

**Universidade Federal do Rio de Janeiro**

**Ações da dexametasona nas fases aguda e  
crônica da infecção experimental pelo  
*Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 em  
camundongos isogênicos e não isogênicos**

**Juliane Antonio Ramos**

**2004**



Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Centro de Ciências da Saúde  
Faculdade de Farmácia

**Ações da dexametasona nas fases aguda e  
crônica da infecção experimental pelo  
*Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 em  
camundongos isogênicos e não isogênicos**

**JULIENE ANTONIO RAMOS**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao  
programa de Pós-graduação em Ciências  
farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, da  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, como  
parte dos requisitos necessários à obtenção do  
título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

**Orientador: Prof. Alexandre dos Santos Pyrrho**

**Rio de Janeiro**

**Julho de 2004**

**Ações da dexametasona nas fases aguda e crônica da infecção  
experimental pelo *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 em  
camundongos isogênicos e não isogênicos**

**Juliane Antonio Ramos**

**Orientador: Prof. Alexandre dos Santos Pyrrho**

**Dissertação de Mestrado submetida ao programa de Pós-graduação  
em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, da Universidade  
Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos  
necessários á obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

**Aprovada por:**

---

**Presidente, Prof. Dr. Alexandre dos Santos Pyrrho**

---

**Profa. Dra. Reinalda Marisa Lanfredi**

---

**Profa. Dra. Claudia Lúcia Martins da Silva**

---

**Prof. Dr. Mauro Sola Penna**

**Rio de Janeiro**

**Julho de 2004**

## Ficha Catalográfica

Ramos, Juliene Antonio

Ações da dexametasona nas fases aguda e crônica da infecção experimental pelo *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 em camundongos isogênicos e não isogênicos.

Rio de Janeiro, UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2004

xvi, 127f: il.,31cm

Orientador: Alexandre dos Santos Pyrrho

Tese (Mestrado) – UFRJ/ Faculdade de Farmácia/ Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2004

Referências Bibliográficas: f. 106-127

1-Esquistossomose 2-Dexametasona 3-*Schistosoma mansoni* 4-granuloma

I. Universidade Federal do Rio de Janeiro – Faculdade de Farmácia.

II. Título

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Parasitologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFRJ sob orientação do Prof. Dr. Alexandre dos Santos Pyrrho.

À minha mãe, ao meu pai, aos meus irmãos e ao meu marido Alexandre pelo grande amor que sinto por eles.

## **Agradecimentos**

Ao Prof<sup>o</sup> Alexandre dos Santos Pyrrho pela orientação e amizade.

À Prof<sup>a</sup> Lígia Correa e sua equipe pelas cercárias gentilmente cedidas.

Ao Instituto Municipal de Medicina Veterinária pelos camundongos cedidos.

Ao Prof. Antônio Ferreira Pereira e a Prof<sup>a</sup>. Célia Santos da Silva pelo estímulo e amizade ao longo destes anos.

Aos colegas do Centro Federal de Ensino Tecnológico de Química de Nilópolis pelo incentivo ao final deste trabalho.

Aos meus amigos da Farmácia do Hospital Municipal da Lagoa pelo apoio e amizade para que eu pudesse fazer este mestrado.

À Aline, Juliana e ao Rodrigo pela inestimável ajuda e amizade no decorrer deste trabalho.

Ao Eptácio Sousa Lima pelo convívio e ajuda nestes anos.

Ao setor de Hematologia do Departamento de Análises Clínica se Toxicológicas da Faculdade de Farmácia pela ajuda nos testes hematológicos.

À Rozana pela amizade.

Aos meus irmãos Rodney e Raquel pelo carinho e incentivo ao longo destes anos.

À minha Tia Maria da Conceição pelo amor, apoio, incentivo e amizade nestes meus poucos anos de vida.

À minha prima Cely pela amizade e carinho ao longo destes anos.

Às minhas amigas Natália, Claudia, Valeska e Nize, pela amizade gratificante que sempre tivemos nestes longos anos.

À Karina, Josefina e Nilson pelo apoio e amizade neste pouco tempo de convívio.

Aos meus pais pelo amor, apoio, amizade e incentivo e por ter me ensinado tudo que sei hoje.

Ao meu marido Alexandre, pelo amor, compreensão e ajuda principalmente nos momentos de dificuldade.

## RESUMO

**Ações da dexametasona nas fases aguda e crônica da infecção experimental pelo *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 em camundongos isogênicos e não isogênicos**

**Juliane Antonio Ramos**

**Orientador: Prof. Dr. Alexandre dos Santos Pyrrho**

**Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

A esquistossomose é uma infecção que acomete cerca de 200 milhões de pessoas no mundo ocasionando uma grande morbidade e conseqüentemente um elevado prejuízo sócio econômico. Dessa forma, com o objetivo de entender melhor o processo patológico da esquistossomose, foi avaliada a ação da dexametasona na infecção experimental pelo *Schistosoma mansoni*, quando o tratamento com este glicocorticoide era iniciado na fase aguda e crônica da infecção, em camundongos C57BL/6 e SWISS infectados com 45 cercárias e tratados com 1 mg/kg deste fármaco. Os camundongos tratados não apresentaram diferenças no peso corporal nem na carga parasitária quando comparados com o grupo controle. Com relação a quantidade de ovos nos tecidos foi observado uma alteração na distribuição com aumento no tecido intestinal e diminuição no tecido hepático. Além disso, os animais que receberam o fármaco apresentaram uma redução dos parâmetros de morbidade como hepatomegalia, anemia e neutropenia. O tratamento também reduziu o tamanho dos granulomas intestinais e hepáticos sem aumentar a lesão tecidual o que mostra que a infecção está evoluindo com um curso mais ameno.

Palavras-chaves: Esquistossomose, Dexametasona, *Schistosoma mansoni*, granuloma

## ABSTRACT

**Effects of dexametasone in *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 experimental infection at acute and chronic phases in isogenic and non-isogenic mice.**

**Juliene Antonio Ramos**

**Orientador: Prof. Dr. Alexandre dos Santos Pyrrho**

***Abstract* da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

The schistosomiasis is an infection that affects about 200 million people in the world and it causes a large morbidity and consequently elevated social and economic lose. Herein with objective to better understand the pathologic process of schistosomiasis we evaluated the dexamethasone action in haematological, parasitological, biochemical and histopathological parameters in murine experimental infection with *Schistosoma mansoni*. We used the treatment with this glycocorticoid initiating at acute or chronic stage of the infection, in C57BL/6 and SWISS mice that were infected with 45 cercariae and treated with 1 mg/kg of this drug. The treated animals did not present differences in corporal weight and parasitic loads when compared with control group. In relation to the number of eggs in the tissues we observed an alteration in its distribution with an increased quantity in the intestinal tissue and lower number of eggs in the hepatic tissue. Furthermore, treated animals had a significant reduction in the morbidity parameters as hepatosplenomegaly, anemia, and neutropenia. Moreover, this treatment showed a significant reduction in the size of intestinal and hepatic granulomas without an increase in the tissue lesions, which showed that the infection evolved with mild course.

**Keywords:** Schistosomiasis, Dexametasone, *Schistosoma mansoni*, granulomas

## Lista de abreviaturas

AINS	Antiinflamatórios não esteroidais
ALB	Albumina
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CFU-GM	<i>Colony forming unit- granulocyte-macrophage</i>
col.	Colaboradores
Cr	Creatinina
DALY	<i>Disability Adjusted Life Years</i>
Dpi	Dias pós-infecção
EDTA	EthylenediAminetetraacetic Acid
FF	Faculdade de Farmácia
GM-CSF	<i>granulocyte-macrophage-colony stimulator factor</i>
Hb	Hemoglobina
HE	Hematoxilina e eosina
HSS	<i>Hiper splenomegaly syndrome</i>
I	Grupo de animais infectados e não tratados
I+Dex35	Grupo de animais infectados e tratados com dexametasona a partir do 35º dia da infecção
I+Dex65	Grupo de animais infectados e tratados com dexametasona a partir do 65º dia da infecção
I+Dex90	Grupo de animais infectados e tratados com dexametasona a partir do 90º dia da infecção
I+S	Grupo de animais infectados e injetados com salina
IFN- $\gamma$	Interferon gama
Ig	Imunoglobulina
IL-	Interleucina
KOH	Hidróxido de potássio
MSS	<i>Moderate splenomegaly syndrome</i>
N	Grupo de animais não infectados e não tratados

N+Dex35	Grupo de animais não infectados e tratados com dexametasona a partir do 35° dia do experimento
N+Dex65	Grupo de animais não infectados e tratados com dexametasona a partir do 65° dia do experimento
N+Dex90	Grupo de animais não infectados e tratados com dexametasona a partir do 90° dia do experimento
N+S	Grupo de animais não infectados e injetados com salina
NaCl	Cloreto de sódio
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídio
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PECE	Programa Especial de Controle da Esquistossomose
PTN	Proteína Total
SCID	<i>Severe Combined ImmunoDeficiency</i>
SEA	<i>Soluble Egg Antigen</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
STAT-6	Signal Transducers and Activators of Transcription-6
TGF- $\beta$	<i>Tumor Growth Factor beta</i>
TH	Linfócito T auxiliador
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor alfa</i>
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
Ur	Uréia
WHO	<i>World Health Organization</i>

## Lista de figuras

Figura 1. Ciclo biológico do parasito <i>Schistosoma mansoni</i>	4
Figura 2. Áreas de transmissão de esquistossomose mansônica no Brasil	6
Figura 3. Níveis de controle da esquistossomose mundial	7
Figura 4. Dependências das citocinas na formação e evolução dos granulomas	14
Figura 5. Fórmula estrutural do fosfato dissódico de dexametasona	27
Figura 6. Esquema de distribuição dos grupos e sacrifícios	31
Figura 7. Percentual de sobrevivência	42
Figura 8. Peso corporal dos camundongos	44
Figura 9. Perfusão hepática	46
Figura 10. Ovos nas fezes	48
Figura 11. Sangue oculto nas fezes - C57BL/6	50
Figura 12. Sangue oculto nas fezes - SWISS	51
Figura 13. Ovos de <i>S. mansoni</i> no tecido hepático	54
Figura 14. Ovos de <i>S. mansoni</i> no tecido intestinal	55
Figura 15. Oograma	58
Figura 16. Peso dos baços	60
Figura 17. Peso dos fígados	64
Figura 18. Hemoglobina e Hematócrito - C57Bl/6	68
Figura 19. Hemoglobina e Hematócrito - SWISS	69
Figura 20. Leucócitos	71
Figura 21. Percentual de Eosinófilos	72
Figura 22. Percentual de Neutrófilos	73
Figura 23. Avaliação sérica de aspartato aminotransferase (AST)	78
Figura 24. Avaliação sérica de alanina aminotransferase (ALT)	79
Figura 25. Avaliação sérica de Fosfatase Alcalina (ALP)	80
Figura 26. Albumina e Proteína sérica	81
Figura 27. Área dos granulomas hepáticos	85
Figura 28. Áreas dos granulomas intestinais	87
Figura 29. Percentual de eosinófilos no granuloma hepático	89

## Lista de tabelas

Tabela 1. Índice de Esplenomegalia - C57BL/6	61
Tabela 2. Índice de Esplenomegalia - SWISS	62
Tabela 3. Índice de hepatomegalia - C57BL/6	65
Tabela 4. Índice de hepatomegalia - SWISS	66
Tabela 5. Leucócitos absolutos - C57BL/6	74
Tabela 6. Leucócitos absolutos - SWISS	75

## **Lista de pranchas**

Prancha 1.	Cálculo da área dos granulomas	37
Prancha 2.	Cálculo do percentual de eosinófilos	38
Prancha 3.	Tipos de ovos na mucosa do íleo	57
Prancha 4.	Exemplos de granulomas hepáticos	84
Prancha 5.	Exemplos de granulomas intestinais	86
Prancha 6.	Exemplos de eosinófilos no tecido hepático	88

## ÍNDICE

RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	ix
INTRODUÇÃO.....	1
O Parasito .....	1
Aspectos Epidemiológicos .....	5
Patologia.....	8
Tratamento e imunoprofilaxia.....	19
Dexametasona .....	20
Modelo Experimental.....	23
Justificativa.....	25
Objetivos.....	26
Geral:.....	26
Específicos: .....	26
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
Fármaco.....	27
Camundongos/Grupos/Sacrifícios.....	28
Infecção .....	32
Inoculações.....	32
Peso dos camundongos .....	32
Ovos nas fezes.....	33
Carga parasitária.....	33
Pesagem dos órgãos .....	34
Quantificação de ovos nos tecidos .....	34
Oograma .....	34
Dosagem de parâmetros bioquímicos clínicos.....	35
Processamento histológico .....	35
Avaliação da área dos granulomas .....	36
Avaliação dos eosinófilos nos tecidos.....	36
Dosagem dos parâmetros hematológicos .....	39
Avaliação estatística.....	39

RESULTADOS .....	40
<i>Percentual de Sobrevivência</i> .....	40
<i>Peso corporal dos camundongos</i> .....	43
<i>Perfusão</i> .....	45
<i>Ovos nas fezes</i> .....	47
<i>Sangue oculto nas fezes</i> .....	49
<i>Distribuição de ovos nos tecidos</i> .....	52
<i>Oograma</i> .....	56
<i>Peso dos fígados</i> .....	63
<i>Dados hematológicos</i> .....	67
<i>Dados bioquímicos</i> .....	76
<i>Dados histopatológicos</i> .....	82
DISCUSSÃO .....	90
CONCLUSÕES .....	105
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	106

# INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença que afeta cerca de 200 milhões de pessoas no mundo sendo considerada a segunda doença parasitária em mortalidade, precedida apenas pela malária. Em torno de 650 milhões de pessoas estão em áreas de risco dessa infecção (ENGELS *et al.*, 2002) e ela é responsável por uma mortalidade anual de aproximadamente 100.000 pessoas (WHO, 1997), podendo chegar até 250.000 (ROSS *et al.*, 2002).

A distribuição geográfica da esquistossomose é ampla, e o seu curso geralmente é crônico e assintomático, no entanto, aproximadamente 5 a 10 % das pessoas infectadas desenvolvem uma forma grave com fibrose hepática e intestinal e hipertensão portal (WARREN, 1978). Apesar da existência de terapêutica eficaz contra a infecção, essa pode causar seqüelas de grande impacto individual e social por levar a morbidade de grande parte da população na idade produtiva. Diante desta grande morbidade provocada pela infecção por este parasito, a esquistossomose é uma das dez doenças tropicais que estão sob programas de controle da Organização Mundial de Saúde (OMS) (MOREL, 2000).

## O Parasito

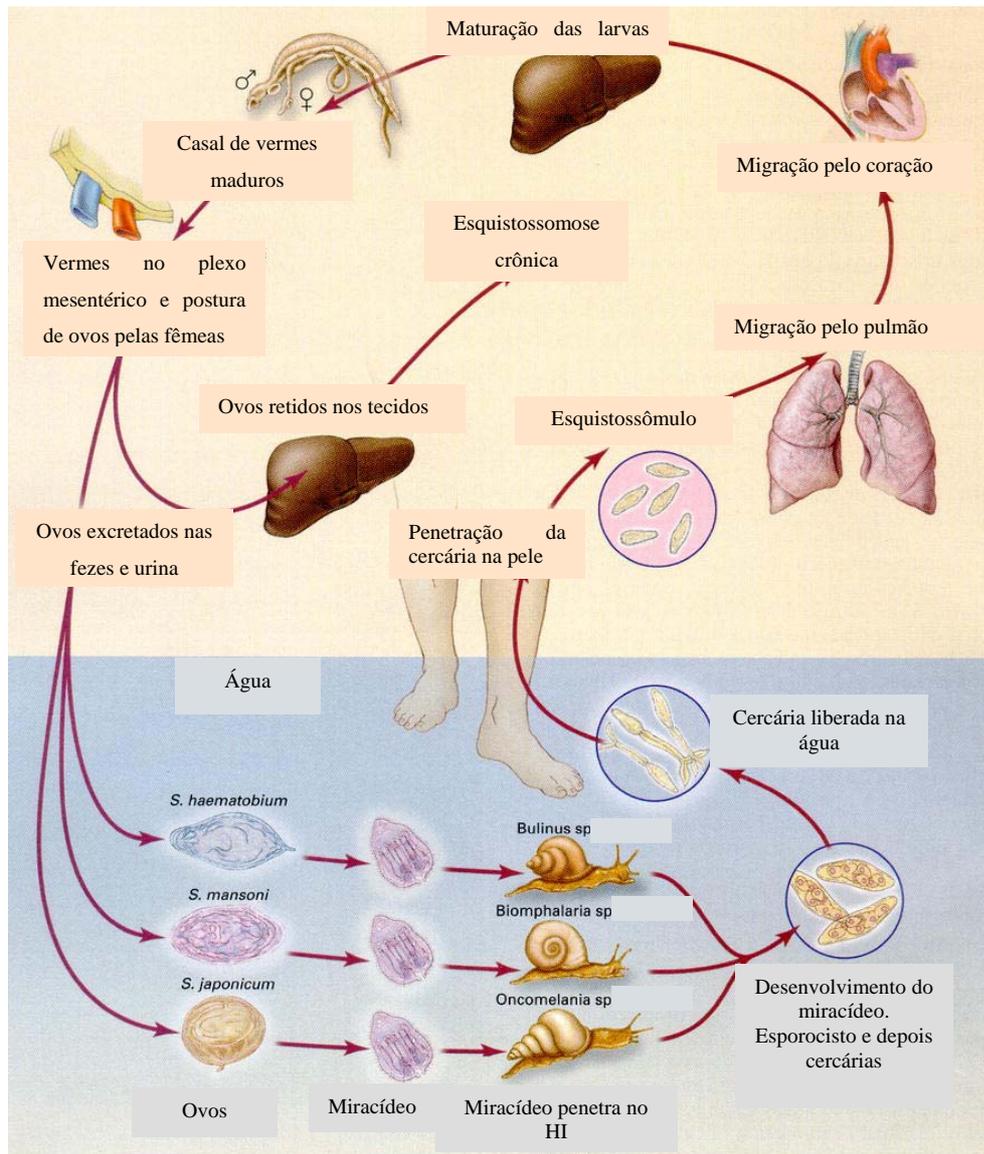
O parasito causador da esquistossomose pertence ao filo Platyhelminthes (Digenea). Diferente de outros gêneros pertencente a este filo, o gênero *Schistosoma* possui sexos separados e apresenta acentuado dimorfismo sexual. Estes helmintos vivem em habitats diferentes, de acordo com a espécie envolvida na infecção. Estes vermes apresentam uma sobrevivência de 3 a 10 anos, entretanto, existem relatos de indivíduos que estão fora da área endêmica por mais de 20 anos e que ainda possuem o parasito e eliminam ovos. O parasito tem o ciclo biológico heteroxênico e tem como hospedeiro intermediário um molusco pulmonado, que vive em água doce, ocasionando uma alta prevalência da infecção principalmente nas regiões tropicais, onde a utilização desta água é de grande importância para populações locais.

Das cinco espécies adaptadas ao homem as mais comuns são o *Schistosoma mansoni* e o *Schistosoma japonicum* que causam a esquistossomose intestinal e o

*Schistosoma haematobium* que causa a esquistossomose urinária. As espécies *S. intercalatum* e *S. mekongi* são menos comuns e têm suas áreas de distribuição mais restritas. Cada uma das três principais espécies de *Schistosoma* tem um gênero de molusco distinto como hospedeiro intermediário, como identificado na figura 1. O *Schistosoma mansoni* é a espécie que tem o maior número de casos de esquistossomose humana, sendo este um dos motivos de ser amplamente estudada (CHITSULO *et al.*, 2000). Na América do Sul e Caribe apenas a espécie *S. mansoni* está presente. Uma das possíveis justificativas se dá em decorrência da presença dos seus hospedeiros intermediários que são moluscos do gênero *Biomphalaria*.

O ciclo biológico do parasito é ilustrado na Figura 1. Resumidamente, os casais adultos de *S. mansoni* vivem nas vênulas do plexo hemorroidário e no sistema porta (HENRI *et al.*, 2002). Nesses locais as fêmeas fazem a oviposição de aproximadamente 300 ovos/fêmea/dia e estes ficam aderidos ao endotélio dos vasos. Eventualmente alguns desses ovos são carreados para a veia porta pela corrente circulatória e para os espaços intra-hepáticos. Aqueles ovos que ficaram aderidos ao endotélio sofrem um processo de ‘migração’ por diversas camadas celulares, indo da luz do vaso até a luz intestinal, o qual dura aproximadamente 6 a 7 dias. Este processo de migração parece estar intimamente ligado à presença de uma resposta inflamatória mediada por eosinófilos (LENZI *et al.*, 1987). Durante esse período os ovos sofrem um processo de amadurecimento e passam para a luz intestinal e são eliminados com as fezes onde já apresentam uma larva evoluída no seu interior, o miracídio. Caso estes ovos alcancem coleções de água doce, estas larvas eclodem e migram ativamente em busca do hospedeiro intermediário, o molusco do gênero *Biomphalaria*. Quando o encontra, penetra ativamente e nos tecidos do molusco, efetuam reproduções assexuadas que posteriormente formarão novo tipo de larva, as cercárias. Depois de 34-40 dias, as cercárias abandonam ativamente o caramujo sendo capazes de infectar o hospedeiro definitivo: o homem e alguns outros mamíferos. Alguns destes mamíferos atuam como reservatórios com grande importância no controle da infecção. Estima-se que um único miracídio possa produzir até 200.000 cercárias, todas do mesmo sexo. As cercárias nadam com o intuito de localizar a pele do hospedeiro susceptível, onde penetram ativamente também com o auxílio de estruturas específicas para esse fim. Nesse processo, é conhecido que apenas o corpo da cercária penetra ocorrendo à perda da cauda bifurcada, contudo o mecanismo de penetração da cercária encontra-se em estudo

para melhor compreensão deste processo (MCKERROW e SALTER, 2002; INGRAM *et al.*, 2003; WHITFIELD *et al.*, 2003). Após a penetração na pele ou mucosa, a larva sofre algumas modificações e recebe o nome de esquistossômulo. Este estágio evolutivo entra na corrente circulatória e chega aos pulmões. Nos pulmões os esquistossômulos ficam por alguns dias, sofrem maturações e posteriormente migram para o fígado onde se localizam nos espaços vasculares intra-hepáticos. Neste local, por volta da terceira semana após penetração das cercárias, machos e fêmeas se unem, completando sua maturação. Estes então migram juntos para as veias mesentéricas onde as fêmeas fazem a oviposição, fechando assim o ciclo biológico do parasito.



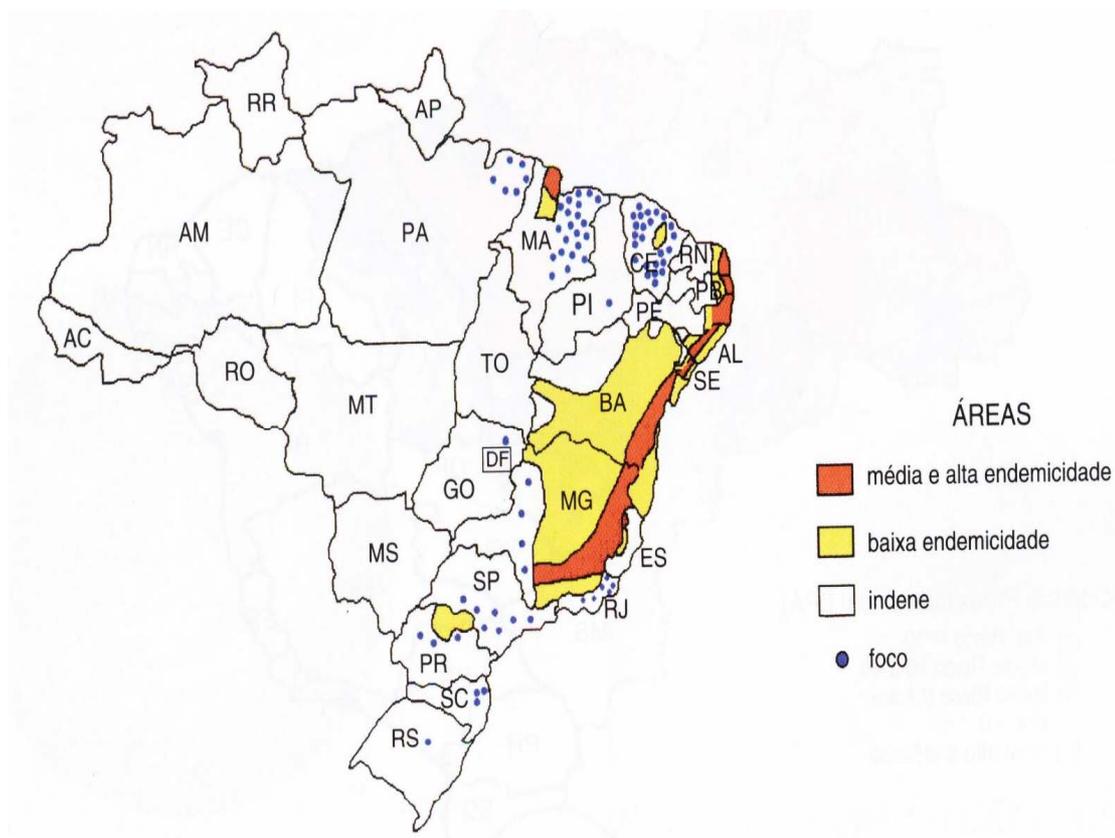
**Figura 1.** Ciclo biológico do parasito *S. mansoni*.

Extraído: ROSS *et al.*, 2002

## Aspectos Epidemiológicos

Estima-se que as cinco principais espécies do gênero *Schistosoma* que parasitam o homem deixem mais de 600 milhões de pessoas em áreas de risco de infecção (WHO, 1997; MOREL, 2000). Segundo a OMS a esquistossomose leva a uma “perda” anual de aproximadamente 1,5 milhões de anos de vida produtiva (potenciais) (do inglês, DALY - *Disability Adjusted Life Years*), uma vez que freqüentemente acomete indivíduos em idade produtiva. Somado ao fato de que a esquistossomose é mais freqüente em indivíduos de baixa renda, há um agravamento do desnível social e econômico das diferentes classes sociais nos países afetados.

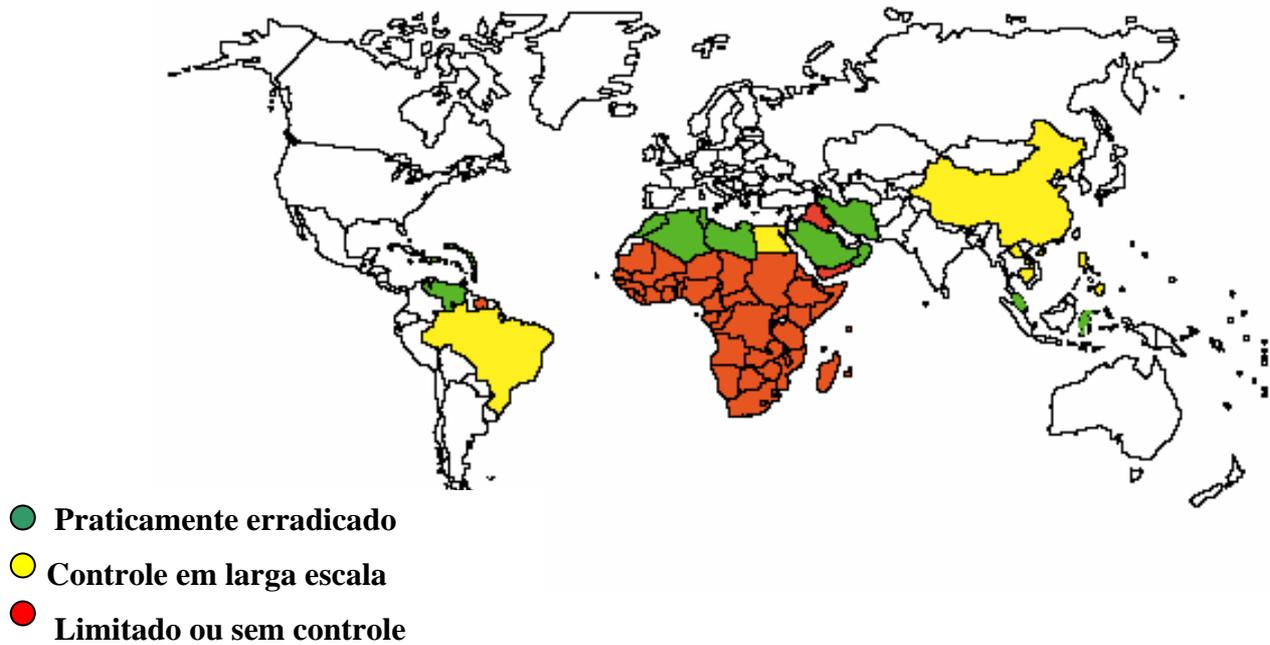
A distribuição geográfica da esquistossomose é ampla, afetando 76 países distribuídos na América do Sul, Caribe, África, Oriente Médio, Filipinas e do Sudoeste Asiático (WHO, 1997). No Brasil existem imensas áreas endêmicas, distribuídas principalmente em regiões onde a população é predominantemente de baixo poder aquisitivo (Figura 2). Calcula-se que no Brasil, na década de 60, havia aproximadamente 6 milhões de pessoas infectadas pelo *S. mansoni* (PRATA, 1997). Apesar da inexistência de dados mais recentes, o Programa Especial de Controle da Esquistossomose (PECE) possivelmente levou a uma redução do percentual de indivíduos infectados, mas não a redução do número absoluto de indivíduos infectados, uma vez que ocorreu um grande crescimento populacional neste período (KATZ e PEIXOTO, 2000).



**Figura 2.** Áreas de transmissão de esquistossomose mansônica no Brasil (ano de 2000)

Extraído: Rey, 2001 Fonte: FUNASA

Apesar dos esforços da OMS em controlar a infecção por estes parasitos, conseguindo praticamente erradicar de algumas regiões, o quadro atual ainda é grave, principalmente na África Sub-Saariana, onde praticamente nenhuma medida de controle é feita, como mostrado na figura 3.



**Figura 3.** Níveis de controle da esquistossomose mundial.

Extraído: ENGELS *et al.*, 2002

O controle da esquistossomose muitas vezes é difícil em decorrência da ecologia deste parasito. As coleções de água doce têm grande importância no processo de transmissão da esquistossomose. Essas coleções de água se apresentam como um dos grandes problemas no controle dessa infecção, pois não são utilizadas apenas para o lazer. Elas também constituem um importante local de atividades econômicas. O aumento desses recursos hídricos tem expandido a prevalência da esquistossomose em diversas regiões do mundo, antes livre deste mal (EL SAYED *et al.*, 1995; TALAAT *et al.*, 1999). Essa expansão é mais grave em regiões onde não foram realizados projetos sociais durante a realização destas obras. Alguns exemplos da exploração dos recursos hídricos, como a construção da represa de Diama, no Rio Senegal tem mostrado que o homem vem interferindo na distribuição das espécies de *Schistosoma* uma vez que após a construção desta represa houve a introdução de *S. mansoni* na Somália, local anteriormente destituído desta espécie (ROSS *et al.*, 2002).

Além dos recursos hídricos, a expansão geográfica da esquistossomose também ocorre em decorrência das migrações populacionais para regiões onde existem condições favoráveis ao estabelecimento do ciclo biológico do parasito. No Brasil, o crescimento acelerado das cidades, fruto do êxodo rural, leva a formação de regiões

onde o saneamento básico é insatisfatório, o que proporciona a dispersão desse parasito no nosso território.

Medidas de controle que visam a redução do aporte de fezes humanas em coleções de água exigem elevados recursos financeiros, decisão política dos governos e conscientização da população. Além disso, também é necessário o controle dos hospedeiros intermediários e dos reservatórios para maior eficácia dos programas de controle. A OMS estima que a prevalência de esquistossomose poderia ter importante redução, caso programas de prevenção e controle fossem implementados de maneira adequada (REY, 2001).

Contudo, não existem no Brasil estudos freqüentes e dados fidedignos que permitam avaliar com precisão a atual situação da esquistossomose mansônica. Alguns estudos regionais mostram uma situação preocupante e ainda longe da erradicação do parasito ou da sua transmissão (CUTRIM *et al.*, 1998). Este problema pode ser consequência de no Brasil não conseguirmos desenvolver um programa de prevenção, que é realizado em várias regiões do mundo, com crianças na idade escolar.

## **Patologia**

A evolução e sintomatologia da esquistossomose dependem da espécie do parasito em questão e da carga parasitária do indivíduo. A freqüência das reinfecções, o estado imunológico e a idade do indivíduo também são fatores importantes no desenvolvimento da doença (BUTTERWORTH *et al.*, 1985; KABATEREINE *et al.*, 1999).

Estima-se que aproximadamente 50 % dos ovos eliminados pelas fêmeas cheguem à luz intestinal, ficando o restante retido nos tecidos provocando reações inflamatórias. A patologia da infecção, mais freqüentemente, advém da deposição dos ovos nos tecidos. No intestino, os ovos induzem a um processo inflamatório com hiperplasia, ulceração, formação de micro abscessos (CHEN *et al.*, 1978; CHEN, 1991). Contudo, os ovos que não se aderem ao epitélio intestinal são carreados pela veia porta, para o fígado ocasionando o principal e mais importante efeito patológico da infecção. Inicialmente, devido à presença dos ovos no tecido hepático, tem-se a formação de granulomas, resultantes da resposta imunológica aos antígenos liberados pelos ovos de *S. mansoni*, processo que termina com a formação de uma cicatriz fibrótica.

Com a evolução da infecção e o depósito constante de ovos, o número de granulomas torna-se muito grande, principalmente na fase crônica da infecção. Assim, estes granulomas podem se coalescer e formar extensas áreas de fibrose no tecido hepático. Dessa forma, as áreas fibrosadas ao longo dos vasos hepáticos podem levar a uma fibrose perivascular, conhecida como fibrose de Symmers (BOGLIOLO, 1957). Contudo em humanos, a fibrose periportal parece estar relacionada a outros fatores além da presença de granulomas, como o direcionamento (perfil) da resposta imune à infecção e o grau de polarização desta que influenciará na quantidade de citocinas fibrinogênicas (BRUNET *et al.*, 1998). Com a fibrose, há uma diminuição da luz e/ou da elasticidade dos vasos intra-hepáticos afetados com um conseqüente aumento da pressão na veia porta. A hipertensão porta é uma das causas que proporciona o surgimento da esplenomegalia, além de levar a formação de varizes esofagianas e outras alterações que comprometem e agravam o quadro clínico do indivíduo infectado. Eventualmente, estas varizes esofagianas (ou gástricas) se rompem provocando fortes hemorragias, responsáveis por um número considerável de óbitos. Estas hemorragias são agravadas pelas alterações que a infecção causa ao processo hemostático e por isto é a primeira causa de morte da esquistossomose (TANABE, 2003).

O processo inflamatório granulomatoso, que se desenvolve ao redor dos ovos, tem como base uma hipersensibilidade do tipo celular (WARREN *et al.*, 1967). Esta reação granulomatosa ocorre em decorrência da eliminação de antígenos do miracídio, chamados genericamente de SEA (*Soluble egg antigens* – Antígenos solúveis do ovo), que atravessam a casca do ovo e estimulam células específicas e citocinas (HANG *et al.*, 1974; WYLER *et al.*, 1978), favorecendo assim, a formação de um infiltrado de células inflamatórias ao redor dos ovos (HORII *et al.*, 1984; BOROS, 1989). Com a evolução do processo, os granulomas sofrem mudanças na sua composição celular, fruto das alterações na produção de citocinas e tendem a regredir ficando reduzidos à estruturas fibróticas que posteriormente serão reabsorvidos. Contudo, as alterações hepáticas parecem não decorrer apenas do processo granulomatoso e da fibrose formada posteriormente, mas também da liberação de substâncias hepatotóxicas produzidas pelos ovos do parasito (AMIRI *et al.*, 1992).

Na reação granulomatosa esquistossomótica as primeiras células a chegarem ao foco inflamatório são os macrófagos, que freqüentemente formam células epitelióides e gigantócitos. Logo após a chegada dessas células surgem eosinófilos, linfócitos,

neutrófilos e plasmócitos, sendo que os macrófagos e eosinófilos são as células mais abundantes do infiltrado inflamatório. Hirata e Fukuma em 2003 demonstraram que na infecção por *S. japonicum* a formação dos granulomas, em respostas aos antígenos dos ovos, ocorrem tanto por processos dependente de células T quanto também dependente de neutrófilos. A proporção das populações celulares pode oscilar de acordo com o hospedeiro, com a localização do granuloma e com o tempo pós-infecção estudado (MOORE *et al.*, 1977; WEINSTOCK e BOROS, 1983). Estima-se que na esquistossomose mansônica, durante a fase aguda da infecção os granulomas hepáticos são composto por cerca de 50% por eosinófilos que tem a função primordial na neutralização das hepatotoxinas liberadas pelos ovos de *S. mansoni* (OLDS e MAHMOUD, 1980).

Durante o processo granulomatoso as células inflamatórias vão sendo substituídas por células semelhantes a fibroblastos que se orientam em camadas concêntricas e fabricam abundantes quantidades de colágenos. Devido ao aumento da deposição de proteínas da matriz extracelular (DAVIS e KRESINA, 1996), a estrutura do granuloma se completa com a fibrose, que se inicia na periferia desse. Com o curso crônico da infecção, os diversos pontos de fibrose podem se coalescer levando à diminuição da luz dos vasos sanguíneos e à perda da elasticidade e ocorrendo assim um aumento da pressão portal e conseqüentemente as alterações patológicas da esquistossomose na sua fase crônica. Diante de tais fatos, Cheever, em 1997 correlacionou o volume dos granulomas com a fibrose hepática, além de outros autores também mostrarem que há uma correlação positiva entre o tamanho dos granulomas e o aumento da pressão portal nessa infecção (FANNING *et al.*, 1981).

De acordo com as fases da infecção foi observado que os granulomas hepáticos apresentavam características diferentes sendo que na fase aguda o volume do granuloma podia chegar a dezenas de vezes o volume do ovo (WARREN *et al.*, 1967; ANDRADE e WARREN, 1964) enquanto que na fase crônica, ocorria uma acentuada diminuição no tamanho dos mesmos. Esse fenômeno foi bem descrito por Domingo e Warren (1968) que o chamaram de “dessensibilização endógena”. Logo, o pico da resposta granulomatosa periovular ocorre durante a fase aguda da infecção, com posterior regressão na fase crônica. Assim, em murinos por volta da 12<sup>a</sup> semana de infecção ocorre uma imunomodulação negativa, chamada em inglês de *downregulation*, que culmina com a redução do tamanho dos granulomas (BOROS *et al.*, 1975). Esse

processo tem sido atribuído a vários eventos imuno-regulatórios que afetam a resposta dos linfócitos T aos antígenos dos ovos alojados nos tecidos (COLLEY *et al.*, 1979; CHENSUE *et al.*, 1993; PEARCE *et al.*, 1991; FLORES VILLANUEVA *et al.*, 1994; CHENSUE *et al.*, 1994; FLORES VILLANUEVA *et al.*, 1996; ABE e COLLEY, 1984; MONTESANO *et al.*, 1997; JANKOVIC *et al.*, 1998). Várias hipóteses têm sido levantadas para explicar o mecanismo imune que mantém o estado hiporreativo. Entre elas temos a função supressora de células T (COLLEY, 1976), anticorpos antiidiotípicos (PARRA *et al.*, 1991); anergia de células T (STADECKER, 1994) e regulação por células T CD8<sup>+</sup> (PEDRAS VASCONCELOS e PEARCE, 1996). Além disso, estudos recentes têm demonstrado a grande importância do papel da IL-10 na transição da fase aguda para a fase crônica, tendo um efeito no processo de imunomodulação negativa (SADLER *et al.*, 2003). Provavelmente esta imunomodulação não seja decorrente de um fenômeno isolado, mas sim de um somatório de eventos. Apesar dessa diminuição do granuloma na fase crônica da infecção, outras funções parecem estar aumentadas como a elevação da produção de anticorpos (EL-CHEIKH *et al.*, 1994) e a quantidade de depósito de colágeno no tecido hepático (GRIMAUD *et al.*, 1987; DA SILVA *et al.*, 1989).

