



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências

MARIANA SANTANA QUEIRES

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DAS CITOCINAS IFN- $\gamma$ , IL-4 e  
IL-10 EM INDIVÍDUOS INFECTADOS POR *Schistosoma  
mansoni* COM DIFERENTES GRAUS DE FIBROSE  
HEPÁTICA EM ÁREA ENDÊMICA DE PERNAMBUCO**

Recife  
2025

MARIANA SANTANA QUEIRES

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DAS CITOCINAS IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 EM INDIVÍDUOS INFECTADOS POR *Schistosoma mansoni* COM DIFERENTES GRAUS DE FIBROSE HEPÁTICA EM ÁREA ENDÊMICA DE PERNAMBUCO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Dra. Elaine Christine de Souza Gomes

Coorientadora: Ludmila Arruda de Assis Aussourd

Recife  
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Queires, Mariana Santana .

Avaliação dos níveis das citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 em indivíduos infectados por *Schistosoma mansoni* com diferentes graus de fibrose hepática em área endêmica de Pernambuco / Mariana Santana Queires. - Recife, 2025.  
56 p : il.

Orientador(a): Elaine Christine de Souza Gomes

Coorientador(a): Ludmila Arruda de Assis Aussourd

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Esquistossomose. 2. Inflamação. 3. Endemicidade. 4. Interleucinas. 5. Biomarcador. I. Gomes, Elaine Christine de Souza. (Orientação). II. Aussourd, Ludmila Arruda de Assis . (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

MARIANA SANTANA QUEIRES

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DAS CITOCINAS IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 EM INDIVÍDUOS INFECTADOS POR *Schistosoma mansoni* COM DIFERENTES GRAUS DE FIBROSE HEPÁTICA EM ÁREA ENDÊMICA DE PERNAMBUCO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof. Dra. Elaine Christine de Souza Gomes  
Instituto Aggeu Magalhães - Departamento de Parasitologia

---

Prof. Dr. André de Lima Aires  
Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Parasitologia

---

Prof. Dr. Walter Lins Barbosa Junior  
Instituto Aggeu Magalhães - Departamento de Parasitologia

Dedico este trabalho aos meus pais que, impedidos de correr, deram-me asas para voar. E à minha irmã, Diana. É tudo por vocês.

## AGRADECIMENTOS

À toda espiritualidade que me guia, abrindo e fechando meus olhos quando necessário.

Gostaria de agradecer à minha mãe, Luciana Queires, que acreditou em mim até quando eu mesma não acreditei. Obrigada por todos os conselhos e por todo esforço feito para cuidar de mim, mesmo que distante. Foram anos difíceis e cheios de desafios, mas você nunca soltou minha mão. Obrigada por ser um exemplo não só de mãe, mas também de ser humano. Ao meu pai, Gilmário Queires, que mesmo com seu jeito bruto, nunca mediu esforços para que eu tivesse tudo o que precisasse e mais um pouco, sendo minha inspiração de dedicação ao trabalho. Obrigada, mais uma vez, por fazerem das tripas coração para que eu chegasse até aqui.

À minha irmã, Diana Queires, minha estrela, meu coração em outro peito. Só a sua existência já é um motivo para me fazer seguir em frente. Mesmo sendo 13 anos mais nova, você é uma inspiração para mim. Não tenho palavras para expressar sua importância na minha vida. Penso em você sempre. Cada momento perdido, cada dente que não vi sendo arrancado, cada gripe que não pude estar cuidando de você, cada nota boa que não estava para comemorar com você, cada apresentação de balé... Dói muito te ver crescer por uma telinha de celular. Mas me mantive firme durante todo esse tempo, pois sabia que você estava torcendo por mim e eu quero que você tenha orgulho de mim, assim como tenho de você.

Aos meus familiares que direta ou indiretamente contribuíram na minha caminhada, sendo sempre cuidadosos e prestativos. Mesmo com mais de 772 km nos separando, lembro das nossas reuniões e risadas, principalmente na casa de minha avó, Dona Ana. Minha “véa” que costurou meu primeiro jaleco e me entregou com a maior felicidade.

Obrigada também aos amigos que estão comigo há mais de uma década, Clara, Calebe, Alice, Gio, Bia, Pedro e Otto, que mesmo de longe sempre me deram força. Acredito sim que: “a amizade nem mesmo a força do tempo irá destruir”. E aos que fiz ao longo da graduação, Júlia, Nathália, Renata, Igor, Karen e Henrique, por todos os momentos, perrengues e surtos compartilhados. Aos colegas

de laboratório que se tornaram amigos: Duda, Dudu, Thaiany, Kira e todos os outros que não só me ajudaram na iniciação científica, como também foram ombros amigos que me socorreram, aconselharam e me fizeram rir.

Agradeço também à minha orientadora Dra. Elaine Gomes e co-orientadora Ludmila de Assis pela oportunidade e pelo suporte neste trabalho. À toda equipe do LRE pelos ensinamentos, principalmente a Walter Barbosa por sempre me ajudar com os relatórios e me auxiliar durante a trajetória científica.

À FACEPE que proporcionou a realização deste projeto, financiando-o, e aos professores que deram-me conhecimento para realizá-lo.

Ao Programa de Educação Tutorial em Parasitologia que me acolheu e me fez crescer como pessoa e como estudante com função social, repassando conhecimento a diferentes públicos. Obrigada aos estudantes e a André Aires, o melhor tutor. Eu amo ser petiana.

Obrigada a todos que acreditaram nessa “cientista maluca”, apelidada carinhosamente pela família. Essa conquista é de todos nós.

“Somos capazes da mudança mais incrível. Podemos evoluir sem deixarmos de ser verdadeiros. Podemos honrar quem temos sido e escolher quem queremos ser. Agora é a sua chance.” - ***Doctor Who***

QUEIRES, Mariana Santana. **Avaliação dos níveis das citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 em indivíduos infectados por *Schistosoma mansoni* com diferentes graus de fibrose hepática em área endêmica de Pernambuco**. 2025. 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

## RESUMO

A esquistossomose mansônica, uma doença tropical negligenciada, é uma infecção causada pelo trematódeo do gênero *Schistosoma*. No Brasil, a transmissão é facilitada pelas condições precárias de saneamento básico e Pernambuco é um estado alarmante por ser endêmico. A atuação das citocinas na esquistossomose com fibrose hepática ainda não é totalmente compreendida. Assim, este estudo investigou o papel das citocinas IL-4, IL-10 e IFN- $\gamma$  na fibrose hepática associada à infecção em pacientes de Jaboatão dos Guararapes. Foi realizado um inquérito parasitológico com coleta de fezes e amostras sanguíneas e posterior ultrassonografia para avaliar o grau de fibrose nos indivíduos infectados. Em seguida, as amostras de sangue foram usadas para isolar as células mononucleares (PBMC), estimuladas com antígeno solúvel do verme adulto (SWAP) e sem estímulo. A dosagem das citocinas produzidas foi realizada através da citometria de fluxo. Assim, foram coletadas 266 amostras de fezes, com 57 positivas (Kato-Katz), e 55 pacientes realizaram ultrassonografia hepática. Destes, 30 apresentaram fibrose (padrões C, D/Dc ou E), predominando homens (76,66%). O grupo controle (19 indivíduos) teve maioria sem fibrose. Dessa forma, nota-se uma endemicidade moderada (prevalência de 23,68%) na região. Na análise das células estimuladas com SWAP, a produção de IFN- $\gamma$  não diferiu significativamente entre infectados e não infectados. Já as IL-4 e IL-10 foram mais produzidas nos infectados. A IL-4 teve maior produção nos padrões AB, C, D/Dc e E, enquanto a IL-10 foi significativamente elevada apenas no padrão E, sugerindo regulação da inflamação na fibrose avançada. Na produção basal sem estimulação por antígenos, o IFN- $\gamma$  foi mais produzido pelos negativos, com diferença significativa em relação ao padrão D/Dc. A IL-4 foi mais expressa nos positivos e nos padrões AB, D/Dc e E, enquanto a IL-10 foi maior nos negativos, mas reduzida no padrão AB e principalmente no E. Assim, enquanto IFN- $\gamma$  mostrou-se como um possível biomarcador de proteção, a IL-4 mostrou-se como biomarcador de susceptibilidade e a IL-10 de modulação da resposta imune.

**Palavras-chave:** Esquistossomose. Inflamação. Endemicidade. Interleucinas. Biomarcador.

QUEIRES, Mariana Santana. **Evaluation of the levels of the cytokines IFN- $\gamma$ , IL-4 and IL-10 in individuals infected with *Schistosoma mansoni* with different degrees of liver fibrosis in an endemic area of Pernambuco.** 2025. 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

### **ABSTRACT**

Schistosomiasis mansoni, a neglected tropical disease, is an infection caused by a trematode of the genus *Schistosoma*. In Brazil, transmission is facilitated by precarious basic sanitation conditions and Pernambuco is an alarming endemic state. The role of cytokines in schistosomiasis with liver fibrosis is still not fully understood. Therefore, this study investigated the role of the cytokines IL-4, IL-10 and IFN- $\gamma$  in liver fibrosis associated with infection in patients from Jaboatão dos Guararapes. A parasitological survey was carried out with the collection of feces and blood samples and subsequent ultrasound to assess the degree of fibrosis in infected individuals. Blood samples were then used to isolate mononuclear cells (PBMC), stimulated with soluble adult worm antigen (SWAP) and without stimulation. The cytokines produced were measured using flow cytometry. Thus, 266 stool samples were collected, with 57 positive (Kato-Katz), and 55 patients underwent liver ultrasound. Of these, 30 had fibrosis (patterns C, D/Dc or E), predominantly men (76.66%). The control group (19 individuals) had a majority without fibrosis. Thus, there is moderate endemicity (prevalence of 23.68%) in the region. In the analysis of cells stimulated with SWAP, IFN- $\gamma$  production did not differ significantly between infected and uninfected individuals. IL-4 and IL-10, on the other hand, were produced more in infected patients. IL-4 was produced more in patterns AB, C, D/Dc and E, while IL-10 was significantly elevated only in pattern E, suggesting regulation of inflammation in advanced fibrosis. In basal production without antigen stimulation, IFN- $\gamma$  was more produced by the negatives, with a significant difference in relation to the D/Dc pattern. IL-4 was more expressed in the positives and in the AB, D/Dc and E patterns, while IL-10 was higher in the negatives, but reduced in the AB pattern and especially in the E pattern. Thus, while IFN- $\gamma$  proved to be a possible biomarker of protection, IL-4 proved to be a biomarker of susceptibility and IL-10 of immune response modulation.

**Keywords:** Schistosomiasis. Inflammation. Endemicity. Interleukins. Biomarker.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Índice de positividade da esquistossomose no Brasil .....	14
<b>Figura 2</b> – Expansão da esquistossomose no território nacional.....	15
<b>Figura 3</b> – Distribuição geográfica mundial das espécies de <i>Schistosoma sp.</i> ....	17
<b>Figura 4</b> – Espécies de <i>Biomphalaria sp.</i> que transmitem esquistossomose no Brasil .....	17
<b>Figura 5</b> – Distribuição espacial do <i>Biomphalaria glabrata</i> no Brasil.....	18
<b>Figura 6</b> – Ciclo de vida do <i>Schistosoma mansoni</i> .....	19
<b>Figura 7</b> – Evolução da resposta imune do indivíduo com esquistossomose .....	22
<b>Figura 8</b> – Diferenças entre a formação do granuloma hepático e intestinal .....	23
<b>Figura 9</b> – Padrões de fibrose hepática.....	26
<b>Figura 10</b> – Gel de eletroforese SDS-PAGE das proteínas obtidas a partir da extração dos antígenos do verme adulto (SWAP) .....	37
<b>Figura 11</b> – Níveis de citocinas produzidas em nível basal por indivíduos negativos e positivos com diferentes graus de fibrose .....	39
<b>Figura 12</b> – Produção de citocinas de indivíduos negativos e positivos, sem e com fibrose, estimulados com SWAP .....	41

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>13</b>
2.1 Epidemiologia da esquistossomose.....	13
2.2 Imunopatologia.....	20
2.3 Desenvolvimento da fibrose hepática na esquistossomose.....	23
2.4 Caracterização do padrão fibrótico hepático na esquistossomose.....	25
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
3.1 Objetivo Geral.....	27
3.2 Objetivos Específicos.....	27
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>27</b>
4.1 Desenho do estudo.....	28
4.2 Área de estudo e localidades.....	28
4.3 Metodologia do objetivo 1: Caracterizar, em relação ao aspecto epidemiológico e clínico-laboratorial, dois diferentes grupos infectados e não infectados pelo <i>S. mansoni</i> .....	28
4.3.1 Critérios de Exclusão.....	30
4.4 Metodologia do objetivo 2: Isolamento e cultivo celular de PBMC em grupos de indivíduos infectados e não infectados.....	30
4.4.1 Obtenção do Antígeno Solúvel do Verme Adulto (SWAP).....	30
4.4.2 Cultura celular de PBMCs.....	31
4.5 Metodologia do objetivo 3: Quantificar os níveis de citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 nos grupos estudados.....	32
4.5.1 Análise Estatística.....	33
4.6 Considerações éticas.....	33
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>34</b>
5.1 Dados do inquérito epidemiológico.....	34
5.2 Quantificação do antígeno do verme adulto (SWAP).....	35
5.3 Dosagem das citocinas.....	36
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>
<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>50</b>
FICHA DE AVALIAÇÃO DA ULTRASSONOGRAFIA.....	50
<b>ANEXO A.....</b>	<b>51</b>
PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	51
<b>ANEXO B.....</b>	<b>52</b>
PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA DE PESQUISA EM HUMANOS.....	52

## 1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença parasitária causada por trematódeos do gênero *Schistosoma sp.* A morbidade causada pela esquistossomose no mundo é medida por meio do indicador de saúde DALYs (disability-adjusted life-years lost) – anos de vida perdidos por uma doença – representa o equivalente a 2,5 milhões de anos perdidos em relação à estimativa de uma população mundial de 236 milhões de indivíduos infectados (Organização Mundial de Saúde, 2020). Sua magnitude de prevalência e a severidade das manifestações clínicas a caracterizam como um importante problema de saúde pública no Brasil e no mundo (Ministério da Saúde, 2019).

