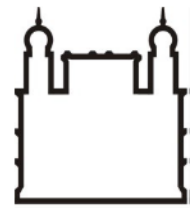




UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ



FIOCRUZ

Programa de Pós-Graduação em Patologia Humana e Experimental

TESE DE DOUTORADO

**CÉLULAS ENDOTELIAIS, DAPSONA E POLIMORFISMOS GENÉTICOS COMO
MODULADORES DA INTERAÇÃO HOSPEDEIRO-*SCHISTOSOMA MANSONI***

BRUNA OLIVEIRA LOPES SOUZA

Salvador - Bahia

2025

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Programa de Pós-Graduação em Patologia Humana e Experimental

**CÉLULAS ENDOTELIAIS, DAPSONA E POLIMORFISMOS GENÉTICOS COMO
MODULADORES DA INTERAÇÃO HOSPEDEIRO-*SCHISTOSOMA MANSONI***

BRUNA OLIVEIRA LOPES SOUZA

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação
em Patologia Humana para obtenção do grau de
Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Riccio Oliveira

Salvador – Bahia

2025

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz/ FIOCRUZ – Bahia - Salvador

S729c Souza, Bruna Oliveira Lopes

Células Endoteliais, Dapsona E Polimorfismos Genéticos Como Moduladores Da Interação Hospedeiro-Schistosoma Mansoni. / Bruna Oliveira Lopes Souza. _ Salvador, 2025.

111f.: il.: 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Riccio Oliveira

Tese (Doutorado em Patologia Humana e Experimental) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2025.

1. Schistosoma mansoni. 2. Praziquantel. 3. Dapsona. 4. Estresse oxidativo. I. Título.

CDU 616.995.122


“CÉLULAS ENDOTELIAIS, DAPSONA E POLIMORFISMOS GENÉTICOS COMO MODULADORES DA INTERAÇÃO HOSPEDEIRO – SCHISTOSOMA MANSONI”.

Bruna Oliveira Lopes Souza


FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 15 de agosto de 2025.


COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **JOELMA NASCIMENTO DE SOUZA**
Data: 18/08/2025 17:43:03-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>


Dra. Joelma Nascimento de Souza
Professora
UFBA

Documento assinado digitalmente
 **FILIPE FERREIRA DE ALMEIDA REGO**
Data: 19/08/2025 09:25:01-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Filipe Ferreira de Almeida Rego
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ

Documento assinado digitalmente
 **LEONARDO PAIVA FARIAS**
Data: 18/08/2025 18:12:29-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Leonardo Paiva Farias
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANO KALABRIC SILVA**
Data: 18/08/2025 10:56:15-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Luciano Kalabric Silva
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ

Documento assinado digitalmente
 **RICARDO RICCIO OLIVEIRA**
Data: 18/08/2025 09:50:56-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. Ricardo Riccio Oliveira
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ

FONTES DE FINANCIAMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

Programa INOVA FIOCRUZ.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Programa de Excelência em Pesquisa PROEP/IGM/2020.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pelo sustento e pelas portas que se abriram para que eu trilhasse e chegasse até aqui.

Gostaria de agradecer também ao amor da minha vida, César, por ser meu porto seguro, o abraço aconchegante e por me passar a tranquilidade quando tudo parecia estar saindo do meu controle.

Agradeço ao meu filho, Israel, sua existência é a minha maior motivação, seus sorrisos e olhares cheios de amor, são o meu combustível.

Agradeço aos meus pais, Rarilton e Roseney, e à minha irmã, Rebeca, aos meus amigos e familiares, pelo amor, apoio, orações e torcida sempre presentes.

Eu amo vocês!

Gostaria de agradecer ao Instituto Gonçalo Moniz (IGM/Fiocruz Bahia), instituição que me acolheu e forneceu toda a infraestrutura necessária para a realização dos experimentos que compõem esta tese.

Agradeço também às agências de fomento à CAPES e ao CNPq, além da FIOCRUZ, pelo suporte financeiro, fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Meus agradecimentos também à Valdomiro Moitinho e toda equipe do Biotério do IGM pelo apoio durante a realização dos experimentos.

Agradeço a meu orientador, Ricardo Riccio, pela confiança em mim depositada e por todo ensinamento ao longo desses 11 anos.

Agradeço também aos colaboradores desse projeto, à Dra. Isadora Siqueira, Dra. Marilda Gonçalves, Dra. Thassila Pitanga, Dra. Dalila Luciola, Dra. Corynne Adanho e Dr. Sânzio Silva.

Quero agradecer à equipe do LAPEC pelo auxílio e apoio sempre que necessário. Quero agradecer a toda equipe do LISD, em especial aos membros da equipe PARASIDES. Às alunas de Iniciação científica, Andressa Moreira Lima Azevedo, Jade Santos Morais Barbosa, Juliana Bezerra Dória Lima, Ingrid de Araújo Moura e Fernanda Freitas Costa que colaboraram na execução dos experimentos, muito obrigada!

À Ane Caroline Casaes, Camilla Almeida, Ronald Alves, Lorena Queiroz e Brenda Cunha, vocês foram essenciais para a conclusão deste trabalho, sem vocês eu não conseguiria.

Obrigada pelos momentos para além do trabalho, pelas conversa, risadas, vocês tornaram tudo mais leve.

Gostaria de agradecer à Secretária do LISD, Valdenice de Oliveira, pela ajuda sempre que solicitada.

SOUZA, Bruna Oliveira Lopes. **Células endoteliais, dapsona e polimorfismos genéticos como moduladores da interação hospedeiro–*Schistosoma mansoni* sob estresse oxidativo e terapia farmacológica.** 2025. 111f. il. Tese (Doutorado em Patologia Humana) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina. Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2025.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A esquistossomose é uma doença parasitária prevalente em países tropicais em desenvolvimento, e o praziquantel (PZQ) é a principal droga utilizada para o tratamento. No entanto, relatos de falha terapêutica têm sido descritos. Fatores do hospedeiro, como a produção de enzimas antioxidantes, especialmente a catalase, podem contribuir para a manutenção da viabilidade do parasito. Um dos metabólitos da dapsona, a dapsona hidroxilamina (DDS-NOH), é conhecido por inibir a catalase. Assim, a redução da resposta antioxidante do hospedeiro, especialmente pela inibição da catalase, poderia potencializar o efeito do PZQ. **OBJETIVO:** Avaliar, *in vitro* e em modelo experimental, o efeito da dapsona e de seu metabólito DDS-NOH na viabilidade do *Schistosoma mansoni*, além de investigar, em população residente em área endêmica, a frequência de polimorfismos nos genes *CAT*, *TSLP* e *IL33*, e suas associações com a presença de infecção por helmintos e indicadores laboratoriais de morbidade. **METODOLOGIA:** No modelo *in vitro*, vermes adultos de *S. mansoni* foram desafiados com DDS-NOH na presença de H₂O₂, catalase recombinante ou células endoteliais HUVEC. A viabilidade dos vermes foi avaliada por microscopia óptica. Em modelo experimental, camundongos infectados foram tratados com PZQ, dapsona ou a combinação de ambos. A eficácia foi avaliada por contagem de vermes e a segurança por parâmetros clínicos e hematológicos. Em estudo transversal com moradores de área endêmica para esquistossomose foram realizados exames parasitológicos, genotipagem dos polimorfismos *CAT rs7943316*, *TSLP rs1898671*, *IL33 rs7044343* e *IL33 rs928413*, e análise de parâmetros hematológicos. **RESULTADOS:** Observou-se que as células endoteliais humanas exercem um efeito protetor sobre os vermes, aumentando sua viabilidade mesmo em condições de estresse oxidativo. A hidroxilamina dapsona, por sua vez, foi capaz de reverter esse efeito protetor, ao inibir a catalase e reduzir a viabilidade dos vermes. No modelo experimental, a associação de dapsona com PZQ não aumentou a eficácia antiparasitária em relação ao PZQ isolado. Em humanos, o genótipo selvagem (CC) do polimorfismo *TSLP rs1898671* esteve associado à maior frequência de infecção por *S. mansoni*, além de alterações em parâmetros laboratoriais, como níveis mais baixos de hemoglobina e hemácias em infectados com esse genótipo. **CONCLUSÃO:** O sistema pró/antioxidante do hospedeiro pode favorecer a sobrevivência de vermes adultos de *S. mansoni*, e sua modulação representa uma possível via terapêutica adjuvante. Fatores genéticos relacionados à resposta antioxidante e à imunidade inata também influenciam a suscetibilidade à infecção por helmintos e a morbidade associada.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*; Praziquantel; Dapsona; Estresse oxidativo

OLIVEIRA, Bruna Souza Santos. **Endothelial cells, dapsone, and genetic polymorphisms as modulators of host–*Schistosoma mansoni* interaction under oxidative stress and pharmacological therapy**. 2025. 111f. il. Tese (Doutorado em Patologia Humana) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina. Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2025.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Schistosomiasis is a parasitic disease prevalent in tropical developing countries, and praziquantel (PZQ) is the main drug used for treatment. However, reports of therapeutic failure have been described. Host-related factors, such as the production of antioxidant enzymes—especially catalase—may contribute to maintaining parasite viability. One of dapsone’s metabolites, dapsone hydroxylamine (DDS-NOH), is known to inhibit catalase. Therefore, the reduction of the host’s antioxidant response, particularly through catalase inhibition, could enhance the effect of PZQ. **OBJECTIVE:** To evaluate, both in vitro and in an experimental model, the effect of dapsone and its metabolite DDS-NOH on the viability of *Schistosoma mansoni*, and to investigate, in a population residing in an endemic area, the frequency of polymorphisms in the *CAT*, *TSLP*, and *IL33* genes and their associations with helminth infection and laboratory indicators of morbidity. **METHODS:** In the in vitro model, adult *S. mansoni* worms were exposed to DDS-NOH in the presence of H₂O₂, recombinant catalase, or HUVEC endothelial cells. Worm viability was assessed by optical microscopy. In the experimental model, infected mice were treated with PZQ, dapsone, or their combination. Efficacy was evaluated by worm burden, and safety was assessed using clinical and hematological parameters. In a cross-sectional study conducted in a schistosomiasis-endemic area, parasitological tests were performed along with genotyping for *CAT rs7943316*, *TSLP rs1898671*, *IL33 rs7044343*, and *IL33 rs928413* polymorphisms, and hematological analyses were conducted. **RESULTS:** Human endothelial cells exhibited a protective effect on the worms, increasing their viability even under oxidative stress conditions. DDS-NOH was able to reverse this protective effect by inhibiting catalase and reducing worm viability. In the experimental model, the combination of dapsone with PZQ did not enhance antiparasitic efficacy compared to PZQ alone. In humans, the wild-type (CC) genotype of *TSLP rs1898671* was associated with a higher frequency of *S. mansoni* infection, along with changes in laboratory parameters, such as lower levels of hemoglobin and red blood cells in infected individuals with this genotype. **CONCLUSION:** The host’s pro/antioxidant system may favor the survival of adult *S. mansoni* worms, and its modulation represents a potential adjuvant therapeutic approach. Genetic factors related to antioxidant responses and innate immunity also influence susceptibility to helminth infection and associated morbidity.

Keywords: *Schistosoma mansoni*; Praziquantel; Dapsone; Oxidative stress

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição de municípios endêmicos, segundo faixas do percentual de positividade para esquistossomose, Brasil, 2010-2022	18
Figura 2	Distribuição anual do percentual de positividade e de infecções severas por esquistossomose, Brasil, 2010-2022	19
Figura 3	Ciclo biológico do <i>Schistosoma</i> spp	21
Figura 4	As duas principais vias metabólicas da dapsona	29
Figura 5	Esquemas de placas na realização dos experimentos <i>in vitro</i>	38
Figura 6	Desenho de estudo do modelo experimental	40
Figura 7	Efeito do tratamento com dapsona, praziquantel e sua combinação sobre a carga parasitária de <i>Schistosoma mansoni</i> em camundongos infectados	72
Figura 8	Efeitos da dapsona (DDS), praziquantel (PZQ) e sua combinação nos parâmetros hematológicos de camundongos infectados por <i>Schistosoma mansoni</i>	74
Figura 9	Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos <i>TSLP</i> , <i>IL33</i> e <i>CAT</i> em indivíduos residentes em área endêmica para esquistossomose	77
Figura 10	Associação entre variantes genéticas e parâmetros hematológicos em participantes infectados ou expostos a <i>S. mansoni</i>	79
Figura 11	Avaliação de enzimas hepáticas segundo os genótipos dos polimorfismos <i>TSLP</i> , <i>IL33</i> e <i>CAT</i>	81
Figura 12	Prevalência de infecção por helmintos segundo genótipos dos polimorfismos estudados	84
Figura 13	Parâmetros hematológicos em indivíduos com infecção por helmintos e associação com o polimorfismo <i>TSLP rs1898671</i>	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sequências de primers para amplificação por qPCR de genes antioxidantes e controle	36
Tabela 2	Descrição dos polimorfismos investigados	43
Tabela 3	Efeito dos tratamentos sobre o peso corporal de camundongos infectados e não infectados por <i>Schistosoma mansoni</i>	71
Tabela 4	Caracterização demográfica, parasitológica e laboratorial da população no pré-tratamento	76
Tabela 5	Associação entre polimorfismos genéticos e infecção por <i>Schistosoma mansoni</i>	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3-AT	3-amino-1,2,4-triazol
ADCC	Citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos. Do inglês <i>Antibody dependent cellular cytotoxicity</i>
ALK-1	Quinase de Linfoma Anaplásico. Do inglês <i>Anaplastic Lymphoma Kinase</i>
ALT	Alanina Aminotransferase
ANOVA	Análise de Variância
ARE	Elemento de Resposta Antioxidante. Do inglês <i>Responsive Element</i>
AST	Aspartato Aminotransferase
CAT	Catalase
cDNA	DNA complementar
CO	Monóxido de Carbono
ct	Ciclo Limiar. Do inglês <i>threshold cycle</i> .
DDS	Dapsona
DDS-	Dapsona Hidroxilamina
NOH	
DNA	Ácido Desoxirribonucleico. Do inglês <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTN	Doença Tropical Negligenciada
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra acético. Do inglês <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
EPO	Peroxidase Eosinofílica
GGT	Gama-Glutamil Transferase
GH	Glutamina+HEPES
GPX	Glutaciona Peroxidase
GSH	Glutaciona Reduzida
GSR	Glutaciona Redutase
HO-1	Heme-oxigenase-1
HPRT	Hipoxantina Fosforibosiltransferase
HUVEC	Células Endoteliais da Veia Umbilical Humana. Do inglês <i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i>

IFN-γ	Interferon- γ
IgE	Imunoglobulina E
IGM	Instituto Gonçalo Moniz
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-13	Interleucina 13
IL-22	Interleucina 22
IL-22RA2	Subunidade alfa-2 do receptor da interleucina-22.
IL-33	Interleucina 33
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
ILC2	Células Linfoides Inatas do Tipo 2
iNOS	Óxido nítrico-sintase induzida
INPEG	Inquérito Nacional De Pesquisa De Esquistossomose e Geohelmintos
IQR	Intervalo Interquartil
Keap1	Do inglês <i>Kelch Like ECH Associated Protein 1</i>
KK	Kato-Katz
LISD	Laboratório de Investigação em Saúde Global e Doenças Negligenciadas
mRNA	RNA mensageiro
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo-P
NO	Óxido Nítrico
NQO1	NAD(P)H quinona desidrogenase 1
NRF2	Fator 2 relacionado ao fator nuclear E2. Do inglês <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
opg	Ovos por grama de fezes
PABA	Ácido Paraminobenzóico. Do inglês <i>Paraminobenzoic Acid</i>
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase. Do inglês <i>polymerase chain reaction</i>
PZQ	Praziquantel
qPCR	PCR quantitativo em tempo real

RNA	Ácido Ribonucleico
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio. Do inglês <i>Reactive Oxygen Species</i>
Rpm	Rotações por minuto
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium
SFB	Soro Fetal Bovino
Sm	Referente à <i>Schistosoma mansoni</i>
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único. Do inglês <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SOD1	Superóxido Dismutase 1
Th1	Referente a células T auxiliares 1. Do inglês <i>T helper 1</i>
Th2	Referente a células T auxiliares 2. Do inglês <i>T helper 2</i>
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral- α . Do inglês <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
TRX	Tioredoxina Redutase
TSLP	Linfopoiética Estromal Tímica

SUMÁRIO

1	REVISÃO DA LITERATURA	17
1.1	Epidemiologia da esquistossomose	17
1.2	A biologia do <i>Schistosoma mansoni</i>	20
1.3	Manifestações clínicas e resposta imune	21
1.4	Células endoteliais e a esquistossomose	24
1.5	A esquistossomose e o sistema antioxidante	25
1.6	Tratamento da esquistossomose	27
2	JUSTIFICATIVA	30
3	HIPÓTESES	31
4	OBJETIVOS	32
4.1	Objetivo geral	32
4.2	Objetivos específicos	32
5	Metodologia	33
5.1	Modelo <i>in vitro</i>	33
5.1.1	Obtenção de vermes adultos	33
5.1.2	Manutenção da cultura de células HUVEC	33
5.1.3	Expressão de genes antioxidantes por PCR em tempo real	35
5.1.4	Ensaio <i>in vitro</i>	34
5.2	Modelo experimental	39
5.3	Avaliação em seres humanos	40
5.3.1	Avaliação parasitológica	41
5.3.2	Coleta de sangue periférico	41
5.3.3	Extração de DNA e avaliação de polimorfismo	41
5.4	Análise estatística	43
6	RESULTADOS	45
6.1	Resultados referentes ao manuscrito 1	45
6.2	Resultados referentes ao manuscrito 2	70
6.3	Resultados referentes ao manuscrito 3	75
6.3.1	Frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos de interesse	76

6.3.2	Avaliação de parâmetros hematológicos e hepáticos de acordo com os polimorfismos nos genes de interesse	79
6.3.3	Associação entre polimorfismo nos genes de interesse e infecção por helmintos	82
6.3.4	Avaliação dos parâmetros laboratoriais nas infecções por helmintos e a associação com a variante <i>rs1898671</i> do gene <i>TSLP</i>	85
7	DISCUSSÃO	88
8	CONCLUSÃO	93
	REFERÊNCIAS	94
	ANEXO A - Comprovante de submissão do primeiro manuscrito	103
	ANEXO B - Outros artigos publicados durante o doutorado	108

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Epidemiologia da esquistossomose

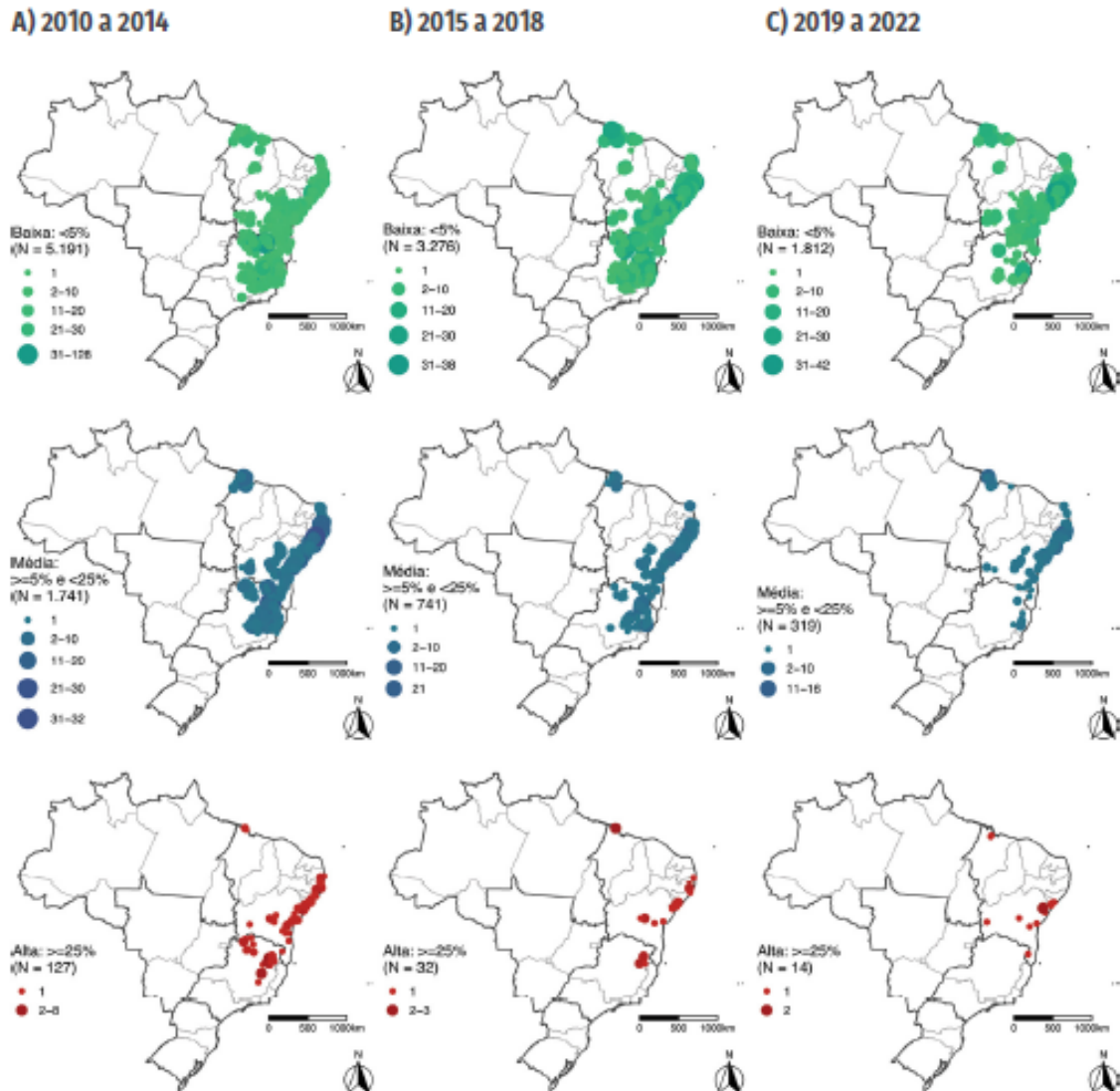
A esquistossomose é considerada uma doença tropical negligenciada (DTN) que afeta populações que vivem em condições de pobreza e que não tem acesso à água potável e nem saneamento básico de qualidade. A doença afeta aproximadamente 250 milhões de pessoas em todo o mundo. A maior parte dos casos se concentram no continente africano, todavia também são considerados problemas de saúde pública em países da Ásia e América latina (Mcmanus *et al.*, 2018). No Brasil, a esquistossomose afeta os estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e o norte e nordeste de Minas Gerais (Katz, 2018).

Nos últimos anos tem sido observada uma tendência a redução das taxas de positividade e de intensidade de infecção em todo o país. Dois documentos com abordagens metodológicas diferentes, corroboram em demonstrar esta tendência, são eles: o inquérito nacional de pesquisa de esquistossomose e geohelmintos (INPEG), publicado em 2018, e o mais recente é o boletim epidemiológico publicado em novembro de 2022 (Katz, 2018; Brasil, 2022).

O INPEG apresentou dados sobre a positividade para a esquistossomose entre os anos de 2010 e 2015. A amostra desse estudo foi composta por escolares com idade entre 7 e 17 anos provenientes de 521 municípios que foram sorteados de regiões classificadas em endêmicas e não endêmicas. Foi observado que os estados que mostravam proporção de positivos acima de 1% foram Sergipe, Minas Gerais, Alagoas, Bahia, Pernambuco e Rio de Janeiro (Katz, 2018).

O boletim epidemiológico apresenta uma análise dos dados registrados no sistema nacional do programa de controle da esquistossomose no período de janeiro de 2010 a outubro de 2022. Neste documento os municípios endêmicos são classificados em baixa, média e elevada positividade, para prevalência de testes positivos para esquistossomose inferiores a 5%, entre 5% e 25% e superiores a 25%, respectivamente. Nesta abordagem, fica evidente a redução na quantidade de municípios classificados como de alta positividade entre 2019 e 2022 e consequente predomínio dos municípios de baixa positividade (Figura 1). Apesar desta tendência, os locais que permanecem com percentual de positividade altos são localizados na região nordeste, nos estados do Maranhão, Sergipe e Bahia, coincidindo com os locais onde há menor concentração de riqueza e pior infraestrutura sanitária e acesso a água potável (Brasil, 2022).

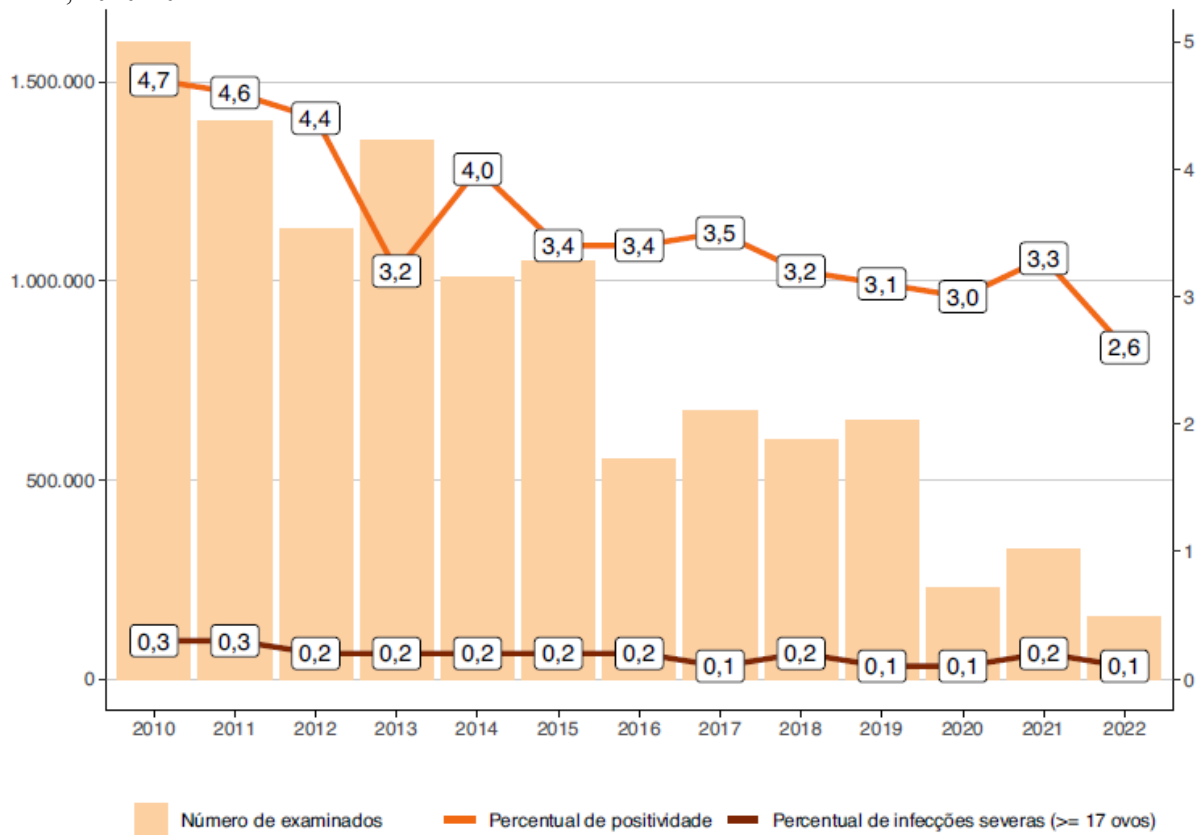
Figura 1 - Distribuição de municípios endêmicos, segundo faixas do percentual de positividade para esquistossomose, Brasil, 2010-2022.



