da ultrassonografia com a biópsia hepática pré-operatória, no diagnóstico da fibrose hepática esquistossomótica, em quarenta e um pacientes apresentando diferentes patologias. Os resultados confirmaram que a ultrassonografia foi tão sensível quanto à biópsia hepática (100% de sensibilidade e especificidade) e não foi encontrada correlação entre a gradação ecográfica da fibrose periportal e aquela realizada pelos patologistas, bem como, com a presença e intensidade de varizes esofagianas e calibre da veia porta ou esplênica. Estudos realizados por Abdel-Wahab et al. (1989), compararam o padrão ecográfico do fígado com os achados histológicos de cinquenta pacientes, submetidos a tratamento cirúrgico de varizes esofagianas e biópsia hepática pré-operatória. A ultrassonografia e a biópsia apresentaram resultados concordantes em quarenta e quatro casos e discordantes em quatro, sendo que em dois casos, a ecografia sugeria a presença de lesões combinadas e a histopatologia somente lesões devidas à esquistossomose. A hepatomegalia foi mais frequente entre os pacientes portadores de esquistossomose crônica e rara entre os portadores de cirrose, que na maioria das vezes, apresentavam fígado retraído.

A partir do momento em que a ultrassonografia passou a ser considerada uma técnica fidedigna para o diagnóstico de fibrose, Homeida et al. (1991) realizaram um estudo ultrassonográfico, buscando avaliar o efeito do tratamento na capacidade de reduzir a fibrose em pacientes com esquistossomose crônica. Os autores constataram a redução da intensidade da fibrose em vinte e oito, dos quarenta e oito pacientes avaliados, sendo que em doze a fibrose desapareceu completamente após um intervalo de três anos.

Em 1991, um encontro no Cairo sobre ultrassonografia na esquistossomose, patrocinado pelo Programa Especial da Organização Mundial da Saúde para Treinamento e Pesquisa em Doenças Tropicais, WHO/TDR - “World Health Organization Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases”, reuniu um grupo de pesquisadores internacionais que propuseram um guia prático para padronização do uso dessa técnica na avaliação de alterações patológicas provocadas pela infecção pelo *S. mansoni*. De

acordo com os autores desse guia, a avaliação deve ser feita pela medida dos diâmetros longitudinais dos lobos direito e esquerdo do fígado, o diâmetro longitudinal do baço, o diâmetro interno da veia porta na metade do trajeto entre o hilo hepático e sua bifurcação, a parede anterior da vesícula biliar e os três ramos portais (incluindo as paredes) entre o primeiro e o terceiro ponto de bifurcação. A média das três últimas medidas permite a seguinte classificação para fibrose periportal:

- ✓ GRAU I - média de espessura de 3 a 5 mm;
- ✓ GRAU II - média de espessura de 5 a 7 mm;
- ✓ GRAU III - média de espessura acima de 7 mm.

Além disso, o exame deveria ser completado com a avaliação da textura da superfície hepática, pesquisa de alterações focais do parênquima, pesquisa de veias colaterais portossistêmicas (coronária ou gástrica esquerda, paraumbilicais e gástricas curtas) e pesquisa de ascite. A padronização das posições do transdutor para o exame ultrassonográfico do fígado e baço estão no Anexo 1.

Novos encontros foram realizados em Niamey (1996) e em Belo Horizonte (1997), quando o protocolo citado foi revisto e novamente publicado pela OMS em 2000. Nessa atualização, foi proposto um método adicional para avaliar a fibrose periportal. Os autores sugeriram que a textura hepática observada deveria ser comparada com uma série de padrões de referência (Anexo 2) e que as medidas do tamanho dos órgãos e diâmetro das veias deveriam ser ajustadas com a altura, utilizando como referência, as medidas de indivíduos saudáveis do mesmo grupo populacional.

A ultrassonografia é um instrumento indispensável para a avaliação do estágio de desenvolvimento da patologia causada pelo *S. mansoni*, especialmente porque é capaz de detectar alterações ecogênicas dos tratos periportais, inacessíveis ao exame clínico, nas formas incipientes e mesmo organomegalias não acessíveis ao exame físico. Como essas alterações são reversíveis após o tratamento, a indicação do exame ultrassonográfico nos casos particulares vai depender de uma triagem clínica. Para estudos epidemiológicos, imunopatológicos e imunogenéticos, o exame ultrassonográfico torna-se fundamental para uma caracterização mais precisa dos grupos clínicos (Magalhães, 2002).

Em um estudo realizado por Magalhães et al. (2005), os dados de maior valor prognóstico para inferência do grau de desenvolvimento patológico, durante a infecção pelo *S. mansoni*, foram a ecogenicidade periportal central e periférica do trato periportal e as



dimensões do baço. Embora nos casos avançados, essa ecogenicidade se correlacione com a fibrose periportal (Homeida et al.1988a), nos casos incipientes, em que a biópsia não é recomendada, ainda não se estabeleceu essa correlação. Existe a possibilidade de que tais alterações seriam apenas proliferação celular, devido à inflamação granulomatosa (Silva et al. 2006). Richter et al (2001), durante o Segundo Simpósio Satélite sobre Ultrassonografia na Esquistossomose, concluíram que, apesar da persistência de algumas questões metodológicas, a ultrassonografia permanece como a técnica de escolha para a avaliação da morbidade hepática associada à infecção pelo *S. mansoni*. Entretanto, estudos futuros são necessários para aperfeiçoar a utilização da técnica na doença hepática incipiente e nas infecções associadas, principalmente, com o vírus da hepatite B e da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA).

### ***3.4 Aspectos gerais da resposta imune na Esquistossomose***

É de amplo conhecimento que o principal fator causador das formas graves da esquistossomose é o ovo depositado nos tecidos do hospedeiro. Dessa forma, quando ocorre deposição de grande número de ovos, a reatividade imunológica pode ser muito intensa causando lesões graves nos tecidos. A reação inflamatória granulomatosa, em resposta aos antígenos do ovo de *S. mansoni* é progressivamente substituída por uma reação fibrótica, e esses eventos são vistos como principal fator envolvido na patogênese da esquistossomose (Cheever et al. 2002, Stadecker et al. 2004). A reação inflamatória, na fase aguda da infecção, inicia-se quando células apresentadoras de antígenos (APC), principalmente, macrófagos, células dendríticas e linfócitos B capturam e processam os antígenos solúveis do ovo de *S. mansoni* (SEA) e, em seguida, esses antígenos são apresentados via Complexo Principal de Histocompatibilidade de classe II (MHCII) aos linfócitos TCD4<sup>+</sup> (Warren et al. 1967, Warren 1972, Mathew & Boros 1986, Stadecker et al. 2004). A ativação dos linfócitos TCD4<sup>+</sup> ocorre de modo eficiente quando há a interação entre as moléculas co-estimuladoras B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), presentes nas APC, com a molécula CD28, presente nos linfócitos (Lenschow et al. 1996, Stavitsky 2004). Em modelos experimentais, o estágio inicial de formação do granuloma envolve a participação de moléculas de adesão que promovem a interação célula-célula, necessária ao evento da inflamação (Bevilacqua 1993). Nessa fase da infecção, citocinas como IL (interleucina)-1, IFN- $\gamma$  ou TNF- $\alpha$  induzem a expressão da molécula de

adesão celular 1 (ICAM-1) (Dustin et al. 1986, Ritter & Mckerrow 1996). Diversos estudos já demonstraram que TNF- $\alpha$  é a citocina responsável pela indução da reatividade granulomatosa. Nesse contexto, Amiri et al. (1992), observaram que o tratamento com TNF- $\alpha$  de camundongos apresentando doença da imunodeficiência combinada grave (SCID) induziu um discreto granuloma em volta dos ovos do parasito. Além do TNF- $\alpha$ , outras citocinas como IL-2, IL-4 e IFN- $\gamma$  promovem a ativação de macrófagos e linfócitos T, contribuindo para a formação inicial do granuloma (Yamashita & Boros 1992, Stadecker et al. 2004). Rumbley et al. (1999) observaram que na esquistossomose murina, os granulomas formados apresentam elevado percentual de eosinófilos ativados, sendo esse tipo celular a principal fonte de citocinas Tipo 2 ao seu redor.

Eosinófilos são leucócitos multifuncionais, envolvidos na patogênese de diversos processos inflamatórios, incluindo infecções helmínticas, bacterianas e virais, dano tecidual, imunidade tumoral e doenças alérgicas (Gleich & Loegering 1984, Weller 1994, Rothenberg 1998, Hogan et al. 2008). Diversas linhas de pesquisas têm apontado para novas funções exercidas por essas células como, moduladores da imunidade adaptativa por ativação direta de linfócitos T (Shi et al. 2000, MacKenzie et al. 2001, Rothenberg & Hogan 2006), participação na resposta imune de mucosas, principalmente, do trato gastrointestinal, exercendo funções fisiológicas (Mishra et al. 1999, Rothenberg et al. 2004). Além disso, estão associados com a resposta desenvolvida durante a imunidade inata, por serem fonte de citocinas como IL-2, IL-4, IL-5, IL-12 (Rothenberg & Hogan 2006).

A associação entre infecção helmíntica e eosinofilia tem sido relatada por vários autores (Conrad 1971, Gazzinelli et al. 1985, Barbosa et al. 2001, De Jesus et al. 2002, Silveira-Lemos 2004, Anthony et al. 2007, Nutman 2007, Silveira-Lemos 2008, Teixeira-Carvalho et al. 2008). De acordo com Reimert et al. (2006), esse tipo de alteração celular seria mais pronunciado durante a fase aguda da infecção e poderia ser induzido pela exposição às larvas do parasito e liberação de antígenos. Na esquistossomose, após exposição às larvas do *S. mansoni*, ocorre um aumento de IL-5 e outras citocinas como, IL-1, IL-3, GM-CSF (fator estimulador de colônia de macrófagos e granulócitos) e G-CSF (fator estimulador de colônia de granulócitos) (Cluterbuck et al. 1989, Weller 1992), que são importantes no desenvolvimento dos eosinófilos (Rothenberg & Hogan 2006, Nutman 2007). Alguns autores já demonstraram que um aumento na produção de eosinófilos na medula óssea e no sangue ocorre, respectivamente, na quinta e na sétima semanas após a infecção, quando os antígenos

secretados pelos ovos são eliminados através dos poros de sua casca (Race et al. 1969, Sher et al. 1990).

Apesar da importância dos eosinófilos em infecções helmínticas, o papel dessas células ainda é muito controverso. Alguns estudos mostraram que essas células desempenham uma importante função na defesa do hospedeiro contra o *S. mansoni* (Colley 1972, Moore et al. 1977, Butterworth et al. 1979, Silveira-Lemos et al. 2008). Essa hipótese foi inicialmente baseada em estudos histopatológicos que mostraram a presença de grande número de eosinófilos circundando parasitos mortos e na atividade citotóxica, demonstrada *in vitro*, onde se observou que essas células eram capazes de destruir esquistossômulos na presença de anticorpos e/ou complemento (Sher et al. 1977, Ramalho-Pinto et al. 1978, Anwar et al. 1979, Butterworth et al. 1979, David et al. 1980). Os mecanismos utilizados pelos eosinófilos para destruir as larvas do *S. mansoni* não são bem compreendidos, porém, relatos apontam para a secreção de várias proteínas citotóxicas (Major Basic Protein - MBP - Proteína básica principal; Eosinophil Peroxidase - EPO - Peroxidase eosinofílica; Eosinophil Cationic Protein - ECP - Proteína catiônica eosinofílica), mediadores lipídicos (Prostaglandinas - PGE<sub>2</sub>; Tromboxanos; Fator Agregador de Plaquetas - PAF) e radicais derivados do oxigênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO, OH<sup>-</sup>), que também possuem atividade tóxica (Cara et al. 2000).

Além disso, alguns estudos têm correlacionado o número de eosinófilos com imunidade protetora durante a infecção pelo *S. mansoni* (Vadas et al. 1980, David et al. 1980; Veith & Butterworth 1983). No entanto, tem sido proposto que além do aumento do número de eosinófilos, há também um aumento na atividade dessas células, o que explicaria o papel protetor dessa população celular em infecções helmínticas. Essas atividades não envolveriam somente o aumento quantitativo do número de eosinófilos, mas também uma mudança qualitativa na sua atividade funcional o que tornaria os eosinófilos circulantes mais efetivos contra as infecções parasitárias helmínticas (Vadas et al. 1980, David et al. 1980, Veith & Butterworth 1983, Silveira-Lemos et al. 2008).

Embora vários autores associem níveis elevados de eosinófilos com resposta protetora em infecções helmínticas (Colley 1972, Moore et al. 1977, Butterworth et al. 1979, Thorne & Mazza 1991, Rothenberg & Hogan 2006), estudos recentes têm demonstrado que, sob condições específicas, fatores produzidos por eosinófilos podem também causar dano tecidual e contribuir para o desenvolvimento de patologia (Munitz & Levi-Schaffer 2004, Bochner & Busse 2005, Hogan et al. 2008). Uma propriedade particular dos eosinófilos é que eles

podem, assim como os macrófagos, apresentar diferentes estágios de ativação, além de exercer uma atividade pró-inflamatória ou anti-inflamatória, assim como, imunorreguladora, pelo fato de serem fonte de várias citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento. (Munitz & Levi-Schaffer 2004, Bandeira-Melo & Weller 2005, Hogan et al. 2008).

Segundo Munitz & Levi-Schaffer (2004), os eosinófilos podem, também, participar do processo fibrótico que ocorre em diferentes patologias. Eles atuam sobre os fibroblastos, alterando propriedades dessas células, através da liberação de grânulos e citocinas (Fator de Transformação do Crescimento-Beta - TGF- $\beta$ , IL-1, IL-6). Além disso, já está bem descrito que a eosinofilia tecidual e a desgranulação eosinófila estão associadas a certas síndromes fibróticas, e que os eosinófilos poderiam atuar no processo de cicatrização, remodelamento e desenvolvimento de fibrose pós-inflamação (Todd et al. 1991, Noguchi et al. 1992, Wong et al. 1993, Jacobsen et al. 2007). Além disso, os eosinófilos, em determinadas circunstâncias, são os principais produtores de TGF- $\beta$ , um potente mediador fibrinogênico, que estimula a proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno, promovendo a remodelação tecidual (Hogan et al. 2008). Nesse contexto, considerando que a fibrose hepática é uma das alterações patológicas mais relevantes na esquistossomose mansoni, os eosinófilos poderiam ter um papel crítico durante a infecção pelo *S. mansoni*.

Estudos recentes têm mostrado que em infecções helmínticas neutrófilos são também ativados e recrutados ao sítio de infecção (Morimoto et al. 2004, Anthony et al. 2006). Segundo Anthony et al. (2007) é possível que esse tipo celular esteja envolvido em mecanismos de resistência contra a infecção pelo parasito *Heligmosomoides polygyrus*. Recentemente, Galio et al. (2006) mostrou que neutrófilos são capazes de destruir larvas de *Strongyloides stercoralis*. Os autores observaram que durante a infecção experimental pelo *S. stercoralis*, neutrófilos foram rapidamente recrutados ao sítio de infecção, provocando a morte das larvas do parasito. Cada vez mais essa população celular é reconhecida como componente importante no desenvolvimento de resposta imunológica do Tipo 2 em infecções helmínticas (Anthony et al. 2007). Segundo esses autores, após migrarem para o foco de infecção, neutrófilos e outras populações celulares, como eosinófilos e macrófagos atuam em coordenação, podendo provocar a morte de helmintos e outros agentes agressores.

Na fase intermediária de formação do granuloma, observa-se equilíbrio entre resposta imune do Tipo 1 e Tipo 2, sendo que a resposta Tipo 2 desempenha um papel crítico no desenvolvimento do processo inflamatório, principalmente pela produção de IL-4, IL-5 e IL-

13, sendo a IL-4 uma citocina importante na modulação e na formação do granuloma (Yamashita & Boros 1992, Chensue et al. 1993, Stadecker et al. 2004). Malaquias et al. (1997) mostraram que o tratamento de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de pacientes portadores de infecção esquistossomótica aguda com anticorpo anti-IL-4 reduz significativamente a proliferação celular, diante do estímulo por SEA, porém isso não ocorre quando estímulo é feito com antígenos solúveis de vermes adultos (SWAP). O papel da citocina IL-5 está relacionado ao aumento do recrutamento de eosinófilos, proliferação e a diferenciação de células B (Sher et al. 1990, Weinstock 1992), enquanto a citocina IL-13 é produzida por células da resposta Tipo 2 e está estreitamente relacionada à citocina IL-4. Embora IL-13 e IL-4 compartilhem muitas atividades biológicas, alguns estudos têm mostrado que existem diferenças funcionais entre estas duas citocinas (Zurawski & de Vries 1994, Chiaramonte et al. 1999). Semelhante a IL-4, a IL-13 inibe a produção de citocinas inflamatórias (Minty et al. 1993, de Waal Malefyt et al. 1993) e promove o aumento da expressão de MHCII e CD23 por monócitos/macrófagos e linfócitos B (de Waal Malefyt et al. 1993). Além disso, as duas citocinas induzem, *in vitro*, a troca de classe para IgE em células humanas e promovem a síntese de IgG e IgM (Minty et al. 1993, McKenzie et al. 1993, Defrance et al. 1994, Cocks et al. 1993, Chiaramonte et al. 1999). De acordo com alguns autores, falha no desenvolvimento de uma resposta Tipo 2 efetiva resulta em reação granulomatosa exacerbada, provocada, principalmente, por células das respostas inflamatórias dos Tipos 1 e 17 (Anthony et al. 2007). Esse tipo de reação exacerbada pode levar a doença fatal, caracterizada por inflamação hepática grave, com dano hepatocelular e necrose (Stadecker et al. 2004, Anthony et al. 2007).

Células da resposta Tipo 17 representam um subtipo celular TCD4<sup>+</sup>, caracterizado pela produção de IL-17. Essa citocina é mediadora de processos inflamatórios crônicos em doenças autoimunes, como encefalite e artrite (Cua et al. 2003, Anthony et al. 2007). Células TCD4<sup>+</sup> Tipo 17 são estimuladas por IL-23, uma citocina heterodímera composta pelas unidades IL-12p40 e IL-23p19 (Aggarwal et al. 2003, Anthony et al. 2007). Na esquistossomose, a patologia exacerbada induzida pelo ovo, que é associada a elevados níveis de IL-17, ocorre após imunização com SEA, na presença do adjuvante de Freund, em camundongos selvagens infectados ou camundongos C57BL/6 deficientes para IL-12p35 (Rutitzky et al. 2001, Rutitzky et al. 2005). Em camundongos deficientes para IL-12p40, esse tipo de patologia não foi observada (Rutitzky et al. 2001, Rutitzky et al. 2005). Esses achados

sugerem que a via IL-17–IL-23 exerce um papel crítico no desenvolvimento de uma forma grave durante a infecção pelo *Schistosoma*, embora o papel da via IL-12–IFN- $\gamma$  não deva ser excluído. Coerente com esta interpretação, Rutitzky et al. (2005) demonstraram que camundongos CBA, que desenvolvem uma patologia exacerbada naturalmente, apresentam elevados níveis de IL-17 e que essa patologia pode ser reduzida através de anticorpos anti-IL-17. Estudos recentes têm mostrado que IL-6, TGF- $\beta$  e IL-21 são mediadores chaves na diferenciação da resposta Tipo 17 (Nurieva et al. 2007, Volpe et al. 2008) e que IL-23 atua como fator de sobrevivência e expansão para esse tipo celular (Veldhoen et al. 2006, Bettelli et al. 2006, Korn et al. 2007).

Outro subtipo de células T vem sendo atualmente estudado, as células T reguladoras (células T<sub>REG</sub>). De acordo com alguns autores, infecções por nematódeos podem induzir expansão natural dessa população celular (Van Den Biggelaar et al. 2000, McInnes et al. 2003, Summers et al. 2003, Saunders et al. 2007), sugerindo papel modulador das células T<sub>REG</sub> em processos inflamatórios provocados por infecções helmínticas (Belkaid & Rouse 2005, Anthony et al. 2007). Alguns estudos têm sugerido que as células T<sub>REG</sub>, mediadas por IL-10, desempenham um importante papel na supressão da resposta inflamatória Tipo 1 contra SEA (Hesse et al. 2004, Freeman et al. 2005). Entretanto, achados mais recentes indicam que estas células poderiam exercer seu papel através de um mecanismo, ainda desconhecido, porém, independente de IL-10 (Mckee et al. 2004, Baumgart et al. 2006, Taylor et al. 2006). Dados realizados por nosso grupo demonstraram que pacientes portadores da forma clínica intestinal apresentam uma frequência maior de linfócitos T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>HIGH quando comparados àqueles portadores das outras formas clínicas da doença, incluindo os pacientes portadores da fase aguda (Castro-Silva 2006, Teixeira-Carvalho et al. 2008).

A resposta imunológica e a inflamação granulomatosa, relacionadas à infecção pelo *S. mansoni*, abrangem múltiplas vias que envolvem a ativação e o recrutamento de diferentes populações celulares, bem como a produção de diversas citocinas e outros fatores solúveis ativadores e reguladores da resposta imune. Nesse contexto, quimiocinas e seus receptores tornam-se elementos chaves no processo de recrutamento de leucócitos. As quimiocinas produzidas durante os processos inflamatórios são determinantes da extensão, do tipo e da duração do processo migratório de células para o tecido, sendo a regulação celular da expressão dos receptores dessas moléculas um fator importante no processo de migração (Sallusto et al. 2000).

Receptores de quimiocinas compreendem uma vasta família de sete domínios transmembrana unidos a uma proteína G e possuem atividade claramente definida em leucócitos, onde teriam importância no desenvolvimento, diferenciação, distribuição anatômica, tráfego e função efetora das células e são fundamentais na ativação e regulação da resposta imune inata e adaptativa (Ono et al. 2003). A posição relativa de um resíduo de cisteína na molécula define quatro motivos estruturais para os receptores de quimiocinas (CC, CXC, CX3C e XC). Cerca de dezoito receptores já foram descritos, como receptores para as quimiocinas CC (CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, e CCR10), receptores para as quimiocinas CXC (CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5 E CXCR6), receptor para a quimiocina CX3C (CX3CR1) e receptor para a quimiocina XC (XCR1) (Murphy 1996, Rottman 1999, Horuk 2001, Ono et al. 2003). Segundo Annunziato et al. (2008), o receptor CCR6 está altamente expresso durante a resposta Tipo 17, enquanto a expressão dos receptores CXCR3, CCR1 e CCR5 tem sido associada à resposta imune Tipo 1 (Sallusto et al. 1998). Por outro lado, os receptores CCR3, CCR4 têm sido associados à resposta imune Tipo 2, CCR2 à resposta do Tipo 0 e CXCR4 e CCR7 associados à migração de células T não primadas (Sallusto et al. 1998). Dessa forma, a avaliação da função de quimiocinas e seus receptores têm contribuído para melhor entendimento de aspectos imunológicos em doenças infecciosas, inflamatórias e infecções virais (Murphy et al. 2000), além de permitir o estudo de processos para manipulação da resposta imune e desenvolvimento de novas terapêuticas antiinflamatórias (Mackay, 2001). Poucos estudos já descreveram a expressão de receptores de quimiocinas na esquistossomose humana. Em um estudo recente, Teixeira-Carvalho et al. (2008), demonstraram aumento da expressão de CCR5 em linfócitos T de pacientes portadores da forma clínica intestinal, quando comparado aos pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica e indivíduos não infectados.

Em relação ao perfil imunofenotípico de leucócitos circulantes, durante a infecção pelo *S. mansoni*, Martins-Filho et al. (1999) demonstraram que pacientes portadores das diferentes formas clínicas da esquistossomose (aguda, intestinal e hepatoesplênica) apresentaram diminuição do percentual médio de linfócitos T CD4<sup>+</sup>, em relação aos indivíduos não infectados. Por outro lado, houve aumento do percentual médio de linfócitos B-1 (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>) nos três grupos avaliados, quando comparados aos indivíduos não infectados. Além disso, os pacientes portadores da forma clínica aguda apresentaram aumento do percentual médio de células T CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, quando comparados aos indivíduos não

infectados. Os autores demonstraram, também, redução de células T CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> no sangue periférico dos pacientes infectados pelo *S. mansoni*. De acordo com esses resultados, os autores sugeriram que a ativação diferencial de subpopulações de células T poderia estar associada às diferentes manifestações clínicas da esquistossomose humana.

Diante dos mecanismos imunológicos expostos, fica evidente que a infecção pelo *S. mansoni* desencadeia uma resposta imunológica extremamente complexa e que a intensidade dessa resposta está relacionada à gravidade da doença.

### ***3.5 Tratamento para a Esquistossomose***

No passado, o tratamento para a esquistossomose humana provocava graves efeitos colaterais, no entanto, a partir da década de setenta, com o advento de novas drogas, mais simples, eficazes e seguras, esse panorama começou a ser modificado (Gryseels et al. 2006).

O praziquantel é um composto ativo e é atualmente a droga mais utilizada contra todas as espécies de *Schistosoma* (Richter 2003, Gryseels et al. 2006). O medicamento começa atuar, aproximadamente, uma hora após administração, provocando paralisia dos vermes e dano tegumentar. Os efeitos colaterais são leves e incluem náusea, vômitos, mal-estar e dor abdominal. No entanto, em infecções mais graves, cólicas agudas com diarreia sanguinolenta podem ocorrer, provavelmente, provocadas por uma liberação maciça de antígenos do parasito (Stelma et al. 1995, Gryseels et al. 2006).

Essa droga tem pouco ou nenhum efeito sobre ovos ou vermes imaturos do *Schistosoma*, além disso, os ovos retidos nos tecidos podem ser excretados por vários dias após o tratamento (Renganathan & Cioli 1998). Dessa forma, o período ideal para avaliar a eficácia do tratamento seria de quatro a seis semanas após o tratamento (Renganathan & Cioli 1998). Após dose única de 40 mg/kg (dose padrão recomendada pelo Ministério da Saúde), 70 a 100% dos pacientes tornam-se parasitologicamente negativos ao exame Kato-Katz. Naqueles casos não curados, que continuam parasitologicamente positivos após o tratamento, a contagem de ovos é reduzida em mais de 95% (Davis 1993, Stelma et al. 1995, Utzinger et al. 2000, Gryseels et al. 2006). Nas populações expostas às reinfecções, em que o número de ovos nas fezes é elevado, a taxa de cura pode ser reduzida. Nesses casos, a dose do medicamento pode ser aumentada para 60 mg/kg, fracionada em duas administrações para



evitar efeitos colaterais mais graves. Essa dosagem é recomendada também para os pacientes diagnosticados como positivos, mas que não mais residem em uma área endêmica, pois, nessa situação, o objetivo desse esquema terapêutico seria promover a cura completa da doença (Davis 1993). Caso o paciente continue apresentando eosinofilia, altos títulos de anticorpos ou sintomas relacionados à esquistossomose, a dose deve ser repetida nas próximas seis a doze semanas (Gryseels et al. 2006).

A fase aguda da esquistossomose (febre de Katayama) pode ser inicialmente tratada com corticosteróides para suprimir a reação de hipersensibilidade e, posteriormente, com praziquantel para eliminar os vermes adultos (Lambertucci 1993, Horak & Kolarova 2005). Uma vez que os vermes imaturos não são susceptíveis ao medicamento, o tratamento deverá ser repetido quatro a seis semanas após o aparecimento dos primeiros sintomas. No caso de hemorragias esofágicas, beta-bloqueadores, escleroterapia endoscópica, esplenectomia ou desvio portocaval poderão ser indicados (Lambertucci 1993, Olds & Dasarathy 2000).

Corticosteróides e anticonvulsivantes podem ser utilizados como possíveis adjuvantes ao praziquantel no tratamento da neuroesquistossomose, que é uma forma clínica que requer cuidados especiais (Ferrari 2004).

Outros medicamentos também são utilizados para o tratamento da esquistossomose. A oxamniquine é uma droga que atua somente sobre o *S. mansoni*, sendo assim, é utilizada principalmente no Brasil (Olds & Dasarathy 2000, Fenwick et al. 2003). Possui eficácia semelhante ao praziquantel, porém seus efeitos colaterais são mais pronunciados (Gryseels et al. 2006). Entretanto, alguns autores, no Brasil, já relataram casos de resistência ao medicamento (Lambertucci et al. 2000, Saconato & Atallah 2000).

Os derivados da artemisinina são compostos ativos contra os vermes imaturos do *Schistosoma japonicum*, *S. mansoni* e, provavelmente, do *S. haematobium* (Xiao et al. 2002). Alguns autores têm investigado a utilização desses compostos, em combinação com o praziquantel, na cura ou profilaxia da forma clínica aguda da esquistossomose (Utzinger et al. 2003). Entretanto, o uso desse esquema terapêutico, em áreas endêmicas para a malária, não é recomendado devido ao risco dos parasitos da malária tornarem-se resistentes à artemisinina (Gryseels et al. 2006).

Vários autores já demonstraram o impacto da quimioterapia na infecção pelo *Schistosoma* (Homeida et al. 1988a,b, Homeida et al. 1996, Mohamed et al. 1991, Gryseels et

al. 1994, Boisier et al. 1998, Frenzel et al. 1999, Martins-Leite et al. 2008). Segundo eles, a prevalência e a intensidade de infecção reduzem-se acentuadamente após o tratamento.

Em relação aos danos intestinais provocados pelo *S. mansoni*, alguns autores já descreveram que após a quimioterapia, ocorre cicatrização das lesões intestinais, promovendo redução da quantidade de sangue nas fezes e da anemia (Kongs et al. 1996, Boisier et al. 1998).

Existem muitos fatores que influenciam a reversão da fibrose hepática. De acordo com alguns autores, indivíduos mais jovens teriam maior probabilidade de reversão (Homeida et al. 1988b, Homeida et al. 1991, Boisier et al. 1998). Em um estudo realizado em Uganda, com pacientes portadores de esquistossomose crônica, os autores demonstraram que após um período de dois anos e sete meses, o tratamento com praziquantel promoveu redução da fibrose hepática (Frenzel et al. 1999). Em outro foco de intensa transmissão, também em Uganda, o tratamento com praziquantel não foi suficiente para reduzir a patologia hepática. A fibrose foi revertida em alguns pacientes, estacionária em outros, porém progrediu em certos pacientes (Kabatereine 2000).

Embora a hipertensão portal seja uma complicação tardia da esquistossomose, alguns estudos já demonstraram que a quimioterapia pode ter efeito benéfico sobre essa alteração. Redução do diâmetro da veia porta (Domingues et al. 1997) e regressão de varizes esofagianas (Bennett 1997) são alguns dos relatos existentes na literatura. Segundo Martins-Leite et al. (2008) a quimioterapia promove redução da morbidade, principalmente nos casos mais graves de fibrose hepática.

Em relação à resposta imunológica pós-tratamento, alguns autores têm demonstrado que a quimioterapia induz resposta imune heterogênea que depende do tipo de antígeno utilizado e do período que a análise é realizada (Fitzsimmons et al. 2004, Joseph et al. 2004). Entretanto, a maioria dos estudos imunológicos pós-tratamento foi realizada em pacientes portadores das formas crônicas da esquistossomose. Recentemente, de Souza et al. (2007) realizaram estudo avaliando o efeito do tratamento com oxamniquine em pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose. Esse estudo demonstrou que após o tratamento, os níveis de IFN- $\gamma$  aumentam, significativamente, em resposta aos antígenos SEA e SWAP. Resultados semelhantes foram observados por Corrêa-Oliveira et al. (2000), porém avaliando pacientes portadores das formas crônicas da esquistossomose. Entretanto, o estudo realizado por Joseph et al. (2004), utilizando pacientes portadores da fase crônica da doença,

demonstrou que os níveis de IFN- $\gamma$ , induzidos por SEA e SWAP, não foram alterados após o tratamento com praziquantel. Esse mesmo estudo mostrou que os níveis de IL-4 e IL-5 aumentam significativamente em resposta ao SWAP, embora o mesmo não tenha sido observado em relação ao SEA. Por outro lado, de Souza et al. (2007), não observaram aumento significativo de IL-4 após o tratamento de pacientes na fase aguda. Além disso, demonstraram que a leucocitose com eosinofilia e os altos níveis de IgE total observados antes do tratamento com oxamniquine, reduziram-se significativamente pós-tratamento. Segundo esses autores, o tratamento de pacientes portadores da forma clínica aguda promoveria direcionamento para resposta imune do Tipo 1, porém, se essa resposta teria papel protetor, é um questionamento que ainda requer elucidação.

## **4 POPULAÇÃO, MATERIAIS E MÉTODOS**

#### ***4.1 Descrição da área estudada***

Os indivíduos avaliados nesse estudo entraram em contato com as formas infectantes do *S. mansoni* em uma casa de campo localizada na zona rural de Igarapé, município pertencente à área metropolitana de Belo Horizonte – MG, durante o feriado de carnaval do ano 2006. O local é frequentemente alugado durante finais de semana e feriados prolongados. Possui uma casa ampla com piscina de água natural abastecida pelo córrego Igarapé (**Figura 2**). Além da piscina, parte da água do córrego foi canalizada, em canais abertos, para a formação de uma ducha. Durante a inspeção à casa de campo, em maio de 2006, pelos pesquisadores do Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR) Dr. Cristiano Lara Massara e Dr. Martin Johannes Enk, observou-se que a casa não possuía saneamento básico. Toda a água utilizada era desprezada em uma represa localizada próxima a casa (**Figura 3**).



**Figura 2:** Casa de campo localizada na zona rural de Igarapé, município pertencente à zona metropolitana de Belo Horizonte - MG. Vista geral da casa de campo, onde é possível observar a piscina de água natural abastecida pelo córrego Igarapé.



**Figura 3:** Casa de campo localizada na zona rural de Igarapé, município pertencente à zona metropolitana de Belo Horizonte - MG. Represa próxima à casa, onde toda a água utilizada pelos turistas era despejada.

#### *4.2 Pesquisa malacológica*

Durante a inspeção mencionada acima, os integrantes do CPqRR avaliaram possíveis focos de infecção, através da coleta de moluscos (**Figura 4**). Dessa forma, os moluscos foram coletados em três pontos distintos da casa de campo e enviados, ainda vivos, para o Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica (LHMM) do CPqRR. Em seguida, cinco exemplares de cada ponto coletado foram separados e identificados pela morfologia e por técnica molecular. Os moluscos foram anestesiados, sacrificados e um fragmento da região cefalopodal foi retirado para extração de DNA e utilização nos estudos moleculares. O restante do corpo foi estocado no fixador de Haillet-Henry e a concha em frascos com algodão. A identificação morfológica foi realizada, pela Dr<sup>a</sup>. Roberta Lima Caldeira do LHMM, com base na comparação dos caracteres da concha, aparelho reprodutor masculino e feminino e do sistema excretor, conforme estabelecido por Paraense (1975, 1981, 1988). Para a identificação molecular foi utilizada a técnica descrita por Vidigal et al. (1998).





**Figura 4:** Coleta de caramujos realizada em coleção aquática da casa de campo para avaliação de possíveis focos de infecção pelo *S. mansoni*.

### 4.3 Caracterização da população avaliada

Para a realização deste trabalho foram utilizadas amostras de fezes e sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni. Esses pacientes foram subdivididos em dois grupos: Grupo 1, avaliado antes do tratamento específico (aproximadamente sessenta dias pós-contato com águas contaminadas por cercárias de *S. mansoni*) e Grupo 2, avaliado um ano após terapêutica específica com praziquantel (**Tabela 1**). O diagnóstico da forma clínica aguda da esquistossomose foi baseado em dados epidemiológicos (contato recente com água contaminada com as formas infectantes do *S. mansoni*), clínicos (enterocolite aguda, náuseas, vômitos, dor abdominal, febre, dor de cabeça, perda de peso, tosse, dermatite cercariana, hepatomegalia e esplenomegalia) e laboratoriais (eosinofilia e ovos viáveis de *S. mansoni* nas fezes) (Barata et al. 1999).

Quarenta e dois indivíduos estiveram presentes na casa de campo, desses, trinta e oito (90,5%) concordaram em participar do estudo, e foram previamente avaliados por nossa equipe. Para constatar a presença ou não de ovos de *S. mansoni* nas fezes desses indivíduos foi realizado o exame parasitológico de fezes, método Kato-Katz (Katz et al. 1972). Após uma análise preliminar, constatamos que trinta e quatro pacientes (89,5%) apresentaram exame parasitológico positivo para ovos de *S. mansoni* nas fezes. Entretanto, devido aos critérios de inclusão e exclusão adotados para esse estudo, dezoito pacientes (47,4%) foram excluídos, sendo que quinze foram excluídos devido a tratamento prévio anteriormente a nossa avaliação. Dessa forma, o grupo portador da forma clínica aguda da esquistossomose foi composto por dezesseis pacientes (42,1%), (sete homens e nove mulheres), com idade variando entre 05 a 35 anos e contagem de ovos por grama de fezes (opg) variando de 04 a 768 (**Tabela 1**).

Todos os pacientes portadores da infecção pelo *S. mansoni*, independente da sua participação nesse estudo, foram submetidos ao tratamento com praziquantel na dose padrão brasileira - 50 mg/Kg de peso para adultos e 60 mg/Kg de peso para crianças (Disch et al. 2002). Posteriormente ao tratamento, alguns pacientes relataram o aparecimento de determinadas reações adversas relacionadas ao medicamento, tais como: náusea e vômitos, tonteira, dor abdominal e sonolência. Além disso, um paciente relatou que apresentou paralisia momentânea de membros inferiores após administração do praziquantel.

É importante mencionar que todas as avaliações propostas para o estudo, incluindo exame parasitológico de fezes, avaliação de parâmetros hematológicos, avaliação da função hepática, exame ultrassonográfico e avaliação imunofenotípica foram realizados antes e um ano após a terapêutica específica com praziquantel.

A inclusão de cada paciente neste trabalho seguiu critérios de inclusão e exclusão, descritos a seguir:

#### ***4.3.1 Critérios de inclusão***

Após avaliação clínica e parasitológica, os pacientes foram selecionados de acordo com os seguintes critérios:

- Idade compreendida entre 05 a 65 anos;
- Indivíduos que relataram ausência de tratamento com drogas anti-helmínticas nos últimos 24 meses;
- Conclusão dos exames propostos;
- Assinatura de consentimento livre e esclarecido pelo voluntário ou responsável.

#### ***4.3.2 Critérios de exclusão***

Foram excluídos deste estudo todos pacientes que não preencheram os critérios de inclusão definidos acima ou que apresentaram:

- Impossibilidade para a realização dos exames propostos;
- Alcoolismo, definido como consumo médio semanal acima de 420 g de etanol (média diária acima de 60 g de etanol) (Skinner et al. 1984);
- Gravidez, definida por critérios laboratoriais;
- Qualquer outra doença sistêmica significativa crônica ou aguda que pudesse interferir nos resultados dos métodos propostos;
- Anemia significativa, definida como hemoglobina menor que 10 g/dL (Stoltzfus & Dreyfuss 1998);

O terceiro grupo do estudo, formado por indivíduos saudáveis, doadores de sangue da Fundação Hemominas de Belo Horizonte – MG, foi inserido como grupo controle para

parâmetros hematológicos e imunofenotípicos. Sendo assim, esse grupo foi composto por onze indivíduos, (cinco homens e seis mulheres), com idade variando entre 19 a 45 anos. É importante mencionar que esses indivíduos foram selecionados após teste sorológico negativo para doença de Chagas, leishmaniose, vírus da imunodeficiência humana (HIV), hepatite e apresentavam exame parasitológico de fezes negativo para o *S. mansoni* e outros helmintos.

O quarto e último grupo desse estudo, composto por indivíduos saudáveis, não infectados pelo *S. mansoni*, foi inserido como grupo controle para parâmetros ultrassonográficos. Dessa forma, esse grupo controle foi composto por doze indivíduos, (cinco homens e sete mulheres), com idade variando entre 10 a 38 anos.

Todos os indivíduos aceitaram participar voluntariamente deste estudo e puderam retirar-se quando desejado, sem prejuízo ou dano no atendimento clínico e tratamento terapêutico.

Além disso, este trabalho cumpriu com as disposições da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que regulamenta a pesquisa envolvendo seres humanos, sendo aprovado pelos Comitês de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e do Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

**Tabela 1:** Caracterização da população avaliada

GRUPOS	SIGLAS	VARIAÇÃO IDADE (ANOS)	VARIAÇÃO (OPG)	FEM.	MASC.	TOTAL
Portadores da forma clínica aguda – Antes do tratamento	AGD-AT	05-35	04-768	09	07	16
Portadores da forma clínica aguda – Um ano após tratamento	AGD-PT	05-31	0-0	07	06	13
Grupo controle doadores de sangue	CT	19-45	0-0	06	05	11
Grupo controle parâmetros ultrassonográficos	CT*	10-38	0-0	07	05	12

#### ***4.4 Exame parasitológico de fezes***

Recipientes plásticos apropriados para a coleta da amostra de fezes foram distribuídos a todos os participantes do estudo. O exame parasitológico foi realizado pelo Dr. Cristiano Lara Massara e Dr. Martin Johannes Enk do LHMM, CPqRR. A presença e o número de ovos do parasito por grama de fezes foram determinados através do exame de seis lâminas de cada amostra de fezes, utilizando-se o método parasitológico de Kato-Katz (Katz et al. 1972). A contagem do número total de ovos por grama de fezes de cada indivíduo foi apresentada pelo resultado da média aritmética da leitura das seis determinações e definida como ovos por grama de fezes (opg). O método Kato-Katz é método de escolha para determinação da intensidade de infecção e tem sido amplamente utilizado em estudos epidemiológicos (Enk et al. 2008).

#### ***4.5 Avaliação de parâmetros clínicos***

Após a entrega das amostras de fezes, os participantes do estudo foram submetidos a uma detalhada anamnese (**Anexo 3**), realizada pelo Dr. Martin Johannes Enk, do LHMM do CPqRR, que possui ampla experiência na avaliação clínica de pacientes portadores de esquistossomose mansônica. Uma ficha de registro com os seguintes dados de identificação foi preenchida: número do protocolo, nome, sexo, idade, naturalidade e escolaridade. Durante a anamnese tais informações foram consideradas: sintomas gerais (adinamia, hiporexia, emagrecimento, febre, dor de cabeça); sintomas digestivos (dor abdominal, náuseas, vômitos, hematêmese, diarreia, hematoquesia); sintomas de outros aparelhos e sistemas; história pregressa: contato com águas naturais (localidade, frequência e regularidade); manifestações cutâneas após contato com águas; tratamentos anteriores para esquistossomose mansoni (medicamentos utilizados); cirurgias; outras doenças; hábitos ou passado mórbido; história familiar e social.

#### ***4.6 Avaliação da função hepática***

A função hepática dos indivíduos participantes do estudo foi avaliada através da dosagem da concentração plasmática das seguintes enzimas: ALT (alanina amino transferase), AST (aspartato amino transferase) e  $\gamma$ -GT (gama-glutamil transferase). O método empregado para a dosagem enzimática foi o método cinético, utilizando o aparelho WIENER LAB Metrolab 2300 PLUS (Modelo CM-200). As dosagens foram realizadas no Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, sob a coordenação do Dr. Roney Luiz de Carvalho Nicolato.

#### ***4.7 Avaliação de parâmetros hematológicos***

O perfil hematológico da população avaliada foi determinado por meio da realização de hemograma realizado por um laboratório terceirizado (Laboratório Paula Castro - Medicina Laboratorial/Belo Horizonte - MG), através de um contrato firmado entre o Laboratório e o

CPqRR. As determinações foram realizadas em um contador eletrônico de células Coulter T890, E.U.A., utilizando-se sangue periférico, coletado em tubos de 5 mL, contendo anticoagulante EDTA. Os parâmetros avaliados foram: global de leucócitos e diferencial de células com determinação do percentual e do número absoluto de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos; contagem de eritrócitos; hematócrito; concentração de hemoglobina; índices hematimétricos; número de plaquetas.

#### **4.8 Exame ultrassonográfico**

Os pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose e indivíduos não infectados pelo *S. mansoni* foram submetidos ao exame de ultrassonografia abdominal, utilizando-se o aparelho modelo Nemio SSA/550<sup>a</sup> (Toshiba) transdutor convexo de 3.75 MHz para indivíduos maiores que dez anos de idade e 5.0 MHz para indivíduos menores que dez anos de idade. Todos os participantes desse estudo foram examinados pela Dr<sup>a</sup>. Maria Carolina Barbosa Álvares da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte - MG, que possui ampla experiência na avaliação ultrassonográfica de pacientes portadores da infecção pelo *S. mansoni*. O exame foi realizado com os indivíduos em decúbito dorsal e jejum mínimo de seis horas. Os seguintes parâmetros foram avaliados:

- ✓ Textura do parênquima hepático: homogêneo ou heterogêneo;
- ✓ Superfície do fígado: regular ou irregular;
- ✓ Medida do lobo esquerdo do fígado em mm (secção longitudinal-LELON, na linha médio-esternal, e ântero-posterior-LEAP);
- ✓ Medida do lobo direito do fígado em mm (secção longitudinal-LDLON, na linha hemiclavicular, e ântero-posterior-LDAP);
- ✓ Ecogenicidade: espessura da parede da veia porta-VP em mm, medida de um lado exterior a outro da parede: trato portal central (no hilo hepático) e periférico (média da medida de três tratos portais periféricos);
- ✓ Lesões hepáticas focais: presença ou ausência;
- ✓ Calibre da veia porta (diâmetro) em mm: medida do lúmen, no hilo, antes de sua bifurcação;

- ✓ Circulação colateral: presença ou ausência;
- ✓ Medida do baço em mm (eixo longitudinal-BLON, na linha axilar média, e ântero-posterior-BAP);
- ✓ Textura do parênquima do baço: homogêneo ou heterogêneo;
- ✓ Superfície do baço: regular ou irregular;
- ✓ Calibre da veia esplênica em mm (no hilo);
- ✓ Medida da veia mesentérica superior em mm, quando possível;
- ✓ Medida do pâncreas em mm;
- ✓ Textura do parênquima do pâncreas: homogêneo ou heterogêneo;
- ✓ Superfície do pâncreas: regular ou irregular;
- ✓ Calibre do ducto pancreático principal em mm;
- ✓ Vias biliares;
- ✓ Medida da vesícula biliar em mm;
- ✓ Superfície da vesícula biliar: regular ou irregular;
- ✓ Medida da espessura da parede anterior da vesícula biliar em mm, quando espessada;
- ✓ Medida de linfonodos periportais-PP em mm.

Nesse estudo, adotou-se a classificação da WHO (1991) para avaliar a morbidade provocada pela infecção pelo *S. mansoni* em relação ao aumento da ecogenicidade periportal, descrita abaixo:

Grau zero: espessamento da parede dos ramos periportais menor que 3 mm (ausência de fibrose);

Grau I: espessamento da parede dos ramos periportais entre 3 a 5 mm (fibrose incipiente);

Grau II: espessamento da parede dos ramos periportais entre 5 a 7 mm (fibrose moderada);

Grau III: espessamento da parede dos ramos periportais superior a 7 mm (fibrose grave).

Embora em alguns trabalhos, pacientes portadores de ecogenicidade grau I sejam classificados como portadores de fibrose periportal incipiente, deve-se considerar a possibilidade dessa ecogenicidade observada ser infiltrado celular que antecede à fibrose, uma



vez que não se estabeleceu ainda, por razões éticas, correlação com os achados de biópsia hepática (Magalhães, 2002).

#### ***4.9 Imunofenotipagem ex vivo de leucócitos do sangue periférico***

Os ensaios *ex vivo* de imunofenotipagem de eosinófilos, neutrófilos e linfócitos do sangue periférico foram realizados utilizando-se amostras de 50 µL de sangue periférico coletado a vácuo em tubos de 5 mL, contendo anticoagulante EDTA (Vacutainer - Becton Dickinson - BD, E.U.A.), transferidas para tubos de poliestireno de 5 mL (Falcon - BD, E.U.A.), contendo 2 µL do anticorpo monoclonal marcado com o fluorocromo específico (Isoticianato de fluoresceína - FITC; Ficoeritrina - PE; Cychrome - CYCHR; Tricolor - TC) para o receptor celular de interesse ou anticorpos monoclonais anti-receptores de quimiocinas (**Tabela 2**). As amostras foram incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

Após o período de incubação, as amostras de sangue periférico foram submetidas à etapa de lise dos eritrócitos, utilizando-se 2 mL de solução de lise comercial (Facs Lysing Solution - FLS - BD, E.U.A) diluída dez vezes em água destilada. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de PBS 0,015M, pH 7,4 (SIGMA, E.U.A.) e as amostras foram centrifugadas a 400 g por 10 minutos a 18°C (Centrífuga Beckman, Modelo J-6B, E.U.A.). O sobrenadante foi descartado e as amostras lavadas com 2 mL de PBS 0,015M, pH 7,4. Em seguida, as amostras foram fixadas com 200 µL de solução fixadora (10 g/L de paraformaldeído; 1% de cacodilato de sódio; 6,67 g/L de cloreto de sódio, pH 7,2 - SIGMA, E.U.A.). Após um período de 15 minutos a 4°C, os fenótipos celulares presentes em cada tubo foram determinados com o auxílio do citômetro de fluxo (FACScalibur - BD, E.U.A.).

