



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA



FACULDADE DE MEDICINA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prevalência da esquistossomose mielorradicular
em áreas endêmicas na Bahia e estudo da
resposta imunológica na doença

Aluno: Ramon Kruschewsky

Professora Orientadora: Maria Ilma Andrade Santos Araújo

Dissertação de Mestrado

Salvador - BA

2010

Ficha Catalográfica

Universidade Federal da Bahia - Faculdade de Medicina - Biblioteca

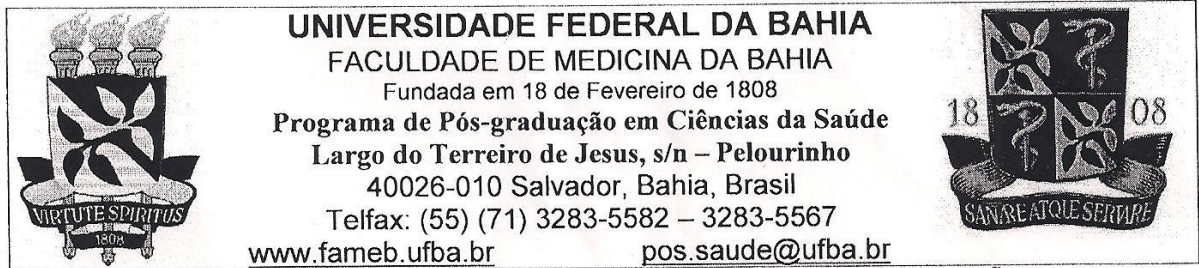
K94p Kruschewsky, Ramon de Almeida.
Prevalência da esquistossomose mielorradicular em áreas
endêmicas na Bahia e estudo da resposta imunológica na doença /
Ramon de Almeida Kruschewsky. – Salvador, 2011.
74 f.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria Ilma Andrade Santos Araújo.

Dissertação (Mestrado em Medicina e Saúde) Universidade Federal da Bahia.
Faculdade de Medicina.

1. Esquistossomose mansoni - Imunologia 2. Schistosoma mansoni- Imunologia. 3.
Esquistossomose mielorradicular - Imunologia 4. Neuroesquistossomos. 5.
Mielorradiculopatia esquistossomose I. Araújo, Maria Ilma Andrade Santos. II.
Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU: 616.995.122 (043.3)






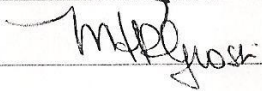
**ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE ARGUIÇÃO E DEFESA
DE DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE.**

1 Aos 17 dias do mês de dezembro de 2010, no horário das 14:00 horas, nas dependências
2 do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da
3 Bahia da Universidade Federal da Bahia, deu-se início à sessão pública para arguição e
4 defesa da dissertação intitulada "**Prevalência da esquistossomose mielorradicular em**
5 **áreas endêmicas na Bahia e estudo da resposta imunológica na doença**" apresentada
6 pelo pós-graduando **Ramon de Almeida Kruschewsky**. A Comissão Examinadora
7 aprovada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde,
8 conforme o que estabelecem o Regulamento Geral dos Cursos de Pós-Graduação da
9 Universidade Federal da Bahia e o Regimento do Programa de Pós-graduação em
10 Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Bahia, foi composta por:

11
12 Profa. Maria Ilma Araújo (Orientadora), PPgCS/FMB/UFBA; Prof. Antonio Andrade
13 de Souza Filho, Faculdade de Medicina da Bahia – UFBA; Profa. Silvane Braga,
14 Serviço de Imunologia-HUPES-UFBA e Profa. Fernanda Grassi, FIOCRUZ-BA. Após
15 a apresentação da dissertação, a Comissão Examinadora realizou a arguição que foi
16 respondida satisfatoriamente pelo mestrando. A dissertação apresentada foi considerada
17 APROVADA. E, para constar do processo de conclusão de curso e de colação de grau¹,
18 a Comissão Examinadora lavrou a presente Ata que é assinada por todos os seus
19 membros.

20
21 A Comissão Examinadora aprova a dissertação:
22 (X) Com recomendações que devem ser incorporadas à versão final da dissertação,
23 dentro do prazo de (até 60) dias;
24 () Sem recomendações de modificações da versão final.

25
26 Assinaturas dos Membros da Banca Examinadora:

27  Maria Ilma Araújo
28
29  Antonio Andrade de Souza Filho
30
31
32  Silvane Braga
33
34  Fernanda Grassi
35

36 Ata Aprovada na Sessão do dia 17/12/2010

37
38 ¹ A emissão do diploma e do histórico escolar está condicionada à entrega, na Secretaria Acadêmica do
39 Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, de oito exemplares da dissertação, acompanhados de
40 versão completa em meio eletrônico (formato pdf).

AGRADECIMENTOS

A Prof^a. Maria Ilma Araújo, mentora por natureza, ensina pelo exemplo, na dedicação pela ciência e nos valores humanos. Muito obrigado pelos ensinamentos, pela solicitude e carinho.

Ao Dr. Octavio Augusto Moreno de Carvalho, professor e colaborador essencial, pela prestimosa colaboração com amostras e sabedoria. Meus eternos agradecimentos.

Ao Professor Edgar Carvalho, pelo apoio, disponibilidade e ensinamentos, sempre.

A Dra Joanemile Pacheco e Robson de Souza, amigos e colaboradores, pelo incomensurável auxílio na realização deste trabalho

A Dra. Silvane Braga e Tania Luna e, pela disponibilização de amostras e resultados utilizados neste estudo. Meu muito obrigado.

Aos amigos colegas do Serviço de Imunologia do HUPES, Dr. Ricardo Riccio, Dra. Maria Cecília Almeida, Givaneide Lima, pelo companheirismo e pelos ensinamentos diários.

Aos colegas e funcionários do Serviço de Imunologia, especialmente a equipe do Laboratório de Alergia e Helminthíases - Dra. Luciana Cardoso, Dr. Régis Campos, Diego Mota, Rafael Jabar, Luciane Lima, Aline Báfica e Giuseppe Tittoni.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – PPGCS, pelo apoio, a infraestrutura, a qualidade dos professores, pesquisadores e funcionários.

A equipe do Serviço de Liquorologia da Bahia (SINPEL), em especial a Antônia Cerqueira Dias, pela ajuda e atenção.

A comunidade de Água Preta - Gandu – Bahia pela generosidade e por ter permitido a realização deste estudo. Em especial a Agente de Saúde local Irene Jesus.

As comunidades do Conde - Bahia pela generosidade e por ter permitido a realização deste estudo. Em especial a Agente de Saúde local Adaliudes da Conceição.

A todos os mestres e professores, em especial Dra Songeli Menezes pelo apoio.

Ao Prof.Dr. Antônio Andrade de Souza Filho, mestre amigo, de suma importância em minha formação profissional, um exemplo a ser seguido.

RESUMO

Dentre as doenças parasitárias, a esquistossomose assume o segundo lugar em termos de importância sócio-econômica e de saúde pública em áreas tropicais e subtropicais. Acomete cerca de 200 milhões de pessoas e estima-se que cerca de 700 milhões de indivíduos vivem em áreas de risco de infecção em todo mundo. Cerca de cinco a 10% dos indivíduos infectados pelo *S. mansoni* evoluem para a forma grave hepato-esplênica da doença, caracterizada por fibrose hepática decorrente da reação inflamatória aos antígenos do ovo e hipertensão portal que podem complicar com hemorragias digestivas e morte. Além do acometimento hepato-esplênico, outras manifestações graves podem ocorrer na esquistossomose mansônica, a exemplo da hipertensão pulmonar e a mieloradiculopatia. A mieloradiculopatia esquistossomótica (MRE) é uma das formas ectópicas mais graves e incapacitantes da infecção pelo *S. mansoni* no Brasil e sua prevalência em regiões endêmicas tem sido subestimada. As manifestações clínicas dependem da interação entre a resposta imune do hospedeiro e os antígenos do parasito no sistema nervoso. O papel das citocinas na indução da formação do granuloma na mieloradiculopatia esquistossomótica ainda não está completamente elucidado. O objetivo deste estudo é estimar a prevalência de MRE em duas áreas endêmicas no interior da Bahia e avaliar a resposta imune em pacientes com MRE atendidos no Hospital Universitário Prof. Edgar Santos no período de Março de 2009 a Agosto de 2010. Foi observado que a prevalência da MRE foi de 0,31 e 0,45% no Conde e Água Preta, respectivamente. Os níveis de IgE e de IgG4 específicos para SEA e SWAP, como esperado, foram mais elevados no grupo de pacientes com MRE do que nos grupos controles, constituídos por pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (HTL) e indivíduos que submeteram-se a punção líquórica por motivos diversos e foram negativos para MRE e HTLV-1 (CON). Citocinas do padrão Th1, Th2, Th17 e Tregulatória, além das quimiocinas MIP-1 α e RANTES foram dosadas no líquido e soro dos três grupos do estudo. Observou-se que os níveis de IL-13 e MIP-1 α foram significativamente maiores no LCR e no soro de pacientes com MRE comparados com os pacientes HTL. Os níveis de IL-17 e de RANTES foram maiores no LCR dos pacientes MRE do que naqueles do HTL. Por outro lado, os níveis de IL-10 no soro e no LCR não diferiram

significativamente entre os grupos. A avaliação das razões e correlações entre os níveis das diferentes citocinas e quimiocinas mostrou um predomínio nos níveis de IL-5 e IL-13 sobre INF- γ , enquanto IL-13, MIP-1 α e RANTES predominaram sobre IL-10 no líquido dos pacientes com MRE. Houve também uma correlação negativa entre IL-17 e IL-10 no LCR destes pacientes. Esses dados sugerem que as citocinas e quimiocinas do padrão Th2 e Th17, não sendo moduladas pela resposta do tipo Th1 e Tregulatória, devem constituir importantes fatores na imunopatogênese da MRE.

ABSTRACT

Among the parasitic diseases, schistosomiasis takes second place in terms of socio-economic and public health problems in tropical and subtropical areas. It affects about 200 million people worldwide and it is estimated that 700 million people live in areas at risk of infection. About five to 10% of individuals infected with *S. mansoni* develop a severe hepatosplenic form of the disease. This form is characterized by hepatic fibrosis caused by an inflammatory response to egg antigens, as well as portal hypertension that may result in digestive bleeding and death. Besides the hepatosplenic form of the disease, other severe manifestations can occur in schistosomiasis, such as pulmonary hypertension and myeloradiculopathy. Myeloradiculopathy (SMR) is one of the most severe and disabling ectopic infections caused by *S. mansoni* in Brazil, and its prevalence in endemic regions has been underestimated. Clinical manifestations depend on the interaction between the host immune response to parasite antigens in the nervous system. The role of cytokines in the induction of granulomatous reaction in SMR has not yet been fully elucidated. The aim of this study was to estimate the prevalence of SMR in two endemic areas in Bahia and evaluate the immune response in SMR patients followed at the Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, HUPES, UFBA during the period of March 2009 to August 2010. It was observed that the prevalence of SMR was 0.31 and 0.45% in Conde and Água Preta, respectively. The levels of IgE and IgG4 specific to SWAP and SEA, as expected, were higher in patients with SMR than in control groups consisting of patients with neurological manifestations associated with HTLV-1 (HTL) as well as individuals who underwent CSF evaluation for different reasons and were negative for HTLV-1 and SMR (CON). Cytokines from Th1, Th2, Th17 and T regulatory profiles, besides the chemokines MIP-1 α and RANTES, were measured in cerebrospinal fluid and serum of the three studied groups. It was observed that levels of IL-13 and MIP-1 α were significantly higher in CSF and serum of SMR patients compared to HTL patients. The levels of IL-17 and RANTES were higher in the CSF of the SMR group than in the HTL group. However, levels of IL-10 in serum and CSF did not differ significantly between groups. The evaluation of the ratio and correlations between levels of different cytokines and chemokines showed predominance in the levels of IL-5 and IL-13 over IFN- γ , while IL-13, MIP-1 α and RANTES showed predominance over IL-10 in CSF of SMR patients. A negative

correlation between IL-17 and IL-10 in CSF of these patients were also observed. These data suggest that cytokines and chemokines from the Th2 and Th17 profiles, which are not modulated by the Th1 and Tregulatory responses, may be important factors in the immunopathogenesis of SMR.

ÍNDICE DE FIGURA

<u>FIGURA 1 LOCALIZAÇÃO DOS MUNICÍPIOS DE GANDU E DE CONDE - BAHIA ..ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.3</u>	
<u>FIGURA 2. NÍVEIS DE IGE ESPECÍFICO PARA SEA NO LÍQUOR (LCR) E SORO DE PACIENTES COM MIELORADICULOPATIA.....</u>	32
<u>FIGURA 3. NÍVEIS DE IGE ESPECÍFICOS PARA SWAP NO LCR DOS PACIENTES COM MR.....</u>	33
<u>FIGURA 4 NÍVEIS DE IGG4 ESPECÍFICOS PARA SEA NO LCR DOS PACIENTES COM MRE</u>	34
<u>FIGURA 5. NÍVEIS DE IGG4 ESPECÍFICOS PARA SWAP NO LCR DOS PACIENTES COM MRE.....</u>	35
<u>FIGURA 6. FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE DA IGE ESPECÍFICA PARA SEA E SWAP NO SORO E NO LCR NOS DIFERENTES GRUPOS AVALIADOS.....</u>	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.6
<u>FIGURA 7. FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE DA IGG4 ESPECÍFICA PARA SEA E SWAP NO SORO E NO LCR DOS DIFERENTES GRUPOS AVALIADOS.....</u>	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
<u>FIGURA 8. NÍVEIS DE IL-5 EM PG/ML</u>	38
<u>FIGURA 9. NÍVEIS DE IL-13 EM PG/ML</u>	39
<u>FIGURA 10. NÍVEIS DE INF-γ EM PG/ML NO LCR E SORO DOS PACIENTES.....</u>	40
<u>FIGURA 11. NÍVEIS DE IL-17 EM PG/ML NO LCR E SORO DOS PACIENTES</u>	40
<u>FIGURA 12. NÍVEIS DE MIP-1A EM PG/ML NO LCR E SORO DOS PACIENTES.....</u>	42
<u>FIGURA 13. NÍVEIS DE RANTES EM PG/ML NO LCR DOS PACIENTES</u>	43
<u>FIGURA 14. VALORES DA RAZÃO ENTRE IL-5 E IL-10 NO LCR DOS PACIENTES.....</u>	44
<u>FIGURA 15 VALORES DA RAZÃO ENTRE IL-13 E IL-10 NO LCR DOS PACIENTES.....</u>	44
<u>FIGURA 16. VALORES DA RAZÃO ENTRE IL-5 E INF-γ NO LCR E SORO DOS PACIENTES</u>	45
<u>FIGURA 17. VALORES DA RAZÃO ENTRE IL-13 E INF-γ NO LCR E SORO DOS PACIENTES</u>	46
<u>FIGURA 18. VALORES DA RAZÃO ENTRE IL-17 E INF-γ NO LCR E SORO DOS PACIENTES</u>	46
<u>FIGURA 19. VALORES DA RAZÃO ENTRE IL-17 E IL-10 NO LCR DOS PACIENTES.....</u>	47
<u>FIGURA 20. VALORES DA RAZÃO ENTRE MIP-1A E IL-10.....</u>	48
<u>FIGURA 21. VALORES DA RAZÃO ENTRE RANTES E IL-10.....</u>	48

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Características demográficas e queixas neurológicas nos indivíduos da região do Conde e Água Preta28

Tabela II. Características demográficas e queixas neurológicas nos pacientes com diagnóstico de mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE), pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (HTL) e controles (CON).....29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CON	Indivíduos com sorologias negativas para MRE e HTLV-1
ELISA	Ensaio imunoadsorvente ligado à enzima
HTL	Indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1
HTLV-1	Vírus linfotrópico T humano tipo 1
HUPES	Hospital Universitário Professor Edgard Santos
Ig	Imunoglobulina
IL-	Interleucina
LCR	Liquorcefalorraquidiano
MIP-1α	Do inglês “Macrophage inflammatory protein 1 alpha”
MRE	Mielorradiculopatia Esquistossomótica
PHA	Fitohemaglutinina
RANTES	Do inglês “regulated on activation normal T cells expressed and secreted”
SEA	Antígeno solúvel do ovo do <i>S. mansoni</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SWAP	Antígeno solúvel do verme adulto do <i>S. mansoni</i>
Th	T auxiliador (“helper”)
UFBA	Universidade Federal da Bahia
HAM/TSP	Paraparesia Espástica Tropical / Mielopatia associada ao HTLV-1

ÍNDICE

I Introdução	13
I.1 Manifestações Clínicas da Mielorradiculopatia Esquistossomótica	14
I.2 Patogenia da Mielorradiculopatia Esquistossomótica	15
I.2.1 Imunopatogênese da Mielorradiculopatia Esquistossomótica	17
II Hipótese	19
III Objetivo	19
III.1 Objetivo Geral	19
III.2 Objetivos Específicos	19
IV Metodos	20
IV.1 Para o Objetivo 1	20
IV.1.1 Desenhos do estudo	20
IV.1.2 ÁREAS ENDÊMICAS EM ESQUISTOSSOMOSE	20
IV.1.3 Para o Objetivos 2 e 3	21
IV.2 Critérios de Inclusão	22
IV.3 Critérios de Exclusão	23
IV.3.1 Obtenção do Líquido Céfalorraqueano (LCR)	23
IV.4 Obtenção do Soro	23
IV.5 Dosagem de IgE e IgG4 específicas para SWAP e SEA	23
IV.6 Avaliação dos níveis de citocinas e quimiocinas	24
IV.7 Análise dos dados	24
IV.8 Considerações Éticas	25
V.0 Resultados	26
V.1 Avaliação da prevalência de mielorradiculopatia associada à infecção pelo <i>S. mansoni</i> nas áreas do Conde e Água Preta-BA	26
V.2 Avaliação da resposta imunológica em pacientes com diagnóstico de mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE) atendidos no HUPES-UFBA, pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (HTL) e controles (CON)	27

V.2.1 Níveis de anticorpos no líquido e no soro dos pacientes com MRE, Controles e HTLV-1.....	28
V.2.2 Níveis de citocinas do perfil Th2 (IL-5 e IL-13) no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.....	34
V.2.3 Níveis de citocinas do perfil Th1/Th17 (IFN- γ e IL-17) no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.....	36
V.2.4 Níveis da citocina regulatória IL-10 no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.....	38
V.2.5 Níveis de quimiocinas (MIP-1 α e RANTES) no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.	38
V.2.6 Razões entre as citocinas dos perfis Th1 (IFN- γ), Th2 (IL-5 e IL-13), Th17 (IL-17) e Tregulatório (IL-10), comparado com o encontrado no grupo controle e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.....	40
V.2.7 Análise de correlação entre citocinas do perfil Th2 (IL-4 e IL-13), Th1 (IFN- γ), Th17 (IL-17) e quimiocinas (MIP1- α e RANTES) versus T regulatório (IL-10)	46
VI Resumo dos Resultados.....	46
VII Discussão	48
VIII Conclusão.....	54
IX Referências.....	55
X. Anexo 1 Questionário de investigação de sintomas mielorradicular	62
XI Anexo 2 Parecer do Comitê de Ética.....	64
XII Anexo 3 Termo de Consentimento livre e esclarecido	66
XIII Anexo 3 Termo de Consentimento livre e esclarecido para crianças.....	70

I Introdução

A esquistossomose é a segunda doença parasitária em termos de importância sócio-econômica e de saúde pública em áreas tropicais e subtropicais. É uma doença crônica e debilitante que afeta cerca de 200 milhões de pessoas em todo o mundo. No Brasil estima-se que de 10 a 12 milhões de pessoas estejam infectados pelo *Schistosoma mansoni* (Lambertucci, Rocha e cols., 1987; Who, 2002). O estado da Bahia possui uma das maiores prevalências com cidades que apresentam proporções superiores a quinze por cento (Coura e Amaral, 2004). Apesar da distribuição da helmintíase ter modificado nas últimas décadas, o número de pessoas infectadas ou com risco de serem infectadas não diminuiu e continua a se espalhar para outras regiões geográficas (Chitsulo, Engels e cols., 2000; Ross, Bartley e cols., 2002) assim como a disseminação da doença da área rural para urbana (Andrade, 1998). O crescimento e a migração populacional associado à facilitação e velocidade dos meios de transporte aumentaram a chance da exposição ao parasito permitindo a disseminação da infecção a níveis internacionais (Makinson, Morales e cols., 2008).

