



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

CASSIA GISELLE DE OLIVEIRA NÓBREGA

**PRODUÇÃO E CORRELAÇÃO ENTRE RECEPTORES SOLÚVEIS, CITOCINAS E
QUIMIOKINAS NA ALERGIA RESPIRATÓRIA DE INDIVÍDUOS INFECTADOS
POR HELMINTOS**

**Recife
2019**

CASSIA GISELLE DE OLIVEIRA NÓBREGA

**PRODUÇÃO E CORRELAÇÃO ENTRE RECEPTORES SOLÚVEIS, CITOCINAS E
QUIMIOCINAS NA ALERGIA RESPIRATÓRIA DE INDIVÍDUOS INFECTADOS
POR HELMINTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Medicina Tropical.

Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Profª Drª Valdênia Maria Oliveira de Souza

**Recife
2019**

N754p Nóbrega, Cassia Giselle de Oliveira.
Produção e correlação entre receptores solúveis, citocinas e quimiocinas na alergia respiratória de indivíduos infectados por helmintos / Cassia Giselle de Oliveira Nóbrega. – 2019.
77 f.: il; 30 cm.

Orientadora: Valdênia Maria Oliveira de Souza.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. Recife, 2019.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Alergia respiratória. 2. Schistosoma mansoni. 3. Citocinas. 4. ST2. 5. CCL5. I. Souza, Valdênia Maria Oliveira de (Orientadora). II. Título.

618.988 CDD (20.ed.) UFPE (CCS2019-234)

CASSIA GISELLE OLIVEIRA NÓBREGA

**PRODUÇÃO E CORRELAÇÃO ENTRE RECEPTORES SOLÚVEIS, CITOCINAS E
QUIMIOCINAS NA ALERGIA RESPIRATÓRIA DE INDIVÍDUOS INFECTADOS
POR HELMINTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Medicina Tropical.

Aprovada em: 15 /03/2019.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^ª. Dr^ª. Valdênia Maria Oliveira de Souza (Orientadora - Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^ª. Dr^ª. Virginia Maria Barros de Lorena (Examinadora Interna)
Instituto Aggeu Magalhães (IAM/FIOCRUZ)

Prof^ª. Dr^ª. Vláudia Maria Assis Costa (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof. Dr. Wheverton Ricardo Correia do Nascimento (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^ª. Dr^ª. Iana Rafaela Fernandes Sales (Examinadora Externa)
Centro Universitário Maurício de Nassau (UNINASSAU)

*Dedico à minha filha, Larissa, meu esposo Clemilson e meus pais, Assis e Graça,
meus maiores incentivadores.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, criador de todas as coisas, que sempre me concede forças e me torna capaz de ir mais longe.

Agradeço a minha filha, Larissa (o presente mais lindo de Deus pra mim), que mesmo sem ainda compreender bem, desde que chegou tornou essa trajetória mais leve. A cada sorriso, a cada carinho e demonstrações de amor consegue me fazer enxergar a força e a determinação que eu não sabia que podia ter.

Ao meu amado esposo, Clemilson, por todo amor, companheirismo e por acreditar tanto em mim. Agradeço por sempre estar ao meu lado, com tamanha paciência, dividindo comigo todos os momentos de nossas vidas.

Aos meus pais, Assis e Graça, por todo apoio e incentivo, por sempre estarem ao meu lado me mostrando o melhor caminho a seguir e me ensinando que jamais devemos desistir de nossos sonhos por mais longe que pareçam estar de nós.

À Profª Valdênia Souza, pela orientação de mais um trabalho. Agradeço por toda confiança, paciência, sobretudo, pelos ensinamentos de imunologia e da melhor forma de analisar, pensar e escrever. Uma verdadeira “Mãe Científica”, em quem me espelho muito.

Aos meus amigos, sobretudo aqueles que estão sempre por perto tornando a trajetória mais leve. Jacqueline, Rodrigo, Ericsson e Kecinha.

À Maria, uma amiga do laboratório que se tornou aquela amiga que sei que posso contar sempre. Agradeço por toda ajuda, por cada conversa, cada sorriso e até por compartilhar os momentos tristes.

Aos meus amigos e companheiros de Laboratório (Erica, Roeckson, Raul e Gabriela) por tudo mesmo. Desde as ajudas com os experimentos e almoços fora de hora, até as conversas jogadas foras e risos em momentos de tensão.

À Wheverton, grande responsável por este trabalho. Agradeço por cada coleta, cada ISAAC, cada “bronca resolvida” e por todo conhecimento transmitido.

A todos meu muito obrigada.

RESUMO

Infecções parasitárias podem modular a intensidade das respostas alérgicas. Diante disso, objetiva-se investigar os níveis sistêmicos de IL-33, ST2 e sCD23 em pacientes parasitados por *S. mansoni*, bem como a produção de citocinas e quimiocinas sabidamente envolvidos na resposta alérgica. Indivíduos de ambos os sexos com idade entre 5 e 60 anos, foram selecionados através do questionário ISAAC e de exames parasitológicos. Foi realizada a coleta de sangue para obtenção do leucograma e cultura celular e os níveis de citocinas e quimiocinas no sobrenadante foram mensurados pelo *Cytometric Bead Array*. A dosagem de IgE total, anti-Asc e anti-*Blomia* no soro foi obtida por ImmunoCAP, enquanto de ST2 e CD23 por ELISA. Indivíduos alérgicos e infectados pelo *S. mansoni* apresentaram maiores níveis de IL-10, em relação aos apenas alérgicos ou infectados, enquanto que os apenas infectados apresentaram uma diminuição de CCL2 e CCL5. Adicionalmente foi encontrada uma correlação negativa entre ST2 e IL-10, ST2 e IL-6 e ST2 e CCL5 apenas em indivíduos não infectados. A infecção pelo *S. mansoni* parece diminuir os níveis de CCL2 e CCL5 e a produção do ST2 solúvel nesses indivíduos pode estar envolvida nesse processo, bem como na diminuição de IL-10.

Palavras-chave: Alergia respiratória. *Schistosoma mansoni*. Citocinas. ST2. CCL5.

ABSTRACT

Parasitic infections can modulate the intensity of allergic responses. The aim of this study was to investigate the systemic levels of IL-33, ST2 and sCD23 in patients infected with *S. mansoni*, as well as the production of cytokines and chemokines known to be involved in the allergic response. Individuals of both sexes, aged between 5 and 60 years, were selected through the ISAAC questionnaire and parasitological examinations. Blood collect was performed to obtain the leukogram and cell culture and the levels of cytokines and chemokines in the supernatant were measured by the Cytometric Bead Array. Total IgE, anti-Asc, and anti-Blomia serum levels were obtained by ImmunoCAP, while of ST2 and CD23 by ELISA. Allergic and *S. mansoni* infections individuals presented higher levels of IL-10 than those who were only allergic or infected, whereas those infected only showed a decrease of CCL2 and CCL5. In addition, a negative correlation was found between ST2 and IL-10, ST2 and IL-6 and ST2 and CCL5 only in uninfected individuals. *S. mansoni* infection appears to decrease levels of CCL2 and CCL5 and the production of soluble ST2 in these individuals may be involved in this process, as well as in the decrease of IL-10.

Key-words: Respiratory allergy. *Schistosoma mansoni*. Cytokines. ST2. CCL5.

LISTAS DE ABREVIATURAS

CBA	<i>Cytometric Bead Array</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i> (Grupo de diferenciação)
mCD23	CD23 de membrana
sCD23	Fragmentos solúveis de CD23
ELISA	“ <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> ” (Ensaio imunoenzimático)
IFN-γ	Interferon-gamma
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
IL-33	Interleucina 33
IgE	Imunoglobulina E
IgE anti-Asc	Imunoglobulina E, específica para <i>Ascaris</i>
IgE anti-blomia	Imunoglobulina E, específica para <i>blomia</i>
ISAAC	<i>The International Study of Asthma and Allergy in Childhood</i> (Comitê internacional de estudos de asma e alergias em crianças em idade escolar)
IgG1	Imunoglobulina G, subtipo 1
IgG4	Imunoglobulina G, subtipo 4
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> (Solução salina tamponada com fosfato)
PHA	<i>Phytohemagglutinin</i>
Treg	Linfócitos T “regulatórios”
Th1	Linfócitos T “ <i>helper</i> ” tipo 1
Th2	Linfócitos T “ <i>helper</i> ” tipo 2
Th17	Linfócitos T “ <i>helper</i> ” tipo 17
TNF	<i>Tumor necrosis factors</i> (Fator de Necrose Tumoral)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1	A alergia Respiratória: asma e/ou rinite	13
2.2	Resposta imune na asma e rinite	15
2.3	IL-33 como componente indutor das doenças alérgicas	20
2.4	Interação do CD23 com citocinas e quimiocinas	21
2.5	CD23 e as infecções parasitárias	22
2.6	Interação: alergias respiratórias e parasitoses	23
3	OBJETIVOS	28
3.1	Objetivo Geral	28
3.2	Objetivos Específicos	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1	Tipo de estudo	29
4.2	População da pesquisa	29
4.3	Área do estudo	30
4.3.1	Cabo de Santo Agostinho	30
4.3.2	Ilha de Itamaracá	30
4.3.3	Recife	30
4.4	CrITÉRIOS de inclusão e exclusão	31
4.5	Definição e categorização das variáveis	31
4.5.1	Variáveis para o estudo de associação (Artigo 1)	32
4.5.2	Variáveis para estudo da resposta imune em alérgicos e/ou infectados por <i>S. mansoni</i> (Artigo 1 e 2)	32
4.6	Padronização das técnicas	33
4.6.1	Aplicação de questionário	33
4.6.2	Realização dos hemogramas	34
4.6.3	Dosagem de IgE total, IgE anti-Asc e anti- <i>Blomia tropicalis</i> por ImmunoCAP	34
4.6.4	Dosagem de sCD23 por ELISA de captura	34
4.6.5	Cultura de células do sangue periférico	34
4.6.6	Determinação dos Níveis das Citocinas e quimiocinas por CBA	35
4.6.7	Análise estatística	35

5	RESULTADOS.....	36
6	CONCLUSÕES.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	48
	APÊNDICE B - ARTIGO I - A INFECÇÃO PELO <i>SCHISTOSOMA</i>	
	<i>MANSONI</i> ESTÁ ASSOCIADA À PROTEÇÃO PARA ALERGIA	
	RESPIRATÓRIA E À DIMINUIÇÃO NA PRODUÇÃO DE CCL2 E CCL5.....	49
	APÊNDICE C - ARTIGO II - CORRELAÇÃO ENTRE SST2 E CITOCINAS,	
	QUIMIOCINAS OU IGE NA ESQUISTOSSOMOSE E ALERGIA.....	64
	ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	71
	ANEXO B - QUESTIONÁRIO ISAAC.....	74
	ANEXO C - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DOS ARTIGOS.....	76

1 INTRODUÇÃO

A intensidade da resposta alérgica pode ser alterada em indivíduos infectados pelo *Schistosoma mansoni*. Ambas as condições, infecção helmíntica e alergia, levam a uma resposta imune Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13 e produção de IgE). Em indivíduos esquistossomóticos ocorre também a geração de células T regulatórias e produção de IL-10 que atenua o quadro clínico nos pacientes asmáticos e a positividade dos testes cutâneos, com menor produção de IL-5 e IL-4 e maior de IL-10 em resposta aos alérgenos (CARDOSO et al., 2012).

A infecção pelo *S. mansoni* está relacionada à atenuação do quadro clínico nos pacientes asmáticos, menor produção de IL-5 e IL-4 e maior de IL-10 em resposta a *Dermatophagoides pteronyssinus* (ARAÚJO et al. 2004; MEDEIROS et al. 2003). No entanto, no Brasil, tem sido demonstrado uma alta prevalência de IgE anti-Asc em pacientes com alergias respiratórias (MEDEIROS et al., 2006; SOUZA et al., 2009) e a IgE anti-Asc vem sendo descrita como fator de risco para sintomas de asma e rinite alérgicas, positividade ao teste cutâneo de hipersensibilidade imediata, aumento dos níveis de IgE total e de eosinófilos no sangue periférico (COOPER et al., 2003; MONCAYO et al., 2013; OBIHARA et al., 2006). Apesar disso, ainda não foi esclarecida a influência desta molécula na associação entre infecção por *S. mansoni* e alergia.

A sibilância da asma pode estar associada predominantemente aos anticorpos IgE Anti-Asc (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010). Em outros estudos não foi possível provar ou refutar a hipótese de que infecções parasitárias podem atenuar as doenças alérgicas, como observado na asma e rinite alérgica associada à ancilostomíase e ascaridíase, respectivamente (FEARY et al., 2009; PONTE et al., 2006).

Diferentes moléculas de membrana e ativação celular podem influenciar na dinâmica da resposta imune, pela síntese e ação das citocinas/quimiocinas e, estas, atuando na intensidade das alergias. Dentre estas moléculas destacamos o CD23 solúvel (sCD23) que está associado ao aumento da síntese de IgE por Linfócitos B humanos (COOPER et al., 2012) e seus níveis estão aumentados na asma (DI LORENZO et al., 1996; VIJAYENDRA et al., 2012). A interação entre a molécula do CD23 e as infecções pelo *Schistosoma* é contraditória. Os níveis de sCD23 aumentaram significativamente com a intensidade da infecção pelo *Schistosoma haematobium*, mas diminuíram significativamente com os níveis de IgE específicos (RUJENI et al., 2013). Por outro lado, na infecção pelo *S. mansoni*, Silveira-Lemos et al., 2006 relataram um aumento da frequência de células CD23+, com

aumento na expressão de CCR5 e diminuição de CCR3 (receptores de quimiocinas envolvidos na eosinofilia em pacientes esquistossomóticos agudos). Em relação à infecção por geohelmintos, Hagel e colaboradores (2007), estudou a relação do CD23 com a hiperresponsividade brônquica e observou que em áreas rurais o número de células CD20+ CD23+ nesses indivíduos foi maior em relação àqueles assintomáticos. Além disso, houve uma correlação entre o número dessas células e os níveis de IgE anti-Asc, sugerindo que a resposta da IgE contra a infecção por *A. lumbricoides* pode estar envolvida no desenvolvimento de hiper-reatividade brônquica entre crianças rurais de áreas endêmicas. VIJAYENDRA e colaboradores (2012) demonstraram que os níveis de sCD23, IgE total e IL-5 foram maiores no soro de pacientes asmáticos em relação ao grupo controle, enquanto os níveis de IFN- γ foram maiores no último grupo (VIJAYENDRA et al., 2012a, 2012b). No entanto, a relação entre o CD23 e a IgE anti-Asc, bem como sintomas de asma em pacientes esquistossomóticos ou com geohelmintíases ainda não foi estudada.

Outra molécula que pode influenciar na dinâmica da resposta imune frente às alergias é o receptor ST2/IL-1R4 que está presente em mastócitos, basófilos e eosinófilos (aumentando produção de IL-5 e IL-13), macrófagos e células dendríticas. Foi demonstrado que o tratamento com ST2 solúvel (ST2s) tem ação anti-inflamatória e no soro de indivíduos asmáticos atuou neutralizando a atividade biológica da IL-33, reduzindo o processo inflamatório nas doenças alérgicas (DING et al., 2018; FAGUNDES et al 2007). Na esquistossomose humana, os estudos sobre sST2 são pouco restritos. Variantes genéticas de ST2 estão associadas aos níveis de sST2 em pacientes com esquistossomose. Também foi demonstrado que níveis elevados de ST2 sérico e no tecido e hepático estão associados à esquistossomose em estágio avançado (LONG et al., 2017). No entanto, os níveis de sST2 na esquistossomose e sua relação com as citocinas e quimiocinas envolvidas em um contexto de alergia ainda não foram descritos.

A fim de melhor entender a modulação causada pelo *S. mansoni* na gravidade das desordens alérgicas, aqui, foi investigada a influência da infecção e/ou alergia na resposta imune desses indivíduos. Foi avaliada a produção de citocinas Th1, Th2, Treg, quimiocinas e anticorpos sabidamente envolvidos na resposta alérgica, bem como os níveis de sCD23 e ST2 séricos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Descrição dos dados encontrados na literatura científica referentes às alergias respiratórias, esquistossomose, resposta imune e a modulação causada pelo *S. mansoni* na gravidade das desordens alérgicas.

2.1 A alergia Respiratória: asma e/ou rinite

A asma é uma síndrome com diferentes formas de obstrução das vias aéreas. É caracterizada patologicamente por inflamação crônica dos brônquios com acentuado infiltrado eosinofílico, fisiologicamente por hiperresponsividade brônquica, e clinicamente por tosse variável, aperto no peito e chiado (BARNES, 2008; CORRIGAN, 2008; HOPKIN, 2003; PILLAI; CALHOUN, 2014). A asma é considerada uma doença multifatorial, com sua ocorrência e gravidade sendo influenciadas por predisposição genética e fatores ambientais. Sensibilização com alérgenos no início da vida, especialmente ácaros, é um grande fator de risco para o desenvolvimento de asma em crianças, mas apenas nas geneticamente predispostas, levantando dúvidas sobre se a sensibilização alérgica é realmente causadora da asma ou se reflete uma via paralela de susceptibilidade decorrente de origens genéticas (ARRUDA et al., 2005; CORRIGAN, 2008).

A rinite alérgica é uma inflamação da mucosa nasal mediada por imunoglobulinas do tipo E (IgE) após a exposição ao alérgeno, caracterizada pela presença de sintomas como obstrução nasal, rinorréia, prurido nasal e espirros (BOUSQUET et al., 2008; SOLÉ et al., 2006, 2012). A classificação da rinite alérgica leva em conta a duração, intermitente e persistente, e a severidade dos sintomas, incluindo qualidade de vida do paciente (SOLÉ et al., 2012)

A Organização Mundial de Saúde (World Health Organization - WHO) estima que 235 milhões de indivíduos estejam acometidos pela asma e que a doença é um problema de saúde pública não apenas para os países desenvolvidos, ocorrendo em todos os países, independente do nível de desenvolvimento (WHO, 2013). A prevalência de asma varia geograficamente; nos países desenvolvidos, é particularmente comum, com em média 10% a 20% das crianças e adultos jovens apresentando sintomas da doença (ASHER et al., 2006; HOPKIN, 2003;). Nos países em desenvolvimento, tem sido verificado um aumento significativo no número de casos (ASHER et al., 2010), com relatos de altas prevalências no Peru (13,0%), Costa Rica (11,9%) e Brasil (11,4%). Na África, a maior prevalência tem sido

observada na África do Sul (8,1%) (BRAMAN, 2006). Houve um aumento constante na prevalência da asma entre os anos de 2001-2010, evidenciado principalmente na população infantil (AKINBAMI et al., 2012; BRAMAN, 2006;), sendo a doença crônica não-transmissível mais comum em crianças (LUGOGO; KRAFT, 2006; WHO, 2013).

No Brasil, estudo de 2008 utilizando dados do “*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*” (ISAAC) demonstrou uma prevalência média de asma ativa em 24,3% das crianças e 19% dos adolescentes. O mesmo estudo verificou que os casos de asma grave acometiam 6,1% das crianças e 4,7% dos adolescentes estudados. As taxas de prevalência de asma mais elevadas foram observadas nos centros das Regiões Norte e Nordeste e também na Região Sul (SOLÉ et al., 2008). Dados de 2008-2009, obtidos em adolescentes residentes em Belém, capital do estado do Pará apontaram as doenças infecciosas (tuberculose e sarampo), fatores nutricionais e ambientais, bem como rinite alérgica concomitante, como os principais fatores de risco associados com o desenvolvimento da asma nestes adolescentes (BARRETO; SOLÉ, 2013).

Na maioria das crianças a doença é intermediária e facilmente controlada com a utilização de terapia adequada. No entanto, 5% a 10% dos pacientes pediátricos têm os sintomas persistentes e frequentemente exacerbados. Esses pacientes são usualmente expostos a altas doses de medicações e, portanto, estão sob risco de efeitos colaterais sistêmicos decorrentes do tratamento. As crianças asmáticas graves possuem elevado risco de sofrer episódios recorrentes da doença e os principais motivos que levam a esse quadro podem ser parcialmente explicados pelo tratamento inadequado, pela interação entre os fatores genéticos ou pela exposição ambiental contínua aos alérgenos (PATON, 2007).

Em relação à rinite alérgica, a mesma é considerada um problema de saúde global que acomete indivíduos de todas as faixas etárias, grupos étnicos e países. Estima-se que a rinite alérgica afete mais de 500 milhões de pessoas no mundo, e sua prevalência tem aumentado em vários países, principalmente nas áreas consideradas de baixa ou média prevalência (BOUSQUET et al., 2008; SAKAI, 2012). A rinite alérgica pode ser considerada a maior prevalência entre as doenças respiratórias crônicas, pois afeta a qualidade de vida dos indivíduos e é uma das dez razões frequentes na procura de atendimento primário a saúde (IBIAPINA et al., 2008).