A resposta imunológica ao *Schistosoma mansoni* inicia nas primeiras 12 horas após o contato com as cercárias, com o surgimento de um exantema e uma resposta Th1 mediada por citocinas inflamatórias, como a IFN- $\gamma$ , interleucina 1b (IL-1b), IL-6 e também há a presença da IL-10, interleucina anti-inflamatória. Quando os esquistossômulos se tornam vermes adultos, inicia-se a fase aguda, caracterizada por maior liberação de citocinas pró-inflamatórias, além das mencionadas, como o Fator de Necrose Tumoral (TNF) e IL-1, que resultam em lesões teciduais (Hogg, 2003; Kourilova, 2004; Mahmoud, 2009).

Após a oviposição, a resposta imunológica predominante é a Th2, com aumento da produção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, estimulando eosinófilos e mastócitos (Hesse, 2000). Granulomas são formados ao redor dos ovos como resposta protetora, mas também causam fibrose hepática, devido a deposição de colágeno por células hepáticas estreladas, que não é consumido para redução da cicatriz, resultando nas complicações da fase crônica, como hipertensão periportal e varizes esofágicas devido a intensidade da resposta (Wynn, 2007; Carvalho, 2008). A regulação das respostas Th1 e Th2 é fundamental para evitar respostas imunes excessivas que possam prejudicar o hospedeiro. Além disso, o equilíbrio das citocinas IL-10 e IL-4 é essencial para garantir a sobrevivência do hospedeiro sem danos teciduais excessivos (Hoffman; Cheever; Wynn, 2000).

Neste sentido, este estudo objetiva a compreensão da interação do sistema imune com a infecção por *S. mansoni*, o desenvolvimento de fibrose, a liberação de citocinas pelos perfis Th1 e Th2 e a possibilidade de identificação de biomarcadores

imunológicos de gravidade e cronicidade da doença para que se possa identificar precocemente indivíduos com maior predisposição para o desenvolvimento dessas formas clínicas graves e que podem resultar no óbito do indivíduo.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

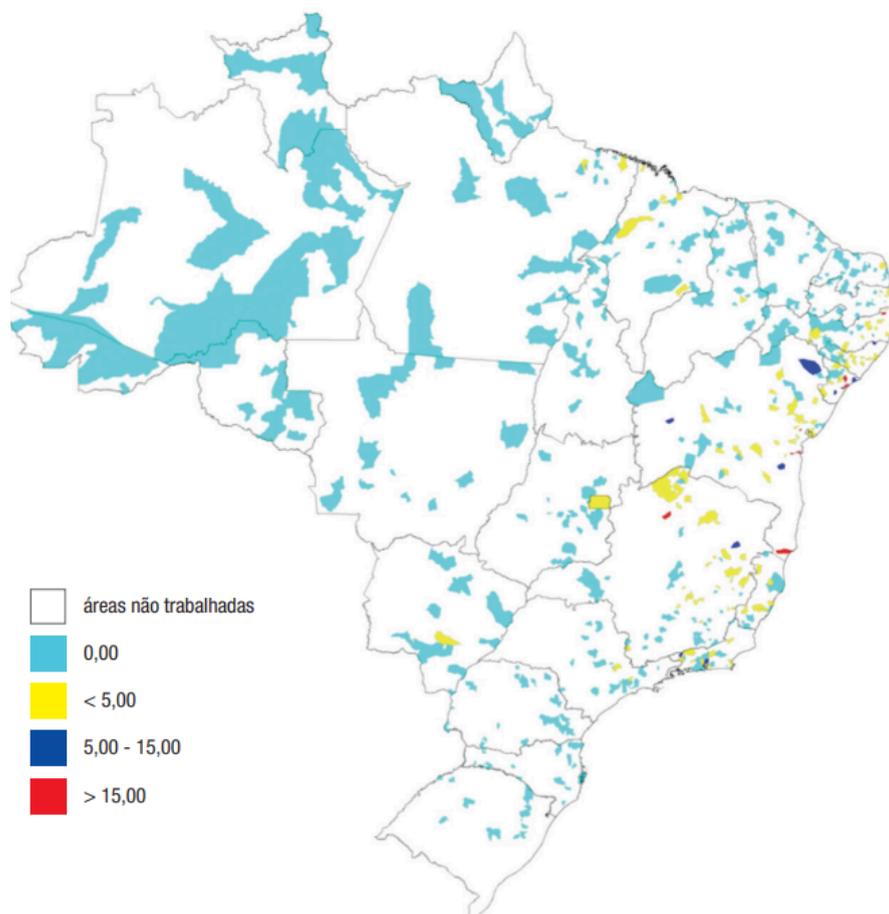
### **2.1 EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE**

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a esquistossomose já foi identificada em 78 países, afetando mais de 236 milhões de pessoas, com necessidade de quimioterapia preventiva para a doença em 51 países considerados endêmicos para reduzir a morbidade. Estima-se que ocorrem aproximadamente 11 mil mortes anuais causadas pela doença, porém, em muitos países há subnotificações (Organização Mundial de Saúde, 2023).

A doença é muito comum em países tropicais e subtropicais como os pertencentes à América do Sul e África, sendo considerada uma Doença Tropical Negligenciada, pois, além de ser mais comum em populações pobres, a esquistossomose sobrecarrega o sistema de saúde público, afeta o crescimento de crianças, a saúde do trabalhador e qualidade de vida da população (Brindley, Hotez, Kamhawi, 2025).

Na América Latina, o Brasil, Venezuela e Caribe são os países mais afetados, com a liderança do Brasil, que apresenta 1,5 milhão de pessoas infectadas e mais de 49 milhões de pessoas em situação de risco no país (Katz, 2018). Essa estimativa corresponde a uma prevalência de 0,99%, segundo o Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helmintoses (INPEG), realizado entre 2010 e 2015 (Katz, 2018). As taxas de positividade encontram-se na figura 1.

Figura 1 – Índice de positividade da esquistossomose no Brasil



Fonte: Katz. INPEG (2018). Disponível em <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/sinan/inpeg/RelatorioINPEG.pdf>. Acesso em 15 de março de 2025.

No Brasil, as regiões Sudeste e Nordeste são as mais afetadas, principalmente nos estados de Minas Gerais, Bahia, Alagoas e Pernambuco, entretanto a doença apresenta ampla distribuição geográfica em estados litorâneos e está se disseminando pelo Sul e Norte (Brasil, 2024). Na figura 2, nota-se essa expansão territorial.

Esse fato relaciona-se com fatores socioeconômicos relacionados ao grau de escolaridade e renda, assim como às precárias condições ambientais que os indivíduos se encontram, como a falta de saneamento básico adequado e água potável, que induz os moradores a não só realizar suas atividades de lazer em fontes de água próximas, como também lavar roupas, louças e até mesmo defecar. Além disso, as mudanças climáticas que provocam enchentes favorecem a sobrevivência do caramujo e também do verme (Brasil, 2022; Semenza; Rocklov; Ebi,

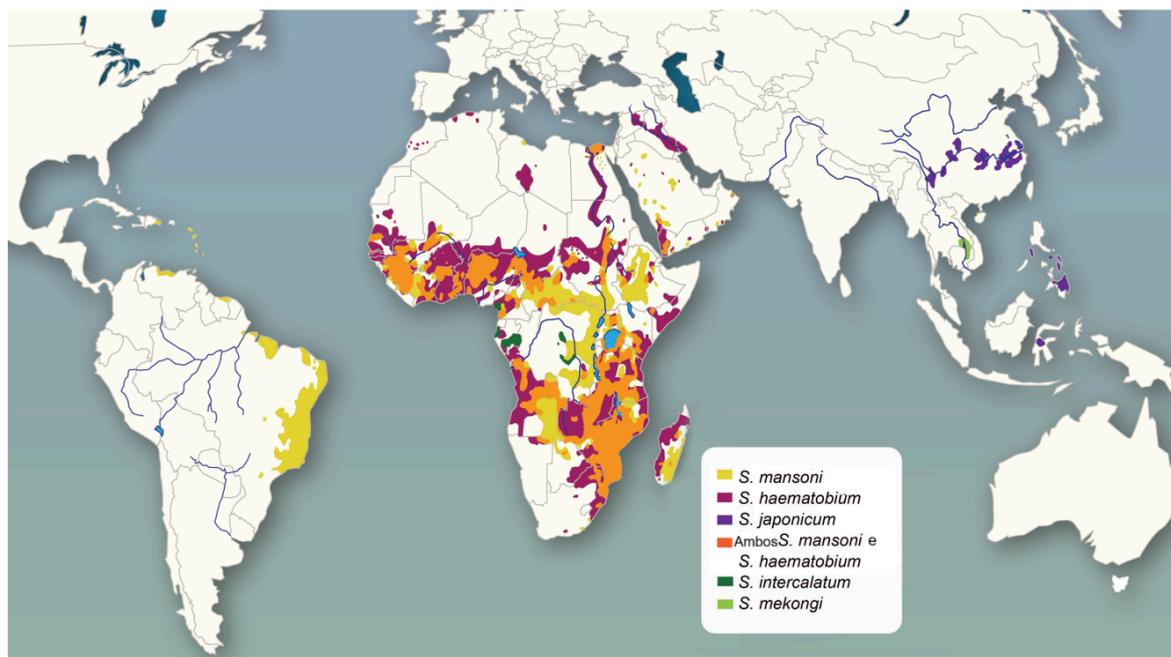


tornando-se endêmica, principalmente na Região Metropolitana de Recife (RMR), Agreste e Zona da Mata (Gomes *et al.*, 2016; Brasil, 2024).

A cidade de Jaboatão dos Guararapes é um dos municípios endêmicos da RMR, que apresenta 644.037 habitantes, dos quais 18,57% do território não possui abastecimento de água, 75,31% do território não possui rede de esgoto e mais de 7 mil dos 235.151 mil domicílios existentes estão sob chance de inundações, fatores alarmantes que contribuem para a persistência da endemicidade da área. Além disso, a região não apresenta nenhum tipo de política, plano, conselho ou fundo municipal para o saneamento básico. Em 2022, ocorreram 362 internações causadas por doenças de veiculação hídrica, como a esquistossomose, e 23 óbitos decorrentes delas na cidade (Instituto Água e Saneamento, 2025; Instituto Trata Brasil, 2022).

Existem cerca de oito espécies de *Schistosoma* descritas como causadoras da esquistossomose humana. São elas: *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. mekongi*, *S. bovis*, *S. mattheei* e *S. rodhaini*. A espécie *S. mansoni* é encontrada no Brasil, Venezuela, Caribe, África e Oriente Médio sendo responsável pela esquistossomose intestinal. O *S. japonicum* ocorre no Japão, China, Filipinas, Tailândia e Indonésia, e também causa esquistossomose intestinal. O *S. intercalatum* é encontrado na África Central e está associado à esquistossomose intestinal. O *S. mekongi* ocorre no vale do rio Mekong, entre o Laos e o Camboja, também provocando esquistossomose intestinal. O *S. haematobium*, por sua vez, está presente na Península Ibérica e na África, causando a esquistossomose vesical ou urinária. Já as espécies *S. bovis*, *S. mattheei* e *S. rodhaini*, que afetam principalmente os animais, como os ruminantes, também podem infectar seres humanos na África, levando à esquistossomose intestinal (Katz; Almeida, 2003). É possível observar essa distribuição na figura 3.

Figura 3 – Distribuição geográfica mundial das espécies de *Schistosoma sp.*



Fonte: Adaptado de WEERAKOON *et al.* 2015

Em seu ciclo evolutivo, o verme necessita de um hospedeiro intermediário, caramujos do gênero *Biomphalaria sp.*, moluscos da família Planorbidae, responsáveis pela manutenção da infecção por *S. mansoni*, único presente no Brasil. Esse gênero apresenta três espécies de destaque: *B. straminea* (Dunker, 1848), *B. glabrata* (Say, 1818) e *B. tenagophila* (D'orbigny, 1835), visualizados na figura 4.

Figura 4 – Espécies de *Biomphalaria sp.* que transmitem esquistossomose no Brasil

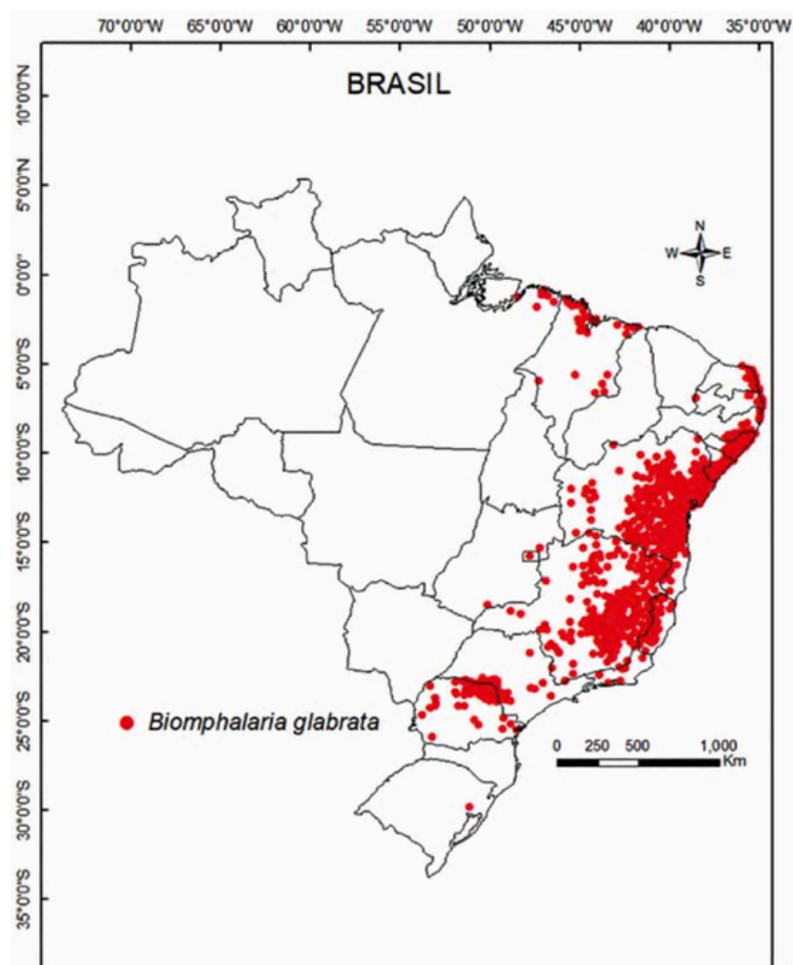


Legenda: 1 = *B. glabrata*; 2 = *B. straminea*; 3 = *B. tenagophila*.