O envolvimento do sistema nervoso pela esquistossomose é denominado Neuroesquistossomose (NE), o quadro nem sempre é sintomático, pode ser resultante do acometimento cerebral ou mielorradicular, sendo este último o mais prevalente. A mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE) pode ser resultante da inflamação da medula espinhal (mielite) e ou das raízes nervosas (radiculite) (Pittella, 1997) e apesar de ser rara quando sintomática constitui uma das formas mais graves da doença. Em áreas endêmicas na Tanzânia, a esquistossomose foi considerada responsável por 1% dos casos de paraplegia não traumática e foi a causa presumida em outros 5% (Scrimgeour, 1981). No Malawi metade dos pacientes com mielopatia não traumática admitidos em um centro de reabilitação foi presumidamente causada pela esquistossomose (Naus, Chipwete e cols., 2003), enquanto em Camarão um estudo de 6 anos com 224 pacientes admitidos no hospital por mielopatia não traumática não houve registro de neuroesquistossomose, entretanto nenhuma etiologia foi encontrada em 21,1% dos casos (Lekoubou Lotti, Kengne e cols.). No Brasil a MRE foi responsável por 5,6% dos casos entre 353 pacientes com mielopatias não-traumáticas e não-tumorais internados em um

hospital em São Paulo (Spina-Franca, Salum e *cols.*, 1980) e em Brasília foi responsável por 5,6% das mielopatias inflamatórias (Carod Artal, Vargas e *cols.*, 2004). Estes trabalhos foram realizados na sua grande maioria com pacientes que tiveram acesso ao sistema hospitalar terciário, desta forma, é possível que um número significativo de casos de mielopatia de etiologia indefinida em áreas endêmicas de esquistossomose esteja relacionado à MRE (Suchet, Klein e *cols.*, 1987; Peregrino, De Oliveira e *cols.*, 1988; Joubert, Fripp e *cols.*, 1990) e a prevalência da NE em regiões endêmicas permanece desconhecida (Joubert, Fripp e *cols.*, 1990; Santos, Campos e *cols.*, 2001). No início da última década houve um aumento no número de casos relatados (Andrade Filho Ade, Reis e *cols.*, 1996; Nobre, Silva e *cols.*, 2001; Santos, Campos e *cols.*, 2001; Peregrino, Puglia e *cols.*, 2002; Ferrari, 2004; Silva, Maciel e *cols.*, 2004), o que demonstra que sua identificação aumentou assim que o conhecimento sobre esta apresentação da doença se difundiu, o que fortalece a concepção de que a MRE seja subdiagnosticada (Carod-Artal, 2008; Ferrari, Gazzinelli e *cols.*, 2008; Ferrari, 2010) e a morbidade desta forma clínica também tem sido subestimada (Peregrino, De Oliveira e *cols.*, 1988; Ferrari, Correa-Oliveira e *cols.*, 1999; Lambertucci, Serufo e *cols.*, 2000).

I.1 Manifestações Clínicas da Mielorradiculopatia Esquistossomótica

A mielorradiculopatia esquistossomótica pode ocorrer em homens e mulheres em qualquer idade. Pode se manifestar sem história clínica prévia ou diagnóstico de esquistossomose ou mesmo muitos anos após o desaparecimento de manifestações intestinais da infecção pelo parasita. A prevalência é maior em jovens e crianças do sexo masculino, este aspecto é parcialmente justificado pela maior exposição à água contaminada, principalmente em zona rural, outro fator é o esforço físico ou trauma abdominal que promove o aumento da pressão abdominal, considerado fator importante por alguns autores (Lambertucci, Silva e *cols.*, 2007).

A MRE se apresenta freqüentemente como uma tríade prodrômica caracterizada por dor lombar (97,5% dos casos), alterações de sensibilidade de membros inferiores (97,5%), e disfunção urinária (96,2%), que evolui com fraqueza de membros inferiores e impotência sexual (Peregrino, Puglia e *cols.*, 2002). Essas

manifestações neurológicas surgem de forma aguda ou subaguda, com piora progressiva e acumulativa de sinais e sintomas, instalando-se o quadro clínico neurológico completo geralmente em 15 dias. Ocasionalmente, essa evolução pode ser lenta e ocorrer ao longo de meses ou anos (Lighter, Kim e cols., 2008). Em alguns casos, a dor lombar ou em membros inferiores regride ou desaparece à medida que os outros sinais e sintomas vão surgindo ou se tornando mais evidentes. Observa-se, eventualmente, melhora clínica espontânea. Quando ocorre, entretanto, há recorrência das manifestações neurológicas (Carod-Artal, 2008).

I.2 Patogenia da Mielorradiculopatia Esquistossomótica

Os sintomas decorrentes da NE dependem da presença do ovo do parasito no sistema nervoso e da resposta imune do hospedeiro (Carod-Artal, 2008). A resposta inflamatória pode variar de reação intensa resultando em granulomas ou massas expansivas, até reação mínima sem expressão clínica (Luyendijk e Lindeman, 1975).

O *S. mansoni* habita o sistema porto-mesentérico humano põe os ovos nos capilares intestinais, que podem ganhar a circulação porto-hepática e alcançarem os espaços porta, levando à formação de granulomas, que são caracterizados pela reação inflamatória aos antígenos do ovo, seguida da produção de colágeno, podendo evoluir para um quadro de fibrose hepática. Ocasionalmente pode ocorrer localização ectópica dos vermes adultos ou dos ovos, sendo o sistema nervoso central (SNC) um dos locais mais atingidos (Andrade e Bastos, 1989).

A mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE) ocorre nas fases iniciais da infecção, durante sua progressão para a fase crônica ou concomitante com as formas digestivas leve, apesar de o ovo poder atingir o sistema nervoso central em qualquer momento após a ovoposição (Ferrari, Moreira e cols., 2008). A propagação do ovo pode ocorrer através do fluxo venoso retrógrado, avalvular vertebral epidural de Batson, que comunica a veia cava inferior, veias ilíacas e o sistema venoso portal com as veias da medula espinhal, permitindo a embolização dos mesmos (Pittella e Lana-Peixoto, 1981; Carod Artal, Vargas e cols., 2004). Este fluxo retrógrado fica maior quando aumenta a pressão intra-abdominal, durante a evacuação, tosse ou

trauma, por exemplo. Esse mecanismo poderia explicar a maior incidência de mielopatia na região lombosacra. Também existe a hipótese de que ocorre a migração anômala de vermes adultos em cópula através das veias leptomeningeal com deposição dos ovos *in situ* (Pittella, 1991; Carod Artal, Vargas e cols., 2004). O achado freqüente de numerosos ovos dentro de uma área circunscrita da medula espinhal também apóia esta hipótese de oviposição em situ, assim como o tamanho do ovo e a presença da espícula lateral que dificulta o fluxo nos vasos sanguíneos, retendo nas porções inferiores da medula espinhal (Nascimento-Carvalho e Moreno-Carvalho, 2005).

A propagação do ovo do *S. mansoni* para o cérebro ocorre usualmente nas formas crônicas graves. Os ovos são depositados randomicamente em regiões do cérebro bastante vascularizadas. Essa deposição ectópica anômala dificilmente ocorre pelo plexo venoso de Batson, provavelmente os ovos são liberados no sistema porto - cava e alcançam o cérebro através de shunts pulmonares ou portal de derivações arteriovenosas pulmonares em pacientes com doença hepatoesplênica avançada (Pittella, 1997) Este percurso pode ser facilitado pela hipertensão portal nos casos mais graves. No entanto, na maioria dos pacientes com sintomas neurológicos causados por esquistossomose mielorradicular é muito improvável que tiveram desvio portossistêmico devido à doença hepatoesplênica em vista a sua breve exposição à infecção pelo *S. mansoni*, corroborada pelos achados normais no ultra-som abdominal ou tomografia computadorizada abdominal. Evidências do envolvimento hepatoesplênica é mínima ou inexistente na maioria dos pacientes que sofreram mielopatia aguda devido à infecção pelo *S. mansoni* (Carod Artal, Vargas e cols., 2004; Saleem, Belal e cols., 2005).

Uma vez depositado no sistema nervoso central, assim como acontece em outros órgãos ou tecidos, o miracídio maduro secreta substâncias imunogênicas e antigênicas através dos poros da casca promovendo uma reação celular granulomatosa periovular. O tempo de vida médio deste embrião é de 18 a 20 dias, a resposta imune a estes ovos inicialmente é leve com a maturação do miracídio e após 4 a 8 dias evolui para um granuloma completo que, após a morte e desintegração do embrião, inicia sua involução e posteriormente ocorre a cicatrização tecidual. Nas fases iniciais da doença a resposta imune contra os

antígenos liberados pelos ovos atingem seu ápice de intensidade promovendo a formação do granuloma necrótico exudativo. O depósito de vários ovos rodeado pela reação granulomatosa em uma região circunscrita do SNC lesa o tecido neural tanto pelo efeito de massa quanto pela inflamação. A produção de citocinas e a formação de imunocomplexos também é elevada nesta fase. Com a progressão da doença para a fase crônica a resposta granulomatosa é modulada para baixo, formando granulomas progressivamente menores (Pittella, 1997), justificando assim a ausência de sintomas neurológicos nas formas crônicas hepatopulmonar e cardiopulmonar (Scrimgeour, 1981; Ferrari, 2004). Existem variações na intensidade da reação granulomatosa relacionada à resposta imune individual (Ferrari, Gazzinelli e cols., 2008).

I.2.1 Imunopatogênese da Mielorradiculopatia Esquistossomótica

A patologia relacionada com a infecção esquistossomótica é predominantemente devido à resposta imune celular. A reação granulomatosa periovular é orquestrada pelos linfócitos T CD4+ e envolvem monócitos, eosinófilos, linfócitos e fatores solúveis. Estudos que visam esclarecer os respectivos papéis das citocinas tipo Th1 (interferon gama [IFN- γ], interleucina-2 [IL-2] e fator de necrose tumoral alfa [TNF- α]) e tipo Th2 (IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13), bem como da IL-10 na formação dos granulomas têm demonstrado que a resposta imune na fase aguda inicial da infecção é do perfil Th1, ocorrendo posteriormente um desvio para o tipo Th2 em virtude da produção de IL-4 e IL-10 induzidas pelos antígenos dos ovos (Nascimento-Carvalho e Moreno-Carvalho, 2005). Como um mecanismo da resposta imune para proteger o hospedeiro e possivelmente para evitar que esta reação granulomatosa evolua para fibrose, ocorre modulação da resposta Th2, de forma que na fase crônica existe um predomínio de resposta regulatória (Dunne, 2005). Embora os granulomas possam ser prejudiciais eles seqüestram efetivamente os antígenos secretados pelos ovos (Caldas, Campi-Azevedo e cols., 2008).

Dosagens de citocinas intratecais e do soro de pacientes com MRE comparados com indivíduos não infectados, demonstraram um padrão de resposta imune do perfil Th2, com elevados níveis de IL-4, IL-6, IL-13 e IL-10 e baixos níveis de TNF- α e INF- γ , tanto localmente quanto sistematicamente (Ferrari, Moreira e cols., 2008). Em suma, os dados descritos acima sugerem que a resposta imune do

tipo Th2 pode participar da patogênese da MRE, provavelmente por promover e regular a reação granulomatosa. No entanto esses mecanismos ainda não foram bem elucidados.

Alguns estudos sugerem que a IL-10 e IL-4 são fatores importantes para o controle da morbidade em indivíduos infectados pelo *S. mansoni* em ambas as fases aguda e crônica da infecção (Araujo, De Jesus e cols., 1996; Malaquias, Falcao e cols., 1997; Wynn, Cheever e cols., 1998; Montenegro, Miranda e cols., 1999). O SNC é um sítio imunologicamente privilegiado, separado do resto do corpo pela barreira hematoencefálica, portanto, a resposta à invasão do SNC pelos ovos podem ter alguma peculiaridade que deve ser considerada nos estudos da imunopatogenia da MRE. Quanto à resposta humoral na neuroesquistossomose, têm sido demonstrados anticorpos específicos para antígenos do *S. mansoni* de diferentes classes e subclasses no líquido (Livramento, Machado e cols., 1985; Magalhaes-Santos, Lemaire e cols., 2003). A detecção de IgG contra antígeno solúvel do ovo de *S. mansoni* (SEA) no liquorcefalorraquidiano (LCR) pelo método ELISA tem sido utilizada como uma ferramenta de diagnóstico para MRE (Ferrari 1995). Em condições normais, os anticorpos não são encontrados no CNS. Sua presença no LCR indica a difusão de moléculas de imunoglobulinas através de uma quebra da barreira hematoencefálica e / ou síntese local de anticorpos pelas células imunocompetentes que entraram no SNC, estando à síntese intratecal como mecanismo mais evidente (Ferrari, Correa-Oliveira e cols., 1999; Magalhaes-Santos, Lemaire e cols., 2003). Outra causa de mielopatia bastante prevalente em nosso meio decorre da infecção pelo HTLV-1, e enquanto a patogênese da neuroesquistossomose parece envolver a resposta imune do tipo Th2, na mielopatia associada ao HTLV-1 à patogênese decorre da resposta do tipo Th1 exacerbada, com alta produção de IFN- γ e TNF (Santos, Porto e cols., 2006).

Neste estudo, além da avaliação da resposta imune no soro e LCR de pacientes com MRE, foi realizada avaliação da resposta imune em soro e LCR de indivíduos infectados pelo HTLV-1 que desenvolveram alguma manifestação neurológica como bexiga neurogênica ou paraparesia espástica e um segundo grupo controle composto por indivíduos submetidos à investigação neurológica

devido a uma polineuropatia com resultados sorológicos para HTLV e *S. mansoni* negativos.

II Hipótese

A mielorradiculopatia esquistossomótica deve ocorrer em áreas endêmicas em esquistossomose sendo sub-notificada, e fatores da resposta imune devem interferir com o desenvolvimento da doença.

III Objetivo

III. 1 Objetivo Geral

1- Avaliar a prevalência da mielorradiculopatia esquistossomótica em populações das áreas endêmicas para *S. mansoni* na Bahia, Água Preta e Conde.

2 - Caracterizar a resposta imune no soro e no líquido cefalorraquidiano de pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica atendidos no HUPES-UFBA, comparando-se com indivíduos com manifestações neurológicas associadas à infecção pelo HTLV-1 e controles negativos para *S. mansoni* e HTLV-1.

III. 2 Objetivos Específicos

1. Avaliar a prevalência de casos de mielorradiculopatia decorrente da infecção pelo *S. mansoni* nas áreas do Conde e Água Preta-BA;

2. Avaliar os níveis de IgE e de IgG4 específicos para os antígenos do verme adulto (SWAP) e do ovo (SEA) do *S. mansoni*, no soro e líquido de pacientes com neuroesquistossomose, comparando-se com líquido cefalorraquidiano e soro de pacientes com manifestações neurológicas associadas a infecção pelo HTLV-1 e de indivíduos controles submetidos a investigação neurológica por outras causas com sorologia negativa para HTLV e *S. mansoni*.

3. Avaliar o perfil de citocinas Th1 (IFN- γ), Th2 (IL-5 e IL-13), Th17 (IL-17A) e T regulatória (IL-10), e das quimiocinas MIP-1 α e RANTES no soro e líquido de pacientes com neuroesquistossomose, comparando-se com líquido cefalorraquidiano e soro de pacientes com manifestações neurológicas associadas a infecção pelo HTLV-1 e de controles submetidos a investigação neurológica por outras causas com sorologia negativa para HTLV e *S. mansoni*.

IV Métodos

IV.1 Para o Objetivo 1

IV.1.1 Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo seccional da população de duas áreas endêmicas em esquistossomose (Água Preta e Conde), que foi avaliada quanto a prevalência de sintomas da mielorradiculopatia esquistossomótica, onde aqueles indivíduos que aceitaram participar responderam a um questionário (anexo 1) padronizado com questões referentes aos sintomas da MRE. Aqueles que apresentaram sintomas sugestivos da MRE foram submetidos ao exame físico neurológico.

IV.1. 2 Áreas endêmicas em esquistossomose

Água Preta é um lugarejo pertencente ao município de Gandu, Bahia, localizado no Litoral Sul, a 280 km de Salvador (Figura 1). O povoado de Água Preta compreende uma comunidade residente na vila principal e moradores de fazendas da vizinhança, totalizando cerca de 500 habitantes.

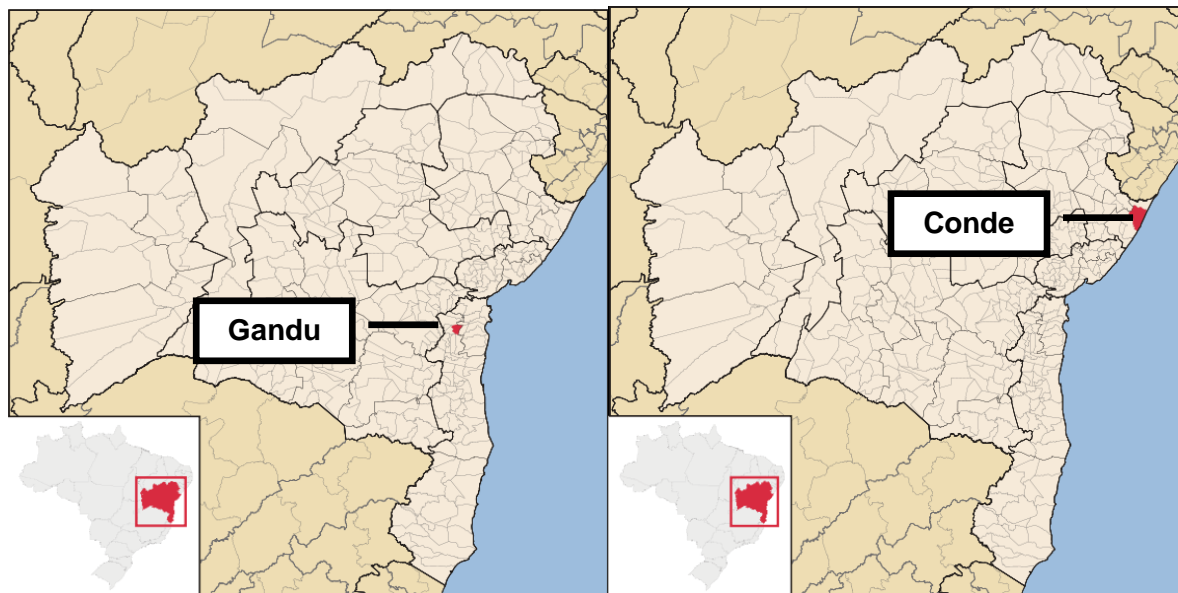


Figura 1 Localização dos municípios de Gandu e de Conde - Bahia. Fonte: Wikipédia, 2010

As condições sanitárias da região são precárias, colocando os moradores sob alto risco de infecções parasitárias. A principal fonte de renda da população é a agricultura e a água do rio é utilizada para banho, lavagem de roupas e utensílios,

além do lazer. O acesso da população aos Serviços de Saúde é difícil e existem apenas relatos de tratamentos prévios esporádicos com anti-helmínticos. Um estudo realizado em 2008 pelo grupo do Serviço de Imunologia do HUPES-UFBA, demonstrou que cerca de 62% da população do povoado de Água Preta está infectada pelo *S. mansoni* e este parasito constitui o helminto mais frequente nessa população, seguido pelos parasitos *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, Ancilostomídeos e *Strongyloides stercoralis* cujas frequências foram, respectivamente, 43,4%, 37,4%, 33,7% e 3,5%.