Fonte: (Brasil, 2022).

A Figura 2 aponta para uma redução nas taxas de positividade para a esquistossomose no Brasil, o que pode ser atribuído a fatores como a urbanização, melhoria no serviço de abastecimento de água e saneamento básico, além de tratamentos repetidos em massa nas áreas endêmicas. Entretanto, apesar da importante redução da prevalência geral, ainda existem regiões em que a prevalência é alta e merecem atenção (Katz, 2018; Brasil, 2022).

Figura 2 - Distribuição anual do percentual de positividade e de infecções severas por esquistossomose, Brasil, 2010-2022.



Fonte:(Brasil, 2022).

O nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido trabalhos em uma região endêmica para a esquistossomose ao longo de 20 anos, e é possível observar que apesar da realização de tratamentos em massa, ocorre a persistência da esquistossomose na região. Dessa forma, é importante ressaltar que medidas de vigilância e de combate à esquistossomose, como educação em saúde, melhoramento do acesso à água potável e saneamento básico país para que o Brasil possa, efetivamente, alcançar as metas estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para eliminação da esquistossomose enquanto problema de saúde pública até 2030 (WHO, 2020).

Em fevereiro de 2022, a OMS publicou diretrizes para a eliminação da esquistossomose que incluem acesso a água potável e saneamento, educação em saúde, gestão ambiental e controle de hospedeiros intermediários e o tratamento em massa de forma preventiva (WHO, 2022). Na nova diretriz, houve uma expansão do tratamento em massa em escolares para todas as faixas etárias (2 anos ou mais), além de diminuir o limiar de prevalência para o tratamento

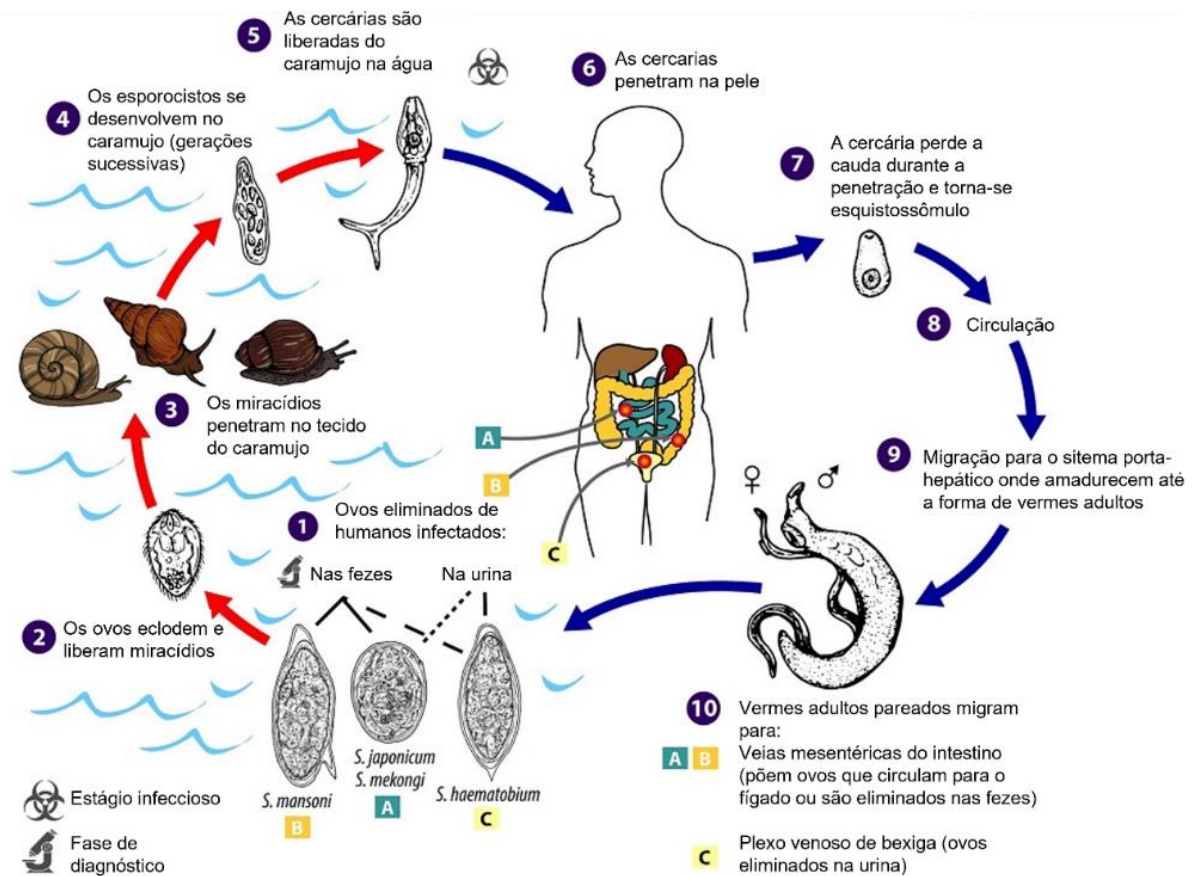
em massa para ser anual e aumentando a frequência do tratamento, podendo chegar até duas vezes no ano (WHO, 2022).

1.2 A biologia do *Schistosoma mansoni*

A doença é causada por 6 diferentes espécies de trematódeos do gênero *Schistosoma*. Sendo a espécie *S. haematobium* responsável pela forma urogenital da doença e as espécies *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. guineensis* e *S. intercalatum* causam esquistossomose intestinal (Mcmanus *et al.*, 2018).

O ciclo tem início quando ovos viáveis eclodem na água liberando o miracídio, que infecta o caramujo. No hospedeiro intermediário, os miracídios se desenvolvem em esporocistos e se reproduzem de forma assexuada, dando origem a esporocistos filhos, que novamente por reprodução assexuada, origina numerosas cercárias que são liberadas na água. A infecção no humano ocorre quando a cercária penetra na pele durante o contato com água contaminada. As cercárias perdem a cauda e se tornam esquistossômulos que migram pela corrente sanguínea até o pulmão, depois migram para a região da veia porta hepática, onde amadurecem até vermes adultos (Mcmanus *et al.*, 2018). Depois de chegarem à maturidade, os vermes adultos do *Schistosoma mansoni* migram para o sistema venoso portal-mesentérico do hospedeiro, sendo o lúmen vascular o seu habitat definitivo, lugar onde os vermes acasalam e realizam a ovoposição (Andrade, 2009). Os ovos liberados atravessam o intestino para serem eliminados nas fezes, ou podem alcançar o fígado ocasionando a morbidade relacionada à esquistossomose (Mcmanus *et al.*, 2018). Esse ciclo de vida está descrito na Figura 3.

Figura 3 - Ciclo biológico do *Schistosoma* spp.



Fonte: (CDC, 2019).

1.3 Manifestações clínicas e resposta imune

A esquistossomose pode se manifestar clinicamente logo após a penetração da cercaria, caracterizando a forma aguda, ou mais tardiamente que é a forma crônica (Mcmanus *et al.*, 2018).

A esquistossomose aguda é caracterizada por manifestações como a dermatite cercariana e a síndrome toxêmica. A dermatite cercariana ocorre devido a reações de hipersensibilidade e causa uma reação pruriginosa maculopapular em partes do corpo que foram expostas à água contendo cercárias (Mcmanus *et al.*, 2018). A síndrome toxêmica, também conhecida como síndrome de Katayama, aparece entre 14 a 84 dias após indivíduos não imunes serem expostos (Ross *et al.*, 2007).

As principais manifestações clínicas associadas a fase aguda da doença parecem estar relacionadas à migração de esquistossômulos, e se manifesta com sintomas inespecíficos como,

febre noturna, tosse, mialgia, cefaleia, sensibilidade abdominal, além de tosse não produtiva, desconforto respiratório e eosinofilia (De Jesus *et al.*, 2002; Gryseels *et al.*, 2006; Ross *et al.*, 2007). Essas manifestações não são observadas em residentes de regiões endêmicas devido à sensibilização intrauterina em bebês nascidos de mães infectadas ou devido à constante reexposição, mas são observadas em indivíduos com exposição acidental, como viajantes, e nesse caso são manifestações graves podendo até chegar a óbito. (King *et al.*, 1998; De Jesus *et al.*, 2002).

As principais manifestações clínicas na fase crônica são devidas aos ovos que ficam presos nos tecidos durante a migração, sobretudo no fígado, mas podendo atingir outros órgãos como baço, pulmões ou sistema cérebro-espinhal. Os ovos secretam enzimas proteolíticas que provocam reações inflamatórias e granulomatosas eosinofílicas típicas, que são progressivamente substituídas por fibrose (Cheever; Hoffmann; Wynn, 2000; Gryseels *et al.*, 2006).

Essas manifestações podem apresentar-se de forma mais leve, muitas vezes assintomática, chamada também de forma intestinal. Essa é a forma em que se encontra a maioria das pessoas infectadas nas áreas endêmicas, eliminando ovos viáveis nas fezes, mas assintomáticas ou apresentando sintomas inespecíficos, como dor e desconforto abdominal crônico ou intermitente, perda de apetite e diarreia com ou sem sangue (Gryseels *et al.*, 2006; Andrade, 2008). A forma crônica também pode manifestar-se de forma mais grave, podendo ser classificada em forma hepática avançada. Essa forma, é caracterizada morfológicamente pela fibrose hepática periportal, juntamente com lesões destrutivas e obstrutivas do sistema da veia porta intra-hepática, mas com preservação da arquitetura normal do parênquima. Já a forma hepatoesplênica é caracterizada por sinais de hipertensão portal: esplenomegalia e varizes esofágicas (Andrade, 2008).

A imunopatogênese da esquistossomose sofre influência direta dos diferentes estágios do parasito (Verjovski-Almeida *et al.*, 2004; Hokke; Fitzpatrick; Hoffmann, 2007). Quando o hospedeiro é exposto às formas imaturas, a resposta dominante é do tipo T-helper 1 (Th1), com a presença das citocinas IL-1, IL-12, fator de necrose tumoral (TNF) e interferon- γ (IFN- γ) (Masamba; Kappo, 2021). Aproximadamente por volta de 6 semanas após a infecção, os parasitos amadurecem acasalam e iniciam a ovoposição, então a resposta Th1 diminui e surge uma forte resposta Th2 com produção das citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, induzida em resposta aos antígenos do ovo (Fallon, 2000; Loverde, 2019; Masamba; Kappo, 2021). Embora

o início da resposta Th2 pareça ter um papel crucial, uma resposta Th2 prolongada contribui para a morbidade da doença (Cheever; Hoffmann; Wynn, 2000).

Na forma crônica da esquistossomose, a resposta imune é um misto de resposta Th2 e de citocinas regulatórias, principalmente a IL-10 (Van Den Biggelaar *et al.*, 2000). A produção de IL-10 reduz os danos colaterais nos tecidos e a fibrose induzida pela resposta Th2 no fígado em resposta à deposição de ovos de *S. mansoni* (Grant *et al.*, 2011).

Outro mecanismo importante na resposta imune contra helmintos, e na esquistossomose, é citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) que ocorrem especificamente quando eosinófilos reconhecem vermes opsonizados por IgE. Eosinófilos humanos são capazes de degradar esquistossômulos *in vitro* pela ação de ânion superóxido e da atividade da Peroxidase Eosinofílica (EPO) (Kazura *et al.*, 1981; Moqbel; Macdonald; Kay, 1985).

O sistema imune desenvolve um papel importante na resistência à infecção/reinfecção. Tem sido descrito três tipos de resistência: a resistência natural à infecção, resistência à reinfecção e a resistência induzida após o tratamento com o Praziquantel. Os indivíduos naturalmente resistentes são indivíduos residentes em regiões endêmicas e que após repetidos exames de fezes durante um longo período de acompanhamento, não apresentavam ovos nas fezes (Correa-Oliveira; Caldas; Gazzinelli, 2000). A resistência à infecção/reinfecção tem sido associada a uma mistura de respostas de citocinas do tipo Th1 e Th2 e altos níveis de IgE, enquanto os níveis de IgG4 parecem estar correlacionados com a suscetibilidade à infecção. Apesar da resposta protetora ser considerada do tipo Th2, a presença do IFN- γ também está associada à resistência à infecção (Oliveira *et al.*, 2012).

A resistência que é induzida após o tratamento com o Praziquantel é considerada quando após o tratamento é observado a diminuição da produção de ovos ou a falta de ovos nas fezes (Correa-Oliveira; Caldas; Gazzinelli, 2000). Essa resistência tem sido atribuída a liberação de antígenos de vermes mortos ou danificados, ocasionando maiores níveis da citocina IL-5, aumento de eosinófilos e de níveis de IgE específicos (Dunne *et al.*, 1992; Mutapi *et al.*, 1998; Wilson *et al.*, 2013; Colley; Secor, 2014).

Apesar de todo o exposto, o *Schistosoma mansoni* é um parasito bem adaptado ao hospedeiro humano, tendo a capacidade de persistir no lúmen vascular por longos períodos (Smithers; Terry; Hockley, 1969). Alguns estudos tem demonstrado que essa capacidade de evasão do sistema imune do hospedeiro se deve a diversos mecanismos como a aquisição de antígenos hospedeiros (Smithers; Terry; Hockley, 1969), a capacidade de mimetismo molecular pelos vermes adultos (Hambrook; Hanington, 2020), o desenvolvimento de membranas

resistentes ao ataque imune (Dessein *et al.*, 1981), pela participação de proteínas no tegumento do parasito (Wilson, 2012), ou pela indução de uma resposta imune do hospedeiro mais regulatória (Colley; Secor, 2014) e a regulação de genes relacionados aos mecanismos contra o estresse oxidativo no próprio parasito (Avelar *et al.*, 2019).

Além disso, os esquistossômulos demonstram capacidade de modular a resposta endotelial, promovendo um fenótipo anti-inflamatório que pode favorecer sua sobrevivência no lúmen vascular. Esse efeito ocorre por meio da via AMPc/PKA, resultando na inibição da expressão de moléculas de adesão, como VCAM-1 e E-selectina, em células endoteliais pulmonares (Trottein *et al.*, 1999).

Essas observações destacam a relevância da interação parasito-hospedeiro na adaptação e persistência do verme adulto no organismo, fornecendo subsídios importantes para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes contra a esquistossomose.

1.4 Células endoteliais e a esquistossomose

No contexto da esquistossomose, as células endoteliais merecem destaque, uma vez que os vermes adultos permanecem localizados no lúmen vascular, onde realizam a ovoposição em contato direto com essas células. Estudos demonstram que os ovos de *S. mansoni* podem interagir com células endoteliais *in vitro*, seja de forma direta, ou de maneira indireta, por meio de sua ligação a plaquetas ou a proteínas plasmáticas do hospedeiro, como o fator de von Willebrand, o que facilita sua adesão ao endotélio e contribui para a ativação endotelial (File, 1995; Wu *et al.*, 2007; Dewalick *et al.*, 2014). Além disso, ovos e antígenos derivados são capazes de induzir a proliferação de células endoteliais *in vitro* (Freedman; Ottesen, 1988; Loeffler *et al.*, 2002). A interação entre ovos e células endoteliais também está relacionada à formação do granuloma (Schwartz; Fallon, 2018), participando da indução da angiogênese durante o desenvolvimento do granuloma hepático (Baptista, 2005; Lemos, 2010).

Adicionalmente, a esquistossomose foi associada ao aumento da permeabilidade vascular e ao incremento das interações endotélio-leucócito, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, fenômeno que parece estar parcialmente relacionado à redução da expressão da eNOS, uma enzima chave essencial para proteção endotelial e na produção de óxido nítrico, importante espécie reativa de oxigênio (Oliveira *et al.*, 2011).

Apesar da existência de diversos estudos que evidenciam a participação das células endoteliais na esquistossomose, a maioria deles concentra-se na interação dessas células com

os ovos ou com formas imaturas do parasita, havendo ainda escassez de informações acerca de sua relação com o verme adulto.

1.5 A esquistossomose e o sistema antioxidante

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são metabólitos reativos que contêm moléculas de oxigênio com elétrons desemparelhados, como por exemplo, radicais livres de oxigênio ($O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, HO^{\cdot}) e peroxidases ($H_2O_2 \cdot ROOH$) e óxido nítrico (NO) (Chen *et al.*, 2015). O excesso desses radicais livres leva ao estresse oxidativo, causando danos no DNA, levando a morte celular, resultando no envelhecimento e em inúmeras doenças (Chen *et al.*, 2015). O sistema antioxidante é essencial para a remoção das espécies reativas de oxigênio, garantindo o equilíbrio redox, prevenindo o dano oxidativo devido à capacidade de eliminar o excesso de ROS (Niture; Khatri; Jaiswal, 2014).

Diversos tipos celulares participam ativamente da produção dessas espécies reativas durante infecções, incluindo eosinófilos, neutrófilos, macrófagos, além de células epiteliais e endoteliais. Neutrófilos são recrutados precocemente aos locais de inflamação e realizam o *burst* respiratório, produzindo grandes quantidades de superóxido e peróxidos com potente ação microbicida. Eosinófilos, por sua vez, destacam-se em infecções por helmintos pela liberação de peroxidase eosinofílica e outras enzimas pró-oxidantes. Células epiteliais e endoteliais, tradicionalmente associadas a funções estruturais ou de barreira, também são capazes de produzir ROS em resposta a estímulos inflamatórios, participando ativamente da defesa contra agentes infecciosos (Mukherjee *et al.*, 2024).

Essas células, especialmente epiteliais e endoteliais, também contribuem para a resposta imune inata por meio da liberação rápida de alarminas, como IL33 e TSLP. Essas citocinas funcionam como sensores de dano ou invasão, promovendo a ativação de células imunes inatas, como basófilos, eosinófilos e células linfoides inatas do tipo 2 (ILC2) (Toki *et al.*, 2020; Cayrol; Girard, 2022). A combinação entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a liberação de alarminas cria um ambiente hostil ao parasito, favorecendo sua eliminação. No entanto, quando desregulados, esses mecanismos podem resultar em dano tecidual significativo, contribuindo para a inflamação crônica e o estresse oxidativo persistente no hospedeiro.

Uma das vias mais importantes para manter esse equilíbrio oxidativo e combater os ROS é a via do fator 2 relacionado ao fator nuclear E2 (Nrf2). O Nrf2 é um fator de transcrição altamente sensível ao estresse oxidativo. Sob condições de estresse oxidativo, devido à

produção excessiva de ROS, o Nrf2 se dissocia do Keap1 e se transloca para o núcleo, onde se liga ao elemento responsivo antioxidante (ARE) para desencadear a expressão de enzimas antioxidantes, dentre elas, a heme oxigenase 1 (HO1), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), glutatona redutase (GSR), tioredoxina redutase (TRX) e NAD(P)H quinona desidrogenase 1 (NQO1) (Zhang; Feng; Jiang, 2021).

A HO1 tem a função de catabolizar heme em biliverdina, monóxido de carbono (CO) e Fe (ferro) (Gozzelino; Jeney; Soares, 2010). A molécula SOD1 é capaz de transformar superóxido, espécie altamente deletéria, em uma forma menos agressiva à célula, o peróxido de hidrogênio (HE et al., 2017). O GPx e a CAT são responsáveis pela conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (HE et al., 2017). A GSR não age diretamente na remoção de ROS, mas é responsável pela regeneração da glutatona à sua forma reduzida (GSH) na presença de NADPH, tendo como objetivo impedir a paralisação do ciclo metabólico da glutatona, mantendo a homeostase redox (MKOJI; Smith; Prichard, 1988a; Rover Júnior *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2015).

O estresse oxidativo tem um papel importante durante a infecção pelo *S. mansoni*. Estudos tem demonstrado a capacidade de eosinófilos produzirem ROS a fim de destruir os vermes adultos (Loveerde; Carvalho-Queiroz; Cook, 2004). Após a infecção a NADPH oxidase na membrana de fagócitos ativados produzem ânion superóxido. Por sua vez, a enzima SOD, responsável pela dismutação do ânion superóxido, dá origem ao peróxido de hidrogênio (H₂O₂) o qual é utilizado pela peroxidase eosinofílica (EPO) para oxidar halogenetos (I-, Br-) (Abdallahi *et al.*, 1999).

Outros radicais livres também têm demonstrado importância, um estudo mostrou a importância da produção de óxido nítrico (NO), um radical livre, é produzido por uma família de enzimas chamadas óxido nítrico sintase, dentre elas a iNOS, na infecção por *S. japonicum*. Ratos deficientes em iNOS apresentaram atraso na eliminação de vermes, maior desenvolvimento e ovoposição, maior formação de granuloma que evoluiu para fibrose e maior produção de citocinas inflamatórias, do que ratos selvagens (Cinelli *et al.*, 2020; Shen *et al.*, 2022).

A susceptibilidade à morte do *S. mansoni* por ROS depende do seu estágio do ciclo de vida. Sendo que as formas mais jovens apresentam maior susceptibilidade, os vermes adultos apresentam resistência à morte por ROS do que vermes adultos (Mkoji; Smith; Prichard, 1988a). Para garantir a sua sobrevivência no ambiente intravascular, o verme adulto possui um sistema antioxidante composto por enzimas que reduzem a atividade de espécies reativas de

oxigênio (Mkoji; Smith; Prichard, 1988b). Essas enzimas também são produzidas por diversas células do hospedeiro para atenuar os efeitos das espécies reativas de oxigênio no hospedeiro, em contrapartida, podem estar favorecendo a sobrevivência do parasito.

1.6 Tratamento da esquistossomose

A droga de escolha para o tratamento da esquistossomose no Brasil é o Praziquantel (PZQ). Ele apresenta uma boa eficácia contra um amplo espectro que incluem cestódeos e trematódeos, apresentando efeito contra todas as espécies de *Schistosoma*. O PZQ é apresentado na forma de comprimidos de 600 mg. A dose recomendada pelo Ministério de Saúde para o tratamento da esquistossomose mansônica é de 50 mg/kg de peso corporal e 60 mg/kg para crianças (Brasil, 2014). Após ser administrado por via oral o PZQ é metabolizado no fígado e rapidamente absorvido. Possui meia-vida plasmática entre 1 e 3 h e a eliminação ocorre através da urina e das fezes, sendo mais de 80% completa após 24h (Cioli; Pica-Mattoccia, 2003).

Uma boa parte dos pacientes relatam efeitos adversos após administração do praziquantel, os quais normalmente são leves e transitórios, como dor de cabeça, náuseas, anorexia, vômitos, dor abdominal, dor epigástrica, diarreia com ou sem sangue e/ou muco, cansaço, febre, mialgia, tontura, insônia, sonolência e, mais raramente, erupção cutânea com edema. Esses efeitos colaterais podem estar relacionados com a intensidade da infecção, e com a exposição de muitos antígenos que são liberados devido à morte dos vermes adultos (Cioli; Pica-Mattoccia, 2003).

O PZQ atua sobre o verme adulto e o seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado, mas parece estar relacionado a interferência nos canais de cálcio, levando um rápido influxo de Ca^{2+} dentro do parasito, levando a contração muscular e modificações na superfície do tegumento. Porém, alguns estudos mostraram que apenas isso não explica a atividade esquistossomicida do PZQ (Pica-Mattoccia *et al.*, 2008; Nogi *et al.*, 2009; Nogueira *et al.*, 2022). Em concentrações terapêuticas mais elevadas, o PZQ provoca vacuolização e vesiculação do tegumento de parasitos suscetíveis. Esse efeito resulta em liberação do conteúdo do parasito e ativação do mecanismo de defesa do hospedeiro para a destruição dos vermes (Doenhoff; Cioli; Utzinger, 2008).

O PZQ tem sido amplamente utilizado no tratamento da esquistossomose a nível individual, bem como em abordagens de vigilância epidemiológica com administração em massa de toda a população de forma profilática. Estas medidas têm demonstrado bom

desempenho no controle da esquistossomose em diversos países nos últimos 30 anos (WHO, 2011). Especialmente na África Subsaariana, essa estratégia tem mostrado eficácia na redução na esquistossomose (Wang; Wang; Liang, 2012).

A taxa de cura varia entre 67 e 83% dos pacientes com esquistossomose mansônica, sendo influenciado por fatores como idade do paciente e do nível de infecção (Liu *et al.*, 2011; Zwang; Olliaro, 2014). O tratamento apenas com o PZQ não é eficaz contra às formas mais jovens, mas apenas com os vermes adultos, não impede a reinfeção e o desenvolvimento de parasitos resistentes ao PZQ continua sendo uma ameaça. Já foram relatadas evidências de resistência ao PZQ tanto no campo como no laboratório (Ismail *et al.*, 1999; Loverde *et al.*, 2021).

Um estudo em modelo experimental, por exemplo, mostrou que o tratamento de camundongos infectados com *S. mansoni* e tratados com múltiplas doses subcurativas desenvolveu resistência a pzq (Vale *et al.*, 2017). Em algumas regiões endêmicas em países africanos como o Egito e Senegal já tem sido descrito isolados resistentes ao Praziquantel em indivíduos com esquistossomose mansônica (Wang; Wang; Liang, 2012). Dessa forma, faz-se necessária a busca de novas estratégias terapêuticas para a esquistossomose.

Recentemente nosso grupo demonstrou um possível efeito protetor das células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) para os vermes adultos de *S. mansoni*, atribuído à capacidade dessas células de produzir agentes antioxidantes. Foi observado que células HUVEC apresentaram um aumento na expressão do gene da catalase quando foram expostas aos vermes adultos de *S. mansoni*. Além disso, constatamos que os vermes adultos cultivados juntamente com as células HUVEC apresentaram uma taxa de sobrevivência significativamente maior em comparação com aqueles cultivados na ausência dessas células, o que sugere que as células endoteliais favorecem a sobrevivência do parasito (Oliveira, 2020). Dessa forma, o sistema antioxidante, mais precisamente a catalase, pode ser considerado um alvo de uma nova abordagem de tratamento.