Fonte: Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, 2018.

No Brasil, o *B. straminea* é o mais distribuído geograficamente, porém o *B. glabrata* apresenta maior risco à saúde pública devido à alta susceptibilidade à infecção pelo *S. mansoni* e sua ampla distribuição país, vide figura 5 (Carvalho et al., 2018; Carvalho et al., 2020).

Figura 5 - Distribuição espacial do *Biomphalaria glabrata* no Brasil



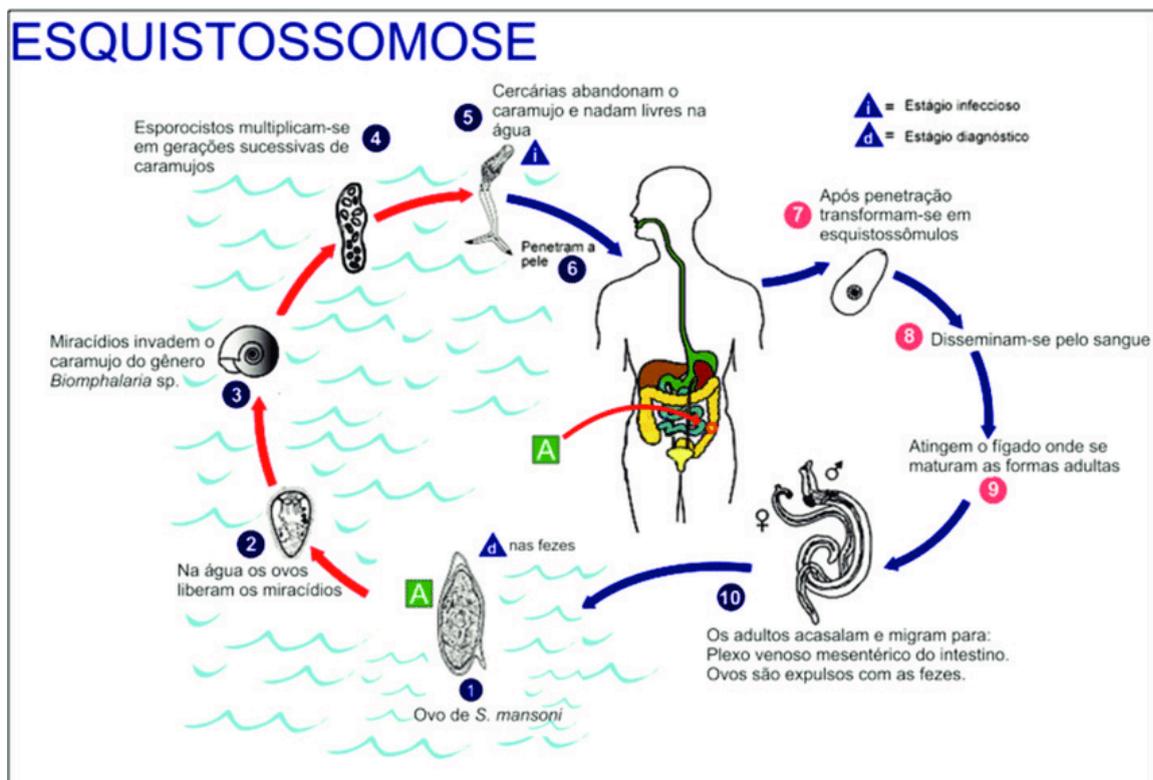
Fonte: Carvalho et al., 2020

O ciclo biológico do *S. mansoni* acontece com a eclosão do miracídio de dentro dos ovos, liberados, a partir das fezes, por hospedeiros definitivos infectados em locais próximos a fontes de água doce. Esse miracídio infecta o caramujo, que possui essas fontes como habitat natural. Em seguida, ainda dentro do hospedeiro intermediário, o miracídio transforma-se em esporocisto, que evolui para forma infectante para humanos, a cercária (Shuja et al., 2018). A cercária, liberada pelo

caramujo em fontes hídricas, ao penetrar na pele do homem, perde sua cauda, transformando-se em esquistossômulo, que migra para a corrente sanguínea, atingindo pulmão, fígado, intestino, coração e sistema nervoso (Posada-Martínez et al., 2021).

No fígado, desenvolvem-se as formas adultas macho e fêmea, que acasalam, e migram para o plexo venoso mesentérico inferior do intestino e para o sistema periportal. Após a oviposição da fêmea nos vasos portais mesentéricos, os ovos são carregados junto com as fezes, reiniciando o ciclo, apresentado na figura 6. Entretanto, alguns ovos podem ficar retidos nos tecidos intestinais e hepáticos ao tentar passar por vasos sinusoides que possuem calibre pequeno. Nesses casos, ocorre uma resposta granulomatosa como proteção da antigenicidade dos ovos com recrutamento de células inflamatórias como eosinófilos, macrófagos e neutrófilos que irão produzir mais citocinas em resposta. (Hams; Aviello; Fallon, 2013).

Figura 6 – Ciclo de vida do *Schistosoma mansoni*



Fonte: CDC, traduzido por GOMES et al., 2017

## 2.2 IMUNOPATOLOGIA

Desde o primeiro contato com o patógeno, o ser humano apresenta uma resposta imune. Ao ser infectado pela cercária que insere seu corpo cercariano na derme do indivíduo, por meio de ventosas que facilitam sua fixação e que perde sua cauda, uma reação pruriginosa maculopapular com exantema é desencadeada, formada por infiltrados de células polimorfonucleares e mononucleares, células de Langerhans e citocinas de perfil Th1 (Costain *et al.*, 2022).

Posteriormente, a fase aguda é iniciada e o parasito depende da resposta imunológica do indivíduo para se desenvolver (Davies; McKerrow, 2003). Assim, ele continua estimulando, durante as cinco primeiras semanas, o perfil Th1, induzindo que os linfócitos T CD4 produzam citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, Interferon gama (IFN- $\gamma$ ), IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF).

O IFN- $\gamma$  apresenta função de estimular a destruição de células infectadas por meio da ativação de células fagocíticas, como macrófagos, e impedir a infiltração de eosinófilos. Além disso, ele tem função contrária ao Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF- $\beta$ ), pois inibe a diferenciação das células hepáticas estreladas, reduzindo a síntese de matriz extracelular, colágeno e fibroblastos, os quais são necessários para a formação de fibrose. Ele também estimula a síntese de metaloproteinases, que atuam degradando o tecido cicatricial (Henri, 2002).

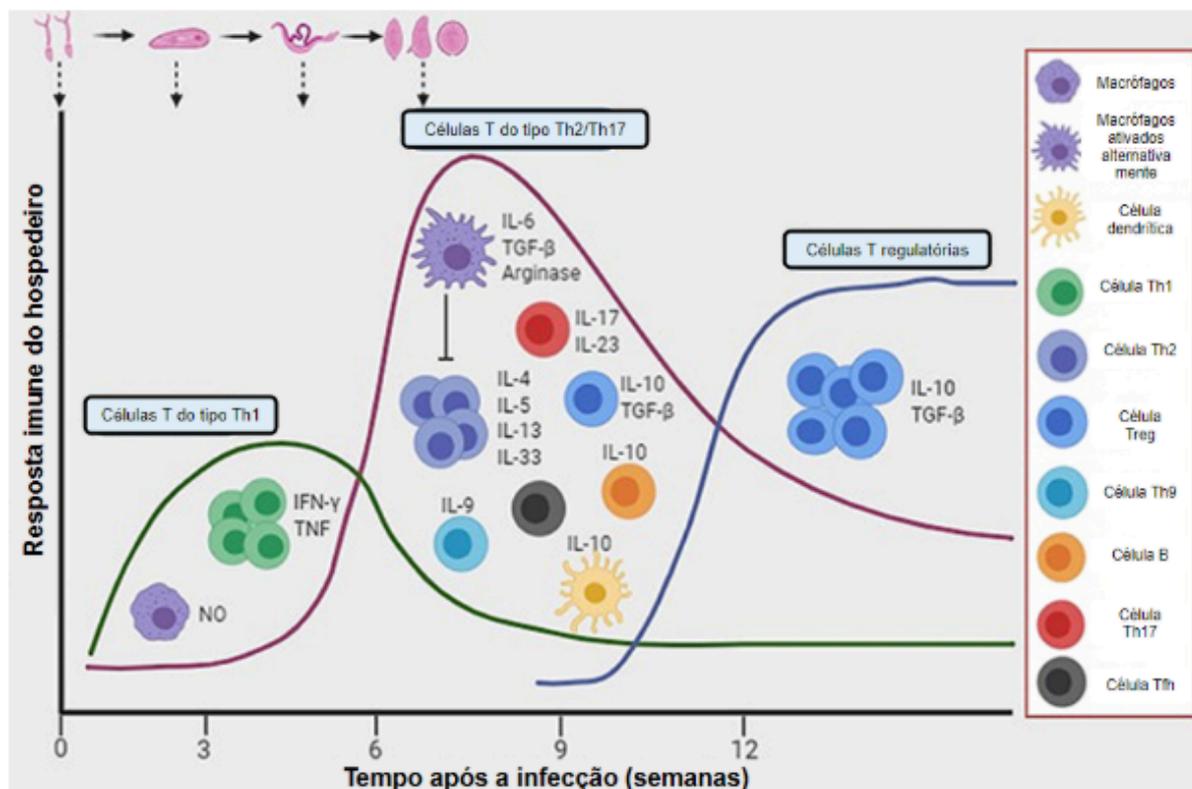
Com o avanço da fase aguda, os vermes amadurecem, acasalam, e ocorre a deposição de aproximadamente 300 ovos por dia (Costain; MacDonald; Smits, 2018). A deposição dos ovos resulta em uma resposta imune que é caracterizada por febre, também denominada febre de Katayama, tosse, diarreia e anorexia, sintomas que podem estar associados a leucocitose e eosinofilia (Carbonell *et al.*, 2021). As fêmeas depositam os ovos nos vasos próximos ao intestino do hospedeiro, alcançando o tecido linfoide intestinal com placas de Peyer que apresentam maior vascularização, e esses são transportados até o lúmen (Turner *et al.*, 2012).

Durante a oviposição, resposta Th2 aumenta, influenciada pela interleucina IL-33, uma alarmina, molécula que ativa a imunidade inata, liberada após dano celular, a qual se liga ao seu receptor ST2 (supressor de tumorigenicidade 2), expresso em uma variedade de células imunes, incluindo ILC2 (células linfóides inatas do tipo 2) e macrófagos e torna-se predominante essa resposta, estimulando

a liberação de mais IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 nas células Th2 (Burke *et al.*, 2009; Chuah *et al.*, 2014). Todavia, a antigenicidade desses ovos pode desencadear a formação de granulomas intestinais e hepáticos, devido à proximidade da circulação e infiltração de eosinófilos por quimiotaxia em áreas próximas ao granuloma (Maggi *et al.*, 2021).

Enquanto o granuloma intestinal é mais fácil de ser removido pelo hospedeiro, o hepático é maior e mais desorganizado em relação às fibras colágenas devido a uma extensa tentativa de proteger o órgão das secreções hepatotóxicas dos ovos (Schwartz; Fallon, 2018). Além disso, quando há liberação de IL-10 e IL-4, elas regulam negativamente a resposta Th1, controlando a morbidade da doença e reduzindo o tamanho do granuloma (Montenegro *et al.*, 1999; Chuah *et al.*, 2014). Uma vez que, em estudos com camundongos, quando a IL-4 e IL-10 estão ausentes ocorre uma exagerada produção de IFN- $\gamma$ , destacando a resposta Th1, que pode resultar em uma caquexia aguda e 100% de mortalidade (Cheever; Hoffman Wynn, 2000). Na figura 7, é destacada a variação da resposta imune juntamente com as citocinas liberadas conforme o avanço da infecção.