A outra região estudada foi um aglomerado de vilarejos do Conde (Figura 1), município baiano localizado a aproximadamente 162 km de Salvador, o qual vem sendo acompanhada pelo Serviço de Imunologia do HUPES desde 2001. O acesso a esta é pela linha verde independente do município, a estrada é de barro com restrições do acesso em períodos de chuva intensa, a população é constituída por cerca de 1000 habitantes que se distribuem nos vilarejos de Sempre Viva, Camarões, Jenipapo e Buri, os quais usualmente utilizam os rios que passam pela região, nos seus afazeres domésticos, para o lazer e como fonte de renda, já que a economia da região baseia-se principalmente na pesca. Por ser um local de difícil acesso, no ano de 2001 os moradores ainda não dispunha de cuidados médicos, como consultas, exames ou medicamentos, a isso se somam o fato das residências não possuírem energia elétrica, esgotamento sanitário ou água encanada. A prevalência da infecção pelo *S. mansoni* na ocasião foi de 90,2% (Araujo, Hoppe e cols., 2004). O último inquérito parasitológico realizado em 2008, pelo grupo do Serviço de Imunologia do HUPES-UFBA, mostrou uma prevalência de 43%.

IV.1 Para os Objetivos 2 e 3

Os objetivos 2 e 3 incluem avaliação dos níveis de IgE e IgG4 específicos para os antígenos do verme adulto (SWAP) e do ovo (SEA) do *S. mansoni*, bem como avaliação imunológica no soro e líquido de pacientes com neuroesquistossomose, comparando-se com estas mesmas amostras de pacientes com manifestações neurológicas associadas a infecção pelo HTLV-1 e de indivíduos controles submetidos a investigação neurológica por outras causas, tendo sorologia negativa para HTLV-1 e *S. mansoni*.

A avaliação imunológica constou da dosagem de citocinas e quimiocinas no soro e líquor de pacientes com diagnóstico presuntivo de mielorradiculopatia esquistossomótica atendidos no HUPES-UFBA, ou pelo Serviço de Liquorologia da Bahia (SINPEL) no período de março de 2009 a Agosto de 2010. O segundo grupo foi de indivíduos com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 acompanhados no HUPES-UFBA e o terceiro grupo foi formado por indivíduos sob investigação neurológica por outros motivos, como polineuropatias, com sorologias negativas, atendidos no Serviço de Liquorologia da Bahia (SINPEL). Todos foram submetidos à punção líquórica e coleta de sangue como parte rotineira de sua investigação diagnóstica.

O diagnóstico presuntivo da MRE foi realizado pela presença de evidências clínicas de lesão medular baixa ou de cauda eqüina com exclusão de outras causas através de exames complementares como ressonância magnética, dosagem de cianocobalamina, anticorpos antinuclear, sorologias negativas para hepatite B, HIV, Sífilis, herpes simples e HTLV 1 e 2. O diagnóstico das manifestações neurológicas associada a infecção pelo HTLV-1 foi estabelecido pelos critérios vigentes da Organização Mundial de Saúde, alguns destes pacientes apresentam somente a bexiga hiperativa associada a infecção pelo HTLV-1, estes pacientes foram atendidos no HUPES-UFBA no período de Março de 2009 a Agosto de 2010.

IV.2 Critérios de Inclusão

Indivíduos de qualquer gênero e idade, moradores das regiões endêmicas de Água Preta e Conde, para o objetivo 1. Para o objetivo 2 e 3 foram incluídos pacientes com diagnóstico de mielorradiculopatia esquistossomótica. Para o grupo controle foram incluídos pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV atendidos no HUPES-UFBA e indivíduos que foram submetidos a investigação neurológica por punção lombar para estudo do líquor, com sorologias negativas para MRE e HTLV-1.

IV.3 Critérios de Exclusão

Não foram admitidos no estudo: 1. Mulheres grávidas; 3. Indivíduos portadores de doenças crônicas ou que não colaboraram com o estudo; 4. Pacientes com história de trauma raquimedular. 5. Indivíduos em uso de imunossupressores.

IV.3.1 Obtenção do Líquido Céfalorraqueano (LCR)

O LCR foi obtido em ambiente hospitalar por profissional especialista neste procedimento, através da punção lombar. Cinco mililitros da amostra coletada foram doados para o presente estudo e foi armazenada sob refrigeração a -20° Celsius até o momento de sua utilização.

IV.4 Obtenção do soro

No momento da coleta do LCR, aproximadamente 7 ml de sangue de cada indivíduo foi coletado em tubo seco para a posterior obtenção de soro. O tubo contendo a amostra foi deixado à temperatura ambiente por pelo menos 1 hora para que ocorresse a retração do coágulo. Posteriormente a amostra foi levada à centrifuga por cinco minutos a 1.500 rotações por minuto. O soro foi separado com o auxílio de uma micropipeta de 1ml em duas alíquotas, que foram transferidas para tubos plásticos devidamente tampados e identificados com o código do indivíduo e data da coleta. Estas amostras foram então mantidas sob refrigeração a -20° Celsius até o momento de sua utilização.

IV.5 Dosagem de IgE e IgG4 específicas para SWAP e SEA

As dosagens de IgE e IgG4 específicas para os antígenos solúveis do verme adulto (SWAP) e do ovo (SEA) do *S. mansoni* foram realizadas utilizando-se a técnica de ELISA. As placas foram sensibilizadas com SWAP e SEA na concentração de 10µg/mL e deixadas a 4°C por uma noite. Para determinação de IgE específico no soro, anticorpos IgG foram removidos por RF absorvente (Behring Diagnostics Inc., Westwood, Mass). Os soros foram diluídos 1:2 em PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBST) e incubados com o RF a temperatura ambiente por 15 minutos, quando então foram centrifugados a 650 g por 5 minutos. As amostras de soro pré-absorvido de IgG foram utilizadas na diluição de 1:4. As amostras do liquor não foram tratadas ou diluídas. As placas sensibilizadas com os antígenos foram bloqueadas com PBS contendo 3% de albumina bovina e foram adicionados 100µL das amostras dos soros. As placas foram incubadas a 4°C por uma noite. Anticorpos de camundongo anti-IgE e IgG4 humanos (1:500) foram adicionados às placas. Após a incubação por 2h à 37° C e 6 lavagens com PBST, anti-Ig de camundongo

marcada com Peroxidase (1:1000) foi adicionada às placas e incubados por 1h à 37°C. Em seguida foram feitas 6 lavagens com PBST e a reação foi revelada pela adição do substrato TMB (Tetrametilbenzidina, ICN Biomedicals Inc.) e parada como uso de H₂SO₄. As placas foram lidas em espectrofotômetro a 450nm e os resultados expressos em densidade ótica (DO). Cada valor de cut-off do estudo foi determinado pela soma da média da DO mais duas vezes o desvio padrão.

IV.6 Avaliação dos níveis de citocinas e quimiocinas

Os níveis de IL-5, IL-10, IL-13, IL-17, INF- γ e das quimiocinas MIP-1 α e RANTES no soro e líquido de pacientes foram determinados pela técnica de ELISA sanduíche utilizando-se reagentes comercialmente disponíveis (R&S Systems). Curvas padrões foram utilizadas para permitir a apresentação dos resultados das concentrações em pg/mL, seguindo orientações do fabricante.

IV.7 Análise dos Dados:

Os resultados referentes ao estudo de prevalência da mieloradiculopatia esquistossomótica foram apresentados em percentagem. A diferença entre proporções foi avaliada pelo teste de Fischer. Os resultados das dosagens de anticorpos e citocinas foram comparados, quando tratando-se de dois grupos pelo teste não paramétrico Mann Whitney, e quando a comparação foi realizada entre três grupos foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, com pós-teste de análise de significância entre os grupos pelo teste de comparação múltipla de Dunn's. O teste não paramétrico de Wilcoxon foi utilizado para comparar os dados pareados do LCR e do soro. As correlações foram realizadas pelo teste de Correlação de Spearman. Todos os testes foram bi-caudais, sendo considerados estatisticamente significantes valores de p inferiores ao nível de significância pré-estabelecidos em 5%. Foi utilizado o programa GraphPad Prism versão 5.00 para Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com.

4.8 Considerações Éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica da Maternidade Climério de Oliveira (Parecer/Resolução No. 092/2009, Anexo 2) e os seus participantes foram todos voluntários que, após esclarecimentos sobre o objetivo desta pesquisa, assinaram o termo de consentimento informado (Anexo 3).

V. 0 Resultados

V.1 Avaliação da prevalência de mielorradiculopatia associada à infecção pelo *S. mansoni* nas áreas do Conde e Água Preta - BA

Foram entrevistados 544 indivíduos no total, sendo 221 de Água Preta, município de Gandú, o que corresponde a aproximadamente 40% da população local, e 323 indivíduos do município do Conde, correspondente a cerca de 32% da população. No Conde foram avaliados 101 indivíduos do povoado de Burí, 150 indivíduos do povoado de Jenipapo, 68 indivíduos do povoado de Camarões e 4 indivíduos do povoado de Sempre Viva.

A mediana da idade dos indivíduos incluídos no estudo foi de 25 anos, sendo 42,1% do sexo feminino e 57,9% do sexo masculino (Tabela I). Comparando-se os dados demográficos entre os indivíduos residentes no Conde e Água Preta foi observado que a faixa etária entre 02 a 13 anos foi maior nos moradores de Água Preta do que em Conde ($p < 0,005$), enquanto que a faixa etária entre 51 a 70 anos foi maior nos moradores do Conde do que em Água Preta ($p < 0,005$), não houve diferença significativa entre as demais faixas etárias. A prevalência de indivíduos do sexo masculino foi maior no município de Água Preta (52%), do que do Conde (29,4%, $p < 0,0001$). Com relação às queixas que podem ser associadas à mielorradiculopatia esquistossomótica, 38,1% da população total apresentava dor lombar. A queixa de fraqueza de membros inferiores foi presente em 18,6% dos entrevistados, queixa sugestiva de disfunção vesical foi presente em 4,2% dos entrevistados e 21,9% apresentaram queixa de dormências em membros inferiores (Tabela 1). A frequência de todas as queixas investigadas foi maior nos indivíduos residentes no Conde do que em Água Preta, com diferença significativa em quase todas ($p < 0,0001$), com exceção das queixas sugestivas de disfunção vesical.

Apenas dois indivíduos apresentaram história compatível com mielorradiculopatia esquistossomótica. Um desses indivíduos foi um rapaz de 17 anos que apresentou a tríade prodrômica com evolução para incapacidade motora em 5 dias, início dos sintomas há 9 meses da entrevista. Tem história de residir no município de Valença, Bahia, mas visita ocasionalmente a família que reside em Água Preta. O paciente evoluiu na época com necessidade de internamento hospitalar em outro município onde realizaram terapêutica para MRE. O paciente

estava sem sintomas no momento da entrevista. O outro caso foi de uma menina de 7 anos de idade, residente da região do Conde que apresentou dor lombar seguida de parestesias de membros inferiores e disfunção vesical em 3 dias e persistiu com os sintomas por 12 dias com remissão gradual e espontânea. No momento da entrevista estava assintomática.

Tabela I. Características demográficas e queixas neurológicas nos indivíduos da região do Conde e Água Preta incluídos no estudo

Categorias	Conde	Água Preta	Valor de p	Total
	323 (59,4%)	221 (40,6%)		
Idade (mediana/faixa etária em anos)	23 (5-72)	26 (2-90)		25 (2-90)
02-13	63 (19,5%)	73 (33%)	p < 0,005	136 (25 %)
14-30	104 (32,2%)	78 (35,3%)	ns	182 (33,5%)
31-50	99 (30,7%)	53 (24%)	ns	152 (27,9%)
51-70	53(16,4%)	16 (7,2%)	p < 0,005	69 (12,7%)
> 70	4 (1,2%)	1 (0,5%)	ns	5 (0,9%)
Gênero n(%)				
Masculino	95 (29,4%)	115 (52%)	p < 0,0001	315 (57,9%)
Feminino	228 (70,6%)	106 (48%)	p < 0,0001	229 (42,1%)
Dor lombar	206 (63,8%)	64 (29%)	p < 0,0001	207 (38,1%)
Dormência de membros inferiores	118 (36,5%)	29 (13,1%)	p < 0,0001	119 (21,9%)
Sintomas sugestivos de disfunção vesical	22 (6,8%)	10 (4,5%)	ns	23 (4,2%)
Fraqueza de membros inferiores	100 (31%)	10 (4,5%)	p < 0,0001	101 (18,6%)
Síndrome Mielorradicular	1 (0,31%)	1 (0,45%)	ns	2 (0,18%)

ns=diferença não significativa.

V.2 Avaliação da resposta imunológica em pacientes com diagnóstico de mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE) atendidos no HUPES-UFBA, pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (HTL) e controles (CON).

As características demográficas e queixas neurológicas nos pacientes com diagnóstico de mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE), pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (HTL) e controles (COM) são mostrados na Tabela II.

Foram incluídos os 15 pacientes com diagnóstico de MRE atendidos no HUPES, no período de Março de 2009 a Agosto de 2010 que aceitaram participar do estudo. Adicionalmente foram incluídos controles constituídos por 31 pacientes com

manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (HTL) e 11 pacientes que fizeram punção líquórica por motivos diversos tendo sorologias negativas para HTLV-1 e mieloradiculopatia esquistossomótica (controles). A mediana da idade dos indivíduos dos três grupos foram respectivamente, 23, 53 e 40 anos. Vinte por cento dos pacientes do grupo MRE foi do sexo feminino, comparado com 58 e 54% nos grupos de HTL e controle, respectivamente ($p < 0.05$). (Tabela II).

Tabela II. Características demográficas e queixas neurológicas nos pacientes com diagnóstico de mieloradiculopatia esquistossomótica (MRE), pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (HTL) e controles (CON).

Categorias	MRE	HTL	CON	p
	n=15	n=31	n=11	
Idade (mediana/faixa etária)	23 (9-27)	53 (33-69)	40 (22-76)	ns
Gênero n (%)				
Masculino	12 (80%)*	13 (42%)*	5 (45,5%)	* $p < 0,05$
Feminino	3 (20%)	18 (58%)	6 (54,5%)	
Bexiga hiperativa n (%)	0	14 (45,2%)	0 (0%)	
HAM/TSP n (%)	0 (0%)	17 (54,8%)	0 (0%)	

ns=diferença não significativa

V.2.1 Níveis de anticorpos no líquido e no soro dos pacientes com MRE, Controles e HTL.

Os níveis de IgE específicos para o antígeno solúvel do ovo do *S. mansoni* (SEA) nos três grupos de indivíduos avaliados está mostrada na Figura 2. Foi observado que os níveis medianos de IgE específicos para SEA foram maiores no LCR (DO=2,05) e no soro (DO=1,38) de pacientes do grupo MRE, quando comparado ao grupo controle e de pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (DO=0,3 e 0,09 no LCR, e 0,32 e 0,54 no soro, respectivamente; $p < 0,05$). Os níveis deste anticorpo no líquido de pacientes infectados pelo HTLV-1 foram menores (DO= 0,09) do que no soro desses pacientes (DO=0,54, $p < 0,001$).

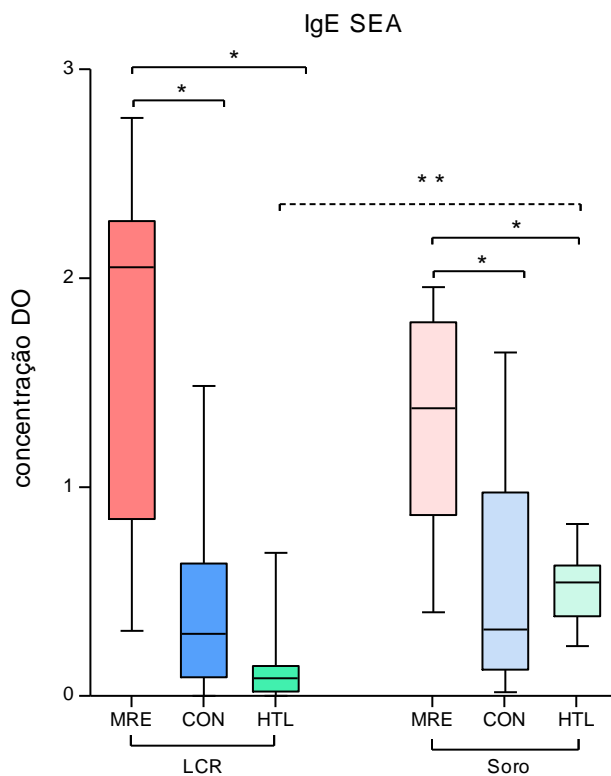


Figura 2. Níveis de IgE específico para SEA no líquido (LCR) e Soro de pacientes com mieloradiculopatia (MRE; n=15), controles (CON; n=11) e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (HTL; n=14);. As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; **Wilcoxon; $p < 0,05$). Cut-off do soro= 1,5; do LCR 1,3.

A mediana dos níveis de IgE específicos para o antígeno solúvel do verme adulto do *S. mansoni* (SWAP) foram significativamente maiores nos pacientes com MRE (DO= 0,39 no LCR e 0,51 no soro) quando comparado aos controles (DO= 0,0 e 0,23, respectivamente) e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 tanto no LCR (DO= 0,0) quanto no soro ((DO= 0,20, $p < 0,05$). Estes níveis foram maiores no soro (DO= 0,51 no grupo MRE, 0,23 no grupo controle e 0,20 no grupo HTL, respectivamente) do que no líquido nos três grupos avaliados (DO= 0,39 no grupo MRE, 0,0 no grupo controle e 0,0 no grupo HTL, respectivamente; $p < 0,05$). Figura 3.

