



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

**WHEVERTON RICARDO CORREIA DO NASCIMENTO**

**DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE IL-33, ST2 E QUIMIOCINAS EM  
PACIENTES ALÉRGICOS E COM ESQUISTOSSOMOSE MANSONI OU  
GEOHELMINTÍASES**

**RECIFE - PE**

**2017**

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

**WHEVERTON RICARDO CORREIA DO NASCIMENTO**

**DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE IL-33, ST2 E QUIMIOCINAS EM**  
**PACIENTES ALÉRGICOS E COM ESQUISTOSSOMOSE MANSONI OU**  
**GEOHELMINTÍASES**

Tese apresentada ao colegiado do Departamento de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Medicina Tropical.

Área de concentração: Medicina Tropical

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Valdênia Maria Oliveira de Souza  
**Coorientadora:** Dr.<sup>a</sup> Constança Simões Barbosa

**RECIFE - PE**

**2017**

Catálogo na Fonte  
Bibliotecária: Gláucia Cândida - CRB4-1662

N244d Nascimento, Wheverton Ricardo Correia do.  
Determinação dos níveis de IL-33, ST2 e quimiocinas em pacientes alérgicos e com esquistossomose mansoni ou geohelminitíases. / Wheverton Ricardo Correia do Nascimento. – 2017.  
178 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Valdênia Maria Oliveira de Souza.  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2017.  
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Asma. 2. Rinite. 3. Testes Cutâneos. 4. Schistosoma mansoni. 5. Imunomodulação. 6. Quimiocinas. I. Souza, Valdênia Maria Oliveira de. (Orientadora). II. Título.

618.9883                      CDD (23.ed.)                      UFPE (CCS2017-134)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)<sup>1</sup>

---

## WHEVERTON RICARDO CORREIA DO NASCIMENTO

### DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE IL-33, ST2 E QUIMIOCINAS EM PACIENTES ALÉRGICOS E COM ESQUISTOSSOMOSE MANSONI OU GEOHELMINTÍASES

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

Aprovada em: 21/02/2017.

#### BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vláudia Maria Assis Costa (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Virgínia Maria Barros de Lorena (Examinadora Interna)  
Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães

---

Prof. Dr. Décio Medeiros Peixoto (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Patrícia d'Emery Alves Santos (Examinadora Externa)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Joelma Rodrigues de Souza (Examinadora Externa)  
Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães

---

<sup>1</sup> Endereço: Av. Prof. Moraes Rêgo, s/n – Bloco A – Térreo do Hospital das Clínicas da UFPE. CEP.: 50670-901, Cidade Universitária, Recife-PE - Brasil. Fone/Fax: (081) 2126.8527. Sítio: <http://www.ufpe.br/ppgmedtrop>



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNANBUCO**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

**REITOR**

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Nicodemos Teles de Pontes Filho

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

Valdênia Maria Oliveira de Souza

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA  
TROPICAL**

Maria Amélia Vieira Maciel

**CORPO DOCENTE PERMANENTE**

Ana Catarina de Souza Lopes

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Fábio André dos Santos Brayner

Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Maria Amélia Vieira Maciel

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Marli Tenório Cordeiro

Rejane Pereira Neves

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vera Magalhães da Silveira

Vláudia Maria Assis Costa

**CORPO DOCENTE COLABORADOR**

Líbia Cristina Rocha Vilela Moura

Virgínia Maria Barros de Lorena

*Dedico este trabalho a minha família  
em especial ao meu pai Paulo Correia de Aguiar  
por acreditar em mim e pelo incentivo a sempre ir em frente.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ser misericordioso e sempre estar ao meu lado permitindo que alcançasse grandes realizações.

Aos meus pais e ao meu irmão, que sempre me ajudaram nos momentos mais difíceis da vida. Pelo incentivo que sempre me deram, pela paciência e por me ensinarem a ser persistente e a lutar pelos meus ideais.

À minha orientadora, Dra. Valdênia Souza, pela paciência, compreensão e cobranças, pelo conhecimento transmitido e principalmente pela dedicação a sua profissão de educadora. À minha Coorientadora, Dra. Constança Simões Barbosa, pela grande contribuição para a realização deste trabalho e pelas cobranças.

Aos nossos colaboradores externos, o Dr. Emanuel Sarinho, Dr. Dirceu Solé e Dr. Décio Medeiros, pelo auxílio na elaboração do trabalho. À Dra. Virginia Lorena, pela contribuição com os ensaios de citometria e por sempre estar disponível a esclarecer nossas dúvidas. Ao Dr. Fábio Melo pelas importantes contribuições nas análises de qPCR.

A Jôuldes, pela paciência e dedicação. Por ser um companheiro incrível, por me ajudar em todos os momentos bons e ruins. Por toda compreensão e amor que teve por mim, e por me ajudar na revisão de texto, revisão das referências e formatação deste trabalho.

Às professoras que fazem ou fizeram parte do Setor de Imunologia do LIKA: Dra. Mônica Albuquerque, Dra. Silvana Ferreira, Dra. Elizabeth Malagueño e Dra. Vláudia Costa por todos os ensinamentos e confiança em mim.

Aos vários alunos envolvidos diretamente neste trabalho. Victor Teodósio, Tiago Melo, Fernanda Dias. Por todo o auxílio dado ao desenvolvimento do projeto e também fora do laboratório. A Rodrigo Loyo, que mesmo sem envolvimento direto, deu uma enorme contribuição.

A Valdeci por sempre estar disponível para nos levar ao campo. Ao Dr. Décio Medeiros, pela sua disponibilidade em sempre nos ajudar nos exames nos pacientes. À Dra. Vêronica por compartilhar comigo o trabalho de campo em Itamaracá. A Dra. Patrícia d'Emery, Érica Souza, Cássia Nóbrega e Gabriela Calixto por me acompanharem ao campo ou ajudarem na realização dos ensaios no laboratório e pelo companheirismo e presteza em todos os momentos. A Maria de Fátima, Barnabé e Fernando por todo o auxílio na realização dos inquéritos parasitológicos.

Agradeço também aos grandes amigos que fiz nos dois laboratórios envolvidos na realização deste trabalho pela ajuda nos momentos de trabalho e pela descontração: Barnabé Tabosa, Fernando Gonçalves, Dra. Elaine Gomes, Lúcia Helena, Maria de Fátima, Diogo, Sebastião (*in memoriam*), Julyana Viegas, Thiago Carvalho, Diego Leandro, Dra. Iana Rafaela, Roekson Peixoto, Maria da Conceição, Amanda, Raul, Yeda, Igor, Flávio.

A Isabella Macário e Natália Gomes, que são irmãs para mim, por toda a amizade e companheirismo que construímos e durará o resto de nossas vidas. Aos amigos importantes que compartilharam muitos momentos difíceis e contribuíram muito para chegar até aqui. A Everton Queiroz, Marcos Regueira e a Dra. Shênia Novo. A todos os meus companheiros de curso de graduação e aos da pós-graduação que compartilharam momentos alegres e de aflição durante toda essa trajetória.

À Coordenação da pós-graduação pelo apoio e confiança. Obrigado aos funcionários Walter Galdino, Alice Lourenço, Neemias Correia e Joyce Tenório, da secretaria da pós-graduação, pela disponibilidade, presteza e auxílio;

Aos pacientes que se dispuseram a participar do estudo. Obrigado a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho. E por fim, aos órgãos de financiamento, CNPq e FACEPE, pelo auxílio financeiro muito necessário para a realização desse estudo.

*“A sabedoria consiste em ordenar bem a nossa própria alma”*

*“Tente mover o mundo – o primeiro passo será mover a si mesmo”*

(Platão)

## RESUMO

Infecções por *Schistosoma mansoni* e geohelmintos, na presença de IgE anti-*Ascaris*, modulam a intensidade das alergias. Neste cenário, as quimiocinas que alteraram o recrutamento celular, IL-33 indutora de resposta Th2, e seu receptor solúvel ST2 (ST2s) não foram investigados. Objetivou-se avaliar CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 e a expressão do RNAm de IL-33 e ST2s, bem como, os níveis de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  e dos anticorpos IgE total, anti-*Blomia* e anti-*Asc*, eosinófilos no hospedeiro infectado com *S. mansoni* ou geohelmintos e investigar sua associação com asma/rinite e a positividade para teste cutâneo (SPT) para aeroalérgenos. Para isto, realizou-se estudo de Caso-Controle aninhado a um corte transversal. Aplicou-se o questionário ISAAC, obtiveram-se dados socioeconômicos e parasitológicos e quatro grupos (carga parasitária baixa): Alérgicos/Infectados (A-I); Alérgicos/Não Infectados (A-NI); Não Alérgicos/Infectados (NA-I); Não Alérgicos/Não Infectados (NA-NI), realizou-se o teste de reatividade cutânea para aeroalérgenos. Coletou-se sangue para cultura (Fitohemaglutinina; 24hs) e, no sobrenadante foram dosadas citocinas e quimiocinas (cytometric bead array) e nas células a expressão do RNAm (qPCR). A infecção por *S. mansoni* constitui proteção para reatividade do SPT (OR=0,351, IC95%=0,153 – 0,802; p=0,017) e asma/rinite (OR=0,274, IC95%= 0,135 - 0,554; p<0,0001). A IgE anti-*Asc* não interferiu na proteção induzida pelo *S. mansoni*. Em comparação ao grupo NA-NI, no grupo A-I, houve menor expressão da IL-33 e produção de CCL2/MIP-1, acompanhado de mais IL-10. No grupo NA-I, foi detectado menos IL-33 e mais CXCL10/IP10 e CXCL9/MIG e no grupo A-NI mais IL-10. Os geohelmintos constituíram proteção para asma/rinite (OR=0,337; IC95% = 0,132 – 0,829; p=0,008) com menor frequência de crise no último ano, chiado no peito após exercício físico e tosse seca à noite. Em comparação ao grupo NA-NI, os grupos infectados com ou sem alergia apresentaram menor razão na expressão IL-33/ST2s. Sendo assim, os dados sugerem que houve uma modulação negativa na produção do CCL2/MIP-1, pelo *S. mansoni* e geohelmintos, e na atuação da IL-33. Contudo, o primeiro parasita prejudicou a produção de IL-33 e segundo levou ao sequestro via ST2s. Estes achados podem explicar a atenuação das manifestações alérgicas em áreas endêmicas para esquistossomose e geohelmintíases.

**Palavras-Chave:** Asma. Rinite. Teste Cutâneo. *Schistosoma mansoni*. Geohelminto. Imunomodulação. Quimiocinas. IL-33. ST2s.

## ABSTRACT

*Schistosoma mansoni* and geohelminths infections, in the presence of anti-*Ascaris* IgE, modulate the intensity of allergies. Chemokines that altered cell recruitment, and IL-33-inducing Th2 response, and its soluble ST2 receptor (sST2) were not investigated. The aim of study was to evaluate CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 and IL-33 mRNA expression and ST2s, as well as IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  levels, and total IgE, anti-*Blomia* and anti-*Asc* antibodies, eosinophils in the host infected with *S. mansoni* or geohelminths. Its association with asthma/rhinitis, and the Skin Prick Test (SPT) for aeroallergens. Case-Control study was carried out nested to a cross-section. The ISAAC questionnaire was applied, socioeconomic and parasitological data and four groups (low parasite load): Allergic / Infected (A-I); Allergic / Non-Infected (A-NI); Non-allergic / Infected (NA-I); Non-Allergic / Non-Infected (NA-NI), the skin reactivity test for aeroallergens was performed. Culture blood (Phytohemagglutinin, 24hs) was collected and cytometric bead array (cytometric bead array) and mRNA expression (qPCR) were measured in the supernatant. *S. mansoni* infection provides protection for SPT reactivity (OR = 0.351, 95% CI = 0.153 - 0.802, p = 0.017) and asthma / rhinitis (OR = 0.274, 95% CI = 0.135-0.554, p <0.0001). Anti-*Asc* IgE did not interfere with *S. mansoni* induced protection. Compared to the NA-NI group, in the A-I group, there was lower expression of IL-33 and production of CCL2 / MIP-1, accompanied by more IL-10. In the NA-I group, less IL-33 and more CXCL10 / IP10 and CXCL9 / MIG and in group A-NI plus IL-10 was detected. The geohelminths constituted protection for asthma/rhinitis (OR = 0.337, 95% CI = 0.132 - 0.829, p = 0.008) with a lower frequency of crisis in the last year, chest wheezing after exercise and dry cough at night. Compared to the NA-NI group, the groups infected with or without allergy had a lower ratio in IL-33/ST2s expression. Thus, the data suggest that there was a negative modulation in the production of CCL2/MIP-1, by *S. mansoni* and geohelminths, and in the performance of IL-33. However, the first parasite impaired IL-33 production and second led to sequestration via ST2s. These findings may explain the attenuation of allergic manifestations in endemic areas for schistosomiasis and geohelminthiasis.

**KEYWORDS:** Allergic Diseases. Asthma. Rhinitis. *Schistosoma mansoni*. Geohelminths. Immunomodulation. Chemokines. IL-33. ST2s.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Ligação entre IL-33 e seu receptor heterodimérico. .... 29
- Figura 2:** Ciclo Biológico do *Schistosoma mansoni*. .... 38
- Figura 3:** Fluxograma esquemático da seleção dos pacientes e desenvolvimento do estudo. .... 48
- Figura 1:** Níveis de citocinas TNF- $\alpha$  (A), IFN- $\gamma$  (B), IL-10 (C), IL-2 (D), IL-4 (E) e IL-17A (F) mensuradas em sobrenadante de cultura de 24 horas de sangue total periférico, estimuladas com PHA, em indivíduos positivos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT+/S.m) (n=11); positivos no SPT e não infectados (SPT+/NI) (n=27); negativos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT-/S.m) (n=43); e negativos no SPT e não infectados (SPT-/NI). (n=37). Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney para comparação das medianas entre os grupos. # p< 0,05 quando comparado aos grupos SPT-/NI. .... 76
- Figura 2:** Níveis de quimiocinas CXCL8/IL-8 (A), CCL2/MCP-1 (B), CXCL9/MIG (C), CCL5/RANTES (D) e CXCL-10/IP-10 (E) mensuradas em sobrenadante de cultura de 24 horas de sangue total periférico, estimuladas com PHA, em indivíduos positivos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT+/S.m) (n=11); positivos no SPT e não infectados (SPT+/NI) (n=27); negativos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT-/S.m) (n=43); e negativos no SPT e não infectados (SPT-/NI). (n=37). Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney para comparação das medianas entre os grupos. # p< 0,05 quando comparado ao grupo SPT-/NI. \* p< 0,05 quando comparado ao grupo SPT+/NI. .... 77
- Figura 1:** Níveis das citocinas TNF-alfa (A), IL-6 (B), IL-2 (C), IL-4 (D), IL-10 (E), IFN-gama (F) e IL-17A (G) em sobrenadante de cultura de sangue periférico, sob o estímulo do mitógeno PHA (24hs), de pacientes infectados pelo *S. mansoni* (n=34) e não infectados (n=31). Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas e foi considerada diferença significativo quando p<0,05. .... 99
- Figura 2:** Níveis de quimiocinas IP-10/CXCL10 (A), MCP-1/CCL2 (B), MIG/CXCL9 (C), RANTES/CCL5 (D) e IL-8/CXCL8 (E) em sobrenadante de cultura de sangue periférico, sob o estímulo do mitógeno PHA (24hs), de pacientes infectados pelo *S. mansoni* (n=34) e não infectados (n=31). Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas e foi considerada diferença significativo quando p<0,05. 100
- Figura 3:** Expressão relativa da IL-33RNAm (A), do ST2sRNAm (B) e a razão entre a expressão relativa IL-33/ST2s (C) em células de sangue periférico, cultivadas com mitógeno PHA (24hs), de pacientes infectados pelo *S. mansoni* (n=21) e não infectados (n=22). Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas e foi considerada diferença significativo quando p<0,05. .... 101
- Figura 1:** Níveis das citocinas IL-2 (A), IL-4 (B), IL-6 (C), TNF-alfa (D), IL-10 (E), IFN-gama (F) e IL-17A (G) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de indivíduos alérgicos infectados com *S. mansoni* (A-I) (n=18), alérgicos e não infectados (A-NI) (n=12), não alérgicos e infectados com *S. mansoni* (NA-I) (n=81), e não alérgicos e não infectados NA-NI (n=24). Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney

para comparação das medianas entre os grupos. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo NA-NI. #  $p < 0,05$  em relação aos grupos A-NI..... 120

**Figura 2:** Níveis de quimiocinas IP-10/CXCL10(A), MCP/CCL2(B), MIG/CXCL9 (C), RANTES/CCL5 (D) e IL-8/CXCL8 (E) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de indivíduos alérgicos infectados com *S. mansoni* (A-I) ( $n=18$ ), alérgicos e não infectados (A-NI) ( $n=12$ ), não alérgicos e infectados com *S. mansoni* (NA-I) ( $n=81$ ), e não alérgicos e não infectados NA-NI ( $n=24$ ). Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo NA-NI. #  $p < 0,05$  em relação aos grupos A-NI e NA-I..... 121

**Figura 1:** Fluxograma de seleção dos indivíduos alérgicos e infectados por geohelmintos (A-I), alérgicos e não infectados (A-NI), não alérgicos e infectados por geohelmintos (NA-I) e não alérgicos e não infectados (NA-NI) para o estudo de caso-control. .... 145

**Figura 2:** Níveis das citocinas IL-2 (A), IL-4 (B), IL-6 (C), IFN- $\gamma$  (D), IL-10 (E), TNF- $\alpha$  (F) e IL-17A (G) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de pacientes alérgicos e infectados – A-I ( $n=11$ ); pacientes não alérgicos e infectados – NA-I ( $n=19$ ); alérgicos não infectados – A-NI ( $n=40$ ); e não alérgicos e não infectados – NA-NI ( $n=23$ ). #  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo NA-NI.....115

**Figura 3:** Níveis de quimiocinas CXCL8/IL-8 (A), CCL2/MCP-1 (B), CXCL9/MIG (C), CCL5/RANTES (D) e CXCL-10/IP-10 (E) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de pacientes alérgicos e infectados – A-I ( $n=11$ ); pacientes não alérgicos e infectados – NA-I ( $n=19$ ); alérgicos não infectados – A-NI ( $n=40$ ); e não alérgicos e não infectados – NA-NI ( $n=23$ ). #  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo NA-I..... 1486

**Figura 4:** Expressão relativa (RQ) do RNAm da IL-33 (A), sST2 (B) e entre a razão IL-33/sST2 (C) em cultura de células de sangue total periférico, sob estimulado com PHA (24h), de pacientes alérgicos e infectados – A-I ( $n=6$ ); pacientes não alérgicos e infectados – NA-I ( $n=15$ ); alérgicos não infectados – A-NI ( $n=22$ ); e não alérgicos e não infectados – NA-NI ( $n=12$ ). Resultados expressos como média e SEM. \*  $p < 0,05$  em relação aos grupos A-NI e NA-NI..... 150

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Classificação da asma quanto à expressão clínica.....	20
<b>Tabela 2:</b> Classificação da rinite alérgica de acordo com a duração e gravidade dos sintomas.....	21
<b>Tabela 1:</b> Distribuição das variáveis socioeconômicas e biológicas entre os pacientes positivos no SPT e infectados pelo <i>S. mansoni</i> (SPT+/SM), positivos no SPT e não infectados (SPT+/NI), negativos no SPT e infectados pelo <i>S. mansoni</i> (SPT-/SM) e negativos no SPT e não infectados (SPT-/NI).....	73
<b>Tabela 2:</b> Análise univariada e multivariada logística para verificar a associação entre a positividade do teste cutâneo e as variáveis sociais e biológicas. ....	75
<b>Tabela 3:</b> Correlação entre a carga parasitária, níveis de anticorpos IgE total e IgE anti- <i>Blomia</i> e os níveis de citocinas e quimiocinas nos pacientes SPT+ e infectados com <i>S. mansoni</i> .....	78
<b>Tabela 1:</b> Sexo, idade, níveis de eosinófilos, IgE total e carga parasitária em indivíduos infectados e não infectados pelo <i>S. mansoni</i> . ....	98
<b>Tabela 1:</b> Distribuição das variáveis socioeconômicas entre os pacientes alérgicos infectados (A-I), alérgicos não infectados (A-NI), não alérgicos infectados (NA-I) e não alérgicos não infectados (NA-NI).....	117
<b>Tabela 2:</b> Frequência dos sintomas relacionados à asma e a rinite alérgica e análise de risco em indivíduos alérgicos infectados e não infectados.....	118
<b>Tabela 3:</b> Distribuição das frequências, entre os indivíduos alérgicos e não alérgicos, das variáveis socioeconômicas e biológicas e análise univariada e multivariada logística. ....	119
<b>Tabela 1:</b> Distribuição das variáveis biológicas e socioeconômicas entre crianças alérgicas e não alérgicas. ....	146
<b>Tabela 2:</b> Frequência dos sintomas relacionados à asma e a rinite alérgica em pacientes alérgicos e infectados e não infectados com geohelmintos. ....	147

## LISTA DE ABREVIATURAS

cDNA	ácido desoxirribonucléico complementar
conA	conavalina A
DEPc	dietil pirocarbonato
DNA	ácido desoxirribonucléico
DNase/RNase	endonucleases
FC $\epsilon$ RI	receptor de alta afinidade para IgE
GM-CSF	fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
IFN- $\gamma$	interferon-gama
IgA	imunoglobulina A
IgE	imunoglobulina E
IgG	imunoglobulina G
IL-1	interleucina-1
IL-2	interleucina-2
IL-3	interleucina-3
IL-4	interleucina-4
IL-5	interleucina-5
IL-6	interleucina-6
IL-8	interleucina-8
IL-10	interleucina-10
IL-13	interleucina-13
IL-18	interleucina-18
IL-33	interleucina-33
MHC II	complexo principal de histocompatibilidade classe II
NF- $\kappa$ $\beta$	fator nuclear kappa beta
PAF	fator de ativação plaquetária
PCR	reação em cadeia da polimerase
qPCR	PCR em tempo real
RNA	ácido ribonucléico
RNAm	RNA mensageiro
RT-PCR	reação da polimerase em cadeia a partir da transcrição reversa
TGF- $\beta$	fator de transformação do crescimento beta
Th1	linfócitos T helper tipo 1
Th2	linfócitos T helper tipo 2
TNF- $\alpha$	fator de necrose tumoral alfa
Treg	célula T regulatória

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1 Asma e Rinite alérgica.....</b>	<b>20</b>
2.1.1 Definição .....	20
2.1.2 Epidemiologia .....	21
<b>2.2 Etiologia .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3 Fisiopatogenia .....</b>	<b>23</b>
<b>2.4 Tratamento .....</b>	<b>25</b>
<b>2.5 Inrterleucina-33 .....</b>	<b>27</b>
<b>2.6 Quimiocinas.....</b>	<b>34</b>
<b>2.7 A Esquistossomose .....</b>	<b>36</b>
2.7.1 Imunomodulação da Esquistossomose .....	38
2.7.2 Modulação da resposta alérgica pelo <i>S. mansoni</i> .....	39
2.7.3 Modulação da resposta alérgica pelos geohelminthos .....	41
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>44</b>
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>44</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>44</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Tipo de Estudo .....</b>	<b>45</b>
<b>4.2 Área de Estudo.....</b>	<b>45</b>
4.2.1 Cabo de Santo Agostinho .....	45
4.2.2 Ilha de Itamaracá.....	45
4.2.3 Vitória de Santo Antão .....	46
<b>4.3 Critérios de inclusão e exclusão.....</b>	<b>46</b>
<b>4.4 Inquérito parasitológico em pacientes com asma/rinite alérgica .....</b>	<b>47</b>
<b>4.5 Descrição dos sintomas relacionados à asma/rinite alérgica, e sua frequência, através do questionário ISAAC.....</b>	<b>47</b>
<b>4.6 Coleta de sangue e realização do hemograma.....</b>	<b>48</b>
<b>4.7 Realização do teste cutâneo.....</b>	<b>49</b>
<b>4.8 Determinação dos níveis de IgE total e IgE específicos anti-<i>Blomia</i> e <i>Asc</i> .....</b>	<b>50</b>
<b>4.9 Realização da cultura de sague total .....</b>	<b>50</b>

4.10 Dosagem de citocinas e quimiocinas .....	50
4.11 Expressão de IL-33RNAm e ST2sRNAm.....	51
4.12 Análise estatística.....	52
5 RESULTADOS .....	53
5.1 Infecção pelo <i>Schistosoma mansoni</i> atenua a reatividade do teste cutâneo acompanhado de prejuízo na produção de quimiocina CCL2/MCP-1 .....	53
5.2 Menor expressão do mRNA de IL-33 e maior produção de quimiocinas anti- fibróticas, CXCL9 e CXCL10, estão envolvidas na infecção crônica pelo <i>Schistosoma mansoni</i> .....	79
5.3 Infecção por <i>Schistosoma mansoni</i> atenua a alergia acompanhada de diminuição de CCL2/MCP-1 .....	102
5.4 IL-33, seu receptor solúvel ST2 e quimiocinas na modulação da asma/rinite alérgica em hospedeiros infectados por geohelmintos .....	122
6 CONCLUSÕES.....	151
REFERÊNCIAS .....	152
APÊNDICES .....	167
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	167
Apêndice B – Artigo submetido <i>International Journal for Parasitology</i> .....	168
Apêndice C – Artigo submetido <i>Clinical and Experimental Immunology</i> .....	171
ANEXOS .....	174
ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética .....	174
ANEXO B – Questionário ISAAC – Módulo Asma .....	177
ANEXO C – Questionário ISAAC – Módulo Rinite .....	178

## 1 INTRODUÇÃO

A prevalência de doenças alérgicas, como a asma e a rinite, tem aumentado nas últimas décadas em países desenvolvidos, onde as condições sanitárias permitiam a redução/eliminação de doenças parasitárias (PAWANKAR et al., 2012; ARSHAD, 2005). Em média, acomete 200 a 300 milhões de indivíduos (FALLON et al., 2007), sendo a doença crônica mais comum entre as crianças (LUGOGO et al., 2006). Estima-se que mais de 500 milhões de pessoas sofram com rinite alérgica (BOUSQUET et al., 2008).

Segundo a hipótese da higiene, a resposta Th2 inerente à tenra idade pode ser modulada negativamente pelo contato com helmintos e, portanto, pode atingir a intensidade das futuras reações alérgicas (OKADA et al., 2010). De fato, evidências epidemiológicas indicam que em áreas endêmicas para infecções helmínticas as doenças alérgicas são menos intensas e há menor positividade dos testes cutâneos (COOPER, 2004).

Apesar de ambas as condições, infecção helmíntica e alergia, levarem a uma resposta imune Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13 e produção de IgE) (GRANT et al., 2012), durante a infecção por *Schistosoma mansoni* (CARDOSO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014) e *Ascaris lumbricoides* (COOPER, 2009; LYNCH et al., 1983; HAGEL et al., 1993) há geração de mecanismos imunossupressores (células Treg, macrófagos alternativamente ativados, produção de IL-10 e TGF- $\beta$ ) relacionados à atenuação da resposta Th2 antialérgico, mostrada pela diminuição da produção de IL-4 e IL-5, dos níveis de IgE e da positividade ao teste cutâneo (PONTE et al., 2006). Contudo, a sensibilização pela IgE anti-*Ascaris* (*Asc*) tem sido relatada como fator de risco para a positividade ao teste de reatividade cutâneo, aumento dos níveis de IgE total e de eosinófilos no sangue periférico (COOPER et al., 2003; ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010; MONCAYO et al., 2013; HAWLADER et al., 2014). Este fato pode ser explicado pela homologia entre proteínas do *Ascaris* e dos aeroalérgenos levando a uma reatividade cruzada, podendo amplificar a resposta Th2 alérgico específica (SANTOS et al., 2008; ACEVEDO; CARABALLO 2011; SOUZA et al., 2009). Neste contexto de helmintíases e alergias, as quimiocinas e citocinas envolvidas com resposta imune inata não foram ainda estudadas. Além disso, ainda não foi avaliada a modulação da

esquistossomose, na presença da IgE anti-Asc sem coinfeção geohelmíntica, na asma/rinite e na positividade ao teste cutâneo.

Com relação às quimiocinas, família de citocinas responsáveis pela migração celular, os grupos CC e CXC são mais bem estudados (YAMAGUCHI et al., 2009; SILVEIRA-LEMOS et al., 2010). Entre elas, as quimiocinas CCL11/Eotaxina, CCL5/RANTES e CCL2/MCP-1 desempenham o papel de quimiotaxia de eosinófilos, basófilos e mastócitos (ROMAGNANI, 2002). Do contrário, as quimiocinas CXCL9 e CXCL10, que são induzidas pelo IFN- $\gamma$ , atuam via o receptor CXCR3 e contribuem com amplificação da resposta Th1 (GANGUR; SIMONS; HAYGLASS, 1998; ROMAGNANI, 2002; WASMUTH et al., 2009; BONACCHI et al., 2001). Contudo, ainda não foram avaliados os níveis de quimiocinas envolvidas com indução de fibrose CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10 no contexto das alergias junto com as infecções por helmintos.

A IL-33, citocina que vem sendo considerada como indutora de resposta Th2, sendo constitutivamente expressa em células epiteliais e endoteliais (CARR et al., 2016; KAMEKURA et al., 2012), liga-se no receptor ST2/IL-1R4 em mastócitos, basófilos e eosinófilos (aumentando produção de IL-5 e IL-13), macrófagos e células dendríticas (HARALDSEN et al., 2009, SAKASHITA et al., 2008; SCHMITZ et al., 2005). Em indivíduos asmáticos e riníticos foram observados a altos níveis séricos de IL-33 (YAGAMI et al., 2010; KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2008). Em acordo, foi demonstrado que o ST2 solúvel, quando presente no soro de indivíduos asmáticos pode atuar neutralizando a atividade biológica da IL-33 nas doenças alérgicas (HAYAKAWA et al., 2007; HARALDSEN et al., 2009; OSHIKAWA et al., 2001).

Em modelo de infecção murina com o *Trichuris muris*, foi demonstrado que o RNAm da IL-33 é expresso precocemente, ajuda a suprimir a resposta Th1, e estimula a produção de IL-4, IL-9 e IL-13, contribuindo na eliminação do parasito (HUMPHREYS et al., 2008). Em outro estudo experimental, a administração de antígenos secretórios do *Heligmosomoides Polygyrus* reduziu os níveis de IL-33 (McSORLEY et al., 2014). Em crianças poliparasitadas com geohelmintos, mas incluindo *Schistosoma* e protozoários, foi relatado aumento na produção de IL-33 (LECHNER 2013; HEGEWALD et al., 2015). Na infecção por *S. japonicum*, Yu e colaboradores (2015) demonstraram elevados níveis de IL-33 na fase aguda da doença, e Kalenda e colaboradores (2015) relataram que, em animais infectados com *S. mansoni*, o curso da infecção crônica não

foi dependente de IL-33, exceto para a eosinofilia (KALENDA et al., 2015; YU; DENG; LEI, 2015).

Sendo assim, é possível que a modulação induzida pelo *S. mansoni* e geohelminhos altere os níveis de quimiocinas, IL-33 e/ou ST2s em indivíduos alérgicos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a modulação induzida por *Schistosoma mansoni* ou geohelminhos nos níveis de quimiocinas (CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10) e na expressão do RNAm de IL-33 e ST2s, bem como nos anticorpos IgE total, IgE anti-*Blomia*, IgE Anti-*Asc*, eosinófilos, e citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ), e investigar sua associação com a asma/rinite alérgica e o perfil de reatividade cutânea para aeroalérgenos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Asma e Rinite alérgica

#### 2.1.1 Definição

A asma é uma doença inflamatória crônica multifatorial, ou seja, a predisposição genética e fatores ambientais podem influenciar na ocorrência e gravidade da doença. A asma afeta as vias respiratórias, sendo mais comum em crianças e adolescentes de países desenvolvidos e em desenvolvimento. É caracterizada por uma hiperresponsividade brônquica que pode levar à tríade clínico-patológica de obstrução das vias aéreas, inflamação crônica e hipertrofia das células da musculatura lisa dos brônquios. (SOLÉ et al., 2007; SOUZA et al., 2009; BRITTON, 2003).

De acordo com os critérios estabelecidos pelo Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, portaria SAS/MS nº 1.317, de 25 de novembro de 2013, a asma pode ser classificada pelos sintomas e achados de função pulmonar, sendo dividida em intermitente e persistente, em que as crises se apresentam de forma rápida com poucos sintomas e longas com sintomas diários, respectivamente (tabela 1).

**Tabela 1:** Classificação da asma quanto à expressão clínica.

Manifestações Clínicas	Gravidade			
	Intermitente	Persistente leve	Persistente moderada	Persistente Grave
<i>Sintomas</i>	2x ou menos por semana	Mais de 2x por semana	Diários	Diários ou contínuos
<i>Despertar noturno</i>	2x ou menos por semana	Menos de 2x por semana	Mais de 1x por semana	Quase diários
<i>Limitação das atividades</i>	Nenhuma	Presente nas exacerbações	Presente nas exacerbações	Contínua
<i>Exacerbações</i>	1 por ano ou nenhuma	2 ou mais por ano	2 ou mais por ano	2 ou mais por ano
<i>VEF1 ou PFE</i>	Igual ou maior que 80% previsto com variação menor que 20%	Igual ou maior que 80% previsto com variação menor que 20-30%	60-80% previsto com variação maior que 30%	Igual ou menor que 60% previsto com variação maior que 30%

Fonte: Tabela adaptada do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, portaria SAS/MS nº 1.317, de 25 de novembro de 2013 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). PFE = Pico de Fluxo Expiratório; VEF1 = Volume expiratório forçado.

A rinite alérgica é uma inflamação da mucosa nasal mediada por imunoglobulinas do tipo E (IgE) após a exposição ao alérgeno, caracterizada pela presença de sintomas como obstrução nasal, rinorreia, prurido nasal e espirros (BOUSQUET et al., 2008; SOLÉ et al., 2006; SOLÉ et al., 2012). A classificação da rinite alérgica leva em conta a duração, intermitente e persistente, e a severidade dos sintomas, incluindo qualidade de vida do paciente (SOLÉ et al., 2012), como indicado na Tabela 2.

**Tabela 2:** Classificação da rinite alérgica de acordo com a duração e gravidade dos sintomas.

Classificação da Rinite Alérgica		
Duração dos sintomas	<i>Intermitente</i>	<i>Persistente</i>
		< 4 dias por semana ou < 4 semanas
Interferência na qualidade de vida	<i>Leve</i>	<i>Moderada - Grave</i>
	sono normal	sono comprometido
	atividades normais	atividades comprometidas
	sintomas não incomodam	sintomas incomodam

Fonte: Tabela adaptada de SOLÉ et al. II Consenso Brasileiro Sobre Rinites, 2006.

### 2.1.2 Epidemiologia

Estima-se que 300 milhões de pessoas no mundo sejam afetadas pela asma, sendo classificada como um problema global de saúde que afeta indivíduos de várias faixas etárias (GINA, 2014). Nos países em desenvolvimento, tem sido verificado um aumento significativo no número de casos (ASHER, 2010).

Dados de “*The International Study of Asthma and Allergy in Childhood*” (ISAAC) demonstram que, aproximadamente, de 19% a 25% dos adolescentes e crianças, respectivamente, apresentam diagnóstico de asma. O mesmo estudo verificou que os casos de asma grave acometiam 4,7% dos adolescentes e 6,2% das crianças estudadas. As taxas de prevalência de asma mais elevadas foram observadas nos centros das regiões Norte, Nordeste e Sul. No Brasil, avalia-se que existam aproximadamente 20 milhões de asmáticos, considerando-se uma prevalência global de 10% (SOLÉ et al., 2006). Um estudo realizado por Endara e colaboradores (2015) comparou populações rurais e urbanas e mostrou que a associação entre a sensibilização de IgE para poeira e ácaro e chiado é mais forte em populações urbanas, e a atenuação dessa associação pode

ser devido à alta prevalência de helmintos ou sensibilização da IgE ao *Ascaris* (ENDARA et al., 2015).

Em 2011, a asma foi a 4<sup>a</sup> causa de internação hospitalar pelo SUS, com cerca de 160 mil hospitalizações ao ano. No ano de 2014, 44,31% das internações do Brasil foram originadas da Região Nordeste, gerando um custo de mais de R\$ 26 milhões para a rede pública de saúde apenas nessa região do país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). Os gastos provocados pela asma grave consomem quase 25% da renda familiar de pacientes com baixa renda (FRANCO et al, 2009).

A asma é uma causa de morbidade em pacientes de todas as idades, gerando impacto na vida da família e da criança (CERCI NETO, 2007). De acordo com dados do CDC (*Center for Disease Control and Prevention*), a prevalência de asmáticos na população dos Estados Unidos, no ano de 2013, foi de 7,3%, com uma taxa de mortalidade de 10,7 por milhão. A taxa média de mortalidade no Brasil, entre 1998 e 2007, foi de 1,52/100.000 habitantes, com estabilidade na tendência temporal desse período (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. 2012.).

A rinite alérgica é considerada um problema de saúde global que acomete indivíduos de todas as faixas etárias, grupos étnicos e países. Estima-se que a rinite alérgica afete mais de 500 milhões de pessoas no mundo, e sua prevalência tem aumentado em vários países, principalmente nas áreas consideradas de baixa ou média prevalência (SAKAI, 2012; BOUSQUET et al., 2008). A rinite alérgica pode ser considerada a maior prevalência entre as doenças respiratórias crônicas, pois afeta a qualidade de vida dos indivíduos e é uma das dez razões frequentes na procura de atendimento primário a saúde (IBIAPINA et al., 2008; INTERNATIONAL RHINITIS MANAGEMENT WORKING GROUP, 1994).

O *International Study on Asthma and Allergies in Childhood* (ISAAC) evidenciou que existe uma variação na taxa de prevalência da rinite alérgica, havendo aumento na prevalência em algumas regiões onde ocorreu a repetição do estudo com a mesma metodologia (ASHER et al., 2006; IBIAPINA et al., 2008). Com a aplicação do ISAAC no Brasil, foi identificado uma prevalência média de sintomas relacionados a rinite alérgica de 29,6% em adolescentes e 25,7% em escolares (SOLÉ et al., 2006). Na Europa, foi encontrado 21% de prevalência nos sintomas de rinite em adultos entre 20 e 44 anos (JANSON et al., 2001).

## 2.2 Etiologia

A asma apresenta uma condição heterogênea com diferentes fenótipos e expressões clínicas que dependem da idade, gênero, características genéticas e fatores ambientais (FALLON; MANGAN, 2007; FARIA et al., 2008; KABESCH, 2004). Possui um componente hereditário, entretanto múltiplos genes podem estar associados com a patogênese da asma, e diferentes grupos étnicos podem apresentar genes diferentes nesse envolvimento (MAESTRELLI et al., 2009). Os indivíduos predispostos geneticamente, após o contato com algum fator desencadeante, liberam mediadores químicos e inflamatórios que levam ao broncoespasmo e conseqüentemente à inflamação das vias aéreas, levando ao aparecimento da sintomatologia clínica da asma (JARDIM, 2002).

A rinite alérgica possui origem multifatorial, suas manifestações dependem da interação genética e ambiental. Estudos mostram que o número de chances do descendente nascer alérgico quando ambos os pais forem alérgicos é de 50% a 70%; caso apenas um for, a chance diminui para 30% a 35%; caso nenhum deles for, passa para 15%. Os alérgenos mais frequentes são a poeira doméstica, fungos e antígenos derivados da descamação epitelial de animais. Homens e mulheres são acometidos de forma igual, porém meninos são mais suscetíveis na infância (SAKAI, 2012; BOUSQUET et al., 2008; SOLÉ et al., 2006; CHENG et al., 2005).

## 2.3 Fisiopatogenia

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

O desenvolvimento da resposta é iniciado pela exposição ao alérgeno, com reconhecimento por células apresentadoras de antígenos e subsequente ativação de células Th2 e linfócitos B, levando à produção de anticorpos IgE específicos ao alérgeno. Após ser sintetizada pelos plasmócitos, a IgE liga-se a receptores de alta

afinidade (FcεRI) em mastócitos e outros tipos celulares, através de um processo chamado sensibilização. A reexposição ao alérgeno e sua ligação à IgE fixada aos receptores FcεRI produz ligações cruzadas entre os receptores, provocando a degranulação celular, com liberação e formação de mediadores inflamatórios. Processo chamado de fase efetora (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008; MURPHY, 2014).

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

A inflamação dos brônquios é um fator fisiopatogênico importante da asma, sendo resultado das interações entre as células estruturais das vias aéreas, mediadores e células inflamatórias (SOCIEDADES BRASILEIRAS DE ALERGIA, IMUNOPATOLOGIA, PEDIATRIA. PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2002). A IL-5 atua no recrutamento e sobrevivência dos eosinófilos, além de estimular a liberação do conteúdo proteico dos seus grânulos que provocam extensos danos na mucosa (HOPKIN, 2003; ROSENBERG; PHIPPS; FOSTER, 2007; BARNES, 2008; CORRIGAN, 2008i). A IL-13 induz a liberação de muco e atua em conjunto com a IL-4 e TGF-β, o que aumenta a expressão de moléculas de adesão no endotélio capilar da mucosa brônquica, resultando em um aumento da adesão dos eosinófilos, os quais são recrutados para dentro do tecido. Além disso, essas citocinas induzem o remodelamento dos fibroblastos e células musculares lisas da mucosa aérea (CORRIGAN, 2008).

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

A degranulação e liberação dos mediadores químicos IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e TNF-alfa pelos mastócitos regulam a duração e a intensidade da resposta, sendo eles os responsáveis pelos sintomas da rinite alérgica (espirros, obstrução nasal e rinorreia). A reação alérgica possui uma resposta imediata e outra tardia (período de 4 a 12 horas após a exposição), que leva à migração de células inflamatórias, principalmente os eosinófilos, sendo a infiltração por essas células uma característica da rinite alérgica. O

dano tecidual acontece na fase tardia, em que os eosinófilos têm grande participação através da liberação de mediadores (PAF, leucotrienos, citocinas e GM-CSF) que aumentam a resposta inflamatória local (SOLÉ et al., 2012).

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

Strachan (1989), em seu estudo sobre febre do feno e higiene, sugeriu que doenças alérgicas poderiam ser prevenidas por infecção durante a infância transmitida por contato não higiênico com irmãos mais velhos, ou adquiridas durante o período pré-natal. A exposição durante a infância estimula o sistema imunológico e ajuda a proteger contra o desenvolvimento de alergia (ULLRICH, 2004; REIS, 2003). Devido à variedade de agentes infecciosos que podem levar à proteção contra diferentes distúrbios imunológicos, mais de um mecanismo foi encontrado, dentre eles estão o desvio da resposta Th2 para Th1 e a imunorregulação (OKADA et al., 2010).

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

## **2.4 Tratamento**

O tratamento é complexo, com objetivos definidos e deve ser baseado na gravidade da doença, de acordo com os sintomas e fatores desencadeantes. Vários fatores podem desencadear ou agravar a asma conforme a faixa etária, sendo a descoberta desses o primeiro passo para o plano de tratamento. Por não ter cura o

tratamento busca controlar os sintomas, manter as atividades diárias normais, manter a função pulmonar normal, diminuir o risco de exacerbações e melhorar a qualidade de vida do paciente e prevenir a mortalidade (BETTENCOURT et al., 2002; MOURA, 2002; SOLÉ et al., 1998; GINA, 2014; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2012).

As categorias de fármacos mais usadas no tratamento da asma são os broncodilatadores (agonistas  $\beta$ -adrenérgicos, antagonistas muscarínicos, antagonistas dos receptores de cisteinil-leucotrienos e xantinas), que atuam na musculatura lisa da via aérea revertendo o broncoespasmo, e os anti-inflamatórios (glicocorticoides), para controlar a resposta inflamatória, alguns fármacos possuem as duas características (RANG et al., 2007).

Os broncodilatadores mais utilizados são os agonistas  $\beta$ -adrenérgicos, cujos receptores  $\beta$ -adrenérgicos nas vias aéreas são do tipo  $\beta_2$ , e possuem o efeito primário de dilatar os brônquios através do relaxamento da musculatura lisa, mediado pela ativação da adenilciclase e por aumento da formação de AMPc e também na liberação de cálcio e sua ligação intracelular. Podem ser classificados de acordo com sua duração, sendo o salbutamol com efeito de curta duração e o salmeterol de longa duração. Os broncodilatadores agonistas  $\beta$ -adrenérgicos de curta ação são utilizados para alívio dos sintomas, enquanto os de longa ação são associados à terapia de manutenção (RANG et al., 2007; SOCIEDADES BRASILEIRAS DE ALERGIA, IMUNOPATOLOGIA, PEDIATRIA, PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2002).

Os anti-inflamatórios podem inibir os componentes das duas fases, crônica e aguda (RANG, 2007). Os corticosteroides suprimem múltiplos genes inflamatórios, reduzem o número de células inflamatórias nas vias aéreas incluindo os eosinófilos (BARNES, 2003). Já os glicocorticoides inibem a liberação de citocinas e mediadores inflamatórios, mediadores lipídicos e espécies reativas de oxigênio por macrófagos em pacientes asmáticos (YANG et al., 2009). Estes também diminuem a formação de citocinas Th2, que ajudam no recrutamento e ativação dos eosinófilos, inibem a geração de vasodilatadores pela inibição da indução de COX-2. Os glicocorticoides ainda induzem a apoptose de eosinófilos, reduzindo de forma indireta a liberação de mediadores dos eosinófilos inibindo IL-5. Diminuem a síntese de IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral alfa, e aumento na produção de IL-10 e receptor solúvel de IL-1 (RANG et al., 2007; PARK; BOCHNER, 2010).

O controle dos fatores desencadeantes da rinite alérgica no ambiente é uma das medidas não farmacológicas que deve ser informado ao paciente para que a exposição aos fatores desencadeantes ou agravantes seja reduzida, essas medidas devem ser mantidas por 3 a 6 meses para que o paciente possa notar algum benefício. Em relação ao tratamento medicamentoso, podem ser usados anti-histamínicos, corticosteroides, descongestionantes e imunoterapia. Os anti-histamínicos são os principais medicamentos utilizados no tratamento dos sintomas devido ao papel da histamina quando liberada na degranulação das células após a ligação do antígeno na molécula de IgE presente na membrana de mastócito ou basófilo. Esse medicamento tem o papel de eliminar o prurido nasal, espirros e coriza. Os corticosteroides atuam por meio de um mecanismo de transrepressão inibindo a ação de fatores como o AP-1 e NF- $\kappa$ B, que leva à diminuição na produção de citocinas. Os descongestionantes possuem a ação de vasoconstrição, podendo ser dividido através de sua aplicação em tópico intranasal e oral. A imunoterapia específica, segundo a OMS, deve ser levada em consideração quando os anti-histamínicos e a medicação nasal não conseguem controlar os sintomas ou também quando os pacientes não querem permanecer sob farmacoterapia ou para evitar aos efeitos colaterais produzidos pelos medicamentos. A imunoterapia é efetiva no tratamento dos indivíduos com doenças alérgicas mediadas por IgE para alérgenos definidos, a mudança da resposta biológica influencia a resposta imunológica provocada pelo alérgeno e restabelece parcialmente o desequilíbrio Th1/Th2 do indivíduo (SOLE et al., 2012).

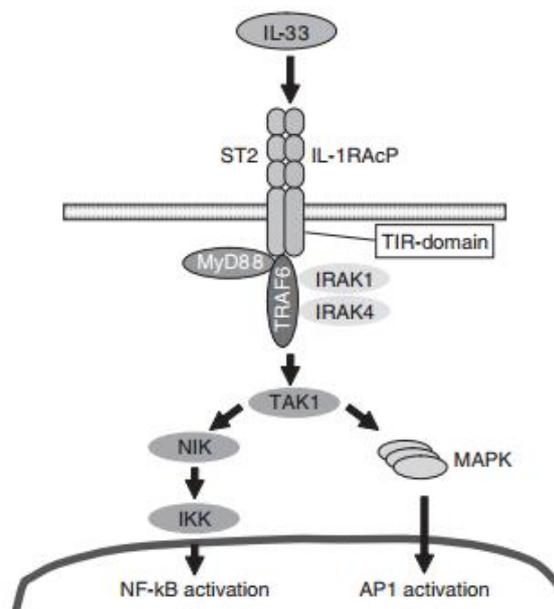
### **2.5 Interleucina-33**

A IL-33 foi descrita como sendo membro da família da IL-1, que inclui IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-18. Seu gene está localizado no cromossomo 9p24.1 e sua sequência de cDNA codifica 270 polipeptídios, o que corresponde a uma proteína com massa calculada em 30 kDa. A IL-33 é produzida como pro-IL-33, que é clivada para formar uma proteína de 18 kDa (SCHMITZ et al., 2005). Esta citocina possui a capacidade de ligação com o receptor ST2/IL-1 R4, que está associado à resposta Th2, ativação mastócitos e basófilos, ao aumento da produção de IL-5 e IL-13, mas não de IL-4 por células Th2 polarizadas, e à indução de eosinofilia e dos níveis aumentados de IgE (HARALDSEN et al., 2009; SCHMITZ et al., 2005; KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2008).

O receptor da IL-33 é composto por moléculas heterodiméricas, sendo constituído por ST2 e IL-1RAcP (proteína acessória IL-1R), figura 1, sendo essa proteína acessória compartilhada por outros componentes da família IL-1 (CHACKERIAN et al., 2007; ALI et al., 2007). O gene que codifica o ligante ST2 produz uma forma transmembrana (ST2L-ligante) e secretada (ST2 solúvel) desta proteína (YANAGISAWA et al., 1993). A ligação da IL-33 nas células que possuem seu receptor leva ao recrutamento de IRAK, IRAK4 e MyD88 que ocasiona a indução de mediadores inflamatórios e ativa NF- $\kappa$ B e MAP quinases (SCHMITZ et al., 2005).

IL-33 está presente em células endoteliais e epiteliais em humanos (SCHMITZ et al., 2005), estudos apontam como fonte celular da IL-33 o endotélio vascular, queratinócitos da pele e células epiteliais de mucosa. Em contraste, células da musculatura lisa dos brônquios e vasos são fracas produtoras desta citocina. (KÜCHLER et al., 2008; HARALDSEN et al., 2009). A liberação de IL-33 é causada por necrose do tecido infectado ou lesado (CAYROL; GIRARD, 2009). A administração de IL-33 em camundongos, em um estudo feito por Schmitz (2005), levou a modificações em mucosas, dentre elas, pulmão e esôfago, e também eosinofilia intestinal e aumento de IgA e IgE no soro. A IL-33 é uma citocina de resposta imune inata (produção T-independente), sintetizada por células envolvidas na fase efetora da doença alérgica, ou indiretamente, via IL-5 levando a inflamação alérgica no órgão alvo. Altos níveis séricos de IL-33 estiveram relacionados à rinite alérgica (GLÜCK; RYMARCZYK; ROGALA, 2012; SAKASHITA et al., 2008).

A IL-33 ativa diretamente células importantes na resposta Th2, como os mastócitos, basófilos, eosinófilos e macrófagos (IKUTANI et al., 2015). Nos mastócitos a IL-33 pode induzir a produção de citocinas, promover a adesão celular e aumentar a sobrevivência em um estudo feito com cultura de mastócitos derivada de células do cordão umbilical por Iikura e colaboradores (2007). Eosinófilos ativados por IL-33 mostraram aumento em sua função e sobrevivência (SUZUKAWA et al., 2008; CHERRY et al., 2008). A produção de superóxido e IL-8 é diretamente induzida nos eosinófilos (CHERRY et al., 2008).



**Figura 1:** Ligação entre IL-33 e seu receptor heterodimérico.

Fonte: Oboki et al, (2010). Pág.160.

Estudos mostram que essa citocina pode aumentar a produção de IL-6 e também a expressão do MHC classe II em células dendríticas derivadas da medula óssea em um modelo murino (RANK et al., 2009). A IL-33 medeia indiretamente a resposta Th2 através da regulação de células dendríticas (IKUTANI et al., 2015). Uma pesquisa realizada por Rank e colaboradores, 2009, mostrou que IL-33 ativa células dendríticas levando a uma resposta tipo Th2 atípica com produção de IL-5 e IL-13. A polarização dos macrófagos para M2 (alternativamente ativados) é importante na indução e manutenção do ambiente Th2 (IKUTANI et al., 2015), a IL-33 amplifica a polarização dos macrófagos alternativamente ativados (KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2009).

A IL-33, ou IL-1F11, foi assim rebatizada em 2005 após busca em base de dados por moléculas semelhantes a IL-1 e a demonstração de que a IL-33 é agonista do receptor previamente órfão da família da IL-1, o ST2 (SCHMITZ et al., 2005). A IL-33 é idêntica a moléculas previamente descritas, ao produto do gene *Dvs27* e ao fator de células endoteliais venosas (NF-HEV) (LIEW; PITMAN; MCINNES, 2010). Trata-se de uma citocina da família da IL-1, que fica armazenada na forma de pró-IL-33, com 270 e 266 aminoácidos, 30 e 29.9 KDa em humanos e roedores, respectivamente. Estudos iniciais *in vitro* sugeriram que, da mesma forma que a IL-1 e IL-18, a IL-33 seria ativada por quebra pela caspase-1 (SCHMITZ et al., 2005). Porém, isso foi questionado considerando a falta de um sítio para quebra pela caspase-1 e dados

demonstrando que a caspase-1 na realidade tornava a IL-33 inativa (LIEW; PITMAN; MCINNES, 2010). *In vivo*, existe evidência de que a pró-IL-33 é clivada para a forma ativa IL-33 pela calpaína (HAYAKAWA et al., 2009), ou mesmo, que a elastase e catepsina G derivadas de neutrófilos têm papel na sua maturação (LEFRANÇAIS et al., 2012). Dessa forma, sua maturação ainda é controversa. A IL-33 é expressa em diferentes tecidos, como os do estômago, pulmão, medula espinal, cérebro e pele, e tipos celulares, como células dendríticas e macrófagos, em situações basais em roedores e após estímulo com TNF- $\alpha$  e IL-1b em humanos (SCHMITZ et al., 2005). Já o aumento de expressão da IL-33 é detectado após o estímulo com diferentes agonistas de receptores tipo toll em células da glia, sugerindo que a IL-33 seja produzida em respostas a vírus e bactérias (HUDSON et al., 2008) e no fígado após a administração de CCl<sub>4</sub>, cuja expressão foi sugerida estar associada à fibrose hepática (MARVIE et al., 2009).

O membro da família da IL-1 mais semelhante estruturalmente a IL-33 é a IL-18 (SCHMITZ et al., 2005). Já o receptor mais semelhante à IL-1R e à IL-18Ra é o ST2. O ST2 é expresso em forma solúvel (ST2s), ligado a membrana (ST2L) ou em forma expressa principalmente por órgãos gastrointestinais e baço (ST2V). A IL-33 também induz a transdução de sinal via tal receptor pelo recrutamento de diferentes moléculas como MyD88, IRAK, IRAK4 e TRAF6, o que resulta na ativação de MAP quinases (p38, JNK e ERK) e NF $\kappa$ B em mastócitos *in vitro* (SCHMITZ et al., 2005). A proteína acessória do receptor da IL-1 (IL-1RAcP) também faz parte do complexo do receptor da IL-33 (ST2/IL-1RAcP) (CHACKERIAN et al., 2007).

As evidências recentes quanto à participação fisiopatológica da IL-33 demonstram a sua participação na maturação de mastócitos (ALLAKHVERDI et al., 2007), na sobrevivência, adesão e produção de citocinas por mastócitos (IIKURA et al., 2007), e na regulação da produção de citocinas por esplenócitos em modelo de asma em camundongos (HAYAKAWA et al., 2007). Além dos efeitos da IL-33 como uma citocina, existem evidências que a IL-33/ST2 são induzidos por estímulo mecânico e apresentam papel protetor em cardiomiócitos durante estresse mecânico (SANADA et al., 2007), e que assim como a IL-1 $\alpha$  e HMGB-1, a IL-33 poderia atuar como um fator intracelular com propriedades de regulação transcricional (CARRIERE et al., 2007).