Figura 7 – Evolução da resposta imune do indivíduo com esquistossomose

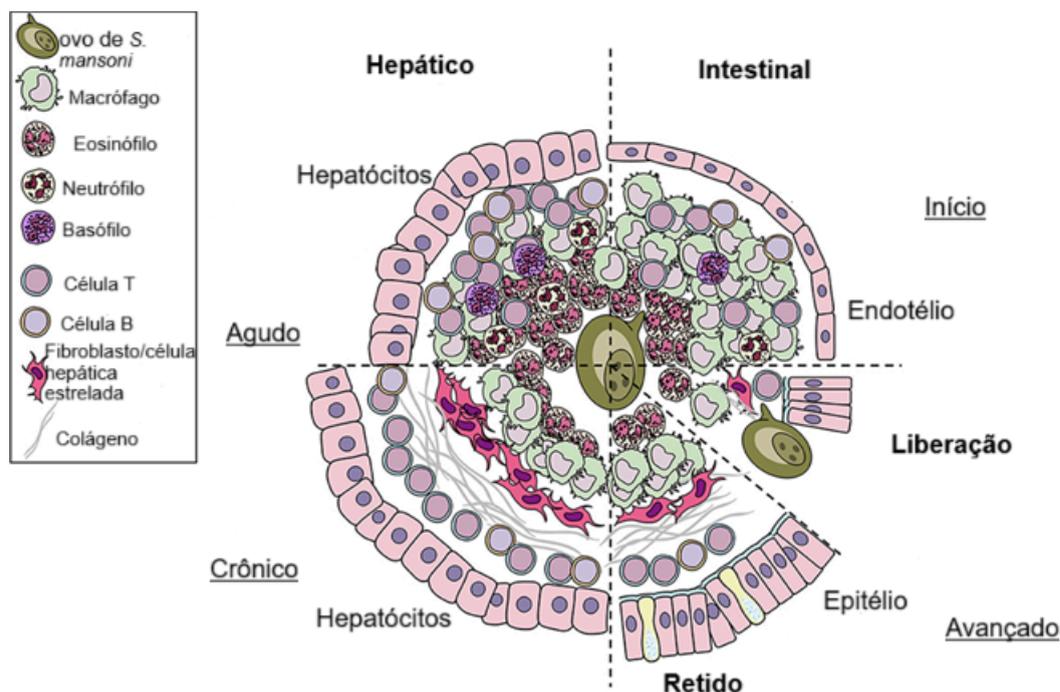


Legenda: **Eixo Y:** Resposta imune do hospedeiro. **Eixo X:** Tempo após a infecção (semanas). Linha verde: células T do tipo Th1 (fase inicial da resposta imune) - produção de IFN- $\gamma$ , TNF, e macrófagos com produção de óxido nítrico. Linha roxa: células T do tipo Th2/Th17 (fase intermediária) - produção de IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-17, IL-23, IL-33, TGF- $\beta$  e arginase. Linha azul: Células T regulatórias (Treg) (fase tardia) - produção de IL-10 e TGF- $\beta$ .

Fonte: Adaptado de Molehin *et al.*, 2020

A resposta Th2 modula negativamente a diferenciação e ativação do perfil Th1, porém se houver um controle excessivo da Th1, a formação do granuloma pode desencadear em fibrose hepática, característica comum da forma descompensada da esquistossomose. O granuloma é formado por macrófagos, linfócitos, eosinófilos, fibroblastos, células dendríticas, entre outras células. Contudo, o granuloma intestinal apresenta menos eosinófilos e mais macrófagos que o hepático. Com o avanço do quadro clínico, o granuloma intestinal pode ser constituído por matriz extracelular com colágeno, entretanto, o hepático estimula a fibrose (Schwartz; Fallon, 2018). A diferença entre os granulomas pode ser observada na figura 8.

Figura 8 – Diferenças entre a formação do granuloma hepático e intestinal



Legenda: A imagem ilustra o processo inflamatório no fígado e intestino em resposta à deposição dos ovos do parasita, com recrutamento de células imunes e eventual fibrose hepática devido à infecção crônica. Região Hepática: o granuloma no fígado envolve hepatócitos, promovendo inflamação persistente e fibrose crônica devido à ativação de macrófagos, eosinófilos e fibroblastos. Região Intestinal: a resposta inflamatória no intestino facilita a liberação dos ovos para o lúmen, sendo menos persistente, com recrutamento de neutrófilos, eosinófilos e células epitelioides.

Fonte: Adaptado de Schwartz; Fallon, 2018. Tradução da autora.

### 2.3 DESENVOLVIMENTO DA FIBROSE HEPÁTICA NA ESQUISTOSSOMOSE

A fibrose é caracterizada pela deposição excessiva de matriz extracelular (MEC) devido à proliferação de fibroblastos e miofibroblastos, resultando em cicatrizes que comprometem a estrutura normal do órgão afetado. Esse processo geralmente é desencadeado por inflamação crônica, que pode ser causada por infecções, reações autoimunes, toxinas ou danos mecânicos (Wynn, 2008; Wynn, 2007). Durante essa inflamação, há a liberação de mediadores que estimulam a produção de fatores de crescimento, enzimas proteolíticas e citocinas fibrogênicas, promovendo a deposição de tecido conjuntivo (Friedman, 2004).

Na esquistossomose, o desenvolvimento da fibrose hepática é mediado, principalmente, pelas células T CD4+, com destaque para o perfil Th2, que induz a produção das interleucinas 4, 5 e 13 (Cheever et al., 1994; Chiaramonte et al., 1999;

Reiman et al., 2006). Os granulócitos, juntamente com o colágeno e as células estreladas presentes no granuloma hepático, desempenham um papel essencial no desenvolvimento da fibrose hepática. Os monócitos, por exemplo, produzem TGF- $\beta$ , que estimula a deposição da matriz extracelular por meio da ativação de vias como a JAK-STAT. Nessa via, as citocinas se ligam aos seus receptores, ativando quinases que recrutam as proteínas STAT, que, após fosforilação, induzem a transcrição de genes. Na fibrose, os fibroblastos são ativados pelo TGF- $\beta$ , resultando na fosforilação da JAK2 e ativação da STAT3, o que promove a transcrição de colágeno e a formação de cicatrizes (Valentino et al., 2006; Dees et al., 2012).

As interleucinas 6 e 36 também possuem ação pró-fibrótica, estimulando a ativação dos miofibroblastos, que se originam da diferenciação dos fibroblastos por meio da produção das células hepáticas estreladas. Inicialmente, os fibroblastos e as células epiteliais realizam a reparação controlada do tecido danificado com a deposição de matriz extracelular. Contudo, com a cronicidade da inflamação, ocorre o aumento da síntese de colágeno, resultando no acúmulo excessivo de matriz e no desenvolvimento de uma cicatriz fibrótica (Wynn, 2007, 2008).

A IL-4 além de compartilhar receptores nos fibroblastos com a IL-13, quando utilizada *in vitro* para estímulo, ela induz a síntese de fibronectina e colágeno tipo I e III, proteínas componentes da matriz extracelular, favorecendo a fibrose (Fertin et al., 1991; Doucet et al., 1998). Ela também induz a produção de IgE nas células B, sendo uma das principais citocinas do perfil Th2 (Varella *et al.*, 2001).

Entretanto, a IL-10, expressa por linfócitos e células do fígado, possui um papel imunoregulador da extensão da inflamação e da fibrose, pois regula a infiltração de neutrófilos e suprime mediadores pró-inflamatórios (An; Petrescu; DeMorrow, 2021). Uma menor produção de IL-10 é relatada em pacientes com fibrose hepática severa, sugerindo que ela atua em sinergia com a IL-6 para prevenir o agravamento da fibrose. Além disso, o IFN- $\gamma$  produzido no fígado inibe a síntese de células estreladas hepáticas, que estimulam a produção e proliferação de componentes da matriz celular importantes para a formação de fibrose (Mutengo *et al.*, 2018). Assim, a IL-10 em conjunto com o INF-  $\gamma$  evitam uma resposta polarizada excessiva do perfil Th1 ou Th2 e, conseqüentemente, uma fibrose hepática severa (Booth *et al.*, 2004).

#### 2.4 CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO FIBRÓTICO HEPÁTICO NA ESQUISTOSSOMOSE

No ano de 1996, ocorreu um congresso em Niamey, na Nigéria, que padronizou a caracterização da fibrose a partir da realização de ultrassonografia que avalia o estágio da doença, a hipertensão portal, a hepatoesplenomegalia e a morbidade. Nele, ficou decidido avaliar aspectos qualitativos da textura hepática associados a medições quantitativas das paredes dos ramos portais, logo após a segunda bifurcação, nos ramos subsegmentares. Assim, haveriam 3 escores a serem analisados: Padrão de Imagem (PI), que avalia qualitativamente a fibrose periportal, o Padrão de Espessamento Portal (EP), que faz uma análise quantitativa da fibrose; e o escore de hipertensão portal (HP) (Domingues, 2008).

Com o início do novo protocolo, os pesquisadores apresentaram problemas com o PE-escore devido ao grande tempo consumido e a baixa reprodutibilidade. Enquanto isso, o PI-escore demonstrou melhor desempenho nesses aspectos, economizando tempo e sendo menos trabalhoso, e assim, seu uso foi favorecido (Gerspacher-Lara *et al.*, 1997). Os tipos de textura hepática podem ser vistos no quadro 1 com uma classificação mais generalista, no quadro 2 com detalhes relacionados à fibrose e ao PI-escore e na figura 9 a representação ilustrativa dos padrões de fibrose.

Quadro 1 – Padrão de textura hepática

Padrão	Textura hepática	Escore
A	Fígado normal	-
X	Cirrose hepática	-
Y	Esteatose hepática	-
Z	Outras lesões hepáticas, a se especificar	-

Fonte: Domingues, 2008

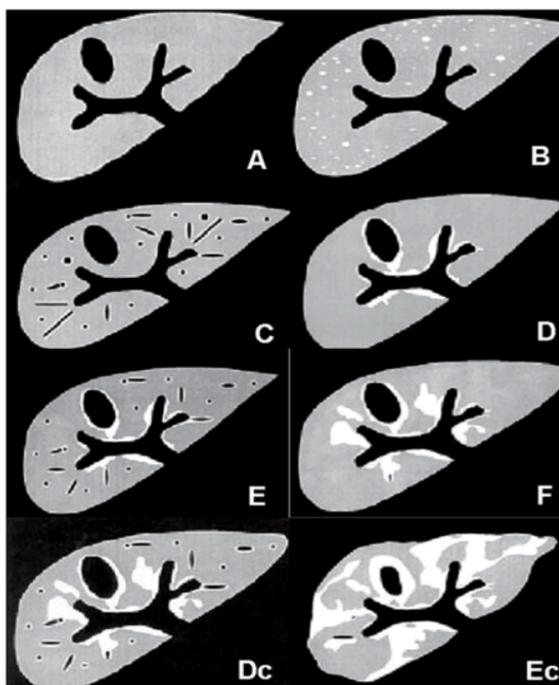
Quadro 2 – Padrão de textura hepática e PI-escore.

Padrão	Textura hepática	PI-escore
B	'Céu estrelado'. Focos ecogênicos difusos e pequenos na periferia do parênquima.	1
C	'Anéis' ecogênicos que correspondem à fibrose periférica.	2
D	'Telhado' ecogênico no tronco e bifurcação da veia porta, fibrose central.	4
E	Faixas ecogênicas estendendo-se da veia porta e bifurcações para o parênquima. Fibrose periportal avançada.	6
F	Faixas ecogênicas estendendo-se da veia porta e suas bifurcações até a superfície hepática, retraindo-a. Fibrose periportal muito avançada.	8
CB	Padrões combinados.	2
DC, DB	''	4
EC, EB	''	6
FC, FB	''	8

Legenda: PI-escore é a análise qualitativa da fibrose hepática pontuada de 1 a 8 conforme evolução do quadro clínico.

Fonte: Domingues, 2008

Figura 9 – Padrões de fibrose hepática



Fonte: Richter, 1996

Dessa forma, esse estudo objetiva entender melhor o comportamento das citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 liberadas conforme o avanço da infecção por

*Schistosoma mansoni* em moradores de área endêmica e definir como é o perfil delas diante o desenvolvimento de fibrose hepática e seus graus de acometimento nos infectados. Assim, esse trabalho poderá ser utilizado como referência para outros que busquem avaliar as citocinas como biomarcadores característicos da infecção para um diagnóstico mais preciso.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever o perfil imunológico das citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 relacionadas com a infecção por *Schistosoma mansoni* e grau de fibrose hepática em área endêmica de Pernambuco.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Identificação de indivíduos infectados e não infectados pelo *S. mansoni* e caracterização do grau de fibrose;
- II. Realizar isolamento e cultivo de PBMC em grupos de indivíduos infectados e não infectados;
- III. Quantificar os níveis das citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 nos grupos estudados.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo transversal experimental para analisar o perfil imunológico das citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 relacionadas com a infecção e grau de fibrose hepática por *Schistosoma mansoni* em indivíduos residentes de área endêmica.

### 4.2 ÁREA DE ESTUDO E LOCALIDADES

A identificação de indivíduos positivos e graus de fibrose para esquistossomose foi realizada por meio de um inquérito epidemiológico em uma área endêmica localizada no município de Jaboatão dos Guararapes. Esse município, situado na Região Metropolitana do Recife, encontra-se a aproximadamente 17 quilômetros da capital e ocupa uma área de aproximadamente 258,8 km<sup>2</sup>. De acordo com o último censo do IBGE, realizado em 2022, Jaboatão dos Guararapes possui uma população de 644.037 habitantes, sendo o segundo município mais populoso de Pernambuco. Sua densidade populacional é de 2.489,28 pessoas por km<sup>2</sup>.

A área de Barra de Jangada, situada no município de Jaboatão dos Guararapes, próxima à Lagoa Olho d'Água, foi escolhida com base em dados epidemiológicos obtidos a partir do Sistema de Informações do Programa de Controle da Esquistossomose (SISPCE), uma vez que era uma região endêmica para a doença e apresentava histórico de casos registrados pela Secretaria Municipal de Saúde de Jaboatão dos Guararapes.

### 4.3 METODOLOGIA DO OBJETIVO 1: CARACTERIZAR, EM RELAÇÃO AO ASPECTO EPIDEMIOLÓGICO E CLÍNICO-LABORATORIAL, DOIS DIFERENTES GRUPOS INFECTADOS E NÃO INFECTADOS PELO *S. MANSONI*.

Foram selecionados pacientes infectados de área endêmica e não infectados de área não endêmica com base no cálculo amostral que foi realizado a partir do programa G\*Power 3.1.9.7, a partir do trabalho “Association of Type 2 Cytokines with Hepatic Fibrosis in Human *Schistosoma mansoni* Infection” publicado por Jesus et

al., 2004, no qual foram utilizados grupos, variáveis e metodologias semelhantes que foram utilizadas neste trabalho. Os parâmetros utilizados foram teste t, teste Wilcoxon-Mann-Whitney test (dois grupos), com erro alfa de 0,05 e poder do estudo de 95%. Os grupos foram divididos da seguinte maneira:

- G1 – Pessoas infectadas oriundas de área endêmica;
- G2 – Pessoas não infectadas oriundas de área não endêmica.

