



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MORFOTECNOLOGIA**

CATARINE ARAGONE DE ALBUQUERQUE MELLO

**PERFIL DE CITOCINAS TH1, TH2 E TH17 DE PBMCs DE
INDIVÍDUOS COM ALERGIAS RESPIRATÓRIAS
ESTIMULADAS POR ANTÍGENOS BRUTOS DE *Strongyloides*
*venezuelensis***

Recife

2024

CATARINE ARAGONE DE ALBUQUERQUE MELLO

**PERFIL DE CITOCINAS TH1, TH2 E TH17 DE PBMCs DE
INDIVÍDUOS COM ALERGIAS RESPIRATÓRIAS
ESTIMULADAS POR ANTÍGENOS BRUTOS DE *Strongyloides*
*venezuelensis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre. Área de concentração: Imunologia

Orientador (a): Wheverton Ricardo Correia do Nascimento

Coorientador (a): Elaine Christine de Souza Gomes

Recife

2024

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Mello, Catarine Aragone de Albuquerque

Perfil de citocinas TH1, TH2 E TH17 DE PBMCs de indivíduos com alergias respiratórias estimulada por antígenos brutos de *Strongyloides venezuelensis*. /Catarine Aragone de Albuquerque Mello. – 2024.

93 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Wheverton Ricardo Correia do Nascimento.

Coorientadora: Elaine Christine de Souza Gomes.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, 2024.

Inclui referências e anexos.

1. Alergia. 2. Citocinas. 3. Antígenos de helmintos. I. Nascimento, Wheverton Ricardo Correia do (Orient.). II. Gomes, Elaine Christine de Souza (Coorient.). III. Título.

660.6

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-080



pósMorfotec
Programa de Pós-Graduação
em Morfotecnologia

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE) CENTRO DE

BIOCIÊNCIA (CB)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA (PPGM)¹

CATARINE ARAGONE DE ALBUQUERQUE MELLO

**" PERFIL DE CITOCINAS TH1, TH2 E TH17 DE PBMCs DE INDIVÍDUOS COM
ALERGIAS RESPIRATÓRIAS ESTIMULADAS POR ANTÍGENOS BRUTOS DE
Strongyloides venezuelensis ”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Aprovada em: 28/02/2024.

Dra. LÍVIA ANDRESSA SILVA DO CARMO, Fiocruz – Pe

Examinadora Externa à Instituição

Dra. VLÁUDIA MARIA ASSIS COSTA, UFPE

Examinadora Externa ao Programa

Dr. ANDRÉ DE LIMA AIRES, UFPE

Examinador Interno

Dr. WHEVERTON RICARDO CORREIA DO NASCIMENTO, UFPE

Presidente

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha família pelo imenso suporte e incentivo para prosseguir com minha trajetória acadêmica. Especialmente aos meus pais, Carla e Ronaldo, que sempre se esforçaram para me proporcionar uma boa educação, sempre me estimulando a buscar novos conhecimentos e me manter curiosa. À minha irmã Nátalie, minha inspiração, amiga e confidente, que sempre esteve presente comigo e nunca mediu esforços para me ajudar.

A meu orientador, Dr. Wheverton Nascimento, por me dar a oportunidade de fazer parte da sua pesquisa tão interessante mesmo não tendo tido experiência na área. Por toda dedicação, apoio e ensinamentos, que auxiliaram tanto no meu crescimento pessoal quanto profissional.

À Dra. Elaine Gomes, agradeço pela coorientação e disposição para ajudar no desenvolvimento do trabalho. Por me dar a oportunidade de fazer parte do seu laboratório, com pesquisas em diversas áreas, que antes não tinha conhecimento, e pessoas incríveis.

Aos professores Dra. Virginia Lorena, Dr. André Aires e Dra. Fabiana Martins que também ajudaram no desenvolvimento do trabalho, seja cedendo espaço no laboratório ou material, assim como dando sugestões para melhorá-lo.

À todo o grupo do Laboratório de Referência em Esquistossomose, por todos os aprendizados trocados e a amizade que construímos ao longo do caminho. Especialmente a Eduarda, por participar de perto do trabalho, auxiliando nas coletas e, principalmente, nos muitos problemas que foram aparecendo no desenvolver do trabalho.

A todos os meus amigos, que me acompanharam durante essa jornada. Às minhas amigas de anos Maria Marcela e Maria Eduarda, por estarem sempre presentes. À meu companheiro Gustavo por todo apoio, incentivo e conselhos.

À todo o corpo docente e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia pela contribuição na minha formação acadêmica. Em especial, agradeço também à CAPES pela bolsa de mestrado.

RESUMO

A inter-relação entre alergias e helmintos tem sido pesquisada, visto que, em indivíduos alérgicos e ao mesmo tempo parasitados, pode ocorrer atenuação da resposta inflamatória. A infecção ativa pelo parasita *Strongyloides venezuelensis* e o uso de antígenos deste parasita, em modelos de murino, diminuiu os sintomas decorrentes de doenças inflamatórias, como parasitoses (toxoplasmose), colite aguda e a asma, pela alteração do perfil de citocinas para um perfil regulatório. Não há estudos que investiguem a relação entre uso de antígenos de *S. venezuelensis* e pessoas alérgicas. Assim, este estudo objetiva avaliar a produção de citocinas Th1, Th2 e Th17 a partir da estimulação com o antígeno de *S. venezuelensis* (AgSv) em células de indivíduos com asma e/ou rinite alérgica. Foi realizado estudo transversal, com formação de três grupos: 1) Indivíduos com asma/rinite que foram submetidos a imunoterapia de dessensibilização *in vivo* (AT; n=24); 2) Indivíduos com asma/rinite não tratados com imunoterapia (ANT; n=56); e 3) Indivíduos não alérgicos (NA; n=27). A formação dos grupos utilizou os questionários “International Study of Asthma and Allergies in Childhood” (ISAAC), “Global Initiative for Asthma” (GINA) e “Asthma Control Test” (ACT). Exames clínicos (teste cutâneo) e coleta de sangue para exames laboratoriais (hemograma e IgE total) foram utilizados para comparação entre os grupos. As células mononucleares do sangue periférico (PBMC) foram isoladas e cultivadas sob estímulo de AgSv para comparação dos níveis de citocinas que foram mensuradas por Cytometric Bead Array (CBA) (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN- γ) e ELISA Sandwich (IL-33). Foram coletados dados de 107 voluntários, sem diferença significativa em relação a sexo e idade. Considerando os aspectos sociais e econômicos, foi observado que o grupo AT apresentou maior proporção de familiares com alergia e menos convívio com animais domésticos. Em relação aos dados laboratoriais, foi encontrado maiores níveis de eosinófilos no sangue no grupo AT e de IgE total nos grupos ANT e AT. O teste cutâneo apresentou maior positividade entre os grupos AT (83,33%) e ANT (64,29%) em comparação com o NA (25,93%), com maior prevalência de positividade contra alérgenos de ácaros. Na dosagem do soro, o grupo AT produziu níveis estatisticamente maiores de IL-2 e TNF. Na dosagem de citocinas a partir do sobrenadante da cultura celular, a produção de citocinas por células não estimuladas não mostrou diferença significativa em relação às células estimuladas com AgSv do mesmo grupo, contudo foi possível observar tendências de produção maior (IL-6 e IL-10 em todos os grupos, e IL-33 apenas no grupo NA) e menor (TNF nos grupos NA e AT, e IL-33 nos grupos alérgicos) nas estimuladas pelo antígeno. Os grupos foram ainda subcategorizados (6 grupos) com base na identificação ou não de atopia pelo teste cutâneo para análise do perfil de citocinas. Foram observadas também tendências de maior produção de IL-6 e IL-10 em todos os grupos, assim como de IL-17A em grupos não atópicos. A tendência de menor produção, por sua vez, foi identificada para as citocinas IL-17A (grupos NA e ANT atópicos), IL-33 (grupos ANT e AT atópicos), TNF (grupos NA e ANT atópicos). Portanto, apesar de não ter sido identificadas diferenças significativas, é possível notar que, frente a estimulação com antígeno de *S. venezuelensis*, uma tendência de maior produção em todos os grupos de supressores da resposta inflamatória de perfil Th2, como IL-10, e menor produção de estimuladores da resposta Th1, como IFN- γ , TNF, IL-33 e IL-17A em indivíduos atópicos. Ou seja, a antígeno pode auxiliar na atenuação da resposta inflamatória em indivíduos alérgicos.

Palavras-chave: Alergia; citocinas, antígenos de helmintos

ABSTRACT

The interrelationship between allergies and helminths has been investigated, as in individuals who are both allergic and parasitized, there may be attenuation of the inflammatory response. Active infection with the parasite *Strongyloides venezuelensis* and the use of antigens from this parasite, in murine models, have decreased the symptoms of inflammatory diseases, such as parasitic infections (toxoplasmosis), acute colitis, and asthma, by altering the cytokine profile to a regulatory profile. There are no studies investigating the relationship between the use of *S. venezuelensis* antigens and allergic individuals. Therefore, this study aims to evaluate the production of Th1, Th2, and Th17 cytokines following stimulation with *S. venezuelensis* antigen (AgSv) in cells from individuals with asthma and/or allergic rhinitis. A cross-sectional study was conducted, with the formation of three groups: 1) Individuals with asthma/rhinitis who underwent *in vivo* desensitization immunotherapy (AT; n=24); 2) Individuals with asthma/rhinitis not treated with immunotherapy (ANT; n=56); and 3) Non-allergic individuals (NA; n=27). The formation of the groups used the "International Study of Asthma and Allergies in Childhood" (ISAAC), "Global Initiative for Asthma" (GINA), and "Asthma Control Test" (ACT) questionnaires. Clinical examinations (skin tests) and blood collection for laboratory tests (complete blood count and total IgE) were used for comparison between the groups. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated and cultured under AgSv stimulation for comparison of cytokine levels, which were measured by Cytometric Bead Array (CBA) (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF, and IFN- γ) and sandwich ELISA (IL-33). Data were collected from 107 volunteers, with no significant difference in terms of sex and age. Considering social and economic aspects, it was observed that the AT group had a higher proportion of family members with allergies and less contact with domestic animals. Regarding laboratory data, higher levels of eosinophils in the blood were found in the AT group and of total IgE in the ANT and AT groups. The skin test showed a higher positivity rate among the AT (83.33%) and ANT (64.29%) groups compared to the NA (25.93%) group, with a higher prevalence of positivity against dust mite allergens. In serum testing, the AT group produced statistically higher levels of IL-2 and TNF. In cytokine measurement from cell culture supernatant, the production of cytokines by unstimulated cells showed no significant difference compared to cells stimulated with AgSv from the same group, however, trends of higher production (IL-6 and IL-10 in all groups, and IL-33 only in the NA group) and lower production (TNF in the NA and AT groups, and IL-33 in the allergic groups) were observed in cells stimulated by the antigen. The groups were further subcategorized (6 groups) based on the identification of atopy by skin testing for cytokine profile analysis. Trends were also observed in higher production of IL-6 and IL-10 in all groups, as well as IL-17A in non-atopic groups. The trend of lower production, on the other hand, was identified for the cytokines IL-17A (NA and ANT atopic groups), IL-33 (ANT and AT atopic groups), TNF (NA and ANT atopic groups). Therefore, although no significant differences were identified, it is possible to notice that, in response to stimulation with *S. venezuelensis* antigen, there is a trend of higher production in all groups of suppressors of the Th2 inflammatory response, such as IL-10, and lower production of stimulators of the Th1 response, such as IFN- γ , TNF, IL-33, and IL-17A in allergic individuals. In other words, the antigen may help attenuate the inflammatory response in allergic individuals.

Keywords: Allergy; cytokines, helminth antigens

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS REFERENCIAL TEÓRICO

- Figura 1 – Ciclo de vida de *Strongyloides stercoralis*. 17
- Figura 2 – Esquema geral da resposta imunológica do tipo Th2 frente a interação com parasitas. 21

QUADRO REFERENCIAL TEÓRICO

- Quadro 1 – Condições clínicas e funcionais para o diagnóstico da asma e rinite alérgica. 31

FIGURAS RESULTADOS

- Figura 1 – Perfil da produção de citocinas no soro dos indivíduos dos grupos NA, ANT e AT. 57
- Figura 2 – Perfil da produção de citocinas no soro dos indivíduos dos grupos NA, ANT e AT. 61
- Figura 3 – Produção de IL-33 dos grupos NA, ANT e AT a partir do sobrenadante da cultura celular estimulada apenas com o meio, com o antígeno de *S. venezuelensis* (AgSv) e com fitohemaglutinina (PHA). 63

TABELAS RESULTADOS

- Tabela Suplementar 1 – Proporção dos sintomas de asma, rinite e eczema nos pacientes dos grupos NA, ANT e AT, de acordo com o questionário ISAAC. 51
- Tabela Suplementar 2- Proporção do controle da asma nos pacientes asmáticos dos grupos ANT e AT, de acordo com o questionário GINA e ACT. 52
- Tabela 1 – Descrição dos grupos NA, ANT e AT quanto a sexo, idade, dados sociais, laboratoriais, presença de sintomas e atopia 54
- Tabela 2 – Valores medianos e do intervalo de confiança da produção de citocinas no soro dos indivíduos dos grupos NA, ANT e AT. 56
- Tabela 3 – Medianas e valores do intervalo de confiança da produção das citocinas Th1, Th2 e Th17 nos grupos NA, ANT e AT. 59
- Tabela 4 – Dosagens do perfil de citocinas Th1, Th2 e Th17 da subcategorização de NA, ANT e AT. 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2n	Diploide
3n	Triploide
ACT	Teste de Controle da Asma
ADCC	Citotoxicidade celular dependente de antígenos
CEP	Comitê de Ética
CLR	Receptores de lectina tipo C
CNS	Locus de sequências não codificantes de DNA
CPT	Capacidade pulmonar total
CVF	Capacidade vital forçada
CXCL	“CXC motif chemokine ligant”
DC	Células dendríticas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EET	Armadilhas extracelulares de eosinófilos
FcεRI	Receptor de IgE de alta afinidade
FKH	Domínio forkhead C-terminal
GAN	Global Asthma Network
Gfi-1	Fator de crescimento independente-1
GINA	“Global Initiative for Asthma”
GITR	Fator de crescimento tumoral induzido por glicocorticóide
G-CSF	Fator estimulador de colônias granulocitárias
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
HSP	Proteína de choque térmico
IFN-γ	Interferon gama
Ig	Imunoglobulina
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina 1
IL	Interleucina
ILC2	Células linfóides inatas do grupo 2
ISAAC	“International Study of Asthma and Allergies in Childhood”
iTreg	Tregs induzidas <i>in vitro</i>
LIM-06	Laboratório de Investigação Médica
L1	Larva rabaditóide de primeiro estágio
L3	Larvas filarióides infectantes
LRR	Receptores de repetição rica em leucina
M1	Macrófagos classicamente ativados
M2	Macrófagos ativados alternativamente
MCH	Complexo principal de histocompatibilidade
miRNA	MicroRNA
MMPs	Metaloproteinases
n	Haploide
NLR	Receptores contendo domínio de ligação de nucleotídeos

nTreg	Treg naturais
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PBMC	Células mononucleares do sangue periférico
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
pTreg	Treg induzidas na periferia ou adaptativas
RA	Rinite alérgica
rDNA	DNA recombinante
RNA	Ácido ribonucleico
ST2	Receptor da IL-33
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TGF- β	Fator de transformação do crescimento beta
TLR	Receptores Toll-like
TNF α	Fator de necrose tumoral
Treg	Células T reguladoras
TREM2	Receptor nas células mieloides 2
TSLP	Linfopoietina estromal tímica
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular 1
VEF	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 <i>Strongyloides</i> spp	14
2.1.1 Características gerais do gênero <i>Strongyloides</i>	14
2.1.2 Importância clínica do gênero <i>Strongyloides</i>	15
2.1.2.1 <i>Strongyloides stercoralis</i> : distribuição e ciclo de vida	15
2.1.2.2 Estrongiloidíase	17
2.2 Resposta imune contra parasitas intestinais	20
2.2.1 Resposta imunológica contra <i>Strongyloides stercoralis</i>	26
2.3 Doenças respiratórias alérgicas	28
2.3.1 Resposta imunológica da alergia	29
2.3.2 Diagnóstico e tratamento	30
2.4 Relação entre alergias e helmintos parasitas	33
3. JUSTIFICATIVA	37
4. HIPÓTESE	38
5. OBJETIVO GERAL	39
5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
6. METODOLOGIA	40
6.1 Desenho do Estudo	40
6.1.1 Cálculo amostral	40
6.2 Aspectos éticos	40
6.3 Critério de Inclusão e Exclusão	40
6.4 Seleção dos voluntários e categorização dos grupos de estudo	40
6.5 Obtenção do antígeno de <i>Strongyloides venezuelensis</i> (AgSv)	41
6.6 Metodologia do objetivo 1: Comparar parâmetros clínicos (teste cutâneo) e laboratoriais (hemograma e IgE) entre os grupos	42
6.6.1 Teste cutâneo	42
6.6.2 Coleta de amostras de sangue e realização do hemograma	42
6.6.3 Determinação dos níveis de IgE total	42
6.7 Metodologia do objetivo 2: Descrever a produção basal de citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN- γ no soro	43
6.8 Metodologia do objetivo 3: Mensurar e comparar os níveis das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF e IFN- γ produzidas por células mononucleares do sangue periférico estimuladas com AgSv	43
6.9 Metodologia do objetivo 4: Comparar a produção de citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF e IFN- γ , após estimulação in vitro por AgSv em células mononucleares do sangue periférico, de indivíduos com e sem atopia.	44
6.10 Análises estatísticas	44
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO (ARTIGO)	45
8. CONCLUSÃO	72
9. REFERÊNCIAS	74
ANEXO I	92
ANEXO II	93

1. INTRODUÇÃO

As alergias respiratórias, asma e rinite alérgica, são caracterizadas pela reação de hipersensibilidade tipo I resultante da interação entre alérgenos presentes no ambiente com os anticorpos IgE específicos (Humbert et al., 2019). Essas doenças possuem caráter poligênico e são influenciadas por fatores ambientais, hábitos de vida e condições socioeconômicas (Kabesch e Lauener, 2004; Lowery et al., 2007).

A inter-relação entre alergias respiratórias e parasitoses tem sido foco de diversas pesquisas, visto que, em indivíduos alérgicos e ao mesmo tempo parasitados, pode ocorrer uma atenuação da resposta inflamatória alérgica (Gazzinelli-Guimaraes e Nutman, 2018; Maizels e McSorley, 2016; Sitcharungsi e Sirivichayakul, 2013). Essa resposta imune é mediada pelas células Th2, acarretando na produção de interleucinas IL- 4, IL-5 e IL-13, provocando a elevação de IgE, com expressão de receptores de IgE nos basófilos, mastócitos e produção de eosinófilos (Alcântara-neves et al., 2014; Medeiros et al., 2003).

Dentre as parasitoses, destacam-se os helmintos que podem atuar como supressores das doenças alérgicas e autoimunes através da geração de células T reguladoras e produção de IL-10 capazes de suprimir as respostas Th1 e Th2 (Maizels, 2020; Nascimento et al., 2014; Wilson et al., 2007). O nematódeo *Strongyloides stercoralis* distribui-se pelas regiões tropicais e é o agente causador da estrogiloidíase humana, que acomete até 370 milhões de pessoas ao redor do mundo (Bisoffi et al., 2013; Buonfrate et al., 2020). A infecção por *S. stercoralis* pode ser útil para o tratamento de pacientes com a síndrome do intestino irritável (Sipahi e Baptista, 2017). Isso porque o parasita altera o perfil de citocinas de maneira sistêmica e atenua a resposta inflamatória por indução de células Treg (Aoyama et al., 2007; Malpica et al., 2019; Sipahi e Baptista, 2017). Outro estudo demonstrou que sorologia positiva para *S. stercoralis* parece estar associada ao risco reduzido de desenvolvimento da Diabetes Mellitus tipo 2 em populações aborígenes (Hays et al., 2015). Os poucos estudos sobre relação doenças alérgicas/infecção *S. stercoralis* visam entender o risco para desenvolvimento e gravidade da asma (Leeman e Cabrera, 1995; Leonardi-Bee, Pritchard e Britton, 2006).

Dentro do mesmo gênero, o parasita de ratos, *Strongyloides venezuelensis*, também se destaca por sua capacidade imunomodulatória. Antígenos de *S. stercoralis* são difíceis de obter, por causa da baixa carga parasitária normalmente encontrada em pessoas infectadas e à liberação irregular de larvas nas fezes. Portanto, outras espécies do gênero, como *S. venezuelensis*, podem ser utilizadas como uma fonte heteróloga de antígenos para o

desenvolvimento de ensaios imunológicos (Kalantari et al., 2020). A obtenção de antígeno de *S. venezuelensis* é facilitada, uma vez que a infecção poder ser controlada e mantida em condições de laboratório. Portanto, esses antígenos são mais amplamente utilizadas para estudar a infecção por *Strongyloides* e a imunidade mucosal em modelos animais (Viney; Kikuchi, 2017).

Foi observado que a infecção em ratos por *S. venezuelensis* foi capaz de reduzir os sintomas clínicos e a intensidade da inflamação da colite aguda (Rodrigues et al., 2018). Além da infecção ativa, o uso de antígenos de *S. venezuelensis* também se mostrou eficaz na redução da inflamação. No estudo de Araujo et al., 2020, esse antígeno mostrou efeito protetivo em ratos com toxoplasmose, sendo capaz de mitigar as lesões intestinais e produção de citocinas inflamatórias. Adicionalmente, o uso de proteínas da família S100 de *S. venezuelensis*, em ratos, diminuiu a inflamação de vias aéreas da asma (Tsubowaka et al., 2022).

O trematódeo *Schistosoma mansoni* tem sido investigado por nosso grupo (Nascimento et al., 2018; Teodósio et al., 2015), e por outros (Cardoso et al., 2006; Medeiros et al., 2003), onde verificou-se atenuação da asma alérgica por meio da redução de sintomas e da resposta cutânea aos aeroalérgenos (atopia) em estudos epidemiológicos que avaliaram a infecção ativa. Os mecanismos dessa atenuação parecem envolver a produção e secreção de citocinas regulatórias como IL-10 e TGF- β e estimulação de células T regulatórias capazes de suprimir as respostas Th1 (IFN- γ) e Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13) (Maizels e McSorley, 2016).

Nosso grupo também tem investigado a infecção do nematódeo *Trichuris trichiura* em crianças alérgicas, verificando aumento de IL-10 acompanhada de estimulação de IL-4, IL-6 e TNF (Gonçales et al., 2020). A resposta humoral (IgE e IgG1 específicas) investigada por nós em indivíduos com infecção prévia por *Ascaris lumbricoides* demonstrou que níveis elevados de IgG1 anti-*Ascaris* é fator de proteção associado a níveis mais baixos de neutrófilos. (Nóbrega et al., 2020).

Não há estudos que avaliem a produção de citocinas frente ao estímulo de antígenos de *S. venezuelensis* em pessoas com doenças alérgicas. Antígenos deste nematódeo também poderiam atenuar o efeito inflamatório nas alergias com o envolvimento de células Treg. Portanto, este estudo objetiva avaliar o potencial imunomodulador *in vitro* do antígeno bruto do *Strongyloides venezuelensis*, em células PBMC de indivíduos com asma/ rinite alérgica por meio da produção de citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF- α e IFN- γ).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Strongyloides* spp

2.1.1 Características gerais do gênero *Strongyloides*

Os nematódeos do gênero *Strongyloides* spp pertencem ao filo Nematoda, ordem Rhabditida, superfamília Rhabditoidea e família Strongyloididae (Bavay, 1896). Esse gênero apresenta distribuição cosmopolita e abriga mais de 50 espécies, as quais são parasitas intestinais obrigatórios, principalmente da região do duodeno intestino delgado, de diferentes espécies de mamíferos (homem, ratos, cachorros, gatos, cavalos, etc), aves, répteis e anfíbios (Sandground, 1925; Speare 1989; Olsen et al. 2009; Hasegawa et al. 2010; Thanchomnang et al. 2017). Dentre essas espécies, 10 espécies são encontradas parasitando diversos mamíferos no Brasil: *S. chapini*, *S. ferreirai*, *S. myopotami*, *S. ratti*, *S. venezuelensis* (parasitas de roedores), *S. papillosus* (ruminante), *S. westerni* (cavalo), *S. ransomi* (porco), *S. fulleborni* e *S. stercoralis* (homem) (Vicente et al., 1997).

Diferente de outros parasitas intestinais, as espécies de *Strongyloides* apresenta um ciclo de vida peculiar, com fase parasitária e de vida livre. Essas duas fases apresentam variação morfológica, como pode ser observado na Figura 1 (Page, Judd, Bradburry, 2018). Na geração parasitária, a larva filarióide, a forma infectante, apresenta o corpo radialmente constricto, no qual a região anterior pode ou não possuir cápsula bucal, com um esôfago longo e estreito (filariforme) ocupando metade do corpo da larva, e a região posterior é alargada, com presença de uma cauda pontiaguda tripartida (Vicente et al., 1997; Viney, Lok, 2015). A fêmea partenogênica, que fica localizada na região intestinal do hospedeiro, pode apresentar de 2 a 5mm de comprimento, coma cauda arredondada, esofago filariforme (ocupando $\frac{1}{3}$ do corpo) e ovário didelfo que se abre na vulva (Vicente et al., 1997; Viney, Lok, 2015). Essas fêmeas são consideradas ovíparas ou ovovivíparas (Bhumbla et al., 2020).

Os ovos liberados por essas fêmeas possuem um envoltório fino, compreendendo aproximadamente 50-58 μm de comprimento por 30-34 μm de largura, e em seu interior são encontradas larvas rhabditóides (L1), de primeiro estágio (Grove, 1996; Inês, 2016; Moraes, 1948). A extremidade da L1 anterior contém uma cápsula oral curta e um esôfago do tipo rhabditóide, que ocupa 35% do comprimento total do corpo, dividido em três partes: corpo cilíndrico anterior, istmo estreito (envolvido por um anel nervoso) e bulbo piriforme, este último é contínuo ao canal intestinal que desemboca no ânus, localizado na região posterior que termina abruptamente (Cimerman; Cimerman, 2005; Gonzáles- Honra, Iglesias-Osores, 2017;

Teixeira;Sampaio, 1997). Na extremidade posterior do corpo, que é filiforme, encontra-se o primórdio genital em forma de meia lua (González-Honra, Iglesias-Osores, 2017).

As formas de vida livre (macho e fêmea) possuem semelhanças morfológicas como: tamanho aproximado de 1mm de comprimento, esôfago rabditóide com válvulas e cavidade bucal curta. A fêmea é mais larga que o macho, possui na sua região posterior uma cauda com ponta afilada, e vulva na região posterior da metade do corpo. Assim como a fêmea partenogenética, possui ovário didelfo e é ovípara. Os machos, por sua vez, possuem cauda que termina em ponta, poucas papilas subventrais pré e pós-anais;gubernáculo e espículos iguais, mas não possuem asas caudais (Vicente et al., 1997; Viney, Lok, 2015).

2.1.2 Importância clínica do gênero *Strongyloides*

2.1.2.1 *Strongyloides stercoralis*: distribuição e ciclo de vida

Dentro do gênero *Strongyloides*, apenas duas espécies conseguem parasitar o homem, *Strongyloides stercoralis* e *S. fuelleborni*. A primeira é a mais encontrada infectando o homem ao redor do mundo, enquanto que infecções envolvendo a última ocorreram apenas em regiões restritas da África, sudeste da Ásia e Oceania (Hasegawa et al. 2010; Olsen et al. 2009; Thanchomnang et al. 2017).

O ciclo de vida de *S. stercoralis*, como mencionado para o gênero, é particular, uma vez que apresenta reprodução sexuada, apenas em vida livre, e reprodução por partenogênese dentro do hospedeiro (Figura 1) (Page, Judd, Bradburry, 2018). Além disso, o ciclo é duplo, sendo um direto ou homogônico, o qual necessita do hospedeiro humano, e o outro indireto ou heterogônico ou de vida livre, que acontece apenas no solo (Laignier, 2011). Isso ocorre pelo fato que as fêmeas partenogenéticas são triplóides (3n) e assim podem formar três diferentes tipos de ovos, sendo estes: larvas rabditóides triplóides (3n), larvas rabditóides diplóides (2n) e larvas rabditóides haplóides (n) (Neves, 2016). A primeira, é responsável por completar o ciclo direto, visto que evoluem para larvas filarióides infectantes (Neves, 2016). As duas últimas, por sua vez, completam o ciclo indireto, sendo que originam fêmeas e machos de vida livre, respectivamente (Neves, 2016).