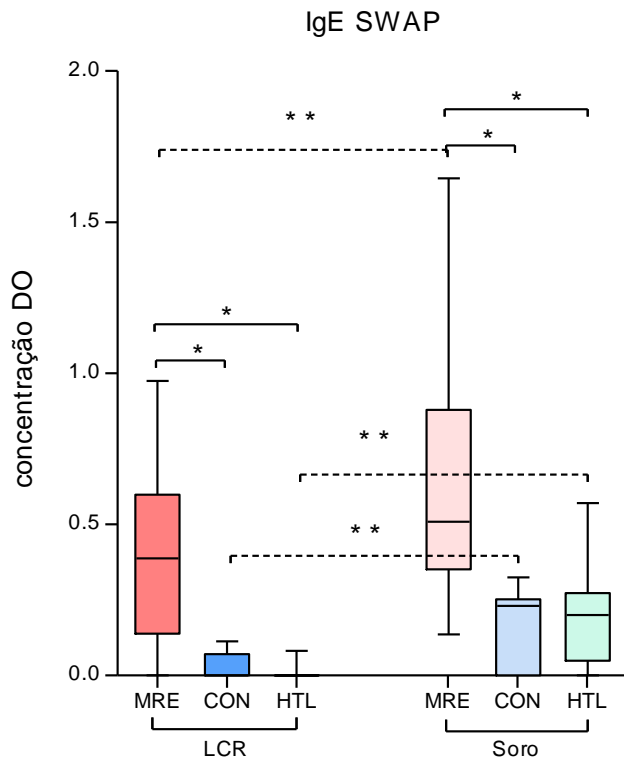


Figura 3. Níveis de IgE específicos para SWAP no LCR dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=11) e HTL (n=13); e no Soro dos pacientes com MRE (n=9), CON (n=11) e HTL (n=14). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *Kruskal-Wallis; **Wilcoxon; $p < 0,05$). MRE=Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controles; HTL= indivíduos com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1. Cut-off do LCR= 0,1; do soro= 0,4.

Os níveis de IgG4 específicos para SEA nos três grupos avaliados estão mostrados na Figura 4. Foi observado níveis desse anticorpo significativamente mais elevado tanto no LCR quanto no soro nos pacientes com MRE (DO=3,51 e 3,54, respectivamente), quando comparado aos controles (DO=0,36 e 0,17, respectivamente) e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (DO=0,03 e 0,81, respectivamente, $p < 0,05$). No grupo de pacientes com manifestação neurológica associada ao HTLV-1 estes níveis foram maiores no soro (DO=0,81) do que no líquido (DO=0,03; $p < 0,05$).

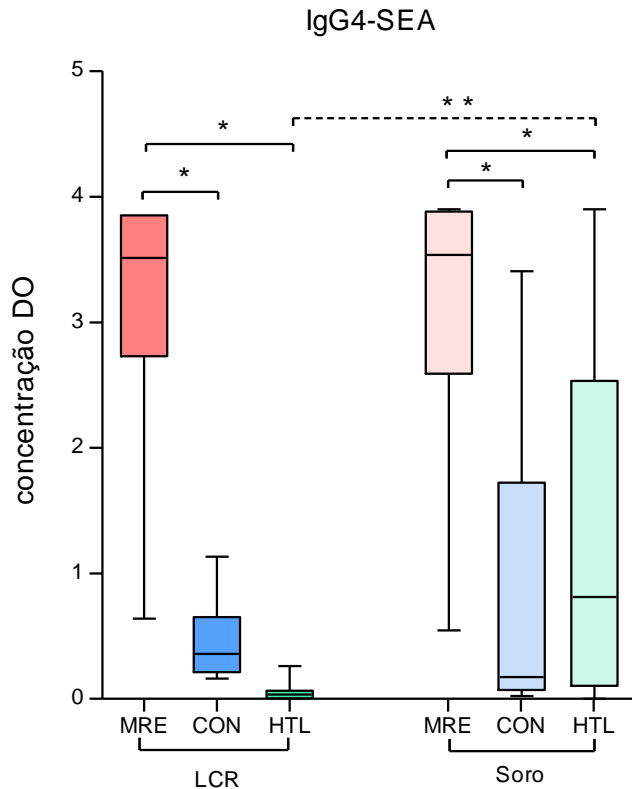


Figura 4 Níveis de IgG4 específicos para SEA no LCR dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=11) e HTL (n=12); e no Soro dos pacientes com MRE (n=14), COM (n=11) e HTL (n=31). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis); ** (Wilcoxon); $p < 0,05$. MRE=Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle; HTL= indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1. Cut-off= LCR= 0,8; Soro= 2,4.

A mediana dos níveis de IgG4 específicos para SWAP (Figura 5) foi também observado níveis significativamente mais elevados tanto no LCR quanto no soro nos pacientes com MRE (DO=1,54 e 1,30, respectivamente), quando comparado aos controles (DO=0,3 e 0,05, respectivamente) e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (DO= 0,027 e 0,047, respectivamente; $p < 0,05$). Nos controles estes níveis foram maiores no líquido (DO=0,3) do que no soro (DO=0,047 ; $p < 0,05$).

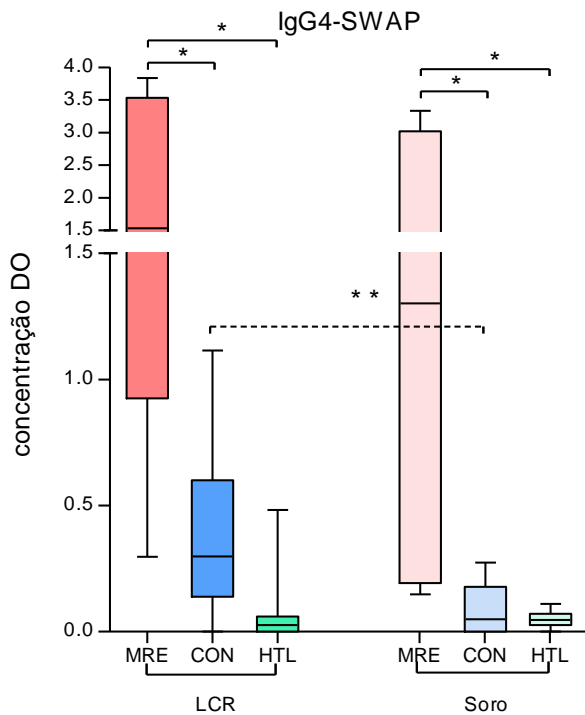


Figura 5. Níveis de IgG4 específicos para SWAP no LCR dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=11) e HTL (n=14); e no Soro dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=11) e HTL (n=13). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis); ** (Wilcoxon); $p < 0,05$. MRE=Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle ;HTL= indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1. Cut-off: LCR= 0,5; Soro= 0,11.

A frequência de positividade sérica de IgE específica para SEA e SWAP (Figura 6) foi maior no grupo de pacientes com MRE (50 e 80%, respectivamente) do que no grupo controle (9 e 0%, respectivamente) e HTL (0 e 14%, respectivamente, $p < 0,05$). No LCR os níveis de IgE específica para SEA e SWAP foram maiores no grupo de pacientes com MRE (64 e 87%, respectivamente) do que no grupo controle (11 e 9%, respectivamente) e HTL (0 e 0%, respectivamente, $p < 0,05$).

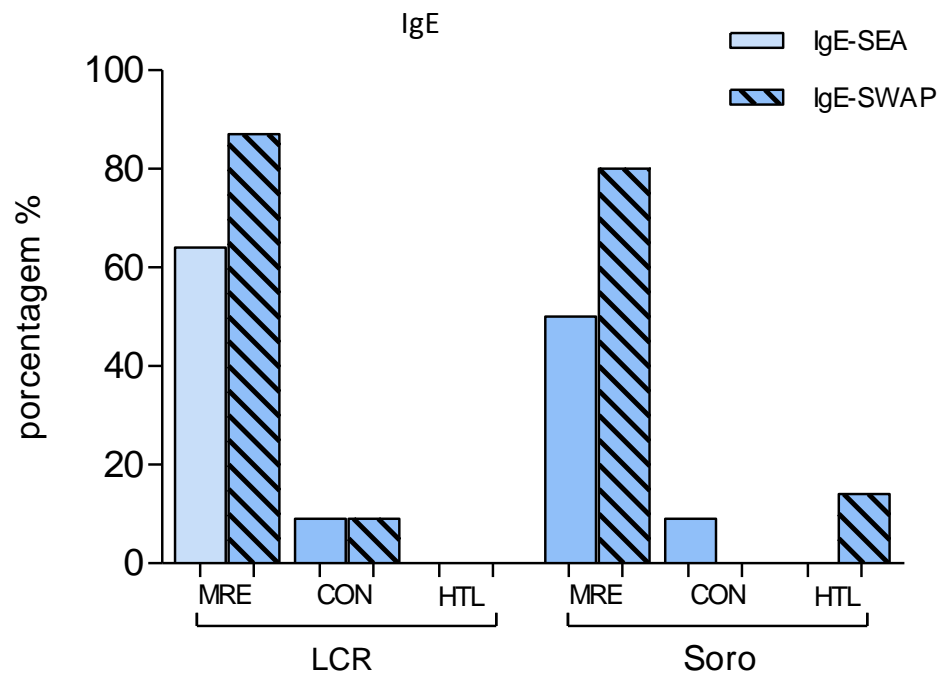


Figura 6. Frequência de positividade da IgE específica para SEA e SWAP no soro e no LCR nos diferentes grupos avaliados. MRE=Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle; HTL= indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1. Cut-off IgE SEA: Soro= 1,5; LCR=1,3; Cut-off IgE SWAP: LCR= 0,1; Soro= 0,4.

Em relação a IgG4 específica para SEA e SWAP (Figura 7) a positividade no soro foi maior no grupo de pacientes com MRE (78 e 100%, respectivamente) do que no grupo controle (18 e 27% respectivamente) e HTL (23 e 7,7%, respectivamente, $p < 0,05$). No LCR a frequência de IgE específica para SEA e SWAP também foi maior no grupo de pacientes com MRE (92 e 92%, respectivamente) do que no grupo controle (10 e 36%, respectivamente) e HTL (0 e 0%, respectivamente, $p < 0,05$).

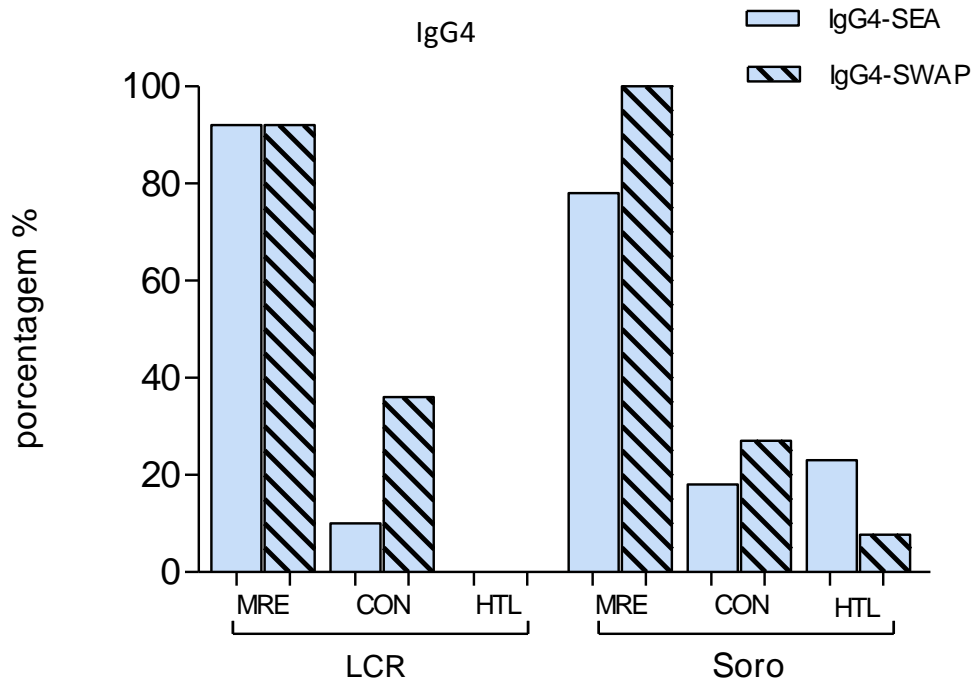


Figura 7. Frequência de positividade da IgG4 específica para SEA e SWAP no soro e no LCR dos diferentes grupos avaliados. MRE=Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle; HTL= indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1. Cut-off IgG4 SEA: LCR= 0,8; Soro= 2,4; Cut-off IgG4 SWAP: LCR= 0,5; Soro= 0,11.

V. .2.2 Níveis de citocinas do perfil Th2 (IL-5 e IL-13) no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.

Os níveis de IL-5 foram avaliados no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (Figura 8). Não houve diferença significativa nos níveis da mediana desta citocina entre os três grupos tanto no LCR (mediana 17,6; 17,6; 29,2 pg/ml para os grupos MRE, CON e HTL, respectivamente) quanto no soro (mediana= 17,6; 17,6; 29,2 pg/ml para os grupos MRE, CON e HTL, respectivamente).

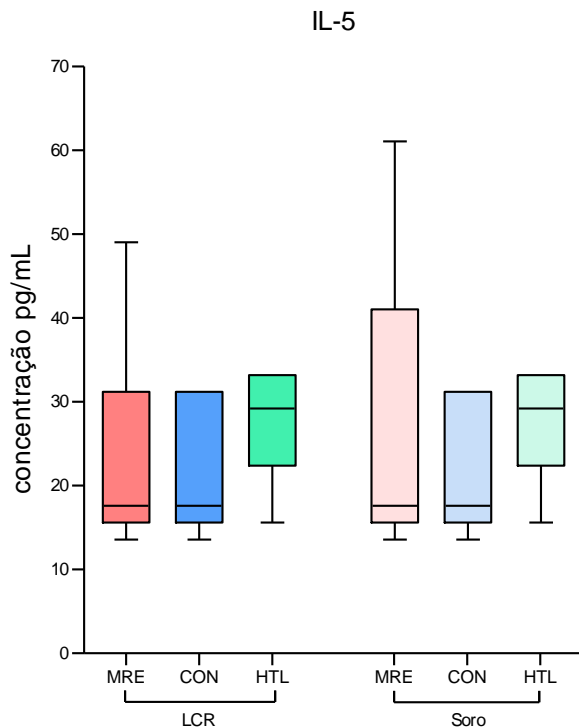


Figura 8. Níveis de IL-5 em pg/ml no LCR e Soro dos pacientes com MRE (n=15), CON (n=11) e HTL (n=9). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. MRE=Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle; HTL= indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1.

Por outro lado, os níveis da mediana de IL-13 (Figura 9) foram significativamente maiores no LCR (110 pg/mL; $p=0.0002$) e no soro (98,3 pg/mL; $p=0.0002$) de pacientes com MRE comparados com os pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 (93,8 e 93,8 pg/ml no LCR e soro, respectivamente). Os níveis desta citocina foram também significativamente maiores no soro de controles (111,0 pg/mL) comparados ao grupo de pacientes com HTL (93,8 pg/mL; $p<0,05$). Não houve, entretanto, diferenças nos níveis de IL-13 no LCR e soro entre os pacientes com MRE (110 e 98,3 pg/mL, respectivamente) e controles (93,8 e 111,0 pg/mL, respectivamente).

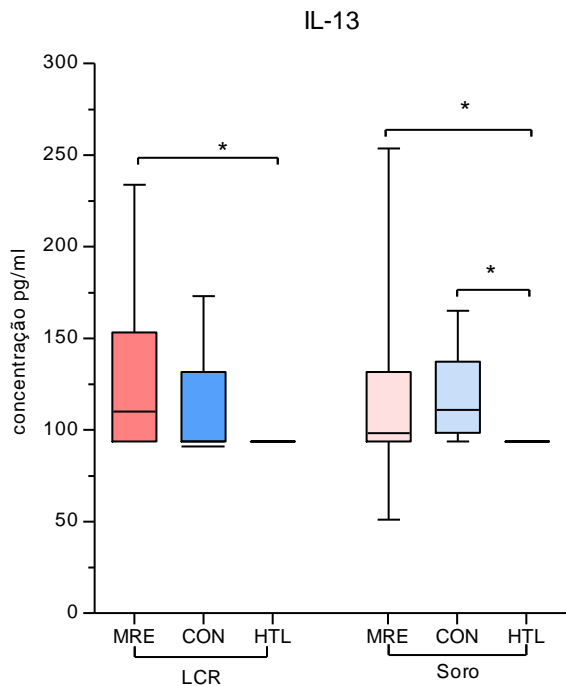


Figura 9. Níveis de IL-13 em pg/ml no LCR dos pacientes com MRE (n=15), CON (n=6) e HTL (n=31); e no Soro dos pacientes com MRE (n=15), COM (n=6) e HTL (n=33). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$) ** (Wilcoxon; $p < 0,05$). MRE=Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle; HTL= indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1.

V.2.3 Níveis de citocinas do perfil Th1/Th17 ($IFN-\gamma$ e IL-17) no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.

A produção de $IFN-\gamma$ foi avaliada no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica e controles, Figura 10. Foi observado que os níveis medianos desta citocina foram significativamente menores no grupo de pacientes com MRE (14,2 pg/mL) do que no grupo controle (31,2 pg/mL, $p < 0,05$), não havendo diferenças significativas nos níveis desta citocina no soro entre pacientes com MRE e controles. Os níveis medianos de $IFN-\gamma$ foram maiores no soro (45,2 e 31,2 pg/mL para MRE e CON, respectivamente) do que no líquido (14,2 e 31,2 pg/mL para MRE e CON, respectivamente) nos dois grupos avaliados. Em virtude do pequeno número de pacientes do grupo HTL que foi dosado o $IFN-\gamma$ esses dados não foram utilizados para análise.

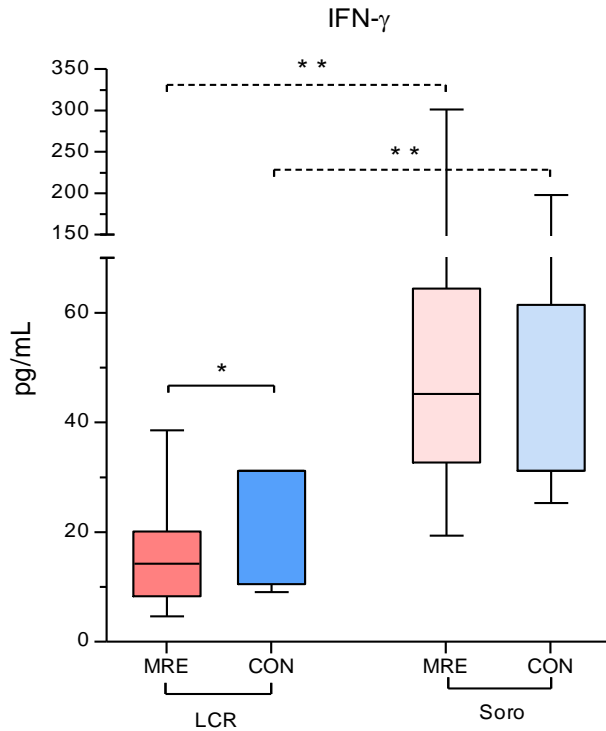


Figura 10. Níveis de IFN- γ em pg/ml no LCR e Soro dos pacientes com MRE (n=15) e CON (n=11). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Mann Whitney; $p < 0,05$) ** (Wilcoxon; $p < 0,05$). MRE= Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle.

Com relação a produção de IL-17 (Figura 11), os níveis séricos desta citocina foram maiores no grupo MRE (34,0 pg/mL) comparado ao grupo HTL (10,5 pg/mL; $p = 0,02$), sem diferença nos níveis medianos no LCR entre os três grupos. O nível mediano de IL-17 no soro de pacientes com MRE foi maior (33,95 pg/mL) do que no líquido destes pacientes (15,6 pg/mL; $p = 0,02$).