**Tabela 2** – Anticorpos utilizados para imunofenotipagem de leucócitos circulantes

MARCADOR	FLUOCR.*	CLONE	CONC.**	FUNÇÕES
Anti-IgG1	FITC	679.1Mc7	0,5 µg	Controle isotópico.
Anti-IgG2a	PE	UCTH-1	0,5 µg	Controle isotópico.
Anti-CD3	FITC	UCTH-1	0,5 µg	Associado ao receptor de células T (TCR). Exigido para expressão na superfície celular e para transdução de sinal pelo TCR. Expresso em timócitos e linfócitos T.
Anti-CD4	FITC	SK3	0,5 µg	Co-receptor para moléculas do complexo de histocompatibilidade principal de classe II.
Anti-CD4	CYCHR	SK3	0,5 µg	Expresso em subgrupos de timócitos, linfócitos T, monócitos e macrófagos.
Anti-CD8	TC	3B5	0,5 µg	Co-receptor para MHC de classe I. Expresso em subgrupos de timócitos e linfócitos T citotóxicos.
Anti-CD11a	PE	WT.1	0,5 µg	Molécula de adesão celular expressa em eosinófilos e basófilos; liga-se a ICAM-1, ICAM, ICAM-2, ICAM-3.
Anti-CD13	PE	WM15	0,5 µg	Expresso em granulócitos. É uma aminopeptidase ligada à molécula de MHC de classe II.
Anti-CD14	FITC	M0P9	0,5 µg	Receptor para complexo de lipopolissacarídeo e proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LBP) expresso em células mielomonocíticas.
Anti-CD18	PE	L130	0,5 µg	Molécula de adesão celular expressa em leucócitos.

Anti-CD23	PE	M-L233	0,5 µg	Molécula de ativação celular, receptor de baixa afinidade de IgE (FcεRII).
Anti-CD25	PE	3G10	0,5 µg	Ativação de leucócitos, identificação de células T reguladoras.
Anti-CD28	PE	FAB342P	0,5 µg	Molécula co-estimuladora de proliferação, produção de citocinas por linfócitos T e produção de anticorpos dependente de linfócitos T.
Anti-CD44	PE	515	0,5 µg	Molécula envolvida na adesão de leucócitos
Anti-CD54	PE	LB2	0,5 µg	Molécula de adesão de leucócitos. Liga-se à CD11a/CD18.
Anti-CD62L	PE	SK11	0,5 µg	Molécula de adesão celular expressa em leucócitos.
Anti-CD64	FITC	10.1	0,5 µg	Receptor de IgG (FcγRI)
Anti-CD69	FITC	BAF2359	0,5 µg	Molécula de ativação de leucócitos.
Anti-CD80	PE	BAF140	0,5 µg	Co-regulação de ativação de linfócitos T.
Anti-CD86	PE	BAF141	0,5 µg	Co-regulação de ativação de linfócitos T.
Anti-HLA-DR	PE	TÜ36	0,5 µg	Molécula de MHC de classe II expressa na superfície de células humanas.
Anti-CCR2	FITC	48607.211	0,5 µg	Migração de linfócitos T, monócitos, basófilos, eosinófilos, células dendríticas. Liga-se a CCL2 (MCP-1), CCL7 (MCP-3), CCL8 (MCP-2), CCL12 (MCP-5), CCL13 (MCP-4), CCL16 (HCC-4).

Anti-CCR3	FITC	61828.111	0,5 µg	Migração de eosinófilos, basófilos, mastócitos, linfócitos T. Liga-se a CCL5 (RANTES), CCL7 (MCP-3), CCL8 (MCP-2), CCL11 (EOTAXINA).
Anti-CCR5	FITC	45502.111	0,5 µg	Migração de linfócitos T Tipo 1, NK, células dendríticas, monócitos. Liga-se a CCL3 (MIP-1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP-1 $\beta$ ), CCL5 (RANTES), CCL8 (MCP-2), CCL11 (EOTAXINA), CCL13 (MCP-4), CCL14 (HCC-1).
Anti-CXCR3	FITC	49801.111	0,5 µg	Migração de fibroblastos e linfócitos T Tipo 1 ativados. Liga-se a CXCL4 (PF4), CXCL9 (Mig), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC).

#### Anticorpos Becton Dickinson e Invitrogen

*Fonte:* CD Reference Chart. 8th HLDA International Workshop, 2004. MASON *et al.*, 2003; D'AMBROSIO *et al.*, 2003; ONO *et al.*, 2003.

\* FLUOCR.: Fluocromo

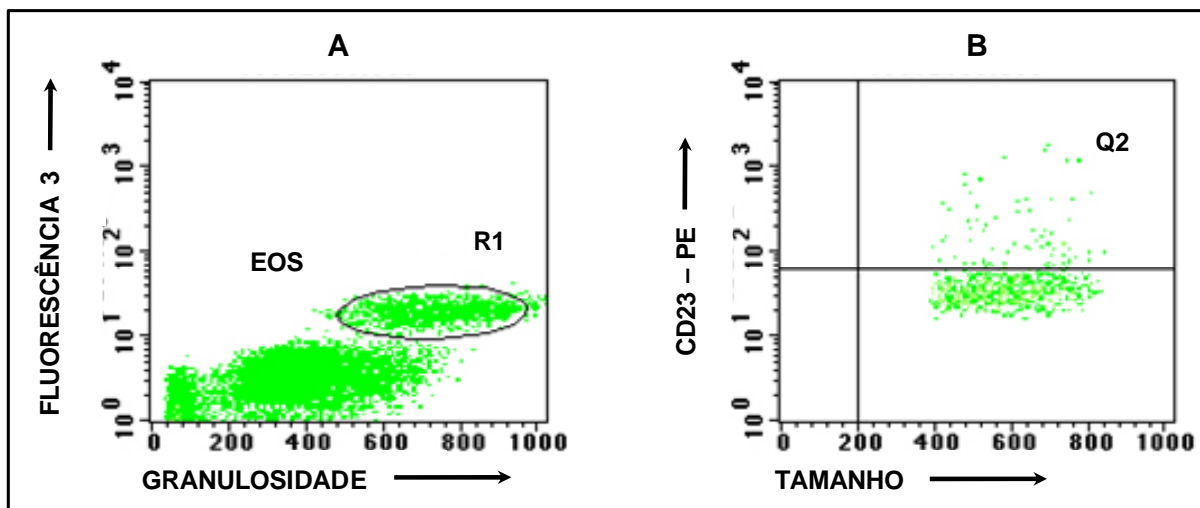
\*\* CONC.: Concentração

#### ***4.10 Aquisição e análise ex vivo do fenótipo celular de eosinófilos e neutrófilos do sangue periférico por citometria de fluxo***

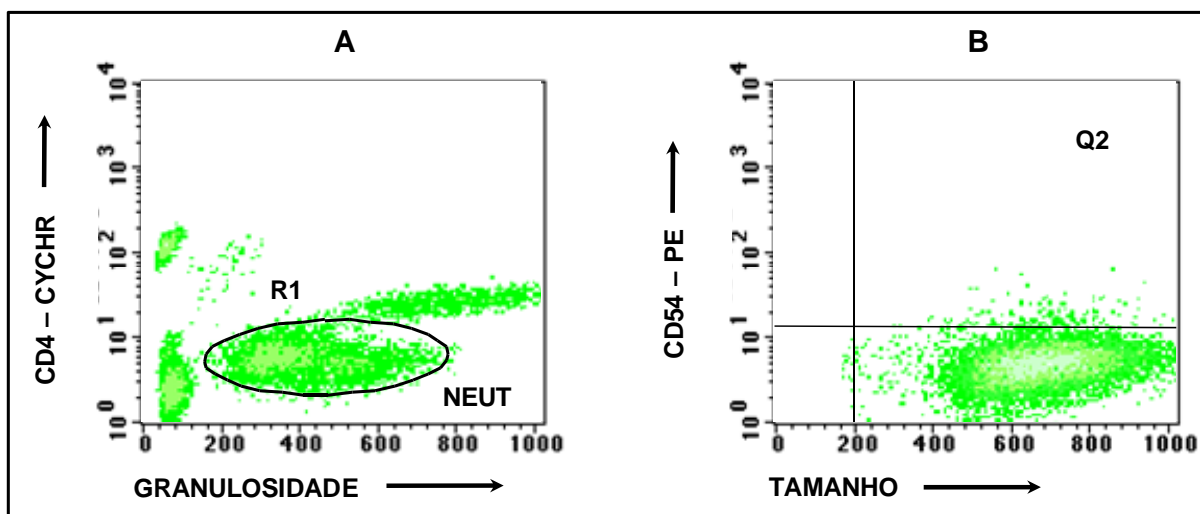
As amostras celulares obtidas para o estudo foram avaliadas e analisadas em citômetro de fluxo FACScalibur, BD (E.U.A.). Para as análises dos resultados foi utilizado o software do equipamento denominado Cell Quest. Foram coletados vinte mil eventos para a análise *ex vivo* das amostras.

A identificação da população celular de interesse e a determinação do valor percentual de marcadores de superfície e receptores de quimiocinas foram realizadas através de um sistema de computador acoplado ao citômetro. As **Figuras 5 e 6** representam, de forma esquemática, o método utilizado para a análise desses resultados. A primeira estratégia

(**Figuras 5A e 6A**) consistiu na identificação das populações de eosinófilos (EOS) e neutrófilos (NEUT), respectivamente. A população de eosinófilos foi selecionada por uma janela – “gate” (R1), através da construção de gráficos de distribuição pontual de granulosidade celular (Side Scatter - SSC) versus uma fluorescência não relacionada (para observação da autofluorescência característica de eosinófilos). Já a população de neutrófilos foi selecionada por meio de gráfico de distribuição pontual de granulosidade celular versus CD4/FL3 (células com granulosidade intermediária CD4 - CYCHR). A **Figura 5B** ilustra, no quadrante 2 (Q2), a detecção do marcador de superfície CD23 na população de eosinófilos, em gráfico de tamanho (Forward Scatter - FSC) versus fluorescência 2 (CD23 - PE). A **Figura 6B** ilustra, no quadrante 2 (Q2), a detecção do marcador de superfície CD54 na população de neutrófilos, em gráfico de tamanho versus fluorescência 2 (CD54 - PE).



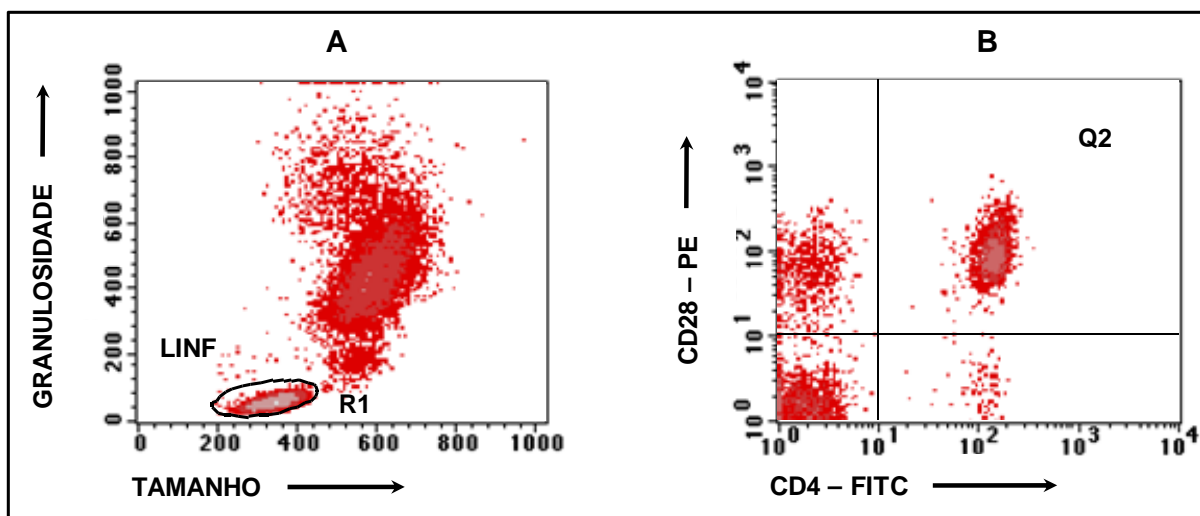
**Figura 5:** Análise de eosinófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni por citometria de fluxo. (A) representa o perfil celular da população de eosinófilos (EOS), selecionada no “gate” R1 em gráfico de granulosidade em função da fluorescência 3. (B) representa o perfil de análise da população de eosinófilos positivos para o marcador de superfície CD23 no quadrante (Q2) em gráfico de tamanho versus fluorescência 2 (CD23 - PE).



**Figura 6:** Análise de neutrófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni por citometria de fluxo. (A) representa o perfil celular da população de neutrófilos (NEUT), selecionada no “gate” R1 em gráfico de granulosidade em função da fluorescência 3 (CD4 - CYCHR). (B) representa o perfil de análise da população de neutrófilos positivos para o marcador de superfície CD54 no quadrante 2 (Q2) em gráfico de tamanho versus fluorescência 2 (CD54 - PE).

#### 4.11 Aquisição e análise *ex vivo* do fenótipo celular de linfócitos do sangue periférico por citometria de fluxo

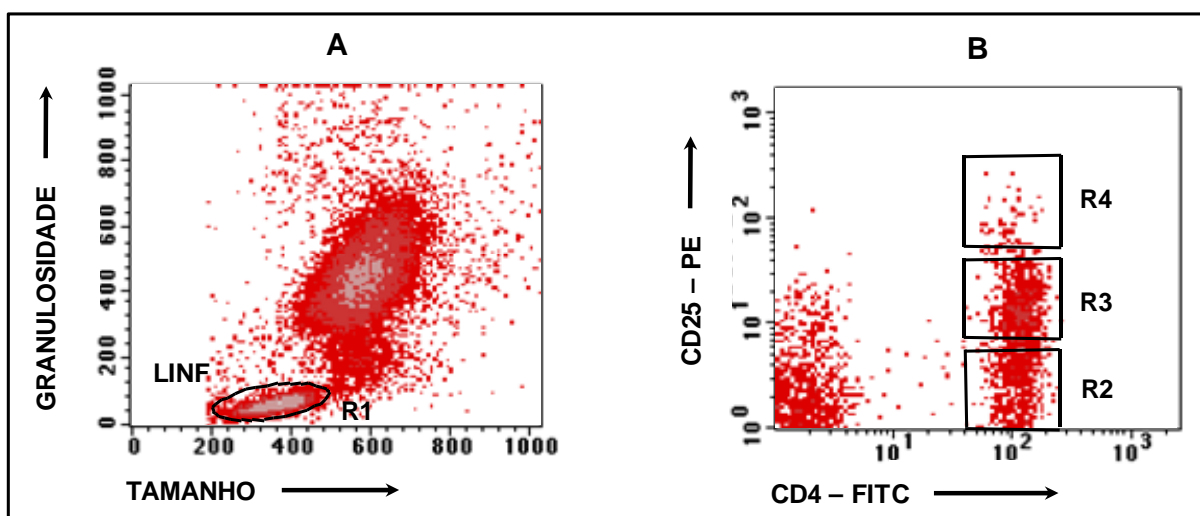
A identificação da população de linfócitos e a determinação do valor percentual de marcadores de superfície e receptores de quimiocinas foram realizadas através de um sistema de computador acoplado ao citômetro. A **Figura 7** representa, de forma esquemática, o método utilizado para a análise desses resultados. A primeira estratégia (**Figuras 7A**) consistiu na identificação da população de linfócitos. A população de linfócitos foi selecionada por uma janela - “gate” (R1), através da construção de gráficos de distribuição pontual de tamanho celular versus granulosidade celular. A **Figura 7B** ilustra, no quadrante duplo positivo (Q2), a detecção do marcador de superfície CD28 na população de linfócitos CD4<sup>+</sup>, em gráfico de fluorescência 1 (CD4 - FITC) versus fluorescência 2 (CD28 - PE).



**Figura 7:** Análise de linfócitos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni por citometria de fluxo. (A) representa o perfil celular da população de linfócitos (LINF), selecionada no “gate” R1 em gráfico de tamanho versus granulosidade. (B) representa o perfil de análise da população de linfócitos TCD4<sup>+</sup> positivos para o marcador de superfície CD28 no quadrante duplo positivo (Q2) em gráfico de fluorescência 1 (CD4 - FITC) versus fluorescência 2 (CD28 - PE).

#### 4.12 Aquisição e análise ex vivo de linfócitos T $CD4^+CD25^{HIGH}$ do sangue periférico por citometria de fluxo

A análise de linfócitos T  $CD4^+CD25^{HIGH}$  foi realizada segundo proposto por Baecher-Allan et al. (2001). De acordo com esses autores, linfócitos T expressando os marcadores  $CD4^+CD25^{HIGH}$  apresentam características reguladoras em humanos. A **Figura 8** representa, de forma esquemática, o método utilizado para a análise dos resultados. Primeiramente, selecionou-se a população de linfócitos por uma janela – “gate” (R1), através da construção de gráficos de distribuição pontual de tamanho celular versus granulosidade celular (**Figura 8A**). Em seguida, foram construídos gráficos de  $CD4$ -FITC versus  $CD25$ -PE, permitindo a identificação de três subpopulações:  $CD4^+CD25^-$  (R2),  $CD4^+CD25^{LOW}$  (R3) e  $CD4^+CD25^{HIGH}$  (R4). A fração celular selecionada em R4 representa o valor percentual de linfócitos T com provável papel regulador (Baecher-Allan et al. 2001) na população de linfócitos totais (**Figura 8B**).



**Figura 8:** Análise de células T  $CD4^+CD25^{HIGH}$  do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni por citometria de fluxo. (A) representa o perfil celular da população de linfócitos (LINF), selecionada no “gate” R1 em gráfico de tamanho versus granulosidade. (B) representa o perfil de análise da população de linfócitos T  $CD4^+$  positivos para o marcador de superfície  $CD25^{HIGH}$  no “gate” R4 em gráfico de fluorescência 1 ( $CD4$  - FITC) versus fluorescência 2 ( $CD25$  - PE).



#### **4.13 *Análise estatística dos dados***

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o software GraphPad Prism 5.00 (La Jolla, CA) para comparação entre os grupos. Para a análise comparativa entre dois grupos foi empregado o teste T de student para dados paramétricos e o teste de Mann Whitney para dados não paramétricos. Para a análise comparativa entre três grupos foi empregado o teste de Análises de Variâncias (ANOVA), seguido pelo pós-teste de Tukey, para dados paramétricos e o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunns para dados não paramétricos. As diferenças estatisticamente significativas foram consideradas quando o valor de p foi menor que 0,05. Toda a análise estatística realizada neste trabalho foi orientada e supervisionada pela bioestatística MSc. Ana Carolina Lustosa Lima do setor de Assessoria em Bioestatística do CPqRR.



### **Apresentação dos resultados**

Os dados gerados nesse estudo serão apresentados em forma de dois tópicos. No primeiro tópico (TÓPICO I) serão apresentados os resultados relacionados à abordagem epidemiológica e avaliação do impacto da infecção pelo *S. mansoni* nos parâmetros clínico-laboratoriais e ultrassonográficos de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel. E no segundo tópico (TÓPICO II) serão apresentados os resultados referentes à avaliação do impacto da infecção esquistossomótica na resposta imunológica de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel, através da análise de parâmetros fenotípicos de leucócitos circulantes.

**5.1 TÓPICO I:**

*“Abordagem epidemiológica e avaliação do impacto da infecção pelo S. mansoni nos parâmetros clínico-laboratoriais e ultrassonográficos de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose antes e após terapêutica específica com praziquantel”*

### **5.1.1 Identificação das espécies e o percentual de moluscos eliminando cercárias de *S. mansoni*, encontrados em uma casa de campo no município de Igarapé, Minas Gerais**

Com o intuito de avaliar as espécies e o percentual de moluscos eliminando cercárias de *S. mansoni* encontrados na casa de campo em Igarapé, os pesquisadores do LHMM do CPqRR Dr. Cristiano Lara Massara e Dr. Martin Johannes Enk realizaram uma pesquisa malacológica no local. Vinte e cinco moluscos foram coletados, sendo vinte e dois da espécie *Biomphalaria glabrata* (88,0%) e três do gênero *Lymnaea* (12,0%). A análise dos resultados mostrou que três moluscos da espécie *B. glabrata* (13,6%) estavam eliminando cercárias de *S. mansoni*, sendo que dois exemplares positivos foram coletados na vala de um córrego que abastece a piscina e um terceiro na vala que abastece a ducha.

### 5.1.2 Dados epidemiológicos e intensidade de infecção da população avaliada

Inicialmente, quarenta e dois indivíduos com média de idade  $\pm$  desvio padrão de  $22,4 \pm 15,2$  e mediana de 21,5 estiveram presentes na casa de campo, desses, trinta e oito (90,5%) concordaram em participar do estudo e relataram contato com as águas contaminadas por cercárias de *S. mansoni* (**Tabela 3**). Os trinta e oito participantes do estudo foram submetidos à anamnese e exame parasitológico pelo método de Kato-Katz (Katz et al. 1972). Dos trinta e oito pacientes avaliados (22 mulheres e 16 homens) com média de idade  $\pm$  desvio padrão de  $22,5 \pm 15,5$  anos e mediana de 20,5, trinta e quatro (89,5%) apresentaram exame parasitológico positivo para ovos de *S. mansoni* e quatro indivíduos (10,5%) apresentaram exame parasitológico negativo (**Tabela 3**). Entretanto, devido aos critérios de inclusão e exclusão adotados, dezoito pacientes (47,4%) foram excluídos do estudo. Dessa forma, dezesseis pacientes (42,1%) com média de idade  $\pm$  desvio padrão de  $19,8 \pm 9,2$  anos e mediana de 19,0 foram avaliados e caracterizados como portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, grupo AGD-AT (**Tabela 3**). A intensidade de infecção do grupo AGD-AT apresentou variação de 04-768/opg (média  $\pm$  DP:  $112,3 \pm 188,6$ /opg com mediana de 56,0). Após terapêutica com praziquantel (grupo AGD-PT), nenhum paciente apresentou ovos de *S. mansoni* nas fezes (**Tabela 3**). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ), entre mulheres e homens, do grupo AGD-AT em relação à idade ( $19,3 \pm 10,1$  e  $20,3 \pm 8,7$  anos, respectivamente,  $p = 0,8453$ ) e intensidade de infecção ( $143,6 \pm 245,2$  e  $72,0 \pm 73,3$ /opg, respectivamente,  $p = 0,7498$ ).

Durante a anamnese alguns dados complementares dos pacientes do grupo AGD-AT foram coletados, entre eles destacam-se:

#### 1 Nível de escolaridade:

- ✓ 12,5% dos pacientes completaram o segundo grau;
- ✓ 37,5% dos pacientes apresentavam segundo grau incompleto;
- ✓ 12,5% dos pacientes completaram o primeiro grau;
- ✓ 37,5% dos pacientes apresentavam primeiro grau incompleto.

**2 Naturalidade:**

- ✓ 62,5% dos pacientes nasceram em Belo Horizonte;
- ✓ 31,3% dos pacientes nasceram em Caeté;
- ✓ 6,2% dos pacientes nasceram em Contagem.

**3 Local de contato com águas contaminadas por cercárias:**

- ✓ 100% dos pacientes relataram que adquiriram a infecção pelo *S. mansoni* na casa de campo localizada na zona rural de Igarapé, Minas Gerais.

**4 Informação sobre a esquistossomose:**

- ✓ 71,4% dos pacientes relataram algum conhecimento sobre a doença.

**5 Local da informação sobre a esquistossomose:**

- ✓ 60% dos pacientes relataram que obtiveram informações sobre a esquistossomose na escola;
- ✓ O restante dos pacientes (40%) relatou que obtiveram informações sobre a doença em casa.

**6 Conhecimento sobre a transmissão da esquistossomose:**

- ✓ 100% dos pacientes associaram a transmissão da doença à água contaminada e/ou presença do caramujo.

**7 Conhecimento sobre o molusco transmissor:**

- ✓ Nenhum paciente soube descrever como o molusco transmite a esquistossomose.

**Tabela 3.** Dados demográficos e intensidade de infecção dos indivíduos que entraram em contato com águas contaminadas com cercárias de *S. mansoni* em uma casa de campo, município de Igarapé, Minas Gerais

PARÂMETROS	TOTAL DE INDIVÍDUOS	INDIVÍDUOS AVALIADOS	PACIENTES AGUDOS - AT*	PACIENTES AGUDOS - PT
<b>Nº de indivíduos</b>	42 (100%)	38 (90,5%)	16 (38,1%)	13 (31,0%)
<b>Idade (anos)</b>				
Variação	01 - 65	01 - 65	05 - 35	05 - 31
Média ± DP	22,4 ± 15,2	22,5 ± 15,5	19,8 ± 9,2	18,7 ± 7,8
Mediana	21,5	20,5	19,0	16,0
<b>Gênero</b>				
Feminino	25 (59,5%)	22 (57,9%)	09 (56,3%)	07 (53,8%)
Masculino	17 (40,5%)	16 (42,1%)	07 (43,7%)	06 (46,2%)
<b>Exame Parasitológico<sup>#</sup></b>				
Negativo	----	04 (10,5%)	00	13
Positivo	----	34 (89,5%)	16	00
<b>Contagem de ovos (opg)</b>				
Variação	----	0 - 768	04 - 768	----
Média ± DP	----	50,8 ± 132,2	112,3 ± 188,6	----
Mediana	----	00	56,0	----

\* Segundo os critérios de inclusão e exclusão estipulados para o estudo (ver item 4.3.1 e 4.3.2 em População, materiais e métodos).

# O exame parasitológico foi realizado antes do tratamento específico com praziquantel e um mês, seis meses e 12 meses após tratamento.



### ***5.1.3 Principais sinais e sintomas clínicos apresentados pelos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes da terapêutica específica com praziquantel***

Diversos autores já descreveram que a forma clínica aguda da esquistossomose pode desencadear uma série de sinais e sintomas clínicos nos pacientes infectados (Gazzinelli et al. 1985, Neves 1992, De Jesus et al. 2002, Wynn et al. 2004, Gryseels et al. 2006, Manzella et al. 2008). Nesse sentido, no presente estudo foi realizada uma anamnese detalhada (**Anexo 3**) no intuito de verificar as principais manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes do grupo AGD-AT. Durante a anamnese, os pacientes relataram que os sinais e sintomas clínicos relacionados à fase aguda da esquistossomose surgiram, aproximadamente, quatro semanas pós-contato com águas contaminadas por cercárias e aqueles mais comumente mencionados foram: dor de cabeça (62,5%), febre e cólica abdominal (ambos com 56,3% de frequência), diarreia, tosse, emagrecimento e astenia (todos com 43,8% de frequência) (**Tabela 4**). Outros sinais e sintomas clínicos, tais como náusea/vômitos, edema facial (ambos com 37,5% de frequência), urticária (18,8%) e dermatite cercariana (6,3%) foram relatados pelos pacientes, porém com menor frequência (**Tabela 4**). Além disso, é importante mencionar que devido ao quadro clínico mais grave, três pacientes foram hospitalizados. Em um deles houve comprometimento da vesícula biliar, sendo necessária a remoção desse órgão. Após quimioterapia específica com praziquantel, os pacientes avaliados no presente estudo relataram que os sinais e sintomas clínicos foram desaparecendo gradativamente, ao passo que um ano após o tratamento nenhum sinal e sintoma clínico foram mencionados.

**Tabela 4.** Sinais e sintomas clínicos mais frequentemente apresentados pelos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes da terapêutica específica com praziquantel

SINAIS/SINTOMAS CLÍNICOS	PACIENTES AGUDOS ANTES DO TRATAMENTO* (n = 16)
<b>Dor de cabeça</b>	10 (62,5%)
<b>Febre</b>	09 (56,3%)
<b>Cólica abdominal</b>	09 (56,3%)
<b>Diarreia</b>	07 (43,8%)
<b>Tosse</b>	07 (43,8%)
<b>Emagrecimento</b>	07 (43,8%)
<b>Astenia</b>	07 (43,8%)
<b>Náusea e vômitos</b>	06 (37,5%)
<b>Edema facial</b>	06 (37,5%)
<b>Urticária</b>	03 (18,8%)
<b>Dermatite cercariana</b>	01 (6,3%)

\* Após a terapêutica com praziquantel, não foram relatados sinais e sintomas clínicos associados à infecção pelo *S. mansoni*.

#### ***5.1.4 Avaliação da função hepática de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel***

Com o objetivo de investigar se a infecção pelo *S. mansoni* provoca alguma alteração da função hepática em pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose realizou-se a dosagem das seguintes enzimas: ALT (alanina aminotransferase), AST (aspartato aminotransferase) e  $\gamma$ -GT (gama-glutamil transferase) (**Tabela 5**).

A análise dos dados mostrou que não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nas concentrações plasmáticas de todas as enzimas avaliadas quando foram comparados os grupos AGD-AT e AGD-PT (**Tabela 5**). Além disso, observou-se que as concentrações plasmáticas das enzimas avaliadas encontravam-se dentro dos valores de referência fornecidos pela literatura. Baseado nesse resultado, pode-se inferir, portanto, que a infecção aguda pelo *S. mansoni* não altera as enzimas avaliadoras da função hepática.

**Tabela 5.** Avaliação da função hepática de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel

ENZIMAS HEPÁTICAS	PACIENTES AGD - AT (n = 08)	PACIENTES AGD - PT (n = 10)
<b>ALT (alanina aminotransferase)</b>		
Média ± DP	8,6 ± 5,5	10,9 ± 9,0
Mediana* (VR: 03-50 UI/mL)	7,0 (4,5-14,5)	10,0 (2,0-19,0)
<b>AST (aspartato aminotransferase)</b>		
Média ± DP	23,0 ± 6,7	26,9 ± 8,3
Mediana* (VR: 12-46 UI/mL)	23,0 (16,8-26,5)	27,0 (20,0-32,3)
<b>γ-GT (gama-glutamyl transferase)</b>		
Média ± DP	33,9 ± 16,6	31,9 ± 26,4
Mediana* (VR: 9-61 UI/mL)	31,5 (21,0-36,8)	23,0 (17,3-34,0)

Os valores estão representados pela média ± desvio padrão (UI/L); VR = valores de referência.

\* representa a mediana e a variação dos valores (25%--75%)

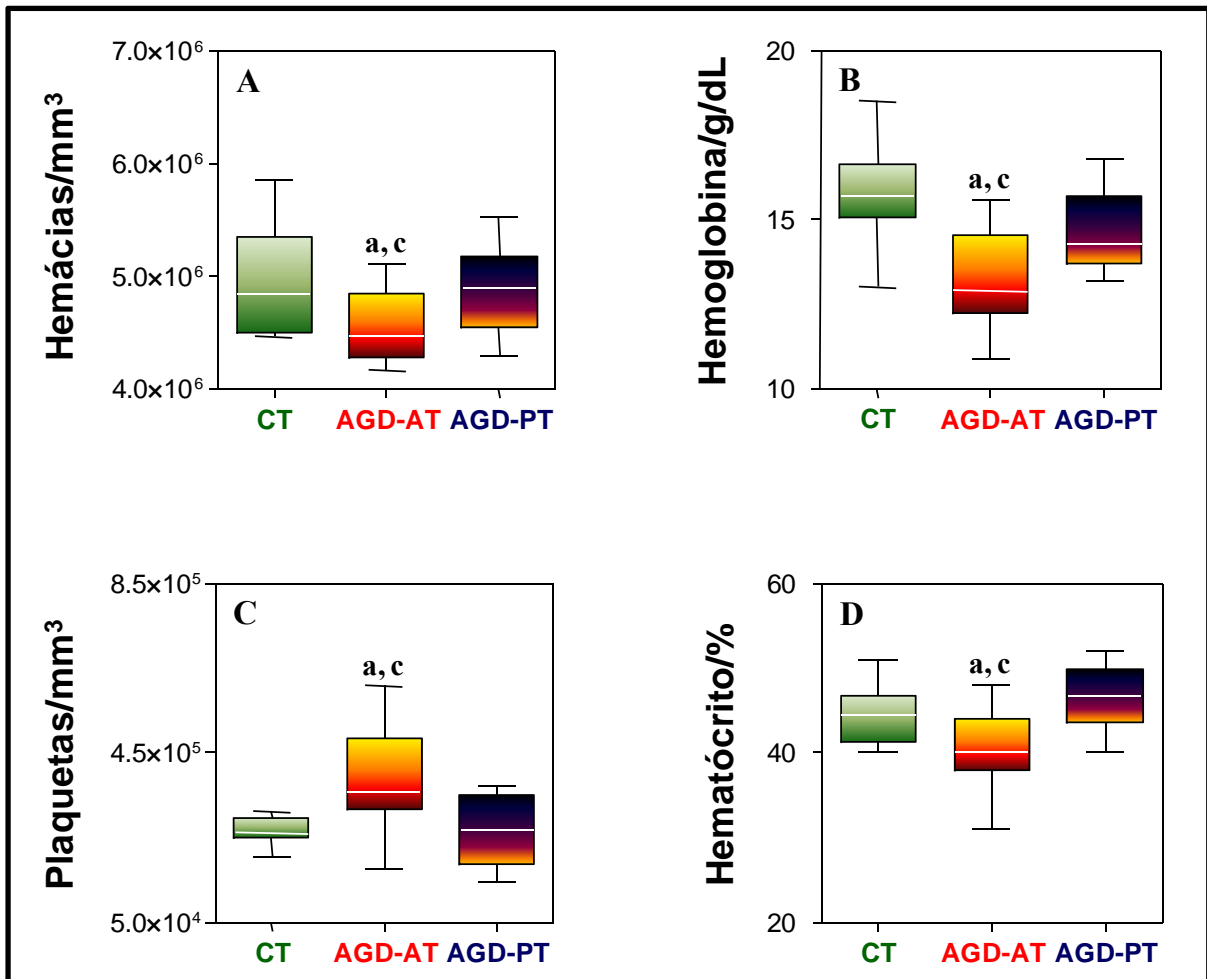
### ***5.1.5 Avaliação do perfil hematológico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel***

O hemograma foi realizado em amostras de sangue periférico de indivíduos saudáveis (grupo CT) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (grupo AGD-AT) e após (grupo AGD-PT) terapêutica específica com praziquantel. É importante salientar que as diferenças estatisticamente significativas entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a**, **b** e **c**, respectivamente (**Figuras 9 e 10**).

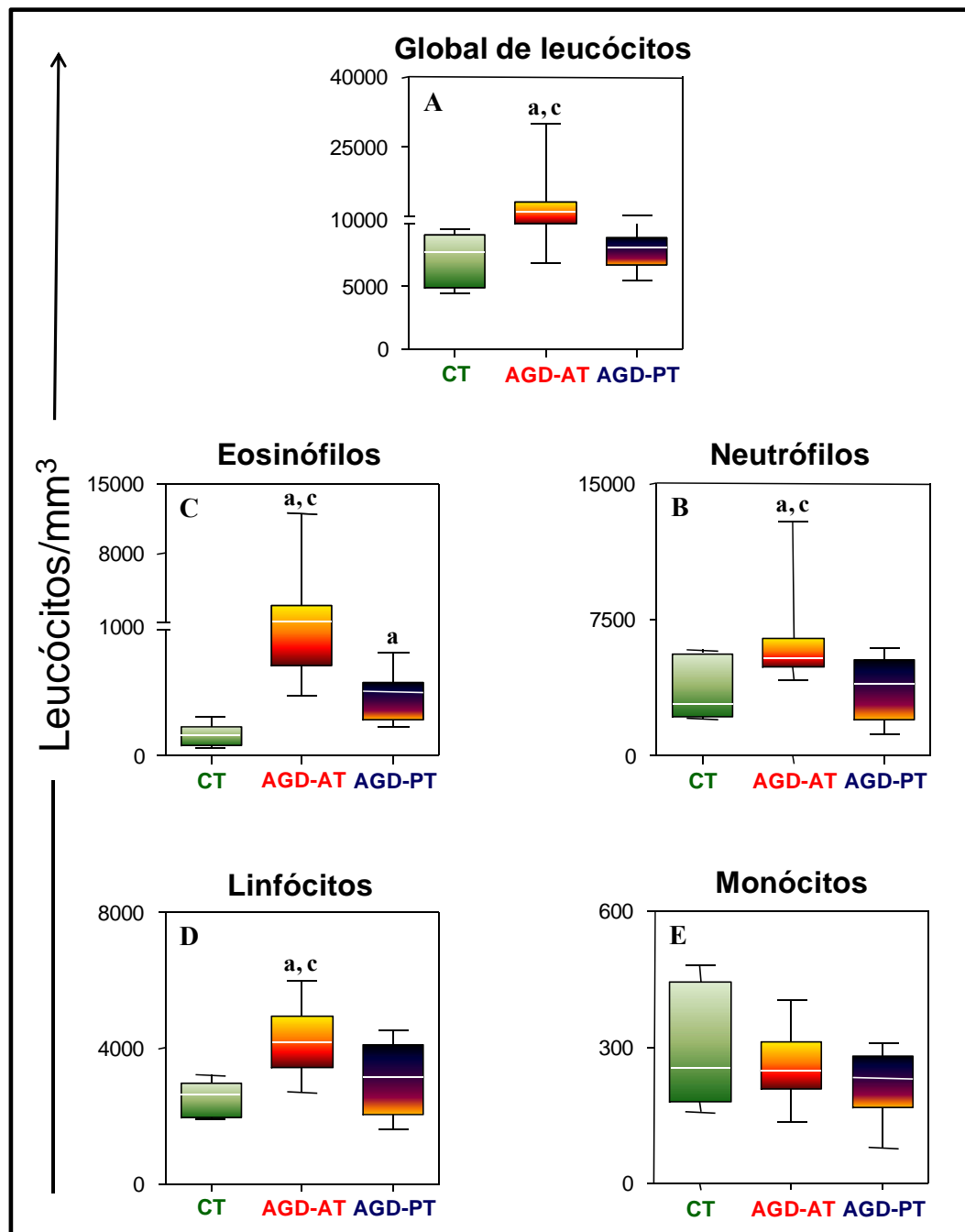
A análise da série vermelha do hemograma mostrou diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de hemácias (**Figura 9A**) do grupo AGD-AT ( $4,5 \times 10^6 \pm 3,1 \times 10^5$ ) em relação ao grupo CT ( $4,9 \times 10^6 \pm 5,0 \times 10^5/\text{mm}^3$ ). No grupo AGD-PT foi observado aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de hemácias ( $4,9 \times 10^6 \pm 3,8 \times 10^5/\text{mm}^3$  – **Figura 9A**) em relação ao grupo AGD-AT. Observou-se também diminuição estatisticamente significativa da concentração de hemoglobina (**Figura 9B**) do grupo AGD-AT ( $13,2 \pm 1,4/\text{g/dL}$ ) em relação ao grupo CT ( $15,8 \pm 1,5/\text{g/dL}$ ). No grupo AGD-PT foi observado aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) da concentração de hemoglobina ( $14,8 \pm 1,2/\text{g/dL}$  – **Figura 9B**) em relação ao grupo AGD-AT. A análise do número de plaquetas (**Figura 9C**) mostrou aumento estatisticamente significativo do grupo AGD-AT ( $3,9 \times 10^5 \pm 1,1 \times 10^5/\text{mm}^3$ ) em relação ao grupo CT ( $2,7 \times 10^5 \pm 3,3 \times 10^4/\text{mm}^3$ ). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de plaquetas ( $2,7 \times 10^5 \pm 8,4 \times 10^4/\text{mm}^3$ ). Além disso, verificou-se diminuição estatisticamente significativa do percentual do hematócrito (**Figura 9D**) do grupo AGD-AT ( $40,2 \pm 4,4/\%$ ) em relação ao grupo CT ( $45,0 \pm 3,6/\%$ ). No grupo AGD-PT foi observado aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do percentual do hematócrito ( $46,7 \pm 3,9/\%$  – **Figura 9D**) em relação ao grupo AGD-AT. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupo AGD-PT e CT.

A análise da série branca do hemograma mostrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) da global de leucócitos (**Figura 10A**) do grupo AGD-AT ( $12325 \pm 5301/\text{mm}^3$ ) em relação ao grupo CT ( $7156 \pm 2051/\text{mm}^3$ ). Esse resultado foi representado pelo aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número absoluto de neutrófilos ( $6000 \pm 2228/\text{mm}^3$  – **Figura 10B**), eosinófilos ( $2436 \pm 3048/\text{mm}^3$  – **Figura 10C**) e linfócitos ( $4219 \pm 971/\text{mm}^3$  – **Figura 10D**) do grupo AGD-AT em relação ao grupo CT (neutrófilos:  $3656 \pm 1639/\text{mm}^3$ ; eosinófilos:  $160 \pm 84/\text{mm}^3$ ; linfócitos:  $2534 \pm 488/\text{mm}^3$ , **Figuras 10B, 10C e 10D**,

respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) da global de leucócitos ( $7854 \pm 1375/\text{mm}^3$  – **Figura 10A**) em relação ao grupo AGD-AT. Esse resultado foi representado por uma diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número absoluto de neutrófilos ( $3791 \pm 1652/\text{mm}^3$  – **Figura 10B**), eosinófilos ( $476 \pm 192/\text{mm}^3$  – **Figura 10C**) e linfócitos ( $3082 \pm 1015/\text{mm}^3$  – **Figura 10D**) do grupo AGD-PT em relação ao grupo AGD-AT. No entanto, o número absoluto de eosinófilos ( $476 \pm 192/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente maior em relação ao grupo CT ( $160 \pm 84/\text{mm}^3$ ). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos na população de monócitos (**Figura 10E**).



**Figura 9:** Análise do perfil hematológico, série vermelha, de indivíduos saudáveis (CT ■ = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT ■ = 16) e após (AGD-PT ■ = 13) terapêutica específica com praziquantel. (A) representa o número de hemácias x 10<sup>6</sup> por mm<sup>3</sup>, (B) a concentração de hemoglobina em g/dL, (C) o número de plaquetas por mm<sup>3</sup> e (D) o percentual do hematócrito. Os resultados estão expressos em formato de gráficos de boxes que destacam os valores mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo das populações avaliadas. As diferenças estatisticamente significativas (p < 0.05) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a** e **c**, respectivamente.



**Figura 10:** Análise do perfil hematológico, série branca, de indivíduos saudáveis (CT ■ = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT ■ = 16) e após (AGD-PT ■ = 13) terapêutica específica com praziquantel. (A) representa a global de leucócitos, (B) a subpopulação de neutrófilos (C) a subpopulação de eosinófilos (D) a subpopulação de linfócitos e (E) a subpopulação de monócitos e Os resultados estão expressos como valor absoluto de leucócitos/mm<sup>3</sup> em formato de gráficos de boxes que destacam os valores mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo das populações avaliadas. As diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a** e **c**, respectivamente.



### ***5.1.6 Caracterização ultrassonográfica de indivíduos não infectados e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose antes e após terapêutica específica com praziquantel***

Com o intuito de investigar as alterações morfológicas (fígado, baço, pâncreas, vesícula biliar e linfonodos periportais) que possam ter ocorrido durante o desenvolvimento da forma clínica aguda da esquistossomose, e a influência do tratamento com praziquantel nessas alterações, foi realizado uma avaliação ultrassonográfica de indivíduos saudáveis, não infectados pelo *S. mansoni* (grupo CT) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (grupo AGD-AT) e após a terapêutica específica com praziquantel (grupo AGD-PT) (**Tabela 6**).

A análise da avaliação ultrassonográfica demonstrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0.05$ ) das medidas ântero-posterior do lobo esquerdo do fígado (LEAP) e da medida longitudinal do lobo direito do fígado (LDLON) dos grupos AGD-AT (LEAP:  $52,9 \pm 10,2$ /mm; LDLON:  $150,2 \pm 16,9$ /mm) e AGD-PT (LEAP:  $56,3 \pm 10,1$ /mm; LDLON:  $140,3 \pm 11,7$ /mm) em relação ao grupo NI (LEAP:  $42,7 \pm 4,4$ /mm; LDLON:  $99,0 \pm 12,3$ /mm) (**Tabela 6**). Além disso, foi observado espessamento periportal (parede portal hilar) estatisticamente significativo ( $p < 0.05$ ) do grupo AGD-AT ( $3,3 \pm 1,0$ /mm) em relação ao grupo NI ( $1,5 \pm 0,3$ /mm) (**Tabela 6**). Foi observado também aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) da medida longitudinal do baço (BLON) do grupo AGD-AT ( $108,1 \pm 16,7$ /mm) em relação ao grupo NI ( $88,1 \pm 7,1$ /mm) (**Tabela 6**). E por fim, observou-se aumento estatisticamente significativo ( $p < 0.05$ ) das medidas de linfonodos periportais do grupo AGD-AT ( $1,8 \pm 1,0$ /mm) em relação aos grupos NI e AGD-PT (**Tabela 6**). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para as demais medidas avaliadas. Também não foram observadas alterações na vesícula biliar e pâncreas.

**Tabela 6.** Medidas das variáveis ultrassonográficas de indivíduos não infectados e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose antes e após terapêutica específica com praziquantel

MEDIDAS	INDIVÍDUOS NÃO INFECTADOS (n = 12)	PACIENTES AGUDOS - AT (n = 08)	PACIENTES AGUDOS - PT (n = 07)
<b>Fígado LELON</b>			
Média ± DP	101,2 ± 10,4	114,1 ± 20,5	108,4 ± 10,4
Mediana <sup>#</sup>	102,9 (95,9-110,8)	115,4 (93,1-127,8)	113 (95,0-115,0)
<b>Fígado LEAP</b>			
Média ± DP	42,7 ± 4,4	52,9 ± 10,2*	56,3 ± 10,1*
Mediana <sup>#</sup>	42,2 (38,7-47,7)	50,5 (43,2-60,3)	51,0 (49,0-68,0)
<b>Fígado LDLON</b>			
Média ± DP	99,0 ± 12,3	150,2 ± 16,9*	140,3 ± 11,7*
Mediana <sup>#</sup>	100,4 (87,9-110,5)	150,0 (142,5-157,9)	142,0 (127,0-150,0)
<b>Fígado LDAP</b>			
Média ± DP	66,5 ± 9,9	65,6 ± 10,8	70,0 ± 9,1
Mediana <sup>#</sup>	65,6 (60,7-72,6)	70,4 (53,1-70,8)	74,0 (61,0-79,0)
<b>Calibre VP</b>			
Média ± DP	9,7 ± 0,9	9,8 ± 1,8	10,0 ± 1,7
Mediana <sup>#</sup>	9,5 (9,1-10,1)	9,6 (8,2-11,5)	10,2 (8,8-11,9)
<b>Espessura VP</b>			
Média ± DP	1,5 ± 0,3	3,3 ± 1,0*	3,1 ± 1,9*
Mediana <sup>#</sup>	1,5 (1,3-1,7)	3,0 (2,3-4,0)	3,0 (1,0-4,0)
<b>Calibre VE</b>			
Média ± DP	1,3 ± 0,4	1,5 ± 0,5	1,0 ± 0,4
Mediana <sup>#</sup>	6,6 (5,3-7,6)	6,8 (5,3-7,8)	6,4 (6,1-7,5)
<b>Veia mesentérica</b>			
Média ± DP	6,5 ± 0,9	7,0 ± 1,3	7,3 ± 1,0
Mediana <sup>#</sup>	6,7 (5,6-7,0)	6,7 (5,8-8,3)	7,0 (6,4-8,6)
<b>Baço LON</b>			
Média ± DP	88,1 ± 7,1	108,1 ± 16,7*	100,1 ± 9,7
Mediana <sup>#</sup>	90,2 (82,3-95,0)	105,6 (93,1-117,7)	97,0 (95,0-104,0)
<b>Baço AP</b>			
Média ± DP	33,7 ± 4,0	43,1 ± 10,4	42,1 ± 10,5
Mediana <sup>#</sup>	33,7 (31,3-37,9)	40,6 (33,3-50,8)	41,0 (39,0-50,0)
<b>Linfonodo PP</b>			
Média ± DP	N.V.	1,8 ± 1,0**	N.V.
Mediana <sup>#</sup>		2,1 (1,0-2,5)	

Os valores estão representados pela média ± desvio padrão (mm).

\* diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) em relação aos indivíduos não infectados.