Em ambas as fases, as condições do solo impactam a progressão do ciclo. Em condições desfavoráveis, como baixas temperaturas, o ciclo é retardado ou as larvas rabditóides, liberadas nas fezes, morrem mais rapidamente (Laignier, 2011). Contudo, condições favoráveis estimulam o desenvolvimento dessas larvas, sendo essa temperatura ambiente entre 20 a 30°,

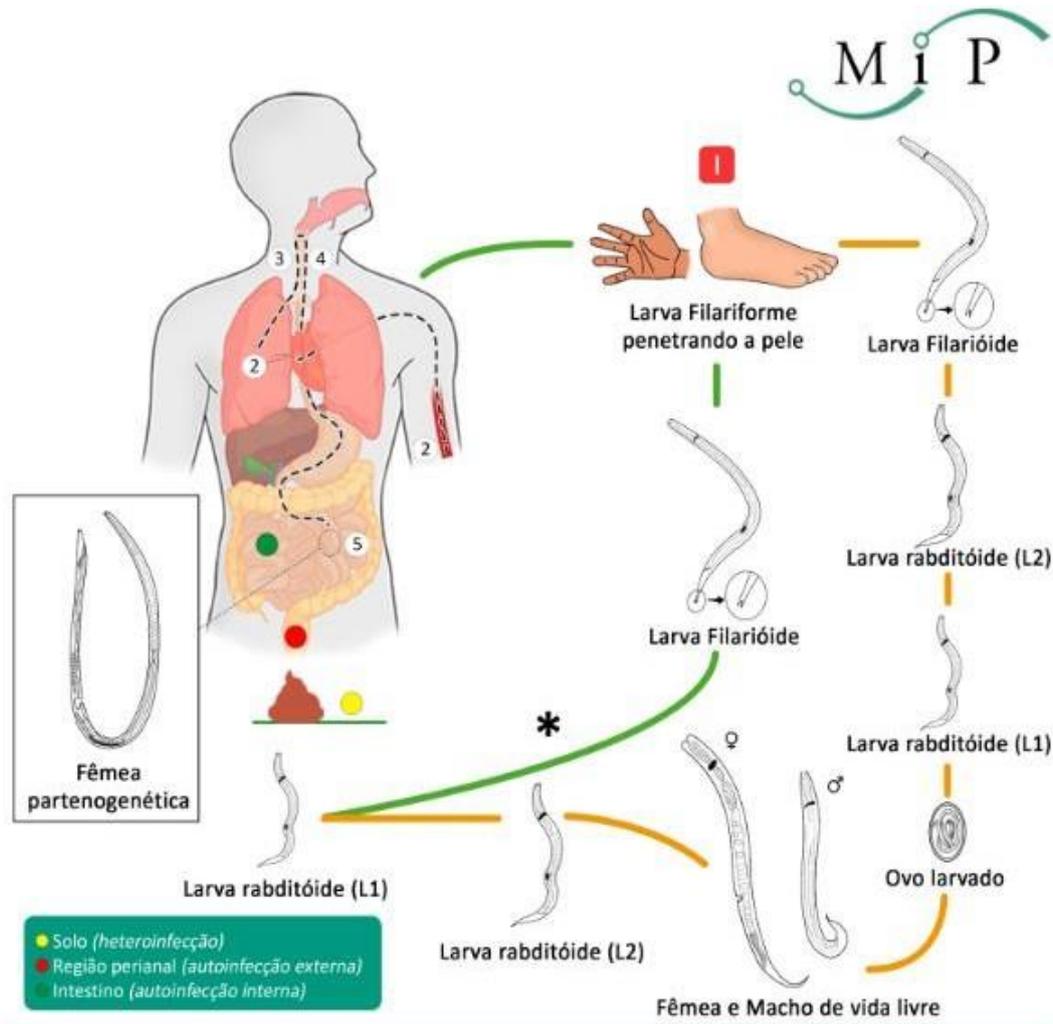
presença de altas umidades, ausência de luz solar direta e solo arenoso argiloso e rico em matéria orgânica, ou seja, características típicas de ambientes subtropicais e tropicais (Keiser, Nutman, 2004; Laignier, 2011).

No ciclo direto, as larvas rabditóides se transformam em larvas filarióides infectantes, após o período entre 24 a 48 horas (Albarqui et al., 2016). Essa forma não consegue se alimentar, se sustentando, sobre a superfície do solo, com dependência de glicogênio, por até três semanas (Laignier, 2011). Ao encontrar o hospedeiro, as larvas o penetram transcutâneamente, com auxílio de ação mecânica e químicas (metaloproteases, como as astacinas) (Neves, 2016; Pomari et al., 2022). Com auxílio de proteases, a larva entra para a circulação venosa, migra para o lado direito do coração e depois para o pulmão (Greaves et al., 2013, Page, Judd, Bradburry, 2018). No ciclo pulmonar ou ciclo de Loss, essas larvas movem do bronquíolo para a traqueia, pelo seu transporte passivo juntamente com as secreções bronquiais (Carada-Bravo, 2022; Neves, 2016). Ao ser posteriormente expectorado para a faringe, podem ser expelidas ou deglutidas (Laignier, 2011). No intestino delgado, desenvolve-se em fêmea adulta, a qual se reproduz assexualmente, e libera ovos no trato gastrointestinal (Greaves et al., 2013). Os ovos eclodem em sua forma não infectante (rabditóide) logo após a sua postura, ainda nas criptas duodenais, e por isso é difícil encontrar ovos em fezes de infectados (Laignier, 2011). Adicionalmente, alguns autores suportam a ideia de que o parasito é ovovivíparo, ou seja, conseguem liberar as larvas ainda em seu interior (Bhumbla et al., 2020). O período que se leva desde a penetração da larva filariforme na pele até a eliminação e eclosão dos ovos é de 15 a 25 dias (Neves, 2016).

Esse processo de migração pelo hospedeiro pode não ser o único possível. Um estudo com cachorros, observou que as larvas podem migrar aleatoriamente pelas vísceras e outros tecidos de forma direta para o duodeno, sendo considerado uma grande parte do ciclo infeccioso do parasito. Portanto, há a possibilidade que esse mecanismo possa acontecer com outros hospedeiros, mas ainda não há comprovação na literatura (Page, Judd, Bradburry, 2018).

No ciclo indireto, as larvas rabditóides livres podem se desenvolver em vermes adultos fêmeas ou machos que irão se reproduzir sexualmente, formando larvas rabditóides, ou podem se transformar em larvas filariformes e continuar com o ciclo direto (Greaves et al., 2013).

Figura 1: Ciclo de vida de *Strongyloides stercoralis*.



(1) As larvas filarioides infectantes penetram a pele e iniciam a infecção. (2) A larva entra para a circulação venosa e migra para o pulmão (3) No ciclo pulmonar ou ciclo de Loss, essas larvas movem do bronquíolo para a traqueia (4) Ao ser expectorado para a faringe, as larvas são deglutidas (5) No intestino delgado, larvas filarioides se tornam adultas (fêmea partenogenética). As fêmeas adultas depositam ovos na mucosa intestinal, que posteriormente eclodem e migram para o lúmen. As larvas rhabditóides que saíram do ovo podem realizar a autoinfecção ou ser excretadas no solo. No solo, se desenvolvem em vermes adultos de vida livre. As fêmeas de vida livre produzem ovos que irão gerar larvas rhabditóides de vida livre que, posteriormente, se desenvolvem em larvas filarioides infectantes. Fonte: Adaptado do Atlas Virtual de Parasitologia da Universidade Federal Fluminense

2.1.2.2 Estrongiloidíase

A estrongiloidíase humana é uma infecção intestinal causada pelo helminto *Strongyloides stercoralis* transmitida pelo contato com o solo. Alguns estudos apontam que essa doença atinge entre 30 a 100 milhões de pessoas, mas análises mais recentes inferem que esse

número é ainda maior, podendo chegar a 370 milhões de indivíduos ou até mesmo a 613 milhões (Buonfrate et al., 2020). Ocorre principalmente em regiões tropicais e subtropicais, mas também é encontrada em regiões temperadas. Os locais mais afetados são a Região Sudeste da Ásia, seguida pela Região do Pacífico Ocidental e a África, as quais combinadas representam 76% do total de infectados mundialmente (Buonfrate et al., 2020). Áreas que apresentam uma alta desigualdade social, com aglomerações, falta de infraestrutura sanitária contribuem para o desenvolvimento da infecção (Digiulio, 2019; Keiser, Nutman, 2004).

No Brasil, a estrogiloidíase é uma doença de alta relevância na saúde pública, devido às condições da região que facilitam a transmissão (quente, úmida e, dependendo da região, condições precárias de saneamento básico). Devido também a possibilidade da doença originar formas graves de hiperinfecção e disseminação, podendo até evoluir para óbito, a estrogiloidíase se destaca como uma doença tropical em condições de negligenciamento, sendo considerado um problema grave tanto no âmbito da saúde como no social (Paula, Costa-Cruz, 2011).

A estrogiloidíase é transmitida por três formas: heteroinfecção, autoinfecção interna ou externa. A heteroinfecção consiste principalmente na penetração da larva filarióide infectante na pele do hospedeiro, com auxílio químico de metaloproteases, as quais também facilitam a migração das larvas através dos tecidos. As larvas também podem penetrar através das mucosas oral, esofágica e gástrica (De Bona e Basso, 2008).

A autoinfecção interna ocorre quando os ovos das fêmeas partenogênicas eclodem dentro do trato gastrointestinal, e portanto, larvas em desenvolvimento atingem o estágio infectante ainda dentro do hospedeiro (De Bona e Bossa, 2008; Nutman, 2017). Na autoinfecção externa, por outro lado, as larvas rabditóides que se encontram na região perianal podem evoluir para larva filarióide e penetrar na pele a partir dessa região (De Bona e Bossa, 2008). Dessa forma, o ciclo de autoinfecção permite que a larva filariforme consiga completar um novo ciclo dentro de um mesmo hospedeiro, se transformando em fêmeas partenogênicas, as quais irão viver no intestino e produzir as futuras gerações (Page, Judd, Bradburry, 2018; Vasquez-Rios, et al., 2019).

Esse fenômeno de autoinfecção é um fenômeno distinto encontrado no ciclo de vida de *Strongyloides stercoralis*, sendo um mecanismo que permite que o parasito consiga sobreviver décadas dentro do hospedeiro, podendo chegar até a 65 anos (Leighton, 1990). Por isso, considera-se que o reservatório da doença seja pessoas infectadas ao invés do solo, implicando

que o tratamento de pessoas infectadas auxilia na quebra do ciclo de vida do nematódeo (Page, Judd, Bradbury, 2018).

Alguns estudos ainda sugerem a possibilidade de transmissão vertical por via transmamária (Shoop et al., 2002; De liberato et al., 2022). Nesses estudos, os alvos do estudo foram cães, nos quais filhotes (não contaminados) apenas se alimentavam do leite da mãe (contaminada) em um ambiente controlado e ao final do experimento, se observou que os filhotes também estavam infectados, contudo não foi detectada larva L3 no leite sendo necessário mais análises para comprovar esse tipo de transmissão. Em outras espécies do gênero, essa rota de transmissão já foi detectada em *S. westeri*, *S. ransomi*, *S. papillosus* e *S. fuelleborni* (Abbas et al., 2021; Brown et al., 1977; Nwaorgu et al., 1990; Stewart et al., 1976)

A infecção resultante, pode ocasionar três diferentes quadros clínicos, nos quais o paciente é assintomático, ou apresentar sintomas leves (oligossintomático) e recorrentes ou pode desenvolver sintomas severos e até mesmo fatais (Digulio, 2019; Greaves et al., 2013). Inicialmente, o paciente infectado pode desenvolver uma irritação na pele, no local onde houve a penetração da larva filarióide. Nos casos de autoinfecção, o paciente com larva *currens*, pode desenvolver uma erupção cutânea de coloração avermelhada acompanhada de prurido (coceira) e/ou ardência, e padrão de movimento linear e serpiginosa, a qual pode ocasionar uma resposta alérgica ou de hipersensibilidade (Digulio, 2019; Greaves et al., 2013; Harris, Hotez, 2019). Em pacientes assintomáticos crônicos é comum observar quadros de eosinofilia, ou seja, com contagem maior de eosinófilos que o normal (>500 células/mm³). Indivíduos com quadros leves vão apresentar, após duas semanas da penetração da larva filarióide, sintomas gastrointestinais (inchaço, azia, vômitos, desconforto abdominal), os quais podem se agravar, ocasionando enterite catarral (hipersecreção de muco), edematosa (edema na submucosa do intestino) ou ulcerativa (edema, fibrose, atrofia e úlcera na mucosa intestinal); respiratórios (tosse seca ou produtiva, irritação na garganta, rouquidão, sangramentos, bruxismo, etc.); dermatológicos (coceira e irritação na pele) e constitucionais (febre, anemia, má nutrição, fraqueza, mialgia, etc.) (Amorim et al., 2021; Digulio, 2019; Greaves et al., 2013).

Indivíduos imunossuprimidos, seja por condições médicas pré-existente ou por uso de tratamentos com imunossupressivos, tais como medicações contendo corticosteróides, podem desenvolver quadros de hiperinfecção ou de disseminação, que apresenta taxa de mortalidade entre 80 e 90% (Digulio, 2019). Na hiperinfecção, ocorre um aumento na carga parasitária nos locais envolvidos no ciclo de vida do parasito, nesses casos, os sintomas são mais acentuados,

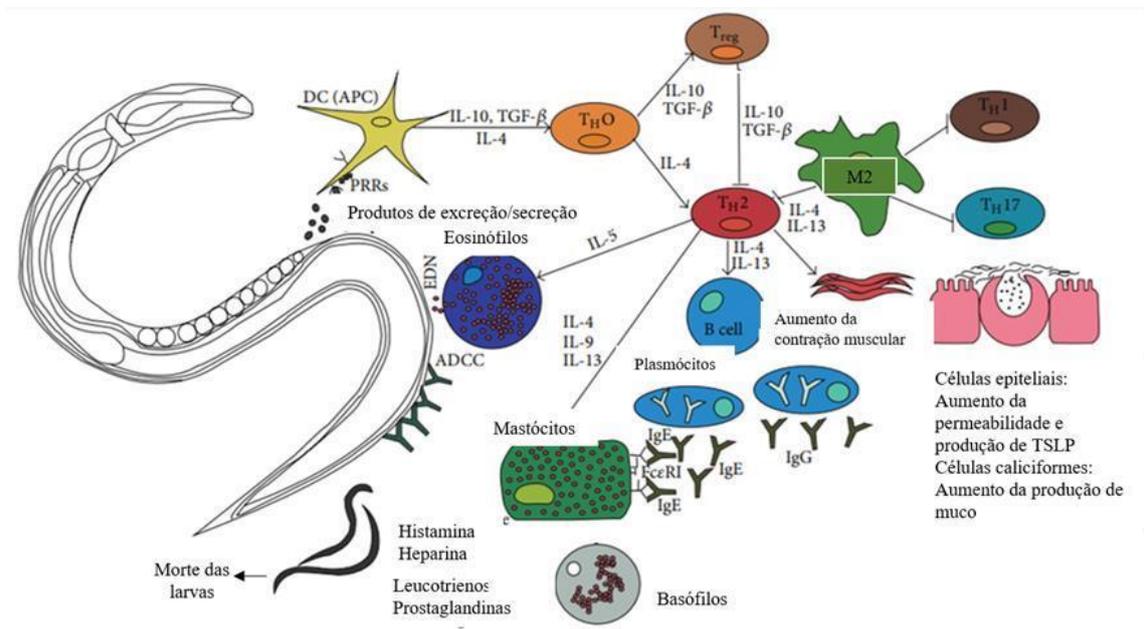
como distúrbios gastrointestinais (diarréia persistente, dor abdominal, vômitos, sangramento intestinal, peritonite), os quais podem progredir para íleo paralítico, ou seja, parada temporária do peristaltismo intestinal. Além de distúrbios respiratórios, como pneumonite, hemoptise, insuficiência respiratória (Buonfrate et al., 2015; Camargo et al., 2018; Centers for Disease Control and Prevention, 2018; Greaves et al., 2013; World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, 2018). Na estrogiloidíase disseminada, há uma disfunção dos órgãos devido à migração do parasita para locais atípicos do seu ciclo de vida, como fígado, rim ou sistema nervoso central, podendo assim ocasionar meningite, encefalite, bem como sepse e falência múltipla de órgãos (Camargo et al., 2018; Digulio, 2019; Kassalik, 2011).

A identificação da larva de *S. stercoralis* e diagnóstico pode ser realizado principalmente por métodos imunológicos, moleculares e parasitológicos e o tratamento é realizado com a ingestão de albendazol, pois esse medicamento demonstra ser efetivo contra o verme adulto e a forma larval, com limitações quanto aos parasitas em estágios intestinais, além de acarretar em poucos efeitos colaterais para a maioria dos pacientes (Nutman, 2017; Camargo et al., 2018; World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, 2018). É relevante ressaltar, a necessidade de conceder ao paciente medidas adjuntas apropriadas, como o uso de antibióticos, caso ocorra uma infecção bacteriana secundária, e suportes ventilatórios (Camargo et al., 2018).

2.2 Resposta imune contra parasitas intestinais.

O hospedeiro irá reagir contra a infecção de helmintos parasitas através da resposta Th2, visto que são macropatógenos e, portanto, não conseguem ser fagocitados (Ditgen et al., 2014, Motran et al., 2018). A resposta Th2 contribuirá com a expulsão do parasita, assim como pelo controle da inflamação patológica (Anthony et al., 2007). De modo geral (Figura 2), os produtos liberados pelos helmintos servirão de base para a ativação e modulação da resposta imunológica, que será polarizada para o tipo Th2, que pode ser caracterizada pela ação coordenada de células inatas e adaptativas, as quais irão produzir citocinas do tipo 2, como as interleucinas (IL): IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. Nos tecidos, essas irão estimular a hiperplasia de células caliciformes, com o intuito de aumentar a produção de muco, aumentar a contração muscular, assim como auxiliar na renovação das células epiteliais, para dificultar a locomoção do parasita e diminuir os danos teciduais causados pela movimentação dos vermes (Hammad, Lambrecht 2015; Harris, Loke 2017; Web Wojno, 2017).

Figura 2: Esquema geral da resposta imunológica do tipo Th2 frente a interação com parasitas.



Os produtos liberados pelos helmintos ativam e modulam a resposta imunológica, levando a uma resposta do tipo Th2. Isso envolve a produção de citocinas, como IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13, que estimulam a produção de muco, contração muscular e renovação celular nos tecidos. Essas respostas visam dificultar a locomoção do parasita e reduzir os danos aos tecidos. Fonte: Adaptado de Dittgen et al., 2014.

Os helmintos, principalmente os intestinais, são expostos primeiramente às células epiteliais (Sorobetea et al., 2018). Quando há danos nessas células, são liberadas citocinas alarminas, como a IL-25, IL-33 e linfopoiatina estromal tímica (TSLP). Além das células epiteliais secretoras, mastócitos, células dendríticas (DCs), basófilos e eosinófilos também podem liberar essas citocinas (Gerbe et al., 2016; Howitt et al., 2016). Essas citocinas irão ativar, recrutar e auxiliar na proliferação de diferentes células imunes inatas, como eosinófilos, mastócitos, basófilos e células linfóides inatas do grupo 2 (ILC2), as quais irão produzir as citocinas da resposta Th2, ocasionando uma infiltração de eosinófilos e produção de IgE (Kany, Vollrath; Relja, 2019; Oyebola et al., 2020; Schmitzet al., 2005). Por exemplo, na infecção por *Nippostrongylus brasiliensis* e *Heligmosomoides polygyrus*, em ratos, a liberação de IL-25 ativou ILC2 (Scheider et al., 2018).

Contudo, o mecanismo de atuação exato dessas citocinas sobre a ativação de granulócitos ainda não é bem elucidado. A IL-33, por exemplo, durante a infecção de *Angiostrongylus cantonensis*, sua expressão estava correlacionada com o aumento da expressão

de IL-5, IL-13 e eosinófilos. Além disso, o aumento da expressão de IL-33 estava associado com o desenvolvimento da patogenia da parasitose (Du, et al., 2013).

Emcontrapartida, na infecção por *Schistosoma mansoni*, a expressão do RNA mensageiro de IL-33 e seu receptor (ST2) não foi correlacionado com o aumento da produção de eosinófilos (Nascimento, 2022). Além disso, IL-33 apresentou uma relação inversa com quimiocitocinas antifibróticas como CXCL9 e CXCL10, sugerindo que essa citocina pode servir no controle sistêmico da patogenia da doença (Nascimento, 2022).

As citocinas e alarminas liberadas pelas células epiteliais irão atuar também sobre as células dendríticas, as quais funcionam como mediadores entre a resposta imune inata e adaptativa. As DCs irão reconhecer, capturar e processar os antígenos liberados pelos helmintos tanto na fase adulta, quanto na liberação de ovos e deposição de larvas (Hewitson et al., 2011; White et al., 2012). Esse processo é permitido pela presença de diferentes receptores nas membranas de células efectoras, como receptores Toll-like (TLR), receptores de lectina tipo C (CLRs), receptores de repetição rica em leucina (LRR) e receptores contendo domínio de ligação de nucleotídeos (NLRs), que reconhecem diferentes patógenos e padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) conservados. Por exemplo, o receptor TLR2 reconhece um antígeno lipídico contendo fosfatidilserina de *S. mansoni*, enquanto TLR4 reconhece a glicoproteína ES-62 de *Wuchereria bancrofti* (Goodridge et al., 2005; Thomas et al., 2013). Após o processamento, esses antígenos são apresentados para as células TCD4⁺ virgens nos linfonodos, promovendo assim uma polarização da resposta para o tipo Th2 através da ativação de GATA3 e expressão de IL-4 (Oyebola et al., 2020). A apresentação dos antígenos é permitida pela expressão do complexo principal de histocompatibilidade 2 (MHC II) e co-estimulação entre os receptores CD40 e OX40L (Lundie et al., 2016; MacDonald et al., 2002; Phythian-Adams et al., 2010; Sher et al., 2003; Smith et al., 2012). Outras células inatas apresentam MHC II e moléculas de co-estimulação, como eosinófilos, basófilos e ILC2, portanto, também podem funcionar como apresentadoras de antígenos para células T (Halim et al., 2018; Oliphant et al., 2014). Por fim, vale ressaltar que a modulação das DCs para estimular a resposta Th2 e consequentemente bloquear a Th1 (que normalmente induz a liberação de IL-2, interferon- γ /Th17 (que produz IL-17 e IL-22) depende da liberação de antígenos do parasito, assim como sua interação com as alarminas derivadas das células epiteliais (Motran et al., 2017).

As células TCD4⁺ polarizadas retornam ao tecido parasitado, ativam as células imunes inatas pela produção das citocinas IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 (Oyebola et al., 2020). A IL-4 atua

principalmente na ativação alternativa de macrófagos assim como na troca de isotópos dos anticorpos para o IgE. A IL-5 e IL-9 ativam e proliferam eosinófilos e mastócitos, respectivamente. A IL-13, juntamente a IL-4, age no epitélio ocasionando a hiperplasia e renovação celular, liberação de muco, contração e permeabilidade do intestino, com a intenção de promover a expulsão do parasita (Oyebola et al., 2020).

Os macrófagos ativados alternativamente (M2) terão como função o reparo dos danos causados pela migração dos parasitas pelo tecido. M2 é caracterizado por seus marcadores como IL-4R α , CD206 e arginase-1, assim como por seus produtos metabólicos como ureia e prolina (Kreider et al., 2002). Geralmente nas infecções (*S. mansoni*, *Brugia malayi*, *Ascaris suum*, *Trichinella spiralis*, entre outros) M2 é recrutado no tecido parasitado após alguns dias da infecção, onde produzem as proteínas Ym1 e Fizz, as quais estão envolvidas no processo de deposição de matriz extracelular, portanto atuam na cicatrização dos tecidos, através do estímulo a síntese de actina e colágeno (Chang et al., 2001; Liu et al., 2004; Sun et al., 2001). Além disso, M2 promove os níveis de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), metaloproteinases (MMPs), fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), assim como estimula a expressão do receptor nas células mieloides 2 (TREM2). Estimulam também a proliferação dos fibroblastos, promovendo assim a fibrogênese e produção de colágeno (Motran et al., 2018).

Os mastócitos são células inflamatórias que, durante a infecção, liberam de seus grânulos proteases, proteínas inflamatórias (histamina, prostaglandina e fator de necrose tumoral- TNF α) e citocinas (IL-4 e IL-13), na superfície do corpo parasito, a partir da ativação de seu receptor de IgE (receptor de alta afinidade - Fc ϵ RI) (Lee, Lee, 2005, Wilson et al., 2004). Na ausência de mastócitos durante a infecção por *Heligmosomoides polygyrus* e *Trichuris muris*, observou-se uma deficiência na produção das alarminas IL-25, IL-33 e TSLP, portanto, fica evidente o papel crucial dos mastócitos nas respostas mais iniciais da infecção por helmintos (Hepworth et al., 2012). Contudo, sua importância na eliminação de helmintos pode ser menor, como observado para alguns parasitas como *T. muris* e *Nippostrongylus brasiliensis* (Cadman, Lawrence, 2010).

Os neutrófilos, como acontece na maioria dos processos inflamatórios, são o primeiro grupo de células a ser recrutado, e estão associados com a resistência e danos ao parasito, como foi observado para *Strongyloides stercoralis* (Galioto et al., 2006). Os basófilos são fontes

de IL-4, assim como conseguem liberar outros mediadores inflamatórios, como leucotrienos, prostaglandinas e histamina, os quais auxiliam no fluxo do conteúdo intestinal (Atinobu et al., 2005).

Os eosinófilos representam 40% das células nos locais de infecção ativos (Reimert et al., 2006). A produção dessas células medula óssea é estimulada por IL-5 e sua deslocação para os tecidos é auxiliado pela ligação das quimiocinas eotaxina-1, -2 e -3 no seu receptor CCR3 (Conroy et al., 2001). Sua ativação ocorre por vários mecanismos: estímulo de citocinas (IL-3, IL-5, GM-CSF, TNF, IFN- γ e PAF), exposição a derivados dos parasitas e interação com IgE na superfície do parasito (Culley et al., 2000; Martin et al., 2000). Após sua ativação, com o intuito de matar o parasita, liberam seletivamente mediadores e produtos citotóxicos que ficam armazenados em seus grânulos, como proteína básica principal, neurotoxina derivada de eosinófilos, proteína catiônica eosinofílica e peroxidase eosinofílica, citocinas, quimiocinas, leucotrienos, cristais de Charcot Leyden e intermediários reativos de oxigênio (Mitre, Klion, 2021). Adicionalmente, também podem liberar armadilhas extracelulares de eosinófilos (EETs), que reduzem a motilidade e aumenta a eliminação de parasitas, como foi encontrado para as microfilárias *de Litomosoides sigmodontis* e *Dirofilaria immitis* (Ehrens et al., 2021). Entretanto, devido a grande variedade de parasitoses, também se é observado diferenças na atuação dos eosinófilos no combate da infecção. Mitre et al. (2021) separou as atuações em: 1) garantia de proteção na infecção secundária, mas não primária, exemplo: *Trichinella spiralis*; 2) garantia de proteção na infecção primária, mas não secundária, exemplo: *H. polygyrus*; 3) garantia de proteção na infecção primária e secundária, exemplo: *Ascaris suum*, *N. brasiliensis*, *Strongyloides* sp., e *Angiostrongylus cantonensis*; 4) não ter efeito ou limitar a infecção, exemplo: *L. sigmodontis*.

Portanto, a morte dos parasitos ocorre por meio da citotoxicidade celular dependente de antígenos (ADCC). Os linfócitos B são estimulados pela liberação de IL-4 a realizar a troca de isótopos para IgE, que irá recobrir a superfície dos parasitas e será reconhecido pelos receptores de eosinófilos. Ao se encontrar com IgE, os eosinófilos irão desgranular e eliminar o parasita, apresentando maior sucesso se o parasito estiver na forma evolutiva de larva (Lange et al., 1994; Rotman et al., 1996). Outras células já foram observadas realizando ADCC, como macrófagos, em casos de infecção por *Fascicula hepática* (Capron et al., 1975; Kassis et al., 1979), neutrófilos, em casos de esquistossomose (Dean et al., 1974; Hsu et al., 1977), e células do pulmão, em infecções por *T. spiralis* (Falduto et al., 2015).