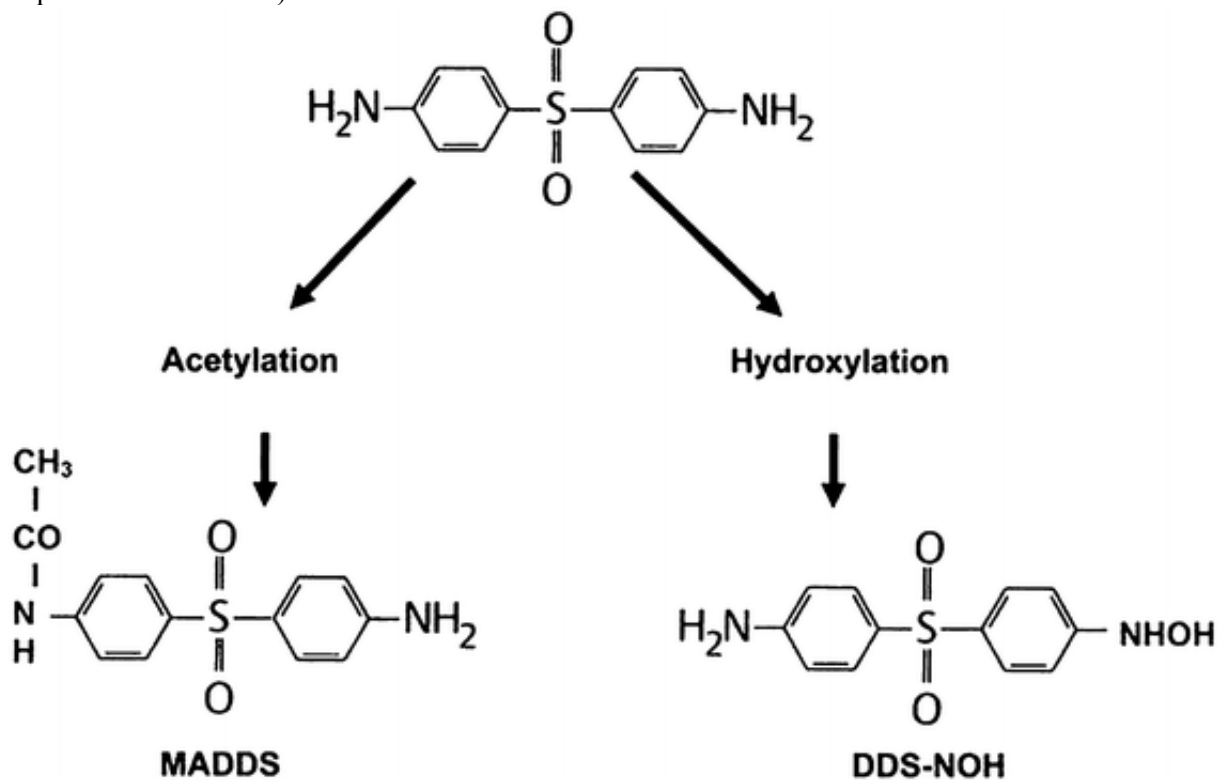
Alguns inibidores da catalase tem sido descritos, como cianeto de potássio, sulfeto de hidrogênio, azida de sódio, 3-amino-1,2,4-triazol (3-AT) e a hidroxilamina (Keilin; Hartree, 1934; Margoliash; Novogrodsky, 1958). O 3-AT causa inibição da catalase de forma rápida, completa (Margoliash; Novogrodsky, 1958) e conseqüentemente ocorre aumento nos níveis de H₂O₂ ocasionando a maior estresse oxidativo e inflamação (Ruiz-Ojeda *et al.*, 2016). Contudo o uso do 3-AT pode apresentar efeitos maléficos, como por exemplo, efeitos carcinogênicos (Falk; Thompson; Kotin, 1965; Feinstein; Fry; Staffeldt, 1978).

A inibição da catalase pela hidroxilamina é reversível na presença de soro, albumina sérica cristalina e hemina (Sevag, 1942). A hidroxilamina é um composto químico que pode ser observado a partir da metabolização hepática de alguns medicamentos, como por exemplo a dapsona.

A dapsona é um fármaco já disponível no Brasil e indicado para o tratamento de diversas doenças, como hanseníase, dermatite, toxoplasmose, entre outras. Atua contra bactérias e protozoários, semelhante às sulfonamidas, inibindo a síntese do ácido diidrofólico por competição com o para-aminobenzoato (PABA) pelo sítio ativo da dihidropteroato sintetase (Coleman, 1993).

A metabolização da dapsona no fígado ocorre por duas vias distintas (Figura 4), a N-acetilação que ocorre no citosol dos hepatócitos, e a N-hidroxilação, que ocorre no retículo endoplasmático liso. A N-hidroxilação é mediada pelo citocromo P450 pelas isoenzimas CYP3A4 e CYP2C9, gerando o metabólito chamado dapsona hidroxilamina (DDS-NOH) que por sua vez, é altamente reativo e induz estresse oxidativo no fígado (Coleman, 1993; Winter; Wang; Unadkat, 2000; Wolf; Tuzun; Tuzun, 2000; Ezhilarasan, 2021).

Figura 4 - As duas principais vias metabólicas da dapsona. (MADDS monoacetildapsona, DDS-NOH dapsona hidroxilamina)



Fonte: (Wozel; Blasum, 2014)

Esse efeito oxidativo causado pela DDS-NOH parece envolver tanto o aumento da produção de ROS quanto pela diminuição na atividade das principais enzimas envolvidas na defesa antioxidante, dentre elas a catalase (Veggi *et al.*, 2008; Albuquerque *et al.*, 2015). Dessa forma, é possível que a diminuição da resposta antioxidante do hospedeiro, sobretudo da enzima catalase pelo tratamento com a Dapsona possa ser utilizado como uma estratégia para o tratamento da esquistossomose em associação com o Praziquantel.

2 JUSTIFICATIVA

Uma das principais formas de controle da eliminação da esquistossomose, recomendada pela Organização Mundial de Saúde, consiste no tratamento em massa da população com o Praziquantel (PZQ). Apesar de o PZQ apresentar considerável eficácia, alguns estudos mostram taxas de cura reduzidas e falha terapêutica (Vale *et al.*, 2017). Fatores do hospedeiro também podem contribuir para a falha terapêutica ou mesmo a manutenção do parasito viável no hospedeiro. Um estudo recente do nosso grupo demonstrou um possível efeito protetor de células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC), particularmente devido à capacidade dessas células produzir agente antioxidantes. Foi observado que a expressão de mRNA do gene *CAT* encontra-se elevada quando HUVEC são desafiadas com vermes adultos de *S. mansoni*. Além disso, foi observada uma frequência maior de sobrevivência de vermes adultos de *S. mansoni* quando eles são cultivados juntamente com células HUVEC quando comparados aos vermes cultivados na ausência dessas células, sugerindo que as células endoteliais favorecem a sobrevivência do parasito.

O bloqueio ou mesmo a inibição parcial da catalase pode ser capaz de contribuir para a morte do parasito. Nesse contexto, uma das substâncias capazes de fazer essa inibição pode ser a dapsona hidroxilamina, um dos produtos da metabolização da dapsona. É possível que o uso desse medicamento, associado ao PZQ, seja capaz de melhorar o desempenho do praziquantel e reduzir a falha terapêutica, aumentando a taxa de cura. É fundamental que sejam realizados estudos em *in vitro*, em modelos experimentais e em humanos para responder essas perguntas científicas, para que seja gerada evidência científica que dê respaldo à proposição do uso da dapsona como adjuvante à terapia com o PZQ para o controle da esquistossomose.

3 HIPÓTESES

- A inibição da catalase pela dapsona hidroxilamina contribui para a morte do parasito em ambiente pró-oxidativo *in vitro*.
- A associação entre praziquantel e dapsona em modelo experimental reduz a carga parasitária após o tratamento.
- Polimorfismos nos genes *CAT*, *TSLP* e *IL33* estão associados à infecção e morbidade pelo *Schistosoma mansoni*.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da dapsona e de seu metabólito, hidroxilamina dapsona, sobre a mortalidade do *Schistosoma mansoni* em modelos in vitro e experimentais, e investigar a associação de polimorfismos genéticos com infecção, reinfecção e morbidade relacionadas à esquistossomose.

4.2 Objetivos específicos

1. Avaliar, em ambiente in vitro pró-oxidativo, a viabilidade do verme adulto do *S. mansoni*, o efeito da adição de catalase e hidroxilamina dapsona sobre sua sobrevivência.
2. Determinar, em modelo experimental com camundongos infectados por *S. mansoni*, as taxas de cura após tratamento com praziquantel, dapsona, e a combinação de ambos.
3. Investigar, em população residente em área endêmica para esquistossomose, a frequência de polimorfismos nos genes *CAT*, *TSLP* e *IL33*, e suas associações com a presença de infecção por *S. mansoni* e indicadores laboratoriais de morbidade.

5 METODOLOGIA

5.1 Modelo *in vitro*

5.1.1 Obtenção de vermes adultos

A obtenção dos vermes adultos de *Schistosoma mansoni* foi possível graças à manutenção do ciclo no moluscário e no biotério do Instituto Gonçalo Moniz (IGM), gerenciada pela equipe do Laboratório de Investigação em Saúde Global e Doenças Negligenciadas (LISD), coordenada pelo pesquisador Dr. Ricardo Riccio Oliveira (Protocolo CEUA 015/2021). Camundongos da linhagem *Swiss Webster* foram infectados com 100 cercárias de *S. mansoni* por via subcutânea. Após 6 a 8 semanas de infecção, os camundongos foram eutanasiados por uso de dose letal do anestésico Quetamina + Xilazina, cedido pelo biotério do IGM, administrado intraperitonealmente. Os vermes adultos do *S. mansoni* foram obtidos a partir do processo de perfusão pelo sistema porta com solução salina 0,9% com 3% de citrato de sódio (Pellegrino, 1956; Smithers; Terry, 1965).

Para isso, foi realizada uma incisão no abdome do camundongo, cortando assim a pele, peritônio e caixa torácica, expondo as vísceras e o coração. Durante a perfusão os camundongos ficaram suspensos sobre uma placa de petri e após um pequeno corte da veia mesentérica, foi iniciada a perfusão do coração aplicando no ventrículo a solução. Após isso, os vermes que ficaram depositados na placa de petri foram transferidos para outra placa contendo meio RPMI 1640 (Gibco, Life Technologies Australia Pty Ltd, Mulgrave, VIC, Australia).

Em seguida, os vermes foram transferidos para outra placa de RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de Glutamina e Hepes. Os vermes foram transferidos para placa de 96 poços de fundo chato, e foram avaliados utilizando um microscópio invertido e classificados quanto à viabilidade e ao sexo, sendo selecionados para os experimentos apenas vermes viáveis, de ambos os sexos.

5.1.2 Manutenção da cultura de células HUVEC

Células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) de linhagem imortalizada foram gentilmente cedidas pela Dra. Marilda Gonçalves, do Laboratório de Investigação em Saúde Global e Doenças Negligenciadas (LISD), Instituto Gonçalo Moniz (IGM). As células

foram fornecidas congeladas, na concentração de 1×10^6 células/mL, em solução de congelamento composta por DMSO (10%), soro fetal bovino (SFB, 40%) e meio RPMI (50%). O criotubo contendo as células foi descongelado com auxílio de água destilada aquecida a 37°C, até restar mínima fração sólida. Em seguida, o conteúdo foi transferido para um tubo cônico de 15 mL contendo meio RPMI suplementado com 1% de PenStrep (10.000 U/mL de penicilina e 10.000 µg/mL de estreptomicina; Gibco, Nova York, NY, EUA), na capela de fluxo laminar. O material foi centrifugado a 800 rpm por 4 minutos a 21 °C, e o pellet celular ressuscitado em 1 mL de SFB (Gibco). A suspensão foi então transferida para frasco de cultura contendo meio RPMI 1640 suplementado com 1% de PenStrep, 10% de SFB, 1% de glutamina e HEPES (GH). As culturas foram mantidas em estufa umidificada a 37 °C, com atmosfera de 5% de CO₂, e o meio foi trocado a cada três dias.

Quando atingiram confluência, as células foram expandidas. Para isso, o frasco foi lavado três vezes com PBS 1× (estéril, à temperatura ambiente) e, em seguida, adicionou-se 1 mL de tripsina 0,25%–EDTA 1× (Gibco), com incubação a 37 °C por 5 minutos em estufa com 5% de CO₂. A tripsina foi inativada com o dobro do volume de meio suplementado, e a suspensão celular foi transferida para tubo cônico contendo 7 mL de PBS 1×, seguido de centrifugação (800 rpm, 4 minutos, 21 °C). O pellet foi ressuscitado em meio RPMI completo e redistribuído em até quatro frascos para manutenção da cultura.

Para os ensaios, utilizaram-se células entre a 3^a e 5^a passagens. Células previamente cultivadas em frascos foram destacadas com 1 mL de tripsina 0,25%–EDTA 1×, seguida de inativação com meio RPMI completo. A suspensão de células foi coletada e transferida para um tubo cônico de 15ml contendo 7ml de PBS 1X e centrifugadas a 800 rpm por 4 minutos a 21°C. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e o pellet foi ressuscitado em 1 mL de RPMI suplementado, e a contagem de células realizada em câmara de Neubauer, utilizando azul de tripan 0,2% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) para exclusão das células não viáveis. As células foram então redistribuídas para os poços da placa de fundo chato de 12 poços na concentração de 1×10^5 células/mL com 800µL de meio RPMI completo, e foram acondicionadas em estufa a 37°C e 5% de CO₂, até que as células aderissem e a placa apresentasse confluência de 80% nos poços (Figura 5).

Após 24 horas de cultivo, foi adicionado a cada poço, um casal de vermes adultos e após isso, as placas foram mantidas em cultura por diferentes tempos: 1h, 3h, 6h. Esses experimentos foram realizados em triplicata, sendo repetido cada experimento pelo menos por três vezes.

5.1.3 Expressão de genes antioxidantes por PCR em tempo real

Para avaliação da expressão de genes relacionados ao estresse oxidativo, o mRNA foi extraído utilizando o reagente TRIzol® (Life Technologies™, Carlsbad, CA, EUA). Após o período de cultivo, o sobrenadante foi removido e em seguida, foi adicionado 500 µL de TRIzol® a cada poço da placa, transferindo o conteúdo para microtubos identificados, que foram armazenados a -80 °C até a extração.

No dia da extração, as amostras foram descongeladas e receberam 100 µL de clorofórmio, sendo homogeneizadas por inversão (10 vezes) e incubadas por 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, foram centrifugadas a 12.000 rpm por 15 minutos a 4 °C. A fase aquosa foi transferida para novo microtubo identificado, homogeneizada por inversão e armazenada a -80 °C por, no mínimo, 1 h. Após esse período, procedeu-se a nova centrifugação (12.000 rpm, 10 minutos, 4 °C), o sobrenadante foi descartado e adicionaram-se 500 µL de etanol 70%. As amostras foram novamente centrifugadas (7.500 rpm, 5 minutos, 4 °C), o sobrenadante foi descartado e os tubos permaneceram invertidos por cerca de 10 minutos, até a secagem completa do pellet. O pellet foi então ressuscitado em 20 µL de água ultrapura e as amostras armazenadas a -80 °C. A concentração e a pureza do RNA foram determinadas por espectrofotometria (NanoDrop).

A síntese de DNA complementar (cDNA) foi realizada a partir de 250 ng de RNA total, utilizando o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems™, Foster City, CA, EUA), conforme instruções do fabricante. As condições de reação foram: 25 °C por 10 minutos, 37 °C por 120 minutos, 85 °C por 5 minutos, finalizando a 4 °C. O cDNA obtido foi ressuscitado em água livre de RNase, aliquoteado e armazenado a -20 °C.

A análise da expressão gênica foi conduzida por PCR em tempo real (qPCR) em placas ópticas de 96 poços, com duplicatas para cada amostra, utilizando o sistema ABI 7500 (Applied Biosystems™) e o reagente SYBR™ Green PCR Master Mix (Applied Biosystems™), seguindo as instruções do fabricante. Os genes antioxidantes de interesse foram analisados utilizando o gene HPRT como controle endógeno. As condições padrão de qPCR foram: 95 °C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos de 95 °C por 15 s e 60 °C por 60 s.

Após a amplificação e curva de dissociação, os valores do ciclo limiar (Ct) foram obtidos com o auxílio do programa operacional do sistema 7500™ (Applied Biosystems, EUA). Os níveis de expressão foram normalizados com o controle endógeno, o gene, HPRT, e os

valores de expressão relativa ddCt, foram calculados utilizando como amostra calibradora a mediana dos controles não-tratados.

Tabela 1 - Sequências de primers para amplificação por qPCR de genes antioxidantes e controle.

Gene	Forward Primer (5'→3')	Reverse Primer (5'→3')
NRF2	GTA TGC AAC AGG ACA TTG AGC	ATG GTA GTC TCA ACC AGC TT
SOD1	TGG CCG ATG TGT CTA TTG AA	CAC CTT TGC CCA AGT CAT CT
GPx	CCA AGC TCA TCA CCT GGT CT	TCG ATG TCA ATG GTC TGG AA
GSR	ACT TGC CCA TCG ACT TTT TG	GGT GGC TGA AGA CCA CAG TT
CAT	CTG GAG CAC AGC ATC CAA TA	TCA TTC AGC ACG TTC ACA TAG A
HPRT	GAA CGT CTT GCT CGA GAT GTG A	TCC AGC AGG TCA GCA AAG AAT

Fonte: Autora

5.1.4 Ensaio *in vitro*

Primeiramente, foi avaliada a capacidade de sobrevivência dos vermes adultos após exposição a estresse oxidativo. Para essa avaliação, foram utilizados três modelos experimentais:

Apenas vermes com meio: cultura de um casal de vermes adultos de *S. mansoni* em meio RPMI suplementado, contendo cinco diferentes concentrações de H₂O₂ (100 µM, 200 µM, 400 µM, 800 µM e 1600 µM), na ausência de células HUVEC.

Vermes cocultivados com HUVEC: cultura de células HUVEC com um casal de vermes adultos, expostos às mesmas concentrações de H₂O₂.

Vermes com catalase: cultura de um casal de vermes adultos em meio RPMI suplementado com as cinco concentrações de H₂O₂, associadas à enzima catalase.

Todos os modelos foram incubados a 37 °C, em atmosfera de 5% de CO₂, por 24 h, sendo realizados em quadruplicata e repetidos em duas ocasiões independentes.

Em seguida, avaliamos também o efeito da dapsona hidroxilamina (Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA), para isso, foram testados 3 modelos diferentes.

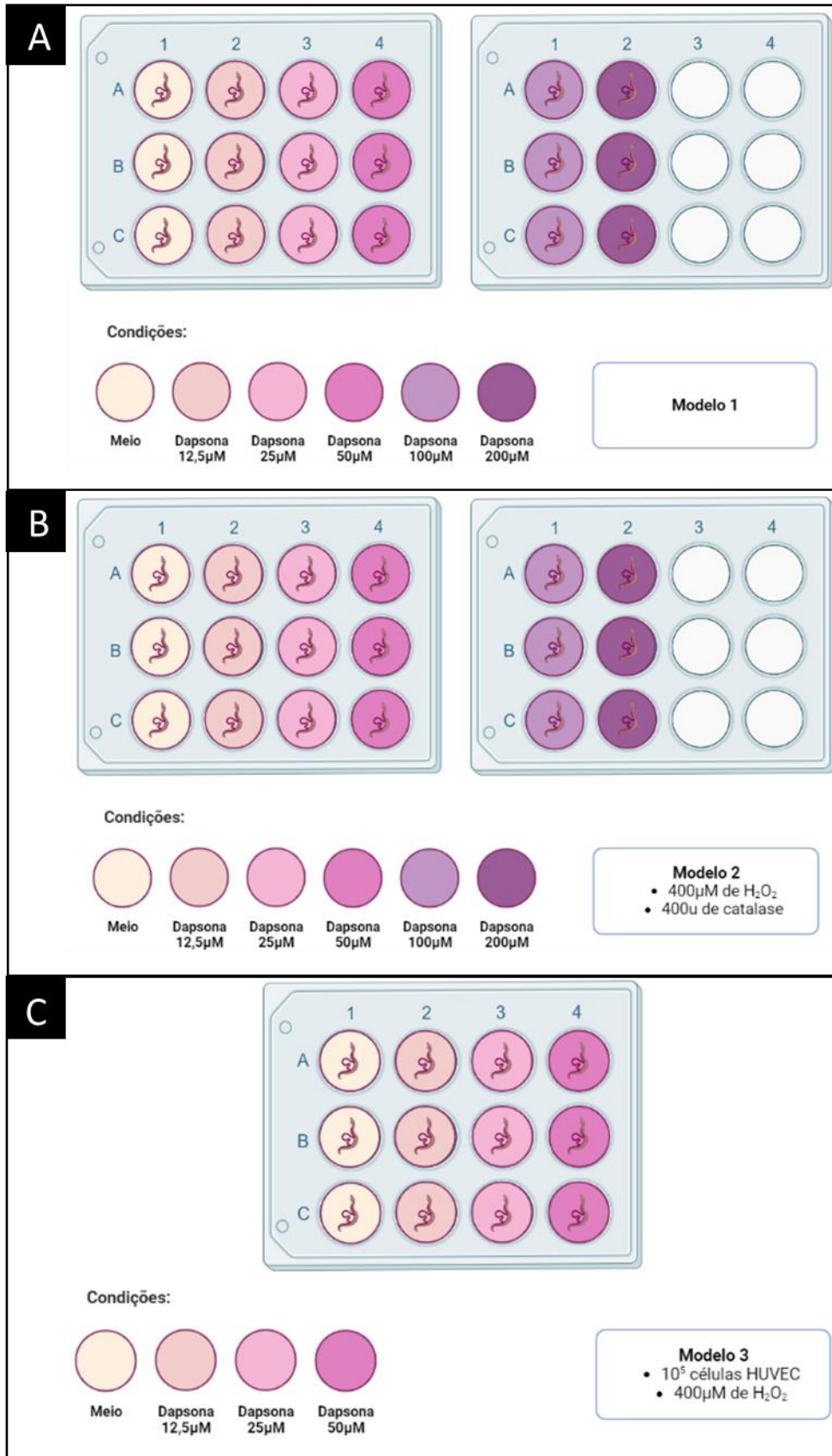
Modelo 1 – Efeito direto sobre os vermes: um casal de vermes adultos de *S. mansoni* foi cultivado em meio RPMI suplementado com diferentes concentrações de dapsona hidroxilamina (12,5 µM, 25 µM, 50 µM, 100 µM e 200 µM), visando avaliar o efeito direto do composto sobre a viabilidade dos parasitos (Figura 5A).

Modelo 2 – Inibição da catalase em ambiente pró-oxidativo: um casal de vermes foi cultivado em meio RPMI contendo 400 μM de H_2O_2 (dose previamente testada e capaz de reduzir a viabilidade em $\sim 50\%$), suplementado com 400 unidades de catalase e diferentes concentrações de dapsona hidroxilamina (Figura 5B).

Modelo 3 – Cocultivo com HUVEC: células HUVEC foram cultivadas juntamente com um casal de vermes, na presença de 400 μM de H_2O_2 e diferentes concentrações de dapsona hidroxilamina (Figura 5C).

Todos os modelos foram incubados a 37 °C, em atmosfera de 5% de CO_2 , por 24 h. Após o tempo de incubação, os casais foram observados com o auxílio de um microscópio invertido para avaliação de viabilidade. Os critérios utilizados para a avaliação de sobrevivência baseado no estudo de (Lombardo *et al.*, 2019) que avalia principalmente a motilidade e a integridade do tegumento dos vermes, sendo classificados em scores que variam de 0 a 3. O score 0 significa morte e foi determinado quando o tegumento estava completamente enegrecido e os vermes com ausência de motilidade. O score 1 foi determinado quando o tegumento estava enegrecido, mas os vermes apresentavam baixa motilidade e comprometimento de ventosa oral e ventral, geralmente apresentam-se destacados do fundo do poço. O score 2 determinava tegumento pouco íntegro e alguma motilidade. O score 3 determinavam vermes totalmente viáveis, com tegumento íntegro e bastante motilidade. A presença de ovos nos poços também é um sinal de boa viabilidade. A determinação dos scores foi feita por 2 observadores de forma independente, e quando havia discordância era realizada uma nova observação até chegar a um consenso.

Figura 5 - Esquemas de placas na realização dos experimentos *in vitro*



Fonte: Criado pelo *Biorender*.

5.2 Modelo experimental

Esse projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto Gonçalo Moniz - IGM/ FIOCRUZ/ BA (004/2022).

Foram utilizados camundongos da linhagem *Swiss Webster*, não isogênicos, pesando entre 18 a 30g de peso corporal, mantidos no Biotério do IGM. Os animais foram infectados através de um inóculo de 75 cercárias por via subcutânea. Após 7 semanas, cada animal foi tratado de acordo com os grupos experimentais:

I. **Controle não-tratado:** Foi administrado aos 5 camundongos apenas solução fisiológica 0,9%.

II. **PZQ:** 400mg/kg em dose única, os demais dias os 5 camundongos receberão solução fisiológica 0,9%.

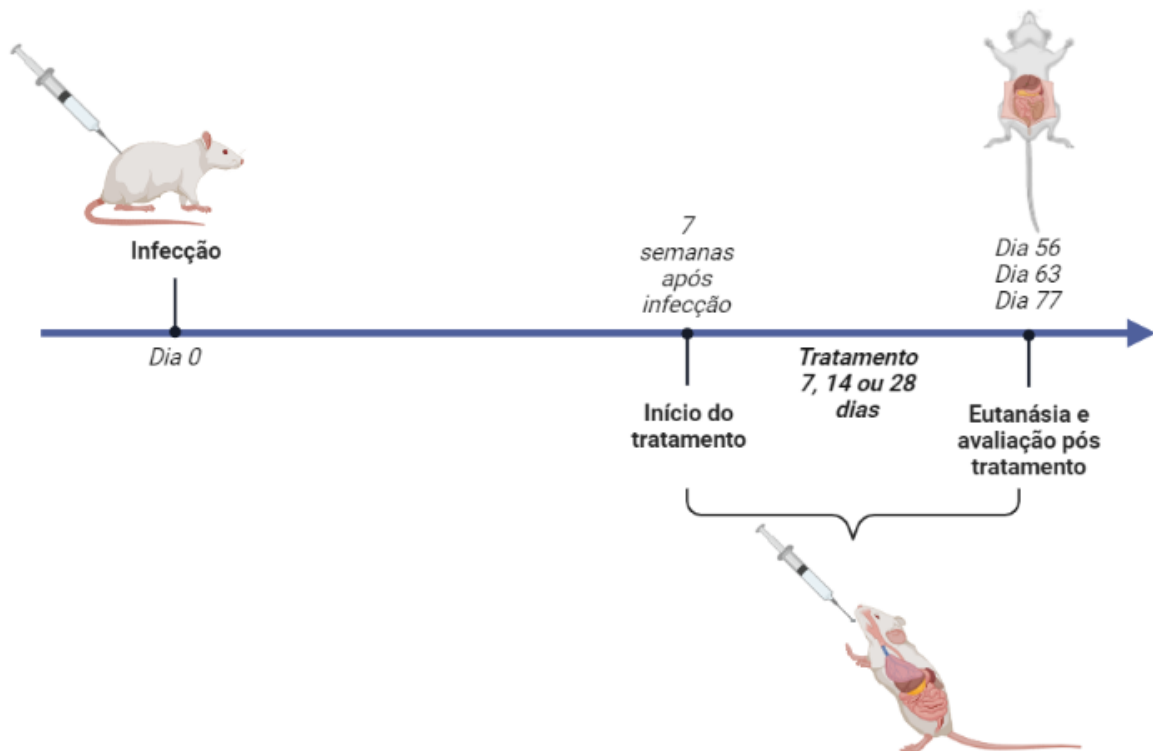
III. **Dapsona:** 25mg/kg, o medicamento foi administrado nos animais durante 7, 14 dias ou 28 dias.