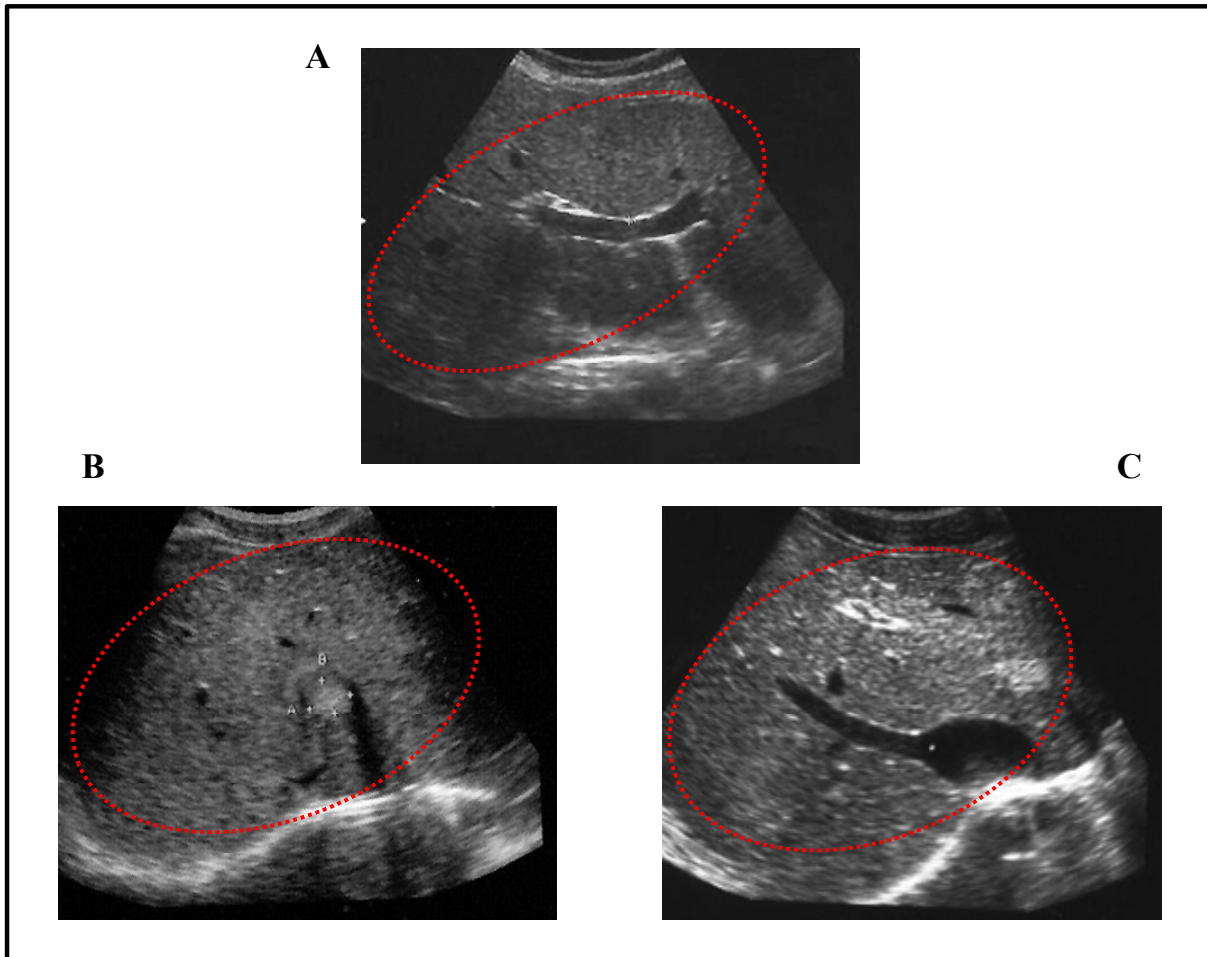
\*\* diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) em relação aos indivíduos não infectados e pacientes agudos após terapêutica específica com praziquantel.

<sup>#</sup> representa a mediana e a variação dos valores (25%-75%).

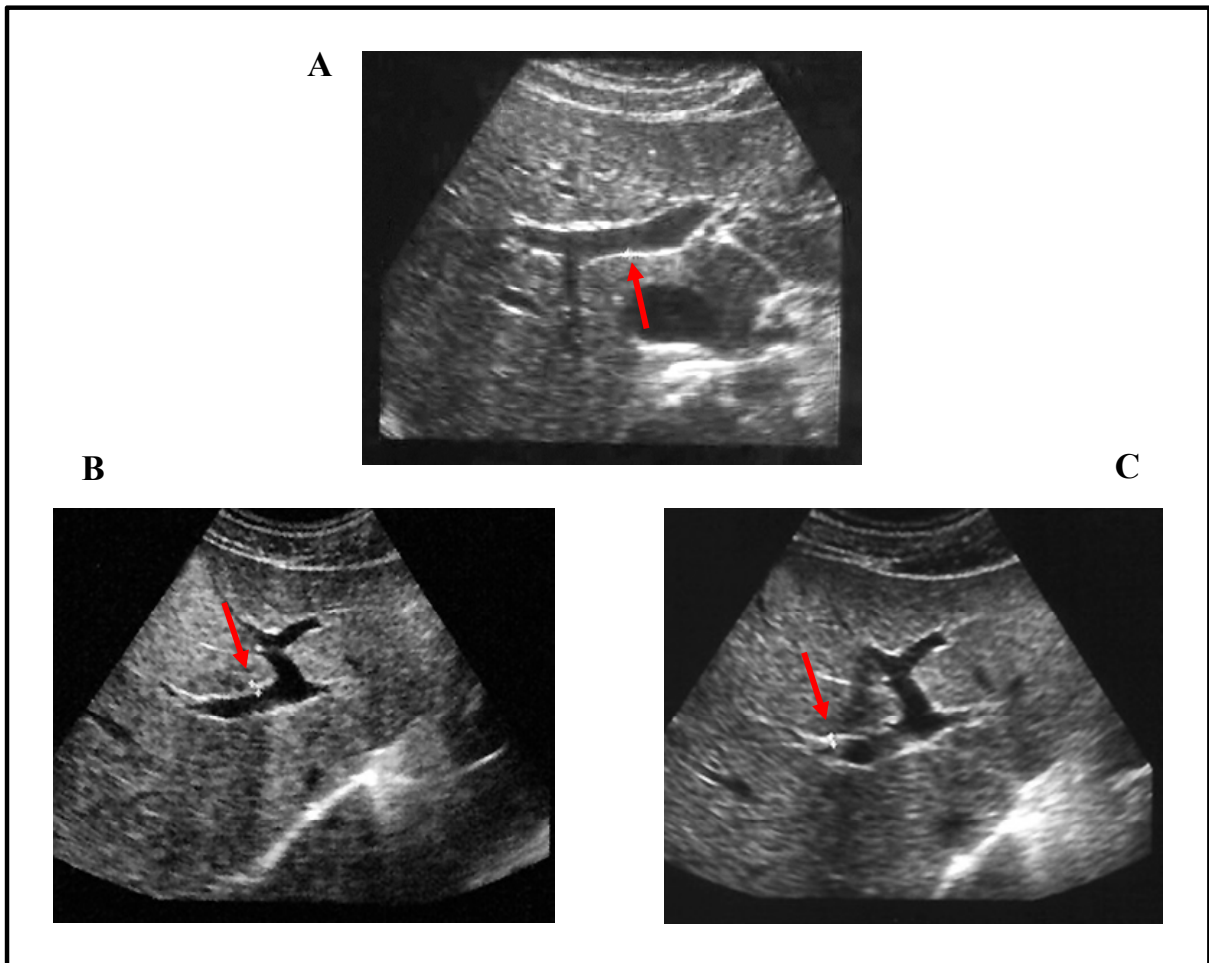
N.V. – não visualizados (em indivíduos saudáveis, os linfonodos periportais normalmente não são visualizados pela ultrassonografia).

LELON: medida longitudinal do lobo esquerdo; LEAP: medida ântero-posterior do lobo esquerdo; LDLON: medida longitudinal do lobo direito; LDAP: medida ântero-posterior do lobo direito; VE: veia esplênica; VP: veia porta; LON: longitudinal; AP: ântero-posterior; PP: periportal.

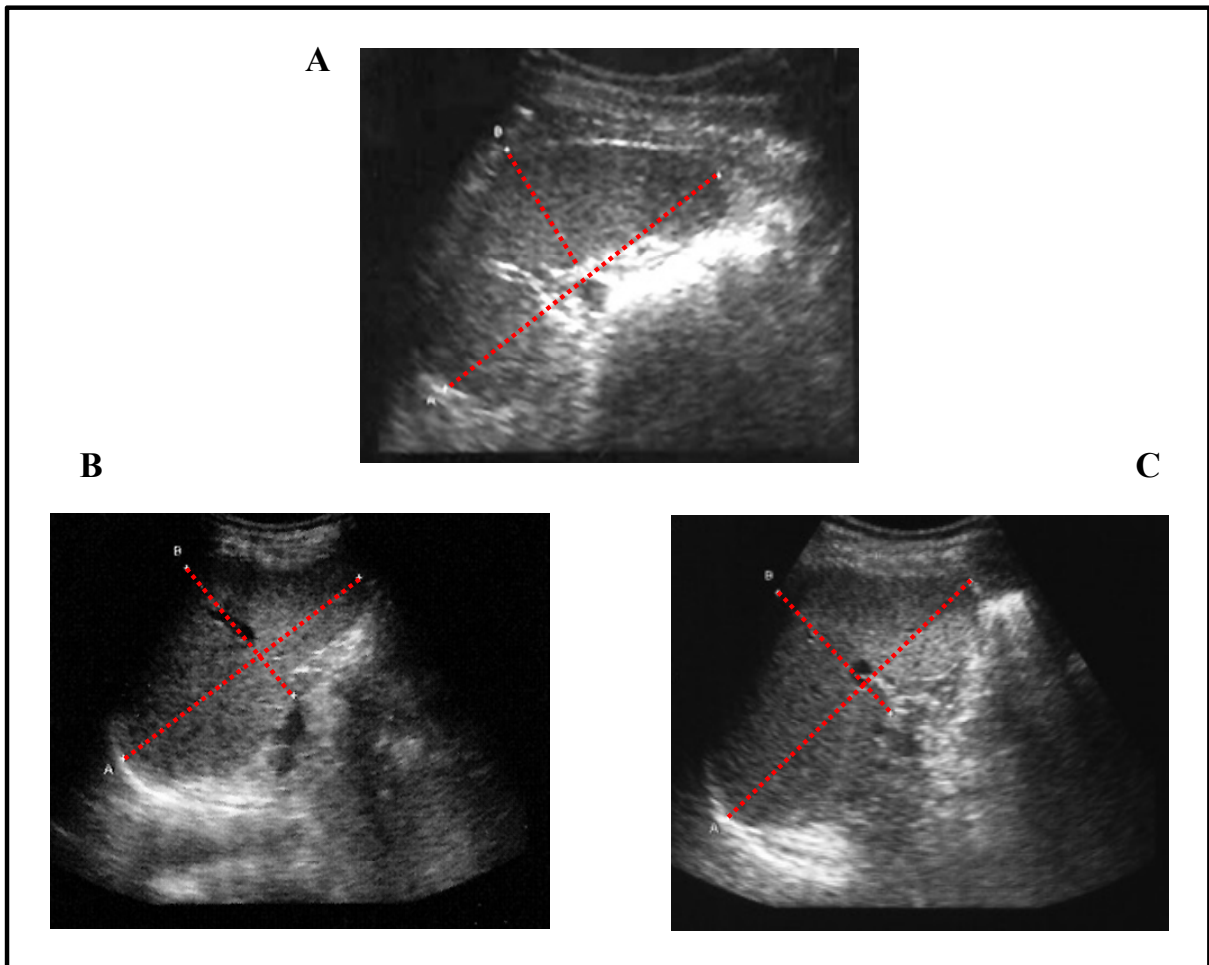
Algumas figuras representativas das principais alterações ultrassonográficas encontradas são apresentadas a seguir:



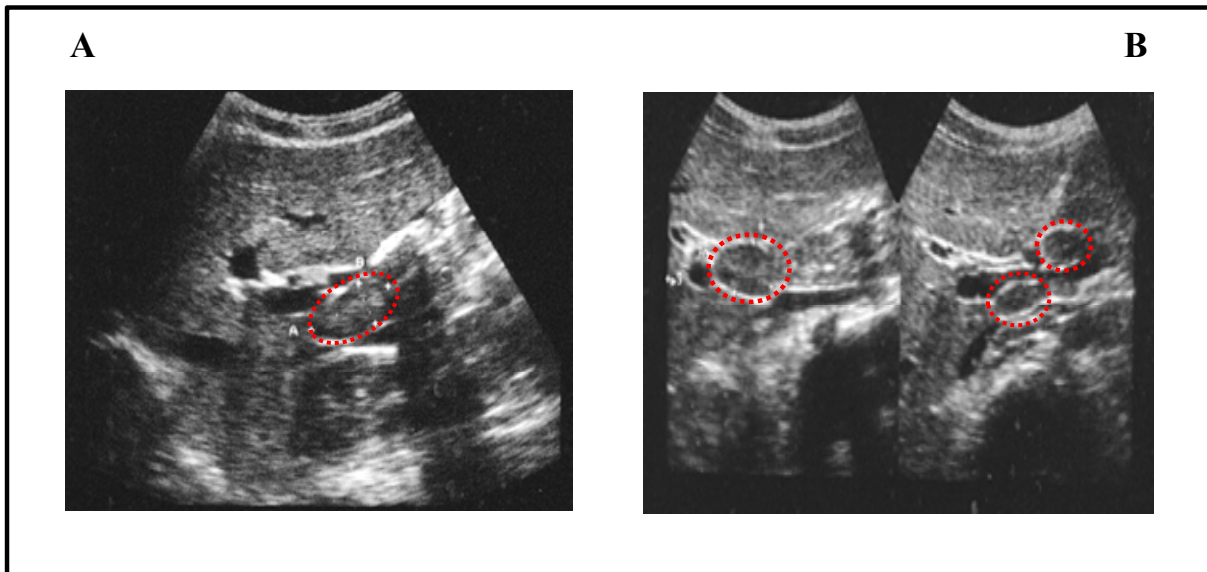
**Figura 11: Imagens ultrassonográficas do fígado de um indivíduo saudável e de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose. (A)** Imagem do fígado de um indivíduo saudável, não infectado, apresentando medidas dentro dos valores normais (LELON x LEAP: 80 x 48 mm, VN: 100 x 70 mm; LDLON x LDAP: 129 x 82 mm, VN: 150 x 100 mm), como indicado pelo círculo pontilhado. **(B)** Imagem do fígado de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose, antes da terapêutica específica com praziquantel, apresentando hepatomegalia moderada (LELON x LEAP: 151 x 56 mm, VN: 100 x 70 mm; LDLON x LDAP: 182 x 73 mm, VN: 150 x 100 mm), como indicado pelo círculo pontilhado. **(C)** Imagem do fígado de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose, após terapêutica específica com praziquantel, apresentando medidas levemente alteradas (LELON x LEAP: 115 x 51 mm; VN: 100 x 70 mm; LDLON x LDAP: 153 x 58 mm; VN: 150 x 100 mm), como indicado pelo círculo pontilhado. As imagens foram obtidas por meio do aparelho Nemio SSA/550<sup>a</sup> (Toshiba).



**Figura 12: Imagens ultrassonográficas da parede da veia porta de um indivíduo saudável e de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose. (A)** Imagem da parede da veia porta (parede portal hilar) de um indivíduo saudável, não infectado, apresentando medidas dentro dos valores normais (espessamento periportal: 1,1 mm, VN: <3,0 mm), como indicado pela seta. **(B)** Imagem da parede da veia porta (parede portal hilar) de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose, antes da terapêutica específica com praziquantel, apresentando moderado aumento da ecogenicidade periportal (espessamento periportal: 5,0 mm, VN: <3,0 mm), como indicado pela seta. **(C)** Imagem da parede da veia porta (parede portal hilar) de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose, após terapêutica específica com praziquantel, apresentando leve aumento da ecogenicidade periportal (espessamento periportal: 4,0 mm, VN: <3,0 mm), como indicado pela seta. As imagens foram obtidas por meio do aparelho Nemio SSA/550<sup>a</sup> (Toshiba).



**Figura 13: Imagens ultrassonográficas do baço de um indivíduo saudável e de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose. (A)** Imagem do baço de um indivíduo saudável, não infectado, apresentando medidas dentro dos valores normais (BLON x BAP: 96 x 38 mm, VN: 120 x 70 mm), como indicado pela linha pontilhada. **(B)** Imagem do baço de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose, antes da terapêutica específica com praziquantel, apresentando dimensões no limite superior da normalidade (BLON x BAP: 120 x 67 mm, VN: 120 x 70 mm) como indicado pela linha pontilhada. **(C)** Imagem do baço de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose, após terapêutica específica com praziquantel, apresentando medidas dentro dos valores normais (BLON x BAP: 118 x 58 mm, VN: 120 x 70 mm), como indicado pela linha pontilhada. As imagens foram obtidas por meio do aparelho Nemio SSA/550<sup>a</sup> (Toshiba).



**Figura 14: Imagens ultrassonográficas de linfonodos periportais de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose. (A, B)** Imagens de linfonodos periportais de um paciente portador da forma clínica aguda da esquistossomose. Observa-se ao longo do trajeto da veia porta, múltiplas imagens ovaladas, hipoeecóicas, com a região central ecogênica e contornos regulares, como indicado pelos círculos pontilhados. O maior linfonodo periportal mede aproximadamente 25 x 17 mm (VN:  $\leq 10 \times 10$  mm). Em indivíduos saudáveis, não infectados, e nos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, após terapêutica específica com praziquantel, os linfonodos apresentaram medidas dentro dos valores normais, sendo assim, não foram visualizados utilizando-se o método ultrassonográfico. As imagens foram obtidas por meio do aparelho Nemio SSA/550<sup>a</sup> (Toshiba).

**5.2 TÓPICO II:**

***“Avaliação de parâmetros fenotípicos de leucócitos circulantes na infecção aguda pelo Schistosoma mansoni, antes e após terapêutica específica com praziquantel”***

### 5.2.1 Análise ex vivo do número de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular por eosinófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel

Com o objetivo de se avaliar o panorama imunofenotípico dos eosinófilos do sangue periférico dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni, realizou-se uma análise *ex vivo* do perfil de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular, analisando-se o valor absoluto de eosinófilos/mm<sup>3</sup> expressando os diferentes marcadores avaliados e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto. (**Figura 15**). É importante salientar que as diferenças estatisticamente significativas entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a**, **b** e **c**, respectivamente.

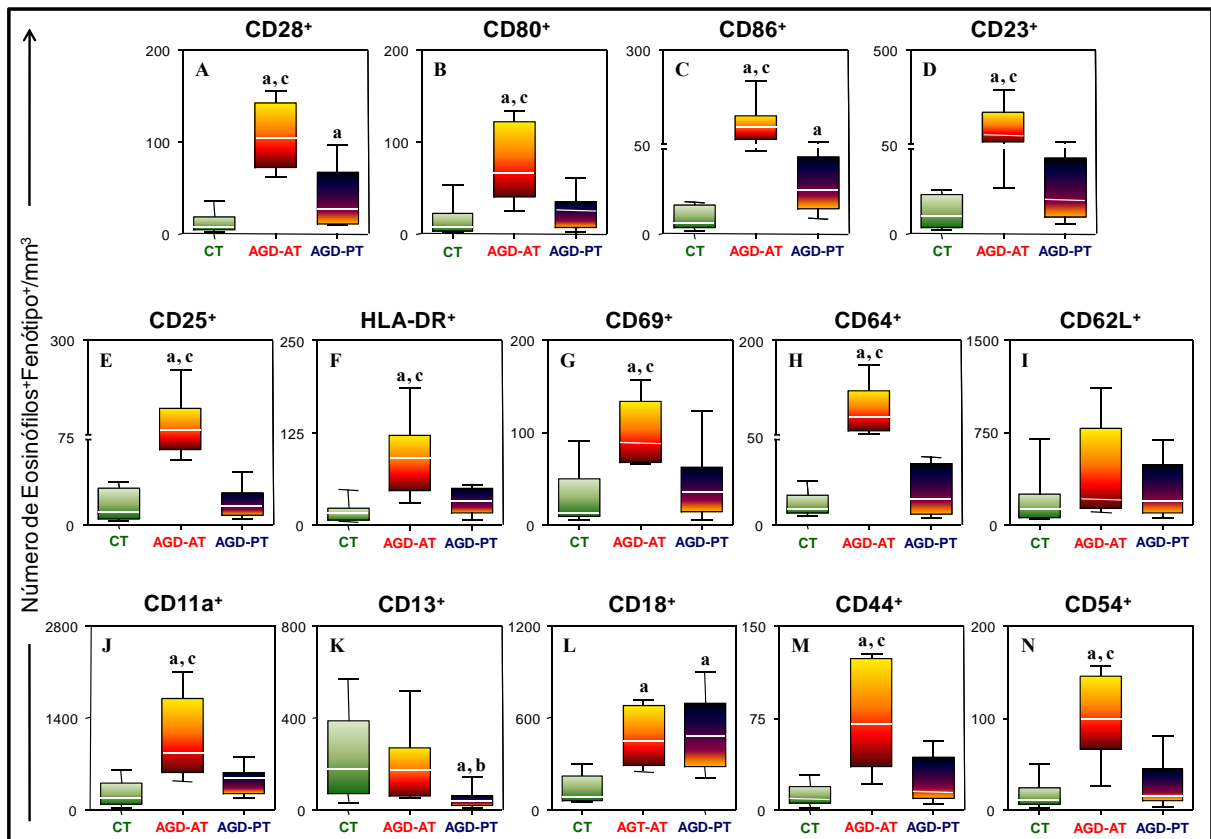
A análise do perfil de moléculas co-estimuladoras (CD28, CD80 e CD86) mostrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de eosinófilos CD28<sup>+</sup> ( $106 \pm 35/\text{mm}^3$  – **Figura 15A**), CD80<sup>+</sup> ( $76 \pm 41/\text{mm}^3$  – **Figura 15B**) e CD86<sup>+</sup> ( $105 \pm 55/\text{mm}^3$  – **Figura 15C**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT (CD28<sup>+</sup>:  $12 \pm 11/\text{mm}^3$ ; CD80<sup>+</sup>:  $14 \pm 17/\text{mm}^3$ ; CD86<sup>+</sup>:  $10 \pm 7/\text{mm}^3$ , **Figuras 15A, 15B e 15C**, respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) de todas as moléculas avaliadas (CD28<sup>+</sup>:  $41 \pm 30/\text{mm}^3$ ; CD80<sup>+</sup>:  $24 \pm 19/\text{mm}^3$ ; CD86<sup>+</sup>:  $28 \pm 16/\text{mm}^3$ , **Figuras 15A, 15B e 15C**, respectivamente) em relação ao grupo AGD-AT. No entanto, o número de eosinófilos CD28<sup>+</sup> ( $41 \pm 30/\text{mm}^3$ ) e CD86<sup>+</sup> ( $28 \pm 16/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente maior em relação ao grupo CT ( $12 \pm 11/\text{mm}^3$ ;  $10 \pm 7/\text{mm}^3$ , respectivamente).

A avaliação do perfil de moléculas de ativação (CD23, CD25, HLA-DR e CD69) demonstrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de eosinófilos CD23<sup>+</sup> ( $129 \pm 95/\text{mm}^3$  – **Figura 15D**), CD25<sup>+</sup> ( $110 \pm 60/\text{mm}^3$  – **Figura 15E**), HLA-DR<sup>+</sup> ( $92 \pm 52/\text{mm}^3$  – **Figura 15F**) e CD69<sup>+</sup> ( $97 \pm 36/\text{mm}^3$  – **Figura 15G**) do grupo AGD-AT em relação ao grupo CT (CD23<sup>+</sup>:  $13 \pm 10/\text{mm}^3$ ; CD25<sup>+</sup>:  $17 \pm 14/\text{mm}^3$ ; HLA-DR<sup>+</sup>:  $18 \pm 13/\text{mm}^3$ ; CD69<sup>+</sup>:  $26 \pm 29/\text{mm}^3$ , **Figuras 15D, 15E e 15G**, respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) de todas as moléculas avaliadas (CD23<sup>+</sup>:  $28 \pm 20/\text{mm}^3$ ; CD25<sup>+</sup>:  $20 \pm 14/\text{mm}^3$ ; HLA-DR<sup>+</sup>:  $32 \pm 18/\text{mm}^3$ ; CD69<sup>+</sup>:  $43 \pm 36/\text{mm}^3$ , **Figuras 15D, 15E, 15F e 15G**, respectivamente) em relação ao grupo AGD-AT. Após quimioterapia específica com praziquantel não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos AGD-PT e CT.



A análise do receptor de IgG (CD64) demonstrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de eosinófilos CD64<sup>+</sup> (**Figura 15H**) do grupo AGD-AT ( $90 \pm 39/\text{mm}^3$ ) em relação ao grupo CT ( $12 \pm 8/\text{mm}^3$ ). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de eosinófilos CD64<sup>+</sup> ( $20 \pm 15/\text{mm}^3$  – **Figura 15H**) em relação ao grupo AGD-AT. Após quimioterapia específica com praziquantel não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos AGD-PT e CT.

Dentre as moléculas de adesão celular avaliadas (CD62L, CD11a, CD13, CD18, CD44 e CD54) observou-se aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de eosinófilos CD11a<sup>+</sup> ( $1081 \pm 646/\text{mm}^3$  – **Figura 15J**), CD18 ( $477 \pm 183/\text{mm}^3$  – **Figura 15L**), CD44<sup>+</sup> ( $75 \pm 44/\text{mm}^3$  – **Figura 15M**) e CD54<sup>+</sup> ( $100 \pm 46/\text{mm}^3$  - **Figura 15N**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT (CD11a<sup>+</sup>:  $238 \pm 204/\text{mm}^3$ ; CD18<sup>+</sup>:  $138 \pm 94/\text{mm}^3$ ; CD44<sup>+</sup>:  $12 \pm 10/\text{mm}^3$ ; CD54<sup>+</sup>:  $17 \pm 15/\text{mm}^3$ , **Figuras 15J, 15L, 15M e 15N**, respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de eosinófilos CD11a<sup>+</sup> ( $441 \pm 216/\text{mm}^3$  – **Figura 15J**), CD13<sup>+</sup> ( $42 \pm 39/\text{mm}^3$  – **Figura 15K**), CD44<sup>+</sup> ( $25 \pm 19/\text{mm}^3$  – **Figura 15M**) e CD54<sup>+</sup> ( $26 \pm 25/\text{mm}^3$  - **Figura 15N**) em relação ao grupo AGD-AT. Além disso, o número de eosinófilos CD18<sup>+</sup> do grupo AGD-PT ( $492 \pm 242/\text{mm}^3$ ) foi estatisticamente maior em relação ao grupo CT ( $138 \pm 94/\text{mm}^3$ ). Por outro lado, o número de eosinófilos CD13<sup>+</sup> ( $42 \pm 39/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente menor em relação ao grupo CT ( $228 \pm 191/\text{mm}^3$ ).

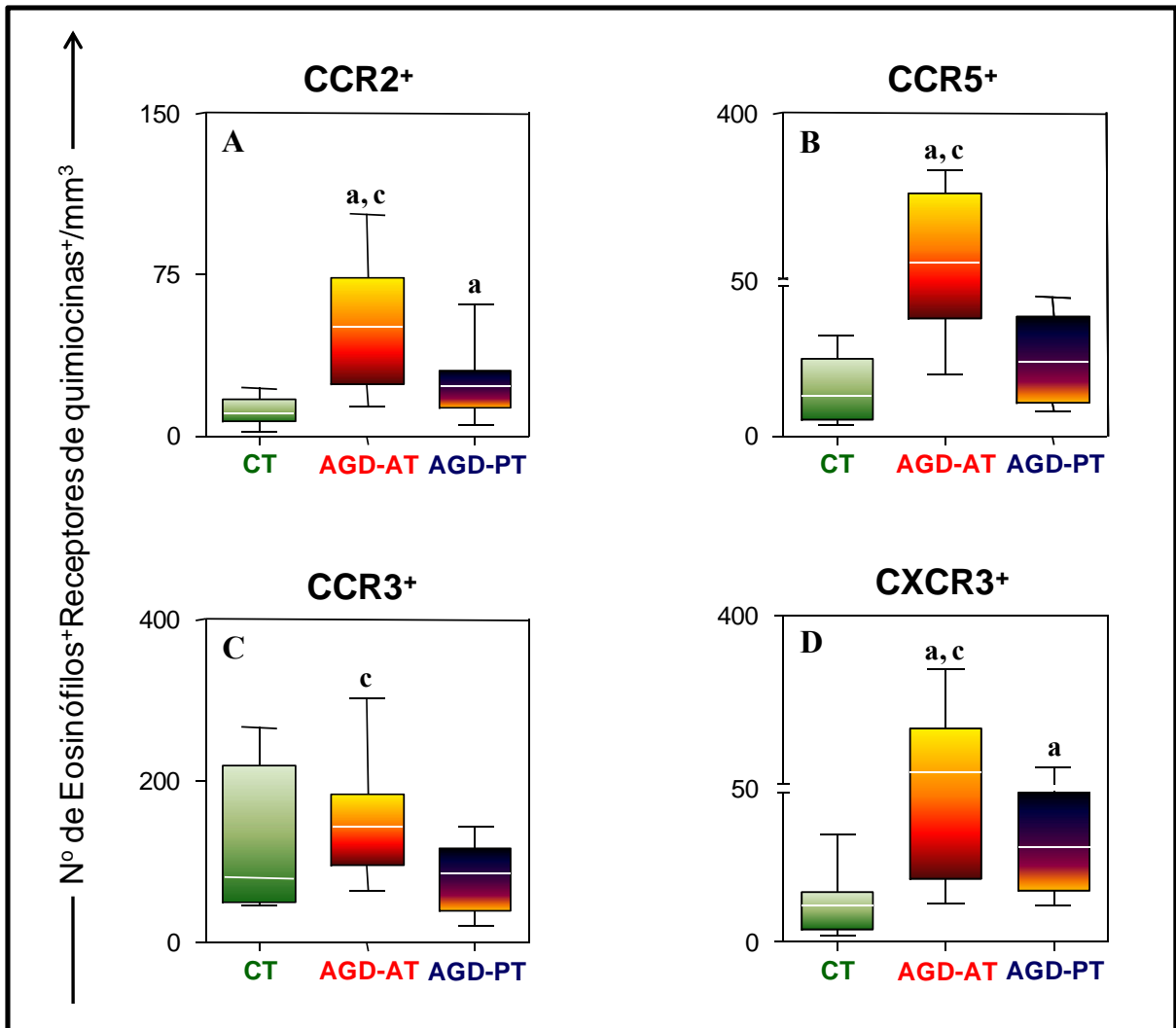


**Figura 15:** Número de moléculas co-estimuladoras CD28 (A), CD80 (B) e CD86 (C), moléculas de ativação CD23 (D), CD25 (E), HLA-DR (F) e CD69 (G), receptor de IgG (FcγR1) CD64 (H) e moléculas de adesão CD62L (I), CD11a (J), CD13 (K), CD18 (L), CD44 (M) e CD54 (N) por eosinófilos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT = 11 e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT = 09) e após (AGD-PT = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de eosinófilos<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup>, expressando os marcadores de superfície avaliados, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo. As diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a**, **b** e **c**, respectivamente.

### **5.2.2 Análise ex vivo do número de receptores de quimiocinas em eosinófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica com praziquantel**

A avaliação da expressão de receptores de quimiocinas em eosinófilos circulantes dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose foi realizada com o objetivo de avaliar possível migração dessas células para o foco inflamatório durante a infecção pelo *S. mansoni* e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto. Nesse estudo, foram avaliados os receptores de quimiocinas CCR2, CCR5, CCR3 e CXCR3 (**Figuras 16A, 16B, 16C e 16D**, respectivamente), que foram analisados pelo valor absoluto em mm<sup>3</sup> de eosinófilos positivos para esses marcadores.

A análise dos dados demonstrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de eosinófilos CCR2<sup>+</sup> ( $52 \pm 30/\text{mm}^3$  – **Figura 16A**), CCR5<sup>+</sup> ( $121 \pm 102/\text{mm}^3$  – **Figura 16B**) e CXCR3<sup>+</sup> ( $100 \pm 94/\text{mm}^3$  – **Figura 16D**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT (CCR2<sup>+</sup>:  $12 \pm 7/\text{mm}^3$ ; CCR5<sup>+</sup>:  $15 \pm 11/\text{mm}^3$ ; CXCR3<sup>+</sup>:  $13 \pm 10/\text{mm}^3$ , **Figuras 16A, 16B, 16C e 16D**, respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) de todos os receptores avaliados (CCR2<sup>+</sup>:  $27 \pm 17/\text{mm}^3$ ; CCR5<sup>+</sup>:  $26 \pm 14/\text{mm}^3$ ; CCR3<sup>+</sup>:  $79 \pm 44/\text{mm}^3$ ; CXCR3<sup>+</sup>:  $37 \pm 23/\text{mm}^3$ , **Figuras 16A, 16B, 16C e 16D**, respectivamente) em relação ao grupo AGD-AT. No entanto, o número de eosinófilos CCR2<sup>+</sup> ( $27 \pm 17/\text{mm}^3$ ) e CXCR3<sup>+</sup> ( $37 \pm 23/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente maior em relação ao grupo CT ( $12 \pm 7/\text{mm}^3$ ;  $13 \pm 10/\text{mm}^3$ , respectivamente).



**Figura 16:** Número de receptores de quimiocinas CCR2 (A), CCR5 (B), CCR3 (C) e CXCR3 (D) por eosinófilos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  $\square$  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  $\square$  = 09) e após (AGD-PT  $\square$  = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de eosinófilos<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup>, expressando os receptores de quimiocinas avaliados, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo. As diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a** e **c**, respectivamente.

### **5.2.3 Análise ex vivo do número de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular por neutrófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel**

De forma similar à avaliação realizada em eosinófilos, o panorama imunofenotípico de neutrófilos do sangue periférico dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, também foi avaliado através de análise *ex vivo* do perfil de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular, analisando-se o valor absoluto de neutrófilos/mm<sup>3</sup> expressando os diferentes marcadores avaliados e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto (**Figura 17**).

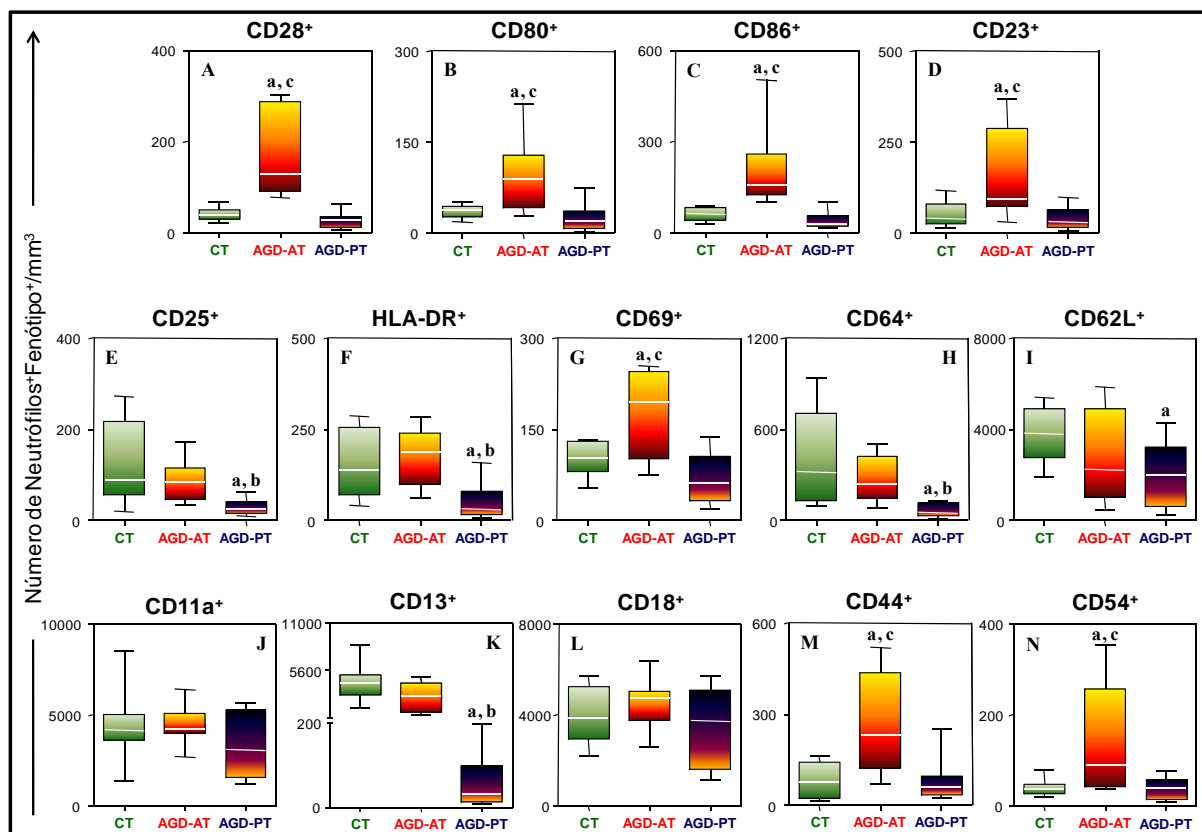
Com relação às moléculas co-estimuladoras (CD28, CD80 e CD86), a análise dos dados demonstrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de neutrófilos CD28<sup>+</sup> ( $174 \pm 97/\text{mm}^3$  – **Figura 17A**), CD80<sup>+</sup> ( $95 \pm 60/\text{mm}^3$  – **Figura 17B**) e CD86<sup>+</sup> ( $218 \pm 140/\text{mm}^3$  – **Figura 17C**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT (CD28<sup>+</sup>:  $42 \pm 15/\text{mm}^3$ ; CD80<sup>+</sup>:  $36 \pm 11/\text{mm}^3$ ; CD86<sup>+</sup>:  $61 \pm 22/\text{mm}^3$ , **Figuras 17A, 17B e 17C**, respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) de todas as moléculas avaliadas (CD28<sup>+</sup>:  $27 \pm 16/\text{mm}^3$ ; CD80<sup>+</sup>:  $28 \pm 23/\text{mm}^3$ ; CD86<sup>+</sup>:  $41 \pm 29/\text{mm}^3$ , **Figuras 17A, 17B e 17C**, respectivamente) em relação ao grupo AGD-AT. Após quimioterapia específica com praziquantel não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos AGD-PT e CT.

A análise do perfil de moléculas de ativação (CD23, CD25, HLA-DR e CD69) mostrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de neutrófilos CD23<sup>+</sup> ( $159 \pm 124/\text{mm}^3$  – **Figura 17D**) e CD69<sup>+</sup> ( $174 \pm 69/\text{mm}^3$  – **Figura 17G**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT (CD23<sup>+</sup>:  $53 \pm 35/\text{mm}^3$ ; CD69<sup>+</sup>:  $102 \pm 29/\text{mm}^3$ , **Figuras 17D e 17G**, respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) de todas as moléculas avaliadas (CD23<sup>+</sup>:  $39 \pm 30/\text{mm}^3$ ; CD25<sup>+</sup>:  $29 \pm 19/\text{mm}^3$ ; HLA-DR<sup>+</sup>:  $52 \pm 49/\text{mm}^3$ ; CD69<sup>+</sup>:  $71 \pm 41/\text{mm}^3$ , **Figuras 17D, 17E, 17F e 17G**, respectivamente) em relação ao grupos AGD-AT. Além disso, o número de neutrófilos CD25<sup>+</sup> ( $29 \pm 19/\text{mm}^3$ ) e HLA-DR<sup>+</sup> ( $52 \pm 49/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente menor em relação ao grupo CT ( $125 \pm 87/\text{mm}^3$ ;  $149 \pm 91/\text{mm}^3$ , respectivamente).

A avaliação do receptor de IgG (CD64) demonstrou diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de neutrófilos CD64<sup>+</sup> (**Figura 17H**) do grupo AGD-PT ( $70$

$\pm 43/\text{mm}^3$ ) em relação aos grupos AGD-AT ( $272 \pm 147/\text{mm}^3$ ) e CT ( $407 \pm 325/\text{mm}^3$ ). Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos AGD-AT e CT.

A avaliação da expressão de moléculas de adesão (CD62L, CD11a, CD13, CD18, CD44 e CD54) demonstrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de neutrófilos CD44<sup>+</sup> ( $272 \pm 163/\text{mm}^3$  – **Figura 17M**) e CD54<sup>+</sup> ( $144 \pm 120/\text{mm}^3$  – **Figura 17N**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT (CD44<sup>+</sup>:  $84 \pm 61/\text{mm}^3$ ; CD54<sup>+</sup>:  $41 \pm 17/\text{mm}^3$ , **Figuras 17M e 17N**, respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de neutrófilos CD13<sup>+</sup> ( $54 \pm 58/\text{mm}^3$  – **Figura 17K**), CD44<sup>+</sup> ( $82 \pm 68/\text{mm}^3$  – **Figura 17M**) e CD54<sup>+</sup> ( $40 \pm 23/\text{mm}^3$  - **Figura 17N**) em relação ao grupo AGD-AT (CD13<sup>+</sup>:  $2676 \pm 1714/\text{mm}^3$ ; CD44<sup>+</sup>:  $272 \pm 163/\text{mm}^3$ ; CD54<sup>+</sup>:  $144 \pm 120/\text{mm}^3$ ). Além disso, o número de neutrófilos CD13<sup>+</sup> ( $54 \pm 58/\text{mm}^3$ ) e CD62L<sup>+</sup> ( $2083 \pm 1425/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente menor em relação ao grupo CT ( $4237 \pm 2106/\text{mm}^3$ ;  $3759 \pm 1170/\text{mm}^3$ , respectivamente).



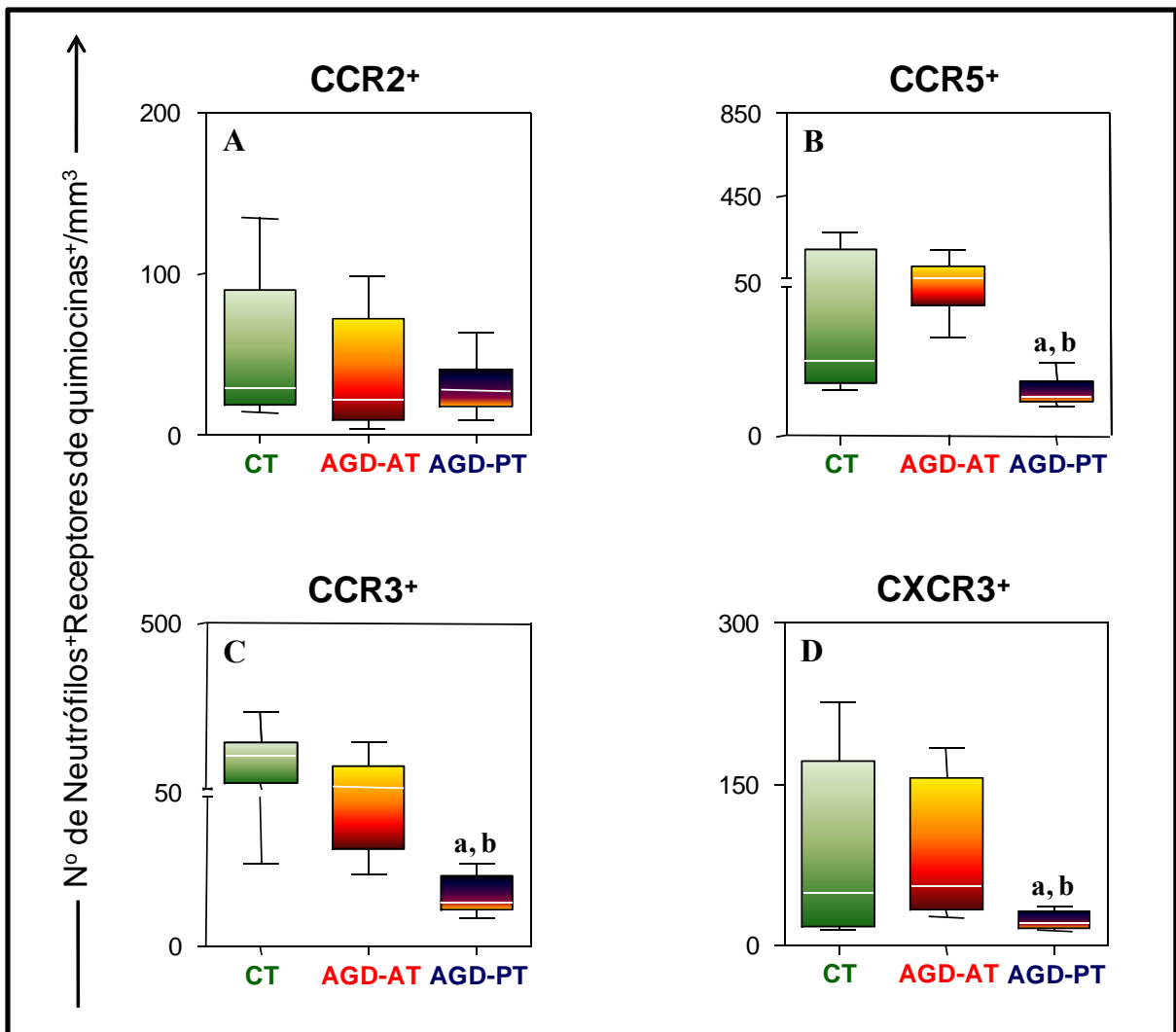
**Figura 17:** Número de moléculas co-estimuladoras CD28 (A), CD80 (B) e CD86 (C), moléculas de ativação CD23 (D), CD25 (E), HLA-DR (F) e CD69 (G), receptor de IgG (FcγR1) CD64 (H) e moléculas de adesão CD62L (I), CD11a (J), CD13 (K), CD18 (L), CD44 (M) e CD54 (N) por neutrófilos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT ■ = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT ■ = 09) e após (AGD-PT ■ = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de neutrófilos<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup>, expressando os marcadores de superfície avaliados, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo. As diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a**, **b** e **c**, respectivamente.

#### ***5.2.4 Análise ex vivo do número de receptores de quimiocinas em neutrófilos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel***

O estudo da expressão de receptores de quimiocinas em neutrófilos circulantes dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose foi realizado com o intuito de avaliar possível migração dessas células para o foco inflamatório durante a infecção pelo *S. mansoni* e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto. Os receptores de quimiocinas CCR2, CCR5, CCR3 e CXCR3 foram analisados pelo valor absoluto em  $\text{mm}^3$  de neutrófilos positivos para esses marcadores (Figuras **18A**, **18B**, **18C** e **18D**, respectivamente).

Os resultados demonstraram diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de neutrófilos CCR5<sup>+</sup> ( $15 \pm 5/\text{mm}^3$  – **Figura 18B**), CCR3<sup>+</sup> ( $17 \pm 06/\text{mm}^3$  – **Figura 18C**) e CXCR3<sup>+</sup> ( $23 \pm 9/\text{mm}^3$  – **Figura 18D**) do grupo AGD-PT quando comparado aos grupos AGD-AT (CCR5<sup>+</sup>:  $77 \pm 59/\text{mm}^3$ ; CCR3<sup>+</sup>:  $74 \pm 54/\text{mm}^3$ ; CXCR3<sup>+</sup>:  $88 \pm 62/\text{mm}^3$ ) e CT (CCR5<sup>+</sup>:  $94 \pm 103/\text{mm}^3$ ; CCR3<sup>+</sup>:  $130 \pm 78/\text{mm}^3$ ; CXCR3<sup>+</sup>:  $88 \pm 83/\text{mm}^3$ ) (**Figuras 18B**, **18C** e **18D**, respectivamente). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos AGD-AT e CT.



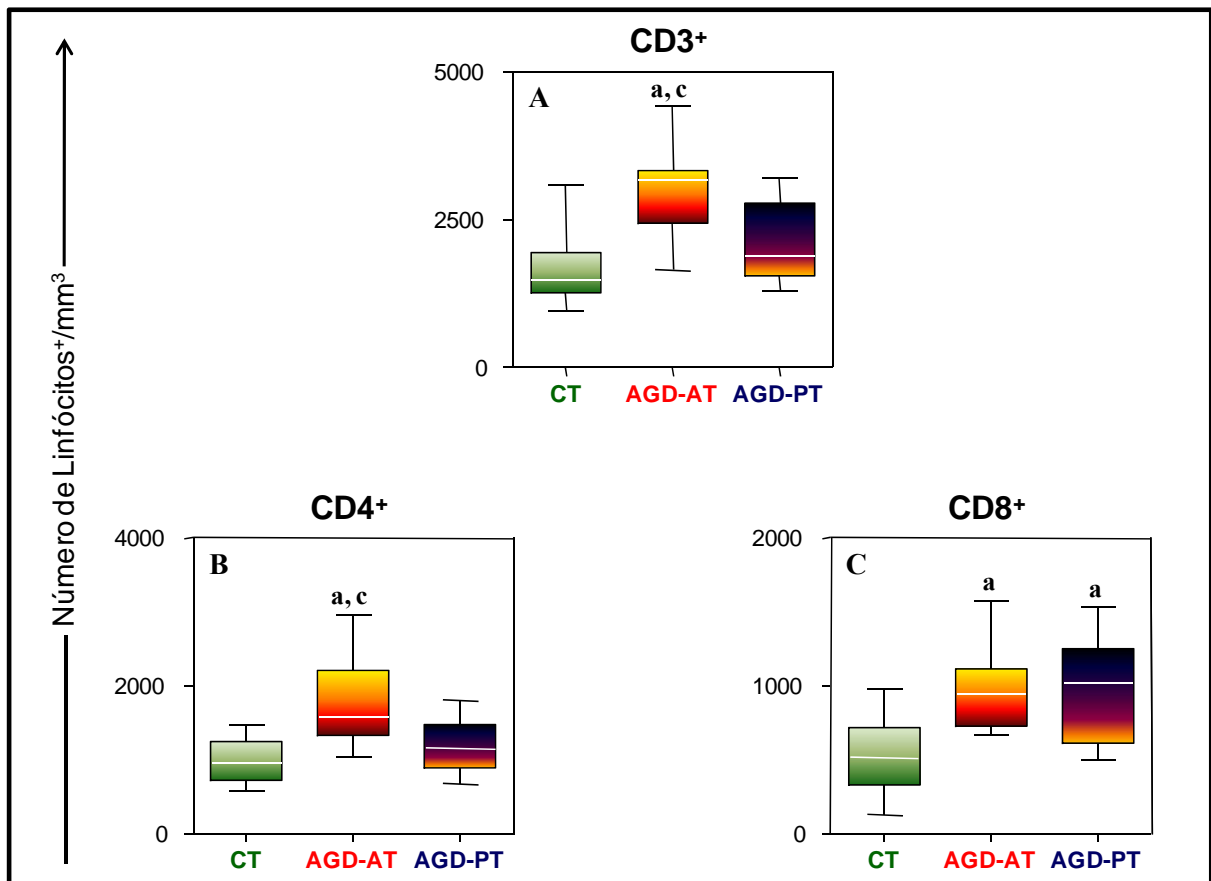


**Figura 18:** Número de receptores de quimiocinas CCR2 (A), CCR5 (B), CCR3 (C) e CXCR3 (D) por neutrófilos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  $\square$  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  $\square$  = 09) e após (AGD-PT  $\square$  = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de neutrófilos<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup>, expressando os receptores de quimiocinas avaliados, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo. As diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a** e **b**, respectivamente.