No fígado o processo de imunomodulação negativo é bem característico e amplamente estudado, contudo alguns trabalhos demonstraram que no intestino os granulomas formados apresentam diferenças no seu processo de maturação dependendo da área em que está localizado. Foi observado que os granulomas localizados no cólon apresentam um processo de imunomodulação semelhante ao que ocorre no fígado sendo que no cólon ele ocorre ainda mais cedo do que no fígado. Porém no íleo esse processo de imunomodulação não foi observado (WEINSTOCK e BOROS, 1981; WEINSTOCK e BOROS, 1983).

Além das alterações patológicas, em decorrência da reação granulomatosa, na infecção esquistossomótica alterações hematológicas como anemia são frequentemente encontradas. Esta anemia parece ser ocasionada por múltiplos fatores, como a esplenomegalia, as hemorragias intestinais e/ou gástricas, pelas alterações na eritropoese medular, ou ainda, pela própria espoliação parasitária. Além disso, se observa uma eosinofilia acompanhada de uma neutropenia, sendo estas alterações mais evidentes na fase crônica da infecção (BOROJEVIC *et al.*, 1983; SANTOS-DA-SILVA *et al.*, 1988).

A formação do granuloma, principal entidade patológica da esquistossomose, é um processo complexo que envolve tanto a participação da resposta imune celular quanto à humoral. Com relação à resposta imune celular, vários estudos têm mostrado o papel central dos linfócitos T na formação e modulação dos granulomas.

Cheever e col. (1989) utilizando camundongos *Nude* C57BL/6 (nu/nu), que são animais que carecem de linfócitos T maduros nos órgãos linfóides secundários, mostraram que esses animais infectados com *S. japonicum* apresentavam granulomas pequenos, sem a presença de eosinófilos e com uma reduzida formação de fibrose. Contudo, quando estes camundongos *Nude* recebiam células de animais normais depletadas de CD4<sup>+</sup> e/ou CD8<sup>+</sup> restabeleciam o tamanho normal dos granulomas, porém sem eosinófilos ou fibrose. Quando as células T CD4<sup>+</sup> eram repostas os granulomas apresentavam todas as suas características normais. Resultados semelhantes, mostrando a importância das células na formação dos granulomas, também foram obtidos na infecção pelo *S. mansoni* (MATHEW e BOROS, 1986). Dessa forma, as células CD4<sup>+</sup> têm papel essencial na intensidade da reação granulomatosa e da fibrose que poderiam ser maléfica para o hospedeiro.

Entretanto, a ausência da reação granulomatosa é prejudicial para o hospedeiro uma vez que, Amiri e col. (1992) demonstraram que camundongos SCID (*Severe Combined Immuno-Deficiency*), que não desenvolvem reações granulomatosas periovulares, apresentavam extensas áreas de necrose hepática e acentuada mortalidade quando comparados com os camundongos imunocompetentes. Estes dados sugerem um papel protetor da reação granulomatosa na esquistossomose, a qual leva a um seqüestro e/ou a inativação de toxinas liberadas pelos ovos, evitando dessa forma um aumento da lesão hepática.

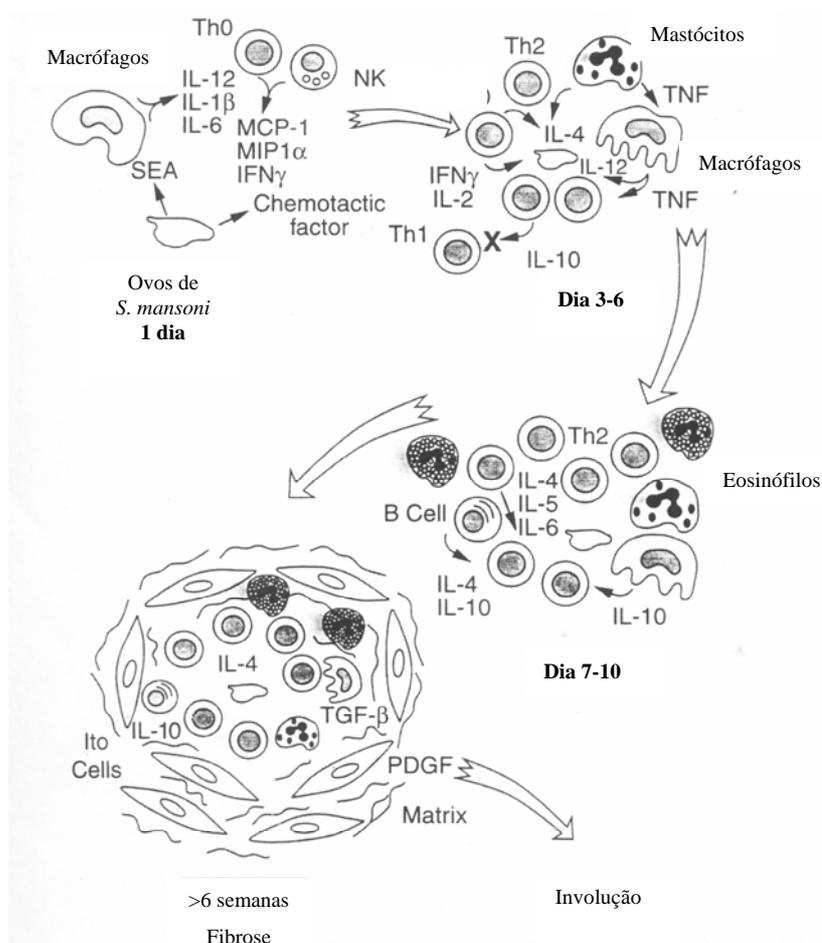
Para avaliar a função hepática e conseqüentemente o grau de lesão hepática tem sido realizada a dosagem de enzimas, como as aminotransferases e fosfatase alcalina, que são liberadas na presença de algumas hepatopatias. Além disso, essas enzimas têm servido para avaliar a eficiência com que a reação granulomatosa aprisiona os antígenos do ovo evitando a lesão das células hepáticas (HOFFMANN *et al.*, 2000; FALLON *et al.*, 2000b), uma vez que, a intensidade da reação granulomatosa tem correlação com a morbidade do hospedeiro.

Nos granulomas, os diversos tipos celulares envolvidos na sua formação desempenham funções variadas com o objetivo de aprisionar e reter os antígenos dos

ovos evitando assim, uma necrose tissular mais ampla (AMIRI *et al.*, 1992). Como em diversas infecções, na esquistossomose vários destes tipos celulares produzem citocinas que desempenham as mais variadas funções ao longo de todo o processo infeccioso.

De acordo com a capacidade de produzir citocinas, os linfócitos auxiliares T CD4<sup>+</sup> (*Helper*) foram classificados em dois grupos (MOSMANN e COFFMAN, 1989). Foram denominados de TH1 os linfócitos T que possuem a capacidade de secretar as citocinas IL-2 e IFN- $\gamma$  e de TH2 aqueles que produzem IL-4, IL-5 e IL-10. Esses dois grupos possuem atividades antagônicas, uma vez que citocinas produzidas por células do tipo TH1 inibem a secreção de citocinas TH2, sendo a recíproca verdadeira. Contudo hoje, com a evolução da imunologia, já tem sido demonstrado que algumas dessas citocinas apresentam papel mediador entre esses perfis (HOFFMANN *et al.*, 2000). O perfil TH1 está associado com as reações de hipersensibilidade tardia e com o controle de infecções por microorganismos intracelulares, enquanto a resposta TH2 está relacionada à resposta humoral e é caracterizada pela produção de IL-4 (necessária para produção de IgE), IL-5 (importante para a eosinofilia), IL-13 (importante no processo fibrinogênico) (FALLON *et al.*, 2000a; JAKUBZICK *et al.*, 2002; JAKUBZICK *et al.*, 2003) e de IL-10 (hoje com papel essencial no controle dos dois perfis de resposta imune) (LUKACS e BOROS, 1993; CHEEVER e YAP, 1997; HOFFMANN *et al.*, 2000). Nas helmintíases parece que o padrão de produção de citocinas está principalmente vinculado ao perfil TH2 da resposta mediada pelos linfócitos T (ELSE *et al.*, 1994), sendo que, nas infecções intestinais está claro o envolvimento desta resposta na resistência dos hospedeiros (FINKELMAN *et al.*, 1997).

Na esquistossomose mansônica a reação granulomatosa que ocorre ao redor dos ovos nos tecido tem papel importantes das citocinas vinculadas aos perfis TH1 e TH2 (Figura 4).



**Figura 4:** Dependências das citocinas na formação e evolução dos granulomas.

Extraído: WAHL *et al.*, 1997

As citocinas e o tipo de perfil de resposta celular na esquistossomose têm papel central no controle da infecção. Durante as quatro primeiras semanas de infecção, período pré-patente, as principais citocinas produzidas são IFN- $\gamma$  e IL-2 mostrando predomínio da resposta TH1. Contudo, após o início da oviposição, por volta do 32º dia de infecção, os antígenos secretados pelo miracídio estimulam a produção de IL-4, IL-5, IL-13 e IL-10 que levarão a um predomínio para o perfil TH2 (SHER *et al.*, 1990; GRZYCH *et al.*, 1991; WYNN e CHEEVER, 1995; BRUNET *et al.*, 1997). Esse perfil

será mantido ao longo de toda a infecção, no entanto para que se desenvolva uma infecção assintomática ou oligossintomática é necessário que exista um balanço entre os perfis TH1 e TH2 (BRUNET *et al.*, 1998). Como acontece com os granulomas, que na fase crônica sofrem uma diminuição do seu tamanho (ANDRADE e WARREN, 1964; COLLEY, 1975), a produção das citocinas também se encontra diminuída, porém em uma fase mais tardia (GRZYCH *et al.*, 1991).

No modelo murino tem-se, por volta da oitava semana, o ápice da fase aguda enquanto por volta da décima segunda semana tem-se o início do processo de modulação e na 16<sup>o</sup> semana temos os camundongos na fase crônica. Neste modelo, o processo de formação dos granulomas periovulares, também dependente da sensibilização de linfócitos T CD4<sup>+</sup>, com participação dos perfis TH1 e TH2 em diferentes fases do desenvolvimento destas lesões. Assim, diversas citocinas participam neste processo granulomatoso. A resposta granulomatosa na esquistossomose parece depender da produção de TNF- $\alpha$ , que é uma citocina envolvida com uma gama de respostas imunes e inflamatórias (BEUTLER e CERAMI, 1989). O papel do TNF- $\alpha$  na esquistossomose experimental foi sugerido por Amiri e col. (1992) que ao administrarem esta citocina a camundongos SCID, que desenvolvem uma reação mínima aos ovos do parasito, observaram que os mesmos recuperavam a capacidade de desenvolver uma resposta granulomatosa semelhante a de animais imunocompetentes. Além disso, Joseph e Boros (1993) observaram uma diminuição do volume do granuloma na fase aguda quando os camundongos eram tratados com anti-TNF- $\alpha$ . A ação do TNF- $\alpha$  também foi demonstrada por Mckerrow (1997), demonstraram que o TNF- $\alpha$  leva a um agravamento da doença, pois está associado com o aumento da fibrose.

O IFN- $\gamma$  é outra citocina envolvida na resposta granulomatosa. Dentre suas inúmeras funções pode-se citar que ele age como supressor da síntese de colágeno por fibroblastos, sendo associado com a proteção contra a fibrose na esquistossomose (KOVACS, 1991; HENRI *et al.*, 2002). Em modelos experimentais a administração de IFN- $\gamma$  exógeno, durante a infecção esquistossomótica, levou a uma inibição da fibrose hepática com pequena diminuição do tamanho do granuloma (CZAJA *et al.*, 1989). Entretanto, quando se adicionava anticorpos anti-IFN- $\gamma$  não foi observado efeito significativo no processo patológico hepático (SHER *et al.*, 1990), enquanto que nos

pulmões a neutralização de IFN- $\gamma$  proporcionou um aumento dos granulomas (WYNN *et al.*, 1994). Estudos recentes, utilizando *S. japonicum* têm demonstrado que IFN- $\gamma$  é um forte indutor da produção de óxido nítrico (NO), que possui grande importância na patologia da esquistossomose bem como também é um regulador das citocinas do perfil TH2, as quais possuem papel central na formação dos granulomas (HIRATA e FUKUMA, 2003).

A IL-12, que é uma citocina com importante relação com o perfil TH1, prevalece na fase inicial da infecção pelo *S. mansoni*. Esta citocina induz entre outras coisas a síntese de IFN- $\gamma$ , além de ser um fator chave no desenvolvimento de linfócitos TH1 antígenos-específicos. A ação da IL-12 sobre a resposta TH2 parece clara podendo suprimir a produção de IL-4 de forma direta (WANG *et al.*, 1994) ou mesmo indireta, pela indução da produção de IFN- $\gamma$  (FINKELMAN *et al.*, 1994). Contudo, Germann e col. (1995) mostraram que a ação de IL-12 na ausência de IFN- $\gamma$  leva a um aumento da resposta TH2. O papel relevante e benéfico da IL-12 também já foi amplamente demonstrado em algumas infecções intracelulares (GAZZINELLI, 1996). Na esquistossomose sua ação já foi descrita como sendo um importante agente coadjuvante na vacinação experimental com cercárias atenuadas (WYNN *et al.*, 1995b; WYNN *et al.*, 1996; FONSECA *et al.*, 2004), além de diminuir os granulomas induzidos pela injeção de ovos do parasito (WYNN *et al.*, 1994). Assim, foi sugerido que a IL-12 além de induzir o perfil TH1, leve à diminuição da fibrose e da patologia no hospedeiro (WYNN *et al.*, 1995a).

Como já citado, quando se inicia a oviposição, e com isso a deposição de ovos nos tecidos, a produção das citocinas é direcionada para o perfil TH2. Assim, há um aumento da produção de IL-4, IL-5 e IL-10. A IL-4 é uma citocina com funções muito diversas no cenário da resposta imunológica. Ela estimula o direcionamento da resposta de linfócitos T *helper* CD4<sup>+</sup> para o perfil TH2, e também deflagra a produção de IgE. Tal fato age em coerência com o aumento de eosinófilos propiciado pela IL-5, que juntos desempenham o papel efetor da resposta aos antígenos de parasitos extracelulares. Na esquistossomose o papel da IL-4 já foi bastante explorado. Trabalhos mostram que o tratamento com anti-IL-4 leva a uma diminuição da fibrose hepática apesar de pouca interferência no tamanho dos granulomas neste órgão (CHEEVER *et al.*, 1994; ELTOUM *et al.*, 1995). Entretanto, a adição exógena desta citocina leva a um aumento do tamanho dos granulomas hepáticos (YAMASHITA e BOROS, 1992). A

avaliação do papel da IL-4 na esquistossomose experimental utilizando animais *knockout* não mostrou grandes diferenças no tamanho dos granulomas hepáticos nos animais deficientes dessa citocina (PEARCE *et al.*, 1996; METWALI *et al.*, 1996). Jankovic e col. (1999) utilizando camundongos *knockout* para o receptor de IL-4, que não respondem a IL-4 e a IL-13, mostraram uma completa abolição da formação do granuloma. Além disso, a remoção de IL-4 resulta em uma alta mortalidade, pelo desenvolvimento de endotoxemia (FALLON *et al.*, 2000a).

Durante a última década, a IL-4 tem sido proposta como sendo uma molécula fundamental na diferenciação para a resposta do perfil TH2. Mas recentemente, a IL-13 tem sido implicada como mediador central nas patologias mediadas por células TH2 (MCKENZIE *et al.*, 1999). Na esquistossomose murina a principal função da IL-13, na formação do granuloma e na fibrose, foi demonstrado em camundongos deficientes em receptores de IL-4 (JANKOVIC *et al.*, 1999; CHIARAMONTE *et al.*, 1999). Em 2000, Fallon e col., demonstraram que a ausência de IL-13 e não de IL-4, da resposta TH2, é benéfica na esquistossomose mansônica, uma vez que a primeira é um mediador chave na produção da fibrose e que é a principal causa de morbidade e mortalidade.

A produção de IL-5 também está vinculada ao perfil TH2 de citocinas. Dentre suas funções, estão a proliferação e a ativação de eosinófilos, que parecem essenciais na destruição de esquistossômulos (CAPRON *et al.*, 1979). Além disso, esse tipo celular representa aproximadamente 40-50% da composição do infiltrado inflamatório que compõe o granuloma esquistossomótico, e de acordo com Lenzi e col. (1987), o eosinófilo é a principal célula inflamatória envolvida na migração dos ovos de *S. mansoni* pelo endotélio intestinal.

Trabalhos recentes também têm demonstrado que o papel da fração 3 do complemento (C3) tem papel no controle da esquistossomose pois na ausência de C3 a produção de citocinas do perfil TH2 foram amplamente reduzidas e foi verificado um aumento de IFN- $\gamma$  e um aumento de mediadores pró-inflamatórios, o que não é benéfico para o curso da infecção (LA FLAMME *et al.*, 2003).

A IL-10 é uma citocina produzida por uma variedade de tipos celulares (MOORE *et al.*, 1993). Além da sua capacidade de regular a resposta TH1 e a produção de várias citocinas pró-inflamatórias, essa citocina foi considerada um inibidor da produção de IFN- $\gamma$ . Também, já foi demonstrado que a IL-10 desenvolve um papel crítico na proteção do hospedeiro às infecções por protozoários intracelulares

(GAZZINELLI *et al.*, 1996; HUNTER *et al.*, 1997). Essa citocina exerce um papel essencial no processo de imunomodulação que ocorre na fase crônica da infecção esquistossomótica (FLORES VILLANUEVA *et al.*, 1994; SADLER *et al.*, 2003). Recentemente foi demonstrado que ao controlar as respostas TH1 e TH2, a IL-10 exerce uma função de citocina “estabilizadora”, evitando a polarização da resposta imune na infecção esquistossomótica (HOFFMANN *et al.*, 1999), uma vez que tanto a polarização para TH1 como para TH2 são prejudiciais, pois causam um aumento na taxa de mortalidade (HOFFMANN *et al.*, 2000).

Além da importância das citocinas, na resposta celular, a resposta imune humoral também desempenha papel relevante na esquistossomose. A resistência contra a reinfeção parece estar vinculada à produção de anticorpos IgE, que estimulam a desgranulação de eosinófilos, tendo como consequência a destruição dos esquistossômulos (DESSEIN *et al.*, 1992; WEBSTER *et al.*, 1996). Outros autores descrevem que em humanos a IgA, além da IgE, também participa da imunidade protetora contra o agente etiológico da esquistossomose (GRZYCH *et al.*, 1993; NAGATY *et al.*, 1996). Entretanto, a produção de IgG4, IgG2 e IgM antígeno-específico parece estar correlacionada com a falta de proteção às reinfeções em humanos (BUTTERWORTH *et al.*, 1988; DEMEURE *et al.*, 1993).

Além de estar correlacionada com a falta de proteção, a IgG4 vem sendo associada com os estágios iniciais de fibrose e conseqüentemente com o agravamento da infecção esquistossomótica (SILVEIRA *et al.*, 2002).

Em modelo murino de vacinação, altos níveis de IgG1 estão correlacionados com a destruição dos miracídios presentes nos ovos e com uma diminuição da patologia hepática (HASSANEIN *et al.*, 1999). Em adição, Zouain e col. (2000) sugerem o papel de IgG1, aliado a IL-10, como importantes componentes da imunidade protetora induzida pelo peptídeo P24.

Além do papel na proteção, a IgE também tem sido relacionada com uma menor postura de ovos pelas fêmeas de *Schistosoma*. Na ausência de IgE, Amiri e colaboradores, em 1994, demonstraram que os camundongos apresentavam baixa quantidade de ovos nos tecidos.

Outra função importante da resposta humoral é a sua relação no processo de imunomodulação observado na fase crônica da infecção esquistossomótica (ABE e COLLEY, 1984; MONTESANO *et al.*, 1997; JANKOVIC *et al.*, 1998). Uma das

possíveis explicações para a participação dos anticorpos nesse processo foi demonstrada por Jankovic e col. (1998) que utilizaram camundongos deficientes em linfócitos B. Neste trabalho verificaram que estes animais apresentavam um aumento da fibrose hepática e aumento do volume do granuloma e não realizava a imunomodulação negativa característica da fase crônica. Provavelmente esse fato decorre da indução de mediadores antiinflamatórios que controlariam essa resposta ou mesmo da neutralização dos antígenos pelos anticorpos.

## **Tratamento e imunoprevenção**

Vários fármacos já foram empregados no tratamento da esquistossomose. Os fármacos atualmente utilizados nessa infecção caracterizam-se por sua alta eficácia e baixa toxicidade. Hoje o tratamento corrente da esquistossomose mansônica é feito com os medicamentos oxaminiquina e praziquantel sendo esse último o de primeira escolha. Contudo para que se proceda ao tratamento da esquistossomose, deve-se levar em conta o estágio clínico do paciente, uma vez que mesmo após o tratamento específico, não há reversão total das alterações observadas na fase crônica sintomática da infecção necessitando-se assim uma conduta terapêutica coadjuvante (LAMBERTUCCI *et al.*, 1989; PRATA, 1997).

Apesar de existir terapêutica eficaz contra a esquistossomose, na fase crônica sintomática da infecção as seqüelas muitas vezes já são irreversíveis e o fármaco tem um papel apenas secundário. Nestes casos, com freqüência, o tratamento é basicamente de suporte à sintomatologia apresentada pelo paciente. Além disso, mesmo após duas décadas de existência dos medicamentos eficazes contra a infecção por este parasito, o número de pessoas infectadas não diminuiu, mostrando que com as extensas áreas endêmicas e as freqüentes reinfecções, por causa das baixas condições sanitárias, o tratamento com fármaco não é eficiente como controle (BERGQUIST, 1995; BERGQUIST, 1998b). Assim a vacinação será a melhor forma para controle e possivelmente erradicação da esquistossomose. Diante deste fato, o desenvolvimento de antígenos capazes de induzir proteção contra a infecção esquistossomótica mobiliza muitos grupos de pesquisa. Vários antígenos promissores estão em estudo como: a paramiosina (HIRSCH *et al.*, 1997), o Sm14 (TENDLER *et al.*, 1996; RIBEIRO *et al.*, 2002), o Sm28GST (PANCRE *et al.*, 1994) e PIII (GUSTAVSON *et al.*, 2002).

Entretanto, até o momento, não se tem uma vacina que cumpra os requisitos de segurança e eficácia comprovada para uso em humanos (BERGQUIST, 1998a). Hoje com o esclarecimento do genoma do *S. mansoni* (VERJOVSKI-ALMEIDA *et al.*, 2003) a descoberta da vacina pode estar mais próxima. No entanto também ainda é de extrema importância a busca de novos medicamentos que eliminam os vermes, uma vez que a resistência ao praziquantel tem aumentado e vem se tornando uma grande preocupação (DOENHOFF *et al.*, 2002), bem como novos fármacos que diminuam a morbidade causada pela infecção.

Neste contexto, novos modelos experimentais podem ser utilizados na tentativa de se elucidar alguns mecanismos ainda obscuros da patogênese da esquistossomose, e assim, propiciar subsídios para a elaboração de novas estratégias de controle e suporte para esta infecção. Frente à patogenia conhecida da esquistossomose, que tem como foco principal o processo inflamatório que ocorre ao redor dos ovos, principalmente no tecido hepático, diversos estudos recentes têm sido realizados utilizando os quimioterápicos em conjunto com antiinflamatórios não esteroidais (AINES) (MAHMOUD *et al.*, 2002b) e com plantas que tenham atividades hepatoprotetoras (MAHMOUD *et al.*, 2002a). Desta forma, este trabalho, propõe-se estudar um modelo experimental que utiliza a dexametasona como agente imunomodulador agindo na infecção esquistossomótica para verificar possíveis efeitos, benéficos ou não em animais isogênicos e não isogênicos.

## **Dexametasona**

A dexametasona é um glicocorticóide que possui um amplo espectro de ação sendo um potente antiinflamatório e imunossupressor uma vez que seu efeito leva a inibição da produção de várias citocinas. Diferente de outros análogos, este fármaco apresenta propriedades mineralocorticóides reduzidas. É cerca de vinte e cinco a trinta vezes mais potente que seu análogo natural, o cortisol. Seus efeitos são mediados em sua maioria por receptores celulares de glicocorticóides que são amplamente distribuídos (PARFITT *et al.*, 1999).

A dexametasona age sobre vasos sanguíneos, diversos mediadores, precursores e tipos celulares inflamatórios e tem atividade marcante sobre o sistema imunológico. Com relação a sua ação antiinflamatória e imunossupressora pode-se destacar seu

profundo efeito sobre a concentração, a distribuição e a função dos leucócitos periféricos, bem como de seus efeitos supressores sobre a produção de citocinas e de outros mediadores lipídicos e glicolipídicos da inflamação. Dentre as ações desta droga pode-se destacar: a diminuição do número de leucócitos na área inflamada, associada à uma queda na liberação de monócitos, linfócitos, eosinófilos e basófilos e a um aumento da liberação de neutrófilos pela medula óssea; à diminuição da função dos macrófagos teciduais e de outras células apresentadoras de antígenos no combate a microorganismos intracelulares; à diminuição na liberação de radicais tóxicos do oxigênio por neutrófilos e macrófagos; a diminuição da função auxiliadora (*helper*) de linfócitos T; a diminuição da proliferação clonal de linfócitos T por queda da produção de IL-2; as alterações no curso da resposta imune; a queda na função de fibroblastos com diminuição da produção de colágenos e glicosaminoglicanos; a interferência negativa na produção de mediadores inflamatórios como leucotrienos, prostaglandinas, fator de agregação plaquetária e componentes do complemento (BOUMPAS *et al.*, 1993).

Esse glicocorticóide também afeta a produção de diversas citocinas, que são mediadoras de toda a resposta imunológica. Vários trabalhos têm demonstrado que os glicocorticóides inibem a produção de IL-1, IL-2, IL-3, IFN- $\gamma$ , GM-CSF e TNF- $\alpha$  (SNYDER e UNANUE, 1982; ARYA *et al.*, 1984; BEUTLER *et al.*, 1986; SCHIMMER e PARKER, 1996). Contudo, com relação às citocinas do perfil TH2 a ação do tratamento ainda não está clara. Alguns autores demonstraram uma diminuição, enquanto outros um aumento da produção destas citocinas (DAYNES e ARANEO, 1989; WU *et al.*, 1991; BYRON *et al.*, 1992; RAMIREZ *et al.*, 1996; FRANCHIMONT *et al.*, 1999).

Outro efeito deste glicocorticóide sobre a resposta imune é a diminuição dos níveis séricos de imunoglobulinas, de forma dose dependente (BUTLER e ROSSEN, 1973). Esta ação parece ser decorrente da inibição de algumas citocinas, uma vez que ainda não foi descrito o efeito supressor dos glicocorticóides sobre a expressão dos genes das imunoglobulinas (BOUMPAS *et al.*, 1993).

Devido às suas ações sobre a resposta imune, a dexametasona tem sido usada como coadjuvante no tratamento de diversas doenças infecto-parasitárias, como na cisticercose (BONAMETTI *et al.*, 1994; CORRAL *et al.*, 1996; SOTELO, 1997), na tuberculose (GIRGIS *et al.*, 1991; COYLE, 1999), na malária (PARFITT *et al.*, 1999). Seu uso como coadjuvante no tratamento da síndrome de Katayama, observada na fase

aguda da esquistossomose, também já foi sugerido (LAMBERTUCCI *et al.*, 1989). Além disso, o uso de glicocorticóide também tem sido preconizado para os casos de esquistossomose no sistema nervoso central (SNC).

O papel dos glicocorticóides na esquistossomose experimental já é conhecido há algum tempo. Em 1957, Coker mostrou que camundongos tratados com cortisona apresentavam um aumento da “resistência natural” ao *S. mansoni*. Mais tarde, foi demonstrado que esta droga diminuía a carga parasitária dos hospedeiros experimentais (camundongos) quando administrada no início da infecção (WEINMANN e HUNTER, 1960). Da mesma forma, Hermeto e col. (1990) demonstraram que o tratamento com altas doses de dexametasona (50 mg/kg) administrada 1 hora antes da infecção e ao longo da primeira semana reduz a carga parasitária, pois causa aumento da morte das larvas no período de migração pele-pulmão. Entretanto este efeito não era observado em animais infectados com esquistossômulos já diferenciados, obtidos por diferenciação *in vivo* (HERMETO *et al.*, 1993). Outro trabalho do mesmo grupo mostrou que a administração de dexametasona a partir do 42º dia pós-infecção não afetava a carga parasitária nem a cinética da oviposição, entretanto levava a maior retenção de ovos no tecido intestinal (HERMETO *et al.*, 1994). Em 1987, Weiner e col. avaliando cortes histológicos de fígado de animais infectados e tratados com dexametasona verificaram que este glicocorticóide causava a uma inibição da fibrogênese, já que observado por PCR verificaram a inibição da síntese de pró-colágeno 1 e 3. A dexametasona também foi usada em associação a esquistossomicidas no tratamento da esquistossomose experimental em murinos. Esta associação levou a uma redução significativa da contagem de ovos no intestino e fígado, entretanto não houve diferenças nas cargas parasitárias quando comparadas com os grupos controles (LAMBERTUCCI *et al.*, 1989). No entanto, o papel da dexametasona na patogénia, bem como na resposta imune celular e humoral na infecção esquistossomótica não se encontram totalmente esclarecidos. Estudos anteriores do nosso grupo já verificaram que a dexametasona levou a uma redução da morbidade provocada pela infecção uma vez que levou a um menor número e tamanho dos granulomas hepáticos (PYRRHO *et al.*, 2002). Além disso, estes granulomas apresentaram uma menor deposição de fibra de colágeno o que pode proporcionar uma menor hipertensão portal (PYRRHO *et al.*, 2002). Esse trabalho também verificou que o tratamento levou a uma redução de INF- $\gamma$ , IL-12 e IL-4 e um aumento de IL-10, considerada hoje uma citocina chave para o desenvolvimento de um

curso mais ameno da esquistossomose (HOFFMANN *et al.*, 2000; HOFFMANN *et al.*, 2002).

## Modelo Experimental

Os modelos experimentais animais são extremamente úteis para a melhor compreensão de diversos processos infecciosos (DRUILHE *et al.*, 2002). Na esquistossomose mansônica diversos modelos experimentais já foram utilizados para avaliar a infecção, desde modelos simples até os mais complexos para descobrir possíveis controles ou melhores condutas terapêuticas para essa parasitose (CHEEVER *et al.*, 2002). Nesse trabalho, o modelo murino foi usado, já que os camundongos são susceptíveis à infecção por *S. mansoni* e constituem assim, uma excelente ferramenta para o estudo da patogênese e da modulação da resposta imunológica à infecção por este parasito. A infecção esquistossomótica nos camundongos produz uma doença semelhante a dos humanos, onde se podem caracterizar diversas fases da infecção. A linhagem C57BL/6 é bastante utilizada, pois nestes camundongos a infecção por este helminto leva às alterações patológicas moderadas e por serem animais isogênicos não sofrem influencia dos fatores genéticos (MITCHELL *et al.*, 1990). Entretanto os camundongos SWISS, por não serem isogênicos, também são frequentemente utilizados uma vez que apresentam uma variabilidade genética que facilita extrapolar os resultados para infecções em humanos.

A resposta imunológica à infecção esquistossomótica oscila frente a uma série de fatores que são normalmente de difícil controle, como: o momento da infecção, o inóculo, a cepa do parasito, a idade do hospedeiro, o *background* genético deste e o seu estado imunológico, dentre outros fatores.

A dexametasona foi o fármaco de escolha, pois ela apresenta um amplo efeito sobre o processo inflamatório e diante deste fato poderíamos avaliar o seu papel no processo patológico da esquistossomose.

Apesar da resposta imune na esquistossomose ser bem estudada, muitos aspectos ainda não estão completamente elucidados (HAGAN *et al.*, 1998). O papel das citocinas nas diversas fases da infecção, o envolvimento dos diferentes tipos celulares na formação dos granulomas e os mecanismos que controlam a evolução da infecção ainda não são totalmente compreendidos. Assim, sabendo-se que a dexametasona tem uma

ação imunossupressora/imunomodulatória sobre o sistema imune, o seu uso na infecção experimental pelo *S. mansoni* pode desempenhar um papel relevante na tentativa de esclarecer alguns aspectos chave de todo o processo patológico da infecção por este parasito, como já demonstrado por Pyrrho e col. (2002 e 2004). Dessa forma, a dexametasona será administrada iniciando o tratamento nas diferentes fases da infecção para avaliar possíveis variações nos parâmetros parasitológicos, hematológicos, bioquímicos, e patológicos em camundongos C57BL/6 e SWISS infectados com *S. mansoni*.

## JUSTIFICATIVA

A esquistossomose é uma infecção que acomete milhares de pessoas em todo mundo e que ocasiona um grande impacto socioeconômico, sendo assim se constitui um grande problema de saúde pública. Apesar da existência de fármacos eficazes que matam os parasitos da esquistossomose, as seqüelas provocadas pela infecção crônica ainda não podem ser controladas. Para que se desenvolvam fármacos eficazes para o controle da patologia provocada por este parasito, todos os aspectos desse processo devem ser totalmente esclarecidos. Diante deste fato, esse trabalho utiliza a dexametasona, que é um fármaco imunomodulador/imunossupressor, na tentativa de esclarecer melhor este processo imune-patológico que ocorre nessa infecção, bem como identificar possíveis diferenças na modulação imunológica entre camundongos isogênicos e não isogênico.

Trabalho anterior do nosso grupo já demonstrou que as alterações imunes provocadas pela dexametasona, quando administrada desde o início da infecção ou após o período pré-patente, favoreciam o desenvolvimento de um curso mais ameno para os camundongos isogênicos infectados (PYRRHO *et al.*, 2002; PYRRHO *et al.*, 2004). Agora, quer-se avaliar se o controle da patologia, pela administração de dexametasona, iniciando na fase aguda ou crônica da infecção, altera (melhorando ou eventualmente agravando) a evolução desta infecção. Esses dados podem fornecer subsídios para a descoberta de um fármaco que possa ser utilizado como tratamento coadjuvante dessa infecção e assim melhorar a patologia/morbidade provocada pela esquistossomose. Além disso, também verificar-se-á o curso da infecção em animais isogênicos (C57Bl6) e não isogênicos (SWISS), infectados e ou tratados com dexametasona. A utilização desses dois tipos de animais tem como objetivo avaliar possíveis alterações provocadas por diferentes *backgrounds* genéticos.

## OBJETIVOS

### Geral:

- Avaliar a ação da dexametasona, quando administrada nas diferentes fases do processo patológico, em duas diferentes linhagens de camundongos infectados pelo *Schistosoma mansoni*

### Específicos:

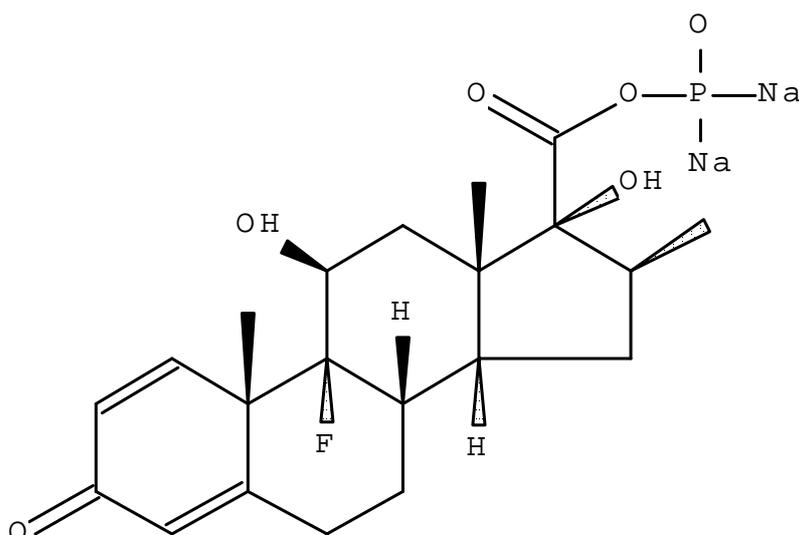
- Verificar possíveis alterações nos parâmetros parasitológicos nos animais infectados tratados ou não com dexametasona, nos diferentes momentos da infecção, na linhagem isogênica e não isogênica.
- Avaliar a ação da dexametasona sobre aspectos histopatológicos quanto à formação dos granulomas hepáticos, nas diferentes fases da infecção esquistossomótica, na linhagem isogênica e não isogênica.
- Verificar as alterações hematológicas e bioquímicas clínicas encontradas nos animais infectados tratados ou não com dexametasona nos diferentes momentos da infecção, na linhagem isogênica e não isogênica.
- Avaliar a ação da dexametasona sobre diversos parâmetros de morbidade quando o fármaco é administrado em diferentes épocas da infecção esquistossomótica, na linhagem isogênica e não isogênica.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Fármaco

A dexametasona foi o fármaco escolhido por ser bem conhecido, estudado e amplamente utilizado em várias condutas terapêuticas. É um glicocorticoide com grande ação antiinflamatória, o que favorece sua utilização para avaliação dos processos inflamatórios da esquistossomose. Possui meia-vida biológica longa de 36 a 72 horas, o que possibilita um intervalo maior entre as doses.

Foi usado, durante todos os ensaios, o fosfato dissódico de dexametasona, cujo nome fantasia foi o DECADRON<sup>®</sup> (Laboratório Prodome, Campinas-SP) na apresentação de 4 mg/mL injetável.



**Figura 5.** Fórmula estrutural do fosfato dissódico de dexametasona.

A dose de dexametasona usada foi de 1 mg/kg de peso, administrada três vezes por semana, sempre as terças-feiras, quintas-feiras e aos sábados pela manhã. Esta é uma dose aceitável para o tratamento de algumas afecções em humanos, e foi escolhida na tentativa de se obter efeitos marcantes e não controversos, além de já ter sido utilizada em estudos anteriores (PYRRHO, 2001).

A via de administração utilizada foi a intramuscular e o volume foi sempre de 40  $\mu$ L. A diluição do fármaco foi realizado com solução salina estéril (0,85 % NaCl) e a manipulação destas soluções sempre foi feita em capela de fluxo laminar para evitar contaminações.