IV. **PZQ + Dapsona:** os 5 camundongos receberam 400mg/kg de PZQ no primeiro dia do tratamento, os demais dias receberam 25mg/kg da dapsona durante 7, 14 dias ou 28 dias.

V. **Controle não infectado e tratado com a associação de PZQ + Dapsona:** seguindo o mesmo esquema de tratamento do grupo IV.

A administração das drogas foi realizada através de gavagem. O tratamento foi iniciado com os animais que foram tratados com a dose única do PZQ e os demais animais receberam solução fisiológica 0,9%. Nos dias seguintes o tratamento diário com a dapsona (com 7, 14 e 28 dias) foi iniciado, e os animais que não foram tratados com a dapsona, receberam solução fisiológica 0,9%. O modelo experimental está esquematizado na Figura 6.

Figura 6 - Desenho de estudo do modelo experimental



Fonte: Criado pelo *Biorender*.

Para a avaliação clínica foi avaliada a alteração de peso antes e após o tratamento. Além disso, foi realizada a coleta de sangue e avaliação de parâmetros hematológicos, a fim de avaliar possíveis efeitos adversos ocasionado pelo tratamento, especialmente com a dapsona.

A avaliação da carga parasitária foi realizada pelo processo de perfusão conforme descrito anteriormente. Os vermes adultos obtidos foram mantidos em meio RPMI, transferidos para placas de 96 poços e contados com o auxílio de um microscópio invertido.

5.3 Avaliação em seres humanos

Este projeto faz parte de um estudo maior intitulado “Avaliação de saúde de uma população rural do estado da Bahia” (CAAE: 77287417.8.0000.0040), aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos do Instituto Gonçalo Moniz - IGM/ FIOCRUZ/ BA e está de acordo com o disposto na resolução CNS 466/2012.

Trata-se de um estudo realizado na região rural do município do Conde-BA, cerca de 170 km de Salvador-BA. Foram recrutados 642 indivíduos residentes dos vilarejos Buri,

Camarões, Jenipapo e Sempre Viva. A coleta de dados em campo foi efetuada no período de janeiro de 2018 a dezembro de 2022.

Os critérios de inclusão utilizados foram: indivíduos com idade entre 4 e 70 anos que entregaram a amostra de fezes e que foram tratados com o Praziquantel, necessário para análises pós-tratamento.

5.3.1 Avaliação parasitológica

Para a avaliação parasitológica da população, foram confeccionadas duas lâminas de Kato-Katz em uma única amostra de fezes de cada indivíduo, conforme recomendado pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2014). As lâminas foram confeccionadas no campo e as leituras realizadas no Laboratório de Investigação em Saúde Global e Doenças Negligenciadas (LISD) do Instituto Gonçalo Moniz (IGM).

A leitura foi realizada com auxílio de microscópio óptico, e foram contados todos os ovos de *Schistosoma mansoni* encontrados. Em seguida, o valor obtido foi multiplicado pela constante 24 para que o resultado seja expresso em ovos por grama (opg) de fezes (Katz; Chaves; Pellegrino, 1972).

5.3.2 Coleta de sangue periférico

Foram coletados 2 tubos de sangue periférico por participante. O primeiro tubo, com anticoagulante EDTA, foi utilizado para extração de DNA para avaliações genéticas. O segundo, com gel separador, foi utilizado para obtenção de soro.

Para a obtenção do soro, o tubo com gel separador, após retração do coágulo, foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, alíquotas de 1ml foram distribuídas em criotubos por participante e mantidas a -20°C até o momento de sua análise.

5.3.3 Extração de DNA e avaliação de polimorfismo

O número amostral final para essa análise foi de 449 participantes, sendo selecionados indivíduos que entregaram amostra de fezes, teve alíquota de sangue para extração de DNA e que foram tratados para esquistossomose.

O DNA genômico foi extraído de sangue periférico, usando o kit de DNA Flexigene (QIAGEN Inc., Valencia, CA, United States) de acordo com as recomendações do fabricante, e quantificado por espectrofotômetro (NanoDrop® ND-1000, NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, NC, United States).

A avaliação dos polimorfismos foi realizada utilizando o kit TaqMan® SNP Genotyping Assays, esse método utiliza a atividade da TaqMan® 5'-nuclease para amplificar e detectar polimorfismos específicos em amostras de DNA genômico purificadas. Cada ensaio contém:

- Primers direto e reverso específicos da sequência para amplificar a sequência de interesse;
- Duas sondas fluorescentes *minor-groove-binding* (MGB) - que aumenta a diferença da temperatura de *melting* (T_m) o que permite melhor discriminação alélica - com um corante silenciador, ou *quencher* não fluorescente (NFQ) na extremidade 3':
 - ✓ Uma sonda marcada com VIC™ para detectar a sequência do alelo 1
 - ✓ Uma sonda marcada com FAM™ para detectar a sequência do alelo 2

O mix da reação foi preparado e foi pipetado 8µl em cada poço da placa de Reação Óptica Rápida MicroAmp™ de 96 Poços, em seguida, foi adicionado ao poço 2µl do DNA genômico diluído para que ficasse na concentração entre 10-20ng, totalizando 10µl de volume final da reação. Após, a placa foi selada com adesivo óptico e a placa foi centrifugada brevemente para trazer a mistura de reação para o fundo do poço e eliminar as bolhas de ar. Então, a placa foi levada ao equipamento de PCR em tempo real 7500 da Applied Biosystems (Life Technologies, Waltham, Massachusetts, USA).

No equipamento a reação foi submetida a termociclagem nas seguintes condições: uma etapa inicial de 60°C por 1 minuto e 95°C a 10 minutos, seguido de 40 ciclos, sendo 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60°C. A Tabela 1 descreve os polimorfismos investigados.

Tabela 2 - Descrição dos polimorfismos investigados

ID SNP	Gene	Polimorfismo	Alteração da função	Referência Autor/Ano
<i>rs1898671</i>	<i>TSLP</i>	C/T, Substituição por transição	Aumento da produção de TSLP.	(LOU et al., 2019)
<i>rs7044343</i>	<i>IL33</i>	C/T, Substituição por transição	Alelo C de <i>rs7044343</i> foi associado a altos níveis de IL33.	(Angeles-Martinez et al., 2017; Falahi et al., 2022)
<i>rs928413</i>	<i>IL33</i>	A/G, Substituição por transição	Frequência aumentada em certas doenças inflamatórias.	(Chen et al., 2015; Xu et al., 2020)
<i>rs7943316</i>	<i>CAT</i>	A/T, Substituição por transversão	A presença do alelo T foi associada com a diminuição da expressão gênica e da atividade catalítica da enzima antioxidante.	(Saify; Saadat; Saadat, 2016; Nawab <i>et al.</i> , 2017; Hernandez-Guerrero <i>et al.</i> , 2018; Abdul-Maksoud <i>et al.</i> , 2020; Yahouedehou <i>et al.</i> , 2020; Sadia <i>et al.</i> , 2021; Wigner <i>et al.</i> , 2022)

Fonte: Autora

5.4 Análise estatística

Para as reações de PCR, a comparação dos resultados obtidos para cada gene entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA e foi realizado o pós-teste de Dunns. Os dados definidos matematicamente como “outliers” foram excluídos. Os resultados foram representados em mediana e desvio interquartilico (IQR), assim representado [mediana (IQR)]. Para a análise da capacidade de sobrevivência dos vermes adultos de *S. mansoni*, a comparação entre os grupos foi realizada pelo teste exato de Fisher. Para a análise das curvas de sobrevivência entre os grupos foi utilizado o teste de Log-rank (Mantel-Cox).

Para as análises da carga parasitária no modelo experimental a comparação dos resultados obtidos entre os grupos foi realizada pelo teste ANOVA. Os resultados foram representados em mediana e quartil 1 e 3, assim representado [mediana (Q1-Q3)]. Para a comparação do peso dos animais antes e após o tratamento foi utilizado o teste T pareado. Para a avaliação do efeito dos diferentes esquemas terapêuticos nos parâmetros hematológicos de

camundongos tratados foi utilizado o teste ANOVA seguida de teste de Tukey (para >2 grupos) ou teste de Mann–Whitney (para comparações entre 2 grupos).

Para os experimentos em humanos foi feita a análise descritiva da população e para a comparação das avaliações laboratoriais entre os grupos genotípicos foi usado o teste de Mann-Whitney e para as avaliações de associação de polimorfismos foi utilizada a estimativa de *Odds Ratio*, por meio de regressão logística para análise multivariada. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *Graph Pad Prism 5.0* (San Diego, CA, EUA) e foi considerada diferença significativa valores de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 Resultados referentes ao manuscrito 1

Esta subseção apresenta os resultados relacionados ao primeiro objetivo específico desta tese: “Avaliar, em ambiente in vitro pró-oxidativo, a viabilidade do verme adulto do *S. mansoni*, o efeito da adição de catalase e hidroxilamina dapsona sobre sua sobrevivência.”

O estudo aqui descrito teve como foco principal investigar a interação entre o parasito *S. mansoni* e o ambiente oxidativo do hospedeiro, especialmente considerando o papel das células endoteliais humanas e da enzima catalase na proteção do verme frente ao estresse oxidativo. Também foi avaliada a ação da dapsona, por meio de seu metabólito ativo, hidroxilamina dapsona, como potencial agente modulador desse sistema de defesa.

Entre os principais achados, observou-se que as células endoteliais humanas (HUVECs) exercem um efeito protetor sobre os vermes, aumentando sua viabilidade mesmo em condições de estresse oxidativo. Tal proteção parece estar relacionada, ao menos em parte, à atividade da catalase. A hidroxilamina dapsona, por sua vez, foi capaz de reverter esse efeito protetor, ao inibir a catalase e reduzir a viabilidade dos vermes. Esses resultados reforçam a hipótese de que a modulação do sistema pró/antioxidante do hospedeiro pode representar uma via terapêutica promissora contra a esquistossomose.

Este estudo resultou na elaboração do manuscrito intitulado “*Endothelial cells protect Schistosoma mansoni from hydrogen peroxide-induced death*”, atualmente submetido para publicação na revista *PLOS Neglected Tropical Diseases* (Anexo 1).

A seguir, o manuscrito completo encontra-se apresentado em formato PDF.

1 Endothelial cells protect *Schistosoma mansoni* from
2 hydrogen peroxide-induced death.

3

4 Bruna Oliveira Lopes Souza¹, Ronald Alves dos Santos¹, Kelvin Edson Marques de
5 Jesus¹, Juliana Bezerra Dória Lima¹, Andressa Moreira Lima¹, Brenda Rodrigues Brito
6 Cunha Silva¹, Fernanda Freitas Costa¹, Lorena Conceição de Queiroz¹, Camilla
7 Almeida Menezes¹, Sânzio Silva Santana¹, Karine Araujo Damasceno¹, Isadora
8 Cristina de Siqueira¹, Marilda de Souza Gonçalves¹, Dalila Luciola Zanette², Thassila
9 Nogueira Pitanga¹, Ricardo Riccio Oliveira^{1*}

10

11 1 Global Health and Neglected Diseases Research Laboratory, Gonçalo Moniz
12 Institute, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Salvador, Bahia, Brazil

13 2 Laboratory for Applied Science and Technology in Health, Carlos Chagas Institute,
14 Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Curitiba, Paraná, Brazil

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32 *Corresponding author

33 E-mail: ricardo.riccio@fiocruz.br

34

35 **Abstract**

36 **Introduction:** *Schistosoma mansoni*, the causative agent of intestinal
37 schistosomiasis, thrives in the human host, particularly within the vascular system.
38 Understanding the role of endothelial cells during infection is crucial. Currently,
39 schistosomiasis treatment depends solely on praziquantel (PZQ), but emerging
40 evidence suggests decreasing efficacy. This highlights the need for new therapeutic
41 strategies, including agents that modulate the host antioxidant response, such as
42 dapsons. **Methods:** Adult *S. mansoni* worms were harvested from infected mice via
43 portal perfusion. Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were cultured and
44 exposed to worm pairs and PZQ for 1, 3, or 6 hours. Post-exposure, RNA was
45 extracted and analyzed by qPCR to assess the expression of antioxidant genes
46 (*NRF2*, *SOD1*, *GPx*, *GSR*, *CAT*). Additionally, worm viability under oxidative stress
47 was evaluated by incubating worms with hydrogen peroxide (H_2O_2), in the presence
48 or absence of HUVECs, catalase, or dapsons hydroxylamine. **Results:** Worms did not
49 significantly alter expression of host antioxidant genes except for catalase. H_2O_2
50 exposure led to worm death, but co-incubation with HUVECs improved worm viability
51 and survival, suggesting a protective role of endothelial cells against oxidative stress.
52 Furthermore, dapsons hydroxylamine reversed the protective effect of catalase,
53 reducing worm viability. However, worms remained viable in co-culture with HUVECs,
54 indicating additional, unidentified mechanisms of protection. **Conclusion:** Endothelial
55 cells may play a key role in protecting *S. mansoni* against host oxidative defenses.
56 Dapsons hydroxylamine interferes with this protection by inhibiting catalase activity.
57 These findings point to potential therapeutic strategies targeting the host-parasite
58 interface and the antioxidant environment in schistosomiasis.

59

60

61 Author summary

62 *Schistosoma mansoni*, the causative agent of the intestinal form of the disease, is well
63 adapted to its human host. Unlike other intestinal helminths, the adult *S. mansoni*
64 worm has a peculiar habitat: the vascular lumen. Despite this known fact, there is still
65 limited information about the interaction between the adult worm and endothelial cells.
66 Current treatment relies exclusively on praziquantel (PZQ), which has shown signs of
67 decreasing efficacy. This underscores the urgent need for alternative therapies or drug
68 combinations, including those that target the host's antioxidant response - such as
69 dapsons. We evaluated the interaction between adult worms and HUVECs, and their
70 ability to protect the parasites from oxidative stress induced by hydrogen peroxide
71 (H_2O_2). It was observed that the worms did not significantly alter the expression of
72 antioxidant genes by HUVECs, except for catalase. H_2O_2 was lethal to the worms, but
73 this effect was reversed in the presence of the endothelial cells, indicating a protective
74 effect. We also tested dapsons hydroxylamine, which inhibited catalase activity and
75 reduced worm viability. However, when the worms were cultured with endothelial cells,
76 they remained viable, suggesting other protective mechanisms. These findings
77 contribute to new therapeutic approaches against schistosomiasis.

78

79

80 Introduction

81 Schistosomiasis is a neglected tropical disease (NTD) that disproportionately impacts
82 populations living in poverty, particularly those lacking access to safe water and basic
83 sanitation services. According to the World Health Organization, schistosomiasis
84 affects an estimated 250 million individuals worldwide, places approximately 779
85 million at risk of infection, and remains endemic in 78 countries - primarily in Africa,
86 but also in parts of Asia and South America [1]. *Schistosoma mansoni* is one of the
87 main species responsible for intestinal schistosomiasis [2], and the parasite is highly
88 adapted to the human host.

89 Given the intravascular habitat of adult *S. mansoni* worms, understanding the role of
90 endothelial cells during infection is of fundamental importance. Although some
91 investigations have addressed parasite-host interactions involving endothelial cells,
92 investigations specifically focused on the interface between adult worms and the
93 endothelium remain scarce. Most existing research has examined the interaction
94 between endothelial cells and *S. mansoni* eggs [3]. These studies have demonstrated
95 that eggs can bind to platelets or host plasma proteins such as von Willebrand factor,
96 potentially facilitating their adhesion to the endothelium and promoting endothelial cell
97 activation [4,5]. Moreover, eggs and egg antigens have been shown to induce
98 proliferation and apoptosis of endothelial cells in vitro [6,7]. Endothelial interaction with
99 the egg also contributes to granuloma formation [8], promoting angiogenesis during
100 hepatic granuloma development [7,9,10]. These findings highlight the active
101 participation of endothelial cells in the host response to *S. mansoni* eggs. However,
102 much less is known about how adult worms interact with endothelial cells. In this
103 context, investigating whether adult worm-endothelium interactions modulate
104 oxidative stress pathways is of particular interest. Notably, the expression of

105 antioxidant genes by endothelial cells during schistosomiasis has not yet been
106 evaluated.

107 Although the immune system plays a critical role in the defense against the parasite,
108 there are no reports of spontaneous cure in untreated individuals. Currently, treatment
109 for schistosomiasis relies solely on praziquantel (PZQ), which, despite its considerable
110 efficacy, has been associated with reduced cure rates and therapeutic failure in some
111 studies [11,12]. These limitations underscore the urgent need to identify new
112 therapeutic agents or combination strategies. In this context, host-directed therapies
113 that target inflammation or oxidative stress pathways have gained attention. Dapsone,
114 an anti-inflammatory and antioxidant compound, has been investigated in other
115 chronic inflammatory conditions and may serve as a candidate for further evaluation
116 in the context of schistosomiasis [13,14].

117 In this study, we investigated the interaction between adult *S. mansoni* worms and
118 human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), focusing on the ability of these cells
119 to protect the parasite from death under pro-oxidative conditions. In addition, we
120 evaluated the in vitro effect of dapsone hydroxylamine, an active metabolite of
121 dapsone, on parasite viability in an oxidative environment, aiming to explore its
122 potential to induce worm death through catalase inhibition.

123

124 **Methods**

125 **Ethics Statement**

126 All experiments involving animals were approved by the Ethics Committee on Animal
127 Use of the Gonçalo Moniz Institute – Fiocruz Bahia (protocol 015/2021).

128

129 **Recovery of Adult Worms**

130 Swiss Webster mice were infected subcutaneously with 100 *S. mansoni* cercariae.
131 After 6 to 8 weeks of infection, mice were euthanized using a lethal dose of ketamine
132 + xylazine administered intraperitoneally. Adult *S. mansoni* worms were recovered
133 through portal perfusion using 0.9% saline solution containing 3% sodium citrate
134 [15,16]. Recovered worms were transferred to a Petri dish containing RPMI 1640
135 medium (Gibco, Life Technologies Australia Pty Ltd, Mulgrave, VIC, Australia), and
136 then to a second dish containing RPMI supplemented with 10% fetal bovine serum
137 (Gibco, New York, NY, USA), and 1% glutamine and HEPES. Prior to the experiments,
138 worms were placed in a 96-well plate, and their sex and viability were assessed under
139 an inverted microscope.

140

141 **Cell Cultures for Gene Expression Analysis**

142 Immortalized HUVECs were seeded in flat-bottom 12-well plates at a concentration of
143 1×10^5 cells/mL in 800 μ L of RPMI 1640 medium supplemented with 1% PenStrep
144 (10,000 U/mL penicillin and 10,000 μ g/mL streptomycin; Gibco, New York, NY, USA),
145 10% fetal bovine serum, and 1% glutamine and HEPES (GH). Cells were maintained
146 in a humidified incubator at 37°C with 5% CO₂. After 24 hours of incubation, one pair
147 of adult worms was added per well, and plates were cultured for 1, 3, or 6 hours. All
148 experiments were performed in triplicate and repeated at least three independent
149 times.

150

151 **Quantitative Real-Time PCR (qRT-PCR)**

152 At the end of the incubation period, the worms and supernatant were removed, and
 153 Trizol reagent (Thermo Fisher Scientific) was added to each well for mRNA extraction.
 154 RNA concentration and purity were measured using a NanoDrop spectrophotometer.

155 Complementary DNA (cDNA) synthesis was performed using 250 ng of total RNA with
 156 the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems™, Foster
 157 City, CA, USA) following the manufacturer's instructions. The thermal conditions were
 158 25°C for 10 minutes, 37°C for 120 minutes, 85°C for 5 minutes, and finally 4°C. The
 159 resulting cDNA was resuspended in RNase-free water, aliquoted, and stored at -20°C.

160 Gene expression analysis was performed using real-time PCR (qPCR) in 96-well
 161 optical plates, with sample duplicates, on the ABI 7500 Real-Time PCR System
 162 (Applied Biosystems™, Foster City, CA, USA). Antioxidant genes and the endogenous
 163 control gene HPRT (Table 1) were amplified using SYBR-Green PCR Master Mix
 164 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), according to the manufacturer's protocol.

165 **Table 1. Primer sequences for qPCR amplification of antioxidant and control**
 166 **genes.**

Gene	Forward Primer (5'→3')	Reverse Primer (5'→3')
<i>NRF2</i>	GTA TGC AAC AGG ACA TTG AGC	ATG GTA GTC TCA ACC AGC TT
<i>SOD1</i>	TGG CCG ATG TGT CTA TTG AA	CAC CTT TGC CCA AGT CAT CT
<i>GPx</i>	CCA AGC TCA TCA CCT GGT CT	TCG ATG TCA ATG GTC TGG AA
<i>GSR</i>	ACT TGC CCA TCG ACT TTT TG	GGT GGC TGA AGA CCA CAG TT
<i>CAT</i>	CTG GAG CAC AGC ATC CAA TA	TCA TTC AGC ACG TTC ACA TAG A
<i>HPRT</i>	GAA CGT CTT GCT CGA GAT GTG A	TCC AGC AGG TCA GCA AAG AAT

167

168 The standard qPCR conditions were as follows: initial denaturation at 95°C for 10
169 minutes, followed by 40 cycles of 95°C for 15 seconds and 60°C for 60 seconds. After
170 amplification and melt curve analysis, threshold cycle (Ct) values were obtained using
171 the 7500™ system software (Applied Biosystems, USA). Gene expression levels were
172 normalized to the endogenous control (HPRT), and relative expression values (ddCt)
173 were calculated using the median of untreated controls as the calibrator.

174

175 **Evaluation of *Schistosoma mansoni* Adult Worm Viability** 176 **Under Oxidative Conditions**

177 Three experimental models were used to assess the survival of adult *S. mansoni*
178 worms under oxidative stress. In the first model, worm pairs were cultured in RPMI
179 medium without HUVECs, supplemented with five different concentrations of
180 hydrogen peroxide (H₂O₂): 100 μM, 200 μM, 400 μM, 800 μM, and 1600 μM. The
181 second model consisted of co-cultures of HUVECs and worm pairs exposed to the
182 same H₂O₂ concentrations. In the third model, worm pairs were cultured in RPMI
183 medium supplemented with the same H₂O₂ concentrations and the addition of
184 catalase enzyme. All experimental models were incubated at 37 °C with 5% CO₂ for
185 24 hours. Experiments were performed in quadruplicate and repeated twice.

186 Following incubation, worm viability was assessed using an inverted microscope.
187 Viability was evaluated based on motility and tegument integrity, using a scoring
188 system ranging from 0 to 3 (Figure 1) [17]. Score 0 indicated death, defined by
189 complete tegument darkening and absence of movement. Score 1 indicated a
190 darkened tegument with low motility and impaired oral and ventral suckers, often with

191 worms detached from the well surface. Score 2 indicated partial tegument damage
 192 and moderate motility. Score 3 indicated fully viable worms with intact tegument and
 193 active movement. Egg deposition in wells was also considered a sign of viability.
 194 Scoring was performed independently by two observers, and in cases of
 195 disagreement, re-evaluation was carried out to reach a consensus.

196



197

198 **Figure 1. Representative images illustrating the viability scoring system for**
 199 **adult *Schistosoma mansoni* worms cultured in vitro.**

200 (A) Score 0 – Dead worm with fully darkened tegument and no movement. (B) Score 1 – Worm with darkened
 201 tegument, reduced motility, and impaired suckers. (C) Score 2 – Worm with partially damaged tegument and
 202 moderate motility. (D) Score 3 – Fully viable worm with intact tegument and active movement. The red circle
 203 indicates egg deposition, also used as a marker of viability.
 204

205 Dapsone Hydroxylamine Assay

206 Dapsone hydroxylamine (Santa Cruz Biotechnology, TX, USA) was tested in three
 207 different in vitro experimental models. First, assays were performed using only varying
 208 concentrations of dapsone hydroxylamine (12.5 μ M, 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, and 200

209 μM) to assess its direct effect on adult worms. The second model aimed to evaluate
210 the ability of dapsone hydroxylamine to inhibit catalase activity *in vitro* in the presence
211 of a pro-oxidant environment. For this, *S. mansoni* worm pairs were cultured in RPMI
212 medium containing 400 μM of H_2O_2 , a dose previously shown to cause ~50% mortality,
213 along with 400 units of catalase and the different concentrations of dapsone
214 hydroxylamine. A third model was tested by co-culturing HUVECs with worm pairs,
215 400 μM H_2O_2 , and the various concentrations of dapsone hydroxylamine. All
216 conditions were incubated at 37 °C with 5% CO_2 for 24 hours. Following incubation,
217 worm viability was assessed using the same criteria as in the oxidative stress assays.
218

219 **Statistical Analysis**

220 For the PCR assays, gene expression differences between groups were analyzed
221 using one-way ANOVA followed by Dunn's post hoc test. Outliers identified by
222 mathematical criteria were excluded. Results are expressed as median and
223 interquartile range (IQR) or mean and standard deviation (SD). For the analysis of
224 adult *S. mansoni* worm survival, group comparisons were performed using Fisher's
225 exact test, and survival curves were compared using the Log-rank (Mantel-Cox) test.
226 Statistical significance was defined as $p < 0.05$. All analyses were conducted using
227 GraphPad Prism version 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

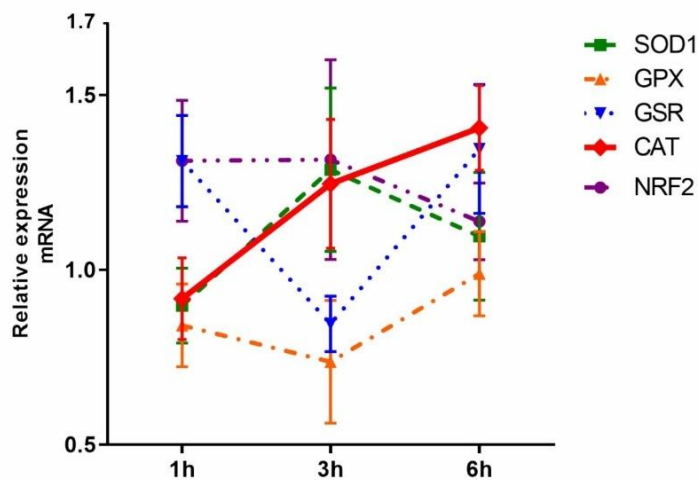
228

229 **Results**

230 **Expression of Antioxidant Genes in HUVECs**

231 We initially assessed the expression of five antioxidant response-related genes in
 232 HUVECs co-cultured with adult *S. mansoni* worm pairs for 1, 3, and 6 hours. As shown
 233 in Figure 2, the relative mRNA expression of NRF2 remained stable across all time
 234 points, both in HUVECs exposed to adult worms and in the LPS-stimulated control
 235 group. Similarly, SOD1 expression did not vary under any of the experimental
 236 conditions. The expression of GPX also remained unchanged over time in response
 237 to worm exposure. In contrast, GSR expression significantly decreased at 3 hours
 238 [0.883 (0.335)] compared to 1 hour [1.181 (0.539); $p < 0.05$], followed by a significant
 239 increase at 6 hours [1.268 (0.382); $p < 0.05$]. Notably, CAT mRNA expression
 240 progressively increased in HUVECs exposed to adult *S. mansoni*, with a significant
 241 difference between 1 hour [0.925 (0.590)] and 6 hours [1.547 (0.718); $p < 0.05$].