### **5.2.5 Análise ex vivo do número absoluto de linfócitos T (CD3<sup>+</sup>), linfócitos T auxiliares (CD4<sup>+</sup>) e linfócitos T citotóxicos/supressores (CD8<sup>+</sup>) do sangue periférico de pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel**

Em relação ao perfil celular durante a infecção pelo *S. mansoni*, Martins-Filho et al. (1999) demonstraram que pacientes portadores das diferentes formas clínicas da esquistossomose (aguda, intestinal e hepatoesplênica) apresentaram uma diminuição do percentual médio de linfócitos TCD4<sup>+</sup>, quando comparado aos indivíduos não infectados. Neste sentido, foi realizada, nesse estudo, a análise do número absoluto de linfócitos T e suas subpopulações/mm<sup>3</sup> do sangue periférico dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose com o objetivo de avaliar a participação dessas células na fase aguda da infecção pelo *S. mansoni* e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto (**Figura 19**).

A análise dos resultados mostrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos TCD3<sup>+</sup> ( $3050 \pm 820/\text{mm}^3$  – **Figura 19A**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT ( $1677 \pm 649/\text{mm}^3$ ). Essa diferença foi representada pelo aumento estatisticamente significativo do número de linfócitos TCD4<sup>+</sup> ( $1763 \pm 602/\text{mm}^3$  – **Figura 19B**) e TCD8<sup>+</sup> ( $989 \pm 308/\text{mm}^3$  – **Figura 19C**) do grupo AGD-AT em relação ao grupo CT ( $993 \pm 311/\text{mm}^3$ ;  $529 \pm 251/\text{mm}^3$ , respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos TCD3<sup>+</sup> ( $2165 \pm 686/\text{mm}^3$  – **Figura 19A**) e TCD4<sup>+</sup> ( $1187 \pm 350/\text{mm}^3$  – **Figura 19B**) em relação ao grupo AGD-AT. No entanto, o número de linfócitos TCD8<sup>+</sup> ( $977 \pm 347/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente maior em relação ao grupo CT ( $529 \pm 251/\text{mm}^3$ ).



**Figura 19:** Número de linfócitos T (CD3<sup>+</sup>) (A), linfócitos T auxiliares (CD4<sup>+</sup>) (B) e linfócitos T citotóxicos/supressores (CD8<sup>+</sup>) (C) do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  $\square$  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  $\square$  = 09) e após (AGD-PT  $\square$  = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de linfócitos T/mm<sup>3</sup>, expressando os marcadores de superfície avaliados, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo. As diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a** e **c**, respectivamente.

### 5.2.6 Análise ex vivo do número de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular por linfócitos TCD4<sup>+</sup> do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel

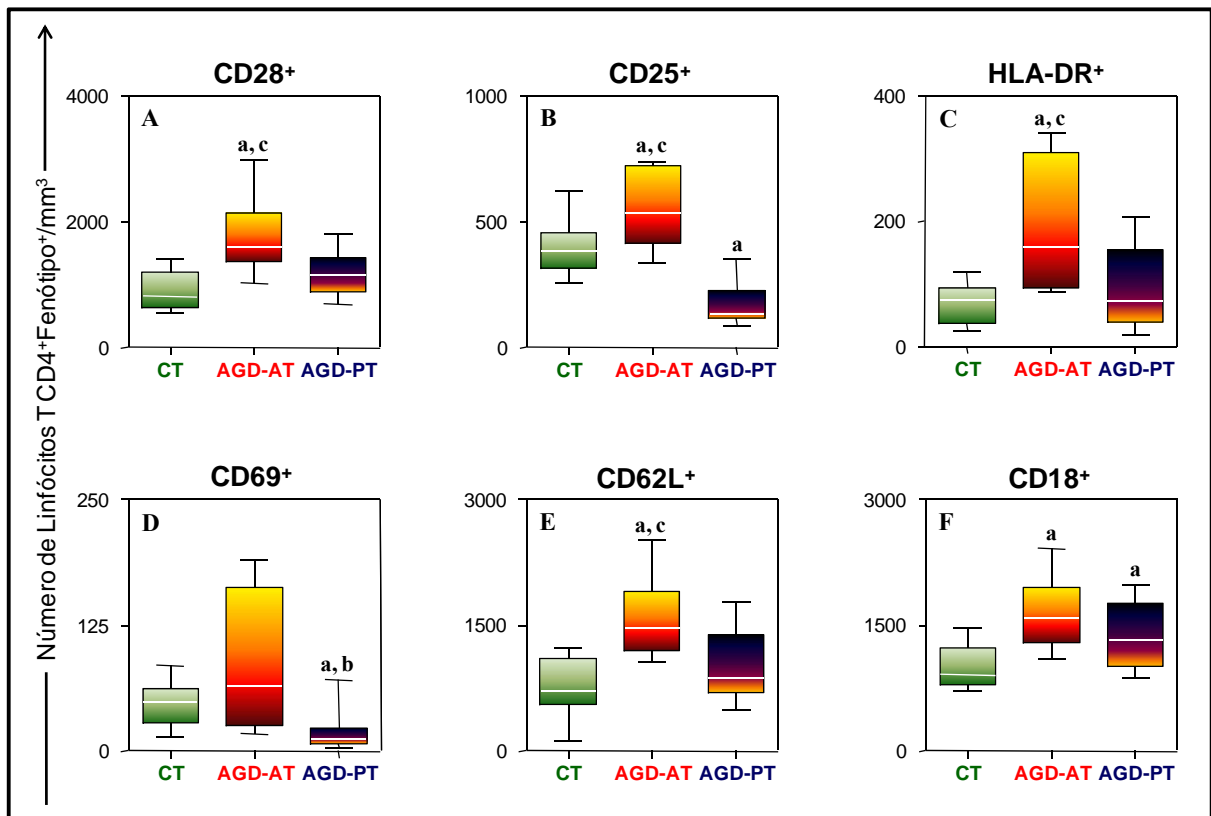
Com o intuito de se avaliar o perfil imunofenotípico dos linfócitos TCD4<sup>+</sup> do sangue periférico dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose foi realizada uma análise *ex vivo* de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular, avaliando-se o valor absoluto em mm<sup>3</sup> de linfócitos TCD4<sup>+</sup> positivos para esses marcadores e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto (**Figura 20**).

A análise da molécula co-estimuladora CD28 mostrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos TCD4<sup>+</sup> CD28<sup>+</sup> do grupo AGD-AT ( $1776 \pm 584/\text{mm}^3$  – **Figura 20A**) em relação ao grupo CT ( $902 \pm 310/\text{mm}^3$ ). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos TCD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> ( $1169 \pm 337/\text{mm}^3$  – **Figura 20A**) em relação ao grupo AGD-AT. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos AGD-PT e CT.

A avaliação do perfil de moléculas de ativação (CD25, HLA-DR e CD69) mostrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos TCD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> ( $559 \pm 161/\text{mm}^3$  – **Figura 20B**) e HLA-DR<sup>+</sup> ( $191 \pm 107/\text{mm}^3$  – **Figura 20D**) do grupo AGD-AT em relação ao grupo CT (CD25<sup>+</sup>:  $396 \pm 110/\text{mm}^3$ ; HLA-DR<sup>+</sup>:  $74 \pm 32/\text{mm}^3$ , **Figuras 20B e 20D**, respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) de todas as moléculas avaliadas (CD25<sup>+</sup>:  $170 \pm 91/\text{mm}^3$ ; HLA-DR<sup>+</sup>:  $92 \pm 65/\text{mm}^3$ ; CD69<sup>+</sup>:  $20 \pm 21/\text{mm}^3$ , **Figuras 20B, 20C e 20D**, respectivamente) em relação ao grupo AGD-AT (CD25<sup>+</sup>:  $559 \pm 161/\text{mm}^3$ ; HLA-DR<sup>+</sup>:  $191 \pm 107/\text{mm}^3$ ; CD69<sup>+</sup>:  $84 \pm 75/\text{mm}^3$ ). Além disso, o número de linfócitos CD25<sup>+</sup> ( $170 \pm 91/\text{mm}^3$ ) e CD69<sup>+</sup> ( $20 \pm 21/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente menor em relação ao grupo CT ( $396 \pm 110/\text{mm}^3$ ;  $46 \pm 23/\text{mm}^3$ , respectivamente).

Dentre as moléculas de adesão celular avaliadas (CD62L, CD18) verificou-se aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos TCD4<sup>+</sup> CD62L<sup>+</sup> ( $1588 \pm 482/\text{mm}^3$  – **Figura 20E**) e CD18<sup>+</sup> ( $1638 \pm 423/\text{mm}^3$  – **Figura 20F**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT ( $763 \pm 350/\text{mm}^3$ ;  $1016 \pm 262/\text{mm}^3$ , respectivamente). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número

de linfócitos TCD4<sup>+</sup> CD62L<sup>+</sup> ( $1046 \pm 423/\text{mm}^3$  – **Figura 20E**) em relação ao grupo AGD-AT. Por outro lado, o número de linfócitos CD18<sup>+</sup> ( $1383 \pm 396/\text{mm}^3$ ) do grupo AGD-PT foi estatisticamente maior em relação ao grupo CT ( $1016 \pm 262/\text{mm}^3$ ).

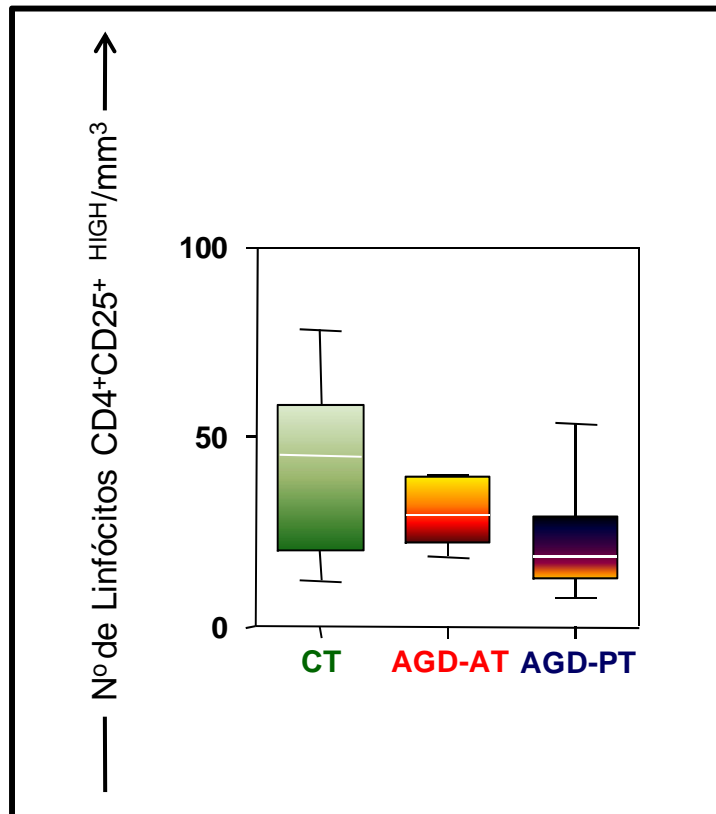


**Figura 20:** Número de moléculas co-estimuladoras CD28 (A), moléculas de ativação CD25 (B), HLA-DR (C) e CD69 (D), e moléculas de adesão CD62L (E) e CD18 (F) por linfócitos T CD4<sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  $\blacksquare$  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  $\blacksquare$  = 09) e após (AGD-PT  $\blacksquare$  = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de linfócitos TCD4<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup>, expressando os marcadores de superfície avaliados, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo. As diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a**, **b** e **c**, respectivamente.

**5.2.7 Análise ex vivo do número de linfócitos T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>HIGH</sup> do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel**

Segundo alguns autores, infecções por nematódeos podem induzir uma expansão natural de células T<sub>REG</sub> (Van Den Biggelaar et al. 2000, McInnes et al. 2003, Summers et al. 2003, Saunders et al. 2007), sugerindo um papel modulador dessas células em processos inflamatórios provocados por infecções helmínticas (Belkaid et al. 2005, Anthony et al. 2007). Dessa forma, a análise do número absoluto de linfócitos TCD4<sup>+</sup> CD25<sup>HIGH</sup>/mm<sup>3</sup>, com possível papel regulador (Baecher-Allan et al. 2001), do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose foi realizada com o objetivo de avaliar a participação dessas células na infecção pelo *S. mansoni* e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto (**Figura 21**).

Não foi observada diferença estatisticamente significativa do número de linfócitos T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>HIGH</sup> (**Figura 21**) entre os três grupos avaliados (CT: 43 ± 23/mm<sup>3</sup>; AGD-AT: 30 ± 9/mm<sup>3</sup>; AGD-PT: 22 ± 14/mm<sup>3</sup>).



**Figura 21:** Número de linfócitos T CD4+CD25<sup>HIGH</sup> do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT ■ = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT ■ = 09) e após (AGD-PT ■ = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de linfócitos TCD4<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup>, expressando o marcador de superfície CD25<sup>HIGH</sup>, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo.



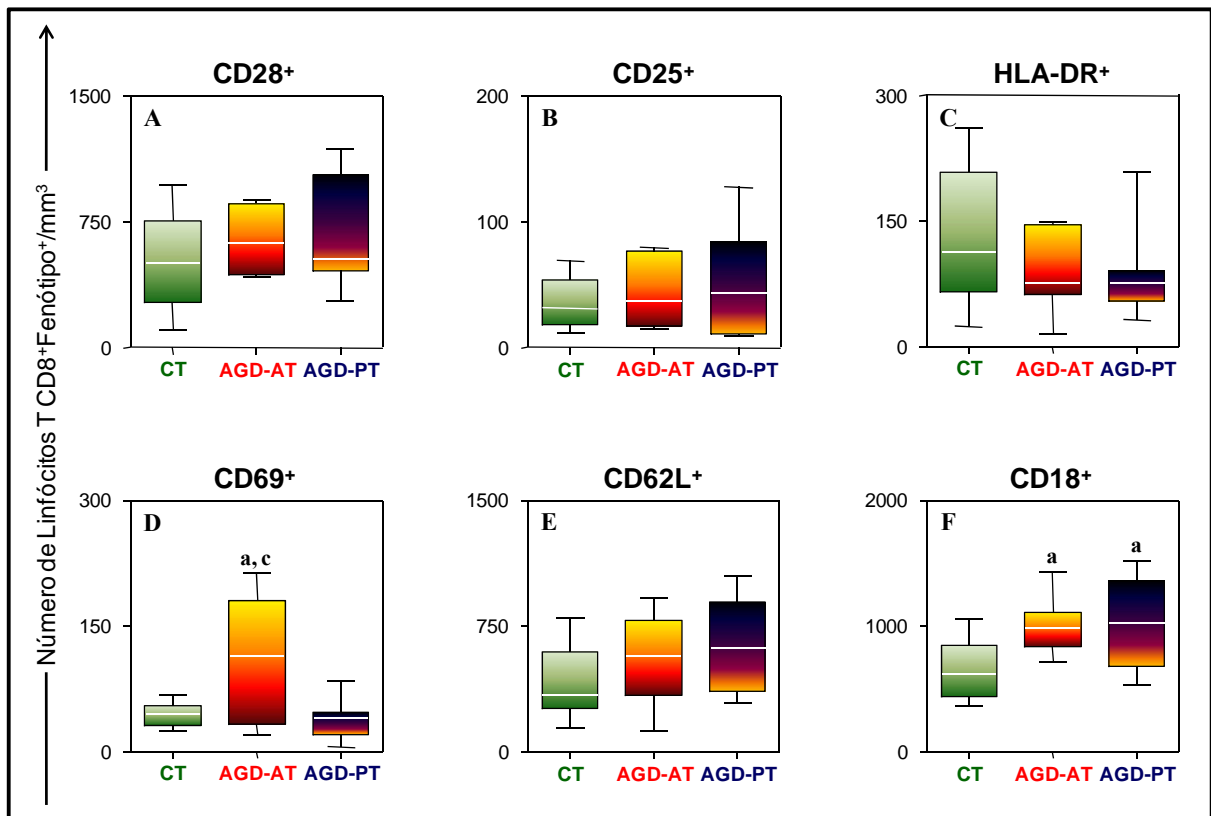
### **5.2.8 Análise ex vivo do número de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular por linfócitos TCD8<sup>+</sup> do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel**

De forma semelhante à análise realizada para linfócitos T CD4<sup>+</sup>, realizou-se uma análise *ex vivo* de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular em linfócitos TCD8<sup>+</sup> do sangue periférico dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, avaliando-se o valor absoluto em mm<sup>3</sup> de linfócitos T CD8 positivos para esses marcadores e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto (**Figura 22**).

Não foi observada diferença estatisticamente significativa na análise da molécula co-estimuladora CD28 (**Figura 22A**) entre os grupos avaliados (CT: 504 ± 273/mm<sup>3</sup>; AGD-AT: 641 ± 217/mm<sup>3</sup>; AGD-PT: 652 ± 303/mm<sup>3</sup>).

Dentre as moléculas de ativação avaliadas (CD25, HLA-DR e CD69) observou-se aumento estatisticamente significativo (p<0,05) do número de linfócitos TCD8<sup>+</sup> CD69<sup>+</sup> (106 ± 77/mm<sup>3</sup> - **Figura 22C**) do grupo AGD-AT em relação ao grupo CT (44 ± 14/mm<sup>3</sup>). No grupo AGD-PT foi observada diminuição estatisticamente significativa (p<0,05) do número de linfócitos TCD8<sup>+</sup> CD69<sup>+</sup> (38 ± 23/mm<sup>3</sup> - **Figura 22C**) em relação ao grupo AGD-AT. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos AGD-PT e CT.

A análise das de moléculas de adesão celular (CD62L, CD18) mostrou aumento estatisticamente significativo (p<0,05) do número de linfócitos TCD8<sup>+</sup> CD18<sup>+</sup> (**Figura 22F**) dos grupos AGD-AT (1004 ± 239/mm<sup>3</sup>) e AGD-PT (1013 ± 355/mm<sup>3</sup>) em relação ao grupo CT (654 ± 237/mm<sup>3</sup>). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos AGD-AT e AGD-PT.

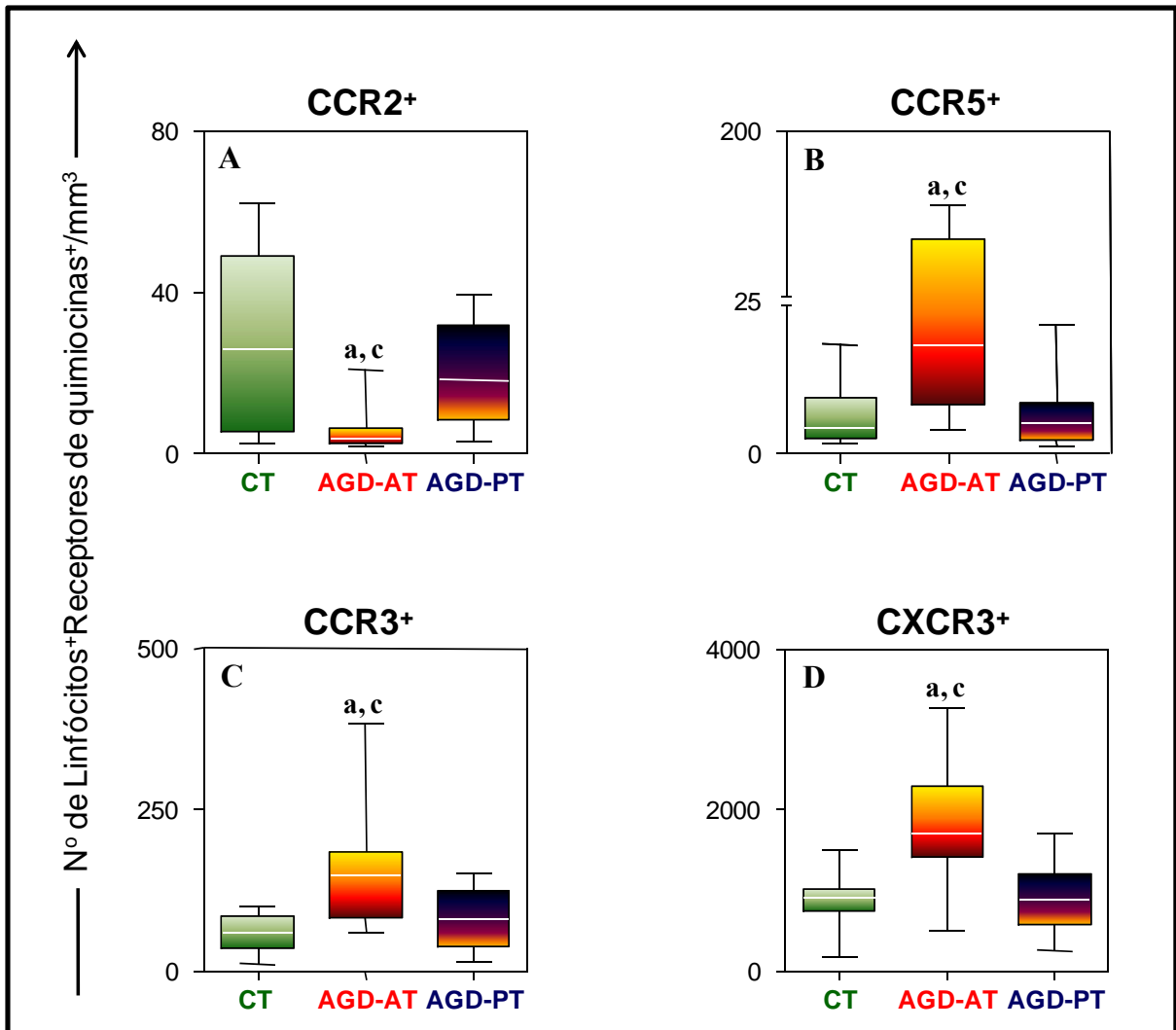


**Figura 22:** Número de moléculas co-estimuladoras CD28 (A), moléculas de ativação CD25 (B), HLA-DR (C) e CD69 (D) e moléculas de adesão CD62L (E) e CD18 (F) por linfócitos T CD8<sup>+</sup> do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  $\square$  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  $\square$  = 09) e após (AGD-PT  $\square$  = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de linfócitos T CD8<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup>, expressando os marcadores de superfície avaliados, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo. As diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a** e **c**, respectivamente.

### **5.2.9 Análise ex vivo do número de receptores de quimiocinas em linfócitos do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes e após terapêutica específica com praziquantel**

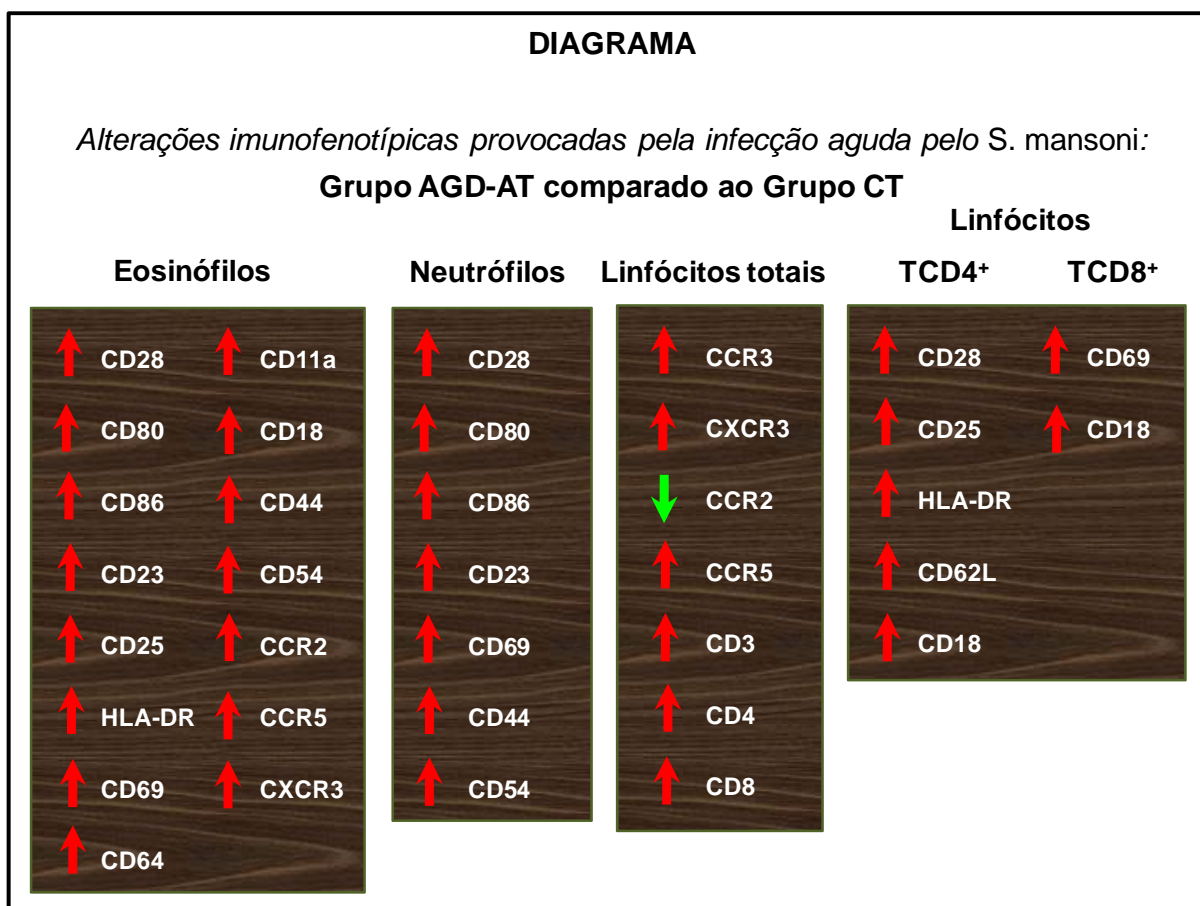
Os receptores de quimiocinas possuem funções importantes que coordenam a diferenciação e o tráfego de leucócitos. Sendo assim, neste estudo foi realizada a análise do número de receptores de quimiocinas em linfócitos circulantes dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose com o objetivo de avaliar uma possível migração dessas células para o foco inflamatório durante a infecção pelo *S. mansoni* e o impacto que a terapêutica específica teria nesse contexto. Os receptores de quimiocinas avaliados nesse estudo foram CCR2, CCR5, CCR3, e CXCR3 (**Figuras 23A, 23B, 23C e 23D**, respectivamente), que foram analisados pelo valor absoluto em  $\text{mm}^3$  de linfócitos positivos para esses marcadores.

A análise dos resultados demonstrou aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos  $\text{CCR5}^+$  ( $41 \pm 45/\text{mm}^3$  – **Figura 23B**),  $\text{CCR3}^+$  ( $158 \pm 97/\text{mm}^3$  – **Figura 23C**) e  $\text{CXCR3}^+$  ( $1815 \pm 793/\text{mm}^3$  – **Figura 23D**) do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT ( $\text{CCR5}^+$ :  $7 \pm 5/\text{mm}^3$ ;  $\text{CCR3}^+$ :  $58 \pm 28/\text{mm}^3$ ;  $\text{CXCR3}^+$ :  $895 \pm 334/\text{mm}^3$ , **Figuras 23A, 23B, 23C e 23D**, respectivamente). Por outro lado, foi observada diminuição estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos  $\text{CCR2}^+$  (**Figura 23A**) do grupo AGD-AT ( $6 \pm 7/\text{mm}^3$ ) quando comparado ao grupo CT ( $27 \pm 22/\text{mm}^3$ ). No grupo AGD-PT foi observado aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) do número de linfócitos  $\text{CCR2}^+$  ( $20 \pm 13/\text{mm}^3$  – **Figura 23C**) em relação ao grupo AGD-AT ( $6 \pm 7/\text{mm}^3$ ). Também foi observado no grupo AGD-PT diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) de número de linfócitos  $\text{CCR5}^+$ ,  $\text{CCR3}^+$  e  $\text{CXCR3}^+$  quando comparado ao grupo AGD-AT ( $\text{CCR5}^+$ :  $41 \pm 45/\text{mm}^3$ ;  $\text{CCR3}^+$ :  $158 \pm 97/\text{mm}^3$ ;  $\text{CXCR3}^+$ :  $1815 \pm 793/\text{mm}^3$ , **Figuras 23B, 23C e 23D**, respectivamente). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos AGD-PT e CT.

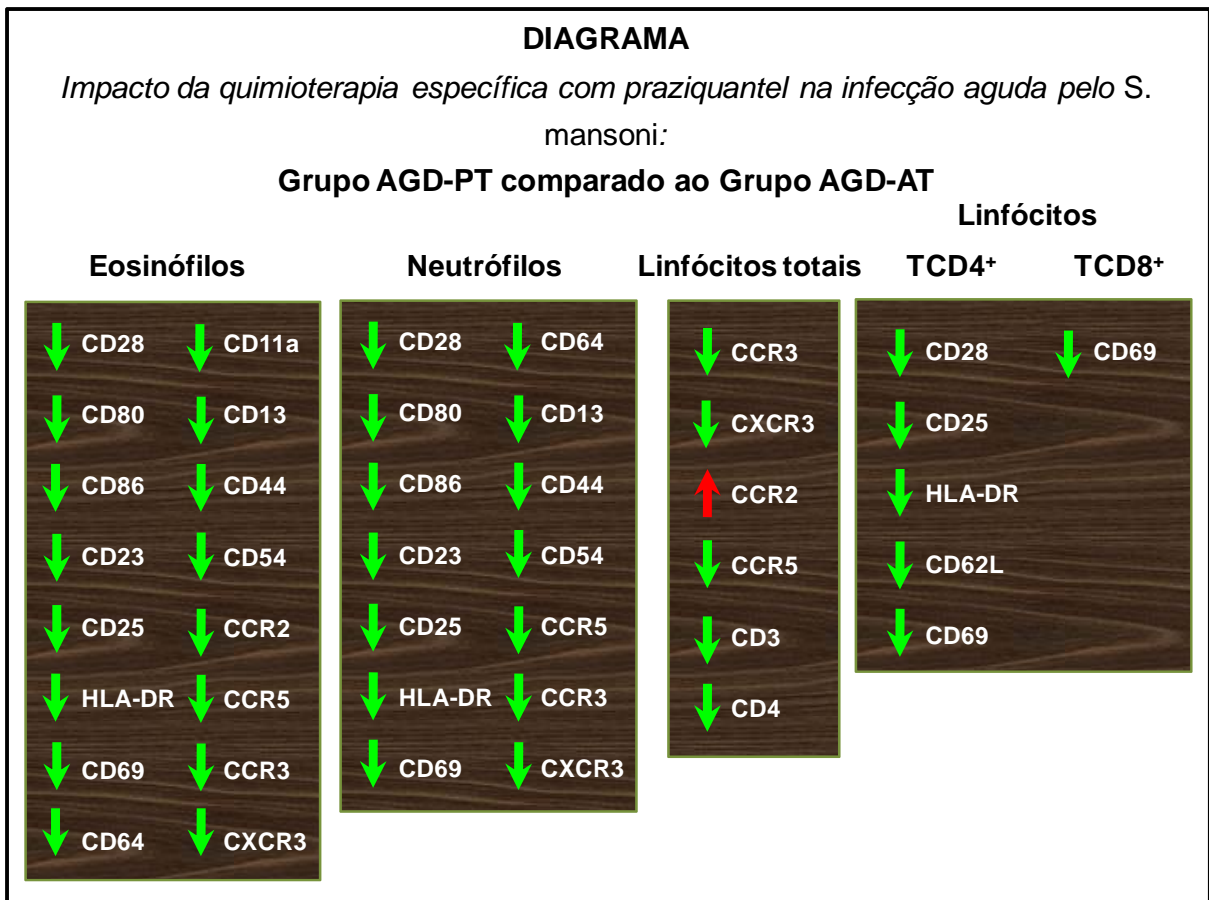


**Figura 23:** Número de receptores de quimiocinas CCR2 (A), CCR5 (B), CCR3 (C) e CXCR3 (D) por linfócitos do sangue periférico de indivíduos saudáveis (CT  $\square$  = 11) e pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, antes (AGD-AT  $\square$  = 09) e após (AGD-PT  $\square$  = 11) terapêutica específica com praziquantel. Os resultados estão apresentados como valor absoluto de linfócitos<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup>, expressando os receptores de quimiocinas avaliados, em formato de gráficos de boxes que destacam os valores: mínimo, 25%, 50%-mediana, 75% e máximo. As diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos CT, AGD-AT e AGD-PT estão representadas pelas letras **a** e **c**, respectivamente.

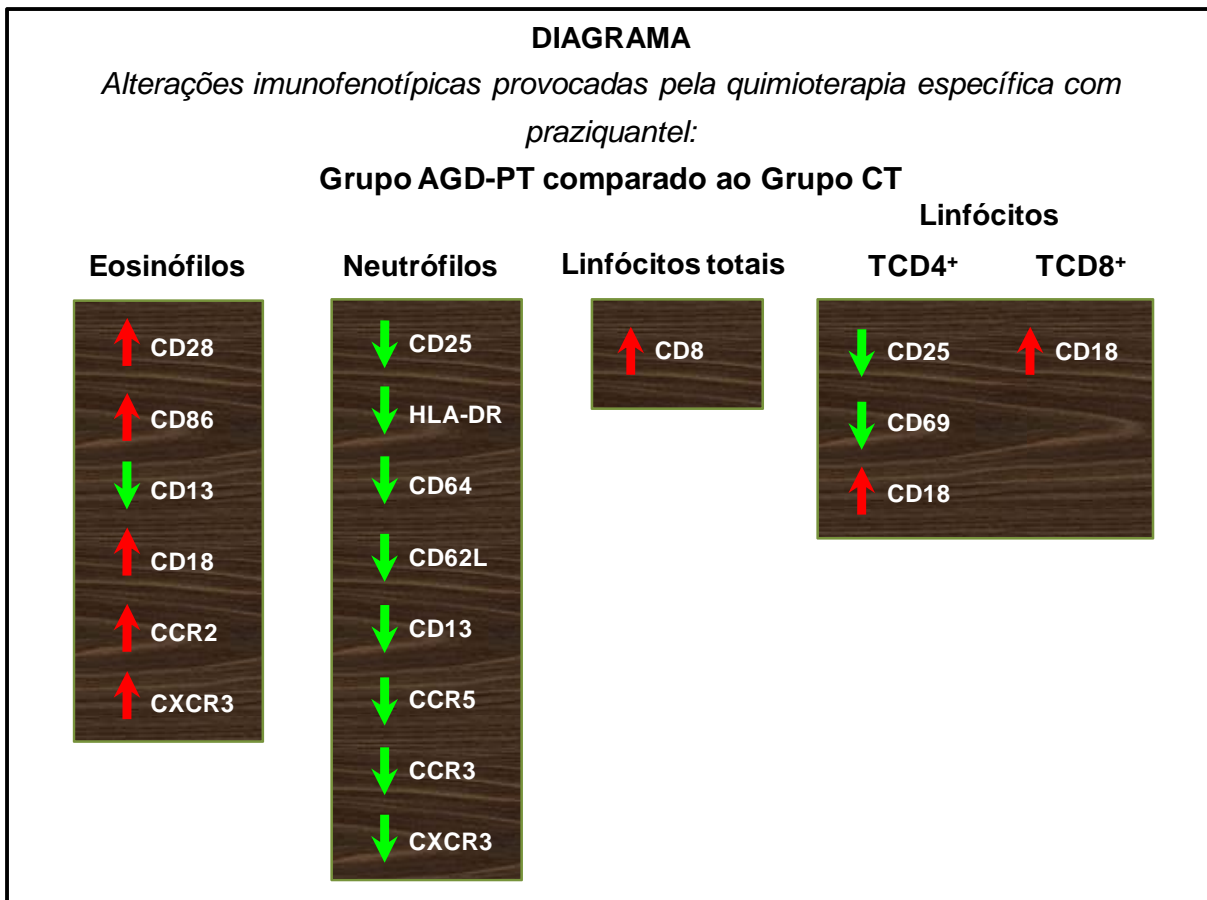
Com o intuito de facilitar o entendimento dos resultados imunológicos obtidos com a realização desse estudo, diagramas ilustrativos das principais alterações imunofenotípicas encontradas, antes e após quimioterapia específica com praziquantel foram elaborados e serão apresentados a seguir:



**Figura 24: Principais alterações imunofenotípicas provocadas pela infecção aguda pelo *S. mansoni*.** As setas vermelhas apontadas para cima representam aumento dos marcadores de superfície celular avaliados em leucócitos do sangue periférico dos pacientes do grupo AGD-AT quando comparado ao grupo CT. E as setas verdes apontadas para baixo representam diminuição dos marcadores quando os dois grupos foram comparados.



**Figura 25: Impacto da quimioterapia específica com praziquantel na infecção aguda pelo *S. mansoni*.** As setas verdes apontadas para baixo representam diminuição dos marcadores de superfície celular avaliados em leucócitos do sangue periférico dos pacientes do grupo AGD-PT quando comparado ao grupo AGD-AT. E as setas vermelhas apontadas para cima representam aumento dos marcadores quando os dois grupos foram comparados.



**Figura 26: Alterações imunofenotípicas provocadas pela quimioterapia específica com praziquantel.** As setas verdes apontadas para baixo representam diminuição dos marcadores de superfície celular avaliados em leucócitos do sangue periférico dos pacientes do grupo AGD-PT quando comparado ao grupo CT. E as setas vermelhas apontadas para cima representam aumento dos marcadores quando os dois grupos foram comparados.





A propagação de doenças transmissíveis, como a esquistossomose, é favorecida pela manutenção de um elenco de fatores determinantes, dentre eles, a intervenção e os modos de ocupação do homem sobre o meio ambiente. Evidências científicas mostram que as condições socioeconômicas e culturais estão fortemente associadas às taxas de prevalência, intensidade e morbidade de infecção (Barbosa & Barbosa 1998, Barbosa et al. 2001) e que medidas preventivas e mudanças nas condições de vida são elementos indispensáveis para o controle das doenças endêmicas (Ximenes, Southgate & Smith 1994).

Durante as últimas décadas, o perfil epidemiológico tradicional de transmissão do *S. mansoni* vem sofrendo alterações. A expansão da doença para áreas indenes é determinada, em grande parte, pelo intenso movimento migratório de trabalhadores rurais, infectados pelo parasito, que, em busca de sobrevivência, são atraídos para as periferias dos grandes centros urbanos. Esse movimento acarreta a ocupação desordenada e a modificação dos espaços urbanos, contribuindo para a favelização de comunidades que passam a viver sob condições insalubres na periferia das cidades. Esse processo de ocupação vem impondo o estabelecimento de novos focos urbanos e de sucessivos relatos de casos agudos da doença (Suassuna & Coura 1969, Sturrock 2001, Enk et al. 2003, Carvalho, Zech-Coelho & Lenzi 2008). No Brasil, surtos de esquistossomose aguda, especialmente em áreas urbanas, vêm sendo observados e documentados com certa frequência (Ferreira et al. 1960, 1966, Coura et al. 1970, Neves 1992, Rabello 1995, Barbosa et al. 2001, Enk et al. 2003).

Segundo alguns autores, a incidência da fase aguda da esquistossomose é, certamente, subestimada e pouco compreendida (Lunde & Ottsen 1980, Evengard et al. 1990, Rabello 1995). A importância desse estágio da doença tem sido descrita, principalmente, em indivíduos de área urbana, turistas e viajantes que visitam regiões tropicais endêmicas (Lunde & Ottsen 1980, Evengard et al. 1990, Rabello 1995). No entanto, a esquistossomose é uma doença que apresenta distribuição abrangente, sendo assim, a forma clínica aguda pode ser também diagnosticada em indivíduos de países endêmicos que não habitam áreas endêmicas de transmissão ativa.

As características da fase inicial da esquistossomose mansoni apresentam uma variedade de sinais e sintomas clínicos (Garcia-Palmiere & Marcial-Rojas 1962, Rocha et al. 1996) e a contribuição da relação parasito/hospedeiro nos fatores que influenciam a patogênese da doença ainda não foi completamente estabelecida (Diaz-Rivera et al. 1956, Hiatt et al. 1979, Greco et al. 1987, Rocha et al. 1996).

Segundo Neves (1986), a evolução das formas clínicas da esquistossomose depende da interação de pelo menos três eventos, baseados em modelos experimentais e fundamentos da patologia humana: a) evolução dos vermes, seguido pela oviposição e deposição dos ovos nos tecidos; b) comprometimento dos órgãos por vermes jovens ou maduros e seus ovos; e c) o tipo e as alterações qualitativas e quantitativas da resposta imune do hospedeiro frente aos produtos antigênicos derivados da destruição dos esquistossômulos, vermes adultos e ovos.

Os principais achados clínicos observados no presente estudo, como dor de cabeça, febre, cólica abdominal, diarreia, tosse, emagrecimento e astenia foram consistentes com aqueles observados por outros autores (Rabello 1995, Barbosa et al. 2001, De Jesus et al. 2002, Enk et al. 2003, Coura & Amaral 2004). Hiatt et al. (1979, 1980) e De Jesus et al. (2002) detectaram imunocomplexos no soro de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose e sugeriram que os sinais e sintomas dessa fase da doença poderiam ser mediados por depósitos nos vasos, promovendo a ativação do sistema do complemento e lesão do endotélio com extravasamento de fluidos para os tecidos, indicando a importância dos imunocomplexos circulantes na patogênese da esquistossomose aguda. Após quimioterapia específica com praziquantel, os pacientes avaliados no presente estudo relataram que os sinais e sintomas clínicos foram desaparecendo gradativamente, ao passo que um ano após o tratamento nenhum sinal e sintoma clínico foram mencionados.

Como mencionado anteriormente, a inespecificidade de sinais e sintomas clínicos, bem como a dificuldade de detecção de ovos nas fezes pelo exame parasitológico torna o diagnóstico da forma clínica aguda da esquistossomose um desafio. Nesse contexto, a ultrassonografia abdominal seria importante ferramenta auxiliar no diagnóstico desse estágio da doença. As alterações ultrassonográficas observadas no presente estudo foram consistentes com aquelas descritas por Barata et al. (1999). De acordo com esses autores e com os dados obtidos pelo presente estudo, a avaliação ultrassonográfica de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mostra aumento inespecífico do tamanho do fígado, fibrose periportal incipiente e linfonodos periportais aumentados. Além disso, no presente estudo foi observado também aumento da medida longitudinal do baço. Nesse mesmo trabalho, Barata et al. (1999) também realizaram uma análise histológica do fígado, através de biópsias hepáticas de três pacientes e os resultados mostraram que o espessamento periportal incipiente, observado no exame ultrassonográfico, foi produzido principalmente por um infiltrado inflamatório dos tratos portais que desapareceu após tratamento com oxamniquine. No

entanto, esse procedimento cirúrgico não é mais eticamente aceito. Segundo Alves-Oliveira et al. (2006), atualmente não existem dados suficientes para correlacionar o espessamento periportal incipiente, visto ao exame ultrassonográfico, com fibrose inicial. Nesse contexto, esses autores realizaram um estudo correlacionando níveis de citocinas com diferentes graus de fibrose. Os resultados desse estudo mostraram forte correlação da citocina IL-13 com o desenvolvimento de fibrose grave. Segundo De Jesus et al. (2004), IL-13 promove a síntese de colágeno, contribuindo para o desenvolvimento de fibrose. Além disso, Alves-Oliveira et al. (2006) mostraram que a maioria dos pacientes do grupo com fibrose moderada/grave apresentou baixos níveis de IL-10. Corroborando com esses dados, Booth et al. (2004) demonstraram que baixos níveis dessa citocina é comumente observado em pacientes infectados pelo *S. mansoni* apresentando fibrose periportal. Alguns mecanismos reguladores de fibrose têm sido descritos por meio da ação de IL-10 que suprime a síntese de pró-colágeno I por fibroblastos (Wangoo et al. 1997). No entanto, o mecanismo pelo qual IL-10 confere proteção contra fibrose ainda permanece desconhecido.

Cabe ressaltar que as características ultrassonográficas observadas no presente estudo, como aumento do tamanho do fígado e baço, bem como linfonodos periportais aumentados, embora sejam altamente sensíveis, não são patognomônicas da forma clínica aguda da esquistossomose, sendo também observadas em outras doenças infecciosas, como hepatites agudas e outras doenças virais (Giorgio et al. 1986, Forsberg et al. 1987, Rabello et al. 1994).

Em indivíduos saudáveis, linfonodos periportais normalmente não são visualizados pelo exame ultrassonográfico. A avaliação ultrassonográfica realizada no presente estudo mostrou linfonodos periportais ovalados, hipoeecóicos com a região central ecogênica e contornos regulares, característico de processos inflamatórios, como aqueles apresentados durante a esquistossomose. Segundo alguns autores, outras patologias também provocam alterações morfológicas em linfonodos, porém essas alterações são diferentes daquelas observadas na esquistossomose aguda (Marchal et al. 1985, Vassallo et al. 1992, Rabello et al. 1994). Linfonodos neoplásicos são geralmente arredondados e hipoeecóicos, podendo apresentar bordas irregulares (Marchal et al. 1985, Vassallo et al. 1992, Rabello et al. 1994). Linfomas podem também alterar morfológicamente linfonodos periportais e peripancreáticos, no entanto, ocorre também alteração de outros linfonodos abdominais, principalmente, linfonodos retroperitoniais, que são anecóicos e geralmente arredondados. Além disso, o fígado e o baço estão aumentados, podendo apresentar lesões focais (Vassallo et al. 1992,

Rabello et al. 1994). Pacientes com SIDA podem apresentar hepatoesplenomegalia e linfadenopatia abdominal, porém a ecogenicidade do fígado é maior. Tumores relacionados à SIDA, como sarcoma de Kaposi, também provocam linfadenopatia (Yee et al. 1993). Segundo Rabello et al. (1994), linfadenomegalia mesentérica e periportal são observadas também na blastomicose e, nesse caso, os linfonodos são geralmente anecóicos.

Relatos da literatura mostram que o praziquantel é uma droga eficaz no controle da infecção pelo *S. mansoni*, promovendo redução na excreção de ovos e regressão da fibrose em camundongos e seres humanos (Doehring-Schwerdtfeger et al. 1992, Cota et al. 2006, Andrade et al. 2006, Kihara et al. 2007). No entanto, no presente trabalho foi observado que um ano após quimioterapia específica com praziquantel grande parte das alterações ultrassonográficas encontradas, como hepatomegalia, esplenomegalia e fibrose periportal incipiente, permaneceram. De acordo com Barbosa-Álvares, a permanência dessas alterações após a infecção pelo *S. mansoni* eram esperadas, pois um ano é considerado um período curto para que retornem à normalidade (comunicação pessoal). De fato, essa explicação foi comprovada quando dois anos após tratamento específico com praziquantel esses pacientes foram novamente submetidos à avaliação ultrassonográfica e foi observado que a maioria das alterações encontradas retornou a medidas normais (dados não mostrados), corroborando com dados descritos na literatura (Homeida et al. 1991, Doehring-Schwerdtfeger et al. 1992, Boisier et al. 1998, Richter 2003). A permanência de determinadas alterações morfológicas hepáticas e esplênicas (Martins-Leite et al. 2008), bem como ausência da reversão completa da fibrose após quimioterapia específica tem sido descrita em seres humanos (Homeida et al. 1991, Li et al. 2002, Cota et al. 2006) e em camundongos (Andrade & Grimaud 1986, Andrade et al. 2006). As razões que explicam a falta de reversão da fibrose ainda não estão claras, no entanto, algumas possibilidades podem ser sugeridas, como a genética do indivíduo, a incapacidade em desenvolver um mecanismo imune adequado que possa levar ao controle da fibrose após tratamento, a exposição a novos antígenos em consequência da destruição dos vermes com o tratamento, a dificuldade de obter, com a realização do exame ultrassonográfico, o diagnóstico diferencial entre indivíduos normais, daqueles portadores de fibrose incipiente (grau I), ou ainda o tempo de avaliação da regressão da fibrose após o tratamento (Martins-Leite 2008).

No presente trabalho foi avaliada também a função hepática dos pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose, através da dosagem das enzimas ALT, AST e  $\gamma$ -GT.