## Camundongos/Grupos/Sacrifícios

Para realização dos experimentos, foram utilizadas fêmeas de camundongos isogênicos da linhagem C57BL/6, de 6 a 7 semanas de idade, obtidas do Centro de Criação de Animais de Laboratórios (CECAL) da Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro) e fêmeas de camundongos SWISS, também de 6 a 7 semanas de idade, gentilmente cedidos pelo Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaistnan-Rio de Janeiro. Os animais foram então mantidos nas instalações do biotério da Faculdade de Farmácia da UFRJ onde receberam alimentação balanceada e água *ad libidum*.

Antes do início dos experimentos, todos os camundongos, das duas linhagens, foram submetidos a uma avaliação parasitológica, para excluir possíveis infecções parasitárias que pudessem vir a interferir no resultado final do experimento.

Foram criados grupos de animais que não sofreram inoculações, grupos tratados com dexametasona na dose indicada e grupos inoculados apenas com solução salina. Ao final foram formados dez grupos, e cada grupo foi composto com um número amostral tal que em cada sacrifício utilizamos pelo menos cinco animais por grupo.

Os grupos foram:

- ♦ Normais (N) → animais não infectados e não tratados com dexametasona.
- ♦ Normais + Salina (N+S) → animais não infectados e injetados com solução salina.
- ♦ Normais + Dexametasona 35 (N+Dex35) → animais não infectados e tratados com dexametasona a partir do 35<sup>o</sup> dia do início do experimento.
- ♦ Normais + Dexametasona 65 (N+Dex65) → animais não infectados e tratados com dexametasona a partir do 65<sup>o</sup> dia do início do experimento.
- ♦ Normais + Dexametasona 90 (N+Dex90) → animais não infectados e tratados com dexametasona a partir do 90<sup>o</sup> dia do início do experimento.

- ◆ Infectados (**I**) → animais infectados e não tratados com dexametasona.
- ◆ Infectados + Salina (**I+S**) → animais infectados e injetados com solução salina.
- ◆ Infectados + Dexametasona 35 (**I+Dex35**) → animais infectados e tratados com dexametasona desde o 35<sup>o</sup> dia após a infecção.
- ◆ Infectados + Dexametasona 65 (**I+Dex65**) → animais infectados e tratados com dexametasona desde o 65<sup>o</sup> dia após a infecção.
- ◆ Infectados + Dexametasona 90 (**I+Dex90**) → animais infectados e tratados com dexametasona desde o 90<sup>o</sup> dia após a infecção.

Os grupos inoculados com solução salina serviram como mais um parâmetro de controle, para avaliar se a inoculação dos animais era uma forma de estresse que levava as alterações que poderiam ser confundidas com uma possível ação do tratamento. Apesar de estudos anteriores (PYRRHO *et al.*, 2002) já terem demonstrado que a manipulação na inoculação não era um fator importante, foi realizado novamente este grupo uma vez que se utilizou uma nova linhagem de camundongos que não havia sido testada anteriormente.

A escolha dos grupos deve-se ao fato de que estudos anteriores forneceram dados marcantes quando a droga era administrada a partir do zero e do 35<sup>o</sup> dia de infecção (PYRRHO, 2001). Nesse trabalho, além do grupo que recebe o fármaco a partir do dia 35 (controle), tem-se os grupos que receberam o fármaco a partir do 65<sup>o</sup> e 90<sup>o</sup>. Estes foram utilizados para avaliarmos como o tratamento influencia a infecção se iniciado no ápice da fase aguda e na fase crônica respectivamente.

Além disso, foram utilizadas duas linhagens de camundongos para que se pudesse comparar possíveis diferenças no curso da infecção esquistossomótica, com ou sem tratamento, em uma linhagem isogênica e outra não. Como já dito anteriormente, as duas linhagens de camundongos foram utilizadas para verificar se a variabilidade genética que os animais SWISS apresentam, leva a alterações nas respostas à infecção em relação a apresentada pelos animais isogênicos e desta forma ficassem os resultados mais próximos de serem extrapolados para o homem.

Os animais foram sacrificados em 2 momentos. O primeiro foi na época considerada por alguns autores, como o ápice da fase aguda da esquistossomose experimental em murinos, aos 55 dias de infecção. É nessa época que ocorre um

depósito apreciável de ovos nos tecidos com uma forte reação granulomatosa ao redor destes. Nesta primeira etapa do trabalho foram coletados: sangue total, soro, baço, intestino e fígado dos animais. O segundo e último momento de coleta foi aos 120 dias após a infecção quando os animais encontravam-se na fase crônica. O material coletado foi o mesmo realizado no ponto anterior acrescentado do tecido pulmonar. Todos os grupos, em todos os dois momentos dos sacrifícios, foram representados por pelo menos 5 animais. Os materiais foram processados e estocados individualmente, exceto os soros que foram armazenados em *pool* dos respectivos grupos. A Figura 6 mostra esquematicamente o descrito acima.



## **Infecção**

As infecções dos animais foram feitas com cercárias da cepa BH (Belo Horizonte, Minas Gerais) de *Schistosoma mansoni*, gentilmente fornecidas pelo *Laboratório de Malacologia* da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. Momentos antes da infecção, os animais foram estimulados a urinar e defecar ao serem colocados em uma gaiola contendo pequeno volume de água. Este procedimento teve como finalidade diminuir o contato dessas excretas com as cercárias, evitando desta forma a queda do seu poder infectante. Os camundongos foram expostos a um banho individual com  $\pm$  45 cercárias vivas por 30-40 minutos em água desclorada ocorrendo a infecção por via transcutânea. Esta é uma carga parasitária média que não ocasiona a morte de um número acentuado de animais, uma vez que o acompanhamento fora planejado para ser feito por 120 dias.

## **Inoculações**

Os camundongos foram inoculados com dexametasona 1 mg/kg ou solução salina, três vezes por semana, pela manhã, durante até 85 dias (N+S, N+Dex35, I+S e I+Dex35), até 55 dias (N+Dex65 e I+Dex65) ou até 30 dias (N+Dex90 e I+Dex90). As injeções foram aplicadas na musculatura do membro posterior dos animais alternando-se os lados. O volume foi sempre de 40  $\mu$ L para minimizar possíveis lesões causadas pela inoculação. Ao longo das inoculações foram anotadas as datas das eventuais mortes que ocorreram nos diversos grupos. Estes dados serviram para a preparação da curva de sobrevivência.

## **Peso dos camundongos**

Os camundongos tiveram as caudas marcadas e em grupo de três animais foram pesados duas vezes por semana para avaliação de uma eventual caquexia provocada pela infecção e/ou tratamento.

## Ovos nas fezes

Foram coletadas fezes, três vezes por semana, dos camundongos a partir do 32º dia de infecção para que fossem quantificados o número de ovos presentes por grama de fezes e verificar se o tratamento estava afetando este processo. O número de ovos foi quantificado utilizando *pool* de fezes por grupo. A partir deste material o método realizado para a contagem dos ovos foi o de Kato Katz (KATZ *et al.*, 1972).

Além da quantificação dos ovos, também foi realizada a pesquisa de sangue oculto nas fezes com o objetivo de verificar alterações no nível de sangramento gastrintestinais dos animais infectados, tratados ou não. A pesquisa de sangue oculto foi feita com o reativo de Meyer-Johannessen (LIMA *et al.*, 1992) e teve uma avaliação semi-quantitativa realizada por dois observadores. A avaliação baseou-se em cruzes dadas de acordo com a tonalidade da cor formada após a reação. Os critérios utilizados encontram-se abaixo:

<b>Critérios:</b>	<b>0</b>	sem qualquer halo avermelhado	<b>0</b>
	<b>1</b>	halo ligeiramente vermelho	<b>+</b>
	<b>2</b>	halo levemente vermelho	<b>++</b>
	<b>3</b>	halo vermelho	<b>+++</b>
	<b>4</b>	halo acentuadamente vermelho	<b>++++</b>
	<b>5</b>	halo vinho	<b>+++++</b>

## Carga parasitária

Para avaliar a carga parasitária, alguns animais foram submetidos ao processo de perfusão hepática descrito por Duvall e DeWitt (1967). Os animais foram anestesiados com tiopental (Thiomenbutal<sup>®</sup>-Abbott) numa concentração de 6 mg/camundongo. Suas cavidades torácica e abdominal foram abertas, a porção final do tubo digestivo foi ocluída, e a veia porta, próxima ao fígado, dissecada. Com o auxílio de uma bomba peristáltica, foi injetada solução salina pela artéria aorta do animal, permitindo a saída de parasitos que habitavam as veias mesentéricas, pela veia porta dissecada. A solução salina perfundiu o fígado pela artéria hepática, retirando os parasitos localizados no sistema porta intra-hepático. Todo o líquido obtido durante esse processo foi coletado em um cálice cônico. Os parasitos extraídos foram lavados, contados e seu sexo e

maturidade sexual foram determinados. Os fígados dos animais usados em tal técnica foram macerados a para verificar possível presença de vermes que não haviam sido eliminados durante o processo descrito anteriormente.

## **Pesagem dos órgãos**

A pesagem dos fígados, dos baços e dos pulmões, foi realizada logo após o sacrifício dos camundongos. Para tal procedimento, os órgãos foram retirados inteiros e colocados sobre placas de Petri previamente pesadas.

## **Quantificação de ovos nos tecidos**

Foi realizado a digestão do tecido hepático, pulmonar e intestinal, segundo a técnica descrita por Cheever (1968). Este procedimento teve como objetivo quantificação dos ovos presentes nestes tecidos. Para isto os fragmentos de tecidos foram pesados e depois mantidos em solução de KOH 4% a temperatura ambiente por aproximadamente 12 horas e com posterior incubação a 37° C por mais 1 hora para que ocorra a sua digestão. Após a quantificação dos ovos, os resultados foram expressos em ovos por casal de parasito por grama de tecido. A contagem dos ovos foi realizada em octuplicata.

## **Oograma**

Foi realizado o oograma intestinal com o objetivo de avaliar o processo de maturação dos ovos neste tecido. Além disso, este procedimento foi realizado como uma segunda avaliação do número de ovos retidos no tecido intestinal. O processo consistiu da ressecção de 1 cm da porção intermediária do íleo, com posterior corte longitudinal, seguida de compressão deste fragmento de tecido entre 2 lâminas de microscopia. Com isso, através da transparência do material, avaliou-se e quantificou-se os estágios de maturação dos ovos presentes nesse fragmento de tecido intestinal. Os ovos foram classificados de acordo com o trabalho de Prata (1957) que os dividem em ovos vivos e ovos mortos. Os ovos vivos são subdivididos em imaturos, que possui 4 estádios de evolução (1º, 2º, 3º e 4º estádio), e maduro. Já os ovos mortos são divididos em cascas, ovos escuros, semitransparentes e granulosos. Mesmo tendo quantificados

todos os estádios dos ovos imaturos e os tipo de ovos mortos, serão expressos apenas o total de ovos vivos imaturos e maduros e ovos mortos, para facilitar a demonstração.

## **Dosagem de parâmetros bioquímicos clínicos**

Os soros dos animais sacrificados foram usados para a dosagem de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP). As dosagens destes parâmetros serviram para avaliação das funções hepáticas. As avaliação das aminotransferases foram realizadas por uma metodologia que se baseia no princípio da oxidação do NADH à NAD (MCCOMB *et al.*, 1976). A metodologia utilizada para dosagem de fosfatase alcalina foi a de Roy modificado. A leitura foi feita em aparelho CIBA CORNING EXPRESS PLUS<sup>®</sup> e foram utilizados kits diagnósticos da CHIRON Diagnostics Corporation (East Walpole, MA).

Além dos parâmetros que marcam os danos hepáticos fizemos ainda a dosagem sérica de uréia (Ur) e de creatinina (Cr), que avaliaram o funcionamento renal; e a dosagem de proteínas totais (PTN), e de albumina (ALB), para avaliar o comprometimento orgânico dos camundongos. Estes parâmetros foram avaliados utilizando reação colorimétrica onde para uréia foi utilizado o método de dosagem da uréase e para a creatinina o método de Jaffé modificado. A dosagem de proteína foi realizada com o reativo de biureto e a concentração de albumina foi obtida pelo método do verde de bromocresol (LIMA *et al.*, 1992).

## **Processamento histológico**

Os ensaios histopatológicos foram feitos a partir dos fígados e intestinos dos camundongos obtidos nos tempos de coleta utilizados nos experimentos (55 e 120 dpi). Estes materiais foram inicialmente fixados em solução formol tamponado a 10% e posteriormente incluídos em parafina histológica. A partir dos blocos parafinizados foram efetuados cortes de 5µm de espessura em micrótomo (LUMNLAB 3500). Após os cortes, foi realizada a coloração utilizando-se Hematoxilina-Eosina (HE) que teve como objetivo a avaliação da área de infiltrado celular inflamatório dos granulomas hepáticos e o percentual de eosinófilos nestes tecidos.

## **Avaliação da área dos granulomas**

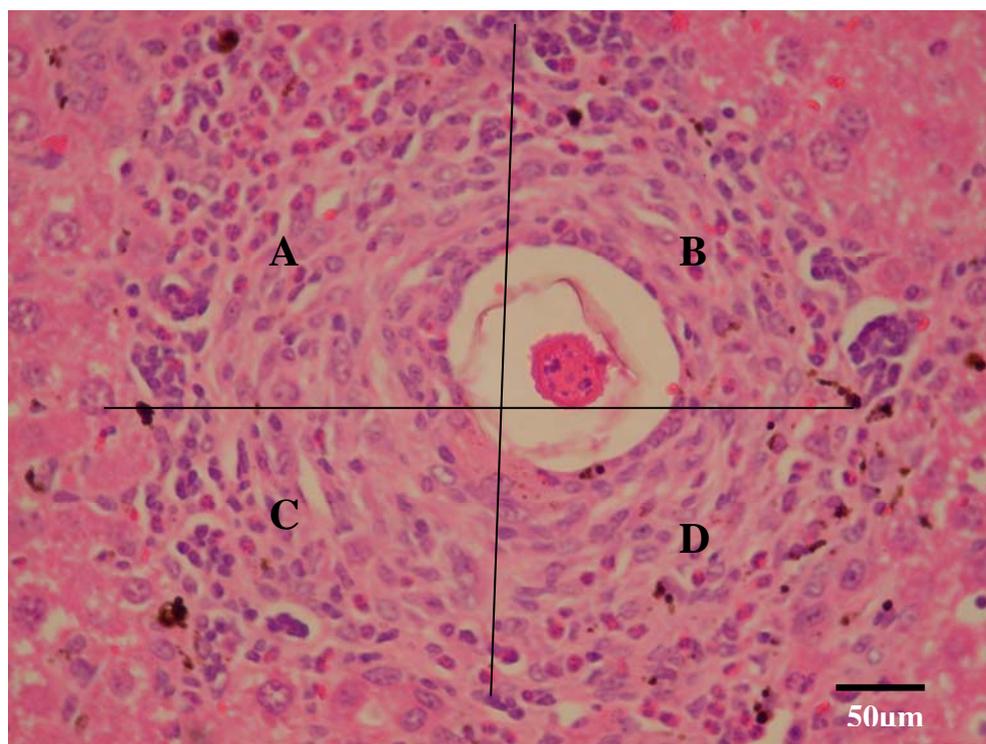
A área dos granulomas foi mensurada utilizando-se as lâminas contendo cortes histológicos coradas por Hematoxilina-Eosina (HE) e obtidas como descrito acima. Para a avaliação do tamanho dos granulomas utilizou-se a microscopia de campo claro seguida de captura das imagens e processamento com o auxílio do programa Scion Image versão 3b (Scioncorp - <http://www.scioncorp.com>). Com a ajuda do referido programa, as imagens foram avaliadas, obtendo-se assim as dimensões das áreas dos granulomas (Prancha 1). Foram escolhidos e avaliados 20 a 25 granulomas por lâmina (por animal). Essas imagens foram escolhidas aleatoriamente dentre aquelas que apresentavam o ovo de *S. mansoni* em seu centro.

## **Avaliação dos eosinófilos nos tecidos**

Foi quantificado o percentual de eosinófilos nos cortes histológicos de fígado e intestino, a fim de verificar possíveis alterações na composição celular dos granulomas, tendo em vista a grande importância desta célula na composição dos mesmos. A avaliação se procedeu em microscopia de campo claro com um aumento de 1000X (Prancha 2).

**Prancha 1:**

Exemplo de como foi calculada a área dos granulomas hepáticos. As imagens foram capturadas, digitalizadas e processadas utilizando-se o auxílio do programa Scion Image versão 3b.



### Prancha 2:

Exemplo aleatório de imagem de granuloma hepático em corte histológico corados com hematoxilina-eosina (HE). Os Este exemplo pertence ao grupo de camundongos infectados e não tratados (I). Os granulomas foram divididos em quatro quadrante e os eosinófilos presentes no infiltrado celular inflamatório ao redor do ovo de *S. mansoni* foram quantificados.

## Dosagem dos parâmetros hematológicos

O sangue total dos animais foi coletado individualmente em tubos cônicos contendo 5 mg de anticoagulante EDTA (Ácido etileno diaminotetracético) (Merck, Darmstadt, Alemanha) por mililitro de sangue. As dosagens dos parâmetros hematológicos foram realizadas utilizando-se o aparelho de contagem de células modelo CC550 da CELM (Companhia Equipadora de Laboratórios Modernos, São Paulo). O sangue total foi previamente diluído (DA-500, CELM) e passado pelo aparelho, o qual forneceu 7 parâmetros hematológicos diferentes, dentre os quais foram utilizados:

- ◆ Número de hemácias por  $\text{mm}^3$
- ◆ Hematócrito
- ◆ Hemoglobina
- ◆ Número de leucócitos por  $\text{mm}^3$

A contagem específica de leucócitos foi feita em lâminas de distensão sangüínea coradas por Giemsa e Wright (Merck), tendo sido feitas em duplicatas e lidas por dois observadores distintos.

## Avaliação estatística

A avaliação estatística dos dados foi realizada utilizando-se o programa SigmaPlot versão 5.0 (SPSS Inc.). Foram calculadas as médias e os desvios padrão. A comparação entre os grupos foi avaliada pelo teste *t* de Student não pareado. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## RESULTADOS

Trabalhos anteriores do nosso grupo haviam demonstrado efeito marcante da dexametasona sobre os animais isogênicos infectados e tratados ainda na fase aguda da infecção esquistossomótica experimental. Assim, esse trabalho avaliou os efeitos do tratamento com dexametasona quando iniciado na fase aguda e crônica da infecção experimental com *S. mansoni* em camundongos isogênicos (C57BL/6) e não isogênico (SWISS). Foram avaliados os efeitos sobre alguns parâmetros parasitológicos, bioquímicos, hematológicos e histopatológicos.

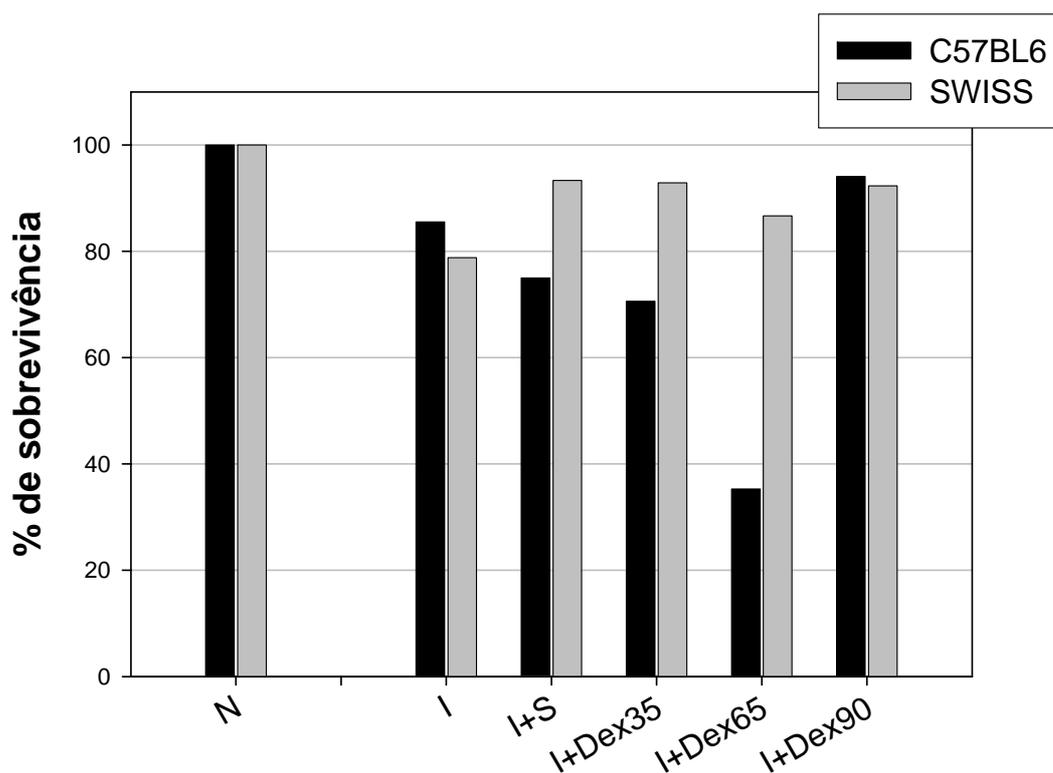
### Percentual de Sobrevivência

Para avaliar o efeito do início do tratamento com dexametasona sobre a taxa de mortalidade dos animais C57BL/6 e SWISS infectados com 45-50 cercárias da cepa BH de *S. mansoni*, os camundongos foram acompanhados durante todo o experimento (120 dias) e as datas de mortes foram registradas. O grupo N+S, N+Dex35, I+S e I+Dex35, só foram formados a partir do 35º dias do início do experimento e os animais foram retirados do grupo normal (N) e do grupo infectado (I). Os demais grupos que receberam dexametasona (N+Dex65, I+Dex65, N+Dex90 e I+Dex90) também só foram formados respectivamente após 65 e 90 dias do experimento e também eram retirados do grupo N e do grupo I.

A figura 7 mostra o percentual de sobrevivência do grupo N, o qual não apresentou mortalidade nos camundongos C57BL/6 (barra em preto) e nos camundongos SWISS (barra em cinza). Os demais grupos normais (N+S, N+Dex35, N+Dex65 e N+Dex90) não estão expressos, pois não apresentaram mortalidade nem nos camundongos isogênicos e nem nos não isogênicos, assim todos os grupos de camundongos normais tiveram 100% de sobrevivência durante todo o experimento.

Com relação aos animais isogênicos infectados foi observado uma taxa de mortalidade em torno de 20-30% nos grupos I, I+S, I+Dex35 e I+Dex90, o que mostra que quando o tratamento é iniciado aos 35 dias (período pré-patente) e na fase crônica

(90 dias) os camundongos não têm grande variação na mortalidade quando comparado com o grupo apenas infectado. Contudo quando os camundongos isogênicos começaram a receber o tratamento na fase aguda da infecção (I+Dex65) foi observada uma mortalidade em torno 60%. Entretanto com camundongos SWISS os animais infectados e tratados com dexametasona (I+ Dex35, I+Dex65, I+Dex90) tiveram uma mortalidade em torno de 15% e o grupo I em torno de 20% o que mostra que na linhagem não isogênica o tratamento com dexametasona independente do início, não influenciou na taxa de mortalidade dos animais (Figura 7).



**Figura 7: Percentual de sobrevivência**

Durante os 120 dias de infecção os animais normais e infectados com *S. mansoni*, tratados ou não com 1 mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana, foram acompanhados e os percentuais de sobrevivência do grupo normal (N) e dos grupos infectados (I; I+S; I+Dex35; I+Dex65; I+Dex90) encontram-se expressos no gráfico. Os demais grupos normais que receberam salina e dexametasona não estão expressos, uma vez que não apresentaram diferenças do grupo normal. Em barra preta encontra-se o percentual de sobrevivência dos camundongos isogênicos (C57BL/6) e em cinza os percentuais de sobrevivência dos diversos grupos de camundongos não isogênicos (SWISS).

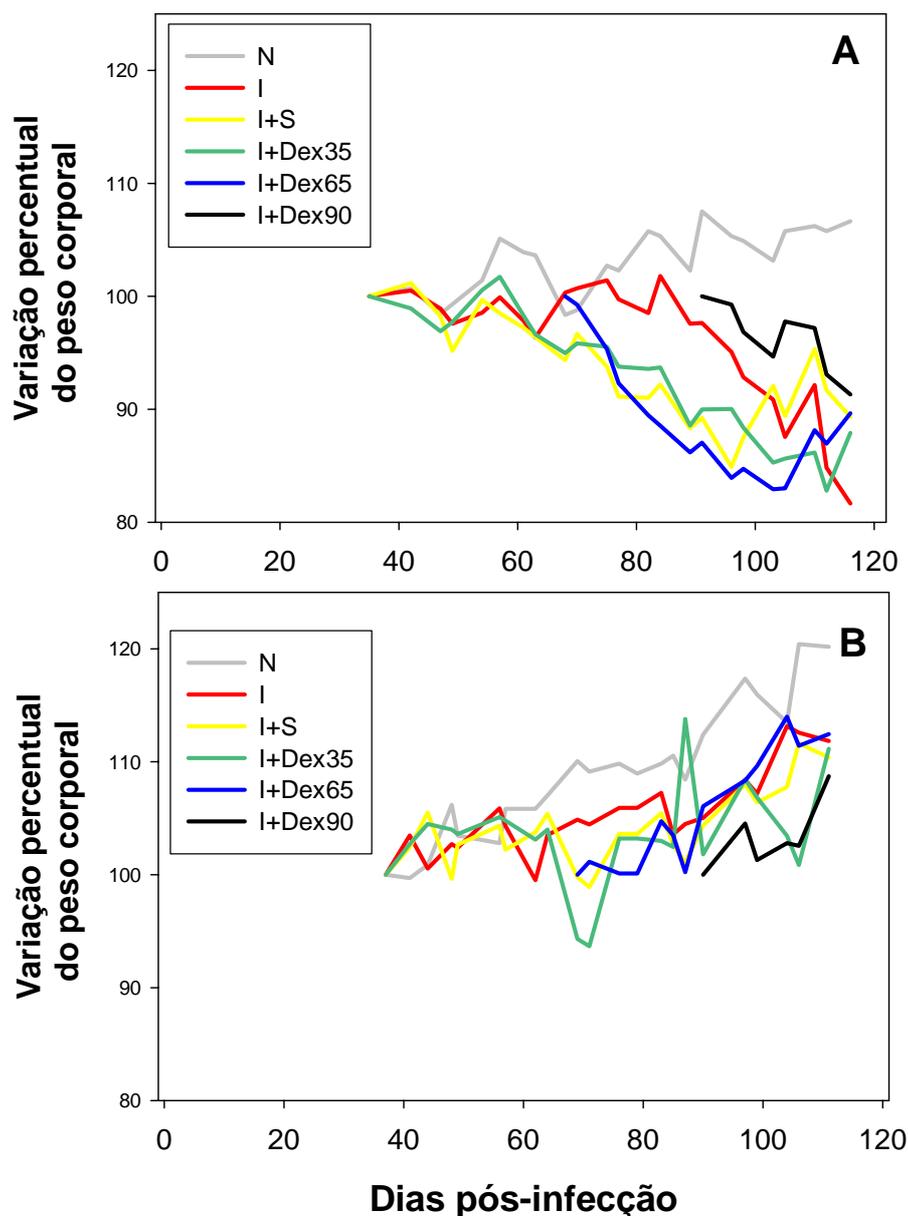
## ***Peso corporal dos camundongos***

Visando avaliar se o tratamento com dexametasona teria algum efeito sobre o peso corporal dos camundongos e conseqüentemente sobre a morbidade dos mesmos, os camundongos controles e infectados com 45-50 cercárias de *S. mansoni* foram divididos em grupos de 3 animais onde tiveram seus pesos acompanhados durante os 120 dias de duração dos experimentos.

Na figura 8 tem-se no painel A, a avaliação do peso dos camundongos isogênicos. Foi observado que os grupos infectados apresentaram uma perda de peso ao longo do experimento, sendo esta perda mais acentuada nos camundongos infectados que receberam dexametasona. Também foi observado que o grupo I+Dex65 que teve o início do tratamento na fase aguda da infecção teve uma perda de peso extremamente acentuada, tendo muitos animais já caquéticos.

No painel B, onde tem-se camundongos não isogênicos, foi observado que todos os animais tiveram um ganho de peso ao longo do experimento, só que este ganho de peso foi maior nos camundongos normais do que nos infectados e dentro dos grupos infectados não foram observadas grandes diferenças de peso ao longo do experimento mostrando que diferente dos camundongos isogênicos os camundongos SWISS não perdem peso quando infectados e tratados com dexametasona independente da fase do início do experimento.

Foram expressos apenas o grupo normal, pois os demais grupos de camundongos não infectados não houve diferenças marcantes em relação ao grupo normal.



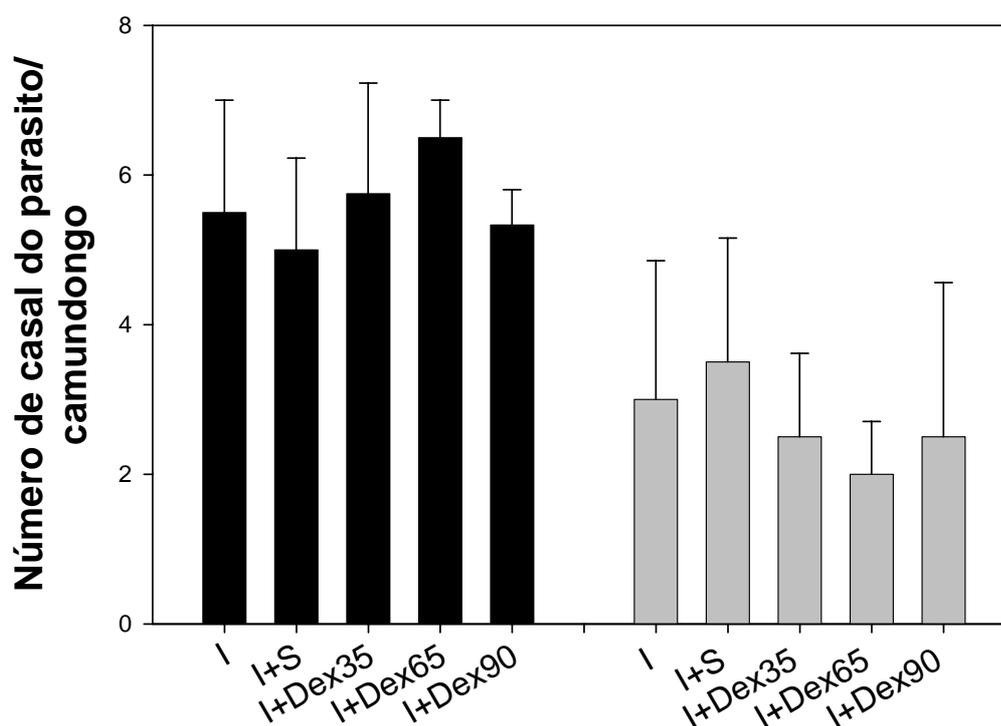
**Figura 8: *Peso corporal dos camundongos***

Animais normais e infectados com *S. mansoni*, tratados ou não com 1 mg/kg de dexametasona tiveram seus pesos acompanhados 2 vezes por semana durante os 120 dias do experimento. Os animais foram subdivididos em grupos de 3 animais e estes foram então pesados. No gráfico A encontra-se a variação do peso do grupo normal (N), do grupo infectado (I), grupo infectado e que recebeu salina (I+S) e infectados e tratados com dexametasona (I+Dex35; I+Dex65; I+Dex90) realizado em camundongos isogênicos (C57BL/6). No gráfico B temos a variação do peso ao longo dos 120 dias nos mesmos grupos do gráfico A só que em camundongos não isogênicos (SWISS).

## ***Perfusão***

Com o objetivo de avaliar se o início do tratamento na fase aguda e crônica afetava o desenvolvimento e a sobrevivência do *S. mansoni* em camundongos C57BL/6 (barra em preto) e SWISS (barra em cinza), os animais foram submetidos a um processo de perfusão hepática descrito por Duvall e DeWitt (1967). Os vermes foram retirados e sofreram uma avaliação quanto ao sexo e a maturidade. Após esta avaliação o total de vermes foi quantificado. Na figura 9 encontra-se expresso o número de casais, obtido nos diversos grupos de camundongos C57BL/6 e SWISS infectados tratados ou não com 1mg/kg de dexametasona três vezes por semana. No gráfico pode-se observar que tanto nos camundongos isogênicos quanto nos camundongos não isogênicos o tratamento com dexametasona, independentemente do início do tratamento, não apresentou diferenças significativas, mostrando que a dexametasona não influenciou na sobrevivência do parasito.

Pode-se observar também na figura 9, que os camundongos não isogênicos são mais resistentes à infecção uma vez que, o número de casais no final do experimento é bem menor do que nos camundongos isogênicos. Esse dado está de acordo com a literatura existente.



### Figura 9: *Perfusão hepática*

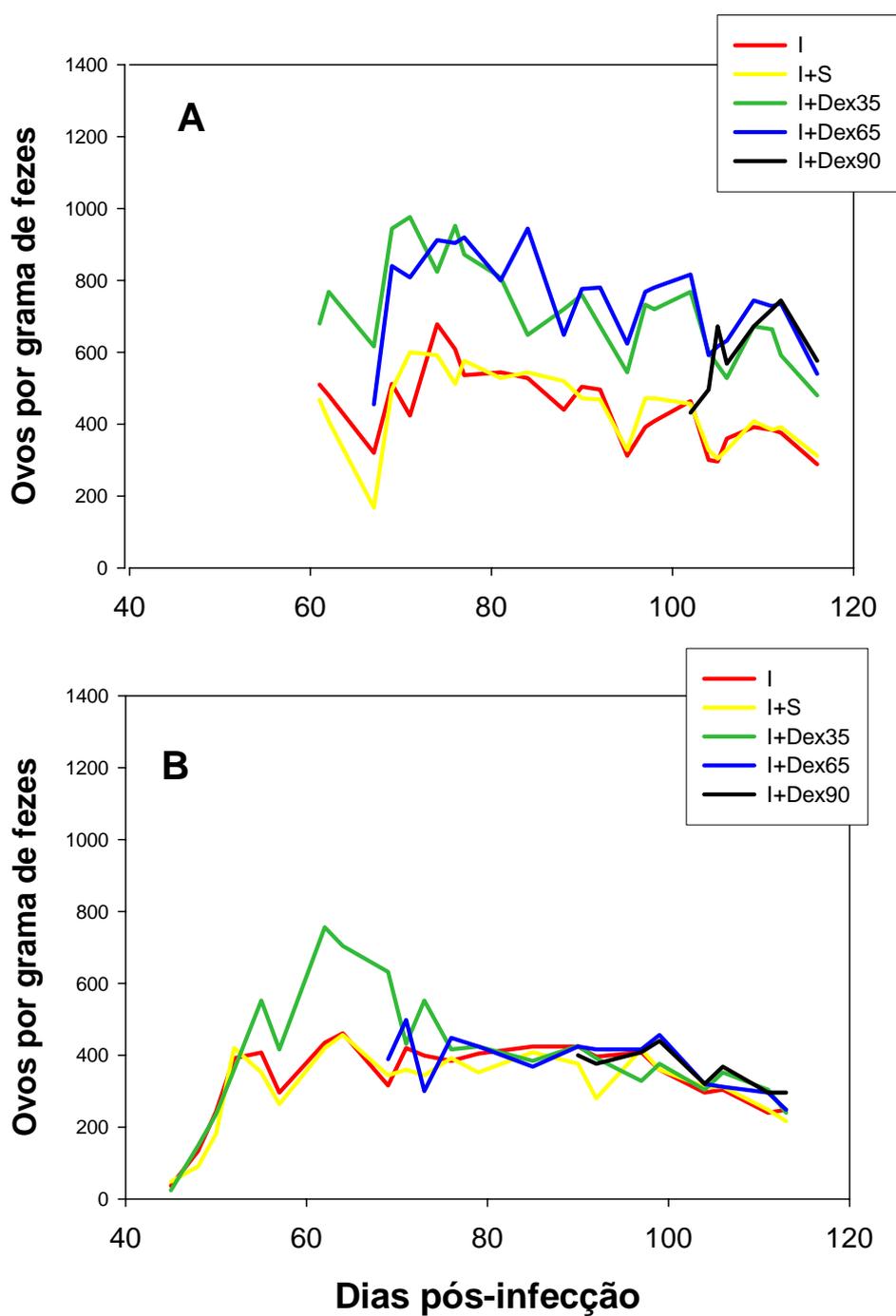
Por um processo de perfusão hepática descrito por Duvall e DeWitt (1967) os camundongos C57BL/6 (barra em preto) e SWISS (barra em cinza) expostos à infecção com 45 cercarias de *S. mansoni* e que receberam ou não 1 mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana tiveram os vermes coletados durante os sacrifícios. No gráfico temos o número de casais de *S. mansoni* obtidos em todos os grupos após 120 dias de infecção. A carga parasitária expressa no gráfico acima foi determinada pela média de 5 animais por grupo.

## Ovos nas fezes

Para avaliar a influência do tratamento com 1mg/kg de dexametasona três vezes por semana sobre a eliminação de ovos nas fezes, nos diferentes grupos e nas diferentes linhagens de camundongos infectados com 45-50 cercárias de *S. mansoni*, os animais foram acompanhados durante os 120 dias de infecção onde se quantificou 2-3 vezes por semana, pelo método de Kato Katz (KATZ *et al.*, 1972), o número de ovos de *S. mansoni* presente nas fezes.

Na figura 10, no painel A tem-se a eliminação de ovos nas fezes dos diversos grupos de camundongos C57BL/6 infectado com *S. mansoni*, enquanto no painel B tem-se a eliminação de ovos ao longo dos 120 dias em camundongos SWISS.

Pode-se observar que os camundongos isogênicos que receberam dexametasona, apresentaram um aumento na eliminação de ovos ao longo de todo experimento, quando comparado com os grupos controle (I e I+S). Já em camundongos não isogênicos o aumento da eliminação de ovos com o tratamento não foi observado, tivemos apenas um aumento de ovos nas fezes em torno 50-60 dias com o grupo que recebeu dexametasona desde o 35º dia de infecção.