242



243

244 **Figure 2. Temporal expression of antioxidant genes in HUVECs exposed to adult**
 245 ***Schistosoma mansoni*.**

246 Relative mRNA expression of antioxidant genes (SOD1, GPX, GSR, CAT, and NRF2) in human umbilical vein
 247 endothelial cells (HUVECs) after co-culture with adult *S. mansoni* worm pairs for 1, 3, and 6 hours.

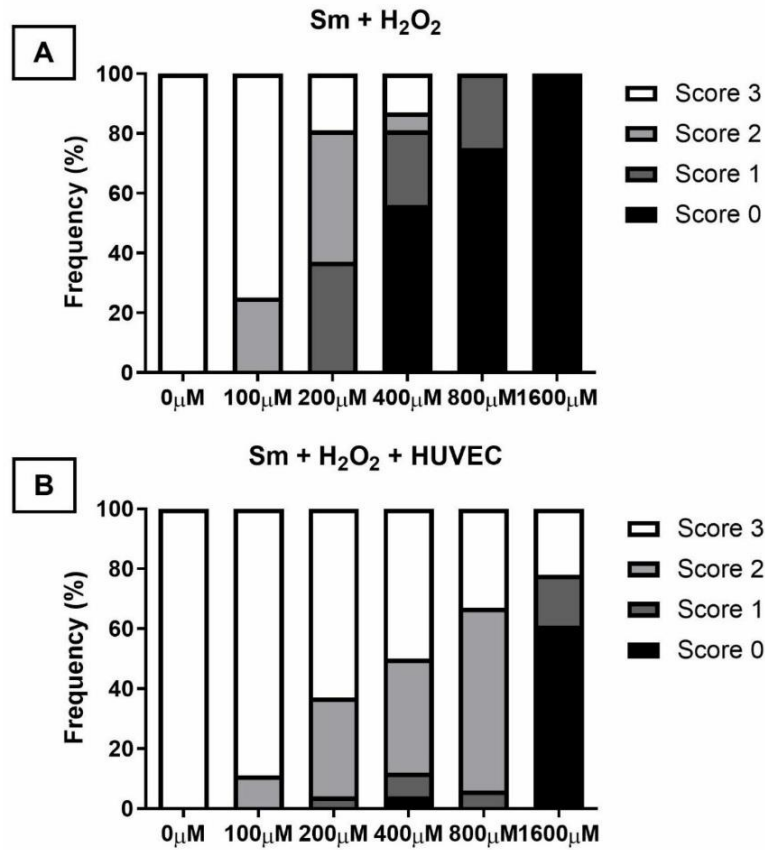
248

249 **Survival of Adult *S. mansoni* Worms After Exposure to**
250 **Oxidative Stress**

251 The survival capacity of adult *S. mansoni* worms under pro-oxidant conditions was
252 evaluated by culturing worm pairs in increasing concentrations of hydrogen peroxide
253 (H_2O_2), either in the presence or absence of HUVECs. The distribution of viability
254 scores differed among the cultures with increasing H_2O_2 concentrations. Worm death
255 (score 0) was only observed at H_2O_2 concentrations starting from 400 μM . The
256 frequency of score 0 increased progressively at higher H_2O_2 concentrations: 56.3% at
257 400 μM , 75% at 800 μM , and 100% worm death at 1600 μM H_2O_2 (Figure 3).

258 In contrast, co-culturing worms with HUVECs under the same oxidative conditions
259 yielded different survival outcomes. Viability score 3, indicating full tegument integrity
260 and motility, and thus optimal viability, was observed even at higher H_2O_2
261 concentrations. Specifically, 50% of worms scored 3 at 400 μM , 33.3% at 800 μM , and
262 22.2% at 1600 μM H_2O_2 . Notably, no worm deaths (score 0) were recorded at 800 μM
263 in the presence of HUVECs, while 61.1% of worms were dead at 1600 μM (Figure 3).

264



265

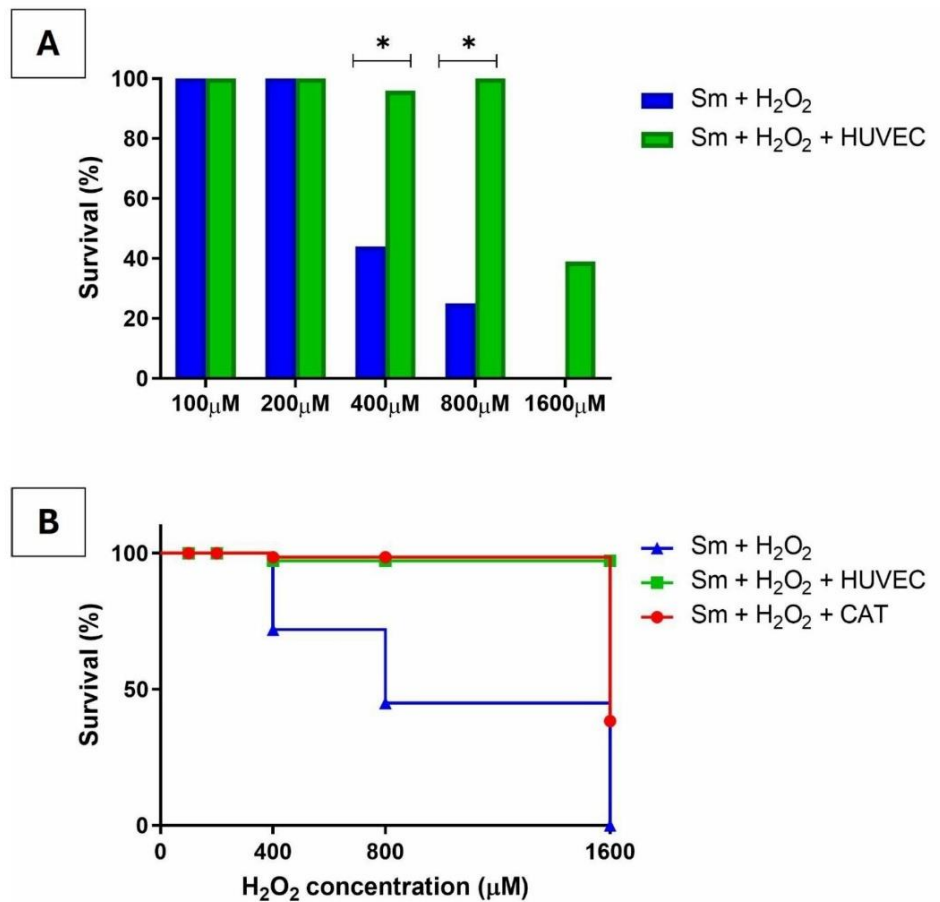
266 **Figure 3. Distribution of *S. mansoni* worm viability scores after exposure to**
 267 **oxidative stress with and without HUVECs.**

268 Viability scores of adult *Schistosoma mansoni* worms after 24-hour exposure to increasing concentrations of
 269 hydrogen peroxide (H₂O₂), in the absence (A) or presence (B) of HUVECs. Worm viability was categorized into
 270 four scores: score 3 (intact tegument and active motility), score 2 (partial tegument damage and moderate motility),
 271 score 1 (darkened tegument and low motility), and score 0 (complete loss of motility and tegument integrity,
 272 indicating death). In the presence of HUVECs, a higher proportion of worms maintained viability (score 3), even at
 273 elevated H₂O₂ concentrations, with no deaths observed at 800 μM. In contrast, exposure to H₂O₂ alone resulted in
 274 a dose-dependent decline in viability, with complete mortality at 1600 μM.
 275

276 To compare survival outcomes across experimental conditions, worms were
 277 categorized into two groups based on viability scores: high viability group (HVG;
 278 scores 2 and 3) and low viability group (LVG; scores 0 and 1). A significant increase
 279 in worm survival was observed at H₂O₂ concentrations of 400 μM and 800 μM when

280 worms were co-cultured with HUVECs, compared to those exposed to H₂O₂ alone
281 (Figure 4A).

282 The survival curves of adult *S. mansoni* worms exposed to oxidative stress were
283 analyzed under three different experimental conditions to determine whether the
284 addition of catalase mimics the protective effect observed in co-culture with HUVECs.
285 In the absence of HUVECs or catalase, worm survival declined markedly from 400 μM
286 H₂O₂ onward. In contrast, co-cultures with HUVECs showed mortality only at the
287 highest concentration tested (1,600 μM H₂O₂). No statistically significant differences
288 were observed between the survival curves of worms cultured with HUVECs and those
289 treated with catalase, suggesting that HUVEC-mediated protection may be attributed,
290 at least in part, to the secretion of antioxidant enzymes such as catalase (Figure 4B).



291
292 **Figure 4. Protective effect of HUVECs on *S. mansoni* worm survival under**
293 **oxidative stress.**

294 (A) Percentage of adult *Schistosoma mansoni* worms classified as high viability (scores 2–3) after
295 exposure to increasing concentrations of hydrogen peroxide (H₂O₂), either in the absence (Sm + H₂O₂)
296 or presence (Sm + H₂O₂ + HUVEC) of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). Co-culture
297 with HUVECs significantly improved worm survival at 200, 400, and 800 μM H₂O₂, compared to
298 exposure to H₂O₂ alone ($p < 0.001$, Fisher's exact test). (B) Survival analysis of adult *Schistosoma*
299 *mansoni* worms exposed to increasing concentrations of hydrogen peroxide (H₂O₂) in three
300 experimental models: worms incubated with H₂O₂ alone (blue line), co-cultured with HUVECs (green
301 line), or treated with exogenous catalase (CAT, red line). Worms cultured without HUVECs or catalase
302 exhibited reduced survival starting at 400 μM H₂O₂. In contrast, both co-culture with HUVECs and
303 catalase treatment preserved worm viability, with mortality observed only at the highest concentration
304 (1600 μM). No significant difference was detected between the HUVEC and catalase models,
305 suggesting that the protective effect of endothelial cells may be mediated, at least in part, by antioxidant
306 enzymes such as catalase.
307

308 Dapsone Reversed the In Vitro Effect of Catalase

309 Considering the ability of hydroxylamine to inhibit catalase, the objective of this study
 310 was to evaluate the potential of dapsone's active metabolite, dapsone hydroxylamine
 311 (DDS-NOH), to block catalase activity and thus promote parasite death. To assess the
 312 direct effect of DDS-NOH on adult worms, the parasites were cultured in the absence
 313 of catalase, H₂O₂, or HUVECs and exposed them to different concentrations of DDS-
 314 NOH. A total of 100% of worms showed low viability at 100 µM, and 83.3% at 200 µM.
 315 At 50 µM, only 38.8% of the worms showed low viability, while the lowest
 316 concentrations, 25 µM and 12.5 µM, resulted in 5.5% of worms with low viability (Table
 317 2).
 318

319 **Table 2. Percentage of worm survival after exposure to different concentrations**
 320 **of Dapsone hydroxylamine**

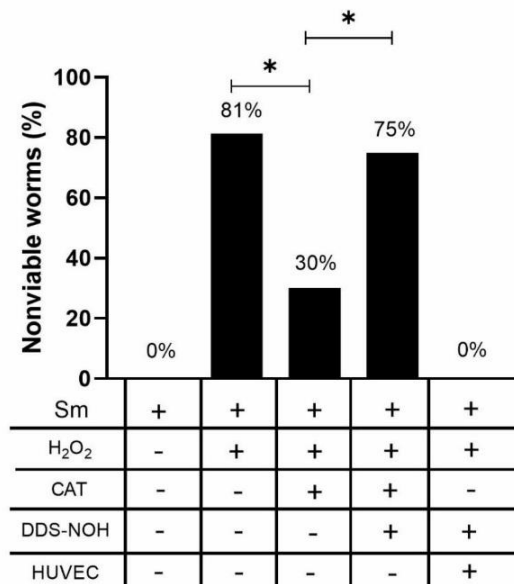
Drug	Concentration in µM	Total Number of worms tested	Death Rate (%)
No drug	-	18	0
Dapsone hydroxylamine	12,5	18	5,5
	25	18	5,5
	50	18	38,8
	100	6	100
	200	6	83,3

321 The percentage of worm mortality was determined after exposure to each concentration. Control groups were
 322 maintained without drug exposure. Data are presented as the number of worms tested and corresponding mortality
 323 rates for each condition.

324 High mortality in worms cultured with 100 and 200 µM DDS-NOH suggests that death
 325 was caused by a direct effect of the drug. To assess the ability of DDS-NOH to inhibit
 326 catalase, lower concentrations were used; therefore, the following results were
 327 obtained using only 50 µM DDS-NOH. When adult worms were cultured with H₂O₂, an
 328 increased percentage of worms with low viability (81%) was observed. This frequency
 329 dropped considerably (to 30%) when catalase was added to the culture. However,
 330 when worms were cultured with H₂O₂, catalase, and 50 µM DDS-NOH, the percentage

331 of worms with low viability increased again, suggesting that DDS-NOH was able to
 332 inhibit catalase activity in vitro. Interestingly, when worms were cultured with H₂O₂,
 333 catalase, and DDS-NOH in the presence of HUVECs, no loss in worm viability was
 334 observed. This finding suggests that, beyond catalase, HUVECs may protect adult *S.*
 335 *mansoni* worms through additional mechanisms (Figure 5).

336



337

338 **Figure 5. Effect of DDS-NOH on the viability of adult *S. mansoni* worms under**
 339 **oxidative stress in different experimental conditions.**

340 The percentage of nonviable worms was assessed following exposure to H₂O₂ (400 μM), with or without the
 341 addition of catalase (CAT), DDS-NOH (50 μM), and/or HUVECs. Catalase reduced the mortality induced by H₂O₂,
 342 an effect that was reversed in the presence of DDS-NOH, suggesting catalase inhibition. Interestingly, co-culture
 343 with HUVECs preserved worm viability even in the presence of DDS-NOH, indicating that HUVECs may provide
 344 additional protective mechanisms beyond catalase activity. Bars represent the percentage of nonviable worms in
 345 each experimental condition; horizontal lines indicate statistically significant differences ($p < 0.05$, Fisher's exact
 346 test).

347

348 Discussion

349 The findings of this study reveal a previously unrecognized role of endothelial cells in
350 promoting the survival of *S. mansoni* under oxidative stress, adding a novel layer to
351 the understanding of host-parasite interactions. While parasite survival in the vascular
352 system has traditionally been explained by immune evasion strategies—such as the
353 acquisition of host antigens [18], molecular mimicry [19], tegumental resistance [20],
354 and immunomodulatory proteins and extracellular vesicles [21–23], the current results
355 suggest that host vascular endothelial cells may also directly contribute to parasite
356 protection.

357 The most striking and original result is the observation that adult *S. mansoni* worms
358 maintained high viability when co-cultured with human umbilical vein endothelial cells
359 (HUVECs), even in the presence of H₂O₂, a potent pro-oxidant. This protective effect
360 appears to be at least partially mediated by catalase, an antioxidant enzyme produced
361 by HUVECs [24]. The enhancement of catalase expression in co-culture conditions,
362 accompanied by higher worm viability, supports the hypothesis that endothelial
363 antioxidant mechanisms play a direct role in parasite resilience.

364 These findings align with previous studies indicating the importance of oxidative stress
365 resistance in *S. mansoni* survival [25]. However, the demonstration that host-derived
366 antioxidant responses can compensate for exogenous oxidative pressure expands the
367 current understanding of host support in chronic infections. Importantly, this study
368 demonstrates that dapsone hydroxylamine (DDS-NOH) significantly reduces worm
369 viability under oxidative conditions. DDS-NOH has been reported to inhibit catalase
370 activity in mammalian cells [26,27], suggesting that this mechanism may also
371 contribute to its effect on *S. mansoni*. However, since catalase activity was not directly
372 assessed in our experimental model, further studies are needed to confirm this
373 mechanism in the context of schistosomiasis. Nonetheless, these findings support the

374 idea that targeting antioxidant pathways may represent a promising strategy to
375 sensitize adult worms to oxidative damage.

376 An unexpected yet revealing observation was that worm viability remained preserved
377 in the presence of HUVECs, even under conditions of pharmacological catalase
378 inhibition. This finding suggests that endothelial cells may contribute additional
379 cytoprotective mechanisms beyond catalase activity, including the secretion of soluble
380 mediators, modulation of the redox microenvironment, or provision of metabolic
381 substrates. Endothelial cells are known to release various antioxidant molecules, such
382 as glutathione, nitric oxide, and prostaglandins, which can mitigate oxidative stress
383 and modulate inflammatory responses [28–30]. These findings challenge the notion
384 that antioxidant enzyme activity alone is sufficient to explain host-mediated protection
385 and point to the complexity of host-parasite biochemical crosstalk.

386 Despite the robustness of the in vitro model employed, certain limitations must be
387 acknowledged. The study was conducted under controlled laboratory conditions that
388 may not fully replicate the dynamics of in vivo parasite-endothelial interactions, such
389 as immune cell recruitment, blood flow, and tissue architecture. Additionally, the
390 precise molecular pathways underlying HUVEC-mediated protection were not
391 identified and require further exploration.

392 The implications of these findings are twofold. First, they highlight the importance of
393 considering host tissue contributions beyond immune evasion or parasite-intrinsic
394 adaptations when investigating the persistence of *S. mansoni* in the vasculature.
395 Second, they identify endothelial cells as potential facilitators of parasite survival,
396 actively shaping the microenvironment in a way that favors worm maintenance. This
397 discovery opens new perspectives on the vascular niche as a supportive habitat for

398 adult worms, which may be critical for their long-term survival despite the presence of
399 immune effector cells such as eosinophils and other producers of reactive oxygen
400 species.

401 Rather than being passive barriers, endothelial cells emerge here as active modulators
402 of parasite viability, with potential implications for both pathogenesis and treatment.
403 Understanding the molecular mechanisms involved in this protection—particularly the
404 identity of soluble mediators and redox-modifying factors—may uncover novel
405 therapeutic targets and deepen our knowledge of host–parasite interactions at the
406 vascular interface.

407

408 **Conclusion**

409 This study reveals a novel role of human endothelial cells in promoting *Schistosoma*
410 *mansoni* viability under oxidative stress. Our findings suggest that endothelial cells,
411 which remain in constant contact with adult worms in the vasculature, contribute
412 actively to parasite maintenance. While catalase activity appears to participate in this
413 protective effect, the persistence of worm viability despite catalase inhibition points to
414 additional, yet unidentified, protective pathways. Altogether, these results challenge
415 the traditional view of immune evasion as the sole mechanism of worm persistence
416 and highlight the vascular endothelium as a critical, and potentially targetable, player
417 in schistosomiasis pathophysiology.

418

419 **Acknowledgments**

420 We would like to thank Dr. Ana Moretti, Ph.D. and Dr. Heraldo Possolo de Souza,
 421 M.D., from the São Paulo State University Medical School (FMUSP-Brazil), for
 422 generously donating the HUVEC cells used in this study. We thank the Gonçalo Moniz
 423 Institute – FIOCRUZ Bahia for institutional support, and the Research Excellence
 424 Program (PROEP/IGM/2020), which funded this study under Call No. 01/2020. We
 425 also acknowledge the financial support provided by the Brazilian Coordination for the
 426 Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

427

428 **References**

- 429 1. World Health Organization. WHO GUIDELINE on control and elimination of
 430 human schistosomiasis. Geneva; 2022. Available:
 431 <https://www.who.int/publications/i/item/9789240041608>
- 432 2. Elbaz T, Esmat G. Hepatic and Intestinal Schistosomiasis: Review. J Adv Res.
 433 2013;4: 445–452. doi:10.1016/j.jare.2012.12.001
- 434 3. File S. Interaction of schistosome eggs with vascular endothelium. J Parasitol.
 435 1995;81: 234–8.
- 436 4. WU YP, LENTING PJ, TIELENS AGM, DE GROOT PG, HELLEMOND JJ VAN.
 437 Differential platelet adhesion to distinct life-cycle stages of the parasitic
 438 helminth *Schistosoma mansoni*. Journal of Thrombosis and Haemostasis.
 439 2007;5: 2146–2148. doi:10.1111/j.1538-7836.2007.02725.x
- 440 5. deWalick S, Hensbergen PJ, Bexkens ML, Grosserichter-Wagener C, Hokke CH,
 441 Deelder AM, et al. Binding of von Willebrand factor and plasma proteins to the
 442 eggshell of *Schistosoma mansoni*. Int J Parasitol. 2014;44: 263–268.
 443 doi:10.1016/j.ijpara.2013.12.006
- 444 6. Freedman DO, Ottesen EA. Eggs of *Schistosoma mansoni* Stimulate Endothelial
 445 Cell Proliferation in Vitro. Journal of Infectious Diseases. 1988;158: 556–562.
 446 doi:10.1093/infdis/158.3.556
- 447 7. Loeffler DA, Lundy SK, Singh KP, Gerard HC, Hudson AP, Boros DL. Soluble Egg
 448 Antigens from *Schistosoma mansoni* Induce Angiogenesis-Related Processes by

- 449 Up-Regulating Vascular Endothelial Growth Factor in Human Endothelial Cells. *J*
450 *Infect Dis.* 2002;185: 1650–1656. doi:10.1086/340416
- 451 8. Schwartz C, Fallon PG. Schistosoma “Eggs-Itting” the Host: Granuloma Formation
452 and Egg Excretion. *Front Immunol.* 2018;9. doi:10.3389/fimmu.2018.02492
- 453 9. Baptista AP, Andrade ZA. Angiogenesis and schistosomal granuloma formation.
454 *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100: 183–185. doi:10.1590/S0074-
455 02762005000200012
- 456 10. Lemos QT, Andrade ZA. Angiogenesis and experimental hepatic fibrosis. *Mem*
457 *Inst Oswaldo Cruz.* 2010;105: 611–614. doi:10.1590/S0074-02762010000500002
- 458 11. Vale N, Gouveia MJ, Rinaldi G, Brindley PJ, Gärtner F, Correia da Costa JM.
459 Praziquantel for Schistosomiasis: Single-Drug Metabolism Revisited, Mode of
460 Action, and Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61.
461 doi:10.1128/AAC.02582-16
- 462 12. Wang W, Wang L, Liang Y-S. Susceptibility or resistance of praziquantel in human
463 schistosomiasis: a review. *Parasitol Res.* 2012;111: 1871–1877.
464 doi:10.1007/s00436-012-3151-z
- 465 13. Etemadifar A, Bahraminejad S, Pardakhty A, Sharifi I, Keyhani A, Ranjbar M.
466 Preparation, characterization, and leishmanicidal assessment of silver- and
467 dapsone-loaded niosomes co-administration: in silico and in vitro study. *Adv*
468 *Pharm Bull.* 2024. doi:10.34172/apb.42740
- 469 14. Khalilzadeh M, Shayan M, Jourian S, Rahimi M, Sheibani M, Dehpour AR. A
470 comprehensive insight into the anti-inflammatory properties of dapsone. *Naunyn*
471 *Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2022;395: 1509–1523. doi:10.1007/s00210-
472 022-02297-1
- 473 15. Pellegrino J SAF. Técnica de perfusão para colheita de schistosoma mansoni em
474 cobaias experimentalmente infestadas. *Revista Brasileira de Malariologia e*
475 *Doenças Tropicais.* 1956.
- 476 16. Smithers SR, Terry RJ. The infection of laboratory hosts with cercariae of
477 *Schistosoma mansoni* and the recovery of the adult worms. *Parasitology.*
478 1965;55: 695–700. doi:10.1017/S0031182000086248
- 479 17. Lombardo FC, Pasche V, Panic G, Endriss Y, Keiser J. Life cycle maintenance and
480 drug-sensitivity assays for early drug discovery in *Schistosoma mansoni*. *Nat*
481 *Protoc.* 2019;14: 461–481. doi:10.1038/s41596-018-0101-y
- 482 18. Host antigens in schistosomiasis. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1969;171: 483–494.
483 doi:10.1098/rspb.1969.0007

- 484 19. Hambrook JR, Hanington PC. Immune Evasion Strategies of Schistosomes. *Front*
485 *Immunol.* 2021;11. doi:10.3389/fimmu.2020.624178
- 486 20. Desein A, Samuelson JC, Butterworth AE, Hogan M, Sherry BA, Vadas MA, et al.
487 Immune evasion by *Schistosoma mansoni* : loss of susceptibility to antibody or
488 complement-dependent eosinophil attack by schistosomula cultured in medium
489 free of macromolecules. *Parasitology.* 1981;82: 357–374.
490 doi:10.1017/S0031182000066890
- 491 21. Wilson RA. Virulence factors of schistosomes. *Microbes Infect.* 2012;14: 1442–
492 1450. doi:10.1016/j.micinf.2012.09.001
- 493 22. Colley DG, Secor WE. Immunology of human schistosomiasis. *Parasite Immunol.*
494 2014;36: 347–357. doi:10.1111/pim.12087
- 495 23. Hamway Y, Zimmermann K, Blommers MJJ, Sousa M V., Häberli C, Kulkarni S, et
496 al. Modulation of Host–Parasite Interactions with Small Molecules Targeting
497 *Schistosoma mansoni* microRNAs. *ACS Infect Dis.* 2022;8: 2028–2034.
498 doi:10.1021/acsinfecdis.2c00360
- 499 24. Meilhac O, Zhou M, Santanam N, Parthasarathy S. Lipid peroxides induce
500 expression of catalase in cultured vascular cells. *J Lipid Res.* 2000;41: 1205–13.
- 501 25. Avelar L das GA, Gava SG, Neves RH, Silva MCS, Araújo N, Tavares NC, et al.
502 Smp38 MAP Kinase Regulation in *Schistosoma mansoni*: Roles in Survival,
503 Oviposition, and Protection Against Oxidative Stress. *Front Immunol.* 2019;10.
504 doi:10.3389/fimmu.2019.00021
- 505 26. Albuquerque R V., Malcher NS, Amado LL, Coleman MD, dos Santos DC, Borges
506 RSa, et al. In Vitro Protective Effect and Antioxidant Mechanism of Resveratrol
507 Induced by Dapsone Hydroxylamine in Human Cells. *PLoS One.* 2015;10:
508 e0134768. doi:10.1371/journal.pone.0134768
- 509 27. Veggi LM, Pretto L, Ochoa EJ, Catania VA, Luquita MG, Taborda DR, et al.
510 Dapsone induces oxidative stress and impairs antioxidant defenses in rat liver.
511 *Life Sci.* 2008;83: 155–163. doi:10.1016/j.lfs.2008.05.016
- 512 28. Bontor K, Gabryel B. Sulodexide protects endothelial cells against 4-
513 hydroxynonenal-induced oxidative stress and glutathione-dependent redox
514 imbalance by modulation of sestrin2/nuclear factor erythroid 2-related factor 2
515 pathway. *J Physiol Pharmacol.* 2024;75. doi:10.26402/jpp.2024.4.03
- 516 29. Bruschi M, Biancucci F, Masini S, Piacente F, Ligi D, Bartoccini F, et al. The
517 influence of redox modulation on hypoxic endothelial cell metabolic and
518 proteomic profiles through a small thiol-based compound tuning glutathione and
519 thioredoxin systems. *BioFactors.* 2023;49: 1205–1222. doi:10.1002/biof.1988

- 520 30. Jongkind JF, Verkerk A, Baggen RGA. Glutathione metabolism of human vascular
521 endothelial cells under peroxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 1989;7: 507–
522 512. doi:10.1016/0891-5849(89)90026-9
523

6.2 Resultados referentes ao manuscrito 2

Os resultados apresentados a seguir correspondem ao segundo objetivo específico desta tese: “Determinar, em modelo experimental com camundongos infectados por *Schistosoma mansoni*, as taxas de cura após tratamento com praziquantel, dapsona, e a combinação de ambos.”