Com a aplicação do ISAAC no Brasil, foi identificado uma prevalência média de sintomas relacionados a rinite alérgica de 29,6% em adolescentes e 25,7% em escolares (SOLÉ et al., 2006). Na Europa foi encontrada 21% de prevalência nos sintomas de rinite em adultos entre 20 e 44 anos (JANSON et al., 2001).

2.2 Resposta imune na asma e rinite

A asma e a rinite alérgica são reações de hipersensibilidade tipo I mediadas por IgE, e essa reação imediata é responsável pelas doenças atópicas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008). Nessas doenças, predomina a resposta imune do tipo Th2 com presença de IL-4, IL-5, IL-13, eosinofilia, mastocitose, altos níveis de IgE, em consequência à interação complexa entre predisposição genética e o contato constante com proteínas ambientais alergênicas (VON MUTIUS, 2002).

O desenvolvimento da resposta é iniciado pela exposição ao alérgeno, com reconhecimento por células apresentadoras de antígenos e subsequente ativação de células Th2 e linfócitos B, levando à produção de anticorpos IgE específicos ao alérgeno. Após ser sintetizada pelos plasmócitos, a IgE liga-se a receptores de alta afinidade (FcεRI) em mastócitos e outros tipos celulares, através de um processo chamado sensibilização. A reexposição ao alérgeno e sua ligação à IgE fixada aos receptores FcεRI produz ligações cruzadas entre os receptores, provocando a degranulação celular, com liberação e formação de mediadores inflamatórios. Processo chamado de fase efetora (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008; MURPHY, 2014).

A inflamação dos brônquios é um fator fisiopatogênico importante da asma, sendo resultado das interações entre as células estruturais das vias aéreas, mediadores e células. A IL-5 atua no recrutamento e sobrevivência dos eosinófilos, além de estimular a liberação do conteúdo proteico dos seus grânulos que provocam extensos danos na mucosa (BARNES, 2008; CORRIGAN, 2008; HOPKIN, 2003; ROSENBERG; PHIPPS; FOSTER, 2007;). A IL-13 induz a liberação de muco e atua em conjunto com a IL-4 e TGF-β, o que aumenta a expressão de moléculas de adesão no endotélio capilar da mucosa brônquica, resultando em um aumento da adesão dos eosinófilos, os quais são recrutados para dentro do tecido. Além disso, essas citocinas induzem o remodelamento dos fibroblastos e células musculares lisas da mucosa aérea (CORRIGAN, 2008).

O remodelamento das vias aéreas na asma leva a um estreitamento devido à hiperplasia e hipertrofia da musculatura lisa e das glândulas responsáveis pela produção de muco, com eventual desenvolvimento de fibrose. Esse evento leva a uma diminuição do calibre que, juntamente com a secreção de muco, torna-se responsável por algumas manifestações clínicas da doença (MURPHY, 2014).

A relação mais importante entre as duas doenças é o fato de possuírem inflamação na mucosa nasal e na via aérea inferior (KOH; KIM, 2003). Mesmo com a similaridade no

mecanismo imunológico entre a rinite e a asma, existem diferenças histopatológicas na mucosa nasal e brônquica (IBIAPINA et al., 2008). Na rinite alérgica, pode ocorrer a preservação ou descamação do epitélio sem que aconteça o espessamento da membrana basal, diferentemente do que é observado na asma (MOURA et al., 2002).

Os linfócitos são as principais células das respostas imunes adaptativas e se subdividem em duas grandes populações principais: os linfócitos B, células produtoras de anticorpos e responsáveis pela resposta imune humoral, e os linfócitos T, mediadores da imunidade celular. Os linfócitos T são divididos em linfócitos T auxiliares (Th) ou CD4+, e linfócitos T citotóxicos ou CD8+ (ROCHA; TANCHOT, 2004; STOCKINGER et al., 2006). Os linfócitos T CD4+, por sua vez, ainda se diferenciam em um dos seus subtipos como Th1, Th2, Th17 e Tregs (células T regulatórias) (MOSER; MURPHY, 2000; PULENDRAN et al., 2010).

As doenças alérgicas são mediadas pela resposta imune tipo Th2 (IL-4, IL-5, IL-13, eosinofilia, mastocitose e altos níveis de IgE) em consequência a interação complexa entre predisposição genética e o contato constante com proteínas ambientais alergênicas (LARCHÉ et al., 2003; VON MUTIUS, 2002). A asma histopatologicamente caracterizada, por acúmulo de linfócitos T CD4+, bem como eosinófilos, neutrófilos e mastócitos na mucosa dos brônquios. A inflamação é coordenada por linfócitos T CD4+ que após o reconhecimento antigênico dos alérgenos via complexo principal de histocompatibilidade tipo II (MHC II), pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), proliferam e se diferenciam em subtipos Th2. Após o reconhecimento antigênico e ativação celular, os linfócitos Th2 produzem, principalmente, as citocinas IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 (ABBAS; LITCHMAN, 2005; BARNES, 2008; LARCHÉ et al., 2003).

Os mediadores liberados por mastócitos (histamina, leucotrienos, triptase e prostaglandinas), por macrófagos (TNF- α , IL-6, óxido nítrico), por linfócitos (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF), por eosinófilos (proteína básica principal, mediadores lipídicos e citocinas), por neutrófilos (elastase) e pelas células epiteliais (endotelina-1, mediadores lipídicos, óxido nítrico) causam as manifestações clínicas características (ABBAS; LITCHMAN; PILLAI, 2008; MURPHY, 2014).

A IL-4 e a IL-13 induzem a troca isotípica nos linfócitos B para a produção de anticorpos IgE. A IgE pode se ligar aos receptores de alta afinidade Fc ϵ RI na superfície dos granulócitos, incluindo basófilos e mastócitos, resultando em ativação celular e secreção de uma variedade de mediadores inflamatórios (histamina, prostaglandinas e leucotrienos). A IL-5 atua no recrutamento e sobrevivência dos eosinófilos, além de estimular a liberação do

conteúdo protéico dos seus grânulos que provocam extensos danos na mucosa (BARNES, 2008; CORREN, 2013; CORRIGAN, 2008; HOPKIN, 2003; LICONA-LIMÓN et al., 2013; ROSENBERG et al., 2007). A IL-13 induz a liberação de muco e atua em conjunto com a IL-4 e TGF- β aumentando a expressão de moléculas de adesão no endotélio capilar da mucosa brônquica, resultando em um aumento da adesão dos eosinófilos, os quais são recrutados para o interior do tecido. Além disso, essas citocinas induzem o remodelamento dos fibroblastos e células da musculatura lisa da mucosa aérea (CORREN, 2013; CORRIGAN, 2008).

Mais recentemente foi descoberto que outras citocinas como a IL-9, IL-17, IL-22 e IL-23 são frequentemente co-expressas com as citocinas Th2 em pacientes asmáticos, contestando a visão de que a asma é uma doença exclusivamente Th2. Em alguns pacientes asmáticos a inflamação das vias aéreas é predominantemente composta por neutrófilos e esta presença neutrofílica está correlacionada com um pior prognóstico e uma menor resposta aos corticóides inalatórios (terapia padrão para asma moderada a grave). Os neutrófilos provavelmente são recrutados para as vias respiratórias por células produtoras de IL-17 que produzem ao mesmo tempo IL-4 (LAMBRECHT; HAMMAD, 2013; NAKAJIMA; HIROSE, 2010). A IL-9 promove hiperplasia celular dos mastócitos, a IL-22 parece promover a proliferação de células da musculatura lisa, ajudando no controle da hiperresponsividade brônquica e a IL-23 é essencial para a manutenção das células Th17, participando na indução da inflamação neutrofílica das vias aéreas (LICONA-LIMÓN et al., 2013; NAKAJIMA; HIROSE, 2010).

A relação mais importante entre asma e rinite é o fato de possuírem inflamação na mucosa nasal e na via aérea inferior (KOH; KIM, 2003). Mesmo com a similaridade no mecanismo imunológico entre eles, existem diferenças histopatológicas na mucosa nasal e brônquica (IBIAPINA et al., 2008). Na rinite alérgica, pode ocorrer a preservação ou descamação do epitélio sem que aconteça o espessamento da membrana basal, diferentemente do que é observado na asma (DE MOURA et al., 2002).

O controle da resposta imune Th2 nos processos alérgicos é dependente de células Tregs que possuem um efeito supressor/regulador sobre as células Th2, presentes na asma. Existem evidências de que o número de células Tregs está reduzido em pacientes atópicos, em comparação aos indivíduos saudáveis (LING et al., 2004). A ação inibitória das Tregs pode ser decorrente de algumas vias, entre elas a secreção de citocinas, por exemplo, o TGF- β e/ou IL-10 (HANSEN et al., 2000; OH et al., 2002). Com relação à IL-10, esta inibe a atuação de células efectoras tanto na fase aguda quanto na crônica, além de induzir a produção de anticorpos IgG4 e inibição da síntese de IgE (TILL; FRANCIS; NOURI-ARIA, 2004).

Quanto às quimiocinas acredita-se que cada estágio da asma seja mediado por grupos específicos de quimiocinas, cujas fontes celulares dentro das vias aéreas incluem as células epiteliais e os macrófagos alveolares (DUNICAN; FAHY, 2015). Dentre as quimiocinas da via de resposta imune Th1, a CXCL8/IL-8 apresenta como função ser responsável por aumentar a quimiotaxise e ser um fator quimiotático. Enquanto que as CXCL9 e CXCL10 são quimiocinas CXC induzida por interferon gama, sendo a segunda quimiotática para linfócitos T e monócitos (CASTAN; MAGNAN; BOUCHAUD, 2016; VARELLA; FORTE, 2001). Já as quimiocinas da via de resposta imune Th2, CCL5 e CCL2 são quimioatraentes. A CCL2 é quimioatraente para monócitos, e pode causar ativação celular de funções específicas relacionadas com a defesa do hospedeiro, intimamente ligada aos estágios da doença, enquanto que a CCL5 ou RANTES (Regulada por ativação, Normal T Expressa e Secretada), é quimioatraente para eosinófilos, monócitos e linfócitos (CARR et al., 2016; VARELLA; FORTE, 2001).

O estímulo inflamatório promove a liberação das quimiocinas, podendo ser produzidas por diversas células, para recrutar os leucócitos para locais de inflamação (ALLEN; CROWN; HANDEL, 2007). A expressão da quimiocina CXCL9/MIG pode ser um importante marcador inflamatório para a exacerbação da asma, visto que os seus níveis estão aumentado nas formas graves da asma. Esses dados confirmam a hipótese da relação da via Th1 nas alergias humanas, podendo ser considerado um importante marcador para dosagem e análise da gravidade da asma em pacientes com asma alérgica leve, moderada e grave. (LAI et al., 2008; MULLER et al., 2010; XIE et al., 2015). Já a quimiocina CCL5/RANTES confirma a predominância da resposta Th2 na asma alérgica, pois, segundo diversos estudos, apresenta-se em elevada expressão e confirma o seu papel de indutor da inflamação alérgica através do recrutamento de eosinófilos e mastócitos para o tecido (ABO EL-MAGD; MABROUK, 2012; KANEKO et al., 2013; KESKIN et al., 2012; KO et al., 2007; SAAD-EL-DIN BESSA).

Níveis de sCD23 também estão aumentados em doenças alérgicas através do aumento da produção de citocinas inflamatórias. Em monócitos humanos, a ligação de sCD23 em CD11b/CD18 e CD11c/CD18 tem sido vista como capaz de ativar a síntese de óxido nítrico e consequentemente a produção de citocinas inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-6, IL-8, IL-1 (PLATZER et al., 2011). O CD23, também chamado FC ϵ RII, é definido como um receptor de baixa afinidade de IgE expresso na membrana celular de linfócitos (T e B), monócitos, eosinófilos, células dendríticas foliculares, células epiteliais intestinais e células estromais da medula óssea (ACHARYA et al., 2010; KIKUTANI; KISHIMOTO, 1990; MUDDE; BHEEKHA; BRUIJNZEEL-KOOMEN, 1995). Com relação à expressão desse receptor em

linfócitos B, análises feitas por citometria de fluxo, demonstraram cerca de 90, 50 e 3% de células B CD20⁺ expressando FCεRII no sangue periférico, amígdalas e medula óssea (respectivamente), ao contrário, não foi visto em células CD20 negativas. Inicialmente o CD23 é expresso como uma glicoproteína transmembrana de tipo II, com peso molecular de aproximadamente 45 kDa, composta por um grande domínio globular extracelular C-terminal (semelhante a lectinas tipo C), onde está localizado o sítio de ligação com a IgE, uma única região transmembrana hidrofóbica e um curto domínio citoplasmático N-terminal (ACHARYA et al., 2010; GOULD; SUTTON, 2008). O CD23 é expresso em duas formas, CD23a e CD23b, resultantes de locais alternativos de iniciação da transcrição e diferenciando-se apenas por seis ou sete aminoácidos da sequência N-terminal citoplasmático intracelular (ACHARYA et al., 2010; YOKOTA et al., 1988). De maneira geral, o CD23a é sabidamente expresso constitutivamente em linfócitos B, enquanto que a transcrição do CD23b está sujeito a uma “up-regulation” após infecção pelo vírus Epstein-Barr, estimulação de células B ou monócitos por IL-4 ou por ligação de CD40L no linfócito B, bem como está relacionado à imunidade a infecções parasitárias (ACHARYA et al., 2010; KIKUTANI; KISHIMOTO, 1990). Além do papel como um receptor de baixa afinidade para IgE, o CD23 das superfícies celulares também pode ser clivado e liberar fragmentos solúveis (sCD23) de 37kDa, 33kDa, 25kDa e 16kDa. Essa clivagem ocorre por ação metaloproteases da família ADAM “*a disintegrin and metalloproteinase*”, principalmente a ADAM10, que cliva no lado C-terminal de ala80 para gerar a molécula de 37kDa ou arg101 para produzir 33kDa (LEMIEUX et al., 2007; WESKAMP et al., 2006).

Maiores níveis de IgE total e CD23 solúvel foi visto em pacientes asmáticos em relação aos controles não asmáticos. Além disso, em ambos os grupos foi encontrado uma correlação positiva entre as essas duas moléculas (DI LORENZO et al., 1996). Semelhantemente, os níveis de sCD23 no soro de pacientes adultos com asma, bronquiolite e broncopneumonia foram significativamente maiores em relação ao grupo controle, consequentemente, os níveis de IgE total e histamina também foram maiores no grupo asmático. Em relação a níveis de citocinas, foi observado uma ativação predominantemente da resposta Th2, dado por maiores níveis de IL-5 no grupo asmático e maiores níveis de IFN- γ no controle (VIJAYENDRA et al., 2012a, 2012b).

Altos níveis séricos de IL-33 estiveram relacionados à rinite e a asma alérgica atuando como um indutor de resposta Th2 (KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2008; SAKASHITA et al., 2008; SCHMITZ et al., 2005; YAGAMI et al., 2010). O receptor solúvel ST2 também está associado à resposta Th2 e tem capacidade de se ligar a IL-33. Foi demonstrado que o

ST2 solúvel está presente no soro de pacientes asmáticos e pode atuar como um modulador negativo, neutralizando a atividade biológica da IL-33 nas doenças alérgicas (HARALDSEN et al., 2009; HAYAKAWA et al., 2007; OSHIKAWA et al., 2001).

O controle destas respostas imunes nos processos alérgicos é dependente de células T regulatórias (Tregs) que possuem um efeito supressor/regulador sobre as células Th2 e Th17, presentes na asma. Existem evidências de que o número de células Tregs está reduzido em pacientes atópicos, em comparação com indivíduos saudáveis (LING et al., 2004). A ação inibitória das Tregs pode ser decorrente de algumas vias, entre elas a secreção de citocinas, como o TGF- β e/ou IL-10 (HANSEN et al., 2000; OH et al., 2002) que são polipeptídeos eficientes na redução da inflamação das vias aéreas. Com relação a IL-10, esta inibe a atuação de células efectoras tanto na fase aguda, quanto na crônica, além de induzir a produção de anticorpos IgG4 e inibição da síntese de IgE (TILL et al., 2004).

Uma propriedade muito importante da resposta adaptativa é a geração de memória imunológica, na qual o sistema imune após o primeiro contato com o antígeno adquire a capacidade de desenvolver uma resposta mais efetiva ao mesmo antígeno em casos de reexposição. Mas em algumas doenças, como a asma, por exemplo, a persistência dessas células de memória nem sempre é benéfica. A asma apresenta uma condição heterogênea com diferentes fenótipos e expressões clínicas que dependem da idade, gênero, características genéticas e exposições ambientais (DI FARIA et al., 2008; FALLON; MANGAN, 2007; KABESCH, 2004), e observou-se que o envelhecimento, por exemplo, reduz a quantidade de células T “naive” em pacientes asmáticos, levando ao acúmulo de células T de memória, afetando também mecanismos de apoptose, fundamentais para manter o sistema imune limpo de células ativadas e prejudiciais, promovendo a persistência de células ativadas envolvidas com a cronicidade da doença (TODO-BOM et al., 2012).

2.3 IL-33 como componente indutor das doenças alérgicas

Recentemente, a IL-33, um novo membro da família das IL-1 foi descrita. A sua função tem levantado a atenção de diferentes pesquisadores devido a sua capacidade de ligação com o receptor ST2/IL-1 R4, que está associado à resposta Th2 (HARALDSEN et al., 2009). Esta citocina tem a capacidade de ativar mastócitos e basófilos, aumentar a produção de IL-5 e IL-13, mas não de IL-4 por células Th2 polarizadas, e de induzir eosinofilia e níveis aumentados de IgE (KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2008; SCHMITZ et al., 2005). Os estudos apontam como fonte celular da IL-33 o endotélio vascular e queratinócitos da pele e

células epiteliais de mucosa. Em contraste, células da musculatura lisa dos brônquios e vasos são fracamente produtoras desta citocina (AMHARALDSEN et al., 2009; KÜCHLER et al., 2008). Estes dados sugerem a ação sistêmica da IL-33, como citocina de resposta a imune inata (produção T-independente), diretamente em células envolvidas na fase efetora da doença alérgica, ou indiretamente, via IL-5 levando a inflamação alérgica no órgão alvo. Realmente, altos níveis séricos de IL-33 estiveram relacionados à rinite alérgica (SAKASHITA et al., 2008). Com relação às geohelmintíases pouco é sabido. Em um modelo experimental foi relatado que IL-33 auxilia na eliminação do nematódeo intestinal (*Trichuris muris*) em um modelo experimental de maneira dependente e independente de células T (HUMPHREYS et al., 2008).

Em contrapartida, o gene que codifica o ligante ST2 produz uma forma transmembrana (ST2L-ligante) e secretada (ST2 solúvel) desta proteína (YANAGISAWA et al., 1993). Foi demonstrado que a ST2 está presente no soro de pacientes asmáticos (OSHIKAWA et al., 2001) e pode atuar como modulador negativo da atividade biológica da IL-33 nas doenças alérgicas (HAYAKAWA et al., 2007). De fato, a injeção da proteína ST2 recombinante em camundongos atenuou a resposta inflamatória Th2 (OSHIKAWA et al., 2001).

Desta maneira, pouco é sabido sobre a produção de IL-33 e ST2 solúvel em indivíduos infectados com geohelmintos. Devido às controvérsias quanto à ação moduladora do *S. mansoni* ou geohelmintos na gravidade dos sintomas das doenças alérgicas em pacientes concomitantemente infectados, é possível que a investigação dos níveis sistêmicos de IL-33 e do seu inibidor ST2, nestes pacientes, possam nos fornecer informações sobre o comprometimento das reações alérgicas, visto a capacidade desta nova citocina de resposta imune atuar de forma quimiotática e imunomoduladora.

2.4 Interação do CD23 com citocinas e quimiocinas

Para a diferenciação no subtipo Th2, as células T CD4⁺ precisam ser estimuladas por IL-4 que por sua vez ativam fatores de transcrição específicos (GATA-3 e STAT6) (ABBAS et al., 2011; KIM; LEE, 2011; ROTHMAN et al., 2010). Um estudo experimental demonstrou que camundongos deficientes em STAT6 (STAT6 ^{-/-}) não desenvolveram uma resposta de citocina Th2 ou uma resposta de IgE específica para alérgeno. Além disso, esses camundongos apresentaram uma expressão (constitutiva e induzida por alérgenos) reduzida de CD23, bem como menor produção de muco no epitélio das vias aéreas (TOMKINSON et

al., 1999). STAT6 também induziu expressão de genes responsivos a IL-4 tais como IL-4R, CD40 e CD23 em resposta (*in vitro*) ao *Toxoplasma gondii*.