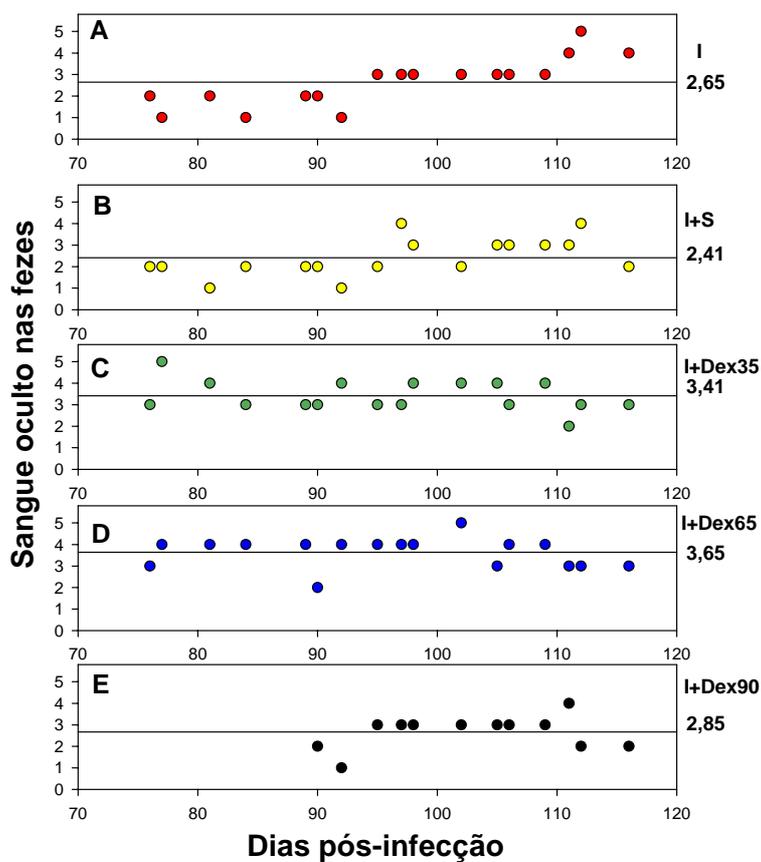
**Figura 10: Ovos nas fezes**

Número de ovos de *S. mansoni* nas fezes dos camundongos C57BL/6 (gráfico A) e SWISS (gráfico B) infectados que receberam ou não 1 mg/kg dexametasona 3 vezes por semana. Os gráficos mostram o acompanhamento da eliminação dos ovos nas fezes ao longo dos 120 dias de infecção. Estes ovos foram determinados pelo método de Kato Katz (Katz e col., 1972).

## *Sangue oculto nas fezes*

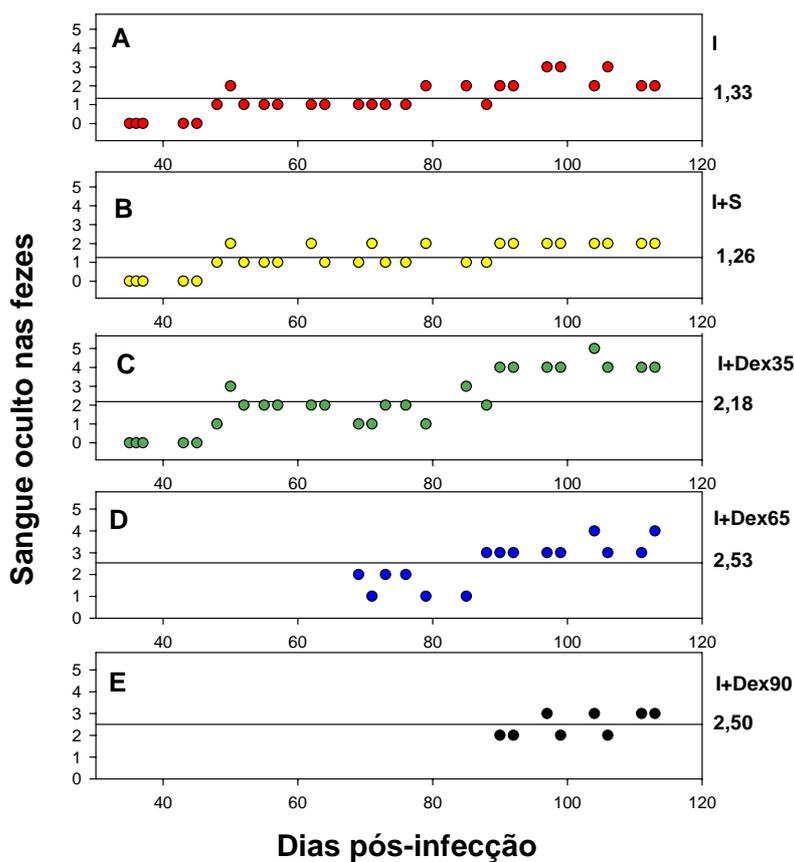
Para verificar se o tratamento com dexametasona influenciava na perda de sangue nos camundongos infectados e conseqüentemente na morbidade dos animais, avaliamos em conjunto com a quantificação de ovos nas fezes, a presença de sangue oculto nas fezes pelo método de Meyer Jonhanssem. A avaliação foi semi-quantitativa onde padronizamos um número de cruces de acordo com a intensidade da coloração presente. Também foi realizada a quantificação de sangue oculto nas fezes dos diversos grupos de camundongos normais, na qual não foi observada a presença do mesmo.

A figura 11 mostra a presença de sangue nos diversos grupos de camundongos C57BL/6 infectados. Pode se observar uma grande oscilação ao longo do experimento, sendo que os grupos I+Dex35 e I+Dex65 apresentaram uma maior perda de sangue ao longo do experimento. Na figura 12 pode se observar a distribuição de sangue ao longo do experimento em camundongos SWISS e também foi observado um aumento de sangue oculto nas fezes em todos os grupos que receberam dexametasona. Contudo em comparação com a linhagem isogênica, pode ser observado que os camundongos SWISS apresentaram uma menor perda de sangue nas fezes.



**Figura 11: Sangue oculto nas fezes - C57BL/6**

Durante os 120 dias de experimento, foi avaliada a presença de sangue oculto nas fezes dos camundongos isogênicos (C57BL/6) infectados tratados ou não com 1mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana. No gráfico A encontra-se a avaliação semi-quantitativa de sangue nas fezes dos camundongos infectados (I). O gráfico B representa o grupo I+S, o gráfico C o grupo I+Dex35, o gráfico D representa o grupo I+Dex65 enquanto o gráfico E representa o grupo I+Dex90. Nesta figura as linhas nos gráficos representam a média das cruzes ao longo do tempo.



**Figura 12: *Sangue oculto nas fezes - SWISS***

Durante os 120 dias de experimento, foi avaliada a presença de sangue oculto nas fezes dos camundongos não isogênicos (SWISS) infectados tratados ou não com 1mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana. No gráfico A encontra-se a avaliação semi-quantitativa de sangue nas fezes dos camundongos infectados (I). O gráfico B representa o grupo I+S, o gráfico C o grupo I+Dex35, o gráfico D representa o grupo I+Dex65 enquanto o gráfico E representa o grupo I+Dex90. Nesta figura as linhas nos gráficos representam a média das cruces ao longo do tempo.

## Distribuição de ovos nos tecidos

Como observado anteriormente por Pyrrho e col. (2002), o tratamento com dexametasona quando iniciado desde o 1º dia da infecção ou após o 35º dia da infecção, afetava a distribuição dos ovos de *S. mansoni* nos tecidos onde levava a uma maior retenção de ovos no tecido intestinal e a uma menor quantidade de ovos no tecido hepático, tecido onde ocorrem as principais alterações patológicas e as complicações da esquistossomose.

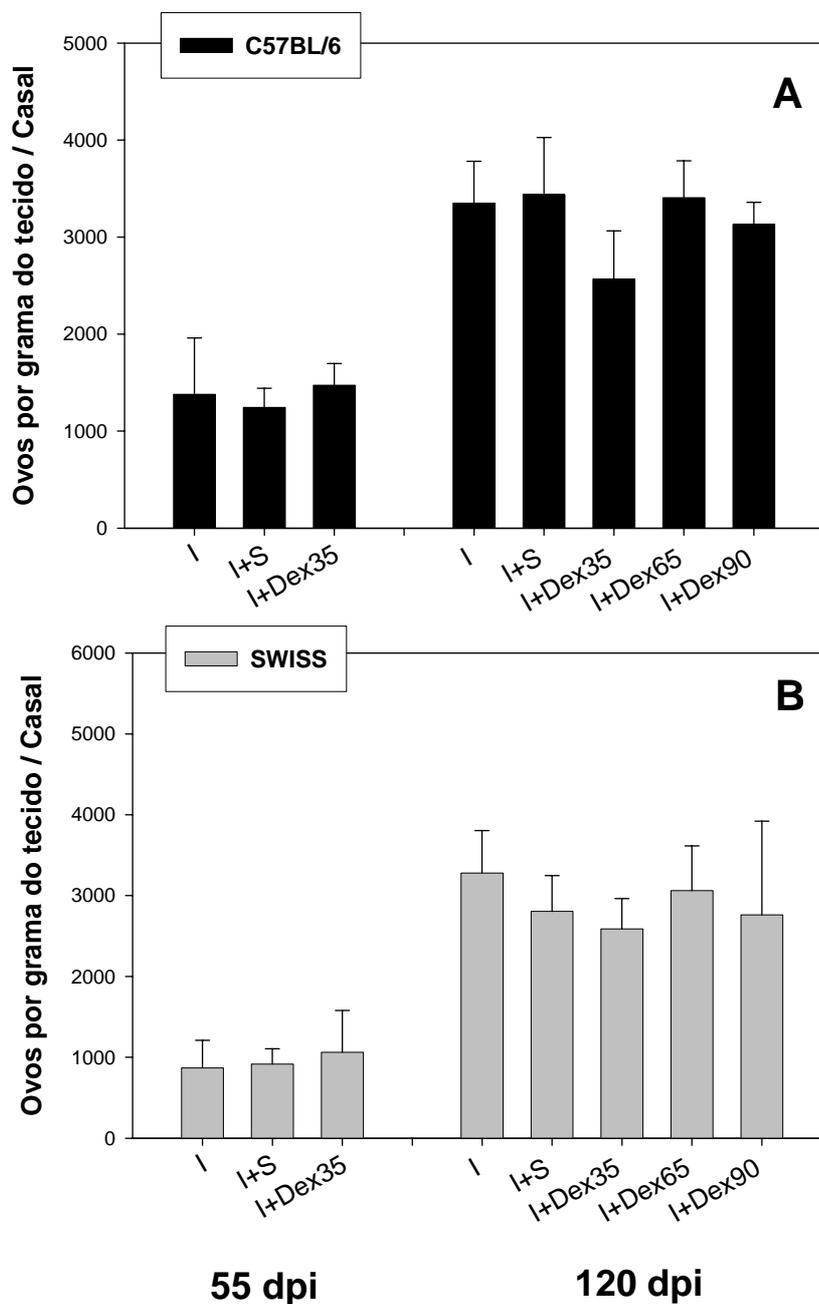
Diante deste fato resolveu-se quantificar o número de ovos no tecido hepático e intestinal para avaliar se a dexametasona continuava influenciando na distribuição destes ovos se iniciada na fase aguda da infecção (I+Dex65) ou no início da fase crônica da infecção (I+Dex90) bem como se o efeito nesta distribuição também ocorria com a linhagem não isogênica (camundongos SWISS).

A quantificação do número de ovos foi realizada pela digestão dos órgãos por uma solução de KOH 4% como descrito por Cheever (1968). A figura 13A, a quantidade de ovos no tecido hepático tanto na fase aguda (55 dpi) quanto na fase crônica (120 dpi) da infecção. Pode-se observar que na fase aguda, o tratamento com dexametasona não influenciava na quantidade de ovos enquanto que na fase crônica (120dpi) os grupos tratados a partir da 35º dia e a partir do 90º dias apresentavam uma tendência a uma menor quantidade de ovos neste órgão sendo que o grupo I+ Dex35 teve uma tendência marcante, com um  $p= 0,06$ . Entretanto o grupo que teve o tratamento iniciado na fase aguda (I+Dex65) não apresentou esta tendência. Na figura 13B pode se observar a quantidade de ovos no tecido hepático na fase aguda e crônica em camundongos SWISS. Da mesma forma que nos camundongos isogênicos os grupos na fase aguda não apresentaram nenhuma diferença enquanto que na fase crônica a tendência a um menor aporte de ovos no fígado continua nos grupos que receberam dexametasona a partir do 35º e 90º dpi.

Na figura 14A se observa a quantidade de ovos no tecido intestinal nos camundongos isogênicos e pode-se verificar uma maior quantidade de ovos nos grupos que receberam dexametasona com exceção do grupo I+Dex90. Na figura 14B foi observada novamente a tendência a uma maior concentração de ovos no tecido intestinal

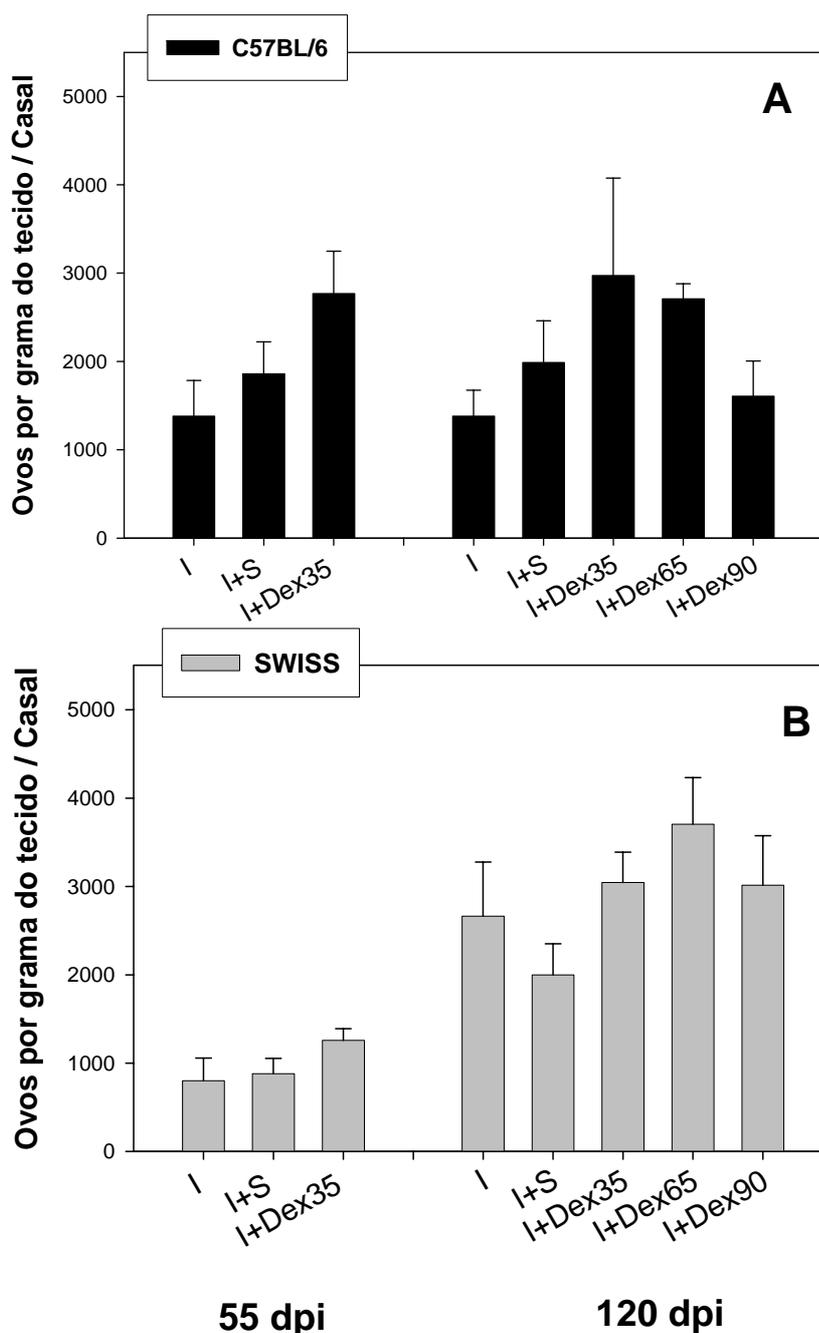
dos grupos tratados com dexametasona tanto na fase aguda quanto crônica, contudo agora nos camundongos não isogênicos.

Também foi realizada a digestão dos pulmões e do baço nos diversos grupos de animais infectados tanto da fase aguda quanto crônica em camundongos isogênicos e não isogênico. Nesses dois tecidos não foi observada grande quantidade de ovos e nem diferenças entre os grupos (dados não demonstrados).



**Figura 13: Ovos no tecido hepático**

Número de ovos de *S. mansoni*, por casal de vermes, no tecido hepático de camundongos C57BL/6 (gráfico A) e SWISS (gráfico B) infectados que receberam ou não 1 mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana. Os resultados foram obtidos após o sacrifício de 55 e 120 dias após a infecção. Os fígados foram digeridos por uma solução de KOH 4% como descrito por Cheever (1968). Os valores expressos no gráfico acima foram determinados a partir de um experimento com pelo menos 6 animais por grupo.



**Figura 14: *Ovos no tecido intestinal***

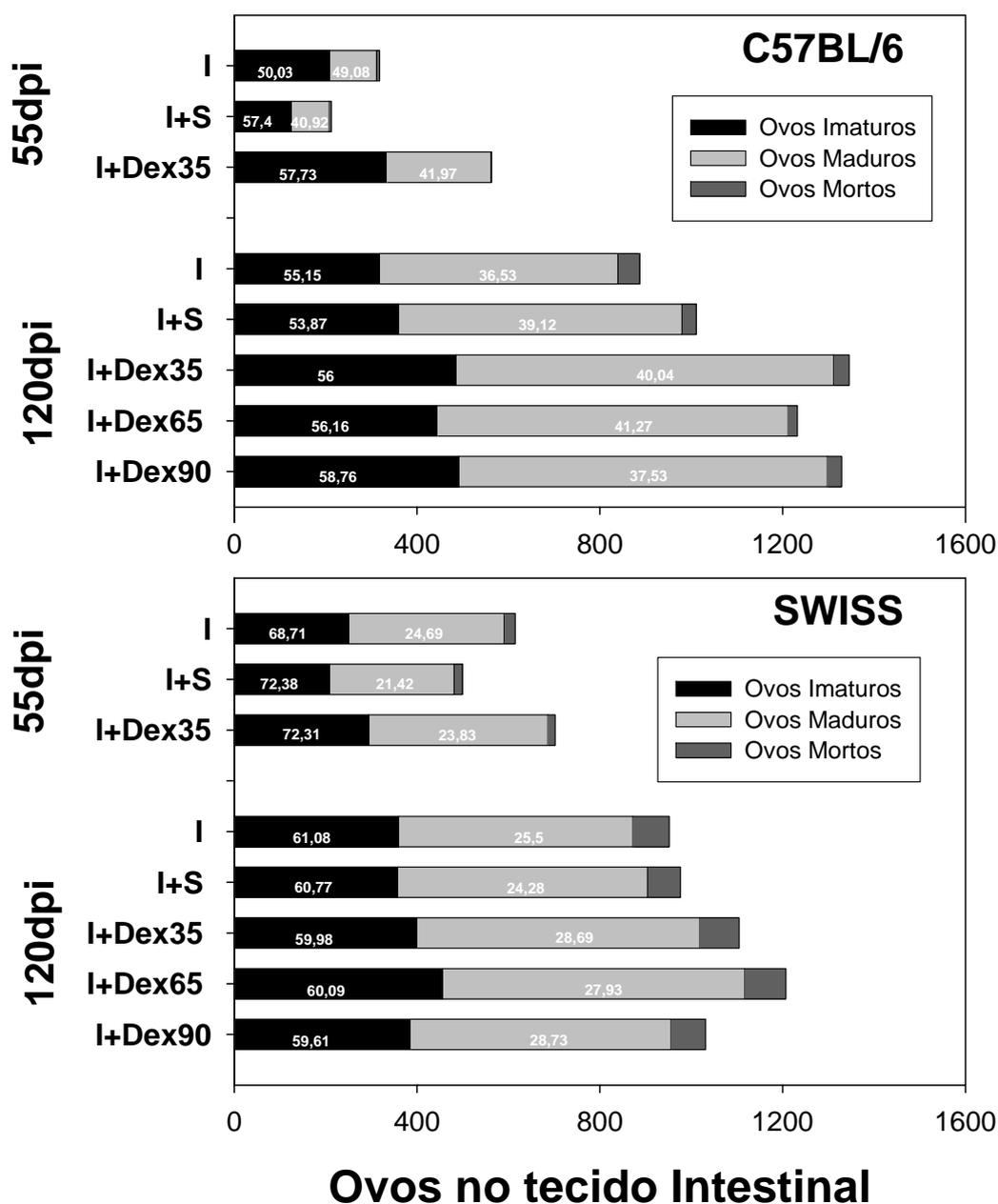
Número de ovos de *S. mansoni* por casal de vermes, no tecido intestinal de camundongos C57BL/6 (gráfico A) e SWISS (gráfico B) infectados que receberam ou não 1 mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana. Os animais foram sacrificados com 55 e 120 dias de infecção e seus intestinos foram digeridos por uma solução de KOH 4% como descrito por Cheever (1968). Os valores expressos no gráfico acima foram determinados a partir de um experimento com pelo 6 animais por grupo.

## *Oograma*

Com o objetivo de avaliar a variação na quantidade e nos tipos de ovos no tecido intestinal entre os animais infectados e infectados e tratados, e entre camundongos isogênicos e não isogênicos, um fragmento da porção íleo terminal foi retirado e o número e o tipo de ovos foi quantificado. Os ovos foram classificados de acordo com o proposto por Prata em 1957. Nessa classificação os ovos eram divididos em ovos imaturos de 1º, 2º, 3º e 4º estágio, ovos vivos maduros e ovos mortos (semi-transparente, escuros, cascas) (Prancha 3). Para facilitar a demonstração, foi realizado o somatório dos ovos vivos imaturos e dos ovos mortos. A figura 15 mostra que os animais tratados, tanto os camundongos isogênicos quanto os não isogênicos, possuem uma maior quantidade de ovos no tecido intestinal (fragmento intermediário do íleo) sendo que não apresentam diferenças quanto aos tipos de ovos, como pode-se verificar no percentual de tipos de ovos mostrados na figura 15. No percentual pode se observar que os animais tratados, na fase crônica, apresentam um menor percentual de ovos mortos em relação aos animais infectados.

**A****B****C****D****Prancha 3:**

Imagens de 3 tipos de ovos avaliados no oograma obtidos a partir de um fragmento intermediário do íleo observados, entre lâminas, em microscopia óptica convencional. O painel A apresenta um exemplo de ovo vivo imaturo, o painel B apresenta um ovo vivo maduro, o painel C apresentam ovos mortos e no painel D apresenta uma fileira de ovos vivos imaturos como normalmente eram vistos durante a leitura do oograma.

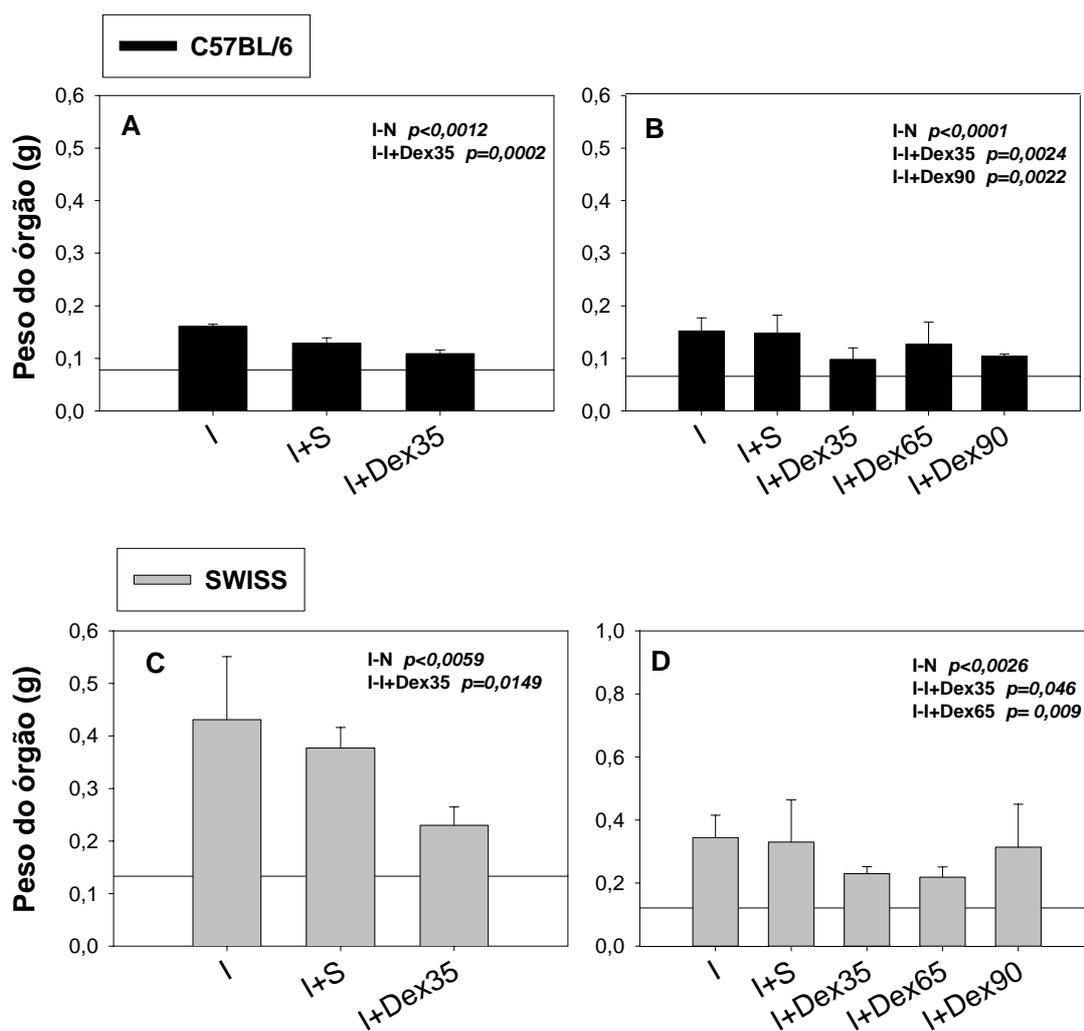


**Figura 15: Oograma**

Número de ovos de *S. mansoni* presentes em um fragmento de 1 cm<sup>2</sup> da porção intermediária do íleo de animais infectados que receberam ou não 1 mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana. O gráfico A representa os resultados obtidos no sacrifício de 55 e 120 dias com camundongos isogênicos enquanto o gráfico B representa os mesmos resultados em camundongos não isogênicos. O oograma foi realizado seguindo a padronização dos tipos de ovos descritos por Prata (1957). Para facilitar a apresentação expressamos o somatório de ovos vivos imaturos, ovos maduros e ovos mortos. Os valores dentro das barras correspondem ao percentual dos ovos.

## ***Peso dos baços***

Na infecção esquistossomótica, frequentemente observamos um comprometimento do fígado e do baço que apresentam um processo de hepatoesplenomegalia. Com o objetivo de avaliar o grau de comprometimento do baço pela infecção foi realizada a pesagem do mesmo nos diversos grupos experimentais. Nos grupos normais tratados ou não, em ambos os camundongos (C57BL/6 e SWISS) não foram observados grandes diferenças em relação ao grupo normal. Na figura 16A (55 dpi) e 16B (120 dpi) pode-se observar o peso dos baços nos camundongos C57BL/6 dos diversos grupos infectados tratados ou não com dexametasona. Foi observado nos animais infectados um aumento significativo no peso do baço em relação ao normal e nos grupos tratados pode-se observar uma redução significativa do peso do baço. Esta redução só não foi observada no grupo que recebeu dexametasona a partir da fase aguda da infecção (I+Dex65). Nos camundongos não isogênicos também foi observado uma redução significativa da esplenomegalia nos camundongos tratados tanto na fase aguda (painel C) quanto na fase crônica (painel D). Contudo aos 120 dias após a infecção o grupo não isogênico que recebeu dexametasona a partir da fase crônica (I+Dex90) não teve uma redução significativa. Estes dados são corroborados nas tabelas 1 e 2 onde pode-se verificar que o índice de esplenomegalia também foi reduzido com o tratamento em ambos os grupos de camundongos.



**Figura 16: Peso dos baços**

Avaliação do peso dos baços nos diversos grupos normais e infectados tratados ou não com dexametasona 3 vezes por semana. O gráfico A e B representa respectivamente o peso do baço na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais C57BL/6. As barras representam o peso dos baços dos animais infectados tratados ou não com dexametasona e a linha horizontal representa a média do grupo normal (N). Os gráficos C e D representam respectivamente o peso do baço na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais SWISS. As diferenças estatísticas entre os grupos encontram-se expressas nos gráficos.

## C57BL/6

### 55dpi

<i>Grupo</i>	<i>% peso baço / peso corporal</i>	<i>Índice de esplenomegalia</i>
N	040	1
I	0,84	2,06
I+S	0,72	1,64
I+Dex35	0,61	1,40

### 120dpi

<i>Grupo</i>	<i>% peso baço / peso corporal</i>	<i>Índice de esplenomegalia</i>
N	0,34	1
I	0,82	2,32
I+S	0,87	2,25
I+Dex35	0,58	1,49
I+Dex65	0,83	1,93
I+Dex90	0,54	1,58

**Tabela 1:** Relação percentual do peso do baço com o peso corporal e o índice de esplenomegalia observado nos grupos infectados com *S. mansoni* tratados ou não com dexametasona e no grupo normal de camundongos C57BL/6.

## SWISS

### 55dpi

<i>Grupo</i>	<i>% peso baço / peso corporal</i>	<i>Índice de esplenomegalia</i>
N	0,36	1
I	1,42	3,25
I+S	1,24	2,84
I+Dex35	0,75	1,73

### 120dpi

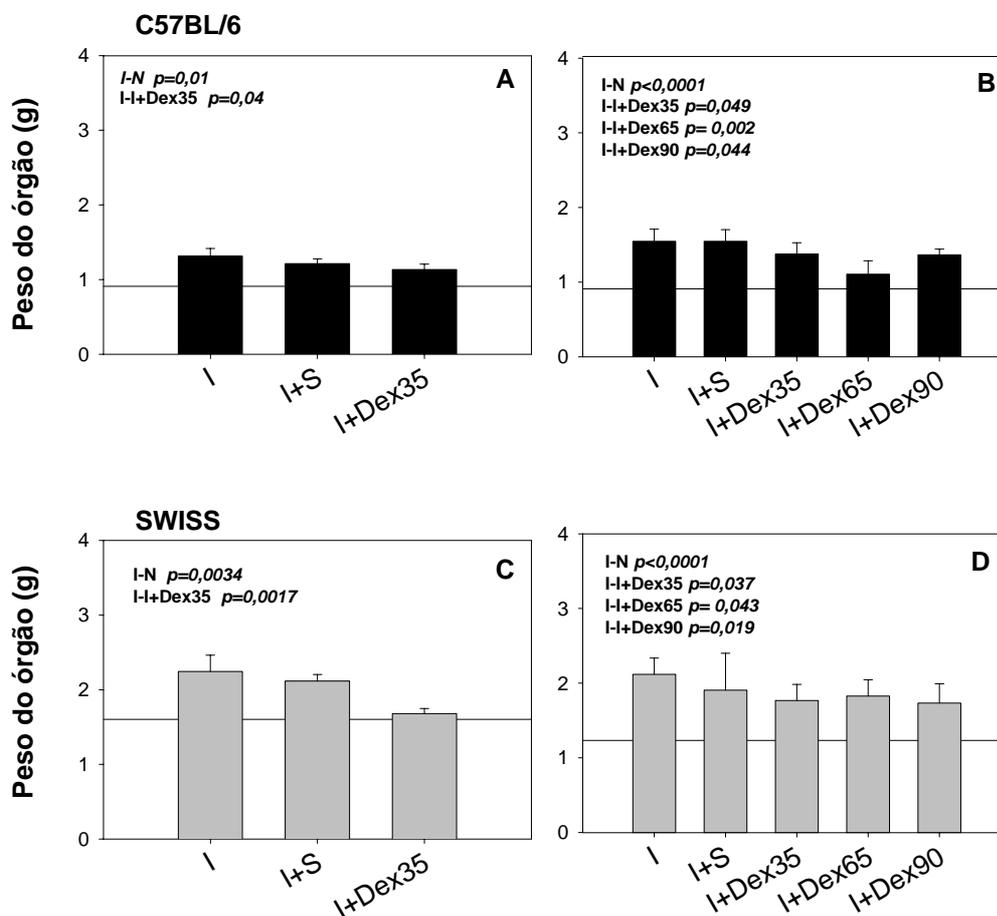
<i>Grupo</i>	<i>% peso baço /peso corporal</i>	<i>Índice de esplenomegalia</i>
N	0,28	1
I	0,96	2,98
I+S	0,77	2,28
I+Dex35	0,79	2,45
I+Dex65	0,81	2,33
I+Dex90	0,84	2,58

**Tabela 2:** Relação percentual do peso do baço com o peso corporal e o índice de esplenomegalia observado nos grupos infectados com *S. mansoni* tratados ou não com dexametasona e no grupo normal de camundongos SWISS.

## Peso dos fígados

A principal patologia da infecção por *S. mansoni* ocorre no fígado em decorrência do aporte de ovos a esse órgão. Com isto observa-se que a infecção esquistossomótica normalmente cursa com uma hepatomegalia. Frente a este dados realizou-se a pesagem do fígado para avaliar o impacto do tratamento com dexametasona, iniciado nas diversas fases da infecção, sobre este órgão. Na figura 17 observa-se que ocorreu uma redução significativa no peso dos fígados nos diversos grupos de infecção tanto na linhagem isogênica (A e B) quanto na linhagem não isogênica (C e D).

Nos animais normais tratados com dexametasona pode se observar uma ligeira diminuição, não significativa, do peso dos fígados (dado não demonstrado), contudo a hepatomegalia ocorre significativamente nos grupos infectados quando comparado com os grupos normais. Estes dados são corroborado pelo índice de hepatomegalia mostrado nas tabelas 3 e 4.



**Figura 17: Peso dos fígados**

Avaliação do peso dos fígados nos diversos grupos normais e infectados tratados ou não com dexametasona 3 vezes por na semana. O gráfico A e B representa respectivamente o peso do fígado na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais C57BL/6. As barras representam o peso dos fígados dos animais infectados tratados ou não com dexametasona e a linha horizontal representa o grupo normal (N). O gráfico C e D representam respectivamente o peso do fígado na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais SWISS. As diferenças estatísticas encontram-se expressas nos gráficos.

## C57 BL/6

**55 dpi**

<b>Grupo</b>	<b>% peso do fígado / Peso corporal</b>	<b>Índice de hepatomegalia</b>
N	4,37	1
I	6,88	1,55
I+S	6,75	1,43
I+Dex35	6,34	1,34

**120 dpi**

<b>Grupo</b>	<b>% peso fígado / Peso corporal</b>	<b>Índice de hepatomegalia</b>
N	4,73	1
I	8,34	1,70
I+S	9,19	1,69
I+Dex35	8,24	1,51
I+Dex65	7,27	1,21
I+Dex90	7,12	1,49

**Tabela 3:** Relação percentual do peso do fígado com o peso corporal e o índice de hepatomegalia observado nos grupos infectados com *S. mansoni* tratados ou não com dexametasona e no grupo normal de camundongos C57BL/6.

## SWISS

### 55dpi

<i>Grupo</i>	<i>% peso fígado / peso corporal</i>	<i>Índice de hepatomegalia</i>
N	4,36	1
I	7,41	1,69
I+S	6,98	1,60
I+Dex35	5,48	1,25

### 120dpi

<i>Grupo</i>	<i>% peso fígado / peso corporal</i>	<i>Índice de hepatomegalia</i>
N	2,94	1
I	5,72	1,94
I+S	5,33	1,81
I+Dex35	4,32	1,69
I+Dex65	5,31	1,80
I+Dex90	4,78	1,62

**Tabela 4:** Relação percentual do peso do fígado com o peso corporal e o índice de hepatomegalia observado nos grupos infectados com *S. mansoni* tratados ou não com dexametasona e no grupo normal de camundongos SWISS.

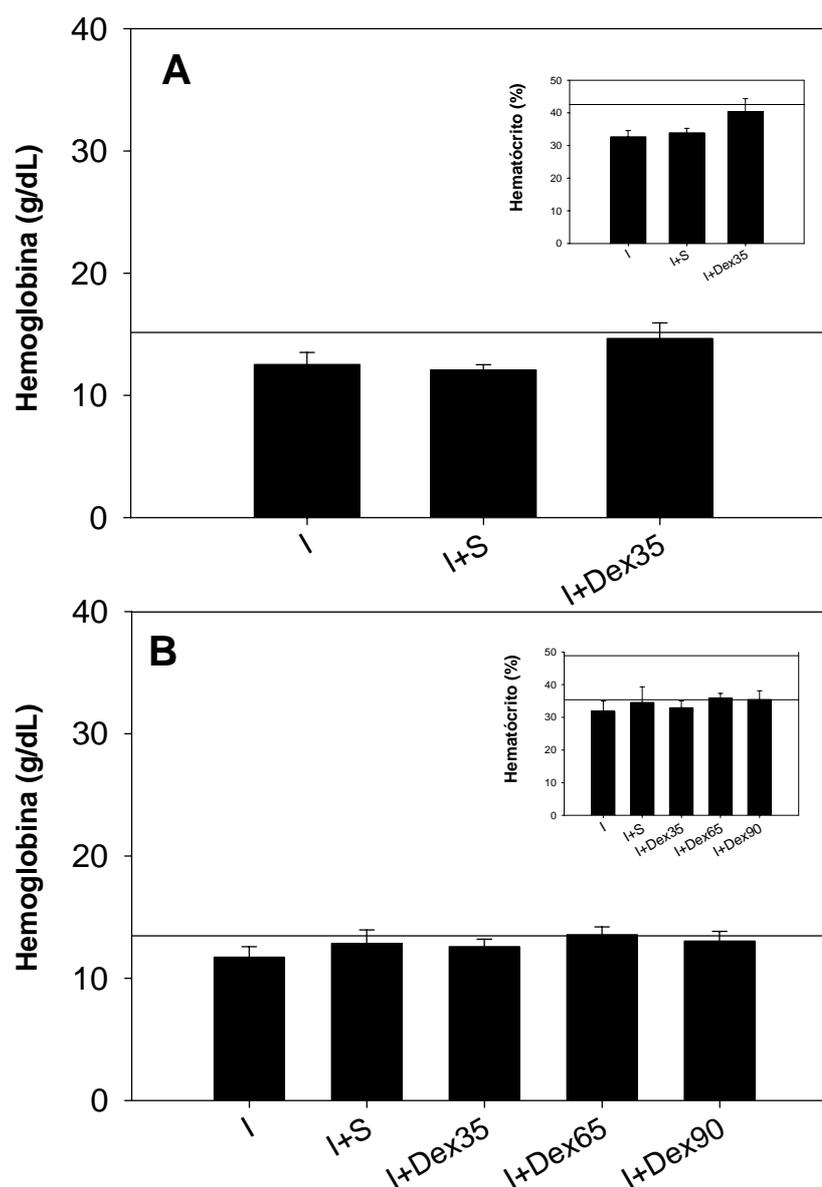
## Dados hematológicos

A anemia, segundo a OMS é o decréscimo na concentração de hemoglobina (Hb) e esta é freqüentemente observada na esquistossomose sendo sua origem (multifatorial) decorrente de várias causas. Avaliando a série vermelha, na figura 18 pode-se observar que os animais C57BL/6 infectados tanto na fase aguda (18 A) quanto na fase crônica (18 B) apresentaram uma diminuição significativa na concentração de hemoglobina, o que mostra que realmente a infecção ocasiona uma anemia nestes camundongos infectados com *S. mansoni*. No entanto, o tratamento com dexametasona reverteu significativamente esta diminuição de Hb pela infecção tanto na fase aguda quanto na fase crônica.