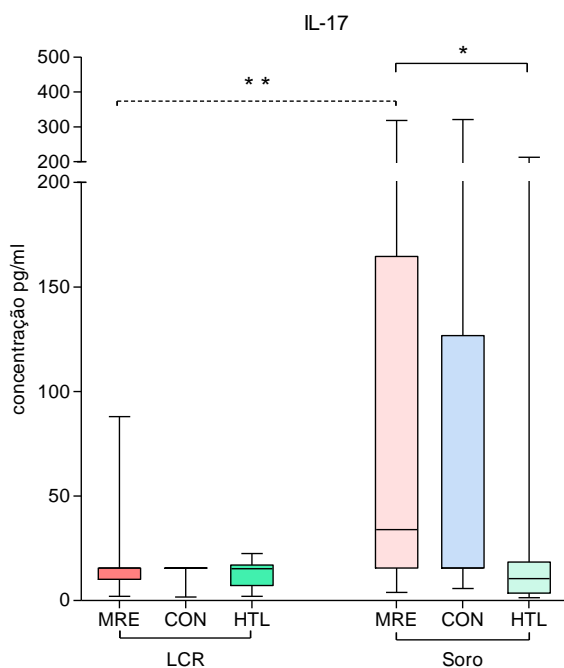


Figura 11. Níveis de IL-17 em pg/ml no LCR dos pacientes com MRE (n=15s), CON (n=11) e HTL (n=9); e no Soro dos pacientes com MRE (n=15), COM (n=11) e HTL (n=28). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$)** (Wilcoxon; $p < 0,05$). MRE = Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle ; HTL= indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1

V.2.4 Níveis da citocina regulatória IL-10 no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.

Os níveis de IL-10 no LCR variaram de 13,5 - 92,2 pg/ml (mediana=15,6pg/ml) no grupo MRE, não havendo diferença significativa em relação aos níveis desta citocina no grupo CON (15,6-15,6; mediana=15,6 pg/ml) e no grupo HTL (15,6-34,1; mediana=15,6pg/ml). Também não houve diferença significativa dos níveis de IL-10 no soro entre o grupo MRE (13,5–117,9 pg/ml, mediana=15,6pg/ml) quando comparado ao grupo CON (15,6-15,6, mediana 15,6pg/ml) e no grupo HTL (15,6-179; mediana=15,6pg/ml).

V.2.5 Níveis de quimiocinas (MIP-1 α e RANTES) no líquido e no soro dos pacientes com mieloradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.

Os níveis de MIP-1 α e RANTES foram avaliados no líquido e no soro dos indivíduos dos três grupos. Os níveis medianos de MIP-1 α (Figura 12) foram significativamente maiores no LCR (13,65 pg/mL) e soro (8 pg/mL) dos pacientes com MRE do que naqueles com HTL (8 e 7,8 pg/mL, respectivamente, $p < 0,05$). Foi também observado níveis mais elevados desta quimiocina no LCR de controles (12,1 pg/mL) quando comparados ao grupo com HTL (7,8 pg/mL). Os níveis medianos de MIP1- α foram significativamente maiores no LCR do que no soro tanto nos pacientes com MRE (13,7 e 8 pg/ml para LCR e soro, respectivamente) quanto naqueles com HTL (8 e 7,8 pg/ml para LCR e soro, respectivamente).

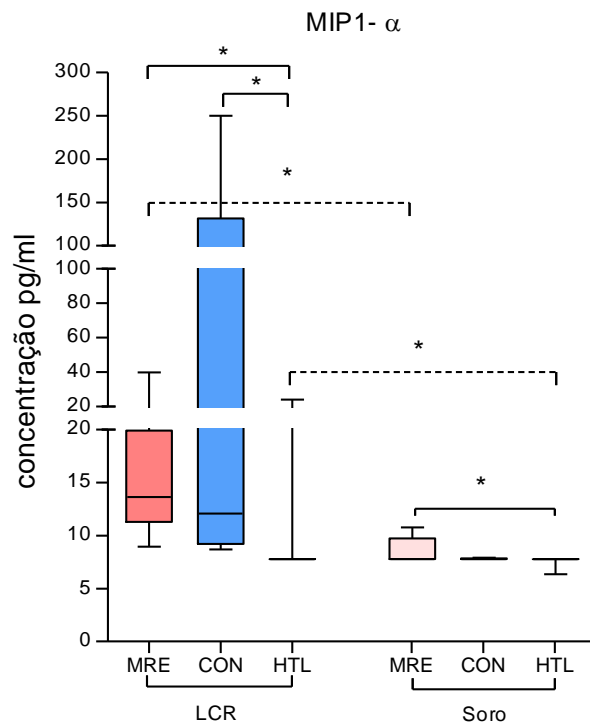


Figura 12. Níveis de MIP-1 α em pg/ml no LCR e Soro dos pacientes com MRE (n=7), CON (n=5) e HTL (n=28). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$) ** (Wilcoxon; $p < 0,05$)

Os níveis medianos de RANTES (Figura 13) foram significativamente maiores no LCR dos pacientes com MRE (726 pg/mL) do que naqueles com HTL (647 pg/mL; $p < 0,05$). Foi também observado níveis mais elevados desta quimiocina no LCR de pacientes com MRE e HTL (726 e 647,4pg/mL, respectivamente) quando comparados ao níveis encontrados no soro destes pacientes (15,6 e 15,6 pg/mL, respectivamente; $p < 0,05$).

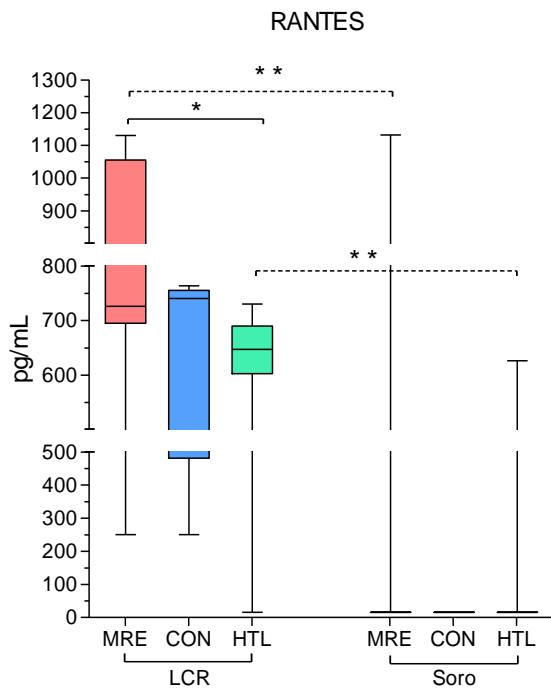


Figura 13. Níveis de RANTES em pg/ml no LCR dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=5) e HTL (n=29); e no Soro dos pacientes com MRE (n=14), COM (n=5) e HTL (n=30). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$) ** (Wilcoxon; $p < 0,05$). MRE= Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle; HTL= indivíduos com manifestações neurológicas pelo HTLV-1.

V.2.6 Razões entre as citocinas dos perfis Th1 (IFN- γ), Th2 (IL-5 e IL-13), Th17 (IL-17) e Tregulatório (IL-10), comparado com o encontrado no grupo controle e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1

No sentido de analisar se existe um tipo de resposta imune que predomine na mielorradiculopatia esquistossomótica, foi avaliada no líquido e soro a razão entre as citocinas dos diferentes perfis, a saber, Th1 (IFN- γ), Th2 (IL-5 e IL-13), Th17 (IL-17) e Tregulatório (IL-10), comparando-se com o encontrado no grupo controle e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1.

A figura 14 mostra a razão entre os níveis de IL-5 e IL-10 nos pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica, controles e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1. Não houve diferença significativa na mediana da razão entre essas duas citocinas nos três grupos avaliados. Por outro lado, a mediana da razão entre IL-13 e IL-10 (figura 15) foi significativamente maior no LCR do grupo de pacientes com MRE (6,8) comparado ao grupo controle (0,0).

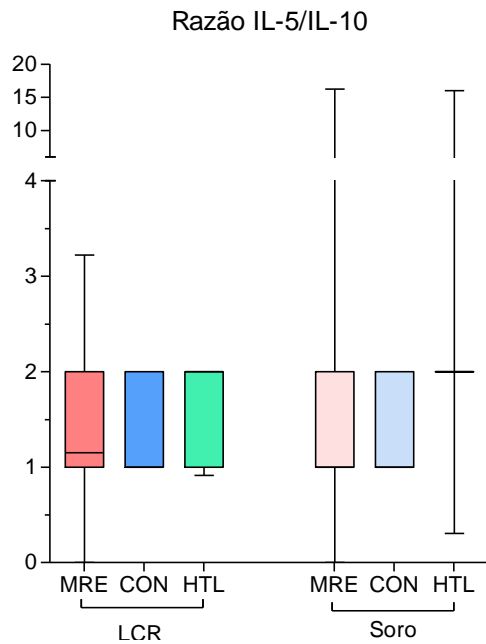


Figura 14. Valores da razão entre IL-5 e IL-10 no LCR dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=11) e HTL (n=9 pacientes); e no Soro dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=11) e HTL (n=30). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores.

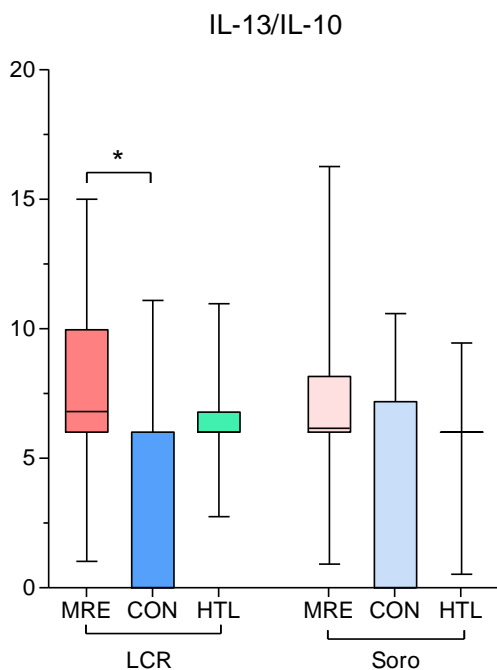


Figura 15 Valores da razão entre IL-13 e IL-10 no LCR dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=11) e HTL (n=9 pacientes); e no Soro dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=11) e HTL (n=30). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$)

A mediana da razão de IL-5 sobre INF- γ está mostrada na Figura 16. Não foi observada diferença significativa na razão entre essas duas citocinas no LCR e nem no soro entre os pacientes com MRE e controles, entretanto, a razão IL-5 INF- γ foi significativamente maior no LCR do que no soro tanto nos pacientes com MRE (2,37; $p = 0,01$) quanto nos controles (0,5; $p < 0,02$).

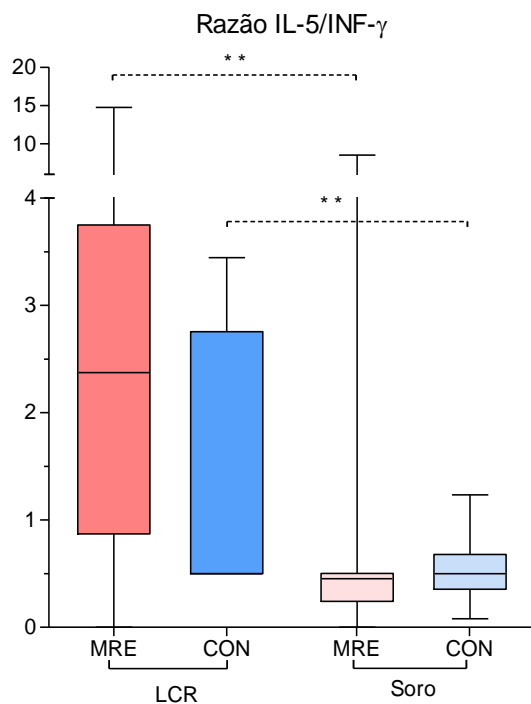


Figura 16. Valores da razão entre IL-5 e INF- γ no LCR e Soro dos pacientes com MRE (n=15) e CON (n=11). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$)** (Wilcoxon; $p < 0,05$).). MRE=Mielorradiculopatia Esquistossomótica; CON = indivíduos controle.

A mediana da razão de IL-13 sobre INF- γ está mostrada na Figura 17. Não foi observada diferença significativa na razão entre essas duas citocinas no LCR e nem no soro entre os pacientes com MRE e controles, entretanto, a razão IL-13/INF- γ foi significativamente maior no LCR (7,8) do que no soro (2,6) dos pacientes com MRE ($p = 0,0002$).

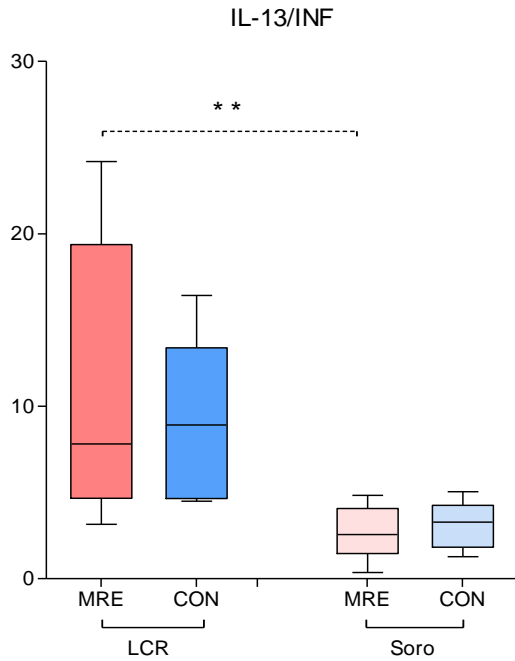


Figura 17. Valores da razão entre IL-13 e INF- γ no LCR e Soro dos pacientes com MRE (n=15) e CON (n=5). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$) ** (Wilcoxon; $p < 0,05$).

A mediana da razão de IL-17 sobre INF- γ também foi avaliada (Figura 18). Foi observada uma razão significativamente maior de IL-17; INF- γ no líquido de pacientes com MRE (0,9) comparado com os controles (0,5; $p < 0,05$).

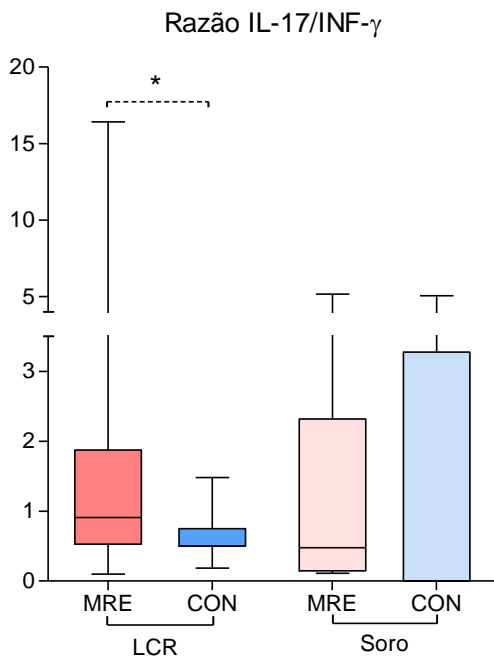


Figura 18. Valores da razão entre IL-17 e INF- γ no LCR e Soro dos pacientes com MRE (n=15) e CON (n=11). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$).

Na análise da razão de IL-17 sobre IL-10 (Figura 19) foi observado uma mediana significativa superior no soro (1,39) do que no LCR (1,0; $p < 0,05$) no grupo de pacientes com MRE, sendo esta razão significativamente maior no soro do grupo MRE (1,38) em relação ao grupo HTL (0,59 ; $p < 0,01$).

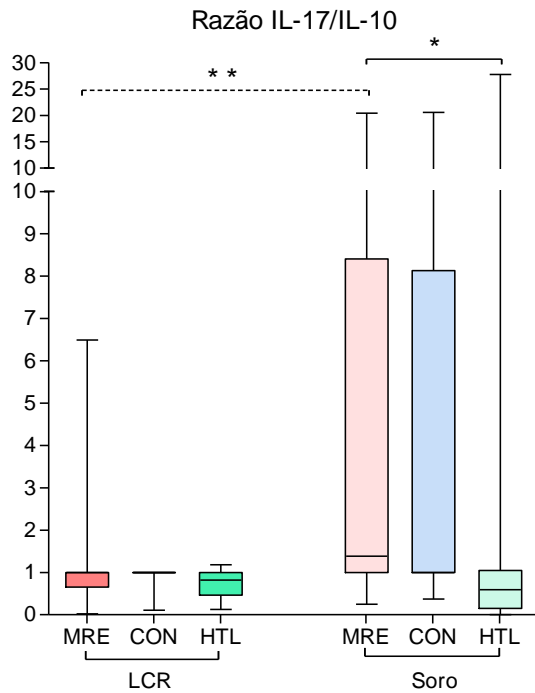


Figura 19. Valores da razão entre IL-17 e IL-10 no LCR dos pacientes com MRE (n=15), CON (n=11) e HTL (n=9), e Soro dos pacientes com MRE (n=15), CON (n=11) e HTL (n=30). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes *(Kruskal-Wallis; $p < 0,05$) **(Wilcoxon; $p < 0,05$).

Na análise da razão de MIP-1 α sobre IL-10 (Figura 20) foi observado uma mediana significativa superior no LCR (0,87) do que no soro (0,5; $p < 0,05$) no grupo de pacientes com MRE, sendo esta razão significativamente maior no LCR do grupo MRE (1,38) em relação ao grupo HTL (0,59; $p = 0,0072$).

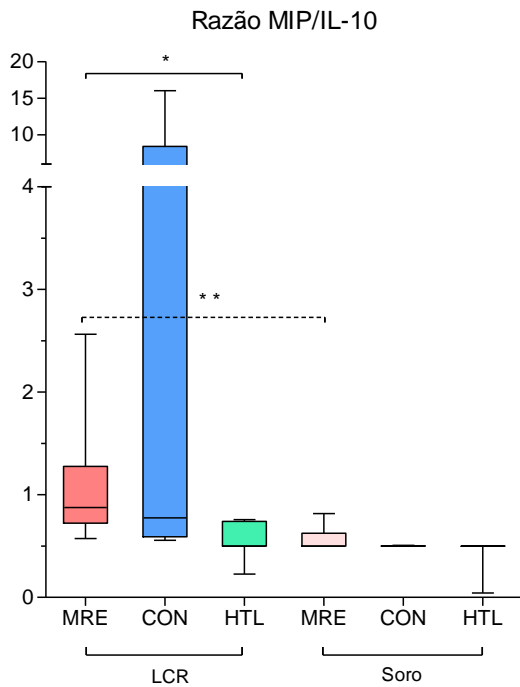


Figura 20. Valores da razão entre MIP-1 α e IL-10 no LCR dos pacientes com MRE (n=7), CON (n=5) e HTL (n=7), e Soro dos pacientes com MRE (n=7), CON (n=5) e HTL (n=27). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes, $p < 0,05$, *(Kruskal-Wallis); **(Wilcoxon).

A mediana da razão de RANTES sobre IL-10 (Figura 21) foi significativamente maior no LCR do que no soro tanto nos pacientes com MRE (45,3 e 1,0 respectivamente; $p < 0,0005$) quanto nos controles (47,4 e 1,0 respectivamente; $p < 0,0005$).