Contraopondo trabalhos existentes na literatura (Barbosa et al. 2001, De Jesus et al., 2002), não foram observadas alterações em nenhuma das enzimas avaliadas, sugerindo que a função hepatocelular estaria preservada ou minimamente comprometida nos pacientes avaliados durante o estudo. Em pacientes portadores da forma clínica intestinal e hepatointestinal da esquistossomose já foi observado que as provas de função hepática estão normais, podendo as relacionadas com o metabolismo protéico apresentar-se alteradas. Já naqueles pacientes portadores da forma hepatoesplênica, as provas de função hepática, principalmente as relacionadas com o metabolismo protéico, apresentam-se em geral alteradas, mas raramente a função hepática está comprometida em grau extenso. Somente após repetidas espoliações sanguíneas, na fase terminal da doença, vê-se franco acometimento parenquimatoso do fígado. De acordo com alguns autores, quando ocorre algum dano celular hepático há um aumento de ALT e AST, porém na infecção pelo *S. mansoni*, este tipo de lesão não é comumente observado (Kardorff et al. 1997, Aquino et al. 2000). Lesão de hepatócitos é frequentemente observada em outras doenças hepatocelulares como as hepatites, o que é um fator importante para o diagnóstico diferencial (Kardorff et al. 1997, Aquino et al. 2000). A enzima  $\gamma$ -GT está presente em quantidades decrescentes no túbulo proximal do néfron, fígado, pâncreas (dúctulos e células acinares) e intestinos. No entanto, a  $\gamma$ -GT sérica ativa é originária primariamente do fígado. As causas mais importantes da elevação de  $\gamma$ -GT são a estimulação crônica do sistema microsomal (ocasionado pela indução e liberação de  $\gamma$ -GT da fração microsomal do hepatócito) e a presença de colestase (Alves-Junior et al. 2003). De acordo com Martins & Borges (1993), a estimulação crônica do sistema microsomal ocorreria somente em pacientes portadores da forma hepatoesplênica da esquistossomose. Alguns autores (Martins & Borges 1993, Hino et al. 2002, Alves-Junior et al. 2003) propuseram que as alterações na árvore biliar, decorrentes da fibrose do espaço porta, poderiam ser o substrato anatômico para o aumento de fosfatase alcalina e  $\gamma$ -GT nos pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica da esquistossomose. Kardorff et al. (1997) observaram que o aumento de  $\gamma$ -GT ocorre somente em pacientes com fibrose periportal intensa, textura hepática irregular e vasos colaterais. Visto que os pacientes avaliados nesse estudo encontravam-se na fase aguda da infecção pelo *S. mansoni* e não apresentaram alterações significativas como as mencionadas anteriormente, essa poderia ser uma explicação para os níveis séricos normais das enzimas avaliadas.

Os dados referentes ao perfil hematológico dos pacientes do grupo AGD-AT mostraram leucocitose, caracterizada pelo aumento de eosinófilos, neutrófilos e linfócitos. Uma possível explicação para a leucocitose observada nesses pacientes poderia ser a ativação do sistema imune por antígenos de esquistossômulos, antígenos secretados pelos ovos, bem como antígenos do verme adulto (Simpson & Smithers 1980, Weiss et al. 1987, Sher et al. 1990). Um ano após a quimioterapia específica com praziquantel, os pacientes apresentaram valores normais de leucócitos, corroborando com dados da literatura (de Souza et al. 2007).

O número absoluto de eosinófilos no sangue periférico de indivíduos saudáveis varia de 400 a 600 células/mm<sup>3</sup> (Babapulle 2003), sendo, portanto, uma população minoritária entre os leucócitos. Nesse estudo, os pacientes do grupo AGD-AT apresentaram número significativamente maior de eosinófilos no sangue periférico, corroborando com dados descritos na literatura (Barbosa et al. 2001, Silveira-Lemos 2004, de Souza et al. 2007). É importante ressaltar que, embora o grupo AGD-PT ( $476 \pm 192/\text{mm}^3$ ) apresentasse níveis estatisticamente maiores de eosinófilos em relação ao grupo CT ( $160 \pm 84/\text{mm}^3$ ), esses valores encontram-se dentro dos valores de referência já descritos na literatura (Babapulle 2003, Failace 2003).

Estudos experimentais têm mostrado que a eosinofilia ocorre entre a quinta e a sétima semanas após a exposição ao parasito e seria induzida por citocinas do tipo 2, como IL-4, IL-10, IL-13, IL-9 e, principalmente pela IL-5 (Cara et al. 2000, Davies et al. 2005). Diferentes estudos têm demonstrado que os eosinófilos são células que produzem grande número de citocinas e fatores de crescimento e podem desempenhar papel importante na resposta imune em infecções helmínticas (Ganley-Leal et al. 2006, Reimert et al. 2006, Swartz et al. 2006). Além disso, em modelos experimentais já foi demonstrada a importância dessas células no mecanismo de citotoxicidade *in vitro* contra o estágio larval do *S. mansoni* (Butterworth et al. 1974, Butterworth et al. 1975, Ramalho-Pinto et al. 1978, Veith & Butterworth 1983). Ovington & Behm (1997) demonstraram que entre os leucócitos, os eosinófilos são o tipo celular predominante em hospedeiros infectados por helmintos.

Uma propriedade particular dos eosinófilos é a sua capacidade de se apresentar sob diferentes estágios de ativação na circulação (Munitz & Levi-Schaffer 2004). Dessa forma, a migração direcionada de eosinófilos circulantes para o foco inflamatório depende de vários fatores, como a expressão de moléculas de co-estimulação, ativação, adesão celular e receptores de quimiocinas, bem como fatores quimiotáticos que favoreçam sua migração

(Pearlman et al. 1997, Tachimoto et al. 2000). Nesse estudo, foi investigado o perfil de ativação de eosinófilos circulantes de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, através da avaliação da expressão de moléculas co-estimuladoras, de ativação e adesão celular. Essa investigação mostrou um aumento de todas as moléculas co-estimuladoras avaliadas (CD28, CD80 e CD86) (**Figuras 15A, 15B e 15C**, respectivamente) em eosinófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, quando comparados aos indivíduos do grupo CT. Os dados obtidos assemelham-se aos de Silveira-Lemos et al. (2008) que mostrou aumento de CD28/CD80 em eosinófilos de pacientes portadores da fase intestinal crônica da esquistossomose. Alguns autores já demonstraram a expressão de CD28 e CD86 em eosinófilos cultivados na presença de fatores estimuladores de crescimento como IL-3, GM-CSF e IL-5 (Woerly et al. 1999, Celestin et al. 2001). Woerly et al. (2004) mostraram um aumento da expressão de CD28 e CD80 por eosinófilos do sangue periférico de pacientes com hipereosinofilia alérgica. Esses autores mostraram que de forma distinta aos linfócitos T, que necessitam de dois sinais para se tornarem ativados, eosinófilos tratados apenas com ligante de CD28 foram ativados e liberaram citocinas do Tipo 1 e 2, entretanto, o mesmo não foi observado quando o tratamento foi realizado com ligante de CD86. Além disso, em modelo experimental para esquistossomose, CD28 apresentou papel importante no desenvolvimento da resposta do Tipo 2, uma vez que camundongos deficientes em CD28 produziram menores quantidades de IL-4 e IL-5 na presença de antígenos de ovos de *S. mansoni*, quando comparados a camundongos que expressavam CD28 (King et al. 1996). Em outro estudo, Padigel et al. (2007) demonstraram que uma única inoculação de eosinófilos ligados a antígenos de *S. stercoralis* foi suficiente para ativar linfócitos T do Tipo 2 produtores de IL-4 e IL-5 em camundongos imunizados.

No presente estudo, foi observado também aumento da expressão de todas as moléculas de ativação avaliadas (CD23, CD25, HLA-DR e CD69) (**Figuras 15D, 15E, 15F e 15G**, respectivamente) em eosinófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT quando comparados aos indivíduos do grupo CT. Silveira-Lemos et al. (2008) mostrou aumento da expressão das moléculas CD23, CD25, HLA-DR e CD69 em eosinófilos de pacientes portadores da forma clínica intestinal da esquistossomose, sugerindo a ocorrência de ativação persistente dessas células durante a infecção pelo *S. mansoni*. De fato, Gopinath et al. (2000) relatam que durante a migração de eosinófilos para o sítio inflamatório, doenças alérgicas ou infecções parasitárias, essas células se tornam ativadas e aumentam a expressão

de CD25, HLA-DR e CD69, que são moléculas importantes na definição de um fenótipo de ativação celular. Em um estudo realizado por Ganley-Leal et al. (2006), os autores demonstraram que eosinófilos de pacientes infectados pelo *S. mansoni* apresentam associação entre a expressão do receptor de alta afinidade para IgE (FcεRI) e os marcadores CD25 e CD69, sugerindo que ocorra ativação dessas células durante a infecção. Plumas et al. (1991) mostraram que eosinófilos do sangue periférico de pacientes com síndrome hipereosinofílica sintetizam e expressam CD25, sugerindo que em processos de estimulação antigênica contínua, como no caso da esquistossomose, essas células apresentam o fenótipo de ativação celular com o intuito de eliminar novas infecções ou participar do processo de eliminação de ovos retidos nos tecidos. Outra molécula importante no processo de ativação de eosinófilos é CD23 (receptor para IgE - FcεRII). Estudos já mostraram que a presença de receptores para IgE em eosinófilos está relacionada à resposta imune mediada por IgE, incluindo citotoxicidade contra parasitos e agentes alergênicos (Capron et al. 1991). Monteseirin et al. (1996) demonstraram que a expressão de CD23 na superfície de eosinófilos é um achado frequente, seguido da ativação dessas células por IgE, representando um fator importante para a função efetora mediada por eosinófilos dependente de IgE. Em um estudo realizado por Silveira-Lemos et al (2008), esses autores mostraram aumento dessa molécula em eosinófilos de pacientes portadores da forma crônica da esquistossomose apresentando fibrose periportal, sugerindo que eosinófilos desses pacientes desempenhariam seu papel através do mecanismo de citotoxicidade dependente de anticorpo (A.D.C.C.), dessa forma, esse processo poderia contribuir para imunidade protetora ou patologia da infecção pelo *S. mansoni*. Diferentes estudos em modelo experimental para esquistossomose mostraram que grânulos protéicos liberados por eosinófilos através do processo de A.D.C.C. podem ser tóxicos para esquistossômulos e contribuir na imunidade protetora (Ramalho-Pinto et al. 1978, Capron et al. 1979, Klion & Nutman 2004). No entanto, outros trabalhos mostraram que os grânulos liberados por eosinófilos podem ter efeito citolítico em tecidos e células saudáveis do hospedeiro e, dessa forma, contribuir na indução da patologia (Gleich et al. 1979, Capron & Capron 1992, Cara et al. 2000, Klion & Nutman 2004).

No presente estudo, a avaliação das moléculas de adesão celular (CD62L, CD11a, CD13, CD18, CD44 e CD54) mostrou aumento de CD11a, CD18, CD44 e CD54 (**Figuras 15J, 15 L, 15M e 15N**, respectivamente) em eosinófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, quando comparados aos indivíduos do grupo CT. Trabalhos realizados com



pacientes portadores da forma clínica intestinal da esquistossomose mostraram aumento da expressão de CD18 e CD54 (Silveira-Lemos et al. 2006) e diminuição da expressão de CD44, quando comparados aos indivíduos não infectados (Silveira-Lemos 2008). Segundo Rothenberg (2003), CD44 apresenta diferentes funções em populações celulares distintas. Katoh et al. (2003) mostraram que CD44 exerce um papel essencial no recrutamento de linfócitos do Tipo 2 e eosinófilos durante processos alérgicos. De acordo com alguns autores, eosinófilos expressam constitutivamente algumas integrinas, como CD11a/CD18, CD11b/CD18, CD11c/CD18 (gp150,95) e CD49d/CD29 (VLA-4) (Hartnell et al. 1990, Walsh et al. 1991). Essas moléculas interagem com seus ligantes, CD54 (ICAM-1) e a molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1), respectivamente, promovendo adesão e transmigração de eosinófilos pelo endotélio celular (Kyan-Aung et al. 1991, Ebisawa et al. 1992, Tosi et al. 1992). Além disso, evidências sugerem que moléculas de adesão celular exercem um importante papel sobre as funções eosinofílicas, como desgranulação e produção de superóxidos aniônicos (Horie et al. 1997). Esses autores demonstraram que a expressão de CD54 em eosinófilos está relacionada ao processo de desgranulação eosinofílica, através da interação dessa molécula com  $\beta$ 2-integrinas. Nesse contexto, é possível especular que o aumento dessas moléculas na superfície de eosinófilos do grupo AGD-AT está contribuindo para o processo de ativação celular e posterior migração para o foco inflamatório.

No presente estudo foi observado também aumento da molécula CD64 (Fc $\gamma$ RI – receptor Fc para IgG) na superfície de eosinófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT quando comparados aos indivíduos do grupo CT. De acordo com alguns autores, receptores Fc para IgG (Fc $\gamma$ R) participam de importantes processos celulares durante a invasão de agentes infecciosos, como desgranulação, explosão respiratória, fagocitose, eliminação de imunocomplexos e A.D.C.C. (Unkeless 1989, Fanger et al. 1989). Em um estudo realizado por Hartnell et al. (1992), os autores demonstraram que a citocina IFN- $\gamma$  promove a indução da expressão dos receptores Fc $\gamma$ RI (CD64) e Fc $\gamma$ RIII (CD16) em eosinófilos humanos. De acordo com dados já descritos na literatura, durante a fase aguda da esquistossomose mansoni ocorre alta produção de IFN- $\gamma$  (Montenegro et al. 1999, De Jesus et al. 2002, Silveira-Lemos 2004). Dessa forma, pode-se inferir que o aumento de CD64 na superfície de eosinófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT está associado à alta produção de IFN- $\gamma$  e que o aumento da expressão dessa molécula pode contribuir para o desenvolvimento de mecanismos de defesa do hospedeiro contra o *S. mansoni*, como

desgranulação eosinofílica e A.D.C.C. Após quimioterapia específica com praziquantel, quando o grupo AGD-PT foi comparado ao grupo CT, poucas alterações imunofenotípicas foram observadas (aumento das moléculas CD28, CD86 e CD18) na população de eosinófilos, sugerindo que o tratamento pode promover reversibilidade das alterações imunofenotípicas nessa população celular.

A formação do granuloma envolve uma interação coordenada entre monócitos e macrófagos, células epiteliais, linfócitos, eosinófilos, neutrófilos e fibroblastos (Oloris et al. 2007). Estudos recentes têm mostrado que em infecções helmínticas, neutrófilos são também ativados e recrutados para o sítio de infecção (Morimoto et al. 2004, Anthony et al. 2006). Segundo Anthony et al. (2007) é possível que esse tipo celular esteja envolvido em mecanismos de resistência contra a infecção pelo parasito *Heligmosomoides polygyrus*. Recentemente, Galioto et al. (2006) mostrou que neutrófilos são capazes de destruir larvas de *S. stercoralis*. Os autores observaram que durante a infecção experimental pelo *S. stercoralis* neutrófilos foram rapidamente recrutados ao sítio de infecção, provocando a morte das larvas do parasito. Cada vez mais essa população celular é reconhecida como componente importante no desenvolvimento de uma resposta imunológica do Tipo 2 em infecções helmínticas (Antony et al. 2007). Segundo esses autores, após migrarem para o foco de infecção, neutrófilos e outras populações celulares, como eosinófilos e macrófagos atuam em coordenação, podendo provocar a morte de helmintos e outros agentes agressores. Nesse contexto, foi investigado no presente estudo, o perfil de ativação de neutrófilos circulantes de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, através da avaliação da expressão de moléculas co-estimuladoras, de ativação e adesão celular. Essa investigação mostrou aumento de todas as moléculas de co-estimulação avaliadas (CD28, CD80 e CD86) (**Figuras 17A, 17B e 17C**, respectivamente) em neutrófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, quando comparados aos indivíduos do grupo CT. Em um estudo realizado por Venuprasad et al. (2001), esses autores mostraram a expressão de CD28 na superfície de neutrófilos do sangue periférico humano e sugeriram que essa molécula poderia desempenhar um importante papel na regulação da expressão de IL-8RA (receptor para IL-8) e migração de neutrófilos. Em outro trabalho realizado por Venuprasad et al. (2002), os autores demonstraram que macrófagos infectados por *Leishmania major* liberam quimiocinas, como IL-8, promovendo o recrutamento de neutrófilos para o foco de infecção. No foco de infecção esses neutrófilos, via CD28, interagem com CD80 e CD86 presentes na superfície

dos macrófagos infectados, promovendo a secreção de IFN- $\gamma$  que irá restringir o crescimento da *Leishmania*. Alguns autores já demonstraram que neutrófilos humanos estimulados com IFN- $\gamma$  ou via CD11b tornam-se ativados e apresentam indução da expressão de CD80 e CD86 (Iking-Konert et al. 2001, Sandilands et al. 2005). Silveira-Lemos (2004) mostrou que linfócitos TCD4<sup>+</sup> e TCD8<sup>+</sup> de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, apresentando eosinofilia acentuada, quando estimulados por SEA, produzem maiores quantidades de IFN- $\gamma$  em relação aos indivíduos não infectados. Diante do exposto é possível inferir, que IFN- $\gamma$  produzido durante a fase aguda da esquistossomose promoveria aumento da expressão de moléculas co-estimuladoras, contribuindo para ativação de neutrófilos e posterior migração para o foco inflamatório.

Nesse estudo, avaliação de moléculas de ativação (CD23, CD25, HLA-DR e CD69) mostrou aumento da expressão das moléculas CD23 e CD69 (**Figuras 17D e 17G**, respectivamente) em neutrófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, quando comparados aos indivíduos do grupo CT. Segundo Ziegler et al. (1994), CD69 é um dos primeiros marcadores de superfície celular a ser expresso por neutrófilos após ativação. Gavioli et al. (1992) demonstraram que a ativação de neutrófilos via CD69 promove influxo intracelular de cálcio (Ca<sup>2+</sup>), e consequente liberação de lisozima, sugerindo que CD69 exerce um papel importante na regulação da exocitose de grânulos em neutrófilos. Atzeni et al. (2002) mostrou que GM-CSF, IFN- $\gamma$  e IFN- $\alpha$  promovem a expressão de CD69 por neutrófilos humanos. Estes autores mostraram que em processos inflamatórios, como a artrite reumatóide, o GM-CSF presente no líquido sinovial de pacientes acometidos pela doença pode ser o principal fator responsável pela indução de CD69 na superfície de neutrófilos sinoviais (Atzeni et al. 2002) e que a estimulação simultânea de neutrófilos com GM-CSF, lipopolissacarídeos (LPS) e anti-CD69 induz a produção de TNF- $\alpha$ . Silveira-Lemos (2004) mostrou que neutrófilos de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, quando estimulados por SEA, produzem maiores quantidades de TNF- $\alpha$  em relação a indivíduos não infectados. Dessa forma, é possível sugerir que a expressão de CD69 na superfície de neutrófilos seja um importante componente da reação inflamatória que se desenvolve durante a forma clínica aguda da esquistossomose mansoni.

A importância de CD23 em processos inflamatórios tem sido descrita por vários autores. Segundo Aubry et al. (1992), CD23 pode interagir com CD21 e promover a interação célula-célula, sobrevivência de células B nos centros germinativos, liberação de histamina e

regulação da síntese de IgE. Lecoanet-Henchoz et al. (1995) mostraram que CD23 pode também interagir com  $\beta$ 2-integrinas (CD11b/c) e promover a liberação de mediadores inflamatórios. Além disso, Vella et al. (1999) demonstraram que neutrófilos de pacientes com artrite reumatóide são capazes de expressar CD23 *in vitro*. Em um estudo realizado por Yamaoka et al. (1996), os autores demonstraram que citocinas do Tipo 2, como GM-CSF e IL-4 são capazes de induzir a expressão de CD23 na superfície de neutrófilos. Na esquistossomose, após exposição às larvas do *S. mansoni*, ocorre um aumento de IL-5 e outras citocinas como, IL-1, IL-3, GM-CSF e G-CSF (Clutterbuck et al. 1989, Weller 1992). Dessa forma, pode-se inferir que o aumento de determinadas citocinas, como GM-CSF, durante a forma clínica aguda da esquistossomose poderia promover o aumento da expressão de CD23 na superfície de neutrófilos.

Nesse trabalho, a avaliação das moléculas de adesão celular (CD62L, CD11a, CD13, CD18, CD44 e CD54) mostrou aumento de CD44 e CD54 (**Figuras 17M e 17N**, respectivamente) em neutrófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT quando comparados aos indivíduos do grupo CT. O recrutamento de neutrófilos para tecidos inflamados tem sido bem descrito na literatura. Esse processo envolve uma série de moléculas de adesão que atuam de forma interdependente, permitindo a rápida migração dessas células para o foco inflamatório (Carlos & Harlan 1994, Khan, Landis & Malhotra 2003). Segundo alguns autores, a ligação do CD44 presente na superfície de neutrófilos ao seu ligante, o ácido hialurônico, induz ativação celular, constituindo um passo importante para o recrutamento celular durante processos inflamatórios. Vários estudos têm mostrado a importância de CD44 na motilidade e recrutamento de neutrófilos (Reinhardt & Kubes 1998, Si-Tahar et al. 2001, Teder et al. 2002). Em um trabalho realizado por Khan et al. (2004), os autores demonstraram que CD44 desempenha um papel importante na adesão e transmigração de neutrófilos pelo endotélio, e esse processo é dependente de ácido hialurônico. Neutrófilos podem utilizar múltiplos mecanismos para aderirem ao endotélio, geralmente utilizando a via das integrinas, incluindo  $\beta$ 2-integrinas (Ebnet & Vestweber 1999, Khan & Kubes 2003). No entanto, sob certas condições, podem utilizar mecanismos de adesão independente da via das  $\beta$ 2-integrinas (Johnston & Kubes 1999). Segundo Takashi, Okubo & Horie (2001), processos inflamatórios e rejeição de aloenxerto podem induzir a expressão de CD54 em leucócitos, fibroblastos e células endoteliais. Essa molécula liga-se às  $\beta$ 2-integrinas, CD11a/CD18 (LFA-1) (Marlin & Springer 1987) e CD11b/CD18 (Mac-1) (Diamond et al. 1990), e promove adesão de

leucócitos ao endotélio. No entanto, em um estudo realizado por Sans, Delachanal & Duperray (2001), os autores demonstraram que a interação CD54/fibrinogênio, na ausência de outras moléculas de adesão, foi capaz de mediar todo o processo de transmigração de neutrófilos. O mecanismo pelo qual essa interação promove aumento da transmigração de neutrófilos permanece desconhecido. Hicks et al. (1996) mostraram que a ligação CD54/fibrinogênio promove o início de vias de sinalização, levando a síntese de mediadores vasoativos. Diante do exposto, é possível especular que o aumento da expressão de CD44 e CD54 na superfície de neutrófilos está contribuindo para o processo de ativação e adesão dessa população celular ao endotélio, promovendo o recrutamento para o foco inflamatório. Após quimioterapia específica com praziquantel, quando o grupo AGD-PT foi comparado ao grupo CT, não foi observado aumento de nenhum marcador de superfície celular. Por outro lado, observou-se que alguns marcadores, como CD25, HLA-DR, CD64, CD62L, CD13 do grupo AGD-PT apresentaram níveis de expressão estatisticamente menores que o grupo CT. Nesse caso é possível especular que apesar da diferença observada, os níveis de expressão dessas moléculas estariam dentro dos valores de referência. Estudos que avaliam valores de referência para determinados marcadores de superfície vêm sendo realizados em nosso laboratório e futuramente fornecerão parâmetros de comparação para esse tipo de abordagem.

A reação inflamatória granulomatosa, em resposta aos antígenos do ovo de *S. mansoni* é progressivamente substituída por uma reação fibrótica, e esses eventos são vistos como principal fator envolvido na patogênese da esquistossomose (Cheever et al. 2002, Stadecker et al. 2004). De acordo com alguns autores, inicialmente o granuloma é caracterizado por um intenso infiltrado celular e alta produção de citocinas (Boros, Pelley & Warren 1975, Boros 1989). A participação de linfócitos TCD4<sup>+</sup> na reatividade granulomatosa durante a esquistossomose humana já foi demonstrada por diversos autores (Mathew & Boros 1986, Doughty et al 1987, Iacomini, Ricklan & Stadecker 1995). Durante a infecção pelo *S. mansoni* dois subtipos de linfócitos TC4<sup>+</sup>, Tipo 1 e Tipo 2, com funções distintas já foram descritos (King et al. 1996). As células Tipo 1 são produtoras de IFN- $\gamma$ , IL-2 e TNF- $\alpha$  e auxiliam, principalmente, a resposta imune celular. As células Tipo 2 são produtoras das citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 e auxiliam a resposta imune humoral (Mosmann & Moore 1991, Malaquias et al. 1997, Chiamonte et al. 1999). Como estas células exercem uma modulação entre si, por intermédio do IFN- $\gamma$ , que suprime a resposta Tipo 2 e de IL-10, que suprime a resposta Tipo 1, muitos autores buscam o entendimento dos mecanismos de

resistência às doenças, bem como da patogênese pela imunomodulação entre esses dois tipos celulares. No curso da infecção pelo *S. mansoni* em camundongos, inicialmente ocorre uma resposta imune Tipo 1, substituída por Tipo 2 após a oviposição, mostrando que IL-10 exerce papel importante no controle do processo inflamatório durante a infecção experimental (Mosmann & Moore 1991, Pearce et al. 1991, 1998, Wynn et al. 1998, Hoffmann et al, 2000).

Alguns autores já demonstraram que a resposta imune humana predominante no período pré-postural da forma clínica aguda é do Tipo 1, com alta produção de IFN- $\gamma$  e baixa de IL-5, sendo a produção de IL-10 baixa nesse período (Montenegro et al. 1999, De Jesus et al. 2002) e elevada no período pós-postural (Montenegro et al. 1999, De Jesus et al. 2002, Silveira-Lemos 2004). De fato, a forma clínica aguda da esquistossomose é rara em indivíduos de área endêmica e sabendo que esses indivíduos apresentam a forma crônica da doença com uma resposta predominantemente do Tipo 2, caracterizada por IL-4, IL-5 e IL-10 (Araújo et al. 1996, Malaquias et al. 1997, Falcão et al. 1998), pode-se inferir que a resposta do Tipo 1 seja mediadora de lesão tecidual e responsável pelo quadro clínico da esquistossomose aguda. Apesar dos dados já publicados na literatura, poucos estudos mostram uma associação entre a sintomatologia clínica da forma aguda com marcadores imunológicos que expliquem sua patogênese.

Dessa forma, no presente trabalho foi realizada uma análise do número absoluto de linfócitos T (CD3<sup>+</sup>), linfócitos T auxiliares (CD4<sup>+</sup>) e linfócitos T citotóxicos/supressores (CD8<sup>+</sup>) do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose. Essa análise mostrou aumento do número de linfócitos T (**Figura 19A**) do grupo AGD-AT, quando comparado aos indivíduos do grupo CT, representado pelo aumento de linfócitos TCD4<sup>+</sup> e TCD8<sup>+</sup> (**Figura 19B e 19C**, respectivamente).

Considerando a importância dos linfócitos na resposta imune contra o *S. mansoni*, nesse estudo foi também investigado o perfil de ativação de linfócitos T circulantes de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose, através da avaliação da expressão de moléculas co-estimuladoras, de ativação e adesão celular. A análise da molécula co-estimuladora CD28 em linfócitos T do sangue periférico mostrou aumento de linfócitos TCD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> do grupo AGD-AT (**Figura 20A**) em relação aos indivíduos do grupo CT, contrastando com dados obtidos por Martins-Filho et al. (1999), porém numa avaliação realizada com valores percentuais, que observaram diminuição do percentual dessa molécula por linfócitos TCD4<sup>+</sup> do sangue periférico de pacientes portadores da forma clínica aguda da

esquistossomose, quando comparado ao grupo controle. Entretanto, essa diminuição não foi detectada quando os autores realizaram a análise da razão  $CD4^+CD28^+/CD4^+$ , sugerindo que a capacidade funcional dos linfócitos  $TCD4^+$  estaria preservada durante a infecção pelo *S. mansoni*. De acordo com alguns autores, CD28 e seus ligantes B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) são moléculas acessórias e a interação CD28/B7 seria o principal evento co-estimulador envolvido na ativação primária de linfócitos T (Thompson et al. 1989, Lenschow et al. 1996, Margulies 2003, Acuto et al. 2003). Em um estudo realizado por Groux et al. (1992), os autores mostraram que na ausência de co-estimulação pode ocorrer anergia celular ou morte por apoptose. Diante dos resultados obtidos no presente estudo, é possível especular que o aumento da expressão de CD28 em linfócitos T  $CD4^+$  do grupo AGD-AT estaria contribuindo para o processo de ativação primária de linfócitos T, através da interação CD28/B7.

No presente trabalho, a avaliação do perfil de moléculas de ativação (CD25, HLA-DR e CD69) em linfócitos T mostrou aumento de CD25 (**Figura 20B**) e HLA-DR (**Figura 20C**) em linfócitos  $TCD4^+$  e aumento de CD69 (**Figura 22C**) em linfócitos  $TCD8^+$  do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, quando comparados aos indivíduos do grupo CT. Os dados obtidos para linfócitos  $TCD4^+$  assemelham-se aos de Martins-Filho et al. (1999) que demonstraram que pacientes portadores da forma clínica aguda apresentam aumento do percentual de linfócitos  $TCD4^+HLA-DR^+$ . De acordo com alguns autores, o aumento do número de linfócitos  $TCD4^+$  ativados é consistente com a alta reatividade celular observada durante a forma clínica aguda da esquistossomose (Gazzinelli et al. 1985). Além disso, Martins-Filho (1997) mostrou que a ativação de linfócitos  $TCD4^+$ , durante a infecção pelo *S. mansoni*, seria crucial para o desenvolvimento de uma forma clínica mais grave da doença. Rumbley et al. (1998), em um estudo da infecção experimental pelo *S. mansoni*, demonstraram que linfócitos derivados de granulomas hepáticos apresentam maior expressão das moléculas CD69, que é um marcador de ativação inicial, e CD25, que é um marcador de ativação tardia, porém mais funcional. De acordo com esses resultados, os autores sugeriram que durante a formação do granuloma na infecção pelo *S. mansoni*, a produção de citocinas e aumento da expressão das moléculas de ativação (CD69 e CD25), promoveriam o recrutamento e ativação de linfócitos.

O *S. mansoni* é um parasito extracelular, sendo assim, de acordo com os mecanismos de processamento e apresentação de antígenos extracelulares já descritos (Brodsky & Guagliardi 1991) espera-se que não induza a ativação de  $LTC8^+$ . No entanto, no presente

estudo foi observada ativação de linfócitos TCD8<sup>+</sup> pelo aumento da expressão de CD69 na superfície dessas células. Segundo Shibata et al. (2005), a ligação do ligante de CD69 na superfície de células T promove a ativação dessas células através da elevação de Ca<sup>2+</sup> intracelular. Alguns estudos têm demonstrado que linfócitos T CD8<sup>+</sup>, em doenças infecciosas, podem ser ativados por antígenos extracelulares (Den Haan & Bevan 2001, Manfras et al. 2002), através da estimulação antigênica persistente ou pela influência de citocinas presentes no foco inflamatório. No entanto, outros autores acreditam que essa ativação possa ser provocada pela apresentação de antígenos extracelulares aos linfócitos T CD8<sup>+</sup> por meio da interação com células apresentadoras de antígenos via MHC de classe I (Grant & Rock 1992, Rock et al. 1991, 1993, Larsson et al. 2001). Diante do exposto é possível inferir que antígenos secretados pelo ovo do *S. mansoni* ou a interação com células apresentadoras de antígenos estariam promovendo a ativação dos linfócitos T CD8<sup>+</sup> dos pacientes do grupo AGD-AT.

A investigação das moléculas de adesão celular, CD62L e CD18, mostrou aumento de linfócitos TCD4<sup>+</sup>CD62L e TCD4<sup>+</sup>CD18<sup>+</sup> (**Figuras 20E e 20F**, respectivamente) e aumento de linfócitos TCD8<sup>+</sup>CD18<sup>+</sup> (**Figuras 22F**) no sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, quando comparados aos indivíduos do grupo CT. Em um estudo realizado por Langley & Boros (1995), os autores mostraram que o bloqueio de LFA-1 (CD11a/CD18) e CD54 inibe a resposta linfoproliferativa, bem como a produção das citocinas IL-2 e IL-4, que são cruciais nos eventos iniciais de formação do granuloma (Cheever et al. 1992; Lukacs & Boros 1993). Linfócitos T expressando receptor  $\gamma\delta$  (TCR) compreendem uma pequena fração de linfócitos T em órgãos linfóides e sangue periférico humano (Groh et al. 1989). De acordo com alguns autores, essas células expressam a molécula de adesão CD62L (Jutila & Kurk 1996, Wilson et al. 1999, Waters et al. 2003) e estudos realizados *in vitro* já demonstraram que essa população celular apresenta elevada capacidade de transmigração, através de células endoteliais (Galéa et al. 1994). Além disso, Wilson et al. (1999), demonstraram que linfócitos T  $\gamma\delta$  CD62L<sup>HIGH</sup> migram de forma mais eficiente para tecidos inflamados, quando comparados com linfócitos T  $\gamma\delta$  CD62L<sup>LOW</sup>, sugerindo que a expressão de CD62L exerce papel crucial na transmigração de linfócitos T durante processos inflamatórios (Costa et al. 2009). Dessa forma, cabe especular que o aumento do número dessas moléculas em linfócitos T dos pacientes do grupo AGD-AT estaria contribuindo para a ativação e adesão dessas células ao endotélio e posterior migração ao foco inflamatório. Após quimioterapia específica com praziquantel, quando o



grupo AGD-PT foi comparado ao grupo CT, poucas alterações imunofenotípicas foram observadas, como aumento de CD18 na população de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, sugerindo que o tratamento pode promover reversibilidade das alterações imunofenotípicas nessa população celular.

No contexto do processo de desenvolvimento e regulação da resposta imune, tem-se mostrado que algumas células apresentam essa atividade e podem ser identificadas através de marcadores específicos. Essas células denominadas T reguladoras (T<sub>REG</sub> - CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> HIGH) podem atuar no controle e regulação de diversas respostas imunológicas como, doenças auto-imunes, transplantes de órgãos e doenças infecciosas (Baecher-Allan et al. 2001, Sakaguchi 2005, Levings et al. 2006). Em doenças infecciosas, células T<sub>REG</sub> podem ser induzidas pela apresentação antígeno-específica e são responsáveis por suprimir a destruição tecidual. Na esquistossomose experimental, Singh et al. (2005) demonstraram que células T<sub>REG</sub> podem controlar as respostas do Tipo 1 e 2 e estão associadas com a regulação da formação do granuloma. No presente estudo, a análise de células CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> HIGH com provável fenótipo regulador mostrou quantidades similares dessa população celular no sangue periférico de pacientes dos grupos CT, AGD-AT e AGD-PT (**Figura 21**). Dados realizados por nosso grupo demonstraram que pacientes portadores da forma clínica intestinal apresentam uma frequência maior de linfócitos T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> HIGH quando comparados àqueles portadores das outras formas clínicas da doença, incluindo os pacientes portadores da fase aguda (Castro-Silva 2006, Teixeira-Carvalho et al. 2008). Nesse contexto, é possível inferir que linfócitos T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> HIGH dos pacientes do grupo AGD-AT ou estariam em número insuficiente ou teriam sua atividade suprimida pela secreção de citocinas pró-inflamatórias e, dessa forma, não estariam atuando na regulação da resposta imunológica dos pacientes do grupo AGD-AT.

O processo imune relacionado à infecção pelo *S. mansoni* é complexo e envolve vários mecanismos de ativação e regulação. Esses mecanismos são dependentes tanto de fatores solúveis, como da expressão de receptores celulares que promovem a interação entre células. A expressão de quimiocinas e seus receptores têm, certamente, papel central na regulação e na variação da amplitude dos processos fisiológicos e patológicos, incluindo o tráfego homeostático, inflamatório, hematopoiético, angiogênico, crescimento tumoral e infecção viral (Sallusto et al. 2000, Ono et al. 2003). Considerando que receptores de quimiocinas são elementos fundamentais para ativação e migração de leucócitos para o foco inflamatório, torna-se relevante avaliar a expressão desses receptores na superfície de leucócitos circulantes

do sangue periférico dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni. Essa análise pode contribuir para melhor compreensão da migração de leucócitos e de que forma essas células atuam no estabelecimento/manutenção dos processos imunológicos associados à forma clínica aguda da infecção pelo *S. mansoni*.

No presente estudo, foi observado aumento da expressão dos receptores de quimiocinas CCR2 (**Figura 16A**), CCR3 (**Figura 16C**) e CXCR3 (**Figura 16D**) na superfície de eosinófilos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, quando comparados ao grupo CT. Silveira-Lemos (2008) demonstrou que eosinófilos de pacientes portadores da forma clínica intestinal da esquistossomose também apresentam aumento da expressão de CCR3. Segundo alguns autores, CCR3 é o principal receptor de quimiocinas envolvido no recrutamento de eosinófilos (Sabroe et al. 1999, Zimmermann et al. 2000, Gurish et al. 2002) e após a ligação de eotaxina a esse receptor, uma série de eventos é desencadeada, como liberação de cálcio, ativação de proteínas quinases ativadoras de mitógeno (MAPK), mudanças relacionadas com a resposta quimiotática e liberação de grânulos (Tenscher et al. 1996, Sabroe et al. 1999, Boehme et al. 1999, Lukacs 2001). Em um estudo experimental realizado por Li et al. (2003), os autores demonstraram que eosinófilos de camundongos infectados pelo *S. japonicum* apresentam alta expressão de CXCR3. Baseado nesses resultados, eles sugeriram que a ligação de CXCR3 aos seus ligantes, MIG/CXCL9 e IP-10/CXCL10, promove o recrutamento de eosinófilos para o foco inflamatório, contribuindo para a formação do granuloma. Diante dos resultados obtidos no presente trabalho, é possível sugerir que eosinófilos de pacientes do grupo AGD-AT migrariam para o foco inflamatório, utilizando a via dos receptores CCR2, CCR3 e CXCR3.

Nesse trabalho foi observado também aumento da expressão dos receptores CCR5 (**Figura 23B**), CCR3 (**Figura 23C**) e CXCR3 (**Figura 23D**) na superfície de linfócitos totais do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, quando comparados ao grupo CT. Por outro lado, foi observada diminuição da expressão de CCR2 na superfície de linfócitos de pacientes do grupo AGD-AT, em relação ao grupo CT. Recentes avanços na análise de receptores de quimiocinas demonstraram que sua expressão é um importante evento na diferenciação e polarização da resposta imune mediada por linfócitos T e na diferenciação da resposta imune para Tipo 1 e Tipo 2 (Bonecchi et al. 1998, Sallusto, Lanzavecchia & Mackay 1998). A expressão dos receptores CXCR3, CCR1 e CCR5 tem sido associada a uma resposta do Tipo 1. Por outro lado, os receptores CCR3, CCR4 têm sido associados a uma resposta do

Tipo 2; CCR2, a uma resposta do Tipo 0, enquanto, CXCR4 e CCR7 estão relacionados aos linfócitos T não primados por antígeno (Sallusto et al. 1998). Em outro estudo também realizado por Silveira-Lemos (2004), a autora mostrou que linfócitos TCD4<sup>+</sup> de pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose apresentam aumento da expressão de CCR2 e CCR5. Baseado nesses resultados e nos resultados da avaliação de citocinas intracitoplasmáticas em linfócitos TCD4<sup>+</sup>, que mostrou um perfil preferencialmente do Tipo 2, a autora sugeriu que os pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose apresentam um perfil misto de resposta imunológica. Uma possível explicação para os dados conflitantes de CCR2 observados no presente estudo com aqueles observados por Silveira-Lemos (2004) seriam diferenças clínicas apresentadas pelos dois grupos, uma vez que os pacientes avaliados por Silveira-Lemos (2004) não apresentaram nenhuma alteração ultrassonográfica hepática ou esplênica. Nesse contexto, os resultados obtidos no presente estudo permitem especular que os pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose também apresentam um perfil misto de resposta imunológica, sendo caracterizado pelo aumento do número de linfócitos totais positivos para CCR5 e CXCR3 (receptores associados à resposta do Tipo 1) e CCR3 (receptor associado à resposta do Tipo 2). Após quimioterapia específica com praziquantel, quando o grupo AGD-PT foi comparado ao grupo CT, poucas alterações imunofenotípicas em receptores de quimiocinas foram observadas, como aumento de CCR2 e CXCR3 na população de eosinófilos e diminuição de CCR5, CCR3 e CXCR3 na população de neutrófilos, sugerindo que o tratamento pode promover reversibilidade dessas alterações imunofenotípicas.

Segundo alguns autores, o praziquantel combate a infecção pelo *S. mansoni* através de dois mecanismos de ação, paralisia do verme adulto e dano tegumentar. Esse último mecanismo pode provocar liberação de antígenos, em consequência da destruição ou morte do parasito, levando a alterações da resposta imunológica, como a troca de classe de IgA para IgG (Mutapi et al. 1998) e produção de citocinas (Reimert et al. 2006). Entretanto, são escassas as comparações detalhadas dessas alterações imunológicas após a quimioterapia. de Souza et al. (2007) avaliaram pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose antes e após terapêutica específica com oxamniquine e mostraram que antes do tratamento esses pacientes apresentavam leucocitose com eosinofilia e altos níveis de IgE total. Após a quimioterapia, os autores observaram diminuição estatística do número absoluto de eosinófilos e dos níveis de IgE total. Outro achado importante desse estudo foi o aumento dos

níveis de IFN- $\gamma$  após quimioterapia específica com oxamniquine, sugerindo que o tratamento induz uma resposta do Tipo 1 *in vitro*. No entanto, é desconhecido o papel protetor dessa resposta, de forma que novos estudos deverão ser conduzidos para comprovar essa hipótese. Em um estudo realizado por Martins-Leite et al (2008), os autores avaliaram o papel de citocinas do Tipo 1 (IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ), do Tipo 2 (IL-4 e IL-13) e reguladoras (IL-10 e TGF- $\beta$ ) no desenvolvimento de fibrose periportal em pacientes cronicamente infectados pelo *S. mansoni* e o impacto que a quimioterapia específica com praziquantel teria nesse contexto. Os resultados dessa análise mostraram que após o tratamento, pacientes com fibrose periportal regrediram o grau de fibrose apresentado e apresentaram maior produção de IL-4 e IL-13 e menor de IFN- $\gamma$  quando comparados aos pacientes sem fibrose, sugerindo que essas citocinas estariam envolvidas nos mecanismos de desenvolvimento de fibrose.

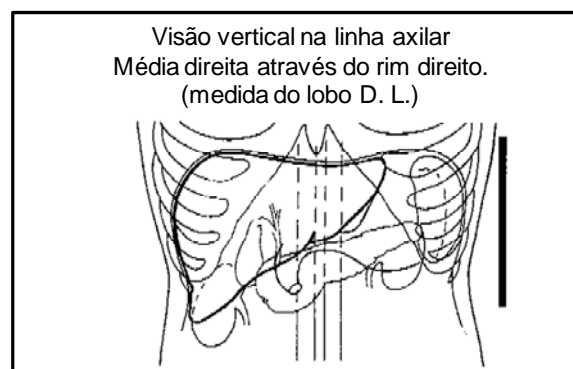
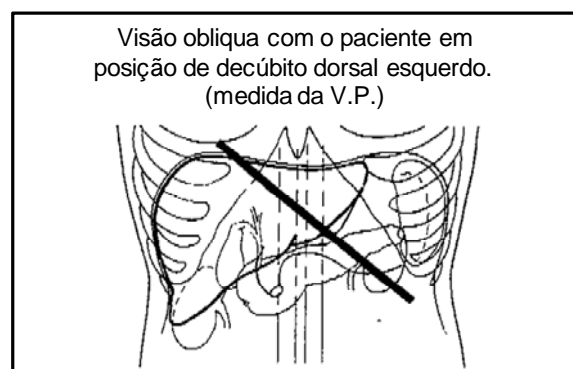
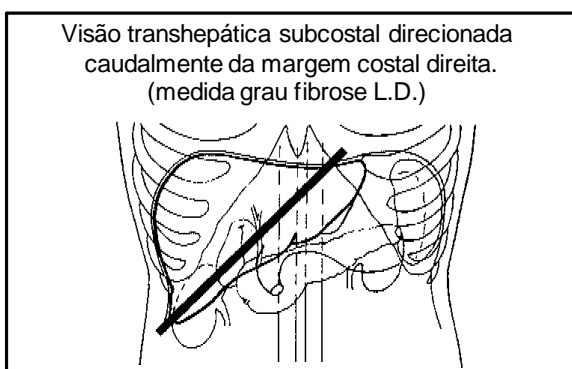
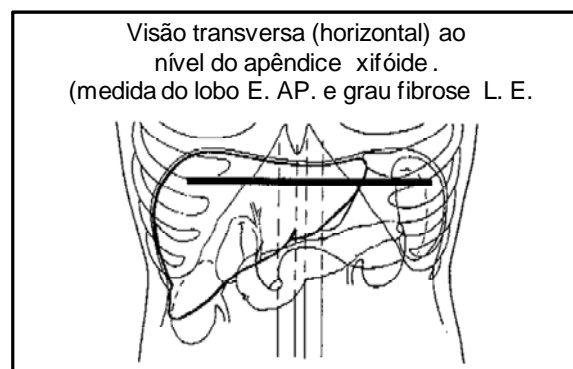
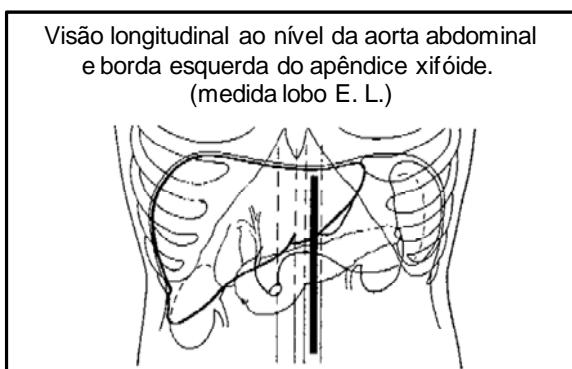
O presente estudo mostrou que após tratamento específico com praziquantel grande parte das alterações imunofenotípicas observadas em moléculas co-estimuladoras, de ativação e adesão celular de leucócitos circulantes dos pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose foram normalizadas, ou seja, pacientes tratados apresentaram níveis de expressão dessas moléculas semelhantes aos indivíduos do grupo CT. No entanto, quando pacientes do grupo AGD-PT foram comparados com indivíduos do grupo CT observou-se que algumas das alterações imunofenotípicas, apesar de menores, permaneceram após tratamento específico com praziquantel, sugerindo um impacto a longo prazo da terapêutica específica pós-fase aguda da infecção esquistossomótica sobre o estado geral dos pacientes. Por outro lado, foi observada também uma diminuição significativa da expressão de algumas moléculas do grupo AGD-PT em relação ao grupo CT. Nesse caso, como mencionado anteriormente, é possível especular que apesar da diferença observada, os níveis de expressão dessas moléculas estariam dentro dos valores de referência.



Após a realização desse estudo podemos concluir que a forma clínica aguda da esquistossomose é caracterizada por uma variedade de sinais/sintomas clínicos (dor de cabeça, febre, cólica abdominal, diarreia, tosse, emagrecimento, astenia) bem como alterações ultrassonográficas (hepatomegalia, esplenomegalia e fibrose periportal incipiente) que estão associados à infecção pelo *S. mansoni*. Esses achados são corroborados pela caracterização de eventos imunológicos, que ocorrem logo após a postura dos ovos do *S. mansoni*, e que ainda são pouco compreendidos. Nesse contexto, podemos destacar o aumento da expressão de moléculas co-estimuladoras, de ativação e de adesão celular e receptores de quimiocinas em eosinófilos, neutrófilos e linfócitos do sangue periférico de pacientes do grupo AGD-AT, sugerindo que durante a fase aguda da infecção esteja ocorrendo intensa ativação celular e o desencadeamento de processo inflamatório agudo, com consequente migração de leucócitos para o foco inflamatório.