O objetivo da formação desses grupos foi identificar e mensurar o perfil das respostas imunes de indivíduos infectados (G1) em comparação com pacientes que nunca tiveram contato com o parasito (G2). Para o grupo G1 foi realizado um inquérito parasitológico em Novo Horizonte, Barra de Jangada - Jaboatão dos Guararapes (PE) e em área não endêmica, a região de Recife, para coleta de amostras de fezes, sangue e posterior caracterização da forma clínica da doença.

Coleta de amostra de fezes: Foi coletada 1 amostra de cada indivíduo que concordou em participar da pesquisa, da qual foram examinadas 2 lâminas, segundo o método Kato-Katz (Helm Test®, Biomanguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil). A partir do exame dessas lâminas, foi definida a carga parasitária dos indivíduos, por meio do cálculo de Ovos por Grama de Fezes (OPG), que é calculado multiplicando-se o número de ovos encontrados em cada lâmina pela constante 24 (Katz; Pellegrino, 1972). Também foi realizada a técnica de Hoffmann (Rabello *et al.*, 2008) e a qPCR (QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit (50), Qiagen, Hilden, Alemanha) (Espírito-Santo *et al.*, 2014), utilizando o protocolo descrito pela autora, para os indivíduos negativos no KK.

Coleta de amostra de sangue: Foram coletadas amostras de sangue para realização de hemograma e cultura celular.

Coleta de dados clínicos: Todos os indivíduos que concordaram em participar da pesquisa foram convidados a participar de uma avaliação clínica (médica), que tem por objetivo classificar a forma clínica da doença, por meio de exames de ultrassonografia, realizados por uma médica especialista em diagnóstico por imagem e proceder ao tratamento específico dos indivíduos positivos. Todos os exames mencionados acima foram realizados nos pacientes que compõem os grupos do estudo.

Classificação de fibrose com base na ultrassonografia: Durante a realização do exame de imagem, os pacientes foram classificados de acordo com o protocolo

de Niamey, caso houvesse ou não fibrose hepática, segundo o PI-escore e a textura hepática. Dessa forma, foram admitidos os padrões:

- AB: Sem anormalidades
- C: Fibrose Periportal Periférica com anéis ecogênicos
- D/Dc: Fibrose Periportal Central com anéis e “telhado” ecogênico no tronco com bifurcação da veia porta
- E: Fibrose Periportal Avançada com faixas ecogênicas das bifurcações da veia porta até o parênquima
- F: Fibrose Periportal muito Avançada com faixas ecogênicas das bifurcações da veia porta até a superfície, causando retração

#### 4.3.1 Critérios de Exclusão

Para os indivíduos provenientes de áreas não endêmicas, foi considerado critério de exclusão:

- Histórico de esquistossomose;
- Residência ou banhos em rios de regiões endêmicas;

Já no grupo de positivos, os critérios de exclusão incluíram:

- Indivíduos co-infectados por outros helmintos intestinais, como *Ascaris lumbricoides*, ancilostomídeos e/ou *Trichuris trichiura*;
- Presença de esteatose hepática, cirrose ou doenças hepáticas identificadas por ultrassonografia abdominal ou relatadas pelo paciente;
- Indivíduos vivendo com HIV;
- Gestantes.

#### 4.4 METODOLOGIA DO OBJETIVO 2: ISOLAMENTO E CULTIVO CELULAR DE PBMC EM GRUPOS DE INDIVÍDUOS INFECTADOS E NÃO INFECTADOS

##### 4.4.1 Obtenção do Antígeno Solúvel do Verme Adulto (SWAP)

O SWAP foi obtido utilizando 300 vermes adultos machos por meio da extração de seus antígenos solúveis. Os vermes foram transferidos separadamente para um tubo Falcon de 5 mL, ao qual foram adicionados 4 mL de Tampão Fisiológico Tris-CHAPS com Inibidor de Protease pH 8,2. Em seguida, foram incorporados 100 microesferas de zircônio (1,4 mm) e o tubo foi colocado no

disruptor de células e tecidos L-BEADER 6. O equipamento foi configurado com 9 ciclos de agitação, cada um com 30 segundos de duração, seguido por 30 segundos de repouso, operando a uma velocidade de 4000 RPM. Por fim, realizou-se uma centrifugação final a 5000 RPM por 5 minutos para a remoção do sobrenadante da preparação. Uma curva padrão de albumina foi realizada antes da dosagem das proteínas pelo kit de quantificação BCA (Thermo Scientific, Rockford, EUA). Além disso, foi realizada a eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) a 15% para verificar o padrão das bandas geradas.

#### 4.4.2 Cultura celular de PBMCs

Foi realizada a cultura celular de PBMCs (Células Mononucleares do Sangue Periférico) de indivíduos dos grupos 1 e 2, a partir de sangue coletado em tubos com Heparina para a separação das células em gradiente de Ficoll. Inicialmente, em um tubo Falcon de 15 mL, foram adicionados 3 mL de Ficoll-Hypaque (Ficoll® Paque Plus, Darmstadt, Alemanha). Em seguida, adicionou-se lentamente 9 mL de sangue pela parede do tubo inclinado a 45° e, utilizando uma pipeta Pasteur, posteriormente realizando uma diluição de 1:3.

Após isso, foi realizada a centrifugação por 30 minutos a 900 g, a 20 °C, com desaceleração igual a 0. Após a centrifugação, transferiu-se o anel leucocitário (PBMCs) para outro tubo Falcon de 15 mL. As PBMCs do mesmo paciente foram transferidas para um único tubo. No tubo contendo as PBMCs, completou-se o volume do Falcon até 14 mL com meio RPMI 1640 com glutamina (Gibco®) incompleto, homogeneizando a mistura por inversão lenta. Em seguida, foi realizada a centrifugação por 10 minutos a 400 g, com desaceleração igual a 1. Após a centrifugação, descartou-se o sobrenadante por inversão do tubo e ressuspendeu-se o sedimento com 2 mL de meio RPMI incompleto. O próximo passo foi completar o volume do Falcon até 10 mL com meio RPMI incompleto, homogeneizando novamente por inversão e realizando uma nova centrifugação por 10 minutos a 400 g, com desaceleração igual a 1. Após a centrifugação, descartou-se novamente o sobrenadante por inversão do tubo e ressuspendeu-se as células em 1 mL de meio RPMI completo.

Por fim, foi realizada a diluição das células em um tubo de 1,5 mL, adicionando 10 µL das células e 90 µL de Trypan blue, para corar as células mortas, a fim de efetuar a contagem celular na câmara de Neubauer. O cálculo considerado

foi a soma do número de células da diagonal de cada um dos 4 quadrantes externos e seguida da multiplicação por  $10^4$  e pela diluição com o corante Trypan blue. Após essa fase, foi realizada uma diluição para a concentração inicial da cultura considerando o valor de  $3 \times 10^6$ .

As células foram cultivadas em presença de Fitohemaglutinina (PHA) (5  $\mu\text{g/mL}$ ) como controle positivo para produção de citocinas a partir de um estimulante, e apenas com o meio de cultivo, como controle negativo (sem estímulo), e com antígenos solúveis de vermes adultos (SWAP) de *S. mansoni* (10  $\mu\text{g/mL}$ ). O cultivo foi mantido em estufa de  $\text{CO}_2$  a  $37^\circ\text{C}$  e 5% de umidade por 48 horas. Após esse período, o sobrenadante foi coletado e congelado a  $-80^\circ\text{C}$  para posterior dosagem das citocinas.

#### 4.5 METODOLOGIA DO OBJETIVO 3: QUANTIFICAR OS NÍVEIS DE CITOCINAS IFN- $\gamma$ , IL-4 E IL-10 NOS GRUPOS ESTUDADOS

A dosagem sérica das citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 no soro e no sobrenadante da cultura de células, foi realizada a partir do sistema Cytometric Bead 6 Array (CBA) da Becton Dickinson-BD (kit Human Th1/Th2 Cytokine CBA, San Jose, CA, USA), segundo recomendação do fabricante. Em cada tubo, foram adicionados 15  $\mu\text{L}$  da mistura de esferas de captura (anti- IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10) conjugadas com anticorpos monoclonais. Em seguida, as alíquotas de 15  $\mu\text{L}$  dos padrões de citocinas previamente diluídos e 15  $\mu\text{L}$  de diluente apenas (controle negativo) foram transferidas para tubos de poliestireno de 5 mL. Quinze microlitros (15  $\mu\text{L}$ ) de um coquetel de anticorpos monoclonais anti-citocinas humanas, conjugados com o fluorocromo PE (FL-2) foram adicionados com subsequente incubação por 3 h em temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Após a incubação, as esferas de captura foram lavadas com 500  $\mu\text{L}$  da solução de lavagem (“Wash buffer”, reagente presente no kit CBA) e os tubos são centrifugados a 300 g, por 5 minutos e, o sobrenadante foi descartado. As esferas foram então ressuspensas em 300  $\mu\text{L}$  “Wash buffer” e adquiridas no citômetro de fluxo FACSCalibur<sup>TM</sup> (BD, San Jose, CA, USA). Os dados gerados a partir da dosagem de citocinas no BD CBA foram analisados pelo software FCAP Array v3.0.

#### 4.5.1 Análise Estatística

Para avaliar a associação entre as variáveis, utilizou-se de Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade. Quando não atendida a normalidade, usou-se o teste de Mann-Whitney para as variáveis contínuas. Quando a normalidade foi observada, foi aplicado o teste t não pareado para comparar dois grupos e a ANOVA para comparar mais de dois grupos. As análises dos dados foram realizadas com o software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA), e os testes estatísticos foram considerados significativos para valores de  $p < 0,05$ . Foi utilizada a Razão antígeno/meio para considerar a produção basal de citocinas dos indivíduos.

#### 4.6 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este projeto utiliza amostras de fezes dos camundongos para manutenção do ciclo do *S. mansoni* no LRE/Fiocruz/PE. Para isso, foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz (CEUA: nº 173/2021) (ANEXO A). Além disso, o projeto foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal de Pernambuco - Campus Recife (CAAE: 62788922.4.0000.5208) (ANEXO B).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 DADOS DO INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

O inquérito epidemio-parasitológico foi realizado na região de Barra de Jangada, no município de Jaboatão dos Guararapes - PE, onde 416 participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e forneceram informações como nome, data de nascimento, sexo e número do cartão SUS. Desses moradores, 52,40% eram do sexo masculino e 47,59% do sexo feminino, com média de idade de 31,76 anos (0-88 anos), esses dados são semelhantes aos trabalhos de outros pesquisadores (Chaves *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2020). Foram obtidas amostras de fezes de 266 moradores, que foram analisadas pela técnica de Kato-Katz, que identificou 57 positivas, sendo uma co-infectada por *Ascaris lumbricoides*, e 209 amostras negativas para *S. mansoni*. A prevalência da área foi de 21,42%.

Dessas 209 negativas, 99 foram analisadas pelo método de Hoffman e 6 foram positivas, totalizando uma taxa de positividade de 23,68% na área de acordo com as duas técnicas parasitológicas. Das 93 negativas, 85 foram submetidas à extração de DNA para a realização da qPCR, pois as restantes não apresentaram material suficiente. Foram identificadas 14 amostras positivas e 71 negativas pela qPCR para identificação do DNA do parasita nas fezes. A utilização de múltiplas metodologias de diagnóstico para a esquistossomose garante maior sensibilidade e especificidade ao diagnóstico e a qPCR apresenta uma taxa de detecção maior que os métodos parasitológicos (Espírito-Santo *et al.*, 2014).

Todos os 63 positivos e os 71 negativos de acordo com as três técnicas foram convocados para a realização de avaliação clínica e ultrassom do abdômen superior para caracterização da doença e avaliação de presença ou ausência de fibrose ou esteatose hepática na Unidade Básica de Saúde Barra de Jangada I. Os 14 positivos pelo método de qPCR não foram considerados, pois buscou-se apenas positivos por métodos parasitológicos diretos. Apresentaram-se 55 indivíduos positivos, sendo 63,63% do sexo masculino e 36,36% do sexo feminino, apresentando carga parasitária média de 315,46 OPG (12-3.168 OPG), com média

de idade de 36,69 anos (5-80); e 57 negativos, sendo 55,38% do sexo masculino e 45,61% do sexo feminino, com média de idade de 34,70 anos (2-85).

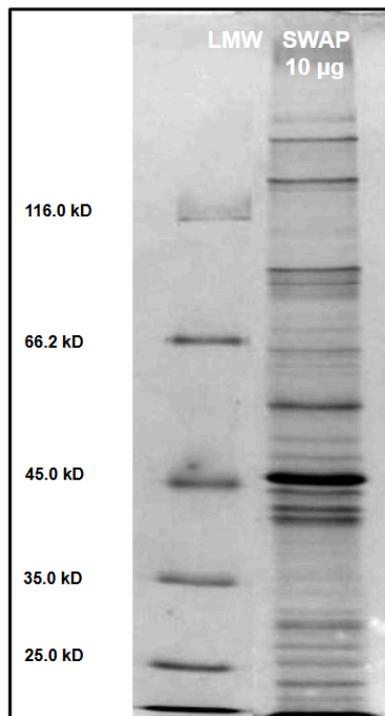
Entre os positivos, 14 apresentaram exame normal (fibrose padrão A ou B) sendo 50% do sexo masculino com média de idade de 21 anos (5-54 anos); 30 apresentaram fibrose periportal com padrão C, D/Dc ou E, sendo 76,66% (23/30) do sexo masculino e 23,34% (7/30) do sexo feminino, média de idade de 40,83 anos (8-80 anos) e carga parasitária média de 339,38 OPG (12-3.168 OPG); e 11 indivíduos apresentavam critérios de exclusão predefinidos na metodologia. A maior quantidade de pessoas do sexo masculino infectados e com fibrose nesse estudo foi semelhante a trabalhos da literatura, no qual homens mostraram-se mais suscetíveis ao risco (Anjorin *et al.*, 2024, Henri *et al.*, 2002).