Boa parte dos resultados quanto à biologia da IL-33 sugerem que seja uma citocina Th2. Porém, existem dados descrevendo que o tratamento com ST2s inibe a severidade da artrite induzida por colágeno tipo II em camundongos (LEUNG et al.,

2004). Neste trabalho de Leung e colaboradores (2004), ainda não se sabia a identidade do agonista do ST2, mas pode-se interpretar que IL-33, atuando em seus receptores ST2L, medeia a inflamação em modelo de artrite reumatoide e o tratamento com ST2s sequestraria a IL-33 impedindo sua atividade pró-inflamatória. Corroborando essa hipótese, Carriere e colaboradores (2007) detectaram a expressão de RNA mensageiro para IL-33 em amostras de tecido sinovial de pacientes com artrite reumatoide. Dessa forma, existem evidências de que a IL-33 possa também mediar outras respostas adaptativas além de Th2. Nesse sentido, demonstrou-se que a IL-33 medeia a hiperalgesia (“dor”) articular e cutânea em modelo de inflamação em camundongos imunizados e desafiados com mBSA por induzir a produção de citocinas (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ ) e outros mediadores (ET-1 e PGE2) (VERRI et al., 2008). Outros confirmaram que a IL-33 induz a produção de IFN $\gamma$  e sua participação na artrite (SMITHGALL et al., 2008; BOURGEOIS et al., 2009). A IL-33 também medeia outras respostas como a migração de neutrófilos para a cavidade articular em modelo de artrite. É interessante que em camundongos imunizados haja maior expressão de ST2 em neutrófilos, o que possibilita a sua quimioatração pela IL-33. De forma semelhante, pacientes com artrite tratados com metotrexato + anti-TNF tem expressão reduzida de ST2 nos seus neutrófilos, o que não ocorre em pacientes tratados somente com metotrexato. Isso sugere que o TNF seria importante para tornar neutrófilos responsivos à IL-33 e assim serem quimioatraídos. Realmente, neutrófilos de camundongos TNFR1 deficientes não são quimioatraídos pela IL-33 e o oposto ocorre com neutrófilos de camundongos e de pacientes tratados *in vitro* com TNF $\alpha$ . Assim, a diminuição da expressão de ST2 em neutrófilos e a redução da quimioatração pela IL-33 parece ser um novo mecanismo de terapias anti-TNF (VERRI et al., 2010). Também é importante mencionar evidências demonstrando que animais deficientes para IL-33 não apresentaram redução da inflamação articular induzida pela administração de soro de camundongos K/BxN (MARTIN et al., 2013) e que, nesse mesmo modelo de artrite passiva, a IL-33 teria o papel de induzir a expansão de basófilos produtores de IL-4, a qual provoca o aumento da expressão do receptor Fc inibitório FcGRIIB em macrófagos, resultando na redução da inflamação (ANTHONY et al., 2013). Existem várias possibilidades para explicar esses dados que se opõem a outros dados da literatura como os próprios autores discutiram (MARTIN et al., 2013).

A IL-33/ST2 também medeia a inflamação cutânea induzida por PMA por ativar mastócitos e recrutar neutrófilos para a pele, bem como sua expressão é aumentada em

amostra de pacientes com psoríase em comparação a voluntários saudáveis (HUEBER et al., 2011). Indicando um papel terapêutico da IL-33, em um modelo de encefalomielite em camundongos (EAE), o tratamento com IL-33 reduziu a produção de IL-17 e IFN $\gamma$  e aumentou a produção de IL-5 e IL-13 com a polarização de macrófagos para um perfil M2, e a transferência adotiva desses macrófagos M2 polarizados pela IL-33 reduziu a gravidade da EAE (JIANG et al., 2012). De fato, o papel da IL-33 nas respostas M2 (mais abaixo) e Th2 é bem proeminente. Um exemplo da complexidade das suas atividades é que, na presença de antígeno, a IL-33 induz a polarização de linfócitos de camundongos e humanos T CD4 (+) numa sub-população que produz IL-5, mas não IL-4. Esse mecanismo não depende de STAT6, IL-4, GATA3 ou T-bet, mas depende de MyD88, MAP quinases e NF $\kappa$ B. Como resultado, a IL-33 induz inflamação pulmonar independentemente da IL-4 (KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2008). Dessa forma, o que parece é que a IL-33/ST2 pode ter funções diversas, a depender do ambiente de citocinas e polarização celular.

A IL-33 é tida como uma citocina importante na ativação de mastócitos e em doenças relacionadas a essa ativação. Nesse sentido, a IL-33 potencia a produção de moléculas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-13 e quimiocinas dependentemente de mecanismos intracelulares ativados por antígeno em mastócitos como NFAT, AP-1, NF $\kappa$ B, e MAP quinases JNK e p38 (ANDRADE et al., 2011). Dessa forma, além de ativar mastócitos, a IL-33 também potencializa a atividade de antígeno nos mastócitos. Por outro lado, um dado recente demonstra que a ativação de mastócitos pela IL-33 pode ser uma função aguda. Porém, por períodos mais prolongados, a IL-33 reduz a resposta de mastócitos a antígenos. Isso se dá por um mecanismo MyD88-dependente com diminuição dos fenômenos induzidos por antígeno como a reorganização do citoesqueleto dos mastócitos e diminuição da mobilização de cálcio. Dessa forma, a IL-33 teria, na realidade, um papel protetor (JUNG et al., 2013).

A IL-33/ST2 não participa apenas em respostas imunes adaptativas, mas também em respostas imunes inatas. Em modelo de sepse induzida pela ligadura e perfuração do ceco, a IL-33 tem papel importante reduzindo a internalização de receptores CXCR2 induzida pela ativação da GRK2 pelo LPS em neutrófilos. A internalização dos receptores CXCR2 induzida pelo LPS resulta na redução do recrutamento dos neutrófilos para o foco inflamatório primário e, dessa maneira, permite a proliferação bacteriana. Por outro lado, ao inibir a expressão de GRK2 induzida pelo LPS, a IL-33 permite que os neutrófilos continuem expressando CXCR2 e sejam quimioatraídos para

o foco inflamatório. Corroborando esses dados, pacientes que não sobreviveram à sepse apresentaram aumento nos níveis de ST2s comparados aos que sobreviveram (ALVES-FILHO et al., 2010).

Voltando ao papel da IL-33/ST2 na dor, demonstrou-se recentemente sua participação na resposta imune inata induzida pela carragenina em camundongos. A sinalização IL-33/ST2 é importante para a indução da produção de moléculas pró-hiperalgésicas e edema na inflamação induzida pela carragenina como TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CXCL1, ET-1 e PGE2, além de potencializar a inflamação e produção de mediadores pela carragenina (ZARPELON et al., 2013). Em modelos com administração de estímulos que induzem comportamentos de dor manifesta, como ácido acético, fenil-p-benzoquinona (MAGRO et al., 2013) e formalina (MAGRO et al., 2013; HAN et al., 2013), também há redução da dor pela deficiência de ST2 ou tratamento com anti-ST2, ou aumento pela administração de IL-33 (MAGRO et al., 2013; HAN et al., 2013). Em modelo de isquemia e reperfusão intestinal, o tratamento com ST2 solúvel reduziu a produção de TNF $\alpha$  local e sistêmica, a permeabilidade vascular, infiltrado neutrofílico e hemorragia com aumento na taxa de sobrevivência dos camundongos. O mecanismo foi relacionado ao aumento de IL-10 (FAGUNDES et al., 2007).

Recentemente, foi demonstrado pelo grupo do Prof. João S. Silva (FMRP-USP) que, na infecção por Coxsackievirus B 5 (CVB5), camundongos deficientes para ST2 desenvolveram pancreatite mais grave com maior perda de peso e carga viral em relação aos controles. No estudo, o tratamento com IL-33 atenuou a pancreatite por aumentar a degranulação e produção de IFN $\gamma$  e TNF $\alpha$  por linfócitos CD8(+) e células NK, que contribuem para eliminação do vírus. Também, a IL-33 induziu a produção de IL-4 por mastócitos, resultando na diferenciação de macrófagos para M2 e células T reguladoras e reduzindo a inflamação na pancreatite (SESTI-COSTA et al., 2013).

A IL-33 demonstra ter papel protetor na fibrose cardíaca e na aterosclerose, entretanto pode atuar na indução da fibrose pulmonar, hepática, pancreática e renal de uma forma ST2 dependente (GAO; LI; LI, et al., 2015). Um estudo realizado por Yu e colaboradores (2015) demonstrou que a estimulação com IL-33 promove a invasão e migração de células de câncer gástrico (YU et al., 2015). IL-33 também é induzida durante a infecção por *Plasmodium berghei* ANKA em um modelo murino deficiente para o receptor ST2 (PALOMO et al., 2015). Em outro estudo feito por Shang e colaboradores (2015), mostrou que essa citocina desempenha um papel na patogênese

da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) por promover a liberação de citocinas inflamatórias (SHANG et al., 2015).

Níveis séricos elevados de IL-33 estiveram relacionados à asma e à rinite alérgica atuando como um indutor de resposta Th2 (SAKASHITA et al., 2008; SCHMITZ et al., 2005; KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2008; YAGAMI et al., 2010). O receptor solúvel ST2 também está associado à resposta Th2 e tem capacidade de se ligar a IL-33. Foi demonstrado que o ST2 solúvel está presente no soro de pacientes asmáticos e pode atuar como um modulador negativo, neutralizando a atividade biológica da IL-33 nas doenças alérgicas (HAYAKAWA et al., 2007; HARALDSEN et al., 2009; OSHIKAWA et al., 2001).

A IL-33, portanto, parece atenuar os efeitos anti-inflamatórios em respostas mediadas por células T e o eixo IL-33/ST2 pode ser explorado como um alvo terapêutico potencial no tratamento de doenças mediadas pelo sistema imunológico.

## **2.6 Quimiocinas**

A inflamação é um evento central de muitas doenças crônicas (HIRAHARA; NAKAYAMA, 2016; SHANG; SMITH; HU, 2016), incluindo as doenças pulmonares como a asma (AMIN; JANSON; BYSTROM, 2016). O processo inflamatório característico da asma é complexo e envolve múltiplas células e mediadores (ALROQI; CHATILA, 2016; LING; LUSTER, 2016). Todas as células presentes no aparelho respiratório, incluindo as constitutivas (célula epitelial e célula endotelialvascular), participam das alterações imunoinflamatórias da asma (DUNICAN; FAHY, 2015). Esse processo envolve o recrutamento e a ativação de células inflamatórias (eosinófilos, macrófagos, células Th2) e mudanças estruturais do tecido pulmonar (AMIN; JANSON; BYSTROM, 2016). Caracteristicamente, há expressão aumentada de diversos mediadores envolvidos na complexa trama de reações inflamatórias, incluindo citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, enzimas, receptores e moléculas de adesão (ALROQI; CHATILA, 2016; CAMPOS, 2007).

Todas as características observadas na inflamação pulmonar e desregulação fisiológica na asma resultam dos eventos moleculares e celulares envolvidos na sensibilização e do desenvolvimento de células Th1 e Th2 (LING; LUSTER, 2016). Além das interleucinas clássicas que participam das respostas Th1 e Th2, há também o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), fator

transformador do crescimento beta (TGF- $\beta$ ); os radicais livres reativos do oxigênio, tais como anion peróxido, peróxido de hidrogênio, radicais hidroxilas e peróxido nitrito; e produtos granulares pré-formados, tais como proteína básica principal (PBP) do eosinófilo, proteína catiônica eosinofílica (PCE); histamina e triptase do mastócito; mediadores lipídicos, que incluem as prostaglandinas, os leucotrienos e o fator ativador de plaquetas (FAP); moléculas de adesão, tais como a molécula intracelular de adesão-1 (ICAM-1), a molécula de adesão da célula vascular-1 (VCAM-1), e selectinas (CAMPOS, 2007).

A expressão de quimiocinas na patogênica da doença ainda não está bem estabelecida e necessita de mais estudos investigativos (WOODFOLK, 2006). Acredita-se que cada estágio da asma seja mediado por grupos específicos de quimiocinas, cujas fontes celulares dentro das vias aéreas incluem as células epiteliais e os macrófagos alveolares (DUNICAN; FAHY, 2015). Parte delas tem efeito quimiotático para os eosinófilos e para outras células diretamente implicadas na fisiopatologia da doença. Entre essas se podem citar os linfócitos T, a CCL5, CCL2, CXCL9, CXCL8 e CXCL10 (CARR et al., 2016).

Dentre as quimiocinas da via de resposta imune Th1, a CXCL8/IL-8 apresenta como função ser responsável por aumentar a quimiocinese e ser um fator quimiotático. Enquanto que as CXCL9 e CXCL10 são quimiocinas CXC induzida por interferon gama, sendo a segunda quimiotática para linfócitos T e monócitos (CASTAN; MAGNAN; BOUCHAUD, 2016; VARELLA; FORTE, 2001). Já as quimiocinas da via de resposta imune Th2, CCL5 e CCL2 são quimioatraentes. A CCL2 é quimioatraente para monócitos, e pode causar ativação celular de funções específicas relacionadas com a defesa do hospedeiro, intimamente ligada aos estágios da doença, enquanto que a CCL5 ou RANTES (Regulada por ativação, Normal T Expressa e Secretada), é quimioatraente para eosinófilos, monócitos e linfócitos (CARR et al., 2016; VARELLA; FORTE, 2001).

Para desempenhar as suas funções, os receptores das quimiocinas são estimulados por essas moléculas, que pertencem à superfamília dos receptores acoplados a proteínas G. Apresentam-se na membrana celular da célula alvo e são compostos por cerca de 350 aminoácidos e possuem um peso molecular à volta dos 40 kDa (GUERREIRO; SANTOS-COSTA; AZEVEDO-PEREIRA, 2011). Possuem sete domínios transmembranares e a região extracelular é constituída pela região N-terminal e por 3 segmentos extracelulares que atuam na ligação à quimiocina. A região

intracelular é formada pela região C-terminal e por 3 segmentos intracelulares que promovem a transdução do sinal (MURDOCH; FINN, 2000).

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

## 2.7 A Esquistossomose

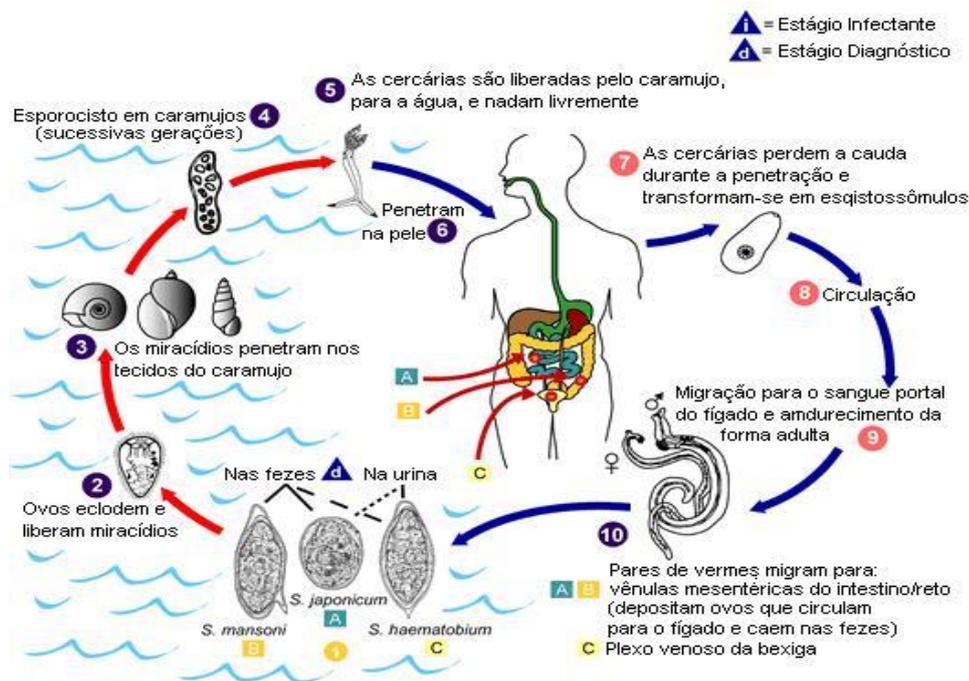
A esquistossomose é uma doença negligenciada, de ocorrência tropical, sendo considerada endêmica em alguns estados do Brasil. De acordo com o Ministério da Saúde (2014), 19 unidades federativas encontram-se em áreas endêmicas e focais que atingem os estados de Pernambuco, Sergipe, Alagoas, Bahia, Rio Grande do Norte, Paraíba, Espírito Santo e Minas Gerais. O estado de Pernambuco está entre nas maiores prevalências dessa infecção (COURA; AMARAL, 2004), sendo encontrados registros da doença no litoral desde o início da década de noventa na Ilha de Itamaracá (GONÇALVES et al., 1991).

A infecção é causada por parasitas da classe Trematódea e gênero *Schistosoma* que tem o homem como hospedeiro definitivo, possui três principais agentes etiológicos as espécies *S. mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum*. No Brasil a única espécie encontrada é o *Schistosoma mansoni* (PORDEUS et al., 2008), acredita-se que a doença chegou às Américas durante o tráfico de escravos e também com os imigrantes asiáticos e orientais (NEVES et al., 2007). O *Schistosoma mansoni* é um verme que apresenta dimorfismo sexual e possui ciclo biológico heteroxênico, possui dois hospedeiros, onde

o hospedeiro intermediário (invertebrado) é o molusco do gênero *Biomphalaria* e o hospedeiro definitivo (vertebrado) o homem (NEVES et al., 2007).

No hospedeiro vertebrado, o parasita é encontrado na fase adulta na luz dos vasos, preferencialmente do plexo mesentérico e suas ramificações, principalmente na mesentérica inferior onde os vermes fêmeas realizam a oviposição, liberando em média 400 ovos por dia. Após a oviposição, os ovos podem retornar pela veia porta e se alojar no tecido hepático ou transpor o tecido intestinal. O período desde a liberação dos ovos até o momento de atingirem a luz intestinal é de aproximadamente 20 dias. Os ovos, na fase, inicial apresentam-se embrionados e demoram, em média, sete dias para tornarem-se maduros, quando ocorre o rompimento da mucosa intestinal e os ovos são eliminados juntamente com as fezes. Os ovos que não são liberados alojam-se no tecido hepático e desenvolvem uma resposta imunológica no hospedeiro, que representa um fator importante na sua patogênese (NEVES et al., 2007; REY, 2010; SOUZA et. al., 2011; ABATH et al., 2006).

Em contato com coleções hídricas, os ovos liberam o miracídio, que se locomove para encontrar o hospedeiro invertebrado *Biomphalaria glabrata* ou *B. straminea*. Penetrando no molusco, os miracídios sofrem divisões, num período de 30 a 35 dias, até se transformarem em cercárias, que serão liberadas por um longo período de tempo. No meio líquido, em condições ideais de temperatura, luminosidade e oxigenação, as cercárias são liberadas e penetram no hospedeiro definitivo por meio cutâneo ou ingestão acidental. No indivíduo, as cercárias se transformam em esquistossômulos, que, após migrarem pelo tecido subcutâneo, chegam aos pulmões através do sistema circulatório. Por meio do coração direito, os esquistossômulos voltam do pulmão ao coração e são levados pela circulação até o sistema porta-hepático onde se diferenciam sexualmente. Esse processo, desde a infecção com a cercaria até a liberação dos ovos nas fezes, dura cerca de 45 dias. Durante a reprodução, as fêmeas se alojam no canal ginecóforo presente no macho e após a fecundação migram para as vênulas até alcançarem as veias mesentéricas e começarem a oviposição (NEVES et al., 2007; REY, 2010; SOUZA et. al., 2011; ABATH et al., 2006), como mostrado na figura 2.



**Figura 2:** Ciclo Biológico do *Schistosoma mansoni*.

Fonte: [www.cve.saude.sp.gov.br/.../IFN\\_Esquito.html](http://www.cve.saude.sp.gov.br/.../IFN_Esquito.html)

### 2.7.1 Imunomodulação da Esquistossomose

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

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

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

Adalid-Peralta e colaboradores (2011), propõe duas hipóteses sobre o papel das Tregs na esquistossomose: na primeira, o sistema imune induz células Treg a controlarem a resposta exacerbada que produz granulomas; na segunda possibilidade, antígenos parasitários medeiam a indução de Treg durante a formação do granuloma. Além de que, a presença de citocinas regulatórias como IL-10, TGF- $\beta$  e IL-35 durante o preparo dos linfócitos T favorece a geração de células Treg.

A IL-10 é uma citocina imunorreguladora importante na proteção do hospedeiro contra uma imunopatologia associada a infecção. Sua produção já foi associada a resposta de células Treg, mas sabe-se que uma grande variedade de células tanto da imunidade inata quanto da adaptativa podem expressar IL-10, incluindo macrófagos, eosinófilos, células dendríticas e mastócitos (NG et al., 2013).

### 2.7.2 Modulação da resposta alérgica pelo *S. mansoni*

A infecção pelo *S. mansoni* é caracterizada pelo desenvolvimento de uma resposta imunológica crônica Th2/Treg, em que parece ocorrer uma modulação da intensidade da resposta alérgica cutânea e da sintomatologia da asma/rinite (CARVALHO; BASTOS; ARAÚJO, 2006). Indivíduos residentes em área endêmica

para esquistossomose demonstram redução da frequência de positividade aos testes cutâneos de hipersensibilidade imediata aos aeroalérgenos, quando infectados com o *S. mansoni* e alta carga parasitária, comparando-se aos não infectados ou infectados com baixa carga parasitária (ARAUJO et al., 2000).

A citocina IL-10 é produzida por uma variedade de tipos celulares como as células Th2 e Tregs (MOORE et al., 1993; HESSE, et al., 2004; MCKEE & PEARCE, 2004). A IL-10 é capaz de controlar as respostas Th1 e Th2 e exerce uma função amplamente supressora, evitando a polarização da resposta imune na infecção esquistossomótica (HOFFMANN et al., 2000). A geração das células Treg produtoras de citocinas inibitórias são capazes de atenuar a fibrose hepática diante do granuloma na esquistossomose e inibir o desenvolvimento da doença hepatoesplênica grave (ELSE et al., 1994; MAIZELS et al., 2009; ABBAS, LICHTMAN & PILLAI, 2008; GRZYCH et al., 1991; WYNN e CHEEVER, 1995; BRUNET et al., 1997).

Alguns estudos relacionam as Tregs, expressão da IL-10, TGF- $\beta$  e CTLA-4 na modulação da resposta inflamatória na alergia (ARAUJO et al., 2004; VAN DEN BIGGELAAR et al., 2004). Os monócitos alternativamente ativados e Tregs podem estar envolvidos na atenuação da inflamação alérgica em humanos por induzir tolerância aos alérgenos. As células de pacientes asmáticos com esquistossomose crônica expressam moléculas co-estimulatórias (CTLA-4 e CD40L), e, adicionalmente, aumento da expressão intracelular de IL-10 e de seu receptor em células mononucleares e Linfócitos T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> em comparação aos pacientes asmáticos sem esquistossomose mansoni (CARDOSO; OLIVEIRA & ARAUJO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2009).

O tratamento da esquistossomose, com praziquantel, alterara a produção de citocinas, devido à liberação de antígenos pela morte ou destruição dos parasitos ou pela remoção do estímulo através da redução dos ovos (LEITE, 2008). Nos indivíduos, o praziquantel tem a capacidade de elevar significativamente os níveis de IL-4, IL13, IL-5 e IL-10 (JOSEPH et al., 2004). Portanto, o tratamento para indivíduos infectados com o *S. mansoni* pode alterar os níveis de citocinas e influenciar na regulação Th2/Treg. Nos pacientes com predisposição genética para o desenvolvimento de doenças alérgicas e/ou expostos aos fatores ambientais pode ocorrer exacerbação de citocinas da resposta Th2 (aumento de IL-33 e redução de ST2 solúvel) e levar ao aumento da frequência e dos sintomas alérgicos. Por outro lado, a regulação entre as citocinas das respostas Th2/Treg pode ser ainda mais complexo nos pacientes infectados por *S. mansoni*.

### 2.7.3 Modulação da resposta alérgica pelos geohelminhos

Nas helmintíases, o padrão de resposta mediada por linfócitos T CD4+ também está vinculado ao perfil Th2. As citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 estão envolvidas com a regulação de mecanismos protetores para a eliminação dos helmintos como a produção de IgE, eosinofilia, mastocitose e, ao mesmo tempo, com a proteção contra os danos teciduais decorrentes da infecção (ABBAS, LICHTMAN & PILLAI, 2008; BRUNET et al., 1998 MAIZELS et al., 2009). Os pacientes acometidos por geohelmintíases também desenvolvem uma resposta Treg que pode gerar a diminuição da intensidade da resposta alérgica cutânea, porém agravamento da sintomatologia da asma/rinite (MONCAYO et al., 2013; ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010).

A inter-relação entre as doenças alérgicas e enteroparasitoses têm sido foco de muitos estudos, visto que em indivíduos alérgicos e parasitados pode haver uma modulação da intensidade da reação alérgica. Há mais de uma década pesquisadores tentam estabelecer uma relação entre infecções com helmintos e a intensidade e prevalência das doenças alérgicas (LYNCH et al., 1993; DOLD et al., 1998; SCRIVENER et al., 2001). Diferenças no nível socioeconômico, idade da população estudada, carga parasitária e o contato prévio com estes parasitos podem explicar as divergências dos resultados já descritos (COOPER et al., 2008).

A respeito dos nematódeos, destacando-se as infecções com *A. lumbricoides*, trabalhos divergem quanto à alteração (potencializar ou reduzir) do quadro clínico e/ou testes cutâneos das alergias. Foi observado que a presença do *A. lumbricoides*, diminui a intensidade dos testes cutâneos de punctura e do quadro alérgico de asma (LYNCH et al., 1998; COOPER et al., 2004). Com relação às citocinas, vêm sendo estudada a síntese de IL-10, alvo de diferentes investigações sobre a imunomodulação induzida pelos helmintos devido à capacidade imunomoduladora. Contudo, os estudos convergem para o mesmo resultado quando se refere a IL-10 e infecção com *A. lumbricoides*, ou seja, esta citocina participa deste fenômeno de supressão da resposta alérgica (COOPER et al., 2008; MATERA et al., 2008).

Com relação à resposta aos aeroalérgenos, Ponte e colaboradores (2006), na Bahia, não verificaram diferença entre os níveis médios de IL-10 por células de pacientes asmáticos parasitados ou não parasitados frente ao estímulo in vitro alergênico. Relatamos também que não houve diferença entre os níveis médios de IL-10 de crianças de área urbana do Recife parasitados e não parasitados em resposta a

*Dermatophagoides pteronyssinus*, independente da presença de quadro alérgico (SOUZA et al, 2009). Algumas investigações apontam o risco de apresentar sintomas alérgicos em decorrência dos altos títulos de IgE anti-*Ascaris* e IgE total, dependente de IL-4, e não exclusivamente pela presença da infecção ativa pelo geohelminto (TAKEUCHI et al, 2008; LEVIN et al, 2008). Embora tenha sido demonstrada uma relação inversa entre atopia e infecções helmínticas, os achados são baseados nos testes cutâneos e não pelo desenvolvimento ou gravidade dos sintomas alérgicos (LYNCH et al, 1998; COOPER et al, 2003).

O *Trichuris suis* foi utilizado por Bager e colaboradores (2010 e 2011) em um estudo clínico randomizado realizado em pacientes com rinite alérgica na Dinamarca. O estudo não detectou redução da sintomatologia clínica da rinite alérgica, porém foi observado alterações imunológicas (eosinofilia e elevação de Anti-IgE, IgA, IgG e IgG4 específicas para o *T suis*) e clínicas relacionadas infecção parasitária (diarreia transitória em 33% dos pacientes).

Com relação a influencia do tratamento com anti-helmínticos, Endara e colaboradores (2011) demonstrou, através de um estudo de corte transversal, que o tratamento em longo prazo das geohelmintíases está associado ao aumento da prevalência de positividade de testes cutâneos e sintomas de eczema, mas não estava associado aos sintomas de asma e rinoconjutivite. A redução da prevalência de *T. trichiura* estava mais associada ao aumento da positividade dos testes cutâneos.

Sendo assim, a influência das infecções ocasionadas por geohelmintos, em pacientes com doenças alérgicas crônicas ainda não está esclarecida, podendo ocorrer alterações relacionadas à sintomatologia dos pacientes asmáticos durante a infecção e pós-tratamento.

A carga parasitária, idade, procedência (rural ou urbana), bem como fatores imunológicos associados à resposta Th2 podem influenciar a modulação da resposta alérgica em indivíduos infectados pelos helmintos (COOPER et al., 2008; MATERA et al., 2008; SOUZA et al, 2009).

Com relação aos geohelmintos, os estudos divergem sobre a associação entre infecção parasitária e os efeitos imunomoduladores nas desordens de hipersensibilidade tipo I. Entretanto, alguns estudos relatam exacerbação dos sintomas alérgicos. A sibilância da asma pode estar associada predominantemente aos anticorpos IgE Anti-*Ascaris lumbricoides*, e a infecção ativa por *T. trichiura* pode desempenhar um papel na patogênese de sibilância atópica na primeira infância (ALCÂNTARA-NEVES et al.,

2010). Em outros estudos não foi possível provar ou refutar a hipótese de que infecções parasitárias podem atenuar as doenças alérgicas, como observado na asma e na rinite alérgica associada à ancilostomíase e ascaridíase, respectivamente (FEARY et al., 2009; PONTE et al., 2006).

Em um modelo experimental, foi relatado que a IL-33 é sintetizada no período pré-patente e auxilia na eliminação do *Trichuris muris* de maneira dependente e independente de células T (HUMPHREYS et al., 2008). Essa citocina também apresentou efeito protetor em infecções por *Toxoplasma gondii* (JONES et al., 2010). Em um estudo feito por Yu e colaboradores (2015), a administração de IL-33 exógena em camundongos infectados com *Schistosoma japonicum* poderia aumentar a resposta Th2 polarizada.

Segundo a hipótese da higiene, a resposta Th2 inerente à tenra idade pode ser modulada negativamente pelo contato com helmintos e, portanto, pode atingir a intensidade das futuras reações alérgicas (OKADA et al., 2010). De fato, evidências epidemiológicas indicam que em áreas endêmicas para infecções helmínticas as doenças alérgicas são menos intensas e há menor positividade dos testes cutâneos (COOPER, 2004). Neste contexto de helmintíases e alergias, as quimiocinas e citocinas envolvidas com resposta imune inata não foram ainda estudadas. Além disso, ainda não foi avaliada a modulação da esquistossomose, na presença da IgE anti-Asc sem coinfeção geohelmíntica, na asma/rinite e na positividade ao teste cutâneo.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar a modulação induzida por *Schistosoma mansoni* ou geohelmintos na produção de quimiocinas (CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10), citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ), anticorpos IgE total, IgE anti-*Blomia*, IgE Anti-*Asc*, eosinófilos e na expressão do-RNA de IL-33 e ST2s, e investigar sua associação com a asma/rinite alérgica e a reatividade cutânea para aeroalérgenos, em região urbana de Recife, no período de 2014 a 2015.

#### 3.2 Objetivos específicos

Em indivíduos alérgicos e não alérgicos e infectados ou não com *S. mansoni* ou geohelmintos:

- 3.2.1 Comparar a presença de asma/rinite alérgica e os sintomas relacionados, através do questionário ISAAC (*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*), bem como a reatividade cutânea para aeroalérgenos.
- 3.2.2 Comparar os níveis das quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 e citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ .
- 3.2.3 Comparar a expressão do RNA de IL-33 e ST2s
- 3.2.4 Comparar os níveis de anticorpos IgE total, IgE anti-*Blomia*, IgE Anti-*Asc*
- 3.2.5 Analisar os fatores de risco socioeconômico (renda, escolaridade, tabagismo) e biológicos (sexo, idade, níveis de anticorpos, e infecção por *S. mansoni* ou geohelmintos) associados à asma/rinite ou a reatividade cutânea para aeroalérgenos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Tipo de Estudo

Realizou-se um estudo epidemiológico de corte transversal aninhado a um caso-controle. O desenho do estudo teve o objetivo de investigar se a infecção pelo *S. mansoni* e geohelmintos altera a expressão do RNAm da IL-33, ST2s, citocinas e quimiocinas nos indivíduos alérgicos e não alérgicos, e se existe a associação entre a exposição (infecção helmíntica) e a ocorrência do evento ou doença (surgimento/agravamento de sintomas relacionados às doenças alérgicas). O estudo foi submetido ao comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz (CPqAM/Fiocruz), e foi aprovado com o CAAE: 22822813.3.0000.5190 (Anexo). A inclusão dos moradores que aderirem ao projeto estará vinculada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

### 4.2 Área de Estudo

#### 4.2.1 Cabo de Santo Agostinho

O município do Cabo de Santo Agostinho, localizado na Região Metropolitana do Recife, possui uma população estimada de 200.546 habitantes e densidade demográfica de 412,33 hab/km<sup>2</sup>. Distante aproximadamente 33km da capital, seu território é de 448,735 km<sup>2</sup> e o clima da região é tropical com uma temperatura média anual de 28°C (IBGE, 2016).

#### 4.2.2 Ilha de Itamaracá

O município da Ilha de Itamaracá está localizado na Região Metropolitana do Recife, limitando-se a norte com Goiana, a sul com Igarassu, a leste com Oceano Atlântico e a oeste com Itapissuma, com uma área de 65,1 km<sup>2</sup> e população de 22.449 habitantes (IBGE, 2016). O município está inserido na unidade geoambiental da Baixada Litorânea, com relevo formado pelas Áreas Arenosas Litorâneas, incluindo restingas, dunas e manguezais. A vegetação é formada por Floresta Perenifólia de Restinga e o clima é Tropical Chuvoso, com verão seco. Possui 3.642 domicílios permanentes com 73,6% abastecidos pela rede pública de água, 17,9% por poços ou

fontes naturais e 8,5% por outras formas de abastecimento. A coleta de lixo urbano atende 36,9% dos domicílios (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA; CPRM, 2005).

#### *4.2.3 Vitória de Santo Antão*

Vitória de Santo Antão é um município que integra a Mesorregião da Mata Pernambucana e a Microrregião de Vitória de Santo Antão, localizando-se a 55 quilômetros a oeste da capital pernambucana. Sua área territorial é de 372,637 km<sup>2</sup>, estando 5,717 km<sup>2</sup> em perímetro urbano. A topografia da região é movimentada e irregular, principalmente em seu setor oeste, onde se fazem presentes os primeiros contrafortes da Serra das Russas. O município é tido como o mais importante da sua mesorregião por concentrar o maior contingente populacional e polarizar os setores de serviços e da indústria na Zona da Mata pernambucana. A bacia do Rio Tapacurá, composta também pelos rios Natuba, Ronda, Pacas e Mocotó, que banha o município, é a principal causa para tornar essa região endêmica para esquistossomose (IBGE, 2016).

### **4.3 Critérios de inclusão e exclusão**

Foram considerados como critérios de inclusão do estudo:

- Diagnóstico de asma/rinite autodeclarada pelo questionário ISAAC;
- Indivíduos com idade entre 5 e 80 anos;
- Ambos os Gêneros;
- Ser residente nos municípios do estudo (Ilha de Itamaracá, Vitória de Santo Antão e Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco).

Foram considerados como critérios de exclusão:

- Mulheres gestantes;
- Ter realizado tratamento com anti-helmíntico até seis meses antes da coleta de fezes;
- Pacientes com outras doenças respiratórias (hipertrofia adenoideanas, insuficiência respiratória crônica causada por: fungos, bactérias ou vírus) concomitante com asma ou rinite, e infecções respiratórias recentes (30 dias).

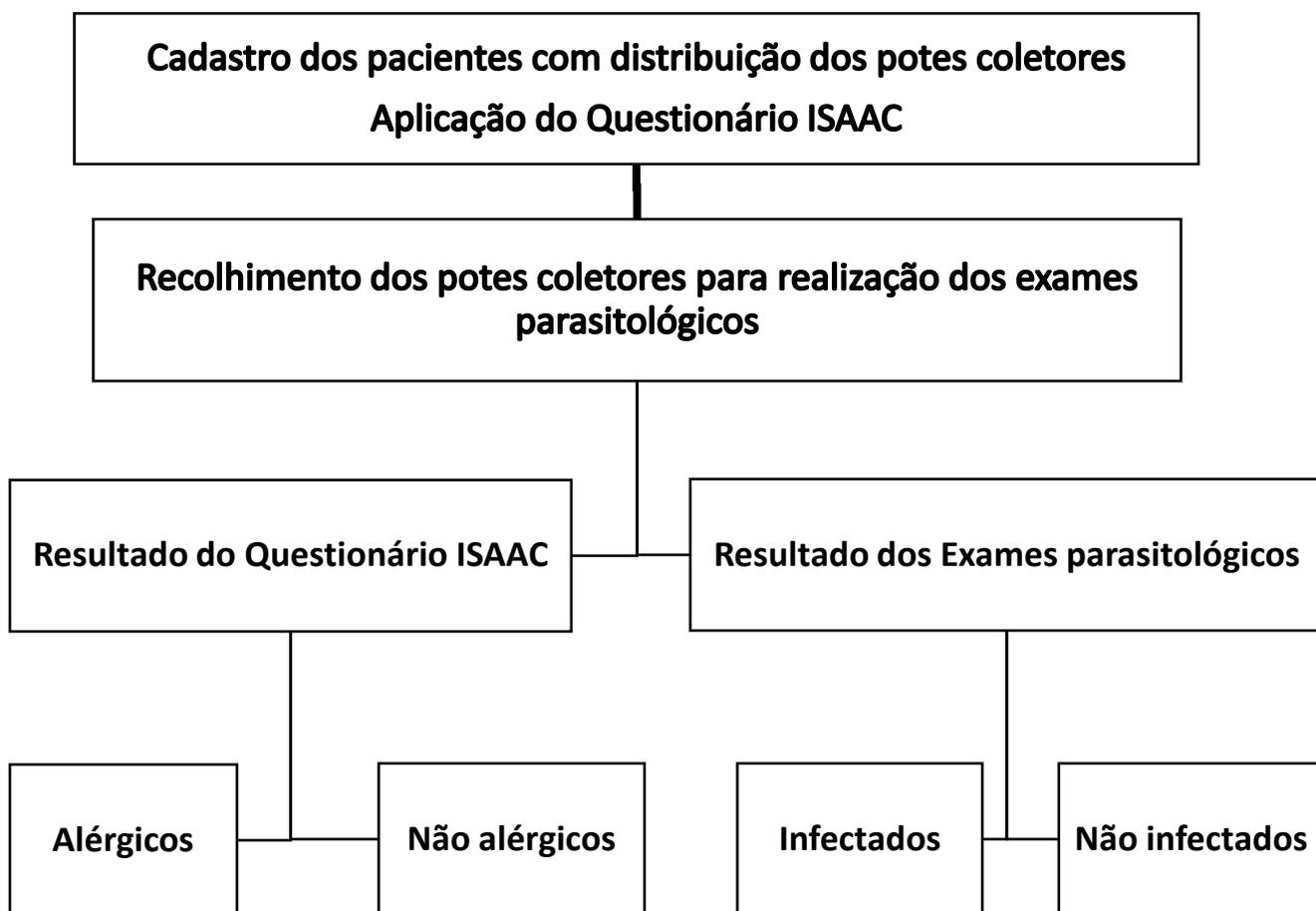
#### **4.4 Inquérito parasitológico em pacientes com asma/rinite alérgica**

Realizou-se um inquérito parasitológico através da distribuição de recipientes numerados para coleta e realização do exame de fezes, que foram recolhidos em prazo médio de 24 horas. Durante a distribuição dos recipientes, foi informado ao paciente ou responsável o objetivo da pesquisa, de maneira clara, e as instruções necessárias para a coleta de fezes. No dia seguinte, as amostras foram recolhidas e submetidas à técnica de sedimentação espontânea (Hoffman, Pons e Janer), utilizado no exame direto das fezes para pesquisa qualitativa de cistos de protozoários e ovos e larvas de helmintos, com leitura de 3 lâminas. Foram submetidas, também, ao método de Kato-Katz com análise de 2 lâminas por paciente no Laboratório e Serviço de Referência em Esquistossomose CPqAM/FIOCRUZ.

#### **4.5 Descrição dos sintomas relacionados à asma/rinite alérgica, e sua frequência, através do questionário ISAAC**

Simultaneamente ao inquérito parasitológico, aplicou-se o questionário ISAAC módulo asma e rinite (Apêndices II e III), validados no Brasil (SOLÉ et al. 1998; VANNA et al. 2001) para categorizar os pacientes em grupos de alérgicos e não alérgicos e para descrição da frequência de sintomas. Adicionalmente, foram obtidas variáveis socioeconômicas (gênero, renda familiar, escolaridade materna, fumante passivo ou ativo e histórico de alergia familiar, tempo de amamentação), variáveis relacionadas à asma alérgica (número de crises de asma no último ano, número de vezes que acordou à noite com crise, dificuldade para falar durante as crises, sibilo após exercício físico e tosse seca à noite) e variáveis relacionadas à rinite alérgica (espirros acompanhados de lacrimejamento e o quanto isso atrapalha a vida do paciente). Os dados obtidos com o ISAAC e o resultado dos exames parasitológicos foram inseridos no software Epi Info™ 7.1.5 (CDC, Atlanta, USA) para a análise dos dados. A categorização dos pacientes em asmático foi realizada através da resposta afirmativa para a segunda questão do questionário do módulo asma (presença de sibilo no último ano) (SOUZA et al., 2012; SOLÉ et al., 1997), e para a segunda pergunta do questionário do módulo rinite (problema com espirros ou coriza, quando não estava resfriado ou gripado no último ano) (VANNA et al., 2001; ESTEVES et al., 1999).

Após a aplicação do questionário ISAAC e realização do exame parasitológico, os pacientes foram categorizados em quatro grupos de acordo com o a infecção parasitária (infectado ou não infectado com *S. mansoni* ou geohelminhos) e o diagnóstico auto referido, a partir do questionário ISAAC, como alérgicos (asma/rinite) ou não alérgicos. O fluxograma descrito na Figura 3 mostra o esquema de seleção dos pacientes. Em seguida os indivíduos foram convocados para coleta de sangue e realização do teste de reatividade cutâneo para aeroalérgenos.



**Figura 3:** Fluxograma esquemático da seleção dos pacientes e desenvolvimento do estudo.

#### 4.6 Coleta de sangue e realização do hemograma

A coleta de sangue foi realizada em uma unidade de saúde da família nos indivíduos selecionados após aplicação do ISAAC e do exame parasitológico, onde foi informado ao paciente ou responsável as instruções necessárias para a coleta (jejum

mínimo de 2 horas). Utilizou-se o método de venopunção da veia cubital e coletaram-se 5mL em tubos com EDTA e com Heparina para realizar o hemograma e a cultura. Após a coleta, o sangue foi levado para um laboratório de análises clínicas para realização do exame e, posteriormente, o resultado foi recolhido e repassado para os indivíduos. Os níveis de eosinófilos foram obtidos por hemograma (LH 750 - Beckman Coulter) e os indivíduos foram classificados com eosinofilia ( $\geq 500$  células/mm<sup>3</sup>) e níveis normais ( $<500$  células/mm<sup>3</sup>).

Parte das amostras de sangue foi encaminhada ao setor de Imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) e utilizada para cultura de células de 24h. Outra parte foi encaminhada para o Laboratório de Alergia Clínica e Reumatologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo - SP, e utilizada para dosagem de anticorpos IgE total e IgE anti-*Blomia* e anti-*Asc*.

#### 4.7 Realização do teste cutâneo

Para realização do teste cutâneo, foram explicados aos pacientes os procedimentos de realização do exame e sua importância. A superfície volar medial do antebraço foi avaliada para exclusão de lesões dérmicas e realizou-se a assepsia com álcool a 70%. Os extratos de alérgenos (gota única) foram colocados no braço do paciente 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), inocularam-se os alérgenos 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, mistura de fungos, 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 caracterizou o teste positivo. O resultado positivo para ao menos um dos alérgenos testados permitiu categorizar os indivíduos como reativos (positivo) para o teste cutâneo.

#### **4.8 Determinação dos níveis de IgE total e IgE específicos anti-*Blomia* e *Asc***

O exame para a dosagem de anticorpos IgE totais e específicos (IgE anti-*Blomia* e *Asc*) utilizou o método de referência fluoroenzimaimunoensaio (FEIA), realizado pelo equipamento ImmunoCAP-Phadia® (Uppsala, Suécia), calibrado com o padrão internacional de referência para IgE da Organização Mundial de Saúde (OMS) e o resultado é expresso em kU/L (WATANABE et al., 2010). Os resultados expressos da IgE total foram categorizados em  $\geq 250$  kU/L como positivos e  $< 250$  kU/L, como negativos. Para a IgE anti-*Blomia* e anti-*Asc* os resultados  $\geq 0,35$  kU/L foram categorizados como positivos e  $< 0,35$  kU/L, como negativos.

#### **4.9 Realização da cultura de sangue total**

A cultura foi realizada através da adição de 500 microlitros de sangue total heparinizado em 1mL de meio de cultura RPMI 1640 (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, Missouri, EUA) em tubos de cultura de polipropileno, acrescido de Fitohemaglutinina (PHA) (5 $\mu$ g/mL) ou na ausência de estímulo mitogênico, por 24h, a 37°C, com CO<sub>2</sub> a 5%. O sobrenadante da cultura foi coletado e congelado a -80° C até a dosagem das citocinas e quimiocinas. As células foram recuperadas e adicionadas de Trizol (Ambion - Life Technologies) para determinar a expressão de IL-33RNAm e do ST2sRNAm.

#### **4.10 Dosagem de citocinas e quimiocinas**

As amostras de sobrenadante de cultura foram submetidas à detecção das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 por *Cytometric Bead Array* (CBA) utilizando-se um citômetro de fluxo (FACSCalibur, BD). O procedimento foi realizado conforme a instrução do fabricante for *Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit II* (Cat. No. 560485) e for *Human Chemokine Kit* (Cat. No. 552990). O Software BD CellQuest™ foi utilizado para aquisição das amostras e o software FCAP, versão 3.01, foi utilizado para realização das análises.

#### 4.11 Expressão de IL-33RNAm e ST2sRNAm

As células cultivadas na presença do mitógeno foram submetidas à extração do RNAm com trizol (MORAIS et al., 2016). Após o isolamento do RNA total, as amostras foram digeridas com DNase I livre de RNase. Para construção do cDNA, foi realizada uma RT-PCR a partir do RNAm da amostra extraída, de acordo com o kit da GoScript™ *Reverse Transcription System*. Os *primers* utilizados foram IL-33 senso (5'-GTGGAAGAACACAGCAAGCA-3') e IL-33 anti-senso (5'-AAGGCAAAGCACTCCACAGT-3') (KAMEKURA et al., 2012) e *primers* ST2s senso (5'-CTGTCTGGCCCTGAATTTGC-3') e ST2s anti-senso (5'-TGGAACCACACTCCATTCTGC-3') (YAGAMI et al., 2010). O mix foi aquecido a 70°C por 5 minutos, logo após, foram adicionados 10mM de Tris-HCl (pH 8,3), 50mM de KCl, 4,5mM MgCl<sub>2</sub>, nucleotídeos a 0,5mM, 20U de RNasin recombinante e 1U da enzima transcriptase reversa GoScript e a reação prosseguiu com 40 ciclagens padronizadas (25 °C por 5 minutos para o anelamento, 42°C por 60 minutos para síntese e extensão e 70°C por 15 minutos para inativação da enzima RT). Foi utilizada como controle endógeno da reação a detecção da expressão do RNAm do gene G3PDH, com os *primers* senso (sense 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3') e anti-senso (5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3') (KAMEKURA et al., 2012).

A validação do cDNA obtido foi realizada via PCR a partir do resultado da RT-PCR e revelado por eletroforese em gel de agarose a 2%. A análise quantitativa em tempo real (q-PCR) foi realizada com um Sistema de detecção de sequenciamento utilizando iTaq SYBR Green Supermix com ROX. Para determinar o número exato de cópias dos genes-alvo, as concentrações quantificadas do produto da PCR purificada foram diluídas em série e utilizadas como padrões em cada ensaio. Alíquotas de cDNA das amostras de RNA total foram utilizados em cada PCR em tempo real. Os parâmetros de ciclagem utilizados para a reação foram: 5 minutos a 95°C para ativação inicial, seguido de 10 segundos a 95°C para desnaturação, anelamento e extensão a 60°C por 30 segundos, por 40 ciclos. Utilizamos o 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems) para mensurar a expressão do gene e o software 7500, versão 2.0.3, para a análise dos resultados. A expressão de mRNA dos alvos foi obtida através de duas normalizações sequenciais: pelo controle endógeno e pelo calibrador (controle negativo). A primeira normalização foi realizada da seguinte maneira: *quantity* do gene alvo/*quantity* do gene de referência, onde *quantity* consiste nos valores absolutos em

função da curva-padrão. Após a normalização do gene alvo, o RQ (quantidade relativa de mRNA) foi obtido através da normalização pelo calibrador (MORAIS et al., 2016).

#### 4.12 Análise estatística

Inicialmente, realizou-se análise descritiva das variáveis socioeconômicas e sintomas obtidos pelo questionário ISAAC no software Epi Info™ 7.1.5 (CDC, Atlanta, USA), e calculado o *Odds Ratio* (OR), intervalo de confiança de 95% (IC-95) e o valor de “p” pelo teste do Qui-quadrado e teste exato de Fisher para verificar a associação à infecção pelo *S. mansoni* ou geohelmintos e às doenças alérgicas e variáveis socioeconômicas. O mesmo foi realizado classificando os indivíduos pelo resultado da reatividade cutânea. Aplicou-se o teste de Mann-Whitney para comparar a carga parasitária dos indivíduos infectados. Níveis de IgE total, IgE anti-*Blomia*, anti-*Asc*, quimiocinas, citocinas e eosinófilos foram comparados entre os quatro grupos utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Mann-Whitney. Realizou-se também a análise multivariada logística, em dois modelos, para verificar a interação das variáveis estudadas, ajustadas pelo sexo e idade, devido à relação biológica (SHAW; GOLDSTEIN; MONTGOMERY, 2014; KLEIN et al., 2016), e escolaridade materna ( $p < 0,2$ ).

Para verificar se existe correlação entre a carga parasitária, níveis de IgE total, *Blomia* ou *Asc* e os níveis de citocinas e quimiocinas, utilizaram-se a regressão linear simples e o teste de correlação de Spearman. Os níveis de IL-33 e ST2s foram comparados utilizando-se os testes não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney. Os testes estatísticos foram considerados significativos quando o valor de  $p < 0,05$ . Foram utilizados os softwares R e GraphPad Prism 5.0.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Infecção pelo *Schistosoma mansoni* atenua a reatividade do teste cutâneo acompanhado de prejuízo na produção de quimiocina CCL2/MCP-1

#### INTRODUÇÃO

Durante a infecção por *Schistosoma mansoni* e *Ascaris lumbricoides* há geração de mecanismos imunossupressores (células T regulatórias, macrófagos alternativamente ativados, produção de IL-10 e TGF- $\beta$ ), os quais foram relacionados com prejuízo da resposta Th2 anti-alérgeno, mostrada pela diminuição da produção de IL-4, IL-5, IgE e positividade do teste cutâneo (ARAÚJO et al., 2000; COOPER, 2009; HAGEL et al., 1993; LYNCH et al., 1983; OLIVEIRA et al., 2014; PONTE et al., 2006; TEODÓSIO et al., 2015). Contudo, a sensibilização pela IgE anti-*Ascaris* (Asc) tem sido relatada como fator de risco para a positividade ao teste de hipersensibilidade imediata para aeroalérgenos, aumento dos níveis de IgE total e de eosinófilos no sangue periférico (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010; COOPER et al., 2003; HAWLADER et al., 2014; MONCAYO et al., 2013). De fato, ocorre uma homologia entre proteínas do *Ascaris* e dos aeroalérgenos levando a uma reatividade cruzada podendo amplificar a resposta Th2 alérgeno específica (ACEVEDO et al., 2011; SANTOS et al., 2008a; SOUZA et al., 2009). Foi relatado que em países em desenvolvimento e endêmicos para esquistossomose ocorre alta prevalência de IgE anti-Asc em indivíduos com alergias respiratórias (MEDEIROS et al., 2006; SOUZA et al., 2009). Entretanto, a influência da presença de IgE anti-Asc na positividade do teste cutâneo e no perfil de citocinas em indivíduos infectados com *S. mansoni*, sem co-infecção com geohelminhos, não está esclarecida.

Adicionalmente, é sabido que quimiocinas influenciam no tráfico celular (OLIVEIRA; LUKACS, 2003; PALMQVIST; WARDLAW; BRADDING, 2007; YAMAGUCHI et al., 2009) e o desequilíbrio entre essas moléculas alteram a dinâmica do recrutamento de células do perfil de resposta Th2, nas desordens alérgicas e infecções parasitárias. Machura e col (2016) demonstraram maiores níveis de CCL5/RANTES (favorecimento da resposta tipo Th2), e menor produção de CXCL9/MIG (recrutamento e ativação da resposta tipo Th1), em crianças alérgicas

(MACHURA et al., 2016). Já com relação à infecção pelo *S. mansoni*, na fase crônica, os níveis de CCL5/RANTES são mais elevados no plasma (FALCÃO et al., 2002). Em camundongos, *Schistosoma japonicum* induziu o aumento do nível de transcrição do CCL2/MCP-1 em células estreladas hepáticas (BARTLEY et al., 2006).

Mastócitos são células efetoras importantes na patogênese das reações cutâneas de hipersensibilidade tipo I (CHARLESWORTH et al., 1989; YAMAGUCHI et al., 2009). O mastócito pode secretar CCL2/MCP-1 (METZ; MAURER, 2007) e amplificar a quimiotaxia para basófilos/mastócitos e também secretar uma grande variedade de quimiocinas para diferentes subtipos de células T CD4<sup>+</sup>, como CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10 para células Th1, e CCL5/RANTES e CCL11/EOTAXINA para Th2 (CARDAMONE et al., 2016; MARSHALL, 2004). Contudo, ainda não foram investigados os níveis dessas quimiocinas em indivíduos infectados pelo *S. mansoni* e sua relação na reatividade do teste cutâneo.

Sabendo que a IgE anti-Asc e quimiocinas podem interferir na positividade da reação cutânea imediata em indivíduos esquistossomóticos, este estudo se propôs a investigar a relação entre os níveis plasmáticos de anticorpos IgE anti-Asc, as citocinas TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-10, IL-4, IFN- $\gamma$  e IL-17A, as quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL2/MCP-1, CXCL9/MIG, CCL5/RANTES, e CXCL10/IP-10 em indivíduos de uma área endêmica para esquistosomose, mas sabidamente negativos para infecção com geohelminhos.

## MÉTODOS

### Desenho do estudo

Estudo de corte transversal aninhado a um caso-controle que avaliou os níveis de IgE Anti-Asc, citocinas, quimiocinas e a associação com a positividade do teste ~~cutâneo~~ de hipersensibilidade cutânea para aeroalérgenos em indivíduos infectados pelo *Schistosoma mansoni*, além do IgE total, IgE Anti-*Blomia* e eosinófilos. Indivíduos com idade entre 5 e 60 anos, ambos os gêneros, de área urbana (Cabo de Santo Agostinho e Ilha de Itamaracá) participaram do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz (CAAE: 22822813.3.0000.5190).