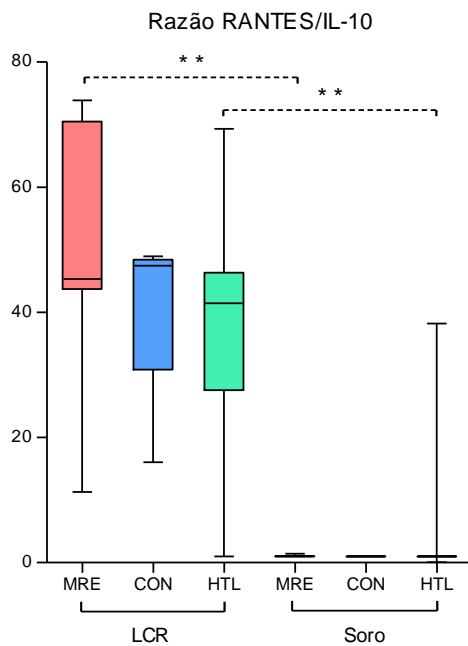


Figura 21. Valores da razão entre RANTES e IL-10 no LCR e no soro dos pacientes com MRE (n=14), CON (n=5) e HTL (n=9). As barras horizontais representam as medianas, os boxes representam os intervalos interquartis e as linhas verticais representam os limites inferiores e superiores. Os asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes ** (Wilcoxon); $p < 0,05$

V.2.7 Análise de correlação entre citocinas do perfil Th2 (IL-4 e IL-13), Th1 (IFN- γ), Th17 (IL-17) e quimiocinas (MIP1- α e RANTES) versus T regulatório (IL-10)

A análise das correlações entre as citocinas IL-5, IL-13, IL-17, INF- γ , MIP-1 α e RANTES com IL-10 foi realizada no LCR e no soro dos três grupos. Foi observada uma correlação negativa entre IL-17 e IL-10 ($r = -0,577$, $p = 0,038$) no LCR do grupo MRE. Não houve diferença significativa nas outras correlações no LCR e soro nos três grupos avaliados (MRE, HTL e Controle; dado não mostrado).

6 RESUMO DOS RESULTADOS

1. A proporção de indivíduos do sexo masculino foi maior em Água Preta e do sexo feminino foi maior nos povoados do Conde;
2. A faixa etária de 2 a 13 anos de idade foi maior em Água Preta e a faixa etária de 51 a 70 anos foi maior no Conde;
3. Os sintomas de dor lombar, dormência em membros inferiores e fraqueza de membros inferiores foram maiores na população do Conde;
4. Os níveis de IgE e IgG4 específicos para os antígenos do *S. mansoni*, SWAP e SEA, foram maiores no LCR e no soro de pacientes com MRE, quando comparado ao grupo CON e HTL;
5. Não houve diferença significativa nos níveis de IL-5 no soro e no LCR entre os grupos estudados;
6. Os níveis de IL-13 foram maiores no LCR e no soro de pacientes com MRE comparados com os pacientes HTL, e também foram maiores no soro de controles comparados ao grupo HTL;
7. Os níveis de INF- γ foram menores no LCR do que no soro nos grupos MRE e COM (HTL não analisado), sendo menores no LCR no grupo MRE do que no grupo CON;
8. Houve uma maior produção de IL-17 no soro do que no LCR no grupo MRE, com níveis séricos deste grupo superior ao do grupo HTL;
9. Os níveis de IL-10 no soro e no LCR não diferiram significativamente entre os grupos;
10. Os níveis de MIP-1 α foram maiores no LCR e no soro dos pacientes MRE do que naqueles com HTL. O grupo controle também apresentou no LCR níveis superiores ao grupo HTL. Os níveis desta quimiocina foram maiores no LCR do que no soro tanto nos pacientes MRE quanto naqueles HTL;

11. Os níveis de RANTES foram maiores no LCR dos pacientes MRE do que naqueles do HTL; Os níveis desta quimiocina foram maiores no LCR do que no soro tanto nos pacientes MRE quanto naqueles HTL;
12. Não houve diferença na razão de IL-5 e IL-10 entre os grupos no soro e nem no LCR;
13. A razão entre IL-13 e IL-10 foi maior no LCR do grupo MRE comparado ao grupo CON;
14. A razão entre IL-5 e INF- γ foi maior no LCR do que no soro tanto nos pacientes MRE quanto nos CON, o grupo HTL não foi analisado;
15. A razão entre IL-13 e INF- γ foi maior no LCR do que no soro do grupo MRE;
16. A razão entre IL-17 e INF- γ no líquido foi maior no grupo MRE do que no grupo CON;
17. A razão entre IL-17 e IL-10 foi maior no soro do grupo MRE em relação ao grupo HTL, sendo superior no soro do que no LCR no grupo de pacientes MRE;
18. A razão de MIP-1 α sobre IL-10 foi maior no LCR do grupo MRE em relação ao grupo HTL, sendo superior no LCR do que no soro no grupo de MRE;
19. A razão de RANTES sobre IL-10 foi maior no LCR do que no soro tanto nos pacientes com MRE quanto nos controles;
20. Uma correlação negativa entre as citocinas IL-17 e IL-10 foi encontrada no LCR dos pacientes do grupo MRE.

7 DISCUSSÃO

Neste trabalho foi avaliada a frequência de mielorradiculopatia (MRE) esquistossomótica (MRE) em indivíduos residentes em duas áreas endêmicas na Bahia, Conde, localizada no litoral norte e Água Preta, município de Gandu, no sul do estado. Indivíduos residentes nestas áreas diferiram em relação ao gênero, sendo a frequência do sexo feminino maior no Conde do que em Água Preta. A faixa etária mais jovem foi mais freqüente em Água Preta, com indivíduos entre 51 a 70 anos mais freqüentes no Conde.

Queixas de lombalgia, parestesia e fraqueza de membros inferiores foram mais freqüentes no Conde. A maior freqüência destas queixas no Conde pode estar associada ao fato da maioria dos indivíduos avaliados pertencerem ao sexo feminino e a maior freqüência de idade superior a 51 anos nesta população. Foram encontrados apenas dois casos suspeitos de MRE, um em cada área. O caso de MRE encontrado em Água Preta foi de um jovem de 17 anos que reside em outro município da Bahia e que visita esporadicamente os pais que moram na área endêmica. O outro caso suspeito de MRE foi encontrado no Conde. Trata-se de uma criança de sete anos de idade cuja evolução da provável MRE foi benigna, não tendo sido feito o diagnóstico e nem tratamento na ocasião do aparecimento dos sintomas. Esse dado sugere que é baixa a freqüência de casos de MRE em áreas endêmicas (0,31 e 0,45% para o Conde e Água Preta, respectivamente, neste estudo), e concorda com os indícios de que a doença ocorre mais freqüentemente em indivíduos com exposição esporádica, sem relação com a carga parasitária de *S. mansoni* (Freitas, Oliveira e cols., 2010).

Alternativamente, casos de MRE podem ser oligossintomáticos ou assintomáticos em áreas endêmicas e passarem despercebidos, sem diagnóstico, a exemplo do que aconteceu com a criança da área endêmica do Conde neste estudo. Em concordância com esta idéia tem sido descritos granulomas esquistossomóticos intramedulares como achado acidental de necropsias, principalmente em pacientes com a forma hepatoesplênica e cardiopulmonar da infecção, sem nenhum registro de sintomas neurológicos (Couto, 1949; Chaves, 1980; Correa, 1983; Cunha, 1995; Ferrari, Gazzinelli e cols., 2008). Uma explicação plausível para a baixa prevalência de MRE em áreas endêmicas é que a modulação da resposta imune do tipo Th2 que

predomina na fase crônica da infecção pelo *S. mansoni* (Araujo, De Jesus e cols., 1996; Malaquias, Falcao e cols., 1997; Caldas, Correa-Oliveira e cols., 2000; Correa-Oliveira, Rodrigues Caldas e cols., 2000) deve ser modulada por células e citocinas regulatórias em indivíduos residentes em áreas endêmicas (Araujo, De Jesus e cols., 1996; Malaquias, Falcao e cols., 1997; Montenegro, Miranda e cols., 1999; Correa-Oliveira, Rodrigues Caldas e cols., 2000; Wynn, Thompson e cols., 2004) prevenindo o desenvolvimento das formas graves hepatoesplênicas e possivelmente os processos inflamatórios que são associados a patogênese da MRE.

Em relação a avaliação dos níveis dos anticorpos IgE e IgG4 específicos para os antígenos do *S. mansoni*, SWAP e SEA, neste estudo, como esperado, tanto a frequência de positividade quanto os níveis das medianas desses anticorpos foram mais elevados em pacientes com MRE do que naqueles com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 e no grupo controle. Tem sido encontrada alta frequência de positividade para esses anticorpos em pacientes com MRE em outros trabalhos, sendo a pesquisa dos mesmos utilizados inclusive para auxílio diagnóstico (Ferrari, Moreira e cols., 1995; Ferrari, Correa-Oliveira e cols., 1999; Magalhaes-Santos, Lemaire e cols., 2003)

A avaliação imunológica dos pacientes com MRE neste estudo constou da avaliação dos níveis de citocinas do perfil Th1 (IFN- γ), Th2 (IL-5 e IL-13), Th17 (IL-17) e Tregulatório (IL-10) no soro e líquido dos mesmos, comparando-se aos níveis encontrados em pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 e controles (pacientes com manifestações neurológicas não relacionada a infecção pelo *S. mansoni*) que foram submetidos ao exame do líquido e foram negativos para MRE e HTLV-1. Em relação às citocinas do tipo Th2, embora não tenha sido encontrada diferença nos níveis medianos de IL-5 entre os grupos, os níveis de IL-13 foram significativamente maiores no soro e líquido dos pacientes com MRE quando comparado ao grupo de pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1. Esses dados são concordantes com a literatura que mostra uma derivação para o padrão de resposta do tipo Th2 em pacientes com MRE (Sousa-Pereira, Teixeira e cols., 2006), enquanto que na infecção pelo HTLV-1 existe uma forte derivação para a resposta do tipo Th1, principalmente naqueles pacientes com manifestações neurológicas associada ao vírus (Carvalho, Bacellar e cols., 2001; Muniz, Rodrigues e cols., 2006). Dentre as citocinas e quimiocinas do

padrão Th2, a IL-4, IL-13 e eotaxina vêm sendo descritas como encontrada em altos níveis na MRE e elas devem ser importantes na manutenção da resposta do tipo Th2 (Sousa-Pereira, Teixeira e cols., 2006).

Embora os estudos indiquem que as citocinas do tipo Th2 devem ser os principais fatores associados ao processo inflamatório da MRE, pouco ainda se conhece sobre os mecanismos de ação destas citocinas localmente. Os estudos da formação do granuloma hepático na esquistossomose e evolução para fibrose hepática, entretanto tem esclarecido melhor o papel destas citocinas na imunopatogênese da esquistossomose. A IL-5, por exemplo, através da indução da produção de eosinófilos e da quimiotaxia dessas células, está associada a formação do granuloma na esquistossomose (Montenegro, Miranda e cols., 1999; De Jesus, Miranda e cols., 2000; Chiaramonte, Cheever e cols., 2001; De Jesus, Magalhaes e cols., 2004), enquanto que estudos sugerem um maior envolvimento da IL-13 não apenas na formação do granuloma, mas na evolução para fibrose hepática (Chiaramonte, Donaldson e cols., 1999; De Jesus, Miranda e cols., 2000; Chiaramonte, Cheever e cols., 2001; De Jesus, Magalhaes e cols., 2004). Tem sido descrito que a IL-13 age através da estimulação da produção de colágeno pelos fibroblastos, constituindo a principal citocina envolvida na formação da fibrose hepática (Chiaramonte, Donaldson e cols., 1999; De Jesus, Miranda e cols., 2000; Wynn, 2003). O tratamento com inibidores da IL-13 preveniu a progressão para fibrose e até mesmo reverte à lesão hepática em modelo experimental de fibrose hepática secundária a esquistossomose (Chiaramonte, Cheever e cols., 2001).

Em estudos em humanos e em modelos experimentais de fibrose hepática na esquistossomose também tem sido documentado potentes atividades antifibróticas associadas às citocinas do padrão Th1, como o IFN- γ (Wynn, Thompson e cols., 2004). Na MRE baixos níveis de IFN- γ vêm sendo documentado tanto no LCR quanto no soro (Ferrari, Moreira e cols., 2006), o que deve refletir a modulação da produção desta citocina, tanto localmente quanto sistemicamente pelo predomínio da resposta imune do tipo Th2. No presente estudo foi também observado baixos níveis de IFN- γ , em pacientes com MRE quando comparado com controles, sendo os níveis mais elevados no soro do que no líquido. Esse dado reforça que o perfil de

resposta que predomina na MRE é o tipo Th2, sendo as citocinas do tipo Th1 pouco produzidas, principalmente localmente.

Além da IL-13, outra citocina que parece estar associada à patogênese da MRE neste estudo foi a IL-17 ou IL-17A. Os níveis desta citocina foram elevados nos pacientes com MRE, principalmente no soro, quando comparados aos pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1. A IL-17 faz parte da família das citocinas IL-17 (IL-17 A-F) que são estruturalmente homólogas entre si. Alguns autores demonstraram que a IL-17 pode ser produzida por diferentes tipos celulares, entretanto a principal fonte produtora desta citocina são as células de memória TCD4⁺ denominadas Th17 (Fossiez, Djossou e cols., 1996; Borish e Steinke, 2003; Lockhart, Green e cols., 2006). A função predominante da IL-17 é a de mediador inflamatório e está presente em várias doenças inflamatórias de curso crônico (Steinman, 2007). A IL-17 estimula a produção de IL-6, óxido nítrico e prostaglandina E₂ (PGE₂), além de promover a proliferação e o recrutamento de monócitos e neutrófilos para os sítios inflamatórios.

As células Th17 parecem também estar envolvida na patogênese da esquistossomose em modelos experimentais (Rutitzky, Lopes Da Rosa e cols., 2005; Rutitzky e Stadecker, 2006; Wilson, Mentink-Kane e cols., 2007; Rutitzky, Bazzone e cols., 2008). Rutitzky e colaboradores (2005) demonstraram que a neutralização da IL-17 em modelos experimentais resulta em inibição da imunopatogenia hepática, com diminuição do tamanho do granuloma em volta dos ovos de *S. mansoni* (Rutitzky, Lopes Da Rosa e cols., 2005). Não existem estudos publicados sobre o papel da IL-17 na MRE, e o dado de níveis elevados desta citocina no soro e líquido de pacientes com MRE, além do predomínio da mesma sobre IFN- γ no líquido destes pacientes indica que esta citocina deve participar da resposta inflamatória local, sendo a produção também sistêmica.

Neste estudo foi também avaliado a possível participação das quimiocinas MIP-1 α e RANTES na MRE. As quimiocinas constituem uma superfamília de citocinas com baixo peso molecular que foram inicialmente descritas por suas atividades quimioatraentes. Pouco se conhece a respeito do papel das quimiocinas na mediação da inflamação durante o curso da infecção pelo *S. mansoni*. O MIP-1 α liga-se aos seus respectivos receptores CCR1 e CCR5 e é quimiotático para

monócitos (Wolpe, Davatellis e cols., 1988; Wang, Sherry e cols., 1993), linfócitos (Taub, Lloyd e cols., 1993) e eosinófilos (Rot, Krieger e cols., 1992) entre outras células que são de fundamental importância durante o processo de formação do granuloma como os eosinófilos, neutrófilos e fibroblastos (Borish e Steinke, 2003; Burke, Jones e cols., 2009). Foi observado neste trabalho níveis elevados de MIP-1 α principalmente no líquido de pacientes com MRE, quando comparado aos pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1. Alguns autores têm observado que o MIP-1 α é um importante fator de indução da produção de citocinas do tipo Th2 (Souza, Roffe e cols., 2005; Souza, Souza e cols., 2008), o que, juntamente com o recrutamento de células inflamatórias a exemplo dos eosinófilos, reforça o papel dessa quimiocina na patogênese da MRE (Sousa-Pereira, Teixeira e cols., 2006), que deve ser diferente da patogênese das doenças neurológicas associadas ao HTLV-1

Outra quimiocina associada a patologia da esquistossomose é a RANTES/CCL5. Ela é produzida por uma diversidade de tipos celulares, a exemplo de linfócitos, macrófagos, plaquetas, fibroblastos, células endoteliais e epiteliais. Além de exercer propriedades quimiotáticas para eosinófilos, macrófagos, basófilos e mastócitos, esta quimiocina foi primeiramente conhecida como mediador pró-inflamatório nas alergias. Alguns trabalhos sugerem que a atividade da RANTES é pleiotrópica e está envolvida na regulação de diversas patologias que cursam com as respostas Th1 e Th2 (Schrum, Probst e cols., 1996; Chensue, Warmington e cols., 1999; Borish e Steinke, 2003).

A exemplo do observado para MIP-1 α , neste trabalho foi encontrado níveis significativamente mais elevados de RANTES no líquido de pacientes com MRE do que naqueles com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 e controles. Também semelhante ao ocorrido com MIP-1 α , os níveis de RANTES foram mais elevados no líquido do que no soro, o que fala a favor de que estas quimiocinas participam diretamente da resposta inflamatória local em pacientes com MRE. Na infecção pelo HTLV-1, entretanto, as quimiocinas CXCL9 e CXCL10 parecem ser as principais em orquestrar a resposta inflamatória no sistema nervoso central. Guerreiro e colaboradores em 2006 observaram elevados níveis de CXCL9 e CXCL10 em soro de indivíduos infectados pelo HTLV-1 em relação aos controles

sadios, sendo baixa a produção de RANTES nos infectados pelo HTLV-1 (Guerreiro, Santos e cols., 2006).

Enquanto foi observado um padrão de resposta inflamatório do tipo Th2 nos pacientes com MRE, não se observou diferença significativa nos níveis de IL-10 entre os grupos de pacientes com MRE e pacientes com manifestações neurológicas associadas ao HTLV-1 e também nos controles que foram submetidos à punção líquórica por outros motivos. Esses resultados podem refletir a ausência de regulação do processo inflamatório local pela IL-10, independentemente da causa ou agente.

Em vários estudos sobre a esquistossomose a IL-10 parece constituir a citocina chave no processo regulatório da imunopatogênese na doença. Ela atua modulando a resposta do padrão Th1 da forma aguda toxêmica inicial (Burke, Jones e cols., 2009) e também a resposta exacerbada do tipo Th2, que está associado ao desenvolvimento das formas graves da esquistossomose (Araujo, De Jesus e cols., 1996; Malaquias, Falcao e cols., 1997; Montenegro, Miranda e cols., 1999; Correa-Oliveira, Rodrigues Caldas e cols., 2000; Burke, Jones e cols., 2009)

A IL-10 é produzida principalmente por linfócitos T regulatórios, entretanto, outras importantes fontes produtoras desta citocina em humanos incluem os monócitos e as células B. Os linfócitos T regulatórios (Treg) são essenciais para o processo de regulação da resposta fibrótica. Essas células são classificadas como subconjunto de células T $CD4^+CD25^+$ que podem ser divididas em células Treg naturais (nTreg) ou células Treg induzíveis (iTreg). Hesse e colaboradores (2004) utilizando modelos de transferência adotiva em camundongos IL-10/RAG-2 deficientes, demonstraram a importância das células iTregs como fontes de IL-10 e sua participação na regulação do balanço Th1/Th2 durante a infecção pelo *S. mansoni* (Hesse, Piccirillo e cols., 2004). Alguns estudos demonstram que o recrutamento de células nTregs e iTregs estabilizam a resposta imune e limitam a patogênese hepática na esquistossomose por mecanismos dependentes e independentes de IL-10 (Hesse, Piccirillo e cols., 2004; Baumgart, Tompkins e cols., 2006; Wynn, 2007). De Jesus e colaboradores (2004), entretanto, demonstraram que indivíduos com fibrose hepática grau III apresentaram níveis mais elevados de

IL-10 quando comparados com os indivíduos sem fibrose hepática ou com graus leves de fibrose (De Jesus, Magalhaes e cols., 2004).