Para tentar evitar sua morte, os parasitas desenvolveram diversos mecanismos para escapar do sistema imune (Fattah, 1986). Por exemplo, a atividade eosinófila pode ser suprimida, como na infecção por *N. americanus* na qual se é observado a clivagem da quimiocina eotaxina, assim como na infecção por *L. sigmodontis* pela regulação negativa de receptores de anticorpos (Evans et al., 2015). Outro exemplo seria o mimetismo molecular realizado pelos vermes adultos, através da absorção e disposição em toda sua superfície de componentes do próprio hospedeiro, como colesterol (Babu e Nutman, 2019). Em fases mais crônicas da doença, o helminto pode induzir uma resposta regulatória pela ativação de células T, B, DCs regulatórias, assim como liberação de citocinas imunomodulatórias como IL-10 e TGF- β (Babu, Nutman, 2019, Finlay et al., 2014; Everts et al., 2010).

A tolerância a autoantígenos e antígenos ambientais inofensivos é mantida pelas células T reguladoras (Treg). Essas células apresentam forte ligação com a infecção crônica, sendo assintomática ou hiporresponsiva (Maizels, McSorley, 2016). As células Treg podem ser divididas em três diferentes subtipos: 1) Treg naturais (nTreg), as quais representam aquelas originadas no timo nos estágios iniciais do desenvolvimento das células T que, posteriormente, migram para os tecidos periféricos. Apresentam altos níveis dos receptores CD25, CD69, Foxp3, CTLA-4, TNF, GITR (fator de crescimento tumoral induzido por glicocorticóide), entre outros. 2) Treg induzidas na periferia ou adaptativas (iTreg ou pTreg), as quais são originadas de células TCD4⁺ maduras após estímulos nos órgãos linfóides secundários (Pandiyani et al., 2007). Apresentam expressão estável de Foxp3 (Shevach et al., 2009). 3) Tregs induzidas *in vitro* (iTreg) que são desenvolvidas no cultivo de células Treg por meio da presença de citocinas, com TGF- β pelo cultivo adjacente a células tronco mesenquimais (Schianato et al., 2017).

A homeostase entre inflamação e regulação pode ser exemplificada pela cisticercose, causada pelos cistos de *Taenia solium*, na qual o quadro disseminado da doença, apresenta maior imunomodulação, com produção aumentada de IL-10, diminuição das citocinas das células Th1 e Th2 e aumento de células Treg, as quais em humanos expressam o fator de transcrição Foxp3 mais numeroso (Nash, Garcia, 2011, Verma et al., 2011; Tuero et al., 2015). Como consequência, a imunomodulação ocasiona a disseminação do parasita e a falta desta, ocasionando convulsões e morte (Nash, Garcia, 2011).

Em infecções filariais, níveis de Treg diminuídos foram relacionados com o surgimento de patologias como elefantíase e oncocercose hiperreativa, apoiando a ideia que essas células

mantêm a tolerância e previne a patologia das infecções (Babu et al., 2009; Katawa et al., 2015; Metenou et al., 2010). Adicionalmente, nas infecções causadas por nematódeos transmitidos pelo solo, esse perfil de Treg é encontrado, com produção de citocinas imunossupressoras, como IL-10 e TGF- β , e interações de superfície celular através de CTLA-4 e PD1 (Figueiredo et al., 2010; Dolo et al., 2013; Satoguina et al., 2005). Esse perfil é relacionado com a troca de um isotipo de pró-alérgico/inflamatório IgE para IgG4 não inflamatória, sendo Foxp3–Tr1 a fonte predominante de IL-10 (Satoguina et al., 2005). Ao realizar o tratamento de pacientes, observou-se em declínios acentuados nos níveis circulantes de IgG4, mostrando assim que os parasitas tentam favorecer esse isotipo (Grogan et al., 1996).

2.2.1 Resposta imunológica contra *Strongyloides stercoralis*

A resposta imune contra *Strongyloides stercoralis*, assim como nas outras infecções por helmintos, é predominantemente uma resposta Th2. A resposta Th1 é regulada negativamente para prevenir danos exacerbados dos tecidos durante a infecção (Anuradha, 2015). Os antígenos de *Strongyloides stercoralis* nos tecidos ativam os eosinófilos e induzem a expressão do complexo maior de histocompatibilidade de classe II (MHC II em camundongos e HLA em humanos) e moléculas co-estimulatórias de células T (Iriemenam et al., 2010; Padigel et al., 2016). Em ratos, sem expressão de MCH II nos eosinófilos, foi observado falha na indução na resposta, evidenciando seu papel como apresentador de antígeno (Padigel et al., 2007). Posteriormente, essas células estimulam uma resposta específica das outras células inatas e apresentam antígenos para induzir respostas Th2, evidenciando assim que é fundamental para a transição entre as respostas imunes inata e adaptativa (Padigel et al., 2007).

Essa resposta específica é dependente de células TCD4+ polarizadas para uma resposta Th2, com produção das citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 e supressão de IFN- γ (resposta Th1) (Bonne et al., 2011). A citocina IL-5 age na produção de IgA e é essencial na diferenciação, ativação e expansão de eosinófilos (Iriemenam et al., 2010; Montes et al., 2009). A citocina IL-4 atua em conjunto com a IL-3 na ativação dos basófilos. Em associação com a IL-13, ativa alternativamente o macrófago (o que auxilia no reparo dos danos causados pela ação mecânica do parasita), promove a contração da musculatura lisa, aumenta o fluxo intestinal, diminui a transformação de larvas rabaditóides em larvas infectantes, assim como induz a troca de classe para o anticorpo IgE e a produção de IL-10 e TGF- β (Allen et al., 2014; McSorley et al., 2019).

A IL-13 e a IL-10 e conjunto inibem a liberação de citocinas pró-inflamatórias que podem causar o aumento da patologia (Gause et al., 2013). A IL-10 e TGF- β , por sua vez,

promovem a tolerância imunológica, ou seja, auxiliam na manutenção dos parasitas por longos períodos no corpo do hospedeiro, assim promovendo infecções crônicas (McSorley et al., 2019). Assim, como encontrado em outros helmintos, existe uma relação entre o parasito e o sistema imunológico do hospedeiro, pela modulação negativa da resposta, que permite que o helminto consiga sobreviver por muito tempo dentro do trato gastrointestinal do hospedeiro (Montes et al., 2009; Ramanathan et al. 2008; Nabha et al., 2012). Contudo, as alterações no sistema imune (diabetes, uso de drogas imunossupressoras como corticosteróides em doença autoimune que aumenta a reprodução das fêmeas partenogênicas, transplante de órgãos e HTLV-1, etc), como perda da função dos granulócitos, produção de anticorpos ou liberação de citocinas de resposta Th2, podem levar os pacientes à síndrome de hiperinfecção e disseminação (Le et al., 2014; Roxby et al., 2009).

Além dos eosinófilos, a proteção contra a larva infectante de *Strongyloides stercoralis* depende de anticorpos, ativação do sistema complemento e neutrófilos em respostas do tipo ADCC (Iriemenam et al., 2010). Em camundongos, IgM pode induzir imunidade contra as larvas L3 de forma dependente do sistema complemento e de granulócitos (incluindo os neutrófilos), mas não depende de ADCC, em contrapartida IgG em altas concentrações depende do ADCC (Ligas et al., 2003). Ou seja, tanto o IgG quanto o IgM conseguem proteger contra larvas, mas reconhecem diferentes antígenos e usam diferentes mecanismos para eliminar o parasito (Ligas et al., 2003).

Em relação aos níveis de anticorpos, IgG, responsável pela resposta local e sistêmica, é positivado na segunda semana de infecção e permanece nesse estado por um período longo de tempo mesmo após a cura terapêutica. IgM apresenta um pico na primeira semana após a infecção, mantendo-se presente até entre 2 a 3 semanas (Neves, 2016). Em casos mais graves da doença é comum encontrar níveis mais baixos de IgM, IgG e IgA que em casos leves, assim como os níveis de eosinófilos mais baixos, mostrando assim seu papel na prevenção do desenvolvimento da doença (Iriemenam et al., 2010). Em pacientes crônicos, aproximadamente 75%, observou-se um quadro de eosinofilia, além de níveis altos de IgE (Montes et al., 2009; Ramanathan et al., 2008).

No ciclo de Loss, as larvas de *S. strongyloides* geram um infiltrado difuso de células imunes, principalmente de eosinófilos, que levam a hiperplasia de células caliciformes e maior produção de muco, o que causa os sintomas respiratórios da doença, mais conhecido como Síndrome de Loeffler (Craig, Scott, 2014).

2.3 Doenças respiratórias alérgicas

As doenças alérgicas respiratórias, como a asma e rinite alérgica, surgem a partir da interação entre alérgenos ambientais (antígenos presentes no ambiente, como ácaros, pelos e penas de animais, baratas, fungos) com a pele e mucosas nasais e bucais (Galvão;Castro, 2005). Essas doenças podem ser caracterizadas como reação de hipersensibilidade tipo I ou imediata, por serem mediadas pelos anticorpos do tipo IgE específicos, assim como pela diferenciação dos linfócitos Th0 para o fenótipo Th2 (Galvão; Castro, 2005; Holgate, 2012)

A asma é uma doença respiratória crônica multifatorial que atinge 300 milhões de indivíduos em todo o mundo, com prevalência variando de 1,6% a 36,8% (Galvão; Castro,2005). No Brasil, essa doença é de grande interesse na saúde pública, apresenta prevalência entre 10,1 a 32,2% e taxa de incidência de hospitalização pelo Sistema Único de Saúde variando entre 10,1 a 4,56 entre os anos 2008 e 2018 (Ramos et al., 2021; Lima et al., 2022). Os sintomas mais comuns encontrados nos pacientes são inflamação das vias aéreas, obstrução do fluxo do ar e hiperresponsividade brônquica, o que induz a episódios de sibilância (chiado no peito), dispneia (sensação de falta de ar), tosse e sensação de aperto no peito (Holgate, 2012; Wheatley et al., 2015). A asma pode ser classificada em diferentes fenótipos de acordo com a célula inflamatória predominante na secreção ou no sangue, podendo ser eosinofílica, neutrofílica, granulocítica mista e paucigranulocítica (Green et al., 2002; Simpson et al., 2006).

A rinite alérgica é caracterizada pelo desenvolvimento de uma inflamação da mucosa de revestimento nasal, o que gera congestão nasal, coriza hialina (secreção nasal transparente), espirros em salva (muitos espirros em sequência) e prurido (coceira) (Galvão; Castro, 2005, Johansson et al., 2004; Beard, 2014). A rinite, segundo a prevalência dos alérgenos durante as diferentes estações do ano, pode ser classificada como sazonal, caso o alérgeno seja encontrado no ambiente em estações específicas, como o pólen, ou como perene, se o alérgeno permanecer no ambiente durante todo o ano, como os ácaros. Contudo, os alérgenos sazonais, se conseguirem se fixar no ambiente, como tapetes, roupas de cama e cortinas, podem também se comportar como os alérgenos perenes. Por isso, a ARIA (*Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*) propôs uma classificação baseada na duração e gravidade da rinite. De acordo com a duração, a rinite pode ser intermitente ou persistente, caso os sintomas estejam presentes por menos ou mais de 4 dias na semana, respectivamente. Em relação a gravidade, pode ser leve (desempenho diário não afetado pelos sintomas) ou grave-moderada (desempenho diário afetado pela presença de sintomas não toleráveis) (Nunes, 2019).

Entre as doenças respiratórias crônicas, a rinite alérgica é considerada como umas das mais prevalentes, atingindo entre 20 a 25% da população mundial, ocupando o 10º lugar das razões mais regulares de atendimento em centros de Atenção Primária (Ministério da Saúde, 2010). Já no Brasil, a prevalência de sintomas nasais entre crianças e adolescentes atingiu 37,2% (Sakano et al., 2018). Essas doenças alérgicas são capazes de afetar a qualidade de vida dos pacientes, uma vez que essas comprometem seu ciclo de vida social, processo de aprendizado, produtividade, assim como o comprometimento socioeconômico (Alwesaibie et al., 2023). Isso ocorre porque esses podem desenvolver distúrbios do sono, devido à dificuldade de respirar durante a noite, decorrentes de obstrução nasal ou produção de coriza, e conseqüentemente gerar fadiga diurna (Camelo-Nunes, 2010; Sakano et al., 2018).

2.3.1 Resposta imunológica da alergia

Para que o sistema imunológico consiga desenvolver uma resposta é necessário o reconhecimento de um estímulo patogênico. No caso das alergias, para uma resposta mais complexa e efetiva as regiões específicas dos alérgenos, denominadas epítomos, devem ser reconhecidas por linfócitos imaturos T e B (Calzada et al., 2018).

A resposta alérgica tem uma fase aguda e outra tardia. A fase aguda dura desde poucos minutos até duas horas após o contato com alérgeno. Os alérgenos, como ácaros de poeira, pêlos de animais, baratas, bolores e pólenes (Dullaers et al., 2012), ao interagir com o epitélio, medeiam a liberação de alarminas como TSLP, IL-33 e IL-25 (Locksley et al., 2010). As células dendríticas, células apresentadoras de antígenos, reconhecem os antígenos através dos seus receptores MCH II e, posteriormente, estimuladas por TSLP, migram para os linfonodos e apresentam-os para os linfócitos T imaturos. Essa apresentação, induz a maturação e amplificação dos linfócitos Th2 secretores de interleucina IL-4 (Calzada et al., 2018; Locksley et al., 2010).

As principais citocinas envolvidas na resposta alérgica são IL-4, IL-5 e IL-13. A produção de IL-5 e IL-13 é mais estimulada pelas ILC-2, a partir de alarminas (IL-25) e mediadores inflamatórios (prostaglandinas e leucotrienos) (Meiler et al., 2008; Tojima et al., 2019; Qin et al., 2020), o que resulta em uma maior amplificação da resposta (Calzada et al., 2018). Adicionalmente, essas células atuam em linfócitos B, promovendo a troca de classe da imunoglobulina para IgE, a qual consegue se ligar aos mastócitos e basófilos através do FcεRI (Calzada et al., 2018). O IgE alérgeno-específico, presente nos mastócitos e basófilos do epitélio nasal, ao se ligar ao alérgeno desencadeia a desgranulação dos mastócitos liberando mediadores

inflamatórios como histamina, triptase, leucotrienos e prostaglandinas D2 (Taylor et al., 1995) o que promove dilatação das artérias, aumento da permeabilidade vascular e aumento da excreção de muco e ingurgitamento de senóides venosos nasais, o que leva a obstrução e congestão nasal (Naclerio et al., 1999).

Na fase tardia (entre 2 a 12 horas após exposição), as células inatas estimuladas por IL-25 e os basófilos produzem IL-4, IL-5 e IL-13 promovem o recrutamento de outras células efetoras, como eosinófilos, macrófagos alternativamente ativados, células Th2 e monócitos (Locksley et al., 2010). A IL-4 e IL-13 promovem a expressão da molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), o que promove ainda mais o recrutamento de eosinófilos (Drazdauskate et al., 2021). Sendo que essas células têm vida prolongada por IL-5 secretada por células TH2, enquanto que os mastócitos têm sua diferenciação ativada pela liberação de IL-9 (Greenfeder et al., 2001; Sehra et al., 2015). Os macrófagos contribuem para a fagocitose do patógeno (Bischoff, 2007; Dullaers et al., 2012). Essa fase prolonga a reação inflamatória causando sintomas de cronicidade (Larche et al., 2006; Soyer et al., 2013).

A regulação da resposta inflamatória, com o intuito de diminuir a inflamação e consequente sintomatologia, é realizada pela liberação das citocinas IL-10, TGF- β e IL-35. (Calzada et al., 2018). A IL-10 é secretada por células T regulatórias, e possui capacidade de inibir a produção de citocinas inflamatórias (Calzada et al., 2018). Pacientes alérgicos possuem menores níveis de IL-10 que pacientes saudáveis, contudo, após tratamento, observou-se que esses níveis foram aumentados, mostrando assim a sua capacidade de diminuir respostas exacerbadas da alergia (Pacciani et al., 2010; Palomares et al., 2010). O TGF- β , por sua vez, regula a homeostase entre as respostas Th1 e Th2 pela estimulação da conversão de células T imaturas em T regulatórias pela estimulação do gene FOXP3 (Gorelik et al., 2002; Heath et al., 2002). Além disso, também consegue inibir a proliferação de macrófagos (M1) e a secreção de anticorpos, assim como bloqueia a expressão de Fc ϵ RI em mastócitos, ou seja, auxilia no reparo de danos dos tecidos danificados (Akdis et al., 2014). A IL-35 é uma citocina descoberta recentemente, que é secretada por células Treg com função anti-inflamatória (Lu et al., 2017; Miyara et al., 2009). Em um estudo, pessoas com asma apresentaram baixa dosagem dessa citocina, mas após imunoterapia esses níveis aumentam assim como os sintomas clínicos (Niedbala et al., 2017).

2.3.2 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico das doenças respiratórias alérgicas deve ser realizado considerando as

condições clínicas e funcionais dos pacientes (Quadro 1). Para confirmação do diagnóstico é necessário identificar a ação do anticorpo IgE específico. Isso pode ser realizado pelo *prick test*, que é caracterizado como um teste cutâneo rápido e de baixo custo, que se baseia na formação de pápulas quando a interação entre o alérgeno e a região volar do paciente, caso esse seja alérgico. Assim como, a dosagem *in vitro* de IgE específica pelos métodos de imunoenaios, a qual apresenta resultados mais específicos que o *prick test*, porém é mais caro e menos sensível (Galvão; Castro, 2005).

Quadro 1: Condições clínicas e funcionais para o diagnóstico da asma e rinite alérgica.

	Asma	Rinite
Condições clínicas	Tosse, sibilância, aperto no peito, desconforto na região torácica, dispneia intermitente	Congestão nasal, corrimento excessivo de muco nasal, espirros e prurido
Condições funcionais	Espirometria alterada (redução do VEF1 e relação VEF1/CVF)	Padrão de sintomas (ex: início e duração, frequência, história familiar).

Fonte: Adaptado de Galvão e Castro, 2005

Uma vez definido o diagnóstico, o tratamento pode ser melhor direcionado. O tratamento para doenças alérgicas visa controlar os sintomas, para prevenir que o fluxo de ar fique limitado, mantendo a função pulmonar adequada para não afetar as atividades diárias. As formas de tratamento realizadas são pelo controle ambiental, terapia farmacológica ou imunoterapia com alérgenos. O controle ambiental se baseia em medidas profiláticas para reduzir a probabilidade de contato com alérgenos respiratórios, como, por exemplo: forrar com capas apropriadas e laváveis travesseiros e camas, aspirar regularmente tapetes e o chão para evitar acúmulo de poeira, não permitir fumo nem entrada de animais na residência (Galvão; Castro, 2005).

Para a farmacoterapia da asma existem dois grupos de tratamentos: controle das exacerbações (β_2 -agonistas de curta duração; metilxantinas; brometo de ipatrópio) e manutenção do tratamento (corticosteróides inalatórios; β_2 -agonistas de longa duração; antagonistas dos leucotrienos; cromonas e teofilina de liberação lenta) (Galvão; Castro, 2005).

Já para a rinite são usados anti-histamínicos, descongestionantes nasais e anti- colinérgicos para redução dos sintomas. Entre as crises alérgicas, são usados estabilizadores de membranas de mastócitos e corticóides nasais ou sistêmicos, contudo,esses últimos, devem ser usados com as menores doses possíveis para minimizar os efeitos colaterais, como insônia, aumento do risco de desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, entre outros (Meng et al., 2019).

A imunoterapia é uma estratégia que administra no paciente alérgico, periodicamente, elementos da resposta imune, seja antígenos ou anticorpos visando o desenvolvimento de uma imunidade ativa e passiva, respectivamente (Silva, 2008; Jutel et al., 2015). Inicialmente, a administração desses elementos, que pode ser realizado pelas vias subcutânea ou sublingual, ocorre com pequenas doses do alérgeno uma ou duas vezes na semana até se atingir a dose de manutenção, após esse período, que leva aproximadamente 3 meses, a dose passa a ser repetida mensalmente por 3 a 5 anos (Galvão; Castro, 2005, Pereira et al., 2021).

A ação da imunoterapia se baseia na indução de células regulatórias, apresentando alterações precoces (que inclui a dessensibilização dos leucócitos granulócitos mastócitos e basófilos, assim como a indução de células T regulatórias), intermediárias (aumento de linfócitos Treg e, conseqüentemente, liberação das citocinas anti-inflamatórias IL-10 e TGF- β) ou tardias (produção de anticorpos IgG4, os quais competem pelos sítios de ligação com o antígeno) (Pereira et al., 2017). Essas reações ocasionam a tolerância contra os alérgenos, evitando a sintomatologia característica da resposta alérgica (Silva, 2008, Casale; Strokes, 2014).

A eficácia desse tratamento se mantém na maioria dos pacientes após a finalização da aplicação dos elementos imunes, possibilitando uma melhora na qualidade de vida dos pacientes, por além de minimizar os sintomas, reduzir a necessidade do uso de fármacos e, conseqüentemente, os efeitos adversos proporcionados pelo uso contínuo dos mesmos (Rosa, 2017). Contudo, esse método também apresenta algumas desvantagens. É um tratamento longo, por isso é mais comum que o paciente interrompa o tratamento, seja por problemas financeiros ou pela falta de compreensão da ação da imunoterapia, pela falta de meios de locomoção para as unidades de saúde, ou por baixa tolerância das reações locais da injeção, com formação de edema (inchaço), eritema (manchas vermelhas) e prurido (Silva, 2008; Rosa, 2017). Além disso, para aqueles que não possuem a sintomatologia controlada, não se é recomendado a imunoterapia (Cohan et al.,2011).

2.4 Relação entre alergias e helmintos parasitas

A alergia compreende a uma resposta inflamatória decorrente do contato com alérgenos ambientais, causada pela atividade de células Th2 as quais estimulam a produção do anticorpo IgE específico ao alérgeno (Lambrecht, Hammad, 2017). A hipótese da higiene sugere que o aumento dos casos de alergias observados, em países de média e alta renda, ocorre devido à falta de exposição das crianças a helmintos e produtos microbianos, mas alguns estudos são conflituosos com essa hipótese (Hagel et al., 2007; Wondemann et al., 2008; van der Biggelaar et al., 2000; van der Werff et al., 2013). Por exemplo, ao mesmo tempo que se verificou que a infecção por *Necator americanus* protege o paciente quanto a asma, já por *Ascaris lumbricoides* agrava a condição alérgica (Leonardi-Bee et al., 2006). A diferença desse resultado pode ser reflexo do tempo e intensidade da infecção, assim como a natureza da alergia (Gazzinelli-Guimaraes, Nutman, 2018).

A parasitose em sua fase aguda e crônica apresentam respostas imunológicas distintas, sendo que na primeira é observado um aumento da resposta inflamatória e na segunda, uma atenuação dessa resposta (Gazzinelli-Guimaraes et al., 2016). O agravamento dos sintomas alérgicos ocorre por causa da polarização da resposta Th2, potencialização da produção de IgE ou indução de uma reação cruzada de IgE, uma vez que alérgenos comuns compartilham semelhanças na sua estrutura com proteínas helmínticas (Caraballo et al., 2011; Fitzsimmons et al., 2009). O maior exemplo de semelhança é observado entre alérgenos e a tropomiosina do parasita (Santiago et al., 2011). A tropomiosina de *Ascaris lumbricoides* reage de forma cruzada com a tropomiosina doméstica da barata ou do ácaro da poeira, sendo que o anticorpo IgE para esse último ainda é responsável pela indução da liberação de histamina pelos basófilos (Sereda et al., 2008). Contudo, 40% das 499 famílias de alérgenos definidas apresentam homologia com genomas de helmintos (Santiago et al., 2012).

Por outro lado, a atenuação é resultado da supressão da resposta Th2 e expansão das células Treg, decorrente do contato com produtos derivados de helmintos (Daniłowicz-Luebert et al., 2011; Mitre et al., 2008; Yazdanbakhsh et al., 2005). Esse mecanismo pode ocorrer por indução da citocina IL-10 pela sinalização de IgE em basófilos, assim como pode ser pela diferenciação para células B reguladoras produtoras de IL-10 (Hussaarts et al., 2011; Metenou et al., 2010). Além disso, as células Treg podem ser potencializadas pela secreção de mimetizadores de TGF- β derivados de parasitas (Gazzinelli-Guimaraes, Nutman, 2018). Em camundongos, a supressão da inflamação é induzida por uma proteína secretada por *H. polygyrys*, devido a sua atividade inibidora da liberação de IL-33, e assim, inibindo a resposta

alérgica (Osbourn et al., 2017).

Os alérgenos também são impedidos de atravessar a barreira epitelial do intestino, devido a camada mucosa protetora e peptídeos antimicrobianos, produzidas pelo microbioma, o qual é estimulado pela citocina IL-22 (Wesemann e Nagler 2016). Portanto, mudanças na composição desse microbioma podem estimular uma inflamação associada a resposta do tipo Th2 quando exposta a alérgenos (McCoy e Koller, 2016). Em um ambiente com exposição crônica do microbioma, é estimulado a formação de células dendríticas reguladoras, que consequentemente, promovem a diferenciação de células Treg (Lambrecht e Hammad, 2017). Em um estudo de infecção crônica por *H. polygyrus*, foi observado alteração nas comunidades bacterianas do intestino, e como resultado obteve-se um aumento na quantidade de liberação de ácidos graxos, os quais suprimiram a inflamação derivada de alergia de ácaros de poeira doméstica (Zaiss et al., 2015).

Consequentemente, tem sido observado na literatura a associação entre a presença de infecção de helmintos e o controle dos sintomas alérgicos. Por exemplo, a presença de antígenos de *Schistosoma mansoni* no sangue de pacientes asmáticos foi associada como aumento da produção de IL-10, principalmente em células CD4⁺CD25⁺ e CD14⁺, redução de IL-5 (quando a célula foi estimulada também por *Derp* 1- antígeno do alérgeno de *Dermatophagoides pteronyssinus*), assim como a menor dosagem sérica de eosinófilose níveis de IgE (Cardoso, 2011). Nóbrega et al. (2021), fazendo análises *in vitro* de pacientes infectados e alérgicos notou um aumento na dosagem de TNF, IL-10, IL-6, IFN- γ e CXCL8, e uma diminuição dos níveis de CCL2, mostrando assim atenuação e desvio das respostas Th2 e Th1, respectivamente. Portanto, os antígenos de *S. mansoni* parecem modular uma resposta inflamatória, atenuando a resposta asmática e, portanto, podem ajudar no desenvolvimento de estratégias para prevenção de doenças alérgicas (Alves et al., 2020; Cardoso 2011; Nobrega, 2021).

Ao se estudar outros parasitas, foi observado que em ratos infectados por *Strongyloides stercoralis* e depois estimulados pelo alérgeno ovalbumina, houve uma resposta IgE deficiente, assim como uma redução da eosinofilia (Wang et al., 2001). Em relação a parasitas do mesmo gênero, a infecção ativa por *S. venezuelensis* em ratos com colite crônica, além de auxiliar na redução da produção de citocinas inflamatórias, como IFN- γ , também aumentou a concentração de citocinas anti-inflamatórias, como TGF- β e IL-22, assim como a expressão de células Treg FOXP3⁺ (Rodrigues et al., 2018, 2021). Como resultado, a inflamação e o encurtamento do cólon foram atenuados e houve o estímulo para reparo da mucosa (Rodrigues

et al., 2021). Em outros gêneros, a infecção por *Trichuris trichiura* em pacientes asmáticos também apresentou esse padrão de ocasionar um aumento da dosagem de IL-10, TNF e IL-6 (Gonçales et al., 2020). A atenuação do risco de asma foi observada também pela presença de anticorpos IgG1 de *Ascaris lumbricoides*, pela diminuição dos níveis de IL-4 e dos neutrófilos, enquanto que o IgE agravou o risco (Nóbrega et al., 2020).

Atualmente, já foram realizados muitos estudos para tentar usar produtos derivados de helmintos como terapêuticos para regular inflamação em casos alérgicos, contudo, foram observados muitos resultados negativos, principalmente quando usado antígenos do helminto *Trichuris suis*, que apresenta uma resposta menos intensa e persistente (Sipahi, Baptista, 2017). Contudo, o uso de outros helmintos, como *Strongyloides sp.* e *S. mansoni*, que apresentam uma maior atividade imunomoduladora, pode apresentar melhores resultados, como já foi observado.

Alves et al (2020) fizeram análises para avaliar a capacidade imunomoduladora de duas proteínas recombinantes de *S. mansoni* (rSm200-3 e rSmKI-1) *in vitro* (cultura de sangue de voluntários alérgicos) e *in vivo* (ratos induzidos a alergia). Nesse trabalho, observou-se que, *in vitro*, as duas proteínas quando estimuladas com alérgenos conseguiam reduzir o perfil de citocinas Th2, enquanto que *in vivo*, essa redução também foi observada, assim como a diminuição da atividade de eosinófilos, fato que foi atribuído, pelos autores, a diminuição dos níveis de IL-5 e não de IL-10.