Esses dados integram um manuscrito em fase de elaboração, que será submetido a publicação no formato de *Short Communication*. A escolha da revista científica ainda está em definição. O estudo teve como objetivo principal avaliar o potencial da dapsona, uma substância com propriedades pró-oxidantes, em potencializar a atividade esquistossomicida do praziquantel em um modelo experimental de infecção murina por *S. mansoni*.

Camundongos infectados com *S. mansoni* foram tratados com praziquantel (PZQ), dapsona (DDS), ou a combinação de ambos, iniciando-se o tratamento sete semanas após a infecção. O PZQ foi administrado em dose única de 400 mg/kg, enquanto a dapsona foi administrada diariamente na dose de 25 mg/kg por 7, 14 ou 28 dias consecutivos.

A avaliação do peso corporal dos camundongos foi realizada antes e após os diferentes esquemas terapêuticos, com o objetivo de monitorar possíveis efeitos adversos relacionados às intervenções. De maneira geral, não foram observadas alterações estatisticamente significativas no peso nos grupos que receberam PZQ isoladamente, dapsona (DDS) por 7, 14 ou 28 dias, ou a combinação PZQ + DDS, independentemente do tempo de administração. A exceção foi o grupo infectado não tratado, que apresentou redução significativa no peso ao final do experimento ($p = 0,0005$), sugerindo comprometimento do estado clínico em decorrência da infecção não manejada. Nos grupos de animais não infectados tratados com a combinação de fármacos, também não foram detectadas alterações significativas no peso corporal. Esses achados reforçam a segurança dos esquemas terapêuticos testados, inclusive em exposições prolongadas à dapsona. Dados apresentados na Tabela 2.

Tabela 3 - Efeito dos tratamentos sobre o peso corporal de camundongos infectados e não infectados por *Schistosoma mansoni*

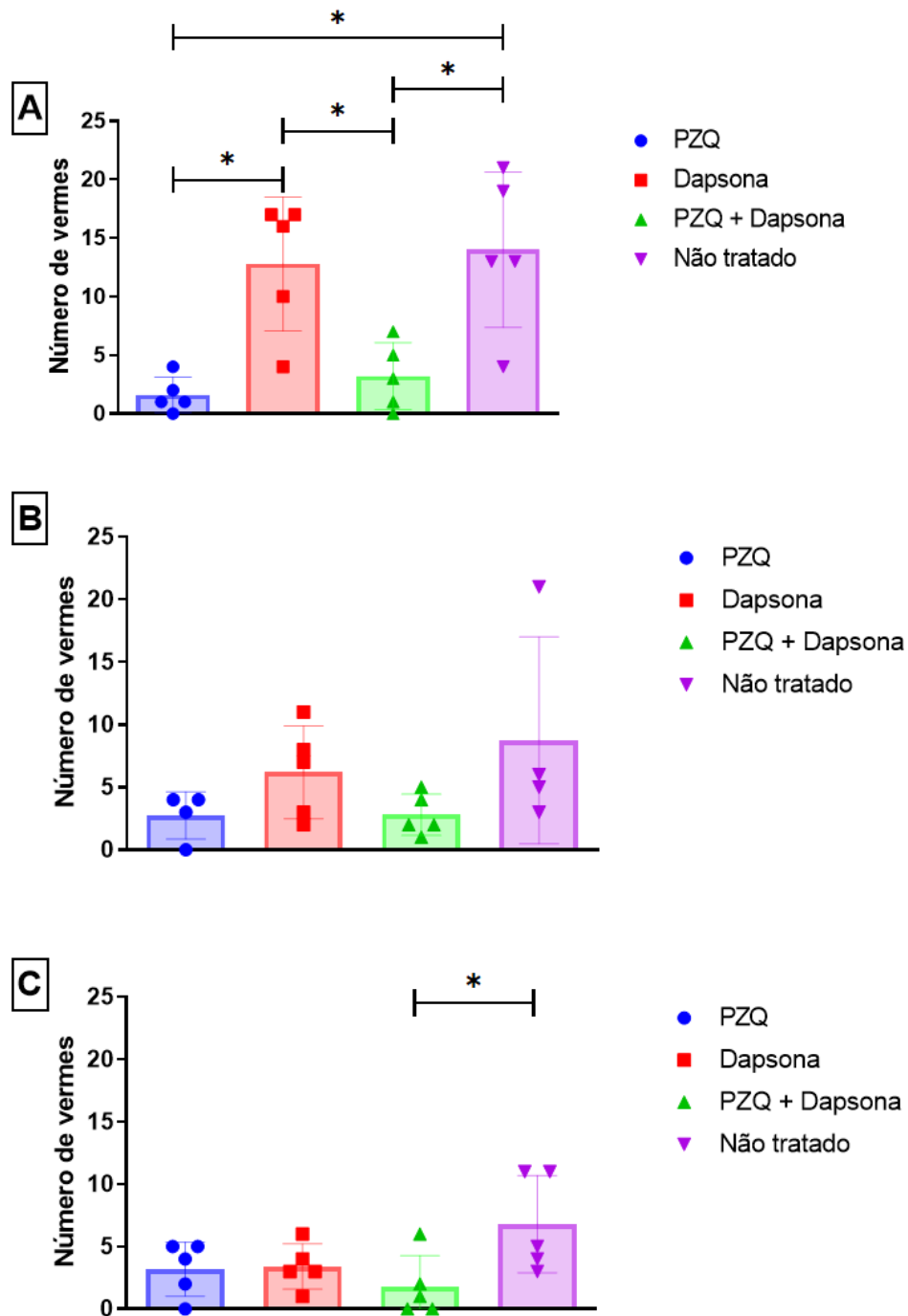
<i>S. mansoni</i>	Intervenção	Peso pré-intervenção (g)	Peso pós-intervenção (g)	p
Infectado	Não tratado	42,67 ± 4,92	41,53 ± 4,51	0,0005
Infectado	PZQ	39,60 ± 4,53	37,47 ± 5,47	0,1764
Infectado	DDS 7d	39,60 ± 2,04	39,00 ± 1,45	>0,9999
Infectado	DDS 14d	41,60 ± 4,56	39,20 ± 4,75	0,0625
Infectado	DDS 28d	38,80 ± 4,65	39,00 ± 4,79	>0,9999
Infectado	PZQ + DDS 7d	41,10 ± 2,53	40,10 ± 1,81	0,6875
Infectado	PZQ + DDS 14d	43,08 ± 3,84	42,75 ± 3,17	>0,999
Infectado	PZQ + DDS 28d	39,40 ± 5,94	38,60 ± 4,72	0,4375
Não infectado	PZQ + DDS 7d	44,10 ± 2,51	44,60 ± 2,85	0,2500
Não infectado	PZQ + DDS 14d	41,40 ± 3,17	40,10 ± 3,69	0,2500
Não infectado	PZQ + DDS 28d	38,20 ± 5,97	37,80 ± 6,72	0,7500

Nota: Peso corporal em gramas (média ± desvio padrão) de camundongos infectados ou não por *Schistosoma mansoni*, antes e após os diferentes esquemas terapêuticos. Os animais infectados foram submetidos aos seguintes grupos de intervenção: não tratado, praziquantel (PZQ, dose única de 400 mg/kg), dapsona (DDS, 25 mg/kg/dia por 7, 14 ou 28 dias), ou à combinação PZQ + DDS nos mesmos tempos de exposição. Animais não infectados tratados com a combinação foram incluídos como controle adicional. O peso foi aferido antes e após a intervenção. O valor de *p* refere-se à comparação intragrupo pelo teste T pareado.

Fonte: Autora

A carga parasitária foi avaliada pela contagem dos vermes adultos recuperados do sistema porta-hepático. Esses resultados estão representados na Figura 7. Após 7 dias de tratamento (Figura 7A), observou-se uma redução significativa no número de vermes nos grupos tratados apenas com PZQ [1 (0,5 - 3)] e com a combinação PZQ + DDS [6 (0,5 - 6)], em comparação com os grupos DDS isolado [16 (7 - 17)] e não tratado [13 (8,5 - 20)] ($p < 0,05$). O grupo tratado com a combinação apresentou a menor carga parasitária entre todos os grupos, sugerindo um efeito aditivo dos fármacos. Entretanto, após 14 dias (Figura 7B) e 28 dias (Figura 7C) de tratamento com dapsona, essa diferença não se manteve estatisticamente significativa, indicando que a eficácia da associação parece estar restrita ao regime de curta duração.

Figura 7 - Efeito do tratamento com dapsona, praziquantel e sua combinação sobre a carga parasitária de *Schistosoma mansoni* em camundongos infectados.



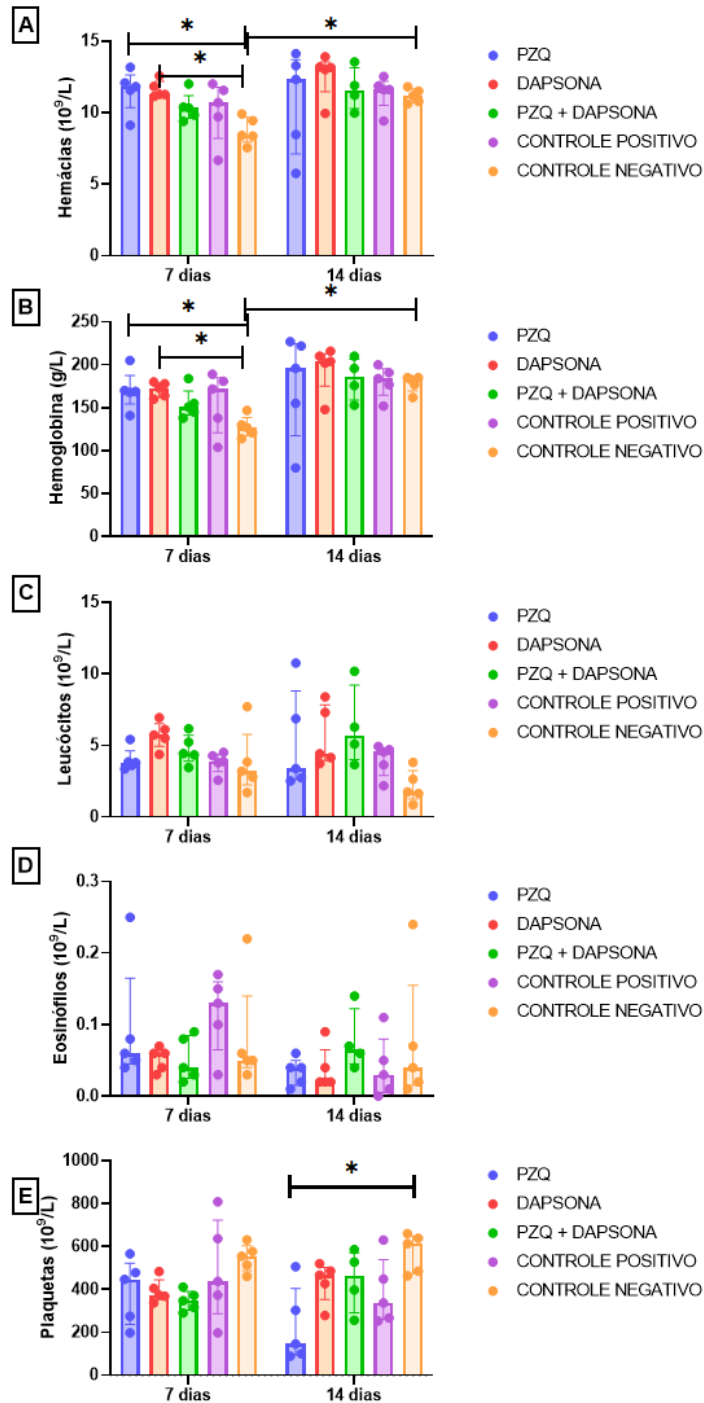
Nota: Número de vermes adultos recuperados do sistema porta de camundongos infectados por *Schistosoma mansoni* após diferentes esquemas terapêuticos. O tratamento com praziquantel (PZQ; azul) foi realizado em dose única de 400 mg/kg, 7 semanas após a infecção. A dapsona (DDS; vermelho) foi administrada diariamente na dose de 25 mg/kg por 7 (A), 14 (B) ou 28 (C) dias consecutivos, iniciando na mesma semana. O grupo tratado com a combinação (verde) recebeu PZQ em dose única e dapsona conforme os tempos indicados. Um grupo controle infectado não tratado foi incluído (roxo). Cada ponto representa um animal. As barras indicam a média \pm desvio padrão. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,05$; ANOVA seguida de pós-teste de Tukey).

Fonte: Autora

Considerando o potencial da dapsona em induzir anemia, avaliamos os parâmetros hematológicos de camundongos infectados com *Schistosoma mansoni* submetidos a diferentes regimes terapêuticos: praziquantel (PZQ), dapsona (DDS) ou a combinação de ambos. Adicionalmente, incluímos um grupo de camundongos não infectados tratados com a combinação dos fármacos para investigar possíveis efeitos adversos relacionados ao tratamento.

Observamos redução significativa no número de hemácias em camundongos não infectados tratados com a combinação de PZQ e DDS por 7 dias [8,41 (7,96–9,67)] em comparação ao grupo de animais infectados tratados apenas com PZQ [11,82 (10,35–12,63)]. De forma semelhante, os níveis de hemoglobina foram menores no grupo não infectado tratado com a combinação por 7 dias [127,0 (117,5–131,5)] em relação aos camundongos infectados tratados apenas com PZQ [169,0 (154,5–187,5)]. Por outro lado, a contagem de plaquetas foi significativamente maior em camundongos não infectados tratados com a combinação de PZQ e DDS por 14 dias [614,0 (474,5–649,5)] quando comparados ao grupo tratado somente com PZQ [146,0 (94,5–404,5)]. Dados disponíveis na Figura 8.

Figura 8 - Efeitos da dapsona (DDS), praziquantel (PZQ) e sua combinação nos parâmetros hematológicos de camundongos infectados por *Schistosoma mansoni*



Nota: Camundongos infectados foram tratados com PZQ (400 mg/kg, dose única, 7 semanas pós-infecção; azul), DDS (25 mg/kg/dia por 7 ou 14 dias; vermelho) ou a combinação de ambos (PZQ dose única + DDS conforme os períodos indicados; verde). Foram incluídos controles infectados não tratados (roxo) e um grupo não infectado tratado com a combinação para avaliação de possíveis efeitos adversos (laranja). (A) Contagem de hemácias totais, (B) níveis de hemoglobina, (C) contagem total de leucócitos, (D) contagem total de eosinófilos e (E) contagem de plaquetas. Cada ponto representa um animal; barras indicam média \pm desvio padrão. Diferenças estatisticamente significativas entre grupos foram determinadas por ANOVA seguida de teste de Tukey (para >2 grupos) ou teste de Mann-Whitney (para comparações entre 2 grupos); $p < 0,05$.

Fonte: Autora

6.3 Resultados referentes ao manuscrito 3

Esta seção apresenta os achados relacionados ao terceiro objetivo específico do estudo, que consistiu em investigar, em uma população residente em área endêmica para esquistossomose, a frequência de polimorfismos nos genes *CAT*, *TSLP* e *IL33* e suas associações com a presença de infecção por *Schistosoma mansoni* e indicadores laboratoriais de morbidade. Esses dados integram um manuscrito em fase de elaboração, que será submetido a publicação em revista científica, ainda em definição.

Foram realizadas análises parasitológicas, moleculares e laboratoriais, com o intuito de identificar possíveis associações entre variantes genéticas e a suscetibilidade à infecção por helmintos, além de avaliar o impacto desses polimorfismos em parâmetros hematológicos relacionados à morbidade. A seguir, são descritos os principais achados obtidos, incluindo a distribuição genotípica dos participantes, a frequência das infecções helmínticas de acordo com os polimorfismos estudados, e as associações observadas com indicadores laboratoriais como hemoglobina, hemácias, leucócitos e eosinófilos.

Dos 642 participantes recrutados, foram incluídos neste estudo 449 indivíduos que atenderam aos critérios de elegibilidade: idade entre 4 e 70 anos, entrega de amostra de fezes, comparecimento ao tratamento e disponibilidade de amostra para extração de DNA. A maioria dos participantes era do sexo feminino (54,34%) e a idade média foi de 28,93 anos. A infecção por *Schistosoma mansoni* foi a mais prevalente, identificada em 46,32% dos participantes, com mediana de carga parasitária de 36 (105) opg, seguida por infecções por *Trichuris trichiura* (42,98%) e *Ascaris lumbricoides* (27,83%). Os dados laboratoriais revelaram níveis medianos de hemoglobina de 12,60 g/dL e de eosinófilos de 389,50/mL, com ampla variação interindividual. Em relação às enzimas hepáticas, observou-se mediana de AST e ALT de 22,00 U/L e 21,00 U/L, respectivamente. O coeficiente de Ritis (razão AST/ALT) foi superior a 1 em 96,53% dos indivíduos avaliados, sugerindo perfil hepático preservado ou inflamação crônica de baixo grau na maioria da amostra. Esses dados estão disponíveis na Tabela 3.

Tabela 4 - Caracterização demográfica, parasitológica e laboratorial da população no pré-tratamento

Variáveis	Resultados (n=449)
Sexo [n(%)]	
Feminino	244 (54,3)
Masculino	205 (45,66)
Idade (anos)	
Média (desvio-padrão)	28,93 (\pm 17,87)
Mediana (mínimo; máximo)	26 (5;70)
Presença de infecções [n(%)]	
<i>A. lumbricoides</i>	125 (27,83)
<i>T. trichiura</i>	193 (42,98)
<i>S. mansoni</i>	208 (46,32)
Carga parasitária de <i>S. mansoni</i> [Mediana (IIQ)(opg)]	36 (105)
Avaliações laboratoriais	Mediana (IIQ)
Hemácias ($10^6/\mu\text{L}$)	4,46 (0,58)
Hemoglobina (g/dL)	12,60 (1,80)
Leucócitos totais ($/\mu\text{L}$)	6.170 (2.940)
Eosinófilos ($/\text{mL}$)	389,50 (547,50)
AST	22,05 (13,84)
ALT	12,00 (9,00)
GGT	21,51 (20,65)
Coefficiente de Ritis [n(%)]	
≤ 1	5 (3,47)
> 1	139 (96,53)

Nota: Características demográficas, parasitológicas e laboratoriais dos 449 participantes incluídos na análise no momento pré-tratamento. São apresentados dados de sexo, idade, presença de infecções parasitárias, carga parasitária por *Schistosoma mansoni*, parâmetros hematológicos, enzimas hepáticas e o coeficiente de Ritis (razão AST/ALT). As variáveis contínuas estão expressas em média e desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil (IIQ), conforme a distribuição. O IIQ foi calculado como Q3 menos Q1. Abreviações: epg, ovos por grama de fezes; AST (Aspartato Aminotransferase); ALT (Alanina Aminotransferase); GGT (Gama-Glutamil Transferase); IIQ, intervalo interquartil; Coeficiente de Ritis, razão entre AST e ALT.

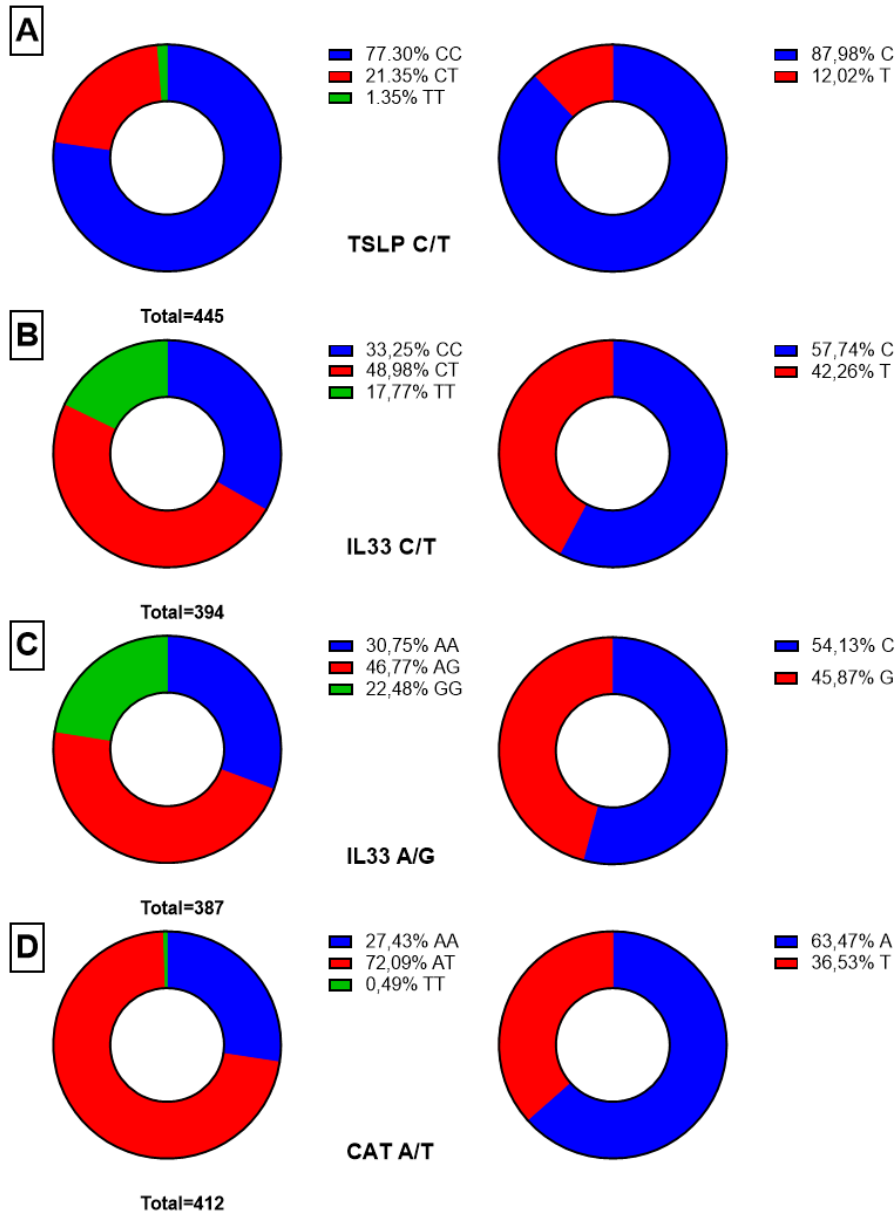
Fonte: Autora

6.3.1 Frequências genóticas e alélicas dos polimorfismos de interesse

As distribuições genóticas e alélicas dos polimorfismos analisados em amostras de DNA de participantes residentes em área endêmica para esquistossomose estão representadas na Figura 9. As variantes *rs1898671* (*TSLP* C/T), *rs7044343* (*IL33* C/T), *rs928413* (*IL33* A/G) e *rs7943316* (*CAT* A/T) apresentaram frequências genóticas variadas, sendo a forma heterozigótica a mais comum para *rs7044343* (CT: 48,98%), *rs928413* (AG: 46,77%) e *rs7943316* (AT: 72,09). Para *rs1898671* observou-se predominância de homozigoto (CC: 77,30%). As frequências alélicas revelaram maior proporção dos alelos C em *TSLP* e *IL33*; e A

em *CAT*. Todas as variantes analisadas apresentaram distribuição consistente com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$), indicando ausência de desvios genéticos importantes na população estudada, exceto por *rs7943316* (*CAT* A/T).

Figura 9 - Distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos *TSLP*, *IL33* e *CAT* em indivíduos residentes em área endêmica para esquistossomose



Nota: Frequências genotípicas (gráficos à esquerda) e alélicas (gráficos à direita) dos polimorfismos: **(A)** *TSLP* (*rs1898671* C/T), **(B)** *IL33* (*rs7044343* C/T), **(C)** *IL33* (*rs928413* A/G) e **(D)** *CAT* (*rs7943316* A/T), analisados em participantes humanos residentes em área endêmica para esquistossomose. As frequências genotípicas estão expressas em porcentagem para cada genótipo, e as frequências alélicas indicam a distribuição relativa dos alelos correspondentes. Os totais de indivíduos analisados para cada variante encontram-se indicados em cada painel. Todas as variantes estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). Abreviações: *TSLP*: *Thymic stromal lymphopoietin*; *IL33*: *Interleukin 33*; *CAT*: *Catalase*; C: citosina; T: timina; A: adenina; G: guanina.