Já os negativos de área não endêmica formaram um grupo de 19 pessoas, no qual 17 não possuíam fibrose, a média de idade foi de 30,12 anos (23-51) e havia 10 pessoas do sexo masculino (58,82%) e 7 do feminino (41,18%). Entre os dois restantes, um possuía fibrose e o outro esteatose hepática.

## 5.2 QUANTIFICAÇÃO DO ANTÍGENO DO VERME ADULTO (SWAP)

A produção do antígeno SWAP resultou em uma concentração de 1100 µg/mL. Na literatura, relata-se concentrações entre 3000 e 5000 µg/mL de proteína após a preparação do SWAP (Neves *et al.*, 2015), entretanto, essa diferença não desqualifica a concentração encontrada em laboratório, que foi suficiente para realização de todos os experimentos. Na figura 11, é possível visualizar o gel SDS-PAGE 15% para visualização das proteínas no antígeno com o marcador de peso molecular (LMW) e bandas do antígeno. Em artigo com método similar ao realizado, obteve-se resultado semelhante do gel de SDS-PAGE 15%, com bandas de tamanhos próximos (Hirsch *et al.*, 1997), demonstrando reprodutibilidade da produção do antígeno.

Figura 10 – Gel de eletroforese SDS-PAGE 15% das proteínas obtidas a partir da extração dos antígenos do verme adulto (SWAP)



Legenda: Gel de SDS-PAGE 15% com o marcador de peso molecular (LMW) com bandas de tamanho 116.0 kDa, 66.2 kDa, 45.0 kDa, 35.0 kDa e 25.0 kDa na coluna 1 e a distribuição das bandas do antígeno SWAP (10 µg/mL) na coluna 2.

Fonte: Maria Eduarda da Silva Pereira; Mariana Santana Queires (2024)

### 5.3 DOSAGEM DAS CITOCINAS

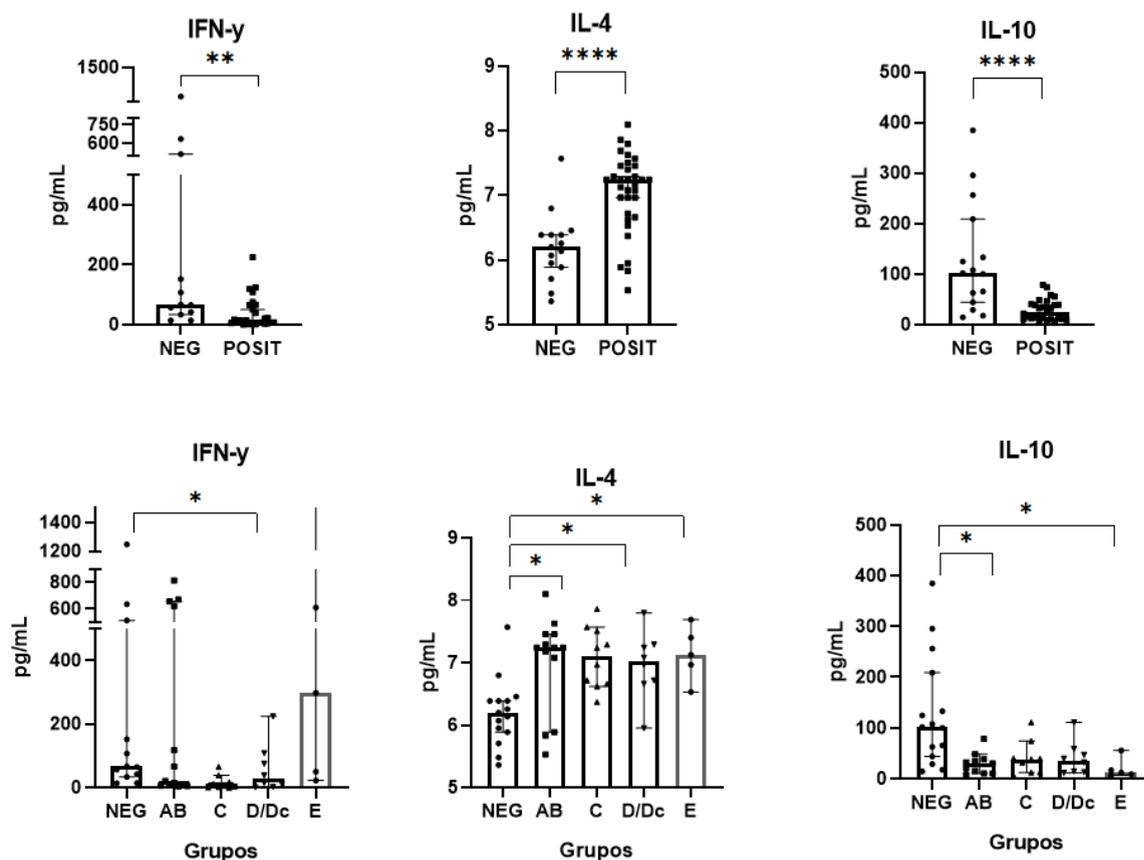
Na comparação entre indivíduos negativos e positivos, observou-se uma maior produção de IFN- $\gamma$  ( $p < 0,01$ ), conhecida pelo seu papel antifibrótico nos indivíduos negativos (Henri et al., 2002). Isso sugere que a resposta imune nos indivíduos negativos pode estar associada a um menor desenvolvimento de fibrose. Por outro lado, os indivíduos positivos apresentaram níveis significativamente elevados de IL-4 e IL-10 ( $p < 0,0001$ ). A IL-4 está relacionada ao perfil Th2, favorecendo uma resposta anti-inflamatória e formação de fibrose, enquanto a IL-10 tem um papel imunorregulador.

Na análise entre os grupos com diferentes graus de fibrose, verificou-se que o padrão D/Dc manteve níveis elevados de IFN- $\gamma$ , reforçando seu potencial

antifibrogênico. Já a IL-10 apresentou maior produção nos indivíduos negativos, e entre os indivíduos com fibrose, houve diferença significativa entre os padrões AB e E em relação aos negativos. Esse achado evidencia a ação reguladora da IL-10, associada à suavização da fibrose em estágios iniciais (Garcez et al., 2021). No entanto, em quadros avançados de fibrose, como no padrão E, observou-se uma maior redução na produção da IL-10, indicando que sua ação pode ser insuficiente para conter a progressão da fibrose assim como no estudo de Mutengo *et al.*, 2018 que baixos níveis de IL-10 foram associados à fibrose moderada à severa.

Por outro lado, a IL-4 apresentou maior produção nos indivíduos positivos, especialmente nos padrões AB, D/Dc e E ( $p < 0,05$ ). Esse achado pode ser explicado pelo fato de que a IL-4 pertence ao perfil Th2, caracterizado por uma resposta imune anti-inflamatória. Sua produção aumentada pode representar uma tentativa do organismo de combater a infecção, porém ao mesmo tempo ela favorece a formação de fibrose causada pelo estímulo excessivo da deposição de tecido cicatricial, possivelmente por um desbalanço com a IL-10 (Pearce et al., 1991).

Figura 11 – Níveis de citocinas produzidas em nível basal por indivíduos negativos e positivos com diferentes graus de fibrose



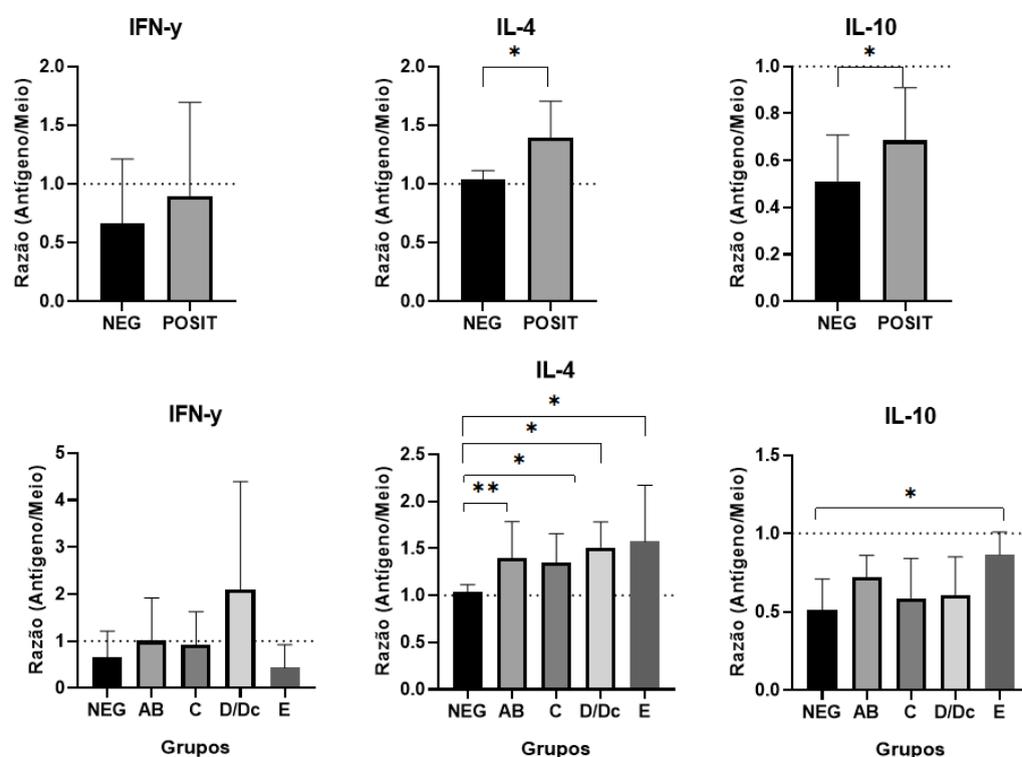
Legenda: No painel superior há comparação entre indivíduos NEG (negativos) e POSIT (positivos). No painel inferior: comparação entre diferentes grupos classificados pelo grau de fibrose distribuídos nas colunas (NEG, AB, C, D/Dc e E). Nas colunas, cada figura geométrica (círculo, quadrado ou triângulo) representa um paciente. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,0001$ ).

Fonte: a autora (2025).

Ao comparar a razão da produção de citocinas estimuladas com SWAP dos indivíduos, considerando o critério infectado ou não, a diferença da produção de IFN- $\gamma$  não foi significativa. Enquanto isso, a IL-4 e a IL-10 foram produzidas em valores relevantes nos indivíduos positivos.

Em seguida, ao considerar a presença de fibrose com os padrões AB, C, D/Dc e E, a IL-4 foi mais produzida em todos os padrões, principalmente no AB, porém no C ela não aumentou de forma significativa. Já a IL-10 só apresentou produção significativa nos indivíduos de padrão E, mostrando uma tentativa de regulação do avanço da inflamação num perfil de fibrose mais desenvolvido devido à produção em excesso de matriz extracelular para formação de cicatriz fibrótica. Por outro lado, o IFN- $\gamma$  também não apresentou diferença significativa com o estímulo de SWAP corroborando com o estudo de Garcez *et al.*, 2021 no qual não houve diferença na produção da citocina em indivíduos com e sem fibrose (figura 14).

Figura 12 – Produção de citocinas de indivíduos negativos e positivos, sem e com fibrose, estimulados com SWAP



Legenda: Painel superior: comparação entre indivíduos NEG (negativos) e POSIT (positivos) com base na razão de antígeno/MEIO. No painel inferior há comparação entre diferentes grupos classificados pela presença ou ausência de fibrose (NEG, AB, C, D/Dc e E) também com base na razão de antígeno/MEIO. (\*) indicam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ).

Fonte: a autora (2025)

## 6 CONCLUSÃO

Com base no inquérito realizado, é possível perceber que a região de Barra de Jangada, no município de Jaboatão dos Guararapes, apresenta uma endemicidade moderada (prevalência de 23,68%).

Por meio da ultrassonografia, notou-se uma predominância de fibrose periportal de diferentes estágios no sexo masculino e em indivíduos mais velhos, demonstrando coerência com os dados do inquérito nos quais os homens corresponderam a maior taxa de infectados.

A produção de citocinas, como IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-10 mostrou como parte do sistema imunológico interage com o patógeno. Enquanto o IFN- $\gamma$  foi mais significativo entre os indivíduos negativos e com padrão mais inicial de fibrose podendo ser um potencial biomarcador de proteção, a IL-10 teve maior expressão no estágio inicial da doença e no estágio mais avançado, indicando uma tentativa de controle imunológico da fibrose e potencial ação como biomarcador de modulação. Por outro lado, a IL-4 esteve mais presente nos indivíduos conforme houve avanço nos estágios de fibrose, sugerindo uma tentativa do organismo em controlar a infecção, mas que também contribui para a progressão da fibrose hepática, podendo ser um marcador de susceptibilidade.

Além disso, o estudo destaca que a evolução da fibrose hepática está relacionada com o desequilíbrio imunológico da infecção, o que fornece novas perspectivas para estratégias terapêuticas mais eficazes. Por fim, a combinação de técnicas diagnósticas e a análise das respostas imunológicas são cruciais para aprimorar o controle e o tratamento da esquistossomose, principalmente em regiões endêmicas, como a estudada, e eliminá-la como problema de saúde pública.