Esse dado é corroborado pelo valor de hematócrito (inserto figura 18) onde também foi observada uma reversão da anemia pelo tratamento com 1mg/kg de dexametasona nos animais infectados, tanto na fase aguda quanto na fase crônica em camundongos isogênicos. Outro dado não demonstrado, que também confirma essa reversão é o número de hemácias, que se encontra aumentado nos animais infectados e tratados com dexametasona.

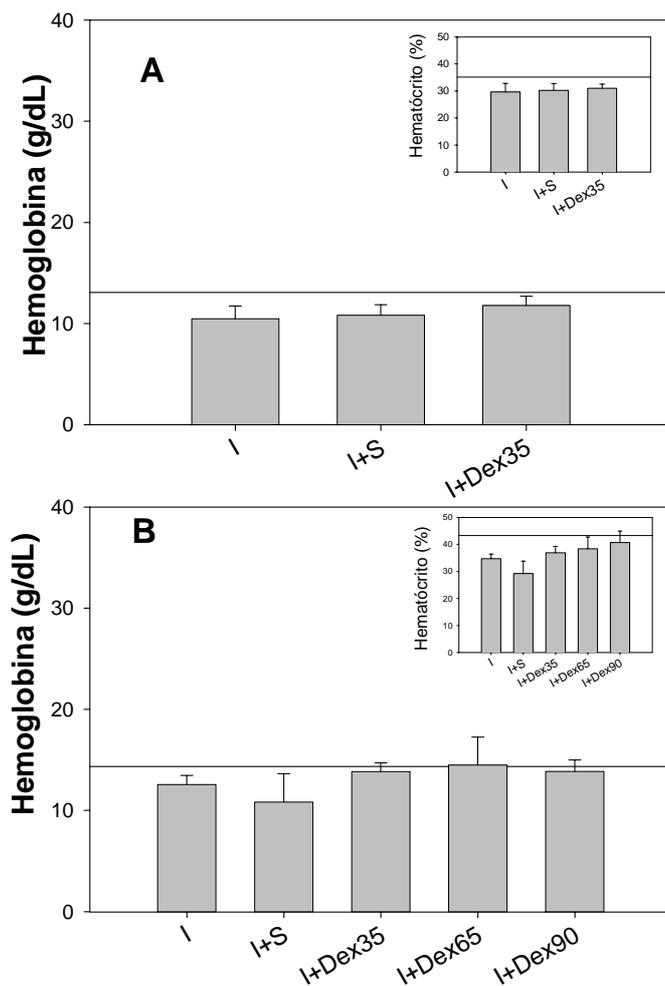
Da mesma forma, foi observada (Figura 19) a concentração de hemoglobina tanto na fase aguda (19 A) quanto na fase crônica (19 B) encontra-se diminuída nos camundongos SWISS em relação aos animais normais (linha horizontal nos gráficos). Bem como ocorreu nos camundongos isogênicos, os camundongos SWISS infectados e tratados com dexametasona apresentaram uma reversão da anemia, pois a concentração de hemoglobina voltou à normalidade. Este dado também é corroborado pelo valor do hematócrito (inserto) e pelo número de hemácias (dado não mostrado), o que mostra que tanto em camundongos isogênicos quanto nos não isogênicos a utilização com dexametasona, independente da fase do início do tratamento reverteu à anemia provocada pela infecção esquistossomótica.

Com relação aos grupos normais, não foram observadas diferenças significativas provocadas pelo tratamento, por isso não se encontram expressos nos gráficos.



**Figura 18: Hemoglobina e Hematócrito - C57BL/6**

Concentração de hemoglobina nos diversos grupos de camundongos C57BL/6, tratados ou não com dexametasona, nas fases aguda (painel A) e crônica da infecção (painel B). Em barra temos a concentração de hemoglobina, dos diversos grupos de animais infectados e na linha horizontal temos a concentração de hemoglobina no grupo normal. No inserto temos o gráfico com o hematócrito dos diversos grupos. Após a avaliação estatística temos: na fase aguda um  $p=0,045$  que se refere à diferença na concentração de hemoglobina entre os grupos N e I e um  $p= 0,02$  que se refere à diferença entre o grupo I- I+Dex35. Com relação ao hematócrito temos um  $p=0,005$ , que se refere a diferença do grupo N e I e um  $p=0,006$ , que se refere a diferença entre o grupo I e I+Dex35. Na fase crônica um  $p=0,004$  que se refere à diferença na concentração de hemoglobina entre os grupos N e I e um  $p= 0,024$  que se refere à diferença entre o grupo I- I+Dex65. Com relação ao hematócrito temos um  $p=0,039$ , que se refere a diferença do grupo N e I.



**Figura 19: Hemoglobina e Hematócrito - SWISS**

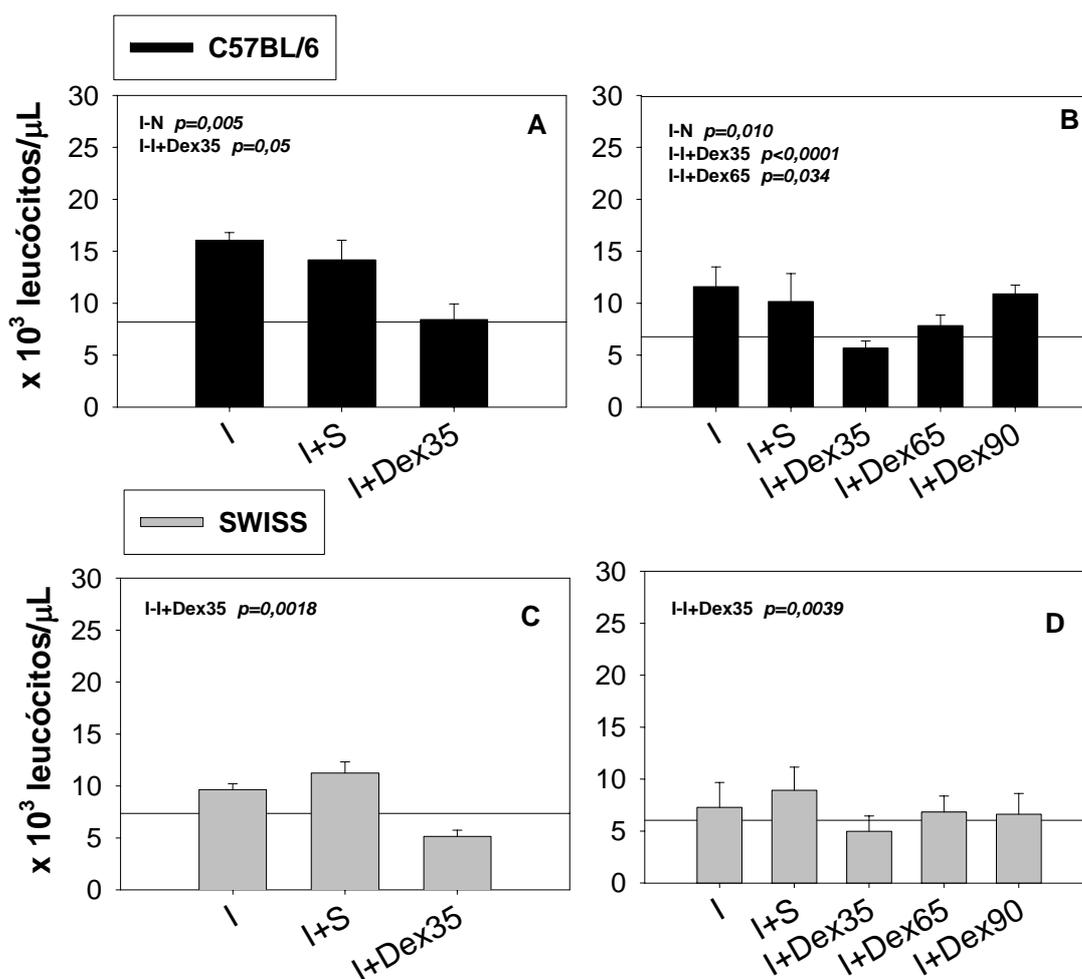
Concentração de hemoglobina nos diversos grupos de camundongos SWISS, tratados ou não com dexametasona, nas fases aguda (painel A) e crônica da infecção (painel B). Em barra temos a concentração de hemoglobina, dos diversos grupos de animais infectados e na linha temos a concentração de hemoglobina no grupo normal. No inserto temos o gráfico com o hematócrito dos diversos grupos. Após a avaliação estatística temos: na fase aguda um  $p=0,022$  que se refere à diferença na concentração de hemoglobina entre os grupos N e I. Com relação ao hematócrito temos um  $p=0,046$ , que se refere a diferença do grupo N e I. Na fase crônica um  $p=0,039$  que se refere à diferença na concentração de hemoglobina entre os grupos N e I, um  $p=0,025$  que se refere à diferença entre o grupo I- I+Dex35 e um  $p=0,034$  que se refere à diferença entre o grupo I- I+Dex90. Com relação ao hematócrito temos um  $p=0,0049$ , que se refere a diferença do grupo N e I e um  $p=0,005$  que se refere à diferença entre o grupo I- I+Dex90.

Avaliando a série branca (Figura 20) foi observado que os animais isogênicos infectados com *S. mansoni* apresentaram uma leucocitose. Essa é maior na fase aguda (20 A) que na fase crônica (20 B). Contudo os camundongos C57BL/6 que receberam dexametasona apresentaram uma diminuição da leucocitose. Esta só não foi observada no grupo que recebeu dexametasona a partir do início da fase crônica da infecção (I+Dex90).

Os animais não isogênicos infectados com *S. mansoni*, também apresentaram uma leucocitose tanto na fase aguda (20 C) quanto na fase crônica (20 D). Essa leucocitose foi menor nos grupos infectados quando comparado com o normal (linha horizontal).

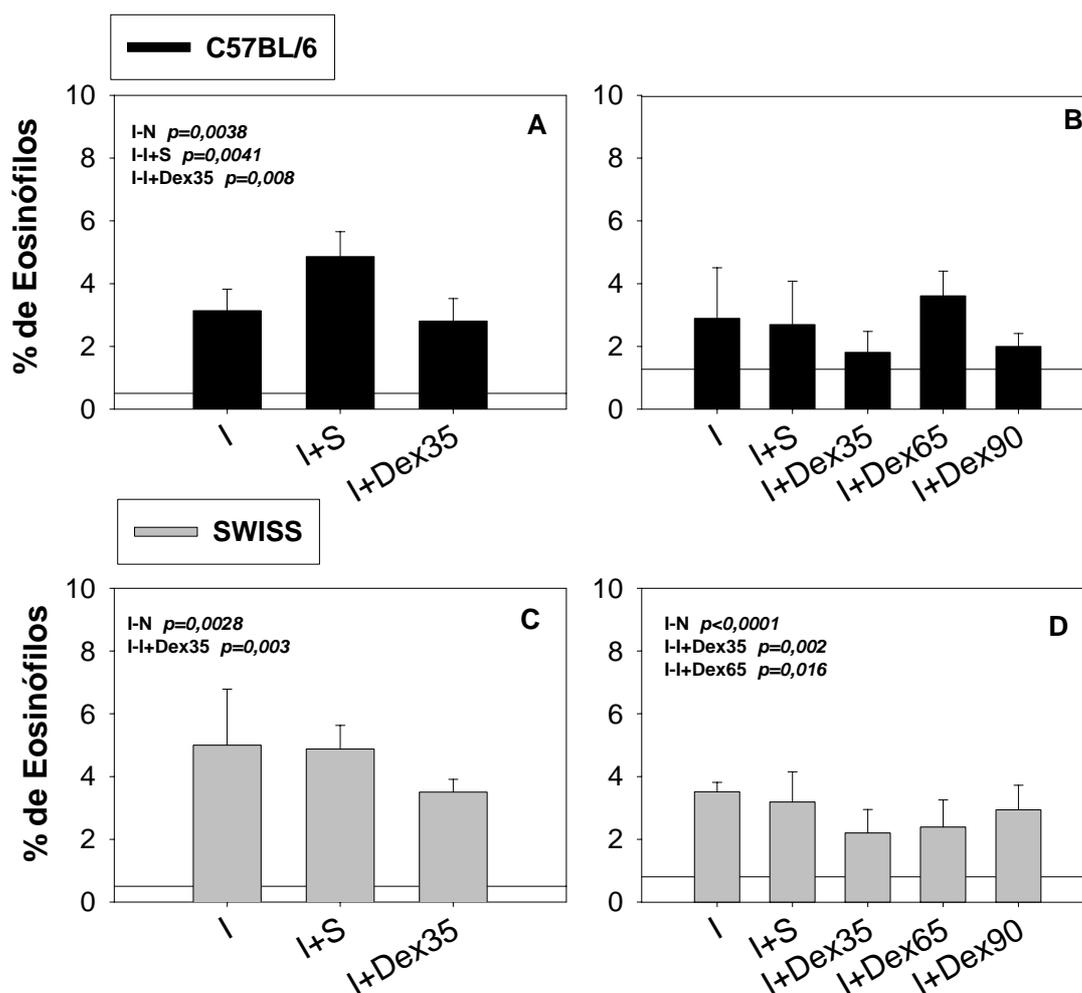
Os grupos normais, que receberam dexametasona tiveram uma ligeira diminuição do número de leucócitos, não apresentando grandes diferenças e por isso não foi demonstrada.

Os leucócitos específicos também foram avaliados, pois estas células possuem uma grande importância na infecção esquistossomótica principalmente com relação à formação do granuloma. Na contagem dos leucócitos específicos foi verificada uma eosinofilia (figura 21) tanto nos camundongos infectados isogênicos quanto nos não isogênicos, que é diminuída nos grupos infectados e tratados com dexametasona. Esta diminuição pelo tratamento só não é observada no grupo I+Dex65 em camundongos isogênicos. Outro dado interessante é que os camundongos C57BL/6 e SWISS infectados, principalmente na fase crônica da esquistossomose apresentaram uma neutropenia (figura 22), contudo nos camundongos infectados e tratados com dexametasona independente do início do tratamento, apresentam um aumento do percentual de neutrófilos o que demonstra que o tratamento reverte a neutropenia que é característica da fase crônica da esquistossomose. Nas tabelas 5 e 6 tem-se os valores absolutos dos leucócitos específicos tanto em camundongos isogênicos quanto nos não isogênicos respectivamente.



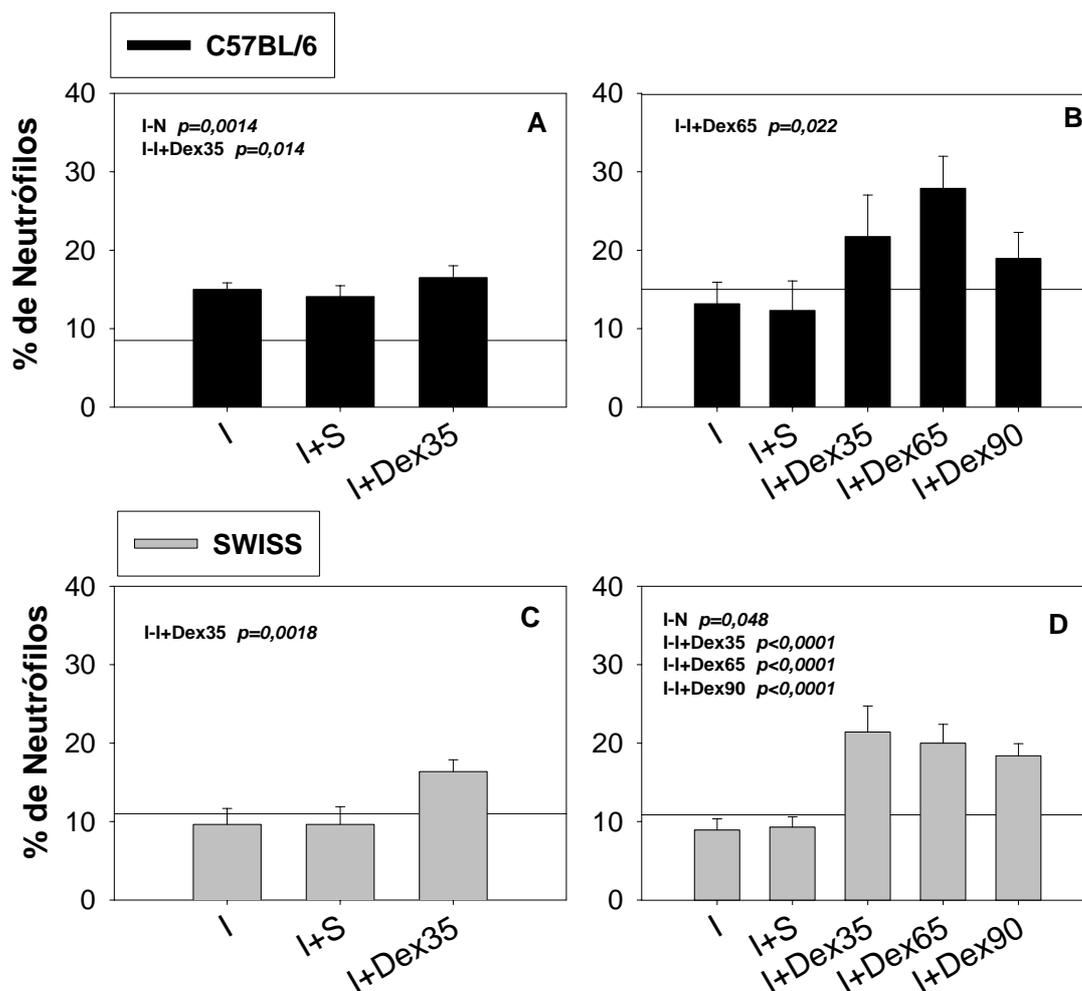
**Figura 20: Leucóцитos**

Número de leucóцитos por  $\mu$ L de sangue no grupo normal e nos diversos grupos de animais infectados, tratados ou não com dexametasona. Os gráficos A e B representam respectivamente o número de leucóцитos na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais C57BL/6. As barras representam número de leucóцитos dos animais infectados tratados ou não com dexametasona e a linha horizontal representa o grupo normal (N). Os gráficos C e D representam respectivamente o número de leucóцитos na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais SWISS. Os resultados consistem de ensaios com 5 a 8 animais por grupo.



**Figura 21: Percentual de Eosinófilos**

Percentual de eosinófilos no sangue do grupo normal (linha horizontal) e dos diversos grupos de animais e infectados, tratados ou não com dexametasona. Os gráficos A e B representam respectivamente o percentual de eosinófilos na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais C57BL/6. As barras representam percentual de eosinófilos dos animais infectados tratados ou não com dexametasona e a linha horizontal representa o grupo normal (N). Os gráficos C e D representam respectivamente o percentual de eosinófilos na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais SWISS. Os resultados consistem de ensaios com 5 a 8 animais por grupo.



**Figura 22: Percentual de Neutrófilos**

Percentual de neutrófilos no sangue do grupo normal (linha horizontal) e dos diversos grupos de animais e infectados, tratados ou não com dexametasona. Os gráficos A e B representam respectivamente o percentual de neutrófilos na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais C57BL/6. As barras representam percentual de neutrófilos dos animais infectados tratados ou não com dexametasona e a linha horizontal representa o grupo normal (N). Os gráficos C e D representam respectivamente o percentual de neutrófilos na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais SWISS. Os resultados consistem de ensaios com 5 a 8 animais por grupo.

**C57BL/6****55 dpi**

	<b>Leucócitos (n/<math>\mu</math>L)</b>	<i>Eosinófilos</i>	<i>Bastões</i>	<i>Segmentados</i>	<i>Linfócitos</i>	<i>Monócitos</i>
<b>N</b>	<b>8200</b>	41	144	697	6827	492
<b>I</b>	<b>16800</b>	503	235	2407	11679	1225
<b>I+S</b>	<b>14160</b>	688	322	1994	10226	944
<b>I+Dex35</b>	<b>8425</b>	236	213	1392	6008	297

**120 dpi**

	<b>Leucócitos (n/<math>\mu</math>L)</b>	<i>Eosinófilos</i>	<i>Bastões</i>	<i>Segmentados</i>	<i>Linfócitos</i>	<i>Monócitos</i>
<b>N</b>	<b>6766</b>	135	22	1015	4951	643
<b>I</b>	<b>11300</b>	326	94	1488	8971	421
<b>I+S</b>	<b>10167</b>	274	197	1254	8017	423
<b>I+Dex35</b>	<b>5683</b>	103	101	1236	3951	286
<b>I+Dex65</b>	<b>7833</b>	283	235	2184	4678	366
<b>I+Dex90</b>	<b>10900</b>	218	123	2066	7889	604

**Tabela 5:** Avaliação leucocitária nos diversos grupos de camundongos C57BL/6 infectados por *S. mansoni* e no grupo normal. Os valores expressam o número absoluto de leucócitos por  $\mu$ L de sangue após 55 e 120 dias de acompanhamento.

**SWISS****55 dpi**

	<b>Leucócitos (n/<math>\mu</math>L)</b>	<i>Eosinófilos</i>	<i>Bastões</i>	<i>Segmentados</i>	<i>Linfócitos</i>	<i>Monócitos</i>
<b>N</b>	<b>7733</b>	39	19	851	6477	348
<b>I</b>	<b>9650</b>	483	121	929	7503	616
<b>I+S</b>	<b>11250</b>	548	56	1083	8789	773
<b>I+Dex35</b>	<b>5150</b>	180	58	843	3747	321

**120 dpi**

	<b>Leucócitos (n/<math>\mu</math>L)</b>	<i>Eosinófilos</i>	<i>Bastões</i>	<i>Segmentados</i>	<i>Linfócitos</i>	<i>Monócitos</i>
<b>N</b>	<b>6025</b>	30	90	655	4918	331
<b>I</b>	<b>7264</b>	239	148	648	5684	553
<b>I+S</b>	<b>8917</b>	284	240	827	6802	763
<b>I+Dex35</b>	<b>4000</b>	88	174	856	2688	194
<b>I+Dex65</b>	<b>6830</b>	163	319	1366	4697	284
<b>I+Dex90</b>	<b>6611</b>	194	343	1215	4529	331

**Tabela 6:** Avaliação leucocitária nos diversos grupos de camundongos SWISS infectados por *S. mansoni* e no grupo normal. Os valores expressam o número absoluto de leucócitos por  $\mu$ L de sangue após 55 e 120 dias de acompanhamento.

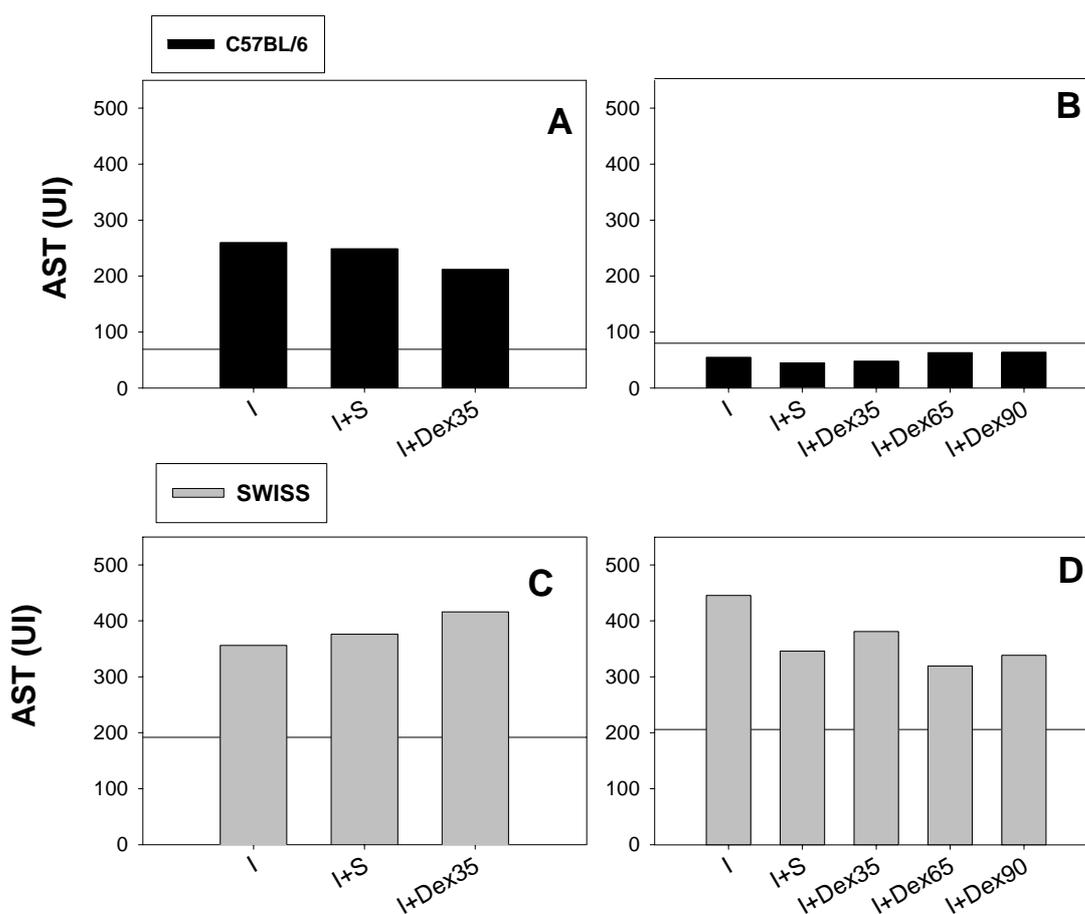
## Dados bioquímicos

A principal patologia da infecção esquistossomótica encontra-se no fígado, e para avaliar o comprometimento deste órgão frente à administração da dexametasona ou da intensidade da resposta granulomatosa, foi realizado a dosagem sérica, nos diversos grupos experimentais e nas diferentes linhagens de camundongos, de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (ALP) mostrando o perfil e o grau de comprometimento hepático. Na figura 23 foi avaliada a concentração sérica de AST nos camundongos isogênicos tanto na fase aguda (A) quanto na fase crônica (B). Foi observado que na fase aguda da infecção a concentração sérica desta enzima encontra-se aumentada nos grupos infectados, contudo o tratamento não altera a lesão hepática. Na fase crônica pode-se observar que os camundongos isogênicos apresentaram uma diminuição sérica desta enzima, tendendo a normalidade. Entretanto, nos camundongos SWISS foi observado que tanto na fase aguda quanto na fase crônica (figura 23 C e D respectivamente) há um aumento da concentração sérica indicando uma lesão hepática, contudo esta lesão não é agravada pelo tratamento. Estes dados são corroborados pela concentração sérica de ALT (figura 24) e de ALP (figura 25), o que mostra que os camundongos infectados e tratados com dexametasona não apresentaram um agravamento da lesão hepática e que esta perdura por mais tempo nos camundongos não isogênicos.

Problemas renais em decorrência da esquistossomose têm sido estudados por vários autores. Para avaliar um possível comprometimento renal no nosso modelo, foi dosada a concentração sérica de uréia e de creatinina (dado não demonstrado). Nestas dosagens não foram observadas diferenças entre os grupos infectados e não infectados em nenhuma das duas linhagens estudadas, mostrando que nem a infecção com 45-50 cercárias de *S. mansoni* nem o tratamento com dexametasona, provocou qualquer dano renal nos camundongos.

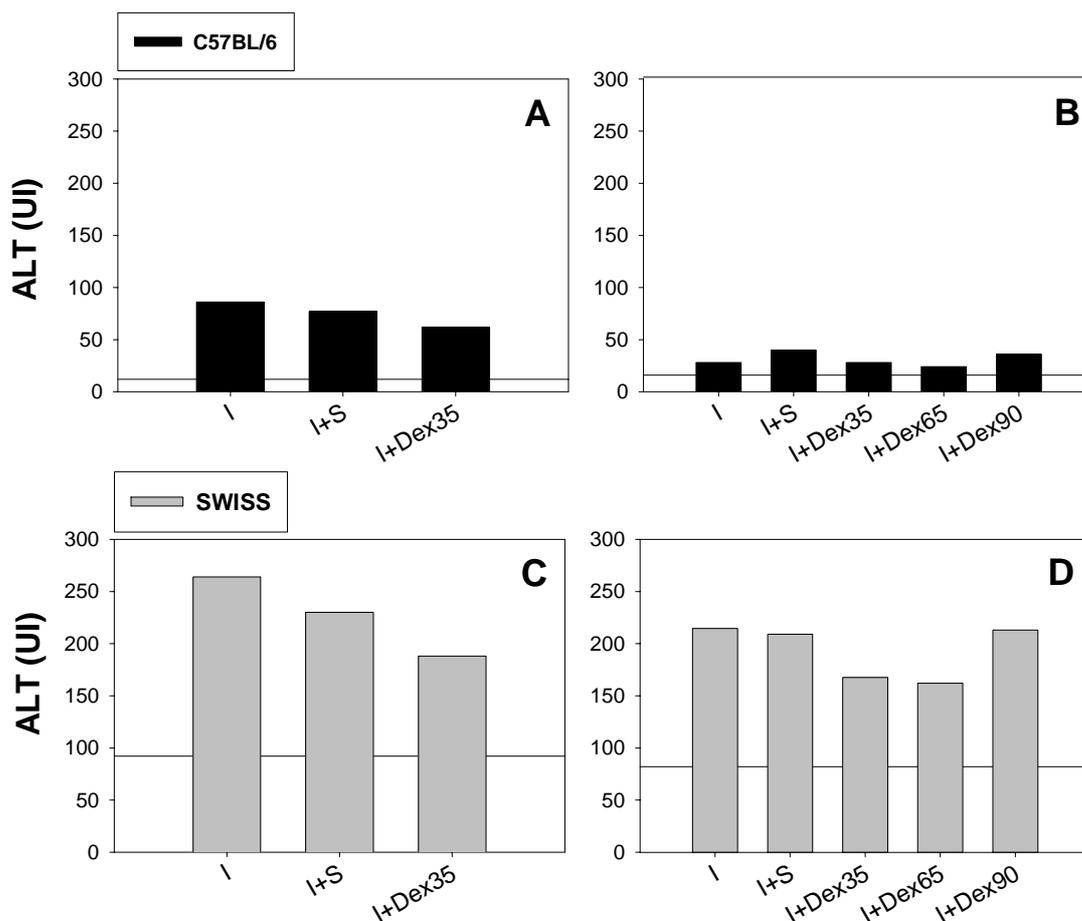
Para a avaliação do comprometimento orgânico dos camundongos infectados foi realizada a dosagem da concentração de albumina sérica e de proteína total na fase crônica da infecção esquistossomótica. A figura 26 mostra que os camundongos isogênicos infectados tratados ou não com dexametasona apresentaram uma diminuição da concentração de albumina, mostrando um leve comprometimento orgânico e um

aumento da concentração de proteína total fruto das globulinas, em respostas a infecção. Já nos camundongos SWISS, pode-se verificar que este comprometimento orgânico decorrente da infecção esquistossomótica não ocorre o que mostra que estes animais são mais resistentes à infecção pelo *S. mansoni* (figura 26 B).



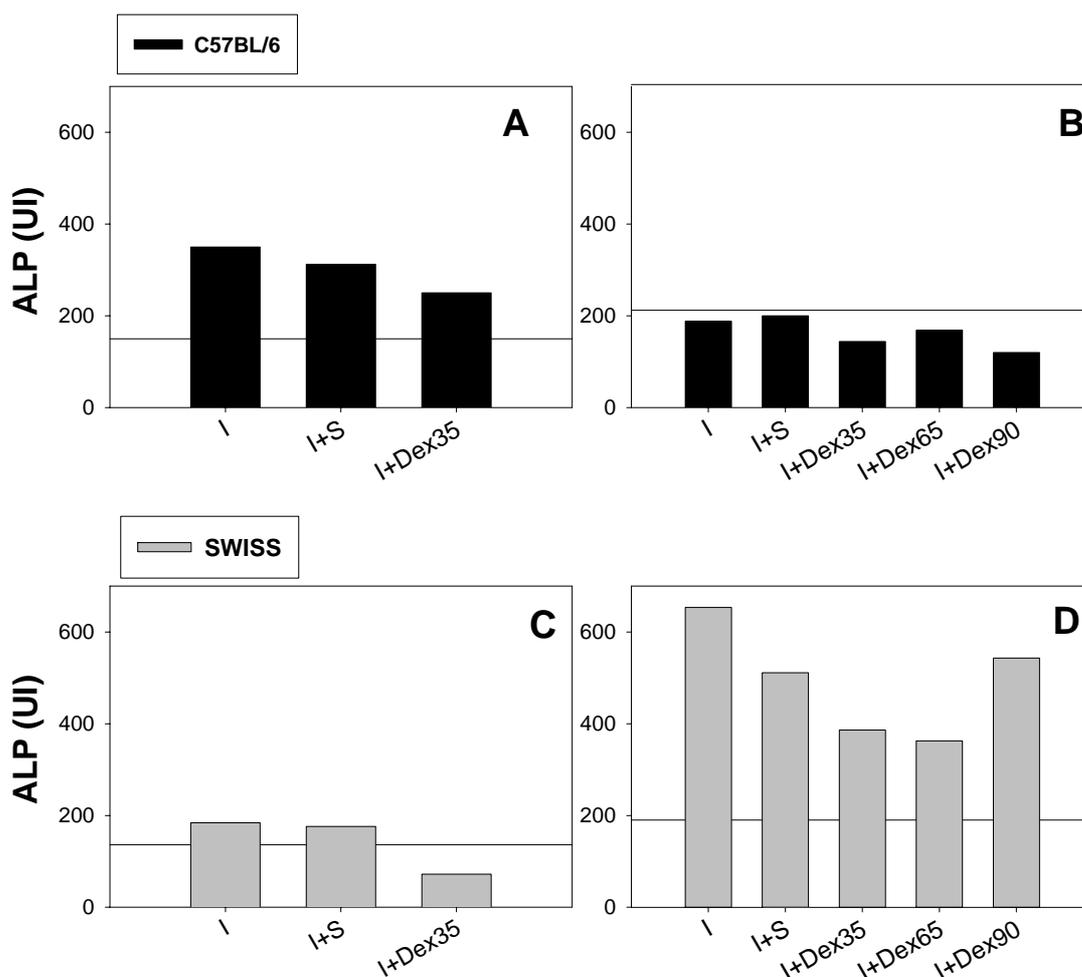
**Figura 23: Aspartato aminotransferase - AST**

Avaliação sérica de aspartato aminotransferase no grupo normal e nos diversos grupos de camundongos infectados tratados ou não com dexametasona por 3 x na semana. O gráfico A e B representa respectivamente a concentração sérica de AST na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais C57BL/6. As barras representam a concentração de AST dos animais infectados tratados ou não com dexametasona e a linha horizontal representa o grupo normal (N). O gráfico C e D representam respectivamente a concentração sérica de AST na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais SWISS. Estes gráficos não apresentam desvio-padrão, pois consta de um experimento representativo realizado com *pool* de soro para cada grupo.



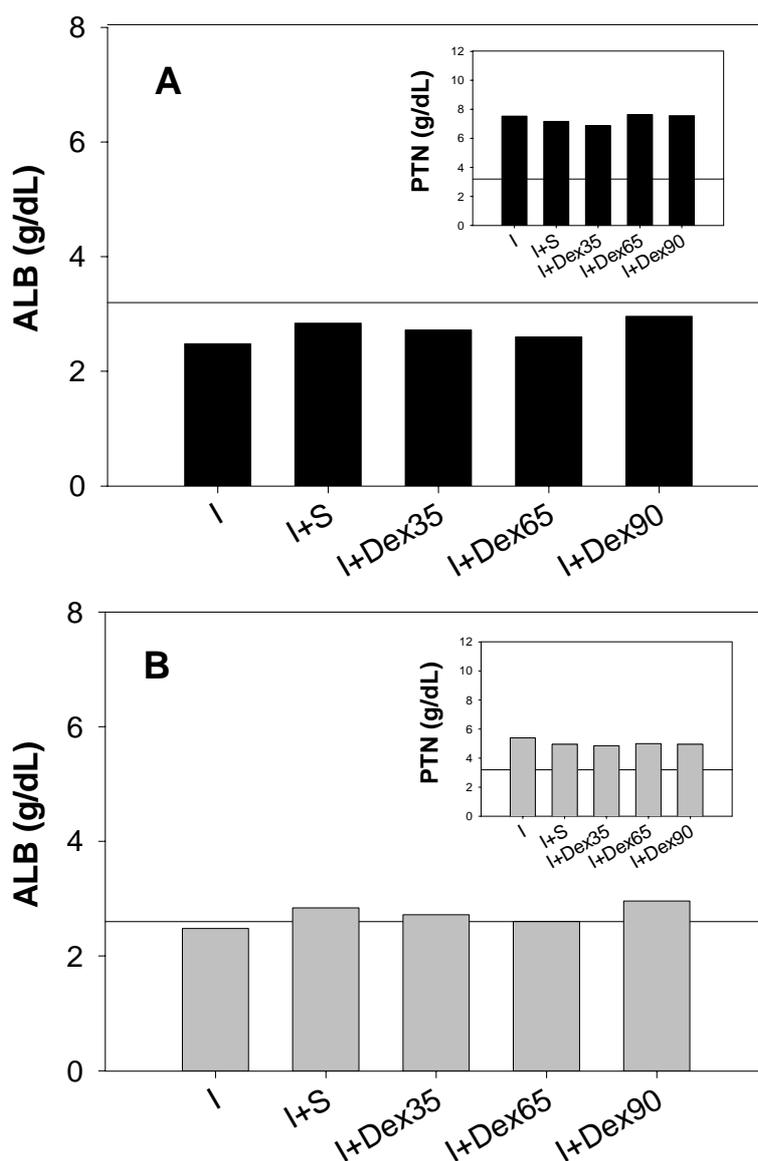
**Figura 24: Alanina aminotransferase - ALT**

Avaliação sérica de alanina aminotransferase no grupo normal e nos diversos grupos de camundongos infectados tratados ou não com dexametasona por 3 x na semana. O gráfico A e B representa respectivamente a concentração sérica de ALT na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais C57BL/6. As barras representam a concentração sérica de ALT dos animais infectados tratados ou não com dexametasona e a linha horizontal representa o grupo normal (N). O gráfico C e D representam respectivamente a concentração sérica de ALT na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais SWISS. Estes gráficos não apresentam desvio-padrão, pois consta de um experimento representativo realizado com *pool* de soro para cada grupo.



### Figura 25: Fosfatase Alcalina - ALP

Avaliação sérica de fosfatase alcalina no grupo normal e nos diversos grupos de camundongos infectados tratados ou não com dexametasona por 3 x na semana. O gráfico A e B representa respectivamente a concentração sérica de ALP na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais C57BL/6. As barras representam a concentração sérica de ALP dos animais infectados tratados ou não com dexametasona e a linha horizontal representa o grupo normal (N). O gráfico C e D representam respectivamente a concentração sérica de ALP na fase aguda (55dpi) e fase crônica (120dpi) dos animais SWISS. Estes gráficos não apresentam desvio-padrão, pois consta de um experimento representativo realizado com *pool* de soro para cada grupo.