Amostras de fezes foram coletadas e submetidas a exames parasitológicos Hoffman, Pons e Janer, e Kato-Katz. Foram excluídos os indivíduos que apresentaram positividade para protozoários, outros helmintos ou coinfeções entre o *Schistosoma mansoni* e outros helmintos/protozoários; mulheres gestantes.

A partir da infecção por *S. mansoni* e positividade no *Skin Prick Test* (SPT) foram formados quatro grupos de comparação: (1) indivíduos SPT positivo e infectados com *S. mansoni* (SPT+/S.m); (2) indivíduos SPT positivo e não infectados (SPT+/NI); (3) indivíduos SPT negativo e infectados por *S. mansoni* (SPT-/ S.m); (4) indivíduos SPT negativo e não infectados (SPT-/NI). Amostras de sangue (10mL) foram coletadas, e os indivíduos parasitados foram tratados após realização do teste cutâneo e coleta de sangue. Os níveis de eosinófilos foram obtidos por hemograma (LH 750 - Beckman Coulter) e os indivíduos foram classificados com eosinofilia ( $\geq 500$  células/mm<sup>3</sup>) e níveis normais ( $<500$  células/mm<sup>3</sup>). Parte do plasma foi separado para as dosagens dos anticorpos IgE total e específicos (IgE-anti *Blomia* e *Ascaris*) pelo método de referência fluoroenzimaimunoensaio (FEIA) (ImmunoCAP-Phadia®, Uppsala, Suécia), calibrado com o padrão internacional de referência para IgE da Organização Mundial de Saúde (OMS). Para a IgE total, os indivíduos foram classificados em altos níveis ( $\geq 250$  kU/L) e níveis normais ( $<250$  kU/L). Para a IgE Anti-*Blomia* e Anti-*Asc* foram classificados em positivos ( $\geq 0,35$  kU/L) e negativos ( $< 0,35$  kU/L) (WATANABE et al., 2010).

### **Teste cutâneo**

O teste cutâneo de hipersensibilidade imediata foi realizado na superfície volar medial do antebraço, e os alérgenos foram inoculados na região subcutânea. O teste foi composto por: *Dermatophagoides pteronyssimus*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana*, *Blatela germanica*, epitélio de gato, mistura de fungos, controle positivo (histamina 10 mg/mL) e negativo (excipiente) (IPI-ASAC). A detecção de pápula de induração com pelo menos 3 mm maior que o controle negativo em seu diâmetro médio 15 minutos após a inoculação caracterizou o teste positivo. A positividade para ao menos um alérgeno foi considerado como critério de classificação dos indivíduos SPT+.

### **Cultura de Sangue Periférico**

Uma cultura de sangue total foi realizada adicionando 0,5mL de sangue periférico heparinizado sob 1mL de meio de cultura RPMI 1640 (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, Missouri, EUA) em tubos de cultura de polipropileno, acrescido de Fitohemaglutinina (PHA) (5µg/mL) ou na ausência de estímulo mitogênico por 24h a 37°C; CO<sub>2</sub> 5%. O sobrenadante de cultura foi coletado e congelado à -80° C até a dosagem das citocinas e quimiocinas.

### **Dosagem de citocinas e quimiocinas**

As amostras de sobrenadante de cultura foram submetidas à detecção das citocinas IL-2, IL-4, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 por Cytometric Bead Array (CBA) utilizando-se um citômetro de fluxo (FACSCalibur, BD). O procedimento foi realizado conforme a instrução do fabricante for Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit II (Cat. No. 560485) e for Human Chemokine Kit (Cat. No. 552990). O Software BD CellQuest™ foi utilizado para aquisição das amostras e o software FCAP, versão 3.01 foi utilizado para realização das análises.

### **Análise Estatística**

Realizou-se análise descritiva da prevalência da positividade para o SPT em indivíduos infectados pelo *S. mansoni* e não infectados. O teste do  $\chi^2$ , com comparação do teste exato de Fisher, entre os indivíduos SPT+ e SPT-, infectados ou não, foi utilizado para verificar a associação entre as variáveis socioeconômicas e biológicas. Aplicou-se o teste de Mann-Whitney para comparar a carga parasitária dos indivíduos SPT+ e SPT- infectados. Níveis de IgE total, IgE anti-*Blomia*, IgE anti-*Asc*, quimiocinas, citocinas e eosinófilos foram comparados entre os quatro grupos utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Mann-Whitney. Realizou-se também a análise multivariada logística, em dois modelos, para verificar a interação das variáveis estudadas. O primeiro foi ajustado pelo sexo e idade, devido a relação biológica (KLEIN; FLANAGAN, 2016; SHAW; GOLDSTEIN; MONTGOMERY, 2014) e o segundo foi ajustado pelo sexo, idade e escolaridade materna ( $p < 0,2$ ). Para verificar se existe correlação entre a carga parasitária, níveis de IgE total, *Blomia* ou *Asc* e os níveis de citocinas e quimiocinas utilizou-se regressão linear simples e o teste de correlação de Spearman. Os testes estatísticos foram considerados significativos para  $p < 0,05$ . Foram utilizados os softwares R e GraphPad Prism 5.0.

## **RESULTADOS**

Durante a realização do inquérito parasitológico foram cadastrados 3816. Deste total, 2123 indivíduos realizaram os exames parasitológicos. Destes, 1905 indivíduos foram excluídos por estarem infectados com geohelminhos/protozoários, portadores de

HIV/tuberculose/leishmaniose ou houve perdas de indivíduos (mudança de residência ou recusa em participar do estudo).

Dos 118 indivíduos selecionados, 38 (32,20%) foram SPT+ e 80 (67,80%) SPT-. Dos positivos para o SPT, 11(20,37%) indivíduos estavam infectados e 27(22,8%) não infectados. Dos negativos para o SPT, 43 (79,63%) eram infectados e 37 (31,35%) não infectados. A tabela 1 mostra que não houve diferença estatística na carga parasitária entre os grupos de indivíduos SPT+ e SPT-. Foi observada associação de proteção entre a infecção e positividade para o SPT (OR=0,351, IC95%=0,153 – 0,802; p=0,017).

Com relação às variáveis biológicas, não houve associação entre o sexo, idade e alergia materna na positividade dos testes cutâneos, seja quando infectados ou não. Para as variáveis socioeconômicas, observou-se que a infecção leva a um efeito protetor nos indivíduos com mães de baixa escolaridade (OR=0,236, IC95%=0,067 – 0,828; p=0,046), bem como, naqueles com renda familiar mais baixa (OR=0,280, IC95%=0,110 – 0,685; p= 0,002). O tabagismo não demonstrou relação com a positividade para o SPT e infecção pelo *S. mansoni*.

Com relação aos anticorpos IgE total, IgE anti-*Blomia* ou anti-*Asc* e eosinófilos, a **tabela 1** mostra que os indivíduos SPT+/*S.m* e SPT-/*S.m* apresentaram maiores níveis de IgE total em relação aos indivíduos do grupo SPT-/NI (p=0,030). Nos indivíduos com baixo nível de IgE total (<250 kU/L), a infecção conferiu proteção para a positividade do teste cutâneo (OR=0,107, IC95%=0,012 – 0,926; p=0,034). Com relação à IgE anti-*Blomia*, os indivíduos do grupo SPT+/NI apresentaram maiores níveis deste anticorpo, em relação ao SPT+/*S.m* e ao SPT-/NI (p=0,039). Não houve associação entre a infecção e a positividade do SPT, na presença de IgE anti-*blomia*.

Não foram observadas diferenças significativas para os níveis de IgE anti-*Asc* entre os grupos estudados, apesar dos indivíduos dos grupos SPT+/*S.m* e SPT-/*S.m* apresentaram maiores níveis de IgE anti-*Asc* em relação ao SPT-/NI. Os grupos SPT+/*S.m*, SPT-/*S.m*, SPT+/NI apresentaram maiores níveis de eosinófilos em relação ao SPT-/NI, mas sem diferença estatística. Houve um efeito protetor da infecção para o SPT em indivíduos com altos níveis de IgE anti-*Asc* (OR=0,308, IC95%=0,104 – 0,910; p=0,037) e com maior nível de eosinófilos circulantes (OR=0,181, IC95%=0,035 – 0,800; p=0,023).

Para investigar a interação entre a positividade do SPT e as covariáveis foi realizado um modelo de regressão logística univariada e multivariada utilizando-se dois modelos (**Tabela 2**). Na análise univariada a IgE anti-*Blomia* (OR=4,62, IC95%=1,94 –

11,02;  $p < 0,001$ ) constituiu um fator de risco para o SPT positivo. Contrariamente, o menor grau de escolaridade materna (OR=0,43, IC95%=0,19 – 0,95;  $p=0,038$ ) e a infecção pelo *S. mansoni* (OR=0,35, IC95%=0,15 – 0,80;  $p=0,013$ ) demonstraram um caráter de proteção para a reatividade cutânea. Contudo, a escolaridade materna constituiu uma variável de confundimento através da análise de correlação de Spearman. Foi observado que a escolaridade esteve relacionada negativamente ao teste cutâneo (Rho= -0,1930;  $p=0,036$ ), mas positivamente à infecção pelo *S. mansoni* (Rho= 0,4660;  $p < 0,0001$ ). Adicionalmente, a infecção esteve associada à redução da positividade ao teste cutâneo (Rho= -0,2326;  $p=0,011$ ). No modelo 1 de regressão multivariada logística, as variáveis IgE anti-*Blomia* (OR=4,51, IC95%=1,79 – 11,36;  $p=0,001$ ) e infecção pelo *S. mansoni* (OR=0,32, IC95%=0,14 – 0,75;  $p=0,009$ ) permaneceram influenciando a positividade do teste cutâneo, quando ajustadas pelo sexo e idade. No modelo 2 apenas a variável IgE anti-*Blomia* (OR=4,89, IC95%= 1,85 – 12,92;  $p < 0,001$ ) mostrou relação de risco para a positividade do SPT. As outras variáveis testadas (renda, alergia da mãe, tabagismo, carga parasitária do *S. mansoni*, IgE anti-*Asc* e eosinófilos) não mostraram relação com a positividade do SPT nos dois modelos utilizados.

As citocinas TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-17A e IL-10 (**Figura 1**) e as quimiocinas IP-10/CXCL10, MCP/CCL2, MIG/CXCL9, RANTES/CCL5 e IL-8/CXCL8 (**Figura 2**) foram mensuradas na cultura de sangue periférico. No grupo SPT-/*S.m*, houveram níveis significativamente maiores de TNF- $\alpha$  (**Fig. 1A**), IFN- $\gamma$  (**Fig 1B**) e IL-10 (**Fig. 1C**), em comparação ao grupo SPT-/NI. Não foram observadas diferenças significativas na produção de IL-2, IL-4, IL-17A (**Fig 1D-F**).

Quanto às quimiocinas, os níveis de CXCL8/IL-8 no grupo de indivíduos SPT-/SM foram significativamente maiores, em relação ao grupo SPT-/NI (Fig. 2A). Os níveis de CCL2/MCP-1 nos indivíduos dos grupos SPT+/SM e SPT-/SM foram menores, em relação aos grupos de indivíduos SPT+/NI e SPT-/NI (Fig. 2B). Não foram evidenciadas diferenças entre os grupos para a produção de CXCL9/MIG, CCL5/RANTES e CXCL10/IP-10 (Fig 2C-E).

Diante da proteção da positividade do SPT em indivíduos infectados, com baixos níveis de IgE total e eosinófilos, e do aumento das citocinas TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10, e quimiocinas CXCL8/IL-8 e com menores níveis de CCL2/MCP-1 e de IgE anti-*Blomia* devido à infecção, realizamos uma análise de regressão linear e correlação com a carga parasitária (**Tabela 3**). Sabendo da homologia dos alérgenos com antígenos de

*Ascaris* e incremento da produção de IgE total, a correlação entre estes anticorpos foi também realizada nos indivíduos infectados. Pôde ser observada uma moderada correlação positiva com os níveis de CCL2/MCP-1 ( $R=0,6963$ ;  $p=0,0153$ ), porém uma moderada correlação negativa com os níveis de TNF- $\alpha$  ( $R=-0,6963$ ;  $p=0,0153$ ) sem correlação com os anticorpos avaliados. Como esperado, foi visto que os níveis de IgE anti-*Blomia* ( $r=0,9483$ ;  $p=0,0001$ ) e IgE Anti-*Asc* ( $r=0,7781$ ;  $p<0,0105$ ) apresentaram uma forte correlação positiva com a IgE total. Além disso, a IgE anti-*Blomia* apresentou uma forte correlação positiva com a IgE Anti-*Asc* ( $r=0,7939$ ;  $p=0,0088$ ). Não houve correlação com os níveis de eosinófilos e a carga parasitária ( $r=-0,5774$  e  $p=0,0756$ ).

## DISCUSSÃO

A infecção pelo *S. mansoni* modula a imunidade do hospedeiro induzindo um efeito protetor ao teste cutâneo anti-alérgico (ARAÚJO et al., 2000, 2004; CARDOSO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014). Neste estudo, nós mostramos que este efeito protetor permanece mesmo na presença de altos níveis de IgE anti-*Ascaris*, que foi considerado um fator de risco para intensidade das reações cutâneas (AHUMADA et al., 2015; ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010). Em acordo com a literatura, a infecção esquistossomótica levou a diminuição dos níveis de IgE anti-*Blomia* séricas (MEDEIROS et al., 2003), mas nossos achados apontam que a modulação negativa da positividade do teste cutâneo pode estar também relacionada à diminuição nos níveis de CCL2.

É fato que, além das infecções parasitárias, fatores genéticos, fatores ambientais, socioeconômicos/hábitos, sexo e idade podem influenciar na modulação imunológica nas doenças alérgicas (KLEIN; FLANAGAN, 2016; SHAW; GOLDSTEIN; MONTGOMERY, 2014). Neste contexto, seria esperado influencia da alergia materna nos indivíduos SPT+, porém a história familiar de alergia é mais pertinente em sintomas da alergia e não quando referente ao SPT (COOPER et al., 2016; STRINA et al., 2014). Não observamos diferença entre idade e sexo entre os grupos. Dentre os fatores socioeconômicos avaliados, o menor grau de escolaridade materna levou a proteção na positividade no SPT, porém também levou ao maior risco de infecção. Este fato descarta esta primeira variável como fator de proteção e reafirma que baixo nível de escolaridade materna está atrelado às más condições de saúde, da qualidade de vida dos

descendentes e hábitos precários de higiene com favorecimento de infecções (FERREIRA et al., 2006).

Os indivíduos infectados apresentaram altos níveis de IgE total e IgE anti-Asc, em acordo com ativação policlonal nas helmintíases (MONCAYO et al., 2010) e possível contato prévio com geohelminhos. Apesar disso, altos níveis de IgE total não mostraram relação com a proteção induzida pelo *S. mansoni*, mas apenas os casos de baixos níveis. Embora seja conhecida a reatividade cruzada entre IgE anti-Asc e anti-alérgenos (VALMONTE; CAUYAN; RAMOS, 2012) este primeiro anticorpo não conferiu associação para SPT+. Foi possível observar mais eosinófilos, embora sem diferença estatística, nos grupos SPT+/S.m e SPT-/ S.m. Em conjunto estes dados sugerem, nos indivíduos infectados, um perfil de resposta Th2 (OLIVEIRA et al., 2014; RUJENI et al., 2012; SILVEIRA-LEMOES et al., 2010), porém na presença de um *background* de perfil pró-inflamatório tipo Th1 (TNF, IFN- $\gamma$  e CXCL-/IL-8), acompanhado de marcante produção de IL-10, avaliado pela estimulação mitogênica. Este perfil misto com IL-10 se encaixa em pacientes crônicos (JESUS et al., 2004).

O nosso estudo considerou a positividade do teste cutâneo para qualquer alérgeno inalante, porém nos escolhemos avaliar os níveis de IgE sérica contra ao ácaro *B. tropicalis* por ser o mais comum na região do estudo (ROSARIO-FILHO et al., 2013; SOLÉ et al., 2015; SOUSA et al., 2016). Foram observados altos níveis deste anticorpo nos indivíduos SPT+ e houve uma relação de risco. Contudo, nos indivíduos esquistossomóticos houve uma diminuição nos níveis de IgE anti-*Blomia*. Apesar disso, a proteção para positividade do SPT foi independente dos níveis deste anticorpo. Neste cenário, os níveis da quimiocina CCL2/MCP-1 estiveram diminuídos nos indivíduos infectados, trazendo à tona a participação desta quimiocina no mecanismo de modulação pelo parasita.

O CCL2/MCP-1 pode atuar de maneira significativa nas respostas alérgicas devido à sua capacidade de atrair monócitos, eosinófilos e ativar mastócitos e basófilos (CARR et al., 1994; KUNA et al., 1992). Os mecanismos pelos quais o CCL2/MCP-1 pode atuar incluem a estimulação e liberação de histamina e de leucotrienos a partir de mastócitos ou basófilos, com aumento da polarização da resposta Th2 (ROSE; SUNG; FU, 2003). Os níveis séricos de CCL2/MCP-1 estavam significativamente aumentados em crianças com alergia alimentar que sofrem de anafilaxia e urticária em relação às crianças com asma brônquica e dermatite atópica (RADMAN et al., 2013).

De modo importante, foi relatado que CCL2/MCP-1 pode ativar diretamente os basófilos (BISCHOFF et al., 1992; KUNA et al., 1992), levando à liberação de aproximadamente 20% da histamina (IHKURA et al., 2001; YAMAGUCHI et al., 2009). Os mastócitos pode secretar CCL2/MCP-1 quando ativado por IgE (METZ; MAURER, 2007) e amplificar a quimiotaxia para basófilos/mastócitos. Em conjunto, os dados sugerem que a reação de hipersensibilidade cutânea não foi amplificada e é controlada nos indivíduos esquistossomóticos. A menor positividade do SPT pode ser reflexo de menor ação da CCL2 sob os mastócitos e, ainda, de menor secreção desta quimiocina pela menor oferta de IgE anti-alérgeno (*B. tropicalis*).

A carga parasitária dos indivíduos foi correlacionada com produção moderada de CCL2 e com menor de TNF- $\alpha$ . Estes dados corroboram o perfil Th2 controlado e podem sugerir que a inibição da inflamação cutânea de punctura seja dependente da ação da IL-10, bem como TGF- $\beta$ , CTLA-4 e células Tregs nos indivíduos esquistossomóticos de fase crônica (ARAÚJO et al., 2004; BIGGELAAR et al., 2004; VAN DER VLUGT et al., 2014).

Em conclusão foi demonstrado que a infecção pelo *S. mansoni* constitui um fator de proteção para a SPT, sobrepondo o fator de risco IgE anti-*Blomia*, e de maneira IgE Anti-Asc independente. Os dados ressaltaram a diminuição de CCL2/MCP-1 como mecanismo efetor do prejuízo da hipersensibilidade tipo I-imediata, em indivíduos alérgicos de área endêmica para esquistossomose, e utilização de antígenos parasitários como ferramenta imunomodulatória no âmbito da inovação terapêutica.

## REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, N. et al. Allergenicity of *Ascaris lumbricoides* tropomyosin and IgE sensitization among asthmatic patients in a tropical environment. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 154, n. 3, p. 195–206, 2011.
- ACEVEDO, N.; CARABALLO, L. IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. **Parasite immunology**, v. 33, n. 6, p. 309–21, jun. 2011.
- AHUMADA, V. et al. IgE responses to *Ascaris* and mite tropomyosins are risk factors for asthma. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 45, n. 7, p. 1189–200, jul. 2015.
- ALCÂNTARA-NEVES, N. M. et al. The presence of serum anti- *Ascaris lumbricoides* IgE antibodies and of *Trichuris trichiura* infection are risk factors for wheezing and / or atopy in preschool-aged Brazilian children. p. 1–9, 2010.
- ALCÂNTARA-NEVES, N. M. et al. Effects of helminth co-infections on atopy ,

- asthma and cytokine production in children living in a poor urban area in Latin America. p. 1–11, 2014.
- ALCORN, J. F.; CROWE, C. R.; KOLLS, J. K. TH17 Cells in Asthma and COPD. **Annual Review of Physiology**, v. 72, n. 1, p. 495–516, 2010.
- ALLEN, S. J.; CROWN, S. E.; HANDEL, T. M. Chemokine:Receptor Structure, Interactions, and Antagonism. **Annual Review of Immunology**, v. 25, n. 1, p. 787–820, 2007.
- ALROQI, F. J.; CHATILA, T. A. T Regulatory Cell Biology in Health and Disease. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 16, n. 4, p. 27, 29 abr. 2016.
- AMIN, K.; JANSON, C.; BYSTROM, J. Role of Eosinophil Granulocytes in Allergic Airway Inflammation Endotypes. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 84, n. 2, p. 75–85, 2016.
- ARAÚJO, M. I. et al. Inverse Association between Skin Response to Aeroallergens and Schistosoma mansoni Infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 123, n. 1, p. 145–148, 2000.
- ARAÚJO, M. I. et al. Schistosoma mansoni Infection Modulates the Immune Response against Allergic and Auto-immune Diseases. **Mem Onst Oswaldo Cruz**, v. 99, n. Suppl. I, p. 27–32, 2004.
- ASEMOTA, O. O. et al. Chemokines Responses to Ascaris Lumbricoides Sole Infection and Co - infection with Hookworm among Nigerians. v. 6, n. 2, p. 84–88, 2014.
- AZAZI, E. A et al. Serum levels of Interleukin-33 and its soluble receptor ST2 in asthmatic patients. **Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis**, v. 63, n. 2, p. 279–284, 2014.
- BABU, S. K. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) autoregulates its expression and induces adhesion molecule expression in asthma. **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 140, n. 1, p. 18–25, jul. 2011.
- BARNES, P. J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 3, p. 183–192, 2008.
- BARRETO, A. V. M. S. et al. Evaluation of serum levels of IL-9 and IL-17 in human Schistosoma mansoni infection and their relationship with periportal fibrosis. **Immunobiology**, v. 221, n. 12, p. 1351–1354, dez. 2016.
- BARTLEY, P. B. et al. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of Schistosoma japonicum egg-induced fibrosis. **International journal for parasitology**, v. 36, n. 9, p. 993–1001, ago. 2006.
- BAUMGART, M. et al. Naturally Occurring CD4+Foxp3+ Regulatory T Cells Are an Essential, IL-10-Independent Part of the Immunoregulatory Network in Schistosoma mansoni Egg-Induced Inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 176, n. 9, p. 5374–5387, 18 abr. 2006.
- BERRY, M. et al. TNF-a in asthma. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 3, p. 279–282, 2007.
- BIGGELAAR, A. H. J. VAN DEN et al. Long-Term Treatment of Intestinal Helminths Increases Mite Skin-Test Reactivity in Gabonese Schoolchildren. v. 189, p. 892–900, 2004.
- BISCHOFF, S. C. et al. Monocyte Chemotactic Protein 1 Is a Potent Activator of

- Human Basophils. **J Exp Med**, v. 175, n. 5, p. 1271–1275, 1992.
- BÖHM, L. et al. IL-10 and regulatory T cells cooperate in allergen-specific immunotherapy to ameliorate allergic asthma. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 194, n. 3, p. 887–97, 1 fev. 2015.
- BOITA, M. et al. Regulation of B-cell-activating factor expression on the basophil membrane of allergic patients. **International archives of allergy and immunology**, v. 166, n. 3, p. 208–12, jan. 2015.
- BONACCHI, A. et al. Signal transduction by the chemokine receptor CXCR3: Activation of Ras/ERK, Src, and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt controls cell migration and proliferation in human vascular pericytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 13, p. 9945–9954, 2001.
- BRAGAGNOLI, G.; SILVA, M. T. N. *Ascaris lumbricoides* infection and parasite load are associated with asthma in children. **J Infect Dev Ctries**, v. 8, n. 7, p. 891–897, 2014.
- BRASIL. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii - Diretrizes técnicas**. [s.l.: s.n.].
- BRIGHTLING, C.; BERRY, M.; AMRANI, Y. TNF- $\alpha$ : A novel therapeutic approach for asthma. **J Allergy Clin Immunol**, v. 121, n. 1, p. 5–12, 2008.
- BUENDÍA, E. et al. The IgE response to *Ascaris* molecular components is associated with clinical indicators of asthma severity. **The World Allergy Organization journal**, v. 8, n. 1, p. 8, jan. 2015.
- BURKE, M. L. et al. Immunopathogenesis of human schistosomiasis. **Parasite immunology**, v. 31, n. 4, p. 163–76, abr. 2009.
- CALDAS, I. R. et al. Human schistosomiasis mansoni: immune responses during acute and chronic phases of the infection. **Acta tropica**, v. 108, n. 2–3, p. 109–17, 2008.
- CAMPOS, H. S. Asma: suas origens, seus mecanismos inflamatórios e o papel do corticosteróide. **Revista Brasileira de Pneumologia Sanitária**, v. 15, n. 1, p. 47–60, 2007.
- CARABALLO, L. et al. Particularities of allergy in the Tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 20, jan. 2016.
- CARDAMONE, C. et al. Mast cells as effector cells of innate immunity and regulators of adaptive immunity. **Immunology letters**, v. 178, p. 10–14, 5 jul. 2016.
- CARDOSO, L. S. et al. Risk factors for asthma in a helminth endemic area in bahia, Brazil. **Journal of parasitology research**, v. 2012, p. 796820, jan. 2012.
- CARR, M. W. et al. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 9, p. 3652–3656, 1994.
- CARR, T. F. et al. Eosinophilic bioactivities in severe asthma. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 21, jan. 2016.
- CASTAN, L.; MAGNAN, A.; BOUCHAUD, G. Chemokine receptors in allergic diseases. **Allergy**, v. 72, n. 4, p. 682–690, 2016.
- CHARLESWORTH, E. N. et al. Cutaneous Late-Phase Response to Allergen: Mediator Release and Inflammatory Cell Infiltration. **Journal of Clinical Investigation**, v. 83, n. 5, p. 1519–1526, 1989.
- CHERRY, W. B. et al. A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human

- eosinophils. **Clinical Lymphoma**, v. 121, n. 6, p. 1484–1490, 2008.
- CHUAH, C. et al. Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. **Trends in parasitology**, v. 30, n. 3, p. 141–50, mar. 2014.
- COLLEY, D. G.; SECOR, W. E. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite immunology**, v. 36, n. 8, p. 347–57, ago. 2014.
- COOPER, P. J. et al. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 168, n. 3, p. 313–7, 1 ago. 2003.
- COOPER, P. J. Mucosal immunology of geohelminth infections in humans. **Mucosal immunology**, v. 2, n. 4, p. 288–99, jul. 2009.
- COOPER, P. J. et al. Effects of environment on human cytokine responses during childhood in the tropics: role of urban versus rural residence. **The World Allergy Organization journal**, v. 8, n. 22, p. 1–9, jan. 2015.
- COOPER, P. J. et al. Effects of maternal geohelminth infections on allergy in early childhood. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 137, n. 3, p. 899–906.e2, mar. 2016.
- DE MORAIS, N. G. et al. Effect of neonatal malnutrition on expression of nitric oxide synthase enzyme, production of free radicals and in vitro viability of alveolar macrophages infected with methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **European journal of nutrition**, v. 55, n. 1, p. 403–11, fev. 2016.
- DESCHOOLMEESTER, M. L. et al. Absence of CC Chemokine Ligand 2 Results in an Altered Th1/Th2 Cytokine Balance and Failure to Expel *Trichuris muris* Infection. **The Journal of Immunology**, v. 170, n. 9, p. 4693–4700, 1 maio 2003.
- DUNICAN, E. M.; FAHY, J. V. The Role of Type 2 Inflammation in the Pathogenesis of Asthma Exacerbations. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 12, n. Supplement 2, p. S144–S149, 2015.
- ENGELHARDT, E. et al. Chemokines IL-8, GRO $\alpha$ , MCP-1, IP-10, and Mig Are Sequentially and Differentially Expressed During Phase-Specific Infiltration of Leukocyte Subsets in Human Wound Healing. v. 153, n. 6, p. 1849–1860, 1998.
- FALCÃO, P. et al. Plasma Concentrations and Role of Macrophage Inflammatory Protein – 1 $\alpha$  during Chronic *Schistosoma mansoni* Infection in Humans. **J Infect Dis**, v. 186, n. 11, p. 1696–1700, 2002.
- FARIA, I. C. J. et al. Association of TGF-beta1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. **Jornal de pediatria**, v. 84, n. 3, p. 203–210, 2008.
- FEARY, J.; BRITTON, J.; LEONARDI-BEE, J. Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis. **Allergy**, v. 66, n. 4, p. 569–78, abr. 2011.
- FERREIRA, H. et al. An epidemiological study of the frequency and factors of risk of enteroparasitoses and their correlation with the nutritional state of children at pre-school age. **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, v. 12, n. 4, p. 33–40, 2006.
- FIGUEIREDO, C. A et al. Effects of poor hygiene on cytokine phenotypes in children in the tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, n. 1, p. 34, jan. 2016a.

FIGUEIREDO, C. A. et al. Coassociations between IL10 polymorphisms , IL-10 production , helminth infection , and asthma / wheeze in an urban tropical population in Brazil. v. 131, n. 6, p. 1683–1690, 2016b.

G. REESE, R. AYUSO, S. B. L. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. **Int Arch Allergy Immunol**, v. 119, p. 247–258, 1999.

GANGUR, V.; SIMONS, F.; HAYGLASS, K. Human IP - 10 selectively promotes dominance of polyclonally activated and environmental antigen - driven IFN - gamma over IL - 4 responses . **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n. 9, p. 705–713, 1998.

GARCÍA-LÓPEZ, M. A et al. CXCR3 chemokine receptor distribution in normal and inflamed tissues: expression on activated lymphocytes, endothelial cells, and dendritic cells. **Laboratory investigation**, v. 81, n. 3, p. 409–418, 2001.

GEIGER, S. M. et al. Cellular responses and cytokine profiles in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infected patients. **Parasite immunology**, v. 24, n. 11–12, p. 499–509, 2002.

GIBSON, P. G.; SIMPSON, J. L.; SALTOS, N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: Evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. **Chest**, v. 119, n. 5, p. 1329–1336, 2001.

GRUBEK-JAWORSKA, H. et al. IL-6 and IL-13 in induced sputum of COPD and asthma patients: correlation with respiratory tests. **Respiration; international review of thoracic diseases**, v. 84, n. 2, p. 101–7, jan. 2012.

GUERREIRO, R.; SANTOS-COSTA, Q.; AZEVEDO-PEREIRA, J. M. AS QUIMIOCINAS E OS SEUS RECEPTORES Características e Funções Fisiológicas. **Acta Med Port**, v. 24, n. S4, p. 967–976, 2011.

HAGEL, I. et al. Modulation of the allergic reactivity of slum children by helminthic infection. **Parasite Immunology**, v. 15, n. 6, p. 311–315, 1993.

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

HAWLADER, M. D. H. et al. *Ascaris lumbricoides* Infection as a Risk Factor for Asthma and Atopy in Rural Bangladeshi Children. **Tropical medicine and health**, v. 42, n. 2, p. 77–85, jun. 2014.

HAYAKAWA, H. et al. Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. **The Journal of biological chemistry**, v. 282, n. 36, p. 26369–80, 7 set. 2007.

HEGEWALD, J. et al. Cellular cytokine and chemokine responses to parasite antigens and fungus and mite allergens in children co-infected with helminthes and protozoa parasites. **Journal of inflammation (London, England)**, v. 12, p. 5, jan. 2015.

HINTERMANN, E. et al. CXCL10 promotes liver fibrosis by prevention of NK cell mediated hepatic stellate cell inactivation. **Journal of Autoimmunity**, v. 35, n. 4, p. 424–435, 2010.

HIRAHARA, K.; NAKAYAMA, T. CD4+ T-cell subsets in inflammatory diseases: Beyond the Th1/Th2 paradigm. **International Immunology**, v. 28, n. 4, p. 163–171, 2016.

HOSOKI, K.; BOLDOGH, I.; SUR, S. Neutrophil recruitment by allergens contribute to allergic sensitization and allergic inflammation. **Current opinion in allergy and**

**clinical immunology**, v. 16, n. 1, p. 45–50, 2016.

HUMPHREYS, N. E. et al. IL-33, a Potent Inducer of Adaptive Immunity to Intestinal Nematodes. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 4, p. 2443–2449, 4 fev. 2008.

HUNNINGHAKE, G. M. et al. Sensitization to *Ascaris lumbricoides* and severity of childhood asthma in Costa Rica. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 119, n. 3, p. 654–61, mar. 2007.

IIKURA, M. et al. Chemokine receptors in human basophils: inducible expression of functional CXCR4. **J Leukoc Biol**, v. 70, n. 1, p. 113–120, 2001.

IIKURA, M. et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 87, n. 10, p. 971–8, out. 2007.

IKUTANI, M. et al. Emerging roles of IL-33 in inflammation and immune regulation. **Inflammation and Regeneration**, v. 35, n. 2, p. 69–77, 2015.

JESUS, R. DE et al. Association of Type 2 Cytokines with Hepatic Fibrosis in Human *Schistosoma mansoni* Infection. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 6, p. 3391–3397, 2004.

JOSEPH, S. et al. Increases in human T helper 2 cytokine responses to *Schistosoma mansoni* worm and worm-tegument antigens are induced by treatment with praziquantel. **The Journal of infectious diseases**, v. 190, n. 4, p. 835–42, 15 ago. 2004.

KALENDA, Y. et al. Role of interleukin - 33 during *Schistosoma mansoni* infection ( MPF7P . 713 ). p. 2016, 2016.

KAMEKURA, R. et al. The role of IL-33 and its receptor ST2 in human nasal epithelium with allergic rhinitis. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 42, n. 2, p. 218–228, 2012.

KANEKO, Y. et al. Asthma phenotypes in Japanese adults - their associations with the CCL5 and ADRB2 genotypes. **Allergy international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 62, n. 1, p. 113–21, 2013.

KESKIN, O. et al. Exhaled RANTES and interleukin 4 levels after exercise challenge in children with asthma. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 109, n. 5, p. 303–308, 2012.

KLEIN, S. L.; FLANAGAN, K. L. Sex differences in immune responses. **Nature reviews. Immunology**, v. 16, n. 10, p. 626–638, 22 ago. 2016.

KO, F. W. S. et al. Decreased T-bet expression and changes in chemokine levels in adults with asthma. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 147, n. 3, p. 526–532, 2007.

KOHRGRUBER, N. et al. Plasmacytoid Dendritic Cell Recruitment by Immobilized CXCR3 Ligands. **Journal of Immunology**, v. 173, n. 11, p. 6592–6602, 2004.

KUNA, B. P. et al. Monocyte Chemotactic and Activating Factor Is a Potent Histamine-releasing Factor for Human Basophils. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 175, n. 2, p. 489–493, 1992.

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

LAI, S. T. et al. T-helper 1-related chemokines in the exacerbation of childhood asthma.

**Pediatrics International**, v. 50, n. 1, p. 99–102, 2008.

LANGIER, S.; SADE, K.; KIVITY, S. Regulatory T Cells in Allergic Asthma. v. 14, n. march, p. 180–183, 2012.

LECHNER, C. J. et al. Cytokine and chemokine responses to helminth and protozoan parasites and to fungus and mite allergens in neonates, children, adults, and the elderly. **Immunity & ageing : I & A**, v. 10, n. 1, p. 29, 15 jul. 2013.

LEONARDI-BEE, J.; PRITCHARD, D.; BRITTON, J. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 174, n. 5, p. 514–23, 1 set. 2006.

LIANG, Y. et al. Gene profile of chemokines on hepatic stellate cells of schistosome-infected mice and antifibrotic roles of CXCL9/10 on liver non-parenchymal cells. **PLoS one**, v. 7, n. 8, p. e42490, jan. 2012.

LING, M. F.; LUSTER, A. D. Allergen-Specific CD4(+) T Cells in Human Asthma. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 13 Suppl 1, n. 16, p. S25-30, mar. 2016.

LYNCH, N. et al. Allergic reactivity and helminthic infection in Amerindians of the Amazon Basin. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v. 72, n. 4, p. 369–372, 1983.

LYNCH, N. R. et al. Clinical Improvement of Asthma after Anthelmintic Treatment in a Tropical Situation. **AM J RESPIR CRIT CARE MED**, v. 156, n. 1, p. 50–54, 1997.

LYNCH, N. R.; GOLDBLATT, J.; SOUËF, P. N. LE. Parasite infections and the risk of asthma and atopy. p. 659–660, 1999.

MACHURA, E. et al. Selected CC and CXC chemokines in children with atopic asthma. **Postepy dermatologii i alergologii**, v. 33, n. 2, p. 96–101, abr. 2016.

MARSHALL, J. S. Mast-cell responses to pathogens. **Nature reviews. Immunology**, v. 4, n. 10, p. 787–99, out. 2004.

MATERA, G. et al. Ascaris lumbricoides-induced suppression of total and specific IgE responses in atopic subjects is interleukin 10-independent and associated with an increase of CD25(+) cells. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 62, n. 3, p. 280–6, nov. 2008.

MCSORLEY, H. J. et al. Blockade of IL-33 release and suppression of type 2 innate lymphoid cell responses by helminth secreted products in airway allergy. **Mucosal immunology**, v. 7, n. 5, p. 1068–78, set. 2014.

MEDEIROS, D. et al. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 4, p. 255–259, ago. 2006.

MEDEIROS, M. 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, maio 2003.

METZ, M.; MAURER, M. Mast cells--key effector cells in immune responses. **Trends in immunology**, v. 28, n. 5, p. 234–41, maio 2007.

MONCAYO, A. L. et al. Risk factors for atopic and non-atopic asthma in a rural area of Ecuador. **Thorax**, v. 65, n. 5, p. 409–16, maio 2010.

MONCAYO, A-L. et al. Effects of geohelminth infection and age on the associations between allergen-specific IgE, skin test reactivity and wheeze: a case-control study. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 43, n. 1, p. 60–72, jan. 2013.

- MULLER, G. C. et al. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels are associated with clinical severity in school age children with asthma. **Clin Exp Allergy**, v. 40, n. 12, p. 1755–1759, 2010.
- MURDOCH, C.; FINN, A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. **Blood**, v. 95, n. 10, p. 3032–43, 2000.
- MURDOCH, J. R.; LLOYD, C. M. Chronic inflammation and asthma. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 690, n. 1–2, p. 24–39, 2010.
- NAKAYA, I. et al. Blockade of IP-10/CXCR3 promotes progressive renal fibrosis. **Nephron - Experimental Nephrology**, v. 107, n. 1, p. 2–3, 2007.
- NAUSCH, N. et al. Regulatory and activated T cells in human *Schistosoma haematobium* infections. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, 2011.
- NAVARRO, S. et al. Hookworm recombinant protein promotes regulatory T cell responses that suppress experimental asthma. **Science translational medicine**, v. 8, n. 362, p. 362ra143, 26 out. 2016.
- NEUENSCHWANDER, C. et al. Cytokine profile associated with chronic and acute human schistosomiasis mansoni. v. 103, n. September, p. 561–568, 2008.
- O'CONNELL, D. et al. IFN $\gamma$ -induced JAK/STAT, but not NF $\kappa$ B, signaling pathway is insensitive to glucocorticoid in airway epithelial cells. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 309, n. 4, p. L348–NaN-359, 2015.
- OBIHARA, C. C. et al. Respiratory atopic disease, Ascaris-immunoglobulin E and tuberculin testing in urban South African children. **Clinical and Experimental Allergy**, p. 640–648, 2006.
- OKADA, H. et al. The “hygiene hypothesis” for autoimmune and allergic diseases: an update. **Clinical and experimental immunology**, v. 160, n. 1, p. 1–9, abr. 2010.
- OLIVEIRA, S. H. P.; LUKACS, N. W. The role of chemokines and chemokine receptors in eosinophil activation during inflammatory allergic reactions. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 11, p. 1455–1463, 2003.
- OLIVEIRA, S. M. DE et al. Association between allergic responses and *Schistosoma mansoni* infection in residents in a low-endemic setting in Brazil. **revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 770–774, 2014.
- OSHIKAWA, K. et al. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 164, n. 2, p. 277–281, 2001.
- PALMER, L. J. et al. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 165, n. 11, p. 1489–93, 1 jun. 2002.
- PALMQVIST, C.; WARDLAW, A. J.; BRADDING, P. Chemokines and their receptors as potential targets for the treatment of asthma. **British Journal of Pharmacology**, v. 151, n. 6, p. 725–736, 2007.
- PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. **Nature reviews. Immunology**, v. 2, n. 7, p. 499–511, jul. 2002.
- PENG, H. et al. IL-33 Contributes to *Schistosoma japonicum*-induced Hepatic Pathology through Induction of M2 Macrophages. **Scientific reports**, v. 6, n. May, p.

29844, 21 jul. 2016.

PERNAMBUCO, S. E. DE S. S. E. DE V. EM S. **Plano Integrado de Ações para o Enfretamento às Doenças Negligenciadas no Estado de Pernambuco/ SANAR – 2015 - 2018**. Recife, Brazil: [s.n.].

PONTE, E. et al. Skin test reactivity and Der p-induced interleukin 10 production in patients with asthma or rhinitis infected with *Ascaris*. **Ann Allergy Asthma Immunol.**, v. 96, n. 5, p. 713–718, 2006.

PYNN, M. C.; THORNTON, C. A.; DAVIES, G. A. Asthma Pathogenesis. **Pulmão**, v. 21, n. 2, p. 11–17, 2012.

RADMAN, M. et al. Serum levels of the CC chemokines CCL2, CCL5, and CCL11 in food allergic children with different clinical manifestations. **Inflammation**, v. 36, n. 3, p. 561–6, jun. 2013.

RAUNDHAL, M. et al. High IFN- $\gamma$  and low SLPI mark severe asthma in mice and humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 8, p. 3037–3050, 2015.

ROMAGNANI, S. Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation. **Molecular Immunology**, v. 38, n. 2001, p. 881–885, 2002.

ROSARIO-FILHO, N. A. et al. Pediatric allergy and immunology in Brazil. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 24, n. 4, p. 402–409, 2013.

ROSE, C. E.; SUNG, S.-S. J.; FU, S. M. Significant Involvement of CCL2 (MCP-1) in Inflammatory Disorders of the Lung. **Microcirculation**, v. 10, n. 3–4, p. 273–288, 2003.

RUJENI, N. et al. Atopy is inversely related to schistosome infection intensity: a comparative study in Zimbabwean villages with distinct levels of *Schistosoma haematobium* infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 158, n. 3, p. 288–98, jan. 2012.

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

SAIMAN, Y.; FRIEDMAN, S. L. The role of chemokines in acute liver injury. **Frontiers in physiology**, v. 3, n. June, p. 213, jan. 2012.

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

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–1047, 2008a.

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–6.e1, abr. 2008b.

SAUCHA, C. V. V.; SILVA, J. A. M. DA; AMORIM, L. B. Condições de saneamento básico em áreas hiperendêmicas para esquistossomose no estado de Pernambuco em 2012. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 497–506, set. 2015.

SCHMITZ, J. et al. IL-33, an Interleukin-1-like Cytokine that Signals via the IL-1

- Receptor-Related Protein ST2 and Induces T Helper Type 2-Associated Cytokines. **Immunity**, v. 23, n. 5, p. 479–490, nov. 2005.
- SHALABY, N. M.; SHALABY, N. M. Effect of *Ascaris lumbricoides* infection on T helper cell type 2 in rural Egyptian children. **Therapeutics and clinical risk management**, v. 12, p. 379–385, 2016.
- SHANG, Y.; SMITH, S.; HU, X. Role of Notch signaling in regulating innate immunity and inflammation in health and disease. **Protein and Cell**, v. 7, n. 3, p. 159–174, 2016.
- SHAW, A. C.; GOLDSTEIN, D. R.; MONTGOMERY, R. R. Age-dependent dysregulation of innate immunity. **Nat Rev Immunol**, v. 13, n. 12, p. 875–887, 2014.
- SILVA, M. T. N.; ANDRADE, J.; TAVARES-NETO, J. Asthma and ascariasis in children aged two to ten living in a low income suburb. v. 79, n. 3, p. 227–232, 2003.
- SILVEIRA-LEMOES, D. et al. Seric chemokines and chemokine receptors in eosinophils during acute human schistosomiasis mansoni. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 380–386, 2010.
- SMITH, P. et al. *Schistosoma mansoni* secretes a chemokine binding protein with antiinflammatory activity. **The Journal of experimental medicine**, v. 202, n. 10, p. 1319–25, 21 nov. 2005.
- SMITS, H. H. et al. Chronic helminth infections protect against allergic diseases by active regulatory processes. **Current allergy and asthma reports**, v. 10, n. 1, p. 3–12, jan. 2010.
- SOLÉ, D. et al. Prevalence of asthma and allergic diseases in adolescents: nine-year follow-up study (2003-2012). **Jornal de pediatria**, v. 91, n. 1, p. 30–5, 2015.
- SOUSA, R. B. et al. Risk factors for recurrent wheezing in infants: a case-control study. **Revista de saude publica**, v. 50, n. 1, p. 1–8, 2016.
- SOUZA, A. L. S. et al. The role of chemokines in *Schistosoma mansoni* infection: insights from human disease and murine models. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. Suppl.I, p. 333–338, 2006.
- SOUZA, V. M. O. et al. Produção de IL-10 em resposta a aeroalérgenos em crianças e adolescentes de zona urbana com geohelmintíases. **rev bras alerg imunopatol**, p. 54–58, 2009.
- STRINA, A. et al. Risk factors for non-atopic asthma/wheeze in children and adolescents: a systematic review. **Emerging Themes in Epidemiology**, v. 11, n. 5, p. 1–11, 2014.
- SUN, B. Q. et al. Allergy-related evidences in relation to serum IgE: data from the China state key laboratory of respiratory disease, 2008-2013. **Biomedical and environmental sciences : BES**, v. 27, n. 7, p. 495–505, jul. 2014.
- SUZUKAWA, M. et al. Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 88, n. 11, p. 1245–53, nov. 2008.
- TACKE, F. et al. Serum chemokine receptor CXCR3 ligands are associated with progression, organ dysfunction and complications of chronic liver diseases. **Liver Int**, v. 31, n. 6, p. 840–849, 2011.
- TAGER, A. M. et al. Inhibition of pulmonary fibrosis by the chemokine IP-10/CXCL10. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 31, n.

4, p. 395–404, out. 2004.

TAKEUCHI, H. et al. High titre of anti-*Ascaris* immunoglobulin E associated with bronchial asthma symptoms in 5-year-old rural Bangladeshi children. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 38, n. 2, p. 276–82, fev. 2007.

TAO, B. et al. Imbalance of Peripheral Th17 and Regulatory T Cells in Children with Allergic Rhinitis and Bronchial Asthma. v. 14, n. June, p. 273–279, 2015.

TEODÓSIO, V. 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. **World Allergy Organization Journal**, v. 8, n. Suppl 1, p. A241, 2015.

VALMONTE, G. R.; CAUYAN, G. A.; RAMOS, J. D. A. IgE cross-reactivity between house dust mite allergens and *Ascaris lumbricoides* antigens. **Asia Pac Allergy**, v. 2, n. 1, p. 35–44, 2012.

VAN DER VLUGT, L. E. P. M. et al. Interleukin 10 (IL-10)-producing CD1d<sup>hi</sup> regulatory B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines. **Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. 8, p. 1207–1216, 2014.

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

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

WASMUTH, H. et al. Antifibrotic effects of CXCL9 and its receptor CXCR3 in livers of mice and humans. **Gastroenterology**, v. 137, n. 1, p. 309–319, 2009.

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

WATANABE, L. A. et al. Comparison between ImmunoCAP® and skin prick test for evaluation of IgE-mediated cow's milk allergy in children. **Revista Brasileira de Alergologia e Imunopatologia**, v. 33, n. 6, p. 224–228, 2010.

WILSON, M. S. et al. Immunopathology of schistosomiasis. **Immunology and cell biology**, v. 85, n. 2, p. 148–54, 2007.

WILSON, S. et al. A late IL-33 response after exposure to *Schistosoma haematobium* antigen is associated with an up-regulation of IL-13 in human eosinophils. **Parasite immunology**, v. 35, n. 7–8, p. 224–8, jul. 2013.

WOODFOLK, J. A. Cytokines as a therapeutic target for allergic diseases: a complex picture. **Curr Pharm Des**, v. 12, n. 19, p. 2349–2363, 2006.

WYNN, T. A. et al. Immunopathogenesis of schistosomiasis. v. 201, p. 156–167, 2004.

XIE, M. et al. IL-27 and type 2 immunity in asthmatic patients: Association with severity, CXCL9, and signal transducer and activator of transcription signaling. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 2, p. 386–394.e5, fev. 2015.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, p. 5743–5750, 2010a.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells.

**Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, n. 10, p. 5743–50, 15 nov. 2010b.

YAMAGUCHI, M. et al. Human basophils and cytokines/chemokines. **Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 58, n. 1, p. 1–10, mar. 2009.

YU, Y.; DENG, W.; LEI, J. Interleukin-33 promotes Th2 immune responses in infected mice with *Schistosoma japonicum*. **Parasitology research**, v. 114, n. 8, p. 2911–8, ago. 2015.

ZHANG, J.; PATEL, L.; PIENTA, K. Targeting chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) as an example of translation of cancer molecular biology to the clinic. **Prog Mol Biol Transl Sci.**, v. 95, n. 31–53, 2010.

**Tabela 1:** Distribuição das variáveis socioeconômicas e biológicas entre os pacientes positivos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT+/SM), positivos no SPT e não infectados (SPT+/NI), negativos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT-/SM) e negativos no SPT e não infectados (SPT-/NI).

Variável	SPT+/SM N (%)	SPT+/NI N (%)	SPT-/SM N (%)	SPT-/NI N (%)	TOTAL N (%)	OR (IC-95%)	Valor de p
	11 (9,33)	27 (22,88)	43 (36,44)	37 (31,35)	118 (100)	<b>0,351 (0,153 – 0,802)</b>	<b>0,017</b>
<b>Carga Parasitária</b>							
≥ 400 OPG	1 (20,00)		4 (80,00)		5 (9,25)	0,975 (0,035 – 8,813)	0,962
< 400 OPG	10 (20,40)		39 (79,60)		49 (90,75)		
Média (±DP)	29 (±10)	-	191 (±716)	-	107 (±457)	-	0,459
Mediana (Min - Máx)	24 (24 - 48)	-	24 (24 - 4368)	-	24 (24 - 4368)		
<b>Gênero</b>							
Masculino	6 (12,00)	14 (28,00)	18 (36,00)	12 (24,00)	50 (42,37)	0,286 (0,086 – 0,952)	0,050
Feminino	5 (7,36)	13 (19,12)	25 (36,76)	25 (36,76)	68 (57,63)	0,385 (0,119 – 1,240)	0,166
<b>Idade</b>							
≤20 anos	2 (5,27)	10 (26,31)	13 (34,21)	13 (34,21)	38 (32,20)	0,200 (0,036 – 1,097)	0,077
≥21 anos	9 (11,25)	17 (21,25)	30 (37,50)	24 (30,00)	80 (67,80)	0,424 (0,161 – 1,117)	0,098
<b>Alergia materna</b>							
Mãe alérgica	-	6 (26,09)	5 (21,74)	12 (52,17)	23 (21,30)	0,667 (0,481 – 0,924)	0,184
Sem alergia	11 (12,94)	16 (18,82)	36 (42,36)	22 (25,88)	85 (78,70)	0,756 (0,552 – 1,035)	0,054
<b>Escolaridade materna</b>							
Ensino I <sup>#</sup>	6 (10,00)	8 (13,33)	35 (58,33)	11 (18,34)	60 (50,85)	<b>0,236 (0,067 – 0,828)</b>	<b>0,046</b>
Ensino II <sup>#</sup>	5 (8,62)	19 (32,76)	8 (13,80)	26 (44,82)	58 (49,15)	0,855 (0,242 – 3,028)	1,000
<b>Renda familiar</b>							
Renda I <sup>#</sup>	10 (10,10)	21 (21,21)	43 (43,44)	25 (25,25)	99 (83,90)	<b>0,280 (0,110 – 0,685)</b>	<b>0,002</b>
Renda II <sup>#</sup>	1 (5,26)	6 (31,58)	-	12 (63,16)	19 (16,10)	0,333 (0,173 – 0,641)	0,368
<b>Tabagismo</b>							
Sim	5 (12,82)	6 (15,39)	21 (53,84)	7 (17,95)	39 (33,05)	0,278 (0,064 – 1,200)	0,131
Não	6 (7,60)	21 (26,58)	22 (27,85)	30 (37,97)	79 (66,95)	0,390 (0,135 – 1,126)	0,089

**IgE Total**

$\geq 250$ kU/L	10 (15,62)	11 (17,19)	30 (46,88)	13 (20,31)	64 (58,71)	0,394 (0,134 – 1,155)	0,105
$< 250$ kU/L	1 (2,22)	14 (31,11)	12 (26,67)	18 (40,00)	45 (41,29)	<b>0,107 (0,012 – 0,926)</b>	<b>0,034</b>
<i>Média</i> ( $\pm$ DP)	1703,55 ( $\pm$ 1708,93) <sup>a</sup>	826,82 ( $\pm$ 1369,38)	1321,36 ( $\pm$ 1625,02) <sup>a</sup>	522,39 ( $\pm$ 754,74)	1247,97 ( $\pm$ 1565,06)	-	<b>0,030</b>
<i>Mediana</i> (Min - Máx)	1125 (145 - 5000)	236 (18,90 - 5000)	712 (0 - 5000)	177 (2,95 - 3246)	515 (0 - 5000)	-	

**IgE anti-Blomia**

$\geq 0,35$ kU/L	8 (15,09)	18 (33,97)	15 (28,30)	12 (22,64)	53 (47,75)	0,356 (0,115 – 1,097)	0,098
$< 0,35$ kU/L	3 (5,17)	7 (12,07)	28 (48,27)	20 (34,49)	58 (52,25)	0,306 (0,070 – 1,330)	0,164
<i>Média</i> ( $\pm$ DP)	12,15 ( $\pm$ 24,16) <sup>b</sup>	13,02 ( $\pm$ 27,52) <sup>b</sup>	2,34 ( $\pm$ 7,14)	3,51 ( $\pm$ 11,91)	4,86 ( $\pm$ 14,80)	-	<b>0,039</b>
<i>Mediana</i> (Min - Máx)	0,93 (0,02 – 73,2)	1,29 (0 - 100)	0,14 (0 – 35,7)	0,19 (0 – 67,3)	0,31 (0 - 100)	-	

**IgE anti-Asc**

$\geq 0,35$ kU/L	8 (12,90)	14 (22,58)	26 (41,94)	14 (22,58)	62 (55,85)	<b>0,308 (0,104 – 0,910)</b>	<b>0,037</b>
$< 0,35$ kU/L	3 (6,12)	11 (22,44)	17 (34,70)	18 (36,74)	49 (44,15)	0,289 (0,069 – 1,217)	0,112
<i>Média</i> ( $\pm$ DP)	3,61 (6,56) <sup>a</sup>	1,73 (3,57)	4,21 ( $\pm$ 8,64) <sup>a</sup>	0,77 ( $\pm$ 1,29)	3,18 (6,78)	-	0,085
<i>Mediana</i> (Min - Máx)	0,95 (0,04 – 22,50)	0,47 (0 – 16,70)	0,87 (0,01 – 40,10)	0,17 (0,01 – 6,21)	0,69 (0 – 40,10)	-	

**Eosinófilos**

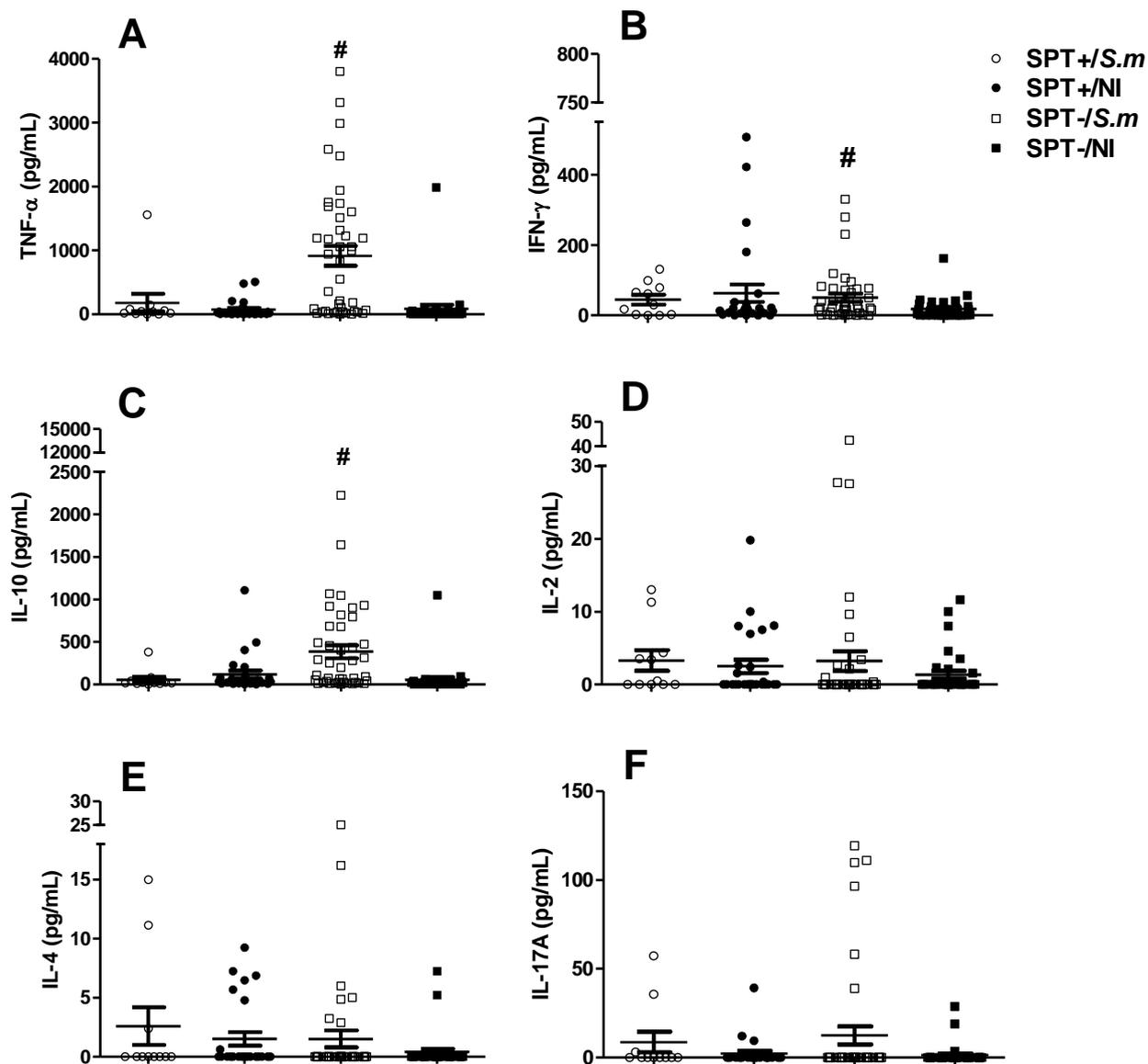
$\geq 500$ células/mm <sup>3</sup>	4 (11,76)	10 (29,42)	14 (41,18)	6 (17,64)	34 (34,00)	<b>0,181 (0,035 – 0,800)</b>	<b>0,023</b>
$< 500$ células/mm <sup>3</sup>	4 (6,06)	13 (19,70)	22 (33,33)	27 (40,91)	66 (66,00)	0,394 (0,126 – 1,119)	0,082
<i>Média</i> ( $\pm$ DP)	601 ( $\pm$ 362) <sup>a</sup>	571 ( $\pm$ 626) <sup>a</sup>	488 ( $\pm$ 380) <sup>a</sup>	311 ( $\pm$ 263)	468 ( $\pm$ 427)	-	0,0832
<i>Mediana</i> (Min - Máx)	519 (235 - 1327)	327 (27 - 2303)	405 (30 - 1827)	237 (55 - 1416)	378 (27 - 2303)	-	

# Ensino I: Corresponde aos indivíduos que não estudaram até o segundo grau incompleto; Ensino II: Corresponde a indivíduos com segundo grau completo e ensino superior; Renda I: Meio salário mínimo até dois; Renda II: 3 ou mais salários mínimos. \* Foi aplicado o teste estatístico do  $\chi^2$  com o teste exato de Fisher. § Diferença significativa quando  $p < 0,05$  pela análise estatística com o teste t de Student. <sup>a</sup> diferença estatística significativa em relação ao grupo SPT-/NI pelo teste t de student. <sup>b</sup> diferença estatística significativa em relação ao grupo SPT-/SM.