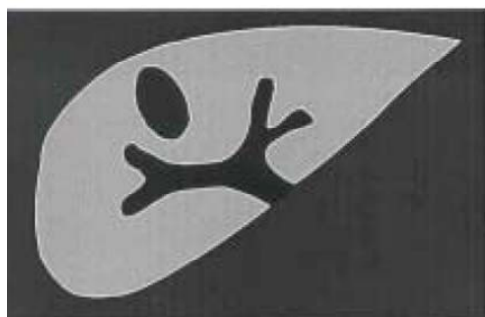
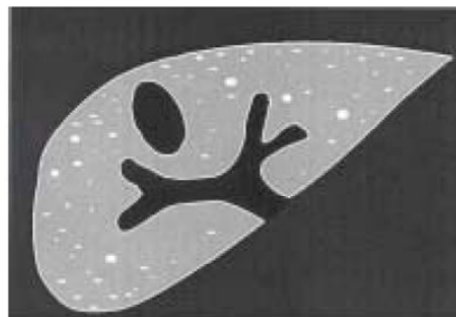
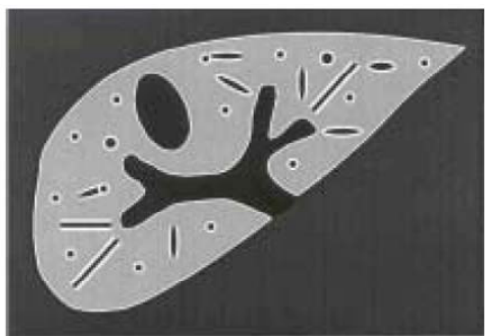
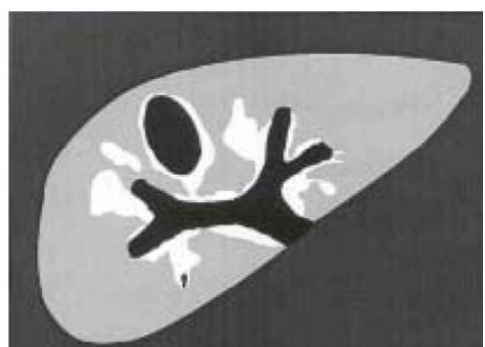
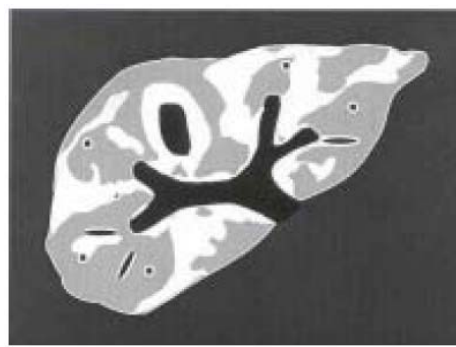
Contudo, embora, a maioria dos aspectos clínico-laboratoriais e imunofenotípicos avaliados dos pacientes do grupo AGD-AT retornaram à normalidade após quimioterapia específica com praziquantel, algumas alterações ultrassonográficas e imunológicas ainda permanecem, sugerindo impacto a longo prazo da terapêutica específica pós-fase aguda da infecção esquistossomótica sobre o estado geral dos pacientes.

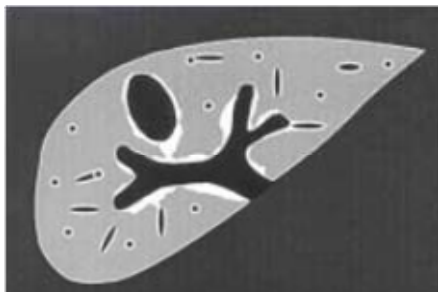


**ANEXO 1: Padronização das posições ultrassonográficas para exame do fígado, baço e veias porta e esplênica**

Protocolo do Cairo (TDR/SCH/ULTRASON/91.3)



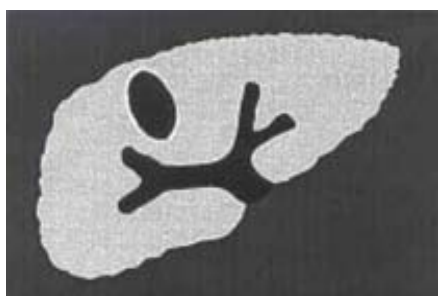
**ANEXO 2:** Imagens ultrassonográficas dos padrões do parênquima hepático*Padrões associados com a esquistossomose (A – F)***A:** Normal**B:** Focos ecogênicos difusos**C:** Fibrose periportal periférica**D:** Fibrose periportal central**E:** Fibrose periportal avançada**F:** Fibrose periportal muito avançada

**ANEXO 2: Imagens ultrassonográficas dos padrões do parênquima hepático***Padrões combinados (DC e EC)*

Padrão D + Padrão C



Padrão C + Padrão E

*Padrões não relacionados à esquistossomose*

Cirrose



Esteatose



Outras anormalidades

Protocolo publicado pela OMS (2000)

**ANEXO 3:** Ficha para realização do exame clínico**IDENTIFICAÇÃO**

Número:

Data:

Nome:

Idade:

Sexo:

Raça:

Estado civil:

Profissão:

Naturalidade:

Procedência:

Endereço:

Telefone:

Responsável ou contato:

**HISTÓRIA DA MOLÉSTIA ATUAL****Queixa principal:****Sintomas gerais**

Febre ( ) Calafrios ( ) Mialgias ( ) Emagrecimento ( ) Desânimo ( )

**Sintomas digestivos**Inapetência ( ) Dor torácica ( ) Vômitos ( ) Tenesmo ( ) Dor abdominal ( ) Dispepsia ( )  
Constipação intestinal ( ) Disenteria ( ) Enterorragia ( ) Diarréia ( ) Melena ( )  
Hematêmese ( )**Sintomas cardiopulmonares**Hemoptise ( ) Dor torácica ( ) Angina ( ) Palpitações ( ) Ortopnéia ( ) Dispnéia ( ) Tosse  
( ) Síncope ( ) Edema ( )**Sintomas neuropsíquicos**Adinamia ( ) Cefaléia ( ) Distúrbio do sono ( ) Coma ( ) Encefalopatia hepática ( )  
Convulsões ( )

---

## HISTÓRIA PREGRESSA

Tabagismo ( ) Etilismo ( ) Passado de hepatite ( ) A, B ou C    Outras parasitoses ( )

### Contato com as águas naturais ( )

Local:

Frequencia:

Datas:

Manifestações cutâneas imediatas?

Internações ( )

Cirurgias pregressas ( )

Medicamentos em uso:

Doenças concomitantes:

Gestações ( )

## HISTÓRIA FAMILIAR

Casos de esquistossomose na família:

Doenças heredofamiliares:

Filhos:

## HISTÓRIA SOCIAL

Condições habitacionais:

Situação econômica:

Grau de instrução:

## EXAME FÍSICO

Altura \_\_\_\_\_ Peso \_\_\_\_\_ Tipo morfológica \_\_\_\_\_

PA \_\_\_\_\_ Pulso \_\_\_\_\_

### Ectoscopia

Palidez cutâneo-mucosa ( ) Icterícia ( ) Cianose ( ) Edema ( ) Linfadenomegalias ( )

Aumento da tireóide ( ) Aranhas vasculares ( ) Eritema palmar ( )

Baqueteamento digital ( )

### Aparelho respiratório

Deformidades ( ) Roncos ( ) Sibilos ( ) Crepitações ( )

**Aparelho cardiovascular**

Edema ( ) Taquicardia ( ) Bradicardia ( ) Sopros ( ) \_\_\_\_\_

Desdobramentos ( ) \_\_\_\_\_

Arritmias ( ) \_\_\_\_\_

**Aparelho digestivo**

Ascite ( ) \_\_\_\_\_ Circulação coletaral ( ) \_\_\_\_\_

Fígado palpável ( ) Macicez hepática total \_\_\_\_\_

Baço palpável ( ) \_\_\_\_\_

**EXAMES COMPLEMENTARES**

Exame de fezes:

Exames de sangue:

Hemácias:

Hematócrito:

Leucócitos:

Plaquetas:

Ferro sérico:

Atividade de protrombina:

Bilirrubinas:

Proteínas:

Fosfatase alcalina:

HbsAg:

Anti HCV:

VDRL:

Anti HIV I e II:

Gasometria arterial:

Transaminases:

Gama-GT:

Glicemia:

Uréia:

Cretinina:

Potássio:

Sódio:

Mielograma:

Exame de urina:

Raio X do tórax:

Eco cardiograma (ECG):

Eletrocardiograma:

Endoscopia digestiva

Alta:

Baixa:

Ultrassonografia doppler abdominal:

Biópsia hepática:

## **TRATAMENTO**

### **Clínico**

Medicamento:

Datas:

### **Cirúrgico**

Tipo:

Data:

**ANEXO 4:** Artigos submetidos para publicação  
**Revista:** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*

**Clinical, laboratory and ultrasonographic evaluation of patients with acute schistosomiasis mansoni**

Matheus Fernandes Costa-Silva<sup>1,2</sup>, Denise Silveira-Lemos<sup>1,2,7</sup>, Martin Johannes Enk<sup>3</sup>, Cristiano Lara Massara<sup>4</sup>, Maria Carolina Barbosa Alvarez<sup>5</sup>, Pedro Henrique Gazzinelli Guimarães<sup>2</sup>, Helena Barbosa Ferraz<sup>1</sup>, Roney Luiz de Carvalho Nicolato<sup>6</sup>, Paulo Marcos Zech Coelho<sup>3</sup>, Olindo Assis Martins-Filho<sup>1</sup>, Giovanni Gazzinelli<sup>2</sup>, Rodrigo Corrêa-Oliveira<sup>2</sup>, Andréa Teixeira-Carvalho<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração, Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Imunologia Celular e Molecular, Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG, Brasil

<sup>3</sup>Laboratório de Esquistossomose, Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG, Brasil

<sup>4</sup>Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica, Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG, Brasil

<sup>5</sup>Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, Brasil

<sup>6</sup>Laboratório Piloto de Análises Clínicas, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG, Brasil

<sup>7</sup>Laboratório de Imunoparasitologia, Departamento de Ciências Biológicas, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas/NUPEB, Universidade Federal de Ouro Preto, MG, Brasil

Short title: human acute schistosomiasis mansoni

\*Corresponding author:

Andréa Teixeira Carvalho

Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração, Centro de Pesquisas René Rachou

Avenida Augusto de Lima, 1715, Barro Preto, CEP 30190-002, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Phone: (055) (31) 3349-7764

Fax number: (055) (31) 3295-3115

e-mail: andreat@cpqrr.fiocruz.br

## ABSTRACT

In this study, patients acquired the acute phase of *Schistosoma mansoni* infection in the rural district from Igarapé municipality in the metropolitan area of Belo Horizonte, Brazil. Peripheral blood and feces of acute patients (ACT group=10) were collected to perform laboratorial examinations. The patients were clinically evaluated in order to assess the main clinical manifestations observed during this phase of infection. Moreover, ultrasonographic analysis have also performed aim to evaluate hepatic/splenic commitment. Our data demonstrated that the symptoms/signs more frequently found were headache (60%), fever (50%), diarrhea and weight loss (both 40%). There were a significant reduction in the concentration of hemoglobin and increase in the absolute values of total leucocytes, lymphocytes and eosinophils as compared to control group. The ultrasonographic alterations more commonly observed were periportal lymph node enlargement (86%), hepatomegaly (86%) and grade I periportal fibrosis (86%). Taken together, our data suggest that clinical/laboratorial parameters and ultrasonographic observations of diffuse enlargement of the liver and spleen and moderate-to-severe enlargement of periportal lymph nodes, although not specific, are consistent with the identification of acute clinical schistosomiasis mansoni and provide a reliable tool for the clinical/sonographic diagnosis of this disease.

*Key words: Schistosoma mansoni, acute phase, ultrasound, hematological parameters, hepatic enzymes*

## INTRODUCTION

Schistosomiasis is a parasite chronic disease caused by the helminth of genus *Schistosoma*. The infection is common in parts of Africa, South America, Middle East, Caribbean and Asia where it is a leading cause of morbidity and mortality (WHO, 2002). Recent estimates suggest 700 million people at risk worldwide with almost 200 million infected in Africa alone (Wilson et al. 2007). In Brazil, the schistosomiasis infection is caused by *Schistosoma mansoni*, where estimates suggest a range from 2,5 million (Passos & Amaral 1998, Katz & Peixoto 2000) to 12 million people infected (Raso 2000) with more than 25 million at risk (Passos & Amaral 1998). In the state of Minas Gerais, schistosomiasis mansoni is prevalent in 519 out of 853 municipalities, with an estimated number of 1,000,000 infected people in an area of 300.000 km<sup>2</sup> (Katz 1998).



One of the greatest public health problems in countries where the disease is highly endemic, including Brazil, is schistosomiasis control for the following reasons: (a) large intermediary hosts dissemination and their escape mechanisms from molluscicides and from biological control owing to high costs and low efficacy; (b) high charges associated with implementation of sanitary conditions and water supply and the intense contact of rural population with polluted water, outside dwellings in agricultural and fishing activities; (c) the long time needed for sanitary education and for the community to adhere to controlling programs; (d) individual or massive treatment has been shown efficient for controlling the morbidity, but not for reducing prevalence due to reinfections; (e) individual protection is unlikely, except for specific groups of exposed people; (f) until the present days, there is not an effective vaccine for preventing schistosomiasis (Coura & Amaral 2004; Amaral et al. 2006).

According to Enk et al. (2003, 2004) the proliferation of rural tourism in metropolitan areas, often located in endemic areas, may be an important contributing factor to the propagation of outbreaks cases of schistosomiasis. The preservation of natural environment on the site in order to please a guest from urban center, unintentionally, contribute to create an ideal habitat for the intermediate host, and the neighborhood of most areas chosen for leisure activity, unfortunately, accommodate rural communities without any type of sanitation and thus represent a permanent risk of contamination of the flowing water.

In this context, the visitors from urban areas, who never had previous contact with the parasite, contract the infection, and develop acute schistosomiasis (Barata et al. 1999). Acute schistosomiasis is associated with a primary exposure and is more commonly seen in non-immune individuals traveling through endemic regions (Nguyen et al. 2006). The clinical findings most commonly observed in such patients include fever, general weakness, headache, nausea, vomiting, diarrhea, anorexia, colic, weight loss, dry cough and hepatosplenomegaly accompanied by a marked eosinophilia and leucocytosis (Gazzinelli et al. 1985, Neves 1992, Barbosa et al. 2001, de Jesus et al. 2002). However, these clinical findings may be confounded with a number of infections such as visceral leishmaniasis, typhoid fever, malaria, tuberculosis, viral hepatitis, mononucleosis and bacterial infections (Rabello 1995), the reason why, the diagnosis of acute schistosomiasis become a challenge for the assistant doctor, due to a wide diversity of non-specific symptoms presented by the

patients, besides the presence of eggs on their stools, cannot be easily detected by the parasitologic exam in this phase of the infection.

Abdominal ultrasound is a complementary tool, very used to assist the diagnoses of the *S. mansoni* infection, mainly on the study of the liver damage caused by the chronic infection. It is not an expensive, radioactive or invasive method, provides immediate results, and can be used for epidemiological fieldwork in endemic areas. The hepatic ultrasound pattern in patients with severe hepatosplenic schistosomiasis is characterized by a marked periportal thickening. However, reports of ultrasound studies in patients with acute schistosomiasis are still scarce (Lambertucci et al. 1994) and additional trials are necessary to evaluate the benefits and the limitation of the ultrasound at the acute phase of the *S. mansoni* infection (Rabello et al. 1994).

In this report, we evaluated the clinical and laboratory data such as parasitological, hematological and serological tests as well as ultrasonographic features of non-immune patients with documented acute schistosomiasis resulting from a simultaneous exposure in a county house in the metropolitan area of Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil.

### **SUBJECTS, MATERIALS AND METHODS**

*Characterization of the study population* - The patients evaluated in this study acquired the acute phase of *S. mansoni* infection in a county house in the rural district from Igarapé municipality in the metropolitan area of Belo Horizonte, Brazil. The county house is frequently rented during the weekends and long holidays. It has a large house with a pool of water supplied by a stream. Besides the pool, the water from the stream was channeled in open channels for the formation of a shower. During the inspection of the county house, in May 2006, researchers of the Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR) - Fundação Oswaldo Cruz, Ministry of Health, Brazil detected that it did not have basic sanitation. All the water used was neglected in a dam located near the house.

Among forty-two individuals were present at the county house, thirty-eight participated in the study and were previously evaluated by one of us (MJE). After a preliminary assessment, we found that nineteen infected patients had been treated previously our evaluation and five patients did not fulfill the inclusion criteria described below. Therefore, these patients were excluded from the study besides of another four patients who had negative stool examination for *S. mansoni*. Thus, the group of patients with the acute

phase of schistosomiasis was composed of ten individuals, five women and five men, aging 14 to 31 years, with parasite load ranging from 8 to 768 eggs per gram of feces (epg) (Table 1).

To participate in the study, patients with the acute phase of schistosomiasis have fulfilled the following criteria for inclusion: age between 10 and 65 years; did not report having received any treatment with anti-helminthic drugs in the last 24 months; diagnosis of acute schistosomiasis mansoni based on epidemiological data (recent contact with *S. mansoni* cercariae-contaminated water), clinical (acute enterocolitis, nausea, vomiting, abdominal pain, fever, headache, weight loss, cough, cercarial dermatitis, hepatomegaly and splenomegaly) and laboratory data (eosinophilia and viable *S. mansoni* eggs in stool); signature of informed consent by the each voluntary or their legal guardian.

We also excluded from this study all patients who had one of the following conditions: unable to hold examinations proposed; alcoholism, defined as above average weekly consumption of 420 grams of ethanol (daily average over 60 g of ethanol) (Skinner et al. 1984); pregnancy, defined by laboratory criteria; any other significant systemic disease acute or chronic that could interfere with the results of the proposed methods; significant anemia, defined as hemoglobin less than 10 g/dl (Stoltzfus & Dreyfuss 1998) and subjects treated with anti-helminthic drugs in the last 24 months.

After collecting blood, all patients who had positive stool examination for *S. mansoni*, regardless of participation in the study, were submitted to treatment with the standard brazilian dose of Praziquantel (50-60 mg/kg).

A group of healthy volunteers formed by nine individuals, one woman and eight men aging 25 to 42 years, blood donors of the blood bank from Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil constituted a control group. It is important to mention that these individuals were screened and selected after serological test negative for Chagas disease, Leishmaniasis, Human Immunodeficiency Virus (HIV), hepatitis and did not report previous infection by *S. mansoni*.

The study follows the resolution 196/96 of the National Health Council, which regulates the research involving human beings, and was approved by the Ethics Committees of the Faculty of Medicine of the Universidade Federal de Minas Gerais, Fundação Oswaldo Cruz and National Committee on Ethics in Research in Brazil.

*Parasitological method* - Parasitological examination was performed using Kato- Katz method (Katz et al. 1972). The presence and the number of *S. mansoni* eggs per gram of feces were determined through examination of six blades per stool sample from each patient. The results are presented as the arithmetic mean of number of eggs. The Kato-Katz method is the method of choice to measure infection level and has been used extensively in epidemiological studies.

*Evaluation of clinical parameters* - All the individuals who came into contact with contaminated water by cercariae were subjected to a detailed history, performed by a physician of our team (MJE). The survey used during this study contained data referring to number of the protocol, name, gender, age, education and naturalness and questions about the clinical symptoms/signs such as fever, diarrhea, nausea, vomiting, abdominal pain, cough, weight loss, headache, asthenia, facial edema and cercarial dermatitis.

*Evaluation of hepatic enzymes* - For the analysis of the hepatic function from study group, the plasmatic concentration of the following enzymes was quantified using kinetic method: ALT (alaline amino transferase), AST (aspartate amino transferase) and  $\gamma$ -GT (gamma-glutamyl transferase). Quantification of enzymes was performed by the device Wiener Lab Metrolab 2300 plus (Model CM-200) in UI/mL.

*Evaluation of hematological parameters* - The peripheral blood of the study population was collected in vacuum tubes of 5 mL, containing ethylenediamine tetraacetic acid-EDTA as anticoagulant (Vacutainer, Beckton Dickinson, CA, USA) and the hemograms were performed in automated hematological electronic counter. The parameters measured were concentration of hemoglobin, total count of erythrocytes and hematocrit values as well as leucocytes counts and differential analysis of leukocyte subsets including the absolute counts of eosinophils, neutrophils, lymphocytes and monocytes.

*Ultrasonographic analysis* - Ultrasonographic evaluation was performed with a Nemio SSA/550<sup>a</sup> machine (Toshiba) with a 3-MHz sector probe for those patients  $\geq 10$  years old and a 5-MHz probe for patients  $< 10$  years old. The group of healthy individuals non-infected with *S. mansoni* consisted of twelve volunteers, paired by sex and age with the acute

schistosomiasis patients. Seven acute patients, three women and four men aging 14 to 31 years old have made ultrasonographic evaluation. All study population was examined by the same physician (MCBA). Liver size, portal-vein diameter, thickness of the central walls and peripheral portal branches, spleen size and splenic vein diameters were assessed as described by Abdel-Wahab et al. (1992) and Homeida et al. (1988). Liver span was measured both in the midclavicular line and the midline. The liver was also examined for surface smoothness. Portal vein diameter was measured at its entrance into the liver and its bifurcation inside the liver. The spleen was evaluated by using oblique and longitudinal scanning of the left upper quadrant. The gallbladder was examined for wall thickness and stones. The periportal thickness was evaluated according to established criteria by Abdel-Wahab et al. (1992), Homeida et al. (1988), and Cerri et al. (1984).

*Statistical analysis* - The statistical analysis of data was accomplished through software GraphPad PRISM® 5.00 software release for Windows (La Jolla, CA, USA). For comparison between the two groups was used the Student's t test when data were parametric test and the Mann-Whitney for data non-parametric. In all the cases, the data were considered significant for the value of  $p < 0.05$ .

## RESULTS

*Demographic data and intensity of S. mansoni infection of the study population* - The characterization of the study population is performed in Table 1. From forty-two people who were present in the county house, thirty-eight (90.5%) participated in this study and reported contact with contaminated cercariae water. Of these, thirty-four (89.5%) had eggs of *S. mansoni* feces and four (10.5%) had negative examination of feces. According to criteria mentioned earlier, twenty-four patients were excluded of the study and ten patients were considered as presenting acute phase of schistosomiasis. In the acute group (ACT), there were no significant differences in age between females and males ( $23.0 \pm 7.8$  and  $19.8 \pm 4.5$  years old, respectively,  $p$  value = 0.45) and the intensity of infection did not differ in relation to gender, ( $205.6 \pm 318.5$  and  $98.4 \pm 70.7$  eggs/g of feces, respectively,  $p$  value = 0.50). The ACT group presented parasite load ranging from 8 to 768 eggs per gram of feces ( $152.0 \pm 224.7$ ) (Table 1).

*Clinical manifestations of acute schistosomiasis* - The main clinical data are shown in Table 3. The clinical manifestations of schistosomiasis vary from light up to severe intensity. Two patients exhibited serious clinical symptoms and required hospitalization owing to the severity of the disease. The patients reported the onset of symptoms 20-30 days after water exposure. Headache and fever (60.0% and 50.0%, respectively) were the most common symptoms among patients with the acute phase of schistosomiasis, followed by diarrhea and weight loss (both 40.0%). Other clinical symptoms/signals also have found such as nausea/vomiting, abdominal pain, cough, asthenia, facial edema (each one with frequency of 30%) as well as urticaria and cercarial dermatitis (both 10%).

*Hepatic function of patients with acute schistosomiasis* - The evaluation of the hepatic function of ACT group through of hepatic enzymes measurement, including ALT, AST and  $\gamma$ -GT demonstrated that the acute patients presented normal levels of these enzymes according to reference values and there no were any significant differences between the analyzed parameters as they were compared to those presented by non-infected individuals (Table 2).

*Hematological profile of patients with acute schistosomiasis* - The main findings related to the hematological profile from ACT group are illustrated in Fig. 1 and 2. The analysis of hematological profile in ACT group showed a significant reduction in the concentration of hemoglobin as well as an increase in the total leukocytes count as compared to non-infected individuals. Increased total leukocytes were reflected in the absolute values of lymphocytes and eosinophils that also were augmented in ACT group as compared to NI group. No significant difference was found between these two groups in another analyzed parameters such as number of erythrocytes, percentage of hematocrit and absolute values of neutrophils and monocytes.

The Table 3 reported the main features observed in different human studies about acute phase of schistosomiasis mansoni performed in distinct brazilian states such as Pernambuco, Sergipe and Minas Gerais. Although in these studies the frequency of exposed/infected individuals was similar ranging 90-100% and the incubation period have also occurred in comparable time such 20-30 days, we have observed strongly heterogeneous findings between these studies. Nonetheless, our study demonstrated some features similar those found by Barbosa et al., 2001b in parameters like fever (50% and 54%, respectively), cough (30% and 33%,

respectively) and urticaria (10% and 8%, respectively). However, in another features our data presented distinct results like headache (60% and 33%, respectively) and diarrhea (40% and 25%, respectively).

*Ultrasonographic analysis* - The Table 4 showed the most important ultrasonographic features from ACT group in comparison to healthy volunteers. Our data demonstrated that ACT group presented some statistically significant differences as compared to NI group: medium increase in the measurement (in mm) of longitudinal left/right lobe of liver ( $117.4 \pm 19.7$  and  $99.0 \pm 12.3$  or  $150.1 \pm 18.2$  and  $102.2 \pm 16.0$ , respectively), size of longitudinal spleen ( $110.6 \pm 16.3$  and  $91.2 \pm 12.7$ , respectively) as well as dimension of Hilar portal vein wall ( $3.4 \pm 1.0$  and  $1.5 \pm 0.3$ , respectively). Periportal lymph node enlargement was observed in six of seven patients (85.7%). The periportal lymph nodes were larger, round or ovoid in shape and sharply defined with thin halos surrounding hypoechoic areas (Fig. 3). Another ultrasonographic feature also observed was incipient periportal echogenic thickening namely as grade I fibrosis (Fig. 4).

## DISCUSSION

The transmission of *S. mansoni* may vary depending on the ecology of the disease and the social standing of the population in which it occurs. The prevalence and intensity of the infection is subject to cultural practices, specific for each locality or situation and usually associated to economic, domestic or leisure activities (Barbosa & Barbosa 1998, Barbosa et al. 2001).

During the last decades the traditional epidemiological pattern showed a tendency to change. Accelerating migration from the countryside to cities threatened to overwhelm existing water and sanitation systems, and to increase urban schistosomiasis (Suassuna & Coura 1969, Sturrock 2001, Enk et al. 2003). In Brazil, outbreaks of acute schistosomiasis, especially in urban areas, were observed and documented with a certain frequency (Ferreira et al. 1960, 1966, Coura et al. 1970, Neves 1992, Rabello 1995, Barbosa et al. 2001, Enk et al. 2003). The increase of acute schistosomiasis cases also indicates that a non-immune fraction of the population became exposed to the disease (Enk et al. 2003, Enk et al. 2004, Massara et al. 2008).

The incidence of the acute form of schistosomiasis mansoni is certainly underestimated. This illness has been mainly described as a disease of travelers (Lunde & Ottsen 1980, Evergard et al. 1990, Rabello 1995). Many scientific publications concerning this acute disease refer to groups of tourists, fishermen or sailors originally from a non-endemic country who have visited a tropical zone (Lunde & Ottsen 1980, Evergard et al. 1990, Rabello 1995). However, as schistosomiasis is a focally distributed disease (Pessoa & Amorim 1957, Kloetzel 1989, Rabello 1995), the acute form is also diagnosed in inhabitants from endemic countries who do not live in endemic areas. Nevertheless, acute disease is seldom recognized in infected patients from endemic areas. According to Lambertucci (1993), acute schistosomiasis is most marked in primary infection in non-immune individuals. Among people living in endemic areas the acute phase may pass undiagnosed. It has been suggested that in endemic conditions exposure to infection occurs early in life, symptoms would be inconspicuous and diagnosis not suspected.

The clinical features of the initial phase of schistosomiasis mansoni present a wide spectrum (Garcia-Palmiere & Marcial-Rojas 1962, Rocha et al. 1996) and the relative contribution of host and parasite factors in the pathogenesis of the disease is as yet not completely elucidated (Diaz-Rivera et al. 1956, Hiatt et al. 1979, Greco et al. 1987, Rocha et al. 1996). According to Neves (1986), the clinical forms of the disease will depend on the interaction of at least three sequences of events, all of them determined on the basis of animal experimentation and on fundamentals of human pathology: (a) the evolution phase of the worms, whether before or after oviposition and the deposition of eggs in the tissues; (b) the organ predominantly involved by young or mature worms and by their eggs; and (c) the type and the qualitative/quantitative deviation of the total and local host response to antigenic products derived from the disintegration of schistosomula, adult worms and their eggs.

The main clinical findings presented in our study such as headache, fever, diarrhea and weight loss were consistent with those found by others authors (Rabello 1995, Barbosa et al. 2001, De Jesus et al. 2002, Enk et al. 2003). Different intensities of clinical manifestation are observed in patients with acute schistosomiasis, some of them evolve with a relatively severe picture while others develop mild symptoms. In our study, we have also observed a similar profile.

The development of non-apparent clinical form characterized by blood eosinophilia and a positive immediate cutaneous reaction in the initial phase of the *S. mansoni* infection



was described by Rocha et al. (1993). According to previous data in the literature (Gazzinelli et al. 1985, Rocha et al. 1996, Barbosa et al. 2001, De Jesus et al. 2002), in our study, patients with acute phase of schistosomiasis had a significant increase in the absolute number of eosinophils in comparison to preceding data that has reported the absolute values of eosinophils in peripheral blood of healthy individuals ranging 400 to 600 cells/mm<sup>3</sup> (Babapulle 2003). In parasitic diseases such as schistosomiasis mansoni, the event of eosinophilia starts after the exposure larvae of the parasite, being this event attributed to the increase of production of cytokines (Cluterbuck et al. 1989, Weller 1992). Experimental studies have shown that the eosinophilia would be induced by type 2-cytokines as interleukin (IL)-4, IL-9, IL-13 and mainly by IL-5 (Cara et al. 2000). According to Rocha et al. (1996), the eosinophilia may be considered a possible pathogenic factor in acute schistosomiasis. The specific granules of the eosinophil contain lysosomal hydrolases as well as several cationic proteins like the major basic protein (MBP) (Gleich et al. 1973, Rocha et al. 1996), the eosinophil cationic protein (ECP) and a neurotoxin, the eosinophil-derived neurotoxin (EDN), besides a peroxidase (Weller 1991, Rocha et al. 1996). The MBP in low concentrations is toxic to schistosomula but this action is non-selective since mammalian cells can also be damaged (Gleich et al. 1979, Butterworth et al. 1979, Rocha et al. 1996). Both peroxidase and ECP are also toxic for helminths and mammal cells (Jong et al. 1981, Ackerman et al. 1985, Rocha et al. 1996). The cytolysis or degranulation of eosinophils with the release of granule proteins can contribute to the genesis of local pathological alterations causing dysfunction or damage to the cells, especially when a great number of eosinophils is involved (Gleich et al. 1984, Weller 1991, Rocha et al. 1996).

In the present study, we have also evaluated the liver function of acute schistosomiasis patients through the dosage of enzymes such as ALT, AST and  $\gamma$ -GT. Contrasting other studies in literature (Barbosa et al. 2001, de Jesus et al. 2002) we did not observed changes in any of the enzymes evaluated, suggesting that the function hepatocellular be preserved or minimally compromised.

In patients with intestinal and hepatointestinal form of schistosomiasis has been observed that the evidence of liver function are normal. In those patients already carrying the hepatosplenic form, the evidence of liver function, especially those related to protein metabolism were in general changed, but rarely the liver function is compromised in full degree. Only after repeated blood spoliation, in the terminal stage of illness, there is strong

involvement of the liver parenchymal. According to some authors, when occurs a liver cell damage there is an increase of ALT and AST, but in the *S. mansoni* infection this type of injury is not commonly observed (Kardorff et al. 1997, Aquino et al. 2000). On the other hand, the most important cause of  $\gamma$ -GT increase is the chronic stimulation of the microsomal fraction of hepatocytes and the presence of cholestasis (Alves-Júnior et al. 2003). According to Martins & Borges (1993), the chronic stimulation of the microsomal occurs only in patients with hepatosplenic form of schistosomiasis. Kardorff et al. (1997) observed that the increase of  $\gamma$ -GT occurs only in patients with severe periportal fibrosis, irregular texture liver and collateral vessels. The fact of the patients evaluated in this study was in the acute phase *S. mansoni* infection and did not show no significant changes described above could be an explanation for the normal serum levels of the hepatic enzymes measured.

Two up to eight weeks after a first contact with natural water infested by *Schistosoma cercariae*, susceptible infected patients may present a syndrome comprising a period of 2 to 30 days of fever, diarrhea, toxemia and weakness, weight loss, abdominal pain, cough, mialgya, and arthralgia, edema, urticaria, nausea/vomiting and hepatosplenomegaly (Coura and Amaral, 2004). Until recently, acute schistosomiasis diagnosis was only based on epidemiological and clinical features, presence of *S. mansoni* eggs in stools and eosinophilia. However, the diagnosis becomes a challenge to the physicians owing to the non-specificity symptoms as well as the lack of positivity for *S. mansoni* eggs in feces from acute patients in ealier stage of the infection. In this context, abdominal ultrasound can be a complementary tool to assist the diagnoses of the *S. mansoni* infection. The ultrasonographic findings presented in this study were consistent with those described by Barata et al. (1999). According to this report, ultrasonographic evaluation showed non-specific increase in the size of liver, incipient periportal echogenic thickening besides of easily lymph nodes identified in the periportal region. The authors have also performed a histological liver analysis from hepatic biopsies of three patients and the data demonstrated that the periportal thickening seen on ultrasound was probably produced by inflammatory infiltration of the portal tracts caused by schistosomiasis, which disappeared after treatment with oxamniquine. However, liver biopsy is an invasive procedure that is seldom justified.

It is important to mention that the ultrasonographic features of the lymph nodes, liver and spleen in acute schistosomiasis, although highly sensitive, are not pathognomonic of

acute schistosomiasis and are also seen in other infectious diseases such as acute hepatitis and other viral diseases (Forsberg et al. 1986, Giorgio et al. 1986, Rabello et al. 1994).

Normal abdominal lymph nodes are usually not visualized by sonography. Neoplastic lymph nodes are generally rounded and hypoechoic, sometimes with an irregular shape and borders (Marchal et al. 1985, Vassalo et al. 1992, Rabello et al. 1994). Lymphomas can also affect periportal and peripancreatic lymph nodes, but there is generally an extensive involvement of other abdominal lymph nodes, mainly retroperitoneal, that is almost anechoic and usually rounded. In this circumstance, the liver and spleen are enlarged and can show focal lesions (Vassalo et al. 1992, Rabello et al. 1994). Patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) can also show hepatosplenomegaly and abdominal lymphadenopathy, but the echogenicity of the liver is usually increased. Tumors related to AIDS, such as Kaposi's sarcoma, have also been reported as a cause of lymphadenopathy (Yee et al. 1993). Mesenteric and periportal lymphadenomegaly is a common finding in blastomycosis and these are almost anechoic (Rabello et al. 1994).

In conclusion, the data presented here suggest that clinical/laboratorial parameters and ultrasonographic observations of diffuse enlargement of the liver and spleen and moderate-to-severe enlargement of periportal lymph nodes, although not specific, are consistent with the identification of acute clinical schistosomiasis mansoni and provide a reliable tool for the clinical/sonographic diagnosis of this disease.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors are grateful to the technical staff of the Laboratório de Imunologia Celular e Molecular and Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração, Fundação Oswaldo Cruz, Brazil for invaluable assistance during this study. This work was supported by grants from UNDP World Bank/WHO Special Program for Research and Training in Tropical Diseases, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Grant# 478320/2007-8 and Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG). PMZC, OAMF, GG, RCO and ATC are grateful for CNPq fellowships.

---

**REFERENCES**

- Abdel-Wahab MF, Esmat G, Farrag A, El-Boraey YA, Strickland GT 1992. Grading of hepatic schistosomiasis by the use of ultrasonography. *Am J Trop Med Hyg* 46: 403-408.
- Ackerman SJ, Gleich GJ, Loegering DA, Richardson BA, Butterworth AE 1985. Comparative toxicity of purified human eosinophil granule cationic proteins for schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg* 34: 735-745.
- Alves-Júnior A, Fontes DA, Melo VA, Machado MCC, Cruz JF, Santos EAS 2003. Hipertensão portal esquistossomótica: influência do fluxo sanguíneo portal nos níveis séricos das enzimas hepáticas. *Arq Gastroenterol* 40: 203-208.
- Amaral RS, Tauil PL, Lima DD, Engels D 2006. An analysis of the impact of the Schistosomiasis Control Programme in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 79-85.
- Aquino RTR, Chieffi PP, Catunda SM, Araújo MF, Ribeiro MCSA, Taddeo EF, Rolim EG 2000. Hepatitis B and C virus markers among patients with hepatosplenic mansonic schistosomiasis. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 42: 313-320.
- Babapulle FB 2003. The eosinophilias, including the idiopathic hypereosinophilic syndrome. *British J Haematol* 121: 203-223.
- Barata CH, Pinto-Silva RA, Lambertucci, JR 1999. Abdominal ultrasound in acute schistosomiasis mansoni. *British J Radiol* 72: 949-952.
- Barbosa CS, Barbosa FS 1998. Padrão epidemiológico da esquistossomose em comunidade de pequenos produtores rurais de Pernambuco. *Cad Saúde Pública* 14: 129-137.
- Barbosa CS, Montenegro SML, Abath FG, Domingues AL 2001. Specific situations related to acute schistosomiasis in Pernambuco, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 169-172.
- Butterworth AE, Wassom DL, Gleich GJ, Loegering DA, David JR 1979. Damage to schistosomula of *Schistosoma mansoni* induced by eosinophil major basic protein. *J Immunol* 122: 221-229.
- Cara DC, Negrao-Correa D, Teixeira MM 2000. Mechanisms underlying eosinophil trafficking and their relevance *in vivo*. *Histol Histopathol* 15: 899-920.
- Cerri GG, Alves VA, Magalhães A 1984. Hepatosplenic schistosomiasis mansoni: ultrasound manifestations. *Radiology* 153: 777-780.

Clutterbuck E, Hirst E, Sanderson C 1989. Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-4, IL-3, IL-6 and GM-CSF. *Blood* 73: 1504-1512.

Coura JR, Coura LC, Kalache A, Argendo CA 1970. Esquistossomose aguda autóctone de foco na cidade do Rio de Janeiro. Estudo de 22 casos. *Rev Soc Bras Med Trop* 6: 387-396.

Coura JR, Amaral RS 2004. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in brazilian endemic areas. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 13-19.

de Jesus AR, Silva A, Santana LB, Magalhães A, De Jesus AA, Almeida RP, Rego MAV, Burattini MN, Pearce EJ, Carvalho EC 2002. Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni. *J Infec Dis* 185: 98-105.

Diaz-Rivera RS, Ramos-Morales F, Koppisch E 1956. Acute Manson's schistosomiasis. *Am J Med* 21: 918-943.

Enk MJ, Caldeira RL, Carvalho OS, Schall VT 2003. Rural tourism as risk factor for the transmission of schistosomiasis in Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 105-108.

Enk MJ, Amorim A, Schall VT 2007. Acute schistosomiasis Outbreak in the metropolitan area of Belo Horizonte, Minas Gerais: Alert about the risk of unnoticed transmission increased by growing rural tourism. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98(6): 745-750.

Evengard B, Hammarstrom L, Smith CIE, Linder E 1990. Early antibody responses in human schistosomiasis. *Clin Exp Immunology* 80: 69-76.

Ferreira H, Oliveira CA, Bittencourt D, Katz N, Carneiro LFC, Grinbaum E, Veloso C, Dias RP, Alvarenga RJ, Dias CB 1966. A fase aguda da esquistossomose mansoni. *J Bras Med* 11: 54-67.

Ferreira LF, Naveira JB, Silva JR 1960. Fase toxêmica da esquistossomose mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2: 112-120.

Forsberg L, Floren CM, Mederstrom E, Prytz H 1987. Ultrasound examination in diffuse liver disease: clinical significance of enlarged lymph nodes in the hepato-duodenal ligament. *Acta Radiol* 28: 281-284.

Garcia-Palmieri MR, Marcial-Rojas RA 1962. The protein manifestations of schistosomiasis mansoni. *Annals of Internal Medicine* 57: 763-775.

Gazzinelli G, Lambertucci JR, Katz N, Rocha RS, Lima MS, Colley DG 1985. Immune responses during human schistosomiasis mansoni: XI. Immunologic status of patients with acute infections and after treatment. *J Immunol* 135: 2121-2127.

Giorgio A, Amoroso P, Lettien G, Firelli L, De Stefano G, Pesce G, Scala V, Pierri P 1986. Ultrasound evaluation of uncomplicated and complicated acute viral hepatitis. *J Clin Ultrasound* 14: 675-679.

Gleich GJ, Schroeter AL, Marcoux JP, Sachs MI, O'Connell EJ, Kohler PF 1984. Episodic angiodema associated with eosinophilia. *N Engl J Med* 310: 1621-1626.

Gleich GJ, Frigas E, Loegering DA, Wassom DL, Steinmuller D 1979. Cytotoxic properties of the eosinophil major basic protein. *J Immunol* 123: 2925-2927.

Greco DB, Pedroso ER, Lambertucci JR, Rocha MO, Coelho PM, Raso P, Ferreira CS 1987. Pulmonary involvement in schistosomiasis mansoni. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 82: 221-227.

Hiatt RA, Sotomayor ZR, Sanchez G, Zambrana M, Knight WB 1979. Factors in the pathogenesis of acute schistosomiasis mansoni. *J Infect Dis* 139: 659-666.

Homeida M, Abdel-Gadir AF, Cheever AW, Bennett JL, Arbah BMO, Ibrahim SZ, Abdel-Salam IM, Dafalla AA, Nash T 1988. Diagnosis of pathologically confirmed Symmers' periportal fibrosis by ultrasonography: A prospective blinded study. *Am J Trop Med Hyg* 38: 86-91.

Gleich GJ, Loegering DA, Maldonado JE 1973. Identification of a major basic protein in guinea pig eosinophil granules. *J Exp Med* 137: 1459-1461.

Jong EC, Mahmoud AAF, Klebanoff SJ 1981. Peroxidase-mediated toxicity to schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *J Immunol* 126: 468-477.

Kardorff R, Gabone RM, Mugashe C, Obiga, D, Ramarokoto CE, Mahlert C, Spannbrucker N, Lang A, Günzler V, Gryseels B, Ehrich JHH, Doehring E 1997. *Schistosoma mansoni*-related morbidity on Ukerewe Island, Tanzania: clinical, ultrasonographical and biochemical parameters. *Trop Med Int Health* 2: 230-239.

Katz N, Peixoto SV 2000. Critical analysis of the estimated number of Schistosomiasis mansoni carriers in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 303-308.

Katz N 1972. Schistosomiasis control in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 33-35.

- Katz N, Chaves A, Pellegrino J 1972. A simple device for quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 14: 397-400.
- Kloetzel K 1989. Schistosomiasis in Brazil: does social development suffice? *Parasitol Today* 5: 386-391.
- Lambertucci JR, Da Silva RA, Gerspacher-Lara R, Barata CH 1994. Acute Manson's schistosomiasis: sonographic features. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 88: 76-87.
- Lambertucci JR 1993. Acute schistosomiasis: Clinical, diagnostic and therapeutic features. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 35: 399-404.
- Lunde MN, Ottesen EA 1980. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting IgM and IgE antibodies in human schistosomiasis. *Am J Trop Med Hyg* 29: 82-85.
- Marchal G, Oyen R, Verschakelen, J, Gelin J, Baert, AL, Stessens RC 1985. Sonographic appearance of normal lymph nodes. *J Ultrasound Med* 4: 417-419.
- Martins RD, Borges DR 1993. Ethanol challenge in non-alcoholic patients with schistosomiasis. *J Clin Pathol* 46: 250-253.
- Massara CL, Amaral GL, Caldeira RL, Drummond SC, Enk MJ, Carvalho OS 2008. Schistosomiasis in an ecotourism area in Minas Gerais State, Brazil. *Cad Saude Publica* 24(7): 1709-1712.
- Morris W, Knauer CM 1997. Cardiopulmonary manifestations of Schistosomiasis. *Semin Respir Infect* 12: 159-170.
- Neves J 1992. Acute or toxemic form of mansoni's schistosomiasis (Forma aguda ou toxêmica da esquistossomose mansoni). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 321-324.
- Nguyen LQ, Estrella J, Jett EA, Grunvald EL, Nicholson L, Levin DL 2006. Acute schistosomiasis in nonimmune travelers: chest CT findings in 10 patients. *AJR Am J Roentgenol* 186: 1300-1303.
- Passos AD, Amaral, RS 1998. Esquistossomose mansônica: aspectos epidemiológicos e de controle. *Rev Soc Bras Med Trop* 31: 61-74.
- Pessoa SB, Amorin JP 1957. Notas sobre a epidemiologia da esquistossomose mansônica em algumas localidades de Alagoas. *Rev Bras Med* 14: 420-422.

Rabello ALT 1995. Acute human schistosomiasis mansoni. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90: 277-280.

Rabello ALT, Pinto-Silva RA, Rocha RS, Katz N 1994. Abominal ultrasonography in acute clinical schistosomiasis mansoni. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 50: 748-752.

Raso P 2000. Esquistossomose mansônica. In: Brasileiro Filho, G. Bogliolo patologia, Rio de Janeiro, p. 1186-1207.

Rocha MOC, Pedroso ERP, Greco DB, Lambertucci JR, Katz N, Rocha RL, Rocha RS, Rezende DF, Neves J 1996. Pathogenetic factors of acute schistosomiasis mansoni: correlation of worm burden, IgE, blood eosinophilia and intensity of clinical manifestations. *Trop Med Int Health* 2: 213-220.

Rocha MOC, Pedroso ERP, Neves J, Rocha RS, Greco DB, Lambertucci JR, Rocha RL, Katz N 1993. Characterization of the non-apparent clinical form in the initial phase of schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 35: 247-251.

Skinner HA, Holt S, Schuller R, Roy J, Israel Y 1984. Identification of alcohol abuse using laboratory markers and a history of trauma. *Ann Int Med* 101: 847-51.

Stoltzfus RJ, Dreyfuss ML 1998. Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anemia. International Nutritional Anemia Consultative Group, Washington, 46 pp.

Sturrock RF 2001. Schistosomiasis epidemiology and control: how did we get here and where should we go? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 17-27.

Suassuna A, Coura JR 1969. Esquistossomose mansoni no Estado da Guanabara: Aspectos epidemiológicos relacionados as migrações internas. *Rev Soc Bras Med Trop* 2: 59-71.

Vassallo P, Wernecke K, Roos N, Peters PE 1992. Differentiation of benign from malignant superficial lymphadenopathy: the role of high-resolution US. *Radiology* 183: 215-220.

Weller PF 1992. Cytokine regulation of eosinophil function. *Clin Immunol Immunopathol* 88: 7430-7435.

Weller PF 1991. The immunology of eosinophils. *N Engl J Med* 324: 1110-1118.

Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, Ramalingam TR, Thompson R, Wynn TA 2007. Immunopathology of schistosomiasis. *Immunol Cell Biol* 85: 148-154.



World Health Organization (WHO) 2002. First report of joint WHO Expert Committees on the Prevention and Control of Schistosomiasis and Soil-transmitted Helminthiasis. Technical Report Series, Geneva.

Yee JM, Raghavendra BN, Horii SC, Ambrosino M 1993. Abdominal sonography in AIDS. A review. *J Ultrasound Med* 12: 705-714.

**Table 1.** Characterization of the study group

Parameter	Subjects		
	Total individuals	Evaluated Individuals	Acute patients
Number of subjects (%)	42 (100%)	38 (90.5%)	10 (23.8%)
Age			
Range	01 - 65	01 - 65	14 - 31
Mean $\pm$ SD	22.4 $\pm$ 15.2	22.5 $\pm$ 15.5	21.4 $\pm$ 6.2
Median	21.5	20.5	22.5
Gender			
Female	25 (59.5%)	22 (57.9%)	05 (50.0%)
Male	17 (40.5%)	16 (42.1%)	05 (50.0%)
Examination parasitological			
Negative	----	04 (10.5%)	0
Positive	----	34 (89.5%)	10 (100%)
Egg counts (eggs/g of feces)			
Range	----	0 - 768	8 - 768
Mean $\pm$ SD	----	50.8 $\pm$ 132.2	152.0 $\pm$ 224.7
Median	----	10.0	86.0

**Table 2.** Hepatic serological tests of the study group

Hepatic Enzymes	Non-infected individuals (n = 9)	Acute patients (n = 8)
ALT (alaline amino transferase) (3-50 U/mL)*	12.5 $\pm$ 11.2	8.6 $\pm$ 5.5
AST (aspartate amino transferase) (12-46 U/mL)*	18.7 $\pm$ 5.9	23.0 $\pm$ 6.7
$\gamma$ -GT (gamma-glutamyl transferase) (9-61 U/L)*	23.4 $\pm$ 9.9	33.9 $\pm$ 16.6

*Values are represented as mean  $\pm$  standard deviation*

*\* Reference values*

**Table 3.** Main features observed in different human studies about acute phase of schistosomiasis mansoni

<b>Parameters</b>	<b>Barbosa et al., 2001a</b>	<b>Barbosa et al., 2001b</b>	<b>de Jesus et al., 2002</b>	<b>Costa-Silva et al., 2009</b>
Number of patients	11	12	31	10
Locality/State	Ilha de Itamaracá Pernambuco	Escada Pernambuco	Aracaju Sergipe	Igarapé Minas Gerais
Exposed/infected	92%	100%	92%	90%
Incubation period (days)	15-30	20	20-30	20-30
Headache	36%	33%	87%	60%
Fever	100%	54%	90%	50%
Diarrhea	64%	25%	81%	40%
Cough	91%	33%	91%	30%
Abdominal pain	64%	N.E.	93%	30%
Urticaria	18%	08%	N.E.	10%
Cercarial dermatitis	100%	N.E.	N.E.	10%
Hepatomegaly	75%	N.E.	35%	86%
Transaminases (increase)	36%	N.E.	38%	N.L.