Pelo uso de proteínas recombinantes de *Strongyloides stercoralis* (rSs14-3-3) em ratos infectados por *S. venezuelensis* observou-se também uma alteração da resposta imune, com maior produção de IL-10, TGF- β , IL-13 e TNF (Sanchez-Palencia et al., 2022). Devido às dificuldades em obter antígenos de *S. stercoralis*, pela baixa e irregular liberação de ovos por indivíduos infectados, outras espécies como *S. venezuelensis* são usadas como fontes alternativas (Kalantari et al., 2020). A infecção por *S. venezuelensis* em ratos pode ser mantida e controlada em laboratórios. Os ratos infectados conseguem excretar ovos e larvas em estágios iniciais da infecção, sendo possível a obtenção de maior número de larvas para preparação de antígenos (Viney; Kikuchi, 2017). Preparações antigênicas de *S. venezuelensis* apresentam similaridades protéicas com *S. stercoralis*, e especialmente de iL3, são eficazes no desenvolvimento de imunoenaios (Machado et al., 2008; Róldan et al., 2021).

A estimulação com antígenos de *S. venezuelensis* em ratos infectados com *Toxoplasma gondii* desenvolveu uma resposta anti-parasitária, observada pela redução da carga parasitária, e anti- inflamatória, pela diminuição da concentração de citocinas inflamatórias acompanhada

da minimização das lesões no intestino. Essas propriedades auxiliaram no aumento da taxa de sobrevivência dos ratos infectados (Araujo et al., 2020). Em ratos, nos quais foram induzidos a asma, o uso desses antígenos auxiliou na redução da infiltração de células inflamatórias no pulmão, assim como diminuiu a concentração de TNF e IL-5, apresentando assim potencial terapêutico para a asma (Tsubakawa, Satoh, 2022).

3. JUSTIFICATIVA

A hipótese da higiene levanta as primeiras relações entre as doenças alérgicas e infecciosas. No Brasil, evidências epidemiológicas indicam que em áreas endêmicas para infecções helmínticas, as doenças alérgicas são menos intensas e há menor positividade dos testes cutâneos. A capacidade imunomoduladora dos helmintos baseia-se na propriedade adaptativa de sobrevivência dos parasitos. Por um lado, existe a resposta imunológica do hospedeiro para controlar a infecção e tentar eliminar o agente invasor. Entretanto, por outro lado, o parasito objetiva alimentar-se, proteger-se e reproduzir-se. Para tal, exerce seu efeito imunomodulador atenuando as respostas inflamatórias por meio da secreção de antígenos que estimulam as células T reguladoras e citocinas antiinflamatórias como IL-10.

As doenças alérgicas, sobretudo a asma, exercem um impacto sobre o sistema de saúde brasileiro. Entre os anos de 2008 e 2013 ocorreu um total de 1.054.184 internamentos representando um custo total de U\$168.433.710,05 (dólares americanos). A região Nordeste apresentou o maior índice no ano de 2010 com 88.090 internações e um custo de U\$ 13.509.808,13 (Cardoso et al., 2017). Com relação a mortalidade, entre os anos de 1980 e 2012 foram notificadas, em média, 2.339 mortes anuais por asma (Brito et al., 2018). Somente entre a população pediátrica e adolescentes (até 19 anos) ocorreram 5.014 óbitos entre 1996 e 2015, sendo mais uma vez a Região Nordeste mais afetada com 1.958 óbitos (39%) (Pitchon et al., 2020). Costa e colaboradores (2018) avaliaram os custos ambulatoriais da asma no estado do Rio de Janeiro e verificaram que o custo médio anual total foi de R\$2.207,99/paciente.

Nossa pesquisa permitirá avaliar se a estimulação com antígenos de *Strongyloides venezuelensis* altera a produção de citocinas em PBMCs de pessoas alérgicas. Em modelos de murino, a infecção por *S. venezuelensis* foi associada a diminuição de sintomas decorrentes de diferentes doenças inflamatórias, como parasitoses (toxoplasmose), colite aguda e a asma, a partir alteração do perfil de citocinas voltada para uma resposta regulatória. Assim, esse estudo servirá como base para o desenvolvimento de um novo produto adjuvante ao tratamento das alergias. A terapêutica convencional baseia-se na utilização de corticoides inalatórios, que podem levar a efeitos adversos e colaterais relacionados ao uso prolongado. Por tanto, o desenvolvimento de novas estratégias pode melhorar a adesão e o controle das doenças alérgicas, proporcionando assim melhor qualidade de vida para os indivíduos alérgicos.

4. HIPÓTESE

A estimulação *in vitro* de células PBMC de indivíduos com alergias respiratórias (asma e/ou rinite alérgica) com antígenos do *Strongyloides venezuelensis* (AgSv) altera a produção de citocinas Th1, Th2 e Th17.

5. OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta imune celular (citocinas de perfil Th1, Th2 e Th17) do hospedeiro induzidas pelos antígenos do *Strongyloides venezuelensis* (AgSv) *in vitro* em células de sangue periférico de indivíduos com alergias respiratórias (asma e/ou rinite alérgica), comparando-se entre tratados *in vivo* com imunoterapia de dessensibilização, não tratados e não alérgicos.

5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Nos três grupos: (1) Indivíduos com alergias respiratórias (asma e/ou rinite alérgica) submetidos a imunoterapia de dessensibilização convencional *in vivo*, (2) Indivíduos alérgicos tratados apenas com corticoides e anti-histamínicos e (3) Indivíduos sem alergias:

- I. Comparar parâmetros clínicos (questionários ISAAC, ACT e GINA e o teste cutâneo) e laboratoriais (hemograma e IgE total);
- II. Descrever a produção basal de citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α e IFN- γ no soro;
- III. Mensurar e comparar os níveis das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF e IFN- γ produzidas após estimulação *in vitro* por AgSv em células mononucleares do sangue periférico;
- IV. Comparar a produção de citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF e IFN- γ , após estimulação *in vitro* por AgSv em células mononucleares do sangue periférico, de indivíduos com e sem atopia.

6. METODOLOGIA

6.1 Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo de corte transversal a partir de uma amostra de conveniência aleatória obtida de alunos dos cursos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) identificados com asma e/ou rinite alérgica para avaliação da modulação *in vitro* do *Strongyloides venezuelensis* em células mononucleares do sangue periférico. A aprovação para realizar a coleta foi obtida através do CEP da UFPE sob o CAAE: 38489220.9.0000.5208 (Anexo I).

6.2 Aspectos éticos

Após aprovação do CEP, os voluntários foram convocados e foram esclarecidos quanto aos objetivos do estudo atual. Após autorizarem a participação através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), foram encaminhados para responder o questionário e coleta de sangue.

6.3 Critério de Inclusão e Exclusão

No presente estudo, foram considerados como critérios de inclusão: 1) idade mínima de 18 anos.

Os fatores considerados como fatores de exclusão da pesquisa foram: 1) voluntários que apresentarem diagnóstico médico de doenças pulmonares crônicas (como fibrose cística, DPOC, bronquite, enfisema, etc.); 2) indivíduos com doenças autoimunes; 3) indivíduos que fizeram uso de corticoides nos últimos 30 dias e anti-histamínicos nos últimos 7 dias.

6.4 Seleção dos voluntários e categorização dos grupos de estudo

Uma amostra obtida de maneira aleatória de voluntários foi convocada para responder o questionário sobre o tratamento, hábitos de vida e sintomas, coleta de amostras de sangue e teste cutâneo de alergia.

Os questionários “International Study of Asthma and Allergies in Childhood” (ISAAC) dos módulos asma e rinite, validados no Brasil (Sole et al., 1998), foram utilizados para categorizar os pacientes em grupos de não alérgicos e alérgicos, bem como para descrição da frequência de sintomas. A categorização dos voluntários em alérgico foi realizada através da resposta afirmativa para a segunda questão do módulo asma (sibilo no último ano), e para a segunda questão do módulo rinite (espirros ou coriza, quando não estava resfriado ou gripado no último ano). Também foi levado em consideração a realização ou não da imunoterapia de

dessensibilização *in vivo*. Assim, foram formados três grupos, um de indivíduos alérgicos e tratados com imunoterapia de dessensibilização para asma (AT; n=24), outro grupo formado por indivíduos alérgicos não tratados (ANT; n=56) outro de não- alérgicos (NA; n=27) para comparação do efeito imunomodulador do antígeno de *Strongyloides venezuelensis*. Adicionalmente, foi levado em consideração o resultado do “*prick test*” para subcategorização em indivíduos atópicos e não atópicos.

O questionário “Asthma Control Test” (ACT, Teste de Controle da Asma) também foi utilizado e compreende cinco questões, que avaliam sinais, sintomas e uso de medicação de resgate nas últimas quatro semanas. Cada questão apresenta uma escala de resposta com pontuação que varia entre 1 e 5, resultando em um escore total do teste entre 5 e 25 pontos. O objetivo é atingir 25 pontos, o que significa o controle total ou a remissão clínica dos sintomas da asma. Um escore entre 20 e 24 pontos indica um controle adequado, e um escore abaixo de 20 significa asma não controlada. O ACT é responsivo às intervenções terapêuticas e é útil para monitorar o controle da asma ao longo do tempo porque gera uma pontuação que pode ser comparada com outros dados (Roxo et al., 2010). O questionário de controle da asma da “Global Initiative for Asthma” (GINA) também foi aplicado.

Realizou-se entrevista pelo avaliador para coleta de dados pessoais (data de nascimento, endereço, telefone de contato), dados sociodemográficos e econômico (sexo, nível de escolaridade, escolaridade do chefe da família, renda familiar média) e relacionados aos hábitos de vida e exposição aos fatores de risco (histórico de alergia familiar, contato com animais de estimação). Para os grupos de indivíduos alérgicos, tratados ou não, foram coletados dados relacionados ao tipo de tratamento para a asma e/ou rinite alérgica (se realiza tratamento, qual o tipo de tratamento, o tempo que é acompanhado por alergologista, quais os tipos de medicamento faz uso).

6.5 Obtenção do antígeno de *Strongyloides venezuelensis* (AgSv)

Os antígenos de *Strongyloides venezuelensis* foram obtidos em parceria com o Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo. Os antígenos foram cedidos pela Profa. Fabiana Martins de Paula do Laboratório de Investigação Médica (LIM-06), Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. Resumidamente, as larvas L3 de *S. venezuelensis*, a partir da técnica de Baermann, foram recuperadas das fezes de ratos Wistar machos infectados. Aproximadamente 200.000 larvas, tratadas com hipoclorito de sódio e água destilada, foram ressuspensas com

Tris-HCl. Posteriormente, a solução foi sonicada e centrifugada. O sobrenadante foi então coletado e armazenado em freezer a -20°C até uso (Gomes et al., 2023).

6.6 Metodologia do objetivo 1: Comparar parâmetros clínicos (questionários ISAAC, ACT e GINA e o teste cutâneo) e laboratoriais (hemograma e IgE) entre os grupos

6.6.1 Teste cutâneo

Os procedimentos de realização do exame e sua importância foram explicados aos voluntários. A superfície volar medial do antebraço foi avaliada para exclusão de lesões dérmicas e realizar-se-á assepsia com álcool a 70%. Os extratos de alérgenos (gota única) foram adicionados ao braço do voluntário utilizando-se o conta-gotas, a uma distância de aproximadamente 2 cm, e, com um PUNTOR® (dispositivo plástico que limita o grau de penetração na pele), foram inoculados na região subcutânea dos pacientes. A leitura foi realizada 15 a 20 minutos após a punctura. O teste cutâneo de leitura imediata para alérgenos inalantes foi composta por: *Dermatophagoides pteronyssimus*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*, *Blatella germanica*, epitélio de gato e cão, mistura de fungos, penas além de controle positivo (histamina 10 mg/mL) e negativo (excipiente) (IPI-ASAC). A detecção de pápula de induração com pelo menos 3 mm em seu diâmetro médio em relação ao controle negativo caracterizará o teste positivo. O resultado positivo para ao menos um dos alérgenos testados permitiu categorizar os indivíduos como atópicos (positivo) para o teste cutâneo.

6.6.2 Coleta de amostras de sangue e realização do hemograma

Realizou-se o método de venopunção da veia cubital para coleta de 27mL de sangue em 2 tubos com heparina (9mL), um com EDTA (4,5mL) e um sem anticoagulante (4,5mL) para realizar a cultura celular, o hemograma e a dosagem sorológica. Após a coleta, o sangue foi levado para um laboratório de análises clínicas e realização do exame e, posteriormente, o resultado foi recolhido e repassado para os voluntários.

O hemograma foi realizado por método automatizado (LH 750 - Beckman Coulter). Os parâmetros de contagem total e diferencial de leucócitos foram utilizados para obter os níveis de eosinófilos.

6.6.3 Determinação dos níveis de IgE total

O exame para a dosagem dos anticorpos IgE totais utilizou o método de referência fluoroenzimaimunoensaio (FEIA), em equipamento ImmunoCAP-Phadia® (Uppsala, Suécia), calibrado com o padrão internacional de referência para IgE da Organização Mundial

de Saúde (OMS) e o resultado foi expresso em UI/mL.

6.7 Metodologia do objetivo 2: Descrever a produção basal de citocinas IL-2,IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN- γ no soro

A coleta de sangue foi realizada em indivíduos selecionados após aplicação do questionário ISAAC (Sole et al., 1998) em estudo prévio. Realizou-se o método de venopunção da veia cubital para coleta de 4,5 mL em tubos sem anticoagulante. Após a coleta, os tubos foram centrifugados a 5000 RPM por 10 minutos para separação do soro, o qual foi utilizado para dosagem das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN- γ . As citocinas foram quantificadas utilizando-se do sistema citofluorométrico com microesferas fluorescentes (Cytometric Bead Array-CBA, Becton Dickinson-BD), que emprega uma mistura de esferas de poliestireno, de intensidades de fluorescência discretas e distintas, recobertas com anticorpos específicos para as citocinas humanas. Essa metodologia (Chen et al., 1999) permite a avaliação simultânea de diversas moléculas solúveis no mesmo ensaio, empregando pequenos volumes de amostra.

6.8 Metodologia do objetivo 3: Mensurar e comparar os níveis das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF e IFN- γ produzidas após estimulação *in vitro* por AgSv em células mononucleares do sangue periférico

Utilizou-se o método de venopunção da veia cubital e foram coletados 10mL em tubos com Heparina para realizar a separação de PBMC em gradiente de Ficoll e a cultura celular. O sangue heparinizado foi adicionado a PBS pH 7,2 na proporção de 1:2 em tubos falcon de 50mL contendo Ficoll-hypaque. Em seguida, os tubos foram submetidos a uma centrifugação (900 x g/ 40 min a 20° C) e o anel de PBMC foi removido e depositado em tubos falcon de 15mL. As células foram lavadas duas vezes por centrifugação (400 x g/ 10 min a 20°C) em meio RPMI 1640. As células foram contadas em câmara de Neubauer através do corante de vitalidade Azul de Trypan e ajustadas para as concentrações desejadas para cultivo *in vitro*. As PBMC (5x10⁶ células/mL) foram cultivadas em placas de 48 poços de poliestireno (BD Systems) contendo meio RPMI 1640 suplementado, tendo volume final de 500uL. As células foram cultivadas sob estímulo de Fitohemaglutinina (PHA) (5 μ g/mL) como controle positivo, com antígeno de *Strongyloides venezuelensis* (AgSv), sem estímulo (MEIO - controle negativo) em estufa de CO₂ com 5% de umidade a 37°C e 7 dias depois as células foram reestimuladas e após 72 horas o sobrenadante foi coletado e congelado a -80°C até a dosagem das citocinas.

As dosagens das citocinas no sobrenadante de cultura foram realizadas pelo método de ELISA

sandwich para IL-33 utilizando-se kits (Becton Dickinson-BD) e por CBA para as citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN- γ .

6.9 Metodologia do objetivo 4: Comparar a produção de citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF e IFN- γ , após estimulação *in vitro* por AgSv em células mononucleares do sangue periférico, de indivíduos com e sem atopia.

Os indivíduos de cada grupo NA, ANT e AT foram subcategorizados em atópicos ou não atópicos. Essa categorização considerou a presença de reatividade nos testes cutâneos (atópicos) ou ausência (não atópico). Após essa subcategorização, os resultados foram estatisticamente analisados.

6.10 Análises estatísticas

Foi realizado teste de normalidade (D'Agostino) onde verificou-se se os dados são ou não paramétricos, seguido do teste Kruskal-Wallis para avaliar associação entre os grupos e posteriormente o teste Mann-Whitney para comparação quantitativa das citocinas entre grupos. Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de 5%.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO (ARTIGO)

O artigo gerado desta investigação foi submetido na revista “Parasitology reasearch”, que tem fator de impacto 2.0 e na área de Biológicas 2 é classificada como revista A1 (Anexo II).

CITOCINAS TH1, TH2 E TH17 DE PBMCs INDUZIDAS POR ANTÍGENOS DE *Strongyloides venezuelensis* COM ALERGIAS RESPIRATÓRIAS.

Catarine Aragone de Albuquerque Mello¹, Maria Eduarda da Silva Pereira², André de Lima Aires¹, Fabiana Martins de Paula³, Vladia Maria Assis Costa⁴, Bruno Almeida da Silva⁴, Virginia Maria Barros de Lorena⁵, Georgia Veras de Araújo Gueiros Lira⁶, Elaine Christine de Souza Gomes², Wheverton Ricardo Correia do Nascimento^{1*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, UFPE, Recife - PE.

² Departamento de Parasitologia, Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife - PE.

³ Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

⁴ Programa de Pós-Graduação de Medicina Tropical, UFPE, Recife - PE.

⁵ Departamento de Imunologia, Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife – PE

⁶ Hospital das Cílicas, Recife – PE

*Email correspondente: wheverton.nascimento@ufpe.br

Resumo

A relação entre respostas alérgicas e infecções helmínticas tem sido investigada e a ativação das células T reguladoras e a liberação de citocinas anti-inflamatórias, incluindo interleucina-10 (IL-10), podem resultar em uma resposta inflamatória reduzida. Antígenos de *Strongyloides venezuelensis* (AgSv) ainda não foram investigados. Este estudo tem como objetivo avaliar a imunomodulação in vitro do antígeno de *S. venezuelensis* em PBMCs de indivíduos alérgicos. Sangue periférico de três grupos [indivíduos não alérgicos (NA=27); indivíduos alérgicos tratados convencionalmente (UA=56); e indivíduos alérgicos em imunoterapia (TA=24)] foi coletado e submetido à estimulação com SvAg em cultura de células. Os níveis de citocinas (Th1, Th2 e Th17) foram quantificados via Cytometric Bead Array (CBA) e IL-33 por ELISA sanduíche. A estimulação com SvAg demonstrou uma tendência consistente para aumento na produção de IL-6 e IL-10 em todos os grupos. Além disso, houve uma redução concomitante na resposta Th2 pró-inflamatória (IL-33) e Th1 (TNF- α , IFN- γ e IL-17A) em indivíduos alérgicos atópicos. Em resumo, esses achados sugerem uma capacidade potencial do SvAg em modular a resposta inflamatória em indivíduos alérgicos.

Palavras-chave: Alergia; helmintos, modulação, AgSv.

1. Introdução

Infecções por helmintos induzem o perfil imunológico de células Th2 e podem modular os sintomas de alergias respiratórias (AR), como asma e rinite. Esses mecanismos imunorregulatórios podem suprimir a positividade de reações de hipersensibilidade imediata, citocinas e o tráfego celular de quimiocinas (Nascimento et al. 2018; Gonçalves et al. 2020; Teodósio et al. 2015; Maizels 2020). Além disso, a relação entre infecção por helmintos e AR contra alérgenos ambientais é complexa (Maizels & McSorley 2016). Antígenos de helmintos podem levar à ativação do perfil de células T reguladoras em indivíduos infectados e à liberação de citocinas anti-inflamatórias, incluindo interleucina-10 (IL-10) (Alves et al. 2020; Maizels 2020).

O nematódeo *Strongyloides stercoralis* está distribuído por regiões tropicais e é a causa da estrogiloidíase humana, que afeta cerca de 615 milhões de pessoas em todo o mundo (Buonfrate et al. 2020). *S. stercoralis* tem sido investigado em pacientes com doenças autoimunes hepáticas e a frequência de infecção foi significativamente menor no grupo com doenças do que aquela encontrada no grupo controle (Aoyama et al. 2007). Este helminto também demonstrou a capacidade de alterar localmente o perfil de citocinas e atenuar a resposta inflamatória induzindo células Treg (Malpica et al. 2019). Hays e colegas demonstraram que sorologia positiva para *S. stercoralis* poderia estar associada a um risco reduzido de desenvolver Diabetes Mellitus tipo 2 em populações aborígenes (Hays et al. 2015). Além disso, uma revisão sistemática e meta-análise de estudos epidemiológicos avaliou se a infecção parasitária atual estava associada a um risco reduzido de asma ou sibilância, e não mostrou efeitos significativos sobre a asma em indivíduos infectados com *S. stercoralis* (Leonardi-Bee & Pritchard, 2006). Além disso, o mesmo estudo constatou que a infecção por ancilostomídeos estava significativamente associada a efeitos protetores contra a asma e também estava relacionada à idade do indivíduo, estágio da infecção (aguda ou crônica) e carga parasitária. No entanto, não houve estudos sobre os efeitos dos antígenos de *S. stercoralis* em culturas de células humanas ou em modelos murinos *in vivo*.

Em relação a outros helmintos estudados por nosso grupo, a infecção atual pelo trematódeo *Schistosoma mansoni* pode estar associada a uma redução nos sintomas e na atopie em indivíduos asmáticos (Nascimento et al. 2018; Teodósio et al. 2015). Além disso, há um aumento na produção de IL-10, IL-4, IL-6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) em crianças

com alergias e infectadas pelo nematódeo *Trichuris trichiura* (Gonçales et al. 2020). A presença de Anti-Asc IgG1 pode ser considerada um fator de proteção contra a asma, pois está associada a níveis mais baixos de neutrófilos circulantes em crianças com exames parasitológicos negativos (Nóbrega et al. 2020). No entanto, não existem estudos para avaliar o efeito imunomodulador de *Strongyloides* sp. *in vitro* em indivíduos com AR.

Antígenos solúveis de *Strongyloides venezuelensis* poderiam servir como uma alternativa para estudar os efeitos imunomoduladores de nematóides em doenças alérgicas. Tanto a infecção ativa com *S. venezuelensis* quanto o tratamento *in vivo* com antígenos de *S. venezuelensis* (SvAg) demonstraram uma redução significativa na inflamação do intestino delgado em modelos murinos (Rodrigues et al. 2018; Araujo et al. 2020). Além disso, a administração de proteínas pertencentes à família S100 de *S. venezuelensis* induziu uma atenuação na inflamação da via asmática (Tsubowaka & Satoh 2022). Este estudo tem como objetivo avaliar o potencial imunomodulador *in vitro* do SvAg nos níveis de citocinas Th1, Th2 e Th17 (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF- α e IFN- γ) em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) de indivíduos com asma ou rinite alérgica.

2. Metodologia

2.1 Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo de corte transversal a partir de uma amostra de conveniência aleatória obtida de alunos dos cursos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) identificados com asma e/ou rinite alérgica para avaliação da modulação *in vitro* do *Strongyloides venezuelensis* em células mononucleares do sangue periférico. A aprovação para realizar a coleta foi obtida através do CEP da UFPE sob o CAAE: 38489220.9.0000.5208.

2.2 Seleção dos voluntários e categorização dos grupos de estudo

Uma amostra obtida de maneira aleatória de voluntários acima de 18 anos foi convocada para responder questionários sobre dados socioeconômicos, tratamento, hábitos de vida e sintomas (ISAAC, ACT e GINA), coleta de amostras de sangue e teste cutâneo de alergia. Foram excluídos da pesquisa: 1) voluntários que apresentarem diagnóstico médico de doenças pulmonares crônicas (como fibrose cística, DPOC, bronquite, enfisema, etc.); 2) indivíduos com doenças autoimunes; 3) indivíduos que fizeram uso de corticoides nos últimos 30 dias e anti-histamínicos nos últimos 7 dias.

O questionário ISAAC, validados no Brasil (Sole et al., 1998), foram utilizados para

categorizar os pacientes em grupos de alérgicos e não alérgicos e para descrição da frequência de sintomas. A categorização dos voluntários em alérgico foi realizada através da resposta afirmativa para a segunda questão do módulo asma (sibilo no último ano), e para a segunda questão do módulo rinite (espirros ou coriza, quando não estava resfriado ou gripado no último ano). Também foi levado em consideração a realização ou não da imunoterapia de dessensibilização *in vivo*. Adicionalmente, foi levado em consideração o resultado do “*prick test*” para subcategorização em indivíduos atópicos e não atópicos.

2.3 Obtenção do antígeno de *Strongyloides venezuelensis* (SvAg)

Os antígenos de *Strongyloides venezuelensis* foram obtidos em parceria com o Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, de acordo com o protocolo descrito por Gomes et al., 2023. Os antígenos foram cedidos pela Profa. Fabiana Martins de Paula do Laboratório de Investigação Médica (LIM-06), Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

2.4 Comparação de parâmetros clínicos (teste cutâneo) e laboratoriais (hemograma e IgE) entre os grupos

2.4.1 Teste cutâneo

Os extratos de alérgenos (gota única) foram adicionados ao braço do voluntário utilizando-se o conta-gotas, e, com um PUNTOR®, foram inoculados na região subcutânea dos pacientes. A leitura foi realizada 15 a 20 minutos após a punctura. O resultado positivo (pápula maior que 3mm em relação ao controle negativo) para ao menos um dos alérgenos testados categorizou os indivíduos como reativos (atópico) para o teste cutâneo. Alérgenos: *Dermatophagoides pteronyssimus*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*, *Blatella germanica*, epitélio de gato e cão, mistura de fungos, penas além de controle positivo (histamina 10 mg/mL) e negativo (excipiente).

2.4.2 Coleta de amostras de sangue e realização do hemograma

Realizou-se o método de venopunção da veia cubital para coleta de 27mL de sangue em 2 tubos com heparina (9mL), um com EDTA (4,5mL) e um sem anticoagulante (4,5mL) para realizar a cultura celular, o hemograma e a dosagem sorológica. Após a coleta, o sangue foi levado para um laboratório de análises clínicas e realização do exame e, posteriormente, o resultado foi recolhido e repassado para os voluntários.

O hemograma foi realizado por método automatizado (LH 750 - Beckman Coulter). Os parâmetros de contagem total e diferencial de leucócitos foram utilizados para obter os níveis de eosinófilos.

2.4.3 Determinação dos níveis de IgE total

O exame para a dosagem dos anticorpos IgE totais utilizou o método de referência fluoroenzimaimunoensaio (FEIA), em equipamento ImmunoCAP-Phadia® (Uppsala, Suécia), calibrado com o padrão internacional de referência para IgE da Organização Mundial de Saúde (OMS) e o resultado foi expresso em UI/mL.

2.5 Estimulação de células mononucleares do sangue periférico com AgSv

O sangue heparinizado foi adicionado a PBS pH 7,2 na proporção de 1:2 em tubos falcon de 50mL contendo Ficoll-hypaque. Em seguida, os tubos foram submetidos a uma centrifugação (900 x g/ 40 min a 20° C) e o anel de PBMC foi removido e depositado em tubos falcon de 15mL. As células foram lavadas duas vezes por centrifugação (400 x g/ 10 min a 20°C) em meio RPMI 1640. As células foram contadas em câmara de Neubauer através do corante de vitalidade Azul de Trypan e ajustadas para as concentrações desejadas para cultivo *in vitro*. As PBMC (5x10⁶ células/mL) foram cultivadas em placas de 48 poços de poliestireno (BD Systems) contendo meio RPMI 1640 suplementado, tendo volume final de 500uL. As células foram cultivadas sob estímulo de Fitohemaglutinina (PHA) (5µg/mL) como controle positivo, com antígeno de *Strongyloides venezuelensis* (SvAg) (20 µg/mL), sem estímulo (MEIO - controle negativo) em estufa de CO₂ com 5% de umidade a 37°C e 7 dias depois as células foram reestimuladas e após 72 horas o sobrenadante foi coletado e congelado a -80°C até a dosagem das citocinas.