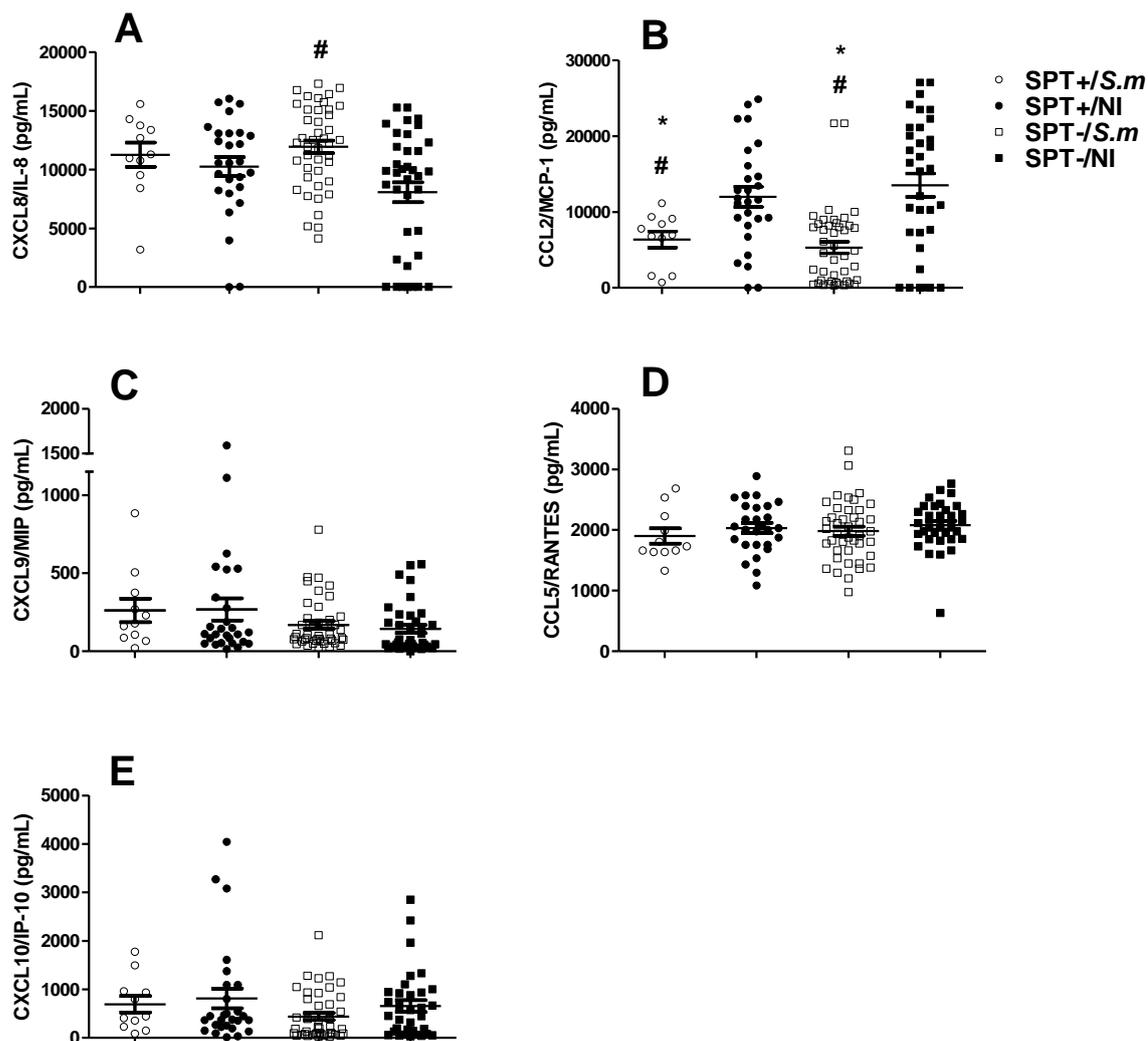
**Tabela 2:** Análise univariada e multivariada logística para verificar a associação entre a positividade do teste cutâneo e as variáveis sociais e biológicas.

	SPT+ 38 (32,1%)	SPT- 80 (67,9%)	Total 118 (100%)	Análise Univariada		Análise multivariada Modelo I <sup>#</sup>		Análise Multivariada Modelo II <sup>§</sup>	
				OR (IC 95%)	p Value	OR ajustado (IC 95%)	p Value	OR ajustado (IC 95%)	p Value
<b>Gênero</b>									
Masculino	20 (40,00)	30 (60,00)	50 (42,37)	1,85	0,122	-	-	-	-
Feminino	18 (26,50)	50 (73,50)	68 (57,63)	(0,85 - 4,04)		-	-	-	-
<b>Idade</b>									
≤ 20 anos	12 (32,43)	25 (67,57)	37 (31,35)	1,02	0,971	-	-	-	-
≥ 21 anos	26 (32,10)	55 (67,90)	81 (68,65)	(0,44 - 2,33)		-	-	-	-
<b>Escolaridade materna</b>									
Escolaridade I <sup>†</sup>	14 (23,33)	46 (76,67)	60 (50,85)	<b>0,43</b>	<b>0,038</b>	<b>0,35</b>	<b>0,015</b>	-	-
Escolaridade II <sup>†</sup>	24 (41,38)	34 (58,62)	58 (49,15)	<b>(0,19 - 0,95)</b>		<b>(0,15 - 0,82)</b>		-	-
<b>Renda</b>									
≤ 1 salário mínimo	31 (31,31)	68 (68,69)	99 (83,90)	0,781	0,319	1,41	0,624	2,21	0,282
> 1 salário mínimo	7 (36,84)	12 (63,15)	19 (16,10)	(0,28 - 2,17)		(0,35 - 5,62)		(0,52 - 9,39)	
<b>Alergia - Mãe</b>									
Sim	6 (26,09)	17 (73,91)	23 (21,30)	0,76	0,601	0,77	0,643	0,66	0,472
Não	27 (31,76)	58 (68,24)	85 (78,70)	(0,27 - 2,14)		(0,25 - 2,36)		(0,21 - 2,07)	
<b>Tabagismo passivo</b>									
Sim	11 (28,20)	28 (71,80)	39 (33,05)	0,76	0,514	0,74	0,489	1,03	0,947
Não	27 (34,17)	52 (65,83)	79 (66,95)	(0,33 - 1,75)		(0,32 - 1,73)		(0,41 - 2,57)	
<b>Infecção S. mansoni</b>									
Positivo	11 (20,37)	43 (79,63)	54 (45,76)	<b>0,35</b>	<b>0,013</b>	<b>0,32</b>	<b>0,009</b>	0,44	0,091
Negativo	27 (42,19)	37 (57,81)	64 (54,24)	<b>(0,15 - 0,80)</b>		<b>(0,14 - 0,75)</b>		(0,17 - 1,14)	
<b>Carga Parasitária</b>									
≥ 400 OPG	1 (20,00)	4 (80,00)	5 (9,25)	0,97	0,962	0,87	0,816	0,93	0,939
< 400 OPG	10 (20,40)	39 (79,60)	49 (90,75)	(0,03 - 8,81)		(0,02 - 9,22)		(0,04 - 9,24)	
<b>IgE anti-Blomia</b>									
≥ 0,35 kU/L	26 (49,05)	27 (50,95)	53 (47,75)	<b>4,62</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>4,51</b>	<b>0,001</b>	<b>4,89</b>	<b>&lt;0,001</b>
< 0,35 kU/L	10 (17,24)	48 (82,76)	58 (52,25)	<b>(1,94 - 11,02)</b>		<b>(1,79 - 11,36)</b>		<b>(1,85 - 12,92)</b>	
<b>IgE anti-Asc</b>									
≥ 0,35 kU/L	22 (35,48)	40 (64,52)	62 (55,85)	1,37	0,441	1,05	0,919	1,19	0,722
< 0,35 kU/L	14 (28,57)	35 (71,43)	49 (44,15)	(0,61 - 3,09)		(0,41 - 2,66)		(0,45 - 3,13)	
<b>Eosinófilos</b>									
≥ 500 células/mm <sup>3</sup>	14 (41,18)	20 (58,82)	34 (34,00)	2,02	0,117	1,58	0,366	2,11	0,178
< 500 células/mm <sup>3</sup>	17 (25,75)	49 (74,25)	66 (66,00)	(0,84 - 4,85)		(0,59 - 4,27)		(0,71 - 6,22)	

# Análise multivariada ajustada pelo sexo e idade. § Análise multivariada ajustada pelo sexo, idade e escolaridade materna. \*Escolaridade I: Analfabeto até ensino fundamental completo; Escolaridade II: Ensino médio incompleto até superior completo. Diferença significativa quando p<0,05.



**Figura 1:** Níveis de citocinas TNF- $\alpha$  (A), IFN- $\gamma$  (B), IL-10 (C), IL-2 (D), IL-4 (E) e IL-17A (F) mensuradas em sobrenadante de cultura de 24 horas de sangue total periférico, estimuladas com PHA, em indivíduos positivos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT+/S.m) (n=11); positivos no SPT e não infectados (SPT+/NI) (n=27); negativos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT-/S.m) (n=43); e negativos no SPT e não infectados (SPT-/NI). (n=37). Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney para comparação das medianas entre os grupos. # p < 0,05 quando comparado aos grupos SPT-/NI.



**Figura 2:** Níveis de quimiocinas CXCL8/IL-8 (A), CCL2/MCP-1 (B), CXCL9/MIG (C), CCL5/RANTES (D) e CXCL10/IP-10 (E) mensuradas em sobrenadante de cultura de 24 horas de sangue total periférico, estimuladas com PHA, em indivíduos positivos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT+/*S.m*) ( $n=11$ ); positivos no SPT e não infectados (SPT+/NI) ( $n=27$ ); negativos no SPT e infectados pelo *S. mansoni* (SPT-/*S.m*) ( $n=43$ ); e negativos no SPT e não infectados (SPT-/NI). ( $n=37$ ). Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney para comparação das medianas entre os grupos. #  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo SPT-/NI. \*  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo SPT+/NI.

**Tabela 3:** Correlação entre a carga parasitária, níveis de anticorpos IgE total e IgE anti-*Blomia* e os níveis de citocinas e quimiocinas nos pacientes SPT+ e infectados com *S. mansoni*.

		Carga parasitária		IgE total		IgE anti- <i>Blomia</i>	
		R Spearman	P Value	R Spearman	P Value	R Spearman	P Value
Anticorpos	IgE Total	0,4802	0,0831	-	-	-	-
	IgE Anti- <i>Blomia</i>	0,5222	0,0616	0,9483	0,0001*	-	-
	IgE Anti-Asc	0,0000	0,5000	0,7781	0,0105*	0,7939	0,0088*
Citocinas	TNF- $\alpha$	-0,6963	0,0153*	0,2128	0,5603	0,2121	0,5603
	IL-2	0,04490	0,4592	0,1411	0,7072	0,09380	0,8113
	IFN- $\gamma$	0,0000	0,5000	0,5305	0,1139	0,4802	0,1663
	IL-4	0,2142	0,2801	0,2842	0,4271	0,2013	0,5837
	Il-10	-0,2611	0,2349	0,5836	0,0806	0,5152	0,1334
	IL17	0,2142	0,2801	0,4039	0,2475	0,4399	0,2044
Quimiocinas	CXCL8/IL-8	0,5222	0,0616	0,1277	0,7330	0,2242	0,5367
	CCL2/MIP-1	0,6963	0,0153*	0,1155	0,7589	0,1394	0,7072
	CXCL9/MIG	0,3482	0,1652	0,6444	0,0500	0,5515	0,1049
	CCL5/RANTES	-0,1314	0,3536	0,4343	0,2044	0,3781	0,2788
	CXCL10/IP-10	0,1741	0,3161	-0,1398	0,7072	-0,1273	0,7330

Foi realizada regressão linear e correlação de Spearman. \* Diferença significativa quando  $p < 0,05$ .

## 5.2 Menor expressão do mRNA de IL-33 e maior produção de quimiocinas anti-fibróticas, CXCL9 e CXCL10, estão envolvidas na infecção crônica pelo *Schistosoma mansoni*

### INTRODUÇÃO

A esquistossomose mansoni é uma doença endêmica na região nordeste do Brasil (BRASIL, 2014) e tem a fase crônica marcada por uma reação inflamatória granulomatosa, formada em torno dos ovos do *Schistosoma mansoni*, depositados no fígado e intestino (BURKE et al., 2009). Apesar disso, apenas 10% dos indivíduos infectados são acometidos pela forma grave da doença, visto que a dinâmica da resposta imune está intimamente relacionada com o estabelecimento da patologia (CHUAH et al., 2014). Na fase aguda, há predominância da resposta do tipo Th1, aumento das citocinas IL-1, IL-12, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , direcionada aos esquistossômulos, vermes imaturos e adultos (PEARCE; MACDONALD, 2002; WYNN et al., 2004). Em seguida, em resposta aos antígenos dos ovos, é induzida resposta do tipo Th2 com produção das citocinas IL-4, IL-5, IL-13 comprometida com a formação do granuloma, rico em eosinófilos e macrófagos tipo 2, bem como fibrose (PEARCE; MACDONALD, 2002; WILSON et al., 2007). À medida que a infecção progride, é estabelecida uma resposta regulatória dependente de linfócitos T regulatórios, produção de IL-10 e TGF- $\beta$  que estabelece equilíbrio das respostas de Th1 e Th2, além de controlar a resposta inflamatória severa induzida por linfócitos Th17 (BAUMGART et al., 2006; NAUSCH et al., 2011; WATANABE et al., 2007). Então, a participação dos subtipos de linfócitos T auxiliares na resposta imune adaptativa hepática/intestinal, em resposta aos antígenos parasitários, tem sido bastante investigada. Entretanto, a participação das citocinas/quimiocinas da imunidade inata é pouco conhecida.

Com relação às quimiocinas, família de citocinas responsáveis pela migração de células imunes, são produzidas por diversos tipos de células (musculares lisas, macrófagos, células endoteliais, células dendríticas) e os grupos CC e CXC são mais bem estudados. Em camundongos, níveis aumentados das quimiocinas CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES, CCL7/MCP-3, CCL11/Eotaxina-1 e CCL12/MCP-5, e dos receptores de quimiocinas CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, foram correlacionados com a gravidade da esquistossomose crônica, devido à capacidade de recrutamento de células Th2, eosinófilos, monócitos e fibroblastos (SOUZA et al.,

2006). Apesar disso, a CCL5/RANTES foi comprometida com a migração de células Treg (CHUAH et al., 2014). Ainda em camundongos, foi visto que após 6-8 semanas de infecção por *Schistosoma japonicum* houve aumento do nível de transcrição do CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES (BARTLEY et al., 2006). O estudo com células hepáticas estreladas humanas, estimuladas com antígenos dos ovos, mostrou aumento na produção de CCL2/MCP-1, enquanto a expressão de genes das quimiocinas CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 e CXCL11/I-TAC, envolvidas com o recrutamento e ativação de células do perfil Th1 e fibrose, foi reduzida (LIANG et al., 2012). Em pacientes esquistossomóticos, foram observados maiores níveis séricos das quimiocinas envolvidas com o influxo de eosinófilos para o tecido, CCL5/RANTES, CCL3/MIP-1 $\alpha$  e CCL11/EOTAXIN (FALCÃO et al., 2002). Contudo, não foram avaliados os níveis de quimiocinas envolvidas com indução de fibrose CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10.

Dentre as citocinas consideradas da imunidade inata, a IL-33 tem merecido destaque. A IL-33, membro da família da IL-1, é constitutivamente expressa no núcleo das células epiteliais e endoteliais, sendo considerada pró-inflamatória da resposta imune tipo 2, ao ligar-se no receptor ST2/IL-1R4 transmembrana em mastócitos, basófilos, eosinófilos (aumentando produção de IL-5 e IL-13), macrófagos e células dendríticas (CARR et al., 2016; HARALDSEN et al., 2009; KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2008; SCHMITZ et al., 2005).

Com relação às helmintíases, no modelo de infecção murina com o nematódea *Trichuris muris*, o RNAm da IL-33 é expresso precocemente. A presença desta citocina suprimiu a resposta Th1, incrementou a produção de IL-4, IL-9, IL-13 e aumentou a taxa de eliminação do parasito (HUMPHREYS et al., 2008). Na infecção por *S. japonicum*, Yu e colaboradores (2015) demonstraram elevados níveis de IL-33 na fase aguda da doença. Kalenda e colaboradores (2015) relataram que em animais infectados com *S. mansoni* o curso da infecção crônica não foi dependente de IL-33, exceto para a eosinofilia (KALENDA et al., 2015; YU; DENG; LEI, 2015).

Sendo assim, poucos são os estudos em humanos que abordam as citocinas/quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10, IL-33RNAm e ST2sRNAm na esquistossomose. Aqui, nós avaliamos os níveis destes mediadores imunológicos, acompanhados da avaliação das citocinas pro- e anti-inflamatórias (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) em cultura de células de sangue periférico de pacientes na fase crônica da infecção com *S. mansoni*.

## **MÉTODOS**

### **Desenho e população de estudo**

Um estudo exploratório com amostra de conveniência obtida após inquérito parasitológico realizado em área urbana do Nordeste, Brasil (municípios Ilha de Itamaracá e Cabo de Santo Agostinho-PE). Os residentes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e os responsáveis ou pais assinaram pelas crianças. Dois grupos de indivíduos foram estabelecidos: indivíduos infectados apenas com *S. mansoni* (n=34) e; indivíduos não infectados (n=31) para investigar os níveis de quimiocinas (CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, e CXCL10/IP-10), de citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) e a expressão de IL-33RNAm e ST2sRNAm em cultura de células do sangue periférico.

As fezes foram coletadas e submetidas aos testes de Hoffman, Pons & Janer e Kato-Katz. Gestantes, indivíduos tratados a menos de 6 meses e aqueles infectados ou coinfectados por protozoários e outros helmintos foram excluídos. Sangue foi coletado e submetido ao hemograma, dosagens de IgE total (ImmunoCAP-Phadia®, Uppsala, Suécia) e cultura celular. Os pacientes infectados receberam o tratamento com praziquantel após o diagnóstico e coleta de sangue. O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética do centro de pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ sob o CAAE: 22822813.3.0000.5190.

### **Cultura de Sangue Periférico**

Uma cultura de sangue total foi realizada depositando-se 0,5mL de sangue periférico heparinizado sob 1mL de meio de cultura RPMI 1640 (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, Missouri, EUA) em tubos de cultura de polipropileno, acrescido de Fitohemaglutinina (PHA) (5 $\mu$ g/mL) ou na ausência de estímulo mitogênico por 24h a 37°C; CO<sub>2</sub> 5%. O sobrenadante de cultura foi coletado e congelado à -80° C até a dosagem das citocinas e quimiocinas. As células foram recuperadas para determinar a expressão de IL-33RNAm e do ST2sRNAm.

### **Dosagem de citocinas e quimiocinas**

As amostras de sobrenadante de cultura foram submetidas à detecção das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 por Cytometric Bead Array (CBA) utilizando-se um citômetro de fluxo (FACSCalibur, BD). O procedimento

foi realizado conforme a instrução do fabricante for Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit II (Cat. No. 560485) e for Human Chemokine Kit (Cat. No. 552990). O Software BD CellQuest™ foi utilizado para aquisição das amostras e o software FCAP, versão 3.01 foi utilizado para realização das análises.

### **Expressão de IL-33RNAm e ST2sRNAm**

As células cultivadas na presença do mitógeno foram submetidas à extração do RNAm com trizol (MORAIS et al., 2016). Após o isolamento do RNA total, as amostras foram digeridas com DNase I livre de RNase. Para construção do cDNA foi realizado uma RT-PCR a partir do RNAm da amostra extraída, de acordo com o kit da GoScript™ Reverse Transcription System. Os primers utilizados foram IL-33 senso (5'-GTGGAAGAACACAGCAAGCA-3') e IL-33 anti-senso (5'-AAGGCAAAGCACTCCACAGT-3') (KAMEKURA et al., 2012) e primers ST2s senso (5'-CTGTCTGGCCCTGAATTTGC-3') e ST2s anti-senso (5'-TGGAACCACACTCCATTCTGC-3') (YAGAMI et al., 2010a). O mix foi aquecido a 70°C por 5 minutos, logo após foi adicionado 10mM de Tris-HCl (pH 8,3), 50mM de KCl, 4,5mM MgCl<sub>2</sub>, nucleotídeos a 0,5mM, 20U de RNasin recombinante e 1U da enzima transcriptase reversa GoScript e a reação prosseguiu com 40 ciclagem padronizadas (25 °C por 5 minutos para o anelamento, 42°C por 60 minutos para síntese e extensão e 70°C por 15 minutos para inativação da enzima RT). Foi utilizado como controle endógeno da reação a detecção da expressão do RNAm do gene G3PDH, com os primers senso (sense 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3') e anti-senso (5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3') (KAMEKURA et al., 2011).

Validação do cDNA obtido foi realizada via PCR a partir do resultado da RT-PCR e revelado por eletroforese em gel de agarose a 2%. A análise quantitativa em tempo real (q-PCR) foi realizada com um Sistema de detecção de sequenciamento utilizando iTaq SYBR Green Supermix com ROX. Para determinar o número exato de cópias dos genes-alvo, as concentrações quantificadas do produto da PCR purificada foram diluídas em série e utilizadas como padrões em cada ensaio. Aliquotas de cDNA das amostras de RNA total foram utilizados em cada PCR em tempo real. Os parâmetros de ciclagem utilizados para a reação foi: 5 minutos a 95°C para ativação inicial, seguido de 10 segundos a 95°C para desnaturação, anelamento e extensão a 60°C por 30 segundos, por 40 ciclos. Utilizamos o 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems) para mensurar a expressão do gene e o software 7500 versão

2.0.3 para a análise dos resultados. A expressão de mRNA dos alvos foi obtida através de duas normalizações sequenciais: pelo controle endógeno e pelo calibrador (controle negativo). A primeira normalização foi realizada da seguinte maneira: quantity do gene alvo/quantity do gene de referência, onde quantity consiste nos valores absolutos em função da curva-padrão. Após a normalização do gene alvo, o RQ (quantidade relativa de mRNA) foi obtido através da normalização pelo calibrador (MORAIS et al., 2016).

### **Análise Estatística**

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva entre os grupos para comparar a proporção entre o sexo, com aplicação do teste do  $\chi^2$  ajustado pelo teste exato de Fisher. A idade, níveis de eosinófilos, IgE total, níveis de citocinas, quimiocinas e a RQ do IL33RNAm e ST2sRNAm foram analisados pelo teste t e método não paramétrico de Mann-Whitney. Utilizou-se o software GraphPad Prism v 5.01. Os testes estatísticos foram considerados significativos quando os valores de  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

Com relação às características biológicas dos grupos de indivíduos infectados e não infectados (**Tabela 1**), não houve diferença entre sexo e idade. O grupo de pacientes infectados exibiu níveis significativamente maiores de eosinófilos (1386 células/mm<sup>3</sup> DP $\pm$  1015;  $p < 0,0001$ ) e de IgE total (1136 kU/l DP $\pm$  1366;  $p = 0,044$ ) e apresentou carga parasitária média considerada leve (113,3  $\pm$  282,3).

Os níveis de citocinas produzidos por células de sangue periférico, quando estimuladas com PHA, estão mostrado na **Figura 1**. Pôde ser observado que, em indivíduos esquistossomóticos, os níveis de IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, IL-10 e IFN- $\gamma$  (**Figura 1A-F**) foram significativamente maiores que nos indivíduos não infectados. Contudo, a produção da IL-17 (**Figura 1G**) foi similar entre os grupos estudados. Com relação à detecção de citocinas na ausência do mitógeno, resultados similares foram encontrados, porém com concentrações menores (dados não mostrados).

A **Figura 2** mostra que os níveis das quimiocinas CXCL10/IP-10, CXCL9/MIG e CXCL8/IL-8 (**Figura 2A, 2C e 2E**) foram significativamente maiores nos indivíduos infectados, quando comparados aos indivíduos não infectados. Não houve diferença nos níveis de CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES (**Figura 2B e 2D**) entre os grupos estudados.

A análise da expressão do IL-33RNAm (**Figura 3A**) demonstrou níveis menores nos indivíduos infectados em relação aos não infectados ( $p=0,0017$ ), enquanto a expressão do ST2sRNAm foi similar entre os grupos (**Figura 3B**). Ao avaliar a razão IL-33RNAm/ST2sRNAm, foi possível observar uma razão menor no grupo infectado em relação ao não infectado (**Figura 3C**).

## DISCUSSÃO

É sabido que a esquistossomose mansoni é um modelo de infecção parasitária com notável capacidade de modulação dos subtipos de linfócitos T auxiliares hepático/intestinal (WYNN et al., 2004), porém a participação de citocinas/quimiocinas chaves, envolvidas com imunidade inata, ainda não é bem descrita. Neste estudo investigamos pela primeira vez a IL-33RNAm e seu receptor solúvel, bem como, as quimiocinas CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10, em indivíduos de área endêmica na fase crônica da doença.

Maioria dos achados destes mediadores imunológicos na esquistossomose foram oriundos de ensaios com animais experimentais ou linhagens de células humanas sob estímulo com antígenos parasitários, que favorecem uma avaliação controlada e focada na resposta tecidual. Aqui, nos avaliamos em um cenário amplo da resposta imune sistêmica de fundo (background) em indivíduos de área endêmica e esta abordagem pôde ser conduzida pelo cultivo de sangue periférico sob estimulação mitogênica.

O estudo envolveu adultos e crianças, porém a idade e o sexo não interferiram nos resultados. A carga parasitária pode influenciar na progressão da doença para as formas graves, hepática e hepatoesplênica (COLLEY; SECOR, 2014). Aqui, a carga parasitária leve está de acordo com a região endêmica. Adicionalmente, foram realizadas análises de regressão linear e correlação entre a carga parasitária e os níveis das citocinas e quimiocinas, mas nenhum resultado foi estatisticamente significativo (dados não mostrados).

Os pacientes infectados mostraram um background de ativação celular mista Th1 e Th2, com produção de IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-4. Adicionalmente, altos níveis de IgE total e eosinófilos caracterizam a predominância da resposta inflamatória tipo 2 observada nas helmintíases (CALDAS et al., 2008; JOSEPH et al., 2004; MEDEIROS et al., 2003; NEUENSCHWANDER et al., 2008). Foram observados níveis aumentados de CXCL8/IL-8 que está envolvida na quimiotaxia e ativação de neutrófilos (SMITH et al., 2005), porém, nós não observamos aumento no número de

neutrófilos no sangue periférico (dados não mostrados). É importante ressaltar que a ação desta quimiocina foi bloqueada, *in vivo*, pelo peptídeo smCKBP secretado pelos ovos do *S. mansoni* (SMITH et al., 2005). Sendo assim, a resposta sistêmica pró-inflamatória tipo 1 pode ser controlada na presença da infecção. Além disso, houve maiores níveis de IL-10 que reflete o controle da exacerbação da resposta inflamatória que causa a morbidade e mortalidade da doença (PEARCE; MACDONALD, 2002; WILSON et al., 2007). Os níveis de IL-17 foram semelhantes entre os grupos de indivíduos estudados. Este fato também corrobora a fase crônica assintomática dos indivíduos de região endêmica, onde não foi visto associação do nível desta citocina com as diferentes formas clínicas (BARRETO et al., 2016).

Com relação aos níveis elevados de CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10, estes achados podem ser IFN- $\gamma$ -dependente (ENGELHARDT et al., 1998). Em murinos, estas quimiocinas estão implicadas com ação anti-fibrótica pulmonar e renal (HINTERMANN et al., 2010; NAKAYA et al., 2007; TAGER et al., 2004; WASMUTH et al., 2009) e o mesmo foi observado na infecção por *S. japonicum* (LIANG et al., 2012). Células hepáticas estreladas humanas, quando estimuladas *in vitro* com CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10, mostraram uma redução da expressão de genes associadas à fibrose (Col1-alfa1, col3-alfa1, TGF-beta, MMP-3, TIMP-1), bem como quando estimuladas com antígenos parasitários (LIANG et al., 2012). Em conjunto, estes dados apontam um controle da fibrose na fase crônica diretamente por antígenos parasitários no fígado e, aqui, evidenciamos um controle ao nível sistêmico, frente à resposta mitogênica, pelo aumento de CXCL9/MIG e CXCL10/IP-10. Reforçando essa hipótese, nós não observamos alterações nos níveis de CCL2/MCP-1 e CCL5/RANTES. A CCL2/MCP-1 está envolvida com recrutamento de macrófagos, linfócitos T e B via CCR2 e CCR4 (CARABALLO et al., 2016; SAIMAN; FRIEDMAN, 2012; SUN et al., 2014; ZHANG; PATEL; PIENTA, 2010), enquanto a CCL5/RANTES é comprometida com o influxo e ativação de eosinófilos (FALCÃO et al., 2002) e, ao mesmo tempo, de células T regulatórias (SOUZA et al., 2006). Portanto, estes dados refletem um controle na ativação de macrófagos e eosinófilos frente à estimulação mitogênica de células de sangue periférico.

Neste cenário, a expressão de mRNAIL-33 esteve diminuída nos indivíduos infectados. Os modelos experimentais de infecção esquistossomótica apontam que a IL-33 começa a ser produzida na fase aguda seguindo para níveis estáveis ou diminuídos na fase crônica (PENG et al., 2016; YU; DENG; LEI, 2015). Aqui, apesar de não ter o

tempo de infecção estritamente controlado, os indivíduos são enquadrados na fase crônica da doença (assintomáticos) e também apresentaram menor potencial de produção de IL-33. Corroborando este achado, Wilson e colaboradores (2013) em Mali, relataram níveis menores de IL-33 na infecção pelo *Schistosoma haematobium* em comparação aos níveis desta citocina nos indivíduos após o tratamento com praziquantel (WILSON et al., 2013).

O papel de IL-33 está estritamente ligado ao seu receptor, seja solúvel ou transmembrana (SCHMITZ et al., 2005). O aumento da mensagem para IL-33 foi dependente de efeito autócrino, via ST2 na membrana dos eosinófilos (WILSON et al., 2013). Do contrário, o ST2s sequestra a IL-33 restringindo a ativação do NF- $\kappa$ B e produção de citocinas do perfil Th2, ST2 transmembrana dependente (HAYAKAWA et al., 2007). Aqui, nas células dos indivíduos infectados, a expressão de ST2sRNAm não foi aumentadas, porém houve menor razão entre a expressão de IL-33RNAm e ST2sRNAm. Estes resultados reforçam que a menor predisposição na expressão de mensagem para IL-33 nos indivíduos infectados pode ser independente do sequestro pelo ST2s. É possível que a produção de IL-33 possa ser controlada durante a infecção parasitária. Em estudo experimental a administração de antígenos secretórios do *Heligmosomoides Polygyrus* reduziu os níveis de IL-33 (MCSORLEY et al., 2014).

Em conclusão, nossos resultados mostraram maior produção das quimiocinas anti-fibróticas CXCL10/IP-10 e CXCL9/MIG e menor expressão de IL-33RNAm, revelando controle da exacerbação da patologia, ao nível sistêmico, em indivíduos esquistossomóticos de área endêmica. Nossos achados trazem à tona um menor potencial de síntese de IL-33 e, portanto, há necessidade de mais investigações sobre a modulação desta citocina na infecção pelo *S. mansoni* na fase crônica.

## REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, N. et al. Allergenicity of *Ascaris lumbricoides* tropomyosin and IgE sensitization among asthmatic patients in a tropical environment. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 154, n. 3, p. 195–206, 2011.
- ACEVEDO, N.; CARABALLO, L. IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. **Parasite immunology**, v. 33, n. 6, p. 309–21, jun. 2011.
- AHUMADA, V. et al. IgE responses to *Ascaris* and mite tropomyosins are risk factors for asthma. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 45, n. 7, p. 1189–200, jul. 2015.

- ALCÂNTARA-NEVES, N. M. et al. The presence of serum anti- *Ascaris lumbricoides* IgE antibodies and of *Trichuris trichiura* infection are risk factors for wheezing and / or atopy in preschool-aged Brazilian children. p. 1–9, 2010.
- ALCÂNTARA-NEVES, N. M. et al. Effects of helminth co-infections on atopy , asthma and cytokine production in children living in a poor urban area in Latin America. p. 1–11, 2014.
- ALCORN, J. F.; CROWE, C. R.; KOLLS, J. K. TH17 Cells in Asthma and COPD. **Annual Review of Physiology**, v. 72, n. 1, p. 495–516, 2010.
- ALLEN, S. J.; CROWN, S. E.; HANDEL, T. M. Chemokine:Receptor Structure, Interactions, and Antagonism. **Annual Review of Immunology**, v. 25, n. 1, p. 787–820, 2007.
- ALROQI, F. J.; CHATILA, T. A. T Regulatory Cell Biology in Health and Disease. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 16, n. 4, p. 27, 29 abr. 2016.
- AMIN, K.; JANSON, C.; BYSTROM, J. Role of Eosinophil Granulocytes in Allergic Airway Inflammation Endotypes. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 84, n. 2, p. 75–85, 2016.
- ARAÚJO, M. I. et al. Inverse Association between Skin Response to Aeroallergens and *Schistosoma mansoni* Infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 123, n. 1, p. 145–148, 2000.
- ARAÚJO, M. I. et al. *Schistosoma mansoni* Infection Modulates the Immune Response against Allergic and Auto-immune Diseases. **Mem Onst Oswaldo Cruz**, v. 99, n. Suppl. I, p. 27–32, 2004.
- ASEMOTA, O. O. et al. Chemokines Responses to *Ascaris Lumbricoides* Sole Infection and Co - infection with Hookworm among Nigerians. v. 6, n. 2, p. 84–88, 2014.
- AZAZI, E. A et al. Serum levels of Interleukin-33 and its soluble receptor ST2 in asthmatic patients. **Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis**, v. 63, n. 2, p. 279–284, 2014.
- BABU, S. K. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) autoregulates its expression and induces adhesion molecule expression in asthma. **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 140, n. 1, p. 18–25, jul. 2011.
- BARNES, P. J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 3, p. 183–192, 2008.
- BARRETO, A. V. M. S. et al. Evaluation of serum levels of IL-9 and IL-17 in human *Schistosoma mansoni* infection and their relationship with periportal fibrosis. **Immunobiology**, v. 221, n. 12, p. 1351–1354, dez. 2016.
- BARTLEY, P. B. et al. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of *Schistosoma japonicum* egg-induced fibrosis. **International journal for parasitology**, v. 36, n. 9, p. 993–1001, ago. 2006.
- BAUMGART, M. et al. Naturally Occurring CD4+Foxp3+ Regulatory T Cells Are an Essential, IL-10-Independent Part of the Immunoregulatory Network in *Schistosoma mansoni* Egg-Induced Inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 176, n. 9, p. 5374–5387, 18 abr. 2006.
- BERRY, M. et al. TNF-a in asthma. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 3, p. 279–282, 2007.

- BIGGELAAR, A. H. J. VAN DEN et al. Long-Term Treatment of Intestinal Helminths Increases Mite Skin-Test Reactivity in Gabonese Schoolchildren. v. 189, p. 892–900, 2004.
- BISCHOFF, S. C. et al. Monocyte Chemotactic Protein 1 Is a Potent Activator of Human Basophils. **J Exp Med**, v. 175, n. 5, p. 1271–1275, 1992.
- BÖHM, L. et al. IL-10 and regulatory T cells cooperate in allergen-specific immunotherapy to ameliorate allergic asthma. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 194, n. 3, p. 887–97, 1 fev. 2015.
- BOITA, M. et al. Regulation of B-cell-activating factor expression on the basophil membrane of allergic patients. **International archives of allergy and immunology**, v. 166, n. 3, p. 208–12, jan. 2015.
- BONACCHI, A. et al. Signal transduction by the chemokine receptor CXCR3: Activation of Ras/ERK, Src, and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt controls cell migration and proliferation in human vascular pericytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 13, p. 9945–9954, 2001.
- BRAGAGNOLI, G.; SILVA, M. T. N. Ascaris lumbricoides infection and parasite load are associated with asthma in children. **J Infect Dev Ctries**, v. 8, n. 7, p. 891–897, 2014.
- BRASIL. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii - Diretrizes técnicas**. [s.l.: s.n.].
- BRIGHTLING, C.; BERRY, M.; AMRANI, Y. TNF- $\alpha$ : A novel therapeutic approach for asthma. **J Allergy Clin Immunol**, v. 121, n. 1, p. 5–12, 2008.
- BUENDÍA, E. et al. The IgE response to Ascaris molecular components is associated with clinical indicators of asthma severity. **The World Allergy Organization journal**, v. 8, n. 1, p. 8, jan. 2015.
- BURKE, M. L. et al. Immunopathogenesis of human schistosomiasis. **Parasite immunology**, v. 31, n. 4, p. 163–76, abr. 2009.
- CALDAS, I. R. et al. Human schistosomiasis mansoni: immune responses during acute and chronic phases of the infection. **Acta tropica**, v. 108, n. 2–3, p. 109–17, 2008.
- CAMPOS, H. S. Asma: suas origens, seus mecanismos inflamatórios e o papel do corticosteróide. **Revista Brasileira de Pneumologia Sanitária**, v. 15, n. 1, p. 47–60, 2007.
- CARABALLO, L. et al. Particularities of allergy in the Tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 20, jan. 2016.
- CARDAMONE, C. et al. Mast cells as effector cells of innate immunity and regulators of adaptive immunity. **Immunology letters**, v. 178, p. 10–14, 5 jul. 2016.
- CARDOSO, L. S. et al. Risk factors for asthma in a helminth endemic area in bahia, Brazil. **Journal of parasitology research**, v. 2012, p. 796820, jan. 2012.
- CARR, M. W. et al. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 9, p. 3652–3656, 1994.
- CARR, T. F. et al. Eosinophilic bioactivities in severe asthma. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 21, jan. 2016.
- CASTAN, L.; MAGNAN, A.; BOUCHAUD, G. Chemokine receptors in allergic diseases. **Allergy**, v. 72, n. 4, p. 682–690, 2016.

- CHARLESWORTH, E. N. et al. Cutaneous Late-Phase Response to Allergen: Mediator Release and Inflammatory Cell Infiltration. **Journal of Clinical Investigation**, v. 83, n. 5, p. 1519–1526, 1989.
- CHERRY, W. B. et al. A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human eosinophils. **Clinical Lymphoma**, v. 121, n. 6, p. 1484–1490, 2008.
- CHUAH, C. et al. Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. **Trends in parasitology**, v. 30, n. 3, p. 141–50, mar. 2014.
- COLLEY, D. G.; SECOR, W. E. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite immunology**, v. 36, n. 8, p. 347–57, ago. 2014.
- COOPER, P. J. et al. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 168, n. 3, p. 313–7, 1 ago. 2003.
- COOPER, P. J. Mucosal immunology of geohelminth infections in humans. **Mucosal immunology**, v. 2, n. 4, p. 288–99, jul. 2009.
- COOPER, P. J. et al. Effects of environment on human cytokine responses during childhood in the tropics: role of urban versus rural residence. **The World Allergy Organization journal**, v. 8, n. 22, p. 1–9, jan. 2015.
- COOPER, P. J. et al. Effects of maternal geohelminth infections on allergy in early childhood. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 137, n. 3, p. 899–906.e2, mar. 2016.
- DE MORAIS, N. G. et al. Effect of neonatal malnutrition on expression of nitric oxide synthase enzyme, production of free radicals and in vitro viability of alveolar macrophages infected with methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **European journal of nutrition**, v. 55, n. 1, p. 403–11, fev. 2016.
- DESCHOOLMEESTER, M. L. et al. Absence of CC Chemokine Ligand 2 Results in an Altered Th1/Th2 Cytokine Balance and Failure to Expel *Trichuris muris* Infection. **The Journal of Immunology**, v. 170, n. 9, p. 4693–4700, 1 maio 2003.
- DUNICAN, E. M.; FAHY, J. V. The Role of Type 2 Inflammation in the Pathogenesis of Asthma Exacerbations. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 12, n. Supplement 2, p. S144–S149, 2015.
- ENGELHARDT, E. et al. Chemokines IL-8, GRO $\alpha$ , MCP-1, IP-10, and Mig Are Sequentially and Differentially Expressed During Phase-Specific Infiltration of Leukocyte Subsets in Human Wound Healing. v. 153, n. 6, p. 1849–1860, 1998.
- FALCÃO, P. et al. Plasma Concentrations and Role of Macrophage Inflammatory Protein – 1 $\alpha$  during Chronic *Schistosoma mansoni* Infection in Humans. **J Infect Dis**, v. 186, n. 11, p. 1696–1700, 2002.
- FARIA, I. C. J. et al. Association of TGF-beta1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. **Jornal de pediatria**, v. 84, n. 3, p. 203–210, 2008.
- FEARY, J.; BRITTON, J.; LEONARDI-BEE, J. Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis. **Allergy**, v. 66, n. 4, p. 569–78, abr. 2011.
- FERREIRA, H. et al. An epidemiological study of the frequency and factors of risk of enteroparasitoses and their correlation with the nutritional state of children at pre-school

age. **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, v. 12, n. 4, p. 33–40, 2006.

FIGUEIREDO, C. A et al. Effects of poor hygiene on cytokine phenotypes in children in the tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, n. 1, p. 34, jan. 2016a.

FIGUEIREDO, C. A. et al. Coassociations between IL10 polymorphisms, IL-10 production, helminth infection, and asthma / wheeze in an urban tropical population in Brazil. v. 131, n. 6, p. 1683–1690, 2016b.

G. REESE, R. AYUSO, S. B. L. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. **Int Arch Allergy Immunol**, v. 119, p. 247–258, 1999.

GANGUR, V.; SIMONS, F.; HAYGLASS, K. Human IP - 10 selectively promotes dominance of polyclonally activated and environmental antigen - driven IFN - gamma over IL - 4 responses. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n. 9, p. 705–713, 1998.

GARCÍA-LÓPEZ, M. A et al. CXCR3 chemokine receptor distribution in normal and inflamed tissues: expression on activated lymphocytes, endothelial cells, and dendritic cells. **Laboratory investigation**, v. 81, n. 3, p. 409–418, 2001.

GEIGER, S. M. et al. Cellular responses and cytokine profiles in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infected patients. **Parasite immunology**, v. 24, n. 11–12, p. 499–509, 2002.

GIBSON, P. G.; SIMPSON, J. L.; SALTOS, N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: Evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. **Chest**, v. 119, n. 5, p. 1329–1336, 2001.

GRUBEK-JAWORSKA, H. et al. IL-6 and IL-13 in induced sputum of COPD and asthma patients: correlation with respiratory tests. **Respiration; international review of thoracic diseases**, v. 84, n. 2, p. 101–7, jan. 2012.

GUERREIRO, R.; SANTOS-COSTA, Q.; AZEVEDO-PEREIRA, J. M. AS QUIMIOCINAS E OS SEUS RECEPTORES Características e Funções Fisiológicas. **Acta Med Port**, v. 24, n. S4, p. 967–976, 2011.

HAGEL, I. et al. Modulation of the allergic reactivity of slum children by helminthic infection. **Parasite Immunology**, v. 15, n. 6, p. 311–315, 1993.

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

HAWLADER, M. D. H. et al. *Ascaris lumbricoides* Infection as a Risk Factor for Asthma and Atopy in Rural Bangladeshi Children. **Tropical medicine and health**, v. 42, n. 2, p. 77–85, jun. 2014.

HAYAKAWA, H. et al. Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. **The Journal of biological chemistry**, v. 282, n. 36, p. 26369–80, 7 set. 2007.

HEGEWALD, J. et al. Cellular cytokine and chemokine responses to parasite antigens and fungus and mite allergens in children co-infected with helminthes and protozoa parasites. **Journal of inflammation (London, England)**, v. 12, p. 5, jan. 2015.

HINTERMANN, E. et al. CXCL10 promotes liver fibrosis by prevention of NK cell mediated hepatic stellate cell inactivation. **Journal of Autoimmunity**, v. 35, n. 4, p. 424–435, 2010.

HIRAHARA, K.; NAKAYAMA, T. CD4+ T-cell subsets in inflammatory diseases:

- Beyond the Th1/Th2 paradigm. **International Immunology**, v. 28, n. 4, p. 163–171, 2016.
- HOSOKI, K.; BOLDOGH, I.; SUR, S. Neutrophil recruitment by allergens contribute to allergic sensitization and allergic inflammation. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 16, n. 1, p. 45–50, 2016.
- HUMPHREYS, N. E. et al. IL-33, a Potent Inducer of Adaptive Immunity to Intestinal Nematodes. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 4, p. 2443–2449, 4 fev. 2008.
- HUNNINGHAKE, G. M. et al. Sensitization to *Ascaris lumbricoides* and severity of childhood asthma in Costa Rica. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 119, n. 3, p. 654–61, mar. 2007.
- IIKURA, M. et al. Chemokine receptors in human basophils: inducible expression of functional CXCR4. **J Leukoc Biol**, v. 70, n. 1, p. 113–120, 2001.
- IIKURA, M. et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 87, n. 10, p. 971–8, out. 2007.
- IKUTANI, M. et al. Emerging roles of IL-33 in inflammation and immune regulation. **Inflammation and Regeneration**, v. 35, n. 2, p. 69–77, 2015.
- JESUS, R. DE et al. Association of Type 2 Cytokines with Hepatic Fibrosis in Human *Schistosoma mansoni* Infection. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 6, p. 3391–3397, 2004.
- JOSEPH, S. et al. Increases in human T helper 2 cytokine responses to *Schistosoma mansoni* worm and worm-tegument antigens are induced by treatment with praziquantel. **The Journal of infectious diseases**, v. 190, n. 4, p. 835–42, 15 ago. 2004.
- KALENDA, Y. et al. Role of interleukin - 33 during *Schistosoma mansoni* infection ( MPF7P . 713 ). p. 2016, 2016.
- KAMEKURA, R. et al. The role of IL-33 and its receptor ST2 in human nasal epithelium with allergic rhinitis. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 42, n. 2, p. 218–228, 2012.
- KANEKO, Y. et al. Asthma phenotypes in Japanese adults - their associations with the CCL5 and ADRB2 genotypes. **Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 62, n. 1, p. 113–21, 2013.
- KESKIN, O. et al. Exhaled RANTES and interleukin 4 levels after exercise challenge in children with asthma. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 109, n. 5, p. 303–308, 2012.
- KLEIN, S. L.; FLANAGAN, K. L. Sex differences in immune responses. **Nature reviews. Immunology**, v. 16, n. 10, p. 626–638, 22 ago. 2016.
- KO, F. W. S. et al. Decreased T-bet expression and changes in chemokine levels in adults with asthma. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 147, n. 3, p. 526–532, 2007.
- KOHRGRUBER, N. et al. Plasmacytoid Dendritic Cell Recruitment by Immobilized CXCR3 Ligands. **Journal of Immunology**, v. 173, n. 11, p. 6592–6602, 2004.
- KUNA, B. P. et al. Monocyte Chemotactic and Activating Factor Is a Potent Histamine-releasing Factor for Human Basophils. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 175, n. 2, p. 489–493, 1992.

- KUROWSKA-STOLARSKA, M. et al. IL-33 induces antigen-specific IL-5+ T cells and promotes allergic-induced airway inflammation independent of IL-4. **J Immunol**, v. 181, n. 7, p. 4780–4790, 2008.
- LAI, S. T. et al. T-helper 1-related chemokines in the exacerbation of childhood asthma. **Pediatrics International**, v. 50, n. 1, p. 99–102, 2008.
- LANGIER, S.; SADE, K.; KIVITY, S. Regulatory T Cells in Allergic Asthma. v. 14, n. march, p. 180–183, 2012.
- LECHNER, C. J. et al. Cytokine and chemokine responses to helminth and protozoan parasites and to fungus and mite allergens in neonates, children, adults, and the elderly. **Immunity & ageing : I & A**, v. 10, n. 1, p. 29, 15 jul. 2013.
- LEONARDI-BEE, J.; PRITCHARD, D.; BRITTON, J. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 174, n. 5, p. 514–23, 1 set. 2006.
- LIANG, Y. et al. Gene profile of chemokines on hepatic stellate cells of schistosome-infected mice and antifibrotic roles of CXCL9/10 on liver non-parenchymal cells. **PloS one**, v. 7, n. 8, p. e42490, jan. 2012.
- LING, M. F.; LUSTER, A. D. Allergen-Specific CD4(+) T Cells in Human Asthma. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 13 Suppl 1, n. 16, p. S25-30, mar. 2016.
- LYNCH, N. et al. Allergic reactivity and helminthic infection in Amerindians of the Amazon Basin. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v. 72, n. 4, p. 369–372, 1983.
- LYNCH, N. R. et al. Clinical Improvement of Asthma after Anthelmintic Treatment in a Tropical Situation. **AM J RESPIR CRIT CARE MED**, v. 156, n. 1, p. 50–54, 1997.
- LYNCH, N. R.; GOLDBLATT, J.; SOUËF, P. N. LE. Parasite infections and the risk of asthma and atopy. p. 659–660, 1999.
- MACHURA, E. et al. Selected CC and CXC chemokines in children with atopic asthma. **Postepy dermatologii i alergologii**, v. 33, n. 2, p. 96–101, abr. 2016.
- MARSHALL, J. S. Mast-cell responses to pathogens. **Nature reviews. Immunology**, v. 4, n. 10, p. 787–99, out. 2004.
- MATERA, G. et al. Ascaris lumbricoides-induced suppression of total and specific IgE responses in atopic subjects is interleukin 10-independent and associated with an increase of CD25(+) cells. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 62, n. 3, p. 280–6, nov. 2008.
- MCSORLEY, H. J. et al. Blockade of IL-33 release and suppression of type 2 innate lymphoid cell responses by helminth secreted products in airway allergy. **Mucosal immunology**, v. 7, n. 5, p. 1068–78, set. 2014.
- MEDEIROS, D. et al. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 4, p. 255–259, ago. 2006.
- MEDEIROS, M. 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, maio 2003.
- METZ, M.; MAURER, M. Mast cells--key effector cells in immune responses. **Trends in immunology**, v. 28, n. 5, p. 234–41, maio 2007.
- MONCAYO, A. L. et al. Risk factors for atopic and non-atopic asthma in a rural area of Ecuador. **Thorax**, v. 65, n. 5, p. 409–16, maio 2010.