Fonte: Autora

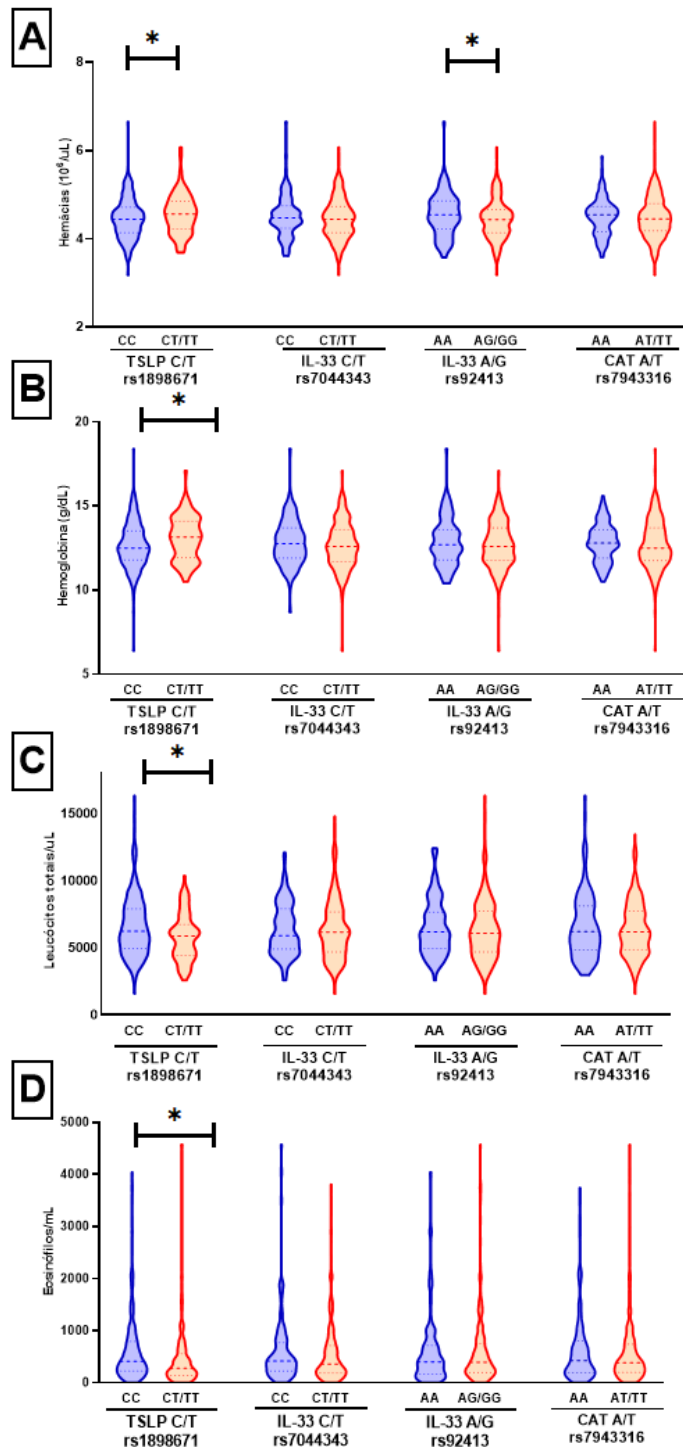
6.3.2 Avaliação de parâmetros hematológicos e hepáticos de acordo com os polimorfismos nos genes de interesse

Foram avaliados parâmetros hematológicos (hemácias, hemoglobina, leucócitos totais e eosinófilos) e hepáticos (AST, ALT, Gama GT) nos participantes segundo os polimorfismos *TSLP rs1898671*, *IL33 rs7044343* e *rs928413*, e *CAT rs7943316*.

Na Figura 10, observa-se que indivíduos com genótipos CT ou TT para a variante *rs1898671* (*TSLP*) apresentaram níveis significativamente mais elevados de hemácias [4,56 (4,22–4,85)] em comparação aos homozigotos CC [4,44 (4,14–4,71)]. De forma semelhante, portadores do alelo mutante exibiram concentrações mais altas de hemoglobina [13,15 (11,93–14,10)] em relação aos indivíduos CC [12,50 (11,80–13,53)]. Além disso, esses indivíduos apresentaram contagens aumentadas de leucócitos [5.875 (4.433–6.755) vs. 6.245 (4.953–7.905)] e número total de eosinófilos mais elevado [274,5 (135,8–553,5) vs. 409,0 (224,0–791,3)] quando comparados aos homozigotos CC. Esses achados sugerem que a presença do alelo T está associada a melhores parâmetros hematológicos.

Para a variante *rs928413* (*IL33*), indivíduos portadores do alelo mutante (AG/GG) apresentaram redução no número total de hemácias [4,43 (4,14–4,66)] em comparação aos homozigotos AA [4,54 (4,22–4,86)] (Figura 10A). Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros hematológicos avaliados para os polimorfismos *IL33 rs7044343* e *CAT rs7943316* (Figura 10).

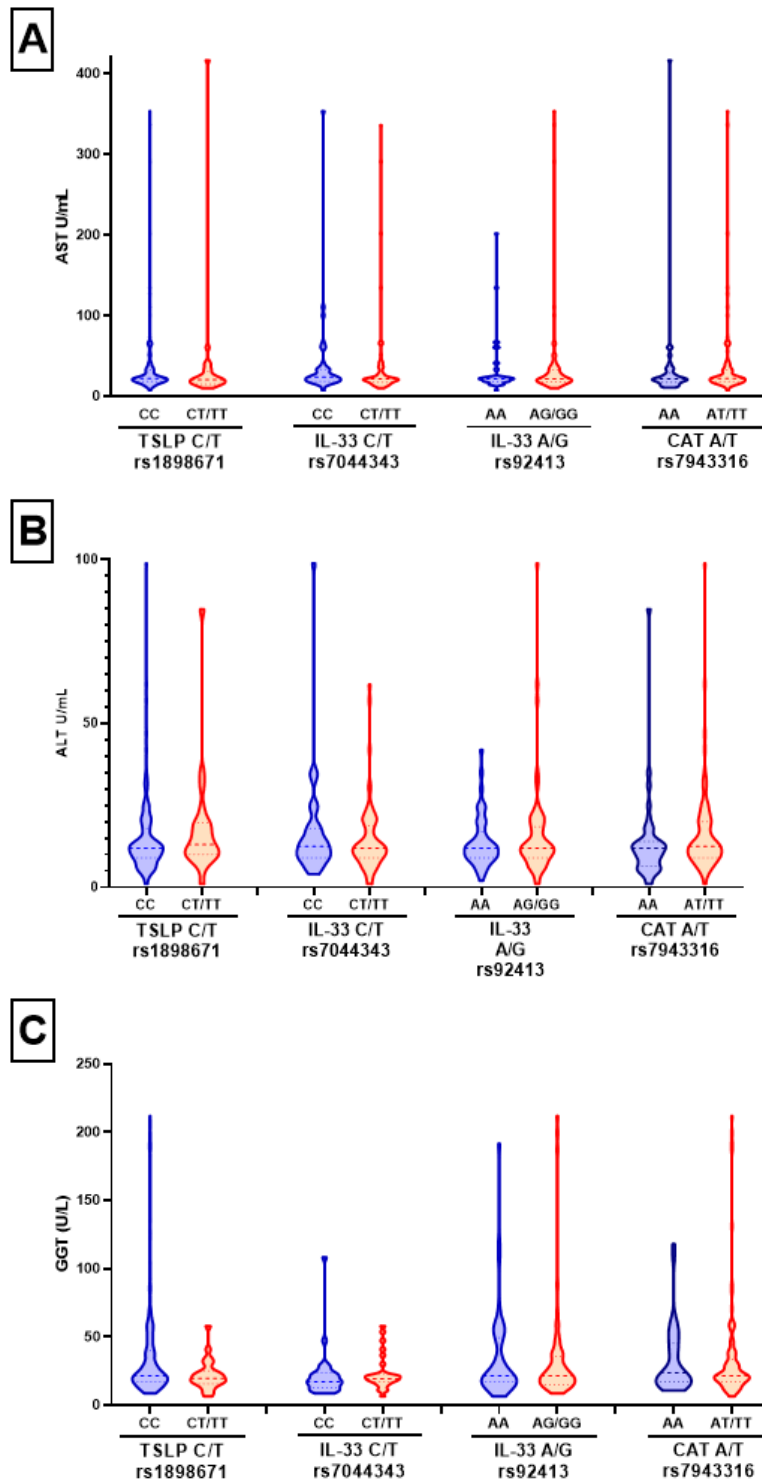
Figura 10 - Associação entre variantes genéticas e parâmetros hematológicos em participantes infectados ou expostos a *S. mansoni*.



Associação entre os polimorfismos *TSLP* rs1898671 (C/T), *IL33* rs7044343 (C/T), *IL33* rs928413 (A/G) e *CAT* rs7943316 (A/T) com parâmetros hematológicos: **(A)** contagem total de hemácias ($10^6/\mu\text{L}$), **(B)** níveis de hemoglobina (g/dL), **(C)** leucócitos totais (células/ μL) e **(D)** eosinófilos/mL. As comparações foram realizadas entre indivíduos homocigotos para o alelo de referência (azul) e aqueles com pelo menos uma cópia do alelo variante (vermelho). Comparações entre os grupos genotípicos foram realizadas utilizando o teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$). Abreviações: TSLP = *Thymic stromal lymphopoietin*; IL33 = *Interleukin 33*; CAT = *Catalase*.
Fonte: Autora

Em relação às enzimas hepáticas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos níveis de AST, ALT e GGT entre os diferentes genótipos das variantes *rs7044343* (*IL33*), *rs92413* (*IL33*) e *rs7943316* (*CAT*) (Figura 11). Embora os níveis de AST, ALT e GGT tenham apresentado ampla variabilidade individual, não houve associação evidente com a presença de alelos mutantes ou selvagens. Para a variante *rs1898671* (*TSLP*), também não foi identificada diferença significativa entre os genótipos CC e CT/TT nos três parâmetros hepáticos analisados. Esses resultados sugerem que, nesta população, as variantes genéticas avaliadas não influenciam diretamente os níveis das enzimas hepáticas envolvidas na avaliação de dano ou inflamação hepática.

Figura 11 - Avaliação de enzimas hepáticas segundo os genótipos dos polimorfismos *TSLP*, *IL33* e *CAT*



Distribuições das concentrações das enzimas hepáticas AST (A), ALT (B) e GGT (C) segundo os genótipos das variantes genéticas *rs1898671* (*TSLP*), *rs7044343* (*IL33*), *rs92413* (*IL33*) e *rs7943316* (*CAT*), em participantes humanos residentes em área endêmica para esquistossomose. As comparações entre grupos genotípicos foram realizadas utilizando o teste de Mann–Whitney ($p < 0,05$). Abreviações: AST (Aspartato Aminotransferase); ALT (Alanina Aminotransferase); GGT – gama-glutamil transferase; U/L – unidades por litro.

Fonte: Autora

6.3.3 Associação entre polimorfismo nos genes de interesse e infecção por helmintos

Na Tabela 4 são apresentadas as análises de associação entre os polimorfismos genéticos estudados e a presença de infecção por *S. mansoni*. Observou-se que a frequência do genótipo CC da variante *rs1898671* (*TSLP*) foi significativamente maior entre os indivíduos infectados, sugerindo que a presença do alelo T (genótipos CT/TT) pode atuar como fator protetor. Na análise univariada, indivíduos com o genótipo CC apresentaram 1,67 vezes mais chance de infecção por *S. mansoni* (IC 95%: 1,067–2,632; $p = 0,031$). Contudo, essa associação não se manteve significativa após ajuste por região de residência na análise multivariada ($p = 0,396$). Para as demais variantes genéticas (*rs7044343* e *rs928413*), não foram observadas associações estatisticamente significativas, embora a frequência de infecção tenha sido discretamente maior em portadores dos alelos mutantes. Da mesma forma, para a variante *rs7943316* (*CAT*), não houve associação significativa entre os genótipos e a presença de infecção por *S. mansoni*.

Tabela 5 - Associação entre polimorfismos genéticos e infecção por *Schistosoma mansoni*

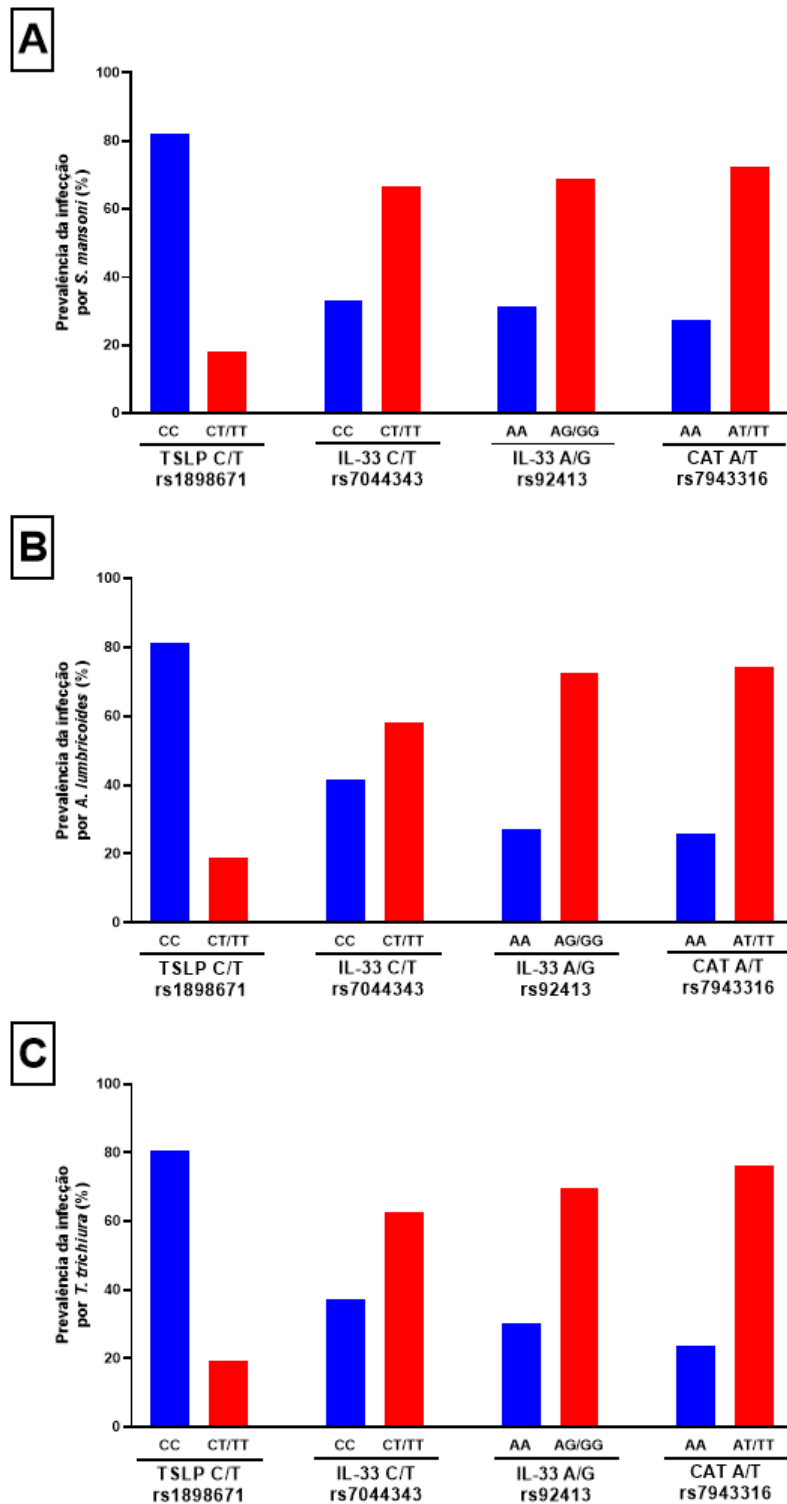
	Infecção por <i>S. mansoni</i>		Análise univariada		Análise multivariada	
	Presente [n(%)]	Ausente [n(%)]	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
<i>TSLP</i> C/T (<i>rs1898671</i>)						
CC	169 (37,9)	175 (39,3)	-		-	
CT/TT	37 (8,3)	64 (14,4)	1,670 (1,067-2,632)	0,031	0,798 (0,474-1,343)	0,396
<i>IL33</i> C/T (<i>rs7044343</i>)						
CC	59 (14,9)	72 (18,3)	-		-	
CT/TT	118 (29,9)	145 (36,8)	1,007 (0,661-1,524)	>0,999	1,108 (0,708- 1,735)	0,850
<i>IL33</i> A/G (<i>rs928413</i>)						
AA	55 (14,2)	64 (16,5)	-		-	
AG/GG	121 (31,3)	147 (37,9)	1,044 (0,669-1,619)	0,912	0,957 (0,609-1,504)	0,653
<i>CAT</i> A/T (<i>rs7943316</i>)						
AA	53 (12,9)	60 (14,6)	-		-	
AT/TT	140 (33,9)	159 (38,6)	1,003 (0,656-1,558)	>0,999	0,947 (0,585-1,535)	0,826

Nota: Frequência de infecção por *S. mansoni* segundo os genótipos dos polimorfismos *rs1898671* (*TSLP*), *rs7044343* (*IL33*), *rs928413* (*IL33*) e *rs7943316* (*CAT*) em participantes residentes de áreas endêmicas. Foram conduzidas análises univariadas (teste qui-quadrado) e multivariadas (regressão logística ajustada pela região de residência). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Abreviações: OR – razão de chances (*odds ratio*); IC – intervalo de confiança; p – valor de significância; *TSLP* – *thymic stromal lymphopoietin*; *IL* – interleucina; *CAT* – catalase.

Fonte: Autora

Considerando a elevada prevalência de outros helmintos intestinais na população, decidimos analisar também a associação destes polimorfismos com a presença de outras infecções por helmintos, além do *S. mansoni*. A Figura 12 apresenta a frequência de testes positivos para infecção por *S. mansoni* (12A), *Ascaris lumbricoides* (12B) e *Trichuris trichiura* (12C), de acordo com os genótipos dos polimorfismos *TSLP rs1898671*, *IL33 rs7044343*, *IL33 rs928413* e *CAT rs7943316*. Para o polimorfismo *TSLP rs1898671*, observou-se uma maior frequência de infecção entre indivíduos com o genótipo CC em todas as infecções analisadas. A diferença parece ter sido particularmente acentuada na infecção por *S. mansoni*, em que o genótipo CC esteve associado a uma chance significativamente maior de infecção, conforme previamente demonstrado. Embora padrões semelhantes tenham sido visualmente identificados para *A. lumbricoides* e *T. trichiura*, essas comparações foram avaliadas apenas de forma descritiva, sem aplicação de testes estatísticos inferenciais. Para os demais polimorfismos (*IL33 rs7044343*, *IL33 rs928413* e *CAT rs7943316*), não foram observadas diferenças expressivas entre os genótipos no que se refere à frequência de infecção.

Figura 12 - Prevalência de infecção por helmintos segundo genótipos dos polimorfismos estudados



Prevalência (%) de infecção por *Schistosoma mansoni* (A), *Ascaris lumbricoides* (B) e *Trichuris trichiura* (C), de acordo com os genótipos dos polimorfismos *TSLP* rs1898671, *IL33* rs7044343, *IL33* rs92413 e *CAT* rs7943316. As barras azuis representam a prevalência entre os indivíduos homocigotos para o alelo selvagem; as barras vermelhas, os heterocigotos ou homocigotos para o alelo mutante. Os dados demonstram a distribuição da infecção entre os diferentes perfis genéticos.

Fonte: Autora

6.3.4 Avaliação dos parâmetros laboratoriais nas infecções por helmintos e a associação com a variante *rs1898671* do gene *TSLP*

Considerando que a distribuição das infecções por helmintos ocorreu de forma diferente entre o grupo de indivíduos com ou sem polimorfismo *rs1898671* do gene *TSLP*, decidimos aprofundar as análises considerando este gene, as infecções por helmintos e marcadores de morbidade.

Foram avaliados os parâmetros hematológicos — hemácias totais, hemoglobina, leucócitos totais e eosinófilos — nas infecções por helmintos e sua associação com o polimorfismo *rs1898671* do gene *TSLP*. Primeiramente, os índices foram comparados entre indivíduos infectados e não infectados por *S. mansoni*, *A. lumbricoides* e *T. trichiura*; posteriormente, analisou-se a distribuição dos genótipos entre os indivíduos infectados.

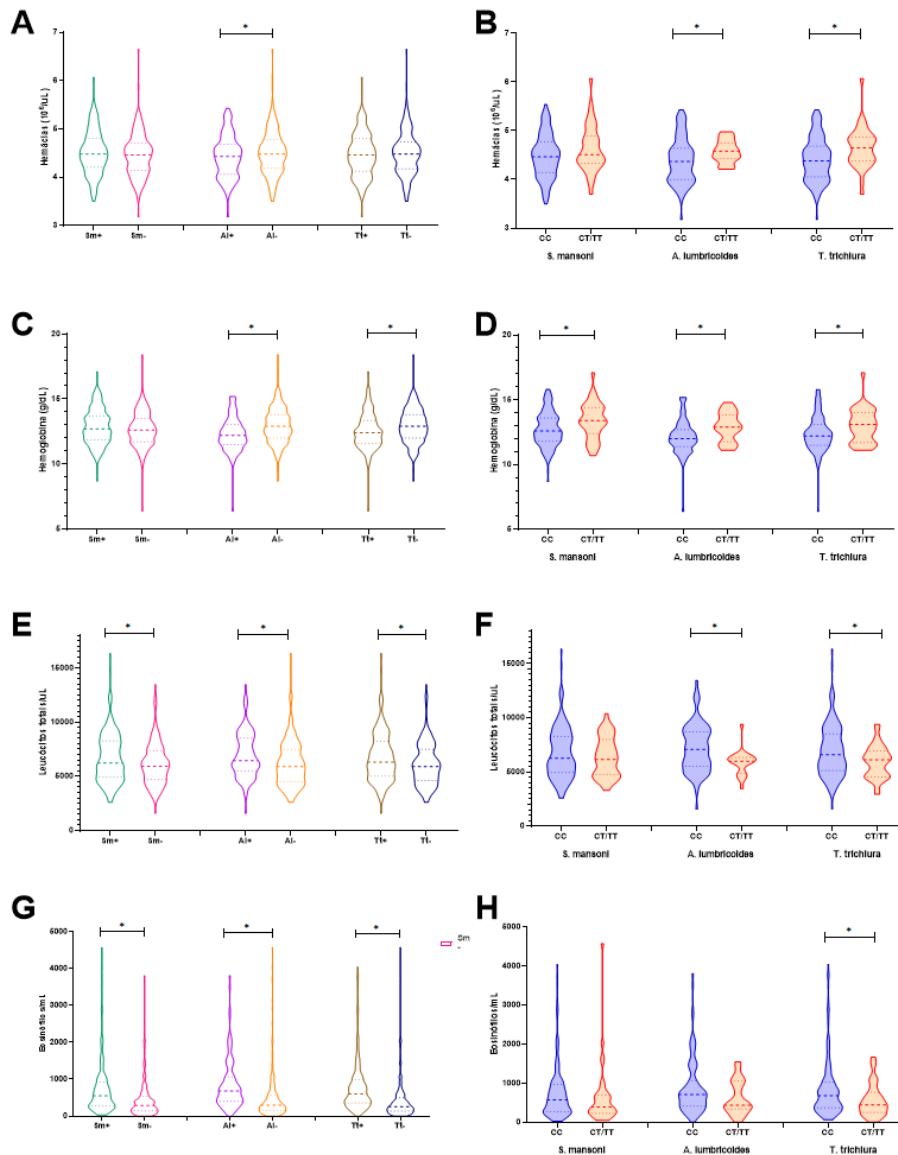
A infecção por *A. lumbricoides* esteve associada a uma redução significativa no número total de hemácias (Figura 13A). Essa diminuição foi mais pronunciada entre os indivíduos com o genótipo CC [4,37 (4,00–4,64)] do que nos indivíduos com os genótipos CT/TT [4,58 (4,42–4,75)]. De maneira semelhante, na infecção por *T. trichiura*, indivíduos com o genótipo CC [4,38 (4,05–4,68)] apresentaram o número total de hemácias menor do que indivíduos portadores do alelo mutante [4,65 (4,38–4,86)] (Figura 13B).

Também foram observados níveis mais baixos de hemoglobina em indivíduos infectados por essas duas espécies (Figura 13C). Indivíduos com genótipo CC e infectados por *S. mansoni* [12,6 (11,8–13,6)] apresentaram níveis de hemoglobina significativamente menores do que aqueles com genótipos CT/TT [13,4 (12,4–14,4)]. Dentre os infectados por *A. lumbricoides*, os indivíduos com o genótipo CC [12,0 (11,4–12,7)] também apresentaram níveis de hemoglobina significativamente menores do que aqueles com genótipos CT/TT [12,9 (11,7–13,8)]. Isso também foi observado para os infectados por *T. trichiura*, os portadores do genótipo CC [12,2 (11,5–13,1)] também apresentaram níveis de hemoglobina significativamente menores do que aqueles com genótipos CT/TT [13,1 (11,7–14,0)] (Figura 13D), sugerindo um possível efeito protetor do alelo mutante.

Como esperado, o número de leucócitos (Figura 13E) e de eosinófilos (Figura 13G) foi maior entre os infectados. Entre os indivíduos com infecção por *A. lumbricoides*, o número de leucócitos totais foi maior nos indivíduos com o genótipo CC [7.100 (5.540–8.700)] do que em indivíduos com o genótipo CT/TT [6.000 (4.883–6.345)]. Da mesma forma, nos infectados com *T. trichiura*, observou-se maior número de leucócitos totais entre os portadores do genótipo CC

[6.580 (5.130-8.520)] em comparação com indivíduos com a presença do alelo mutante [6.130 (4.550-6943)] (Figura 13F). O número de eosinófilos totais, também foi maior nos indivíduos com o genótipo CC [681,0 (371,5-1034,0)] do que em indivíduos com o genótipo CT/TT [446,0 (251,8-767,3)] na infecção por *T. trichiura* (Figura 13H).

Figura 13 - Parâmetros hematológicos em indivíduos com infecção por helmintos e associação com o polimorfismo *TSLP rs1898671*.



Nota: Avaliação de parâmetros hematológicos em indivíduos infectados por helmintos e associação com os genótipos da variante *rs1898671* do gene *TSLP*. Gráficos em A, C, E e G comparam os níveis de hemácias (A), hemoglobina (C), leucócitos totais (E) e eosinófilos totais (G) entre indivíduos infectados (Sm⁺, Al⁺, Tt⁺) e não infectados (Sm⁻, Al⁻, Tt⁻) por *Schistosoma mansoni* (Sm), *Ascaris lumbricoides* (Al) e *Trichuris trichiura* (Tt). Gráficos em B, D, F e H comparam os mesmos parâmetros entre os genótipos CC e CT/TT da variante *rs1898671*, considerando apenas os indivíduos infectados por cada helminto. As comparações estatísticas entre grupos foram realizadas pelo teste de Mann-Whitney. Asterisco (*) indica diferença estatisticamente significativa (p < 0,05).

Fonte: Autora

7 DISCUSSÃO

Esta tese investigou diferentes aspectos relacionados à esquistossomose mansônica, com foco na interação parasito-hospedeiro, mecanismos antioxidantes, resposta imune inata e fatores genéticos associados à infecção. A abordagem integrada abrangeu modelos *in vitro*, experimentais e humanos, possibilitando uma visão ampla e translacional da doença.