2.6 Mensuração e comparação dos níveis das citocinas IL- 2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-33, TNF e IFN-γ produzidas pelo soro e por células mononucleares do sangue periférico estimuladas com AgSv

Após a coleta, os tubos sem anticoagulante foram centrifugados a 5000 RPM por 10 minutos para separação do soro, o qual foi utilizado para dosagem das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN-γ. As citocinas foram quantificadas utilizando-se do sistema citofluorométrico com microesferas fluorescentes (Cytometric Bead Array- CBA, Becton Dickinson-BD).

As dosagens das citocinas no sobrenadante de cultura foram realizadas pelo método de ELISA sandwich para IL-33 utilizando-se kits (Becton Dickinson-BD) e o CBA para as

citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN- γ foram quantificadas utilizando-se o sistema citofluorométrico com microesferas fluorescentes (Cytometric Bead Array-CBA, Becton Dickinson-BD).

2.7 Análises estatísticas

Foi realizado teste de normalidade (D'Agostino) onde verificou-se os dados são não paramétricos, seguido do teste Kruskal-Wallis para avaliar associação entre os grupos e posteriormente o teste Mann-Whitney para comparação quantitativa das citocinas entre grupos. Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de 5%.

3. Resultados

3.1 Categorização dos grupos dos não alérgicos (NA), alérgicos não tratados (ANT) e alérgicos tratados (AT).

Para este estudo, foi aplicado o questionário ISAAC para um total de 107 voluntários. Neste, era realizado o levantamento de informações sociodemográficas e econômicas. Foram aplicados os questionários ISAAC, GINA e ACT para descrever os sintomas dos voluntários (Tabela 1 e 2 suplementar). Com base nas respostas no questionário, os participantes foram categorizados em três grupos: não alérgicos (NA), alérgicos não tratados (ANT) e alérgicos tratados (AT). O grupo NA foi composto por 27 indivíduos (25,23%) que responderam aos questionários que não apresentaram sibilos, espirros com coriza ou manchas com coceira na pele nos últimos 12 meses. A pergunta 2 do questionário é definidora desses sintomas característicos da asma, rinite e eczema, respectivamente. O grupo ANT representou aqueles que responderam que apresentaram algum desses três sintomas, mas que não realizaram o tratamento de imunoterapia de dessensibilização *in vivo*, totalizando 56 indivíduos (52,34%). Por fim, o grupo AT corresponde aqueles que possuem alergia e realizaram o tratamento de imunoterapia, que totalizou 24 indivíduos (22,43%). A mediana de duração do tratamento foi de 12 meses (IC 95% 6 - 24).

Tabela suplementar 1: Proporção dos sintomas de asma, rinite e eczema nos pacientes dos grupos NA, ANT e AT, de acordo com o questionário ISAAC.

Sintomas de Asma		NA	p	ANT	p	AT	p
Nos últimos 12 (doze) meses, quantas crises de sibilos (chiado no peito) você teve?	0	27 (100%)		51 (92,68%)	\$	20 (83,33%)	#
	1 a 3	0 (0%)		4 (7,14%)		1 (4,17%)	
	4 a 12	0 (0%)		1 (0,18%)		3 (12,5%)	
	>12	0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)	
Nos últimos 12 (doze) meses, com que frequência você teve seu sono perturbado por chiado no peito?	Nunca	27 (100%)		54 (96,43%)		23 (95,83%)	
	Uma ou mais noites por semana	0 (0%)		0 (0%)		1 (4,17%)	
	Menos de 1 noite por semana	0 (0%)		2 (3,57%)		0 (0%)	
Nos últimos 12 (doze) meses, seu chiado foi tão forte a ponto de impedir que você conseguisse dizer mais de 2 palavras entre cada respiração?	Sim	0 (0%)		3 (5,36%)		1 (4,17%)	
	Não	27 (100%)		53 (94,64%)		23 (95,83%)	
Nos últimos 12 (doze) meses, você teve chiado no peito após exercícios físicos?	Sim	0 (0%)		0 (0%)		1 (4,17%)	
	Não	27 (100%)		56 (100%)		23 (95,83%)	
Nos últimos 12 (doze) meses, você teve tosse seca à noite, sem estar gripado ou com infecção respiratória?	Sim	1 (3,70%)	**	27 (48,21%)		11 (45,83%)	###
	Não	26 (96,30%)	*	29 (51,79%)		13 (54,17%)	
Sintomas de Rinite							
Nos últimos 12 (doze) meses esse problema nasal foi acompanhado de lacrimejamento ou coceira nos olhos?	Sim	0 (0%)	**	34 (60,71%)		17 (70,83%)	###
	Não	27 (100%)	*	22 (39,29%)		7 (29,71%)	
Em qual dos últimos 12 (doze) meses esse problema nasal ocorreu?	Apenas 1 período	0 (0%)	**	23 (40,07%)		7 (29,17%)	###
	Mais de 1 período	0 (0%)	*	28 (50,00%)		15 (62,5%)	
	Nenhum período	27 (100%)		5 (8,93%)		2 (8,33%)	
Nos últimos 12 (doze) meses quantas vezes suas atividades diárias foram atrapalhadas por esse problema nasal?	Nada	23 (85,19%)	**	24 (42,86%)	\$	6 (25%)	###
	Pouco/Moderado	4 (14,81%)	*	29 (51,79%)		14 (58,33%)	
	Muito	0 (0%)		3 (5,35%)		4 (16,67%)	
Sintomas de Eczema							
Alguma vez essas manchas com coceira (eczema) afetaram alguns dos seguintes locais: dobras do cotovelo, atrás dos joelhos, na frente dos tornozelos, abaixo nas nádegas ou em volta do pescoço, orelhas ou olhos?	Sim	0 (0%)		5 (8,93%)		5 (20,83%)	#
	Não	27 (100%)		51 (91,07%)		19 (76,27%)	

*p<0,05 (entre NA e ANT); ***p<0,0005 (entre NA e ANT); \$ p<0,05 (entre ANT e AT); #p<0,05 (entre NA e AT); ###p<0,005 (entre NA e AT); ###p<0,0005 (entre NA e AT)

Tabela Suplementar 2: Proporção do controle da asma nos pacientes asmáticos dos grupos ANT e AT, de acordo com o questionário GINA e ACT.

	P	
GINA	ANT	AT
Controlado	3 (50%)	2 (50%)
Parcialmente controlado	2 (33,33%)	1 (25%)
Não controlado	1 (16,67%)	1 (25%)
ACT		
Asma totalmente controlada	4 (66,66%)	0 (0%)
Asma controlada	1 (16,67%)	2 (50%)
Asma não controlada	1 (16,67%)	2 (50%) *

*p<0,05 (entre AT e ANT)

Em relação ao sexo e idade, não foi evidenciado diferença significativa entre os grupos, como evidenciado na Tabela 1. No total, 70 indivíduos eram mulheres (65,42%) e 37 eram homens (34,58%). Dentre os grupos NA, ANT e AT, 74%, 52,14% e 75% eram compostos por mulheres, respectivamente. Com relação a idade, a mediana de todos os participantes foi de 23 anos (IC 95%: 23,51-25,31). Dentre os grupos, a mediana foi de 23 anos para o grupo NA (IC 95% 21 - 25), 24 anos para o grupo ANT (IC 95% 23-24) e 22,50 anos para o grupo AT (IC 95% 21-27).

Os aspectos sociais e econômicos considerados foram: histórico de alergia na família, convívio com animais domésticos dentro da residência, renda familiar e escolaridade do chefe de família (Tabela 1). Dentre esses, foi observado que apenas o histórico de alergia e convívio com animais diferiram significativamente entre os grupos. O grupo AT apresentou maior percentual (87,5%) de familiares com alergias que o grupo NA (41,15%) (p<0,005) e o ANT (58,93%) (p<0,05), assim como apresentou proporção mais baixa (75%) de convívio com animais que o grupo NA (92,59%) (p<0,05). Com relação a renda familiar, foi observado maior proporção de renda familiar entre 1 a mais de 3 salários mínimos nos 3 grupos (NA=88,89%, ANT=96,42% e AT=87,5%). Adicionalmente, foi evidenciado uma maior proporção de escolaridade do chefe da família dos 3 grupos no ensino médio e superior (NA=81,48%, ANT=89,29% e AT=91,61%), portanto sem diferença significativa.

Quanto à avaliação dos sintomas, nenhum dos indivíduos do grupo NA tinha asma, rinite ou eczema. Em relação aos grupos alérgicos, a alergia mais predominante foi a rinite (ANT=92,86%, AT=87,5%), seguido de eczema (ANT=19,64%, AT=33,33%) e por fim, a asma

(ANT=10,71%, AT=16,67%). Não houve diferença significativa entre as doenças alérgicas ($p>0,05$).

Além do questionário, foi coletado sangue dos participantes para realização dos exames laboratoriais (hemograma completo e dosagem de IgE total). As taxas avaliadas foram quantidade de hemácias (milhões/mm³), hemoglobina (g/dL), leucócitos totais (/mm³), eosinófilos (/mm³), basófilos (/mm³) e a dosagem de IgE total (uL/mL). Aquelas que apresentaram valores significativamente diferentes entre os grupos foram a quantidade de eosinófilos e de IgE total (Tabela 1). O grupo NA apresentou menores níveis de eosinófilos [88 (IC 95%: 84,38-170,1)] que o grupo AT [(199 (IC 95%: 169,5 -306,8)] ($p<0,05$), bem como menores níveis de IgE total [45 (IC 95%: 23,29-194,3)] que o grupo ANT [129 (IC 95%: 154,8-381,7)] e AT [155 (IC 95%: 147,8-365,1)], ambos com $p<0,005$.

O teste cutâneo de alergia foi outro exame realizado nos voluntários, no qual a formação de pápula frente a exposição aos alérgenos indicava uma reatividade, ou seja, uma atopia. Do total de indivíduos, observou-se que as reações positivas contra os alérgenos dos ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* (*Derp* - 50,47%), *Blomia tropicalis* (48,60%) e *Dermatophagoides farinae* (*Derf* - 46,72%) foram as mais frequentes, seguido dos epitélios de gato (27,10%) e cão (25,23%). As reações menos frequentes foram contra os alérgenos da mistura de fungo (13,08%), penas (14,95%), seguido das espécies de barata, *Periplaneta americana* (19,6%) e *Blattella germanica* (18,70%), como mostrado da Tabela 1. Foi observado que o grupo dos não alérgicos foi o que apresentou menor proporção de atopia (25,93%), comparado aos grupos ANT (64,29%) e AT (83,33%), sendo observada diferença significativa entre os três grupos (Tabela 1).

No grupo NA, as maiores frequências de reações positivas foram para os alérgenos *Derp* (25,92%), *Blomia* (18,52%), *Derf* (18,52%) e pena (7,04%), enquanto os outros alérgenos apresentaram frequência de 3,7%. Os únicos alérgenos que não apresentaram diferença significativa da proporção de atopia em relação ao grupo ANT foram pena (NA=7,04%, ANT=8,93%) e fungo (NA=3,7%, ANT=12,5%). Comparando-se o grupo NA com o AT, todas as frequências foram estatisticamente significativas.

No grupo ANT, as atopias mais frequentes também foram contra os alérgenos, *Derp* (55,36%), *Blomia* (51,79%), *Derf* (50%), enquanto que as menos foram, pena (8,93%) e fungo (12,5%). O padrão de maior frequência de reação positiva às espécies deácaro também foi percebido no grupo AT, contudo a mais prevalente foi contra *Blomia* (75%), seguido por *Derf*

(70,83%) e *Derp* (66,67%). As reações menos frequentes nesse grupo foram contra os alérgenos de fungos (25%), *pena* (37,5%) e *B. germanica* (37,5%). O grupo AT foi o que apresentou maiores frequências, entre os três grupos, de atopia estatisticamente significativas em relação aos alérgenos *Blomia*, *Derf*, *P. americana* e *B. germanica*.

Tabela 1: Descrição dos grupos NA, ANT e AT quanto a sexo, idade, dados sociais, laboratoriais, presença de sintomas e atopia.

Variável		Não alérgico (NA)	p	Alérgico não tratado (ANT)	p	Alérgico tratado (AT)	p	Total 107 (100%)
		27 (25,23%)		56 (52,34%)		24 (22,43%)		
Sexo	Homem	7 (26%)		24 (42,86%)		6 (25%)		37 (34,58)
	Mulher	20 (74%)		32 (57,14%)		18 (75%)		70 (65,42%)
Idade [med(IC 95%)]		23 (21,92-25,19)		24 (23,51-25,99)		22,50 (22,26-26,91)		23 (23,51-25,31)
Histórico de alergia	Sim	13 (41,15%)		33 (58,93%)		21 (87,5%)	\$	67 (62,62%)
	Não	14 (51,85%)		23 (41,07%)		3 (12,5%)	##	40 (37,38%)
Animal doméstico	Sim	25 (92,59%)		50 (89,29%)		18 (75%)		93 (86,92%)
	Não	2 (7,41)		6 (10,71%)		6 (25%)	#	14 (13,08%)
Asma	Sim	0 (0%)	*	6 (10,71%)		4 (16,67%)		10 (9,35%)
	Não	27 (100%)		50 (89,29%)		20 (83,33%)	#	97 (91,5%)
Rinite	Sim	0 (0%)	***	52 (92,86%)		21 (87,5%)		73 (68,22%)
	Não	27 (100%)		4 (7,14%)		3 (12,5%)	####	34 (31,78%)
Eosinófilos (/mm ³) [med(IC 95%)]		88 (84,38-170,1)		162 (143,6-205,4)		199 (169,5 - 306,8)	#	153 (108 - 184)
IgE total (uL/mL) [med(IC 95%)]		45 (23,29-194,3)	**	129 (154,8-381,7)		155 (147,8-365,1)	##	101 (65-147)
Atopia	Atópico	7 (25,93%)	**	36 (64,29%)		20 (83,33%)	\$	63 (58,88%)
	Não atópico	20 (74,07%)		20 (35,71%)		4 (16,67%)	####	44 (41,12%)
Perfil	<i>Derp</i>	7 (25,92%)	*	31 (55,36%)		16 (66,67%)	##	54 (50,47%)
	<i>Blomia</i>	5 (18,52%)	**	29 (51,79%)		18 (75%)	####	52 (48,60%)
	<i>Derf</i>	5 (18,52%)	**	28 (50%)		17 (70,83%)	####	50 (46,72%)
	Gato	1 (3,7%)	**	17 (30,36%)		11 (45,83%)	####	29 (27,10%)
	Cão	1 (3,7%)	**	16 (28,57%)		10 (41,67%)	##	27 (25,23%)
	<i>Periplaneta</i>	1 (3,7%)	*	10 (17,86%)		10 (41,67%)	##	21 (19,63%)
<i>Blatela</i>	1 (3,7%)	*	10 (17,86%)		9 (37,5%)	##	20 (18,70%)	

Pena	2 (7,04%)	5 (8,93%)	9 (37,5%)	# 16 (14,95%)
Fungo	1 (3,7%)	7 (12,5%)	6 (25%)	# 14 (13,08%)

*p<0,05 (entre NA e ANT); **p<0,005 (entre NA e ANT); ***p<0,0005 (entre NA e ANT); \$ p<0,05 (entre ANT e AT); #p<0,05 (entre NA e AT); ##p<0,005 (entre NA e AT); ###p<0,0005 (entre NA e AT)

3.2 Dosagem de citocinas no soro dos indivíduos dos grupos NA, ANT e AT.

O soro de todos os voluntários foi usado para dosagem de citocinas de perfil Th1(IL-2, IL-6, IFN e TNF), Th2 (IL-4 e IL-10) e Th17 (IL-17A). Foi observado que a produção basal dessas citocinas em todos os grupos foi baixa (Figura 1).

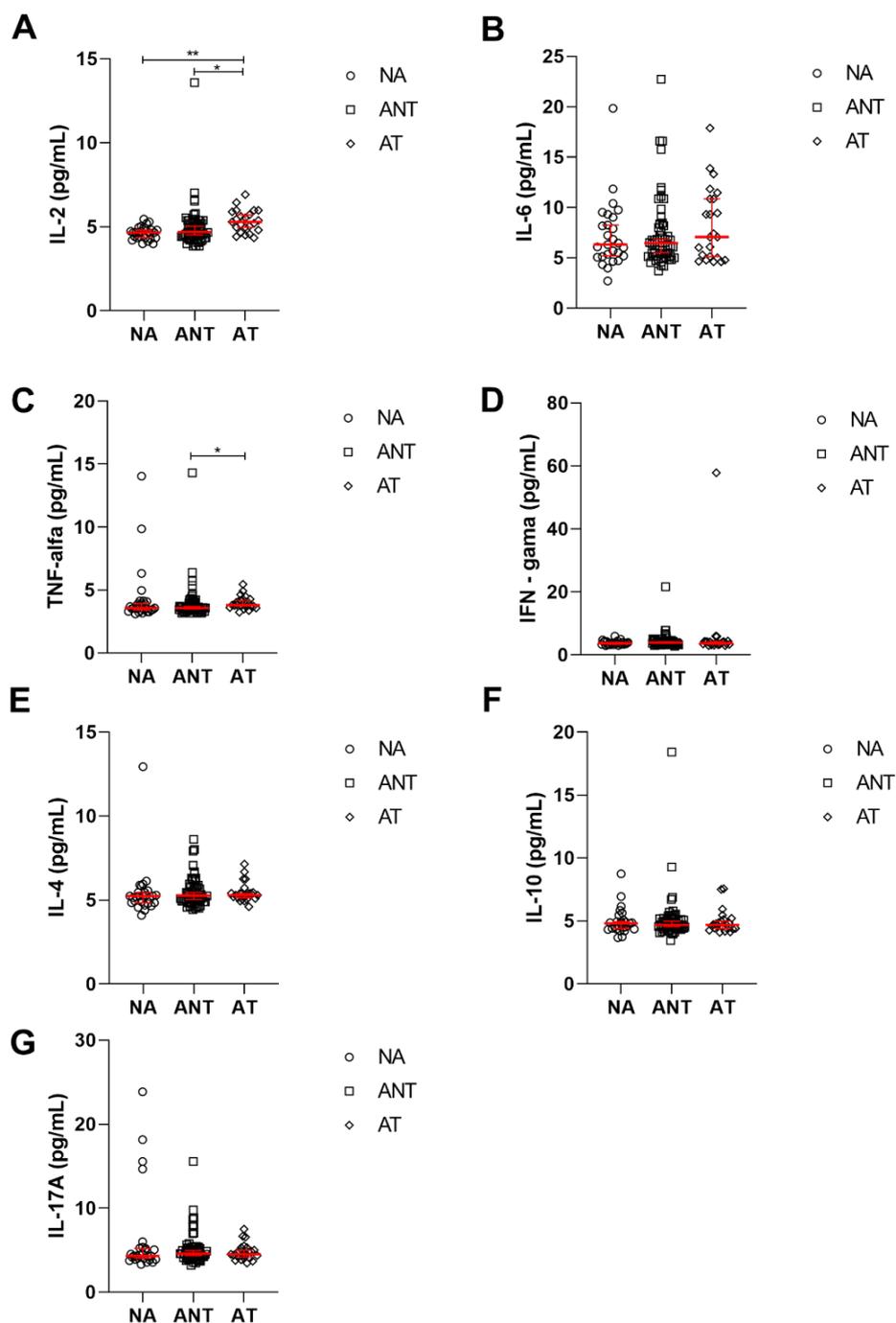
Em relação ao perfil de citocinas, foi observado que entre os grupos houve diferença significativa apenas na produção de IL-2 (Figura 1A) e TNF (Figura 1C). A produção mediana da citocina IL-2 foi de 4.650 (4.486-7.784) pg/mL, 4.690 (4.646- 5.367) pg/mL e 5.290 (5.052-5.630) pg/mL nos grupos NA, ANT e AT, respectivamente, sendo observada diferença nas produções entre os grupos AT e NA (p<0,005) e AT e ANT (p<0,05). Para a citocina TNF foram observadas dosagens menores, com medianas variando entre 3.570 pg/mL nos grupos NA (IC 95% 3.422-5.286) e ANT (IC 95% 3.521-4.345) até 3.810 (3.769-4.216) pg/mL no grupo AT, sendo observado diferença significativa entre os grupos ANT e AT (p<0,05). As demais citocinas não apresentaram diferenças entre os grupos (Figura 1, Tabela 2).

Tabela 2: Valores medianos e do intervalo de confiança da produção de citocinas no soro dos indivíduos dos grupos NA, ANT e AT.

	NA		ANT		AT	
	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)
IL-2	4.650 #	4.486-7.784	4.690 \$	4.646-5.367	5.290 #	5.052-5.630
IL-4	5.240	4.818-6.064	5.270	5.259-5.729	5.300	5.206-5.718
IL-6	6.320	5.916-8.563	6.465	6.452 - 8.382	7.080	6.709 - 9.884
IL-10	4.818	4.554-5.371	4.690	4.590-5.659	4.690	4.540-5.343
IL-17 ^a	4.320	4.355-8.457	4.590	4.641-5.702	4.500	4.361-5.232
TNF	3.570	3.422-5.286	3.570 \$	3.521-4.345	3.810 \$	3.769-4.216
IFN- γ	3.680	3.572-4.090	3.905	3.800-5.176	3.730	1.366-11.12

#p<0,05 (entre NA e ANT); \$ p<0,05 (entre ANT e AT)

Figura 1: Perfil da produção de citocinas no soro dos indivíduos dos grupos NA, ANT e AT.



Comparação da produção de IL-2 (A), IL-6 (B), TNF (C), IFN- γ (D), IL-4 (E), IL-10 (F) e IL-17 (G) entre os grupos. As dosagens do grupo NA estão representadas por círculos, as do grupo ANT, por quadrados e as do grupo AT, por losangos. As extremidades das linhas pretas acima das dosagens representam os grupos que apresentaram diferença significativa. A linha vermelha horizontal representa a mediana e a vertical, o IC 95%. * $p > 0,05$ e ** $p > 0,005$.

3.3 Dosagem de citocinas no sobrenadante da cultura celular dos indivíduos dos grupos NA, ANT e AT.

O sangue coletado de todos os voluntários foi submetido ao mesmo processamento. Inicialmente, as células mononucleares do sangue periférico foram isoladas a partir do gradiente de Ficoll e, em seguida, cultivadas em meio RPMI. No diado isolamento, foram realizados os estímulos com o antígeno de *Strongyloides venezuelensis*, e com a fitohemaglutinina. Após 7 dias de cultura, as células eram novamente estimuladas e, após 72 horas, o sobrenadante era coletado e armazenado para dosagem de citocinas Th1, Th2 e Th17 por CBA. Os meios de cultura eram repostos quando observado a necessidade.

A comparação inicial da produção de citocinas pelas células cultivadas na ausência de estímulo (meio) entre os três grupos mostrou maior produção basal no grupo NA das citocinas IL-2 (mediana 1,5x maior que a do meio grupo ANT e 1,2x maior que a de AT), IL-4 (1,6x maior que o grupo ANT, com diferença significativa, e 1,4x maior que a do grupo AT), TNF (3,2x maior que a do grupo ANT e 1,2x maior que a do grupo AT) e IFN- γ (2,9x maior que a do grupo ANT e 1,9x maior que a do grupo AT). Com relação ao grupo AT, essa tendência foi observada para as citocinas IL-6 (mediana 1,3x maior que a do meio do grupo ANT e 1,9x maior que a do grupo NA), IL-10 (3,3x maior que a do grupo ANT e 1,4x maior que a do grupo NA) e IL-17A (5,3x maior que a do grupo ANT e 2,4x maior que a do grupo NA). Contudo, além da citocina IL-4, não foram encontradas diferenças significativas.

A produção de citocinas pelo meio não mostrou diferença significativa em relação às células estimuladas com AgSv do mesmo grupo, contudo foi possível observar tendências de produção (Figura 2) maior nas estimuladas pelo antígeno. A citocina IL-6 foi produzida cerca de 2x mais pela estimulação do antígeno em comparação com o meio no grupo NA, 1,3x para o grupo ANT e 1,9x para o grupo AT. A IL-10 foi produzida cerca de 1,6x mais pela estimulação com AgSv comparado com o meio no grupo NA, 1,3x para o grupo ANT e 1,2x para o grupo AT. Para IFN- γ foi observado um aumento de 1,6x pela estimulação com o antígeno no grupo AT. Por outro lado, também foi possível observar tendências de menor produção nas estimuladas pelos antígenos das citocinas TNF (2,8x no grupo NA e 1,6x no grupo AT) e IFN- γ (1,3x no grupo NA). Os valores das medianas e intervalos de confiança da produção de todas as citocinas estão descritos na Tabela 3.

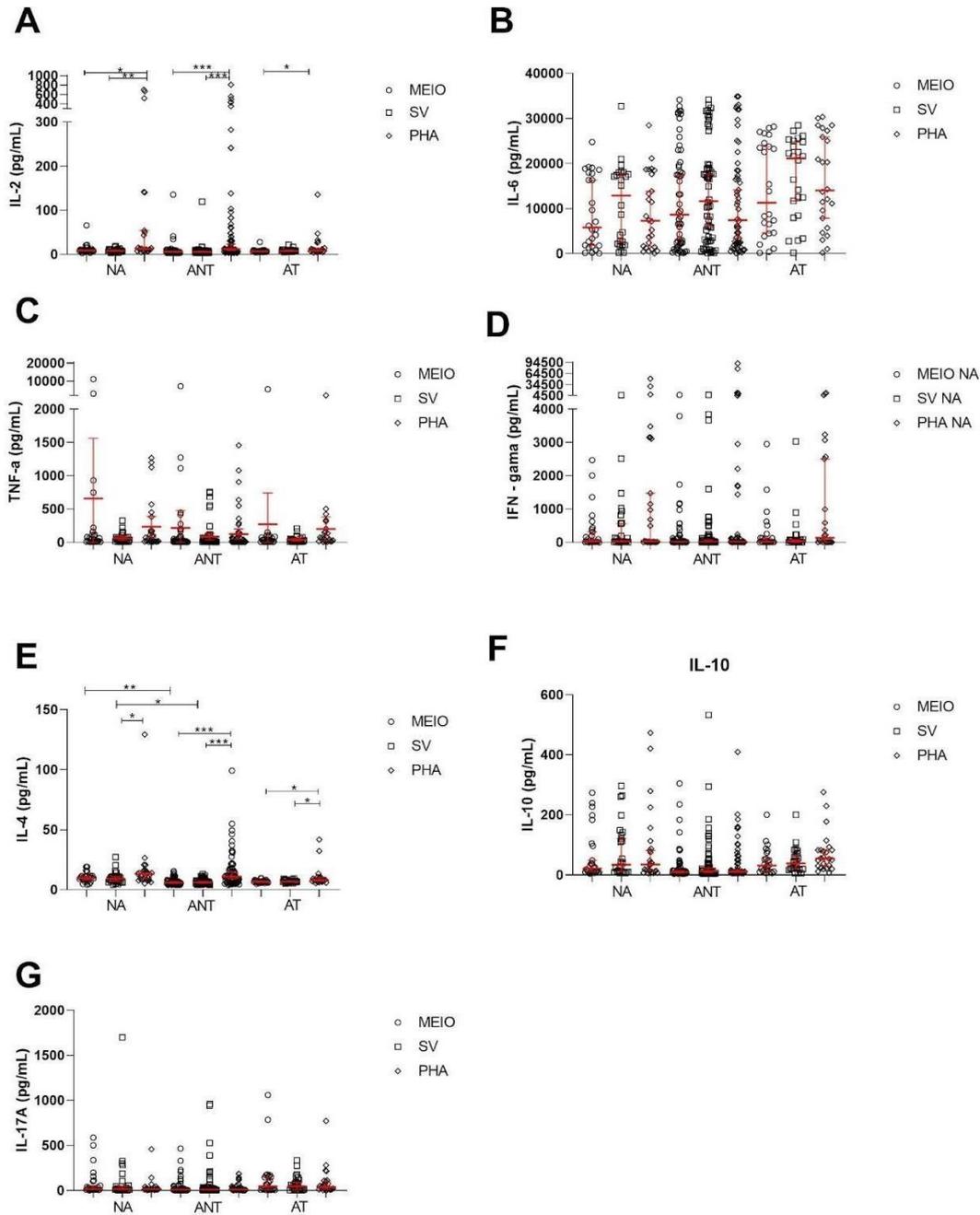
Tabela 3: Medianas e valores do intervalo de confiança da produção das citocinas Th1, Th2 e Th17 nos grupos NA, ANT e AT.