O CD23 tem sido proposto como sinal adicional na síntese de IgE. A interação entre CD23 e CD21 também tem papel chave na produção de IgE (BONNEFOY et al., 1995a; HIBBERT et al., 2005). Fragmentos triméricos de sCD23 liberados a partir de células B estão relacionados a um aumento na síntese de IgE, pela ligação simultânea com CD21 e IgE de membrana, ao contrário, foi visto que a ligação de IgE no mCD23 previne a clivagem e liberação de fragmentos solúveis de CD23 que estimulam a síntese de IgE (HIBBERT et al., 2005). Semelhantemente, fragmentos oligoméricos de sCD23 aumentaram a síntese de IgE, enquanto que fragmentos monoméricos inibiram, nos estudos de MCCLOSKEY e colaboradores (2007). Confirmando esses achados, a adição de GI254023X, um inibidor da ADAM10, em cultura com células B humanas resultou no aumento da expressão de CD23 de membrana (mCD23), redução da produção de CD23 solúvel (sCD23) e de secreção de IgE. O acréscimo de um recombinante trimérico de sCD23 (triCD23) no sistema levou a uma diminuição da supressão na síntese de IgE mediada por GI254023X. Apenas a adição de triCD23 em cultura de células B primárias resultou no aumento na síntese de IgE, levando os autores a concluir que, de fato, sCD23 estimula a síntese de IgE em células B humanas (COOPER et al., 2012).

A clivagem do CD23 também pode ocorrer por estímulo de alérgenos. Kale e colaboradores (2017) demonstrou que a Per a 10 (um alérgeno de barata) pode clivar o CD23 da superfície de PBMCs e células B purificadas, o que pode favorecer a indução de resposta Th2. Esse antígeno também levou à secreção de IL-33 e TSLP. A TSLP é uma citocina derivada de células epiteliais expressas na pele, no intestino, nos pulmões e no timo que, entre outras funções, levam à indução de uma resposta imune tipo Th2, expansão e diferenciação de células B (HE; GEHA, 2010).

2.5 CD23 e as infecções parasitárias

A interação entre a molécula do CD23 e as infecções parasitárias é contraditória, principalmente quando o parasita envolvido é o *Schistosoma*, podendo variar de acordo com a espécie e o tipo de CD23 estudado. Em relação à ascaridíase, o CD23 parece estar associado à maior intensidade da infecção ou aumento de IgE específica, porém a interação com o fragmento solúvel de CD23 ainda não foi estudada.

Os níveis de sCD23 aumentaram significativamente com a intensidade da infecção pelo *Schistosoma haematobium*, mas diminuíram significativamente com os níveis de IgE específicos. Além disso, os níveis sCD23 foram negativamente associados com a atopia e reatividade IgE anti-Der p (RUJENI et al., 2013). Por outro lado, na infecção pelo *S. mansoni*, Silveira-Lemos e colaboradores (2006) relataram um aumento da frequência de células CD23+, com aumento na expressão de CCR5 e diminuição de CCR3. Ao contrário, a expressão do CD23 de membrana (mCD23) nas células B foi correlacionada com o desenvolvimento de resistência à infecção. Além disso, altos níveis de sCD23 também se correlacionaram com a resistência e outros marcadores de resistência à infecção, como a eosinofilia. Sendo assim, o CD23 pode estar envolvido no desenvolvimento de resistência à infecção esquistossomótica através do seu papel na regulação da IgE (MWINZI et al., 2009). GRIFFITH e colaboradores (2015), em estudo *in vitro*, demonstrou que quando tratadas com antígenos do *S. mansoni*, as células demonstraram níveis de mCD23 reduzida com um acúmulo paralelo de sCD23, sugerindo que este receptor é proteoliticamente clivado pelo parasita.

Em uma região de alta prevalência e intensidade de infecção pelo *A. lumbricoides*, a expressão de CD23 em linfócitos TCD4+ e linfócitos B foram significativamente maior em relação ao grupo controle, não parasitado. Além disso, fortes correlações foram encontradas entre o número dessas células e o nível de IgE total e anti-Asc (HAGEL et al., 2006). Hagel e colaboradores (2007), estudaram a relação do CD23 com a hiperresponsividade brônquica em observou que em áreas rurais o número de células CD20+ CD23+ nesses indivíduos foi maior em relação àqueles assintomáticos. Além disso, houve uma correlação entre o número dessas células e os níveis de IgE anti-Asc, sugerindo que a resposta da IgE contra a infecção por *A. lumbricoides* pode estar envolvida no desenvolvimento de hiper-reatividade brônquica entre crianças rurais de áreas endêmicas.

Visto que o CD23 está associado a um aumento na síntese de IgE e que em indivíduos alérgicos e parasitados pode haver uma modulação na intensidade da reação alérgica, torna-se importante esclarecer como está a expressão desse receptor e os níveis de sua forma solúvel em pacientes infectados pelo *S. mansoni* ou geohelmintos.

2.6 Interação: alergias respiratórias e parasitoses

A inter-relação entre as doenças alérgicas e as parasitoses tem sido foco de muitos estudos, visto que em indivíduos alérgicos e parasitados pode haver uma modulação na

intensidade da reação alérgica. Há mais de quatro décadas pesquisadores tentam estabelecer uma relação entre infecções por helmintos e a intensidade e prevalência das doenças alérgicas (CARDOSO et al., 2012; DOLD et al., 1998; LYNCH et al., 1993; SCRIVENER et al., 2001; TURNER, 1978). As doenças helmínticas compartilham com as doenças alérgicas essa característica de um perfil de resposta imunológica caracterizado pelo predomínio das células Th2, além de estimularem células imunorregulatórias como as Tregs (produtoras de IL-10) (HESSE et al., 2004; MCKEE; PEARCE, 2004).

A infecção pelo *S. mansoni* é caracterizada pelo desenvolvimento de uma resposta imunológica crônica Th2/Tregs, onde parece ocorrer uma modulação da intensidade da resposta alérgica cutânea e sintomatologia da asma/rinite (CARVALHO et al., 2012). A esquistossomose pode apresentar duas fases, aguda e crônica. A fase aguda pode ser subdividida, de acordo com a oviposição, em pré-patente e pós-patente, antes e após a oviposição respectivamente. Na primeira, predomina uma resposta do tipo Th1 com produção de IL-1, IL-6, IFN- γ e TNF- α e na segunda, após a produção de ovos, a resposta muda para Th2, sendo específica contra o antígeno do ovo, caracterizada pela produção de IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IgE, eosinofilia e macrófagos alternativamente ativados. A resposta imune que predomina é a resposta Th2 gerada por células CD4+. Os níveis altos de IgE resultam da produção de citocinas, principalmente IL-4 e IL-13 (estimulam a troca de classe de células B), a IL-13 (provoca a estimulação de muco nas células calciformes) e a IL-5 (ativa os eosinófilos para liberação de moléculas citotóxicas). Por ser uma doença de curso crônica ocorre, uma resposta fibrótica contra os ovos presentes no fígado, formando o granuloma e levando a complicações hepatoesplênicas. Quando a infecção passa para a fase crônica, ocorre uma diminuição da resposta Th2 com diminuição no tamanho de granulomas recém-formados (MURPHY, 2014; PEARCE et al. 2012; PEARCE; MACDONALD, 2002; SOUZA et al., 2011).

A fase crônica da infecção representa um estado de imunossupressão, a reação imune adaptativa é distinta por uma resposta Th1 inicial que é substituída por uma resposta Th2 (LAYLAND et al., 2007). A resposta Th2 durante a infecção não elimina os parasitas existentes, entretanto permite a sobrevivência do hospedeiro prevenindo uma patologia inflamatória que pode ser letal (McKEE; PEARCE, 2004). Um estudo feito por Taylor e colaboradores (2006), em que buscou observar a resposta induzida pelos ovos de *S. mansoni* purificados em células T nos linfonodos de camundongos, indicou que células Treg se proliferam em resposta ao ovo e apresentam um papel na supressão no desenvolvimento de células Th1 e também ajudam a limitar a resposta Th2.

As células Treg ajudam a manter a homeostase imunológica, suprimindo células autorreativas e também controlando a magnitude da resposta contra patógenos invasores (BELKAID; ROUSSE, 2005; SAKAGUCHI et al., 2006). Um estudo realizado por Singh e colaboradores (2005), usando camundongos infectados com *Schistosoma mansoni*, mostrou um aumento na porcentagem de células Treg, CD4⁺ CD25⁺, do granuloma de 12% na 8ª semana para 88% na 16ª semana de infecção.

Uma relação inversa entre a infecção esquistossomótica e a presença de reações alérgicas tem sido evidenciada. Medeiros e colaboradores (2003), analisando o curso da asma em pacientes infectados ou não pelo *S. mansoni*, observaram atenuação do quadro clínico nos pacientes asmáticos infectados. Em trabalho de Araujo e colaboradores (2004), também realizado em pacientes infectados pelo *S. mansoni* e com asma foi demonstrada uma produção menor de IL-5 e IL-4 e maior de IL-10 em resposta a *Dermatophagoides pteronyssinus*, quando comparada com a produção destas citocinas em pacientes asmáticos e não parasitados. Em camundongos, quando analisada a susceptibilidade de animais infectados pelo *S. mansoni* ao desenvolvimento de inflamação pulmonar alérgica e hiperresponsividade das vias aéreas em diferentes fases e intensidades da infecção, foi observado que o efeito protetor da esquistossomose na asma alérgica ocorre durante a fase crônica da infecção e é dependente da IL-10 (SMITS et al., 2007).

A eosinofilia em pacientes esquistossomóticos agudos poderia estar relacionada à elevação das quimiocinas CXCL8, CCL2, CCL3, CCL24 no plasma, e ao aumento da expressão dos receptores de quimiocinas CCR2, CCR3, CCR5, CXCR3 e CXCR4 em eosinófilos. A carga parasitária e a fase da infecção podem influenciar diretamente na eosinofilia e quimiotaxia induzida por quimiocinas e receptores devido à modulação dos antígenos do *S. mansoni* (SILVEIRA-LEMOES et al., 2010; SOUZA et al., 2005).

Por outro lado, em pacientes acometidos por geohelmintoses (também conhecidas como helmintoses intestinais ou helmintos transmitidos pelo solo, incluindo *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* e *Strongyloides stercoralis*) o padrão de resposta mediada por linfócitos T CD4⁺ também está vinculado ao perfil Th2 (PALMER et al., 2002). As citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 estão envolvidas com a regulação de mecanismos protetores para a eliminação dos helmintos como a produção de IgE, eosinofilia, mastocitose e, ao mesmo tempo, com a proteção contra os danos teciduais decorrentes da infecção (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008). Os pacientes acometidos por geohelmintíases também desenvolvem uma resposta Treg que pode gerar a

diminuição da intensidade da resposta alérgica cutânea, porém agravamento da sintomatologia da asma/rinite (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010; MONCAYO et al., 2013;).

Alguns trabalhos sugerem que os geohelmintos aumentam a reatividade alérgica em populações com baixa prevalência de infecção e suprimem a alergia em populações onde as infecções são altamente prevalentes, embora os resultados de alguns estudos ainda sejam inconsistentes (COOPER et al., 2004, 2006; SCRIVENER et al., 2001). A presença de IgE anti-*Ascaris* também é considerado um importante fator de risco para a resposta alérgica cutânea, asma, rinite e sibilância em crianças e adolescentes (MONCAYO et al., 2012; OBIHARA et al., 2006). Carga parasitária, idade, procedência (rural ou urbana) e fatores imunológicos podem influenciar na modulação da resposta alérgica em indivíduos infectados por helmintos (COOPER et al., 2004; MATERA et al., 2008; SOUZA et al., 2009).

Com relação à influência do tratamento com anti-helmínticos, Endara e colaboradores (2015) demonstraram que o tratamento a longo prazo das geohelmintoses está associado ao aumento da positividade nos testes cutâneos e sintomas de eczema, mas não está associado aos sintomas de asma e rino-conjuntivite. E que o aumento da positividade nos testes cutâneos tem correlação com a redução da prevalência de *T. trichiura*. Em humanos, o praziquantel tem a capacidade de elevar significativamente os níveis de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 (JOSEPH et al., 2004). Portanto, o tratamento em indivíduos infectados pelo *S. mansoni* pode alterar os níveis de citocinas e influenciar na regulação Th2/Tregs. Nos pacientes com predisposição genética para o desenvolvimento de doenças alérgicas e/ou expostos aos fatores ambientais pode ocorrer exacerbação de citocinas da resposta Th2 e levar ao aumento da frequência e gravidade de sintomas alérgicos. Por outro lado, a regulação entre as citocinas das respostas Th2/Tregs pode ser ainda mais complexa nos pacientes infectados pelo *S. mansoni* e co-infectados por outros helmintos (poliparasitados).

As células Treg ajudam a manter a homeostase imunológica, suprimindo células autorreativas e também controlando a magnitude da resposta contra patógenos invasores (BELKAID; ROUSSE, 2005; SAKAGUCHI et al., 2006). Adalid-Peralta e colaboradores (2011) propõem duas hipóteses sobre o papel das Tregs na esquistossomose: na primeira, o sistema imune induz células Treg a controlarem a resposta exacerbada que produz granulomas; na segunda possibilidade, antígenos parasitários medeiam a indução de Treg durante a formação do granuloma. Além de que, a presença de citocinas regulatórias como IL-10, TGF- β e IL-35 durante o preparo dos linfócitos T favorece a geração de células Treg.

A IL-10 é uma citocina imunorreguladora importante na proteção do hospedeiro contra uma imunopatologia associada à infecção. Sua produção já foi associada a resposta de

células Treg, mas sabe-se que uma grande variedade de células tanto da imunidade inata quanto da adaptativa podem expressar IL-10, incluindo macrófagos, eosinófilos, células dendríticas e mastócitos (NG et al., 2013).

A fim de melhor entender a modulação causada pelo *S. mansoni* ou geohelminthos na gravidade das desordens alérgicas, foi investigada a influência da infecção e/ou alergia na resposta imune desses indivíduos. Foi avaliada a produção de citocinas Th1, Th2, IL-10, quimiocinas e anticorpos sabidamente envolvidos na resposta alérgica (IgE total, IgE anti-Asc e IgE anti-*Blomia*), bem como os níveis de sCD23 e ST2 séricos.

3 OBJETIVOS

Descrição dos objetivos gerais e específicos da tese.

3.1 Objetivo Geral

Determinar e correlacionar os níveis de citocinas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, INF-gama e TNF-alfa), quimiocinas (CCL2, CXCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10), ST2 solúvel e anticorpos (IgE total, IgE anti-Asc e anti-blomia), bem como os níveis de sCD23 em pacientes com alergia respiratória e/ou infectados com *S. mansoni*.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Classificar os pacientes em alérgicos ou não alérgicos de acordo com os sintomas relacionados à asma e/ou rinite;
- b) Categorizar os pacientes de acordo com a infecção helmíntica (não infectados ou infectados pelo *S. mansoni*);
- c) Determinar os níveis de anticorpos IgE total, IgE anti-Asc e anti-blomia;
- d) Avaliar a contagem total e diferencial de leucócitos sanguíneos;
- e) Quantificar os níveis de sCD23 no soro e correlacionar com os níveis de citocinas, quimiocinas, ST2 solúvel e anticorpos;
- f) Quantificar os níveis de ST2 solúvel e correlacionar com os níveis de citocinas, quimiocinas, ST2 solúvel e anticorpos;
- h) Determinar e comparar em células de cultura do sangue periférico de pacientes alérgicos e/ou infectados com *S. mansoni*:
 - Os níveis das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ e TNF- α no sobrenadante das culturas celulares;
 - Os níveis das quimiocinas CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 no sobrenadante das culturas celulares.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Descrição do desenho e local do estudo, população estudada, definição e categorização das variáveis, operacionalização da pesquisa, considerações éticas e análise estatística.

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo caso-controle. Foram considerados casos indivíduos de 5 a 60 anos de idade, residentes na Região Metropolitana do Recife-PE, portadores de alergia respiratória (asma e/ou rinite alérgica) segundo o questionário ISAAC. O grupo controle foi formado por indivíduos com as mesmas características, porém sem sintomas relacionados à asma e/ou rinite, segundo o questionário ISAAC. O desenho do estudo teve o objetivo de investigar se a infecção pelo *S. mansoni* altera a produção de ST2s, citocinas, quimiocinas, anticorpos e sCD23 nos indivíduos alérgicos e não alérgicos, e se existe a associação entre a exposição (infecção helmíntica) e a ocorrência do evento ou doença (surgimento/agravamento de sintomas relacionados às doenças alérgicas).

4.2 População da pesquisa

Indivíduos com idade entre 5 a 60 anos, residentes nos municípios de Ilha de Itamaracá, Cabo de Santo Agostinho ou Recife, ou responsável, receberam informações sobre a pesquisa e os que concordaram assinaram o Termo de Consentimento livre esclarecido, responderam o questionário “*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*” (ISAAC) e receberam as instruções necessárias para a coleta de fezes. No dia seguinte, as amostras foram recolhidas e submetidas à técnica de sedimentação espontânea (Hoffman, Pons e Janer), e também, ao método de Kato-Katz no Laboratório e Serviço de Referência em Esquistossomose CPqAM/FIOCRUZ. Com a realização do parasitológico, foram formados quatro grupos: Alérgicos e Infectados com *S. mansoni* (A-I); Alérgicos e Não Infectados (A-NI); Não Alérgicos e Infectados (NA-I); Não Alérgicos e Não Infectados (NA-NI).

A coleta de sangue foi realizada em uma unidade de saúde da família nos indivíduos selecionados após aplicação do ISAAC e do exame parasitológico. Após a coleta, parte das amostras foi levada para um laboratório de análises clínicas para realização do hemograma e, posteriormente, o resultado foi recolhido e repassado para os indivíduos. Outra parte foi

encaminhada ao setor de Imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA/UFPE) e utilizada para cultura de células de 24h.

O estudo foi submetido ao comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz (CPqAM/Fiocruz), e foi aprovado com o CAAE: 22822813.3.0000.5190 (ANEXO A).

4.3 Área do estudo

Características importantes das regiões onde foram recrutados os pacientes do estudo.

4.3.1 Cabo de Santo Agostinho

O município do Cabo de Santo Agostinho, localizado na Região Metropolitana do Recife, possui uma população estimada de 200.546 habitantes e densidade demográfica de 412,33 hab/km². Distante aproximadamente 33km da capital, seu território é de 448,735 km² e o clima da região é tropical com uma temperatura média anual de 28°C (IBGE, 2016).

4.3.2 Ilha de Itamaracá

O município da Ilha de Itamaracá está localizado na Região Metropolitana do Recife, limitando-se a norte com Goiana, a sul com Igarassu, a leste com Oceano Atlântico e a oeste com Itapissuma, com uma área de 65,1 km² e população de 22.449 habitantes (IBGE, 2016). O município está inserido na unidade geoambiental da Baixada Litorânea, com relevo formado pelas Áreas Arenosas Litorâneas, incluindo restingas, dunas e manguezais. A vegetação é formada por Floresta Perenifólia de Restinga e o clima é Tropical Chuvoso, com verão seco.

4.3.3 Recife

Recife é um município brasileiro, capital do estado de Pernambuco, localizado na Região Nordeste do país. Com área territorial de aproximadamente 218 km², é formado por uma planície aluvial, tendo as ilhas, penínsulas e manguezais como suas principais características geográficas. Possui o quarto aglomerado urbano mais populoso do Brasil, com

4 milhões de habitantes em 2017 (IBGE, 2018). O Recife é conhecido como "Veneza Brasileira" graças à semelhança fluvial de sua área mais central com a cidade europeia de Veneza. Cercado por rios e cortado por pontes, é cheio de ilhas e mangues. Na cidade acontece o encontro dos rios Beberibe e Capibaribe que deságuam no Oceano Atlântico (PREFEITURA MUNICIPAL DO RECIFE, 2015). O Recife tem um clima tropical úmido, típico do litoral leste nordestino, com temperaturas médias mensais sempre superiores a 18 °C. A temperatura média compensada anual é de aproximadamente 26 °C, chegando a 30 °C no verão (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA, 2018).