- MONCAYO, A-L. et al. Effects of geohelminth infection and age on the associations between allergen-specific IgE, skin test reactivity and wheeze: a case-control study. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 43, n. 1, p. 60–72, jan. 2013.
- MULLER, G. C. et al. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels are associated with clinical severity in school age children with asthma. **Clin Exp Allergy**, v. 40, n. 12, p. 1755–1759, 2010.
- MURDOCH, C.; FINN, A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. **Blood**, v. 95, n. 10, p. 3032–43, 2000.
- MURDOCH, J. R.; LLOYD, C. M. Chronic inflammation and asthma. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 690, n. 1–2, p. 24–39, 2010.
- NAKAYA, I. et al. Blockade of IP-10/CXCR3 promotes progressive renal fibrosis. **Nephron - Experimental Nephrology**, v. 107, n. 1, p. 2–3, 2007.
- NAUSCH, N. et al. Regulatory and activated T cells in human Schistosoma haematobium infections. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, 2011.
- NAVARRO, S. et al. Hookworm recombinant protein promotes regulatory T cell responses that suppress experimental asthma. **Science translational medicine**, v. 8, n. 362, p. 362ra143, 26 out. 2016.
- NEUENSCHWANDER, C. et al. Cytokine profile associated with chronic and acute human schistosomiasis mansoni. v. 103, n. September, p. 561–568, 2008.
- O'CONNELL, D. et al. IFN $\gamma$ -induced JAK/STAT, but not NF $\kappa$ B, signaling pathway is insensitive to glucocorticoid in airway epithelial cells. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 309, n. 4, p. L348-NaN-359, 2015.
- OBIHARA, C. C. et al. Respiratory atopic disease , Ascaris-immunoglobulin E and tuberculin testing in urban South African children Clinical and Experimental Allergy. **Clinical and Experimental Allergy**, p. 640–648, 2006.
- OKADA, H. et al. The “hygiene hypothesis” for autoimmune and allergic diseases: an update. **Clinical and experimental immunology**, v. 160, n. 1, p. 1–9, abr. 2010.
- OLIVEIRA, S. H. P.; LUKACS, N. W. The role of chemokines and chemokine receptors in eosinophil activation during inflammatory allergic reactions. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 11, p. 1455–1463, 2003.
- OLIVEIRA, S. M. DE et al. Association between allergic responses and Schistosoma mansoni infection in residents in a low-endemic setting in Brazil. **revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 770–774, 2014.
- OSHIKAWA, K. et al. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 164, n. 2, p. 277–281, 2001.
- PALMER, L. J. et al. Ascaris lumbricoides infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 165, n. 11, p. 1489–93, 1 jun. 2002.
- PALMQVIST, C.; WARDLAW, A. J.; BRADDING, P. Chemokines and their receptors as potential targets for the treatment of asthma. **British Journal of Pharmacology**, v. 151, n. 6, p. 725–736, 2007.

PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. **Nature reviews. Immunology**, v. 2, n. 7, p. 499–511, jul. 2002.

PENG, H. et al. IL-33 Contributes to Schistosoma japonicum-induced Hepatic Pathology through Induction of M2 Macrophages. **Scientific reports**, v. 6, n. May, p. 29844, 21 jul. 2016.

PERNAMBUCO, S. E. DE S. S. E. DE V. EM S. **Plano Integrado de Ações para o Enfretamento às Doenças Negligenciadas no Estado de Pernambuco/ SANAR – 2015 - 2018**. Recife, Brazil: [s.n.].

PONTE, E. et al. Skin test reactivity and Der p-induced interleukin 10 production in patients with asthma or rhinitis infected with Ascaris. **Ann Allergy Asthma Immunol.**, v. 96, n. 5, p. 713–718, 2006.

PYNN, M. C.; THORNTON, C. A.; DAVIES, G. A. Asthma Pathogenesis. **Pulmão**, v. 21, n. 2, p. 11–17, 2012.

RADMAN, M. et al. Serum levels of the CC chemokines CCL2, CCL5, and CCL11 in food allergic children with different clinical manifestations. **Inflammation**, v. 36, n. 3, p. 561–6, jun. 2013.

RAUNDHAL, M. et al. High IFN- $\gamma$  and low SLPI mark severe asthma in mice and humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 8, p. 3037–3050, 2015.

ROMAGNANI, S. Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation. **Molecular Immunology**, v. 38, n. 2001, p. 881–885, 2002.

ROSARIO-FILHO, N. A. et al. Pediatric allergy and immunology in Brazil. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 24, n. 4, p. 402–409, 2013.

ROSE, C. E.; SUNG, S.-S. J.; FU, S. M. Significant Involvement of CCL2 (MCP-1) in Inflammatory Disorders of the Lung. **Microcirculation**, v. 10, n. 3–4, p. 273–288, 2003.

RUJENI, N. et al. Atopy is inversely related to schistosome infection intensity: a comparative study in Zimbabwean villages with distinct levels of Schistosoma haematobium infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 158, n. 3, p. 288–98, jan. 2012.

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

SAIMAN, Y.; FRIEDMAN, S. L. The role of chemokines in acute liver injury. **Frontiers in physiology**, v. 3, n. June, p. 213, jan. 2012.

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

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from Ascaris lumbricoides and cockroach. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–1047, 2008a.

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from Ascaris lumbricoides and cockroach. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–6.e1, abr. 2008b.

- SAUCHA, C. V. V.; SILVA, J. A. M. DA; AMORIM, L. B. Condições de saneamento básico em áreas hiperendêmicas para esquistossomose no estado de Pernambuco em 2012. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 497–506, set. 2015.
- SCHMITZ, J. et al. IL-33, an Interleukin-1-like Cytokine that Signals via the IL-1 Receptor-Related Protein ST2 and Induces T Helper Type 2-Associated Cytokines. **Immunity**, v. 23, n. 5, p. 479–490, nov. 2005.
- SHALABY, N. M.; SHALABY, N. M. Effect of *Ascaris lumbricoides* infection on T helper cell type 2 in rural Egyptian children. **Therapeutics and clinical risk management**, v. 12, p. 379–385, 2016.
- SHANG, Y.; SMITH, S.; HU, X. Role of Notch signaling in regulating innate immunity and inflammation in health and disease. **Protein and Cell**, v. 7, n. 3, p. 159–174, 2016.
- SHAW, A. C.; GOLDSTEIN, D. R.; MONTGOMERY, R. R. Age-dependent dysregulation of innate immunity. **Nat Rev Immunol**, v. 13, n. 12, p. 875–887, 2014.
- SILVA, M. T. N.; ANDRADE, J.; TAVARES-NETO, J. Asthma and ascariasis in children aged two to ten living in a low income suburb. v. 79, n. 3, p. 227–232, 2003.
- SILVEIRA-LEMONS, D. et al. Seric chemokines and chemokine receptors in eosinophils during acute human schistosomiasis mansoni. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 380–386, 2010.
- SMITH, P. et al. *Schistosoma mansoni* secretes a chemokine binding protein with antiinflammatory activity. **The Journal of experimental medicine**, v. 202, n. 10, p. 1319–25, 21 nov. 2005.
- SMITS, H. H. et al. Chronic helminth infections protect against allergic diseases by active regulatory processes. **Current allergy and asthma reports**, v. 10, n. 1, p. 3–12, jan. 2010.
- SOLÉ, D. et al. Prevalence of asthma and allergic diseases in adolescents: nine-year follow-up study (2003-2012). **Jornal de pediatria**, v. 91, n. 1, p. 30–5, 2015.
- SOUSA, R. B. et al. Risk factors for recurrent wheezing in infants: a case-control study. **Revista de saude publica**, v. 50, n. 1, p. 1–8, 2016.
- SOUZA, A. L. S. et al. The role of chemokines in *Schistosoma mansoni* infection: insights from human disease and murine models. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. Suppl.I, p. 333–338, 2006.
- SOUZA, V. M. O. et al. Produção de IL-10 em resposta a aeroalérgenos em crianças e adolescentes de zona urbana com geohelmintíases. **rev bras alerg imunopatol**, p. 54–58, 2009.
- STRINA, A. et al. Risk factors for non-atopic asthma/wheeze in children and adolescents: a systematic review. **Emerging Themes in Epidemiology**, v. 11, n. 5, p. 1–11, 2014.
- SUN, B. Q. et al. Allergy-related evidences in relation to serum IgE: data from the China state key laboratory of respiratory disease, 2008-2013. **Biomedical and environmental sciences : BES**, v. 27, n. 7, p. 495–505, jul. 2014.
- SUZUKAWA, M. et al. Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 88, n. 11, p. 1245–53, nov. 2008.
- TACKE, F. et al. Serum chemokine receptor CXCR3 ligands are associated with

- progression, organ dysfunction and complications of chronic liver diseases. **Liver Int**, v. 31, n. 6, p. 840–849, 2011.
- TAGER, A. M. et al. Inhibition of pulmonary fibrosis by the chemokine IP-10/CXCL10. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 31, n. 4, p. 395–404, out. 2004.
- TAKEUCHI, H. et al. High titre of anti-Ascaris immunoglobulin E associated with bronchial asthma symptoms in 5-year-old rural Bangladeshi children. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 38, n. 2, p. 276–82, fev. 2007.
- TAO, B. et al. Imbalance of Peripheral Th17 and Regulatory T Cells in Children with Allergic Rhinitis and Bronchial Asthma. v. 14, n. June, p. 273–279, 2015.
- TEODÓRIO, V. 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. **World Allergy Organization Journal**, v. 8, n. Suppl 1, p. A241, 2015.
- VALMONTE, G. R.; CAUYAN, G. A.; RAMOS, J. D. A. IgE cross-reactivity between house dust mite allergens and Ascaris lumbricoides antigens. **Asia Pac Allergy**, v. 2, n. 1, p. 35–44, 2012.
- VAN DER VLUGT, L. E. P. M. et al. Interleukin 10 (IL-10)-producing CD1d<sup>hi</sup> regulatory B cells from Schistosoma haematobium-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines. **Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. 8, p. 1207–1216, 2014.
- VARELLA, P. P. V.; FORTE, W. C. N. Citokines: a review. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 24, n. 4, p. 146–154, 2001.
- VON MUTIUS, E. Environmental factors influencing the development and progression of pediatric asthma. **J Allergy Clinical Immunol**, v. 109, n. 6 Suppl, p. S525–S532, 2002.
- WASMUTH, H. et al. Antifibrotic effects of CXCL9 and its receptor CXCR3 in livers of mice and humans. **Gastroenterology**, v. 137, n. 1, p. 309–319, 2009.
- WATANABE, K. et al. T regulatory cell levels decrease in people infected with Schistosoma mansoni on effective treatment. **Am J Trop Med Hyg**, v. 77, n. 4, p. 676–682, 2007.
- WATANABE, L. A. et al. Comparison between ImmunoCAP® and skin prick test for evaluation of IgE-mediated cow's milk allergy in children. **Revista Brasileira de Alergologia e Imunopatologia**, v. 33, n. 6, p. 224–228, 2010.
- WILSON, M. S. et al. Immunopathology of schistosomiasis. **Immunology and cell biology**, v. 85, n. 2, p. 148–54, 2007.
- WILSON, S. et al. A late IL-33 response after exposure to Schistosoma haematobium antigen is associated with an up-regulation of IL-13 in human eosinophils. **Parasite immunology**, v. 35, n. 7–8, p. 224–8, jul. 2013.
- WOODFOLK, J. A. Cytokines as a therapeutic target for allergic diseases: a complex picture. **Curr Pharm Des**, v. 12, n. 19, p. 2349–2363, 2006.
- WYNN, T. A. et al. Immunopathogenesis of schistosomiasis. v. 201, p. 156–167, 2004.
- XIE, M. et al. IL-27 and type 2 immunity in asthmatic patients: Association with severity, CXCL9, and signal transducer and activator of transcription signaling. **Journal**

**of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 2, p. 386–394.e5, fev. 2015.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, p. 5743–5750, 2010a.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, n. 10, p. 5743–50, 15 nov. 2010b.

YAMAGUCHI, M. et al. Human basophils and cytokines/chemokines. **Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 58, n. 1, p. 1–10, mar. 2009.

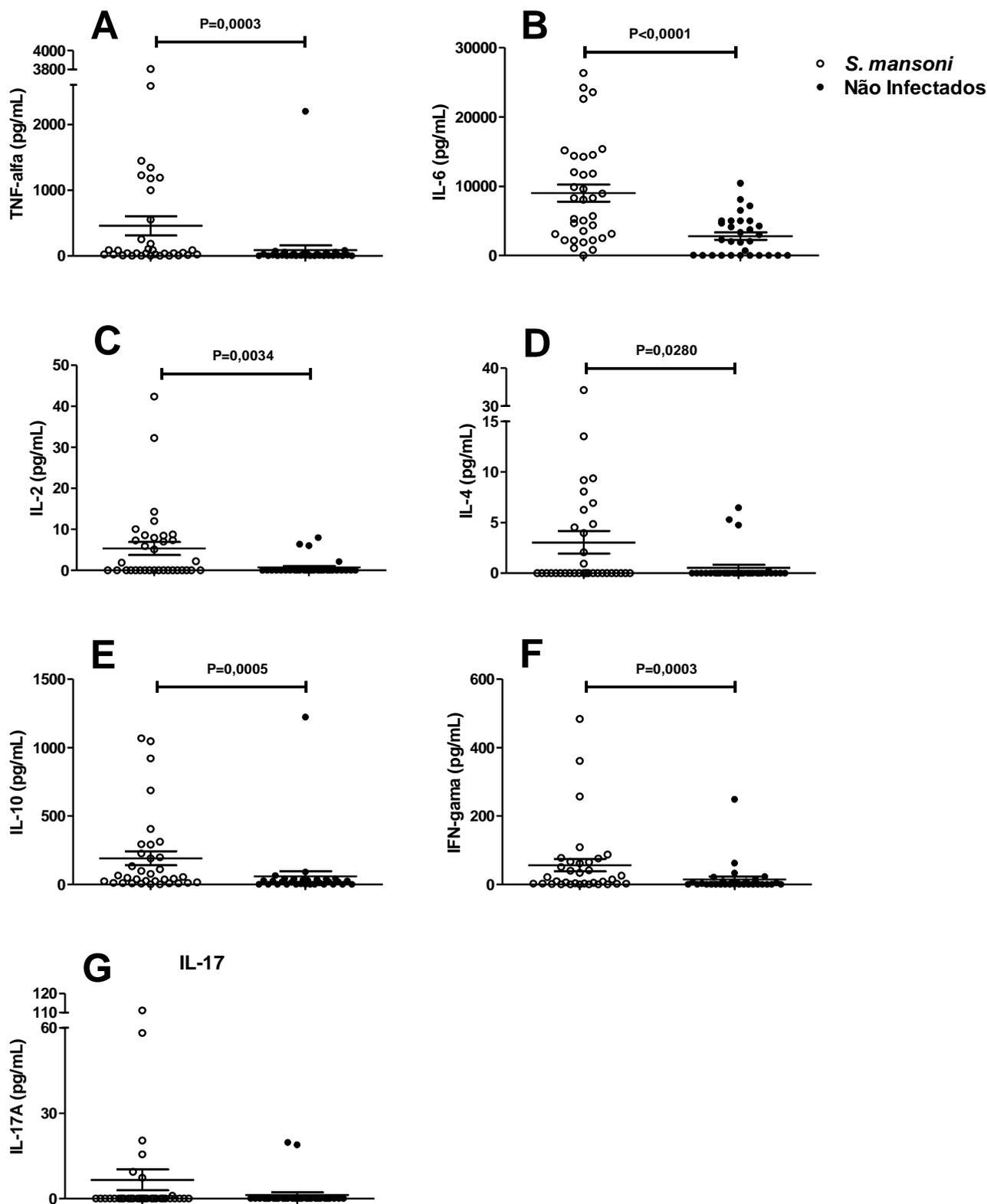
YU, Y.; DENG, W.; LEI, J. Interleukin-33 promotes Th2 immune responses in infected mice with *Schistosoma japonicum*. **Parasitology research**, v. 114, n. 8, p. 2911–8, ago. 2015.

ZHANG, J.; PATEL, L.; PIENTA, K. Targeting chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) as an example of translation of cancer molecular biology to the clinic. **Prog Mol Biol Transl Sci.**, v. 95, n. 31–53, 2010.

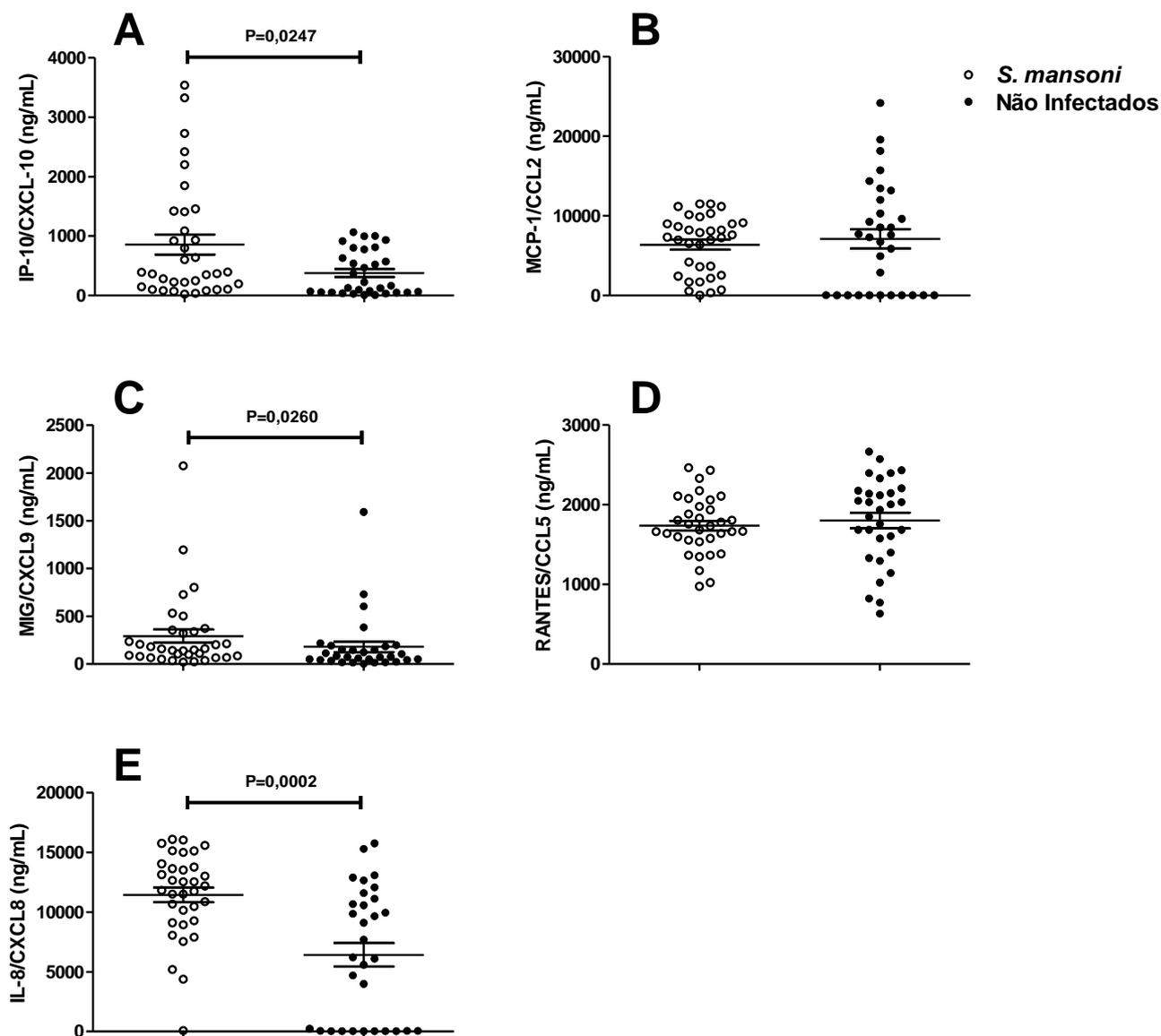
**Tabela 1:** Sexo, idade, níveis de eosinófilos, IgE total e carga parasitária em indivíduos infectados e não infectados pelo *S. mansoni*.

	<b>Infectados <i>S. mansoni</i> (n=34)</b>	<b>Não Infectados (n=31)</b>	<b>Valor de p</b>
<b>Sexo (Masculino/Feminino)*</b>	15/19	14/17	0,467
<b>Idade (anos) - mediana (mín-máx)§</b>	15 (8 - 61)	10 (7 - 56)	0,432
<b>Eosinófilos (Céls/mm<sup>3</sup>, média ± DP)§</b>	1386 ± 1015	361,3 ± 229,4	<b>0,0001</b>
<b>IgE total sérica (kU/l, média ± DP)§</b>	1136 ± 1366	616,4 ± 829,9	<b>0,044</b>
<b>Carga parasitária (média ± DP)</b>	113,3 ± 282,3	-	-

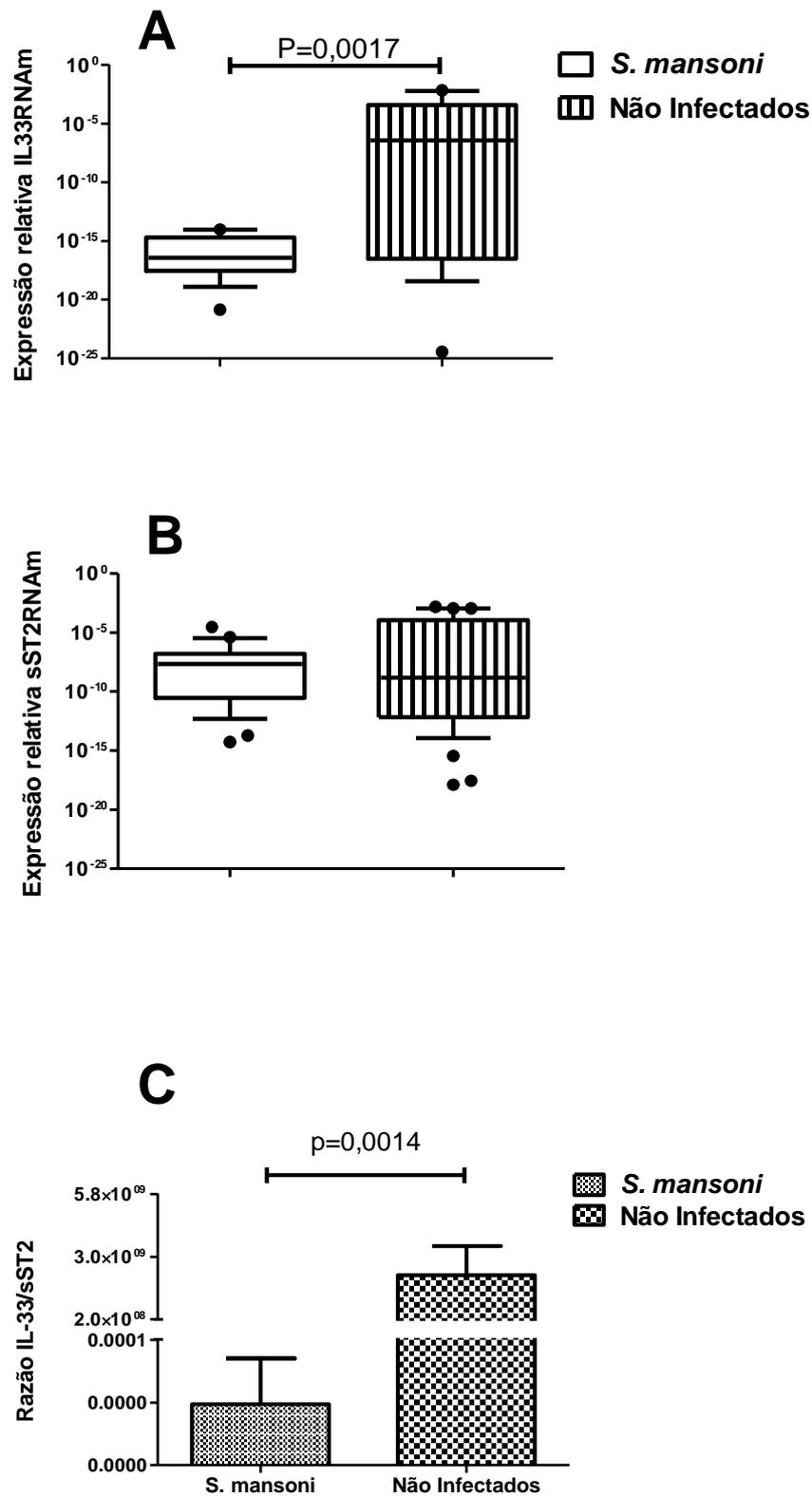
\*Aplicou-se o teste estatístico do  $\chi^2$  com o teste exato de Fisher para comparação entre as frequências. §Aplicou-se o teste t de Student para comparação entre os grupos. DP: desvio padrão. Teste estatístico significativo quando  $p < 0,05$ .



**Figura 1:** Níveis das citocinas TNF-alfa (A), IL-6 (B), IL-2 (C), IL-4 (D), IL-10 (E), IFN-gama (F) e IL-17A (G) em sobrenadante de cultura de sangue periférico, sob o estímulo do mitógeno PHA (24hs), de pacientes infectados pelo *S. mansoni* ( $n=34$ ) e não infectados ( $n=31$ ). Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas e foi considerada diferença significativo quando  $p<0,05$ .



**Figura 2:** Níveis de quimiocinas IP-10/CXCL10 (A), MCP-1/CCL2 (B), MIG/CXCL9 (C), RANTES/CCL5 (D) e IL-8/CXCL8 (E) em sobrenadante de cultura de sangue periférico, sob o estímulo do mitógeno PHA (24hs), de pacientes infectados pelo *S. mansoni* (n=34) e não infectados (n=31). Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas e foi considerada diferença significativo quando  $p < 0,05$ .



**Figura 3:** Expressão relativa da IL-33RNAm (A), do ST2sRNAm (B) e a razão entre a expressão relativa IL-33/ST2s (C) em células de sangue periférico, cultivadas com mitógeno PHA (24hs), de pacientes infectados pelo *S. mansoni* ( $n=21$ ) e não infectados ( $n=22$ ). Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas e foi considerada diferença significativo quando  $p<0,05$ .

### 5.3 Infecção por *Schistosoma mansoni* atenua a alergia acompanhada de diminuição de CCL2/MCP-1

Durante a realização do inquérito parasitológico foram cadastrados 3816 com idade entre 5 a 80 anos. Deste total, 2123 indivíduos realizaram os exames parasitológicos. Destes, 1952 indivíduos foram excluídos por estarem infectados com geohelmintos/protozoários, tratados recentemente, portadores de HIV/tuberculose/leishmaniose ou houve perdas de indivíduos (mudança de residência ou recusa em participar do estudo).

Utilizou-se como critério de classificação para a asma alérgica a resposta sim para as perguntas: “*você teve sibilo no último ano?*” e a “*você tem asma alérgica?*”, e para a rinite alérgica a resposta afirmativa para a pergunta “*você teve problemas com espirro e coriza no último ano sem estar gripada?*”. Dessa forma os indivíduos foram classificados como alérgicos (asma e/ou rinite). A partir do questionário ISAAC e infecção por *S. mansoni* foram formados quatro grupos de comparação: (1) indivíduos alérgicos e infectados com *S. mansoni* (A-I); (2) indivíduos alérgicos e não infectados (A-NI); (3) indivíduos não alérgicos e infectados (NA-I); (4) indivíduos não alérgicos e não infectados (NA-NI).

Dos 171 indivíduos selecionados, 46 (26,9%) eram alérgicos e 125 (73,1%) não alérgicos. Dentre os alérgicos, 19 (11,11%) indivíduos estavam infectados com o *S. mansoni* (A-I) e 27 (15,79%) eram não infectados (A-NI). Dos não alérgicos, 90 (52,63%) eram infectados (NA-I) e 35 (20,47%) não infectados (NA-NI). A tabela 1 mostra que foi observada associação de proteção entre a infecção e as asma/rinite (OR=0,274, IC95%= 0,135 - 0,554;  $p < 0,0001$ ).

Com relação às variáveis biológicas, não houve associação entre o sexo. Para a idade, houve uma associação de proteção para alergia nos indivíduos infectados quando  $\leq 20$  anos de idade (OR=0,135, IC95%=0,021 – 0,683;  $p=0,006$ ). Do contrário, para o histórico de alergia materna ocorreu uma associação de risco (OR=3,405, IC95%= 1,058 – 10,956;  $p=0,036$ ), mesmo quando infectados. Para as variáveis socioeconômicas e de comportamento como escolaridade materna, renda familiar e tabagismo não foram observadas relação entre as alergias e infecção pelo *S. mansoni*.

Com relação aos anticorpos IgE total, IgE anti-*Blomia* e IgE anti-*Asc*, a **tabela 1** mostra que houve maiores níveis de IgE total ( $p=0,005$ ) e IgE anti-*Asc* ( $p=0,028$ ) nos indivíduos do grupo NA-I e níveis maiores de IgE anti-*Blomia* no grupo de indivíduos

do A-NI ( $p=0,020$ ), em relação aos indivíduos NA-NI. Adicionalmente, observamos que a infecção pelo *S. mansoni* exerceu um efeito protetor nos indivíduos com altos níveis de IgE total ( $\geq 250$  kU/L) (OR=0,207, IC95%=0,068 – 0,622;  $p=0,002$ ), nos indivíduos com altos níveis de IgE anti-*Asc* (OR=0,209, IC95%=0,072 – 0,595;  $p=0,001$ ), e para ambos os extratos de IgE anti-*Blomia*,  $\geq 0,35$ kU/L (OR=0,287, IC95%=0,102 – 0,781;  $p=0,007$ ), e  $< 0,35$ kU/L (OR=0,313, IC95%=0,100 – 0,960;  $p=0,021$ ). A frequência dos sintomas relacionados às alergias está descrita na **tabela 2**. A infecção pelo *S. mansoni* demonstrou efeito protetor para a tosse seca a noite (OR=0,264, IC95%=0,068 – 0,953;  $p=0,020$ ).

Para investigar a interação entre a alergia e as covariáveis foi realizada uma análise de regressão logística univariada e multivariada utilizando-se dois modelos (**Tabela 3**). Na análise univariada o histórico de alergia da mãe constituiu um fator de risco a alergia (OR= 3,22, IC95%=1,3 – 8,01;  $p=0,012$ ). Contrariamente, a infecção pelo *S. mansoni* (OR= 0,27, IC95%=0,14 – 0,55;  $p<0,001$ ), a carga parasitária  $\geq 200$  OPG (OR= 0,32, IC95%=0,16 – 0,64;  $p=0,001$ ) e a escolaridade materna mais baixa (OR= 0,5, IC95%=0,25 – 0,99;  $p=0,046$ ) demonstraram um caráter de proteção para as alergias. Na regressão multivariada logística, quando ajustadas pelo sexo e idade, demonstra que a infecção pelo *S. mansoni* (OR=0,37, IC95%=0,17 – 0,82;  $p=0,014$ ) e a carga parasitária  $\geq 200$  OPG (OR=0,44, IC95%=0,20 – 0,97;  $p=0,042$ ) permaneceram protegendo para as alergias, e a escolaridade materna passou a não mais influenciar de maneira significativa.

As citocinas TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-6, IL-4, IL-17A e IL-10 (**Figura 1**) e as quimiocinas IP-10/CXCL10, MCP/CCL2, MIG/CXCL9, RANTES/CCL5 e IL-8/CXCL8 (**Figura 2**) foram mensuradas na cultura de sangue periférico. No grupo A-I houve significativamente maiores níveis de IFN- $\gamma$  (**Fig. 1A**), IL-4 (**Fig 1B**), IL-10 (**Fig. 1C**), IL-2 (**Fig. 1D**) e IL-6 (**Fig. 1E**), sendo estas duas ultimas também em níveis maiores no grupo NA-I, quando comparado ao grupo NA-NI. O grupo A-I ainda apresentou maiores níveis de IL-4 em relação ao grupo A-NI, e os grupos A-I e NA-I maiores níveis de IL-2 em relação ao A-NI. Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de TNF- $\alpha$  (**Fig 1F**) e IL-17 (**Fig 1G**).

Quanto às quimiocinas, no grupo NA-I os níveis de CXCL8/IL-8 (**Fig. 2A**), CXCL9/MIG (**Fig. 2C**) foram significativamente menores, enquanto houve maior produção de CCL5/RANTES (**Fig. 2D**) e CCL2/MCP-1 (**Fig. 2B**) quando comparado ao NA-NI. No grupo A-I, os níveis de CCL2/MCP-1 foram significativamente maiores

quando comparado a grupo NA-NI. Não foram evidenciadas diferenças entre os grupos para a produção de CXCL10/IP-10 (**Fig 2E**).

O *Schistosoma mansoni* pode modular a resposta imunológica do hospedeiro e induzir efeito protetor na associação para as doenças alérgicas (ARAÚJO et al., 2000; CARDOSO et al., 2012; MEDEIROS et al., 2003). Em nosso estudo a infecção protegeu para a asma/rinite alérgica e corroborou esses dados, além disso, houve protetora para a reatividade do teste cutâneo (OLIVEIRA et al., 2014). A carga parasitária parece estar associada a atenuação das alergias (ARAÚJO et al., 2000) A história familiar desempenhou um importante papel na ocorrência de doenças como fator de risco e corrobora a influência do background genético (STRINA et al., 2014). De fato, o histórico materno para alergias esteve comprometido como fator de risco em nosso estudo, mesmo na presença da infecção. O background reflete a hereditariedade das doenças alérgicas que pode tornar o indivíduo resistente (STRINA et al., 2014) à modulação induzida pela *S. mansoni*. O polimorfismo de citocinas regulatórias que também é fator hereditário, pode determinar o quanto o indivíduo pode ser resistente susceptível a patologia esquistossomótica (GRANT et al., 2011).

No Brasil, tem sido demonstrado uma alta prevalência de IgE anti-Asc em pacientes com alergias respiratórias (MEDEIROS et al., 2006; SOUZA et al., 2009). E o sibilo característico da asma pode estar associado aos anticorpos IgE Anti-Asc (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010; COOPER et al., 2003; MONCAYO et al., 2013). De fato, Ahumada e colaboradores (2015) demonstraram que a presença de IgE anti-tropomiosina do *Ascaris*, do *D. pteronyssinus* e da *Blomia tropicalis* no soro também foram considerados como fator de risco para asma (AHUMADA et al., 2015). Contudo, não observamos interferência da IgE anti- Asc na proteção das alergias induzida pelo *S. mansoni*. A atenuação da inflamação alérgica de vias aéreas em modelo experimental utilizando ovos do *S. mansoni* envolveu a indução de células Treg Foxp3<sup>+</sup> (LAYLAND et al., 2013). A liberação de antígenos dos vermes adultos induziu a produção de IL-10 por macrófagos e células dendríticas no pulmão (MARINHO et al., 2016). Então, mesmo que os antígenos do *Ascaris* compartilhem uma homologia estrutural com diversos alérgenos por mimetismo molecular (SANTOS et al., 2008; ACEVEDO & CARABALLO, 2011) a infecção pelo *S. mansoni* pode modular a resposta do hospedeiro alérgico por componentes presente nos ovos do *S. mansoni* ou secretado pelos vermes adultos.

A inflamação alérgica das vias aéreas de pacientes asmáticos é marcada por uma predominância de eosinófilos, mastócitos e linfócitos Th2 (CHAN et al., 1994; PALMER et al., 2002). Os indivíduos alérgicos e infectados apresentaram um perfil misto Th1 e Th2, em resposta ao mitógeno, na presença de IL-10. A presença desta última citocina pode refletir um controle da exacerbação da resposta imune nestes indivíduos. Embora, sem diferença estatística é possível observar maior produção média nos indivíduos apenas infectado, bem como houve mais IL-10 apenas nos alérgicos. Estes dados sugerem que ambos infecção e alergia possam ter contribuído para o aumento desta citocinas.

Os antígenos solúveis dos ovos de *S. mansoni* induzem a resposta Th2 (SOUZA, 2011), mas também tem sido relatada a participação do perfil de citocinas pró-inflamatório Th1 (FN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-6) implicada na imunopatologia da asma alérgica grave (CHO et al., 2005; BABU et al., 2011; JAWORSKA et al., 2012). Contudo, acreditamos que a IL-10 exerce um controle sobre as respostas Th1 e Th2 observadas nos indivíduos do nosso estudo, visto que existem diversas evidências de que a infecção pelo *S. mansoni* leva à inibição, por fatores regulatórios em humanos e camundongos, como as Tregs, expressão da IL-10, TGF- $\beta$  e CTLA-4 na modulação da resposta inflamatória na alergia (ARAUJO et al., 2004; VAN DEN BIGGELAAR et al., 2004, JOHNSTON et al., 2014; PACÍFICO et al., 2009; WATANABE et al., 2007). Por outro lado, os indivíduos alérgicos do nosso estudo são classificados como “sintomas leves/moderados” este fato pode estar ligado a maior produção de IL-10 intrínseca nestes indivíduos (MARINHO et al., 2016; CARDOSO et al., 2006; GRANT et al., 2011; ALMEIDA et al., 2017).

As quimiocinas participam no desenvolvimento e manutenção da inflamação alérgica atuando no recrutamento e coordenando, através de seus receptores, a ativação das células (PALMQVIST et al., 2007; NEDOSZYTKO et al., 2014; JIANG & ZHIU, 2016). Machura e col. mensurou os níveis de quimiocinas no soro de pacientes com asma atópica e evidenciou aumento da CCL5/RANTES (Th2) e diminuição de CXCL9/MIG (Th1) em crianças com asma (MACHURA et al., 2016). As células epiteliais de via respiratória de crianças com história de sibilos demonstram níveis reduzidos de CXCL8/IL-8, IL-6, CCL2/MCP-1 (MCDUGALL et al., 2015). A infecção pelo *Schistosoma* também modula a produção das quimiocinas (CHUAH et al., 2014). Sendo observado aumento da transcrição do CCL2/MCP-1 durante a infecção por *S. japonicum* (BARTLEY et al., 2006). Portanto, estes achados corroboram o

aumento da CCL2/MCP-1 no grupo de apenas alérgico e nos apenas infectados. Contudo, os resultados apontam para uma redução na produção do CCL2/MCP-1 nos indivíduos com ambas as entidades de doenças. Aqui, o fato de ser alérgico levou a maior produção de IL-10. Com relação à infecção esquistossomótica, nós temos demonstrado que há menor produção de IL-33 (dados em submissão), citocina indutora de resposta Th2 (IIKURA et al., 2007) e envolvida com produção de CCL2/MCP-1 por eosinófilos, basófilos (YAMAGUCHI et al., 2009). Em conjunto, o aumento da IL-10 e menor produção de IL-33 podem levar á menor produção desta quimiocina em indivíduos alérgicos de área endêmica para esquistossomose, refletindo em menor intensidade da asma/rinite.

## REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, N. et al. Allergenicity of *Ascaris lumbricoides* tropomyosin and IgE sensitization among asthmatic patients in a tropical environment. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 154, n. 3, p. 195–206, 2011.
- ACEVEDO, N.; CARABALLO, L. IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. **Parasite immunology**, v. 33, n. 6, p. 309–21, jun. 2011.
- AHUMADA, V. et al. IgE responses to *Ascaris* and mite tropomyosins are risk factors for asthma. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 45, n. 7, p. 1189–200, jul. 2015.
- ALCÂNTARA-NEVES, N. M. et al. The presence of serum anti- *Ascaris lumbricoides* IgE antibodies and of *Trichuris trichiura* infection are risk factors for wheezing and / or atopy in preschool-aged Brazilian children. p. 1–9, 2010.
- ALCÂNTARA-NEVES, N. M. et al. Effects of helminth co-infections on atopy , asthma and cytokine production in children living in a poor urban area in Latin America. p. 1–11, 2014.
- ALCORN, J. F.; CROWE, C. R.; KOLLS, J. K. TH17 Cells in Asthma and COPD. **Annual Review of Physiology**, v. 72, n. 1, p. 495–516, 2010.
- ALLEN, S. J.; CROWN, S. E.; HANDEL, T. M. Chemokine:Receptor Structure, Interactions, and Antagonism. **Annual Review of Immunology**, v. 25, n. 1, p. 787–820, 2007.
- ALROQI, F. J.; CHATILA, T. A. T Regulatory Cell Biology in Health and Disease. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 16, n. 4, p. 27, 29 abr. 2016.
- AMIN, K.; JANSON, C.; BYSTROM, J. Role of Eosinophil Granulocytes in Allergic Airway Inflammation Endotypes. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 84, n. 2, p. 75–85, 2016.
- ARAÚJO, M. I. et al. Inverse Association between Skin Response to Aeroallergens and *Schistosoma mansoni* Infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 123, n. 1, p. 145–148, 2000.

- ARAÚJO, M. I. et al. Schistosoma mansoni Infection Modulates the Immune Response against Allergic and Auto-immune Diseases. **Mem Onst Oswaldo Cruz**, v. 99, n. Suppl. I, p. 27–32, 2004.
- ASEMOTA, O. O. et al. Chemokines Responses to Ascaris Lumbricoides Sole Infection and Co - infection with Hookworm among Nigerians. v. 6, n. 2, p. 84–88, 2014.
- AZAZI, E. A et al. Serum levels of Interleukin-33 and its soluble receptor ST2 in asthmatic patients. **Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis**, v. 63, n. 2, p. 279–284, 2014.
- BABU, S. K. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) autoregulates its expression and induces adhesion molecule expression in asthma. **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 140, n. 1, p. 18–25, jul. 2011.
- BARNES, P. J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 3, p. 183–192, 2008.
- BARRETO, A. V. M. S. et al. Evaluation of serum levels of IL-9 and IL-17 in human Schistosoma mansoni infection and their relationship with periportal fibrosis. **Immunobiology**, v. 221, n. 12, p. 1351–1354, dez. 2016.
- BARTLEY, P. B. et al. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of Schistosoma japonicum egg-induced fibrosis. **International journal for parasitology**, v. 36, n. 9, p. 993–1001, ago. 2006.
- BAUMGART, M. et al. Naturally Occurring CD4+Foxp3+ Regulatory T Cells Are an Essential, IL-10-Independent Part of the Immunoregulatory Network in Schistosoma mansoni Egg-Induced Inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 176, n. 9, p. 5374–5387, 18 abr. 2006.
- BERRY, M. et al. TNF- $\alpha$  in asthma. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 3, p. 279–282, 2007.
- BIGGELAAR, A. H. J. VAN DEN et al. Long-Term Treatment of Intestinal Helminths Increases Mite Skin-Test Reactivity in Gabonese Schoolchildren. v. 189, p. 892–900, 2004.
- BISCHOFF, S. C. et al. Monocyte Chemotactic Protein 1 Is a Potent Activator of Human Basophils. **J Exp Med**, v. 175, n. 5, p. 1271–1275, 1992.
- BÖHM, L. et al. IL-10 and regulatory T cells cooperate in allergen-specific immunotherapy to ameliorate allergic asthma. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 194, n. 3, p. 887–97, 1 fev. 2015.
- BOITA, M. et al. Regulation of B-cell-activating factor expression on the basophil membrane of allergic patients. **International archives of allergy and immunology**, v. 166, n. 3, p. 208–12, jan. 2015.
- BONACCHI, A. et al. Signal transduction by the chemokine receptor CXCR3: Activation of Ras/ERK, Src, and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt controls cell migration and proliferation in human vascular pericytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 13, p. 9945–9954, 2001.
- BRAGAGNOLI, G.; SILVA, M. T. N. Ascaris lumbricoides infection and parasite load are associated with asthma in children. **J Infect Dev Ctries**, v. 8, n. 7, p. 891–897, 2014.
- BRASIL. **Vigilância da Esquistossomose Mansoni - Diretrizes técnicas**. [s.l.: s.n.].

- BRIGHTLING, C.; BERRY, M.; AMRANI, Y. TNF-  $\alpha$ : A novel therapeutic approach for asthma. **J Allergy Clin Immunol**, v. 121, n. 1, p. 5–12, 2008.
- BUENDÍA, E. et al. The IgE response to *Ascaris* molecular components is associated with clinical indicators of asthma severity. **The World Allergy Organization journal**, v. 8, n. 1, p. 8, jan. 2015.
- BURKE, M. L. et al. Immunopathogenesis of human schistosomiasis. **Parasite immunology**, v. 31, n. 4, p. 163–76, abr. 2009.
- CALDAS, I. R. et al. Human schistosomiasis mansoni: immune responses during acute and chronic phases of the infection. **Acta tropica**, v. 108, n. 2–3, p. 109–17, 2008.
- CAMPOS, H. S. Asma: suas origens, seus mecanismos inflamatórios e o papel do corticosteróide. **Revista Brasileira de Pneumologia Sanitária**, v. 15, n. 1, p. 47–60, 2007.
- CARABALLO, L. et al. Particularities of allergy in the Tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 20, jan. 2016.
- CARDAMONE, C. et al. Mast cells as effector cells of innate immunity and regulators of adaptive immunity. **Immunology letters**, v. 178, p. 10–14, 5 jul. 2016.
- CARDOSO, L. S. et al. Risk factors for asthma in a helminth endemic area in bahia, Brazil. **Journal of parasitology research**, v. 2012, p. 796820, jan. 2012.
- CARR, M. W. et al. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 9, p. 3652–3656, 1994.
- CARR, T. F. et al. Eosinophilic bioactivities in severe asthma. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 21, jan. 2016.
- CASTAN, L.; MAGNAN, A.; BOUCHAUD, G. Chemokine receptors in allergic diseases. **Allergy**, v. 72, n. 4, p. 682–690, 2016.
- CHARLESWORTH, E. N. et al. Cutaneous Late-Phase Response to Allergen: Mediator Release and Inflammatory Cell Infiltration. **Journal of Clinical Investigation**, v. 83, n. 5, p. 1519–1526, 1989.
- CHERRY, W. B. et al. A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human eosinophils. **Clinical Lymphoma**, v. 121, n. 6, p. 1484–1490, 2008.
- CHUAH, C. et al. Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. **Trends in parasitology**, v. 30, n. 3, p. 141–50, mar. 2014.
- COLLEY, D. G.; SECOR, W. E. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite immunology**, v. 36, n. 8, p. 347–57, ago. 2014.
- COOPER, P. J. et al. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 168, n. 3, p. 313–7, 1 ago. 2003.
- COOPER, P. J. Mucosal immunology of geohelminth infections in humans. **Mucosal immunology**, v. 2, n. 4, p. 288–99, jul. 2009.
- COOPER, P. J. et al. Effects of environment on human cytokine responses during childhood in the tropics: role of urban versus rural residence. **The World Allergy Organization journal**, v. 8, n. 22, p. 1–9, jan. 2015.
- COOPER, P. J. et al. Effects of maternal geohelminth infections on allergy in early childhood. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 137, n. 3, p. 899–

906.e2, mar. 2016.

DE MORAIS, N. G. et al. Effect of neonatal malnutrition on expression of nitric oxide synthase enzyme, production of free radicals and in vitro viability of alveolar macrophages infected with methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **European journal of nutrition**, v. 55, n. 1, p. 403–11, fev. 2016.

DESCHOOLMEESTER, M. L. et al. Absence of CC Chemokine Ligand 2 Results in an Altered Th1/Th2 Cytokine Balance and Failure to Expel *Trichuris muris* Infection. **The Journal of Immunology**, v. 170, n. 9, p. 4693–4700, 1 maio 2003.

DUNICAN, E. M.; FAHY, J. V. The Role of Type 2 Inflammation in the Pathogenesis of Asthma Exacerbations. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 12, n. Supplement 2, p. S144–S149, 2015.

ENGELHARDT, E. et al. Chemokines IL-8 , GRO  $\alpha$  , MCP-1 , IP-10 , and Mig Are Sequentially and Differentially Expressed During Phase-Specific Infiltration of Leukocyte Subsets in Human Wound Healing. v. 153, n. 6, p. 1849–1860, 1998.

FALCÃO, P. et al. Plasma Concentrations and Role of Macrophage Inflammatory Protein – 1alpha during Chronic *Schistosoma mansoni* Infection in Humans. **J Infect Dis**, v. 186, n. 11, p. 1696–1700, 2002.

FARIA, I. C. J. et al. Association of TGF-beta1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. **Jornal de pediatria**, v. 84, n. 3, p. 203–210, 2008.

FEARY, J.; BRITTON, J.; LEONARDI-BEE, J. Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis. **Allergy**, v. 66, n. 4, p. 569–78, abr. 2011.

FERREIRA, H. et al. An epidemiological study of the frequency and factors of risk of enteroparasitoses and their correlation with the nutritional state of children at pre-school age. **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, v. 12, n. 4, p. 33–40, 2006.

FIGUEIREDO, C. A et al. Effects of poor hygiene on cytokine phenotypes in children in the tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, n. 1, p. 34, jan. 2016a.

FIGUEIREDO, C. A. et al. Coassociations between IL10 polymorphisms , IL-10 production , helminth infection , and asthma / wheeze in an urban tropical population in Brazil. v. 131, n. 6, p. 1683–1690, 2016b.

G. REESE, R. AYUSO, S. B. L. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. **Int Arch Allergy Immunol**, v. 119, p. 247–258, 1999.

GANGUR, V.; SIMONS, F.; HAYGLASS, K. Human IP - 10 selectively promotes dominance of polyclonally activated and environmental antigen - driven IFN - gamma over IL - 4 responses . **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n. 9, p. 705–713, 1998.

GARCÍA-LÓPEZ, M. A et al. CXCR3 chemokine receptor distribution in normal and inflamed tissues: expression on activated lymphocytes, endothelial cells, and dendritic cells. **Laboratory investigation**, v. 81, n. 3, p. 409–418, 2001.

GEIGER, S. M. et al. Cellular responses and cytokine profiles in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infected patients. **Parasite immunology**, v. 24, n. 11–12, p. 499–509, 2002.

GIBSON, P. G.; SIMPSON, J. L.; SALTOS, N. Heterogeneity of airway inflammation

- in persistent asthma: Evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. **Chest**, v. 119, n. 5, p. 1329–1336, 2001.
- GRUBEK-JAWORSKA, H. et al. IL-6 and IL-13 in induced sputum of COPD and asthma patients: correlation with respiratory tests. **Respiration; international review of thoracic diseases**, v. 84, n. 2, p. 101–7, jan. 2012.
- GUERREIRO, R.; SANTOS-COSTA, Q.; AZEVEDO-PEREIRA, J. M. AS QUIMIOCINAS E OS SEUS RECEPTORES Características e Funções Fisiológicas. **Acta Med Port**, v. 24, n. S4, p. 967–976, 2011.
- HAGEL, I. et al. Modulation of the allergic reactivity of slum children by helminthic infection. **Parasite Immunology**, v. 15, n. 6, p. 311–315, 1993.
- HARALDSEN, G. et al. Interleukin-33 - cytokine of dual function or novel alarmin? **Trends in immunology**, v. 30, n. 5, p. 227–33, maio 2009.
- HAWLADER, M. D. H. et al. Ascaris lumbricoids Infection as a Risk Factor for Asthma and Atopy in Rural Bangladeshi Children. **Tropical medicine and health**, v. 42, n. 2, p. 77–85, jun. 2014.
- HAYAKAWA, H. et al. Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. **The Journal of biological chemistry**, v. 282, n. 36, p. 26369–80, 7 set. 2007.
- HEGEWALD, J. et al. Cellular cytokine and chemokine responses to parasite antigens and fungus and mite allergens in children co-infected with helminthes and protozoa parasites. **Journal of inflammation (London, England)**, v. 12, p. 5, jan. 2015.
- HINTERMANN, E. et al. CXCL10 promotes liver fibrosis by prevention of NK cell mediated hepatic stellate cell inactivation. **Journal of Autoimmunity**, v. 35, n. 4, p. 424–435, 2010.
- HIRAHARA, K.; NAKAYAMA, T. CD4+ T-cell subsets in inflammatory diseases: Beyond the Th1/Th2 paradigm. **International Immunology**, v. 28, n. 4, p. 163–171, 2016.
- HOSOKI, K.; BOLDOGH, I.; SUR, S. Neutrophil recruitment by allergens contribute to allergic sensitization and allergic inflammation. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 16, n. 1, p. 45–50, 2016.
- HUMPHREYS, N. E. et al. IL-33, a Potent Inducer of Adaptive Immunity to Intestinal Nematodes. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 4, p. 2443–2449, 4 fev. 2008.
- HUNNINGHAKE, G. M. et al. Sensitization to Ascaris lumbricoides and severity of childhood asthma in Costa Rica. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 119, n. 3, p. 654–61, mar. 2007.
- IIKURA, M. et al. Chemokine receptors in human basophils: inducible expression of functional CXCR4. **J Leukoc Biol**, v. 70, n. 1, p. 113–120, 2001.
- IIKURA, M. et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 87, n. 10, p. 971–8, out. 2007.
- IKUTANI, M. et al. Emerging roles of IL-33 in inflammation and immune regulation. **Inflammation and Regeneration**, v. 35, n. 2, p. 69–77, 2015.
- JESUS, R. DE et al. Association of Type 2 Cytokines with Hepatic Fibrosis in Human Schistosoma mansoni Infection. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 6, p. 3391–3397,

2004.

JOSEPH, S. et al. Increases in human T helper 2 cytokine responses to *Schistosoma mansoni* worm and worm-tegument antigens are induced by treatment with praziquantel. **The Journal of infectious diseases**, v. 190, n. 4, p. 835–42, 15 ago. 2004.

KALENDA, Y. et al. Role of interleukin - 33 during *Schistosoma mansoni* infection ( MPF7P . 713 ). p. 2016, 2016.

KAMEKURA, R. et al. The role of IL-33 and its receptor ST2 in human nasal epithelium with allergic rhinitis. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 42, n. 2, p. 218–228, 2012.

KANEKO, Y. et al. Asthma phenotypes in Japanese adults - their associations with the CCL5 and ADRB2 genotypes. **Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 62, n. 1, p. 113–21, 2013.

KESKIN, O. et al. Exhaled RANTES and interleukin 4 levels after exercise challenge in children with asthma. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 109, n. 5, p. 303–308, 2012.

KLEIN, S. L.; FLANAGAN, K. L. Sex differences in immune responses. **Nature reviews. Immunology**, v. 16, n. 10, p. 626–638, 22 ago. 2016.

KO, F. W. S. et al. Decreased T-bet expression and changes in chemokine levels in adults with asthma. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 147, n. 3, p. 526–532, 2007.

KOHRGRUBER, N. et al. Plasmacytoid Dendritic Cell Recruitment by Immobilized CXCR3 Ligands. **Journal of Immunology**, v. 173, n. 11, p. 6592–6602, 2004.

KUNA, B. P. et al. Monocyte Chemotactic and Activating Factor Is a Potent Histamine-releasing Factor for Human Basophils. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 175, n. 2, p. 489–493, 1992.

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

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

LANGIER, S.; SADE, K.; KIVITY, S. Regulatory T Cells in Allergic Asthma. v. 14, n. march, p. 180–183, 2012.

LECHNER, C. J. et al. Cytokine and chemokine responses to helminth and protozoan parasites and to fungus and mite allergens in neonates, children, adults, and the elderly. **Immunity & ageing : I & A**, v. 10, n. 1, p. 29, 15 jul. 2013.

LEONARDI-BEE, J.; PRITCHARD, D.; BRITTON, J. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 174, n. 5, p. 514–23, 1 set. 2006.

LIANG, Y. et al. Gene profile of chemokines on hepatic stellate cells of schistosome-infected mice and antifibrotic roles of CXCL9/10 on liver non-parenchymal cells. **PLoS one**, v. 7, n. 8, p. e42490, jan. 2012.

LING, M. F.; LUSTER, A. D. Allergen-Specific CD4(+) T Cells in Human Asthma. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 13 Suppl 1, n. 16, p. S25-30, mar. 2016.