*N.E.* - not evaluated

*N.L.* - normal levels

---

**FIGURE LEGENDS**

*Fig. 1:* Analysis of hematological profile (hemoglobin-g/dL, erythrocytes/mm<sup>3</sup> and percentage of hematocrit) from patients with the acute phase of schistosomiasis mansoni (ACT=10) and non- infected individuals (NI=09). The results are expressed in box-plot format. The box stretches from the lower hinge (defined as the 25th percentile) to the upper hinge (the 75th percentile) and therefore contains the middle half of the scores in the distribution. The median is shown as a line across the box. Therefore 1/4 of the distribution is between this line and the top of the box and 1/4 of the distribution is between this line and the bottom of the box. Significant differences (connecting lines) were considered at  $p < 0.05$ .

*Fig. 2:* Analysis of hematological profile (total and differential leucocyte counts) from patients with the acute phase of schistosomiasis mansoni (ACT=10) and non- infected individuals (NI=09). The results are expressed in box-plot format highlighting the gap of 50% of data set measurement for absolute values in mm<sup>3</sup> of each leucocyte subset analyzed. Significant differences (connecting lines) were considered at  $p < 0.05$ .

*Fig. 3:* Representative ultrasonographic images of periportal lymph nodes in patients with acute schistosomiasis. The arrows indicate larger lymph nodes, ovoid in shape (a) and rounded (b) with thin halos surrounding hypoechoic areas. Ultrasonographic analysis was performed with a Nemio SSA/550<sup>a</sup> machine (Toshiba).

*Fig. 4:* Representative ultrasonographic images of liver from acute schistosomiasis patient (a) and healthy volunteer (b). The arrows indicate incipient periportal echogenic thickening (a) and no periportal echogenic thickening (b). Ultrasonographic analysis was performed with a Nemio SSA/550<sup>a</sup> machine (Toshiba).

Figure 1

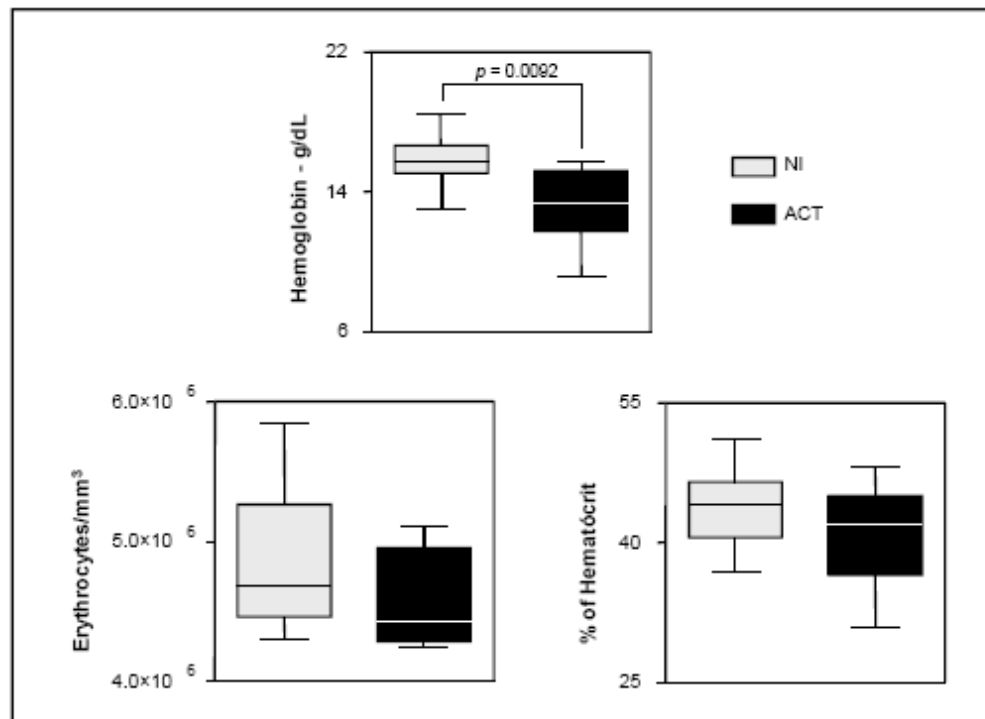


Figure 2

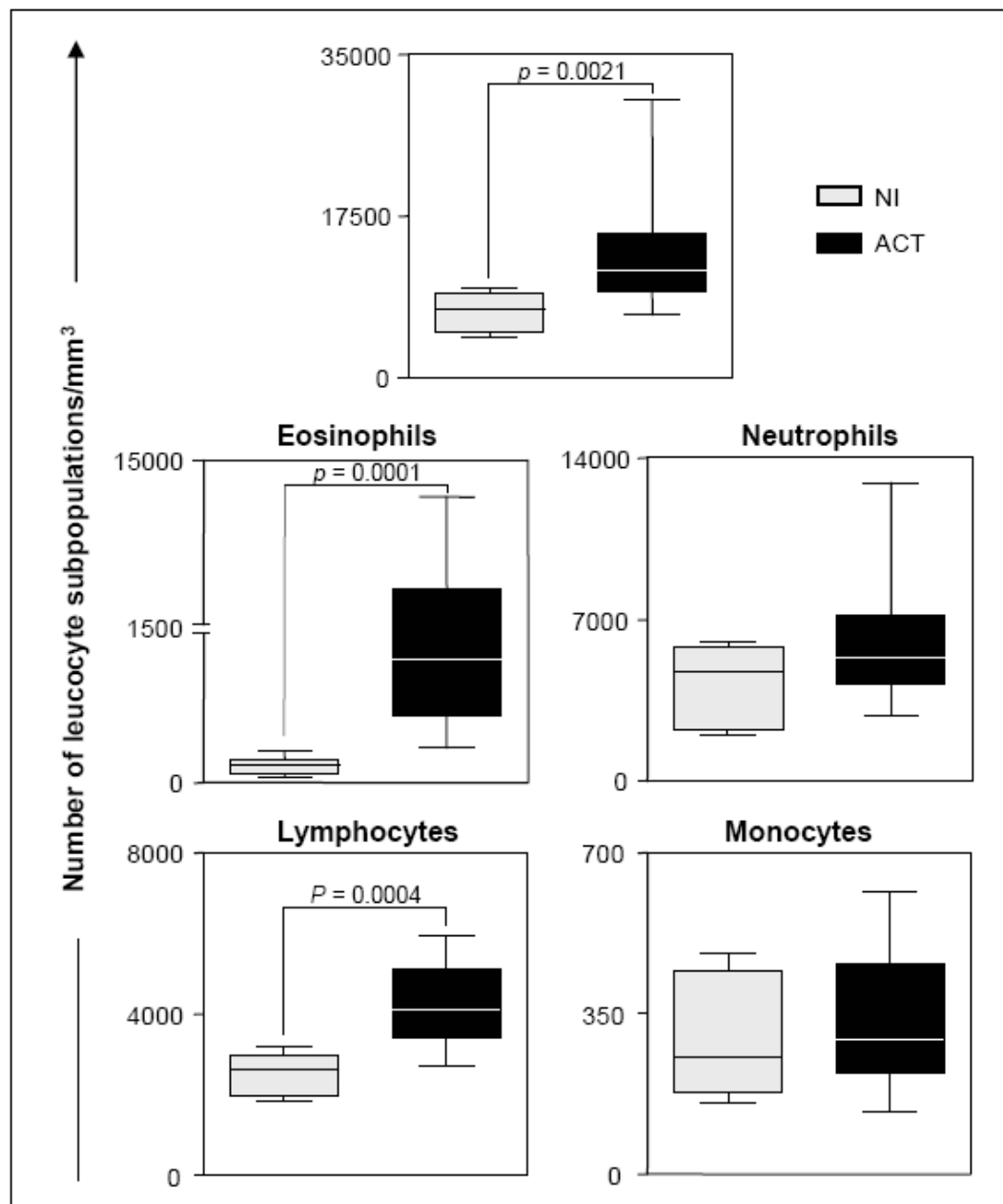


Figure 3

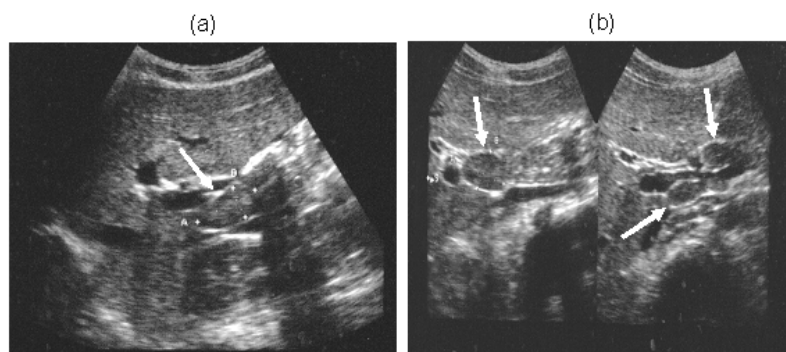
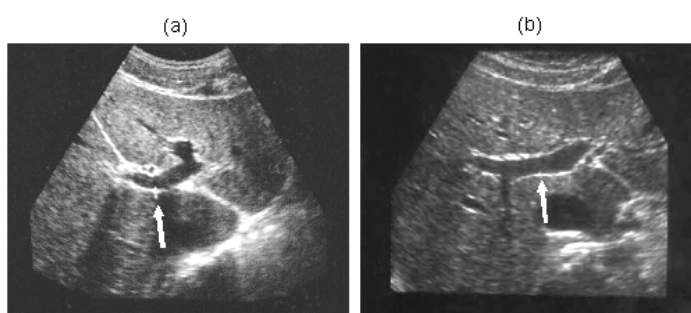


Figure 4



Revista: *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*

## RURAL TOURISM AND ESQUISTOSOMIASIS

### Rural tourism: a risk factor for schistosomiasis transmission in Brazil

Martin Johannes Enk<sup>1</sup>, Graciela Larissa Amaral<sup>2</sup>, Matheus Fernandes Costa e Silva<sup>3,5</sup>, Denise Silveira-Lemos<sup>3</sup>, Andréa Teixeira-Carvalho<sup>3,5</sup>, Rodrigo Correa-Oliveira<sup>3</sup>, Giovanni Gazinelli<sup>3</sup>, Paulo Marcos Zech Coelho<sup>4</sup>, Cristiano Lara Massara<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Esquistossomose, <sup>2</sup>Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica, <sup>3</sup>Laboratório de Imunologia Celular e Molecular, <sup>4</sup>Laboratório de Doença de Chagas, Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz. Av. Augusto de Lima, 1715 – 30.190.0-02 - Barro Preto – Belo Horizonte, Brasil –

This article reports an outbreak of acute schistosomiasis among 38 tourists who rent a country house in the district of Igarape, metropolitan region of Belo Horizonte, Brazil, during a holiday period. A total number of 32 individuals proved positive for *Schistosoma mansoni*. Results of stool examinations revealed individual egg counts per gram of feces (epg) for *S. mansoni* ranging from 4 to 768 epg with a geometric mean egg count of 45.

Financial support: Fapemig, Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz  
Corresponding author: marenk@cpqrr.fiocruz.br

The most frequent clinical symptoms were: abdominal pain (78.1%), headache (75.0%), fever (65.6%), dry cough (65.2%) and diarrhea (59.4%). A malacological survey of the area, where 22 specimens of *B. glabrata* were collected, revealed 3 (13.6%) specimens eliminating *Schistosoma cercariae*. This investigation reconfirms a recently described pattern of infection with schistosomiasis resulting in the acute form of the disease, connected to rural tourism, which contributes to the spread of the disease among middle-class people and into non-endemic areas. The lack of specific knowledge about acute schistosomiasis among health services causes besides the increased number of unnecessary diagnostic procedures delays in accurate diagnosis and treatment, resulting in considerable discomfort for the patients.

**Key words:** *Schistosoma mansoni*, acute schistosomiasis, rural tourism, epidemiology, diagnosis.



Schistosomiasis mansoni is one of the most important endemic diseases in Brazil and is considered to affect mostly low income populations. The disease is prevalent in 519 out of the 853 municipalities in the state of Minas Gerais, with an estimate number of 1,000,000 infected people in an area of 300,000 km<sup>2</sup> (Katz 1998). Noteworthy, Katz & Peixoto, (2000); Coura & Amaral, (2004); Amaral et al. (2006) had remarked a decreased morbidity of schistosomiasis due to available large scale chemotherapy combined with a decreased prevalence of the disease and, paradoxically, with territorial expansion.

The rural tourism industry has become a new source of income for many families in the countryside and in metropolitan regions in Brazil. In essence this type of activities transformed many rural properties, prior based on agricultural activities, into leisure resorts, which depend on tourists who rent them during weekends or holidays. Furthermore the increasing interest in rural properties for leisure and recreation purposes by the middle and upper class of nearby population centers raised the value of these rural properties, resulting in an elimination of these small agricultural producers. Unfortunately, such leisure areas lack basic sanitation infra-structure, which implicates negative impacts for the environment, resulting in pollution and contamination with infective agents. Hence, schistosomiasis transmission is favored, among other diseases associated with lack of basic sanitation new patterns of dissemination can be observed: socially, as the disease affects high income populations and, geographically, since visitors of those water collections may establish new schistosomiasis foci in non-endemic areas.

Together with the development of tourism business and lack of basic sanitation infra-structure, schistosomiasis cases have been frequently recorded in several Brazilian regions (Barbosa et al, 2000, 2001a e b; de Jesus et al, 2002; Tomé et al, 2003; Enk et al, 2003, 2004; Massara et al, 2008). Many of the people, who have never been exposed to the disease can develop its acute form. Unfortunately, most of these clinical cases are not recorded at local health units, since patients reside and look for medical advice in urban centers of origin. On the other hand acute schistosomiasis is in many of the cases self limiting disease and therefore passes unnoticed by health services.

The present article is aimed to assess a *Schistosoma mansoni* infection outbreak in the metropolitan region of Belo Horizonte that occurred in the context of rural tourism.

## Material and methods

Patients – A group of 42 people living in the area named Jardim Industrial in the city of Belo Horizonte, state of Minas Gerais (MG), Brazil, rent a country house during the carnival holidays in 2006. The group comprising of 25 women and 17 men with a mean age of 22.4 and median of 21.5 years, ranging between 1 and 65 years belonged to the same family. Four patients refused to participate, resulting in 38 patients included in the study.

Local Features – The country house is located in the city of Igarape, metropolitan region of Horizonte (MG), approximately 30 km from the capital's center. The house is constantly rented for leisure activities at weekends and holidays and, among other facilities, there is a natural swimming pool supplied by a local brook (Fig. 1). Part of the brook water runs into showers (Fig. 2) and, then, into a pond in front of the house (Fig. 3). The country house lacks of a proper sewage disposal system.

Malacological Survey - A specialized team of the Rene Rachou Research Center/Fiocruz, Belo Horizonte, MG, visited the area, two months after being informed about the occurrence, in order to identify possible foci of contamination and to carry out a systematic collection of water snails in the area of the country house. The collected mollusks were sent alive to the Laboratory of Helminthiasis and Medical Malacology for both morphological (Paraense, 1975) and molecular (Vidigal et al 1998) identification. Further analysis included search for infection *S. mansoni*, which was carried out by means of exposure to artificial light for cercariae elimination and examination under light microscopy after smashing the mollusks.

Parasitological Examination – After previous anamnesis of all participants, carried out by the responsible physician of the research team, a coproscopical analysis of one stool sample of each participant was carried out. A number of six slides per patient were analyzed according to the Kato-Katz method (Katz et al, 1972).

## Results

Malacological Survey – A total number of 25 water snails were collected of which twenty-two were identified as *Biomphalaria glabrata* and three as *Lymnae*. Three (13.6%) of the *B. glabrata* snails, were eliminating *S. mansoni* cercariae. Two of this specimens, were collected from the water channel supplying the swimming pool, and the other one from the water channel supplying the shower.

Parasitological Diagnosis – Out of the 38 patients who declared to have contact with water in the country house, 32 (84.2%) showed *S. mansoni* eggs in feces and 6 (15.8%) were negative for *S. mansoni* infection. A number of 16 of the positive patients were diagnosed and treated by another institution (confirmed by their medical records) and the remaining 16, who were diagnosed in our Institution, showed individual eggs counts per gram of feces (epg) ranging from 4 to 768, with a geometric mean of 45 epg. The remaining six participants (15.8%) showed negative stool examinations for schistosomiasis. (Table). Three of the 38 patients reported previous *S. mansoni* infection and treatment in the past. Of these, two showed *S. mansoni* eggs in their feces and did not present any symptoms.

The sixteen patients diagnosed by our Institution were treated according to the recommendation of the Brazilian Ministry of Health with praziquantel using a single dose of 50 mg/kg.

Symptoms – According to the medical records and our own anamnesis, out of the 32 positive patients, 07 (21,9%) reported dermatitis, 21 (65,6%) fever, 19 (59,4%) diarrhea, 17 (53,1%) vomit, 25 (78,1%) colic, 20 (62,5%) cough, 18 (56,3%) weight loss, 24 (75,0%) headache, 19 (59,4%) asthenia, 15 (46,9%) facial edema, 10 (31,3%) urticaria (Figure 4). Three of the patients were admitted to the local hospital due to the severity of the symptoms.

## **Discussion**

The frequency of acute schistosomiasis outbreaks is increasing in Brazil. Several occurrences are reported from the metropolitan region of Belo Horizonte (Enk et al, 2003, 2004; Massara et al, 2008), Recife (Barbosa et al 2000, 2001a, 2001b), Aracaju (de Jesus et al, 2002), and in the countryside of São Paulo (Tomé et al, 2003). The present study confirms this observation and corroborates previous reports of increasing schistosomiasis transmission especially in urban areas, where people, mostly from the middle and upper class, who have never been in contact with the disease, are getting infected and suffer from the acute form of schistosomiasis.

Since the 1990s, the rural tourism business has increased in metropolitan regions (Ferreira 2008). Hotels, farms and country houses for rent, often located in schistosomiasis endemic areas offer besides a normal recreation program a wide range of adventure and ecological activities. In order to maintain the healthy, natural and untouched aspect of the environment, which attracts the tourists, the leisure facilities are mostly supplied with natural

water without prior treatment and in many cases do not have proper infra-structure for basic sanitation, which constitutes an important factor of maintaining the transmission of the disease. In this context infection may occur directly at the leisure facility or during adventure and ecological activities, whenever contact to natural water sources is established. This situation contributes, until now little perceived, to the dissemination of the disease, and, more obvious, to appearance of sometimes severe cases of acute schistosomiasis, whenever non-immune individuals become infected.

The complex association among geographical, biological, socio-economical and medical conditions hampers the effort to diagnose schistosomiasis accurately. Adding this to the fact that these infected patients, who show unspecific symptoms, seek medical advice in non-endemic areas, and neither the physician nor the patient suspect schistosomiasis as a hypothesis of diagnosis, explains the numerous and sometimes unnecessary diagnostic tests as well as retarded and often inadequate treatment (Enk et al 2003). In the present investigation, the *Centro de Pesquisa René Rachou* (René Rachou Research Center) was informed about a possible schistosomiasis transmission by an attentive physician who was performing abdominal ultrasound in one of the patients.

Bearing in mind that acute schistosomiasis normally is a self-limiting disease aggravates the situation, because many cases may escape undetected. This also represents a permanent risk of contamination for water snails, the intermediate host of schistosomiasis inhabiting fresh water collections of non-endemic areas that will later eliminate cercariae into water and, thus, contribute to establish the disease in new areas and disseminate schistosomiasis.

We hope that our findings contribute to raise awareness of this increasing pattern of schistosomiasis transmission, which has occurred among medium-class individuals visiting endemic areas. This issue should be addressed to both the medical class and the whole population.

## References

- Amaral RS, Tauil PL, Lima DD, Engels D 2006. An analysis of the impact of the schistosomiasis control programme in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101(Suppl. I): 79-85.
- Barbosa CS, Pieri OS, Silva CB, Barbosa FS 2000. Ecoepidemiologia da esquistossomose urbana na Ilha de Itamaracá, Pernambuco. *Rev Saúde Públ* 34: 337-341.
- Barbosa CS, Montenegro SML, Abath FG, Domingues AL 2001a. Specific situations related to acute schistosomiasis in Pernambuco, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96 (Suppl. 5): 169-172.
- Barbosa CS, Domingues ALC, Abath F, Montenegro SML, Guida U, Carneiro J, Tobosa B, Moraes CNL, Spinelli V 2001b. Epidemiologia da esquistossomose aguda na praia de Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil. *Cad Saude Públ* 17:725-8.
- Coura JR, Amaral RS 2004. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in brazilian endemics areas. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99 (Suppl. I): 13-19.
- De Jesus AR, Silva A, Santana LB, Magalhães A, De Jesus AA, Almeida RP, Rego MAV, Burattini MN, Pearce EJ, Carvalho EC 2002. Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni. *J Infect Dis* 185: 98-105.
- Enk MJ, Amorim A, Schall, VT 2003. Acute schistosomiasis outbreak in the metropolitan area of Belo Horizonte, Minas Gerais: Alert about the risk of unnoticed transmission increased by growing rural tourism. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 745-750.
- Enk MJ, Caldeira RL, Carvalho OS, Schall VT 2004. Rural tourism as risk factor for the transmission of schistosomiasis in Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 99 (Suppl. I): 105-108.
- Ferreira ECS. O crescimento do turismo no Brasil. Revista Turismo. Serial on the internet. 2008. Nov (Cited 2008. 19 Nov). Available from: [www.revistaturismo.com.br/artigos/crescimentobrasil.html](http://www.revistaturismo.com.br/artigos/crescimentobrasil.html)
- Katz N 1998. Schistosomiasis control in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93 (Suppl. 1): 33-35.
- Katz N, Chaves A, Pellegrino J 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 14: 397-400.
- Katz N, Peixoto SV 2000. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 303-308.

Massara CL, Amaral GL, Caldeira RL, Drummond SC, Enk MJ, Carvalho OS 2008. Esquistossomose em área de ecoturismo do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Cad Saúde Públ* 24:1709-1712.

Paraense WL 1975. Estudo atual da sistemática dos planorbídeos brasileiros. *Arq. Museu Nacional do Rio de Janeiro* 55: 105-128.

Tomé CM, Cipolli E, Coelho da Silva CLPA, Borges DA, Soares MS 2003. Esquistossomose na estância turística de Holambra (SP, Brasil). *In: Resumos do 9º Simpósio Internacional sobre esquistossomose. Salvador – Bahia, Brasil.*

Vidigal THDA, Spatz L, Nunes DN, Simpson AJG, Carvalho OS, Dias Neto E 1998. *Biomphalaria* ssp. Identification of the intermediate snail host of *Schistosoma mansoni* by polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion of the ribosomal RNA gene intergenic spacer. *Exp Parasitol* 89 :180-187.



Fig. 1 – General view of the site and the swimming pool supplied with natural water



Fig. 2 – Open canal connecting natural water reservoirs



Fig. 3 – Pond receiving all water of the country house and its surroundings

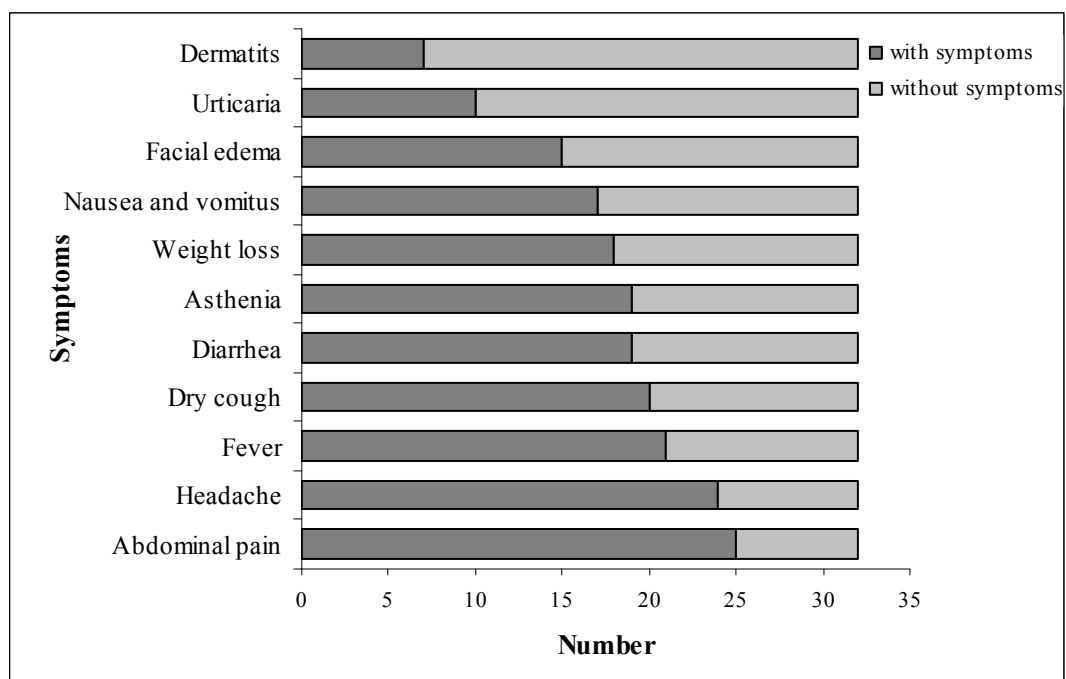


Fig. 4: Distribution of symptoms among the 32 *S. mansoni*-positive individuals



TABLE

Distribution of age and gender among 42 visitors of a country house and the 32 individuals positive for *S. mansoni*

Age	Individuals			Positive Individuals		
	male	female	total	male	female	total
0-15	5	11	16	4	9	13
15 -30	6	10	16	4	7	11
30 -45	5	2	7	5	2	7
> 45	1	2	3	1	0	1
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>25</b>	<b>42</b>	<b>14</b>	<b>18</b>	<b>32</b>



- Abdel-Wahab MF, Esmat G, Milad M, Abdel-Razek S, Strickland GT. Characteristic sonographic pattern of schistosomal hepatic fibrosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1989; 40: 72-76.
- Acuto O & Michel F. CD28-mediated co-stimulation: a quantitative support for TCR signalling. *Nature Reviews. Immunology.* 2003; 3: 939-951.
- Alves-Brito CF, Simpson AJ, Bahia-Oliveira LM, Rabello AL, Rocha RS, Lambertucci JR, Gazzinelli G, Katz N, Corrêa-Oliveira R. Analysis of anti-keyhole limpet haemocyanin antibody in Brazilians supports its use for the diagnosis acute schistosomiasis mansoni. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1992; 86: 53-56.
- Alves-Júnior A, Fontes DA, Melo VA, Machado MCC, Cruz JF, Santos EAS. Hipertensão portal esquistossomótica: influência do fluxo sanguíneo portal nos níveis séricos das enzimas hepáticas. *Arq. Gastroenterol.* 2003; 40: 203-208.
- Alves-Oliveira LF, Moreno EC, Gazzinelli G, Martins-Filho OA, Silveira AM, Gazzinelli A, Malaquias LC, LoVerde P, Leite PM, Correa-Oliveira R. Cytokine production associated with periportal fibrosis during chronic schistosomiasis mansoni in humans. *Infect Immun.* 2006; 74: 1215-1221.
- Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *J Biol Chem.* 2003; 278: 1910-1914.
- Amaral RS & Porto MAS. Evolução e situação do controle da esquistossomose no Brasil. *Rev Inst Med Trop.* 1994; 27: 73-90.
- Amiri P, Locksley RM, Parrsloew TG, Sadick M, Rector E, Ritter D, Mckerrow JH. Tumour necrosis factor alpha restores granulomas and induces parasite egg-laying in schistosome-infected SCID mice. *Nature.* 1992; 356: 604-7.
- Andrade ZA & Grimaud JA. Evolution of the schistosomal hepatic lesions in mice after curative chemotherapy. *Am J Pathol.* 1986; 124: 59-65.
- Andrade ZA, Baptista AP, Santana TS. Remodeling of hepatic vascular changes after specific chemotherapy of schistosomal periportal fibrosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2006; 101 Suppl I: 267-72.
- Annunziato F, Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S. The phenotype of human Th17 cells and their precursors, the cytokines that mediate their differentiation and the role of Th17 cells in inflammation. *Int Immunol.* 2008; 20: 1361-1368.
- Anthony RM, et al. Memory TH2 cells induce alternatively activated macrophages to mediate protection against nematode parasites. *Nature Med.* 2006; 12: 955-960.

- Anthony RM, Rutitzky LI, Urban JF JR, Stadecker MJ, Gause WC. Protective immune mechanisms in helminth infection. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7: 975-987.
- Anwar AR, Smithers SR, Kay AB. Killing of schistosomes of *Schistosoma mansoni* coated with antibody and/or complement by human leukocytes in vitro: requirement for complement in preferential killing by eosinophils. *J Immunol.* 1979; 122: 628-637.
- Aquino RT, Chieffi PP, Catunda SM, Araújo MF, Ribeiro MC, Taddeo EF, Rolim EG. Hepatitis B and C virus markers among patients with hepatosplenic mansonic schistosomiasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2000; 42: 313-20.
- Araújo MI, de Jesus AR, Bacellar O, Sabin E, Pearce E, Carvalho EM. Evidence of a T helper type 2 activation in human schistosomiasis. *European Journal of Immunology.* 1996; 26: 1399-1403.
- Atzeni F, Schena M, Ongari AM, Carrabba M, Bonara P, Minonzio F, Capsoni F. Induction of CD69 activation molecule on human neutrophils by GM-CSF, IFN-gamma, and IFN-alpha. *Cell Immunol.* 2002; 220: 20-9.
- Aubry JP, Pochon S, Graber P, Jansen KU, Bonnefoy JY. CD21 is a ligand for CD23 and regulates IgE production. *Nature.* 1992; 358: 505-7.
- Babapulle FB. The eosinophilias, including the idiopathic hypereosinophilic syndrome. *British J Haematol.* 2003; 121: 203-23
- Baecher-Allan C, Brown JA, Freeman GJ, Hafler DA. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> regulatory cells in human peripheral blood. *J Immunol.* 2001; 167: 1245-1253.
- Bandeira-Melo C & Weller PF. Mechanisms of eosinophil cytokine release. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2005; 100 Suppl 1: 73-81.
- Barata CH, Pinto-Silva RA, Lambertucci JR. Abdominal ultrasound in acute schistosomiasis mansoni. *Br J Radiol.* 1999; 72: 949-52.
- Barbosa CS, Barbosa FS. Padrão epidemiológico da esquistossomose em comunidade de pequenos produtores rurais de Pernambuco. *Cad Saúde Pública.* 1998 14: 129-137.
- Barbosa CS, Montenegro SML, Abath FG, Domingues AL. Specific situations related to acute schistosomiasis in Pernambuco, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2001; 96 Suppl: 169-172.

- Baumgart M, Tompkins F, Leng J, Hesse M. Naturally occurring CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells are an essential, IL-10-independent part of the immunoregulatory network in *Schistosoma mansoni* egg-induced inflammation. *J Immunol*. 2006; 176: 5374-5387.
- Belkaid Y & Rouse BT. Natural regulatory T cells in infectious disease. *Nature Immunol* 2005; 6: 353-360.
- Bennett JL. Schistosomiasis, fibrosis and esophageal varices. *Parasitol Today*. 1997; 13: 39.
- Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T cells. *Nature*. 2006; 441: 235-238.
- Bevilacqua M.P. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annual Review of Immunology*. 1993; 11: 767-804.
- Bina JC. Influência da terapêutica específica na evolução da esquistossomose mansônica. *Revista Patologia Tropical*. 1981; 10: 221-267.
- Bochner BS & Busse WW. Allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115: 953-959.
- Boehme SA, Sullivan SK, Crowe PD, Santos M, Conlon PJ, Sriramarao P, Bacon KB. Activation of mitogen-activated protein kinase regulates eotaxin-induced eosinophil migration. *J Immunol*. 1999; 163: 1611-8.
- Bogliolo L. Subsídios para o estudo Serda anatomia da forma aguda toxêmica da esquistossomose mansônica. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária. Ministério da Saúde, 1958; 121.
- Boisier P, Ramarokoto CE, Ravaoalimalala VE, Rabarijaona L, Serieye J, Roux J, Esterre P. Reversibility of *Schistosoma mansoni*-associated morbidity after yearly mass praziquantel therapy: ultrasonographic assessment. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1998; 92: 451-453.
- Bonecchi R, Bianchi G, Bordignon PP, D'Ambrosio D, Lang R, Borsatti A, Sozzani S, Allavena P, Gray PA, Mantovani A, Sinigaglia F. Differential expression of chemokine receptors and chemotactic responsiveness of type 1 T helper cells (Th1s) and Th2s. *J Exp Med*. 1998; 187: 129-34.
- Booth M, Vennervald BJ, Kabatereine NB, Kazibwe F, Ouma JH, Kariuki CH, Muchiri E, Kadzo H, Ileri E, Kimani G, Mwatha JK, Dunne DW. Hepatosplenic morbidity in two neighbouring communities in Uganda with high levels of *Schistosoma mansoni* infection but very different durations of residence. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2004; 98: 125-36.

- Boros DL, Pelley RP, Warren KS. Spontaneous modulation of granulomatous hypersensitivity in schistosomiasis mansoni. *The Journal of Immunology*. 1975; 114: 1437-1441.
- Boros DL. Immunopathology of *Schistosoma mansoni* infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 1989; 2: 250-269.
- Brodsky FM & Guagliardi LE. The cell biology of antigen processing and presentation. *Annu Rev Immunol*. 1991; 9: 707-44.
- Butterworth AE, Sturrock RF, Houba V, Rees PH. Antibody-dependent cell-mediated damage to schistosomula in vitro. *Nature*. 1974; 252: 503-5.
- Butterworth AE, Sturrock RF, Houba V, Mahmoud AA, Sher A, Rees PH. Eosinophils as mediators of antibody-dependent damage to schistosomula. *Nature*. 1975; 256: 727-9.
- Butterworth AE, Wassom DL, Gleich GJ, Loegering DA, David JR. Damage to schistosomula of *Schistosoma mansoni* induced directly by eosinophil major basic protein. *J Immunol*. 1979; 122: 221-229.
- Capron M, Torpier G, Capron A. In vitro killing of *S. mansoni* schistosomula by eosinophils from infected rats: role of cytophilic antibodies. *J Immunol*. 1979; 123: 2220-30.
- Capron M, Coffman RL, Papin JP, Ajana F, Capron A. Fc epsilon receptor II expression in parasitic diseases: effects of cytokines on IgE-dependent activation of eosinophils. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res*. 1991; 21B: 975-82.
- Capron M, Capron A. Effector functions of eosinophils in schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1992; 87 Suppl 4: 167-70.
- Cara DC, Negrao-Correa D, Teixeira MM. Mechanisms underlying eosinophil trafficking and their relevance in vivo. *Histol Histopathol*. 2000; 15: 899-920.
- Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood*. 1994; 84: 2068-101.
- Castro-Silva P, 2006. Avaliação do efeito da esplenectomia sobre a resposta imune celular de pacientes portadores da forma crônica hepatoesplênica da esquistossomose mansoni. Dissertação (Mestrado em Imunologia). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais. 100p.

- Celestin J, Rotschke O, Falk K, Ramesh N, Jabara H, Strominger J, Geha RS. IL-3 induces B7.2 (CD86) expression and costimulatory activity in human eosinophils. *J Immunol.* 2001; 167: 6097-104.
- Cerri GG, Oliveira IRS. Ultrassonografia abdominal. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2002; 618.
- Cheever AW, Xu Y, Macedonia JG, Cox T, Hieny S, Sher A. The role of cytokines in the pathogenesis of hepatic granulomatous disease in *Schistosoma mansoni* infected mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 1992; 87: 81-5.
- Cheever AW, Lenzi JA, Lenzi HL, Andrade ZA. Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2002; 97: 917-40.
- Chensue SW, Warmington KS, Hershey SD, Terebuh PD, Othman M, Kunkel SL. Evolving T cell responses in murine schistosomiasis. Th2 cells mediate secondary granulomatous hypersensitivity and are regulated by CD8<sup>+</sup> T cells in vivo. *The Journal of Immunology.* 1993; 151: 1391-1400.
- Chiaromonte MG, Schopf LR, Neben TY, Cheever AW, Donaldson DD, Wynn TA. IL-13 is a key regulatory cytokine for Th2 cell-mediated pulmonary granuloma formation and IgE responses induced by *Schistosoma mansoni* eggs. *J Immunol.* 1999; 162: 920-30.
- Clutterbuck E, Hirst E, Sanderson C. Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-4, IL-3, IL-6 and GM-CSF. *Blood.* 1989; 73: 1504-1512.
- Cocks BG, de Waal Malefyt R, Galizzi JP, de Vries JE, Aversa G. IL-13 induces proliferation and differentiation of human B cells activated by the CD40 ligand. *Int Immunol.* 1993; 5: 657-663.
- Coelho PMZ. Resistência e susceptibilidade à infecção por *Schistosoma mansoni* em caramujos do gênero *Biomphalaria*. In: Barbosa, F. S. Tópicos em Malacologia Médica. 1995; Rio de Janeiro, Ed: Fiocruz: 208-217.
- Colley DG. *Schistosoma mansoni*: eosinophilia and development of lymphocyte blastogenesis in response to soluble egg antigen in inbred mice. *Exp Parasitol.* 1972; 32: 520-526.
- Conrad ME. Hematologic manifestations of parasitic infections. *Semin Hematol.* 1971; 8: 267-303.

- Correa-Oliveira R, Malaquias LCC, Falcão PL, Viana IRC, Bahia-Oliveira LMG, Silveira AMS, Fraga LAO, Prata A, Coffman RL, Lambertucci JR, Cunha-Melo JR, Martins-Filho OA, Wilson RA, Gazzinelli G. Cytokines as determinants of resistance and pathology in human *Schistosoma mansoni* infection. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 1998; 31: 171-177.
- Correa-Oliveira R, Caldas I, Martins-Filho A, Queiroz C, Lambertucci J, Cunha-Melo J, Silveira A, Prata A, Wilson R, Gazzinelli G. Analysis of the effects of treatment of human *Schistosoma mansoni* infection on the immune response of patients from endemic areas. *Acta Trop*. 2000; 77: 141-146.
- Costa MF, Nihei J, Mengel J, Henriques MG, Penido C. Requirement of L-selectin for gamma delta T lymphocyte activation and migration during allergic pleurisy: co-relation with eosinophil accumulation. *Int Immunopharmacol*. 2009; 9: 303-12.
- Cota GF, Pinto-Silva RA, Antunes CM, Lambertucci JR. Ultrasound and clinical investigation of hepatosplenic schistosomiasis: evaluation of splenomegaly and liver fibrosis four years after mass chemotherapy with oxamniquine. *Am J Trop Hyg*. 2006; 74: 103-7.
- Coura JR, Coura LC, Kalache A, Argendo CA. Esquistossomose aguda autóctone de foco na cidade do Rio de Janeiro. Estudo de 22 casos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1970; 6: 387-396.
- Coura JR & Amaral RS. Epidemiological and control aspects of Schistosomiasis in Brazilian endemic areas. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2004; 99 Suppl. I: 13-19.
- Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, Murphy CA, Joyce B, Seymour B, Lucian L, To W, Kwan S, Churakova T, Zurawski S, Wiekowski M, Lira SA, Gorman D, Kastelein RA, Sedgwick JD. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*. 2003; 421: 744-748.
- David JR, Butterworth AE, Vadas, MA. Mechanism of the intetaction mediating killing of *Schistosoma mansoni* by human eosinophils. *Am J Trop Med Hyg*. 1980; 29: 842-848.
- Davies SJ, Smith SJ, Lim KC, Zhang H, Purchio AF, McKerrow JH, West DB. In vivo imaging of tissue eosinophilia and eosinopoietic responses to schistosome worms and eggs. *Int J Parasitol*. 2005; 35: 851-9.
- Davis GM. Evolution of prosobranch snails transmitting Asian *Schistosoma*; coevolution with *Schistosoma*: a review. *Prog Clin Parasitol*. 1993; 3: 145-204.
- Defrance T, Carayon P, Billian G, Guillemot JC, Minty A, Caput D, Ferrara P. Interleukin 13 is a B cell stimulating factor. *J Exp Med*. 1994; 179: 135-43.



- de Jesus AR, Silva A, Santana LB, Magalhães A, de Jesus AA, Almeida RP, Rego MAV, Burattini MN, Pearce EJ, Carvalho EC. Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni. *J Infect Dis.* 2002; 185: 98-105.
- de Jesus AR, Magalhães A, Miranda DG, Miranda RG, Araujo MI, Jesus AA, Silva A, Santana LB, Pearce EJ, Carvalho EM. Association of type 2 cytokines with hepatic fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection. *Infection and Immunity.* 2004; 72: 3391-3397.
- den Haan JM & Bevan MJ. Antigen presentation to CD8<sup>+</sup> T cells: cross-priming in infectious diseases. *Curr Opin Immunol.* 2001; 13: 437-441.
- de Souza JR, Morais CN, Aroucha ML, Miranda PJ, Barbosa CS, Domingues AL, Carvalho Júnior LB, Abath FG, Montenegro SM. Treatment of human acute schistosomiasis with oxamniquine induces an increase in interferon-gamma response to *Schistosoma mansoni* antigens. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2007; 102: 225-228.
- de Waal Malefyt R, Yssel H, de Vries JE. Direct effects of IL-10 on subsets of human CD4<sup>+</sup> T cell clones and resting T cells. Specific inhibition of IL-2 production and proliferation. *The Journal of Immunology.* 1993; 11: 4754-4765.
- Diaz-Rivera RS, Ramos-Morales F, Koppisch E. Acute Manson's schistosomiasis. *Am J Med.* 1956; 21: 918-943.
- Diamond MS, Staunton DE, de Fougerolles AR, Stacker SA, Garcia-Aguilar J, Hibbs ML, Springer TA. ICAM-1 (CD54): a counter-receptor for Mac-1 (CD11b/CD18). *J Cell Biol.* 1990; 111: 3129-39.
- Disch J, Katz N, Pereira e Silva Y, de Gouvêa Viana L, Andrade MO, Rabello A. Factors associated with *Schistosoma mansoni* infection 5 years after selective treatment in a low endemic area in Brazil. *Acta Trop.* 2002; 81: 133-42.
- Doehring-Schwerdtfeger E, Abdel-Rahim IM, Kardorff R, Kaiser C, Franke D, Schlake J, Richter J, Elsheikh M, Mohamed-Ali Q, Ehrich JH. Ultrasonographical investigation of periportal fibrosis in children with *Schistosoma mansoni* infection: reversibility of morbidity twenty-three months after treatment with praziquantel. *Am J Trop Med Hyg.* 1992; 46: 409-15.
- Domingues ALC, Dias HS, Cordeiro F. Ultrasound evaluation of periportal fibrosis in hepatosplenic schistosomiasis after specific treatment. *International Symposium on Schistosomiasis, Belo Horizonte, Brazil.* 1997; Oct 19-24, abstr. CLI 05.

- Doughty BL, Goes AM, Parra JC, Rocha RS, Katz N, Colley DG, Gazzinelli G. Granulomatous hypersensitivity to *Schistosoma mansoni* egg antigens in human schistosomiasis. I. Granuloma formation and modulation around polyacrylamide antigen-conjugated beads. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1987; 82 Suppl 4: 47-54.
- Dustin ML, Rothlein R, Bhan AK, Dinarello CA, Springer TA. Induction by IL-1 and interferon-gamma: tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *The Journal of Immunology*. 1986; 137: 245-254.
- Ebisawa M, Bochner BS, Georas SN, Schleimer RP. Eosinophil transendothelial migration induced by cytokines. I. Role of endothelial and eosinophil adhesion molecules in IL-1 beta-induced transendothelial migration. *J Immunol*. 1992; 149: 4021-8.
- Ebnet K, Vestweber D. Molecular mechanisms that control leukocyte extravasation: the selectins and the chemokines. *Histochem Cell Biol*. 1999; 112: 1-23.
- Eloi-Santos SM, Novato-Silva E, Maselli VM, Gazzinelli G, Colley DG, Correa-Oliveira R. Idiotypic sensitization in utero of children born to mothers with schistosomiasis or Chagas' disease. *J Clin Invest*. 1989; 84: 1028-31.
- Enk MJ, Amorim A, Schall VT. Acute Schistosomiasis Outbreak in the Metropolitan Area of Belo Horizonte, Minas Gerais: Alert about the Risk of Unnoticed Transmission Increased by Growing Rural Tourism. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2003; 98: 745-750.
- Enk MJ, Lima AC, Drummond SC, Schall VT, Coelho PM. The effect of the number of stool samples on the observed prevalence and the infection intensity with *Schistosoma mansoni* among a population in an area of low transmission. *Acta Trop* 2008; 108: 222-228.
- Espírito Santo MC, Azeredo LM, Teles HM, Gryscek RC, Ferreira CS, Amato Neto V. Abdominal ultrasound in the evaluation of fibrosis and portal hypertension in an area of schistosomiasis low endemicity. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2008; 50: 117-119.
- Evengard B, Hammarstrom L, Smith CIE, Linder E. Early antibody responses in human schistosomiasis. *Clin Exper Immunology*. 1990; 80: 69-76.
- Failace R (2003). *Hemograma – Manual de Interpretação*, 4ª ed. Porto Alegre, Artes Médicas.
- Falcão PL, Malaquias LC, Martins-Filho OA, Silveira AM, Passos VM, Prata A, Gazzinelli G, Coffman RL, Correa-Oliveira, R. Human Schistosomiasis mansoni: IL-10 modulates the in vitro granuloma formation. *Parasite Immunology*. 1998; 20: 447-457.

- Fanger MW, Shen L, Graziano RF, Guyre PM. Cytotoxicity mediated by human Fc receptors for IgG. *Immunol Today*. 1989; 10: 92-9.
- Fenwick A, Savioli L, Engels D, Robert Bergquist N, Todd MH. Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis. *Trends Parasitol*. 2003; 19: 509-515.
- Ferreira LF, Naveira JB, Silva JR. Fase toxêmica da esquistossomose mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1960; 2: 112-120.
- Ferreira H, Oliveira CA, Bittencourt D, Katz N, Carneiro LFC, Grinbaum E, Veloso C, Dias RP, Alvarenga RJ, Dias CB. A fase aguda da esquistossomose mansoni. *J Bras Med*. 1966; 11: 54-67.
- Ferrari TC. Involvement of central nervous system in the schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004; 99 Suppl 1: 59-62.
- Fitzsimmons CM, Joseph S, Jones FM, Reimert CM, Hoffmann KF, Kazibwe F, Kimani G, Mwatha JK, Ouma JH, Tukahebwa EM, Kariuki HC, Vennervald BJ, Kabatereine NB, Dunne DW. Chemotherapy for schistosomiasis in Ugandan fishermen: treatment can cause a rapid increase in interleukin-5 levels in plasma but decreased levels of eosinophilia and worm-specific immunoglobulin E. *Infect Immun*. 2004; 72: 4023-4030.
- Forsberg L, Floren CM, Mederstrom E, Prytz H. Ultrasound examination in diffuse liver disease: clinical significance of enlarged lymph nodes in the hepato-duodenal ligament. *Acta Radiol*. 1987; 28: 281-284.
- Freeman CM, et al. CCR8 is expressed by antigen-elicited, IL-10-producing CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells, which regulate Th2-mediated granuloma formation in mice. *J Immunol*. 2005; 174: 1962-1970.
- Frenzel K, Grigull L, Odongo-Aginya E, Ndugwa CM, Loroni-Lakwo T, Schweigmann U, Vester U, Spannbrucker N, Doehring E. Evidence for a long-term effect of a single dose of praziquantel on *Schistosoma mansoni*-induced hepatosplenic lesions in northern Uganda. *Am J Trop Med Hyg*. 1999; 60: 927-931.
- Galéa P, Brezinschek R, Lipsky PE, Oppenheimer-Marks N. Phenotypic characterization of CD4<sup>-</sup>/αβ TCR<sup>+</sup> and γδ TCR<sup>+</sup> T cells with a transendothelial migratory capacity. *J Immunol*. 1994; 153: 529-42.
- Galioto AM, et al. Role of eosinophils and neutrophils in innate and adaptive protective immunity to larval *Strongyloides stercoralis* in mice. *Infect Immun*. 2006; 74: 5730-5738.