4.4 Critérios de inclusão e exclusão

a) Foram considerados como critérios de inclusão do estudo:

- Indivíduos com idade superior a 5 anos, infectados ou não pelo *S. mansoni*;
- Ambos os sexos;
- Estar no posto de saúde de Itamaracá, Cabo de Santo Agostinho e Aritana/Recife - PE, para atendimento ambulatorial no momento em que a equipe de pesquisa estiver executando a coleta.

b) Foram considerados como critérios de exclusão do estudo:

- Adolescentes gestantes;
- Apresentar positividade para protozoários na primeira amostra de fezes coletada;
- Pacientes com outras doenças respiratórias (hipertrofia adenoideanas, insuficiência respiratória crônica causada por: fungos, bactérias e vírus) concomitante com asma ou rinite;
- O adulto ou responsável pelo paciente (no caso de crianças e adolescentes) recusar a participação no estudo e/ou não assinar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (Apêndice A).

4.5 Definição e categorização das variáveis

A fim de verificar a associação entre infecção pelo *S. mansoni* e a presença de alergia respiratória (excluindo as possíveis variáveis de confundimento), bem como, investigar se a infecção pelo *S. mansoni* altera a produção de ST2s, citocinas, quimiocinas, anticorpos e

sCD23 nos indivíduos alérgicos e não alérgicos, as variáveis estudadas foram divididas em dois grupos:

4.5.1 Variáveis para o estudo de associação (Artigo 1)

a) Variáveis dependentes:

- Alergia respiratória Presença de asma e/ou rinite baseada no questionário ISAAC (Sim ou Não).

b) Variáveis independentes:

- Infecção pelo *S. mansoni* (Sim ou Não);
- Idade: Expressa em anos até a data de seleção para o estudo (≤ 20 anos e ≥ 21 anos);
- Sexo (Masculino e Feminino);
- Histórico familiar de alergia na mãe: Qualquer manifestação de alergia, incluindo asma, rinite, urticária e/ou dermatite atópica (Sim ou Não);
- Escolaridade materna: Grau de escolaridade (Analfabeta a ensino médio incompleto e ensino médio completo a ensino superior completo);
- Renda: Remuneração da família em reais no mês anterior a realização do questionário (≤ 1 salário mínimo e > 1 salário mínimo);
- IgE anti-*Blomia*: Presença de Imunoglobulina E, no soro, específica para *Blomia tropicalis*, dosados por ImmunoCAP (Positivo ou Negativo)
- IgE anti-*Asc*: Presença de Imunoglobulina E, no soro, específica para antígenos de *Ascaris*, dosados por ImmunoCAP (Positivo ou Negativo).

4.5.2 Variáveis para estudo da resposta imune em alérgicos e/ou infectados por *S. mansoni* (Artigo 1 e 2)

a) Variáveis dependentes:

- Citocinas: mediana dos níveis de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ e IL-17, dosados por CBA no sobrenadante da cultura de 24h (variável quantitativa contínua, em pg/mL);

- Quimiocinas: mediana dos níveis de CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL9 e CXCL10, dosados por CBA no sobrenadante da cultura de 24h (variável quantitativa contínua, em pg/mL);
- Leucócitos: contagem de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos no sangue periférico, contados automaticamente por *LH 750 - Beckman Coulter* (variável quantitativa contínua, em número absoluto);
- IgE total: Concentração de Imunoglobulina E total, no soro, por ImmunoCAP (variável quantitativa contínua, em KUA/L);
- IgE anti-*Blomia*: Presença de Imunoglobulina E, no soro, específica para *Blomia tropicalis*, dosados por ImmunoCAP (Positivo ou Negativo)
- IgE anti-Asc: Presença de Imunoglobulina E, no soro, específica para antígenos de *Ascaris*, dosados por ImmunoCAP (Positivo ou Negativo).

b) Variáveis independentes:

- Alergia respiratória Presença de asma e/ou rinite baseada no questionário ISAAC (Sim ou Não);
- sCD23: Concentração de CD23 solúvel no soro, dosado por ELISA de captura (variável quantitativa contínua, em U/ml);
- Níveis de ST2 solúvel no soro: Concentração de CD23 solúvel no soro, dosado por ELISA de captura (variável quantitativa contínua, em ng/ml).

c) Possível variável modificadora de efeito

- Infecção pelo *S. mansoni* (Sim ou Não).

4.6 Padronização das técnicas

4.6.1 Aplicação de questionário

Após a coleta das amostras de sangue serão aplicados os questionários do protocolo ISAAC, módulo asma e rinite, validado no Brasil (SOLÉ et al., 2008). Os questionários serão preenchidos na presença da pesquisadora principal e/ou dos auxiliares de pesquisa, devidamente treinados pela mesma e especialmente instruídos para evitar explicações que poderiam interferir nas respostas (ANEXO B).

4.6.2 Realização dos hemogramas

As amostras de sangue coletadas em tubos estéril a vácuo com anticoagulante (EDTA) foram processadas no mesmo dia da coleta, para análise e contagem total e diferencial de leucócitos, em aparelho de automação (LH 750 - Beckman Coulter).

4.6.3 Dosagem de IgE total, IgE anti-Asc e anti-*Blomia tropicalis* por ImmunoCAP

Os plasmas dos pacientes foram enviados para UNIFESP/SP onde foram realizadas as dosagens do anticorpo IgE total, anti-Asc e anti-*Blomia* pelo teste ImmunoCAP, utilizando o sistema PHADIA 100, seguindo as instruções do fabricante. Para os anticorpos específicos, foram consideradas como positivas as amostras cuja concentração for superior a 0,35 KUA/L.

4.6.4 Dosagem de sCD23 por ELISA de captura

O sCD23 foi mensurado por ELISA, utilizando kit específico (KAS0251), segundo as instruções do fabricante (*Biosource*). As amostras de soro diluídas no tampão diluente proveniente do kit foram distribuídas na placa, previamente sensibilizada por anticorpo anti-CD23. Após incubação por 2 horas e meia, à temperatura ambiente, a placa foi lavada 4x e em seguida foi adicionado o anticorpo de detecção biotinizado (diluído 1x) para incubação por 1 hora na mesma temperatura. Após esse período, foi adicionada a streptavidina-peroxidase (1x) e houve uma nova incubação de 45 minutos. A revelação se deu com a adição do reagente contendo Tetrametil benzidina (TMB) e incubação por 30 minutos no escuro. A reação foi parada com a adição da solução stop e a leitura foi feita em leitor de ELISA (OD 450).

4.6.5 Cultura de células do sangue periférico

As células do sangue periférico foram cultivadas em tubos de polipropileno de 14mL (BD System™). Foram utilizados 500µL de sangue total em 1mL de meio RPMI 1640 com glutamina (2mM), gentamicina 50mg/mL (Sigma), HEPES 10mM (Sigma) e 5% soro fetal bovino (Cultilab). As células do sangue periférico foram estimuladas separadamente com Phytohaemagglutinin (PHA) (10µg/mL) ou apenas com meio de cultura e incubadas por 24h, a 37°C em estufa de CO₂. Ao final do período de incubação *in vitro*, os sobrenadantes da

cultura foram coletados e estocados a -20°C para posterior dosagem das citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF, IFN- γ) e quimiocinas (CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10) por CBA.

4.6.6 Determinação dos Níveis das Citocinas e quimiocinas por CBA

Os sobrenadantes das culturas, armazenados a -20°C foram descongelados à temperatura ambiente e submetidos à detecção das citocinas e quimiocinas, por citometria de fluxo através de partículas (bead) ligadas com PE padrão, (BD Biosciences) por meio da técnica: “Cytometric Bead Array” (CBA). O procedimento foi realizado conforme a descrição do manual de instrução do BD™ Cytometric Bead Array (CBA). Os resultados foram expressos em valores de concentração, em pg/ml.

4.6.7 Análise estatística

A fim de verificar a associação entre infecção pelo *S. mansoni*, bem como variáveis biológicas e sociais, e a presença de alergia respiratória foi calculada a Odds Ratio (OR) e o valor de “p” pelo Wald’s test. A alergia foi considerada como variável dependente e a infecção independente. As demais variáveis (sexo, idade, histórico familiar de alergia, renda familiar, escolaridade materna e tabagismo passivo e IgE total e específicas) foram testadas como possíveis fatores de confundimento e as que apresentaram $p < 0,2$ na análise univariada, entraram no modelo de regressão logística para ajuste. As análises foram desenvolvidas utilizando o software RStudio 3.2.2.

As citocinas, quimiocinas, valores absolutos de células do sangue periférico (leucograma) foram comparados utilizando-se testes não-paramétricos (Kruskal-Wallis e Mann-Whitney). As análises foram realizadas pelo GraphPad Prism, versão 5.03.

Por fim, foi calculado o coeficiente de correlação linear de Spearman, a fim de verificar a correlação entre o ST2 e as citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α , IFN- γ e IL-17) e quimiocinas (CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10) e anticorpos (IgE total, IgE anti-Blomia, IgE anti-Asc) investigados. As análises foram realizadas pelo *GraphPad Prism*, versão 5.03.

5 RESULTADOS

Os resultados das análises da associação entre infecção por *S. mansoni* e alergia respiratória, bem como os níveis de citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ , IL-17) e quimiocinas (CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL9 e CXCL10) em indivíduos alérgicos, infectados ou não, estão apresentados no artigo intitulado “A infecção pelo *Schistosoma mansoni* está associada à proteção para alergia respiratória e à diminuição na produção de CCL2 e CCL5” (APÊNDICE B). Além disso, os níveis séricos de sCD23 e ST2s e a influência dessas moléculas na produção de citocinas e quimiocinas por células do sangue periférico de indivíduos infectados pelo *S. mansoni* e/ou com alergia respiratória, estão apresentados no segundo artigo: “Correlação entre sST2 e citocinas, quimiocinas ou IgE na esquistossomose e alergia” (APÊNDICE C). Os dois artigos que foram submetidos aos periódicos *Reports in Public Health* e *Revista de Saúde Pública*, respectivamente (ANEXO C).

6 CONCLUSÕES

Indivíduos esquistossomóticos apresentam parâmetros Th2 (eosinófilos e IgE total), mas com baixos níveis de quimiocinas CCL2 e CCL5. Estes dados foram em concomitância com o aumento citocinas pró-inflamatórias (TNF e IL-6) e CXCL8. Os pacientes alérgicos e infectados apresentaram mais IL-10 e, por influência da infecção, apresentaram a produção de CXCL8, TNF e IL-6 aumentada. Este último dado pode levar desvio pra Th1 e/ou atenuação da resposta Th2 em alérgicos em indivíduos de área endêmica para esquistossomose. Além disso, a infecção pelo *S. mansoni* parece modificar a relação entre o sST2 no soro e a produção de IL-6, IL-10 e CXCL5. De fato, a infecção inibiu a supressão dessas moléculas causada pelo sST2 e pode estar sofrendo influência da IgE anti-Asc presente no soro ou por mecanismo ainda não esclarecido.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K.; LITCHMAN, A.H. Hipersensibilidade Imediata. In: *Imunologia Celular e Molecular*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 446-465, 2005.
- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Hipersensibilidade imediata. In: **Imunologia celular e molecular**. 6. ed.. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.441-461.
- ABBAS, A.K.; LITCHMAN, A.H; PILLAI, S. Ativação dos Linfócitos T. In: *Imunologia Celular e Molecular*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 203-223, 2011.
- ABDULAMIR, A.S. et al. Changing survival, memory cell compartment, and T-helper balance of lymphocytes between severe and mild asthma. **BMC Immunol**, v. 9, n. 73, p. 1-10, 2008.
- ACHARYA, M. et al. CD23/FcεRII: molecular multi-tasking. **Clin Exp Immunol**, v. 162, n. 1, p. 12–23, 2010.
- ADALID-PERALTA, L. et al. Mechanisms underlying the induction of regulatory T cells and its relevance in the adaptive immune response in parasitic infections. **Int J Biol Sci**, v. 7, n. 9, p. 1412, 2011.
- ALLEN, S. J.; CROWN, S. E.; HANDEL, T. M. Chemokine:Receptor Structure, Interactions, and Antagonism. **Annu Rev Immunol**, v. 25, n. 1, p. 787–820, 2007.
- ARAÚJO, M.I. et al. Impaired T helper 2 response to aeroallergen in helminth-infected patients with asthma. **J Infect Dis**, v. 190, n. 10, p. 1797-1803, 2004.
- ARRUDA, L.K. et al. Risk factors for asthma and atopy. **Curr Opin Allergy Clin Immunol**, v. 5, n. 2, p. 153-159, 2005.
- ASHER, M. I. et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. **The Lancet**, v. 368, n. 9537, p. 733-743, 2006.
- ASHER, M. I. et al. Which population level environmental factors are associated with asthma, rhinoconjunctivitis and eczema? Review of the ecological analyses of ISAAC Phase One. *Respir Res*, 11(1): 8, 2010.
- AKINBAMI, L. J. et al. Trends in Asthma Prevalence, Health Care Use, and Mortality in the United States, 2001–2010. **NCHS data brief**, n. 94, 2012.
- BARBOSA, C. S. et al. Assessment of schistosomiasis, through school surveys, in the Forest Zone of Pernambuco, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 1, p. 55-62, 2006..
- BARNES, P. J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Nat Rev Immunol**, v. 8, n. 3, p. 183-192, 2008.

- BARRETO, B.A.; SOLÉ, D. Prevalence of asthma and associated factors in adolescents living in Belem (Amazon region), Para, Brazil. **Allergol Immunopathol**, v. 42, n. 5, p. 427-432, 2013.
- BELKAID, Y; ROUSE, B. T. Natural regulatory T cells in infectious disease. **Nat immunol**, v. 6, n. 4, p. 353-360, 2005.
- BERKOWSKA, M. A. et al. Human IgE+ B cells are derived from T cell-dependent and T-cell independent pathways. **J Allergy Clin Immunol**, v. 134, n. 3, p. 688-697, 2014.
- BONNEFOY, J. Y. et al. Regulation of IgE synthesis by CD23/CD21 interaction. **Pathogenesis**, v. 107, n. 1, p. 40-42, 1995.
- BOUSQUET, J. et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008. **Allergy**, v. 63, n. 86, p. 8-160, 2008.
- BRAMAN, S.S. The global burden of asthma. **Chest**, 130. N. 1, p. 4S-12S, 2006.
- CARDOSO, L. S. et al. *Schistosoma mansoni* antigens as modulators of the allergic inflammatory response in asthma. **Endocr Metab Immune Disord Drug Targets**, v. 12, n. 1, p. 24-32, 2012.
- CARR, T. F. et al. Eosinophilic bioactivities in severe asthma. **World Allergy Organ J**, v. 9, n.21, p. 1-7, 2016.
- CARVALHO, E. M. et al. Worms and allergy. **Parasite Immunol**, v. 28, n. 10, p. 525-534, 2006.
- CASTAN, L.; MAGNAN, A.; BOUCHAUD, G. Chemokine receptors in allergic diseases. **Allergy**, v. 72, n. 4, p. 682-690, 2016.
- CATUSSE, J. et al. Characterization of the molecular interactions of interleukin-8 (CXCL8), growth related oncogen alpha (CXCL1) and a non-peptide antagonist (SB 225002) with the human CXCR2. **Biochem Pharmacol**, v. 65, n. 5, p. 813-821, 2003.
- COOPER, A. M. et al. Soluble CD23 Controls IgE Synthesis and Homeostasis in Human B Cells. **J Immunol**, v. 188, n. 7, p. 3199-3207, 2012.
- COOPER, P. J. Intestinal worms and human allergy. **Parasite Immunol**, v. 26, n. 11-12, p. 455-467, 2004.
- COOPER, P. J. et al. Human allergy and geohelminth infections: a review of the literature and a proposed conceptual model to guide the investigation of possible causal associations. **Br Med Bull**, v. 79-80, n. 1, p. 203-218, 2006.
- CORREN, J. Role of interleukin-13 in asthma. **Curr Allergy Asthma Rep**, v. 13, n. 5, p. 415-420, 2013.
- CORRIGAN, C. Mechanisms of asthma. **Medicine**, v. 36, n. 4, p. 177-180, 2008.

COSMI, L. et al. Identification of a novel subset of human circulating memory CD4(+) T cells that produce both IL-17A and IL-4. **J Allergy Clin Immunol**, v. 125, n. 1, p. 222-230, 2010.

DE FARIA, I. C. et al. Association of TGF- β 1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. **J Pediatr**, v. 84, n. 3, p. 203-210, 2008.

DI LORENZO, G. Serum levels of total IgE and soluble CD23 in bronchial asthma. *Mediators of Inflamm*, v. 5, n.1, p. 43-46, 1996.

DUNICAN, E. M.; FAHY, J. V. The Role of Type 2 Inflammation in the Pathogenesis of Asthma Exacerbations. **Ann Am Thorac Soc**, v. 12, n. 2, p. S144–S149, 2015.

ENDARA, P. et al. Effect of urban vs. rural residence on the association between atopy and wheeze in Latin America: findings from a case–control analysis. **Clin Exp Allergy**, v. 45, n. 2, p. 438-447, 2015.

ENDO, Y. et al. Pathogenic memory type Th2 cells in allergic inflammation. **Trends Immunol**, 35(2): 69-78, 2014.

FALLON, P. G.; MANGAN, N. E. Suppression of TH2-type allergic reactions by helminth infection. **Nat Rev Immunol**, v. 7, n. 3, p. 220-230, 2007.

GEBHARDT, T. et al. Peripheral tissue surveillance and residency by memory T cells. **Trends Immunol**, v. 34, n. 1, p. 27-32, 2013.

EGINAT, J. et al. The CD4-centered universe of human T cell subsets. **Semin Immunol**, v. 25, n. 4, p. 252-262, 2013.

GOULD H. J.; SUTTON B. J. IgE in allergy and asthma today. **Nat Rev Immunol**, v.8, n. 3, p. 205-217, 2008.

GRANT, Audrey V. et al. Functional polymorphisms in IL13 are protective against high *Schistosoma mansoni* infection intensity in a Brazilian population. **Plos one**. v. 7. n. 5 p. e35863

HAGEL I. et al. Role of the low affinity IgE receptor (CD23) on the IgE response against *Ascaris lumbricoides* in Warao Amerindian children from Venezuela. **Invest Clin**, v. 47, n. 3, p. 241–251, 2006.

HANSEN, G. et al. CD4+ T helper cells engineered to produce latent TGF- β 1 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. **J Clin Invest**, v. 105, n. 1, p. 61-70, 2000.

HARALDSEN, G. et al. Interleukin-33 - cytokine of dual function or novel alarmin? **Trends in immunol**, v. 30, n. 5, p. 227–233, 2009.

HAYAKAWA, H. et al. Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. **J Biol Chem**, v. 282, n. 36, p. 26369–26380, 2007.

- HE, J. S. et al. The distinctive germinal center phase of IgE⁺ B lymphocytes limits their contribution to the classical memory response. **J Exp Med**, v. 210, n. 12, p. 2755-2771, 2013.
- HESSE, M. et al. The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10-producing innate effector and regulatory T cells. **J Immunol**, v. 172, n. 5, p. 3157-3166, 2004.
- HIBBERT, R. G. et al. The structure of human CD23 and its interactions with IgE and CD21. **J Exp Med**, v. 202, n. 6, p. 751-60, 2005.
- HOPKIN, J. Mechanisms of asthma. In: Principles of asthma. Medicine, 31(12): 41-44, 2003.
- HUMPHREYS, N. E. et al. IL-33, a Potent Inducer of Adaptive Immunity to Intestinal Nematodes. **J Immunol**, v. 180, n. 4, p. 2443-2449, 2008.
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo demográfico de 2010 e setores censitários**. IBGE Cidades, 2016. Disponível em <www.cidades.ibge.gov.br/>. Acesso em: 08 jan 2016.
- IBIAPINA, Cássio da Cunha et al. Rinite alérgica: aspectos epidemiológicos, diagnósticos e terapêuticos. **J Bras Pneumol**, v. 34, n. 4, p. 230-240, 2008.
- IIKURA, M. et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. **Lab Invest**, v. 87, n. 10, p. 971-978, 2007.
- IKUTANI, M. et al. Emerging roles of IL-33 in inflammation and immune regulation. **Inflamm Regener**, v. 35, n. 2, p. 69-77, 2015.
- JANSON, C. et al. The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far? **Eur Resp J**, v. 18, n. 3, p. 598-611, 2001.
- JOSEPH, S. et al. 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**, v. 190, n. 4, p. 835-842, 2004.
- KABESCH, M. Candidate genes and the genetic epidemiology of asthma. **Paediatr Respir Rev**, v. 5, n. 1, p. S23-S25, 2004.
- KANEKO, Y. et al. Asthma phenotypes in Japanese adults - their associations with the CCL5 and ADRB2 genotypes. **Allergol Int**, v. 62, n. 1, p. 113-121, 2013.
- KESKIN, O. et al. Exhaled RANTES and interleukin 4 levels after exercise challenge in children with asthma. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v. 109, n. 5, p. 303-308, 2012.
- KIKUTANI, H.; KISHIMOTO, T. Molecular genetics and biology of two different species of fcer2. **Res Immunol**, v. 141, p. 249-258, 1990.
- KO, F. W. S. et al. Decreased T-bet expression and changes in chemokine levels in adults with asthma. **Clin Exp Immunol**, v. 147, n. 3, p. 526-532, 2007.