LYNCH, N. et al. Allergic reactivity and helminthic infection in Amerindians of the

- Amazon Basin. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v. 72, n. 4, p. 369–372, 1983.
- LYNCH, N. R. et al. Clinical Improvement of Asthma after Anthelmintic Treatment in a Tropical Situation. **AM J RESPIR CRIT CARE MED**, v. 156, n. 1, p. 50–54, 1997.
- LYNCH, N. R.; GOLDBLATT, J.; SOUËF, P. N. LE. Parasite infections and the risk of asthma and atopy. p. 659–660, 1999.
- MACHURA, E. et al. Selected CC and CXC chemokines in children with atopic asthma. **Postepy dermatologii i alergologii**, v. 33, n. 2, p. 96–101, abr. 2016.
- MARSHALL, J. S. Mast-cell responses to pathogens. **Nature reviews. Immunology**, v. 4, n. 10, p. 787–99, out. 2004.
- MATERA, G. et al. Ascaris lumbricoides-induced suppression of total and specific IgE responses in atopic subjects is interleukin 10-independent and associated with an increase of CD25(+) cells. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 62, n. 3, p. 280–6, nov. 2008.
- MCSORLEY, H. J. et al. Blockade of IL-33 release and suppression of type 2 innate lymphoid cell responses by helminth secreted products in airway allergy. **Mucosal immunology**, v. 7, n. 5, p. 1068–78, set. 2014.
- MEDEIROS, D. et al. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 4, p. 255–259, ago. 2006.
- MEDEIROS, M. 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, maio 2003.
- METZ, M.; MAURER, M. Mast cells--key effector cells in immune responses. **Trends in immunology**, v. 28, n. 5, p. 234–41, maio 2007.
- MONCAYO, A. L. et al. Risk factors for atopic and non-atopic asthma in a rural area of Ecuador. **Thorax**, v. 65, n. 5, p. 409–16, maio 2010.
- MONCAYO, A-L. et al. Effects of geohelminth infection and age on the associations between allergen-specific IgE, skin test reactivity and wheeze: a case-control study. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 43, n. 1, p. 60–72, jan. 2013.
- MULLER, G. C. et al. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels are associated with clinical severity in school age children with asthma. **Clin Exp Allergy**, v. 40, n. 12, p. 1755–1759, 2010.
- MURDOCH, C.; FINN, A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. **Blood**, v. 95, n. 10, p. 3032–43, 2000.
- MURDOCH, J. R.; LLOYD, C. M. Chronic inflammation and asthma. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 690, n. 1–2, p. 24–39, 2010.
- NAKAYA, I. et al. Blockade of IP-10/CXCR3 promotes progressive renal fibrosis. **Nephron - Experimental Nephrology**, v. 107, n. 1, p. 2–3, 2007.
- NAUSCH, N. et al. Regulatory and activated T cells in human Schistosoma haematobium infections. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, 2011.
- NAVARRO, S. et al. Hookworm recombinant protein promotes regulatory T cell responses that suppress experimental asthma. **Science translational medicine**, v. 8, n. 362, p. 362ra143, 26 out. 2016.

- NEUENSCHWANDER, C. et al. Cytokine profile associated with chronic and acute human schistosomiasis mansoni. v. 103, n. September, p. 561–568, 2008.
- O'CONNELL, D. et al. IFN $\gamma$ -induced JAK/STAT, but not NF $\kappa$ B, signaling pathway is insensitive to glucocorticoid in airway epithelial cells. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 309, n. 4, p. L348-NaN-359, 2015.
- OBIHARA, C. C. et al. Respiratory atopic disease , Ascaris-immunoglobulin E and tuberculin testing in urban South African children *Clinical and Experimental Allergy*. **Clinical and Experimental Allergy**, p. 640–648, 2006.
- OKADA, H. et al. The “hygiene hypothesis” for autoimmune and allergic diseases: an update. **Clinical and experimental immunology**, v. 160, n. 1, p. 1–9, abr. 2010.
- OLIVEIRA, S. H. P.; LUKACS, N. W. The role of chemokines and chemokine receptors in eosinophil activation during inflammatory allergic reactions. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 11, p. 1455–1463, 2003.
- OLIVEIRA, S. M. DE et al. Association between allergic responses and Schistosoma mansoni infection in residents in a low-endemic setting in Brazil. **revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 770–774, 2014.
- OSHIKAWA, K. et al. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 164, n. 2, p. 277–281, 2001.
- PALMER, L. J. et al. Ascaris lumbricoides infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 165, n. 11, p. 1489–93, 1 jun. 2002.
- PALMQVIST, C.; WARDLAW, A. J.; BRADDING, P. Chemokines and their receptors as potential targets for the treatment of asthma. **British Journal of Pharmacology**, v. 151, n. 6, p. 725–736, 2007.
- PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. **Nature reviews. Immunology**, v. 2, n. 7, p. 499–511, jul. 2002.
- PENG, H. et al. IL-33 Contributes to Schistosoma japonicum-induced Hepatic Pathology through Induction of M2 Macrophages. **Scientific reports**, v. 6, n. May, p. 29844, 21 jul. 2016.
- PERNAMBUCO, S. E. DE S. S. E. DE V. EM S. **Plano Integrado de Ações para o Enfretamento às Doenças Negligenciadas no Estado de Pernambuco/ SANAR – 2015 - 2018**. Recife, Brazil: [s.n.].
- PONTE, E. et al. Skin test reactivity and Der p-induced interleukin 10 production in patients with asthma or rhinitis infected with Ascaris. **Ann Allergy Asthma Immunol.**, v. 96, n. 5, p. 713–718, 2006.
- PYNN, M. C.; THORNTON, C. A.; DAVIES, G. A. Asthma Pathogenesis. **Pulmão**, v. 21, n. 2, p. 11–17, 2012.
- RADMAN, M. et al. Serum levels of the CC chemokines CCL2, CCL5, and CCL11 in food allergic children with different clinical manifestations. **Inflammation**, v. 36, n. 3, p. 561–6, jun. 2013.
- RAUNDHAL, M. et al. High IFN- $\gamma$  and low SLPI mark severe asthma in mice and humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 8, p. 3037–3050, 2015.
- ROMAGNANI, S. Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation. **Molecular**

**Immunology**, v. 38, n. 2001, p. 881–885, 2002.

ROSARIO-FILHO, N. A. et al. Pediatric allergy and immunology in Brazil. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 24, n. 4, p. 402–409, 2013.

ROSE, C. E.; SUNG, S.-S. J.; FU, S. M. Significant Involvement of CCL2 (MCP-1) in Inflammatory Disorders of the Lung. **Microcirculation**, v. 10, n. 3–4, p. 273–288, 2003.

RUJENI, N. et al. Atopy is inversely related to schistosome infection intensity: a comparative study in Zimbabwean villages with distinct levels of *Schistosoma haematobium* infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 158, n. 3, p. 288–98, jan. 2012.

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

SAIMAN, Y.; FRIEDMAN, S. L. The role of chemokines in acute liver injury. **Frontiers in physiology**, v. 3, n. June, p. 213, jan. 2012.

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

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–1047, 2008a.

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–6.e1, abr. 2008b.

SAUCHA, C. V. V.; SILVA, J. A. M. DA; AMORIM, L. B. Condições de saneamento básico em áreas hiperendêmicas para esquistossomose no estado de Pernambuco em 2012. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 497–506, set. 2015.

SCHMITZ, J. et al. IL-33, an Interleukin-1-like Cytokine that Signals via the IL-1 Receptor-Related Protein ST2 and Induces T Helper Type 2-Associated Cytokines. **Immunity**, v. 23, n. 5, p. 479–490, nov. 2005.

SHALABY, N. M.; SHALABY, N. M. Effect of *Ascaris lumbricoides* infection on T helper cell type 2 in rural Egyptian children. **Therapeutics and clinical risk management**, v. 12, p. 379–385, 2016.

SHANG, Y.; SMITH, S.; HU, X. Role of Notch signaling in regulating innate immunity and inflammation in health and disease. **Protein and Cell**, v. 7, n. 3, p. 159–174, 2016.

SHAW, A. C.; GOLDSTEIN, D. R.; MONTGOMERY, R. R. Age-dependent dysregulation of innate immunity. **Nat Rev Immunol**, v. 13, n. 12, p. 875–887, 2014.

SILVA, M. T. N.; ANDRADE, J.; TAVARES-NETO, J. Asthma and ascariasis in children aged two to ten living in a low income suburb. v. 79, n. 3, p. 227–232, 2003.

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

SMITH, P. et al. *Schistosoma mansoni* secretes a chemokine binding protein with

- antiinflammatory activity. **The Journal of experimental medicine**, v. 202, n. 10, p. 1319–25, 21 nov. 2005.
- SMITS, H. H. et al. Chronic helminth infections protect against allergic diseases by active regulatory processes. **Current allergy and asthma reports**, v. 10, n. 1, p. 3–12, jan. 2010.
- SOLÉ, D. et al. Prevalence of asthma and allergic diseases in adolescents: nine-year follow-up study (2003-2012). **Jornal de pediatria**, v. 91, n. 1, p. 30–5, 2015.
- SOUSA, R. B. et al. Risk factors for recurrent wheezing in infants: a case-control study. **Revista de saude publica**, v. 50, n. 1, p. 1–8, 2016.
- SOUZA, A. L. S. et al. The role of chemokines in *Schistosoma mansoni* infection: insights from human disease and murine models. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. Suppl.I, p. 333–338, 2006.
- SOUZA, V. M. O. et al. Produção de IL-10 em resposta a aeroalérgenos em crianças e adolescentes de zona urbana com geohelmintíases. **rev bras alerg imunopatol**, p. 54–58, 2009.
- STRINA, A. et al. Risk factors for non-atopic asthma/wheeze in children and adolescents: a systematic review. **Emerging Themes in Epidemiology**, v. 11, n. 5, p. 1–11, 2014.
- SUN, B. Q. et al. Allergy-related evidences in relation to serum IgE: data from the China state key laboratory of respiratory disease, 2008-2013. **Biomedical and environmental sciences : BES**, v. 27, n. 7, p. 495–505, jul. 2014.
- SUZUKAWA, M. et al. Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 88, n. 11, p. 1245–53, nov. 2008.
- TACKE, F. et al. Serum chemokine receptor CXCR3 ligands are associated with progression, organ dysfunction and complications of chronic liver diseases. **Liver Int**, v. 31, n. 6, p. 840–849, 2011.
- TAGER, A. M. et al. Inhibition of pulmonary fibrosis by the chemokine IP-10/CXCL10. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 31, n. 4, p. 395–404, out. 2004.
- TAKEUCHI, H. et al. High titre of anti-*Ascaris* immunoglobulin E associated with bronchial asthma symptoms in 5-year-old rural Bangladeshi children. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 38, n. 2, p. 276–82, fev. 2007.
- TAO, B. et al. Imbalance of Peripheral Th17 and Regulatory T Cells in Children with Allergic Rhinitis and Bronchial Asthma. v. 14, n. June, p. 273–279, 2015.
- TEODÓSIO, V. 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. **World Allergy Organization Journal**, v. 8, n. Suppl 1, p. A241, 2015.
- VALMONTE, G. R.; CAUYAN, G. A.; RAMOS, J. D. A. IgE cross-reactivity between house dust mite allergens and *Ascaris lumbricoides* antigens. **Asia Pac Allergy**, v. 2, n. 1, p. 35–44, 2012.
- VAN DER VLUGT, L. E. P. M. et al. Interleukin 10 (IL-10)-producing CD1d<sup>hi</sup> regulatory B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines. **Journal of Infectious Diseases**,

v. 210, n. 8, p. 1207–1216, 2014.

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

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

WASMUTH, H. et al. Antifibrotic effects of CXCL9 and its receptor CXCR3 in livers of mice and humans. **Gastroenterology**, v. 137, n. 1, p. 309–319, 2009.

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

WATANABE, L. A. et al. Comparison between ImmunoCAP® and skin prick test for evaluation of IgE-mediated cow's milk allergy in children. **Revista Brasileira de Alergologia e Imunopatologia**, v. 33, n. 6, p. 224–228, 2010.

WILSON, M. S. et al. Immunopathology of schistosomiasis. **Immunology and cell biology**, v. 85, n. 2, p. 148–54, 2007.

WILSON, S. et al. A late IL-33 response after exposure to *Schistosoma haematobium* antigen is associated with an up-regulation of IL-13 in human eosinophils. **Parasite immunology**, v. 35, n. 7–8, p. 224–8, jul. 2013.

WOODFOLK, J. A. Cytokines as a therapeutic target for allergic diseases: a complex picture. **Curr Pharm Des**, v. 12, n. 19, p. 2349–2363, 2006.

WYNN, T. A. et al. Immunopathogenesis of schistosomiasis. v. 201, p. 156–167, 2004.

XIE, M. et al. IL-27 and type 2 immunity in asthmatic patients: Association with severity, CXCL9, and signal transducer and activator of transcription signaling. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 2, p. 386–394.e5, fev. 2015.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, p. 5743–5750, 2010a.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, n. 10, p. 5743–50, 15 nov. 2010b.

YAMAGUCHI, M. et al. Human basophils and cytokines/chemokines. **Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 58, n. 1, p. 1–10, mar. 2009.

YU, Y.; DENG, W.; LEI, J. Interleukin-33 promotes Th2 immune responses in infected mice with *Schistosoma japonicum*. **Parasitology research**, v. 114, n. 8, p. 2911–8, ago. 2015.

ZHANG, J.; PATEL, L.; PIENTA, K. Targeting chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) as an example of translation of cancer molecular biology to the clinic. **Prog Mol Biol Transl Sci.**, v. 95, n. 31–53, 2010.

**Tabela 1:** Distribuição das variáveis socioeconômicas entre os pacientes alérgicos infectados (A-I), alérgicos não infectados (A-NI), não alérgicos infectados (NA-I) e não alérgicos não infectados (NA-NI).

Variável	A-I N (%)	A-NI N (%)	NA-I N (%)	NA-NI N (%)	TOTAL N (%)	OR (IC-95%)	Valor de p
<b>Gênero</b>	19 (11,1)	27 (15,8)	90 (52,6)	35 (20,5)	171(100)	<b>0,274 (0,135-0,554)</b>	<b>&lt;0,0001*</b>
<i>Masculino</i>	8 (10,2)	13 (16,7)	44 (56,4)	13 (16,7)	78 (45,6)	0,760 (0,280 – 2,067)	0,389
<i>Feminino</i>	11 (11,8)	14 (15,0)	46 (49,5)	22 (23,7)	93 (54,4)	1,571 (0,567 – 4,357)	0,270
<b>Idade</b>							
<i>≤20 anos</i>	3 (5,5)	12 (22,2)	28 (51,9)	11 (20,4)	54 (31,6)	<b>0,135 (0,021 – 0,683)</b>	<b>0,006*</b>
<i>≥21 anos</i>	10 (8,5)	5 (4,3)	68 (58,1)	34 (29,1)	117 (68,4)	1,271 (0,569 – 2,95)	0,286
<b>História familiar de alergia</b>							
<i>Sem alergia</i>	19 (15,7)	9 (7,4)	72 (59,5)	21 (17,4)	121 (70,8)	1,229 (1,120 – 1,348)	0,369
<i>Pai</i>	0 (0)	4 (50,0)	1 (10,0)	3 (40,0)	8 (4,7)	-	-
<i>Mãe</i>	0 (0)	11 (47,8)	5 (21,7)	7 (30,5)	23 (13,4)	<b>3,405 (1,058 – 10,956)</b>	<b>0,036*</b>
<i>Irmão</i>	0 (0)	9 (45,0)	6 (30,0)	5 (25,0)	20 (1,2)	-	-
<i>NSI</i>	-	4 (50,0)	2 (25,0)	2 (25,0)	8 (4,7)	-	-
<b>Escolaridade materna</b>							
<i>Ensino I<sup>#</sup></i>	14 (13,6)	8 (7,8)	70 (68,0)	11 (10,6)	103 (60,2)	0,800 (0,257 – 2,490)	0,452
<i>Ensino II<sup>#</sup></i>	5 (7,3)	19 (28,0)	20 (29,4)	24 (35,3)	68 (39,8)	0,919 (0,308 – 2,737)	0,552
<b>Renda familiar</b>							
<i>Renda I<sup>#</sup></i>	18 (12,4)	19 (13,1)	83 (57,2)	25 (17,3)	145 (84,8)	1,518 (0,176 – 13,116)	0,578
<i>Renda II<sup>#</sup></i>	1 (5,0)	4 (20,0)	7 (35,0)	8 (40,0)	20 (11,7)	1,520 (0,398 – 5,807)	0,393
<i>NSI</i>	-	4 (66,7)	-	2 (33,3)	6 (3,5)	-	-
<b>Tabagismo Passivo</b>							
<i>Sim</i>	13(19,4)	6 (9,0)	41 (61,2)	7 (10,4)	67 (39,2)	2,589 (0,904 – 7,418)	0,059
<i>Não</i>	6 (5,8)	21 (20,2)	49 (47,1)	28 (26,9)	104 (60,8)	1,143 (0,335 – 3,904)	0,537
<b>IgE Total</b>							
<i>≥ 250 kU/L</i>	10 (9,7)	9 (8,7)	71 (68,9)	13 (12,7)	103 (64,0)	<b>0,207 (0,068 – 0,622)</b>	<b>0,002*</b>
<i>&lt; 250 kU/L</i>	9 (15,5)	14 (24,1)	17 (29,3)	18 (31,1)	58 (36,0)	0,685 (0,227 – 2,012)	0,248
<i>Média (±DP)</i>	1507 (±1973)	482,8 (±809,6)	1567 (±1639)	773,6 (±1250)	-	-	<b>0,005§</b>
<i>Mediana (Min - Máx)</i>	306 (0,0 - 5000)	111 (6,3 - 3325)	865 (3,8 - 5000)	190 (2,9 - 5000)	-	-	
<b>IgE anti-Blomia</b>							
<i>≥ 0,35 kU/L</i>	11 (13,4)	14 (21,9)	39 (47,6)	14 (17,1)	78 (48,4)	<b>0,287 (0,102 – 0,781)</b>	<b>0,007*</b>
<i>&lt;0,35 kU/L</i>	8 (9,7)	9 (10,8)	49 (59,0)	17 (20,5)	83 (51,6)	<b>0,313 (0,100 – 0,960)</b>	<b>0,021*</b>
<i>Média (±DP)</i>	4,9 (16,6)	13,6 (28,6)	3,0 (8,4)	3,6 (11,8)	-	-	<b>0,020§</b>
<i>Mediana (Min - Máx)</i>	0,49 (0 – 73,2)	0,5 (0 - 100)	0,28 (0 – 45,2)	0,24 (0 – 67,3)	-	-	
<b>IgE anti-Asc</b>							
<i>≥ 0,35 kU/L</i>	10 (10,3)	11 (11,3)	62 (63,9)	14 (14,5)	97 (60,2)	<b>0,209 (0,072 – 0,595)</b>	<b>0,001*</b>
<i>&lt;0,35 kU/L</i>	9 (14,1)	12 (18,7)	26 (40,7)	17 (26,5)	64 (39,8)	0,496 (0,166 – 1,443)	0,099
<i>Média (±DP)</i>	2,7 (4,99)	0,67 (1,19)	4,56 (8,49)	1,42 (3,13)	-	-	<b>0,028§</b>
<i>Mediana (Min - Máx)</i>	0,62 (0,01 – 19,7)	0,3 (0- 5,42)	1,38 (0,01 – 45,6)	0,21 (0,01 – 16,7)	-	-	

# Ensino I: Corresponde indivíduos que não estudaram até o segundo grau incompleto; Ensino II: Corresponde a indivíduos com segundo grau completo e ensino superior; NSI: Não soube informar; Renda I: Meio salário mínimo até dois; Renda II: 3 ou mais salários mínimos. \* Foi aplicado o teste estatístico do  $\chi^2$  com o teste exato de Fisher. § Diferença significativa quando  $p < 0,05$  pela análise estatística com o teste t de Student e pelo método de Mann-Whitney.

**Tabela 2:** Frequência dos sintomas relacionados à asma e a rinite alérgica e análise de risco em indivíduos alérgicos infectados e não infectados.

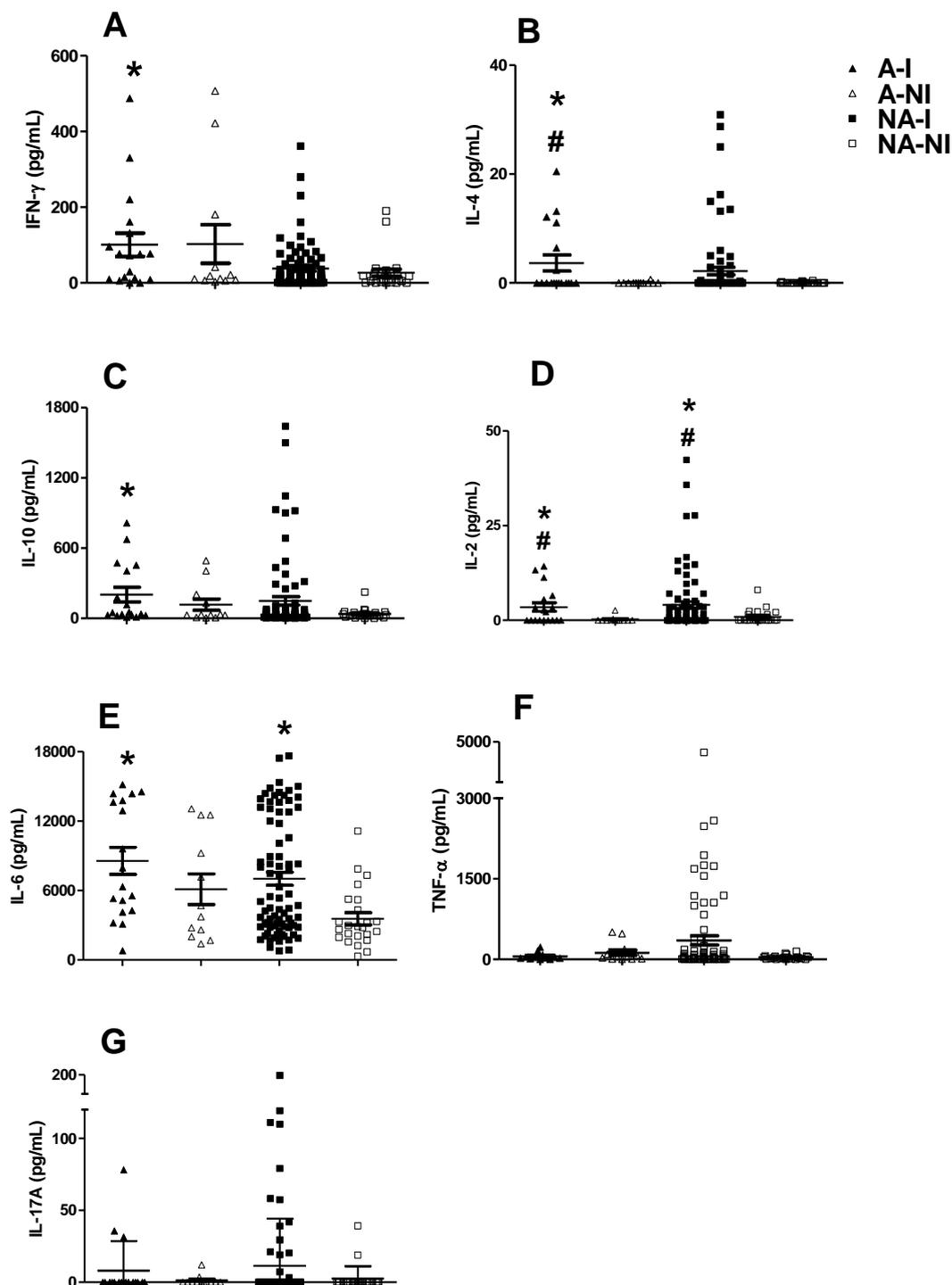
		Alérgicos		Total n (%) n=46 (100)	OR (IC 95%)	p Value	
		Infectados n (%) n=19 (41,3)	Não infectados n (%) n=27 (58,7)				
Asma	Número de Crises	<i>Nenhuma crise</i>	11 (57,9)	7 (26,0)	18 (39,1)	3.053 (0.853 – 11.60)	0.086
		<i>Presença de crises</i>	8 (42,1)	16 (59,2)	24 (52,2)		
		<i>NSI*</i>	-	4 (14,8)	4 (8,7)		
	Sono perturbado durante a noite	<i>Nunca acordou</i>	12 (63,2)	14 (51,9)	26 (56,5)	1.099 (0.306 – 4.023)	0.443
		<i>Acorda a noite</i>	7 (36,8)	9 (33,3)	16 (34,8)		
		<i>NSI*</i>	-	4 (14,8)	4 (8,7)		
	Dificuldade para falar durante as crises	<i>Sim</i>	4 (44,4)	5 (55,6)	9 (19,6)	0.960 (0.196 – 4.470)	0.482
		<i>Não</i>	15 (45,4)	18 (54,6)	33 (71,7)		
		<i>NSI*</i>	-	4 (100)	4 (8,7)		
	Chiado no peito após exercício físico	<i>Sim</i>	6 (54,6)	5 (45,4)	11 (23,9)	1.641 (0.395 – 7.058)	0.248
		<i>Não</i>	13 (41,9)	18 (58,1)	31 (67,4)		
		<i>NSI*</i>	-	4 (100)	4 (8,7)		
Tosse seca a noite	<i>Sim</i>	7 (30,4)	16 (69,6)	23 (50,0)	<b>0.264</b> <b>(0.068 – 0.953)</b>	<b>0.020</b>	
	<i>Não</i>	12 (63,2)	7 (36,8)	19 (41,3)			
	<i>NSI*</i>	-	4 (100)	4 (8,7)			
Rinite	Espirros com lacrimejamento	<i>Sim</i>	9 (40,9)	13 (59,1)	22 (47,8)	0.698 (0.198 – 2.418)	0.286
		<i>Não</i>	10 (50,0)	10 (50,0)	20 (43,5)		
		<i>NSI*</i>	-	4 (100)	4 (8,7)		
	Quanto a Rinite atrapalha	<i>Nada</i>	12 (50,0)	12 (50,0)	24 (52,2)	-	-
		<i>Um pouco</i>	5 (55,6)	4 (44,4)	9 (19,7)	-	-
		<i>Moderado</i>	0 (0)	3 (100)	3 (6,4)	-	-
	<i>Muito</i>	2 (33,3)	4 (66,7)	6 (13,0)	-	-	
	<i>NSI*</i>	-	4 (100)	4 (8,7)	-	-	

\* NSI: Não souberam informar.

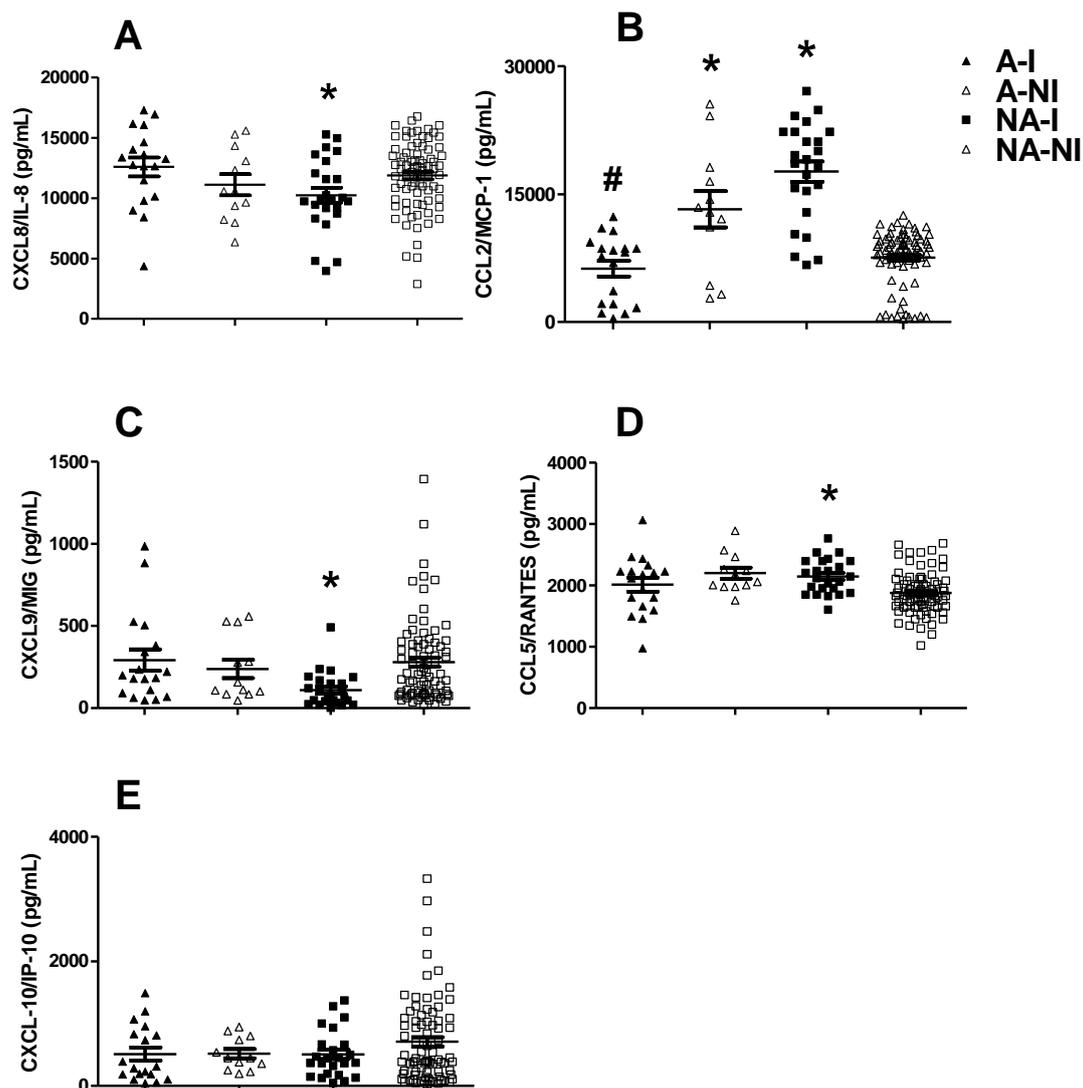
**Tabela 3:** Distribuição das frequências, entre os indivíduos alérgicos e não alérgicos, das variáveis socioeconômicas e biológicas e análise univariada e multivariada logística.

		Alérgicos 46 (26,9%)	Não Alérgicos 125 (73,1%)	Total 171 (100)	Análise Univariada		Análise multivariada* Modelo 1		Análise multivariada# Modelo 2	
					OR (IC 95%)	p Value	OR ajustado (IC 95%)	p Value	OR ajustado (IC 95%)	p Value
<b>Gênero</b>										
	<i>Masculino</i>	21 (26,9)	57 (73,1)	78 (45,6)	1,002	0,995	-	-	-	-
	<i>Feminino</i>	25 (26,9)	68 (73,1)	93 (54,4)	(0,508 – 1,975)		-	-	-	-
<b>Idade</b>										
	$\leq 20$ anos	19 (35,2)	35 (64,8)	54 (31,6)	1,81	0,099	-	-	-	-
	$\geq 21$ anos	27(23,1)	90 (76,9)	117 (68,4)	(0,89 – 3,66)		-	-	-	-
<b>Histórico Alergia da Mãe</b>										
	<i>Sim</i>	11 (47,8)	12 (52,2)	23 (14,1)	<b>3,22</b>	<b>0,012</b>	-	-	-	-
	<i>Não</i>	31 (22,1)	109 (77,9)	140 (85,9)	<b>(1,3 – 8,01)</b>		-	-	-	-
<b>Infecção <i>S. mansoni</i></b>										
	<i>Sim</i>	19 (17,4)	90 (82,6)	109 (63,7)	<b>0,27</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,37</b>	<b>0,014</b>	-	-
	<i>Não</i>	27 (43,5)	35 (56,5)	62 (36,3)	<b>(0,14 – 0,55)</b>		<b>(0,17 – 0,82)</b>		-	-
<b>Carga <i>S. mansoni</i></b>										
	$\geq 200$ O.P.G.	19 (18,4)	84 (81,6)	103 (61,3)	<b>0,32</b>	<b>0,001</b>	<b>0,44</b>	<b>0,042</b>	-	-
	$< 200$ O.P.G.	27 (41,6)	38 (58,4)	65 (38,7)	<b>(0,16 – 0,64)</b>		<b>(0,20 – 0,97)</b>		-	-
<b>Escolaridade materna</b>										
	<i>Escolaridade I</i> <sup>§</sup>	22 (21,4)	81 (78,6)	103 (60,2)	<b>0,5</b>	<b>0,046</b>	0,53	0,099	0,73	0,462
	<i>Escolaridade II</i> <sup>§</sup>	24 (35,3)	44 (64,7)	68 (39,8)	<b>(0,25 – 0,99)</b>		(0,25 – 1,12)		(0,32 – 1,68)	
<b>Renda</b>										
	$\leq 1$ salário mínimo	37 (25,5)	108 (74,5)	145 (87,9)	1,03	0,96	0,94	0,911	1,30	0,657
	$> 1$ salário mínimo	5 (25,0)	15 (75,0)	20 (12,1)	(0,35 – 3,02)		(0,31 – 2,85)		(0,41 – 4,13)	
<b>Tabagismo passivo</b>										
	<i>Sim</i>	19 (28,3)	48 (71,7)	67 (39,2)	1,13	0,73	1,34	0,441	1,87	0,129
	<i>Não</i>	27 (26,0)	77 (74,0)	104 (60,8)	(0,57 – 2,25)		(0,64 – 2,80)		(0,83 – 4,21)	
<b>IgE anti-<i>Blomia</i></b>										
	<i>Sim</i>	25 (32,5)	52 (67,5)	77 (47,5)	1,92	0,073	2,06	0,066	1,99	0,086
	<i>Não</i>	17 (20,0)	68 (80,0)	85 (52,5)	(0,94 – 3,93)		(0,95 – 4,47)		(0,91 – 4,37)	
<b>IgE anti-<i>Asc</i></b>										
	<i>Sim</i>	21 (21,4)	77 (78,6)	98 (60,5)	0,56	0,108	0,51	0,121	0,59	0,227
	<i>Não</i>	21 (32,8)	43 (67,2)	64 (39,5)	(0,27 – 1,14)		(0,22 – 1,19)		(0,25 – 1,39)	
<b>Eosinófilos</b>										
	$\leq 500$ céls/mm <sup>3</sup>	18 (34,0)	35 (66,0)	53 (34,2)	1,77	0,129	1,74	0,190	1,96	0,127
	$> 500$ céls/mm <sup>3</sup>	23 (22,5)	79 (77,5)	102 (65,8)	(0,85 – 3,68)		(0,76 – 3,99)		(0,83 – 4,66)	

\* Análise multivariada logística ajustada pelo sexo, idade e histórico de alergia da mãe. # Análise multivariada logística ajustada pelo sexo, idade, histórico de alergia da mãe e infecção pelo *S. mansoni*. §Escolaridade I: Analfabeto até ensino fundamental completo; Escolaridade II: Ensino médio incompleto até superior completo.



**Figura 1:** Níveis das citocinas IL-2 (A), IL-4 (B), IL-6 (C), TNF-alfa (D), IL-10 (E), IFN-gama (F) e IL-17A (G) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de indivíduos alérgicos infectados com *S. mansoni* (A-I) ( $n=18$ ), alérgicos e não infectados (A-NI) ( $n=12$ ), não alérgicos e infectados com *S. mansoni* (NA-I) ( $n=81$ ), e não alérgicos e não infectados NA-NI ( $n=24$ ). Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney para comparação das medianas entre os grupos. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo NA-NI. #  $p < 0,05$  em relação aos grupos A-NI.



**Figura 2:** Níveis de quimiocinas IP-10/CXCL10(A), MCP/CCL2(B), MIG/CXCL9 (C), RANTES/CCL5 (D) e IL-8/CXCL8 (E) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de indivíduos alérgicos infectados com *S. mansoni* (A-I) ( $n=18$ ), alérgicos e não infectados (A-NI) ( $n=12$ ), não alérgicos e infectados com *S. mansoni* (NA-I) ( $n=81$ ), e não alérgicos e não infectados NA-NI ( $n=24$ ). Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo NA-NI. #  $p < 0,05$  em relação aos grupos A-NI e NA-I.

#### 5.4 IL-33, seu receptor solúvel ST2 e quimiocinas na modulação da asma/rinite alérgica em hospedeiros infectados por geohelmintos

##### INTRODUÇÃO

Segundo a hipótese da higiene, o contato com as infecções helmínticas no início da vida modulam negativamente a intensidade das reações alérgicas (OKADA et al., 2010). A infecção por ancilostomídeos levou a redução significativa do risco para asma (LEONARDI-BEE; PRITCHARD; BRITTON, 2006) e a ascariíases teve efeito protetor para sensibilização cutânea ao alérgeno (FEARY; BRITTON; LEONARDI-BEE, 2011). Além de resposta do perfil Th2, durante a infecção pelos geohelmintos ocorre geração de células T regulatórias (Treg) e produção de citocina imunossupressoras como IL-10 e TGF- $\beta$  (MATERA et al., 2008) que podem suprimir a resposta Th2 (IL-4, IL-5, IL-13 e IgE) para o alérgeno levando à menor gravidade dos sintomas (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2014; SMITS et al., 2010). Contudo, foi demonstrado que há risco de aumento e gravidade dos sintomas em indivíduos com asma em área endêmica para parasitoses (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010; COOPER et al., 2003; PALMER et al., 2002). Leonardi-Bee e colaboradores (2006) demonstraram que a infecção pelo *Ascaris lumbricoides* aumentou significativamente o risco para asma e os anticorpos IgE anti-*Ascaris* estiveram associados ao sibilos (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010). Da mesma forma, infecção pelo *Trichuris trichiura* levou a maior gravidade da asma atópica (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010). No Brasil, Silva e colaboradores (2003), não evidenciaram associação entre a asma e a infecção pelo *A. lumbricoides* (SILVA; ANDRADE; TAVARES-NETO, 2003). Estas controvérsias parecem ser dependentes da carga de infecção. Em crianças com baixa carga parasitária a asma foi atenuada, porém a alta carga parasitária elevou a prevalência de asma e seus sintomas (BRAGAGNOLI; SILVA, 2014; SHALABY; SHALABY, 2016). O poliparasitismo parece também influenciar positivamente a intensidade da resposta Th2 (IL-5, IL-13, IL-10, eosinófilos e IgE total) e o potencial de imunossupressão pela produção de IL-10 (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2014; BÖHM et al., 2015; COOPER et al., 2015; FIGUEIREDO et al., 2016b), porém pouco é sabido sobre quimiocinas e citocinas envolvidas com a resposta imune inata neste cenário.

A gravidade da asma tem marcante participação de citocinas do perfil Th2 (IL-2, IL-4, IL-5) (VON MUTIUS, 2002), mas também existe a participação das citocinas pró-

inflamatórias IL-6 e TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (BABU et al., 2011; GRUBEK-JAWORSKA et al., 2012; O'CONNELL et al., 2015; RAUNDHAL et al., 2015). Enquanto a IL-10 está envolvida com o controle das reações alérgica (BARNES, 2008; HOSOKI; BOLDOGH; SUR, 2016), e a IL-17 pode aumentar a gravidade (ALCORN; CROWE; KOLLS, 2010; GIBSON; SIMPSON; SALTOS, 2001; TAO et al., 2015).

Ainda em relação as citocinas, a IL-33 vem sendo considerada como indutora de resposta Th2. A IL-33 é constitutivamente expressa em células epiteliais e endoteliais (CARR et al., 2016; KAMEKURA et al., 2012), liga-se no receptor ST2/IL-1R4 em mastócitos, basófilos e eosinófilos (aumentando produção de IL-5 e IL-13), macrófagos e células dendríticas (HARALDSEN et al., 2009; SAKASHITA et al., 2008; SCHMITZ et al., 2005). Em indivíduos asmáticos e riníticos foram observados a altos níveis séricos de IL-33 (KUROWSKA-STOLARSKA et al., 2008; YAGAMI et al., 2010b). Em acordo, foi demonstrado que o ST2 solúvel, quando presente no soro de indivíduos asmáticos, pode atuar neutralizando a atividade biológica da IL-33 nas doenças alérgicas (HARALDSEN et al., 2009; HAYAKAWA et al., 2007; OSHIKAWA et al., 2001).

Na infecção helmíntica, em modelo de infecção murina com o nematódea *Trichuris muris*, foi demonstrado que o RNAm da IL-33 é expresso precocemente, ajudar a suprimir a resposta Th1, e na produção de IL-4, IL-9 e IL-13 contribuindo na eliminação do parasito (HUMPHREYS et al., 2008). Em outro estudo experimental a administração de antígenos secretórios do *Heligmosomoides Polygyrus* reduziu os níveis de IL-33 (MCSORLEY et al., 2014). Em crianças poliparasitadas com geohelmintos, mas incluindo schisto e protozoário, foi relatado aumento na produção de IL-33 (HEGEWALD et al., 2015; LECHNER et al., 2013).

A respeito das quimiocinas, a CCL11/Eotaxina, CCL5/RANTES e CCL2/MCP-1 desempenham o papel de quimiotaxia de eosinófilos, basófilos e mastócitos (ROMAGNANI, 2002). Do contrário as quimiocinas CXCL9 e CXCL10, que são induzidas pelo IFN- $\gamma$ , atuam via o receptor CXCR3 e contribuem com amplificação da resposta Th1 (BONACCHI et al., 2001; GANGUR; SIMONS; HAYGLASS, 1998; ROMAGNANI, 2002; WASMUTH et al., 2009). Nas infecções helmínticas, estudo em camundongos revelou o requerimento da CCL2 na manutenção de resposta Th2 na expulsão do verme. (DESCHOOLMEESTER et al., 2003). Em humanos foi investigado os níveis das quimiocinas de CXCL5, CXCL9 e CXCL11 diretamente no plasma de indivíduos infectados com *Ascaris lumbricoides*, sendo observada uma maior produção da CXCL9 e CXCL11 (ASEMOTA et al., 2014)

Portanto, devido às controvérsias na relação de proteção ou risco das infecções por geohelmintos em doenças alérgicas, objetivou-se investigar sobre os níveis da expressão de RNAm de IL-33 e sST2, quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, e CXCL10/IP-10, bem como, das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  em indivíduos infectados por geohelmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e Ancylostomídeos).

## MÉTODOS

### Desenho do estudo e formação dos grupos de comparação

Realizou-se um estudo epidemiológico de corte transversal aninhado a um caso-controle em área urbana do Nordeste, Brasil (municípios Ilha de Itamaracá e Cabo de Santo Agostinho-PE). O estudo investigou a produção de citocinas, quimiocinas e a expressão do RNAm da IL-33 e do sST2 em indivíduos com asma e/ou rinite e infectados por geohelmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e Ancylostomídeos). Os indivíduos que aderiram ao projeto assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O estudo foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz (CAAE: 22822813.3.0000.5190).

Foram incluído no estudo crianças com idade entre 2 e 16 anos; ambos os gêneros. Utilizou-se como critério de classificação para a asma alérgica a resposta sim para as perguntas: “*a criança teve sibilo no último ano?*” e a “*criança tem asma alérgica?*”, e para a rinite alérgica a resposta afirmativa para a pergunta “*se a criança teve problemas com espirro e coriza no último ano sem estar gripada?*”. Dessa forma os indivíduos foram classificados como alérgicos (asma e/ou rinite). Amostras de fezes foram coletadas e submetidas a exames parasitológicos (Hoffman, Pons e Janer e Kato-Katz). Os critérios de exclusão foram: apresentar positividade para protozoários ou outros helmintos; adolescentes gestantes; ter realizado tratamento com anti-helmíntico até seis meses antes da coleta de fezes; e indivíduos com outras doenças respiratórias (hipertrofia adenoideanas, insuficiência respiratória crônica causada por: fungos, bactérias e vírus) concomitante com asma ou rinite.

Durante a realização do inquérito parasitológico foram cadastradas 574 crianças, mas 368 responderam o questionário ISAAC e realizaram os exames parasitológicos.

Destas, 275 se encaixaram nos critérios de exclusão ou houve perdas ao longo do estudo. Desta forma, foram formados quatro grupos de estudos: (1) indivíduos alérgicos e infectados com geohelminhos (AI-GEO); (2) indivíduos não alérgicos e infectados por geohelminhos (NAI-GEO); (3) indivíduos alérgicos não infectados (ANI); e (4) indivíduos não alérgicos e não infectados (NANI). O esquema de seleção dos indivíduos do caso-controle está descrito na figura 1. Após coleta de sangue, foi realizada a contagem de eosinófilos por hemograma (LH 750 - Beckman Coulter) e no soro a dosagem de IgE total e IgE anti-*Asc* pelo método de referência fluoroenzimaimunoensaio (FEIA), (ImmunoCAP-Phadia® - Uppsala, Suécia). Os indivíduos parasitados receberam os resultados de seus exames e o tratamento específico.

### **Cultura de sangue periférico e dosagem de citocinas e quimiocinas**

Uma cultura de sangue total foi realizada depositando-se 0,5mL de sangue periférico heparinizado sob 1mL de meio de cultura RPMI 1640 (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, Missouri, EUA) em tubos de cultura de polipropileno, acrescido de Fitohemaglutinina (PHA) (5µg/mL) ou na ausência de estímulo mitogênico por 24h a 37°C; CO<sub>2</sub> 5%. O sobrenadante de cultura foi coletado e congelado à -80° C até a dosagem das citocinas e quimiocinas. As células foram recuperadas para determinar a expressão de IL-33RNAm e do sST2RNAm.

As amostras de sobrenadante de cultura foram submetidas à detecção das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e quimiocinas CXCL8/IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10 por Cytometric Bead Array (CBA) utilizando-se um citômetro de fluxo (FACSCalibur, BD). O procedimento foi realizado conforme a instrução do fabricante for Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit II (Cat. No. 560485) e for Human Chemokine Kit (Cat. No. 552990). O Software BD CellQuest™ foi utilizado para aquisição das amostras e o software FCAP, versão 3.01 foi utilizado para realização das análises.

### **Expressão de IL-33RNAm e sST2RNAm**

As células cultivadas na presença do mitógeno foram submetidas à extração do RNAm com trizol (DE MORAIS et al., 2016). Após o isolamento do RNA total, as amostras foram digeridas com DNase I livre de RNase. Para construção do cDNA foi realizado uma RT-PCR a partir do RNAm da amostra extraída, de acordo com o kit da

GoScript™ Reverse Transcription System. Os primers utilizados foram IL-33 senso (5'-GTGGAAGAACACAGCAAGCA-3') e IL-33 anti-senso (5'-AAGGCAAAGCACTCCACAGT-3') (KAMEKURA et al., 2012) e primers sST2 senso (5'-CTGTCTGGCCCTGAATTTGC-3') e sST2 anti-senso (5'-TGGAACCACACTCCATTCTGC-3') (YAGAMI et al., 2010b). O mix foi aquecido a 70°C por 5 minutos, logo após foi adicionado 10mM de Tris-HCl (pH 8,3), 50mM de KCl, 4,5mM MgCl<sub>2</sub>, nucleotídeos a 0,5mM, 20U de RNasin recombinante e 1U da enzima transcriptase reversa GoScript e a reação prosseguiu com 40 ciclagem padronizadas (25 °C por 5 minutos para o anelamento, 42°C por 60 minutos para síntese e extensão e 70°C por 15 minutos para inativação da enzima RT). Foi utilizado como controle endógeno da reação a detecção da expressão do RNAm do gene G3PDH, com os primers senso (sense 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3') e anti-senso (5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3') (KAMEKURA et al., 2012).

Validação do cDNA obtido foi realizada via PCR a partir do resultado da RT-PCR e revelado por eletroforese em gel de agarose a 2%. A análise quantitativa em tempo real (q-PCR) foi realizada com um Sistema de detecção de sequenciamento utilizando iTaq SYBR Green Supermix com ROX. Para determinar o número exato de cópias dos genes-alvo, as concentrações quantificadas do produto da PCR purificada foram diluídas em série e utilizadas como padrões em cada ensaio. Alíquotas de cDNA das amostras de RNA total foram utilizados em cada PCR em tempo real. Os parâmetros de ciclagem utilizados para a reação foi: 5 minutos a 95°C para ativação inicial, seguido de 10 segundos a 95°C para desnaturação, anelamento e extensão a 60°C por 30 segundos, por 40 ciclos. Utilizamos o 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems) para mensurar a expressão do gene e o software 7500 versão 2.0.3 para a análise dos resultados. A expressão de mRNA dos alvos foi obtida através de duas normalizações sequenciais: pelo controle endógeno e pelo calibrador (controle negativo). A primeira normalização foi realizada da seguinte maneira: quantity do gene alvo/quantity do gene de referência, onde quantity consiste nos valores absolutos em função da curva-padrão. Após a normalização do gene alvo, o RQ (quantidade relativa de mRNA) foi obtido através da normalização pelo calibrador (DE MORAIS et al., 2016).

### **Análise estatística**

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva com as variáveis biológicas como sexo e idade, variáveis socioeconômicas e infecção com geohelminhos com posterior aplicação do teste do  $\chi^2$  ajustado pelo teste exato de Fisher, entre os grupos de indivíduos alérgicos e não alérgicos, utilizando-se o software Epi Info™ 7.1.5 (CDC, Atlanta, USA). Os níveis de citocinas e quimiocinas e a expressão relativa do RNAm da IL-33 e ST2s foram comparados utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, em seguida o teste t não-paramétricos de Mann-Whitney para comparação das medianas entre os grupos utilizando-se o software GraphPad Prism v 5.01. Os testes estatísticos foram considerados significativos quando os valores de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Dos 93 indivíduos incluídos na pesquisa, foram diagnosticadas 30 (14,7%) crianças infectadas com geohelminhos, sendo 11 (36,7%) alérgicos e 19 (63,3%) não alérgicos. Com relação aos indivíduos não infectados, foram incluídos no estudo 40 (10,9%) alérgicos e 23 (6,2%) não alérgicos. A carga parasitária média total dos indivíduos infectados foi de 423 OPG ( $\pm 303.9$ DP). Foi possível observar que carga parasitária dos indivíduos A-I ( $590,7 \pm 307,9$ ) foi significativamente maior ( $p=0,0237$ ) que a dos indivíduos NA-I que foi 325,9 OPG ( $\pm 262,5$ DP).

Desta forma, a **tabela 1** mostra que as infecções por geohelminhos foram um fator de proteção para alergia (OR=0,337; IC95% = 0,132 – 0,829;  $p=0,008$ ). Os dados biológicos e socioeconômicos mostraram que para indivíduos  $\leq 7$  anos houve risco para alergia (OR=2,608; IC95% = 1,12 – 6,232,  $p=0,012$ ) e naqueles que possuem algum familiar com alergia (OR=4,492; IC95% = 1,842 – 11,52;  $p < 0.001$ ), porém os indivíduos foram protegidos quando infectados. O tempo de aleitamento materno e o sexo dos indivíduos não foram significativos. Não houve diferença na proporção, escolaridade materna, renda e tabagismo passivo, porém a maioria (>85%) dos indivíduos apresentou alta frequência de baixa escolaridade e renda salarial. Os níveis de IgE total, IgE anti-Asc e eosinófilos não diferiram entre os indivíduos alérgicos e não alérgicos.

A **tabela 2** mostra a frequência dos sintomas relacionados à asma e rinite alérgica e associação com a infecção parasitária. O sono perturbado durante a noite, dificuldade para falar e chiado no peito após exercício, foram semelhante entre os grupos. Contudo, uma maior frequência de indivíduos do grupo A-NI apresentou mais de uma crise no último ano (90,0%) (OR= 0,141; IC95% = 0,026 – 0,703;  $p=0,008$ ), chiado no peito após exercício físico (47,5%) (OR=0,114; IC95% = 0,004 – 0,777;

$p=0,011$ ), e tosse seca (65,0%) (OR= 0,208; IC95% = 0,039 – 0,892;  $p=0,016$ ) quando comparado ao grupo A-I (54,5%, 9,1% e 27,3%, respectivamente). Com relação à rinite alérgica, não houve diferença entre os grupos. Contudo, houve maior proporção de indivíduos insatisfeitos com os sintomas da rinite no grupo A-NI (17,5% – muito; 10,0% – moderado; e 27,5% - um pouco) comparado ao grupo A-I (18,2% - moderado; e 27,3% - um pouco).

A produção das citocinas no sobrenadante do PBMC, em resposta ao mitógeno, esta desenhada na **Figura 1**. Em comparação ao NA-NI, os grupos A-I e A-NI produziram níveis significativamente maiores de IL-2 (Fig. 1A), IL-4 (Fig 1B), IL-6 (Fig. 1C), IFN- $\gamma$  (Fig 1D) e IL-10 (Fig. 1E). Em comparação NA-I, houve maiores níveis de IL-2, IL-4 e IL-6 e menores de IFN- $\gamma$  no grupo A-I. Adicionalmente, houve no grupo A-NI níveis mais elevados de TNF- $\alpha$  (Fig, 1F) que os grupos NA-NI e A-I. Não houve diferença para as citocinas IL-17 (Fig. 1G).

Com relação às quimiocinas, a figura 2 mostra que não houve diferença estatística para CXCL8/IL-8 (Fig. 2A), CCL5/RANTES (Fig. 2B), MCP/CCL2 (Fig. 2C) e MIG/CXCL9 (Fig. 2D) entre os grupos estudados. Entretanto, houve níveis significativamente maiores de CXCL10/IP10 no grupo A-I, em relação ao grupo NA-I (Fig.2E).

A respeito da expressão do RNAm da IL-33 e do ST2s (**Figura 3**), ambas não demonstraram diferenças significativa entre os grupos. Contudo, em relação ao grupo NA-NI, foi possível observar que os grupos A-I e NA-I exibiram níveis reduzidos em cerca de 100.000 vezes de IL-33 e sST2. Além disso, verificou-se que a razão IL-33/sST2 foi significativamente menor nos grupos A-I e NA-I, quando comparado aos grupos A-NI e NA-NI (Fig. 3C).

## DISCUSSÃO

A intensidade da asma e rinite alérgica depende de fatores inerentes ao hospedeiro, como sexo, idade e background genético (FIGUEIREDO et al., 2016a; KLEIN; FLANAGAN, 2016; LECHNER et al., 2013; SHAW; GOLDSTEIN; MONTGOMERY, 2014), bem como o contato com agentes infecciosos e ambientais (BIGGELAAR et al., 2004; LEONARDI-BEE; PRITCHARD; BRITTON, 2006; LYNCH; GOLDBLATT; SOUËF, 1999; SHALABY; SHALABY, 2016). Aqui, como relatado na literatura, crianças menores que 7 anos e com algum familiar alérgico tiveram risco de apresentar asma e/ou rinite (BOITA et al., 2015; FARIA et al., 2008),

porém foram protegidas quando parasitadas com geohelminhos sob condição de baixa carga parasitária (BRAGAGNOLI; SILVA, 2014; CARDOSO et al., 2012; LYNCH et al., 1997).

A maioria dos indivíduos (85%) deste estudo tinham baixa escolaridade e renda salarial, visto que foram captados a partir de inquérito epidemiológico realizado em área urbana de pobreza e, por isso foram submetidos ao tratamento com anti-helmíntico previsto pelo projeto SANAR-Ministério da Saúde (PERNAMBUCO, 2015; SAUCHA; SILVA; AMORIM, 2015). Este fato pode explicar a baixa carga parasitária observada, além de dificultar o recrutamento de um “n” amostral maior de infectados para associar com as covariáveis que são biológicas (sexo, idade, aparentes alérgicos). Apesar disso, os resultados em relação aos fatores imunológicos nos apontam, pela primeira vez, uma modulação positiva na expressão do ST2s e, portanto, um possível impedimento da ação da IL-33 em pacientes alérgicos e infectados.

É sabido que o poliparasitismo pode interferir positivamente na intensidade da resposta Th2 e na produção de background da IL-10 (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2014; COOPER et al., 2015; FIGUEIREDO et al., 2016b). Entretanto, este fato esteve relacionado com a intensidade do poliparasitismo (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2014). Aqui, nos grupos infectados nós não observamos marcante produção de IL-4, IgE total, nem de eosinófilos (Th2 parâmetros). Este fato pode estar relacionado com a similar proporção de poli e monoparasitado entre os grupos (figura 1), além da baixa carga parasitária (SHALABY; SHALABY, 2016). Apesar do estudo de metanálise realizado Leonardi-Bee (2006) apontar a infecção por ancilostomídeos como importante fator na redução para o risco de asma, em nosso estudo houve predomínio de *A. lumbricoides*, e mesmo assim foi possível verificar um efeito protetor os sintomas de asma. É sabido que a IgE anti-*Ascaris* pode alterar e elevar o risco para asma (ALCÂNTARA-NEVES et al., 2010; BUENDÍA et al., 2015; LYNCH et al., 1997; MONCAYO et al., 2013), mas os níveis destes anticorpos não diferiram entre os grupos.