**Figura 26: Albumina e Proteína sérica**

Avaliação sérica de albumina (ALB) na fase crônica da infecção (120 dpi) no grupo normal (linha horizontal) e nos diversos grupos infectados tratados ou não com 1 mg/kg de dexametasona 3 x por semana (barras). O gráfico A representa a concentração sérica de albumina obtida com camundongos da linhagem C57Bl/6 e o gráfico B a concentração de albumina em camundongos SWISS. Os insertos representam à concentração sérica de proteína total dos respectivos grupos de camundongos. As barras são os valores dos grupos infectados enquanto as linhas horizontais equivalem à concentração no camundongo normal. Os gráficos não apresentam desvio-padrão, pois consiste em um experimento representativo realizado com pool de soro.

## Dados histopatológicos

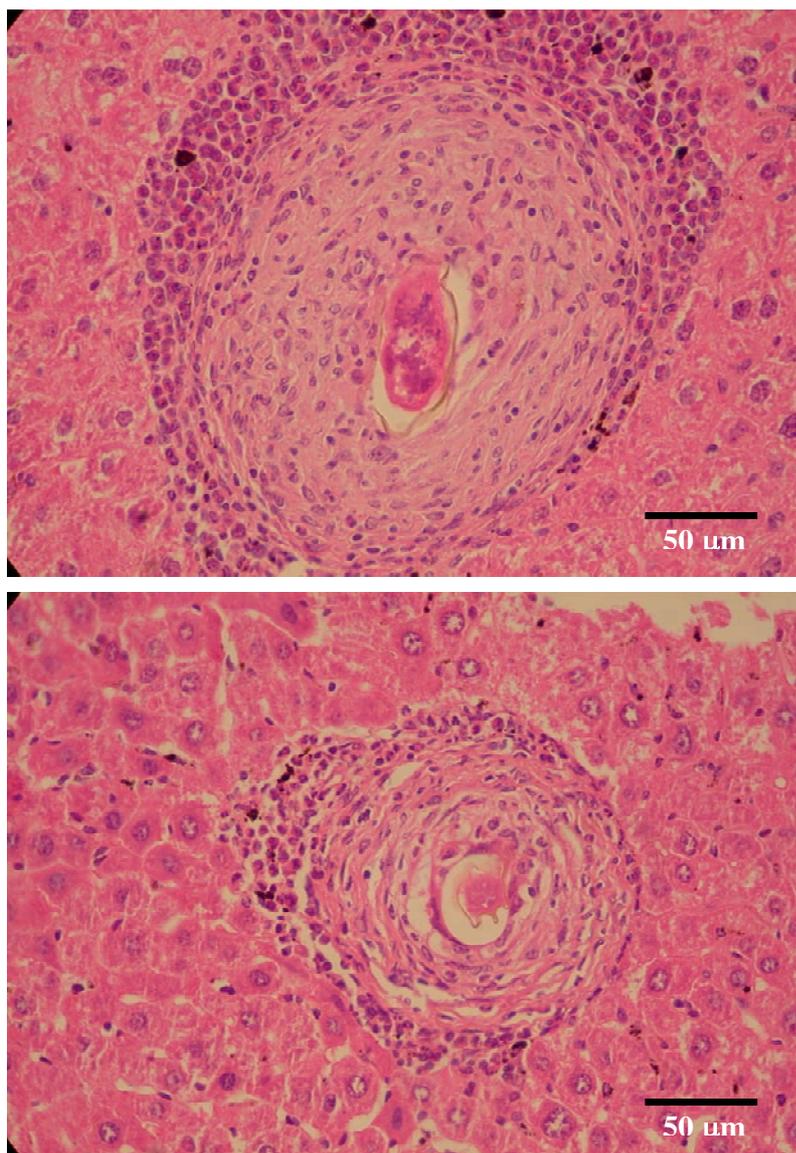
Como já mencionado anteriormente, a principal patologia da infecção esquistossomótica ocorre em decorrência a uma resposta granulomatosa ao redor dos ovos, principalmente no tecido hepático. Esses granulomas possuem uma ação benéfica, uma vez que tem a capacidade de reter os antígenos deletérios dos ovos. Contudo, se estes granulomas são exacerbados ocorre uma maior tendência de levar a uma patologia mais grave em decorrência de uma maior deposição de colágeno. Além disso, na fase crônica estes granulomas apresentam um processo de imunomodulação com causas amplamente discutidas anteriormente.

Com o objetivo de avaliar a área dos granulomas hepáticos nos diversos grupos de camundongos isogênicos e não isogênicos, capturou-se imagens de granulomas com ovo central corados por hematoxilina - eosina (HE) (prancha 4). Na figura 27 foi observado que tanto em camundongos isogênicos (27 A) quanto não isogênicos (27 B) a utilização de dexametasona, independente do início do tratamento, levou a uma significativa redução na área dos granulomas hepáticos e não interferiu no processo de imunomodulação negativa.

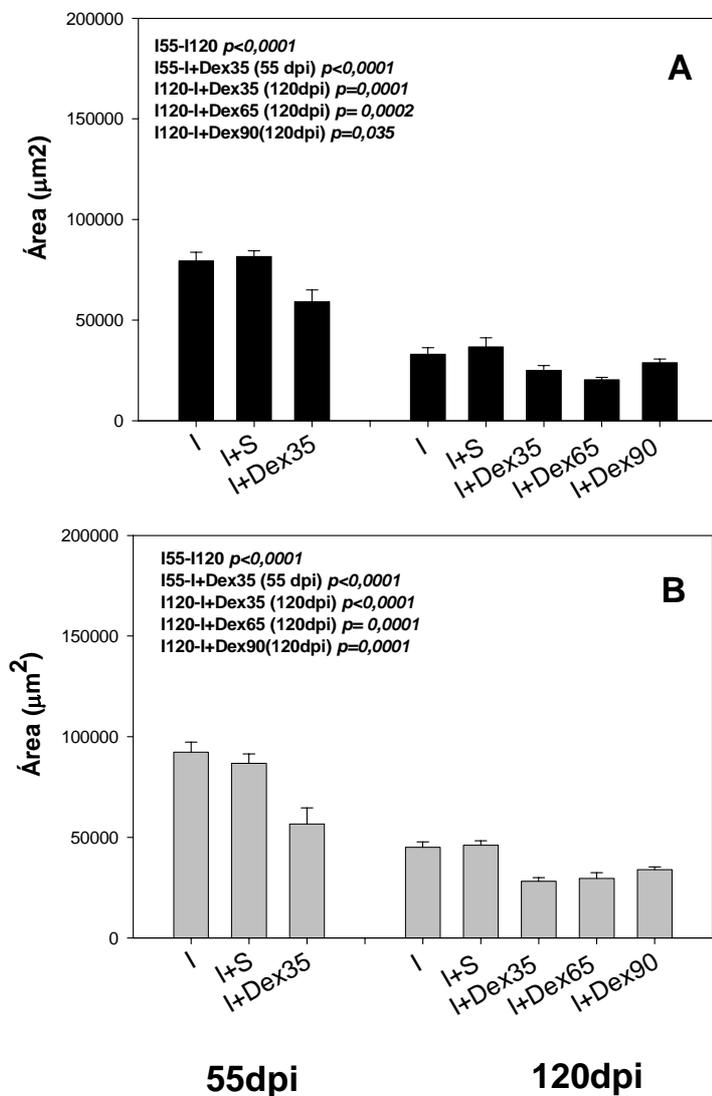
Para avaliar o efeito do tratamento sobre os granulomas intestinais nos diversos grupos de camundongos isogênicos e não isogênicos, foram capturadas imagens dos granulomas intestinais (fragmento intermediário do íleo) com ovo central corado com HE (prancha 5). Ao avaliar a figura 28 pode se observar que o tratamento com dexametasona diminui significativamente o tamanho do granuloma, independente do início do tratamento, no camundongo isogênico (28 A). Entretanto, nos camundongos SWISS (28 B) foi observado apenas uma redução do tamanho do granuloma intestinal com o tratamento com dexametasona no grupo de camundongo que começou a receber o fármaco no período pré-patente (I+ Dex35). Contudo na figura 28 também foi observado, que diferente dos granulomas hepáticos, no íleo os granulomas não apresentaram o efeito da imunomodulação entre a fase aguda e a fase crônica.

Além das áreas dos granulomas hepáticos e intestinais, também foi avaliado o percentual de eosinófilos nos granulomas hepáticos. Esta célula foi quantificada por ser a principal célula componente do granuloma hepático. Os eosinófilos foram quantificados nos corte de tecido hepático corados com HE como demonstrado na

Prancha 6. A figura 29 mostra no painel A o percentual de eosinófilos em granulomas hepáticos dos camundongos isogênicos e no painel B o percentual de eosinófilos em camundongos não isogênicos. Nesta figura pode-se observar que tanto na fase aguda quanto na fase crônica o tratamento leva a uma diminuição do percentual de eosinófilos independente do início do tratamento. Foi observado também na fase aguda, um maior percentual de eosinófilos nos granulomas.

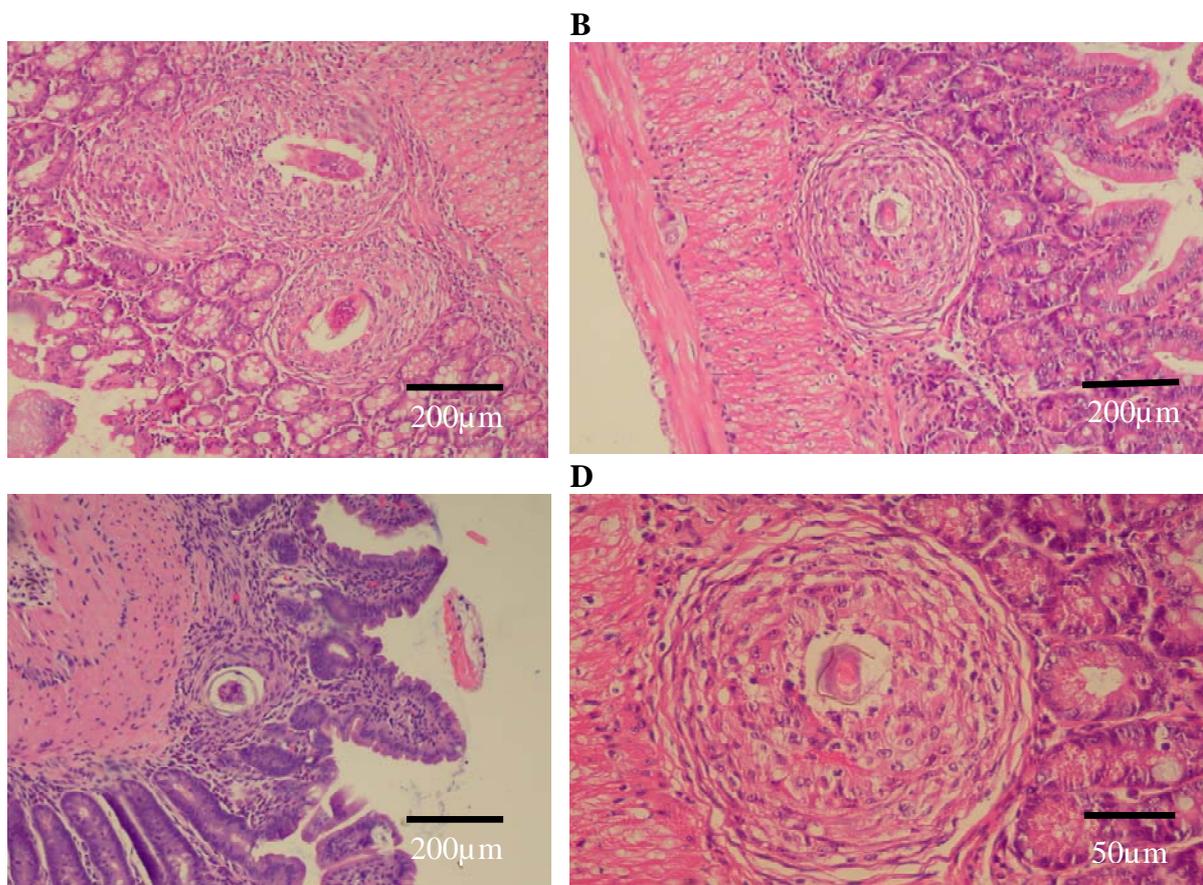
**Prancha 4:**

Exemplos aleatórios de imagens de granulomas hepáticos cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina (HE). Estes exemplos pertencem ao grupo de camundongos infectados e não tratados (I). Observa-se perfeitamente a área de infiltrado celular inflamatório ao redor do ovo de *S. mansoni*, a qual foi determinada a partir da imagem digitalizada. O painel A encontra-se um granuloma na fase aguda da infecção e o painel B um granuloma da fase crônica da infecção.



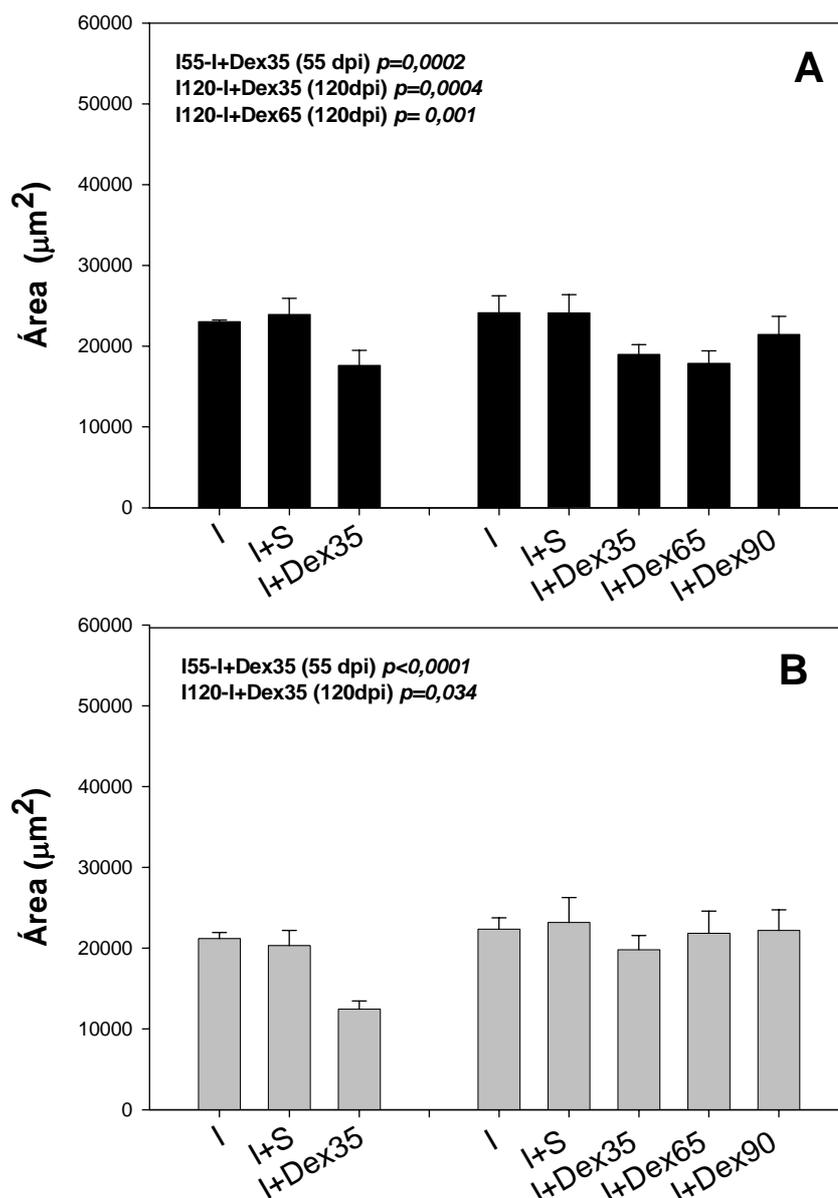
**Figura 27: Área dos granulomas hepáticos**

Área média dos granulomas hepáticos expressa em  $\mu\text{m}^2$  avaliada a partir de imagens com a presença de ovos centrais (HE). O gráfico A representa a área dos granulomas em camundongos C57BL/6 infectados tratados ou não com 1 mg/kg dexametasona 3 vezes por semana e o gráfico B representa a área dos granulomas em camundongos SWISS. A avaliação estatística encontra-se expressa nos gráficos.



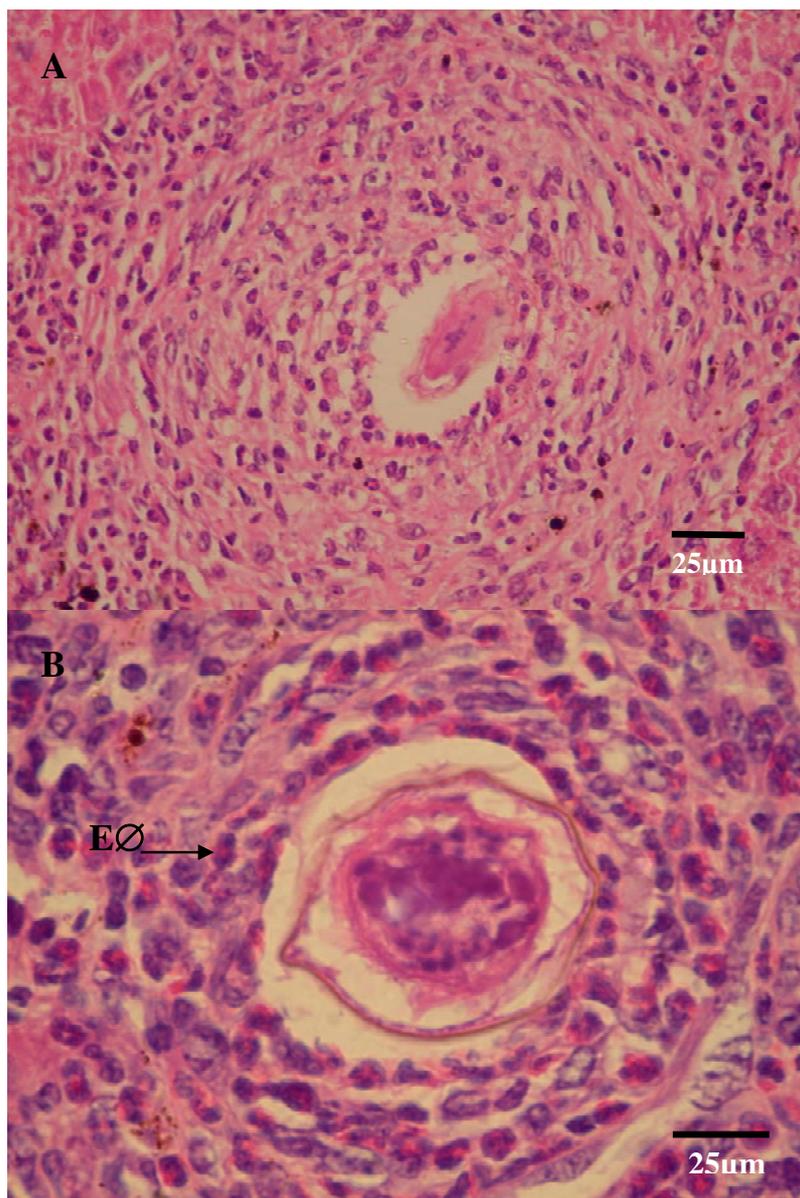
### Prancha 5:

Exemplos aleatórios de imagens de alguns granulomas intestinais em cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina (HE). Estes exemplos pertencem ao grupo de camundongos infectados e não tratados (I). Observa-se perfeitamente a área de infiltrado celular inflamatório ao redor do ovo de *S. mansoni*, a qual foi determinada a partir da imagem digitalizada. A prancha A, B e C encontra-se granulomas intestinais no aumento de 100x e na prancha D um granuloma intestinal no aumento de 400x.



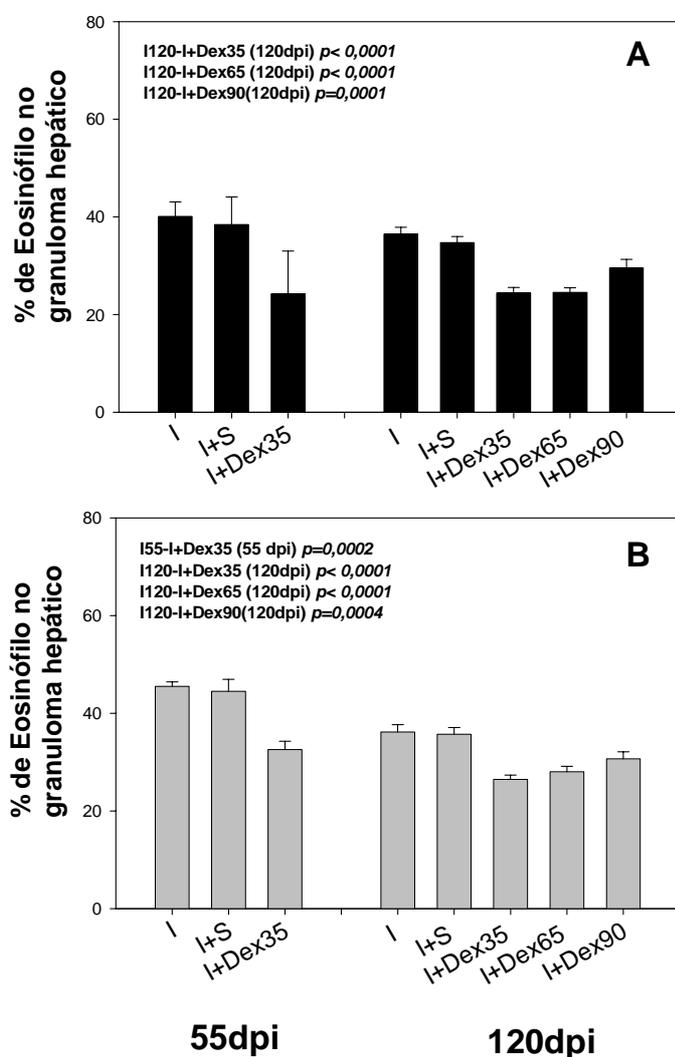
**Figura 28: Área dos granulomas intestinais**

Área média dos granulomas intestinais da porção íleo terminal expressa em  $\mu\text{m}^2$  avaliada a partir de imagens com a presença de ovos centrais (HE). O gráfico A representa a área dos granulomas em camundongos C57BL/6 infectados tratados ou não com 1 mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana e o gráfico B representa a área dos granulomas em camundongos SWISS. A avaliação estatística encontra-se expressa nos gráficos.



### Prancha 6:

Exemplos aleatórios de imagens de alguns granulomas hepáticos em cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina (HE). Estes exemplos pertencem ao grupo de camundongos infectados e não tratados (I). Observa-se perfeitamente os eosinófilos (EØ) presentes no infiltrado celular inflamatório ao redor do ovo de *S. mansoni*, A prancha 6 A, encontra-se um granuloma em um aumento de 400x e na prancha B encontra-se granuloma hepático no aumento de 1000x.



**Figura 29: Percentual de eosinófilos no granuloma hepático**

Percentual de eosinófilos nos granulomas hepáticos nos diversos grupos de camundongos infectados com *S. mansoni* obtidos a partir de imagens com a presença de ovos centrais (HE). O gráfico A representa o percentual de eosinófilos nos granulomas hepáticos de camundongos C57BL/6 infectados tratados ou não com 1 mg/kg de dexametasona 3 vezes por semana e o gráfico B representa o percentual de eosinófilos nos granulomas hepáticos em camundongos SWISS. A avaliação estatística encontra-se expressa nos gráficos.

## DISCUSSÃO

A esquistossomose é uma infecção de relevância mundial uma vez que acomete um grande número de pessoas causando uma grande morbidade e conseqüentemente uma grande perda sócio-econômica. Esta infecção apresenta um caráter crônico que espolia e onera socialmente a população acometida. Apesar da existência de fármacos eficazes contra os vermes adultos, a falta de fármacos que possam controlar os efeitos mórbidos da infecção ou mesmo de vacina que possa controlar a disseminação deste parasito faz com que o grande avanço no combate e controle da infecção não seja suficiente para minimizar a transmissão e as suas conseqüências. Assim, as pesquisas científicas que visam uma melhor compreensão dos fatores que levam a uma maior resistência ou susceptibilidade de alguns indivíduos a esta infecção são de extrema importância para se tentar diminuir os danos severos que a esquistossomose acarreta e quem sabe, controlar esta infecção a ponto de eliminá-la dos problemas de saúde pública. Além disso, medida de controle eficaz deve ser utilizada até o surgimento de vacina para minimizar os efeitos mórbidos e o prejuízo econômico causado pela esquistossomose (HAGAN *et al.*, 2004).

Para a melhor compreensão desta infecção diversos modelos experimentais têm sido utilizados (CHEEVER *et al.*, 2002; STAVITSKY, 2004). Dentre os diversos modelos de estudos, o modelo murino tem sido amplamente utilizado na tentativa de esclarecer os vários aspectos ainda indefinidos desta infecção. Entretanto, apesar do modelo murino estar bem estabelecido para a infecção por *S. mansoni* vários autores já observaram diferenças no curso da infecção quando compararam diferentes linhagens de camundongos (CLAAS e DEELDER, 1979; COLLEY e FREEMAN, 1980; FANNING *et al.*, 1981). Diferenças quanto à carga parasitária, perda de peso corporal, sobrevivência dos animais, tamanho dos granulomas, hepatoesplenomegalia, pressão portal e dados hematológicos foram descritos entre as diferentes linhagens (COLLEY e FREEMAN, 1980; FANNING *et al.*, 1981). Sendo assim, estudar a infecção em diferentes modelos e identificar diferenças no curso da infecção seria de grande importância para melhor compreensão da patogênese da esquistossomose.

Trabalhos anteriores do nosso grupo já demonstraram que a dexametasona apresentava um efeito benéfico à infecção esquistossomótica, em camundongos C57BL/6, quando administrada no início da infecção (PYRRHO *et al.*, 2002; PYRRHO

*et al.*, 2004). Neste trabalho foi estudada a ação do tratamento com dexametasona quando iniciado na fase aguda (I+Dex65) e na fase crônica (I+Dex90) em camundongos C57BL/6 e SWISS infectados com *S. mansoni*. Deste modo, para se iniciar a avaliação da ação desse fármaco quando administrado nas fases aguda e crônica e nas duas linhagens de camundongos foram coletados diversos dados parasitológicos, bioquímicos, hematológicos e patológicos da infecção, tendo em vista que o esquema de tratamento foi bastante diferente do utilizado anteriormente pelo nosso grupo.

Ao avaliar a sobrevivência nos grupos de animais não infectados (N), observou-se que o tratamento não causou nenhuma mortalidade destes animais nem nos camundongos isogênicos (C57BL/6) nem nos não isogênicos (SWISS). Nos grupos de animais infectados por *S. mansoni* pode-se verificar que nos camundongos C57BL/6 com exceção do grupo que recebeu dexametasona a partir de 65º dia os demais grupos de animais infectados tratados ou não apresentaram diferenças na taxa de mortalidade. Também nenhuma diferença foi observada no percentual de sobrevivência entre os diversos grupos de camundongos SWISS infectados tratados ou não com dexametasona (Figura 7). Dessa forma, pode-se supor que o tratamento com dexametasona quando iniciado na fase aguda e crônica da infecção não influenciou no aumento da mortalidade possivelmente por não ter proporcionado um alto grau de imunodepressão. Este dado só não foi observado no grupo I+Dex65, de camundongos isogênicos, porém o aumento da mortalidade deste grupo ainda se encontra em estudo.

Da mesma forma que no trabalho anterior do nosso grupo, os animais C57BL/6 e SWISS que receberam apenas solução salina e que serviram como controles da manipulação, não apresentaram diferenças na taxa de mortalidade em relação aos animais que não receberam dexametasona.

Trabalhos anteriores já demonstraram que a infecção esquistossomótica pode evoluir de duas maneiras em camundongos isogênicos. A infecção pode evoluir para um curso ameno (síndrome de moderada esplenomegalia - MSS) ou para um curso mais grave (síndrome de hiperesplenomegalia- HSS) (HENDERSON *et al.*, 1993). Estes autores relatam que um dos sinais dos camundongos que desenvolveram a infecção com curso grave, era que os mesmos apresentavam uma acentuada caquexia representada por expressiva perda de peso. Assim foi acompanhado o peso corporal dos camundongos ao longo dos 120 dias do experimento, para verificar possível caquexia dos animais. Na figura 8 observou-se que nos camundongos isogênicos (8 A) os grupos infectados

apresentaram uma perda de peso ao longo da infecção sendo que os grupos tratados a perda de peso foi maior entre a fase aguda e a fase crônica e o grupo apenas infectados a perda de peso foi maior na fase crônica, contudo no final do experimento os diversos grupos de camundongos infectados não apresentaram diferenças no peso corporal. Nos camundongos SWISS foi observado que todos os grupos de animais, tanto normais quanto infectados, apresentaram um ganho de peso, contudo o percentual de ganho de peso dos grupos infectados; foi menor que no grupo normal e dentro dos grupos infectados, os animais que receberam dexametasona não apresentaram grandes diferenças dos animais que receberam solução salina e dos animais apenas infectados. Essas diferenças observadas entre as duas linhagens podem ser justificadas pelas variações no curso da infecção em diferentes linhagens de camundongos observadas por vários autores. Além disso, o ganho de peso nos camundongos SWISS pode ser fruto destes animais apresentarem uma resistência maior à infecção.

Avaliar a carga parasitária antes de analisarmos os demais resultados é de extrema relevância, uma vez que a ação dos glicocorticóides sobre a sobrevivência do *S. mansoni* é controversa (COKER, 1957; WEINMANN e HUNTER, 1960; HARRISON e DOENHOFF, 1983, MORRISON *et al.*, 1986). Vários estudos foram feitos com o glicocorticóide hidrocortisona onde observaram uma queda do número desse parasito nos camundongos tratados, contudo, o mecanismo pelo qual o fármaco altera a carga parasitária ainda não está estabelecido. Um dos possíveis mecanismos proposto seria o glicocorticóide agindo na fase larvar do parasito, durante o processo de migração pelo pulmão (HERMETO *et al.*, 1990; DE MELO *et al.*, 1994; Outros autores demonstraram que diferenças nas doses, no momento da administração e no tipo de glicocorticóide alteravam este achado (WEINMANN e HUNTER, 1960; HARRISON e DOENHOFF, 1983). Hermeto e col. (1990) demonstraram que doses elevadas de dexametasona (50 mg/kg) afetavam acentuadamente a sobrevivência dos parasitos quando administrada 1 hora antes da infecção. Desta forma, parece que o papel da dexametasona afetando a carga parasitária seja em decorrência da sua ação na transformação da fase larvar do parasito, de cercária para esquistossômulo, uma vez que a inoculação intraperitoneal de esquistossômulos em camundongos previamente tratados com o fármaco não levou a alteração na carga parasitária (HERMETO *et al.*, 1993).

Diferente dos autores que demonstraram que os glicocorticóides afetavam a carga parasitária, Lambertucci e col. (1989) não observaram diferenças significativas na

sobrevida dos vermes nos animais tratado com esteróides. Além disso, trabalhos anteriores do nosso grupo, o qual utilizava a mesma dosagem administrada neste trabalho, também não observou diferenças na carga parasitária entre os grupos tratados e os grupos não tratados (PYRRHO *et al.*, 2002). Nos resultados obtidos neste trabalho em camundongos C57BL/6 observaram-se pequenas diferenças na carga parasitária quando os camundongos receberam dexametasona a partir da fase aguda ou crônica da infecção que não foram significativas (Figura 9) corroborando o trabalho anterior do nosso grupo. Em camundongos SWISS também não foi observada diferença significativa entre os grupos tratados e os grupos não tratados (Figura 9). Contudo observou-se que a carga parasitária dos camundongos SWISS foi bem menor do que a obtida nos camundongos isogênicos que foram infectados com o mesmo número de cercárias. Este dado possivelmente decorre dos camundongos C57BL/6 serem mais susceptível a infecção pelo *S. mansoni* do que camundongos SWISS que já tiveram uma maior resistência à infecção demonstrada por outros autores (WARREN, 1962; CHEEVER, 1969; DEAN *et al.*, 1978). Esta maior susceptibilidade à infecção nos camundongos C57BL/6 e a menor susceptibilidade nos camundongos SWISS podem explicar o porquê os primeiros animais perderam peso durante a evolução da infecção esquistossomótica e os segundos animais ganharam peso ao longo do experimento.

Durante o curso da infecção avaliamos a influência do início do tratamento com dexametasona, nas duas linhagens de camundongos, na eliminação de ovos nas fezes. Trabalhos anteriores relataram que o uso de glicocorticóide influenciava negativamente na eliminação de ovos nas fezes (DOENHOFF *et al.*, 1978; LAMBERTUCCI *et al.*, 1989). Contudo neste trabalho observou-se que em camundongos C57BL/6 ocorreu um aumento na eliminação de ovos nas fezes nos camundongos tratados com dexametasona independente do início do tratamento (Figura 10 A). Entretanto em camundongos SWISS este aumento não foi observado, exceto na fase aguda no grupo I+Dex35, e pode-se verificar que nesta linhagem não ocorreu grande diferença na eliminação de ovos nas fezes entre os grupos de camundongos tratados e não tratados (Figura 10 B). Um dos dados que pode auxiliar na explicação desta maior eliminação de ovos nas fezes pelos camundongos C57BL/6 encontra-se na figura 15 onde ao avaliar os tipos de ovos presentes no íleo não foram observadas grandes diferenças apenas que os camundongos C57BL/6, quando tratados com dexametasona apresentaram uma ligeira diminuição nos ovos mortos o que pode corroborar a maior eliminação de ovos nas fezes nesta linhagem

de camundongos. Com relação ainda a maior eliminação de ovos nas fezes podemos supor que diferente do observado anteriormente por Lambertucci e col., (1989) a eliminação de ovos nas fezes não foi diminuída pois a dose de glicocorticóide e a linhagem de camundongos utilizada neste trabalho não foram as mesmas da utilizada por outros autores. Como a hipótese anterior era de que os glicocorticóides diminuam a eliminação de ovos nas fezes por inibir a resposta inflamatória necessária para a migração deste pela mucosa intestinal (LENZI *et al.*, 1987a), podemos verificar que apesar de diminuir a resposta inflamatória a dose de dexametasona utilizada neste trabalho não foi suficiente para abolir a esta resposta e impedir a migração dos ovos pela mucosa intestinal. Desta forma, possivelmente nos camundongos C57BL/6 a diminuição e não ausência da resposta inflamatória facilitou a migração e consequentemente a maior eliminação de ovos nas fezes. Lenzi e col. (1987) demonstraram que os eosinófilos são as principais células inflamatórias envolvidas no processo de eliminação dos ovos para a luz intestinal. Contudo, Sher e col. (1990) já demonstraram que a redução do número de eosinófilos em animais tratados com anticorpos neutralizantes para IL-5, não apresentaram alterações na eliminação de ovos de *S. mansoni* para a luz intestinal, questionando assim o papel deste tipo celular neste processo. Apesar desta controvérsia e embora a distribuição dos leucócitos periféricos não reflita de maneira constante a distribuição dos leucócitos nos tecido, ao observar o percentual de eosinófilos nos camundongos (Figura 21) pode-se verificar que embora estejam diminuídos nos grupos de camundongos infectados e tratados, não estão ausentes ou abaixo dos níveis normais e mediante a este dado o processo de migração dos ovos provavelmente não esteja afetado.

A esquistossomose é acompanhada de lesão intestinal e perda de sangue pelo trato gastrointestinal mostrando que quanto maior a gravidade da doença maior seria a perda de sangue pelo hospedeiro em decorrência de hemorragias gastrintestinais. Assim este trabalho avaliou a presença de sangue oculto nas fezes dos camundongos infectados tratados ou não. A figura 11 mostra a eliminação de sangue oculto em camundongos C57BL/6 ao longo dos 120 dias de infecção e pode-se observar que os camundongos tratados com dexametasona têm um ligeiro aumento na presença de sangue nas fezes o que provavelmente seja fruto da maior liberação de ovos nas fezes. Este pequeno aumento de sangue nas fezes dos camundongos tratados com dexametasona também foi observado nos animais SWISS (Figura 12) sendo que a eliminação de sangue foi menor

que nos camundongos isogênicos possivelmente em decorrência da maior resistência a infecção esquistossomótica e da menor eliminação de ovos nas fezes.

Como não foi observada diminuição de ovos nas fezes nem alteração na carga parasitária, avaliou-se a distribuição de ovos dos parasitos nos tecidos dos hospedeiros tendo em vista que trabalho anterior do nosso grupo já demonstrou que em camundongos C57BL/6 e tratados com dexametasona desde a fase inicial da infecção apresentavam uma maior retenção de ovos no tecido intestinal e a um menor número de ovos no tecido hepático (PYRRHO *et al.*, 2002). Neste trabalho pode ser observado que o tratamento com dexametasona independente do início da administração e das linhagens de camundongos utilizadas ocorreu uma tendência a um aumento de ovos no tecido intestinal (Figura 14) e uma diminuição no tecido hepático (Figura 13). O aumento de ovos no tecido intestinal foi corroborado pelo aumento do número de ovos no íleo como observado no oograma (Figura 15). Como já demonstrado anteriormente pelo nosso grupo, esta alteração na distribuição de ovos não é fruto da diminuição na capacidade de oviposição como observado por Lambertucci e col. (1989), quando utilizava dexametasona administrada por via oral. Além disso, o aumento na retenção dos ovos no tecido intestinal em animais tratados com glicocorticóides já foi demonstrado anteriormente (HERMETO *et al.*, 1994; PYRRHO *et al.*, 2002). Como não foi observada a existência de variações na carga parasitária e nem na capacidade de oviposição, as diferenças na distribuição tecidual dos ovos do parasito nos animais tratados podem ser explicadas por alterações na adesão destes ao endotélio, onde eles são ovipostos. Assim, um possível mecanismo para o aumento do número de ovos no tecido intestinal poderia resultar da ação da dexametasona modificando as moléculas de adesão expressas pelo endotélio dos vasos da mucosa intestinal e facilitando que um maior número de ovos fique retido neste tecido e não cheguem ao tecido hepático.

Em relação ao menor número de ovos no tecido hepático dos camundongos tratados com dexametasona, provavelmente ocorre devido a ação da dexametasona em aumentar a adesão dos ovos ao endotélio dos vasos no local onde ocorre a postura, evitando que estes sejam carreados pelo fluxo sanguíneo para o fígado. Além disso, a dexametasona pode estar interferindo no local de postura das fêmeas do parasito fazendo com que os ovos sejam ovipostos em vasos de menor calibre o que proporciona um maior contato com a mucosa, conseqüentemente um menor fluxo de sangue e um menor carreamento de ovos para o fígado ou mesmo afetando diversos mediadores

inflamatórios que proporcionariam um menor aporte de ovos ao fígado. Entretanto temos que avaliar melhor estas hipóteses. A diminuição do número de ovos no tecido hepático é de extrema relevância como já demonstrado por Pyrrho e col. (2002). Este menor número de ovos no fígado proporciona uma redução na patologia deste órgão, pois haverá um menor número de granulomas e conseqüentemente uma menor deposição de matriz extracelular (CHEEVER *et al.*, 1983).