## REFERÊNCIAS

1. ANJORIN, S., et al. Epidemiology of periportal fibrosis and relevance of current *Schistosoma mansoni* infection within the context of repeated mass drug administration in rural Uganda: a population-based, cross-sectional study. **The Lancet Microbe**, v. 5, n. 12, p. 100944, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.07.007>
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Doenças Transmissíveis. **Vigilância da esquistossomose mansoni: diretrizes técnicas** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Departamento de Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2024. 116 p.
3. BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3ª. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2019, p. 740.
4. BRASIL. Instituto Água e Saneamento. **Municípios e Saneamento**, 2022. Acesso em 23 março 2025.
5. BRASIL, Trata. Instituto Trata Brasil. **Painel Saneamento Brasil**, 2022. Disponível em <https://www.painelsaneamento.org.br/localidade?id=260790>. Acesso em 23 março de 2025.
6. BOOTH, M. et al. Periportal Fibrosis in Human *Schistosoma mansoni* Infection Is Associated with Low IL-10, Low IFN- $\gamma$ , High TNF- $\alpha$ , or Low RANTES, Depending on Age and Gender. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 2, p. 1295–1303, 5 jan. 2004.
7. BRINDLEY, Paul J, et al. “Revisiting What Constitutes a Neglected Tropical Disease?” **PLoS Neglected Tropical Diseases**, vol. 19, no. 2, 20 Feb. 2025, pp. e0012794–e0012794, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012794>. Acesso em 22 de fevereiro de 2025.
8. BURKE, M.L. et al. Immunopathogenesis of human schistosomiasis. **Parasite**

- Immunol.**, Oxford, v.31, p.163-176, 2009.
9. CARBONELL, C. et al. Clinical Spectrum of Schistosomiasis: An Update. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 23, p. 5521, 1 jan. 2021.
  10. CARDOSO L. S., et al. Schistosoma mansoni antigens modulate the allergic response in a murine model of ovalbumin-induced airway inflammation. **Clinical and Experimental Immunology**. 2010, v. 160, n. 2, p. 266-74. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.04084.x
  11. CARVALHO AT, MARTINS FILHO AO, OLIVEIRA RC. A resposta imune na forma crônica da esquistossomose mansoni. In: Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL, (editores). **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. 20ª ed. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2008. p. 670-716.
  12. CARVALHO, O. DOS S. et al. Distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários do Schistosoma mansoni nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte, 2012-2014\*. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, n. 3, nov. 2018.
  13. CARVALHO, O. DOS S. et.al. Importância epidemiológica dos moluscos do gênero Biomphalaria. In:Carvalho, O. dos Santos; et.al. **Schistosoma mansoni: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ,2008, p. 309-346.
  14. CEARÁ. Secretaria da Saúde do Estado. Coordenadoria de Vigilância em Saúde. Núcleo de Controle de Vetores. **Guia de Instalação e Utilização do SISPCE / Secretaria da Saúde do Estado do Ceará**. - Fortaleza: Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, 2018. 52 p. Disponível em: <http://www.saude.ce.gov.br/>
  15. CHAVES, C. F., et al. Evidence for local transmission and maintenance of schistosomiasis in an urban neighbourhood in Northeast Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 6, p. 3153–3159, 2022. <https://doi.org/10.1111/tbed.14692>
  16. CHEEVER, Allen W. et al. Anti-IL-4 treatment of Schistosoma mansoni-infected mice inhibits development of T cells and non-B, non-T cells expressing Th2 cytokines while decreasing egg-induced hepatic fibrosis. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 153, n. 2, p. 753-759, 1994.

17. CHIARAMONTE, Mónica G. et al. An IL-13 inhibitor blocks the development of hepatic fibrosis during a T-helper type 2–dominated inflammatory response. **The Journal of clinical investigation**, v. 104, n. 6, p. 777-785, 1999.
18. CHUAH, C. et al. Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. **Trends Parasitol.**, Oxford, v. 30, n. 3, p. 1–10, 2014.
19. COLLEY; SECCOR, 2014 COLLEY, D. G.; SECCOR, W. E. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite Immunology**. v. 36, p. 347–357, 2014.
20. COSTAIN, A. H. *et al.* Dynamics of Host Immune Response Development During *Schistosoma mansoni* Infection. **Frontiers in Immunology**. v. 13, p. 906338, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.906338>.
21. COSTAIN, A. H.; MACDONALD, A. S.; SMITS, H. H. Schistosome Egg Migration: Mechanisms, Pathogenesis and Host Immune Responses. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 20 dez. 2018.
22. DAVIES, Stephen J.; MCKERROW, James H. Developmental plasticity in schistosomes and other helminths. **International journal for parasitology**, v. 33, n. 11, p. 1277-1284, 2003.
23. DEES, C. *et al.* JAK-2 as a novel mediator of the profibrotic effects of transforming growth factor  $\beta$  in systemic sclerosis. **Arthritis and rheumatism**, v. 64, n. 9, p. 3006-15, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/art.34500>
24. DOMINGUES, ALC. Diagnóstico por imagem. In: CARVALHO, OS., COELHO, PMZ., and LENZI, HL., orgs. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 927-961. ISBN 978-85-7541-370-8. Available from SciELO Books.
25. ESPÍRITO-SANTO, M. C. C. *et al.* Evaluation of real-time PCR assay to detect *Schistosoma mansoni* infections in a low endemic setting. **BMC infectious diseases**, v. 14, p. 558, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12879-014-0558-4>
26. FERTIN, C. et al. Interleukin-4 stimulates collagen synthesis by normal and scleroderma fibroblasts in dermal equivalents. **Cellular and molecular biology**, v. 37, n. 8, p. 823-829, 1991.
27. FITZSIMMONS, C. M. et al. Progressive cross-reactivity in IgE responses: an

- explanation for the slow development of human immunity to schistosomiasis? **Infection and Immunity**. v. 80, p. 4264–4270, 2012.
28. FRIEDMAN, S. L. Mechanisms of disease: Mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. **Nature clinical practice. Gastroenterology & hepatology**, v. 1, n. 2, p. 98-105, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ncpgasthep0055>
29. GARCEZ, K. *et al.* Association of IL-9, IL-10, and IL-17 Cytokines With Hepatic Fibrosis in Human *Schistosoma mansoni* Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 14 dez. 2021.
30. GERSPACHER-LARA, R. *et al.* Ultrasonography of periportal fibrosis in schistosomiasis mansoni in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 91, n. 3, p. 307–309, maio 1997.
31. GOMES, E. C. S. *et al.* Esquistossomose: manejo clínico e epidemiológico na atenção básica. Fiocruz, Pernambuco, v. 144, p. 48-54, 2017. Disponível em <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ens-36192>. Acesso em: 27 março de 2025
32. GOMES, E. C. S. *et al.* Transmissão urbana da esquistossomose: novo cenário epidemiológico na Zona da Mata de Pernambuco. **Revista Brasileira De Epidemiologia** [Internet]. v. 19, n. 4, p. 822–34, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-5497201600040012>
33. HAMS, E.; AVIELLO, G.; FALLON, P. G. The *Schistosoma* Granuloma: Friend or Foe? **Frontiers in Immunology**, v. 4, 15 abr. 2013.
34. HENRI, S. *et al.* Cytokine regulation of periportal fibrosis in humans infected with *Schistosoma mansoni*: IFN-gamma is associated with protection against fibrosis and TNF-alpha with aggravation of disease. **Journal of Immunology** (Baltimore, Md.: 1950), v. 169, n. 2, p. 929–936, 15 jul. 2002.
35. HIRSCH, C. *et al.* Evidentiation of Paramyosin (Sm-97) as a Modulating Antigen on Granulomatous Hypersensitivity to *Schistosoma mansoni* Eggs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 5, p. 663–667, 1 set. 1997.
36. HOFFMANN, K.F.; CHEEVER, A.W.; WYNN, T.A. IL-10 and Danger of Immune Polarization: Excessive Type 1 and Type 2 Cytokine Responses Induce Distinct Forms of Lethal Immunopathology in Murine Schistosomiasis.

- J. Immunol.**, Bethesda, v. 164, n. 12, p. 6406–6416, 2000.
37. HOGG, K. G., *et al.* Interleukin-12 p40 Secretion by Cutaneous CD11c+ and F4/80+ Cells Is a Major Feature of the Innate Immune Response in Mice That Develop Th1-Mediated Protective Immunity to *Schistosoma mansoni*. **Infection and Immunity**, 2003, v. 71, n. 6, p. 3563–3571.
38. IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/panorama>>. Acesso em: 23 abril de 2025
39. KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 38-43. 2003.
40. KATZ, N. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helminthoses/Naftale Katz. – Belo Horizonte: CPqRR, 2018.
41. KOURILOVA, P., *et al.* Cercarial Dermatitis Caused by Bird Schistosomes Comprises Both Immediate and Late Phase Cutaneous Hypersensitivity Reactions. **The Journal of Immunology**, 2004, v. 172, n. 6, p. 3766–3774.
42. LEANDRO X. N. *et al.* What's in SWAP? Abundance of the principal constituents in a soluble extract of *Schistosoma mansoni* revealed by shotgun proteomics. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, 19 jun. 2015.
43. MAGGI, L. *et al.* The IL-33/ST2 pathway is not essential to Th2 stimulation but is key for modulation and survival during chronic infection with *Schistosoma mansoni* in mice. **Cytokine**. v. 138, p. 1-13, 2021.
44. MAHMOUD, AAF. Esquistossomose e outras infecções por trematódeos. In: Braunwald E, Kasper DL, Fauci AS, *et al.* (editores). *Harrison medicina interna*. 17ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; p. 1330-5. 2009.
45. McMANUS, D. P. *et al.* Schistosomiasis. *Nature reviews*. v. 4, p. 1 – 19, 2018.
46. MEURS, L. *et al.* Cytokine responses to *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* in relation to infection in a co-endemic focus in Northern Senegal. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 8, e.3080, 2014.
47. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii: diretrizes técnicas**. 4 ed. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2022.
48. MOLEHIN, A. J. Current Understanding of Immunity Against Schistosomiasis:

- Impact on Vaccine and Drug Development. *Research and Reports in Tropical Medicine*, v. Volume 11, p. 119–128, nov. 2020.
49. MONTENEGRO, S. M. et al. Cytokine production in acute versus chronic human schistosomiasis mansoni: the crossregulatory role of interferon- $\gamma$  and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. **Journal of Infect Diseases**. 1999, v. 179, n. 6, p. 1502–1514
50. MUTENGO, M. M. et al. Low IL-6, IL-10, and TNF- $\alpha$  and High IL-13 Cytokine Levels Are Associated with Severe Hepatic Fibrosis in *Schistosoma mansoni* Chronically Exposed Individuals. **Journal of Parasitology Research**, v. 2018, p. 1–8, 2018.
51. PAZ, et al. Basic and associated causes of schistosomiasis related mortality in Brazil: A population based study and a 20-year time series of a disease still neglected. **Journal of Global Health**. v. 11, p. 04061, 2021.
52. PEARCE, E. J. et al. Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. **Journal of Experimental Medicine**, v. 173, n. 1, p. 159–166, 1 jan. 1991.
53. PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde e Atenção Primária. **Boletim técnico da esquistossomose**, Pernambuco, junho 2023, v. 1, n.1. Disponível em <<https://www.cievspe.com/informacoes-estrategicas>>.
54. POSADA-MARTÍNEZ, E. L. et al. Schistosomiasis & Heart – On Behalf of the Neglected Tropical Diseases and other Infectious Diseases affecting the Heart (the NET-Heart Project). **Arq. Bras. Cardiol.**, p. –, 8 dez. 2021.
55. RABELLO, A., et al. Diagnóstico parasitológico, imunológico e molecular da Esquistossomose mansoni. In: CARVALHO, OS., COELHO, PMZ., and LENZI, HL., orgs. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 895-925. ISBN 978-85-7541-370-8. Available from SciELO Books: <http://books.scielo.org/>.
56. REIMAN, Rachael M. et al. Interleukin-5 (IL-5) augments the progression of liver fibrosis by regulating IL-13 activity. **Infection and immunity**, v. 74, n. 3, p. 1471-1479, 2006.

57. ROBSON et al. Cytokine and Chemokine Profile in Individuals with Different Degrees of Periportal Fibrosis due to *Schistosoma mansoni* Infection. **Journal of Parasitology Research**, v. 2012, p. 1–10, 1 jan. 2012.
58. SANTANA J. B., et al. Phenotypic Characterization of CD4+ T Lymphocytes in Periportal Fibrosis Secondary to Schistosomiasis. **Frontiers in Immunology**. 2021, v. 12, p. 605235. doi: 10.3389/fimmu.2021.605235.
59. SCHWARTZ, C., FALLON, P. G. Schistosoma “Eggs-Iting” the host: granuloma formation and egg excretion. **Frontiers in Immunology**. v. 9, p. 1-16, 2018.
60. SEMENZA, J. C.; ROCKLÖV, J.; EBI, K. L. Climate Change and Cascading Risks from Infectious Disease. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 11, n. 4, 19 maio 2022.
61. SHUJA, A. et al. Intestinal Schistosomiasis: A Rare Cause of Abdominal Pain and Weight loss. **Cureus**, v. 10, n. 1, 2018.
62. SILVA L. K., et al. The changing profile of schistosomiasis in a changing urban landscape. **International Journal for Parasitology**, v. 50, n. 1, p. 27–34, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.10.003>
63. SILVA, R. M. R. et al. Análise espacial dos fatores condicionantes à transmissão da esquistossomíase mansônica (2016-2017) em Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 19913–19929, 2020.
64. SOUZA, C. O. S. et al. Monocyte and macrophage-mediated pathology and protective immunity during Schistosomiasis. **Frontiers in Immunology**. v. 11, p. 1-9, 2020.
65. SPEICH, B. et al. Effect of sanitation and water treatment on intestinal protozoa infection: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 87–99, jan. 2016.
66. SU YEON AN; PETRESCU, A. D.; DEMORROW, S. Targeting Certain Interleukins as Novel Treatment Options for Liver Fibrosis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 24 mar. 2021.
67. TURNER, J. D. et al. Blood Flukes Exploit Peyer’s Patch Lymphoid Tissue to Facilitate Transmission from the Mammalian Host. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 12, p. e1003063–e1003063, 20 dez. 2012.