À respeito dos indivíduos alérgicos, estes estavam pulsados/primados para uma resposta mista Th1 e Th2 (IL-2, IL-4, IL-6, IFN- $\gamma$ ), acompanhada de altos níveis de IL-10, e sem alteração nos níveis de IL-17. Este perfil de citocinas está de acordo com os pacientes apresentando asma e/ou rinite leve/moderada (LANGIER; SADE; KIVITY, 2012; MURDOCH; LLOYD, 2010; PYNN; THORNTON; DAVIES, 2012), que foi observado em nosso estudo. Entretanto, os indivíduos alérgicos e infectados produziram menos IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Estas citocinas estiveram associadas à sintomatologia nos

pacientes asmáticos (BARNES, 2008; BERRY et al., 2007; GRUBEK-JAWORSKA et al., 2012), sendo responsável por ativar e recrutar eosinófilos, levar a liberação de histamina e potencializa a secreção de citocinas pelos mastócitos (BRIGHTLING; BERRY; AMRANI, 2008). Contudo, os dados sugerem que apenas a diminuição do TNF- $\alpha$  nos indivíduos alérgicos foi dependente da presença da infecção. Do contrário, os menores níveis de IFN- $\gamma$  foi um efeito dependente da ação conjunta entre infecção e alergia, visto que nos indivíduos apenas infectados os níveis desta citocina foram altos.

Com relação às quimiocinas, os níveis não estiveram elevados nos grupos estudados, quando comparado ao NA-NI. Contudo, nos indivíduos alérgicos e infectados houve mais CXCL10/IP10 que nos apenas infectados. Este dado descarta a participação da infecção em modular esta quimiocina. A CXCL10/IP10 está envolvida com influxo de células dendríticas e natural killer, linfócitos B e T e sua produção é dependente de IFN- $\gamma$  (GARCÍA-LÓPEZ et al., 2001; KOHRGRUBER et al., 2004). O CXCL10/IP-10, quando ligada em seu receptor CXCR3 em células Th1, promoveu a produção de IFN- $\gamma$  sugerindo uma ação amplificadora da resposta Th1 (GANGUR; SIMONS; HAYGLASS, 1998), porém houve diminuição do IFN- $\gamma$  no paciente alérgico e infectado. Então, nós acreditamos que a ação desta quimocina, entre elas a de retroalimentar a produção de IFN- $\gamma$  esteja sendo prejudicada, *in vivo*, pela IL-10 (TACKE et al., 2011) presente nos indivíduos apenas alérgicos.

A IL-33 tem sido foco de diversos estudos para esclarecer a imunopatogênese da doença alérgica (AZAZI et al., 2014; IIKURA et al., 2007). A IL-33 ativa diretamente células importantes na resposta Th2, como os mastócitos, basófilos, eosinófilos e macrófagos (IKUTANI et al., 2015). Em um estudo feito por Iikura e colaboradores (2007) com cultura de mastócitos derivados de células do cordão umbilical humanas, a IL-33 pode induzir a produção de citocinas, como IL-8 e IL-13, promover a adesão celular e aumentar a sobrevivência dessas células. Também foi mostrado em eosinófilos, ativados por IL-33, um aumento em sua função, sobrevivência e na produção de superóxido e IL-8 (CHERRY et al., 2008; SUZUKAWA et al., 2008). Em nosso estudo, não houve alteração significativa na expressão do RNAm da IL-33 nos indivíduos infectados com geohelminhos com ou sem alergia, apesar de menor potencial de produção em relação aos apenas alérgicos. Os estudos que relatam a produção aumentada de IL-33 em infecções parasitárias com geohelminhos incluem espécies de *Schistosoma* e nematódeos Filariais, além de protozoários (HEGEWALD et al., 2015) e

mostraram produção aumentada desta citocina em adultos e idosos, mas não em crianças (LECHNER et al., 2013).

De modo interessante, nos indivíduos alérgicos e infectados houve menor razão IL-33:ST2s. É sabido que o receptor ST2 solúvel quando ligado a IL-33 tem como consequência a supressão de ativação de NF- $\kappa$ B e da produção de citocinas Th2, IL-33-dependente (HAYAKAWA et al., 2007). Além disso, o aumento da expressão de RNAm mensagem para IL-33 foi dependente de efeito autócrino, via ST2 na membrana de eosinófilos (WILSON et al., 2013). Então, o sequestro da IL-33 via ST2s poderia explicar atenuação dos sintomas nos indivíduos alérgicos e infectados, por diminuir a intensidade da resposta inflamatória (HAYAKAWA et al., 2007; IKUTANI et al., 2015; KAMEKURA et al., 2012; YAGAMI et al., 2010b), bem como a diminuição na produção da IL-33 nestes indivíduos.

Estes resultados não descartam a participação de outros mecanismos induzidos pelo parasita, como a participação de células T regulatórias (Treg). Matera e colaboradores (2008) relatou que durante a infecção por *A. lumbricoides* há geração de células T regulatórias (Treg) (MATERA et al., 2008), e seu efeito na diminuição da atopia foi IL-10-independente. Uma proteína anti-inflamatória secretada por ancilostomídeos, nomeada AIP-2, suprimiu a inflamação das vias aéreas em camundongos, com geração de células Tregs (Foxp3+) nos linfonodos mesentéricos e acúmulo em locais distantes da mucosa. O cultivo de células de indivíduos com alergia a ácaros da poeira doméstica com AIP-2, levou à redução da expressão de moléculas coestimuladoras em células dendríticas e da proliferação de células T (NAVARRO et al., 2016).

Em conjunto, nossos dados trazem à tona o papel da relação da IL-33 e seu receptor solúvel ST2 na asma e/ou rinite em áreas endêmicas para geohelminthíases. Os achados ressaltam a necessidade de investigar mecanismos de favorecimento na produção do ST2s, em vez da isoforma expressa na membrana celular, por fatores inerentes ao parasita e obter ferramentas imunomodulatórias na estratégia de tratamento das doenças alérgicas.

## REFERÊNCIAS

ACEVEDO, N. et al. Allergenicity of *Ascaris lumbricoides* tropomyosin and IgE sensitization among asthmatic patients in a tropical environment. **International**

**Archives of Allergy and Immunology**, v. 154, n. 3, p. 195–206, 2011.

ACEVEDO, N.; CARABALLO, L. IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. **Parasite immunology**, v. 33, n. 6, p. 309–21, jun. 2011.

AHUMADA, V. et al. IgE responses to *Ascaris* and mite tropomyosins are risk factors for asthma. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 45, n. 7, p. 1189–200, jul. 2015.

ALCÂNTARA-NEVES, N. M. et al. The presence of serum anti- *Ascaris lumbricoides* IgE antibodies and of *Trichuris trichiura* infection are risk factors for wheezing and / or atopy in preschool-aged Brazilian children. p. 1–9, 2010.

ALCÂNTARA-NEVES, N. M. et al. Effects of helminth co-infections on atopy , asthma and cytokine production in children living in a poor urban area in Latin America. p. 1–11, 2014.

ALCORN, J. F.; CROWE, C. R.; KOLLS, J. K. TH17 Cells in Asthma and COPD. **Annual Review of Physiology**, v. 72, n. 1, p. 495–516, 2010.

ALLEN, S. J.; CROWN, S. E.; HANDEL, T. M. Chemokine:Receptor Structure, Interactions, and Antagonism. **Annual Review of Immunology**, v. 25, n. 1, p. 787–820, 2007.

ALROQI, F. J.; CHATILA, T. A. T Regulatory Cell Biology in Health and Disease. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 16, n. 4, p. 27, 29 abr. 2016.

AMIN, K.; JANSON, C.; BYSTROM, J. Role of Eosinophil Granulocytes in Allergic Airway Inflammation Endotypes. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 84, n. 2, p. 75–85, 2016.

ARAÚJO, M. I. et al. Inverse Association between Skin Response to Aeroallergens and *Schistosoma mansoni* Infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 123, n. 1, p. 145–148, 2000.

ARAÚJO, M. I. et al. *Schistosoma mansoni* Infection Modulates the Immune Response against Allergic and Auto-immune Diseases. **Mem Onst Oswaldo Cruz**, v. 99, n. Suppl. I, p. 27–32, 2004.

ASEMOTA, O. O. et al. Chemokines Responses to *Ascaris Lumbricoides* Sole Infection and Co - infection with Hookworm among Nigerians. v. 6, n. 2, p. 84–88, 2014.

AZAZI, E. A et al. Serum levels of Interleukin-33 and its soluble receptor ST2 in asthmatic patients. **Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis**, v. 63, n. 2, p. 279–284, 2014.

BABU, S. K. et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) autoregulates its expression and induces adhesion molecule expression in asthma. **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 140, n. 1, p. 18–25, jul. 2011.

BARNES, P. J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease.

**Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 3, p. 183–192, 2008.

BARRETO, A. V. M. S. et al. Evaluation of serum levels of IL-9 and IL-17 in human *Schistosoma mansoni* infection and their relationship with periportal fibrosis.

**Immunobiology**, v. 221, n. 12, p. 1351–1354, dez. 2016.

BARTLEY, P. B. et al. A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of *Schistosoma japonicum* egg-induced fibrosis. **International journal for parasitology**, v. 36, n. 9, p. 993–1001, ago. 2006.

BAUMGART, M. et al. Naturally Occurring CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Regulatory T Cells Are an Essential, IL-10-Independent Part of the Immunoregulatory Network in *Schistosoma mansoni* Egg-Induced Inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 176, n. 9, p. 5374–5387, 18 abr. 2006.

BERRY, M. et al. TNF- $\alpha$  in asthma. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 3, p. 279–282, 2007.

BIGGELAAR, A. H. J. VAN DEN et al. Long-Term Treatment of Intestinal Helminths Increases Mite Skin-Test Reactivity in Gabonese Schoolchildren. v. 189, p. 892–900, 2004.

BISCHOFF, S. C. et al. Monocyte Chemotactic Protein 1 Is a Potent Activator of Human Basophils. **J Exp Med**, v. 175, n. 5, p. 1271–1275, 1992.

BÖHM, L. et al. IL-10 and regulatory T cells cooperate in allergen-specific immunotherapy to ameliorate allergic asthma. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 194, n. 3, p. 887–97, 1 fev. 2015.

BOITA, M. et al. Regulation of B-cell-activating factor expression on the basophil membrane of allergic patients. **International archives of allergy and immunology**, v. 166, n. 3, p. 208–12, jan. 2015.

BONACCHI, A. et al. Signal transduction by the chemokine receptor CXCR3: Activation of Ras/ERK, Src, and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt controls cell migration and proliferation in human vascular pericytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 13, p. 9945–9954, 2001.

BRAGAGNOLI, G.; SILVA, M. T. N. *Ascaris lumbricoides* infection and parasite load are associated with asthma in children. **J Infect Dev Ctries**, v. 8, n. 7, p. 891–897, 2014.

BRASIL. **Vigilância da Esquistossomose Mansoni - Diretrizes técnicas**. [s.l.: s.n.].

BRIGHTLING, C.; BERRY, M.; AMRANI, Y. TNF- $\alpha$ : A novel therapeutic approach for asthma. **J Allergy Clin Immunol**, v. 121, n. 1, p. 5–12, 2008.

BUENDÍA, E. et al. The IgE response to *Ascaris* molecular components is associated with clinical indicators of asthma severity. **The World Allergy Organization journal**, v. 8, n. 1, p. 8, jan. 2015.

BURKE, M. L. et al. Immunopathogenesis of human schistosomiasis. **Parasite**

**immunology**, v. 31, n. 4, p. 163–76, abr. 2009.

CALDAS, I. R. et al. Human schistosomiasis mansoni: immune responses during acute and chronic phases of the infection. **Acta tropica**, v. 108, n. 2–3, p. 109–17, 2008.

CAMPOS, H. S. Asma: suas origens, seus mecanismos inflamatórios e o papel do corticosteróide. **Revista Brasileira de Pneumologia Sanitária**, v. 15, n. 1, p. 47–60, 2007.

CARABALLO, L. et al. Particularities of allergy in the Tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 20, jan. 2016.

CARDAMONE, C. et al. Mast cells as effector cells of innate immunity and regulators of adaptive immunity. **Immunology letters**, v. 178, p. 10–14, 5 jul. 2016.

CARDOSO, L. S. et al. Risk factors for asthma in a helminth endemic area in bahia, Brazil. **Journal of parasitology research**, v. 2012, p. 796820, jan. 2012.

CARR, M. W. et al. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 9, p. 3652–3656, 1994.

CARR, T. F. et al. Eosinophilic bioactivities in severe asthma. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 21, jan. 2016.

CASTAN, L.; MAGNAN, A.; BOUCHAUD, G. Chemokine receptors in allergic diseases. **Allergy**, v. 72, n. 4, p. 682–690, 2016.

CHARLESWORTH, E. N. et al. Cutaneous Late-Phase Response to Allergen: Mediator Release and Inflammatory Cell Infiltration. **Journal of Clinical Investigation**, v. 83, n. 5, p. 1519–1526, 1989.

CHERRY, W. B. et al. A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human eosinophils. **Clinical Lymphoma**, v. 121, n. 6, p. 1484–1490, 2008.

CHUAH, C. et al. Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology. **Trends in parasitology**, v. 30, n. 3, p. 141–50, mar. 2014.

COLLEY, D. G.; SECOR, W. E. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite immunology**, v. 36, n. 8, p. 347–57, ago. 2014.

COOPER, P. J. et al. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 168, n. 3, p. 313–7, 1 ago. 2003.

COOPER, P. J. Mucosal immunology of geohelminth infections in humans. **Mucosal immunology**, v. 2, n. 4, p. 288–99, jul. 2009.

COOPER, P. J. et al. Effects of environment on human cytokine responses during childhood in the tropics: role of urban versus rural residence. **The World Allergy Organization journal**, v. 8, n. 22, p. 1–9, jan. 2015.

- COOPER, P. J. et al. Effects of maternal geohelminth infections on allergy in early childhood. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 137, n. 3, p. 899–906.e2, mar. 2016.
- DE MORAIS, N. G. et al. Effect of neonatal malnutrition on expression of nitric oxide synthase enzyme, production of free radicals and in vitro viability of alveolar macrophages infected with methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **European journal of nutrition**, v. 55, n. 1, p. 403–11, fev. 2016.
- DESCHOOLMEESTER, M. L. et al. Absence of CC Chemokine Ligand 2 Results in an Altered Th1/Th2 Cytokine Balance and Failure to Expel *Trichuris muris* Infection. **The Journal of Immunology**, v. 170, n. 9, p. 4693–4700, 1 maio 2003.
- DUNICAN, E. M.; FAHY, J. V. The Role of Type 2 Inflammation in the Pathogenesis of Asthma Exacerbations. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 12, n. Supplement 2, p. S144–S149, 2015.
- ENGELHARDT, E. et al. Chemokines IL-8 , GRO  $\alpha_2$  , MCP-1 , IP-10 , and Mig Are Sequentially and Differentially Expressed During Phase-Specific Infiltration of Leukocyte Subsets in Human Wound Healing. v. 153, n. 6, p. 1849–1860, 1998.
- FALCÃO, P. et al. Plasma Concentrations and Role of Macrophage Inflammatory Protein – 1 $\alpha$  during Chronic *Schistosoma mansoni* Infection in Humans. **J Infect Dis**, v. 186, n. 11, p. 1696–1700, 2002.
- FARIA, I. C. J. et al. Association of TGF-beta1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. **Jornal de pediatria**, v. 84, n. 3, p. 203–210, 2008.
- FEARY, J.; BRITTON, J.; LEONARDI-BEE, J. Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis. **Allergy**, v. 66, n. 4, p. 569–78, abr. 2011.
- FERREIRA, H. et al. An epidemiological study of the frequency and factors of risk of enteroparasitoses and their correlation with the nutritional state of children at pre-school age. **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, v. 12, n. 4, p. 33–40, 2006.
- FIGUEIREDO, C. A et al. Effects of poor hygiene on cytokine phenotypes in children in the tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, n. 1, p. 34, jan. 2016a.
- FIGUEIREDO, C. A. et al. Coassociations between IL10 polymorphisms , IL-10 production , helminth infection , and asthma / wheeze in an urban tropical population in Brazil. v. 131, n. 6, p. 1683–1690, 2016b.
- G. REESE, R. AYUSO, S. B. L. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. **Int Arch Allergy Immunol**, v. 119, p. 247–258, 1999.
- GANGUR, V.; SIMONS, F.; HAYGLASS, K. Human IP - 10 selectively promotes dominance of polyclonally activated and environmental antigen - driven IFN - gamma over IL - 4 responses . **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n. 9, p. 705–713, 1998.

GARCÍA-LÓPEZ, M. A et al. CXCR3 chemokine receptor distribution in normal and inflamed tissues: expression on activated lymphocytes, endothelial cells, and dendritic cells. **Laboratory investigation**, v. 81, n. 3, p. 409–418, 2001.

GEIGER, S. M. et al. Cellular responses and cytokine profiles in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infected patients. **Parasite immunology**, v. 24, n. 11–12, p. 499–509, 2002.

GIBSON, P. G.; SIMPSON, J. L.; SALTOS, N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: Evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. **Chest**, v. 119, n. 5, p. 1329–1336, 2001.

GRUBEK-JAWORSKA, H. et al. IL-6 and IL-13 in induced sputum of COPD and asthma patients: correlation with respiratory tests. **Respiration; international review of thoracic diseases**, v. 84, n. 2, p. 101–7, jan. 2012.

GUERREIRO, R.; SANTOS-COSTA, Q.; AZEVEDO-PEREIRA, J. M. AS QUIMIOCINAS E OS SEUS RECEPTORES Características e Funções Fisiológicas. **Acta Med Port**, v. 24, n. S4, p. 967–976, 2011.

HAGEL, I. et al. Modulation of the allergic reactivity of slum children by helminthic infection. **Parasite Immunology**, v. 15, n. 6, p. 311–315, 1993.

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

HAWLADER, M. D. H. et al. *Ascaris lumbricoides* Infection as a Risk Factor for Asthma and Atopy in Rural Bangladeshi Children. **Tropical medicine and health**, v. 42, n. 2, p. 77–85, jun. 2014.

HAYAKAWA, H. et al. Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. **The Journal of biological chemistry**, v. 282, n. 36, p. 26369–80, 7 set. 2007.

HEGEWALD, J. et al. Cellular cytokine and chemokine responses to parasite antigens and fungus and mite allergens in children co-infected with helminthes and protozoa parasites. **Journal of inflammation (London, England)**, v. 12, p. 5, jan. 2015.

HINTERMANN, E. et al. CXCL10 promotes liver fibrosis by prevention of NK cell mediated hepatic stellate cell inactivation. **Journal of Autoimmunity**, v. 35, n. 4, p. 424–435, 2010.

HIRAHARA, K.; NAKAYAMA, T. CD4<sup>+</sup> T-cell subsets in inflammatory diseases: Beyond the Th1/Th2 paradigm. **International Immunology**, v. 28, n. 4, p. 163–171, 2016.

HOSOKI, K.; BOLDOGH, I.; SUR, S. Neutrophil recruitment by allergens contribute to allergic sensitization and allergic inflammation. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 16, n. 1, p. 45–50, 2016.

HUMPHREYS, N. E. et al. IL-33, a Potent Inducer of Adaptive Immunity to Intestinal Nematodes. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 4, p. 2443–2449, 4 fev. 2008.

HUNNINGHAKE, G. M. et al. Sensitization to *Ascaris lumbricoides* and severity of childhood asthma in Costa Rica. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 119, n. 3, p. 654–61, mar. 2007.

IHKURA, M. et al. Chemokine receptors in human basophils: inducible expression of functional CXCR4. **J Leukoc Biol**, v. 70, n. 1, p. 113–120, 2001.

IHKURA, M. et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 87, n. 10, p. 971–8, out. 2007.

IKUTANI, M. et al. Emerging roles of IL-33 in inflammation and immune regulation. **Inflammation and Regeneration**, v. 35, n. 2, p. 69–77, 2015.

JESUS, R. DE et al. Association of Type 2 Cytokines with Hepatic Fibrosis in Human *Schistosoma mansoni* Infection. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 6, p. 3391–3397, 2004.

JOSEPH, S. et al. Increases in human T helper 2 cytokine responses to *Schistosoma mansoni* worm and worm-tegument antigens are induced by treatment with praziquantel. **The Journal of infectious diseases**, v. 190, n. 4, p. 835–42, 15 ago. 2004.

KALENDA, Y. et al. Role of interleukin - 33 during *Schistosoma mansoni* infection ( MPF7P . 713 ). p. 2016, 2016.

KAMEKURA, R. et al. The role of IL-33 and its receptor ST2 in human nasal epithelium with allergic rhinitis. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 42, n. 2, p. 218–228, 2012.

KANEKO, Y. et al. Asthma phenotypes in Japanese adults - their associations with the CCL5 and ADRB2 genotypes. **Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 62, n. 1, p. 113–21, 2013.

KESKIN, O. et al. Exhaled RANTES and interleukin 4 levels after exercise challenge in children with asthma. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 109, n. 5, p. 303–308, 2012.

KLEIN, S. L.; FLANAGAN, K. L. Sex differences in immune responses. **Nature reviews. Immunology**, v. 16, n. 10, p. 626–638, 22 ago. 2016.

KO, F. W. S. et al. Decreased T-bet expression and changes in chemokine levels in adults with asthma. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 147, n. 3, p. 526–532, 2007.

KOHRGRUBER, N. et al. Plasmacytoid Dendritic Cell Recruitment by Immobilized CXCR3 Ligands. **Journal of Immunology**, v. 173, n. 11, p. 6592–6602, 2004.

KUNA, B. P. et al. Monocyte Chemotactic and Activating Factor Is a Potent Histamine-releasing Factor for Human Basophils. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 175, n. 2, p. 489–493, 1992.

KUROWSKA-STOLARSKA, M. et al. IL-33 induces antigen-specific IL-5+ T cells

- and promotes allergic-induced airway inflammation independent of IL-4. **J Immunol**, v. 181, n. 7, p. 4780–4790, 2008.
- LAI, S. T. et al. T-helper 1-related chemokines in the exacerbation of childhood asthma. **Pediatrics International**, v. 50, n. 1, p. 99–102, 2008.
- LANGIER, S.; SADE, K.; KIVITY, S. Regulatory T Cells in Allergic Asthma. v. 14, n. march, p. 180–183, 2012.
- LECHNER, C. J. et al. Cytokine and chemokine responses to helminth and protozoan parasites and to fungus and mite allergens in neonates, children, adults, and the elderly. **Immunity & ageing : I & A**, v. 10, n. 1, p. 29, 15 jul. 2013.
- LEONARDI-BEE, J.; PRITCHARD, D.; BRITTON, J. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 174, n. 5, p. 514–23, 1 set. 2006.
- LIANG, Y. et al. Gene profile of chemokines on hepatic stellate cells of schistosome-infected mice and antifibrotic roles of CXCL9/10 on liver non-parenchymal cells. **PLoS one**, v. 7, n. 8, p. e42490, jan. 2012.
- LING, M. F.; LUSTER, A. D. Allergen-Specific CD4(+) T Cells in Human Asthma. **Annals of the American Thoracic Society**, v. 13 Suppl 1, n. 16, p. S25–30, mar. 2016.
- LYNCH, N. et al. Allergic reactivity and helminthic infection in Amerindians of the Amazon Basin. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v. 72, n. 4, p. 369–372, 1983.
- LYNCH, N. R. et al. Clinical Improvement of Asthma after Anthelmintic Treatment in a Tropical Situation. **AM J RESPIR CRIT CARE MED**, v. 156, n. 1, p. 50–54, 1997.
- LYNCH, N. R.; GOLDBLATT, J.; SOUËF, P. N. LE. Parasite infections and the risk of asthma and atopy. p. 659–660, 1999.
- MACHURA, E. et al. Selected CC and CXC chemokines in children with atopic asthma. **Postepy dermatologii i alergologii**, v. 33, n. 2, p. 96–101, abr. 2016.
- MARSHALL, J. S. Mast-cell responses to pathogens. **Nature reviews. Immunology**, v. 4, n. 10, p. 787–99, out. 2004.
- MATERA, G. et al. *Ascaris lumbricoides*-induced suppression of total and specific IgE responses in atopic subjects is interleukin 10-independent and associated with an increase of CD25(+) cells. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 62, n. 3, p. 280–6, nov. 2008.
- MCSORLEY, H. J. et al. Blockade of IL-33 release and suppression of type 2 innate lymphoid cell responses by helminth secreted products in airway allergy. **Mucosal immunology**, v. 7, n. 5, p. 1068–78, set. 2014.
- MEDEIROS, D. et al. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 4, p. 255–259, ago. 2006.
- MEDEIROS, M. 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, maio 2003.

METZ, M.; MAURER, M. Mast cells--key effector cells in immune responses. **Trends in immunology**, v. 28, n. 5, p. 234–41, maio 2007.

MONCAYO, A. L. et al. Risk factors for atopic and non-atopic asthma in a rural area of Ecuador. **Thorax**, v. 65, n. 5, p. 409–16, maio 2010.

MONCAYO, A-L. et al. Effects of geohelminth infection and age on the associations between allergen-specific IgE, skin test reactivity and wheeze: a case-control study. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 43, n. 1, p. 60–72, jan. 2013.

MULLER, G. C. et al. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels are associated with clinical severity in school age children with asthma. **Clin Exp Allergy**, v. 40, n. 12, p. 1755–1759, 2010.

MURDOCH, C.; FINN, A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. **Blood**, v. 95, n. 10, p. 3032–43, 2000.

MURDOCH, J. R.; LLOYD, C. M. Chronic inflammation and asthma. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 690, n. 1–2, p. 24–39, 2010.

NAKAYA, I. et al. Blockade of IP-10/CXCR3 promotes progressive renal fibrosis. **Nephron - Experimental Nephrology**, v. 107, n. 1, p. 2–3, 2007.

NAUSCH, N. et al. Regulatory and activated T cells in human *Schistosoma haematobium* infections. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, 2011.

NAVARRO, S. et al. Hookworm recombinant protein promotes regulatory T cell responses that suppress experimental asthma. **Science translational medicine**, v. 8, n. 362, p. 362ra143, 26 out. 2016.

NEUENSCHWANDER, C. et al. Cytokine profile associated with chronic and acute human schistosomiasis mansoni. v. 103, n. September, p. 561–568, 2008.

O'CONNELL, D. et al. IFN $\gamma$ -induced JAK/STAT, but not NF $\kappa$ B, signaling pathway is insensitive to glucocorticoid in airway epithelial cells. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, v. 309, n. 4, p. L348-NaN-359, 2015.

OBIHARA, C. C. et al. Respiratory atopic disease , Ascaris-immunoglobulin E and tuberculin testing in urban South African children Clinical and Experimental Allergy. **Clinical and Experimental Allergy**, p. 640–648, 2006.

OKADA, H. et al. The “hygiene hypothesis” for autoimmune and allergic diseases: an update. **Clinical and experimental immunology**, v. 160, n. 1, p. 1–9, abr. 2010.

OLIVEIRA, S. H. P.; LUKACS, N. W. The role of chemokines and chemokine receptors in eosinophil activation during inflammatory allergic reactions. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 11, p. 1455–1463, 2003.

- OLIVEIRA, S. M. DE et al. Association between allergic responses and *Schistosoma mansoni* infection in residents in a low-endemic setting in Brazil. **revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 770–774, 2014.
- OSHIKAWA, K. et al. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 164, n. 2, p. 277–281, 2001.
- PALMER, L. J. et al. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 165, n. 11, p. 1489–93, 1 jun. 2002.
- PALMQVIST, C.; WARDLAW, A. J.; BRADDING, P. Chemokines and their receptors as potential targets for the treatment of asthma. **British Journal of Pharmacology**, v. 151, n. 6, p. 725–736, 2007.
- PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. **Nature reviews. Immunology**, v. 2, n. 7, p. 499–511, jul. 2002.
- PENG, H. et al. IL-33 Contributes to *Schistosoma japonicum*-induced Hepatic Pathology through Induction of M2 Macrophages. **Scientific reports**, v. 6, n. May, p. 29844, 21 jul. 2016.
- PERNAMBUCO, S. E. DE S. S. E. DE V. EM S. **Plano Integrado de Ações para o Enfretamento às Doenças Negligenciadas no Estado de Pernambuco/ SANAR – 2015 - 2018**. Recife, Brazil: [s.n.].
- PONTE, E. et al. Skin test reactivity and Der p-induced interleukin 10 production in patients with asthma or rhinitis infected with *Ascaris*. **Ann Allergy Asthma Immunol.**, v. 96, n. 5, p. 713–718, 2006.
- PYNN, M. C.; THORNTON, C. A.; DAVIES, G. A. Asthma Pathogenesis. **Pulmão**, v. 21, n. 2, p. 11–17, 2012.
- RADMAN, M. et al. Serum levels of the CC chemokines CCL2, CCL5, and CCL11 in food allergic children with different clinical manifestations. **Inflammation**, v. 36, n. 3, p. 561–6, jun. 2013.
- RAUNDHAL, M. et al. High IFN- $\gamma$  and low SLPI mark severe asthma in mice and humans. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 8, p. 3037–3050, 2015.
- ROMAGNANI, S. Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation. **Molecular Immunology**, v. 38, n. 2001, p. 881–885, 2002.
- ROSARIO-FILHO, N. A. et al. Pediatric allergy and immunology in Brazil. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 24, n. 4, p. 402–409, 2013.
- ROSE, C. E.; SUNG, S.-S. J.; FU, S. M. Significant Involvement of CCL2 (MCP-1) in Inflammatory Disorders of the Lung. **Microcirculation**, v. 10, n. 3–4, p. 273–288, 2003.
- RUJENI, N. et al. Atopy is inversely related to schistosome infection intensity: a

comparative study in Zimbabwean villages with distinct levels of *Schistosoma haematobium* infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 158, n. 3, p. 288–98, jan. 2012.

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

SAIMAN, Y.; FRIEDMAN, S. L. The role of chemokines in acute liver injury. **Frontiers in physiology**, v. 3, n. June, p. 213, jan. 2012.

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

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–1047, 2008a.

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–6.e1, abr. 2008b.

SAUCHA, C. V. V.; SILVA, J. A. M. DA; AMORIM, L. B. Condições de saneamento básico em áreas hiperendêmicas para esquistossomose no estado de Pernambuco em 2012. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 497–506, set. 2015.

SCHMITZ, J. et al. IL-33, an Interleukin-1-like Cytokine that Signals via the IL-1 Receptor-Related Protein ST2 and Induces T Helper Type 2-Associated Cytokines. **Immunity**, v. 23, n. 5, p. 479–490, nov. 2005.

SHALABY, N. M.; SHALABY, N. M. Effect of *Ascaris lumbricoides* infection on T helper cell type 2 in rural Egyptian children. **Therapeutics and clinical risk management**, v. 12, p. 379–385, 2016.

SHANG, Y.; SMITH, S.; HU, X. Role of Notch signaling in regulating innate immunity and inflammation in health and disease. **Protein and Cell**, v. 7, n. 3, p. 159–174, 2016.

SHAW, A. C.; GOLDSTEIN, D. R.; MONTGOMERY, R. R. Age-dependent dysregulation of innate immunity. **Nat Rev Immunol**, v. 13, n. 12, p. 875–887, 2014.

SILVA, M. T. N.; ANDRADE, J.; TAVARES-NETO, J. Asthma and ascariasis in children aged two to ten living in a low income suburb. v. 79, n. 3, p. 227–232, 2003.

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

SMITH, P. et al. *Schistosoma mansoni* secretes a chemokine binding protein with antiinflammatory activity. **The Journal of experimental medicine**, v. 202, n. 10, p. 1319–25, 21 nov. 2005.

- SMITS, H. H. et al. Chronic helminth infections protect against allergic diseases by active regulatory processes. **Current allergy and asthma reports**, v. 10, n. 1, p. 3–12, jan. 2010.
- SOLÉ, D. et al. Prevalence of asthma and allergic diseases in adolescents: nine-year follow-up study (2003-2012). **Jornal de pediatria**, v. 91, n. 1, p. 30–5, 2015.
- SOUSA, R. B. et al. Risk factors for recurrent wheezing in infants: a case-control study. **Revista de saude publica**, v. 50, n. 1, p. 1–8, 2016.
- SOUZA, A. L. S. et al. The role of chemokines in *Schistosoma mansoni* infection: insights from human disease and murine models. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. Suppl.I, p. 333–338, 2006.
- SOUZA, V. M. O. et al. Produção de IL-10 em resposta a aeroalérgenos em crianças e adolescentes de zona urbana com geohelmintíases. **rev bras alerg imunopatol**, p. 54–58, 2009.
- STRINA, A. et al. Risk factors for non-atopic asthma/wheeze in children and adolescents: a systematic review. **Emerging Themes in Epidemiology**, v. 11, n. 5, p. 1–11, 2014.
- SUN, B. Q. et al. Allergy-related evidences in relation to serum IgE: data from the China state key laboratory of respiratory disease, 2008-2013. **Biomedical and environmental sciences : BES**, v. 27, n. 7, p. 495–505, jul. 2014.
- SUZUKAWA, M. et al. Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, v. 88, n. 11, p. 1245–53, nov. 2008.
- TACKE, F. et al. Serum chemokine receptor CXCR3 ligands are associated with progression, organ dysfunction and complications of chronic liver diseases. **Liver Int**, v. 31, n. 6, p. 840–849, 2011.
- TAGER, A. M. et al. Inhibition of pulmonary fibrosis by the chemokine IP-10/CXCL10. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 31, n. 4, p. 395–404, out. 2004.
- TAKEUCHI, H. et al. High titre of anti-*Ascaris* immunoglobulin E associated with bronchial asthma symptoms in 5-year-old rural Bangladeshi children. **Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 38, n. 2, p. 276–82, fev. 2007.
- TAO, B. et al. Imbalance of Peripheral Th17 and Regulatory T Cells in Children with Allergic Rhinitis and Bronchial Asthma. v. 14, n. June, p. 273–279, 2015.
- TEODÓSIO, V. 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. **World Allergy Organization Journal**, v. 8, n. Suppl 1, p. A241, 2015.
- VALMONTE, G. R.; CAUYAN, G. A.; RAMOS, J. D. A. IgE cross-reactivity between house dust mite allergens and *Ascaris lumbricoides* antigens. **Asia Pac Allergy**, v. 2, n.

1, p. 35–44, 2012.

VAN DER VLUGT, L. E. P. M. et al. Interleukin 10 (IL-10)-producing CD1d<sup>hi</sup> regulatory B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines. **Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. 8, p. 1207–1216, 2014.

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

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

WASMUTH, H. et al. Antifibrotic effects of CXCL9 and its receptor CXCR3 in livers of mice and humans. **Gastroenterology**, v. 137, n. 1, p. 309–319, 2009.

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

WATANABE, L. A. et al. Comparison between ImmunoCAP® and skin prick test for evaluation of IgE-mediated cow's milk allergy in children. **Revista Brasileira de Alergologia e Imunopatologia**, v. 33, n. 6, p. 224–228, 2010.

WILSON, M. S. et al. Immunopathology of schistosomiasis. **Immunology and cell biology**, v. 85, n. 2, p. 148–54, 2007.

WILSON, S. et al. A late IL-33 response after exposure to *Schistosoma haematobium* antigen is associated with an up-regulation of IL-13 in human eosinophils. **Parasite immunology**, v. 35, n. 7–8, p. 224–8, jul. 2013.

WOODFOLK, J. A. Cytokines as a therapeutic target for allergic diseases: a complex picture. **Curr Pharm Des**, v. 12, n. 19, p. 2349–2363, 2006.

WYNN, T. A. et al. Immunopathogenesis of schistosomiasis. v. 201, p. 156–167, 2004.

XIE, M. et al. IL-27 and type 2 immunity in asthmatic patients: Association with severity, CXCL9, and signal transducer and activator of transcription signaling. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 2, p. 386–394.e5, fev. 2015.

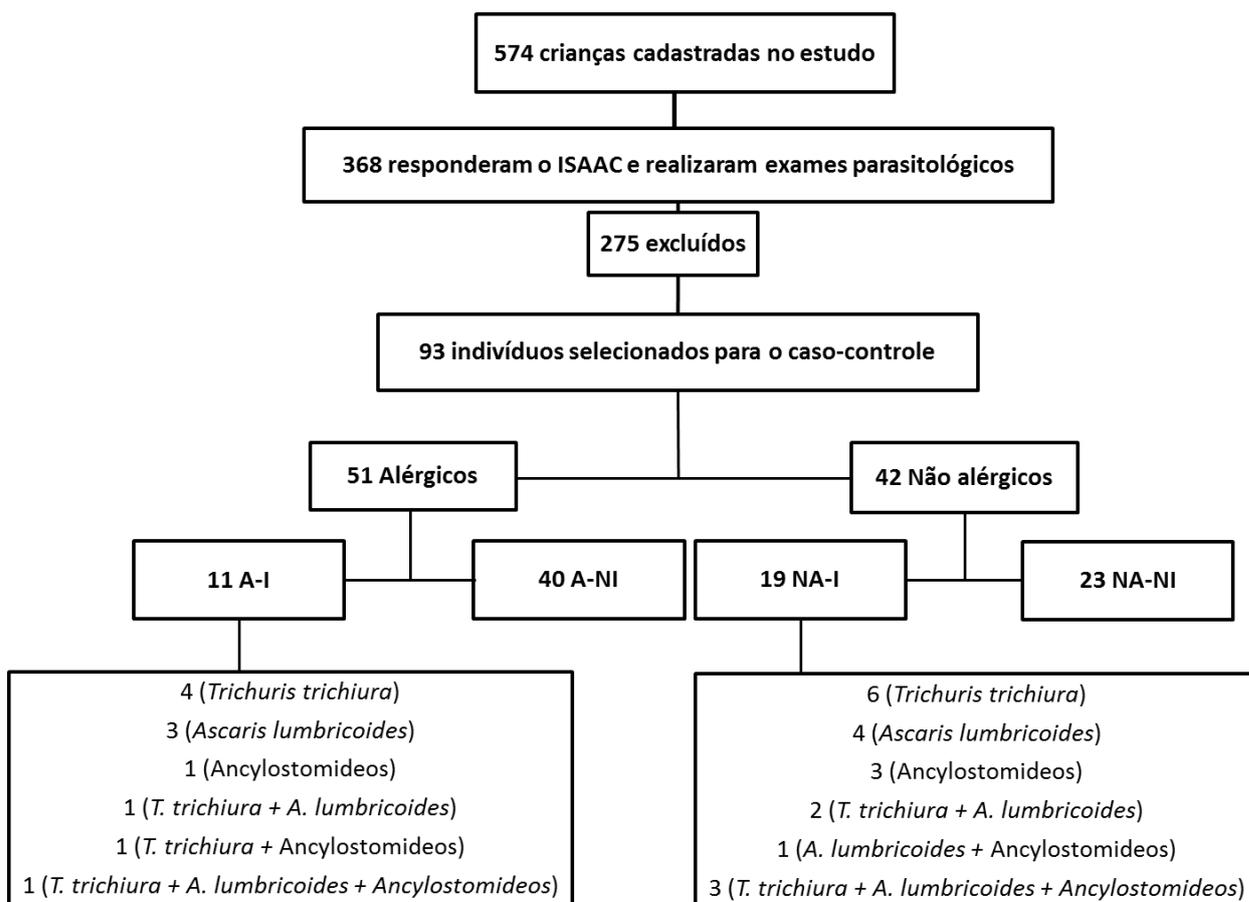
YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, p. 5743–5750, 2010a.

YAGAMI, A. et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 185, n. 10, p. 5743–50, 15 nov. 2010b.

YAMAGUCHI, M. et al. Human basophils and cytokines/chemokines. **Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 58, n. 1, p. 1–10, mar. 2009.

YU, Y.; DENG, W.; LEI, J. Interleukin-33 promotes Th2 immune responses in infected mice with *Schistosoma japonicum*. **Parasitology research**, v. 114, n. 8, p. 2911–8, ago. 2015.

ZHANG, J.; PATEL, L.; PIENTA, K. Targeting chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) as an example of translation of cancer molecular biology to the clinic. **Prog Mol Biol Transl Sci.**, v. 95, n. 31–53, 2010.



**Figura 1:** Fluxograma de seleção dos indivíduos alérgicos e infectados por geohelmintos (A-I), alérgicos e não infectados (A-NI), não alérgicos e infectados por geohelmintos (NA-I) e não alérgicos e não infectados (NA-NI) para o estudo de caso-controle.

**Tabela 1:** Distribuição das variáveis biológicas e socioeconômicas entre crianças alérgicas e não alérgicas.

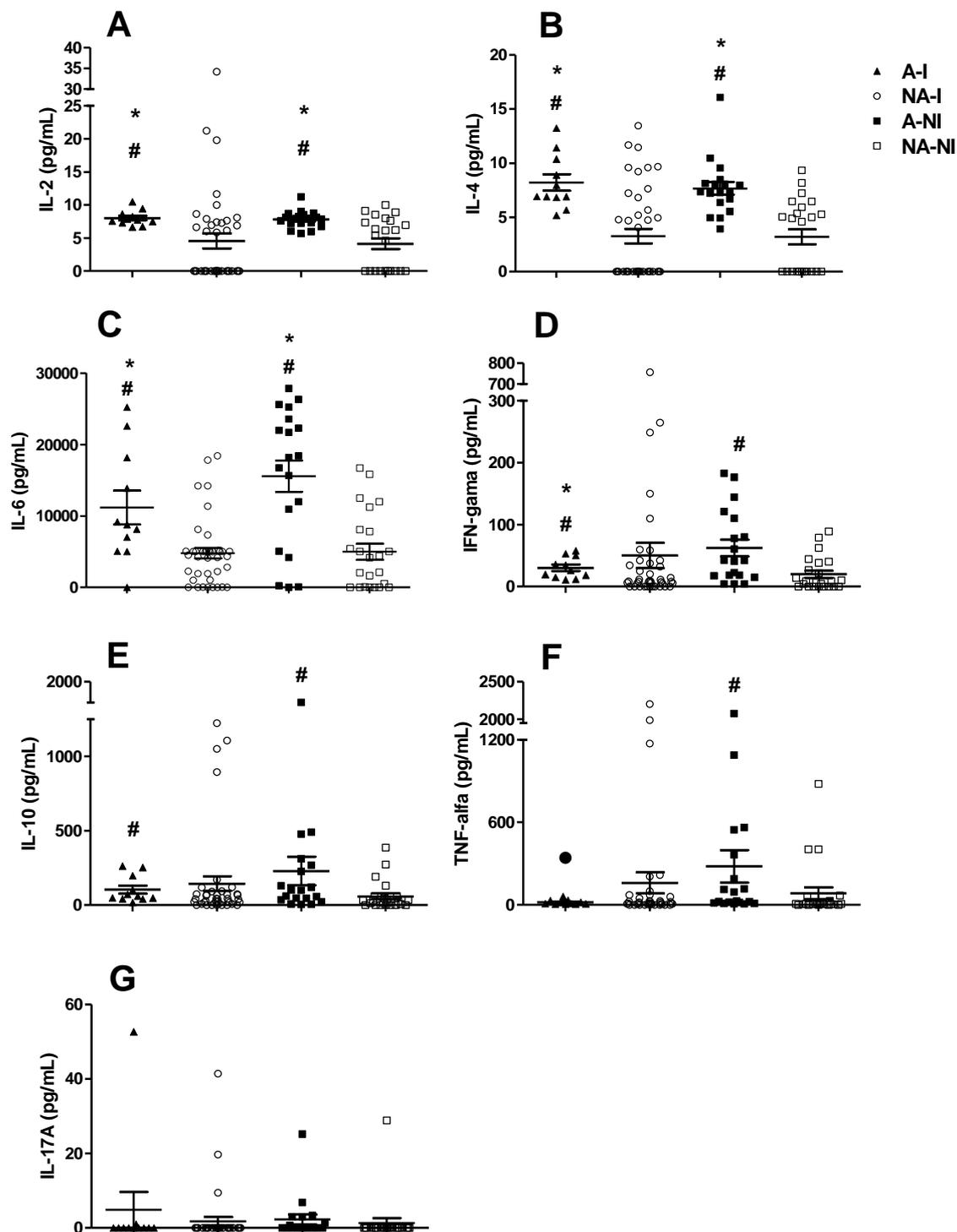
Variável	Alérgicos n (%)	Não Alérgicos n (%)	TOTAL n (%)	OR (IC - 95%)	Valor de p
<b>Geohelmintos</b>					
<i>Infectados</i>	11 (21,6)	19 (45,2)	30 (32,2)	<b>0,337 (0,132 – 0,829)</b>	<b>0,008*</b>
<i>Não Infectados</i>	40 (78,4)	23 (54,8)	63 (67,8)		
<b>Gênero</b>					
<i>Masculino</i>	32 (62,7)	22 (52,4)	54 (58,1)	1,524 (0,660 – 3,543)	0,162
<i>Feminino</i>	19 (37,3)	20 (47,6)	39 (41,9)		
<b>Escolaridade Materna</b>					
<i>Ensino I<sup>#</sup></i>	44 (86,3)	38 (90,5)	82 (88,2)	0,664 (0,159 – 2,474)	0,278
<i>Ensino II<sup>#</sup></i>	7 (13,7)	4 (9,5)	11 (11,8)		
<b>Renda Familiar</b>					
<i>Até 1 salário mínimo</i>	50 (98,0)	40 (95,2)	90 (96,8)	2,476 (0,182 – 75,11)	0,257
<i>&gt; 1 salário mínimo</i>	1 (2,0)	2 (4,8)	3 (3,2)		
<b>Tabagismo Passivo</b>					
<i>Sim</i>	14 (27,4)	14 (33,3)	28 (30,1)	0,759 (0,307 – 1,87)	0,273
<i>Não</i>	37 (72,6)	28 (66,7)	65 (69,9)		
<b>História alergia</b>					
<i>Alergia familiar</i>	30 (58,8)	10 (23,8)	40 (43,0)	<b>4,492 (1,842 – 11,52)</b>	<b>&lt;0,001*</b>
<i>Sem alergia familiar</i>	21 (41,2)	32 (76,2)	53 (57,0)		
<b>Idade</b>					
<i>≤ 7 anos</i>	29 (56,9)	14 (33,3)	43 (46,2)	<b>2,608 (1,12 – 6,232)</b>	<b>0,012*</b>
<i>&gt; 7 anos</i>	22 (43,1)	28 (66,7)	50 (53,8)		
<i>Média (±DP)</i>	7,31 (±3,45)	8,66 (±3,19)	7,925 (±3,38)	-	<b>0,025<sup>§</sup></b>
<i>Mediana (Mín - Máx)</i>	7 (2 – 14)	9 (2 – 15)	8 (2 – 15)	-	
<b>Aleitamento materno</b>					
<i>&lt; 6 meses</i>	26 (51,0)	20 (47,6)	46 (49,5)	1,142 (0,500 – 2,615)	0,376
<i>≥ 6 meses</i>	25 (49,0)	22 (52,4)	47 (50,5)		
<i>Média (±DP)</i>	7,33 (±7,85)	6,95 (±7,21)	7,16 (±7,53)	-	0,475
<i>Mediana (Mín - Máx)</i>	5 (0 - 36)	6 (0 - 36)	6 (0 - 36)	-	
<b>IgE Total</b>					
<i>≥ 250 kU/L</i>	32 (62,7)	23 (54,8)	55 (59,1)	1,386 (0,599 – 3,224)	0,222
<i>&lt; 250 kU/L</i>	19 (37,3)	19 (45,2)	38 (40,9)		
<i>Média (±DP)</i>	641,1 (±824,3)	869,4 (±1359)	744,2 (±1098)	-	0,345
<i>Mediana (Mín - Máx)</i>	412 (22,9 - 3509)	357,5 (7,07 - 5000)	389 (7,07 - 5000)	-	
<b>IgE Anti-Asc</b>					
<i>≥ 0,35 kU/L</i>	27 (54,00)	23 (46,00)	50 (53,76)	0,930 (0,405 – 2,127)	0,432
<i>&lt;0,35 kU/L</i>	24 (55,81)	19 (44,19)	43 (46,24)		
<i>Média (±DP)</i>	1,14 (±2,31)	2,41 (±4,70)	1,71 (±3,62)	-	0,154
<i>Mediana (Mín - Máx)</i>	0,51 (0,01 - 12,50)	0,43 (0,01 - 17,00)	0,47 (0,01 - 17,00)	-	
<b>Eosinófilos</b>					
<i>≥ 500 Cél/mm<sup>3</sup></i>	31 (60,8)	21 (50,0)	52 (55,9)	1,543 (0,671 – 3,571)	0,153
<i>&lt; 500 Cél/mm<sup>3</sup></i>	20 (39,2)	21 (50,0)	41 (44,1)		
<i>Média (±DP)</i>	760,4 (±496,4)	923,6 (±913,9)	834,1 (±716,1)	-	0,443
<i>Mediana (Mín - Máx)</i>	590 (106 – 2083)	493 (174 – 4430)	565 (106 – 4430)	-	

# Ensino I: Analfabeto até ensino fundamental completo; Ensino II: Ensino médio incompleto ao ensino superior completo. \* Diferença significativa quando  $p < 0,05$  pela análise estatística com o método do  $\chi^2$  e teste exato de Fisher. § Diferença significativa quando  $p < 0,05$  pela análise estatística com o teste t de Student e pelo método de Mann-Whitney.

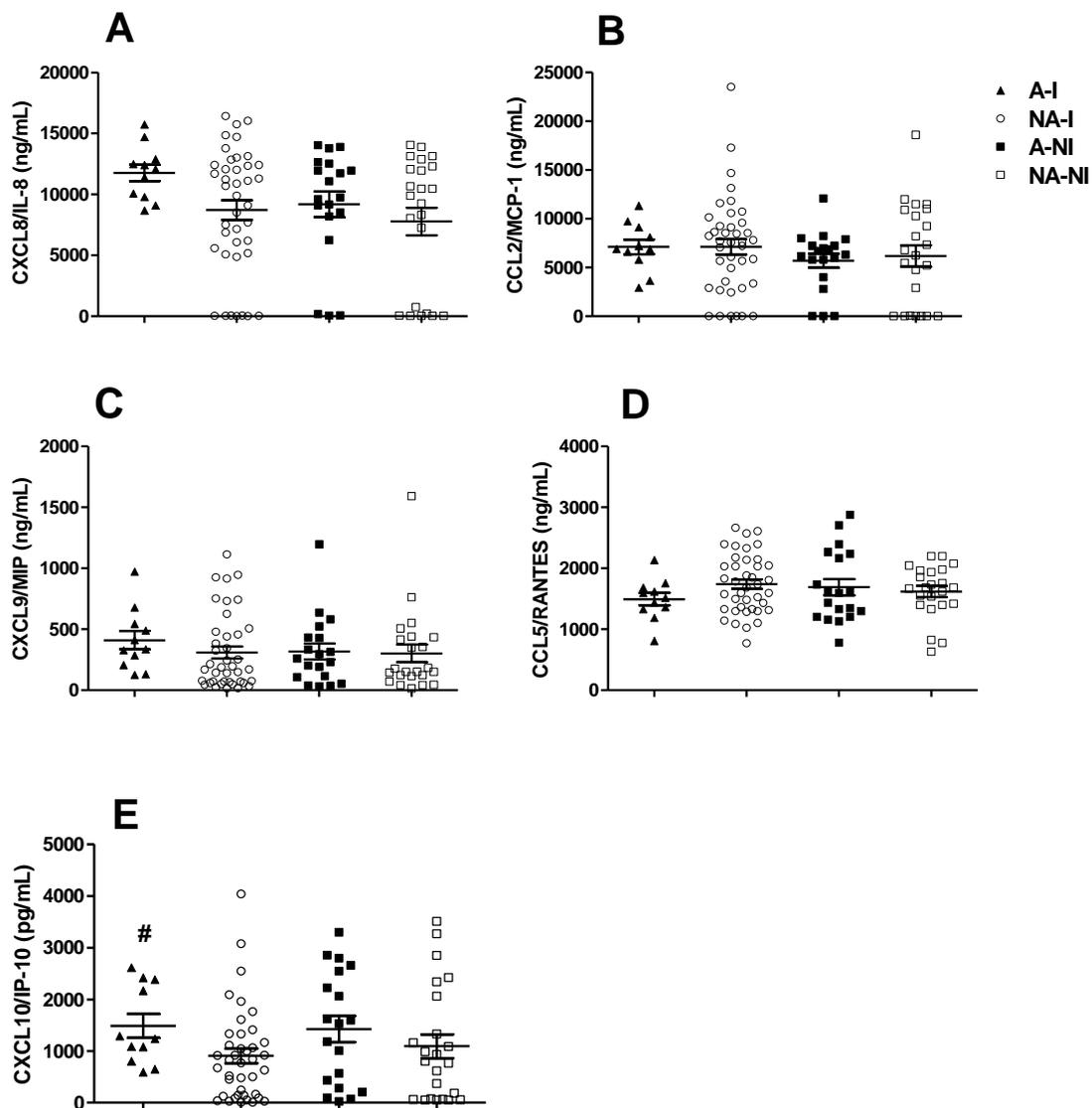
**Tabela 2:** Frequência dos sintomas relacionados à asma e a rinite alérgica em pacientes alérgicos e infectados e não infectados com geohelmintos.