KOH, Y. Y.; KIM, C. K. The development of asthma in patients with allergic rhinitis. **Curr Opin Allergy Clin Immunol**, v. 3, n. 3, p. 159-164, 2003.

KUROWSKA-STOLARSKA, M. et al. IL-33 induces antigen-specific IL-5⁺ T cells and promotes allergic-induced airway inflammation independent of IL-4. **J Immunol**, v. 181, n. 7, p. 4780–4790, 2008.

LAMBRECHT, B. N.; HAMMAD, H. Asthma: the importance of dysregulated barrier immunity. **Eur J Immunol**, v. 43, n. 12, p. 3125-3137, 2013.

LARCHÉ, M. et al. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. **J Allergy Clin Immunol**, v. 111, n. 3, p. 450-463, 2003.

LAI, S. T. et al. T-helper 1-related chemokines in the exacerbation of childhood asthma. **Pediatr Int**, v. 50, n. 1, p. 99–102, 2008.

LAYLAND, L. E. et al. Immunopathology in schistosomiasis is controlled by antigen-specific regulatory T cells primed in the presence of TLR2. **Eur J Immunol**, v. 37, n. 8, p. 2174-2184, 2007.

LEMIEUX, G. A. et al. The low affinity IgE receptor (CD23) is cleaved by the metalloproteinase ADAM10. **J Biol Chem**, v. 282, n. 20, p. 14836–14844, 2007.

LING, E. M. et al. Relation of CD4⁺CD25⁺ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. **Lancet**, v. 363, n. 9409, p. 608-615, 2004.

MACHURA, E. et al. Expression of naive/memory (CD45RA/CD45RO) markers by peripheral blood CD4⁺ and CD8⁺ T cells in children with asthma. **Arch Immunol Ther Exp**, v. 56, n. 1, p. 55-62, 2008.

MAHNKE, Y. D. et al. The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets. **Eur J Immunol**, v. 43, n. 11, p. 2797-2809, 2013.

MATERA, G. et al. *Ascaris lumbricoides*-induced suppression of total and specific IgE responses in atopic subjects is interleukin 10-independent and associated with an increase of CD25(+) cells. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 62, n. 3, p. 280-286, 2008.

MATHEWS, J. A. et al. A potential new target for asthma therapy: a disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10) involvement in murine experimental asthma. **Allergy**, v. 66, n. 9, p. 1193–200, 2011.

MATSUDA, A. et al. Th1/Th2 cytokines reciprocally regulate in vitro pulmonary angiogenesis via CXC chemokine synthesis. **Am J Respir Cell Mol Biol**, v. 38, n. 2, p. 168-175, 2008.

MCCLOSKEY, N. et al. Soluble CD23 monomers inhibit and oligomers stimulate IGE synthesis in human B cells. **J Biol Chem**, v. 282, n. 33, p. 24083–24091, 2007.

- MCKEE, A. S.; PEARCE, E. J. CD25⁺CD4⁺ cells contribute to Th2 polarization during helminth infection by suppressing Th1 response development. **J Immunol**, v. 173, n. 2, p. 1224-1231, 2004.
- MEDEIROS, M. Jr. et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. **J Allergy Clin Immunol**, v. 111, n. 5, p. 947-951, 2003.
- MEDEIROS, D. et al. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. **J Pediatr**, v. 82, n. 4, p. 255-259, 2006.
- MILDNER, M. et al. Primary sources and immunological prerequisites for sST2 secretion in humans. **Cardiovasc Res**, v. 87, n. 4, p. 769-777, 2010.
- MONCAYO, A. L. et al. Effects of geohelminth infection and age on the associations between allergen-specific IgE, skin test reactivity and wheeze: a case-control study. **Clin Exp Allergy**, v. 43, n. 1, p. 60-72, 2012.
- MOSER, M.; MURPHY, K.M. Dendritic cell regulation of Th1-Th2 development. **Nat Immunol**, v. 1, n. 3, p. 199-205, 2000.
- MOURA, J. A. R.; CAMARGOS, P. A. M.; BLIC, J. Tratamento profilático da asma. **J Ped**, v. 78, n. 2, p. 141-150, 2002.
- MUDDE, G. C.; BHEEKHA, R.; BRUIJNZEEL-KOOMEN, C. A. Consequences of IgE/CD23-mediated antigen presentation in allergy. **Immunol Today**, v. 16, n. 8, p. 380-383, 1995.
- MULLER, G. C. et al. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels are associated with clinical severity in school age children with asthma. **Clin Exp Allergy**, v. 40, n. 12, p. 1755-1759, 2010.
- MURPHY, K. Alergia e doenças alérgicas. In: **Imunobiologia de Janeway**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. p. 571-582.
- MWINZI, P. N. M. et al. Circulating CD23⁺ B Cell Subset Correlates with the Development of Resistance to *Schistosoma mansoni* Reinfection in Occupationally Exposed Adults Who Have Undergone Multiple Treatments. **J Infect Dis**, v. 199, n. 2, p. 272-279, 2009.
- NAKAJIMA, H.; HIROSE, K. Role of IL-23 and Th17 cells in airway inflammation in asthma. **Immune Netw**, 10(1): 1-4, 2010.
- NG, T. H. et al. Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10. **Front Immunol**, v. 4, n. 129, p. 3389, 2013.
- OBIHARA, C.C. et al. Respiratory atopic disease, *Ascaris*-immunoglobulin E and tuberculin testing in urban South African children. **Clin Exp Allergy**, v. 36, n. 5, p. 640-648, 2006.
- OH, J.W. et al. CD4 T-helper cells engineered to produce IL-10 prevent allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. **J Allergy Clin Immunol**, v. 110, n. 3, p. 460-468, 2002.

OLIVEIRA, S. M. et al. Association between allergic responses and *Schistosoma mansoni* infection in residents in a low-endemic setting in Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 47, n. 6, p. 770-774, 2014.

OSHIKAWA, K. et al. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 164, n. 2, p. 277–281, 2001.

PALMER, L. J. et al. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 165, n. 1, p. 1489-1493, 2002.

PATON, J. Y. Severe asthma in children. *Paediatric Child Health*, v. 17, n. 5, p. 180-187, 2007.

PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. **Nat Rev Immunol**, v. 2, n. 7, p. 499–511, 2002.

PEARCE, E. J. et al. Pillars article: downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *J. Exp. Med.* 1991. 173: 159-166. **J Immunol**, v. 189, n. 3, p. 1104-1111, 2012.

PILLAI, R. A.; CALHOUN, W. J. Introduction to asthma and phenotyping. **Adv Exp Med Biol**, v. 795, n. 1, p. 5-15, 2014.

PLATZER, B. et al. Soluble IgE receptors--elements of the IgE network. **Immunol letters**, v. 141, n. 1, p. 36–44, 2011.

PRÉFONTAINE, D. et al. Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells. **J Immunol**, v. 183, n. 8, p. 5094-5103, 2009.

PULENDRAN, B. et al. Programming dendritic cells to induce Th2 and tolerogenic responses. **Nat Immunol**, v. 11, n. 8, p. 647-655, 2010.

ROCHA, B.; TANCHOT, C. CD8 T cell memory. **Semin Immunol**, v. 16, n. 5, p. 305-314, 2004.

ROSENBERG, H. F; PHIPPS; F. Eosinophil trafficking in allergy and asthma. **J Allergy Clin Immunol**, v. 119, n. 6, p. 1303-1310, 2007.

RUJENI, N. et al. Soluble CD23 levels are inversely associated with atopy and parasite-specific IgE levels but not with polyclonal IgE levels in people exposed to helminth infection. *International archives of allergy and immunology*, v. 161, n. 4, p. 333–41, 2013.

SAAD-EL-DIN BESSA, S.; ABO EL-MAGD, G. H.; MABROUK, M. M. Serum Chemokines RANTES and Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Egyptian Patients with Atopic Asthma: Relationship to Disease Severity. **Arch Med Res**, v. 43, n. 1, p. 36–41, 2012.

SAKAGUCHI, S. et al. Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. **Immunol rev**, v. 212, n. 1, p. 8-27, 2006.

SAKAI, A. P. C. Rinite alérgica. **Rev Bras Med**, v. 69, n. 12, 2012.

SAKASHITA, M. et al. Association of serum interleukin-33 level and the interleukin-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. **Clin Exp Allergy**, v. 38, n. 12, p. 1875-1881, 2008.

SALLUSTO, F.; LANZAVECCHIA, A. Heterogeneity of CD4+ memory T cells: functional modules for tailored immunity. **Eur J Immunol**, v. 39, n. 8, p. 2076-2082, 2009.

SCRIVENER, S. et al. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study. **Lancet**, v. 358, n. 9292, p. 1493-1499, 2001.

SHAPIRA, S. K. et al. Deletional switch recombination occurs in interleukin-4-induced isotype switching to IgE expression by human B cells. **Proc Natl Acad Sci**, v. 88, n. 17, p. 7528-7532, 1991.

SHAPIRA, S. K. et al. Molecular analysis of the induction of immunoglobulin E synthesis in human B cells by interleukin 4 and engagement of CD40 antigen. **J Exp Med**, v. 175, n. 1, p. 289-292, 1992.

SINGH, K. P. et al. Retroviral Foxp3 gene transfer ameliorates liver granuloma pathology in *Schistosoma mansoni* infected mice. **Immunology**, v. 114, n. 3, p. 410-417, 2005.

SILVEIRA-LEMOS, D. et al. Seric chemokines and chemokine receptors in eosinophils during acute human schistosomiasis mansoni. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. v. 105, n. 4. p. 380–386, 2010.

SCHMITZ, J. et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. **Immunity**, v. 23, n. 5, p. 479-490, 2005.

SMITS, H.H. et al. Protective effect of *Schistosoma mansoni* infection on allergic airway inflammation depends on the intensity and chronicity of infection. **J Allergy Clin Immunol**, v. 120, n. 4, p. 932-940, 2007.

SOLÉ, D. et al. II Consenso Brasileiro sobre Rinites. **Rev. bras. alerg. imunopatol.** v. 29. n. 1, p. 29-58, 2006.

SOLÉ, Dirceu et al. Prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and atopic eczema among Brazilian children and adolescents identified by the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): phase 3. **J Ped**, v. 82, n. 5, p. 341-346, 2006.

SOLÉ, Dirceu et al. III Consenso Brasileiro sobre Rinites. **Braz J Otorrinolaryngol**, v. 75, n. 6, p. 1-52, 2012.

SOLÉ, D. et al. Prevalência de sintomas de asma, rinite e eczema atópico entre crianças e adolescentes brasileiros identificados pelo International Study of Asthma and Allergies (ISAAC) - Fase 3. **Arch Pediatr Urug**, v. 79, n. 2, p. 168-174, 2008.

SOUZA, V.M.O. et al. Produção de IL-10 em resposta a aeroalérgenos em crianças e adolescentes de zona urbana com geohelmintíases. **Rev Bras Alerg Immunopatol**, v. 32, n. 2, p. 54-58, 2009.

SOUZA, F. P. C. et al. Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. **Rev. Bras. Clin. Med.**, v. 9, n. 1, p. 300-7. 2011.

STOCKINGER, B. et al. CD4⁺ memory T cells: functional differentiation and homeostasis. **Immunol Rev**, v. 211, n. 1, p. 39-48, 2006.

TILL, S. J; FRANCIS; NOURI-ARIA. Mechanisms of immunotherapy. **J Allergy Clin Immunol**, v. 113, n. 6, p. 1025-1034, 2004.

TODO-BOM, A. et al. Aging and asthma - Changes in CD45RA, CD29 and CD95 T cells subsets. **Allergol Immunopathol**, v. 40, n. 1, p. 14-19, 2012.

TURNER, K .J. The conflicting role of parasitic infections in modulating the prevalence of asthma. **P N G Med J**, v. 21, n. 1, p. 86-104, 1978.

VARELLA, P. P. V.; FORTE, W. C. N. Citokines: a review. **Rev Bras de Alergia e Immunopatologia**, v. 24, n. 4, p. 146–154, 2001.

VIJAYENDRA C A, et al. CD23, Th1/Th2 cytokines in bronchial asthma, bronchiolitis and bronchial pneumonia in pediatric patients. **Asian J of Pharm and Clin Research**, v. 5, p. 111–4, 2012.

VIJAYENDRA C A, et al. CD23, Total IgE and Th1/Th2 cytokines in asthma patients. **Int J P P Sciences**, v. 4, p. 175–7, 2012.

VON MUTIUS, E. Environmental factors influencing the development and progression of pediatric asthma. **J Allergy Clin Immunol**, v. 109, n. 6, p. S525-S532, 2002.

WANG, Y.H. et al. A novel subset of CD4⁺ TH2 memory/effector cells that produce inflammatory IL-17 cytokine and promote the exacerbation of chronic allergic asthma. **J Exp Med**, v. 207, n. 11, p. 2479-2491, 2010.

WESKAMP, G. et al. ADAM10 is a principal “shedase” of the low-affinity immunoglobulin E receptor CD23. **Nature immunology**, v. 7, n. 12, p. 1293–1298, 2006.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Asthma - Fact sheet N° 307 - Updated November 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs307/en/>>. Acesso em: 03 jun. 2014.

XIE, M. et al. IL-27 and type 2 immunity in asthmatic patients: Association with severity, CXCL9, and signal transducer and activator of transcription signaling. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 2, p. 386–394, 2015.

XIONG, H et al. Sequential class switching is required for the generation of high affinity IgE antibodies. **J Exp Med**, v. 209, n. 2, p. 353-364, 2012.

YANAGISAWA, K. et al. Presence of a novel primary response gene ST2L, encoding a product highly similar to the interleukin 1 receptor type 1. **FEBS letters**, v. 318, n. 1, p. 83-87, 1993.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **J Immunol**, v. 185, n. 10, p. 5743–5750, 2010a.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **J Immunol**, v. 185, n. 10, p. 5743–50, 2010b.

YOKOTA, A et al. Two species of human Fc epsilon receptor II (Fc epsilon RII/CD23): tissue-specific and IL-4-specific regulation of gene expression. **Cell**, v. 55, n. 4, p. 611–8, 1988.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Centro de Pesquisas
AGGEU MAGALHÃES



Ministério da Saúde

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Sr (a) a permitir a sua participação na pesquisa: **INFECÇÃO ATIVA PELO *S. mansoni* OU GEOHELMINTOS E SEU EFEITO SOBRE OS NÍVEIS DE IL-33, ST2 SOLÚVEL E QUIMIOCINAS EM PACIENTES COM ASMA ALÉRGICA**, sob a responsabilidade do pesquisador Wheverton R. Correia do Nascimento, a qual pretende diagnosticar e tratar pacientes com vermes intestinais e estudar os componentes do sangue que causam a alergia em pessoas com vermes intestinais.

A sua participação é voluntária e se dará por meio de coleta de fezes para realização de exames de fezes, entrevista sobre as doenças alérgicas, teste de alergia na pele e retirada de 10 ml (2 colheres de chá) de sangue da veia do braço com agulha e seringa descartáveis para exames de sangue (hemograma) a cada três meses, ou seja, será feito um acompanhamento no início da pesquisa e 3, 6, 9 e 12 meses após o início da pesquisa.

Os riscos decorrentes da sua participação na pesquisa são a possibilidade de constrangimento no momento da coleta das fezes e durante a realização das entrevistas, coceira no braço por causa do teste alérgico na pele, aparecerem hematomas (mancha roxa) no local da retirada de sangue, porém, asseguramos que serão tomados todos os cuidados necessários para que este fato não aconteça. Pode ocorrer também algum mal estar (enjoo, vômitos, diarreia) para vermes, que são raros e, de qualquer forma deverá ser tomada, pois os vermes fazem mal à saúde e devem ser eliminados. Garantiremos a confidencialidade das informações prestadas, assim como o anonimato de todos os que participarem da pesquisa. Se o (a) Sr (a) permitir a sua participação, estará contribuindo para entender o que causa as doenças alérgicas e melhorar o diagnóstico e escolha do tratamento utilizado pelos pacientes com asma e parasitado por vermes. Além disso, você realizará um exame de sangue, receberão os resultados do mesmo e em caso de alguma alteração nos resultados serão agendados para uma consulta médica. Os que tiverem vermes serão tratados e será verificado se a parasitose foi eliminada a cada 3 meses (até completar um ano), receberá orientações de higiene e métodos para evitar novas infecções. No caso das pessoas alérgicas, o tratamento seguirá normalmente.

Se depois de consentir a sua participação o Sr (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas a identidade das pessoas não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço Av. Professor Moraes Rego, s/n - Campus da UFPE - Cidade Universitária, Recife/PE, CEP: 50.670-420, pelo telefone (81) 2101-2661/ 2522, ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa-CEP/CPqAM/FIOCRUZ, telefone (81) 2101-2639.

Consentimento Pós-Informação

Eu, _____, fui informado sobre o que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Data: ____/____/____

Assinatura do Responsável pelo menor ou
Impressão do dedo polegar

[Digite uma
citação do
documento
ou o resumo]

Assinatura do Pesquisador Responsável
Msc. Wheverton R. Correia do Nascimento (Coordenador da Pesquisa)
Departamento de Parasitologia/ Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães - Fiocruz
wheverton_ricardo@yahoo.com.br

APÊNDICE B - ARTIGO I - A INFECÇÃO PELO *SCHISTOSOMA MANSONI* ESTÁ ASSOCIADA À PROTEÇÃO PARA ALERGIA RESPIRATÓRIA E À DIMINUIÇÃO NA PRODUÇÃO DE CCL2 E CCL5

Schistosoma mansoni infection is associated with protection for respiratory allergy and decreased production of CCL2 and CCL5

La infección por el Schistosoma mansoni está asociada a la protección de la alergia respiratoria ya la disminución en la producción de CCL2 y CCL5

Título resumido: Infecção por *S. mansoni* protege de alergia e diminui CCL2 e CCL5

Cassia Giselle de Oliveira Nóbrega¹, Wheverton Ricardo Correia do Nascimento², Patrícia d'Emery Alves Santos¹, Virgínia Maria Barros de Lorena³, Vláudia Maria Assis Costa², Constança Clara Gayoso Simões Barbosa³, Dirceu Solé⁴, Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho⁵, Valdênia Maria Oliveira de Souza⁶.

- 1- Setor de Imunologia, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil;
- 2- Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil;
- 3- Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Brasil;
- 4- Divisão de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia, Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil;
- 5- Centro de Pesquisa em Alergia e Imunologia Clínica, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil;
- 6- Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

Correspondência: Dra. Valdênia Souza
Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA.
Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n. Cidade Universitária.
CEP: 50.670-901. Recife-PE, Brazil.
Email: valdenia.souza@ufpe.br
Tel.: + 55 81 2126 8484 Fax: + 55 81 2126 8485

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 404413/2012.9).

Conflito de Interesses: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

RESUMO

Racional: A infecção pelo *Schistosoma mansoni* pode modular a intensidade das respostas alérgicas. Diante disso, objetiva-se investigar a produção de citocinas, quimiocinas e anticorpos sabidamente envolvidos na resposta alérgica, bem como os níveis de sCD23 séricos. **Metodologia:** Indivíduos de ambos os sexos com idade entre 5 e 60 anos, foram selecionados através do questionário ISAAC e de exames parasitológicos. Foram formados quatro grupos de estudo: Alérgicos e Infectados com *S. mansoni* (A-I); Alérgicos e Não Infectados (A-NI); Não Alérgicos e Infectados (NA-I); Não Alérgicos e Não Infectados (NA-NI). Em todos os pacientes (n=164) foi realizada a coleta de sangue para o leucograma, cultura celular e dos níveis de citocinas e quimiocinas no sobrenadante que foram mensurados pelo *Cytometric Bead Array*. A dosagem de IgE total, anti-Asc e anti-*Blomia* no soro foi obtida por ImmunoCAP, e o CD23 por ELISA. **Resultados:** A infecção pelo *S. mansoni* demonstrou um caráter de proteção para as alergias (OR ajustado=0,40, IC95%=0,17–0,94; p=0,036). No grupo A-I houve significativamente maiores níveis de TNF- α , IL-10 e IL-6 em relação NA-I, sendo o TNF- α e a IL-6 também em níveis maiores no grupo NA-I, quando comparado ao grupo NA-NI. Além disso, no grupo NA-I houve maiores níveis de CXCL8 e menor de CCL2 e CCL5, quando comparado a NA-NI. Os níveis de CXCL8 também foram significativamente maiores no grupo A-I, quando comparado a A-NI. **Conclusão:** A infecção por *S. mansoni* suprimiu a produção de CCL2 e CCL5. Além disso, pacientes alérgicos e infectados apresentarem mais IL-10 e, por influência da infecção, também houve desvio para resposta Th1 com aumento da produção de CXCL8, TNF e IL-6.