Em discordância com os achados deste trabalho de uma baixa produção de IL-10 tanto localmente quanto sistemicamente, Ferrati e colaboradores em 2006, encontraram níveis de IL-10 em LCR e soro mais elevados em pacientes com MRE do que controles, e uma correlação negativa entre esta citocina e IFN- γ . Os autores não relataram correlações entre citocinas do perfil Th2 e IL-10.

No presente estudo foi encontrado um predomínio nos níveis de IL-5 e IL-13 sobre INF- γ e de IL-13 e MIP-1 α sobre IL-10 no líquido dos pacientes com MRE. Semelhante resultado foi encontrado por Souza-Pereira e colaboradores na avaliação imunológica de 15 pacientes com MRE atendidos em um Hospital de doenças infecciosas em Minas Gerais (Souza-Pereira, Teixeira e cols., 2006). Adicionalmente, no presente estudo observou-se um predomínio dos níveis séricos de IL-17 sobre IL-10 nos pacientes com MRE e houve também uma correlação negativa entre os níveis de IL-17 e de IL-10 no LCR desses pacientes. Esses resultados indicam que a patogênese da MRE decorre de uma forte resposta Th2 e Th17 que não são controladas por mecanismos regulatórios, a exemplo da resposta Th1 e Tregulatória.

8 CONCLUSÃO

A regulação da resposta do tipo Th2 por citocinas regulatórias a exemplo da IL-10 em indivíduos cronicamente infectados pelo *S. mansoni* residentes nas áreas endêmicas do Conde e Água Preta deve estar associada a baixa prevalência da mielorradiculopatia esquistossomótica encontrada nestas áreas. A resposta inflamatória exacerbada do tipo Th2, juntamente com a Th17 constituiu o principal fator associado à MRE neste estudo.

9 REFERENCIAS

- Andrade, A. N. e C. L. Bastos. [Cerebral schistosomiasis mansoni]. Arq Neuropsiquiatr, v.47, n.1, Mar, p.100-4. 1989.
- Andrade Filho Ade, S., M. G. Reis, *et al.* [Mansonic neuroschistosomiasis: clinical, laboratory and therapeutic aspects]. Arq Neuropsiquiatr, v.54, n.2, Jun, p.232-7. 1996.
- Andrade, Z. A. The situation of hepatosplenic schistosomiasis in Brazil today. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.93 Suppl 1, p.313-6. 1998.
- Araujo, M. I., A. R. De Jesus, *et al.* Evidence of a T helper type 2 activation in human schistosomiasis. Eur J Immunol, v.26, n.6, p.1399-403. 1996.
- Araujo, M. I., B. Hoppe, *et al.* Impaired T helper 2 response to aeroallergen in helminth-infected patients with asthma. J Infect Dis, v.190, n.10, Nov 15, p.1797-803. 2004.
- Baumgart, M., F. Tompkins, *et al.* Naturally occurring CD4+Foxp3+ regulatory T cells are an essential, IL-10-independent part of the immunoregulatory network in *Schistosoma mansoni* egg-induced inflammation. J Immunol, v.176, n.9, May 1, p.5374-87. 2006.
- Borish, L. C. e J. W. Steinke. 2. Cytokines and chemokines. J Allergy Clin Immunol, v.111, n.2 Suppl, Feb, p.S460-75. 2003.
- Burke, M. L., M. K. Jones, *et al.* Immunopathogenesis of human schistosomiasis. Parasite Immunol, v.31, n.4, Apr, p.163-76. 2009.
- Caldas, I. R., A. C. Campi-Azevedo, *et al.* Human schistosomiasis mansoni: immune responses during acute and chronic phases of the infection. Acta Trop, v.108, n.2-3, Nov-Dec, p.109-17. 2008.
- Caldas, I. R., R. Correa-Oliveira, *et al.* Susceptibility and resistance to *Schistosoma mansoni* reinfection: parallel cellular and isotypic immunologic assessment. Am J Trop Med Hyg, v.62, n.1, Jan, p.57-64. 2000.
- Carod-Artal, F. J. Neurological complications of *Schistosoma* infection. Trans R Soc Trop Med Hyg, v.102, n.2, Feb, p.107-16. 2008.
- Carod Artal, F. J., A. P. Vargas, *et al.* *Schistosoma mansoni* myelopathy: clinical and pathologic findings. Neurology, v.63, n.2, Jul 27, p.388-91. 2004.

- Carvalho, E. M., O. Bacellar, *et al.* Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. J Acquir Immune Defic Syndr, v.27, n.1, May 1, p.1-6. 2001.
- Chaves, E. S., J.A.G. Esquistossomose da Medula Espinhal. Rev Bras Cir, n.70, p.33-6. 1980.
- Chensue, S. W., K. S. Warmington, *et al.* Differential expression and cross-regulatory function of RANTES during mycobacterial (type 1) and schistosomal (type 2) antigen-elicited granulomatous inflammation. J Immunol, v.163, n.1, Jul 1, p.165-73. 1999.
- Chiaramonte, M. G., A. W. Cheever, *et al.* Studies of murine schistosomiasis reveal interleukin-13 blockade as a treatment for established and progressive liver fibrosis. Hepatology, v.34, n.2, Aug, p.273-82. 2001.
- Chiaramonte, M. G., D. D. Donaldson, *et al.* 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, Sep, p.777-85. 1999.
- Chitsulo, L., D. Engels, *et al.* The global status of schistosomiasis and its control. Acta Trop, v.77, n.1, Oct 23, p.41-51. 2000.
- Correa-Oliveira, R., I. Rodrigues Caldas, *et al.* Analysis of the effects of treatment of human *Schistosoma mansoni* infection on the immune response of patients from endemic areas. Acta Trop, v.77, n.1, Oct 23, p.141-6. 2000.
- Correa, R. L. B. L., J.M.B.M; Alencar, A.; Bastos, J.C.C.; Duro, L.A. . Comprometimento Neurológico na esquistossomose mansônica. Rev Bras Neurol, n.19, p.101-4. 1983.
- Coura, J. R. e R. S. Amaral. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.99, n.5 Suppl 1, p.13-9. 2004.
- Couto, D. C., N. Esquistossomose da medula. J Bras Neurol, v.1, p.189-92. 1949.
- Cunha, A. H. G. B. F., G.; Cunha, S.H.E.B. Forma tumoral medular intramedular de infecção por *Schistosoma mansoni*. Arq Bras Neurocirurg, v.14, p.52-5. 1995.
- De Jesus, A. R., A. Magalhaes, *et al.* Association of type 2 cytokines with hepatic fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection. Infect Immun, v.72, n.6, Jun, p.3391-7. 2004.
- De Jesus, A. R., D. G. Miranda, *et al.* Morbidity associated with *Schistosoma mansoni* infection determined by ultrasound in an endemic area of Brazil, Caatinga do Moura. Am J Trop Med Hyg, v.63, n.1-2, Jul-Aug, p.1-4. 2000.

Ferrari, T. C. Involvement of central nervous system in the schistosomiasis. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.99, n.5 Suppl 1, p.59-62. 2004.

_____. A laboratory test for the diagnosis of neuroschistosomiasis. Neurol Res, v.32, n.3, Apr, p.252-62. 2010.

Ferrari, T. C., R. Correa-Oliveira, *et al.* Estimation of the local synthesis of immunoglobulin G (IgG) in the central nervous system of patients with spinal cord schistosomiasis by the IgG index. Trans R Soc Trop Med Hyg, v.93, n.5, Sep-Oct, p.558-9. 1999.

Ferrari, T. C., G. Gazzinelli, *et al.* Immune response and pathogenesis of neuroschistosomiasis mansoni. Acta Trop, v.108, n.2-3, Nov-Dec, p.83-8. 2008.

Ferrari, T. C., P. R. Moreira, *et al.* Clinical characterization of neuroschistosomiasis due to *Schistosoma mansoni* and its treatment. Acta Trop, v.108, n.2-3, Nov-Dec, p.89-97. 2008.

_____. The value of an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of schistosomiasis mansoni myeloradiculopathy. Trans R Soc Trop Med Hyg, v.89, n.5, Sep-Oct, p.496-500. 1995.

_____. Intrathecal cytokines in spinal cord schistosomiasis. J Neuroimmunol, v.177, n.1-2, Aug, p.136-41. 2006.

Fossiez, F., O. Djossou, *et al.* T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. J Exp Med, v.183, n.6, Jun 1, p.2593-603. 1996.

Freitas, A. R., A. C. Oliveira, *et al.* Schistosomal myeloradiculopathy in a low-prevalence area: 27 cases (14 autochthonous) in Campinas, Sao Paulo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.105, n.4, Jul, p.398-408. 2010.

Guerreiro, J. B., S. B. Santos, *et al.* Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. Clin Exp Immunol, v.145, n.2, Aug, p.296-301. 2006.

Hesse, M., C. A. Piccirillo, *et al.* The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10-producing innate effector and regulatory T cells. J Immunol, v.172, n.5, Mar 1, p.3157-66. 2004.

Joubert, J., P. J. Fripp, *et al.* Schistosomiasis of the spinal cord--underdiagnosed in South Africa? S Afr Med J, v.77, n.6, Mar 17, p.297-9. 1990.

Lambertucci, J. R., R. S. Rocha, *et al.* [Schistosomiasis mansoni in Minas Gerais]. Rev Soc Bras Med Trop, v.20, n.1, Jan-Mar, p.47-52. 1987.

Lambertucci, J. R., J. C. Serufo, *et al.* Schistosoma mansoni: assessment of morbidity before and after control. Acta Trop, v.77, n.1, Oct 23, p.101-9. 2000.

Lambertucci, J. R., L. C. Silva, *et al.* Guidelines for the diagnosis and treatment of schistosomal myeloradiculopathy. Rev Soc Bras Med Trop, v.40, n.5, Sep-Oct, p.574-81. 2007.

Lekoubou Looti, A. Z., A. P. Kengne, *et al.* Patterns of non-traumatic myelopathies in Yaounde (Cameroon): a hospital based study. J Neurol Neurosurg Psychiatry, v.81, n.7, Jul, p.768-70. 2010.

Lighter, J., M. Kim, *et al.* Intramedullary schistosomiasis presenting in an adolescent with prolonged intermittent back pain. Pediatr Neurol, v.39, n.1, Jul, p.44-7. 2008.

Livramento, J. A., L. R. Machado, *et al.* [Cerebrospinal fluid syndrome in neuroschistosomiasis]. Arq Neuropsiquiatr, v.43, n.4, Dec, p.372-7. 1985.

Lockhart, E., A. M. Green, *et al.* IL-17 production is dominated by gammadelta T cells rather than CD4 T cells during Mycobacterium tuberculosis infection. J Immunol, v.177, n.7, Oct 1, p.4662-9. 2006.

Luyendijk, W. e J. Lindeman. Schistosomiasis (bilharziasis) mansoni of the spinal cord stimulating an intramedullary tumor. Surg Neurol, v.4, n.5, Nov, p.457-60. 1975.

Magalhaes-Santos, I. F., D. C. Lemaire, *et al.* Antibodies to Schistosoma mansoni in human cerebrospinal fluid. Am J Trop Med Hyg, v.68, n.3, Mar, p.294-8. 2003.

Makinson, A., R. J. Morales, *et al.* Diagnostic approaches to imported schistosomal myeloradiculopathy in travelers. Neurology, v.71, n.1, Jul 1, p.66-7. 2008.

Malaquias, L. C., P. L. Falcao, *et al.* Cytokine regulation of human immune response to Schistosoma mansoni: analysis of the role of IL-4, IL-5 and IL-10 on peripheral blood mononuclear cell responses. Scand J Immunol, v.46, n.4, Oct, p.393-8. 1997.

Montenegro, S. M., P. Miranda, *et al.* Cytokine production in acute versus chronic human Schistosomiasis mansoni: the cross-regulatory role of interferon-gamma and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. J Infect Dis, v.179, n.6, Jun, p.1502-14. 1999.

- Muniz, A. L., W. Rodrigues, Jr., *et al.* Association of cytokines, neurological disability, and disease duration in HAM/TSP patients. Arq Neuropsiquiatr, v.64, n.2A, Jun, p.217-21. 2006.
- Nascimento-Carvalho, C. M. e O. A. Moreno-Carvalho. Neuroschistosomiasis due to *Schistosoma mansoni*: a review of pathogenesis, clinical syndromes and diagnostic approaches. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, v.47, n.4, Jul-Aug, p.179-84. 2005.
- Naus, C. W., J. Chipwete, *et al.* The contribution made by *Schistosoma* infection to non-traumatic disorders of the spinal cord in Malawi. Ann Trop Med Parasitol, v.97, n.7, Oct, p.711-21. 2003.
- Nobre, V., L. C. Silva, *et al.* Schistosomal myeloradiculopathy due to *Schistosoma mansoni*: report on 23 cases. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.96 Suppl, p.137-41. 2001.
- Peregrino, A. J., S. P. De Oliveira, *et al.* [Meningomyeloradiculitis caused by *Schistosoma mansoni*. Research protocol and report of 21 cases]. Arq Neuropsiquiatr, v.46, n.1, Mar, p.49-60. 1988.
- Peregrino, A. J., P. M. Puglia, *et al.* [Schistosomiasis of the spinal cord: analysis of 80 cases]. Arq Neuropsiquiatr, v.60, n.3-A, Sep, p.603-8. 2002.
- Pittella, J. E. The relation between involvement of the central nervous system in schistosomiasis mansoni and the clinical forms of the parasitosis. A review. J Trop Med Hyg, v.94, n.1, Feb, p.15-21. 1991.
- _____. Neuroschistosomiasis. Brain Pathol, v.7, n.1, Jan, p.649-62. 1997.
- Pittella, J. E. e M. A. Lana-Peixoto. Brain involvement in hepatosplenic Schistosomiasis mansoni. Brain, v.104, n.3, Sep, p.621-32. 1981.
- Ross, A. G., P. B. Bartley, *et al.* Schistosomiasis. N Engl J Med, v.346, n.16, Apr 18, p.1212-20. 2002.
- Rot, A., M. Krieger, *et al.* RANTES and macrophage inflammatory protein 1 alpha induce the migration and activation of normal human eosinophil granulocytes. J Exp Med, v.176, n.6, Dec 1, p.1489-95. 1992.
- Rutitzky, L. I., L. Bazzone, *et al.* IL-23 is required for the development of severe egg-induced immunopathology in schistosomiasis and for lesional expression of IL-17. J Immunol, v.180, n.4, Feb 15, p.2486-95. 2008.

- Rutitzky, L. I., J. R. Lopes Da Rosa, *et al.* Severe CD4 T cell-mediated immunopathology in murine schistosomiasis is dependent on IL-12p40 and correlates with high levels of IL-17. J Immunol, v.175, n.6, Sep 15, p.3920-6. 2005.
- Rutitzky, L. I. e M. J. Stadecker. CD4 T cells producing pro-inflammatory interleukin-17 mediate high pathology in schistosomiasis. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.101 Suppl 1, Sep, p.327-30. 2006.
- Saleem, S., A. I. Belal, *et al.* Spinal cord schistosomiasis: MR imaging appearance with surgical and pathologic correlation. AJNR Am J Neuroradiol, v.26, n.7, Aug, p.1646-54. 2005.
- Santos, E. C., G. B. Campos, *et al.* [Clinical profile and criteria for the diagnosis of schistosomal myeloradiculopathy]. Arq Neuropsiquiatr, v.59, n.3-B, Sep, p.772-7. 2001.
- Santos, S. B., A. F. Porto, *et al.* Modulation of T cell responses in HTLV-1 carriers and in patients with myelopathy associated with HTLV-1. Neuroimmunomodulation, v.13, n.3, p.145-51. 2006.
- Schrum, S., P. Probst, *et al.* Synthesis of the CC-chemokines MIP-1alpha, MIP-1beta, and RANTES is associated with a type 1 immune response. J Immunol, v.157, n.8, Oct 15, p.3598-604. 1996.
- Scrimgeour, E. M. Non-traumatic paraplegia in northern Tanzania. Br Med J (Clin Res Ed), v.283, n.6297, Oct 10, p.975-8. 1981.
- Silva, L. C., P. E. Maciel, *et al.* [Schistosomal myeloradiculopathy]. Rev Soc Bras Med Trop, v.37, n.3, May-Jun, p.261-72. 2004.
- Sousa-Pereira, S. R., A. L. Teixeira, *et al.* Serum and cerebral spinal fluid levels of chemokines and Th2 cytokines in *Schistosoma mansoni* myeloradiculopathy. Parasite Immunol, v.28, n.9, Sep, p.473-8. 2006.
- Souza, A. L., E. Roffe, *et al.* Potential role of the chemokine macrophage inflammatory protein 1alpha in human and experimental schistosomiasis. Infect Immun, v.73, n.4, Apr, p.2515-23. 2005.
- Souza, P. R., A. L. Souza, *et al.* The role of chemokines in controlling granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni* infection. Acta Trop, v.108, n.2-3, Nov-Dec, p.135-8. 2008.
- Spina-Franca, A., P. N. Salum, *et al.* [Myelopathies: diagnostic aspects]. Arq Neuropsiquiatr, v.38, n.4, Dec, p.360-6. 1980.

Steinman, L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. Nat Med, v.13, n.2, Feb, p.139-45. 2007.

Suchet, I., C. Klein, *et al.* Spinal cord schistosomiasis: a case report and review of the literature. Paraplegia, v.25, n.6, Dec, p.491-6. 1987.

Taub, D. D., A. R. Lloyd, *et al.* The effects of human recombinant MIP-1 alpha, MIP-1 beta, and RANTES on the chemotaxis and adhesion of T cell subsets. Adv Exp Med Biol, v.351, p.139-46. 1993.

Wang, J. M., B. Sherry, *et al.* Human recombinant macrophage inflammatory protein-1 alpha and -beta and monocyte chemoattractant and activating factor utilize common and unique receptors on human monocytes. J Immunol, v.150, n.7, Apr 1, p.3022-9. 1993.

Who. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_912.pdf. 2002.

Wilson, M. S., M. M. Mentink-Kane, *et al.* Immunopathology of schistosomiasis. Immunol Cell Biol, v.85, n.2, Feb-Mar, p.148-54. 2007.

Wolpe, S. D., G. Davatelis, *et al.* Macrophages secrete a novel heparin-binding protein with inflammatory and neutrophil chemokinetic properties. J Exp Med, v.167, n.2, Feb 1, p.570-81. 1988.

Wynn, T. A. IL-13 effector functions. Annu Rev Immunol, v.21, p.425-56. 2003.

_____. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. J Clin Invest, v.117, n.3, Mar, p.524-9. 2007.

Wynn, T. A., A. W. Cheever, *et al.* 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, May 1, p.4473-80. 1998.

Wynn, T. A., R. W. Thompson, *et al.* Immunopathogenesis of schistosomiasis. Immunol Rev, v.201, Oct, p.156-67. 2004.

10 Anexo 1 Questionário de investigação de sintomas mielorradicular

Anexo I.