		Alérgicos		Total n (%) n=51 (100)	OR (IC - 95%)	Valor de p	
		A-I n (%) n=11 (21,5)	A-NI n (%) n=40 (78,5)				
<b>Asma</b>	Número de Crises						
		<i>1 ou mais crises</i>	6 (54,5)	36 (90,0)	42 (82,3)	<b>0,141</b> <b>(0,026 – 0,703)</b>	<b>0,008*</b>
		<i>Nenhuma crise</i>	5 (45,5)	4 (10,0)	9 (17,6)		
	Sono perturbado durante a noite						
		<i>Acorda a noite nas crises</i>	6 (54,5)	21 (52,5)	27 (52,9)	1,084 (0,272- 4,451)	0,456
		<i>Nunca acordou</i>	5 (45,5)	19 (47,5)	24 (47,1)		
	Dificuldade para falar durante as crises						
		<i>Sim</i>	3 (27,3)	14 (35,0)	17 (33,3)	0,701 (0,132 – 3,03)	0,332
		<i>Não</i>	8 (72,7)	26 (65,0)	34 (66,7)		
	Chiado no peito após exercício físico						
	<i>Sim</i>	1 (9,1)	19 (47,5)	20 (39,2)	<b>0,114</b> <b>(0,004 – 0,777)</b>	<b>0,011*</b>	
	<i>Não</i>	10 (90,9)	21 (52,5)	31 (60,8)			
Tosse seca a noite							
	<i>Sim</i>	3 (27,3)	26 (65,0)	29 (56,9)	<b>0,208</b> <b>(0,039 – 0,892)</b>	<b>0,016*</b>	
	<i>Não</i>	8 (72,7)	14 (35,0)	22 (43,1)			
<b>Rinite</b>	Espirros com lacrimejamento						
		<i>Sim</i>	4 (36,4)	13 (32,5)	17 (33,3)	1,183 (0,261 – 4,868)	0,403
		<i>Não</i>	7 (63,6)	27 (67,5)	34 (66,7)		
	Quanto a Rinite atrapalha						
		<i>Muito</i>	-	7 (17,5)	24 (47,0)	-	-
		<i>Moderado</i>	2 (18,2)	4 (10,0)	14 (27,5)	-	-
		<i>Um pouco</i>	3 (27,3)	11 (27,5)	6 (11,8)	-	-
	<i>Nada</i>	6 (54,5)	18 (45,0)	7 (13,7)	-	-	

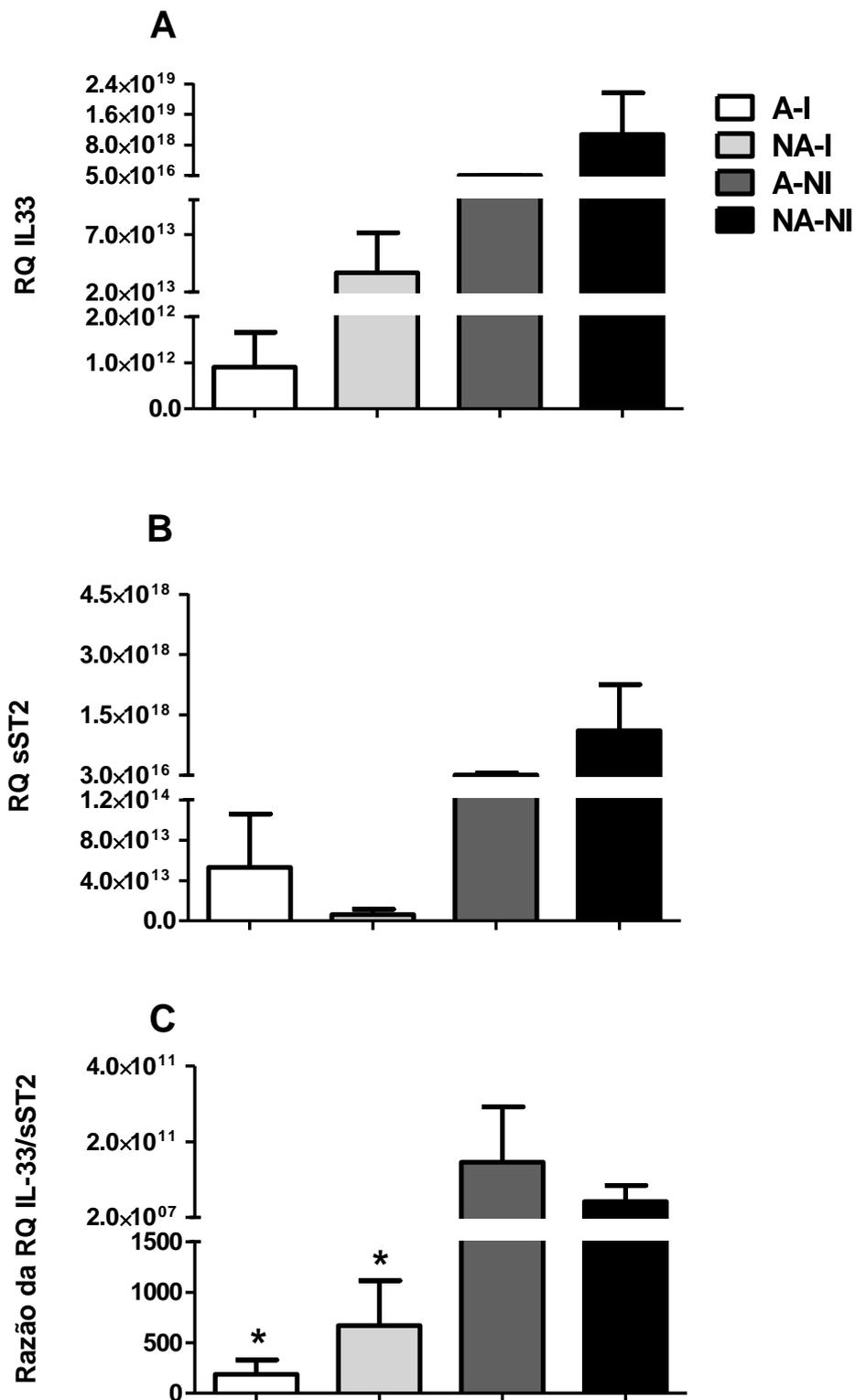
\* Diferença significativa quando  $p < 0,05$  pela análise estatística com o método do  $\chi^2$  e teste exato de Fisher.



**Figura 2:** Níveis das citocinas IL-2 (A), IL-4 (B), IL-6 (C), IFN- $\gamma$  (D), IL-10 (E), TNF- $\alpha$  (F) e IL-17A (G) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de pacientes alérgicos e infectados – A-I ( $n=11$ ); pacientes não alérgicos e infectados – NA-I ( $n=19$ ); alérgicos não infectados – A-NI ( $n=40$ ); e não alérgicos e não infectados – NA-NI ( $n=23$ ). Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas. # diferença significativa com  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo NA-NI. •  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo A-NI. \*  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo NA-I.



**Figura 3:** Níveis de quimiocinas CXCL8/IL-8 (A), CCL2/MCP-1 (B), CXCL9/MIG (C), CCL5/RANTES (D) e CXCL10/IP-10 (E) no sobrenadante de cultura de sangue total periférico, estimuladas com PHA (24 h), de pacientes alérgicos e infectados – A-I ( $n=11$ ); pacientes não alérgicos e infectados – NA-I ( $n=19$ ); alérgicos não infectados – A-NI ( $n=40$ ); e não alérgicos e não infectados – NA-NI ( $n=23$ ). Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas. # diferença significativa com  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo NA-I.



**Figura 4:** Expressão relativa (RQ) do RNAm da IL-33 (A), sST2 (B) e entre a razão IL-33/sST2 (C) em cultura de células de sangue total periférico, sob estimulado com PHA (24h), de pacientes alérgicos e infectados – A-I ( $n=6$ ); pacientes não alérgicos e infectados – NA-I ( $n=15$ ); alérgicos não infectados – A-NI ( $n=22$ ); e não alérgicos e não infectados – NA-NI ( $n=12$ ). Resultados expressos como média e SEM. Aplicou-se o teste Mann-Whitney para comparação das medianas. \* diferença significativa com  $p < 0,05$  em relação aos grupos A-NI e NA-NI.

## 6 CONCLUSÕES

1. A infecção por *Schistosoma mansoni* constituiu um fator de proteção para a asma/rinite alérgica e para a reatividade cutânea, apesar do histórico materno de alergia refletir um background genético e atuar como risco.
2. As infecções por geohelminhos constituíram fator de proteção para a asma/rinite alérgica.
3. A infecção pelo *S. mansoni* em conjunto com a alergia levou a um aumento da citocina de resposta imune inata (IL-6), da resposta Th1 (IFN- $\gamma$ ), Th2 (IL-4) e da citocina imunossupressora IL-10, podendo esta última estar associada à proteção induzida pelo *S. mansoni*.
4. A infecção pelos geohelminhos em conjunto com a alergia também levou a um aumento da citocina de resposta imune inata (IL-6), Th1 (IL-2, IFN- $\gamma$ ), Th2 (IL-4) e da IL-10. Porém, os indivíduos somente alérgicos também apresentaram aumento dessas mesmas citocinas e do TNF- $\alpha$ . O aumento da IL-10 nos indivíduos alérgicos não infectados pode refletir uma modulação da própria doença alérgica;
5. A infecção pelo *S. mansoni* reduziu o CCL2/MCP-1, envolvida com resposta Th2, nos indivíduos alérgicos. Contudo, a infecção pelos geohelminhos não alterou os níveis desta quimiocina.
6. A infecção pelo *S. mansoni* aumentou os níveis das quimiocinas anti-fibróticas CXCL9/MIG, CXCL-10/IP-10, em acordo com infecção crônica assintomáticas.
7. A infecção pelo *S. mansoni* reduziu os níveis de expressão do RNAm da IL-33. Essa alteração pode sugerir a participação dessa citocina na regulação das doenças alérgicas em indivíduos infectados.
8. A infecção pelos geohelminhos reduziu a razão da expressão do RNAm de IL-33 e do ST2s (RNAm/ST2s), sugerindo níveis maiores do receptor solúvel nos indivíduos alérgicos e infectados e menor atuação da IL-33.
9. A IgE anti-Asc não mostrou associação, pois não interferiu na proteção induzida pelo *S. mansoni*.

## REFERÊNCIAS

- ABATH, Frederico GC et al. Immunopathogenic mechanisms in schistosomiasis: what can be learnt from human studies?. **Trends in parasitology**, v. 22, n. 2, p. 85-91, 2006.
- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Hipersensibilidade imediata. In: \_\_\_\_\_. **Imunologia celular e molecular**. 6. ed. Trad. Claudia Reali e outros. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.441-461.
- ACEVEDO, N.; CARABALLO, L. IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. **Parasite immunology**, v. 33, n. 6, p. 309–21, jun. 2011.
- ADALID-PERALTA, Laura et al. Mechanisms underlying the induction of regulatory T cells and its relevance in the adaptive immune response in parasitic infections. **International journal of biological sciences**, v. 7, n. 9, p. 1412, 2011.
- ALLAKHVERDI, Z. et al. Cutting edge: the ST2 ligand IL-33 potently activates and drives maturation of human mast cells. **J Immunol**. v. 179. n. 4. 15 ago. 2007, pp. 2051-4.
- ALCÂNTARA-NEVES, Neuza M. et al. The presence of serum anti-*Ascaris lumbricoides* IgE antibodies and of *Trichuris trichiura* infection are risk factors for wheezing and/or atopy in preschool-aged Brazilian children. **Respiratory research**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2010.
- ALI, Shafaqat et al. IL-1 receptor accessory protein is essential for IL-33-induced activation of T lymphocytes and mast cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 47, p. 18660-18665, 2007.
- ALVES-FILHO, J. C. et al. Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection. **Nat Med**. v. 16. n. 6. Jun. 2010, pp. 708-12. doi: 10.1038/nm.2156. Epub 2010 May 16.
- ANDRADE, M. V. et al. Amplification of cytokine production through synergistic activation of NFAT and AP-1 following stimulation of mast cells with antigen and IL-33. **Eur J Immunol**. v. 41. n. 3. Mar. 2011, pp. 760-72. doi: 10.1002/eji.201040718. Epub 2011 Feb 10.
- ANTHONY, R. M. et al. Intravenous gammaglobulin suppresses inflammation through a novel T(H)2 pathway. **Nature**. v. 475. n. 7354. 19 Jun. 2011, pp. 110-3. doi: 10.1038/nature10134.
- ARAUJO, Maria Ilma et al. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. **International archives of allergy and immunology**, v. 123, n. 2, p. 145-148, 2000.
- ARAÚJO, Maria Ilma et al. *Schistosoma mansoni* infection modulates the immune response against allergic and auto-immune diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 27-32, 2004.

ARSHAD, Syed Hasan. Primary prevention of asthma and allergy. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 116, n. 1, p. 3-14, 2005.

ASHER, M. Innes et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. **The Lancet**, v. 368, n. 9537, p. 733-743, 2006.

ASHER, M. I. Recent perspectives on global epidemiology of asthma in childhood. **Allergologia et immunopathologia**, v. 38, n. 2, p. 83-87, 2010.

AZAZI, Ensaf A. et al. Serum levels of Interleukin-33 and its soluble receptor ST2 in asthmatic patients. **Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis**, v. 63, n. 2, p. 279-284, 2014.

BAGER, P.; ARNVED, J.; RØNBORG, S.; et al. *Trichuris suis* ova therapy for allergic rhinitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **J Allergy Clin Immunol**. v. 125, n. 1, p. 123-130, 2010.

BAGER, Peter et al. Symptoms after ingestion of pig whipworm *Trichuris suis* eggs in a randomized placebo-controlled double-blind clinical trial. **PloS one**, v. 6, n. 8, p. e22346, 2011.

BARNES, Peter J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 3, p. 183-192, 2008.

BARNES, Peter J.; ADCOCK, Ian M. How do corticosteroids work in asthma?. **Annals of internal medicine**, v. 139, n. 5\_Part\_1, p. 359-370, 2003.

BEASLEY, Richard et al. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. **The Lancet**, v. 351, n. 911, p. 1225-1232, 1998.

BELKAID, Yasmine; ROUSE, Barry T. Natural regulatory T cells in infectious disease. **Nature immunology**, v. 6, n. 4, p. 353-360, 2005.

BETTENCOURT, ANA RITA DE CÁSSIA et al. Educação de pacientes com asma: atuação do enfermeiro. **J. Pneumologia**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 193-200, July 2002. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S01025862002000400004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01025862002000400004&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em 03 Oct. 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-35862002000400004>.

BONACCHI, A. et al. Signal transduction by the chemokine receptor CXCR3: Activation of Ras/ERK, Src, and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt controls cell migration and proliferation in human vascular pericytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 13, p. 9945-9954, 2001.

BOURGEOIS, E. et al. The pro-Th2 cytokine IL-33 directly interacts with invariant NKT and NK cells to induce IFN-gamma production. **Eur J Immunol**. v. 39, n. 4, Abr. 2009, pp. 1046-55. doi: 10.1002/eji.200838575.

BOUSQUET, Jean et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008\*. **Allergy**, v. 63, n. s86, p. 8-160, 2008.

BRITTON, John. Parasites, allergy, and asthma. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 168, n. 3, p. 266-267, 2003.

CANONICA, G. W. et al. A survey of the burden of allergic rhinitis in Europe. **Allergy**, v. 62, n. s85, p. 17-25, 2007.

CARABALLO, L. et al. Particularities of allergy in the Tropics. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 20, jan. 2016.

CARDOSO, Luciano; C OLIVEIRA, Sergio; I ARAUJO, Maria. Schistosoma mansoni antigens as modulators of the allergic inflammatory response in asthma. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)**, v. 12, n. 1, p. 24-32, 2012.

CARR, T. F. et al. Eosinophilic bioactivities in severe asthma. **The World Allergy Organization journal**, v. 9, p. 21, jan. 2016.

CARRIERE, V. et al. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 104. n. 1. 2 jan. 2007, pp. 282-7. Epub 2006 Dec 21.

CARVALHO, E. M., BASTOS, L. S.; ARAUJO, M. I. Worms and allergy. **Parasite Immunol**, v. 28, p. 525-534, 2006.

CAYROL, Corinne; GIRARD, Jean-Philippe. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 22, p. 9021-9026, 2009.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Data, Statistics, and Surveillance. CDC. Atlanta. 2013. Disponível em: <[www.cdc.gov/asthma/asthmadata.htm](http://www.cdc.gov/asthma/asthmadata.htm)> . Acesso em 28 nov. 2015.

CHACKERIAN, Alissa A. et al. IL-1 receptor accessory protein and ST2 comprise the IL-33 receptor complex. **The Journal of Immunology**, v. 179, n. 4, p. 2551-2555, 2007.

CHENG, T. P.; PIZARRO, G. U.; WECKX, L. L. M. Atualização: Conduas na Rinite Alérgica. **Rev Bras Clin Terap**, v. 31, n. 1, p. 35-44, 2005.

CHERRY, W. Brett et al. A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human eosinophils. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 121, n. 6, p. 1484-1490, 2008.

COLLEY, Daniel G. et al. Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 383, n. 9936, p. 2253-2264, 2014.

COOPER, P. J. Can intestinal helminth infections (geohelminths) affect the development and expression of asthma and allergic disease?. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 128, n. 3, p. 398-404, 2002.

\_\_\_\_\_. Intestinal worms and human allergy. **Parasite Immunology**, v. 26, n. 11–12, p. 455–467, 2004.

COOPER, Philip J. et al. Ascaris lumbricoides–induced interleukin-10 is not associated with atopy in schoolchildren in a rural area of the tropics. **Journal of Infectious Diseases**, v. 197, n. 9, p. 1333-1340, 2008.

COOPER, P. J. et al. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 168, n. 3, p. 313–7, 1 ago. 2003.

COOPER, P. J. Mucosal immunology of geohelminth infections in humans. **Mucosal immunology**, v. 2, n. 4, p. 288–99, jul. 2009.

CORRIGAN, C. Mechanisms of asthma. **Medicine**, v. 36, n. 4, p. 177-180, 2008

COSTA, Luiz Guilherme Ferreira da Silva et al. Esquistossomose com descompensação pulmonar aguda: relato de caso. **Rev. Soc. Bras. Clín. Méd.**, v. 10, n. 2, 2012.

COURA, J. R.; AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 13-19, 2004.

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

ESTEVEES, Priscila C. et al. Validação do questionário do ISAAC para rinite alérgica perene e sazonal (polinose) em Curitiba. **Rev. bras. alergologia imunopatol**, v. 22, n. 4, p. 106-13, 1999.

FAGUNDES, C. T. et al. ST2, an IL-1R family member, attenuates inflammation and lethality after intestinal ischemia and reperfusion. **J Leukoc Biol**. v. 81. n. 2. fev. 2007, pp. 492-9. Epub 2006 Nov 10.

FALLON, Pádraic G.; MANGAN, Niamh E. Suppression of TH2-type allergic reactions by helminth infection. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 3, p. 220-230, 2007.

FARIA, Isabel CJ de et al. Association of TGF-beta1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. **Jornal de pediatria**, v. 84, n. 3, p. 203-210, 2008.

FEARY, J. et al. Safety of hookworm infection in individuals with measurable airway responsiveness: a randomized placebo-controlled feasibility study. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 39, n. 7, p. 1060-1068, 2009.

FERREIRA, Helder et al. Estudo epidemiológico localizado da frequência e fatores de risco para enteroparasitoses e sua correlação com o estado nutricional de crianças em idade pré-escolar. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, n. 4, 2006.

FERREIRA, M. M.; COELHO, Raquel; TRINDADE, J. Prevenção primária da doença alérgica. **Acta Médica Portuguesa**, p. 215-219, 2007.

FRANCO, R. et al. The economic impact of severe asthma to low-income families. **Allergy**, v. 64, n. 3, p. 478-483, 2009.

GANGUR, V.; SIMONS, F.; HAYGLASS, K. Human IP - 10 selectively promotes dominance of polyclonally activated and environmental antigen - driven IFN - gamma over IL - 4 responses . **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n. 9, p. 705–713, 1998.

GAO, Qiaoyan; LI, Yan; LI, Mingcai. The potential role of IL-33/ST2 signaling in fibrotic diseases. **Journal of leukocyte biology**, v. 98,n. 1, p. 15-22, 2015.

GINA – GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA. **Um guia de bolso para médicos e enfermeiros 2014**. Disponível em: < [http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA\\_Pocket\\_Portuguese2014.pdf](http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA_Pocket_Portuguese2014.pdf) > Acesso em: 08 de Out. 2015.

GLÜCK, Joanna; RYMARCZYK, Barbara; ROGALA, Barbara. Serum IL-33 but not ST2 level is elevated in intermittent allergic rhinitis and is a marker of the disease severity. **Inflammation Research**, v. 61, n. 6, p. 547-550, 2012.

GONÇALVES, Felipe et al. Esquistossomose aguda, de caráter episódico, na Ilha de Itamaracá, Estado de Pernambuco. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 7, n. 3, p. 424-425, 1991.

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

GUO, Liying et al. IL-1 family members and STAT activators induce cytokine production by Th2, Th17, and Th1 cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 32, p. 13463-13468, 2009.

HAGEL, I. et al. Modulation of the allergic reactivity of slum children by helminthic infection. **Parasite Immunology**. v. 15. n. 6. 1993, pp. 311-315.

HANSEN, G.; MCINTIRE, J. J.; YEUNG, V. P.; BERRY, G.; THORBECKE, G. J.; CHEN, L.; et al. CD4R Th cells engineered to produce latent TGF-b1 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. **J Clin Invest**, v. 105, n. 1, p. 61-70, 2000.

HAN, P. et al. Interleukin-33 mediates formalin-induced inflammatory pain in mice. **Neuroscience**. v. 241. 25 jun. 2013, pp. 59-66. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.03.019. Epub 2013 Mar 20.

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

HAWLADER, M. D. H. et al. Ascaris lumbricoids Infection as a Risk Factor for Asthma and Atopy in Rural Bangladeshi Children. **Tropical medicine and health**, v.

42, n. 2, p. 77–85, jun. 2014.

HAYAKAWA, Hiroko et al. Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 36, p. 26369-26380, 2007.

HAYAKAWA, M. et al. Mature interleukin-33 is produced by calpain-mediated cleavage in vivo. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 387, n 1. 11 set. 2009, pp. 218-22. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.07.018. Epub 2009 Jul 9.

HEGEWALD, J. et al. Cellular cytokine and chemokine responses to parasite antigens and fungus and mite allergens in children co-infected with helminthes and protozoa parasites. **Journal of inflammation (London, England)**, v. 12, p. 5, jan. 2015.

HOPKIN, J. Mechanisms of asthma. In:\_\_\_\_\_ Principles of asthma. Medicine. 2003. 31(12). 41-44.

HUDSON, C. A..Induction of IL-33 expression and activity in central nervous system glia. **J Leukoc Biol.** v. 84, n. 3. set. 2008, pp. 631-43. doi: 10.1189/jlb.1207830. Epub 2008 Jun 13.

HUEBER, A. J. et al. IL-33 induces skin inflammation with mast cell and neutrophil activation. **Eur J Immunol.** v. 41, n. 8. ago. 2011, pp. 2229-37. doi: 10.1002/eji.201041360. Epub 2011 Jun 24.

HUMPHREYS, Neil E. et al. IL-33, a potent inducer of adaptive immunity to intestinal nematodes. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 4, p. 2443-2449, 2008.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo demográfico de 2010 e setores censitários**. IBGE Cidades, 2016. Disponível em <[www.cidades.ibge.gov.br/](http://www.cidades.ibge.gov.br/)>. Acesso em: 08 jan 2016.

IBIAPINA, Cássio da Cunha et al . Rinite alérgica: aspectos epidemiológicos, diagnósticos e terapêuticos. **J. bras. pneumol.**, São Paulo , v. 34, n. 4, p. 230-240, Apr. 2008. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S180637132008000400008&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S180637132008000400008&lng=en&nrm=iso)>.

IIKURA, Motoyasu et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. **Laboratory Investigation**, v. 87, n. 10, p. 971-978, 2007.

IKUTANI, Masashi et al. Emerging roles of IL-33 in inflammation and immune regulation. **Inflammation and Regeneration**, v. 35, n. 2, p. 069-077, 2015.

INTERNATIONAL RHINITIS MANAGEMENT WORKING GROUP et al. **International consensus report on the diagnosis and management of rhinitis**. Munksgaard, 1994.

JANSON, C. et al. The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far?. **European Respiratory Journal**, v. 18, n. 3, p. 598-611, 2001.

JARDIM, J.R.B. Indicação de corticosteroides. **Revista Médico Reporter**, a.4, n.35, p.30-35, 2002.

JIANG, H. R. et al. IL-33 attenuates EAE by suppressing IL-17 and IFN- $\gamma$  production and inducing alternatively activated macrophages. **Eur J Immunol**. v. 42. n. 7. Jul. 2012, pp. 1804-14. doi: 10.1002/eji.201141947. Epub 2012 Jun 12.

JONES, Leigh A. et al. IL-33 receptor (T1/ST2) signalling is necessary to prevent the development of encephalitis in mice infected with *Toxoplasma gondii*. **European journal of immunology**, v. 40, n. 2, p. 426-436, 2010.

JUNG, M. Y. et al. IL-33 induces a hyporesponsive phenotype in human and mouse mast cells. **J Immunol**. v. 190. n. 2. 15 jan. 2013, pp. 531-8. doi: 10.4049/jimmunol.1201576. Epub 2012 Dec 17.

KABESCH, M. Candidate genes and the genetic epidemiology of asthma. **Paediatric Resperatory Reviews**, v. 5, p. 23-25, 2004.

KALENDA, Yombo et al. Role of interleukin-33 during *Schistosoma mansoni* infection (MPF7P. 713). **The Journal of Immunology**, v. 194, n. 1. Supplement. 2015, p, 203-14.

KAMEKURA, R. et al. The role of IL-33 and its receptor ST2 in human nasal epithelium with allergic rhinitis. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 42, n. 2, p. 218-228, 2012.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**. Guanabara-Koogan, 10<sup>a</sup> ed. 2007.

KLEIN, S. L.; FLANAGAN, K. L. Sex differences in immune responses. **Nature reviews. Immunology**, v. 16, n. 10, p. 626–638, 22 ago. 2016.

KOH, Young Yull; KIM, Chang Keun. The development of asthma in patients with allergic rhinitis. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 3, n. 3, p. 159-164, 2003.

KÜCHLER, Axel M. et al. Nuclear interleukin-33 is generally expressed in resting endothelium but rapidly lost upon angiogenic or proinflammatory activation. **The American journal of pathology**, v. 173, n. 4, p. 1229-1242, 2008.

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

KUROWSKA-STOLARSKA, M. et al. IL-33 amplifies the polarization of alternatively activated macrophages that contribute to airway inflammation. **Journal of Immunology**. n. 15; v. 183. n. 10. Nov. 2009, pp. 6469-77. doi: 10.4049/jimmunol.0901575.

LAMBERTUCCI, José Roberto. Acute schistosomiasis mansoni: revisited and reconsidered. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 422-435, 2010.

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

LECART, Sandrine et al. Activated, but not resting human Th2 cells, in contrast to Th1 and T regulatory cells, produce soluble ST2 and express low levels of ST2L at the cell surface. **European journal of immunology**, v. 32, n. 10, p. 2979-2987, 2002.

LECHNER, C. J. et al. Cytokine and chemokine responses to helminth and protozoan parasites and to fungus and mite allergens in neonates, children, adults, and the elderly. **Immunity & ageing : I & A**, v. 10, n. 1, p. 29, 15 jul. 2013.

LEFRANÇAIS, E. et al.. IL-33 is processed into mature bioactive forms by neutrophil elastase and cathepsin G. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 109, n. 5. 31 jan. 2012, pp. 1673-8. doi: 10.1073/pnas.1115884109. Epub 2012 Jan 17.

LEUNG, B. P. et al. A novel therapy of murine collagen-induced arthritis with soluble T1/ST2. **J Immunol**. v. 173. n. 1. 1 Jul. 2004, pp. 145-50.

LIEW, F. Y.; PITMAN, N. I.; MCINNES, I. B. Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family. **Nat Rev Immunol**. v. 10. n. 2. Feb. 2010, pp. 103-10. doi: 10.1038/nri2692. Epub 2010 Jan 18. Review.

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

LUGOGO, Njira L.; KRAFT, Monica. Epidemiology of asthma. **Clinics in chest medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-15, 2006.

LYNCH, N. et al. Allergic reactivity and helminthic infection in Amerindians of the Amazon Basin. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v. 72, n. 4, p. 369-372, 1983.

LYNCH, N. R. et al. Allergic reactivity and socio-economic level in a tropical environment. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 17, n. 3, p. 199-207, 1987.

LYNCH, N. R. et al. Influence of socio-economic level on helminthic infection and allergic reactivity in tropical countries. **Allergy and immunity to helminths: common mechanisms or divergent pathways.**, p. 51-62, 1992.

LYNCH, Neil R. et al. Incidence of atopic disease in a tropical environment: partial independence from intestinal helminthiasis. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 73, n. 2, p. 229-233, 1984.

MACDONALD, Andrew S. et al. Impaired Th2 development and increased mortality during *Schistosoma mansoni* infection in the absence of CD40/CD154 interaction. **The Journal of Immunology**, v. 168, n. 9, p. 4643-4649, 2002.

MAESTRELLI, Piero et al. Definition, Clinical Features, Investigations, and Differential Diagnosis of Asthma. In: KAY, A. Barry; KAPLAN, A. P.; BOUSQUET, J.; HOLT, P. (Ed.). **Allergy and allergic diseases**. John Wiley & Sons, 2009. Cap. 76, part. 10, pp. 1567-1590.

MAGRO, D. A. C. et al. An interleukin-33/ST2 signaling deficiency reduces overt pain-like behaviors in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 2013. (no prelo) <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431X20132894>

MAIA, José Geraldo Soares et al. Prevalence of asthma and asthma symptoms among 13 and 14 year old schoolchildren, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 292-299, 2004.

MARTIN, P. et al.. Disease severity in K/BxN serum transfer-induced arthritis is not affected by IL-33 deficiency. **Arthritis Res Ther**. v. 15. n. 1. 16 jan. 2013. R13. [Epub ahead of print].

MARVIE, P. et al. Interleukin-33 overexpression is associated with liver fibrosis in mice and humans. **J Cell Mol Med**. v. 14, n. 6B. Jun. 2010, pp. 1726-39. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00801.x. Epub 2009 Jun 5.

MATERA, Giovanni et al. Ascaris lumbricoides-induced suppression of total and specific IgE responses in atopic subjects is interleukin 10-independent and associated with an increase of CD25+ cells. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 62, n. 3, p. 280-286, 2008.

MCKEE, Amy S.; PEARCE, Edward J. CD25+ CD4+ cells contribute to Th2 polarization during helminth infection by suppressing Th1 response development. **The Journal of Immunology**, v. 173, n. 2, p. 1224-1231, 2004.

MCSORLEY, H. J. et al. Blockade of IL-33 release and suppression of type 2 innate lymphoid cell responses by helminth secreted products in airway allergy. **Mucosal immunology**, v. 7, n. 5, p. 1068–78, set. 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Informações de saúde, 2014**. Ministério da Saúde/DataSUS, 2015. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br>> . Acesso em 26 nov. 2015.

\_\_\_\_\_. **Esquistossomose, 2014**. Ministério da Saúde/Serviço de Vigilância em Saúde (SVS), 2015. Disponível em: <[portalsaude.saude.gov.br/index.php/oministerio/principal/secretarias/svs/esquistossomose](http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/oministerio/principal/secretarias/svs/esquistossomose)>. Acesso em: 30 out. 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº 1.317**: aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Asma. Brasília: Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde, 25 nov. 2013. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/prt1317\\_25\\_11\\_2013.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/prt1317_25_11_2013.html)>. Acesso em: 8 dez. 2015.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA; SERVIÇO GEOLÓGICO DO BRASIL - CPRM. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea Estado de Pernambuco**: diagnóstico do município de Ilha de Itamaracá. Recife: set. 2005. Disponível em: <[http://rigeo.cprm.gov.br/xmlui/bitstream/handle/doc/16285/Rel\\_Ilha%20de%20Itamarac%C3%A1.pdf?sequence=1](http://rigeo.cprm.gov.br/xmlui/bitstream/handle/doc/16285/Rel_Ilha%20de%20Itamarac%C3%A1.pdf?sequence=1)>. Acesso em: 8 dez. 2015.

MONCAYO, A-L. et al. Effects of geohelminth infection and age on the associations between allergen-specific IgE, skin test reactivity and wheeze: a case-control study. **Clinical and experimental allergy**: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology, v. 43, n. 1, p. 60–72, jan. 2013.

MORAIS, N. G. de et al. Effect of neonatal malnutrition on expression of nitric oxide synthase enzyme, production of free radicals and in vitro viability of alveolar macrophages infected with methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **European journal of nutrition**, v. 55, n. 1, p. 403–11, fev. 2016.

MOURA, José Augusto Rubim de; CAMARGOS, Paulo Augusto Moreira; BLIC, Jacques de. Tratamento profilático da asma. **Jornal de pediatria (Rio J.)**, Porto Alegre, v. 78, supl. 2, pp. 141-150, Dec. 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S002175572002000800005&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S002175572002000800005&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 03 out. 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/S0021-75572002000800005>.

MURPHY, K. Alergia e doenças alérgicas. In: \_\_\_\_\_. **Imunobiologia de Janeway**. 8. ed. Trad. Denise C. Machado e outros. Porto Alegre: Artmed, 2014. p. 571-582.

CERCI NETO, Alcindo. **Asma em saúde pública**. Editora Manole Ltda, 2007.

NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. In: MELO, A.L., COELHO, P.M.Z., *Schistosoma mansoni* e a doença. Atheneu, São Paulo:13ª ed., p. 193-212. 2007.

NG, T. H. et al. Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10. **Front Immunol**, v. 4, n. 129.10, p. 3389, 2013.

OH, Jae-Won et al. CD4 T-helper cells engineered to produce IL-10 prevent allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 110, n. 3, p. 460-468, 2002.

OKADA, Hea et al. The ‘hygiene hypothesis’ for autoimmune and allergic diseases: an update. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 160, n. 1, p. 1-9, 2010.

OLIVEIRA, Sara Menezes de et al. Association between allergic responses and *Schistosoma mansoni* infection in residents in a low-endemic setting in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 770-774, 2014.

OSHIKAWA, Katsuhisa et al. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 164, n. 2, p. 277-281, 2001.

PALOMO, Jennifer et al. Critical role of IL-33 receptor ST2 in experimental cerebral malaria development. **European journal of immunology**, v. 45, n. 5, p. 1354-1365, 2015.

PARK, Yong Mean; BOCHNER, Bruce S. Eosinophil survival and apoptosis in health and disease. **Allergy, asthma & immunology research**, v. 2, n. 2, p. 87-101, 2010.

PAWANKAR, Ruby et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma in Asia Pacific and the ARIA update 2008. **World Allergy Organ J**, v. 5, n. Suppl 3, p. S212-S217, 2012.

PEARCE, Edward J. et al. Pillars article: downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *J. Exp. Med.* 1991. 173: 159-166. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 189, n. 3, p. 1104-1111, 2012.

PEARCE, Edward J.; MACDONALD, Andrew S. The immunobiology of schistosomiasis. **Nature Reviews immunology**, v. 2, n. 7, p. 499-511, 2002.

PONTE, Eduardo V. et al. Skin test reactivity and Der p-induced interleukin 10 production in patients with asthma or rhinitis infected with *Ascaris*. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 96, n. 5, p. 713-718, 2006.

PORDEUS, Luciana Cavalcanti et al. A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 17, n. 3, p. 163-175, 2008.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; GARDINER, P. Fármacos Anti-inflamatórios e Imunossupressores. In: \_\_\_\_\_. **Farmacologia**. 6. ed. Elsevier, 2007, pp. 318-335. Cap. 26.

RANK, Matthew A. et al. IL-33-activated dendritic cells induce an atypical T H 2-type response. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 123, n. 5, p. 1047-1054, 2009.

REIS, Atualpa P. Intervenção precoce nas doenças alérgicas. **Rev bras. alerg. imunopatol**, v. 26, p. 226-32, 2003.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 3ª ed. p.171-182. 2010.

ROMAGNANI, S. Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation. **Molecular Immunology**. v. 38, n. 2001, p. 881-885, 2002.

ROSENBERG, Helene F.; PHIPPS, Simon; FOSTER, Paul S. Eosinophil trafficking in allergy and asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 119, n. 6, p. 1303-1310, 2007.

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

SAKAI, Andrea Peiyun Chi. Rinite alérgica. **RBM rev. bras. med**, v. 69, n. 12, 2012.

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

SANADA, S. et al. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. **J. Clin. Invest.** v. 117. n. 6. Jun. 2007, pp. 1538-49. Epub 2007 May 10.

SANTOS, A. B. R. et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040-1047, 2008.

SCHATZ, M. A survey of the burden of allergic rhinitis in the USA. **Allergy**, v. 62, n. s85, p. 9-16, 2007.

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

SESTI-COSTA, R. et al. The IL-33/ST2 Pathway Controls Coxsackievirus B5-Induced Experimental Pancreatitis. **J. Immunol.** v. 191. n. 1. 1 jul. 2013, pp. 283-92. doi: 10.4049/jimmunol.1202806. Epub 2013 Jun 3.

SHANG, Jin et al. Interleukin-33 promotes inflammatory cytokine production in chronic airway inflammation. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 93, pp. 359-366.

SHAW, R. A. et al. Increasing asthma prevalence in a rural New Zealand adolescent population: 1975-89. **Archives of disease in childhood**, v. 65, n. 12, p. 1319-1323, 1990.

SHAW, A. C.; GOLDSTEIN, D. R.; MONTGOMERY, R. R. Age-dependent dysregulation of innate immunity. **Nat Rev Immunol**, v. 13, n. 12, p. 875-887, 2014.

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

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

SMITHGALL, Molly D. et al. IL-33 amplifies both Th1-and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive Th2 cells, iNKT and NK cells. **International immunology**, v. 20, n. 8, p. 1019-1030, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o manejo da asma-2012. **J Bras Pneumol**, v. 38, n. Suplemento 1, 2012.

SOCIEDADES BRASILEIRAS DE ALERGIA, IMUNOPATOLOGIA, PEDIATRIA, PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma 2002. **J Pneumol**, v. 28, n. Supl 1, p. S1-S28, 2002.

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, 1997.

SOLÉ, D. et al. Prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and atopic eczema among adolescents living in urban and rural areas in different regions of Brazil. **Allergologia et immunopathologia**, v. 35, n. 6, p. 248-253, 2007.

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

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

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

SOLÉ, Dirceu et al. Asma na criança: classificação e tratamento. **J Pediatr (Rio J)**, v. 74, n. Supl 1, p. S48-S58, 1998.

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

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

SOUZA, Valdênia M. O. et al. Giardia lamblia and respiratory allergies: a study of children from an urban area with a high incidence of protozoan infections. **Jornal de pediatria**, v. 88, n. 3, p. 233-238, 2012.

SOUZA-MACHADO, Carolina et al. Rapid reduction in hospitalisations after an intervention to manage severe asthma. **European Respiratory Journal**, v. 35, n. 3, p. 515-521, 2010.

STRACHAN, David P. Hay fever, hygiene, and household size. **Bmj**, v. 299, n. 6710, p. 1259-1260, 1989.

SUZUKAWA, Maho et al. Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. **Laboratory Investigation**, v. 88, n. 11, p. 1245-1253, 2008.

TAYLOR, Justin J.; MOHRS, Markus; PEARCE, Edward J. Regulatory T Cell Responses Develop in Parallel to Th Responses and Control the Magnitude and Phenotype of the Th Effector Population. **The Journal of Immunology**, v. 176, n. 10, p. 5839-5847, 2006.

THORNE, KAREEN JI; MAZZA, GRAZIELLA. Eosinophilia, activated eosinophils and human schistosomiasis. **J. Cell Sci**, v. 98, p. 265-270, 1991.

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

ULLRICH, Dan. Hygiene hypothesis: are we too “clean” for our own good. **Milwaukee, WI, Medical College of Wisconsin**, 2004 Disponível em: <<http://healthlink.mcw.edu/article/1031002421.html>> , acesso em 12 dez. 2015, 2004.

VALOVIRTA, Erkkä; PAWANKAR, Ruby. Survey on the impact of comorbid allergic rhinitis in patients with asthma. **BMC pulmonary medicine**, v. 6, n. Suppl 1, p. S3, 2006.

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 VLUGT, Luciën EPM et al. Interleukin 10 (IL-10)–Producing CD1dhi Regulatory B Cells From *Schistosoma Haematobium*–Infected Individuals Induce IL-10–Positive T Cells and Suppress Effector T-Cell Cytokines. **Journal of Infectious Diseases**, p. jiu257, 2014.

VAN OENE, C. M. et al. Quality-assessment of disease-specific quality of life questionnaires for rhinitis and rhinosinusitis: a systematic review. **Allergy**, v. 62, n. 12, p. 1359-1371, 2007.

VANNA, Ana Tereza et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood: validation of the rhinitis symptom questionnaire and prevalence of rhinitis in schoolchildren in São Paulo, Brazil. **Pediatric allergy and immunology**, v. 12, n. 2, p. 95-101, 2001.

VERRI Jr., W. A. et al. IL-33 mediates antigen-induced cutaneous and articular hypernociception in mice. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 105. n. 7. 19 fev. 2008, pp. 2723-8. doi: 10.1073/pnas.0712116105. Epub 2008 Feb 4.

VERRI Jr., W. A. et al. IL-33 induces neutrophil migration in rheumatoid arthritis and is a target of anti-TNF therapy. **Ann Rheum Dis**. v. 69. n. 9. Set. 2010, pp. 1697-703. doi: 10.1136/ard.2009.122655. Epub 2010 May 14.

VON MUTIUS, Erika. Environmental factors influencing the development and progression of pediatric asthma. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 109, n. 6, p. S525-S532, 2002.

WASMUTH, H. et al. Antifibrotic effects of CXCL9 and its receptor CXCR3 in livers of mice and humans. **Gastroenterology**. v. 137, n. 1, p. 309–319, 2009.

WATANABE, L. A. et al. Comparison between ImmunoCAP® and skin prick test for evaluation of IgE-mediated cow’s milk allergy in children. **Revista Brasileira de Alergologia e Imunopatologia**, v. 33, n. 6, p. 224–228, 2010.

WILSON, S. et al. A late IL-33 response after exposure to *Schistosoma haematobium* antigen is associated with an up-regulation of IL-13 in human eosinophils. **Parasite immunology**, v. 35, n. 7-8, p. 224-228, 2013.

YAGAMI, Akiko et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. **The Journal of Immunology**, v. 185, n. 10, p. 5743-5750, 2010.

YAMAGUCHI, M. et al. Human basophils and cytokines/chemokines. **Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology**, v. 58, n. 1, p. 1-10, mar. 2009.

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

YANG, Yuan H. et al. Annexin-1 regulates macrophage IL-6 and TNF via glucocorticoid-induced leucine zipper. **The Journal of Immunology**, v. 183, n. 2, p. 1435-1445, 2009.

YU, Xi-Xiang et al. IL-33 Promotes Gastric Cancer Cell Invasion and Migration Via ST2-ERK1/2 Pathway. **Digestive diseases and sciences**, v. 60, n. 5, p. 1265-1272, 2015.

YU, Y.; DENG, W.; LEI, J. Interleukin-33 promotes Th2 immune responses in infected mice with *Schistosoma japonicum*. **Parasitology research**, v. 114, n. 8, p. 2911-8, ago. 2015.

YUGINGER, John W. et al. A community-based study of the epidemiology of asthma: incidence rates, 1964-1883. **American Review of Respiratory Disease**, v. 146, n. 4, p. 888-894, 1992.

ZARPELON, A. C. et al. IL-33/ST2 signalling contributes to carrageenin-induced innate inflammation and inflammatory pain: role of cytokines, endothelin-1 and prostaglandin E2. **Br J Pharmacol**. v. 169. n. 1. Maio 2013, pp. 90-101. doi: 10.1111/bph.12110.

## APÊNDICES

## Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Centro de Pesquisas  
AGGEU MAGALHÃES



Ministério da Saúde

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

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

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

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

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

Consentimento Pós-Infomação

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

Data: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

Assinatura do Responsável pelo menor ou  
Impressão do dedo polegar

[Digite uma  
citação do  
documento  
ou o resumo

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

**Apêndice B – Artigo submetido *International Journal for Parasitology*****The mRNA expression of IL-33 and the antifibrotic chemokines CXCL9 and CXCL10 are involved in chronic infection by *Schistosoma mansoni***

Wheverton C. Nascimento<sup>I,II</sup>, Cássia G. Nóbrega<sup>II</sup>, Érica S. Fernandes<sup>II</sup>, Patrícia A. Santos<sup>II</sup>, Fábio Melo<sup>I</sup>, Vláudia costa<sup>II</sup>, Décio Medeiros<sup>III</sup>, Emanuel Sarinho<sup>III</sup>, Dirceu Solé<sup>IV</sup>, Virginia M. B. Lorena<sup>V</sup>, Constança S. Barbosa<sup>I</sup>, Valdênia O. Souza<sup>II,VI</sup>

<sup>I</sup>Laboratório e Serviço de Referência em Esquistossomose, Departamento de Parasitologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães CPqAM – FIOCRUZ, Recife, Brasil.

<sup>II</sup>Setor de Imunologia, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

<sup>III</sup>Research Center for Allergy and Clinical Immunology, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil-Hospital das Clínicas – HC-PE, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

<sup>IV</sup>Division of Allergy, Clinical Immunology and Rheumatology, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>V</sup>Departamento de Imunologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Recife, Brasil.

<sup>VI</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

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

## ABSTRACT

The chronic asymptomatic hepatosplenic phase of *Schistosoma mansoni* infection is marked by orchestration of subtypes of T-helper lymphocytes (Th1/Th2/Th17/Treg). However, the cytokines/chemokines involved in innate immunity have not been studied thoroughly. The present study presents the first evaluation of IL-33, which induces and feeds back a Th2 response, with its soluble ST2 receptor (sST2) and the chemokines CXCL9/MIG and CXCL10/IP-10, with antifibrotic potential. For this, peripheral blood cultures from individuals with *S. mansoni* (n = 34) and uninfected individuals (n = 31) were stimulated with mitogen and pro- and anti-inflammatory cytokines. Chemokines were evaluated by means of a cytometric bead array. The mRNA expression of IL-33 (IL33mRNA) and sST2 (sST2mRNA) were analyzed through qPCR. In addition, blood count and total IgE tests were performed. The infected individuals showed higher levels of CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG and CXCL10/IP-10, as well as higher levels of the eosinophils, IgE, IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, IL-10 and IFN- $\gamma$ , but not of IL-17. They also presented much lower expression of IL33mRNA, but had similar expression of sST2mRNA. In conclusion, individuals with schistosomiasis showed a classic type 2 response for helminthiasis (IL-4/eosinophils/IgE), accompanied by pro-inflammatory type 1 activation (IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$  and CXCL8/IL-8). However, the production of IL-10 and antifibrotic chemokines (CXCL10/IP-10 and CXCL9/MIG), associated with lower potential for IL-33 production, corroborates the notion that control over exacerbation of this disease among individuals in this endemic area had been achieved.

**Keywords:** *Schistosoma mansoni*; Chemokines, IL-33; ST2; Immunomodulation

20/02/2017

Your recent submission to IJPARA - Wheverton Ricardo Correia do Nascimento

## Your recent submission to IJPARA

Int J Parasitol <eesserver@eesmail.elsevier.com>

dom 19/02/2017 18:49

Para:Wheverton Ricardo Correia do Nascimento <wheverton.nascimento@cpqam.fiocruz.br>;

Dear Dr. Wheverton Nascimento,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: International Journal for Parasitology

Corresponding Author: Valdenia Souza

Co-Authors: Wheverton C Nascimento, PhD; Cássia G Nóbrega, MSc; Érica S Fernandes, MSc; Patrícia A Santos, PhD; Fábio L Melo, PhD; Virginia B Lorena, PhD; Mônica C Albuquerque, PhD; Vláudia A Costa, PhD; Constança S Barbosa, PhD;

Title: mRNA expression of IL-33 and the antifibrotic chemokines CXCL9/MIG and CXCL10/IP-10 are involved in chronic infection by *Schistosoma mansoni*

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author of this submission at valdenia.souza@gmail.com; do not follow the link below.

An Open Researcher and Contributor ID (ORCID) is a unique digital identifier to which you can link your published articles and other professional activities, providing a single record of all your research.

We would like to invite you to link your ORCID ID to this submission. If the submission is accepted, your ORCID ID will be linked to the final published article and transferred to CrossRef. Your ORCID account will also be updated.

To do this, visit our dedicated page in EES. There you can link to an existing ORCID ID or register for one and link the submission to it:

<https://ees.elsevier.com/ijpara/l.asp?i=79716&l=VS802EL3>

More information on ORCID can be found on the ORCID website, <http://www.ORCID.org>, or on our help page: [http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/2210/p/7923](http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923)

Like other Publishers, Elsevier supports ORCID - an open, non-profit, community based effort - and has adapted its submission system to enable authors and co-authors to connect their submissions to their unique ORCID IDs.

Thank you,

International Journal for Parasitology

**Apêndice C – Artigo submetido *Clinical and Experimental Immunology*****IL-33, its soluble receptor ST2 and chemokines in the modulation of allergic asthma/rhinitis in hosts infected with geohelminths**

Wheverton C. Nascimento<sup>I,II</sup>, Cássia G. Nóbrega<sup>II</sup>, Érica S. Fernandes<sup>II</sup>, Patrícia A. Santos<sup>II</sup>, Vláudia Costa<sup>II</sup>, Décio Medeiros<sup>III</sup>, Emanuel Sarinho<sup>III</sup>, Dirceu Solé<sup>IV</sup>, Virginia M. B. Lorena<sup>V</sup>, Constança S. Barbosa<sup>I</sup>, Valdênia O. Souza<sup>II</sup>

<sup>I</sup>Laboratório e Serviço de Referência em Esquistossomose, Departamento de Parasitologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães CPqAM – FIOCRUZ, Recife, Brasil.

<sup>II</sup>Setor de Imunologia, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

<sup>III</sup>Research Center for Allergy and Clinical Immunology, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil-Hospital das Clínicas – HC-PE, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

<sup>IV</sup>Division of Allergy, Clinical Immunology and Rheumatology, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>V</sup>Departamento de Imunologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Recife, Brasil.

<sup>VI</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil

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

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Geohelminth infections can induce Th2/ Treg responses which modulate allergic reactions. Although chemokines may alter the recruitment of inflammatory cells, and the IL-33, the Th2-responsive cytokine and its soluble receptor ST2s are involved with the intensity of allergic asthma/ rhinitis, these factors have not yet been investigated during the geohelminthiasis. **OBJECTIVE:** To investigate the influence of geohelminth infection (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* and *Ancylostomideos*) on IL-33 and sST2 mRNA expression, chemokines CXCL8/ IL-8, CCL5/ RANTES, CXCL9/ MIG, CCL2/ MCP, and CXCL10/ IP-10, accompanied by cytokines IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  in children with asthma/ allergic rhinitis. **METHODS:** Cross-sectional study nested to a case-control one with four groups: allergic and geohelminths infected individuals (AI), non-allergic and infected individuals (NA-I), allergic and non-infected (A-NI) and non-allergic and non-infected (NANI). The ISAAC questionnaire was applied, socioeconomic data, and blood samples were obtained under mitogenic stimulus. The cytokines and chemokines were detected in the supernatant by cytometric bead array and IL-33 (IL33RNAm) and sST2 (sST2RNAm) mRNA expression were verified by qPCR. **RESULTS:** The geohelminthiasis, with a low parasitic load, was a protective factor for allergy (OR = 0.337, 95% CI = 0.132 - 0.829, p = 0.008) with a lower incidence of a crisis in the last year, chest wheezing after exercise and dry cough overnight. Compared to the NA-NI group, in the allergic individuals, there were higher levels of IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ . However, in group A-I, there was a decrease in IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  levels when compared to NA-I and A-NI, respectively. There was no difference for IL-17, CXCL8/ IL-8, CCL5/ RANTES, CXCL9/ MIG, CCL2/ MCP-1. Although the A-I and NA-I groups did not show reduced levels of IL-33 and sST2, the IL-33/ sST2 ratio was significantly lower in these groups when compared to groups A-NI and NA-NI. **CONCLUSION:** The results indicate that the down-modulation in the production of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  was dependent on both allergy and infection. Thus, the infection *per se* has led to an up-regulation in the expression of ST2s, which may lead to impairment of IL-33 action and lead to lower intensity of symptoms in allergic patients from geohelminthiasis endemic areas.

**Keywords:** Allergic Diseases; Geohelminths; Immunomodulation; Chemokines; IL-33

Manuscript submitted - CEI-2017-6489 ⌵



**Wheverton Ricardo Correia do Nascimento**

dom 19/02/2017 18:10

Att, Wheverton Nascimento Laboratório e Serviço de Referência em ...

← RESPONDER   ←← RESPONDER A TODOS   → ENCAMINHAR   ...



**Clinical and Experimental Immun**

marcar como não lida

sáb 18/02/2017 22:48

**Para:** Wheverton Ricardo Correia do Nascimento;

- Você encaminhou esta mensagem em 19/02/2017 18:10.

18-Feb-2017

Dear Dr. Nascimento

A manuscript titled IL-33, its soluble receptor ST2 and chemokines in the modulation of allergic asthma/ rhinitis in hosts infected with geohelminths (CEI-2017-6489) has been submitted by Dr. Wheverton Nascimento to Clinical and Experimental Immunology.

You are listed as a co-author for this manuscript. The online peer-review system, ScholarOne Manuscripts, automatically creates a user account for you. Your USER ID and PASSWORD for your account is as follows:

Site URL: <https://mc.manuscriptcentral.com/cei>

USER ID: wheverton.nascimento@cpqam.fiocruz.br

PASSWORD: For security reasons your password is not contained in this email. To set your password click the link below.

<https://mc.manuscriptcentral.com/cei?>

[URL\\_MASK=4168819e7e6f454aa2070154f4375284](https://mc.manuscriptcentral.com/cei?URL_MASK=4168819e7e6f454aa2070154f4375284)

You can use the above USER ID and PASSWORD (once set) to log in to the site and check the status of papers you have authored/co-authored. Please log in to <https://mc.manuscriptcentral.com/cei> to update your account information via the edit account tab at the top right.

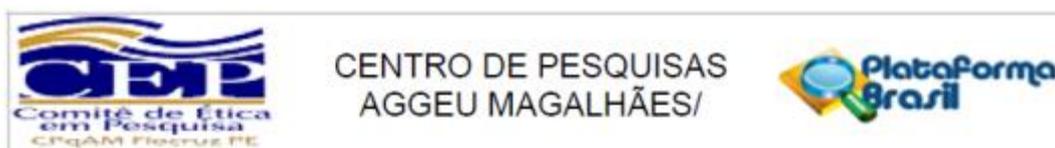
Thank you for your participation.

Sincerely,

Clinical and Experimental Immunology Editorial Office

## ANEXOS

## ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

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

**Pesquisador:** Wheverton Ricardo Correia do Nascimento

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 22822813.3.0000.5190

**Instituição Proponente:** FUNDACAO OSWALDO CRUZ

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 921.916

**Data da Relatoria:** 09/12/2014

**Apresentação do Projeto:**

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

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

**Objetivo da Pesquisa:**

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

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

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

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

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

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



CENTRO DE PESQUISAS  
AGGEU MAGALHÃES/



Continuação do Parecer: 921.916

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

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

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

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

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

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

Prorrogação da finalização do projeto para mais 1 ano.

Inclusão do TCLE para participação de adultos.

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

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

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

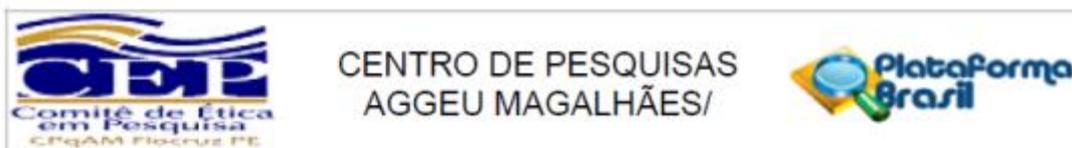
O cronograma foi ajustado para a ampliação de um ano e enquadramento das novas metas do trabalho.

O Relatório Parcial apresenta resultados satisfatórios e está formatado corretamente.

**Recomendações:**

Não há.

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



Continuação do Parecer: 921.916

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

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

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

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

RECIFE, 18 de Dezembro de 2014

---

**Assinado por:**  
**Janaina Campos de Miranda**  
**(Coordenador)**

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

## ANEXO B – Questionário ISAAC – Módulo Asma



## QUESTIONÁRIO ISAAC

ISAAC

Formulário Nº \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

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

Filiação: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ Tel. \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ (chegar cartão) Responsável pela entrevista: \_\_\_\_\_

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

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

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

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

Aleitamento Materno: Por quanto tempo seu (sua) filho(a) mamou exclusivo no peito \_\_\_\_\_ meses

Sexo: Masculino ( ) Feminino ( ) Peso \_\_\_\_\_ Estatura \_\_\_\_\_ INIC \_\_\_\_\_ ( kg/m<sup>2</sup>)

QUESTIONÁRIO 1 (ASMA) \_\_\_\_\_  
(6 a 14 anos)

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

## ANEXO C – Questionário ISAAC – Módulo Rinite



Ministério da Saúde

## QUESTIONÁRIO 2 (Rinite Alérgica) (6 a 14 anos)

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

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

Sim  Não

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

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

Sim  Não

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

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

Sim  Não

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

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

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

Nada  Um pouco  Moderado  Muito

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

Sim  Não