Palavras chaves: *Schistosoma mansoni*; Alergia respiratória; Imunomodulação; CCL2/CCL5; IL-10.

INTRODUÇÃO

A intensidade da resposta alérgica pode ser alterada em indivíduos esquistossomóticos. Ambas as condições, infecção helmíntica e alergia, levam a uma resposta imune Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13 e produção de IgE) (CARDOSO et al., 2012), porém, durante a infecção, há também geração de células Treg, produção de IL-10 e TGF- β relacionados à atenuação da resposta Th2, mostrada pela diminuição da produção de IL-4 e IL-5, dos níveis de IgE anti-alérgeno e da positividade ao teste cutâneo (ARAÚJO et al., 2004; CARDOSO et al., 2012). A infecção pelo *S. mansoni* está relacionada à atenuação do quadro clínico nos pacientes asmáticos, menor produção de IL-5 e IL-4 e maior de IL-10 em resposta a *Dermatophagoides pteronyssinus* (MEDEIROS et al. 2003; ARAÚJO et al. 2004).

No Brasil, tem sido demonstrado uma alta prevalência de IgE anti-Asc em pacientes com alergias respiratórias (MEDEIROS et al., 2006; SOUZA et al., 2009). A IgE anti-Asc vem sendo descrita como fator de risco para sintomas de asma e rinite alérgicas, positividade ao teste cutâneo de hipersensibilidade imediata, aumento dos níveis de IgE total e de eosinófilos no sangue periférico (COOPER et al., 2003; OBIHARA et al., 2006; MONCAYO et al., 2013). No entanto ainda não foi esclarecida a influência desta molécula na associação entre infecção e alergia.

Diferentes moléculas de membrana e ativação celular podem influenciar na dinâmica da resposta imune, pela síntese e ação das citocinas/quimiocinas e, estas, atuando na intensidade das alergias. Dentre estas moléculas destacamos o CD23 solúvel (sCD23) que está associado ao aumento da síntese de IgE por Linfócitos B humanos (COOPER et al., 2012) e seus níveis estão aumentados na asma (DI LORENZO et al., 1996; VIJAYENDRA et al., 2012). A interação entre a molécula do CD23 e a infecções pelo *Schistosoma* é contraditória. Os níveis de sCD23 aumentaram significativamente com a intensidade da infecção pelo *Schistosoma haematobium*, mas diminuíram significativamente com os níveis de IgE específicos (RUJENI et al., 2013). Por outro lado, na infecção pelo *S. mansoni*, Silveira-Lemos et al., 2006 relatou um aumento da frequência de células CD23+, com aumento na expressão de CCR5 e diminuição de CCR3 (receptores de quimiocinas envolvidos na eosinofilia em pacientes esquistossomóticos agudos). VIJAYENDRA et al (2012) demonstraram que os níveis de sCD23, IgE total e IL-5 foram maiores no soro de pacientes asmáticos em relação ao grupo controle, enquanto os níveis de IFN- γ foram maiores no último grupo (VIJAYENDRA et al., 2012a; VIJAYENDRA et al., 2012b). No entanto, a

relação entre o CD23 e a IgE anti-Asc, bem como sintomas de asma em pacientes esquistossomóticos ainda não foi estudada.

Com relação às quimiocinas, família de citocinas responsáveis pela migração celular, as quimiocinas CCL11, CCL5 e CCL2 desempenham o papel de quimiotaxia de eosinófilos, basófilos e mastócitos (ROMAGNANI, 2002). Machura e col. mensurou os níveis de quimiocinas no soro de pacientes com asma atópica e evidenciou aumento da CCL5/RANTES (Th2) e diminuição de CXCL9 (Th1) em crianças com asma (MACHURA et al., 2016). As células epiteliais de via respiratória de crianças com história de sibilos demonstram níveis reduzidos de CXCL8/IL-8, IL-6, CCL2/MCP-1 (MCDOUGALL et al., 2015). Na infecção pelo *S. japonicum* foi observado aumento da transcrição do CCL2/MCP-1 durante a infecção por (BARTLEY et al., 2006). Contudo, ainda não foi avaliada a produção das quimiocinas durante a infecções pelo *S. mansoni* em indivíduos com e sem alergia.

A fim de melhor entender a modulação causada pelo *S. mansoni* na gravidade das desordens alérgicas, foi investigada a influência da infecção e/ou alergia na resposta imune desses indivíduos. Foi avaliada a produção de citocinas (IL-4, IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-10, IL-17), quimiocinas (CCL2, CCL5 e CXCL8) e anticorpos (IgE total, anti-Asc e anti-Blomia) sabidamente envolvidos na resposta alérgica e os níveis de sCD23 séricos.

METODOLOGIA

Seleção dos pacientes e formação dos grupos de estudo

Indivíduos com idade entre 5 a 80 anos, residentes nos municípios de Ilha de Itamaracá, Cabo de Santo Agostinho e Vitória de Santo Antão (Região Metropolitana do Recife), ou responsável, receberam informações sobre a pesquisa e os que concordaram assinaram o Termo de Consentimento livre esclarecido, responderam o questionário “*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*” (ISAAC) e receberam as instruções necessárias para a coleta de fezes. No dia seguinte, as amostras foram recolhidas e submetidas à técnica de sedimentação espontânea (Hoffman, Pons e Janer), e também, ao método de Kato-Katz no Laboratório e Serviço de Referência em Esquistossomose CPqAM/FIOCRUZ. Com a realização do parasitológico, foram formados quatro grupos: Alérgicos e Infectados com *S. mansoni* (A-I); Alérgicos e Não Infectados (A-NI); Não Alérgicos e Infectados (NA-I); Não Alérgicos e Não Infectados (NA-NI).

O estudo foi submetido ao comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz (CPqAM/Fiocruz), e foi aprovado com o CAAE: 22822813.3.0000.5190.

Coleta de sangue e cultura celular

A coleta de sangue foi realizada em uma unidade de saúde da família nos indivíduos selecionados após aplicação do ISAAC e do exame parasitológico. Após a coleta, parte das amostras foi levada para um laboratório de análises clínicas para realização do hemograma e, posteriormente, o resultado foi recolhido e repassado para os indivíduos. Outra parte foi encaminhada ao setor de Imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA/UFPE) e utilizada para cultura de células de 24h.

As culturas de sangue periférico foram realizadas utilizando meio RPMI 1640 (Sigma) adicionado de soro fetal bovino (5%). As células foram estimuladas com Phytohaemagglutinin (PHA) (10µg/mL) ou apenas com meio de cultura (24h, 37°C, CO₂-5%). O sobrenadante de cultura foi coletado e congelado à -80° C até a dosagem das citocinas e quimiocinas.

Determinação dos níveis das citocinas e quimiocinas por CBA

Citocinas e quimiocinas foram quantificadas no sobrenadante das culturas através do *Cytometric Bead Array* (CBA), segundo as instruções do fabricante (BD Biosciences). Os resultados foram expressos em valores de concentração, em pg/ml. Os resultados foram expressos em pg/mL com limiar de detecção for: IL-2=2,6; IL-4=4,9; IL-6=2,4; IL-10=4,5; TNF-α=3,8; IFN-γ=3,7; IL-17=18,9; CXCL8=0,2; CCL5=1,0 e CCL2=2,7. A detecção de citocinas e quimiocinas em cultura estimulada com mitógeno foi maior que as condições de não estimulação (dados não mostrados), por isso foram mostrados apenas os resultados após estimulação mitogênica.

Dosagens séricas

As amostras de plasma coletadas foram utilizadas para dosagens de sCD23, IgE total, IgE anti-Asc e IgE anti-Blomia. O sCD23 foi mensurado por ELISA, utilizando kit específico (KAS0251), segundo as instruções do fabricante (*Biosource*), enquanto os níveis dos anticorpos foram obtidos por ImmunoCAP (*Thermo Scientific*), segundo instruções do fabricante.

Análise estatística

A fim de verificar a associação entre infecção pelo *S. mansoni*, bem como variáveis biológicas e sociais, e a presença de alergia respiratória foi calculada a Odds Ratio (OR) e o valor de “p” pelo Wald’s test. A alergia foi considerada como variável dependente e a infecção independente. As demais variáveis (sexo, idade, histórico familiar de alergia, renda familiar, escolaridade materna e tabagismo passivo e IgE total e específicas) foram testadas como possíveis fatores de confundimento e as que apresentaram $p < 0,2$ na análise univariada, entraram no modelo de regressão logística para ajuste. As análises foram desenvolvidas utilizando o software RStudio 3.2.2.

As citocinas, quimiocinas, valores absolutos de células do sangue periférico (leucograma) foram comparados utilizando-se testes não-paramétricos (Kruskal-Wallis e Mann-Whitney). As análises foram realizadas pelo GraphPad Prism, versão 5.03.

RESULTADOS

Dos 164 indivíduos selecionados, 45 (27,4%) eram alérgicos e 119 (72,6%) não alérgicos. Dentre os alérgicos, 18 (40%) indivíduos estavam infectados com o *S. mansoni* (A-I) e 27 (60%) não infectados (A-NI). Dos não alérgicos, 84 (70,6%) eram infectados (NA-I) e 35 (29,4%) não infectados (NA-NI).

Para investigar a interação entre a alergia e as covariáveis foi realizada uma análise de regressão logística univariada e multivariada (Tabela 1). Na análise univariada o histórico de alergia da mãe constituiu um fator de risco a alergia (OR= 4.16, IC95%=1,66–10,46; $p < 0,002$). Contrariamente, a infecção pelo *S. mansoni* demonstrou um caráter de proteção para as alergias (OR= 0,28, IC95%=0,17–0,94; $p < 0,001$). Na regressão multivariada logística, quando ajustadas pela IgE anti-blomia e pela idade (variáveis com $p < 0,2$), apenas a infecção pelo *S. mansoni* (OR ajustado=0,40, IC95%=0,17–0,94; $p = 0,036$) permaneceu protegendo para as alergias, e a escolaridade materna passou a não mais influenciar de maneira significativa.

As citocinas TNF- α , IL-10 e IL-6, IFN- γ , IL-4, IL-2 e IL-17A e (Figura 1) e as quimiocinas CXCL8, CCL2 e CCL5 (Figura 2) foram mensuradas na cultura de sangue periférico. No grupo A-I houve significativamente maiores níveis de TNF- α (Fig. 1A), IL-10 (Fig 1B) e IL-6 (Fig. 1), em relação ao grupo A-NI, sendo o TNF- α e a IL-6 também em níveis maiores no grupo NA-I, quando comparado ao grupo NA-NI. O grupo A-I ainda apresentou maiores níveis de IL-10 e IFN- γ (Fig 1D) em relação ao grupo NA-I. Não foram

observadas diferenças significativas nos níveis de IL-4 (Fig 1E), IL-2 (Fig 1F) e IL-17A (Fig 1G).

Quanto às quimiocinas, no grupo NA-I os níveis de CXCL8 (Fig. 2A) foram significativamente maiores, enquanto houve menor produção de CCL2 (Fig. 2B) e CCL5 (Fig. 2C) quando comparado ao NA-NI. No grupo A-I, os níveis de CXCL8 foram significativamente maiores quando comparado a grupo A-NI.

Em relação aos níveis dos anticorpos, a IgE total (Fig 3A) e a IgE anti-Asc foram significativamente maiores no grupo NA-I em relação ao grupo NA-NI. Não houve diferença nos níveis de IgE anti-Blomia entre os grupos. Quanto ao leucograma, foi observado um maior número absoluto de eosinófilos no grupo NA-I em relação ao grupo NA-NI.

Os níveis de sCD23 (U/ml) entre os grupos não foram significativamente diferentes. As medianas (P25-P75) foram: A-I=1,25 (0,97-1,46); NA-I=1,25 (0,98-1,40); A-NI=1,26 (1,11-1,55); NA-NI=1,14 (0,96-1,45).

DISCUSSÃO

O *Schistosoma mansoni* pode modular a resposta imunológica do hospedeiro e induzir proteção para as doenças alérgicas (CARDOSO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014), em contrastes a presença da IgE anti-Asc está associada a sintomas de asma e rinite (OBIHARA et al., 2006; TAKEUCHI et al., 2008). A influência da infecção por *S. mansoni*, para diminuir a atopia e sintomas da asma é devida à regulação negativa da resposta imune Th2 mediada predominantemente pela IL-10 (ARAÚJO et al., 2004). Aqui, nosso estudo corroborou os dados de que a infecção protegeu para a asma/rinite, mesmo na presença da IgE anti-Asc. Apesar da história familiar de alergia da mãe desempenhar um importante papel na ocorrência de doenças como fator de risco e corroborando a influência do background genético (STRINA et al., 2014), em nosso após análise multivariada deixou de ser fator de risco.

A inflamação alérgica das vias aéreas de pacientes asmáticos é marcada por uma predominância de eosinófilos, mastócitos e linfócitos Th2 (CARDOSO et al., 2012). Nossos resultados mostram que os indivíduos alérgicos e infectados apresentaram um perfil misto com maiores níveis de TNF- α , IL-6, IFN- γ e IL-10 em resposta ao mitógeno e sem diferença nos níveis de IgE anti-blomia. Os antígenos solúveis dos ovos de *S. mansoni* induzem a resposta Th2 (SOUZA, 2011), como observado aqui pelos maiores níveis de IgE total e eosinófilos, mas também tem sido relatada a participação do perfil de citocinas pró-

inflamatório Th1 (IFN- γ , TNF- α e IL-6) implicada na imunopatologia da asma alérgica grave (CHO et al., 2005; BABU et al., 2011; JAWORSKA et al., 2012).

Contudo, a presença da IL-10 pode refletir um controle da exacerbação da resposta imune nestes indivíduos, uma vez que a infecção juntamente com a alergia aumentou a IL-10 em relação à apenas a infecção ou alergia isoladamente. De fato, os indivíduos alérgicos do nosso estudo são classificados como “sintomas leves/moderados” este fato pode estar ligado a maior produção de IL-10 intrínseca nestes indivíduos. É sabido que a infecção pelo *S. mansoni* induz fatores regulatórios, como a geração de Tregs, expressão da IL-10, TGF- β e CTLA-4 na modulação da resposta inflamatória na alergia (ARAUJO et al., 2004; WATANABE et al., 2007).

Nessas condições, foram detectados baixos níveis de sCD23 e sem diferença entre os grupos. É possível que pacientes com alergia leve/moderada e a infecção com baixa carga pelo *S. mansoni* (dados não mostrados) do nosso estudo não favoreça a detecção do sCD23. Realmente, VIJAYENDRA et al (2012) quando demonstraram maiores níveis de sCD23 na asma, estudaram pacientes que buscaram atendimento hospitalar sofrendo crises de asma, bronquiolite ou pneumonia brônquica. Em relação à infecção, os níveis de sCD23 aumentaram significativamente com a intensidade da infecção pelo *Schistosoma haematobium*, mas diminuíram significativamente com os níveis de IgE específicos (RUJENI et al., 2013).

As quimiocinas participam no desenvolvimento e manutenção da inflamação alérgica atuando no recrutamento e coordenando, através de seus receptores, a ativação das células (PALMQVIST et al., 2007; NEDOSZYTKO et al., 2012). A alergia respiratória, bem como a infecção pelo *Schistosoma*, modula a produção de quimiocinas (CHUAH et al., 2014). Foi observado aumento da transcrição do CCL2/MCP-1 durante a infecção por *S. japonicum* (BARTLEY et al., 2006). Aqui, durante a infecção por *S. mansoni*, foi demonstrada uma redução na produção de CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES e um aumento de CXCL8. Com relação à infecção esquistossomótica, nós temos demonstrado que houve menor produção de IL-33 (dados em submissão), citocina indutora de resposta Th2 (IIKURA et al., 2007) e envolvida com produção de CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES por eosinófilos, basófilos (YAMAGUCHI et al., 2009), além disso, os altos níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF- α) nesse grupo pode explicar o aumento da CXCL8. Os indivíduos alérgicos e infectados também apresentaram maiores níveis de CXCL8, indicando a ação da parasitose neste parâmetro.

Em conclusão, os indivíduos esquistossomóticos apresentaram parâmetros Th2 (eosinófilos e IgE total), mas com baixos níveis de quimiocinas CCL2 e CCL5. Estes dados foram em concomitância com o aumento citocinas pró-inflamatórias (TNF e IL-6) e CXCL8. Os pacientes alérgicos e infectados apresentaram mais IL-10 e, por influência da infecção, apresentaram a produção de CXCL8, TNF e IL-6 aumentada. Este último dado pode levar desvio pra Th1 e/ou atenuação da resposta Th2 em alérgicos em indivíduos de área endêmica para esquistossomose.

Tabela 1: Análise univariada e multivariada da associação entre alergia respiratória e variáveis biológicas, socioeconômicas e ambientais.

				<i>Análise Univariada</i>		<i>Análise multivariada*</i>	
		Alérgicos 45 (27,4%)	Não Alérgicos 119 (72,6%)	OR (IC 95%)	p Value	OR ajustado (IC 95%)	p Value
Gênero							
	<i>Masculino</i>	21	55	1.02	0,959		
	<i>Feminino</i>	24	64	(0.51,2.03)			
Idade							
	≤ 20 anos	19	34	1.81	0,105	1.7	0,221
	≥ 21 anos	25	81	(0.88,3.71)		(0.73,3.96)	
Histórico Alergia da Mãe							
	<i>Sim</i>	12	11	4.16	0,002	2.08	0,185
	<i>Não</i>	27	103	(1.66,10.46)		(0.7,6.17)	
Infecção S. mansonii							
	<i>Sim</i>	18	84	0.28	<0,001	0.4	0,036
	<i>Não</i>	27	35	(0.14,0.57)		(0.17,0.94)	
Escolaridade materna							
	<i>Escolaridade I[§]</i>	26	82	0.59	0.309		
	<i>Escolaridade II[§]</i>	13	25	(0.27,1.29)			
Renda							
	≤ 1 salário mínimo	21	61	0.95	0,887		
	> 1 salário mínimo	16	44	(0.44,2.02)			
Tabagismo passivo							
	<i>Sim</i>	18	47	1.2	0,620		
	<i>Não</i>	22	69	(0.58,2.48)			
IgE anti-Blomia							
	<i>Sim</i>	24	49	1.87	0,089	2,0	0,093
	<i>Não</i>	17	65	(0.91,3.86)		(0.89,4.48)	
IgE anti-Asc							
	<i>Sim</i>	21	71	0.64	0,218		
	<i>Não</i>	20	43	(0.31,1.31)			

§Escolaridade I: Analfabeto até ensino médio incompleto; Escolaridade II: Ensino médio completo até superior completo.

*Entraram no modelo de regressão logística para ajuste as variáveis com $p < 0,2$ na análise univariada.