Além disso, Fanning e col. (1981) demonstraram que várias linhagens de camundongos (incluindo a C57BL/6) que desenvolviam reações granulomatosas menores, apresentavam pressão portal menor que em outras linhagens, indicando um menor comprometimento na fase crônica da esquistossomose. Assim, como os animais C57BL/6 e SWISS infectados e tratados com dexametasona, independente da fase de início do tratamento, apresentaram um menor tamanho de granulomas hepáticos (Figura 27) pode-se supor que o tratamento leve a uma redução no comprometimento hepático ocasionando menores alterações patológicas na fase crônica da esquistossomose.

Apesar da diminuição do tamanho do granuloma hepático mostrar-se benéfica, possibilitando uma menor pressão portal e conseqüentemente a uma redução da patologia na esquistossomose (FANNING *et al.*, 1981), a ausência de um infiltrado inflamatório já foi correlacionada com um acentuado aumento da necrose hepática, que tem como conseqüência uma alta taxa de mortalidade (AMIRI *et al.*, 1992). Neste trabalho, os animais isogênicos e não isogênicos que receberam o glicocorticóide independente do início do tratamento apresentaram uma redução significativa das áreas dos granulomas hepáticos, tanto na fase aguda como na crônica (Figura 27). O mecanismo pelo qual a dexametasona age sobre a resposta inflamatória granulomatosa não está totalmente esclarecido, mas sabendo-se que a formação dos granulomas é mediada pela resposta dos linfócitos CD4<sup>+</sup> antígenos-específicos e que sua ativação é mediada por moléculas co-estimuladoras (FLORES VILLANUEVA *et al.*, 1994; RATHORE *et al.*, 1996; SALGADO *et al.*, 1999; AGARWAL e MARSHALL, 2000) uma das possíveis ações da dexametasona é sobre estas moléculas que podem alterar o curso da resposta imune. No entanto, apesar da diminuição do tamanho do granuloma provocada pelo tratamento, parece que a resposta granulomatosa foi capaz de deter os efeitos deletérios dos antígenos eliminados pelo ovo do parasito, uma vez que não se teve um aumento da taxa de mortalidade e nem nas concentrações séricas das enzimas hepáticas (AST, ALT e ALP) em relação aos animais infectados (I), cujas elevações

indicam lesão hepática (Figuras 23, 24 e 25, respectivamente) (MANSOUR *et al.*, 1982; HOFFMANN *et al.*, 2000). Interessante observar que nos camundongos isogênicos, na fase crônica da infecção as enzimas hepáticas voltam a normalidade enquanto que nos camundongos SWISS ela continuam aumentadas durante toda a infecção o que pode sugerir que apesar destes camundongos serem mais resistente a infecção o dano hepático causado pelos ovos dos parasitos parece ser maior. Contudo apesar desta diferença os grupos que receberam dexametasona não tiveram diferenças em relação ao hepatograma dos animais apenas infectados. Além disso, na avaliação patológica pode-se verificar que nenhum dos grupos apresentava pontos de lesão tecidual ao redor da repostas granulomatosa (dados de observações preliminares).

Outro parâmetro avaliado foi à dosagem sérica de uréia e de creatinina as quais tiveram o objetivo de verificar o funcionamento renal dos animais infectados tratados ou não com dexametasona uma vez que diversos autores já relataram um comprometimento deste órgão em decorrência do depósito de imunocomplexos proporcionando o surgimento de glomeronefrite (ANDRADE e ROCHA, 1979; LAMBERTUCCI *et al.*, 1988; BARSOUM *et al.*, 1996; CHISTY *et al.*, 2002). Entretanto independente da linhagem de camundongo os animais infectados tratados ou não com dexametasona, não apresentaram diferenças em relação ao grupo normal nas concentrações destes dois parâmetros renais. Assim pode se supor que nas condições deste experimento, nem a infecção nem o tratamento proporcionou qualquer grau de lesão renal.

O comprometimento orgânico causado pela esquistossomose também foi avaliado por parâmetros como o peso do fígado e do baço, o grau de anemia (FANNING *et al.*, 1981) e pela dosagem de proteína total e albumina sérica. Estudos anteriores do nosso grupo já demonstraram que o tratamento com dexametasona iniciado no início da infecção esquistossomótica em camundongos C57BL/6 apresentavam efeitos benéficos sobre estes parâmetros de comprometimento orgânico (PYRRHO *et al.*, 2004). Na figura 16 observa-se que os grupos tratados com dexametasona, independente da linhagem de camundongos, e do início do tratamento mostraram acentuadas reduções nos pesos dos baços, o que pode ser reflexo de uma menor pressão portal, estes dados são corroborados pela diminuição do índice de esplenomegalia (Tabelas 1 e 2). Assim, pode-se supor que um menor aumento deste órgão esteja acompanhado da diminuição das alterações mais mórbidas da fase crônica

na esquistossomose, como as varizes esofagianas e as hemorragias digestivas que podem ser letais, ou mesmo, diminuir as alterações decorrentes da própria esplenomegalia, uma vez que a diminuição do baço tem sido correlacionada com o não surgimento de síndromes descompensadas fruto da esquistossomose hepatoesplênica (ASSEF *et al.*, 2003).

Um outro parâmetro indicativo do menor comprometimento dos animais tratados com dexametasona pode ser visto pela redução do peso do fígado (Figura 17) corroborado pela diminuição do índice de hepatomegalia (Tabelas 3 e 4). Esta diminuição pode ser possivelmente fruto de um menor aporte de ovos para este tecido (Figura 13), bem como a uma menor reação granulomatosa presente neste órgão (Figura 27). Outro fato que pode contribuir para este achado é uma menor deposição de fibras de colágeno periovulares como demonstrado em trabalhos anteriores do nosso grupo (PYRRHO *et al.*, 2002). Este conjunto de fatores leva a uma possível queda da pressão portal e conseqüentemente a diminuição da patologia na esquistossomose.

Ao avaliar outras manifestações da esquistossomose, verificou-se que vários fatores parecem ser responsáveis pela freqüente anemia nesta infecção, entre eles, a esplenomegalia (citada acima) e as possíveis hemorragias digestivas (JAMRA *et al.*, 1964). Os animais, das duas linhagens, infectados e tratados com dexametasona apresentaram valores de hemoglobina significativamente mais altos que os não tratados na fase aguda da infecção (Figuras 18 e 19). Na fase crônica, os camundongos SWISS apresentaram valores de hemoglobina mais elevados que na fase aguda, talvez isto ocorra devido a maior esplenomegalia na fase aguda destes camundongos. O perfil das respostas do número de hemácias (dado não demonstrado) e do valor do hematócrito corroboram o dado acima (inserto das Figuras 18 e 19), o que mostra que a dexametasona parece reverter parcialmente a anemia na esquistossomose, possibilitando um curso mais leve da infecção esquistossomótica, como acontece em outros modelos já descritos (BOUMPAS *et al.*, 1993). Entretanto, é difícil precisar se a reversão parcial da anemia nesse modelo é fruto da ação direta do fármaco, que tende a aumentar a quantidade de Hb, possivelmente por diminuir a autodestruição dos eritrócitos (SCHIMMER e PARKER, 1996), ou que ela seja conseqüência das menores alterações patológicas observadas ao longo da infecção esquistossomótica. De toda forma o resultado final é benéfico para o hospedeiro.

Outro parâmetro avaliado para verificar o comprometimento orgânico foi à concentração sérica de proteína total e de albumina. Na figura 26 observa-se que os animais infectados tratados ou não, independentes da linhagem, não apresentaram alterações nestes parâmetros indicando que o tratamento não leva a um maior comprometimento orgânicos uma vez que a diminuição nestes parâmetros aumentariam o grau de desnutrição e possibilitariam a maior formação de edema que agravariam ainda mais a infecção.

Como de se esperar o tratamento com dexametasona também proporcionou uma grande redução no número de leucócitos circulantes (Figura 20). Tanto os camundongos C57BL/6 quanto os SWISS apresentaram uma leucocitose nos grupos apenas infectados a qual era revertida principalmente nos grupos que receberam dexametasona a partir do 35º e 65º dia de infecção. A alteração dos leucócitos totais foi menor na fase crônica do que na fase aguda da esquistossomose. O efeito da dexametasona na diminuição dos leucócitos circulantes é bem conhecido, porém os mecanismos pelos quais este fenômeno se dá ainda não estão completamente elucidados. Sabe-se que a leucopenia é fruto da queda de eosinófilos, linfócitos, monócitos e basófilos pode ser resultado de uma redistribuição destas células ou do aumento de sua destruição (SCHIMMER e PARKER, 1996) ou mesmo da inibição da expressão de algumas moléculas de adesão importantes no processo quimiotático dos leucócitos de modo geral (CHROUSOS, 1995).

A diminuição do número de leucócitos no sangue periférico decorrente do tratamento com dexametasona parece ter diversas conseqüências na esquistossomose. Assim, sabendo-se que os granulomas periovulares são formados em grande parte por estes tipos celulares, esta leucopenia, principalmente de eosinófilos como demonstrado na figura 21, pode ser a causa da diminuição do infiltrado inflamatório e conseqüentemente, em uma menor área dos granulomas como observado na figura 27. Deste modo, sendo os eosinófilos um dos leucócitos mais freqüentes nos infiltrados inflamatórios periovulares em diversas fases do processo granulomatoso (ANDRADE e WARREN, 1964; MOORE *et al.*, 1977; LENZI *et al.*, 1998) é provável que o fato de se encontrarem reduzidos no sangue periférico e no granuloma hepático (Figura 29) seja, um dos fatores para justificar a redução existente no tamanho dos granulomas hepáticos. Quando observamos a figura 21 podemos verificar que o tratamento com dexametasona ocasionou uma diminuição no percentual de eosinófilos no sangue periférico. Contudo o

tratamento não aboliu os eosinófilos da corrente sanguínea. Esta diminuição pode estar influenciando na diminuição de eosinófilos nos granulomas hepáticos (Figura 29) e conseqüentemente na diminuição do tamanho do granuloma que é benéfico na evolução do curso da infecção.

A dexametasona também foi capaz de reverter a neutropenia característica da fase crônica da esquistossomose. O aumento do percentual de neutrófilos circulantes (Figura 22) provavelmente é devido a uma maior neutropoese, a uma queda na remoção deste tipo celular, e ainda, a uma diminuição dos neutrófilos marginais das paredes dos vasos sanguíneos (SCHIMMER e PARKER, 1996). Diversas causas da neutropenia na esquistossomose já foram relatadas. Borojevic e col. (1983) sugere que um dos fatores da neutropenia decorra da atividade inibitória que o soro de pacientes hepatoesplênicos exerce sobre os precursores da linhagem neutrofílica. Trabalho do mesmo grupo acima citado também já demonstrou que a neutropenia pode ser reflexo da redução da liberação de neutrófilos pela medula óssea, onde ocorre um aumento das formas imaturas, o que sugere um retardamento na maturação de neutrófilos (SANTOS-DASILVA *et al.*, 1988). No entanto, Gardner e col. (1986) demonstraram o papel de eosinófilos inibindo a produção de células progenitoras para granulócitos e macrófagos (CFU-GM) em cultura, o que não deixa de ser um possível mecanismo para a neutropenia na esquistossomose, uma vez que esta infecção é acompanhada de uma moderada a acentuada eosinofilia. Além disso, a neutropenia nesta infecção já foi atribuída à lise de granulócitos mediada por citotoxicidade dependente de complemento (VAN DAM *et al.*, 1996) e trabalhos recentes tem realmente atribuído que a neutropenia existente em pacientes com esquistossomose parece estar envolvida com o aumento da apoptose dos neutrófilos cujos mecanismos ainda não se encontram completamente elucidados (AREF *et al.*, 2004). Esta neutropenia parece ser importante uma vez que alguns autores já a correlacionaram com uma maior susceptibilidade às infecções concomitantes na fase crônica da esquistossomose, tendo em vista que a resposta imune inata do hospedeiro encontra-se prejudicada (ANDRADE e BINA, 1983).

Além da redução dos granulomas hepáticos, o tratamento com dexametasona nas duas linhagens proporcionou uma redução da área dos granulomas da porção intermediária do íleo (Figura 28). Esta redução da área do infiltrado inflamatório também deve ser fruto de uma diminuição dos leucócitos periféricos e provavelmente

faz com que, apesar de termos mais ovos neste tecido dos animais tratados (Figuras 14 e 15), estes ocasionem uma menor lesão no intestino por ocasionar uma menor reação granulomatosa. Foi interessante observar que na porção intermediária do íleo, os granulomas da fase crônica não apresentaram o processo de imunomodulação negativa o qual observamos no fígado. Este dado é corroborado por alguns trabalhos que verificam que o processo de imunomodulação é órgão dependente e que no íleo os granulomas realmente não apresentam esta diminuição do seu tamanho na fase crônica diferente do que ocorre no cólon e no tecido hepático (WEINSTOCK e BOROS, 1981; WEINSTOCK e BOROS, 1983). Além disso, os granulomas no tecido intestinal tiveram uma diminuição significativa nos animais C57BL/6 tratados com dexametasona o que pode explicar o aumento de ovos nas fezes uma vez que podemos verificar que existiu a resposta inflamatória necessária para a migração dos ovos na mucosa intestinal, contudo esta não foi suficientemente grande para impedir sua eliminação. Os camundongos SWISS também tiveram uma redução no tamanho dos granulomas intestinais com o tratamento na fase aguda. Na fase crônica a pequena diminuição não foi tão significativa quanto nos camundongos C57BL/6 e em decorrência a este fato pode-se explicar porque os camundongos SWISS só apresentaram uma maior eliminação de ovos nos animais tratados na fase aguda da infecção.

De toda a forma, como foi observada uma redução no número total de leucócitos periféricos, em particular linfócitos e eosinófilos, pode-se supor que a diminuição da área dos granulomas hepáticos, corroborado pela diminuição de eosinófilos hepáticos (Figura 29) e dos granulomas intestinais (Figura 28) possa realmente ter correlação com esta leucopenia periférica.

Uma vez que o tratamento com dexametasona além de levar a uma redução da área dos granulomas hepáticos (Figura 27), levou também a uma redução do número de ovos no fígado (Figura 18) pode-se supor que nos animais tratados, a fibrose hepática estava diminuída. Este dado é corroborado por Weiner e col. (1987) que já demonstraram a ação da dexametasona inibindo a transcrição de pró-colágeno I e IV, bem como suprimindo a produção *in vitro* de colágeno por hepatócitos (GUZELIAN *et al.*, 1984), por fibroblastos (STERLING *et al.*, 1983). Além disso, Pyrrho e col. (2002) que demonstraram que a dexametasona na dosagem usada neste trabalho reduziu a área de fibrose ao redor dos granulomas em camundongos isogênicos. Desta forma, a menor fibrose hepática pode refletir em uma menor pressão portal, resultando numa redução da

esplenomegalia, reforçada pela diminuição da hepatoesplenomegalia (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Este conjunto de dados e suas conseqüências podem representar um curso mais ameno da patologia desenvolvida pela infecção esquistossomótica murina.

Diante da redução da área do granuloma hepático e provavelmente da fibrose hepática como já demonstrada por trabalhos anteriores do nosso grupo (PYRRHO *et al.*, 2002) pode-se supor que a dexametasona em ambas as linhagens de camundongos e independente da fase de início de tratamento, parece ser benéfica, uma vez que possibilita a redução da pressão portal e conseqüentemente do surgimento de varizes esofagianas que são as manifestações de uma esquistossomose hepatoesplênica descompensada.

Além da diminuição dos leucócitos que podem estar influenciando a diminuição dos granulomas, o tratamento também deve estar modulando na produção de citocinas e conseqüentemente a evolução do curso da infecção. Trabalho anterior do nosso grupo já demonstrou que camundongos C57BL/6 que receberam dexametasona desde o início da infecção apresentaram uma diminuição de IL-4 (citocina fibrinogênica), e um aumento de IL-10, citocina chave no controle dos perfis imune para que não ocorra polarização nem para o perfil de resposta imune TH1 nem para TH2, uma vez que ambos são prejudiciais para a evolução do curso clínico da esquistossomose (HOFFMANN *et al.*, 2000).

Assim como já foi citada a IL-4 tem um papel bastante importante na esquistossomose uma vez que tem sido correlacionada com o aumento dos granulomas e da fibrose hepática (YAMASHITA e BOROS, 1992; CHEEVER *et al.*, 1994). Além disso, a IL-4 também apresenta um papel protetor na inibição dos radicais tóxicos de oxigênio (LA FLAMME *et al.*, 2001). Desta forma, como o trabalho anterior do nosso grupo demonstrou que a dexametasona ocasionava uma diminuição da IL-4 possivelmente este fato pode estar ocorrendo no nosso modelo e assim a IL-4 pode estar contribuindo como mais um dos fatores que ocasionaram a diminuição do granuloma hepático e intestinal e da fibrose hepática.

Também já foi demonstrado em trabalhos anteriores do nosso grupo um aumento na concentração sérica de IL-10. Apesar de não termos tido a oportunidade de dosar esta citocina, provavelmente este aumento deve estar ocorrendo neste experimento, pois resultados interessantes sobre os aspectos patológicos obtidos anteriormente se repetiram só que agora nas duas linhagens e em momentos de início do tratamento. O

aumento da IL-10 é interessante, pois esta citocina está vinculada com um curso mais ameno da infecção uma vez que tem importante papel regulatório sobre os perfis TH1 e TH2 (BOROS e WHITFIELD, 1998; HOFFMANN *et al.*, 2000). Além disso, a IL-10 também tem sido vinculada com a diminuição do tamanho do granuloma hepático (FLORES VILLANUEVA *et al.*, 1996) o que foi observado na figura 27. A diminuição desta citocina também foi correlacionada com quadros clínicos mais graves com síndromes de hiperesplenomegalia o que não foi observado nos diferentes grupos deste trabalho (BOSSHARDT *et al.*, 1997). O aumento da IL-10 pela administração de glicocorticóide já foi caracterizado em diversos modelos (RAMIREZ *et al.*, 1996; TABARDEL *et al.*, 1996; FRANCHIMONT *et al.*, 1999; DANDONA *et al.*, 1999) o que corrobora que neste experimento os grupos que receberam dexametasona, nas duas linhagens de camundongos, apresentaram um aumento de IL-10 e em conjunto com diversos parâmetros de morbidade mostra que os camundongos que receberam dexametasona evoluem para uma infecção com quadros clínicos mais amenos.

Trabalhos recentes também têm demonstrado a importância da IL-10 para que ocorra o processo de imunomodulação (WYNN *et al.*, 1998; SADLER *et al.*, 2003) e como podemos observar o tratamento com dexametasona nas duas linhagens não comprometeu este fenômeno o que pode ser mais um indicativo de que esta citocina está presente em quantidades satisfatórias nos camundongos infectados tratados ou não. Além disso, a diminuição de IL-10, de IFN- $\gamma$  e o aumento de TNF- $\alpha$  têm sido correlacionados com a fibrose periportal e conseqüentemente com um curso mais grave da infecção (BOOTH *et al.*, 2004). Assim como trabalho anterior do nosso grupo já demonstrou que a administração de dexametasona aumentou IL-10, diminuiu IFN- $\gamma$  e não detectou concentração sérica de TNF- $\alpha$  podemos relacionar que o balanço destas citocinas, adicionadas à diminuição de IL-4 e IL-13, citocinas fibrinogênica, pode resultar na diminuição real da produção de colágeno e conseqüentemente na diminuição da hipertensão portal. Além disso, atualmente o TNF- $\alpha$  parece ter função limitada na patologia hepática da esquistossomose (DAVIES *et al.*, 2004)

Os resultados obtidos nos levam a supor que a dexametasona proporciona um curso mais ameno da infecção esquistossomótica nas duas linhagens de camundongos e nos diferentes momentos de início do tratamento. Temos ainda que elucidar alguns aspectos imunológicos para podermos compreender melhor o efeito deste tratamento na infecção pelo *S. mansoni*.



## CONCLUSÕES

Diante dos dados demonstrados neste trabalho, pode-se concluir que o tratamento dos camundongos C57BL/6 e SWISS exposto à infecção com 45 cercárias de *S. mansoni* com dexametasona, na dose e esquemas utilizados, não apresentou alterações na sobrevivência nem grandes diferenças no peso corporal dos camundongos. Também não afetou a carga parasitária nem a capacidade de oviposição das fêmeas, no entanto causou alteração na distribuição do número de ovos do parasito nos tecidos, onde proporcionando um aumento de ovos retidos na mucosa intestinal e menor ovos alojados no tecido hepático.

Os animais que receberam dexametasona também mostraram uma diminuição da hepatoesplenomegalia. O fármaco também levou a uma reversão da anemia na fase aguda e uma diminuição dessas na fase crônica, observada em ambas as linhagens de animais infectados com *S. mansoni*. Além disso, também reverteu a neutropenia e diminuiu a eosinofilia existentes nesta infecção.

Como principais alterações nos parâmetros patológicos apresentaram diminuição do tamanho dos granulomas no tecido hepático, com diminuição da eosinofilia tecidual ao redor dos ovos de *S. mansoni* sem, contudo, aumentar as lesões hepáticas e a diminuição dos granulomas intestinais.

Esta ampla ação da dexametasona, afetando alguns parâmetros vinculados à patologia da infecção, pode ocasionar como resultado final uma menor morbidade dos camundongos SWISS e C57BL/6 infectados por *S. mansoni*. Assim, futuros estudos aprimorando os efeitos deste fármaco sobre a resposta imune nestas duas linhagens de camundongos, serão necessários para que se possa compreender os mecanismos pelos quais ocorre este benefício pelo tratamento com dexametasona. O uso deste fármaco em humanos pode ser útil como coadjuvante no tratamento da esquistossomose humana ou mesmo proporcionar o surgimento de um novo fármaco para contornar os efeitos mórbidos desta infecção que acomete cerca de 200 milhões de pessoas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, T. e COLLEY, D.G. Modulation of *Schistosoma mansoni* egg-induced granuloma formation. III. Evidence for an anti-idiotypic, I-J-positive, I-J-restricted, soluble T suppressor factor. **J Immunol**, v.132, n.4, p.2084-2088. 1984.
- AGARWAL, S.K. e MARSHALL, G.D., JR. Role of CD28/B7 costimulation in the dexamethasone-induced suppression of IFN-gamma. **J Interferon Cytokine Res**, v.20, n.11, p.927-934. 2000.
- AMIRI, P., HAAK FRENDSCHO, M., ROBBINS, K., MCKERROW, J.H., STEWART, T. e JARDIEU, P. Anti-immunoglobulin E treatment decreases worm burden and egg production in *Schistosoma mansoni*-infected normal and interferon gamma knockout mice. **J Exp Med**, v.180, n.1, p.43-51. 1994.
- AMIRI, P., LOCKSLEY, R.M., PARSLOW, T.G., SADICK, M., RECTOR, E., RITTER, D. e MCKERROW, J.H. Tumour necrosis factor alpha restores granulomas and induces parasite egg-laying in schistosome-infected SCID mice. **Nature**, v.356, n.6370, p.604-607. 1992.
- ANDRADE, Z.A. e BINA, J.C. [The pathology of the hepatosplenic form of schistosomiasis mansoni in its advanced form (study of 232 complete necropsies) ]. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.78, n.3, p.285-305. 1983.
- ANDRADE, Z.A. e ROCHA, H. Schistosomal glomerulopathy. **Kidney Int**, v.16, n.1, p.23-29. 1979.
- ANDRADE, Z.A. e WARREN, K.S. Mild prolonged schistosomiasis in mice: alterations in host response with time and the development of portal fibrosis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.58, n.1, p.53-57. 1964.
- AREF, S., EL REFAEI, M.F., SAKRANA, M. e EL-NEMRE, H. Enhanced neutrophil apoptosis in neutropenic patients with hepatosplenic schistosomiasis: evidence of serum fas ligand. **Hematology**, v.9, n.1, p.71-78. 2004.
- ARYA, S.K., WONG-STAAAL, F. e GALLO, R.C. Dexamethasone-mediated inhibition of human T cell growth factor and gamma-interferon messenger RNA. **J Immunol**, v.133, n.1, p.273-276. 1984.

- ASSEF, J.C., DE CAPUA JUNIOR, A. e SZUTAN, L.A. [Treatment of recurrent hemorrhage esophageal varices in schistosomotic patients after surgery]. **Rev Assoc Med Bras**, v.49, n.4, p.406-412. 2003.
- BARSOUM, R., NABIL, M., SAADY, G., GENIN, C., SALEH, E., FRANCIS, M., EL-KALIOUBI, A., ISKANDER, I. e EL-GAREM, A. Immunoglobulin-A and the pathogenesis of schistosomal glomerulopathy. **Kidney Int**, v.50, n.3, p.920-928. 1996.
- BERGQUIST, N.R. Schistosomiasis vaccine development: approaches and prospects. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.90, n.2, p.221-227. 1995.
- BERGQUIST, N.R. Schistosomiasis vaccine development: progress and prospects. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.93 Suppl 1, p.95-101. 1998a.
- BERGQUIST, N.R. Schistosomiasis vaccine development: progress and prospects. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.93 Suppl 1, p.95-101. 1998b.
- BEUTLER, B. e CERAMI, A. The biology of cachectin/TNF-alfa primiry mediator of the host response. **Annu Rev Immunol**, v.7, p.625. 1989.
- BEUTLER, B., KROCHIN, N., MILSARK, I.W., LUEDKE, C. e CERAMI, A. Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis: mechanisms of endotoxin resistance. **Science**, v.232, n.4753, p.977-980. 1986.
- BOGLIOLO, L. Anatomical picture of liver in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. **Ann Trop Med Parasitol**, v.51, p.1-14. 1957.
- BONAMETTI, A.M., BALDY, J.L., BORTOLIERO, A.L., DE MAIO, C.M., PASSOS, J.D.N., TAKATA, P.K., DE PAULI, D.S., GUIMARAES, J.C., ANZAI, E.T. e ELISBAO, M.D.C. [Neurocysticercosis with initial clinical picture of acute meningitis]. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.36, n.1, p.27-32. 1994.
- BOOTH, M., MWATHA, J.K., JOSEPH, S., JONES, F.M., KADZO, H., IRERI, E., KAZIBWE, F., KEMIJUMBI, J., KARIUKI, C., KIMANI, G., OUMA, J.H., KABATEREINE, N.B., VENNERVALD, B.J. e DUNNE, D.W. Periportal fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection is associated with low IL-10, low IFN-gamma, high TNF-alpha, or low RANTES, depending on age and gender. **J Immunol**, v.172, n.2, p.1295-1303. 2004.
- BOROJEVIC, R., SANTOS-DA-SILVA, C. e CARVALHO, E.A. Chronic schistosomiasis mansoni: splenic myelopoiesis and inhibition of neutrophil

- granulocytopoiesis mediated by the sera of patients. **J Infect Dis**, v.148, n.3, p.422-426. 1983.
- BOROS, D.L. Immunopathology of *Schistosoma mansoni* infection. **Clin Microbiol Rev**, v.2, n.3, p.250-269. 1989.
- BOROS, D.L., PELLEY, R.P. e WARREN, K.S. Spontaneous modulation of granulomatous hypersensitivity in schistosomiasis mansoni. **J Immunol**, v.114, n.5, p.1437-1441. 1975.
- BOROS, D.L. e WHITFIELD, J.R. Endogenous IL-10 regulates IFN-gamma and IL-5 cytokine production and the granulomatous response in *Schistosomiasis mansoni*-infected mice. **Immunology**, v.94, n.4, p.481-487. 1998.
- BOSSHARDT, S.C., FREEMAN, G.L., JR., SECOR, W.E. e COLLEY, D.G. IL-10 deficit correlates with chronic, hypersplenomegaly syndrome in male CBA/J mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Parasite Immunol**, v.19, n.8, p.347-353. 1997.
- BOUMPAS, D.T., CHROUSOS, G.P., WILDER, R.L., CUPPS, T.R. e BALOW, J.E. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. **Ann Intern Med**, v.119, n.12, p.1198-1208. 1993.
- BRUNET, L.R., DUNNE, D.W. e PEARCE, E.J. Cytokine interaction and immune responses during *Schistosoma mansoni* infection. **Parasitol Today**, v.14, n.10, p.422-427. 1998.
- BRUNET, L.R., FINKELMAN, F.D., CHEEVER, A.W., KOPF, M.A. e PEARCE, E.J. IL-4 protects against TNF-alpha-mediated cachexia and death during acute schistosomiasis. **J Immunol**, v.159, n.2, p.777-785. 1997.
- BUTLER, W.T. e ROSSEN, R.D. Effects of corticosteroids on immunity in man. I. Decreased serum IgG concentration caused by 3 or 5 days of high doses of methylprednisolone. **J Clin Invest**, v.52, n.10, p.2629-2640. 1973.
- BUTTERWORTH, A.E., CAPRON, M., CORDINGLEY, J.S., DALTON, P.R., DUNNE, D.W., KARIUKI, H.C., KIMANI, G., KOECH, D., MUGAMBI, M., OUMA, J.H., PRENTICE, M.A., RICHARDSON, B.A., ARAP SIONGOK, T.K., STURROCK, R.F. e TAYLOR, D.W. Immunity after treatment of human schistosomiasis mansoni. II. Identification of resistant individuals, and analysis of their immune responses. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.79, n.3, p.393-408. 1985.
- BUTTERWORTH, A.E., DUNNE, D.W., FULFORD, A., CAPRON, M., KHALIFE, J., CAPRON, A., KOECH, D., OUMA, J. e STURROCK, R.F. Immunity in human

- schistosomiasis mansoni: cross-reactive IgM and IgG2 anti-carbohydrate antibodies block the expression of immunity. **Biochimie**, v.70, n.8, p.1053-1063. 1988.
- BYRON, K.A., VARIGOS, G. e WOOTTON, A. Hydrocortisone inhibition of human interleukin-4. **Immunology**, v.77, n.4, p.624-626. 1992.
- CAPRON, M., TORPIER, G. e CAPRON, A. In vitro killing of *S. mansoni* schistosomula by eosinophils from infected rats: role of cytophilic antibodies. **J Immunol**, v.123, n.5, p.2220-2230. 1979.
- CHEEVER, A.W. Conditions affecting the accuracy of potassium hydroxide digestion techniques for counting *Schistosoma mansoni* eggs in tissues. **Bull World Health Organ**, v.39, n.2, p.328-331. 1968.
- CHEEVER, A.W. Quantitative comparison of the intensity of *Schistosoma mansoni* infections in man and experimental animals. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.63, n.6, p.781-795. 1969.
- CHEEVER, A.W. Differential regulation of granuloma size and hepatic fibrosis in schistosome infections. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.92, n.5, p.689-692. 1997.
- CHEEVER, A.W., DEB, S. e DUVALL, R.H. Granuloma formation in *Schistosoma japonicum* infected nude mice: the effects of reconstitution with L3T4+ or Lyt2+ splenic cells. **Am J Trop Med Hyg**, v.40, n.1, p.66-71. 1989.
- CHEEVER, A.W., DUNN, M.A., DEAN, D.A. e DUVALL, R.H. Differences in hepatic fibrosis in ICR, C3H, and C57BL/ 6 mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Am J Trop Med Hyg**, v.32, n.6, p.1364-1369. 1983.
- CHEEVER, A.W., LENZI, J.A., LENZI, H.L. e ANDRADE, Z.A. Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.97, n.7, p.917-940. 2002.
- CHEEVER, A.W., WILLIAMS, M.E., WYNN, T.A., FINKELMAN, F.D., SEDER, R.A., COX, T.M., HIENY, S., CASPAR, P. e SHER, A. Anti-IL-4 treatment of *Schistosoma mansoni*-infected mice inhibits development of T cells and non-B, non-T cells expressing Th2 cytokines while decreasing egg-induced hepatic fibrosis. **J Immunol**, v.153, n.2, p.753-759. 1994.
- CHEEVER, A.W. e YAP, G.S. Immunologic basis of disease and disease regulation in schistosomiasis. **Chem Immunol**, v.66, p.159-176. 1997.
- CHEN, M.C., WANG, S.C., CHANG, P.Y., CHUANG, C.Y., CHEN, Y.J., TANG, Y.C. e CHOU, S.C. Granulomatous disease of the large intestine secondary to

- schistosome infestation. A study of 229 cases. **Chin Med J (Engl)**, v.4, n.5, p.371-378. 1978.
- CHEN, M.G. Relative distribution of *Schistosoma japonicum* eggs in the intestine of man: a subject of inconsistency. **Acta Trop**, v.48, n.3, p.163-171. 1991.
- CHENSUE, S.W., WARMINGTON, K.S., HERSHEY, S.D., TEREBUH, P.D., OTHMAN, M. e KUNKEL, S.L. Evolving T cell responses in murine schistosomiasis. Th2 cells mediate secondary granulomatous hypersensitivity and are regulated by CD8+ T cells in vivo. **J Immunol**, v.151, n.3, p.1391-1400. 1993.
- CHENSUE, S.W., WARMINGTON, K.S., RUTH, J., LINCOLN, P.M. e KUNKEL, S.L. Cross-regulatory role of interferon-gamma (IFN-gamma), IL-4 and IL-10 in schistosome egg granuloma formation: in vivo regulation of Th activity and inflammation. **Clin Exp Immunol**, v.98, n.3, p.395-400. 1994.
- CHIARAMONTE, M.G., DONALDSON, D.D., CHEEVER, A.W. e WYNN, T.A. An IL-13 inhibitor blocks the development of hepatic fibrosis during a T-helper type 2-dominated inflammatory response. **J Clin Invest**, v.104, n.6, p.777-785. 1999.
- CHISTY, M.M., NARGIS, M., SATO, H., INABA, T., TAKAHASHI, G. e KAMIYA, H. *Schistosoma mansoni*: kinetics of glomerulonephritis in Mongolian gerbils and its correlation with intensity and duration of infection. **Parasite**, v.9, n.2, p.143-151. 2002.
- CHITSULO, L., ENGELS, D., MONTRESOR, A. e SAVIOLI, L. The global status of schistosomiasis and its control. **Acta Trop**, v.77, n.1, p.41-51. 2000.
- CHROUSOS, G.P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. **N Engl J Med**, v.332, n.20, p.1351-1362. 1995.
- CLAAS, F.H. e DEELDER, A.M. H-2 linked immune response to murine experimental *Schistosoma mansoni* infections. **J Immunogenet**, v.6, n.3, p.167-175. 1979.
- COKER, C. Effect of cortisone on natural immunity to *Schistosoma mansoni* in mice. **Proc Soc Exp Biol Med**, v.96, p.1-3. 1957.
- COLLEY, D.G. Immune responses to a soluble schistosomal egg antigen preparation during chronic primary infection with *Schistosoma mansoni*. **J Immunol**, v.115, n.1, p.150-156. 1975.
- COLLEY, D.G. Adoptive suppression of granuloma formation. **J Exp Med**, v.143, n.3, p.696-700. 1976.

- COLLEY, D.G. e FREEMAN, G.L., JR. Differences in adult *Schistosoma mansoni* worm burden requirements for the establishment of resistance to reinfection in inbred mice. I. CBA/J and C57BL/6 mice. **Am J Trop Med Hyg**, v.29, n.6, p.1279-1285. 1980.
- COLLEY, D.G., LEWIS, F.A. e TODD, C.W. Adoptive suppression of granuloma formation by T lymphocytes and by lymphoid cells sensitive to cyclophosphamide. **Cell Immunol**, v.46, n.1, p.192-200. 1979.
- CORRAL, I., QUEREDA, C., MORENO, A., LOPEZ-VELEZ, R., MARTINEZ-SANMILLAN, J., GUERRERO, A. e SOTELO, J. Intramedullary cysticercosis cured with drug treatment. A case report. **Spine**, v.21, n.19, p.2284-2287. 1996.
- COYLE, P.K. Glucocorticoids in central nervous system bacterial infection. **Arch Neurol**, v.56, n.7, p.796-801. 1999.
- CUTRIM, R.N., CHIEFFI, P.P. e DE MORAES, J.C. Schistosomiasis mansoni in the "Baixada Ocidental Maranhense", state of Maranhao, Brazil: cross-sectional studies performed in 1987 and 1993. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.40, n.3, p.165-171. 1998.
- CZAJA, M.J., WEINER, F.R., TAKAHASHI, S., GIAMBRONE, M.A., VAN DER MEIDE, P.H., SCHELLEKENS, H., BIEMPICA, L. e ZERN, M.A. Gamma-interferon treatment inhibits collagen deposition in murine schistosomiasis. **Hepatology**, v.10, n.5, p.795-800. 1989.
- DA SILVA, L.C., MOURÃO, P.A. e BOROJEVIC, R. Patterns of sulfated glycosaminoglycan synthesis and accumulation in hepatic granulomas induced by schistosomal infection. **Exp Mol Pathol**, v.50, n.3, p.411-420. 1989.
- DANDONA, P., MOHANTY, P., HAMOUDA, W., ALJADA, A., KUMBKARNI, Y. e GARG, R. Effect of dexamethasone on reactive oxygen species generation by leukocytes and plasma interleukin-10 concentrations: a pharmacodynamic study. **Clin Pharmacol Ther**, v.66, n.1, p.58-65. 1999.
- DAVIES, S.J., LIM, K.C., BLANK, R.B., KIM, J.H., LUCAS, K.D., HERNANDEZ, D.C., SEDGWICK, J.D. e MCKERROW, J.H. Involvement of TNF in limiting liver pathology and promoting parasite survival during schistosome infection. **Int J Parasitol**, v.34, n.1, p.27-36. 2004.
- DAVIS, B.H. e KRESINA, T.F. Hepatic fibrogenesis. **Clin Lab Med**, v.16, n.2, p.361-375. 1996.

- DAYNES, R.A. e ARANEO, B.A. Contrasting effects of glucocorticoids on the capacity of T cells to produce the growth factors interleukin 2 and interleukin 4. **Eur J Immunol**, v.19, n.12, p.2319-2325. 1989.
- DE MELO, A.L., HERMETO, M.V., BICALHO, R.S., VARGAS, A.P., FAVARETTO, F.J. e PEREIRA, L.H. *Schistosoma mansoni*: the effect of dexamethasone on the cercaria-schistosomulum transformation, in vivo. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.36, n.1, p.89-93. 1994.
- DEAN, D.A., MINARD, P., STIREWALT, M.A., VANNIER, W.E. e MURRELL, K.D. Resistance of mice to secondary infection with *Schistosoma mansoni*. I. Comparison of bisexual and unisexual initial infections. **Am J Trop Med Hyg**, v.27, n.5, p.951-956. 1978.
- DEMEURE, C.E., RIHET, P., ABEL, L., OUATTARA, M., BOURGOIS, A. e DESSEIN, A.J. Resistance to *Schistosoma mansoni* in humans: influence of the IgE/IgG4 balance and IgG2 in immunity to reinfection after chemotherapy. **J Infect Dis**, v.168, n.4, p.1000-1008. 1993.
- DESSEIN, A.J., COUISSINIER, P., DEMEURE, C., RIHET, P., KOHLSTAEDT, S., CARNEIRO-CARVALHO, D., OUATTARA, M., GOUDOT-CROZEL, V., DESSEIN, H. e BOURGOIS, A. Environmental, genetic and immunological factors in human resistance to *Schistosoma mansoni*. **Immunol Invest**, v.21, n.5, p.423-453. 1992.
- DOENHOFF, M., MUSALLAM, R., BAIN, J. e MCGREGOR, A. Studies on the host-parasite relationship in *Schistosoma mansoni*-infected mice: the immunological dependence of parasite egg excretion. **Immunology**, v.35, n.5, p.771-778. 1978.
- DOENHOFF, M.J., KUSEL, J.R., COLES, G.C. e CIOLI, D. Resistance of *Schistosoma mansoni* to praziquantel: is there a problem? **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.96, n.5, p.465-469. 2002.
- DOMINGO, E.O. e WARREN, K.S. Endogenous desensitization: changing host granulomatous response to schistosome eggs at different stages of infection with *Schistosoma mansoni*. **Am J Pathol**, v.52, n.2, p.369-379. 1968.
- DRUILHE, P., HAGAN, P. e ROOK, G.A. The importance of models of infection in the study of disease resistance. **Trends Microbiol**, v.10, n.10 Suppl, p.S38-46. 2002.