- Ganley-Leal LM, Mwinzi PN, Cetre-Sossah CB, Andove J, Hightower AW, Karanja DM, Colley DG, Secor WE. Correlation between eosinophils and protection against reinfection with *Schistosoma mansoni* and the effect of human immunodeficiency virus type 1 coinfection in humans. *Infect Immun*. 2006; 74: 2169-76.
- Garcia-Palmieri MR & Marcial-Rojas RA. The protean manifestations of schistosomiasis mansoni. *Annals of Internal Medicine*. 1962; 57: 763-775.
- Gavioli R, Risso A, Smilovich D, Baldissarro I, Capra MC, Bargellesi A, Cosulich ME. CD69 molecule in human neutrophils: its expression and role in signal-transducing mechanisms. *Cell Immunol*. 1992; 142: 186-96.
- Gazzinelli G, Lambertucci JR, Katz N, Rocha RS, Lima MS, Colley DG. Immune responses during human schistosomiasis mansoni: XI. Immunologic Status of Patients with Acute Infections and After Treatment. *J Immunol*. 1985; 135: 2121-2127.
- Gerspacher-Lara R, 1999. Parâmetros quantitativos para o diagnóstico ultrassonográfico da esquistossomose Mansônica. Tese (Doutorado em Medicina Tropical). Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais. 114 pp.
- Giorgio A, Amoroso P, Fico P, Lettieri G, Finelli L, de Stefano G, Pesce G, Scala V, Pierri P, Pierri G. Ultrasound evaluation of uncomplicated and complicated acute viral hepatitis. *J Clin Ultrasound*. 1986; 14: 675-9.
- Gleich GJ, Frigas E, Loegering DA, Wassom DL, Steinmuller D. Cytotoxic properties of the eosinophil major basic protein. *J Immunol*. 1979; 123: 2925-7.
- Gleich GJ & Loegering DA. Immunobiology of eosinophils. *Annu Rev Immunol*. 1984; 2: 429-459.
- Gopinath R, Hanna LE, Kumaraswami V, Perumal V, Kavitha V, Vijayasekaran V, Nutman TB. Perturbations in eosinophil homeostasis following treatment of lymphatic filariasis. *Infect Immun*. 2000; 68: 93-9.
- Gordon RM & Griffiths RB. Observations on the means by which the cercariae of *S. mansoni* penetrate mammalian skin together with an account of certain morphological changes observed in the newly penetrated larvae. *Ann Trop Med*. 1951; 45: 227-243.
- Grant, EP & Rock KL. MHC class I-restricted presentation of exogenous antigen by thymic antigen-presenting cells in vitro and in vivo. *J Immunol*. 1992; 148: 13-18.

- Greco DB, Pedroso ER, Lambertucci JR, Rocha MO, Coelho PM, Raso P, Ferreira CS. Pulmonary Involvement in schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1987; 82: 221-227.
- Groh V, Porcelli S, Fabbi M, Lanier LL, Picker LJ, Anderson T, et al. Human lymphocytes bearing T Cell receptor Gamma/Delta are phenotypically diverse and evenly distributed throughout the lymphoid system. *J Exp Med*. 1989; 169: 1277-94.
- Groux H, Torpier G, Monte D, Mouton Y, Capron A, Ameisen JC. Activation-induced death by apoptosis in CD4<sup>+</sup> T cells from human immunodeficiency virus-infected asymptomatic individuals. *The Journal of Experimental Medicine*. 1992; 175: 331-340.
- Gryseels B & Nkulikyinka L. Engels D. Impact of repeated community-based selective chemotherapy on morbidity due to schistosomiasis mansoni. *Am J Trop Med Hyg*. 1994; 51: 634-641.
- Gryseels B, Polman K, Clerinx J, Kestens L. Human schistosomiasis. *Lancet*. 2006; 368: 1106-1118.
- Grzych JM, Pearce E, Cheever A, Caulada ZA, Caspar P, Heiny S, Lewis F, Sher A. Egg deposition is the major stimulus for the production of Th2 cytokines in murine schistosomiasis mansoni. *The Journal of Immunology*. 1991; 146: 1322-1327.
- Gurish MF, Humbles A, Tao H, Finkelstein S, Boyce JA, Gerard C, Friend DS, Austen KF. CCR3 is required for tissue eosinophilia and larval cytotoxicity after infection with *Trichinella spiralis*. *J Immunol*. 2002; 168: 5730-6.
- Hartnell A, Moqbel R, Walsh GM, Bradley B, Kay AB. Fc gamma and CD11/CD18 receptor expression on normal density and low density human eosinophils. *Immunology*. 1990; 69: 264-70.
- Hartnell A, Kay AB, Wardlaw AJ. IFN-gamma induces expression of Fc gamma RIII (CD16) on human eosinophils. *J Immunol*. 1992; 148: 1471-8.
- Hatz CF. The use of ultrasound in schistosomiasis. *Adv Parasitol*. 2001; 48: 225-84.
- Hesse M, Piccirillo CA, Belkaid Y, Prufer J, Mentink-Kane M, Leunig M, Cheever AW, Shevach EM, Wynn TA. The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10- producing innate effector and regulatory. T cells *J Immunol*. 2004; 172: 3157-3166.
- Hiatt RA, Sotomayor ZR, Sanchez G, Zambrana M, Knight WB. Factors in the pathogenesis of acute schistosomiasis mansoni. *J Infect Dis*. 1979; 139: 659-666.

- Hiatt RA, Ottesen EA, Sotomayor ZR, Lawley TJ. Serial observations of circulating immune complexes in patients with acute schistosomiasis. *J Infect Dis.* 1980; 142: 665-670.
- Hicks RC, Golledge J, Mir-Hasseine R, Powell JT. Vasoactive effects of fibrinogen on saphenous vein. *Nature.* 1996; 379: 818-20.
- Hino S, Kakutani H, Ikeda K, Uchiyama Y, Sumiyama K, Kuramochi A, Kitamura Y, Matsuda K, Arakawa H, Kawamura M, Masuda K, Suzuki H. Hemodynamic assessment of the left gastric vein in patients with esophageal varices with color Doppler EUS: factors affecting development of esophageal varices. *Gastrointest Endosc.* 2002; 55: 512-7.
- Hoffmann KF, Cheever AW, Wynn TA. IL-10 and the dangers of immune polarization: excessive type 1 and type 2 cytokine responses induce distinct forms of lethal immunopathology in murine schistosomiasis. *The Journal of Immunology.* 2000; 164: 6406-6416.
- Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, Kay AB, Rothenberg ME. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clin Exp Allergy.* 2008; 38: 709-50.
- Homeida M, Ahmed S, Dafalla A, Suliman S, Eltom I, Nash T, Bennett JL. Morbidity associated with *Schistosoma mansoni* infection as determined by ultrasound: a study in Gezira, Sudan. *Am J Trop Med Hyg.* 1988a; 39: 196-201.
- Homeida MA, Fenwick A, DeFalla AA, Suliman S, Kardaman MW, el Tom I, Nash T, Bennett JL. Effect of antischistosomal chemotherapy on prevalence of Symmers' periportal fibrosis in Sudanese villages. *Lancet.* 1988b; 2: 437-40.
- Homeida MA, el Tom I, Nash T, Bennett JL. Association of the therapeutic activity of praziquantel with the reversal of Symmers' fibrosis induced by *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg.* 1991; 45: 360-5.
- Homeida MM, Eltoun IA, Ali MM, Suliaman SM, Elobied EA, Mansour M, Saad AM, Bennett JL. The effectiveness of annual versus biennial mass chemotherapy in reducing morbidity due to schistosomiasis: a prospective study in Gezira-Managil, Sudan. *Am J Trop Med Hyg.* 1996; 54: 140-145.
- Horak P & Kolarova L. Molluscan and vertebrate immune responses to bird schistosomes. *Parasite Immunol.* 2005; 27: 247-55.

- Horie S, Okubo Y, Hossain M, Momose T, Suzuki J, Isobe M, Sekiguchi M. Intercellular adhesion molecule-1 on eosinophils is involved in eosinophil protein X release induced by cytokines. *Immunology*. 1997; 90: 301-7.
- Horuk R. Chemokine receptors. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2001; 12: 313-335.
- Iacomini J, Ricklan DE, Stadecker MJ. T cells expressing the gamma delta T cell receptor are not required for egg granuloma formation in schistosomiasis. *Eur J Immunol*. 1995; 25: 884-8.
- Iking-Konert C, Vogt S, Radsak M, Wagner C, Hänsch GM, Andrassy K. Polymorphonuclear neutrophils in Wegener's granulomatosis acquire characteristics of antigen presenting cells. *Kidney Int*. 2001; 60: 2247-62.
- Jacobsen EA, Taranova AG, Lee NA, Lee JJ. Eosinophils: singularly destructive effector cells or purveyors of immunoregulation. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119: 1313-1320.
- Johnston B, Kubes P. The alpha4-integrin: an alternative pathway for neutrophil recruitment? *Immunol Today*. 1999; 20: 545-50.
- Joseph S, Jones FM, Walter K, Fulford AJ, Kimani G, Mwatha JK, Kamau T, Kariuki HC, Kazibwe F, Tukahebwa E, Kabatereine NB, Ouma JH, Vennervald BJ, Dunne DW. Increases in human T helper 2 cytokine responses to *Schistosoma mansoni* worm and worm-tegument antigens are induced by treatment with praziquantel. *J Infect Dis*. 2004; 190: 835-842.
- Jutila MA & Kurk S. Analysis of bovine  $\gamma\delta$  T cell interactions with E-, P-, and L- selectin. *J Immunol*. 1996; 156: 289-96.
- Kabatereine NB, 2000. *Schistosoma mansoni* in a fishing community on the shores of Lake Albert at Butiaba, Uganda: epidemiology, morbidity, re-infection patterns and impact of treatment with praziquantel. PhD Thesis, Vector Control Division, Ministry of Health Uganda, Faculty of Science, University of Copenhagen and Danish Bilharziasis Laboratory, Copenhagen, Denmark.
- Kardorff R, Gabone RM, Mugashe C, Obiga D, Ramarokoto CE, Mahlert C, Spannbrucker N, Lang A, Günzler V, Gryseels B, Ehrich JH, Doehring E. *Schistosoma mansoni*-related morbidity on Ukerewe Island, Tanzania: clinical, ultrasonographical and biochemical parameters. *Trop Med Int Health*. 1997; 2: 230-9.
- Katoh S, Matsumoto N, Kawakita K, Tominaga A, Kincade PW, Matsukura S. A role for CD44 in an antigen-induced murine model of pulmonary eosinophilia. *J Clin Invest*. 2003; 111: 1563-70.

- Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 1972; 14: 397-400.
- Katz N. *Schistosomiasis control in Brazil*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1998; 93 Suppl 1: 33-35.
- Katz N & Peixoto SV. Critical analysis of the estimated number *Schistosomiasis mansoni* carriers in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000; 33: 303-308.
- Khan AI, Landis RC, Malhotra R. L-Selectin ligands in lymphoid tissues and models of inflammation. *Inflammation*. 2003; 27: 265-80.
- Khan AI, Kubes P. L-selectin: an emerging player in chemokine function. *Microcirculation*. 2003; 10: 351-8.
- Khan AI, Kerfoot SM, Heit B, Liu L, Andonegui G, Ruffell B, Johnson P, Kubes P. Role of CD44 and hyaluronan in neutrophil recruitment. *J Immunol*. 2004; 173: 7594-601.
- Kihara JH, Muhoho N, Njomo D, Mwobobia IK, Josyline K, Mitsui Y, Awazawa T, Amano T, Mwandawiro C. Drug efficacy of praziquantel and albendazole in school children in Mwea Division, Central Province, Kenya. *Acta Tropica* 2007; 102: 165-71.
- King CL, Xianli J, June CH, Abe R, Lee KP. CD28-deficient mice generate an impaired Th2 response to *Schistosoma mansoni* infection. *European Journal of Immunology*. 1996; 26: 2448-2455.
- Klion AD, Nutman TB. The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113: 30-7.
- Kongs A, Verle P, Dieng A, Talla I, Rouquet P. Clinical investigation of a population recently infected with *Schistosoma mansoni* (Richard-Toll, Senegal). *Trop Med Int Health*. 1996; 1: 191-198.
- Korn T, Bettelli E, Gao W, Awasthi A, Jäger A, Strom TB, Oukka M, Kuchroo VK. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells. *Nature*. 2007; 26: 484-487.
- Kyan-Aung U, Haskard DO, Poston RN, Thornhill MH, Lee TH. Endothelial leukocyte adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 mediate the adhesion of eosinophils to endothelial cells in vitro and are expressed by endothelium in allergic cutaneous inflammation in vivo. *J Immunol*. 1991;146: 521-8.



- Lambertucci JR, Rocha RS, Carvalho OS, Katz NA. Esquistossomose mansoni em Minas Gerais. Rev Inst Med Trop. 1987; 20: 47-52.
- Lambertucci JR. Acute schistosomiasis: clinical, diagnostic and therapeutic features. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1993; 35: 399-404.
- Lambertucci JR, da Silva RA, Gerspacher-Lara R, Barata CH. Acute Manson's schistosomiasis: sonographic features. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1994; 88: 76-77.
- Lambertucci JR, Serufo JC, Gerspacher-Lara R, Rayes AA, Teixeira R, Nobre V, Antunes CM. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control. Acta Trop. 2000; 77: 101-109.
- Lambertucci JR, Cota GF, Pinto-Silva RA, Serufo JC, Gerspacher-Lara R, Drummond SC, Antunes CM, Nobre V, Rayes AAM. Hepatosplenic schistosomiasis in field-based studies: a combined clinical and sonographic definition. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2001; 96: 147-150.
- Langley JG & Boros DL. T-lymphocyte responsiveness in murine schistosomiasis mansoni is dependent upon the adhesion molecules intercellular adhesion molecule-1, lymphocyte function-associated antigen-1, and very late antigen-4. Infect Immun. 1995; 63: 3980-6.
- Larsson M, Fonteneau JF, Somersan S, Sanders C, Bickham K, Thomas EK, Mahnke K, Bhardwaj N. Efficiency of cross presentation of vaccinia virus-derived antigens by human dendritic cells. Eur J Immunol. 2001; 31: 3432-3442. (Erratum in Eur. J. Immunol 32, 307, 2002).
- Lecoanet-Henchoz S, Gauchat JF, Aubry JP, Graber P, Life P, Paul-Eugene N, Ferrua B, Corbi AL, Dugas B, Plater-Zyberk C, et al. CD23 regulates monocyte activation through a novel interaction with the adhesion molecules CD11b-CD18 and CD11c-CD18. Immunity. 1995; 3: 119-25.
- Leiper RT. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt. Journal of the Royal Army Medical Corps. 1915; XXV, n. 1.
- Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. Annual Review of Immunology. 1996; 14: 233-258.
- Levings MK, Allan S, d'Hennezel E, Piccirillo CA. Functional dynamics of naturally occurring regulatory T cells in health and autoimmunity. Adv Immunol. 2006; 92: 119-155.
- Li YS, Sleigh AC, Li Y, Tanner M, Dessein A, Williams Gm, Mcmanus DP. Five-year impact of repeated praziquantel treatment on subclinical morbidity due to *Schistosoma japonicum* in China. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2002; 96: 438-43.

- Li H, Chunsong H, Guobin C, Qiuping Z, Qun L, Xiaolian Z, Baojun H, Linjie Z, Junyan L, Mingshen J, Jinquan T. Highly up-regulated CXCR3 expression on eosinophils in mice infected with *Schistosoma japonicum*. *Immunology*. 2003; 111: 107-17.
- Lukacs NW & Boros DL. Lymphokine regulation of granuloma formation in murine schistosomiasis mansoni. *Clinical Immunology and Immunopathology*. 1993; 68: 57-63.
- Lukacs NW. Role of chemokines in the pathogenesis of asthma. *Nat Rev Immunol*. 2001; 1: 108-16.
- Lunde MN & Ottesen EA. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting IgM and IgE antibodies in human schistosomiasis. *Am J Trop Med Hyg*. 1980; 29: 82-85.
- Mackay CR. Chemokines: immunology's high impact factors. *Nat Immunol*. 2001; 2: 95-101.
- Magalhães TVB, 2002. Impacto da ultrassonografia do abdômen e o efeito de um agente eco-realçador para o diagnóstico e prognóstico da doença hepática da esquistossomose mansoni. Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica e Biomedicina da Santa Casa de Belo Horizonte, Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais. 111 p.
- Magalhães TV, Gazzinelli G, Alvarez MC, Lima E Silva FC, Fraga LA, Silveira AM, Gazzinelli G, Bethony J, Loverde P, Caldas IR, Correa-Oliveira R, Prata A. Comparative clinical and ultrasound study of egg-negative and egg-positive individuals from *Schistosoma mansoni* low morbidity endemic areas, and hospitalized patients with hepatosplenic disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005; 38: 33-37.
- Makarova E, Goes TS, Marcatto AL, Leite MF, Goes AM. Serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis using *Schistosoma mansoni* recombinant protein RP26. *Parasitol Int*. 2003; 52: 269-79.
- Malaquias LCC, Falcão PL, Silveira AMS, Gazzinelli G, Prata A, Coffman RL, Pizziolo V, Souza CO, Colley DG, Correa-Oliveira R. Cytokine regulation of human immune response to *Schistosoma mansoni*: analysis of the role of IL-4, IL-5 and IL-10 on peripheral blood mononuclear cell responses. *Scandinavian Journal of Immunology*. 1997; 46: 393-398.
- Mansour MM, Ali PO, Farid Z, Simpson AJ, Woody JW. Serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis mansoni by antibody responses to keyhole limpet hemocyanin. *Am J Trop Med Hyg*. 1989; 41: 338-44.
- Manzella A, Ohtomo K, Monzawa S, Lim JH. Schistosomiasis of the liver. *Abdom Imaging*. 2008; 33: 144-150.
- Marchal G, Oyen R, Verschakelen J, Gelin J, Baert AL, Stessens RC. Sonographic appearance of normal lymph nodes. *J Ultrasound Med*. 1985; 4: 417-9.

- Manfras BJ, Reuter S, Wendland T, Kern P. Increased activation and oligoclonality of peripheral CD8<sup>+</sup> T cells in the chronic human helminth infection alveolar echinococcosis. *Infect Immun*. 2002; 70: 1168-1174.
- Margulies DH. CD28, costimulator or agonist receptor? *J Exp Med*. 2003; 197: 949-53.
- Marlin SD, Springer TA. Purified intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1). *Cell*. 1987; 51: 813-9.
- Martins RD & Borges DR. Ethanol challenge in non-alcoholic patients with schistosomiasis. *J Clin Pathol*. 1993; 46: 250-3.
- Martins-Filho OA, 1997. Avaliação de parâmetros fenotípicos celulares na esquistossomose mansoni humana. Tese (Doutorado em Imunologia). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais. 88p.
- Martins-Filho OA, Cunha-Mello JR, Lambertucci JR, Silveira AMS, Colley DG, Gazzinelli G, Correa-Oliveira R. Clinical forms of human *Schistosoma mansoni* infection are associated with differential activation of T-cell subsets and costimulatory molecules. *Digestive Diseases and Sciences*. 1999; 44: 570-577.
- Martins-Leite P, 2008. Efeito da quimioterapia com praziquantel na fibrose e no perfil de citocinas associado à infecção pelo schistosoma mansoni. Dissertação (Mestrado em Imunologia). Programa de Mestrado em Ciências Biológicas Núcleo de Pesquisa em Imunologia, Universidade Vale do Rio Doce – Univale, Governador Valadares - Minas Gerais. 70p.
- Martins-Leite P, Gazzinelli G, Alves-Oliveira LF, Gazzinelli A, Malaquias LC, Correa-Oliveira R, Teixeira-Carvalho A, Silveira AM. Effect of chemotherapy with praziquantel on the production of cytokines and morbidity associated with schistosomiasis mansoni. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52: 2780-2786.
- Mathew RC & Boros DL. Anti-L3T4 antibody treatment suppresses hepatic granuloma formation and abrogates antigen-induced interleukin-2 production in *Schistosoma mansoni* infection. *Infect Immun*. 1986; 54: 820-6.
- Mckee AS & Pearce EJ. CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> cells contribute to Th2 polarization during helminth infection by suppressing Th1 response development. *J Immunol*. 2004; 173: 1224-1231.
- McInnes IB, et al. A novel therapeutic approach targeting articular inflammation using the filarial nematode-derived phosphorylcholine-containing glycoprotein ES-62. *J Immunol* 2003; 171: 2127–2133.

- McKenzie AN, Culpepper JA, de Waal Malefyt R, Brière F, Punnonen J, Aversa G, Sato A, Dang W, Cocks BG, Menon S, et al. Interleukin 13, a T-cell-derived cytokine that regulates human monocyte and B-cell function. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90: 3735-9.
- MacKenzie JR, Mattes J, Dent LA, Foster PS. Eosinophils promote allergic disease of the lung by regulating CD4+ Th2 lymphocyte function. *J Immunol*. 2001; 167: 3146-55.
- Miller RL, Armelagos GJ, Ikram S, De Jonge N, Krijger FW, Deelder AM. Palaeoepidemiology of *Schistosoma* infection in mummies. *BMJ*. 1992; 304: 555-6.
- Minty A, Chalon P, Derocq JM, Dumont X, Guillemot JC, Kaghad M, Labit C, Leplatois P, Liauzun P, Miloux B, et al. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature*. 1993; 362: 248-50.
- Mishra A, Hogan SP, Lee JJ, Foster PS, Rothenberg ME. Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract. *J Clin Invest*. 1999; 103: 1719-27.
- Mohamed AR, Ali Q, Doehring-Schwerdtfeger E, Abdel-Rahim IM, Schlake J, Kardorff R, Franke D, Kaiser C, Elsheikh M, Ehrich JHH. Ultrasonographical investigation of periportal fibrosis in children with *Schistosoma mansoni* infection: reversibility of morbidity seven months after treatment with praziquantel. *Am J Trop Med Hyg*. 1991; 44: 444-51.
- Montenegro SM, Miranda P, Mahanty S, Abath FG, Teixeira KM, Coutinho EM, Brinkman J, Gonçalves I, Domingues LA, Domingues AL, Sher A, Wynn TA. Cytokine production in acute versus chronic human *Schistosomiasis mansoni*: the cross-regulatory role of interferon-gamma and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. *J Infect Dis*. 1999; 179: 1502-14.
- Monteseirín J, Prados M, Delgado J, Guardia P, de la Calle A, Bonilla I, Conde MA, Conde J. Eosinophil receptors. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 1996; 24: 226-34.
- Moore DL, Grove DI, Warren KS. The *Schistosoma mansoni* egg granuloma: quantitation of cell populations. *J Pathol*. 1977; 121: 41-50.
- Morimoto M, et al. Peripheral CD4 T cells rapidly accumulate at the host: parasite interface during an inflammatory Th2 memory response. *J Immunol*. 2004; 172: 2424-2430.
- Mosmann TR, Moore KW. The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. *Immunol Today*. 1991; 12: A49-53.
- Munitz A & Levi-Schaffer F. Eosinophils: 'new' roles for 'old' cells. *Allergy*. 2004; 59: 268-275.

- Murphy PM. Chemokine receptors: structure, function and role in microbial pathogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1996; 7: 47-64.
- Murphy PM, Baggiolini M, Charo IF, Hebert CA, Horuk R, Matsushima K, Miller LH, Oppenheim JJ, Power CA. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev.* 2000; 52: 145-176.
- Mutapi F, Ndhlovu PD, Hagan P, Spicer JT, Mduluzi T, Turner CM, Chandiwana SK, Woolhouse ME. Chemotherapy accelerates the development of acquired immune responses to *Schistosoma haematobium* infection. *J Infect Dis.* 1998; 178: 289-93.
- Neves J (1986). *Esquistossomose mansoni. Clínica da forma aguda ou toxêmica.* Rio de Janeiro: Medsi Editora Médica e Científica.
- Neves J. Acute or toxemic form of mansoni's schistosomiasis (Forma aguda ou toxêmica da esquistossomose mansoni). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 1992; 87 Suppl. 4: 321-324.
- Neves DP, Filippis T. *Parasitologia Básica.* Belo Horizonte: COOPMED, 2003. 134 p.
- Noguchi H, Kephart GM, Colby TV, Gleich GJ. Tissue eosinophilia and eosinophil degranulation in syndromes associated with fibrosis. *Am J Pathol.* 2002; 140: 521-528.
- Novato-Silva E, Gazzinelli G, Colley DG. Immune responses during human schistosomiasis mansoni. XVIII. Immunologic status of pregnant women and their neonates. *Scand J Immunol.* 1992; 35: 429-37.
- Nurieva R, Yang XO, Martinez G, Zhang Y, Panopoulos AD, Mal, Schluns K, Tian Q, Watowich SS, Jetten AM, Dong C. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature.* 2007; 448: 480-483.
- Nutman TB. Evaluation and differential diagnosis of marked, persistent eosinophilia. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2007; 27: 529-49.
- Olds GR & Dasarthy S. Schistosomiasis. *Curr Treat Options Infect Dis.* 2000; 2: 88-99.
- Oloris SC, Mesnil M, Reis VN, Sakai M, Matsuzaki P, Fonseca Ede S, da Silva TC, Avanzo JL, Sinhorini IL, Guerra JL, Costa-Pinto FA, Maiorka PC, Dagli ML. Hepatic granulomas induced by *Schistosoma mansoni* in mice deficient for connexin 43 present lower cell proliferation and higher collagen content. *Life Sci.* 2007; 80: 1228-35.
- Ono SJ, Nakamura T, Miyazaki D, Ohbayashi M, Dawson M, Toda M. Chemokines: roles in leukocyte development, trafficking, and effector function. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111: 1185-1199.

- Ovington KS, Behm CA. The enigmatic eosinophil: investigation of the biological role of eosinophils in parasitic helminth infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1997; 92 Suppl 2: 93-104.
- Padigel UM, Hess JA, Lee JJ, Lok JB, Nolan TJ, Schad GA, Abraham D. Eosinophils act as antigen-presenting cells to induce immunity to *Strongyloides stercoralis* in mice. *J Infect Dis*. 2007; 196: 1844-51.
- Paraense WL. The distribution of the molluscan vectors of schistosomiasis in the Americas. *Brasilia Med*. 1975; 11: 11-14.
- Paraense WL. *Biomphalaria occidentalis* sp.n. from South America (Mollusca Basommatophora Pulmonata). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1981; 76: 199-211.
- Paraense WL. *Biomphalaria kuhniana* (Clessin, 1883), planorbid mollusc from South America. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1988; 83: 1-12.
- Pearce EJ, Caspar P, Grzych JM, Lewis FA, Sher A. Downregulation of Th1 Cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Experimental Medicine*. 1991; 173: 159-166.
- Pearce EJ, La Flamme A, Sabin E, Brunet LR. The initiation and function of Th2 responses during infection with *Schistosoma mansoni*. *Adv Exp Med Biol*. 1998; 452: 67-73.
- Pearce EJ, Macdonald AS. The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews. Immunology*. 2002; 2: 499-511.
- Pearlman E, Lass JH, Bardenstein DS, Diaconu E, Hazlett FE Jr, Albright J, Higgins AW, Kazura JW. IL-12 exacerbates helminth-mediated corneal pathology by augmenting inflammatory cell recruitment and chemokine expression. *J Immunol*. 1997; 158: 827-33.
- Pessoa SB (1967). *Parasitologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Pessoa SB & Martins AV. Trematódeos parasitas do sistema sanguíneo-*Schistosoma mansoni*. In: KOOGAN G. (Ed) *Parasitologia Médica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.
- Plumas J, Gruart V, Aldebert D, Truong MJ, Capron M, Capron A, Prin L. Human eosinophils from hypereosinophilic patients spontaneously express the p55 but not the p75 interleukin 2 receptor subunit. *Eur J Immunol*. 1991; 21: 1265-70.
- Prata A. Esquistossomose Mansonii. In: Veronesi R, Focaccia R. *Tratado de Infectologia*. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2004. v. 2, capítulo 107, p. 1374-1392.

- Rabello ALT, Garcia MM, Dias Neto E, Rocha RS, Katz N. Dot-dye-immunoassay and dot-ELISA for the serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis mansoni using keyhole limpet haemocyanin as antigen. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1993; 87: 279-81.
- Rabello ALT, Pinto-Silva RA, Rocha RS, Katz N. Abominal ultrasonography in acute clinical schistosomiasis mansoni. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1994; 50: 748-752.
- Rabello ALT. Acute human schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 1995; 90: 277-280.
- Race GJ, Michaels RM, Martin JH, Larsh JE, Matthews JL. *Schistosoma mansoni* eggs: an electron microscopic study of shell pores and microbarbs. *Proc Soc Exp Med.* 1969; 130: 990-992.
- Ramalho-Pinto FJ, McLaren DJ, Smithers SR. Complement-mediated killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by rat eosinophils in vitro. *J. Exp. Med.* 1978; 147: 147-156.
- Reimert CM, Fitzsimmons CM, Joseph S, Mwath JK, Jones FM, Kimani G, Hoffmann KF, Booth M, Kabatereine NB, Dunne DW, Vennervad BJ. Eosinophil activity in *Schistosoma mansoni* infections in vivo and in vitro in relation to plasma cytokine profile pre- and posttreatment with praziquantel. *Clin Vaccine Immunol.* 2006; 13: 584-593.
- Reinhardt PH, Kubes P. Differential leukocyte recruitment from whole blood via endothelial adhesion molecules under shear conditions. *Blood.* 1998; 92: 4691-9.
- Renganathan E & Cioli D. An International initiative on praziquantel use. *Parasitol Today.* 1998; 14: 390-391.
- Rezende SA, Lambertucci JR, Goes AM. Role of immune complexes from patients with different clinical forms of schistosomiasis in the modulation of in vitro granuloma reaction. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 1997; 92: 683-687.
- Ritter DM & Mckerrow JH. Intercellular adhesion molecule 1 is the major adhesion molecule expressed during schistosome granuloma formation. *Infection and Immunity.* 1996; 64: 4706-4713.
- Richter J, Domingues AL, Barata CH, Prata AR, Lambertucci JR. Report of the second satellite symposium on ultrasound in schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2001; 96 Suppl: 151-156.
- Richter J. The impact of chemotherapy on morbidity due to schistosomiasis. *Acta Trop.* 2003; 86: 161-83.

- Rocha MOC, Pedroso ERP, Greco DB, Lambertucci JR, Katz N, Rocha RL, Rocha RS, Rezende DF, Neves J. Pathogenetic factors of acute schistosomiasis mansoni: correlation of worm burden, IgE, blood eosinophilia and intensity of clinical manifestations. *Trop Med Int Health*. 1996; 2: 213-220.
- Rock KL, Gamble S, Rothstein L, Benacerraf B. Reassociation with beta-2-microglobulin is necessary for Db class I major histocompatibility complex binding of an exogenous influenza peptide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 301-304.
- Rock KL, Rothstein L, Gamble S, Fleischacker C. Characterization of antigen-presenting cells that present exogenous antigens in association with class I MHC molecules. *J Immunol*. 1993; 150: 438-446.
- Rothenberg ME. Eosinophilia. *N Engl J Med*. 1998; 338: 1592-600.
- Rothenberg ME. CD44 – a sticky target for asthma. *J Clin Invest*. 2003; 111: 1460-2.
- Rothenberg ME. Eosinophilic gastrointestinal disorders (EGID). *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113: 11-28.
- Rothenberg ME & Hogan SP. The eosinophil. *Annu Rev Immunol*. 2006; 24: 147-174.
- Rottman JB. Key role of chemokines and chemokine receptors in inflammation, immunity, neoplasia, and infectious disease. *Vet Pathol*. 1999; 36: 357-367.
- Rumbley CA, Zekavat SA, Sugaya H, Perrin PJ, Ramadan MA, Phillips SM. The schistosome granuloma: characterization of lymphocyte migration, activation, and cytokine production. *J Immunol*. 1998. 161: 4129-37.
- Rumbley CA, Sugaya H, Zekavat SA, El RM, Perrin PJ, Phillips SM. Activated eosinophils are the major source of Th2-associated cytokines in the schistosome granuloma. *J Immunol*. 1999; 162: 1003-1009.
- Rutitzky LI, Hernandez HJ, Stadecker MJ. Th1-polarizing immunization with egg antigens correlates with severe exacerbation of immunopathology and death in schistosome infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98: 13243-8.
- Rutitzky LI, Lopes da Rosa JR, Stadecker MJ. Severe CD4 T cell-mediated immunopathology in murine schistosomiasis is dependent on IL-12p40 and correlates with high levels of IL-17. *J Immunol*. 2005; 175: 3920-3926.
- Sabroe I, Hartnell A, Jopling LA, Bel S, Ponath PD, Pease JE, Collins PD, Williams TJ. Differential regulation of eosinophil chemokine signaling via CCR3 and non-CCR3 pathways. *J Immunol*. 1999; 162: 2946-55.



- Saconato H & Atallah A. Interventions for treating schistosomiasis mansoni. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000; 2: CD000528.
- Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol.* 2005; 6: 345-352.
- Sallusto F, Lanzavecchia A, Mackay CR. Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2-mediated responses. *Immunol Today.* 1998; 19: 568-574.
- Sallusto F, Lenig D, Mackay CR, Lanzavecchia A. Flexible programs of chemokine receptor expression on human polarized T helper 1 and 2 lymphocytes. *J Exp Med.* 1998; 187: 875-83.
- Sallusto R, Mackay CR, Lanzavecchia A. The role of chemokine receptors in primary, effector, and memory immune responses. *Annu Rev Immunol.* 2000; 18: 593-620.
- Sandilands GP, Ahmed Z, Perry N, Davison M, Lupton A, Young B. Cross-linking of neutrophil CD11b results in rapid cell surface expression of molecules required for antigen presentation and T-cell activation. *Immunology.* 2005; 114: 354-68.
- Sans E, Delachanal E, Duperray A. Analysis of the roles of ICAM-1 in neutrophil transmigration using a reconstituted mammalian cell expression model: implication of ICAM-1 cytoplasmic domain and Rho-dependent signaling pathway. *J Immunol.* 2001; 166: 544-51.
- Saunders KA, Raine T, Cooke A, Lawrence CE. Inhibition of autoimmune type 1 diabetes by gastrointestinal helminth infection. *Infect Immun.* 2007; 75: 397-407.
- Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar – organizado por Omar dos Santos Carvalho, Paulo Marcos Zech Coelho e Henrique Leonel Lenzi. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008. 1124p.
- Sher A, Butterword AE, Colley DG, Cook JA, Freeman GL, Jordan P. Immune responses during human schistosomiasis mansoni. II. Occurrence of eosinophil-dependent cytotoxic antibodies in relation to intensity and duration of infection. *Am J Trop Med Hyg.* 1977; 26: 909-916.
- Sher A, Coffman RL, Hieny S, Scott P, Cheever AW. Interleukin 5 is required for the blood and tissue eosinophilia but not granuloma formation induced by infection with *Schistosoma mansoni*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990; 87: 61-5.
- Shi HZ, Humbles A, Gerard C, Jin Z, Weller PF. Lymph node trafficking and antigen presentation by endobronchial eosinophils. *J Clin Invest.* 2000; 105: 945-53.

- Shibata F, Ito A, Ohkuma Y, Mitsui K. Mitogenic activity of S100A9 (MRP-14). *Biol Pharm Bull.* 2005; 28: 2312-4.
- Silva LC, Pereira AC, Queiroz LC, Andrade LM, Antunes CM, Lambertucci JR. Disagreement between ultrasound and magnetic resonance imaging in the identification of schistosomal periportal fibrosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2006; 101 Suppl 1: 279-282.
- Silveira-Lemos D, 2004. Avaliação do perfil de expressão de receptores de quimiocinas e do padrão de citocinas intracitoplasmáticas em leucócitos do sangue periférico de pacientes portadores da fase aguda da esquistossomose mansoni. Dissertação (Mestrado em Imunologia). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais. 118p.
- Silveira-Lemos D, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA, Oliveira LF, Corrêa-Oliveira R. High expression of co-stimulatory and adhesion molecules are observed on eosinophils during human *Schistosoma mansoni* infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2006; 101 Suppl 1: 345-51.
- Silveira-Lemos D, 2008. Avaliação fenotípica e funcional de eosinófilos do sangue periférico de pacientes portadores da fase crônica da esquistossomose mansoni. Tese (Doutorado em Imunologia). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais. 249p.
- Silveira-Lemos D, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA, Alves Oliveira LF, Costa-Silva MF, Matoso LF, de Souza LJ, Gazzinelli A, Corrêa-Oliveira R. Eosinophil activation status, cytokines and liver fibrosis in *Schistosoma mansoni* infected patients. *Acta Trop.* 2008; 10 : 150-159.
- Simpson AJ & Smithers SR. Characterization of the exposed carbohydrates on the surface membrane of adult *Schistosoma mansoni* by analysis of lectin binding. *Parasitology.* 1980; 81: 1-15.
- Singh KP, Gerard HC, Hudson AP, Reddy TR, Boros DL. Retroviral Foxp3 gene transfer ameliorates liver granuloma pathology in *Schistosoma mansoni* infected mice. *Immunology.* 2005; 114: 410-417.
- Si-Tahar M, Sitaraman S, Shibahara T, Madara JL. Negative regulation of epithelium-neutrophil interactions via activation of CD44. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001; 280: C423-32.

- Skinner HA, Holt S, Schuller R, Roy J, Israel Y. Identification of alcohol abuse using laboratory markers and a history of trauma. *Ann Int Med.* 1984; 101: 847-51.
- Stadecker MJ, Asahi H, Finger E, Hernandez HJ, Rutitzky LI, Sun J. The immunobiology of Th1 polarization in high-pathology schistosomiasis. *Immunol Rev.* 2004; 201: 168-79.
- Stavisky AB. Regulation of granulomatous inflammation in experimental models of schistosomiasis. *Infect. Immun.* 2004; 72: 1-12.
- Steinmann P. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *Lancet Infect Dis.* 2000; 6: 411-425.
- Stelma FF, Talla I, Sow S, Kongs A, Niang M, Polman K, Deelder AM, Gryseels B. Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg.* 1995; 53: 167-170.
- Stoltzfus RJ & Dreyfuss ML. Guidelines for the Use of Iron Supplements to Prevent and Treat Iron Deficiency Anemia. International Nutritional Anemia Consultative Group, Washington. 1998; 46p.
- Sturrock RF. Schistosomiasis epidemiology and control: how did we get here and where should we go? *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001; 96 Suppl. 5: 17-27.
- Suassuna A & Coura JR. Esquistossomose mansoni no Estado da Guanabara: Aspectos epidemiológicos relacionados às migrações internas. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1969; 2: 59-71.
- Summers RW, Elliott DE, Qadir K, Urban JF Jr, Thompson R, Weinstock JV. *Trichuris suis* seems to be safe and possibly effective in the treatment of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2003; 98: 2034-41.
- Swartz JM, Dyer KD, Cheever AW, Ramalingam T, Pesnicak L, Domachowske JB, Lee JJ, Lee NA, Foster PS, Wynn TA, Rosenberg HF. *Schistosoma mansoni* infection in eosinophil lineage-ablated mice. *Blood.* 2006; 108: 2420-7.
- Tachimoto H, Burdick MM, Hudson SA, Kikuchi M, Konstantopoulos K, Bochner BS. CCR3-active chemokines promote rapid detachment of eosinophils from VCAM-1 in vitro. *J Immunol.* 2000; 165: 2748-54.
- Takashi S, Okubo Y, Horie S. Contribution of CD54 to human eosinophil and neutrophil superoxide production. *J Appl Physiol.* 2001; 91: 613-22.
- Taylor JJ, Mohrs M, Pearce EJ. Regulatory T cell responses develop in parallel to Th responses and control the magnitude and phenotype of the Th effector population. *J Immunol.* 2006; 176: 5839-5847.

- Teder P, Vandivier RW, Jiang D, Liang J, Cohn L, Puré E, Henson PM, Noble PW. Resolution of lung inflammation by CD44. *Science*. 2002; 296: 155-8.
- Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho AO, Peruhype-Magalhães V, Silveira-Lemos D, Malaquias LCC, Alves-Oliveira LF, Silveira AMS, Gazzinelli A, Alvarez MCB, Gazzinelli G, Corrêa-Oliveira R. Cytokines, chemokines receptors, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>HIGH+</sup> T-cells and clinical forms of human schistosomiasis. *Acta Trop*. 2008; 108: 139-149.
- Tenscher K, Metzner B, Schöpf E, Norgauer J, Czech W. Recombinant human eotaxin induces oxygen radical production, Ca(2+)-mobilization, actin reorganization, and CD11b upregulation in human eosinophils via a pertussis toxin-sensitive heterotrimeric guanine nucleotide-binding protein. *Blood*. 1996; 88: 3195-9.
- Thompson CB, Lindsten T, Ledbetter JA, Kunkel SL, Young HA, Emerson SG, Leiden JM, June CH. CD28 activation pathway regulates the production of multiple T-cell-derived lymphokines/cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; 86: 1333-1337.
- Thorne KJ & Mazza G. Eosinophilia, activated eosinophils and human schistosomiasis. *J Cell Sci*. 1991; 98: 265-270.
- Thors C & Linder E. Cross reacting antibodies against keyhole limpet haemocyanin may interfere with the diagnostics of acute schistosomiasis. *Parasite Immunol*. 1998; 20: 489-96.
- Todd R, Donof BR, Chiang T, Chou MY, Elovic A, Gallagher GT, Wong DT. The eosinophil as a cellular source of transforming growth factor alpha in healing cutaneous wounds. *Am J Pathol* 1991; 138: 1307-1313.
- Torres, V.M. Dermatologic manifestations of Schistosomiasis Mansoni. *Archives of Dermatology*. 1976; 112: 1539-1542.
- Tosi MF, Stark JM, Smith CW, Hamedani A, Gruenert DC, Infeld MD. Induction of ICAM-1 expression on human airway epithelial cells by inflammatory cytokines: effects on neutrophil-epithelial cell adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1992; 7: 214-21.
- Unkeless JC. Function and heterogeneity of human Fc receptors for immunoglobulin G. *J Clin Invest*. 1989; 83:355-61.
- Utzing J, N'goran EK, N'dri A, Lengeler C, Tanner M. Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* with particular consideration for intensity of infection. *Trop Med Int Health*. 2000; 5: 771-778.

- Utzinger J, Keiser J, Shuhua X, Tanner M, Singer BH. Combination chemotherapy of schistosomiasis in laboratory studies and clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 1487-1495.
- Vadas MA, David JR, Butterworth AE, Houba V, Sturrock RF, David L, Herson R, Siogok TA, Kimani R. Functional studies on purified eosinophils and neutrophils from patients with *Schistosoma mansoni* infections. *Clin Exp Immunol.* 1980; 39: 683-694.
- Van Den Biggelaar AH, Van Ree R, Rodrigues LC, Lell B, Deelder AM, Kremsner PG, Yazdanbakhsh M. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet.* 2000; 356: 1723-1727.
- Vassallo P, Wernecke K, Roos N, Peters PE. Differentiation of benign from malignant superficial lymphadenopathy: the role of high-resolution US. *Radiology.* 1992; 183: 215-220.
- Veith MC & Butterworth AE. Enhancement of human eosinophil-mediated killing of *Schistosoma mansoni* larvae by mononuclear cell products in vitro. *J Exp Med.* 1983; 157: 1828-1843.
- Vella A, Bellavite P, Adami A, Ortolani R, Benoni G, Carletto A, Biasi D, Caramaschi P, Tridente G. Expression of FCepsilonII/CD23 on human neutrophils isolated from rheumatoid arthritis patients. *Inflammation.* 1999; 23: 471-9.
- Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGF beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity.* 2006; 24: 179-89.
- Venuprasad K, Parab P, Prasad DV, Sharma S, Banerjee PR, Deshpande M, Mitra DK, Pal S, Bhadra R, Mitra D, Saha B. Immunobiology of CD28 expression on human neutrophils. I. CD28 regulates neutrophil migration by modulating CXCR-1 expression. *Eur J Immunol.* 2001; 31: 1536-43.
- Venuprasad K, Banerjee PP, Chattopadhyay S, Sharma S, Pal S, Parab PB, Mitra D, Saha B. Human neutrophil-expressed CD28 interacts with macrophage B7 to induce phosphatidylinositol 3-kinase-dependent IFN-gamma secretion and restriction of *Leishmania* growth. *J Immunol.* 2002; 169: 920-8.
- Verweij JJ, Polderman AM, Visser LG, Deelder AM. Measurement of antibody response to keyhole limpet haemocyanin was not adequate for early diagnosis of schistosomiasis in a group of Dutch visitors to Mali. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1995; 89: 48-50.

- Vidigal TH, Spatz L, Nunes DN, Simpson AJ, Carvalho OS, Dias Neto E. Biomphalaria spp: identification of the intermediate snail hosts of *Schistosoma mansoni* by polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion of the ribosomal RNA gene intergenic spacer. *Exp Parasitol*. 1998; 89: 180-7.
- Volpe E, Servant N, Zollinger R, Bogiatzi SI, Hupé P, Barillot E, Soumelis V. A critical function for transforming growth factor-beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human T(H)-17 responses. *Nat Immunol*. 2008; 9: 650-657.
- Xiao S, Tanner M, N'goran EK, Utzinger J, Chollet J, Bergquist R, Chen M, Zheng J. Recent investigations of artemether, a novel agent for the prevention of schistosomiasis japonica, mansoni and haematobia. *Acta Trop*. 2002; 82: 175-181.
- Ximenes RAA, Southgate B & Smith P. Controle da esquistossomose. In: Malta J. (Coord.) *Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1994.
- Walsh GM, Mermod JJ, Hartnell A, Kay AB, Wardlaw AJ. Human eosinophil, but not neutrophil, adherence to IL-1-stimulated human umbilical vascular endothelial cells is alpha 4 beta 1 (very late antigen-4) dependent. *J Immunol*. 1991; 146: 3419-23.
- Wangoo A, Laban C, Cook HT, Glenville B, Shaw RJ. Interleukin-10 and corticosteroid-induced reduction in type I procollagen in a human ex vivo scar culture. *Int J Exp Pathol*. 1997; 78: 33-41.
- Warren KS, Domingo EO, Cowan RB. Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *Am J Pathol*. 1967; 51: 735-56.
- Warren KS. The immunopathogenesis of schistosomiasis: a multidisciplinary approach. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1972; 66: 417-434.
- Waters WR, Rahner TE, Palmer MV, Cheng D, Nonnecke BJ, Whipple DL. Expression of L-selectin (CD62L), CD44, and CD25 on activated bovine T cells. *Infect Immun*. 2003; 71: 317-26.
- Weller PF. Cytokine regulation of eosinophil function. *Clin Immunol Immunopathol*. 1992; 88: 7430-7435.
- Weller PF. Eosinophils: structure and functions. *Curr Opin Immunol*. 1994; 6: 85-90.
- Weinstock JV. The pathogenesis of granulomatous inflammation and organ injury in schistosomiasis: interactions between the aschistosome ova and the host. *Immunol Invest*. 1992; 21: 455-475.

- Weiss JB, Aronstein WS, Strand M. *Schistosoma mansoni*: stimulation of artificial granuloma formation in vivo by carbohydrate determinants. *Exp Parasitol*. 1987; 64: 228-36.
- World Health Organization - WHO: Meeting on the use of ultrasound for assessment of pathology due to schistosomiasis. Cairo Egypt, Oct. 1-4 1991. UNDP/World Bank/WHO, Special Programme for research and training in tropical diseases, TDR/SCH/ULTRASON/91.3, 1991.
- Wilson E, Aydinoglu MK, Jutila MA. A circulating bovine  $\gamma\delta$  T cell subset, which is found in large numbers in the spleen, accumulates inefficiently in an artificial site of inflammation: correlation with lack of expression of E-selectin ligands and L-selectin. *J Immunol*. 1999; 162: 4914-9.
- Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, Ramalingam TR, Thompson R, Wynn TA. Immunopathology of schistosomiasis. *Immunol Cell Biol*. 2007; 85: 148-154.
- Woerly G, Roger N, Loiseau S, Dombrowicz D, Capron A, Capron M. Expression of CD28 and CD86 by human eosinophils and role in the secretion of type 1 cytokines (interleukin 2 and interferon gamma): inhibition by immunoglobulin A complexes. *J Exp Med*. 1999; 190: 487-95.
- Woerly G, Decot V, Loiseau S, Loyens M, Chihara J, Ono N, Capron M. CD28 and secretory immunoglobulin A-dependent activation of eosinophils: inhibition of mediator release by the anti-allergic drug, suplatast tosilate. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 1379-87.
- Wong DT, Donnoff RB, Yang J, Song BZ, Matossian K, Nagura N, Elovic A, McBride J, Gallagher G, Todd R. Sequential expression of transforming growth factors alpha and beta 1 by eosinophils during cutaneous wound healing in the hamster. *Am J Pathol*. 1993; 143: 130-142.
- Wynn TA, Cheever AW, Williams ME, Hieny S, Caspar P, Kühn R, Müller W, Sher A. IL-10 regulates liver pathology in acute murine *Schistosomiasis mansoni* but is not required for immune down-modulation of chronic disease. *J Immunol*. 1998; 160: 4473-80.
- Wynn TA, Thompson RW, Cheever AW, Mentink-Kane MM. Immunopathogenesis of schistosomiasis. *Immunological Rev*. 2004; 201: 156-167.
- Yamaoka KA, Arock M, Issaly F, Dugas N, Le Goff L, Kolb JP. Granulocyte macrophage colony stimulating factor induces Fc epsilon RII/CD23 expression on normal human polymorphonuclear neutrophils. *Int Immunol*. 1996; 8: 479-90.

Yamashita T & Boros DL. IL-4 influences IL-2 production and granulomatous inflammation in murine schistosomiasis mansoni. *The Journal of Immunology*. 1992; 149: 3659-3664.

Yee JM, Raghavendra BN, Horii SC, Ambrosino M. Abdominal sonography in AIDS. A review. *J Ultrasound Med*. 1993; 12: 705-714.

Zimmermann N, Daugherty BL, Kavanaugh JL, El-Awar FY, Moulton EA, Rothenberg ME. Analysis of the CC chemokine receptor 3 gene reveals a complex 5' exon organization, a functional role for untranslated exon 1, and a broadly active promoter with eosinophil-selective elements. *Blood*. 2000; 96: 2346-54.

Ziegler SF, Ramsdell F, Alderson MR. The activation antigen CD69. *Stem Cells*. 1994; 12: 456-65.

Zurawski G & de Vries JE. Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunol Today*. 1994; 15: 19-26.



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)