FIGURAS

Figura 1

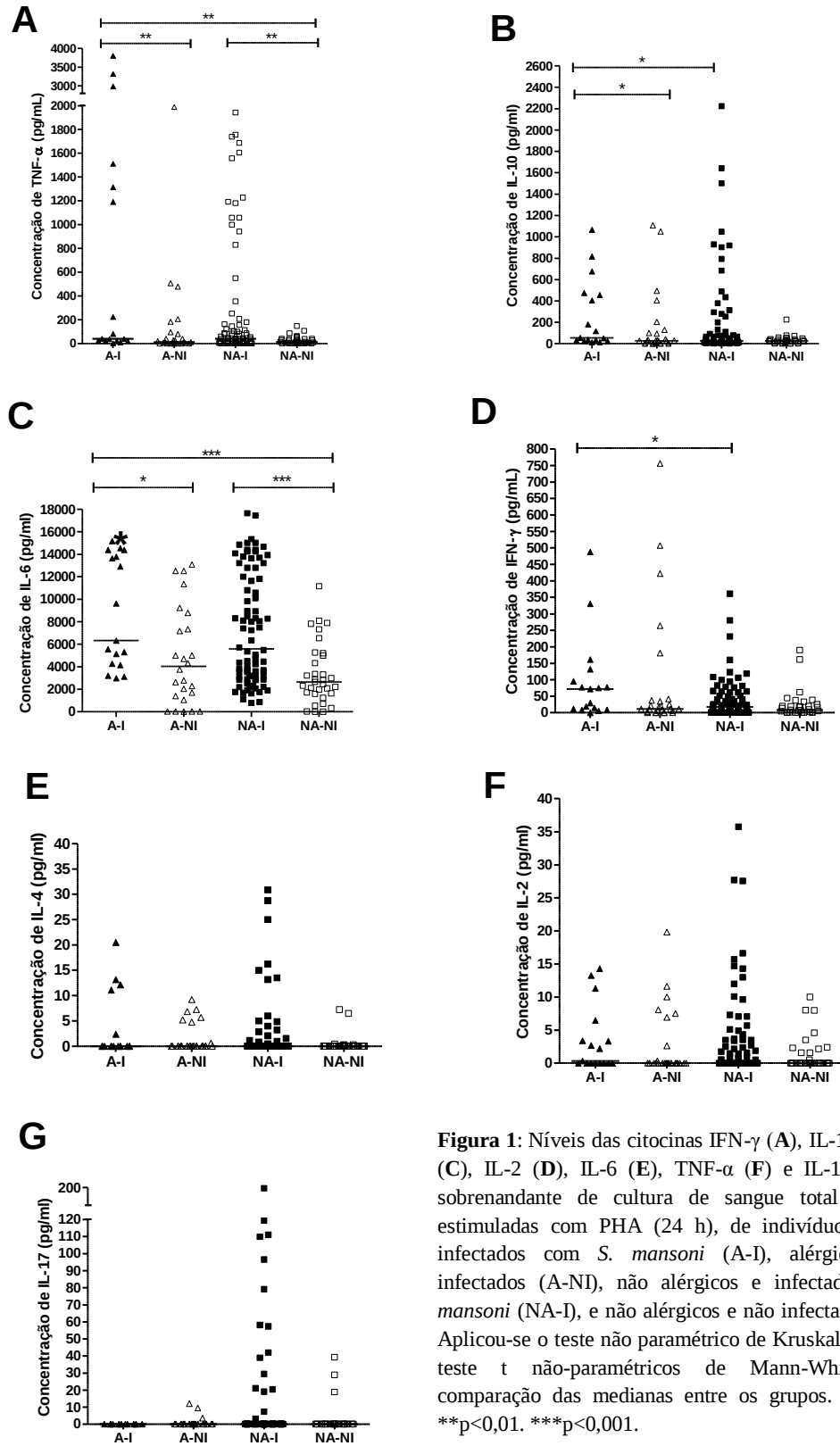


Figura 1: Níveis das citocinas IFN- γ (A), IL-10 (B), IL-4 (C), IL-2 (D), IL-6 (E), TNF- α (F) e IL-17A (G) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de indivíduos alérgicos infectados com *S. mansoni* (A-I), alérgicos e não infectados (A-NI), não alérgicos e infectados com *S. mansoni* (NA-I), e não alérgicos e não infectados NA-NI. Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney para comparação das medianas entre os grupos. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

Figura 2

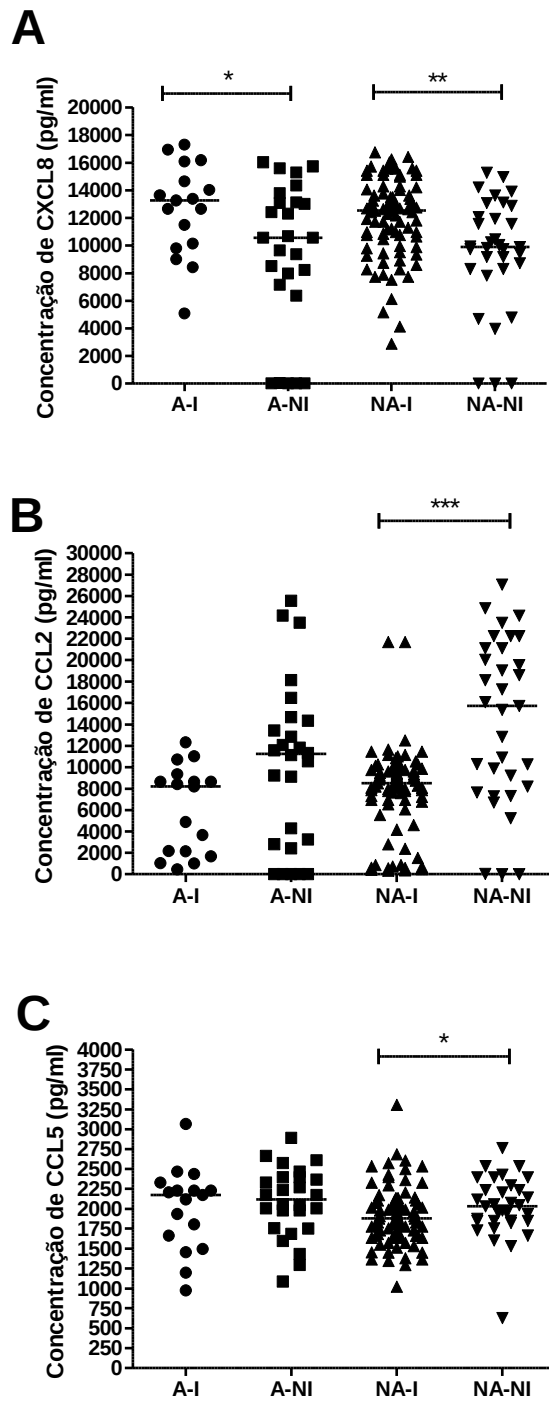


Figura 2: Níveis de quimiocinas CXCL8(A), CCL2(B) e CCL5(C) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de indivíduos alérgicos infectados com *S. mansoni* (A-I), alérgicos e não infectados (A-NI), não alérgicos e infectados com *S. mansoni* (NA-I), e não alérgicos e não infectados NA-NI. Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

Figura 3

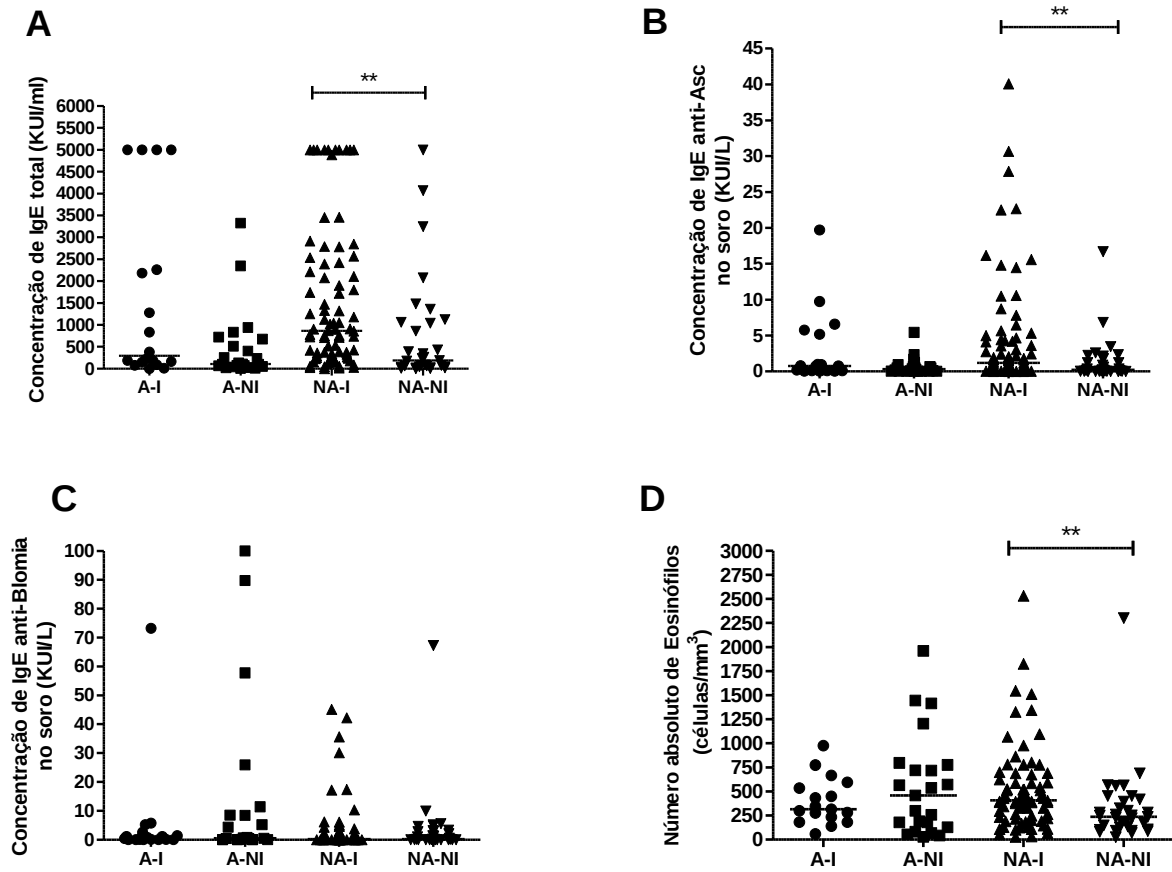


Figura 3: Níveis de IgE Total (A), IgE anti-Asc (B) e IgE anti-Blomia (C) no soro e número absoluto de eosinófilos (D) no sangue total periférico de indivíduos alérgicos infectados com *S. mansoni* (A-I), alérgicos e não infectados (A-NI), não alérgicos e infectados com *S. mansoni* (NA-I), e não alérgicos e não infectados NA-NI. Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney.

* $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M. I. et al. *Schistosoma mansoni* Infection Modulates the Immune Response against Allergic and Auto-immune Diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99(1):27–32.
- BABU, S. K. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) autoregulates its expression and induces adhesion molecule expression in asthma. Clin Immunol. 2011; 140(1):18–25.
- BARTLEY, P. B. et al. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of *Schistosoma japonicum* egg-induced fibrosis. Int J Parasitol. 2006; 36(9):993–1001.
- CARDOSO, L. S. et al. Risk factors for asthma in a helminth endemic area in Bahia, Brazil. J Parasitol Research. 2012; 2012(1):1-8.
- CHO S. H. et al. Increased Interleukin-4, Interleukin-5, and Interferon- γ in Airway CD4⁺ and CD8⁺ T Cells in Atopic Asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2005; 171: 224-30.
- CHUAH, C. et al. Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. Trends in parasitol. 2014; 30(3):141–50.
- COOPER P. J., CHICO M. E., RODRIGUES L. C. et al. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. J Allergy Clin Immunol. 2003; 111(1):995–1000.
- COOPER, A. M. et al. Soluble CD23 Controls IgE Synthesis and Homeostasis in Human B Cell J Immunol. 2012; 188(7):3199–207.
- DI LORENZO, G. Serum levels of total IgE and soluble CD23 in bronchial asthma. Mediators of Inflamm. 1996; 5(1):43-6.
- GRUBEK-JAWORSKA, H. et al. IL-6 and IL-13 in induced sputum of COPD and asthma patients: correlation with respiratory tests. Respiration. 2012; 84(2):101–7.
- IIKURA, M. et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. Lab Invest. 2007; 87(10):971–8.
- MACHURA, E. et al. Expression of naive/memory (CD45RA/CD45RO) markers by peripheral blood CD4⁺ and CD8⁺ T cells in children with asthma. Arch Immunol Ther Exp. 2008; 56(1): 55-62.
- MEDEIROS, M. Jr. et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. J Allergy Clin Immunol. 2003; 111(5): 947-51.
- MEDEIROS, D. et al. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. J Pediatr. 2006; 82(4): 255-59.
- MONCAYO, A.L. et al. Effects of geohelminth infection and age on the associations between allergen-specific IgE, skin test reactivity and wheeze: a case-control study. Clin Exp Allergy. 2012; 43(1): 60-72.

NEDOSZYTKOPEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. *Nat Rev Immunol.* 2002; 2(7):499–511.

OBIHARA, C.C. et al. Respiratory atopic disease, *Ascaris*-immunoglobulin E and tuberculin testing in urban South African children. *Clin Exp Allergy*, 36(5): 640-648, 2006.

PALMQVIST, C.; WARDLAW, A. J.; BRADDING, P. Chemokines and their receptors as potential targets for the treatment of asthma. *British J Pharmacology.* 2007; 151(6): 725–36.

ROMAGNANI, S. Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation. *Mol Immunol.* 2002; 38(2001):881–85.

RUJENI, N. et al. Soluble CD23 levels are inversely associated with atopy and parasite-specific IgE levels but not with polyclonal IgE levels in people exposed to helminth infection. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013; 161(4):333–41.

SILVEIRA-LEMOES, D. et al. High expression of co-stimulatory and adhesion molecules are observed on eosinophils during human *Schistosoma mansoni* infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2006; 101(1):345-351.

SOUZA, F. P. C. et al. Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. *Rev Bras Clin Med.* 2011; 9(1):300-7.

SOUZA, V. M. O. et al. Produção de IL-10 em resposta a aeroalérgenos em crianças e adolescentes de zona urbana com geohelmintíases. *Rev Bras Alergia Imunopatol.* 2009; 32(2):54-58.

STRINA, A. et al. Risk factors for non-atopic asthma/wheeze in children and adolescents: a systematic review. *Emerg Themes Epidemiol.* 2014; 11(5):1–11.

TAKEUCHI, H. et al. High titre of anti-*Ascaris* immunoglobulin E associated with bronchial asthma symptoms in 5-year-old rural Bangladeshi children. *Clan Exp Allergy.* 2007; 38(2):276–82.

VAN DER VLUGT, L. E. P. M. et al. Interleukin 10 (IL-10)-producing CD1d^{hi} regulatory B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines. *J Infect Dis.* 2014; 210(8):1207–16.

VIJAYENDRA C A, et al. CD23, Th1/Th2 cytokines in bronchial asthma, bronchiolitis and bronchial pneumonia in pediatric patients. *Asian J Pharma Clin Research.* 2012; 5(1):111–4.

VIJAYENDRA C A, et al. CD23, Total IgE and Th1/Th2 cytokines in asthma patients. *Int J P P Sciences.* 2012; 4(1):175–7.

YAMAGUCHI, M. et al. Human basophils and cytokines/chemokines. *Allergol Internat.* 2009; 58(1):1–10.

WATANABE, K. et al. T regulatory cell levels decrease in people infected with *Schistosoma mansoni* on effective treatment. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77(4):676–682.

**APÊNDICE C - ARTIGO II - CORRELAÇÃO ENTRE SST2 E CITOCINAS,
QUIMIOKINAS OU IGE NA ESQUISTOSSOMOSE E ALERGIA**

**Correlation between sST2 and cytokines, chemokines or IgE in schistosomiasis and
allergy**

sST2 na esquistossomose e alergia

Cassia Giselle de Oliveira Nóbrega¹, Wheverton Ricardo Correia do Nascimento², Virgínia Maria Barros de Lorena³, Constança Clara Gayoso Simões Barbosa³, Dirceu Solé⁴, Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho⁵, Valdênia Maria Oliveira de Souza⁶.

- 1- Setor de Imunologia, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil;
- 2- Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil;
- 3- Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Brasil;
- 4- Divisão de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia, Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil;
- 5- Centro de Pesquisa em Alergia e Imunologia Clínica, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil;
- 6- Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

Correspondência: Dra. Valdênia Souza
Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA.
Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n. Cidade Universitária.
CEP: 50.670-901. Recife-PE, Brazil.
Email: valdenia.souza@ufpe.br
Tel.: + 55 81 2126 8484 Fax: + 55 81 2126 8485

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 404413/2012.9).

Conflito de Interesses: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

RESUMO

Em indivíduos infectados pelo *Schistosoma mansoni* com ou sem alergia respiratória, apenas alérgicos ou não-infectado/não-alérgico (de acordo com parasitológico de fezes e o questionário ISAAC) foram avaliados os níveis séricos de ST2 solúvel (sST2) e sua influência na produção de citocinas, quimiocinas (células do sangue periférico), IgE total, IgE anti-*Blomia* e IgE anti-*Ascaris* (soro). Os níveis de sST2 não foram diferentes entre grupos, mas estiveram correlacionados com menor produção de IL-6, IL-10 e CXCL5. Contudo, a infecção pelo *S. mansoni* parece modificar a relação entre sST2 e estas moléculas, revertendo a supressão, e pode estar sofrendo influência da IgE anti-Asc.

Palavras chaves: *Schistosoma mansoni*; ST2 solúvel; Citocinas; Quimiocinas.

INTRODUÇÃO

Infecções helmínticas e alergias levam a uma resposta imune Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13 e produção de IgE), porém em indivíduos esquistossomóticos ocorre também a geração de células T regulatórias e produção de IL-10 que atenua o quadro clínico nos pacientes asmáticos e a positividade dos testes cutâneos, com menor produção de IL-5 e IL-4 e maior de IL-10 em resposta aos alérgenos (CARDOSO et al., 2012). O receptor ST2/IL-1R4 está presente em mastócitos, basófilos e eosinófilos (aumentando produção de IL-5 e IL-13), macrófagos e células dendríticas. Foi demonstrado que o tratamento com ST2 solúvel (ST2s) tem ação anti-inflamatória e no soro de indivíduos asmáticos atuou neutralizando a atividade biológica da IL-33, reduzindo o processo inflamatório nas doenças alérgicas (DING et al., 2018; FAGUNDES et al 2007). Na esquistossomose humana, os estudos sobre sST2 são pouco restritos. Variantes genéticas de ST2 estão associadas aos níveis de sST2 em pacientes com esquistossomose. Também foi demonstrado que níveis elevados de ST2 sérico e no tecido e hepático estão associados à esquistossomose em estágio avançado (LONG et al., 2017). No entanto, os níveis de sST2 na esquistossomose e sua relação com as citocinas e quimiocinas envolvidas em um contexto de alergia ainda não foram descritos.

Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar os níveis séricos de ST2s e sua influência na produção de citocinas e quimiocinas por células do sangue periférico de indivíduos infectados pelo *S. mansoni* e/ou com alergia respiratória.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção dos pacientes e formação dos grupos de estudo:

Indivíduos com idade entre 5 a 80 anos, ou responsável, residentes nos municípios de Ilha de Itamaracá, Cabo de Santo Agostinho e Vitória de Santo Antão (Região Metropolitana do Recife), que assinaram o Termo de Consentimento livre esclarecido, responderam o questionário “*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*” (ISAAC) e tiveram as amostras de fezes e sangue colhidas. Após o exame parasitológico (Hoffman, Pons e Janer; Kato-Katz) foram formados quatro grupos (n=10): Alérgicos (segundo a questão “sibilos nos últimos 12 meses” do ISAAC) e Infectados com *S. mansoni* (A-I); Alérgicos e Não Infectados (A-NI); Não Alérgicos e Infectados (NA-I); Não Alérgicos e Não Infectados (NA-NI). O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz (CPqAM/Fiocruz) CAAE: 22822813.3.0000.5190.

Cultura celular e determinação dos níveis das citocinas e quimiocinas

Parte do sangue coletado foi cultivado utilizando meio RPMI adicionado de soro fetal bovino, por 24h. As células foram estimuladas com Phytohaemagglutinin (PHA) (10µg/mL) ou apenas com meio de cultura (sem estímulo) (37°C, CO₂-5%). As Citocinas e quimiocinas foram quantificadas no sobrenadante das culturas pelo *Cytometric Bead Array* (CBA), segundo as instruções do fabricante (BD Biosciences). A detecção das citocinas/quimiocinas com mitógeno foi maior que as condições quando não estimulados (dados não mostrados), por isso foi apresentado apenas os resultados após estimulação mitogênica.

Dosagens séricas

As amostras de plasma coletadas foram utilizadas para dosagens de ST2s, IgE total, IgE anti-Asc e IgE anti-Blomia. ST2s foi mensurado por ELISA, utilizando kits específicos (D3300 e DST200, respectivamente, *R&D Systems*) e os níveis dos anticorpos foram obtidos por ImmunoCAP (*Thermo Scientific*), segundo as instruções do fabricante.

Análise estatística

As medianas entre os grupos foram avaliados utilizando-se o teste de *Kruskal-Wallis* e nos casos em que esta análise se mostrar significativamente diferente ($p < 0,05$), proceder-se-á

a comparação utilizando-se o teste de *Mann-Whitney*. Por fim, foi calculado o coeficiente de correlação linear de Spearman, a fim de verificar a correlação entre o ST2 e as citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α , IFN- γ e IL-17) e quimiocinas (CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10) e anticorpos (IgE total, IgE anti-*Blomia*, IgE anti-*Asc*) investigados. As análises foram realizadas pelo *GraphPad Prism*, versão 5.03.