	NA					
	Meio		SV		PHA	
	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)
IL-2	9,380	7,258-16,77	8,335 **	7,389-10,37	13,27 **	28,34-429,5
IL-4	9,800	8,64 - 11,75	9,215 *	7,912 - 11,95	13,11 *	7,652 - 26,56
IL-6	5781	5710-12111	12899	7532-14669	7273	5825-12454
IL-10	21,720	29,79-98,33	34,470	44,38-117,5	34,780	35,23-137,7
IL-17 ^a	16,120	10,04-54,01	15,790	9,770-46,52	16,330	10,45-20,13
TNF	36,9	-243,1-1562	13,030	31,79-92,54	12,380	80-390,1
IFN- γ	41,440	94,13-613	32,510	66,64-1034	38,170	-436,1-8582
	ANT					
	Meio		SV		PHA	
	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)
IL-2	6,225 ^{ooo}	4,960-14,75	5,89 ***	5,237-13,23	12,22 *** ^{ooo}	36,65-100,5
IL-4	5,995 ^{ooo}	6,097 - 7,546	6,21 ***	6,254 -7,443	10,91 *** ^{ooo}	12,16-20,99
IL-6	8642	9272-15297	11645	10689-16610	7419	8818-14905
IL-10	9,645	16,20-47,08	12,820	24,26-70,70	10,650	25,98-64,25
IL-17 ^a	8,570	6,380-12,59	9,160	6,380-13,80	10,380	8,480-13,56
TNF	11,350	-43,69-478,9	13,010	36,81-136,4	14,990	50,71-201,2
IFN- γ	14,290	66,05-601,9	13,770	86,39-676,2	19,61	-275,9-8256
	AT					
	Meio		SV		PHA	
	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)
IL-2	7,32 °	6,124- 10	8,065	7,241-10,44	8,78 °	6,734-29,58
IL-4	6,935 °	6,443-7,428	6,775 *	6,579-7,511	7,885 * °	7,018-14,16
IL-6	11286	9638-18475	21151	13209-20795	14001	11642-20312
IL-10	31,410	26,73-65,31	38,660	30,73-67,22	54,7	45,07-102

IL-17 ^a	45,640	7,590-150,3	45,050	8,020-89,46	39,41	15,93-101,2
TNF	31,570	-201,8-743,2	19,600	19,34-62,37	64,39	22,22-382,4
IFN- γ	22,160	25,93-597,2	36,090	-36,62-496,1	138,4	392,5-3049

* p<0,05 (entre SV e PHA); ** p<0,005 (entre SV e PHA); ***p<0,0005 (entre SV e PHA); ° p<0,05 (entre MEIO e PHA); °° p<0,005 (entre MEIO e PHA); °°° p<0,0005 (entre MEIO e PHA).

Figura 2: Produção das citocinas de perfil Th1, Th2 e Th17 nos grupos NA, ANT e AT do sobrenadante da cultura celular.



Comparação da produção de IL-2 (A), IL-6 (B), TNF- α (C), IFN- γ (D), IL-4 (E), IL-10 (F) e IL-17 (G) entre grupos. As dosagens do sobrenadante da cultura celular estimulada apenas com o meio estão representadas por círculos, as estimuladas por AgSV por quadrados e as estimuladas por PHA, por losangos. A linha vermelha horizontal representa a mediana e a vertical, o IC 95%.

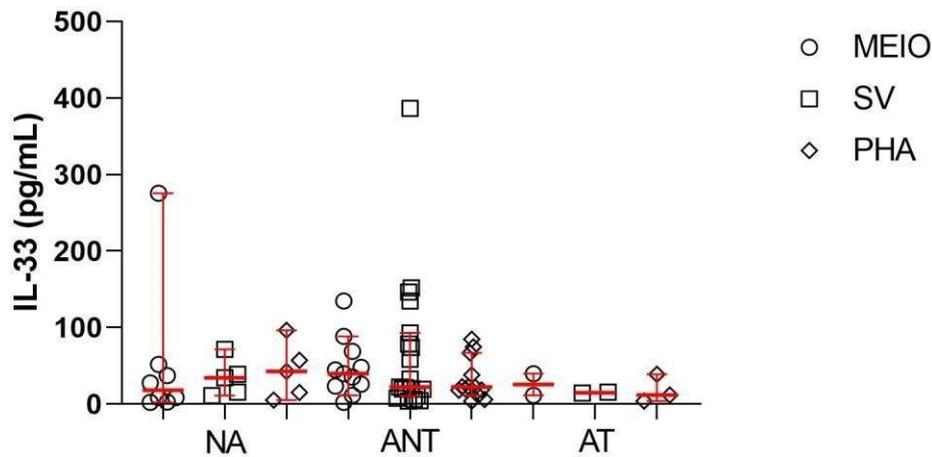
3.4 Dosagem de IL-33 no sobrenadante da cultura celular dos indivíduos do grupo NA, ANT e AT

A produção de IL-33 foi detectada no sobrenadante da cultura de apenas 43 indivíduos, sendo 12 do grupo NA, 26 do grupo ANT e 5 do grupo AT. Considerando os valores zerados, a mediana de todos os grupos e estímulos foi de 0 pg/mL. O que variou foi a média entre os grupos. No grupo NA, as células sem estímulo produziram, em média,

16.59 pg/mL de IL-33, enquanto que as estimuladas com AgSv produziram 6.868 pg/mL, e as estimuladas com PHA, 8.680 pg/mL. No grupo ANT, a produção média da citocina foi maior na cultura estimulada com AgSv (23.08 pg/mL) em relação ao estímulo com o meio (9.344 pg/mL) e com PHA (7.326 pg/mL). No grupo AT foi observado o mesmo padrão encontrado no grupo NA, com maior produção nas células estimuladas com o meio (2.225 pg/mL) em relação às estimuladas com AgSv (1.299 pg/mL).

Considerando apenas os indivíduos produtores de IL-33 (Figura 3), foi observado que a mediana de produção pelo estímulo com AgSv teve uma tendência a diminuir em relação à da produção sem estímulo, sendo 1,8x menor no grupo ANT [(meio: 39.65 pg/mL, IC 95%: 22.13-73.01); (AgSv: 22.16 pg/mL, IC 95%: (23.86-112.2))] e 1,5x menor no AT [(meio: 22.58 pg/mL, IC 95%: (-153.1-204.3); (AgSv: 14.94 pg/mL, IC 95%: ((5.281-24.60))], enquanto teve a tendência de aumentar 1,9x no grupo NA [(meio: 18.17 pg/mL, IC 95%: (-25.20-128.9); (AgSv: 34.33 pg/mL, IC 95%: (4.579-64.10))].

Figura 3: Produção de IL-33 dos grupos NA, ANT e AT a partir do sobrenadante da cultura celular estimulada apenas com o meio, com o antígeno de *S. venezuelensis* (AgSv) e com fitohemaglutinina (PHA).



As dosagens do sobrenadante da cultura celular estimulada apenas com o meio estão representadas por círculos, as estimuladas por AgSV por quadrados e as estimuladas por PHA, por losangos. A linha vermelha horizontal representa a mediana e a vertical, o IC 95%.

3.5 Subcategorização dos grupos NA, ANT e AT

Devido a presença de ampla variação na produção de citocinas entre os grupos, os mesmos foram subcategorizados em atópicos (indivíduos que apresentaram pelo menos uma reação positiva no teste cutâneo) e não atópicos (indivíduos apenas com reações negativas no teste cutâneo). A proporção de indivíduos atópicos é de 25,93%, 64,29% e 83,33% nos grupos NA, ANT e AT, respectivamente, como descrito na Tabela 1.

Assim como na análise anterior, não foi possível observar diferenças significativas nas produções de citocinas entre os grupos, apenas tendências (Tabela 4). O estímulo por AgSv teve a tendência de aumentar a mediana da produção das citocinas IL-2 (grupo AT não atópico), IL-6 (todos os grupos), IL-10 (todos os grupos), IL-17A (grupos NA não atópico e ANT não atópico), IFN- γ (ANT atópico e AT não atópico) e IL-33 (NA não atópico). Por outro lado, o estímulo pelo antígeno tendeu a diminuir as medianas da produção de IL-2 (NA atópico), IL-4 (NA atópico), IL-17A (NA atópico e AT atópico), TNF (NA atópico e AT atópico), IFN- γ (NA atópico, ANT não atópico e AT atópico) e IL-33 (ANT não atópico, ANT atópico e AT atópico).

Tabela 4: Dosagens do perfil de citocinas Th1, Th2 e Th17 da subcategorização de NA,ANT e AT.

	NA não atópico						NA atópico					
	Meio		SV		PHA		Meio		SV		PHA	
	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)										
IL-2	9,045	8.231- 10.16	8,645	7.813- 10.81	13,76	-2.075- 318.1	16,83	-2974- 45.78	5,86	2.093- 12.80	11,68	-161.8 - 402.3
IL-4	9,8°	8.771- 77.30	9,915 \$	8.26- 12.63	13,68	6.462- 31.09	10,06	3.617- 17.82	5,97	1.767- 14.67	9,715	4.809- 16.25
IL-6	5781	5430- 12334	6686	5732- 13069	4606	4155- 10664	5209	-1862- 19875	17282	5929- 27605	15978	4237- 25487
IL-10	18,69	26.05- 102.4	25,39	34.89- 111.1	16,5	19.84- 115.4	22,58	-45.11- 172.2	41,91	-19.65- 234.3	38,44	-51.68- 344.1
IL-17A	13,1	7.621- 169.9	15,79	21.89- 123.8	16,54	-3.867- 88.96	83,29	9.635- 172.1	13,72	-424.4- 1019	11,91	-22.90- 89.27
TNF	23,47	-55.56- 620.4	32,19	25.63- 96.87	22,26	51.14- 398.6	69,7	-2838- 6672	42,8	-17.84- 148.3	71,33	21.21- 139.7
IFN-γ	23,68	43.64- 375.5	22,54	84.05- 704.2	18,31	-975.7- 10871	242,8	-328.4- 1996	89,13	-1294- 3438	637,6	-97.82- 2225
IL-33	27,86	-31.05- 148.8	34,33	4.579- 64.10	29	-8295- 68.46	2,777	-	-	-	96.66	-
	ANT não atópico						ANT atópico					
	Meio		SV		PHA		Meio		SV		PHA	
	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)										
IL-2	6,945	6.047- 8.645	7,43	6.186- 8.238	15,64	-2.55- 166.5	5,63 ***	3.568- 18.93	6,07 ###	3.224- 16.12	12,22	26.07- 126.6
IL-4	7,64	6.483- 9.260	8,645	6.848- 9.001	14,35	11.35- 24.13	5,52 ° **	5.427- 7.048	5,745 \$ ###	5.587- 6.914	10,3	9.827- 22.02

IL-6	4577	3837- 11806	7917	6774- 16427	5172	4380- 12796	14599	10736- 18794	15744	10921- 18654	11854	9542- 17817
IL-10	11,57	6.430- 51.13	17,04	20.44- 66.63	12,19	15.82- 56.15	8,82	11.88- 54.57	9,95	15.04- 84.31	10,22	22-78.38
IL-17A	9,66	2.563- 52.10	10,41	8.793- 54.70	12,09	7.082- 45.82	7,47	15.36- 82.40	7,645	22.02- 182.9	10,2	12.94- 42.74
TNF	15,15	-327- 1167	22,5	19.34- 222.1	20,31	5.266- 285.7	10,51	11.57- 198.7	11,2	11.23- 124	10,36	22.46- 207.7
IFN- γ	16,81	-46.81- 807.3	10,67	-24.77- 788.3	27,04	-3015- 21354	10,63	-49.63- 666.1	17,69	-32.80- 794.8	16,42	216.2- 2010
IL-33	78,81	-13.73- 161.1	48,1	-9.910- 200.2	22,45	7.941- 45.66	30,53	17.06- 44.24	21,4	11.24- 85.38	18,74	-9.742- 68.97
AT não atópico						AT atópico						
	Meio		SV		PHA		Meio		SV		PHA	
	Mediana (pg/mL)	IC 95% (pg/mL)										
IL-2	7,475	4.469- 10.41	9,8	2.819- 18.18	10,47	-12.72- 49.67	7,27	6.821- 10.20	7,475	4.649- 31.54	8,78	4.469- 10.41
IL-4	7,175	5.990- 7.925	7,76	4.655- 10.28	7,96	-11.30- 43.36	6,775	6.342- 7.521	6,65	6.508- 7.414	7,775	6.832- 12.17
IL-6	9232	-2706- 25807	12168	-2432- 28579	18668	-1181- 36061	12057	9468- 19647	21600	13634- 21942	14001	10879- 20490
IL-10	16	-26.36- 190.1	21,12	-28.68- 112.9	64,35	-5.230- 51.43	34,29	27.95- 73.27	44,59	29.76- 70.94	54,7	39.59- 104.20
IL-17A	86,79	-48.19- 227.4	97,27	-20.91- 210.3	49,6	-15.42- 122.3	45,64	17.07- 275.5	35,98	27.19- 113.9	29,04	21.06- 187
TNF	17,14	-56.05- 156.4	17,77	-29.12- 102.5	64,39	-92.84- 330.9	37,29	-258.9- 888.6	21,97	16.62- 67.13	64,77	1.633- 436.3
IFN- γ	199,1	-315.4- 979.1	233,3	-1417- 3169	521,3	-1337- 3478	307,5	-32.47- 647.5	100,5	-2.405- 203.4	1851	263.1- 3439
IL-33	0	-	0	-	0	-	25,58	-153.1- 204.3	14,94	5.281- 24.60	11,9	-27.29- 63.76

^op<0.05 (MEIO e MEIO); ##p<0.005 (SvAg e PHA); ###p<0.0005 (SvAg e PHA); **p<0.005 (MEIO e PHA); **p<0.0005 (MEIO e PHA); \$p<0.05 (SvAg e SvAg).

4. DISCUSSÃO

Os helmintos possuem a capacidade de escapar da resposta imunológica do hospedeiro, pela criação de um ambiente imunossupressor, com produção de células regulatórias e citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF-B. Consequentemente, auxiliam o corpo a minimizar os danos resultantes da inflamação excessiva das doenças alérgicas (Shi et al., 2022). Além da infecção ativa, antígenos usados para estimulação *in vitro* em PBMCs também demonstraram essa capacidade (Martin et al., 2015; Alves et al., 2020). Neste trabalho, pela primeira vez, foi utilizado o antígeno do parasita *Strongyloides venezuelensis in vitro* em PBMCs de indivíduos alérgicos. Na produção de citocinas basais, foi encontrado maiores níveis de IL-2 e TNF no grupo ANT. Em relação ao estímulo na cultura celular, o AgSv apesar de não ter mostrado produção de citocinas estatisticamente significativas, indicou tendências de modular a resposta imune, com maior produção de IL-6 e IL-10 e de menor produção de IL-33 nos grupos alérgicos (ANT e AT). Mostrando seu potencial efeito de atenuar a resposta inflamatória.

Inicialmente, com base no questionário ISAAC, categorizamos os indivíduos nos grupos: não alérgicos, alérgicos não tratados com imunoterapia e alérgicos tratados com imunoterapia. Escolhemos esse método pois o ISAAC é uma ferramenta efetiva na categorização de indivíduos não alérgicos e alérgicos, uma vez que utiliza um método padronizado e validado capaz de avaliar diferentes condições alérgicas (Wypych-Ślusarska et al., 2022). Porque contém perguntas que consideram os sintomas e as condições sociodemográficas de cada indivíduo, auxiliando na determinação da prevalência e da severidade dos sintomas em doenças alérgicas como asma (Hallit et al., 2021), rinite (Yum et al., 2021) e eczema (Oliveira et al., 2022).

Entre os grupos alérgicos, os não tratados representam aqueles com sintomas persistentes, mas que conseguem ser controlados pelo uso de diferentes fármacos, como anti-histamínicos (oral ou intranasal) e corticoides intranasais (Bousquet et al., 2020). Os alérgicos com sintomas mais severos que, mesmo com o uso de fármacos, ainda não conseguem controlar seus sintomas buscam a imunoterapia de dessensibilização *in vivo* (Durham, Shamji, 2023). A imunoterapia funciona como tratamento para a redução dos sintomas alérgicos, pois possui a capacidade de suprimir a polarização das células dendríticas ao entrar em contato com o alérgeno para o tipo pro- alérgico, o que levaria uma resposta de perfil Th2. Assim, consegue promover a diferenciação para fenótipo regulatório, suprimindo a resposta Th2 e favorecendo

a diferenciação de Th1. Além disso, a imunoterapia induz a produção de bloqueadores de anticorpos por células B reguladoras que competem com os alérgenos pela ligação com os receptores nos mastócitos e basófilos, auxiliando assim na inibição da liberação de mediadores inflamatórios (Drazdauskaité et al., 2021).

Dentro desses grupos, foi observado uma maior prevalência de rinite (68,22%) em relação à eczema (11,76%,) e a asma (9,35%). Esse padrão também acontece em um contexto mais amplo. A rinite alérgica apresenta uma prevalência mundial variando entre 1 a 63% (Savouré et al., 2022), já no Brasil, estudos na região Sul identificaram uma prevalência de 50,3% (Oliveira et al., 2020). A prevalência da eczema no Brasil, por suavez, foi de 16,8%, enquanto que a da asma variou entre 3,6% a 4,5% (Santos et al., 2018; Rocha et al., 2020).

Com relação a severidade dos sintomas dessas doenças reportados entre os grupos alérgicos foi observado uma maior intensidade de sibilos, espirros e coceira na pele, dentro do grupo de alérgicos tratados com imunoterapia. Apesar da imunoterapia desenvolver tolerância contra os alérgenos, minimizando os sintomas característicos da resposta alérgica, para que a metodologia apresente esse efeito precisa ser aplicada no mínimo por 3 anos (Rosa, 2017, Penagos et al., 2019). A mediana de tempo de duração de tratamento observado no grupo AT foi de 1 ano, por esse motivo, ainda pode ser encontrado sintomas mais fortes, visto que o tratamento ainda não foi completamente finalizado.

Considerando os dados sociodemográficos, foi observado uma maior proporção de familiares com histórico de alergia entre os indivíduos alérgicos, significativamente entre os tratados com imunoterapia. Essa associação já foi encontrada em outros estudos, o que sugere que a presença de um familiar com alguma doença alérgica pode aumentar as chances de desenvolvê-las, provavelmente devido a fatores genéticos e mesmas exposições ambientais a alérgenos e poluentes (Kanase, et al., 2020). Em contrapartida, entre os alérgicos, principalmente no grupo AT, foi encontrada uma menor proporção significativa de convívio com animais domésticos. A exposição a animais domésticos já foi associada a diminuição do risco do desenvolvimento de doenças alérgicas, uma vez que o contato cedo com o alérgeno tem efeitos na sensibilização e tolerância contra o mesmo (Erwin, Platss-Mills, 2023).

Em relação ao teste cutâneo de alergia, tanto estudos de ampla escala retrospectivos (Tantilipikorn et al., 2021) quanto transversais (Palliyalthodi et al., 2020; Shikha, Swami 2022) demonstram que a sensibilização contra os ácaros de poeira são os mais comumente encontrados, assim como foi observado nesse estudo, onde foram encontradas maiores

proporções de reatividade contra os alérgenos de *Derp*, *Derf* e *B. tropicalis*. A presença desses alérgenos domésticos influencia diretamente na qualidade do ar, desencadeando as reações alérgicas nas vias aéreas (Eguiluz-Gracia et al., 2019). Asensibilização aos ácaros está associada ao agravamento dos sintomas alérgicos em crianças alérgicas, como inflamação dos brônquios e alteração da função dos pulmões (Ruggieri et al., 2017).

Em relação aos dados laboratoriais, como esperado, foram encontradas diferenças nas produções de eosinófilos e de IgE total, com maior produção pelos grupos alérgicos. Essa maior produção é devido à resposta frente a exposição frequente aos alérgenos respiratórios. Esses, em contato com a pele ou mucosa, promovem a liberação de alarminas e mediadores inflamatórios por células inatas, que estimulam a troca de classe da imunoglobulina nos linfócitos B para a IgE, a qual irá se ligar às células efetoras, como mastócitos e basófilos (Calzada et al., 2018). Posteriormente, foi liberado por essas células mediadores inflamatórios como histamina, triptase, leucotrienos e prostaglandinas D2, responsáveis por promover a dilatação das artérias, aumentar a permeabilidade vascular e da excreção de muco, assim como o ingurgitamento de senóides venosos nasais, levando aos sintomas clássicos da alergia: obstrução e congestão nasal (Naclerio et al., 1999). Na fase mais tardia dessa reação alérgica, as células inatas produzem IL-4 e IL-5, promovendo o recrutamento de outras células efetoras, como os eosinófilos (Locksley et al., 2010, Drazdauskate et al., 2021). Os eosinófilos, por sua vez, irão promover a inflamação pela liberação de mais mediadores inflamatórios, como proteína básica principal, neurotoxina derivada de eosinófilos, proteína catiônica eosinofílica e peroxidase eosinofílica, IL-4 e IL-13 (Gigon et al., 2023).

Posteriormente a categorização dos grupos, utilizamos o soro de todos os pacientes, assim como o sobrenadante resultante da cultura das células PBMCs estimuladas com AgSv, para fazer a dosagem de citocinas de perfil Th1, Th2 e Th17. A dosagem de citocinas a partir do soro dos voluntários foi realizada com o intuito de observar diferenças basais nos níveis das citocinas entre os grupos. Estatisticamente, foi possível observar uma diferença apenas no grupo dos alérgicos tratados com imunoterapia de dessensibilização, um aumento na produção das citocinas de perfil Th1.

Em relação aos níveis de citocinas, o estudo de Amici et al (2001) verificou as dosagens do soro de pacientes antes de realizarem a imunoterapia e após 9 meses de tratamento. Em níveis basais, foi observado altos níveis de TNF, e, em contrapartida, baixos níveis de IL-2. Uma alta produção de TNF também foi encontrada em pacientes com diagnóstico de alergia,

com sintomas mais exacerbados (Kordulewska et al., 2018). Até os 6 meses esse padrão se manteve, mas, após 9 meses do tratamento, esses níveis se inverteram, mostrando o favorecimento da diferenciação para a resposta Th1. No presente trabalho, corroborando como o estudo acima, observamos no grupo AT maiores níveis de IL-2, contudo, os níveis de TNF também estavam altos. Isso mostra que dentro do grupo, apesar do tempo mediano de tratamento ser maior que o do trabalho citado, a resposta inibitória desenvolvida a partir do tratamento ainda não é a ideal, o que é reforçado pelos níveis altos de IgE total e eosinófilos no grupo, bem como a presença de sintomas mais fortes.

Na cultura celular, o estímulo por AgSv mostrou tendência para modular a resposta imunológica, estimulando a produção de citocinas tanto inflamatórias quanto regulatórias. A produção das citocinas IL-6 e IL-10 foram aumentadas nos três grupos, esse padrão já foi observado pela infecção ativa de *Trichuris trichiura* em crianças alérgicas (Gonçales et al., 2020). A IL-6 é uma citocina de perfil Th1 e a deficiência da sua produção está associada a maior severidade dos sintomas alérgicos, uma vez que auxilia na resposta de proteção contra a fibrose e remodelação das vias aéreas afetadas (Schimt et al., 2020).

Em 2023, Bacchus et al. verificaram que a perda da sinalização de IL-6 aumenta os níveis de IgE e eosinófilos em modelos de ratos com alergia. Contudo, níveis elevados da citocina podem ser correlacionados com o agravamento dos sintomas alérgicos e a maior necessidade do uso de medicações para minimizá-los (MacBeth et al., 2021). Além da IL-6, o AgSv conseguiu estimular a produção de outra citocina inflamatória a IFN- γ (apenas no grupo AT). A citocina contribui para o desenvolvimento dos sintomas da asma alérgica em modelos de murino (Yu et al., 2011) e em humanos (Branchett et al., 2020). Isso porque possui a capacidade de aumentar a produção de histamina a partir de mastócitos e assim, promover a inflamação das vias aéreas (Link et al., 2020).

A IL-10, citocina de caráter regulatório, é capaz de limitar a patologia de diferentes doenças pulmonares, incluindo as alergias, por conseguir reduzir a produção e liberação de mediadores inflamatórios, e, conseqüentemente, prevenir danos no epitélio (Branchett et al., 2020). Essa resposta regulatória acontece por mecanismos diferentes, como diretamente pelo bloqueio do sinal de tradução via CD28 das citocinas (Golebski et al., 2021) ou indiretamente pela expressão a partir das células de perfil Th2 dos grânulos granzima B, aumentando sensibilidade para morte dessas células (Coomes et al., 2017). Portanto, as maiores produções de IL-10 estão associadas a um perfil regulatório da resposta imune. Antígenos de outros

helminhos mostraram a capacidade de estimular a produção de IL-10, seja *in vivo* em modelos de ratos, como os de *Trichinella spiralis* (Long et al., 2021) e *Acanthocheilonema vitae* (Schnoeller et al., 2008) ou *in vitro* em PBMCs como os de *Fasciola hepatica* (Martin et al., 2015) e *Schistosoma mansoni* (Alves et al., 2020).

Considerando apenas o grupo NA, foi observado uma tendência no aumento da produção IL-33. Essa citocina consegue, a partir do seu receptor ST2, ativar as células efetoras de perfil Th2, como mastócitos e eosinófilos, aumentando a desgranulação e sobrevivência dessas células (Amin et al., 2020). Em pacientes com rinite, foi observado uma correlação positiva entre a os níveis de IL-33 e a quantidade de proteína catiônica eosinofílica no soro dos pacientes, mostrando que a citocina pode ter papel no processo de inflamação das vias aéreas superiores (Amin et al., 2020). Em modelos de ratos, a administração exógena de IL-33 piorou os sintomas alérgicos, causando hiperresponsividade pulmonar, pelo estímulo à produção de ILC2, mastócitos, basófilos e eosinófilos e consequentemente, a liberação de quimiocinas, citocinas pró inflamatórias(IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13), proteases e histamina (Cayrol et al., 2017; Molofsky et al., 2015).

Por outro lado, mutações genéticas que inibem a função da citocina, resultam na redução do número de eosinófilos no sangue, assim como na ação protetiva contra a asma (Smith et al., 2017). Essa ação também foi observada pelo uso do anticorpo monoclonal itepekimab que tem como alvo a IL-33, em pacientes asmáticos (Kosloski et al., 2021). Portanto, fica evidenciado que níveis mais baixos de IL-33 estão relacionados à atenuação da resposta inflamatória. Apesar de ter sido observado aumento da produção da citocina no grupo NA, nos grupos alérgicos (ANT e AT) essa produção teve uma tendência diminuída, mostrando assim que o AgSv tem potencial para regular a resposta Th2 em indivíduos sintomáticos. A expressão de TNF foi também reduzida pelo estímulo de AgSv no grupo AT, auxiliando nas evidências desse potencial regulatório, uma vez que níveis mais baixos dessa citocina auxiliam na melhora na função pulmonar e na redução dos processos inflamatórios em crianças asmáticas (Steelant et al., 2019). Além disso, o tratamento em modelos de murino voltados para supressão da expressão de TNF mostrou capacidade de restaurar a integridade da barreira das mucosas nasais dos animais, evidenciando que menores níveis de TNF ajuda na resistência contra a exposição de alérgenos ambientais (Li et al., 2021).

Para análises dos perfis de citocinas, também subcategorizamos cada um dos grupos em atópicos e não atópicos, com base na reatividade do *prick test*. Novamente, os resultados

mostraram mais uma vez que o AgSv possui tendências a induzir ou suprimir a produção de citocinas. Em todos os grupos, a liberação da citocina inflamatória (IL-6) foi maior, pelo estímulo com AgSv. Outras citocinas inflamatórias também apresentaram produção aumentada, como no subgrupo NA não atópicos (IL-17A e IL-33) e no ANT atópico (IFN- γ). Contudo, também pudemos notar a tendência a regulação da resposta Th2, como observado anteriormente, principalmente para o grupo AT.

Com relação a IL-10, observamos uma tendência de maior produção de IL-10 em todos os subgrupos de indivíduos atópicos (NA, ANT e AT) quando estimulados com AgSv. No grupo AT atópico, observamos a redução da produção de citocinas inflamatórias TNF, IFN- γ , IL-33 (assim como no subgrupo ANT atópico) e IL-17A. Níveis altos de IL-17A amplificam a expressão de quimiocinas, moléculas de adesão celular (G-CSF, GM-CSF e TNF) e de outras citocinas inflamatórias (IL-6, IL-8 e IL-11), contribuindo para o aumento da quantidade de eosinófilos nas vias aéreas (Al-Kufaidy et al., 2017; Newcomb et al., 2013). Além disso, aumenta a atividade das células dendríticas e a produção de IgE pelos linfócitos B em pacientes alérgicos (Amin et al., 2020; Jirmo et al., 2020). Em modelos de murino, foi observado que níveis mais baixos da citocina ocasionaram a mitigação dos sintomas da asma (Jirmo et al., 2020). No grupo ANT também observamos o papel regulador do antígeno a partir do aumento da produção de IL-10 e diminuição de IL-33.