- DUVALL, R.H. e DEWITT, W.B. An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. **Am J Trop Med Hyg**, v.16, n.4, p.483-486. 1967.
- EL SAYED, H.F., RIZKALLA, N.H., MEHANNA, S., ABAZA, S.M. e WINCH, P.J. Prevalence and epidemiology of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection in two areas of Egypt recently reclaimed from the desert. **Am J Trop Med Hyg**, v.52, n.2, p.194-198. 1995.
- EL-CHEIKH, M.C., DUTRA, H.S., MINOPRIO, P. e BOROJEVIC, R. Increase of B-lymphocyte number and activity during experimental murine schistosomiasis mansoni. **Braz J Med Biol Res**, v.27, n.7, p.1605-1617. 1994.
- ELSE, K.J., FINKELMAN, F.D., MALISZEWSKI, C.R. e GRENCIS, R.K. Cytokine-mediated regulation of chronic intestinal helminth infection. **J Exp Med**, v.179, n.1, p.347-351. 1994.
- ELTOUM, I.A., WYNN, T.A., POINDEXTER, R.W., FINKELMAN, F.D., LEWIS, F.A., SHER, A. e CHEEVER, A.W. Suppressive effect of interleukin-4 neutralization differs for granulomas around *Schistosoma mansoni* eggs injected into mice compared with those around eggs laid in infected mice. **Infect Immun**, v.63, n.7, p.2532-2536. 1995.
- ENGELS, D., CHITSULO, L., MONTRESOR, A. e SAVIOLI, L. The global epidemiological situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. **Acta Trop**, v.82, n.2, p.139-146. 2002.
- FALLON, P.G., RICHARDSON, E.J., MCKENZIE, G.J. e MCKENZIE, A.N. Schistosome infection of transgenic mice defines distinct and contrasting pathogenic roles for IL-4 and IL-13: IL-13 is a profibrotic agent. **J Immunol**, v.164, n.5, p.2585-2591. 2000a.
- FALLON, P.G., RICHARDSON, E.J., SMITH, P. e DUNNE, D.W. Elevated type 1, diminished type 2 cytokines and impaired antibody response are associated with hepatotoxicity and mortalities during *Schistosoma mansoni* infection of CD4-depleted mice. **Eur J Immunol**, v.30, n.2, p.470-480. 2000b.
- FANNING, M.M., PETERS, P.A., DAVIS, R.S., KAZURA, J.W. e MAHMOUD, A.A. Immunopathology of murine infection with *Schistosoma mansoni*: relationship of genetic background to hepatosplenic disease and modulation. **J Infect Dis**, v.144, n.2, p.148-153. 1981.

- FINKELMAN, F.D., MADDEN, K.B., CHEEVER, A.W., KATONA, I.M., MORRIS, S.C., GATELY, M.K., HUBBARD, B.R., GAUSE, W.C. e URBAN, J.F., JR. Effects of interleukin 12 on immune responses and host protection in mice infected with intestinal nematode parasites. **J Exp Med**, v.179, n.5, p.1563-1572. 1994.
- FINKELMAN, F.D., SHEA-DONOHUE, T., GOLDHILL, J., SULLIVAN, C.A., MORRIS, S.C., MADDEN, K.B., GAUSE, W.C. e URBAN, J.F., JR. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models. **Annu Rev Immunol**, v.15, p.505-533. 1997.
- FLORES VILLANUEVA, P.O., REISER, H. e STADECKER, M.J. Regulation of T helper cell responses in experimental murine schistosomiasis by IL-10. Effect on expression of B7 and B7-2 costimulatory molecules by macrophages. **J Immunol**, v.153, n.11, p.5190-5199. 1994.
- FLORES VILLANUEVA, P.O., ZHENG, X.X., STROM, T.B. e STADECKER, M.J. Recombinant IL-10 and IL-10/Fc treatment down-regulate egg antigen-specific delayed hypersensitivity reactions and egg granuloma formation in schistosomiasis. **J Immunol**, v.156, n.9, p.3315-3320. 1996.
- FONSECA, C.T., BRITO, C.F., ALVES, J.B. e OLIVEIRA, S.C. IL-12 enhances protective immunity in mice engendered by immunization with recombinant 14 kDa *Schistosoma mansoni* fatty acid-binding protein through an IFN-gamma and TNF-alpha dependent pathway. **Vaccine**, v.22, n.3-4, p.503-510. 2004.
- FRANCHIMONT, D., MARTENS, H., HAGELSTEIN, M.T., LOUIS, E., DEWE, W., CHROUSOS, G.P., BELAICHE, J. e GEENEN, V. Tumor necrosis factor alpha decreases, and interleukin-10 increases, the sensitivity of human monocytes to dexamethasone: potential regulation of the glucocorticoid receptor. **J Clin Endocrinol Metab**, v.84, n.8, p.2834-2839. 1999.
- GARDNER, R.V., TEBBI, C.K., CHERVINSKY, D. e MCGARRY, M. The role of eosinophil in regulation of granulopoiesis. **Hematol Oncol**, v.4, n.4, p.267-274. 1986.
- GAZZINELLI, R.T. Molecular and cellular basis of interleukin 12 activity in prophylaxis and therapy against infectious diseases. **Mol Med Today**, v.2, n.6, p.258-267. 1996.
- GAZZINELLI, R.T., WYSOCKA, M., HIENY, S., SCHARTON-KERSTEN, T., CHEEVER, A., KUHN, R., MULLER, W., TRINCHIERI, G. e SHER, A. In the

- absence of endogenous IL-10, mice acutely infected with *Toxoplasma gondii* succumb to a lethal immune response dependent on CD4<sup>+</sup> T cells and accompanied by overproduction of IL-12, IFN-gamma and TNF- alpha. **J Immunol**, v.157, n.2, p.798-805. 1996.
- GERMANN, T., RUDE, E. e SCHMITT, E. The influence of IL12 on the development of Th1 and Th2 cells and its adjuvant effect for humoral immune responses. **Res Immunol**, v.146, n.7-8, p.481-486. 1995.
- GIRGIS, N.I., FARID, Z., KILPATRICK, M.E., SULTAN, Y. e MIKHAIL, I.A. Dexamethasone adjunctive treatment for tuberculous meningitis. **Pediatr Infect Dis J**, v.10, n.3, p.179-183. 1991.
- GRIMAUD, J.A., BOROS, D.L., TAKIYA, C., MATHEW, R.C. e EMONARD, H. Collagen isotypes, laminin, and fibronectin in granulomas of the liver and intestines of *Schistosoma mansoni*-infected mice. **Am J Trop Med Hyg**, v.37, n.2, p.335-344. 1987.
- GRZYCH, J.M., GREZEL, D., XU, C.B., NEYRINCK, J.L., CAPRON, M., OUMA, J.H., BUTTERWORTH, A.E. e CAPRON, A. IgA antibodies to a protective antigen in human Schistosomiasis mansoni. **J Immunol**, v.150, n.2, p.527-535. 1993.
- GRZYCH, J.M., PEARCE, E., CHEEVER, A., CAULADA, Z.A., CASPAR, P., HEINY, S., LEWIS, F. e SHER, A. Egg deposition is the major stimulus for the production of Th2 cytokines in murine schistosomiasis mansoni. **J Immunol**, v.146, n.4, p.1322-1327. 1991.
- GUSTAVSON, S., ZOUAIN, C.S., ALVES, J.B., LEITE, M.F. e GOES, A.M. Modulation of granulomatous hypersensitivity against *Schistosoma mansoni* eggs in mice vaccinated with culture-derived macrophages loaded with PIII. **Parasitol Int**, v.51, n.3, p.259-269. 2002.
- GUZELIAN, P.S., LINDBLAD, W.J. e DIEGELMANN, R.F. Glucocorticoids suppress formation of collagen by the hepatocyte. Studies in primary monolayer cultures of parenchymal cells prepared from adult rat liver. **Gastroenterology**, v.86, n.5 Pt 1, p.897-904. 1984.
- HAGAN, P., APPLETON, C.C., COLES, G.C., KUSEL, J.R. e TCHUEM-TCHUENTE, L.A. Schistosomiasis control: keep taking the tablets. **Trends Parasitol**, v.20, n.2, p.92-97. 2004.

- HAGAN, P., NDHLOVU, P. e DUNNE, D. Schistosome Immunology: more questions than answers. **Parasitol Today**, v.14, n.10, p.407-412. 1998.
- HANG, L.M., WARREN, K.S. e BOROS, D.L. *Schistosoma mansoni*: antigenic secretions and the etiology of egg granulomas in mice. **Exp Parasitol**, v.35, n.2, p.288-298. 1974.
- HARRISON, R.A. e DOENHOFF, M.J. Retarded development of *Schistosoma mansoni* in immunosuppressed mice. **Parasitology**, v.86, n.Pt 3, p.429-438. 1983.
- HASSANEIN, H., KAMEL, M., BADAWY, A., EL-GHORAB, N., ABDEEN, H., ZADA, S., EL-AHWANY, E. e DOUGHTY, B. Anti-miracidial effect of recombinant glutathione S-transferase 26 and soluble egg antigen on immune responses in murine schistosomiasis mansoni. **Apmis**, v.107, n.8, p.723-736. 1999.
- HENDERSON, G.S., NIX, N.A., MONTESANO, M.A., GOLD, D., FREEMAN, G.L., JR., MCCURLEY, T.L. e COLLEY, D.G. Two distinct pathological syndromes in male CBA/J inbred mice with chronic *Schistosoma mansoni* infections. **Am J Pathol**, v.142, n.3, p.703-714. 1993.
- HENRI, S., CHEVILLARD, C., MERGANI, A., PARIS, P., GAUDART, J., CAMILLA, C., DESSEIN, H., MONTERO, F., ELWALI, N.E., SAEED, O.K., MAGZOUB, M. e DESSEIN, A.J. Cytokine regulation of periportal fibrosis in humans infected with *Schistosoma mansoni*: IFN-gamma is associated with protection against fibrosis and TNF-alpha with aggravation of disease. **J Immunol**, v.169, n.2, p.929-936. 2002.
- HERMETO, M.V., BICALHO, R.S., DA SILVA, R.E., DE MELO, A.L. e PEREIRA, L.H. Oogram studies in mice infected with *Schistosoma mansoni* and treated with dexamethasone. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.36, n.2, p.99-104. 1994.
- HERMETO, M.V., BICALHO, R.S., MELO, A.L. e PEREIRA, L.H. Kinetics of the pulmonary phase of *Schistosoma mansoni* in mice treated with dexamethasone. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.32, n.3, p.168-171. 1990.
- HERMETO, M.V., MELO, A.L., BICALHO, R.S., VARGAS, A.P., FAVARETTO, F.J. e PEREIRA, L.H. Dexamethasone does not reduce the worm burden in mice infected with in vivo obtained schistosomules of *Schistosoma mansoni*. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.35, n.4, p.389-390. 1993.

- HIRATA, M. e FUKUMA, T. Cytokine regulation in experimentally-induced *Schistosoma japonicum* egg granuloma formation. **Parasitol Int**, v.52, n.4, p.341-349. 2003.
- HIRSCH, C., CARVALHO QUEIROZ, C., FRANCO, G.R., PENA, S.D., SIMPSON, A.J. e GOES, A.M. Evidentiation of paramyosin (Sm-97) as a modulating antigen on granulomatous hypersensitivity to *Schistosoma mansoni* eggs. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.92, n.5, p.663-667. 1997.
- HOFFMANN, K.F., CHEEVER, A.W. e WYNN, T.A. IL-10 and the dangers of immune polarization: excessive type 1 and type 2 cytokine responses induce distinct forms of lethal immunopathology in murine schistosomiasis. **J Immunol**, v.164, n.12, p.6406-6416. 2000.
- HOFFMANN, K.F., JAMES, S.L., CHEEVER, A.W. e WYNN, T.A. Studies with double cytokine-deficient mice reveal that highly polarized Th1- and Th2-type cytokine and antibody responses contribute equally to vaccine-induced immunity to *Schistosoma mansoni*. **J Immunol**, v.163, n.2, p.927-938. 1999.
- HOFFMANN, K.F., WYNN, T.A. e DUNNE, D.W. Cytokine-mediated host responses during schistosome infections; walking the fine line between immunological control and immunopathology. **Adv Parasitol**, v.52, p.265-307. 2002.
- HORII, Y., OWHASHI, M., ISHII, A., BANDO, K. e USUI, M. Eosinophil and neutrophil chemotactic activities of adult worm extracts of *Schistosoma japonicum* in vivo and in vitro. **J Parasitol**, v.70, n.6, p.955-961. 1984.
- HUNTER, C.A., ELLIS-NEYES, L.A., SLIFER, T., KANALY, S., GRUNIG, G., FORT, M., RENNICK, D. e ARAUJO, F.G. IL-10 is required to prevent immune hyperactivity during infection with *Trypanosoma cruzi*. **J Immunol**, v.158, n.7, p.3311-3316. 1997.
- INGRAM, R.J., BARTLETT, A., BROWN, M.B., MARRIOTT, C. e WHITFIELD, P.J. Penetration of human skin by the cercariae of *Schistosoma mansoni*: an investigation of the effect of multiple cercarial applications. **J Helminthol**, v.77, n.1, p.27-31. 2003.
- JAKUBZICK, C., CHOI, E.S., KUNKEL, S.L., JOSHI, B.H., PURI, R.K. e HOGABOAM, C.M. Impact of interleukin-13 responsiveness on the synthetic and proliferative properties of Th1- and Th2-type pulmonary granuloma fibroblasts. **Am J Pathol**, v.162, n.5, p.1475-1486. 2003.

- JAKUBZICK, C., KUNKEL, S.L., JOSHI, B.H., PURI, R.K. e HOGABOAM, C.M. Interleukin-13 fusion cytotoxin arrests *Schistosoma mansoni* egg-induced pulmonary granuloma formation in mice. **Am J Pathol**, v.161, n.4, p.1283-1297. 2002.
- JAMRA, M., MASPES, V. e MEIRA, D.A. Types and mechanisms of anemia in schistosomiasis mansoni. **Rev Inst Med Trop SP**, v.6, n.3, p.126-136. 1964.
- JANKOVIC, D., CHEEVER, A.W., KULLBERG, M.C., WYNN, T.A., YAP, G., CASPAR, P., LEWIS, F.A., CLYNES, R., RAVETCH, J.V. e SHER, A. CD4+ T cell-mediated granulomatous pathology in schistosomiasis is downregulated by a B cell-dependent mechanism requiring Fc receptor signaling. **J Exp Med**, v.187, n.4, p.619-629. 1998.
- JANKOVIC, D., KULLBERG, M.C., NOBEN-TRAUTH, N., CASPAR, P., WARD, J.M., CHEEVER, A.W., PAUL, W.E. e SHER, A. Schistosome-infected IL-4 receptor knockout (KO) mice, in contrast to IL-4 KO mice, fail to develop granulomatous pathology while maintaining the same lymphokine expression profile. **J Immunol**, v.163, n.1, p.337-342. 1999.
- JOSEPH, A.L. e BOROS, D.L. Tumor necrosis factor plays a role in *Schistosoma mansoni* egg-induced granulomatous inflammation. **J Immunol**, v.151, n.10, p.5461-5471. 1993.
- KABATEREINE, N.B., VENNERVALD, B.J., OUMA, J.H., KEMIJUMBI, J., BUTTERWORTH, A.E., DUNNE, D.W. e FULFORD, A.J. Adult resistance to schistosomiasis mansoni: age-dependence of reinfection remains constant in communities with diverse exposure patterns. **Parasitology**, v.118, n.Pt 1, p.101-105. 1999.
- KATZ, N., CHAVES, A. e PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.14, p.397-400. 1972.
- KATZ, N. e PEIXOTO, S.V. [Critical analysis of the estimated number of schistosomiasis mansoni carriers in Brazil]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.33, n.3, p.303-308. 2000.
- KOVACS, E.J. Fibrogenic cytokines: the role of immune mediators in the development of scar tissue. **Immunol Today**, v.12, n.1, p.17-23. 1991.

- LA FLAMME, A.C., MACDONALD, A.S., HUXTABLE, C.R., CARROLL, M. e PEARCE, E.J. Lack of c3 affects th2 response development and the sequelae of chemotherapy in schistosomiasis. **J Immunol**, v.170, n.1, p.470-476. 2003.
- LA FLAMME, A.C., PATTON, E.A., BAUMAN, B. e PEARCE, E.J. IL-4 Plays a Crucial Role in Regulating Oxidative Damage in the Liver During Schistosomiasis. **J Immunol**, v.166, n.3, p.1903-1911. 2001.
- LAMBERTUCCI, J.R., GODOY, P., NEVES, J., BAMBIRRA, E.A. e FERREIRA, M.D. Glomerulonephritis in *Salmonella-Schistosoma mansoni* association. **Am J Trop Med Hyg**, v.38, n.1, p.97-102. 1988.
- LAMBERTUCCI, J.R., MODHA, J., CURTIS, R. e DOENHOFF, M. The association of steroids and schistosomicides in the treatment of experimental schistosomiasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.83, n.3, p.354-357. 1989.
- LENZI, H.L., KIMMEL, E., SCHECHTMAN, H., PELAJO-MACHADO, M., ROMANHA, W.S., PACHECO, R.G., MARIANO, M. e LENZI, J.A. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.93 Suppl 1, p.141-151. 1998.
- LENZI, H.L., LENZI, J.A. e SOBRAL, A.C. Eosinophils favor the passage of eggs to the intestinal lumen in schistosomiasis. **Braz J Med Biol Res**, v.20, n.3-4, p.433-435. 1987.
- LIMA, A.O., SOARES, J.B., GRECO, J.B., GALIZZI, J. e CANÇADO, J.R. Exame de fezes. **Métodos de laboratório aplicados à clínica - técnica e interpretação**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 7 ed., 1992. p.5.14.
- LUKACS, N.W. e BOROS, D.L. Lymphokine regulation of granuloma formation in murine schistosomiasis mansoni. **Clin Immunol Immunopathol**, v.68, n.1, p.57-63. 1993.
- MAHMOUD, M.R., EL-ABHAR, H.S. e SALEH, S. The effect of Nigella sativa oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. **J Ethnopharmacol**, v.79, n.1, p.1-11. 2002a.
- MAHMOUD, M.R., ZOHEIRY, M.M. e NOSSEIR, M.M. Effect of combined chemotherapy and anti-inflammatory drugs on murine schistosomiasis. **Arzneimittelforschung**, v.52, n.4, p.294-301. 2002b.

- MANSOUR, M.M., FARID, Z., BASSILY, S., SALAH, L.H. e WATTEN, R.H. Serum enzyme tests in hepatosplenic schistosomiasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.76, n.1, p.109-111. 1982.
- MATHEW, R.C. e BOROS, D.L. Anti-L3T4 antibody treatment suppresses hepatic granuloma formation and abrogates antigen-induced interleukin-2 production in *Schistosoma mansoni* infection. **Infect Immun**, v.54, n.3, p.820-826. 1986.
- MCCOMB, R.B., BOND, L.W., BURNETT, R.W., KEECH, R.C. e BOWERS, G.N., JR. Determination of the molar absorptivity of NADH. **Clin Chem**, v.22, n.2, p.141-150. 1976.
- MCKENZIE, G.J., FALLON, P.G., EMSON, C.L., GRENCIS, R.K. e MCKENZIE, A.N. Simultaneous disruption of interleukin (IL)-4 and IL-13 defines individual roles in T helper cell type 2-mediated responses. **J Exp Med**, v.189, n.10, p.1565-1572. 1999.
- MCKERROW, J. e SALTER, J. Invasion of skin by *Schistosoma cercariae*. **Trends Parasitol**, v.18, n.5, p.193-195. 2002.
- MCKERROW, J.H. Cytokine induction and exploitation in schistosome infections. **Parasitology**, v.115 Suppl, p.S107-112. 1997.
- METWALI, A., ELLIOTT, D., BLUM, A.M., LI, J., SANDOR, M., LYNCH, R., NOBEN-TRAUTH, N. e WEINSTOCK, J.V. The granulomatous response in murine Schistosomiasis mansoni does not switch to Th1 in IL-4-deficient C57BL/6 mice. **J Immunol**, v.157, n.10, p.4546-4553. 1996.
- MITCHELL, G.F., WRIGHT, M.D., WOOD, S.M. e TIU, W.U. Further studies on variable resistance of 129/J and C57BL/6 mice to infection with *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni*. **Parasite Immunol**, v.12, n.6, p.559-567. 1990.
- MONTESANO, M.A., FREEMAN, G.L., JR., SECOR, W.E. e COLLEY, D.G. Immunoregulatory idiotypes stimulate T helper 1 cytokine responses in experimental *Schistosoma mansoni* infections. **J Immunol**, v.158, n.8, p.3800-3804. 1997.
- MOORE, D.L., GROVE, D.I. e WARREN, K.S. The *Schistosoma mansoni* egg granuloma: quantitation of cell populations. **J Pathol**, v.121, n.1, p.41-50. 1977.
- MOORE, K.W., O'GARRA, A., DE WAAL MALEFYT, R., VIEIRA, P. e MOSMANN, T.R. Interleukin-10. **Annu Rev Immunol**, v.11, p.165-190. 1993.

- MOREL, C.M. Reaching maturity - 25 years of the TDR. **Parasitol Today**, v.16, n.12, p.522-528. 2000.
- MORRISON, D.D., WAA, E.A.V. e BENNETT, J.L. Effects of steroids and steroid synthesis inhibitors on fecundity of *Schistosoma mansoni* in vitro. **J Chem Ecology**, v.12, n.8, p.1901-1908. 1986.
- MOSMANN, T.R. e COFFMAN, R.L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. **Annu Rev Immunol**, v.7, p.145-173. 1989.
- NAGATY, I.M., EL HAYAWAN, I.A., NASR, M.E. e EL HAMSHERY, A.H. Observations on possible immunity to reinfection among school children after schistosomiasis treatment. **J Egypt Soc Parasitol**, v.26, n.2, p.443-452. 1996.
- OLDS, G.R. e MAHMOUD, A.A. Role of host granulomatous response in murine schistosomiasis mansoni. eosinophil-mediated destruction of eggs. **J Clin Invest**, v.66, n.6, p.1191-1199. 1980.
- PANCRE, V., WOLOWCZUK, I., GUERRET, S., COPIN, M.C., DELANOYE, A., CAPRON, A. e AURIAULT, C. Protective effect of rSm28GST-specific T cells in schistosomiasis: role of gamma interferon. **Infect Immun**, v.62, n.9, p.3723-3730. 1994.
- PARFITT, K., SWEETMAN, S.C., BLAKE, P.S. e PARSONS, A.V. Corticosteroids. *In*: K. PARFITT. **Martidale - The complete drug reference**. London: Pharmaceutical Press, 32 ed., 1999. p.1010-1051.
- PARRA, J.C., GAZZINELLI, G., GOES, A.M., MOYES, R.B., ROCHA, R., COLLEY, D.G. e DOUGHTY, B.L. Granulomatous hypersensitivity to *Schistosoma mansoni* egg antigens in human schistosomiasis. II. In vitro granuloma modulation induced by polyclonal idiotypic antibodies. **J Immunol**, v.147, n.11, p.3949-3954. 1991.
- PEARCE, E.J., CASPAR, P., GRZYCH, J.M., LEWIS, F.A. e SHER, A. Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. **J Exp Med**, v.173, n.1, p.159-166. 1991.
- PEARCE, E.J., CHEEVER, A., LEONARD, S., COVALESKY, M., FERNANDEZ BOTRAN, R., KOHLER, G. e KOPF, M. *Schistosoma mansoni* in IL-4-deficient mice. **Int Immunol**, v.8, n.4, p.435-444. 1996.

- PEDRAS VASCONCELOS, J.A. e PEARCE, E.J. Type 1 CD8+ T cell responses during infection with the helminth *Schistosoma mansoni*. **J Immunol**, v.157, n.7, p.3046-3053. 1996.
- PRATA, A. Tipos de ovos de *Schistosoma mansoni*. In Bipópsia Retal na Esquistossomose Mansoní. **Serviço Nacional de Educação Sanitária**, v.Rio de Janeiro, p.15-60. 1957.
- PRATA, A. Esquistossomose Mansoní. In: R. VERONESI e R. FOCACCIA. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 1 ed., 1997. v. 2. p.1354-1372.
- PYRRHO, A.S. **Ações da dexametasona na infecção experimental pelo Schistosoma mansoni, Sambon, 1907**. Orientador: IBCCF. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001. 139 p. Ph.D.
- PYRRHO, A.S., LENZI, H.L., RAMOS, J.A., MOURA-NETO, R., CACHEM, F.C., SANTOS DA SILVA, C., TAKIYA, C.M. e GATTASS, C.R. Dexamethasone treatment improves morphological and hematological parameters in chronic experimental schistosomiasis. **Parasitol Res**, v.92, n.6, p.478-483. 2004.
- PYRRHO, A.S., RAMOS, J.A., NETO, R.M., SILVA, C.S., LENZI, H.L., TAKIYA, C.M. e GATTASS, C.R. Dexamethasone, a drug for attenuation of *Schistosoma mansoni* infection morbidity. **Antimicrob Agents Chemother**, v.46, n.11, p.3490-3498. 2002.
- RAMIREZ, F., FOWELL, D.J., PUKLAVEC, M., SIMMONDS, S. e MASON, D. Glucocorticoids promote a TH2 cytokine response by CD4+ T cells in vitro. **J Immunol**, v.156, n.7, p.2406-2412. 1996.
- RATHORE, A., SACRISTAN, C., RICKLAN, D.E., FLORES VILLANUEVA, P.O. e STADECKER, M.J. In situ analysis of B7-2 costimulatory, major histocompatibility complex class II, and adhesion molecule expression in schistosomal egg granulomas. **Am J Pathol**, v.149, n.1, p.187-194. 1996.
- REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 3 ed., 2001. 856 p.
- RIBEIRO, F., VIEIRA CD CDOS, S., FERNANDES, A., ARAUJO, N. e KATZ, N. The effects of immunization with recombinant Sm14 (rSm14) in reducing worm burden and mortality of mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.35, n.1, p.11-17. 2002.

- ROSS, A.G., BARTLEY, P.B., SLEIGH, A.C., OLDS, G.R., LI, Y., WILLIAMS, G.M. e SCHMCMANUS, D.P. Schistosomiasis. **N Engl J Med**, v.346, n.16, p.1212-1220. 2002.
- SADLER, C.H., RUTITZKY, L.I., STADECKER, M.J. e WILSON, R.A. IL-10 is crucial for the transition from acute to chronic disease state during infection of mice with *Schistosoma mansoni*. **Eur J Immunol**, v.33, n.4, p.880-888. 2003.
- SALGADO, C.G., NAKAMURA, K., SUGAYA, M., TADA, Y., ASAHINA, A., FUKUDA, S., KOYAMA, Y., IRIE, S. e TAMAKI, K. Differential effects of cytokines and immunosuppressive drugs on CD40, B7-1, and B7-2 expression on purified epidermal Langerhans cells1. **J Invest Dermatol**, v.113, n.6, p.1021-1027. 1999.
- SANTOS-DA-SILVA, C., CARVALHO, E.A., GONCALVEZ, M.S. e BOROJEVIC, R. Experimental murine schistosomiasis mansoni: inhibition of neutrophil granulocyte inflammatory reaction. **Braz J Med Biol Res**, v.21, n.2, p.273-279. 1988.
- SCHIMMER, B. e PARKER, K. Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. *In*: J. HARDMAN, L. LIMBIRD, P. MOLINOFF, R. RUDDON e A. GOODMAN GILMAN. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. New York: McGraw-Hill, 9 ed., 1996. p.1459-1486.
- SHER, A., COFFMAN, R.L., HIENY, S., SCOTT, P. e CHEEVER, A.W. Interleukin 5 is required for the blood and tissue eosinophilia but not granuloma formation induced by infection with *Schistosoma mansoni*. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.87, n.1, p.61-65. 1990.
- SILVEIRA, A.M., BETHONY, J., GAZZINELLI, A., KLOOS, H., FRAGA, L.A., ALVARES, M.C., PRATA, A., GUERRA, H.L., LOVERDE, P.T., CORREA-OLIVEIRA, R. e GAZZINELLI, G. High levels of IgG4 to *Schistosoma mansoni* egg antigens in individuals with periportal fibrosis. **Am J Trop Med Hyg**, v.66, n.5, p.542-549. 2002.
- SNYDER, D.S. e UNANUE, E.R. Corticosteroids inhibit murine macrophage Ia expression and interleukin 1 production. **J Immunol**, v.129, n.5, p.1803-1805. 1982.
- SOTELO, J. Treatment of brain cysticercosis. **Surg Neurol**, v.48, n.2, p.110-112. 1997.

- STADECKER, M.J. The shrinking schistosomal egg granuloma: how accessory cells control T cell-mediated pathology. **Exp Parasitol**, v.79, n.2, p.198-201. 1994.
- STAVITSKY, A.B. Regulation of granulomatous inflammation in experimental models of schistosomiasis. **Infect Immun**, v.72, n.1, p.1-12. 2004.
- STERLING, K.M., JR., HARRIS, M.J., MITCHELL, J.J., DIPETRILLO, T.A., DELANEY, G.L. e CUTRONEO, K.R. Dexamethasone decreases the amounts of type I procollagen mRNAs in vivo and in fibroblast cell cultures. **J Biol Chem**, v.258, n.12, p.7644-7647. 1983.
- TABARDEL, Y., DUCHATEAU, J., SCHMARTZ, D., MARECAUX, G., SHAHLA, M., BARVAIS, L., LECLERC, J.L. e VINCENT, J.L. Corticosteroids increase blood interleukin-10 levels during cardiopulmonary bypass in men. **Surgery**, v.119, n.1, p.76-80. 1996.
- TALAAT, M., EL-AYYAT, A., SAYED, H.A. e MILLER, F.D. Emergence of *Schistosoma mansoni* infection in upper Egypt: the Giza governorate. **Am J Trop Med Hyg**, v.60, n.5, p.822-826. 1999.
- TANABE, M. Haemostatic abnormalities in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. **Parasitol Int**, v.52, n.4, p.351-359. 2003.
- TENDLER, M., BRITO, C.A., VILAR, M.M., SERRA FREIRE, N., DIOGO, C.M., ALMEIDA, M.S., DELBEM, A.C., DA SILVA, J.F., SAVINO, W., GARRATT, R.C., KATZ, N. e SIMPSON, A.S. A *Schistosoma mansoni* fatty acid-binding protein, Sm14, is the potential basis of a dual-purpose anti-helminth vaccine. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.93, n.1, p.269-273. 1996.
- VAN DAM, G.J., CLAAS, F.H., YAZDANBAKHSH, M., KRUIZE, Y.C., VAN KEULEN, A.C., FERREIRA, S.T., ROTMANS, J.P. e DEELDER, A.M. *Schistosoma mansoni* excretory circulating cathodic antigen shares Lewis-x epitopes with a human granulocyte surface antigen and evokes host antibodies mediating complement-dependent lysis of granulocytes. **Blood**, v.88, n.11, p.4246-4251. 1996.
- VERJOVSKI-ALMEIDA, S., DEMARCO, R., MARTINS, E.A., GUIMARAES, P.E., OJOPI, E.P., PAQUOLA, A.C., PIAZZA, J.P., NISHIYAMA, M.Y., KITAJIMA, J.P., ADAMSON, R.E., ASHTON, P.D., BONALDO, M.F., COULSON, P.S., DILLON, G.P., FARIAS, L.P., GREGORIO, S.P., HO, P.L., LEITE, R.A., MALAQUIAS, L.C., MARQUES, R.C., MIYASATO, P.A., NASCIMENTO, A.L., OHLWEILER, F.P., REIS, E.M., RIBEIRO, M.A., SA, R.G., STUKART, G.C.,

- SOARES, M.B., GARGIONI, C., KAWANO, T., RODRIGUES, V., MADEIRA, A.M., WILSON, R.A., MENCK, C.F., SETUBAL, J.C., LEITE, L.C. e DIAS-NETO, E. Transcriptome analysis of the acoelomate human parasite *Schistosoma mansoni*. **Nat Genet**2003.
- WAHL, S.M., FRAZIER-JESSEN, M., JIN, W.W., KOPP, J.B., SHER, A. e CHEEVER, A.W. Cytokine regulation of schistosome-induced granuloma and fibrosis. **Kidney Int**, v.51, n.5, p.1370-1375. 1997.
- WANG, Z.E., ZHENG, S., CORRY, D.B., DALTON, D.K., SEDER, R.A., REINER, S.L. e LOCKSLEY, R.M. Interferon gamma-independent effects of interleukin 12 administered during acute or established infection due to *Leishmania major*. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.91, n.26, p.12932-12936. 1994.
- WARREN, K.S. The influence of treatment on the development and course of murine hepato-splenic schistosomiasis mansoni. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.56, n.6, p.510. 1962.
- WARREN, K.S. The pathology, pathobiology and pathogenesis of schistosomiasis. **Nature**, v.273, n.5664, p.609-612. 1978.
- WARREN, K.S., DOMINGO, E.O. e COWAN, R.B. Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. **Am J Pathol**, v.51, n.5, p.735-756. 1967.
- WEBSTER, M., FULFORD, A.J., BRAUN, G., OUMA, J.H., KARIUKI, H.C., HAVERCROFT, J.C., GACHUHI, K., STURROCK, R.F., BUTTERWORTH, A.E. e DUNNE, D.W. Human immunoglobulin E responses to a recombinant 22.6-kilodalton antigen from *Schistosoma mansoni* adult worms are associated with low intensities of reinfection after treatment. **Infect Immun**, v.64, n.10, p.4042-4046. 1996.
- WEINER, F.R., CZAJA, M.J., GIAMBRONE, M.A., TAKAHASHI, S., BIEMPICA, L. e ZERN, M.A. Transcriptional and posttranscriptional effects of dexamethasone on albumin and procollagen messenger RNAs in murine schistosomiasis. **Biochemistry**, v.26, n.6, p.1557-1562. 1987.
- WEINMANN, C.J. e HUNTER, G.W. Studies on Schistosomiasis. XIV. Effects of cortisone upon the *Schistosoma mansoni* burden in mice. **Exp Parasitol**, v.9, p.239-242. 1960.

- WEINSTOCK, J.V. e BOROS, D.L. Heterogeneity of the granulomatous response in the liver, colon, ileum, and ileal Peyer's patches to schistosome eggs in murine schistosomiasis mansoni. **J Immunol**, v.127, n.5, p.1906-1909. 1981.
- WEINSTOCK, J.V. e BOROS, D.L. Organ-dependent differences in composition and function observed in hepatic and intestinal granulomas isolated from mice with Schistosomiasis mansoni. **J Immunol**, v.130, n.1, p.418-422. 1983.
- WHITFIELD, P.J., BARTLETT, A., BROWN, M.B. e MARRIOTT, C. Invasion by schistosome cercariae: studies with human skin explants. **Trends Parasitol**, v.19, n.8, p.339-340. 2003.
- WHO. Schistosomiasis. **Tropical Disease Research: Progress 1995-96 - Thirteenth Programme Report of the UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases**. Geneva: 13 ed., 1997. p.62-73.
- WU, C.Y., FARGEAS, C., NAKAJIMA, T. e DELESPESE, G. Glucocorticoids suppress the production of interleukin 4 by human lymphocytes. **Eur J Immunol**, v.21, n.10, p.2645-2647. 1991.
- WYLER, D.J., WAHL, S.M. e WAHL, L.M. Hepatic fibrosis in schistosomiasis: egg granulomas secrete fibroblast stimulating factor in vitro. **Science**, v.202, n.4366, p.438-440. 1978.
- WYNN, T.A. e CHEEVER, A.W. Cytokine regulation of granuloma formation in schistosomiasis. **Curr Opin Immunol**, v.7, n.4, p.505-511. 1995.
- WYNN, T.A., CHEEVER, A.W., JANKOVIC, D., POINDEXTER, R.W., CASPAR, P., LEWIS, F.A. e SHER, A. An IL-12-based vaccination method for preventing fibrosis induced by schistosome infection. **Nature**, v.376, n.6541, p.594-596. 1995a.
- WYNN, T.A., CHEEVER, A.W., WILLIAMS, M.E., HIENY, S., CASPAR, P., KUHN, R., MULLER, W. e SHER, A. IL-10 regulates liver pathology in acute murine Schistosomiasis mansoni but is not required for immune down-modulation of chronic disease. **J Immunol**, v.160, n.9, p.4473-4480. 1998.
- WYNN, T.A., ELTOUM, I., OSWALD, I.P., CHEEVER, A.W. e SHER, A. Endogenous interleukin 12 (IL-12) regulates granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni* and exogenous IL-12 both inhibits and prophylactically immunizes against egg pathology. **J Exp Med**, v.179, n.5, p.1551-1561. 1994.
- WYNN, T.A., JANKOVIC, D., HIENY, S., CHEEVER, A.W. e SHER, A. IL-12 enhances vaccine-induced immunity to *Schistosoma mansoni* in mice and decreases

- T helper 2 cytokine expression, IgE production, and tissue eosinophilia. **J Immunol**, v.154, n.9, p.4701-4709. 1995b.
- WYNN, T.A., REYNOLDS, A., JAMES, S., CHEEVER, A.W., CASPAR, P., HIENY, S., JANKOVIC, D., STRAND, M. e SHER, A. IL-12 enhances vaccine-induced immunity to schistosomes by augmenting both humoral and cell-mediated immune responses against the parasite. **J Immunol**, v.157, n.9, p.4068-4078. 1996.
- YAMASHITA, T. e BOROS, D.L. IL-4 influences IL-2 production and granulomatous inflammation in murine schistosomiasis mansoni. **J Immunol**, v.149, n.11, p.3659-3664. 1992.
- ZOUAIN, C.S., GUSTAVSON, S., OLIVEIRA, S.C., AZEVEDO, V., ALVES, J.B. e GOES, A.M. The role of IL-10 and IgG1 in the protection and granulomatous response in *Schistosoma mansoni* P24-immunized mice. **Vaccine**, v.19, n.9-10, p.1218-1224. 2000.