RESULTADOS

Houve produção de ST2s (ng/ml) em todos pacientes e as medianas (P₂₅-P₇₅) nos grupos foram: AI=7,44 (5,42-13,89); NAI=8,99 (6,34-11,82); ANI=5,52 (4,57-11,12); NANI=8,69 (5,81-15,72), porém sem diferença estatística entre os grupos. Das moléculas estudadas, foi encontrada uma correlação negativa entre ST2s e IL-10, IL-6 e CCL5, além de uma correlação positiva entre o ST2s e a IgE anti-*Asc* (Figura 1A-D). Quando analisadas separadamente, em infectados e não infectados pelo *S. mansoni*, foi observada uma correlação positiva para IgE anti-*Asc* apenas no grupo de infectados (Figura 1H). Com relação à IL-10, IL-6 e CCL5, as correlações deixaram de existir em infectados e se tornaram mais forte no grupo não infectado (Figura 1E-G). Não houve correlação entre as moléculas analisadas em alérgicos e não alérgicos.

DISCUSSÃO

O ST2s foi detectado em todos os grupos estudados, porém o aumento do ST2s foi correlacionado com a diminuição da IL-6, CCL5 e IL-10. Em camundongos, a administração do ST2s, tem suprimido a produção de TNF- α , CCL2 e CXCL1 em diferentes modelos de inflamação (FAGUNDES et al, 2007). De modo interessante, ao analisarmos separadamente, infectados e não infectados, bem como nos alérgicos, as correlações deixam de existir em infectados e alérgicos e tornaram-se mais fortes em indivíduos não infectados. Enquanto que a correlação positiva sST2 e IgE anti-*Asc* foi mantida e maior nos indivíduos apenas infectados.

Desta forma, a modulação causada pelo ST2s não acontece durante a infecção e nas alergias. Esse fenômeno pode ser devido ao fato do aumento do ST2s está correlacionado com o aumento da IgE anti-*Asc* no apenas grupo infectado. A IgE anti-*Asc* já foi descrita como fator de risco para aumento dos níveis de IgE total e eosinofilia. Os mastócitos ativados por IgE mostraram reduzir a produção de IL-12 pelas células dendríticas, conferindo um fenótipo

indutor de Th2. Ainda há evidências de que os mastócitos ativados por IgE suprimem a geração de células T regulatórias e podem desviá-los para um fenótipo Th2 ou Th17. Entre as citocinas produzidas por esses mastócitos, sabe-se que IL-1, IL-4, IL-6 e TNF- α inibem o desenvolvimento e a função das células Treg (OETTGEN, 2016). Sendo assim, a IgE anti-Asc pode favorecer a produção da IL-6 e CCL5 (resposta predominante Th2). Além disso, em indivíduos esquistossomóticos a produção de IL-10 é sustentada pelo estímulo dos antígenos dos ovos (CARDOSO et al., 2012).

Em conclusão, a infecção pelo *S. mansoni* parece modificar a relação entre o sST2 no soro e a produção de IL-6, IL-10 e CXCL5. De fato, a infecção inibiu a supressão dessas moléculas causada pelo sST2 e pode estar sofrendo influência da IgE anti-Asc presente no soro ou por mecanismo ainda não esclarecido. Apesar do pequeno número de pacientes avaliados e das citocinas e quimiocinas terem sido dosadas em sobrenadante de cultura e não diretamente no soro, esses achados servem como base para o estudo do uso de sST2 como um agente imunossupressor, ao mesmo tempo que ressalta a importância de estudar outras moléculas e mecanismos envolvidos na esquistossomose que possa estar influenciando nesse fenômeno.

FIGURAS

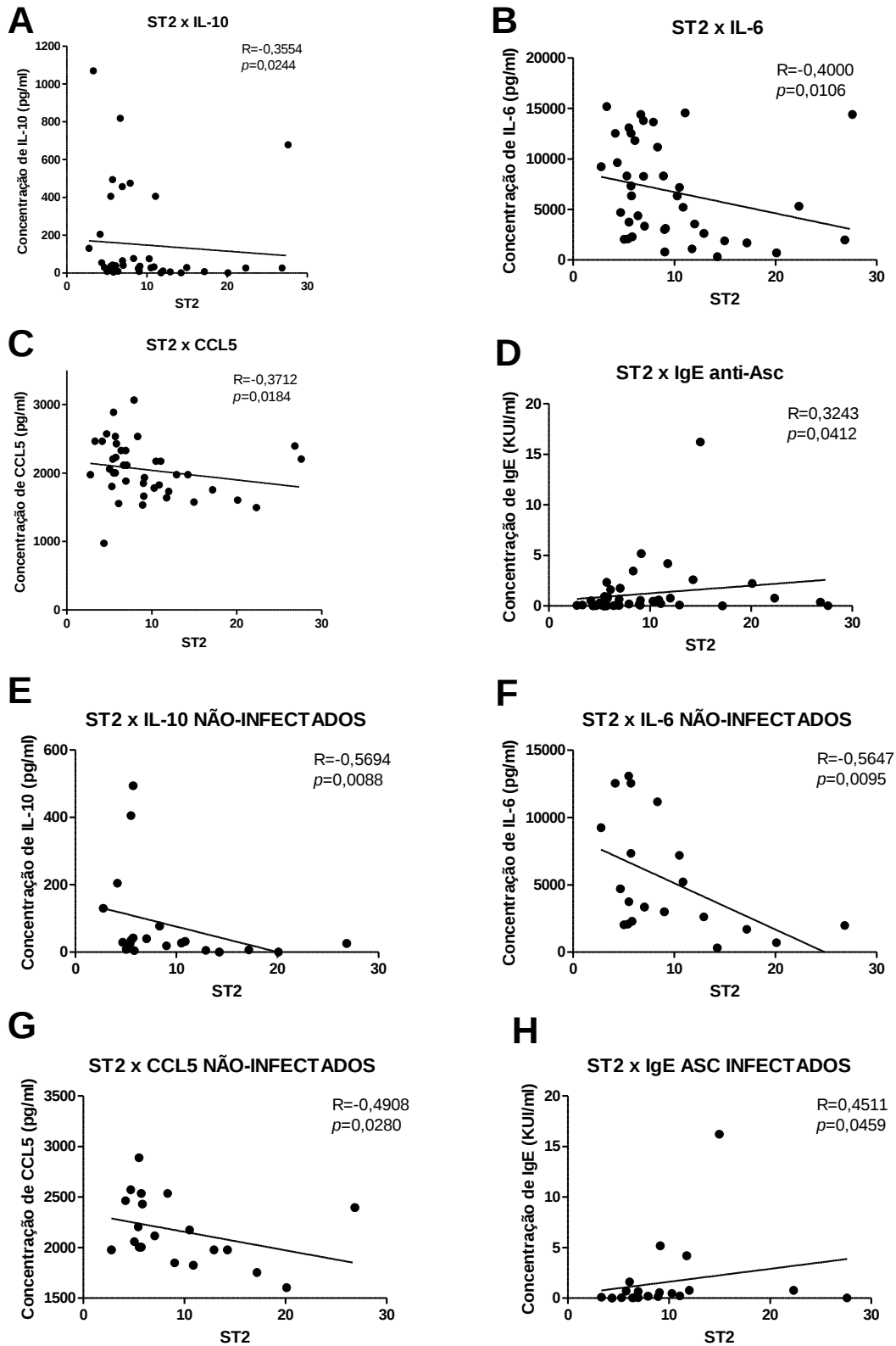


Figura 1: Correlação entre a concentração de sST2 no soro e IL-10, IL-6, CCL5, no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, e IgE anti-Asc.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cardoso LS, Oliveira SC, Araujo MI. *Schistosoma mansoni* antigens as modulators of the allergic inflammatory response in asthma. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2012;12(1):24-32.

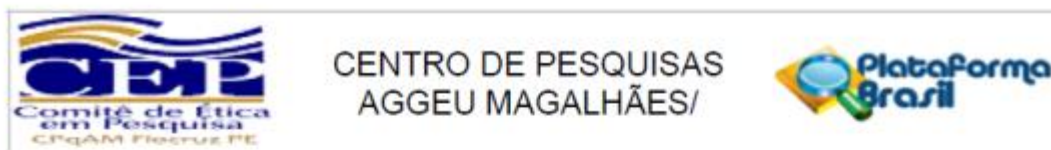
Ding W, Zou GL, Zhang W, Lai XN, Chen HW, Xiong LX. *Molecules*. Interleukin-33: Its Emerging Role in Allergic Diseases. 2018; 23(7):1-16.

Fagundes CT. et al. ST2, an IL-1R family member, attenuates inflammation and lethality after intestinal ischemia and reperfusion. *J Leukoc Biol*. 2007; 81(2):492-9.

Long X, Daya M, Zhao J et al. The role of ST2 and ST2 genetic variants in schistosomiasis. *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 140(5): 1416–1422.

Oettgen HC. Fifty years later: Emerging functions of IgE antibodies in host defense, immune regulation, and allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(6):1631-1645.

ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFECÇÃO ATIVA PELO *S. mansoni* OU GEO-HELMINTOS E SEU EFEITO SOBRE OS NÍVEIS DE IL-33, ST2 SOLÚVEL E QUIMIOCINAS EM PACIENTES COM ASMA ALÉRGICA

Pesquisador: Wheverton Ricardo Correia do Nascimento

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 22822813.3.0000.5190

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 921.916

Data da Relatoria: 09/12/2014

Apresentação do Projeto:

O presente projeto consiste na entrega do relatório parcial do projeto submetido a este CEP e aprovado sob o número 487.942 de 04/12/2013, onde o coordenador solicita inclusão de alterações na metodologia e no prazo de submissão final do mesmo.

O novo projeto submetido, já com as alterações pertinentes, apresenta-se estruturalmente correto e com clara justificativa para as alterações solicitadas.

Objetivo da Pesquisa:

O Objetivo principal da pesquisa é verificar a produção de citocinas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, INF-gama e TNFalfa), a expressão de RNAm de IL-33, ST2 solúvel, quimiocinas (CXCL1, CXCL5, CXCL6, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11 e CXCR2), CD23, IgE e NF-B, bem

como os níveis de sCD23 e citocinas Th2 no soro, em indivíduos infectados com *S.*

mansoni e/ou geohelmintos, e sua associação com a asma, antes e após o tratamento anti-helmíntico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios da pesquisa estão bem descritos ao longo do projeto. E são caracterizados como Benefícios: o paciente terá o tratamento da verminose e será verificado se a parasitose foi

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº		CEP: 50.670-420
Bairro: Cidade Universitária		
UF: PE	Município: RECIFE	
Telefone: (81)2101-2639	Fax: (81)2101-2639	E-mail: comiteetica@cpqam.fiocruz.br



CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES/



Continuação do Parecer: 921.916

eliminada a cada 3 meses (até completar um ano), e serão fornecidas orientações de higiene e métodos para evitar uma nova infecção. No caso dos alérgicos, o tratamento seguirá normalmente junto ao serviço de atendimento básico de saúde, orientado de maneira adequada devido a realização de exames complementares realizados pelo CPqAM/Fiocruz (hemograma, dosagem de anticorpos e teste alérgico cutâneo) que fornecerão subsídios para um tratamento mais adequado ao quadro clínico do paciente alérgico.

E como Riscos: constrangimento, o risco de acontecer hematoma (mancha roxa) no local da retirada de sangue, pápulas provenientes do teste alérgico e ter algum efeito colateral da medicação (náusea, vômitos, diarreia) para vermes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As solicitações solicitadas não necessitam de realizar novas coletas e são as seguintes:

Incluir: quantificação de CD23 solúvel, citocinas Th2, quantificação de mRNA (Cd23, IgE, NFkB) e análises do sangue para quantificação de citocinas.

Ampliar: área de estudo, incluindo os municípios de Vitória de Santo Antão, e Cabo de Santo Agostinho.

Prorrogação da finalização do projeto para mais 1 ano.

Inclusão do TCLE para participação de adultos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto possui Cartas de Anuência de todos os municípios envolvidos (Vitória de Santo Antão, Cabo de Santo Agostinho e Itamaracá), atuais e em papel timbrado. Possui também Cartas de Anuência das Instituições participantes (SRE/Aggeu Magalhães e LIKA/UFPE) atuais e em papel timbrado. Além da anuência da equipe do projeto.

O TCLE para menores de idade permanece o que foi aceito por este CEP no parecer número 487.942 de 04/12/2013. E o TCLE para adultos está presente e inclui todos os aspectos éticos necessários.

O cronograma foi ajustado para a ampliação de um ano e enquadramento das novas metas do trabalho.

O Relatório Parcial apresenta resultados satisfatórios e está formatado corretamente.

Recomendações:

Não há.

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-420

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2101-2639

Fax: (81)2101-2639

E-mail: comiteetica@cpqam.fiocruz.br



**CENTRO DE PESQUISAS
AGGEU MAGALHÃES/**



Continuação do Parecer: 921.916

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O presente projeto encontra-se coerente com relação a seus objetivos propostos, metodologias, relevância científica e prazo de execução, além de cumprir com as exigências legais quanto as condições éticas de realização dos objetivos.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê avaliou e considera que os procedimentos metodológicos do Projeto em questão estão condizentes com a conduta ética que deve nortear pesquisas envolvendo seres humanos, de acordo com o Código de Ética, Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012 e complementares.

RECIFE, 18 de Dezembro de 2014

Assinado por:
Janaina Campos de Miranda
(Coordenador)

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n°
Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.670-420
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)2101-2639 Fax: (81)2101-2639 E-mail: comiteetica@cpqam.fiocruz.br

ANEXO B - QUESTIONÁRIO ISAAC



Centro de Pesquisas
AGGEU MAGALHÃES



FIOCRUZ

Ministério da Saúde

QUESTIONÁRIO ISAAC

ISAAC

Formulário Nº _____ Data: ____/____/____

Nome: _____

Filiação: _____

Endereço: _____ Tel. _____

Data de nascimento: ____/____/____ (chegar cartão) Responsável pela entrevista: _____

Escolaridade Materna: Não estudou () 1º grau incompleto () 1º grau completo ()
2º grau incompleto () 2º grau completo () Superior ()

Renda Familiar: Meio salário mínimo () 1 salário mínimo () 1 a 2 salários mínimos ()
3 a 4 salários mínimos () 5 salários mínimos ou mais ()

História Familiar de Alergia: Mãe: Sim () Não ()
Pai: Sim () Não () Irmãos: Sim () Não ()

Tabagismo Passivo: Alguém fuma dentro de casa: Sim () Não ()

Alimentação Materna: Por quanto tempo seu (sua) filho(a) mamou exclusivo no peito _____ meses

Sexo: Masculino () Feminino () Peso _____ Estatura _____ IMC _____ (kg/m²)

QUESTIONÁRIO 1 (ASMA) _____
(6 a 14 anos)

- Alguma vez na vida seu (sua) filho(a) teve sibilos (cansaço, chiado no peito)?
Sim () Não () Se você respondeu Não, passe para a questão número 6.
- Nos últimos 12 meses, seu (sua) filho (a) teve sibilos (cansaço, chiado no peito)?
Sim () Não ()
- Nos últimos 12 meses, quantas crises de sibilos (cansaço, chiado no peito) seu(sua) filho(a) teve?
Nenhuma crise () 1 a 3 crises () 4 a 12 crises () mais de 12 crises ()
- Nos últimos 12 meses, com que frequência seu (sua) filho (a) teve seu sono perturbado por chiado no peito?
Nunca acordou com chiado () Menos de 1 noite por semana () 1 ou mais noites por semana ()
- Nos últimos 12 meses, seu chiado foi tão forte a ponto de impedir que seu (sua) filho (a) conseguisse dizer mais de 2 palavras entre cada respiração?
Sim () Não ()
- Alguma vez na vida seu (sua) filho (a) teve asma?
Sim () Não ()
- Nos últimos 12 meses, teve chiado no peito após exercícios físicos?
Sim () Não ()
- Nos últimos 12 meses, seu (sua) filho (a) teve tosse seca à noite, sem estar gripado ou com infecção respiratória?
Sim () Não ()



Centro de Pesquisas
AGGEU MAGALHÃES



Ministério da Saúde

QUESTIONÁRIO 2 (Rinite Alérgica) (8 a 14 anos)

Todas as perguntas são sobre problemas que ocorreram quando você não estava gripado ou resfriado

1. Alguma vez na vida seu (sua) filho (a) teve problemas com espirros ou coriza (corrimento nasal), ou obstrução nasal, quando não estava resfriado ou gripado?

☐ Sim ☐ Não

- Se a resposta foi NÃO, passe para a questão 6.

2. Nos últimos 12 (doze) meses, seu (sua) filho (a) teve algum problema com espirros, coriza (corrimento nasal) ou obstrução nasal, quando não estava gripado ou com resfriado?

☐ Sim ☐ Não

- Se a resposta foi NÃO, passe para a questão 6.

3. Nos últimos 12 (doze) meses, esse problema nasal foi acompanhado de lacrimejamento ou coceira nos olhos?

☐ Sim ☐ Não

4. Em qual dos últimos 12 (doze) meses esse problema nasal ocorreu? (Por favor, marque em qual ou quais meses isto ocorreu)

☐ Janeiro	☐ Abril	☐ Julho	☐ Outubro
☐ Fevereiro	☐ Maio	☐ Agosto	☐ Novembro
☐ Março	☐ Junho	☐ Setembro	☐ Dezembro

5. Nos últimos 12 (doze) meses, quantas vezes as atividades diárias do seu (sua) filho (a) foram atrapalhadas por esse problema nasal?

☐ Nada ☐ Um pouco ☐ Moderado ☐ Muito

6. Alguma vez na vida seu (sua) filho (a) teve rinite?

☐ Sim ☐ Não

ANEXO C - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DOS ARTIGOS

O novo artigo foi submetido com sucesso!

Login: valdênia souza Português English Español

**SAGAS**Sistema de Avaliação e Gerenciamento de Artigos
Cadernos de Saúde Pública / Reports in Public Health
[Início](#) | [Autor](#) | [Consultor](#) | [Editor](#) | [Mensagens](#) | [Sair](#)

CSP_0500/19

Arquivos	Versão 1 [Resumo]
Seção	Artigo
Data de submissão	13 de Março de 2019
Título	A infecção pelo <i>Schistosoma mansoni</i> está associada à proteção para alergia respiratória e à diminuição na produção de CCL2 e CCL5
Título corrido	Infecção por <i>S. mansoni</i> protege de alergia e diminui CCL2 e CCL5
Área de Concentração	Imunoparasitologia
Palavras-chave	<i>Schistosoma mansoni</i> , Imunomodulação, CCL2, CCL5, IL-10
Fonte de Financiamento	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (404413/2012.9)
Conflito de Interesse	Nenhum
Condições éticas e legais	No caso de artigos que envolvem pesquisas com seres humanos, foram cumpridos os princípios contidos na Declaração de Helsinki, além de atendida a legislação específica do país no qual a pesquisa foi realizada. No caso de pesquisa envolvendo animais da fauna silvestre e/ou cobaias foram atendidas as legislações pertinentes.
Registro Ensaio Clínico	Nenhum
Sugestão de consultores	Nenhum
Autores	Cassia Giselle de Oliveira Nóbrega (Universidade Federal de Pernambuco) <cassia_giselle@yahoo.com.br> Wheverton Ricardo Correia do Nascimento (Universidade Federal de Pernambuco) <wheverton_ricardo@yahoo.com.br> Patrícia d'Emery Alves Santos (Universidade Federal de Pernambuco) <patty_alves@hotmail.com> Virgínia Maria Barros de Lorena (Universidade Federal de Pernambuco) <lorena@cpqam.fiocruz.br> Viáudia Maria Assis Costa (Universidade Federal de Pernambuco) <viadiaacosta@uol.com.br> Constança Clara Gayoso Simões Barbosa (Universidade Federal de Pernambuco) <constanca.barbosa@gmail.com> Dirceu Solé (Universidade Federal de São Paulo) <sole.dirceu@gmail.com> Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho (Universidade Federal de Pernambuco) <emanuel.sarinho@gmail.com> Valdênia Maria Oliveira de Souza (Universidade Federal de Pernambuco) <valdenia.souza@gmail.com>
STATUS	Com Secretaria Editorial

Revista de Saúde Pública - Manuscript ID RSP-2019-1576

De: Maria do Carmo de Oliveira (onbehalfof@manuscriptcentral.com)

Para: valdenia.souza@gmail.com

Cc: cassia_giselle@yahoo.com.br; wheverton_ricardo@yahoo.com.br; lorena@cpqam.fiocruz.br;
constanca.barbosa@gmail.com; sole.dirceu@gmail.com; emmanuel.sarinho@gmail.com;
valdenia.souza@gmail.com

Data: terça-feira, 12 de março de 2019 15:48 BRT

12-Mar-2019

Dear Dr. de Souza:

Your manuscript entitled "Correlação entre sST2 e citocinas, quimiocinas ou IgE na esquistossomose e alergia" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Revista de Saúde Pública.

Your manuscript ID is RSP-2019-1576.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/rsp-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/rsp-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Revista de Saúde Pública.

Sincerely,
Revista de Saúde Pública Editorial Office