Neste trabalho, identificamos como viés a dificuldade de classificar os pacientes usando apenas o questionário ISAAC. Reconhecemos que seria necessário o uso de outros parâmetros como IgE anti-*Ascaris*, anti-*Derp* e anti-*Blomia*, como já foi realizado por outros trabalhos (Nobrega et al., 2020; Fontenele et al., 2023). Também não foi possível realizar o exame parasitológico para verificar se os indivíduos apresentaram memória imunológica contra *Strongyloides* spp.

Pela primeira vez foi avaliado a utilização de antígenos de *S. venezuelensis* solúveis em cultura *in vitro*. Foi encontrada tendência no aumento da produção de IL-6 e IL-10 frente a estimulação com AgSv em todos os grupos, enquanto que, nos grupos alérgicos, observamos tendência de diminuição da produção de citocinas inflamatórias, como TNF- α e IL-33. Ao separarmos os grupos em atópicos, observamos que nesses, o antígeno também tendeu a aumentar a produção de IL-10 e IL-6, enquanto diminuiu a produção de citocinas inflamatórias, nos grupos dos alérgicos, como a IL-17A, IFN- γ , TNF- α e IL-33.

8. CONCLUSÃO

A partir do soro dos pacientes, foi observada uma baixa produção basal das citocinas. Para o grupo AT, observamos maior produção da citocina atenuadora da resposta Th2, a IL-2 da citocina inflamatória TNF. Evidencia-se, deste modo, que a resposta desenvolvida pela imunoterapia, que visa a minimização das reações alérgicas, ainda não é a ideal dentro do grupo.

O antígeno de *S. venezuelensis*, ao estimular as PBMCs, mostrou tendência no aumento da produção de IL-6 e da citocina anti-inflamatória IL-10, assim como da diminuição de TNF e IL-33 (inflamatórias). Subdividindo os grupos em atópicos e não atópicos, no primeiro grupo observamos tendência de aumento de produção da IL-10 e IL-6, enquanto diminui a produção de citocinas inflamatórias, nos grupos dos alérgicos, como a IL-17A, IFN- γ , TNF- α e IL-33. No grupo dos não atópicos e não alérgicos, observamos um aumento na produção de citocinas inflamatórias, como a IL-17A e IL-33. Mostrando assim o potencial imunomodulador do AgSv.

9. REFERÊNCIAS

- ABBAS, Ghazanfar et al. Molecular detection of *Strongyloides* sp. in Australian Thoroughbred foals. **Parasites & vectors**, v. 14, n. 1, p. 1-7, 2021.
- ALBARQI, Mennatallah MY et al. Regulation of life cycle checkpoints and developmental activation of infective larvae in *Strongyloides stercoralis* by dafachronic acid. **PLoS pathogens**, v. 12, n. 1, p. e1005358, 2016.
- ALCÂNTARA-NEVES, Neuza Maria et al. Effects of helminth co-infections on atopy, asthma and cytokine production in children living in a poor urban area in Latin America. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2014.
- AL-KUFAIDY, Roua et al. IL-17 enhances the migration of B cells during asthma by inducing CXCL13 chemokine production in structural lung cells. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 139, n. 2, p. 696-699. e5, 2017.
- ALLEN, Judith E.; SUTHERLAND, Tara E. Host protective roles of type 2 immunity: parasite killing and tissue repair, flip sides of the same coin. In: Seminars in immunology. **Academic Press**, 2014. p. 329-340.
- AL-SAJEE, Dhuha et al. Expression of IL-33 and TSLP and their receptors in asthmatic airways after inhaled allergen challenge. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 198, n. 6, p. 805-807, 2018.
- ALVES, Camile LS et al. Immunomodulatory properties of *Schistosoma mansoni* proteins Sm200 and SmKI-1 in vitro and in a murine model of allergy to the mite *Blomia tropicalis*. **Molecular Immunology**, v. 124, p. 91-99, 2020.
- ALWESAIBIE, Sami et al. THE IMPACT OF ALLERGIC RHINITIS ON QUALITY OF LIFE AND ITS. **Medicine**, v. 2, p. 8808-6296, 2023
- AMICI, Mara et al. Variations in serum levels of interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-6, and tumor necrosis factor- α during specific immunotherapy. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 86, n. 3, p. 311-313, 2001.
- AMIN, Kawa et al. Evidence for eosinophil and IL-17 mediated inflammation in allergic rhinitis. **Clinical and Molecular Allergy**, v. 18, n. 1, p. 1-7, 2020.
- AMORIM, Amanda; MENEZES, Ana M.F.; LOPES, Cássia M.R... ASPECTOS CLÍNICOS DAS ESTRONGILOIDÍASE, UMA ATUALIZAÇÃO
BIBLIOGRÁFICA. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 2, n. 1, p. 50-50, 2021.
- ANTHONY, Robert M. et al. Protective immune mechanisms in helminth infection. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 12, p. 975-987, 2007.
- AOYAMA, Hajime et al. An inverse relationship between autoimmune liver diseases and *Strongyloides stercoralis* infection. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 76, n. 5, p. 972-976, 2007.
- ARAÚJO, Ester et al. Beneficial effects of *Strongyloides venezuelensis* antigen extract in acute experimental toxoplasmosis. **Parasite Immunology**, v. 43, n. 4, p. e12811, 2021.

ARINOBU, Yojiro et al. Developmental checkpoints of the basophil/mast cell lineages in adult murine hematopoiesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 50, p. 18105-18110, 2005.

BABU, Subash et al. Filarial lymphedema is characterized by antigen-specific Th1 and th17 proinflammatory responses and a lack of regulatory T cells. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 3, n. 4, p. e420, 2009.

BACHUS, Holly et al. IL-6 prevents Th2 cell polarization by promoting SOCS3-dependent suppression of IL-2 signaling. *Cellular & Molecular Immunology*, p. 1-15, 2023.

BHUMBLA, Upasana et al. Current scenario of dwarf threadworm, *Strongyloides stercoralis* infections in Southern Rajasthan, a systemic review. **morbidity and mortality**, v. 2, p. 3.

BISCHOFF, Stephan C. Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 2, p. 93- 104, 2007.

BISOFFI, Zeno et al. Diagnostic accuracy of five serologic tests for *Strongyloides stercoralis* infection. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 1, p. e2640, 2014.

BISOFFI, Zeno et al. *Strongyloides stercoralis*: a plea for action. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 5, p. e2214, 2013.

BONNE-ANNÉE, Sandra; HESS, Jessica A.; ABRAHAM, David. Innate and adaptive immunity to the nematode *Strongyloides stercoralis* in a mouse model. **Immunologic research**, v. 51, n. 2, p. 205-214, 2011.

BOUSQUET, Jean et al. Allergic rhinitis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, n. 1, p. 95, 2020.

BOUSQUET, Jean. Allergy and asthma: from the bedside to the bench and international actions. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej**, v. 118, n. 6, p. 363-366, 2008.

BRANCHETT, William J. et al. AT cell–myeloid IL-10 axis regulates pathogenic IFN- γ –dependent immunity in a mouse model of type 2–low asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 145, n. 2, p. 666-678. e9, 2020.

BRASIL. Ministério da saúde. Doenças Respiratórias Crônicas - 2010. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doencas_respiratorias_cronicas.pdf > Acesso em: 25 de outubro de 2019.

BRITO, Thaís de Sá et al. Mortalidade por asma no Brasil, 1980-2012: uma perspectiva regional. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, p. 354-360, 2018.

BROWN, Richard C.; GIRARDEAU, H. F. Transmammary passage of *Strongyloides* sp. larvae in the human host. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 26, n. 2, p. 215-219, 1977.

BUONFRATE, Dora et al. Novel approaches to the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 6, p. 543-552, 2015.

BUONFRATE, Dora et al. The global prevalence of *Strongyloides stercoralis* infection.

Pathogens, v. 9, n. 6, p. 468, 2020.

CADMAN, Emma T.; LAWRENCE, R. A. Granulocytes: effector cells or immunomodulators in the immune response to helminth infection?. **Parasite immunology**, v. 32, n. 1, p. 1-19, 2010.

CALZADA, David. et al. Immunological mechanisms in allergic diseases and allergen tolerance: the role of treg cells. **Journal of Immunology Research**, v. 2018, 2018

CAMARGO, Luis Fernando A. et al. Schistosomiasis and Strongyloidiasis recommendations for solid-organ transplant recipients and donors. **Transplantation**, v. 102, n. 2S, p. S27-S34, 2018.

CAMELO-NUNES, Inês Cristina; SOLÉ, Dirceu. Rinite alérgica: indicadores de qualidade de vida. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 36, p. 124-133, 2010.

CARABALLO, Luis; ACEVEDO, Nathalie. Allergy in the tropics: the impact of cross-reactivity between mites and ascaris. **Frontiers in Bioscience-Elite**, v. 3, n. 1, p. 51-64, 2011.

CARDOSO, Luciana S. et al. Risk factors for asthma in a helminth endemic area in bahia, Brazil. **Journal of parasitology research**, v. 2012, 2012.

CARDOSO, Luciana S. et al. *Schistosoma mansoni* antigen-driven interleukin-10 production in infected asthmatic individuals. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, p. 339-343, 2006.

CARDOSO, Thiago de Araujo et al. Impacto da asma no Brasil: análise longitudinal de dados extraídos de um banco de dados governamental brasileiro. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 43, p. 163-168, 2017.

CAYROL, Corinne; GIRARD, Jean-Philippe. Interleukin-33 (IL-33): a nuclear cytokine from the IL-1 family. **Immunological reviews**, v. 281, n. 1, p. 154-168, 2018.

Centers for Disease Control and Prevention. Parasitesd Strongyloides Resources for Health Professionals. 2016. https://www.cdc.gov/parasites/strongyloides/health_professionals/index.html#tx. Accessed October 11, 2018.

CHANG, Nan-Chi A. et al. A macrophage protein, Ym1, transiently expressed during inflammation is a novel mammalian lectin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n.20, p. 17497-17506, 2001.

CIMERMAN, Benjamin; CIMERMAN, Sérgio. Cimerman: parasitologia humana e seus fundamentos gerais. In: **Cimerman: parasitologia humana e seus fundamentos gerais**.2005. p. 390-390.

COHON, A.; PORTO NETO, A.C.; GALVÃO, C. et al. Imunoterapia AlérgenoEspecífica. Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia / Sociedade Brasileira de Pediatria. Julho de 2011.

CONROY, Dolores M.; WILLIAMS, Timothy J. Eotaxin and the attraction of eosinophils to the asthmatic lung. **Respiratory research**, v. 2, n. 3, p. 1-7, 2001.

COOMES, S. M. et al. CD4+ Th2 cells are directly regulated by IL-10 during allergic airway

inflammation. **Mucosal immunology**, v. 10, n. 1, p. 150-161, 2017.

COSTA, Eduardo et al. Estimativa de custo da asma em tratamento ambulatorial: estudo com dados de mundo real. **Revista de Saúde Pública**, v. 52, p. 27, 2018.

CRAIG, Jonathan. M.; SCOTT, Alan. L. Helminths in the lungs. **Parasite immunology**, v. 36, n. 9, p. 463-474, 2014

CULLEY, Fiona J. et al. Eotaxin is specifically cleaved by hookworm metalloproteases preventing its action *in vitro* and *in vivo*. **The Journal of Immunology**, v. 165, n. 11, p.6447-6453, 2000.

DANIŁOWICZ-LUEBERT, Emilia et al. Modulation of specific and allergy-related immune responses by helminths. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2011,2011.

DE AMICI, Mara et al. Variations in serum levels of interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-6, and tumor necrosis factor- α during specific immunotherapy. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 86, n. 3, p. 311-313, 2001.

DE BONA, Sheila; BASSO, Rita Maria Callegari. Hiperinfecção por *Strongyloides stercoralis* associada ao uso crônico de corticosteróide. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, n. 4, p. 247-250, 2008.

DE LIBERATO, Claudio et al. *Strongyloides stercoralis* in a dog litter: Evidence suggesting a transmammary transmission. **Acta Tropica**, v. 231, p. 106465, 2022.

DEAN, David A.; WISTAR, Richard; MURRELL, K. Darwin. Combined *in vitro* effects of rat antibody and neutrophilic leukocytes on schistosomula of *Schistosoma mansoni*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 23, n. 3, p. 420-428, 1974.

DIGIULIO, Mary. Strongyloidiasis. **The Journal for Nurse Practitioners**, v. 15, n. 6, p. 438-443, 2019.

DITGEN, Dana et al. Harnessing the helminth secretome for therapeutic immunomodulators. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

DOLO, Housseini et al. Filariasis attenuates anemia and proinflammatory responses associated with clinical malaria: a matched prospective study in children and young adults. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 11, p. e1890, 2012.

DONG, Yuanji; ZHONG, Jixin; DONG, Lingli. IL-33 in rheumatic diseases. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 739489, 2021.

DRAZDAUSKAITĖ, Gabija; LAYHADI, Janice A.; SHAMJI, Mohamed H. Mechanisms of allergen immunotherapy in allergic rhinitis. **Current allergy and asthma reports**, v. 21, p. 1-17, 2021.

DU, Wen-Yuan et al. IL-33 mediates the expressions of IL-5 and IL-13 in *Angiostrongylus cantonensis*-infected mice. **Experimental parasitology**, v. 135, n. 3, p.587-594, 2013.

DULLAERS, Melissa et al. The who, where, and when of IgE in allergic airway disease.

Journal of Allergy and Clinical Immunology, v. 129, n. 3, p. 635-645, 2012.

DURHAM, Stephen R.; SHAMJI, Mohamed H. Allergen immunotherapy: past, present and future. **Nature Reviews Immunology**, v. 23, n. 5, p. 317-328, 2023.

EGUILUZ-GRACIA, Ibon et al. The need for clean air: the way air pollution and climate change affect allergic rhinitis and asthma. **Allergy**, v. 75, n. 9, p. 2170-2184, 2020.

EHRENS, Alexandra et al. Microfilariae trigger eosinophil extracellular DNA traps in a dectin-1-dependent manner. **Cell reports**, v. 34, n. 2, p. 108621, 2021.

ERWIN, Elizabeth A.; PLATTS-MILLS, Thomas AE. Pets in the home: Impact on allergic disease. **Uptodate**. Aug, 2022.

EVANS, Holly et al. Ten Weeks of Infection with a Tissue-Invasive Helminth Protects against Local Immune Complex-Mediated Inflammation, but Not Cutaneous Type I Hypersensitivity, in Previously Sensitized Mice. **The Journal of Immunology**, v. 195, n. 7, p. 2973-2984, 2015.

EVERTS, Bart et al. Helminths and dendritic cells: sensing and regulating via pattern recognition receptors, Th2 and Treg responses. **European journal of immunology**, v. 40, n. 6, p. 1525-1537, 2010.

FALDUTO, Guido H. et al. *Trichinella spiralis*: killing of newborn larvae by lung cells. **Parasitology research**, v. 114, n. 2, p. 679-685, 2015.

FATTAH, Dilniya I. et al. *Toxocara canis*: interaction of human blood eosinophils with the infective larvae. **Experimental parasitology**, v. 61, n. 3, p. 421-431, 1986.

FIGUEIREDO, Camila Alexandrina et al. Chronic intestinal helminth infections are associated with immune hyporesponsiveness and induction of a regulatory network. **Infection and immunity**, v. 78, n. 7, p. 3160-3167, 2010.

FINLAY, Conor M.; WALSH, Kevin P.; MILLS, Kingston HG. Induction of regulatory cells by helminth parasites: exploitation for the treatment of inflammatory diseases. **Immunological reviews**, v. 259, n. 1, p. 206-230, 2014.

FITZSIMMONS, Colin M.; DUNNE, David W. Survival of the fittest: allergology or parasitology?. **Trends in parasitology**, v. 25, n. 10, p. 447-451, 2009.

FONTENELE, Ana Lúcia Arruda et al. Respiratory allergy symptoms and cytokine profiles in the presence of anti-*Ascaris* antibody in *Giardia lamblia*-infected children. **Parasitology Research**, v. 122, n. 12, p. 3147-3158, 2023.

GALIOTO, Ann Marie et al. Role of eosinophils and neutrophils in innate and adaptive protective immunity to larval *Strongyloides stercoralis* in mice. **Infection and immunity**, v. 74, n. 10, p. 5730-5738, 2006.

GALVÃO, C.E.S; CASTRO, F.F.M. As alergias respiratórias. *Rev Med (São Paulo)*. 2005 jan.-mar.;84(1):18- 24.

GAUSE, William C.; WYNN, Thomas A.; ALLEN, Judith E. Type 2 immunity and wound healing: evolutionary refinement of adaptive immunity by helminths. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 8, p. 607-614, 2013.

GAZZINELLI-GUIMARAES, Pedro H.; NUTMAN, Thomas B. Helminth parasites and immune regulation. **F1000Research**, v. 7, 2018..

GERBE, François et al. Intestinal epithelial tuft cells initiate type 2 mucosal immunity to helminth parasites. **Nature**, v. 529, n. 7585, p. 226-230, 2016.

GIGON, Lea et al. Eosinophils from A to Z. **Allergy**, 2023.

GLOBAL ASTHMA NETWORK (GAN). The Global Asthma Report Asthma may affect as many as. Auckland (NZ): [s.n.].

GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. [s.l: s.n.].

GOLEBSKI, Korneliusz et al. Induction of IL-10-producing type 2 innate lymphoid cells by allergen immunotherapy is associated with clinical response. **Immunity**, v. 54, n. 2, p. 291-307. e7, 2021.

GOMES, Bruna Barroso et al. Evaluation of larval surface antigens from infective larvae of *Strongyloides venezuelensis* for the serodiagnosis of human strongyloidiasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 65, 2023.

GONÇALES, Juliana P. et al. Cytokine production in allergic and *Trichuris trichiura*-infected children from an urban region of the Brazilian northeast. **Parasitology international**, v. 74, p. 101918, 2020.

GONZÁLEZ-HORNA, Poll J.; IGLESIAS-OSORES, Sebastian A. Morfología de *Strongyloides stercoralis*. **Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo**, v. 10, n. 3, p. 169-170, 2017.

GOODRIDGE, Helen S. et al. Immunomodulation via novel use of TLR4 by the filarial nematode phosphorylcholine-containing secreted product, ES-62. **The Journal of Immunology**, v. 174, n. 1, p. 284-293, 2005.

GORELIK, Leonid; CONSTANT, Stephanie; FLAVELL, Richard A. Mechanism of transforming growth factor β -induced inhibition of T helper type 1 differentiation. **The Journal of experimental medicine**, v. 195, n. 11, p. 1499-1505, 2002.

GREAVES, Daniel et al. *Strongyloides stercoralis* infection. **Bmj**, v. 347, 2013.

GREEN, Ruth H. et al. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. **Thorax**, v. 57, n. 10, p. 875-879, 2002

GREENFEDER, Scott et al. Th2 cytokines and asthma the role of interleukin-5 in allergic eosinophilic disease. **Respiratory research**, v. 2, n. 2, p. 1-9, 2001.

GROGAN, Jane L. et al. Antigen-specific proliferation and interferon- γ and interleukin-5 production are down-regulated during *Schistosoma haematobium* infection. **The Journal of**

infectious diseases, v. 177, n. 5, p. 1433-1437, 1998.

GROVE, D. I. Human strongyloidiasis. **Advances in parasitology**, v. 38, p. 251-309, 1996.

HAGEL, Isabel et al. Infection by *Ascaris lumbricoides* and bronchial hyper reactivity: an outstanding association in Venezuelan school children from endemic areas. **Acta tropica**, v. 103, n. 3, p. 231-241, 2007.

HALIM, Timotheus YF et al. Tissue-restricted adaptive type 2 immunity is orchestrated by expression of the costimulatory molecule OX40L on group 2 innate lymphoid cells. **Immunity**, v. 48, n. 6, p. 1195-1207. e6, 2018.

HALLIT, Souheil et al. Prevalence of asthma, its correlates, and validation of the Pre- School Asthma Risk Factors Scale (PS-ARFS) among preschool children in Lebanon. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 49, n. 1, p. 40-49, 2021.

HAMMAD, Hamida; LAMBRECHT, Bart N. Barrier epithelial cells and the control of type 2 immunity. **Immunity**, v. 43, n. 1, p. 29-40, 2015.

HARRIS, Julie R.; HOTEZ, Peter J. Intestinal nematodes. In: **Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases**. Elsevier, 2018. p. 1373-1381. e3.

HARRIS, Nicola L. et al. Recent advances in type-2-cell-mediated immunity: insights from helminth infection. **Immunity**, v. 47, n. 6, p. 1024-1036, 2017.

HASEGAWA, Hideo et al. Molecular identification of the causative agent of human strongyloidiasis acquired in Tanzania: dispersal and diversity of *Strongyloides* spp. and their hosts. **Parasitology international**, v. 59, n. 3, p. 407-413, 2010.

HAYS, Russell et al. Does *Strongyloides stercoralis* infection protect against type 2 diabetes in humans? Evidence from Australian Aboriginal adults. **Diabetes research and clinical practice**, v. 107, n. 3, p. 355-361, 2015.

HEATH, Victoria. et al. Checkpoints in the regulation of T helper 1 responses. **The Interface Between Innate and Acquired Immunity**, p. 23-39, 2002.

HEPWORTH, Matthew R.; MAURER, Marcus; HARTMANN, Susanne. Regulation of type 2 immunity to helminths by mast cells. **Gut microbes**, v. 3, n. 5, p. 476-481, 2012.

HEWITSON, James P.; GRAINGER, John R.; MAIZELS, Rick M. Helminth immunoregulation: the role of parasite secreted proteins in modulating host immunity. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 167, n. 1, p. 1-11, 2009.

HOLGATE, Stephen T. Pathogenesis of asthma. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 38, n. 6, p. 872-897, 2008.

HOWITT, Michael R. et al. Tuft cells, taste-chemosensory cells, orchestrate parasite type 2 immunity in the gut. **Science**, v. 351, n. 6279, p. 1329-1333, 2016.

HU, Peter; HEGDE, Madhuri; LENNON, Patrick Alan (Ed.). Modern clinical molecular

techniques. **Springer Science & Business Media**, 2012.

HUMBERT, Marc et al. IgE-mediated multimorbidities in allergic asthma and the potential for omalizumab therapy. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, v. 7, n. 5, p. 1418-1429, 2019.

IGLESIAS-OSORES, Sebastian A.. Strongyloides stercoralis en Hospital Regional Lambayeque. **Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque:REM**, v. 3, n. 4, p. 177-178, 2017.

INÊS, Elizabeth J.. **Infecção por *S. stercoralis* e biomarcadores em pacientes alcoolistas e análise proteômica de fator excretado/secretado de *Strongyloides***. Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas (Universidade Federal da Bahia). 2016.

IRIEMENAM, Nnaemeka C. et al. *Strongyloides stercoralis* and the immune response. *Parasitology international*, v. 59, n. 1, p. 9-14, 2010.

JIRMO, Adan Chari et al. IL-17 regulates DC migration to the peribronchial LNs and allergen presentation in experimental allergic asthma. **European journal of immunology**, v. 50, n. 7, p. 1019-1033, 2020.

JONES, Jefferson M. Notes from the field: strongyloidiasis at a long-term-care facility for the developmentally disabled—Arizona, 2015. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, 2016.

JUTEL, Marek et al. International consensus on allergy immunotherapy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 136, n. 3, p. 556-568, 2015.

KABESCH, Michael; LAUENER, Roger P. Why Old McDonald had a farm but no allergies: genes, environments, and the hygiene hypothesis. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 75, n. 3, p. 383-387, 2004.

KALANTARI, Narges et al. Serological assays for the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 114, n. 6, p. 459-469, 2020.

KANSEN, Hannah M. et al. Risk factors for atopic diseases and recurrent respiratory tract infections in children. **Pediatric Pulmonology**, v. 55, n. 11, p. 3168-3179, 2020.

KANY, Shinwan; VOLLRATH, Jan Tilmann; RELJA, Borna. Cytokines in inflammatory disease. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 23, p. 6008, 2019.

KÄRNER, J. et al. Increased micro RNA-323-3p in IL-22/IL-17-producing T cells and asthma: A role in the regulation of the TGF- β pathway and IL-22 production. **Allergy**, v. 72, n. 1, p. 55-65, 2017.

KASSALIK, Marco; MÖNKEMÜLLER, Klaus. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection syndrome and disseminated disease. **Gastroenterology & Hepatology**, v. 7, n. 11, p. 766, 2011.

KATAWA, Gnatoulma et al. Hyperreactive onchocerciasis is characterized by a combination of Th17-Th2 immune responses and reduced regulatory T cells. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 1, p. e3414, 2015.

KEISER, Paul B.; NUTMAN, Thomas B. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. **Clinical microbiology reviews**, v. 17, n. 1, p. 208- 217, 2004.

KOBORI, Ayako et al. Interleukin-33 expression is specifically enhanced in inflamed mucosa of ulcerative colitis. **Journal of gastroenterology**, v. 45, p. 999-1007, 2010.

KORDULEWSKA, Natalia Karolina et al. Cytokines concentrations in serum samples from allergic children—Multiple analysis to define biomarkers for better diagnosis of allergic inflammatory process. **Immunobiology**, v. 223, n. 11, p. 648-657, 2018.

KORTEN, Simone et al. Natural death of adult *Onchocerca volvulus* and filaricidal effects of doxycycline induce local FOXP3+/CD4+ regulatory T cells and granzyme expression. **Microbes and infection**, v. 10, n. 3, p. 313-324, 2008.

KOSLOSKI, Matthew P. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of itepekimab in healthy adults and patients with asthma: Phase I first-in-human and first-in-patient trials. **Clinical and Translational Science**, v. 15, n. 2, p. 384-395, 2022.

KREIDER, Timothy et al. Alternatively activated macrophages in helminth infections. **Current opinion in immunology**, v. 19, n. 4, p. 448-453, 2007.

KUSCHNIR, Fábio Chigres et al. ERICA: prevalência de asma em adolescentes brasileiros. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, 2016.

LAIGNIER, Elisa R. **Diagnóstico de *Strongyloides stercoralis* a partir da análise de sedimento obtido com dez ou mais gramas de fezes: proposta de um método com uso de microscópio invertido**. Mestrado em Doenças Infecciosas (Universidade Federal do Espírito Santo). 2011

LAMBRECHT, Bart N. Dendritic cells and the regulation of the allergic immuneresponse. **Allergy**, v. 60, n. 3, p. 271-282, 2005.

LANGE, Anna Marie et al. IL-4-and IL-5-dependent protective immunity to *Onchocerca volvulus* infective larvae in BALB/cBYJ mice. **The Journal of Immunology**, v. 153, n.1, p. 205-211, 1994.

LARCHÉ, Mark; AKDIS, Cezmi A.; VALENTA, Rudolf. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. **Nature Reviews Immunology**, v. 6, n. 10, p. 761- 771, 2006.

LE, M. et al. Single donor-derived strongyloidiasis in three solid organ transplant recipients: case series and review of the literature. **American Journal of Transplantation**, v. 14, n. 5, p. 1199-1206, 2014.

LEE, James J.; LEE, N. A. Eosinophil degranulation: an evolutionary vestige or a universally destructive effector function?. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 35, n. 8, p. 986-994, 2005.

LEEMAN, Benjamin J.; CABRERA, Manuel R. No association found between *Strongyloides* infestation and asthma. **Journal of Asthma**, v. 32, n. 1, p. 57-62, 1995.

LEONARDI-BEE, Jo et al. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review

and meta-analysis. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 174, n. 5, p. 514-523, 2006.

LI, Peiting et al. The immuno-modulatory activities of pentaherbs formula on ovalbumin-induced allergic rhinitis mice via the activation of Th1 and Treg cells and inhibition of Th2 and Th17 cells. **Molecules**, v. 27, n. 1, p. 239, 2021.

LIGAS, Jessica A. et al. Specificity and Mechanism of Immunoglobulin M (IgM)-and IgG-Dependent Protective Immunity to Larval *Strongyloides stercoralis* in Mice. **Infection and immunity**, v. 71, n. 12, p. 6835-6843, 2003.

LIN, Yeah-Lih. et al. The functional insufficiency of human CD4⁺ CD25^{high} T- regulatory cells in allergic asthma is subjected to TNF- α modulation. **Allergy**, v. 63, n. 1, p. 67-74, 2008.

LINK, Christopher WM et al. IL-2-Agonist-Induced IFN- γ Exacerbates Systemic Anaphylaxis in Food Allergen-Sensitized Mice. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 596772, 2020.

LOCKSLEY, Richard M. Asthma and allergic inflammation. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 777- 783, 2010.

LONG, Shao Rong et al. Immune protection of a helminth protein in the DSS-induced colitis model in mice. **Frontiers in immunology**, v. 12, p. 664998, 2021.