Universidade Federal da Bahia - Serviço de Imunologia

Serviço de
Simunologia
HUPES-UFBA

PROJETO: Neuroesquistossomose em áreas endêmicas

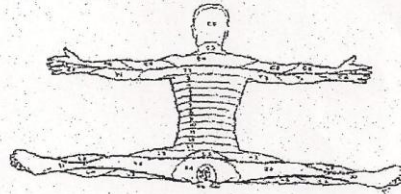
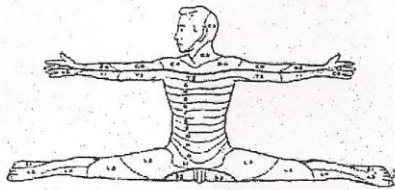
Nome: _____ Genero: M () F ()

Idade (anos): _____ Identificação: _____ Data: _____

PROTOCOLO EXAME NEUROLÓGICO

1. Parestesias

- Você sente dormência ou queimação em alguma parte do corpo? SIM () NÃO () Onde?



2. Você apresenta Incontinência Urinária : SIM () NÃO (). Obs: _____

3. Constipação: SIM () NÃO (). Obs: _____

4. Impotência: SIM () NÃO (). Obs: _____

5. Lombalgia: SIM () NÃO (). Obs: _____

6. Paresia

6.1- Você sente fraqueza em alguma parte do corpo? SIM () NÃO ()

Onde? _____

6.2 -Você sente fraqueza nas pernas? SIM () NÃO ()

EXAME NEUROLÓGICO:

7. **Marcha:** Normal () ; Alterada () ; Não consegue caminhar () . OBS: _____

8. **Caminha sob calcanhar:** SIM () NÃO () . Obs: _____

9. **Caminha na ponta dos pés:** SIM () NÃO () . Obs: _____

10. **Sobe um degrau de escada sem apoio:** SIM () NÃO () . Obs: _____

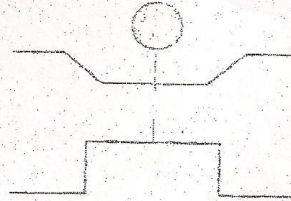
11. **Reflexo Cutâneo Plantar:** Extensão () Flexão () Abolido ()

12. **Reflexo patelar:** 0 () + () ++ () +++ () IV+ () .

REFLEXOS
0 = ausente
+ = diminuído
++ = normal
+++ = vivo
IV = aumentado

13. **Força Muscular:** Colocar Normal (NL) ou Diminuída (Dim)- VER escala abaixo.

Força Muscular	Direita	Esquerda
Flexão de Antebraço		
Extensão de Antebraço		
Flexão de Perna		
Extensão de Perna		
Flexão de Coxa		
Extensão de Coxa		



Escala de Força
0 — sem contração muscular
1 — traço de contração muscular
2 — movimento possível quando elimina gravidade
3 — movimenta somente contra a gravidade
4 — força diminuída, mas vence uma pequena resistência
5 — força normal

11 Anexo 2 Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



V/ Kauron

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Rua Augusto Viana, s/nº, Canela – Hospital Universitário Professor Edgard Santos, 1º andar
 Cep. 40.110-160 – Salvador-Bahia telef.: (71) 3283-8043 e-mail: cep@ufba.br homepage: www.cep@ufba.br

PARECER/RESOLUÇÃO Nº 092/2009

Registro CEP. 106/09. (Este número, bem como o do Parecer acima devem ser citados nas correspondências referentes a este projeto).

Título do Projeto. “Prevalência da esquistossomose mielorradicular em áreas endêmicas na Bahia e estudo da resposta imunológica na doença.”

Patrocínio/Financiamento. Recursos próprios da Instituição. Orçamento mínimo, compatível.

Instituição. Serviço de Imunologia (SIM) e Serviço de Neurologia (SN), Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, C-HUPES/UFBA

Pesquisadora Responsável. Maria Ilma Andrade Santos Araújo, Médica, PhD. Equipe complementar relacionada no Protocolo. “Currícula Vitae” apensos.

Área do Conhecimento. 4.00, Ciências da Saúde; 4.01, Medicina; Nível Epidemiológico, E; Grupo III.

Objetivos. Geral — avaliar a prevalência da mielopatia esquistossomótica em populações das áreas endêmicas para *S. mansoni* na Bahia, Água Preta e Conde. Caracterizar o perfil da resposta imune no soro e no líquido cefalorraquidiano de pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica atendidos no HUPES, UFBA. **Específicos** — 1. Avaliar a prevalência de casos de mielopatia decorrente da infecção pelo *S. mansoni* nas áreas do Conde e Água Preta-BA; 2. Avaliar os níveis de IgE e de IgG4 específicos para os antígenos do verme adulto (SWAP) e do ovo (SEA) do *S. mansoni*, além de complexos imunes, no soro e líquido de pacientes com neuroesquistossomose, comparando-se com líquido de pacientes com polirradiculopatia não inflamatória; 3. Avaliar o perfil de citocinas Th1/pró-inflamatória (IFN- γ , TNF e IL-17), Th2 (IL-5 e IL-13) e Tregulatória (IL-10 e TGF- β), das quimiocinas Eotaxina e Rantes no soro e líquido de pacientes com neuroesquistossomose, comparando-se com soro e líquido de pacientes com polirradiculopatia não inflamatória

Sumário. Estudo seccional, com duração de 12 (doze) meses, que visa avaliar os objetivos acima descritos em indivíduos de qualquer gênero e idade, moradores das regiões endêmicas e/ou pacientes com diagnóstico de mielorradiculopatia esquistossomótica e/ou de polirradiculopatia não inflamatória elegíveis para serem posteriormente acompanhados no Serviço de Neurologia.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
 IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010
 Rua Augusto Viana, s/nº, Canela – Hospital Universitário Professor Edgard Santos, 1º andar
 Cep. 40.110-160 – Salvador-Bahia telefax: (71) 3283-8043 e-mail: cep@ufba.br homepage: www.cep@ufba.br

Serão excluídas mulheres grávidas; indivíduos portadores de doenças crônicas ou que não possam colaborar com o estudo; pacientes com história de trauma raquimedular.

Os selecionados responderão a um questionário padronizado (Anexo1) com questões referentes aos sintomas da mielorradiculopatia esquistossomótica. Realização de procedimentos padrões necessários para identificação da etiologia dessa doença (exame neurológico, mediante sinais de lesão no sistema nervoso central, exames complementares como ressonância magnética da coluna (RMC) e estudo do liquor cefalorraquidiano), além de exames parasitológico de fezes e laboratoriais, este último a ser verificado através das próprias espécimes obtidas. Haverá tratamento gratuito aos indivíduos portadores de enteroparasitoses e aqueles que apresentarem queixas neurológicas.

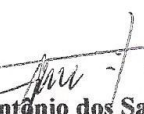
A equipe possui profissionais habilitados para a execução dos exames e estrutura adequada nessas áreas endêmicas, onde funciona um Posto de Saúde para avaliação clínica dos pacientes, adaptada uma sala para coleta de sangue e outra para centrifuga, microscópio óptico e geladeira. O SIM dispõe de infra-estrutura para armazenamento das amostras biológicas (soro e líquor).

O Estudo receberá apoio financeiro do próprio Serviço através de verba já disponibilizada para outro Projeto de Pesquisa intitulado “Avaliação da resposta imune celular em indivíduos infectados pelo *S. mansoni*”.

Comentários. Estudo com embasamento e muito factível. Equipe com vasta experiência nessa linha de pesquisa. Orçamento justificado. Cronograma viável. Dois “Termos de Consentimento Livre e Pré-Esclarecidos” para indivíduos sadios e controles e outro adaptado para menores de 18 (dezoito) anos, éticos. **Projeto aprovável.**

APROVADO

Salvador, 11 de Novembro de 2009


 Professor, Doutor Antônio dos Santos Barata
 Coordenador – CEP/MCO/UFBA

Observações importantes. Toda a documentação anexa ao Protocolo proposto e rubricada pelo (a) Pesquisador (a), arquivada neste CEP, e também a outra devolvida com a rubrica da Secretária deste (a) ao (à) mesmo (a), faz parte intrínseca deste Parecer/Resolução, bem como as “Recomendações Adicionais” apenas, além da **impostergável entrega de relatórios parciais e final como consta nesta liberação**, (Modelo de Redação para Relatório de Pesquisa, anexo).

12 Anexo 3 Termo de Consentimento livre e esclarecido para adultos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAR DO ESTUDO

Título do Projeto: Prevalência da esquistossomose mielorradicular em áreas endêmicas na Bahia e estudo do perfil de anticorpos e citocinas na doença.

Investigador Principal: Maria Ilma Andrade Santos Araújo, médica, Serviço Imunologia, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos – UFBA, Rua João da Botas s/n, Canela, CEP 40.110-160, Salvador-BA. Tel.: 3237-7353; e-mail: mia@ufba.br

Nome do Paciente: _____

Convite e Objetivo:

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo de pesquisa que tem como objetivo estimar a prevalência da esquistossomose mielorradicular ou neuroesquistossomose, que é a infecção pelo *Schistosoma mansoni* no sistema nervoso central, em áreas endêmicas na Bahia e estudar a possível influência de fatores da resposta imune no desenvolvimento da doença, tais como o perfil dos anticorpos, das citocinas e quimiocinas, que são componentes da resposta imunológica, mecanismos de defesa contra microorganismos, presentes no sangue.

Você foi convidado por ser morador de uma região endêmica para esquistossomose ou por apresentar sintomas compatíveis com a neuroesquistossomose, ou por esta sob investigação neurológica e seu médico solicitou o estudo do liquor cefalorraquidiano. Neste último caso sua participação neste estudo consiste em concordar em ceder uma pequena amostra (2ml) deste liquor coletado e 5ml do sangue periférico como controles para esta pesquisa.


Claudineia Lima dos Santos
 Secretária Executiva
 Comitê de Ética em Pesquisa
 CEP/MCO/UFBA

Página 1 de 4



Caso você seja de área endêmica ou apresente sintomas de neuroesquistossomose, esta participação implica na sua concordância em passar por uma consulta médica com o intuito de avaliar a presença de sinais e sintomas desta doença, através de um questionário e exame físico. Se for encontrado dados sugestivos da doença você será encaminhado para o Serviço de Neurologia do Hospital Universitário Prof Edgard Santos para realizar exames confirmatórios como o estudo liquor cefalorraquidiano e Tomografia Computadorizada da Coluna, estes exames são rotineiramente realizados em pacientes com suspeita de qualquer acometimento do sistema nervoso central. Caso confirmado uma pequena quantidade (2ml) será utilizada para estudar a resposta imune. O tratamento adequado para a doença será disponibilizado gratuitamente.

Participação Voluntária:

A sua participação no estudo é voluntária e você estará contribuindo para o melhor entendimento desta doença. Você é livre para recusar a participar do estudo, ou se retirar em qualquer época após o seu início sem afetar ou prejudicar a qualidade e a disponibilidade da assistência médica que lhe será prestada. Utilize o tempo que for necessário para decidir se deseja participar do estudo

Além das informações aqui presentes você pode perguntar tudo sobre o estudo ao seu médico.

Finalidade do estudo:

Este estudo tem a finalidade de avaliar a prevalência da neuroesquistossomose em áreas endêmicas para a *Schistosoma mansoni* e a possível influência de fatores da resposta imune no desenvolvimento da doença.

Procedimentos:

Caso concorde em participar do estudo, você receberá os coletores de fezes, que deverão ser devolvidos, para que possamos realizar os exames parasitológicos. Em seguida, você doará 10mL de

sangue que será coletado por profissional capacitado para tal, com o auxílio de seringas e agulhas descartáveis. Além disso, será utilizado 2 ml do líquido para avaliação imunológica, caso tenha sido colhido com o intuito de confirmar o diagnóstico da doença no sistema nervoso central.

Duração do Estudo:

Após a assinatura do termo de consentimento, sua participação no estudo terá uma duração máxima prevista de 12 meses.

Confidencialidade:

Qualquer informação obtida durante este estudo será confidencial sendo apenas compartilhada com outros membros da equipe. Os resultados serão divulgados na forma de comunicação científica, não permitindo a identificação individual dos participantes.

Análise dos Riscos e Benefícios:

A coleta de líquido e de sangue venoso são procedimentos médico de rotina e, em casos raros pode provocar dor leve e sangramento após retirada da agulha. Caso isso aconteça, todos os cuidados serão tomados por profissionais devidamente habilitados.

Retorno dos Benefícios para o Sujeito e para a Sociedade:

Estudos que contribuem para identificação de mecanismos envolvidos no desenvolvimento da neuroesquistossomose, o que pode levar a estratégias de prevenção e tratamento da doença.

As pessoas que se submeterem aos exames receberão os resultados dos mesmos, se desejarem

Você será tratado gratuitamente para esquistossomose e para neuroesquistossomose.

Custos:

Você não terá custos com a participação no estudo e nem receberá pagamento por sua participação.

Esclarecimentos:

Qualquer dúvida que você tenha sobre o que está escrito neste consentimento ou sobre os procedimentos que constam desse projeto de pesquisa, poderá entrar em contato com Dra. Maria Ilma Araujo, coordenadora do projeto, médica do Serviço de Imunologia do HUPES-UFBA, Rua Padre Feijó, s/n – Canela, telefone (071) 3237-7353, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira, na pessoa do Sr. Coordenado Dr. Antônio Barata, situado no Hospital Universitários Prof. Edgard Santos, 1º. Andar, no endereço Rua João das Botas s/n Canela, telefone (071) 3283-8043.

Consentimento:

Se você leu o consentimento livre e esclarecido ou este lhe foi explicado e você concorda em participar voluntariamente deste estudo, favor assinar o nome abaixo. A você será entregue uma cópia deste formulário.

Assinatura ou impressão digital do Participante

RG n°

Local: _____ Data ____ / ____ / ____ e Hora: _____

Assinatura do Pesquisador

RG n°

Local: _____ Data ____ / ____ / ____ e Hora: _____


Claudineia Lima dos Santos
 Secretária Executiva
 Comitê de Ética em Pesquisa
 CEP/MCO/IPP/

13 Anexo 3 Termo de Consentimento livre e esclarecido para crianças

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MENORES DE IDADE
(MENORES DE 18)**

Projeto: Prevalência da esquistossomose mielorradicular em áreas endêmicas na Bahia e estudo do perfil de anticorpos e citocinas na doença.

Investigador Principal : Maria Ilma Andrade Santos Araújo, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Rua João das Botas s/n, Canela, 40110-160, Salvador-Bahia- Brasil.

Nome do paciente: _____

Número de Identificação no Projeto: _____

Convite e objetivo: Você está sendo convidado a participar de um estudo científico. O propósito deste estudo é avaliar a prevalência da esquistossomose mielorradicular em áreas endêmicas para a parasitose e a possível influência de fatores da resposta imune no desenvolvimento da doença.

Você foi convidado por ser morador de uma região endêmica para esquistossomose ou por apresentar sintomas compatíveis com a neuroesquistossomose, ou por esta sob investigação neurológica e seu médico solicitou o estudo do liquor cefalorraquidiano. Neste último caso sua participação neste estudo consiste em concordar em ceder uma pequena amostra (2ml) deste liquor coletado e 5ml do sangue periférico como controles-para esta pesquisa.

Caso você seja de área endêmica ou apresente sintomas de neuroesquistossomose, esta participação implica na sua concordância em passar por uma consulta médica com o intuito de avaliar a presença de sinais e sintomas desta doença, através de um questionário e exame físico. Se for encontrado dados sugestivos da doença você será encaminhado para o Serviço de Neurologia do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos para realizar exames confirmatórios como o estudo liquor cefalorraquidiano e Tomografia Computadorizada da Coluna. ²estes exames são rotineiramente

Claudineia Lima dos Santos
Secretária Executiva
Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/MCO/IFBA

realizados em pacientes com suspeita de qualquer acometimento do sistema nervoso central. Caso confirmado uma pequena quantidade (2ml) será utilizada para estudar a resposta imune. O tratamento adequado para a doença será disponibilizado gratuitamente.

Participação Voluntária:

A sua participação no estudo é voluntária e você estará contribuindo para o melhor entendimento da sua doença. Você é livre para recusar a participar do estudo, ou se retirar em qualquer época após o seu início sem afetar ou prejudicar a qualidade e a disponibilidade da assistência médica que lhe será prestada. Utilize o tempo que for necessário para decidir se deseja participar do estudo. Além das informações aqui presentes você pode perguntar tudo sobre o estudo ao seu médico.


Finalidade do estudo:

Este estudo tem a finalidade de avaliar a prevalência da neuroesquistossomose em áreas endêmicas para a *Schistosoma mansoni* e a possível influência de fatores da resposta imune no desenvolvimento da doença.

Procedimentos:

Caso concorde em participar do estudo, você receberá os frascos coletores de fezes, que deverão ser devolvidos, para que possamos realizar os exames parasitológicos. Em seguida, você doará 10mL de sangue que será coletado por profissional capacitado para tal, com o auxílio de seringas e agulhas descartáveis. Além disso, será utilizado 2 ml do líquido para avaliação imunológica, caso tenha sido colhido com o intuito de confirmar o diagnóstico da doença no sistema nervoso central.

Duração do Estudo:


Claudinéia Lima dos Santos
Secretária Executiva
Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/MICO/UFRB

Após a assinatura do termo de consentimento, sua participação no estudo terá uma duração máxima prevista de 12 meses.

Confidencialidade:

Qualquer informação obtida durante este estudo será confidencial sendo apenas compartilhada com outros membros da equipe. Os resultados serão divulgados na forma de comunicação científica, não permitindo a identificação individual dos participantes.

Análise dos Riscos e Benefícios:

A coleta de líquido e de sangue venoso são procedimentos médico de rotina e, em casos raros pode provocar dor leve e sangramento após retirada da agulha. Caso isso aconteça, todos os cuidados serão tomados por profissionais devidamente habilitados.

Retorno dos Benefícios para o Sujeito e para a Sociedade:

Estudos que contribuem para identificação de mecanismos envolvidos no desenvolvimento da neuroesquistossomose, o que pode levar a estratégias de prevenção e tratamento da doença.

As pessoas que se submeterem aos exames receberão os resultados dos mesmos, se desejarem

Você será tratado gratuitamente para esquistossomose e para neuroesquistossomose.

Custos:

Você não terá custos com a participação no estudo e nem receberá pagamento por sua participação.

Esclarecimentos:

Qualquer dúvida que você tenha sobre o que está escrito neste consentimento ou sobre os procedimentos que constam desse projeto de pesquisa, poderá entrar em contato com Dra. Maria Ilma Araujo, coordenadora do projeto, médica do Serviço de Imunologia do HUPES-UFBA, Rua

Padre Feijó, s/n – Canela, telefone (071) 3237-7353, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira, na pessoa do Sr. Coordenado Dr. Antônio Barata, situado no Hospital Universitários Prof. Edgard Santos, 1º. Andar, no endereço Rua João das Botas s/n – Canela, telefone (071) 3283-8043.

Consentimento:

Se você leu o consentimento livre e esclarecido ou este lhe foi explicado e você concorda em participar voluntariamente deste estudo, favor assinar o nome abaixo. A você será entregue uma cópia deste formulário.

Você é livre para decidir se deseja ou não participar deste estudo. Caso aceite participar, por favor, assine ou coloque sua impressão digital abaixo.

Assinatura ou impressão do paciente	Local / Data	Hora
Assinatura ou impressão do responsável	Local / Data	Hora
Testemunha	Local / Data	Hora
Assinatura do pesquisador	Local / Data	Hora


 Claudineia Lima dos Santos
 Secretária Executiva
 Comitê de Ética em Pesquisa
 CEPAC