68. VALENTINO, L.; PIERRE, J. JAK/STAT signal transduction: regulators and implication in hematological malignancies. **Biochemical pharmacology**, v. 71, n. 6, p. 713-21, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.12.017>
69. WHO. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. **Geneva: World Health Organization**; 2020.
70. WHO. Schistosomiasis. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>>. Acesso em 23 de abril de 2025.
71. WYNN, T. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. **The Journal of Pathology**, v. 214, n. 2, p. 199–210, jan. 2008.

## APÊNDICE A

### FICHA DE AVALIAÇÃO DA ULTRASSONOGRAFIA



Ordem de chegada



#### FICHA DE AVALIAÇÃO POR ULTRASSONOGRAFIA

Nome: \_\_\_\_\_ Registro: \_\_\_\_\_

Data exame: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Motivo do Exame: \_\_\_\_\_

Sexo: M ( ) F ( ) Idade: \_\_\_\_\_ DN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_

FÍGADO: Padrões de Fibrose periportal:

Sem anormalidades: Padrão A- \_\_\_\_\_ Outras anormalidades: Padrão X-cirrose \_\_\_\_\_;

Padrão Y-esteatose \_\_\_\_\_; Padrão Z- (citar) \_\_\_\_\_;

Padrão B (difícil decidir) \_\_\_\_\_; Padrão C (FPP periférica) \_\_\_\_\_;

Padrão D (FPP central) \_\_\_\_\_ ou DC \_\_\_\_\_;

Padrão E (FPP Avançada) \_\_\_\_\_ ou EC \_\_\_\_\_;

Padrão F (FPP muito avançada) \_\_\_\_\_ ou FC \_\_\_\_\_;

Superfície Hepática:

Normal: \_\_\_\_\_ Lobulada: \_\_\_\_\_ Irregular Leve: \_\_\_\_\_ Grosseiro: \_\_\_\_\_

LOBO E: Tamanho: Longitudinal: \_\_\_\_\_ LOBO D: Tamanho: Linha axilar anterior: \_\_\_\_\_

Veia PORTA: \_\_\_\_\_

COLATERAIS: Ausente: \_\_\_\_\_ Presente: \_\_\_\_\_ Difícil decidir: \_\_\_\_\_ Qual: \_\_\_\_\_

ASCITE: Ausente: \_\_\_\_\_ Presente: \_\_\_\_\_ VESÍCULA BILIAR: Paredes: Finas: \_\_\_\_\_ Espessadas: \_\_\_\_\_

Cálculos: Sim: \_\_\_\_\_ Não: \_\_\_\_\_ Septação: Sim: \_\_\_\_\_ Não: \_\_\_\_\_

BAÇO: L: \_\_\_\_\_ T: \_\_\_\_\_ VOLUME: \_\_\_\_\_ (NLaté 60)

Observações:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

CONCLUSÕES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Classificação: ( ) Inicial – agudo ( ) Tardio – crônico

## ANEXO A

## PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



## COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Certificado de Aprovação

Certificamos que o projeto intitulado “**Manutenção de cepas de *Schistosoma mansoni* para pesquisas científicas**” protocolado sob nº **173/2021** pela pesquisadora **Elaine Christine de Souza Gomes**, está de acordo com a Lei 11.794/2008 do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e todos os protocolos experimentais foram aprovados pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) do Instituto Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz (CEUA/IAM). Na presente versão, este projeto está licenciado e tem **validade até 31 de março de 2026** com a finalidade de **pesquisa científica**. É responsabilidade do coordenador do projeto notificar à CEUA sobre acidentes ou intercorrências com os animais, bem como a necessidade de quaisquer alterações em relação ao projeto. O coordenador concorda que nenhuma dessas mudanças serão implementadas antes de serem aprovadas pela CEUA/IAM.

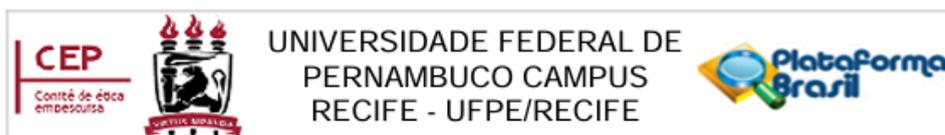
Quantitativo de Animais Aprovados								
Animal	Espécie e linhagem	Quant. (total)	Sexo			Idade	Peso	Origem
			♂	♀	Ambos			
Camundongo heterogênico	<i>Mus musculus</i> . Linhagem: <i>Swiss webster</i>	1.920			X	7-8 semanas	30-40 gramas	Biotério
<b>Total</b>		<b>1.920</b>						

Recife, 08 de março de 2022

Virginia Maria Barros de Lorena  
Coordenadora CEUA/IAM  
Mat. Siape 1984445

## ANEXO B

# PROTOCOLO DE APROVAÇÃO NO COMITÊ DE ÉTICA DE PESQUISA EM HUMANOS



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Identificação e caracterização de biomarcadores imunológicos associados à esquistossomose mansônica.

**Pesquisador:** ELAINNE CHRISTINE DE SOUZA GOMES

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 62788922.4.0000.5208

**Instituição Proponente:** FUNDACAO OSWALDO CRUZ

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

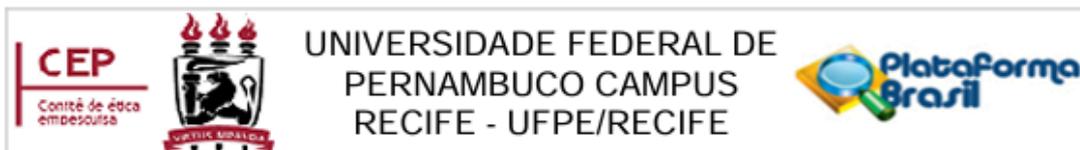
**Número do Parecer:** 5.905.584

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de Projeto de Pesquisa Docente de Elaine Christine de Souza Gomes intitulado " Identificação e caracterização de biomarcadores imunológicos associados à esquistossomose mansônica". Aparecem ainda como membros da equipe Walter Lins Barbosa Júnior, Constança Clara Gayoso Simões Barbosa, Iris Edna Pereira da Silva, Barnabe José Tabosa, Wheverton Ricardo Correia do Nascimento, Ana Lúcia Coutinho Domingues, Virginia Maria Barros de Lorena, Maria Eduarda da Silva Pereira.

Serão selecionados pacientes infectados e não infectados de áreas endêmicas e não endêmicas; também serão selecionados indivíduos que apresentam a forma grave da doença. Os grupos serão divididos da seguinte maneira: G1 – Pessoas infectadas oriundas de área endêmica; G2 – Pessoas infectadas e com a forma grave da doença (hepatoesplênica descompensada); G3 – Pessoas não infectadas oriundas de área endêmica; G4 – Pessoas não infectadas oriundas de não área endêmica. O objetivo da formação desses grupos é identificar e mensurar o perfil das respostas imunes de indivíduos com diferentes estágios da doença (G1 e G2) em comparação com indivíduos não doentes, mas passíveis de ter tido contato com o agente infeccioso (G3), e paciente que nunca tiveram contato com o parasito (G4). Para os grupos G1, G3 e G4 serão realizados inquérito parasitológico em localidades endêmicas e não endêmicas para coleta de amostras de fezes, sangue e posterior caracterização da forma clínica da doença.

**Endereço:** Av. das Engenhasria, s/n, 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 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.905.584

#### **Objetivo da Pesquisa:**

##### **Objetivo Primário:**

Avaliar os biomarcadores imunológicos e o receptor de vitamina D que podem estar associados à progressão da fibrose na esquistossomose mansônica.

##### **Objetivo Secundário:**

- a) Caracterizar do ponto de vista epidemiológico e clínico-laboratorial os grupos 4 diferentes grupos infectados e não infectados pelo *S. mansoni*;
- b) Quantificar os níveis de citocinas IFN-, TNF, IL-10, IL-5, IL-4; IL-2; IL-33 e IL-36 nos grupos 1-4;
- c) Avaliar as frequências das populações de linfócitos e monócitos nos grupos 1-4;
- d) Avaliar as frequências dos receptores de vitamina D na superfície das populações de linfócitos e monócitos nos grupos 1-4.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

##### **Riscos:**

Os riscos decorrentes da sua participação na pesquisa são a possibilidade de constrangimento no momento da coleta e entrega das fezes e aparecimento de hematomas (mancha roxa) no local da retirada de sangue, porém, asseguramos que serão tomados todos os cuidados necessários para que este fato não aconteça.

##### **Benefícios:**

Contribuição para o melhor entendimento da doença e melhorias na identificação do verme na população. Além disso, serão realizados exames de fezes nos envolvidos na pesquisa, os quais receberão o resultado do mesmo e em caso de alguma alteração nos resultados serão encaminhados para uma consulta médica e receberão orientações de higiene e métodos para evitar novas infecções.

Os riscos e benefícios acima citados pela pesquisadora foram devidamente avaliados e considerados adequados ao projeto em pauta.

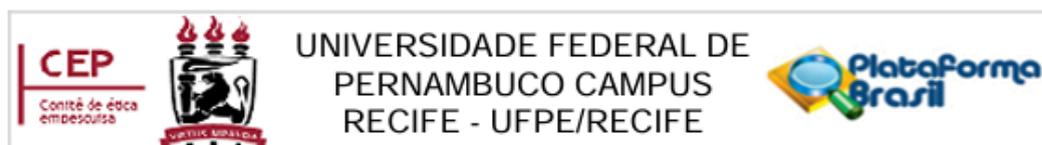
#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto traz importante proposta para uma melhor qualificação do status imunológico de pacientes portadores da Esquistossomose mansônica em nosso estado e que vivem em área endêmica da doença.

#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos apresentados estão em conformidade com as normas do CEP. No entanto se observa

**Endereço:** Av. das Engenhasria, s/n, 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 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.905.584

que existe apenas a Carta de Anuência do Município de Jaboatão dos Guararapes. A pesquisadora apresenta uma Declaração de Compromisso - Carta de Anuência do Município comprometendo-se a apresentar as cartas de Anuências dos Municípios logo que os mesmos sejam selecionados e concordem com o desenvolvimento do projeto. Ainda, que o trabalho no município só será iniciado após submissão das cartas de anuência ao CEP para ciência e aprovação do início dos trabalhos de campo.

**Recomendações:**

Sem Recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado para início da pesquisa apenas no Município de Jaboatão dos Guararapes, conforme carta de anuência apresentada.

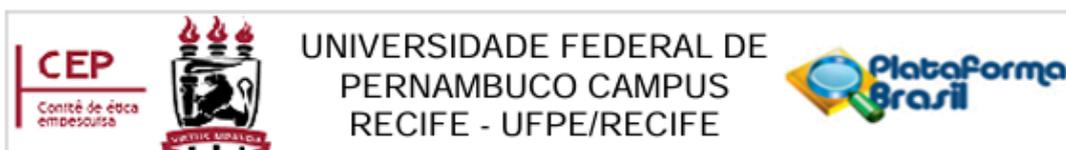
**Considerações Finais a critério do CEP:**

A emenda foi avaliada e APROVADA pelo colegiado do CEP.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_2090763_E1.pdf	16/02/2023 13:34:10		Aceito
Outros	Encaminhamento_Carta_Anuencia.pdf	16/02/2023 13:33:03	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia.pdf	16/02/2023 13:32:43	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA.pdf	17/10/2022 20:04:23	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_PROEP_2022_PlataformaBrasil_NovaVersao.pdf	17/10/2022 20:04:01	ELAINNE CHRISTINE DE SOUZA GOMES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	UFPE_TCLEMaiores18.pdf	31/08/2022 10:20:02	ELAINNE CHRISTINE DE SOUZA GOMES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	UFPE_TCLE_Responsaveismenores.pdf	31/08/2022 10:19:56	ELAINNE CHRISTINE DE SOUZA GOMES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	UFPE_TALEMenor7a18.pdf	31/08/2022 10:19:49	ELAINNE CHRISTINE DE SOUZA GOMES	Aceito

**Endereço:** Av. das Engenhasria, s/n, 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 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.905.584

Ausência	UFPE_TALEMenor7a18.pdf	31/08/2022 10:19:49	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_BarnabeJoseTabosa.pdf	30/08/2022 20:17:47	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_MariaEduarda.pdf	30/08/2022 20:17:39	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_IrisEdnaPereira.pdf	30/08/2022 20:17:09	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_WalterLins.pdf	30/08/2022 20:16:58	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_VirginiaMaria.pdf	30/08/2022 20:16:42	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_WhevertonRicardo.pdf	30/08/2022 20:16:19	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_AnaLuciaCoutinhoDomingues.pdf	30/08/2022 20:15:49	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_ElaineChristine.pdf	30/08/2022 20:15:20	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Lattes_ConstancaClaraGayoso.pdf	30/08/2022 20:14:56	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Declaracao_Compromisso_Carta_Anuencia_ assinado.pdf	29/08/2022 10:47:51	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	29/08/2022 10:43:32	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	29/08/2022 10:43:08	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_Elaine_2408.pdf	24/08/2022 15:00:18	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Outros	Declaracao_de_compromisso_relatorios.pdf	23/08/2022 16:39:41	ELAINNE CHRISTINE DE	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Regulamento_do_Biorrepositorio_atualizado.pdf	23/08/2022 16:37:53	ELAINNE CHRISTINE DE SOUZA GOMES	Aceito

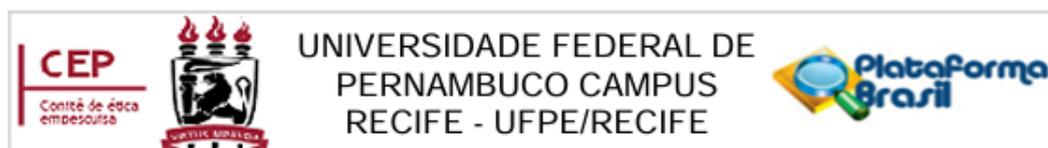
**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Endereço:** Av. das Engenhasria, s/n, 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 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.905.584

RECIFE, 22 de Fevereiro de 2023

---

**Assinado por:**  
**LUCIANO TAVARES MONTENEGRO**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Av. das Engenhasria, s/n, 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 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br