LOWERY, Elizabeth P. et al. Quality of life of adults with workplace exacerbation of asthma. **Quality of Life Research**, v. 16, n. 10, p. 1605-1613, 2007.

LU, Ling; BARBI, Joseph; PAN, Fan. The regulation of immune tolerance by FOXP3. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 11, p. 703-717, 2017.

LUNDIE, Rachel J. et al. A central role for hepatic conventional dendritic cells in supporting Th2 responses during helminth infection. **Immunology and cell biology**, v. 94, n. 4, p. 400-410, 2016.

MACBETH, Morgan et al. Plasticity of Naturally Occurring Regulatory T Cells in Allergic Airway Disease Is Modulated by the Transcriptional Activity of Il-6. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 9, p. 4582, 2021.

MACDONALD, Andrew S. et al. Cutting edge: Th2 response induction by dendritic cells: a role for CD40. **The Journal of Immunology**, v. 168, n. 2, p. 537-540, 2002.

MAIZELS, Rick M. Regulation of immunity and allergy by helminth parasites. **Allergy**, v. 75, n. 3, p. 524-534, 2020.

MAIZELS, Rick M.; MCSORLEY, Henry J. Regulation of the host immune system by helminth parasites. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 138, n. 3, p. 666- 675, 2016.

MALPICA, Luis et al. Regulatory T cells and IgE expression in duodenal mucosa of *Strongyloides stercoralis* and human T lymphotropic virus type 1 co-infected patients. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 6, p. e0007415, 2019.

MARTIN, Coralie et al. Drastic reduction of a filarial infection in eosinophilic interleukin-5 transgenic mice. **Infection and immunity**, v. 68, n. 6, p. 3651-3656, 2000.

MARTIN, Ivelisse et al. Fasciola hepatica fatty acid binding protein inhibits TLR4 activation and suppresses the inflammatory cytokines induced by lipopolysaccharide in vitro and in vivo. **The Journal of Immunology**, v. 194, n. 8, p. 3924-3936, 2015.

MARVIE, Pierrick et al. Interleukin-33 overexpression is associated with liver fibrosis in mice and humans. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 14, n. 6b, p. 1726- 1739, 2010.

MCCOY, Kathy D.; KÖLLER, Yasmin. New developments providing mechanistic insight into the impact of the microbiota on allergic disease. **Clinical immunology**, v. 159, n. 2, p. 170-176, 2015.

MCSORLEY, Henry J.; CHAYÉ, Mathilde AM; SMITS, Hermelijn H. Worms: pernicious parasites or allies against allergies?. **Parasite immunology**, v. 41, n. 6, p. e12574, 2019.

MEDEIROS JR, Manoel et al. Schistosoma mansoni infection is associated with a reduced course of asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 111, n. 5, p. 947-951, 2003.

MEILER, Flurina et al. Distinct regulation of IgE, IgG4 and IgA by T regulatory cells and toll-like receptors. **Allergy**, v. 63, n. 11, p. 1455-1463, 2008.

MENG Yifan; WANG, Chengshuo; ZHANG, Luo. Recent developments and highlights in allergic rhinitis. **Allergy**. 2019;74:2320-2328.

METENOU, Simon et al. At homeostasis filarial infections have expanded adaptive T regulatory but not classical Th2 cells. **The Journal of Immunology**, v. 184, n. 9, p. 5375-5382, 2010.

MITRE, Edward; CHIEN, Daniel; NUTMAN, Thomas B. CD4+ (and not CD25+) T cells are the predominant interleukin-10-producing cells in the circulation of filaria-infected patients. **The Journal of infectious diseases**, v. 197, n. 1, p. 94-101, 2008.

MITRE, Edward; KLION, Amy. D. Eosinophils and helminth infection: protective or pathogenic?. In: **Seminars in Immunopathology**. Springer Berlin Heidelberg, 2021. p. 363-381.

MIYARA, Makoto et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. **Immunity**, v. 30, n. 6, p. 899- 911, 2009.

MOBERGSLIEN, Anne; SIOUD, Mouldy. Exosome-derived miRNAs and cellular miRNAs activate innate immunity. **Journal of Innate Immunity**, v. 6, n. 1, p. 105-110, 2014.

MOLOFSKY, Ari B.; SAVAGE, Adam K.; LOCKSLEY, Richard M. Interleukin-33 in tissue homeostasis, injury, and inflammation. **Immunity**, v. 42, n. 6, p. 1005-1019, 2015.

MONTES, Martin et al. Regulatory T cell expansion in HTLV-1 and strongyloidiasis co infection is associated with reduced IL-5 responses to *Strongyloides stercoralis* antigen. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 3, n. 6, p. e456, 2009.

MORAES, Ricardo. G. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da

estrongiloidíase no Brasil. **Rev Serv Espec Saúde Pública**, v. 1, p. 507-624, 1948.

MOTRAN, Claudia Cristina et al. Dendritic cells and parasites: from recognition and activation to immune response instruction. In: **Seminars in immunopathology**. Springer Berlin Heidelberg, 2017. p. 199-213.

MOTRAN, Claudia Cristina et al. Helminth infections: recognition and modulation of the immune response by innate immune cells. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 664, 2018.

NABHA, Linda et al. Prevalence of *Strongyloides stercoralis* in an urban US AIDS cohort. **Pathogens and global health**, v. 106, n. 4, p. 238-244, 2012

NACLERIO, Robert. Clinical manifestations of the release of histamine and other inflammatory mediators. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 103, n. 3, p. S382-S385, 1999.

NASCIMENTO, Wheverton C. et al. Immunomodulation of liver injury by *Ascaris suum* extract in an experimental model of autoimmune hepatitis. **Parasitology research**, v. 113, n. 9, p. 3309-3317, 2014.

NASCIMENTO, Wheverton R. C. et al. *Schistosoma mansoni* infection decreases IL-33-mRNA expression and increases CXCL9 and CXCL10 production by peripheral blood cells. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 211, n. 4, p. 211-218, 2022.

NASH, Theodore E.; GARCIA, Hector H. Diagnosis and treatment of neurocysticercosis. **Nature Reviews Neurology**, v. 7, n. 10, p. 584-594, 2011.

NEVES, D. P. et al. Parasitologia Humana. 13a edição. **Rio de Janeiro: Livraria Atheneu**, 2016.

NEWCOMB, Dawn C.; PEEBLES JR, R. Stokes. Th17-mediated inflammation in asthma. **Current opinion in immunology**, v. 25, n. 6, p. 755-760, 2013.

NIEDBALA, Wanda et al. IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells. **European journal of immunology**, v. 37, n. 11, p. 3021-3029, 2007.

NÓBREGA, Cassia et al. Cellular immune response of asthmatic children in the presence of anti-*Ascaris* antibody. **Immunobiology**, v. 225, n. 4, p. 151978, 2020.

NÓBREGA, Cassia Giselle et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with decreased risk of respiratory allergy symptoms and low production of CCL2. **Tropical Medicine & International Health**, v. 26, n. 9, p. 1098-1109, 2021.

NUNES, P.S. Rinite alérgica, imunoterapia e biomarcadores. 2019. Trabalho final. (mestrado em Medicina) – Faculdade de Medicina Lisboa, Clínica universitária de Otorrinolaringologista, Lisboa, 2019.

NWAORGU, O. C.; ONYALI, I. O. *Strongyloides papillosum*: prenatal and transmammary infection in ewes. **Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux**, v. 43, n. 4, p. 503-504, 1990.

OLIPHANT, Christopher J. et al. MHCII-mediated dialog between group 2 innatelymphoid cells and CD4+ T cells potentiates type 2 immunity and promotes parasitic helminth expulsion. **Immunity**, v. 41, n. 2, p. 283-295, 2014.

OLIVEIRA, Elisa Fontenelle de et al. Validation and reproducibility of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Written Atopic Eczema Questionnaire for telephone survey in children aged 6-7 years. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, p. 173-178, 2022.

OLIVEIRA, Luiz Carlos Marques de et al. Frequency of *Strongyloides stercoralis* infection in alcoholics. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 119-121, 2002.

OLIVEIRA, T. B. et al. Prevalence of asthma, allergic rhinitis and pollinosis in a city of Brazil: A monitoring study. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 48, n. 6, p. 537-544, 2020.

OLSEN, Annette et al. Strongyloidiasis—the most neglected of the neglected tropical diseases?. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 10, p. 967-972, 2009.

OSBOURN, Megan et al. HpARI protein secreted by a helminth parasite suppresses interleukin-33. **Immunity**, v. 47, n. 4, p. 739-751. e5, 2017.

OYESOLA, Oyebola O. et al. Cytokines and beyond: Regulation of innate immune responses during helminth infection. **Cytokine**, v. 133, p. 154527, 2020.

PACCIANI, Valentina et al. Induction of anergic allergen-specific suppressor T cells using tolerogenic dendritic cells derived from children with allergies to house dust mites. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 125, n. 3, p. 727-736, 2010.

PADIGEL, Udaikumar M. et al. Eosinophils act as antigen-presenting cells to induce immunity to *Strongyloides stercoralis* in mice. **Journal of Infectious Diseases**, v. 196, n. 12, p. 1844-1851, 2007.

PAGE, Wendy; JUDD, Jenni A.; BRADBURY, Richard S. The unique life cycle of *Strongyloides stercoralis* and implications for public health action. **Tropical medicine and infectious disease**, v. 3, n. 2, p. 53, 2018.

PALLIYALTHODI, Rafees Hassan et al. Minimum Allergen Screening Panel for Allergic Rhinitis in Bangalore: A Cross Sectional Study. **Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery**, p. 1-5, 2020.

PALOMARES, Oscar et al. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. **European journal of immunology**, v. 40, n. 5, p. 1232-1240, 2010.

PANDIYAN, Pushpa et al. CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4+ T cells. **Nature immunology**, v. 8, n. 12, p. 1353-1362, 2007.

PAULA, Fabiana. M.; COSTA-CRUZ, Julia. M. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. **Parasitology**, v. 138, n. 11, p. 1331-1340, 2011.

PENAGOS, Martin; DURHAM, Stephen R. Duration of allergen immunotherapy for inhalant allergy. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 19, n. 6, p.594-605, 2019.

PEREIRA, Mariana et al. Controlo da doença alérgica em indivíduos sob tratamento com imunoterapia com alérgenos subcutânea. **Rev Port Imunoalergologia**, v. 29, n. 1, p. 13-25, 2021.

PEREIRA, V.A.R.; AUN, W.C.T.; MELLO, J.F. Mecanismos da imunoterapia alérgenospecífica. *Arq Asma Alerg Imunol – Vol. 1. N° 3*, 2017

PHYTHIAN-ADAMS, Alexander T. et al. CD11c depletion severely disrupts Th2 induction and development in vivo. **Journal of Experimental Medicine**, v. 207, n. 10, p. 2089-2096, 2010.

PITCHON, Raquel Reis et al. Asthma mortality in children and adolescents of Brazil over a 20-year period. **Jornal de pediatria**, v. 96, p. 432-438, 2020.

POMARI, Elena et al. Identification of miRNAs of *Strongyloides stercoralis* L1 and iL3 larvae isolated from human stool. **Scientific reports**, v. 12, n. 1, p. 1-12, 2022

PUTHIYAKUNNON, Santhosh et al. Strongyloidiasis—an insight into its global prevalence and management. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 8, p. e3018, 2014.

QIN, Zi-Li et al. CysLT1R expression on ILC2s and effects of CysLT1R antagonist on ILC2 activity in patients with allergic rhinitis. **Allergy**, v. 75, n. 4, p. 977-981, 2020.

RAEDLER, Diana et al. Identification of novel immune phenotypes for allergic and nonallergic childhood asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n.1, p. 81-91, 2015.

RAMANATHAN, Roshan et al. A luciferase immunoprecipitation systems assay enhances the sensitivity and specificity of diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **The Journal of infectious diseases**, v. 198, n. 3, p. 444-451, 2008

REIMERT, Claus M. et al. Eosinophil activity in *Schistosoma mansoni* infections in vivo and *in vitro* in relation to plasma cytokine profile pre- and posttreatment with praziquantel. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 13, n. 5, p. 584-593, 2006.

ROCHA, Marco et al. 13011 Epidemiologic study: Focus on skin characteristics across Brazil regions and ethnicities. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 83, n. 6, p. AB114, 2020.

RODRIGUES, Vanessa Fernandes et al. Acute infection with *Strongyloides venezuelensis* increases intestine production IL-10, reduces Th1/Th2/Th17 induction in colon and attenuates dextran sulfate sodium-induced colitis in BALB/c mice. **Cytokine**, v. 111, p. 72-83, 2018.

RODRIGUES, Vanessa Fernandes et al. Infection by *Strongyloides venezuelensis* attenuates chronic colitis induced by Dextran Sodium Sulfate ingestion in BALB/c mice. **Immunobiology**, v. 226, n. 5, p. 152129, 2021.

ROSA, Tamine Jandrey. Imunoterapia específica para o tratamento de alergias respiratórias: uma revisão sobre seu uso. **Brazilian Journal of Clinical Analyses**, v.49, n. 4, p. 344-50, 2017.

ROTMAN, Harris L. et al. *Strongyloides stercoralis*: eosinophil-dependent immune-mediated

killing of third stage larvae in BALB/cByJ mice. **Experimental parasitology**, v. 82, n. 3, p. 267-278, 1996.

ROXBY, Alison C.; GOTTLIEB, Geoffrey S.; LIMAYE, Ajit P. Strongyloidiasis in transplant patients. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 49, n. 9, p. 1411, 2009.

RUGGIERI, Silvia et al. Sensitization to dust mite defines different phenotypes of asthma: A multicenter study. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 28, n. 7, p. 675-682, 2017.

SAKANO, Eulalia et al. IV Consenso Brasileiro sobre Rinite-atualização em rinitealérgica. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 84, p. 3-14, 2018.

SÁNCHEZ, Pilar R. et al. Endemic strongyloidiasis on the Spanish Mediterranean coast. **Qjm**, v. 94, n. 7, p. 357-363, 2001.

SÁNCHEZ-PALENCIA, Liz F. et al. Evaluation of the Immunomodulatory Effect of the Recombinant 14-3-3 and Major Antigen Proteins of *Strongyloides stercoralis* against an Infection by *S. venezuelensis*. **Vaccines**, v. 10, n. 8, p. 1292, 2022.

SANDGROUND, J. H. Speciation and specificity in the nematode genus *Strongyloides*. **The Journal of Parasitology**, v. 12, n. 2, p. 59-80, 1925.

SANTIAGO, Helton C. et al. Structural and immunologic cross-reactivity among filarial and mite tropomyosin: implications for the hygiene hypothesis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 127, n. 2, p. 479-486, 2011.

SANTIAGO, Helton da Costa et al. Structural differences between human proteins and aero- and microbial allergens define allergenicity. **PloS one**, v. 7, n. 7, p. e40552, 2012.

SANTOS, Felipe Moraes dos et al. Tendência da prevalência de asma autorreferida no Brasil de 2003 a 2013 em adultos e fatores associados à prevalência. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, p. 491-497, 2018.

SATOGUINA, Judith S. et al. T regulatory-1 cells induce IgG4 production by B cells: role of IL-10. **The Journal of Immunology**, v. 174, n. 8, p. 4718-4726, 2005.

SAVOURÉ, Marine et al. Worldwide prevalence of rhinitis in adults: A review of definitions and temporal evolution. **Clinical and translational allergy**, v. 12, n. 3, p. e12130, 2022.

SCHÄR, Fabian et al. *Strongyloides stercoralis*: global distribution and risk factors. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 7, p. e2288, 2013.

SCHMIT, Taylor et al. IL-6 deficiency exacerbates allergic asthma and abrogates the protective effect of allergic inflammation against *Streptococcus pneumoniae* pathogenesis. **The Journal of Immunology**, v. 205, n. 2, p. 469-479, 2020.

SCHNEIDER, Christoph et al. A metabolite-triggered tuft cell-ILC2 circuit drives small intestinal remodeling. **Cell**, v. 174, n. 2, p. 271-284. e14, 2018.

SCHNOELLER, Corinna et al. A helminth immunomodulator reduces allergic and inflammatory responses by induction of IL-10-producing macrophages. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 6, p. 4265-4272, 2008.

SHER, Alan; PEARCE, Edward; KAYE, Paul. Shaping the immune response to parasites: role of dendritic cells. **Current opinion in immunology**, v. 15, n. 4, p. 421- 429, 2003.

SHEVACH, Ethan M. Mechanisms of foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression. **Immunity**, v. 30, n. 5, p. 636-645, 2009.

SHI, Wenjie et al. Helminth therapy for immune-mediated inflammatory diseases: current and future perspectives. **Journal of Inflammation Research**, p. 475-491, 2022.

SHIKHA, Gianchand; SWAMI, Himanshu. Trends of sensitization pattern to aeroallergens among the patients with allergic rhinitis and/or bronchial asthma in Bangalore: A cross sectional study. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 78, n. 4, p. 430-436, 2022.

SHOPP, W.L., and CORKUM, K.C. (1987). Maternal transmission by *Alaria marcianae* (Trematoda) and the concept of amphiparatenesis. *J. Parasitol.* 73, 110–115

SILVA, E.C.F. Imunoterapia Específica em Alergia Respiratória. *Rev do Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ.* Ano 7, Julho / Dezembro de 2008

SIMPSON, Jodie L. et al. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. **Respirology**, v. 11, n. 1, p. 54-61, 2006.

SIPAHI, Aytan Miranda; BAPTISTA, Daniel Machado. Helminths as an alternative therapy for intestinal diseases. **World journal of gastroenterology**, v. 23, n. 33, p. 6009, 2017.

SITCHARUNGSI, Raweerat; SIRIVICHAYAKUL, Chukiat. Allergic diseases and helminth infections. **Pathogens and global health**, v. 107, n. 3, p. 110-115, 2013.

SMITH, Dirk et al. A rare IL33 loss-of-function mutation reduces blood eosinophil counts and protects from asthma. **PLoS genetics**, v. 13, n. 3, p. e1006659, 2017.

SOLÉ, D. et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) written questionnaire: validation of the asthma component among Brazilian children. **Journal of investigational allergology & clinical immunology**, v. 8, n. 6, p. 376-382, 1998.

SOYER, O. U. et al. Mechanisms of peripheral tolerance to allergens. **Allergy**, v. 68, n.2, p. 161-170, 2013.

SPEARE, R. (1989). Identification of species of *Strongyloides*. In *Strongyloidiasis a major roundworm infection of man*, D.I. Grove, ed. (London: Taylor and Francis), pp. 11–84.

STEELANT, Brecht et al. Blocking histone deacetylase activity as a novel target for epithelial barrier defects in patients with allergic rhinitis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 144, n. 5, p. 1242-1253. e7, 2019.

STEWART, T. B.; STONE, W. M.; MARTI, O. G. *Strongyloides ransomi*: Prenatal and transmammary infection of pigs of sequential litters from dams experimentally exposed as weanlings. **American journal of veterinary research**, v. 37, n. 5, p. 541-544, 1976.

TANTILIPKORN, Pongsakorn et al. Pattern of allergic sensitization in chronic rhinitis: A 19-

year retrospective study. **Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology**, v. 39, n. 3, p. 156-162, 2021.

TAYLOR, Jennifer A. et al. Activation of the high-affinity immunoglobulin E receptor Fc epsilon RI in RBL-2H3 cells is inhibited by Syk SH2 domains. **Molecular and cellular biology**, v. 15, n. 8, p. 4149-4157, 1995.

TEIXEIRA, Angela Terezinha Lauand Sampaio. *Strongyloides stercoralis*: frequência em exames parasitológicos do Hospital de Clínicas da UNICAMP e análise morfológicas das larvas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 75-76, 1997.

TEODOSIO, Cristina et al. The immunophenotype of mast cells and its utility in the diagnostic work-up of systemic mastocytosis. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 97, n. 1, p. 49-59, 2015.
TEODÓSIO, Victor T. et al. Investigation of the positivity profile for the skin prick test in children infected with parasites in the metropolitan region of Pernambuco, Northeast of Brazil. In: World Allergy Organization Journal. **BioMed Central**, 2015. p. A241- A242.

THANCHOMNANG, Tongjit et al. First molecular identification and genetic diversity of *Strongyloides stercoralis* and *Strongyloides fuelleborni* in human communities having contact with long-tailed macaques in Thailand. **Parasitology Research**, v. 116, n. 7, p. 1917-1923, 2017.

THOMAS, Paul G. et al. Maturation of dendritic cell 2 phenotype by a helminth glycan uses a Toll-like receptor 4-dependent mechanism. **The Journal of Immunology**, v. 171, n. 11, p. 5837-5841, 2003.

TOJIMA, Ichiro et al. Evidence for the induction of Th2 inflammation by group 2 innate lymphoid cells in response to prostaglandin D2 and cysteinyl leukotrienes in allergic rhinitis. **Allergy**, v. 74, n. 12, p. 2417-2426, 2019.

TSUBOKAWA, Daigo; SATOH, Masashi. *Strongyloides venezuelensis*-derived venestatin ameliorates asthma pathogenesis by suppressing receptor for advanced glycation end-products-mediated signaling. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v. 75, p. 102148, 2022.

TUERO, Iskra et al. A comparative study of peripheral immune responses to *Taenia solium* in individuals with parenchymal and subarachnoid neurocysticercosis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 10, p. e0004143, 2015.

URRUTIA-PEREIRA, Marilyn et al. Prevalence of asthma symptoms and associated factors in adolescents and adults in southern Brazil: A Global Asthma Network Phase I study. **World Allergy Organization Journal**, v. 14, n. 3, p. 100529, 2021.

VAN DEN BIGGELAAR, Anita HJ et al. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. **The Lancet**, v. 356, n. 9243, p. 1723-1727, 2000.

VAN DER WERFF, Suzanne. D. et al. Deworming is not a risk factor for the development of atopic diseases: a longitudinal study in Cuban school children. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 43, n. 6, p. 665-671, 2013.

VASQUEZ-RIOS, George et al. Strongyloides stercoralis hyperinfection syndrome: a deeper understanding of a neglected disease. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 43, n. 2, p. 167-175, 2019.

VERMA, Avantika et al. Immune response in symptomatic and asymptomatic neurocysticercosis. **Medical microbiology and immunology**, v. 200, n. 4, p. 255-261, 2011.

VICENTE, Joaquim Júlio et al. Nematóides do Brasil. Parte V: nematóides de mamíferos. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 14, p. 1-452, 1997.

VINEY, Mark. *Strongyloides*. **Parasitology**, v. 144, n. 3, p. 259-262, 2017.

WAGENVOORT, J. H. et al. Pulmonary superinfection with *Strongyloides stercoralis* in an immunocompromised retired coal miner. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 13, n. 6, p. 518-519, 1994.

WANG, Chun-Chi et al. Infection of mice with the helminth *Strongyloides stercoralis* suppresses pulmonary allergic responses to ovalbumin. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 31, n. 3, p. 495-503, 2001.

WESEMANN, Duane R.; NAGLER, Cathryn R. The microbiome, timing, and barrier function in the context of allergic disease. **Immunity**, v. 44, n. 4, p. 728-738, 2016.

WHEATLEY, L.; WOOD, R.; NADEAU, K. et al. Mind the gaps: Clinical trial concepts to address unanswered questions in aeroallergen immunotherapy. An NIAID/AHRQ workshop. **J Allergy Clin Immunol**. 2019.

WHITE, Rhiannon R.; ARTAVANIS-TSAKONAS, Katerina. How helminths use excretory secretory fractions to modulate dendritic cells. **Virulence**, v. 3, n. 7, p. 668- 677, 2012.

WILSON, Mark S. et al. Immunopathology of schistosomiasis. **Immunology and cell biology**, v. 85, n. 2, p. 148-154, 2007.

WILSON, Mark S.; MAIZELS, Rick M. Regulation of allergy and autoimmunity in helminth infection. **Clinical reviews in allergy & immunology**, v. 26, n. 1, p. 35-50, 2004.

WÖRDEMANN, Meike et al. Association of atopy, asthma, allergic rhinoconjunctivitis, atopic dermatitis and intestinal helminth infections in Cuban children. **Tropical medicine & international health**, v. 13, n. 2, p. 180-186, 2008.

World Gastroenterology Organisation. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Management of strongyloidiasis. 2018.
<http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/management-ofstrongyloidiasis/management-of-strongyloidiasis-english>.
 Accessed October 14, 2018.

WYPYCH-ŚLUSARSKA, Agata et al. Respiratory Symptoms, Allergies, and Environmental Exposures in Children with and without Asthma. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 18, p. 11180, 2022.

YANG, B. H. et al. Foxp3⁺ T cells expressing ROR γ t represent a stable regulatory T-cell effector lineage with enhanced suppressive capacity during intestinal inflammation. **Mucosal immunology**, v. 9, n. 2, p. 444-457, 2016.

YAZDANBAKHSI, Maria; WAHYUNI, Sitti. The role of helminth infections in protection from atopic disorders. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 5, n. 5, p. 386-391, 2005.

YU, Mang et al. Identification of an IFN- γ /mast cell axis in a mouse model of chronic asthma. **The Journal of clinical investigation**, v. 121, n. 8, p. 3133-3143, 2011.

YUM, Hye Yung et al. Prevalence, comorbidities, diagnosis, and treatment of nonallergic rhinitis: real-world comparison with allergic rhinitis. **Clinical and Experimental Pediatrics**, v. 64, n. 8, p. 373, 2021.

ZAISS, Mario M. et al. The intestinal microbiota contributes to the ability of helminths to modulate allergic inflammation. **Immunity**, v. 43, n. 5, p. 998-1010, 2015.

ANEXOS

ANEXO I- Documento de aprovação do comitê de ética.



Continuação do Parecer: 4.381.647

Benefícios: Realização dos exames e acesso aos resultados do teste cutâneo de alergia, do hemograma, dosagem de anticorpos e do teste de função pulmonar. Orientações de higiene serão fornecidas para os indivíduos alérgicos para evitar crises intensas e frequentes. No caso de ser alérgico (asma e/ou rinite), o voluntário será encaminhado para tratamento com médico alergologista.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo importante que analisará a influência do *Strongyloides stercoralis* na resposta imune dos portadores de asma/rinite alérgica, cujos resultados poderão propiciar a obtenção de um novo produto terapêutico a partir de antígenos parasitários, com menores efeitos adversos em relação à terapêutica convencional a base de corticosteróides.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de Rosto assinada de forma eletrônica pela Coordenadora Líbia Cristina Rocha Vilela Moura e validado pelo SIPAC;

TCLE redigido de forma clara e objetiva;

Cronograma: Início da coleta de dados programada para o quarto trimestre de 2021;

Curriculum vitae dos participantes da pesquisa anexados;

Orçamento: Estimado em R\$ 89.520,00 referente a aquisição de aparelho de ar condicionado, computador, kits diversificados, reagentes e sondas laboratoriais, assim como serviços de terceiros.

Cartas de anuência do Centro de Ciências Médicas (área de medicina tropical), Instituto Aggeu Magalhães e Centro Universitário Maurício de Nassau redigidas de forma adequada e anexadas;

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Protocolo Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio da Notificação com o Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br

ANEXO II- Comprovante de submissão do artigo na revista Parasitology Research.

Parasitology Research - Receipt of Manuscript 'TH1, TH2, and...'
 Externa Caixa de entrada x

Parasitology Research <karengrace.corpuz@springernature.com>
 para mim

18:35 (há 16 minutos) ☆ ↶ ⋮

Ref: Submission ID e54f901e-58df-4c13-98b9-8bb33a7aa15b

Dear Dr Mello,

Please note that you are listed as a co-author on the manuscript "TH1, TH2, and TH17 cytokines in PBMCs induced by antigens of *Strongyloides venezuelensis* in individuals with respiratory allergies", which was submitted to Parasitology Research on 27 February 2024 UTC.

If you have any queries related to this manuscript please contact the corresponding author, who is solely responsible for communicating with the journal.

Kind regards,

Editorial Assistant
 Parasitology Research



Parasitology Research

CURRENT STATUS

We've received your submission and are now running technical checks

We are checking your submission against our journal guidelines and policies. If there is anything we need we will email wheverton.nascimento@ulpe.br.

Need help?

If you have any questions about this submission, you can [email the Editorial Office](#).

For general enquiries, please look at our [support information](#).

Progress so far [Show history](#)

- Submission received
- Initial technical check

How was your experience today?

Awful Bad OK Good Great

Send feedback

Your submission

Title
 TH1, TH2, and TH17 cytokines in PBMCs induced by antigens of *Strongyloides venezuelensis* in individuals with respiratory allergies

Type
 Research

Journal
 Parasitology Research

Submission ID
 e54f901e-58df-4c13-98b9-8bb33a7aa15b