Considerando o habitat intravascular do verme adulto de *Schistosoma mansoni* (De La Torre-Escudero *et al.*, 2010), é fundamental compreender o papel das células endoteliais durante a infecção. Embora existam estudos abordando a interação parasito-hospedeiro envolvendo células endoteliais, a maioria concentra-se na interação do endotélio com os ovos depositados pelas fêmeas (File, 1995), havendo poucos trabalhos sobre a interação direta do verme adulto com essas células. Evidências indicam que os ovos podem se ligar a plaquetas ou a proteínas plasmáticas do hospedeiro, como o fator de *von Willebrand*, facilitando sua adesão ao endotélio e promovendo a ativação endotelial (Wu *et al.*, 2007; Dewalick *et al.*, 2014). Além disso, ovos e seus antígenos demonstraram capacidade de induzir proliferação ou apoptose de células endoteliais *in vitro* (Freedman; Ottesen, 1988; Loeffler *et al.*, 2002) e estão envolvidos na formação de granulomas (Schwartz; Fallon, 2018), promovendo angiogênese durante o desenvolvimento de granulomas hepáticos (Baptista, 2005; Lemos, 2010).

A sobrevivência dos vermes adultos no lúmen vascular tem sido atribuída a diversos mecanismos, incluindo aquisição de antígenos hospedeiros (Smithers; Terry; Hockley, 1969), mimetismo molecular (Hambrook; Hanington, 2020), desenvolvimento de membranas resistentes ao ataque imune (Dessein *et al.*, 1981), presença de proteínas específicas no tegumento do parasito (Wilson, 2012), indução de uma resposta imune regulatória no hospedeiro (Colley; Secor, 2014) e secreção de vesículas extracelulares contendo microRNAs capazes de modular células do sistema imune (Hamway *et al.*, 2022). Mais recentemente, a regulação de genes do parasito envolvidos em mecanismos de desintoxicação foi identificada como fator essencial para proteger o parasito contra o estresse oxidativo (Avelar *et al.*, 2019).

Nossos resultados revelam, de forma inédita, que além desses mecanismos de escape, as células endoteliais também desempenham um papel importante na sobrevivência do parasito. Demonstramos que vermes adultos de *S. mansoni* apresentam maior viabilidade quando cultivados na presença de células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC), mesmo sob condições pró-oxidativas. Esse efeito protetor pode estar parcialmente relacionado à capacidade das células endoteliais de produzir antioxidantes, como a catalase, cuja expressão foi induzida

durante o cocultivo com os vermes. A presença das células endoteliais resultou em escores mais altos de viabilidade e maior percentual de sobrevivência dos parasitos.

No entanto, nossos dados indicam que, além da ação da catalase, outros mecanismos ainda não identificados contribuem para a proteção dos vermes. Mesmo após a inibição da atividade da catalase com dapsona hidroxilamina (DDS-NOH), os vermes mantiveram viabilidade quando cocultivados com HUVEC, sugerindo a existência de outras vias de proteção. Adicionalmente, demonstramos *in vitro* que a DDS-NOH foi capaz de reverter, ao menos parcialmente, o efeito protetor da catalase, evidenciado pela redução na viabilidade dos vermes.

No segundo manuscrito, avaliamos o impacto da inibição da catalase por DDS-NOH no tratamento da esquistossomose em modelo murino. Embora o uso isolado da dapsona não tenha promovido melhora significativa na taxa de cura, sua administração em combinação com o praziquantel levou a uma redução mais expressiva da carga parasitária. Ainda assim, essa combinação não apresentou eficácia superior ao tratamento com praziquantel isolado. Por outro lado, um estudo demonstrou que camundongos tratados com 100 mg/kg de dapsona por cinco dias apresentaram redução na postura de ovos, o que pode ser relevante, considerando que os ovos são os principais responsáveis pela morbidade da esquistossomose. No entanto, esse efeito foi transitório, com a retomada da postura após a interrupção do tratamento (Pellegrino, 1975). Além disso, Katz e Pelegrino (1975) também testaram o uso da dapsona para tratar pacientes com hanseníase e esquistossomose e não observaram diferença na taxa de cura.

Um estudo recente do nosso grupo, que avaliou a matriz extracelular hepática em camundongos tratados com o praziquantel, dapsona e a combinação de praziquantel e dapsona, aponta que o uso da dapsona nos animais tratados reduziu a formação de granulomas. Esta observação sugere um potencial efeito modulador da dapsona na resposta granulomatosa, podendo auxiliar o praziquantel na redução aos danos na fase crônica da doença (Queiroz, 2025), já que, apesar da considerável eficácia do praziquantel na eliminação do parasito, ele não possui atividade antifibrótica (Nono *et al.*, 2020).

Esses dados indicam que o bloqueio do sistema antioxidante do parasito pode potencializar os efeitos do praziquantel, ainda que não seja suficiente para garantir a cura completa. Contudo, é importante destacar que o tratamento com dapsona foi associado à redução dos níveis de hemoglobina, indicando risco de anemia. Esse efeito adverso é compatível com estudos prévios que apontam o potencial hematotóxico da dapsona e reforça a

necessidade de cautela em sua utilização terapêutica (Grossman; Jollow, 1988; Jollow; Bradshaw; Mcmillan, 1995; Bian *et al.*, 2019).

Os resultados apresentados nos manuscritos 1 e 2 ressaltam o papel crítico do estresse oxidativo e da modulação endotelial na biologia do *S. mansoni*. Isso motivou a investigação, no manuscrito 3, de variantes genéticas em genes relacionados à resposta antioxidante (*CAT*) e à resposta imune inata (*TSLP* e *IL33*) em indivíduos residentes em áreas endêmicas.

Na esquistossomose é possível observar que em áreas endêmicas, as infecções são heterogêneas, podendo ser observado em indivíduos que vivem em condições semelhantes de exposição ao parasito, variação da intensidade de infecção, bem como na resposta imune e no desenvolvimento da doença. A exposição e os fatores ambientais não podem explicar totalmente essa heterogeneidade, dessa forma, alguns estudos têm demonstrado que a resistência ou suscetibilidade é um fator individual, como por exemplo, variações genéticas como polimorfismos (Rodrigues *et al.*, 1999; Mewamba *et al.*, 2021).

Estudos sobre polimorfismos genéticos na esquistossomose, incluindo alguns estudos do nosso grupo, demonstraram que polimorfismo nos genes das citocinas *IL-13*, *IL10*, *IL4*, *TGF-β/Alk-1* e *IL-22/IL-22RA2* estão associados com resistência ou susceptibilidade ou mesmo com o desenvolvimento de formas mais graves da doença (Bethony; Quinnell, 2008; Grant *et al.*, 2011; Grant *et al.*, 2012; Dessein *et al.*, 2020). Dessa forma, a investigação de outros polimorfismos genéticos é necessária para compreender como essas variações podem estar associadas à proteção ou à progressão da esquistossomose, bem como de outras helmintíases.

A análise genotípica revelou que a presença de alelos mutantes nos polimorfismos investigados esteve associada a menor frequência de infecção por *S. mansoni* e melhores indicadores laboratoriais, como níveis de hemoglobina, hemácias e eosinófilos. Apesar de não termos encontrado associações importantes entre os polimorfismos de *IL-33* e a infecção, trabalhos do nosso grupo mostraram que o SNPs no receptor de *IL-33*, o *ST2*, está associado a níveis mais elevados de *sST2*, que estão associados à esquistossomose em estágio avançado. (Long *et al.*, 2017).

Em relação ao gene *TSLP*, o polimorfismo *rs1898671*, em particular, mostrou-se associado à proteção contra infecção por helmintos, incluindo *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*, além de *S. mansoni*. Indivíduos com o alelo mutante (CT ou TT) apresentaram melhores parâmetros hematológicos, sugerindo menor impacto inflamatório e menor risco de anemia.

A relação entre TSLP e anemia vem sendo demonstrada. Um estudo identificou que camundongos transgênicos (camundongos K5-TSLP) que possuem níveis sistêmicos de TSLP elevados apresentam uma alteração na linfopoiese de células B, levando à responsividade aumentada e conseqüentemente à ativação policlonal das células B e ao desenvolvimento de anemia hemolítica autoimune *in vivo* (Astrakhan *et al.*, 2007; Iseki *et al.*, 2012; Ziegler *et al.*, 2013).

Esses achados indicam que variantes genéticas que modulam a resposta imune inata e o equilíbrio oxidativo podem influenciar na gravidade da doença. As citocinas TSLP e IL33, por atuarem como alarminas produzidas por células epiteliais e endoteliais (Moussion; Ortega; Girard, 2008; Cayrol; Girard, 2018), têm papel central na ativação de respostas imunes do tipo 2, característica das infecções helmínticas (Pearce *et al.*, 2004). Assim, é plausível que diferenças na expressão ou função dessas citocinas, mediadas por polimorfismos, influenciem a capacidade do hospedeiro em responder à infecção. Os resultados também sugerem que a resposta antioxidante do hospedeiro, mediada pela catalase, pode afetar diretamente a dinâmica da infecção e a eficácia do tratamento.

Apesar de sua considerável eficácia, alguns estudos vêm demonstrando taxas de cura reduzidas com uso do praziquantel. Além disso sabe-se que o medicamento age apenas sobre a forma de vermes adultos e não protege contra reinfecções. (Ismail *et al.*, 1999; Loverde *et al.*, 2021). Dessa forma, o uso de um medicamento que atue no sistema pró-antioxidante do hospedeiro, como adjuvante ao praziquantel, pode auxiliar nos casos de falha terapêutica e na eliminação das formas mais jovens do *Schistosoma mansoni* em casos de reinfecção, sobretudo em indivíduos em áreas endêmicas que estão em constante exposição.

Do ponto de vista metodológico, a tese apresenta como ponto forte a integração de diferentes modelos (*in vitro*, animal e humano) e a abordagem multidimensional dos dados, incluindo análises moleculares, clínicas e epidemiológicas. No entanto, algumas limitações devem ser reconhecidas. Nos estudos com humanos, não foi realizada a análise longitudinal que permitisse inferir a associação da genotipagem com a reinfecção após 12 meses. Além disso, apesar de observações consistentes, algumas associações genéticas não atingiram significância estatística, possivelmente devido ao tamanho amostral limitado em determinados grupos genotípicos.

Em conjunto, os resultados desta tese reforçam a importância dos mecanismos antioxidantes e da resposta imune inata na interação entre o *S. mansoni* e seu hospedeiro, sugerindo que estratégias que explorem essas vias podem representar alternativas promissoras

para o controle da doença. Futuros estudos poderão aprofundar o entendimento dessas interações e contribuir para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e seguras contra a esquistossomose.

8 CONCLUSÃO

Os achados desta tese contribuem significativamente para a compreensão da complexa interação entre *Schistosoma mansoni* e seu hospedeiro, destacando o papel das células endoteliais, do estresse oxidativo e da resposta imune inata na manutenção da infecção. Demonstramos que a proteção conferida pelas células endoteliais ao parasito envolve, ao menos em parte, mecanismos antioxidantes possivelmente mediados pela catalase, e que a inibição dessa via pode potencializar o efeito do praziquantel, ainda que com limitações relacionadas à toxicidade. No contexto humano, observamos que variantes genéticas no gene *TSLP* estão associadas a melhores indicadores hematológicos, sugerindo um papel regulador desses polimorfismos na morbidade do hospedeiro. Esses resultados contribuem para o avanço do conhecimento sobre os mecanismos de persistência do parasito no ambiente intravascular e para novas estratégias terapêuticas na esquistossomose. Além disso, esse estudo reforça a importância de considerar a importância de fatores genéticos do hospedeiro para a morbidade na esquistossomose e outras helmintíases.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAHI, O. M. et al. Visualization of oxygen radical production in mouse liver in response to infection with schistosoma mansoni. **Liver**, v. 19, n. 6, p. 495-500, 1999.
- ABDUL-MAKSOUUD, R. S. et al. The impact of catalase and glutathione peroxidase-1 genetic polymorphisms on their enzyme activities among egyptian patients with keratoconus. **J Gene Med**, v. 22, n. 8, p. e3192, 2020.
- ALBUQUERQUE, R. V. et al. In vitro protective effect and antioxidant mechanism of resveratrol induced by dapsone hydroxylamine in human cells. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0134768, 2015.
- ANDRADE, Z. A. A patologia da esquistossomose humana. In: FIOCRUZ (ed.). **Schistosoma mansoni e esquistossomose: Uma visão multidisciplinar**. 20, 2008. cap. 18, p. 547-568
- ANDRADE, Z. A. Schistosomiasis and liver fibrosis. **Parasite Immunol**, v. 31, n. 11, p. 656-663, 2009.
- ANGELES-MARTINEZ, J. et al. The rs7044343 polymorphism of the interleukin 33 gene is associated with decreased risk of developing premature coronary artery disease and central obesity, and could be involved in regulating the production of il-33. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0168828, 2017.
- ASTRAKHAN, A. et al. Local increase in thymic stromal lymphopoietin induces systemic alterations in b cell development. **Nat Immunol**, v. 8, n. 5, p. 522-531, 2007.
- AVELAR, L. et al. Smp38 map kinase regulation in schistosoma mansoni: Roles in survival, oviposition, and protection against oxidative stress. **Front Immunol**, v. 10, n., p. 21, 2019.
- BAPTISTA, A. P. A., Z. A. Angiogenesis and schistosomal granuloma formation. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, n., p. 183-185, 2005.
- BETHONY, J. M.; QUINNELL, R. J. Genetic epidemiology of human schistosomiasis in brazil. **Acta Trop**, v. 108, n. 2-3, p. 166-174, 2008.
- BIAN, Y. et al. Dapsone hydroxylamine, an active metabolite of dapsone, can promote the procoagulant activity of red blood cells and thrombosis. **Toxicol Sci**, v. 172, n. 2, p. 435-444, 2019.
- BRASIL, M. D. S. Boletim epidemiológico. Saúde, S. d. V. e. 53: 16-34 p. 2022.
- BRASIL, M. D. S.. **Vigilância da esquistossomose mansoni : Diretrizes técnicas 4**, 2014
- CAYROL, C.; GIRARD, J. P. Interleukin-33 (il-33): A critical review of its biology and the mechanisms involved in its release as a potent extracellular cytokine. **Cytokine**, v. 156, n., p. 155891, 2022.

- BRASIL, M. D. S. Interleukin-33 (il-33): A nuclear cytokine from the il-1 family. **Immunol Rev**, v. 281, n. 1, p. 154-168, 2018.
- CDC, C. F. D. C. A. P. Schistosomiasis Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>>. Acesso em: Date Accessed
- CHEEVER, A. W.; HOFFMANN, K. F.; WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunol Today**, v. 21, n. 9, p. 465-466, 2000.
- CHEN, B. et al. The role of nrf2 in oxidative stress-induced endothelial injuries. **J Endocrinol**, v. 225, n. 3, p. R83-99, 2015.
- CHEN, J. et al. Polymorphisms of rad50, il33 and il1r1l are associated with atopic asthma in chinese population. **Tissue Antigens**, v. 86, n. 6, p. 443-447, 2015.
- CINELLI, M. A. et al. Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition. **Med Res Rev**, v. 40, n. 1, p. 158-189, 2020.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel. **Parasitol Res**, v. 90 Supp 1, n., p. S3-9, 2003.
- COLEMAN, M. D. Dapsone: Modes of action, toxicity and possible strategies for increasing patient tolerance. **Br J Dermatol**, v. 129, n. 5, p. 507-513, 1993.
- COLLEY, D. G.; SECOR, W. E. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite Immunol**, v. 36, n. 8, p. 347-357, 2014.
- CORREA-OLIVEIRA, R.; CALDAS, I. R.; GAZZINELLI, G. Natural versus drug-induced resistance in schistosoma mansoni infection. **Parasitol Today**, v. 16, n. 9, p. 397-399, 2000.
- DE JESUS, A. R. et al. Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni. **J Infect Dis**, v. 185, n. 1, p. 98-105, 2002.
- DE LA TORRE-ESCUADERO, E. et al. Cloning and characterization of a plasminogen-binding surface-associated enolase from schistosoma bovis. **Vet Parasitol**, v. 173, n. 1-2, p. 76-84, 2010.
- DESSEIN, A. et al. Immune evasion by schistosoma mansoni: Loss of susceptibility to antibody or complement-dependent eosinophil attack by schistosomula cultured in medium free of macromolecules. **Parasitology**, v. 82, n. Pt 3, p. 357-374, 1981.
- DESSEIN, H. et al. Genetic algorithms identify individuals with high risk of severe liver disease caused by schistosomes. **Hum Genet**, v. 139, n. 6-7, p. 821-831, 2020.
- DEWALICK, S. et al. Binding of von willebrand factor and plasma proteins to the eggshell of schistosoma mansoni. **Int J Parasitol**, v. 44, n. 5, p. 263-268, 2014.

- DOENHOFF, M. J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. Praziquantel: Mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Curr Opin Infect Dis**, v. 21, n. 6, p. 659-667, 2008.
- DUNNE, D. W. et al. Immunity after treatment of human schistosomiasis: Association between ige antibodies to adult worm antigens and resistance to reinfection. **Eur J Immunol**, v. 22, n. 6, p. 1483-1494, 1992.
- EZHILARASAN, D. Dapsone-induced hepatic complications: It's time to think beyond methemoglobinemia. **Drug Chem Toxicol**, v. 44, n. 3, p. 330-333, 2021.
- FALAH, S. et al. Association between il-33 gene polymorphism (rs7044343) and risk of allergic rhinitis. **Immunol Invest**, v. 51, n. 1, p. 29-39, 2022.
- FALK, H. L.; THOMPSON, S. J.; KOTIN, P. Carcinogenic potential of pesticides. **Arch Environ Health**, v. 10, n., p. 847-858, 1965.
- FALLON, P. G. Immunopathology of schistosomiasis: A cautionary tale of mice and men. **Immunol Today**, v. 21, n. 1, p. 29-35, 2000.
- FEINSTEIN, R. N.; FRY, R. J.; STAFFELDT, E. F. Carcinogenic and antitumor effects of aminotriazole on acatalasemic and normal catalase mice. **J Natl Cancer Inst**, v. 60, n. 5, p. 1113-1116, 1978.
- FILE, S. Interaction of schistosome eggs with vascular endothelium. **J Parasitol**, v. 81, n. 2, p. 234-238, 1995.
- FREEDMAN, D. O.; OTTESEN, E. A. Eggs of schistosoma mansoni stimulate endothelial cell proliferation in vitro. **J Infect Dis**, v. 158, n. 3, p. 556-562, 1988.
- GOZZELINO, R.; JENEY, V.; SOARES, M. P. Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 50, n., p. 323-354, 2010.
- GRANT, A. V. et al. Polymorphisms in il10 are associated with total immunoglobulin e levels and schistosoma mansoni infection intensity in a brazilian population. **Genes Immun**, v. 12, n. 1, p. 46-50, 2011.
- GRANT, A. V. et al. Functional polymorphisms in il13 are protective against high schistosoma mansoni infection intensity in a brazilian population. **PLoS One**, v. 7, n. 5, p. e35863, 2012.
- GROSSMAN, S. J.; JOLLOW, D. J. Role of dapsone hydroxylamine in dapsone-induced hemolytic anemia. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 244, n. 1, p. 118-125, 1988.
- GRYSEELS, B. et al. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106-1118, 2006.
- HAMBROOK, J. R.; HANINGTON, P. C. Immune evasion strategies of schistosomes. **Front Immunol**, v. 11, n., p. 624178, 2020.

- HAMWAY, Y. et al. Modulation of host-parasite interactions with small molecules targeting schistosoma mansoni micrnas. **ACS Infect Dis**, v. 8, n. 10, p. 2028-2034, 2022.
- HE, L. et al. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. **Cell Physiol Biochem**, v. 44, n. 2, p. 532-553, 2017.
- HERNANDEZ-GUERRERO, C. et al. Genetic polymorphisms of antioxidant enzymes cat and sod affect the outcome of clinical, biochemical, and anthropometric variables in people with obesity under a dietary intervention. **Genes Nutr**, v. 13, n., p. 1, 2018.
- HOKKE, C. H.; FITZPATRICK, J. M.; HOFFMANN, K. F. Integrating transcriptome, proteome and glycome analyses of schistosoma biology. **Trends Parasitol**, v. 23, n. 4, p. 165-174, 2007.
- ISEKI, M. et al. Thymic stromal lymphopoietin (tslp)-induced polyclonal b-cell activation and autoimmunity are mediated by cd4+ t cells and il-4. **Int Immunol**, v. 24, n. 3, p. 183-195, 2012.
- ISMAIL, M. et al. Resistance to praziquantel: Direct evidence from schistosoma mansoni isolated from egyptian villagers. **Am J Trop Med Hyg**, v. 60, n. 6, p. 932-935, 1999.
- JOLLOW, D. J.; BRADSHAW, T. P.; MCMILLAN, D. C. Dapsone-induced hemolytic anemia. **Drug Metab Rev**, v. 27, n. 1-2, p. 107-124, 1995.
- KATZ, N. **Inquérito nacional de prevalência da esquistossomose mansoni e geohelminthoses**. 22, 2018
- KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 14, n. 6, p. 397-400, 1972.
- KAZURA, J. W. et al. Role of cell-generated hydrogen peroxide in granulocyte-mediated killing of schistosomula of schistosoma mansoni in vitro. **J Clin Invest**, v. 67, n. 1, p. 93-102, 1981.
- KEILIN, D.; HARTREE, E. F. Inhibitors of catalase reaction. **Nature**, v. 134, n. 3398, p. 933-933, 1934.
- KING, C. L. et al. B cell sensitization to helminthic infection develops in utero in humans. **J Immunol**, v. 160, n. 7, p. 3578-3584, 1998.
- LEMONS, Q. T. A., Z. A. . Angiogenesis and experimental hepatic fibrosis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 105, n., p. 611-614, 2010.
- LI, C. et al. Functional analysis of the role of glutathione peroxidase (gpx) in the ros signaling pathway, hyphal branching and the regulation of ganoderic acid biosynthesis in ganoderma lucidum. **Fungal Genet Biol**, v. 82, n., p. 168-180, 2015.

LIU, R. et al. Efficacy of praziquantel and artemisinin derivatives for the treatment and prevention of human schistosomiasis: A systematic review and meta-analysis. **Parasit Vectors**, v. 4, n., p. 201, 2011.

LOEFFLER, D. A. et al. Soluble egg antigens from schistosoma mansoni induce angiogenesis-related processes by up-regulating vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. **J Infect Dis**, v. 185, n. 11, p. 1650-1656, 2002.

LOMBARDO, F. C. et al. Life cycle maintenance and drug-sensitivity assays for early drug discovery in schistosoma mansoni. **Nat Protoc**, v. 14, n. 2, p. 461-481, 2019.

LONG, X. et al. The role of st2 and st2 genetic variants in schistosomiasis. **J Allergy Clin Immunol**, v. 140, n. 5, p. 1416-1422 e1416, 2017.

LOU, C. et al. Association between fine mapping thymic stromal lymphopoietin and atopic dermatitis onset and persistence. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v. 123, n. 6, p. 595-601 e591, 2019.

LOVERDE, P. T. Schistosomiasis. **Adv Exp Med Biol**, v. 1154, n., p. 45-70, 2019.

LOVERDE, P. T. et al. Rational approach to drug discovery for human schistosomiasis. **Int J Parasitol Drugs Drug Resist**, v. 16, n., p. 140-147, 2021.

LOVERDE, P. T.; CARVALHO-QUEIROZ, C.; COOK, R. Vaccination with antioxidant enzymes confers protective immunity against challenge infection with schistosoma mansoni. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 5 Suppl 1, p. 37-43, 2004.

MARGOLIASH, E.; NOVOGRODSKY, A. A study of the inhibition of catalase by 3-amino-1:2:4:-triazole. **Biochem J**, v. 68, n. 3, p. 468-475, 1958.

MASAMBA, P.; KAPPO, A. P. Immunological and biochemical interplay between cytokines, oxidative stress and schistosomiasis. **Int J Mol Sci**, v. 22, n. 13, p., 2021.

MCMANUS, D. P. et al. Schistosomiasis. **Nat Rev Dis Primers**, v. 4, n. 1, p. 13, 2018.

MEWAMBA, E. M. et al. The genetics of human schistosomiasis infection intensity and liver disease: A review. **Front Immunol**, v. 12, n., p. 613468, 2021.

MKOJI, G. M.; SMITH, J. M.; PRICHARD, R. K. Antioxidant systems in schistosoma mansoni: Correlation between susceptibility to oxidant killing and the levels of scavengers of hydrogen peroxide and oxygen free radicals. **Int J Parasitol**, v. 18, n. 5, p. 661-666, 1988a.

_____. Antioxidant systems in schistosoma mansoni: Evidence for their role in protection of the adult worms against oxidant killing. **Int J Parasitol**, v. 18, n. 5, p. 667-673, 1988b.

MOQBEL, R.; MACDONALD, A. J.; KAY, A. B. Enhancement of human eosinophil- and neutrophil-mediated killing of schistosomula of schistosoma mansoni by reversed type (ige-mediated) anaphylaxis, in vitro. **Clin Exp Immunol**, v. 59, n. 3, p. 577-586, 1985.

- MOUSSION, C.; ORTEGA, N.; GIRARD, J. P. The il-1-like cytokine il-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: A novel 'alarmin'? **PLoS One**, v. 3, n. 10, p. e3331, 2008.
- MUKHERJEE, A. et al. Mitochondrial reactive oxygen species in infection and immunity. **Biomolecules**, v. 14, n. 6, p., 2024.
- MUTAPI, F. et al. Chemotherapy accelerates the development of acquired immune responses to schistosoma haematobium infection. **J Infect Dis**, v. 178, n. 1, p. 289-293, 1998.
- NAWAB, S. N. et al. A study on catalase gene promoter polymorphism -21 a/t (rs7943316) in healthy pakistani population. **Pak J Med Sci**, v. 33, n. 6, p. 1521-1524, 2017.
- NITURE, S. K.; KHATRI, R.; JAISWAL, A. K. Regulation of nrf2-an update. **Free Radic Biol Med**, v. 66, n., p. 36-44, 2014.
- NOGI, T. et al. A novel biological activity of praziquantel requiring voltage-operated ca²⁺ channel beta subunits: Subversion of flatworm regenerative polarity. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 3, n. 6, p. e464, 2009.
- NOGUEIRA, R. A. et al. Praziquantel: An update on the mechanism of its action against schistosomiasis and new therapeutic perspectives. **Mol Biochem Parasitol**, v. 252, n., p. 111531, 2022.
- NONO, J. K. et al. Investigating the antifibrotic effect of the antiparasitic drug praziquantel in vitro and in vivo preclinical models. **Sci Rep**, v. 10, n. 1, p. 10638, 2020.
- OLIVEIRA, B. S. S. **Participação de células endoteliais na proteção do verme adulto do schistosoma mansoni**. Universidade Federal da Bahia. Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz 2020. 55 p.
- OLIVEIRA, R. R. et al. Factors associated with resistance to schistosoma mansoni infection in an endemic area of bahia, brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v. 86, n. 2, p. 296-305, 2012.
- OLIVEIRA, S. D. et al. Increased endothelial cell-leukocyte interaction in murine schistosomiasis: Possible priming of endothelial cells by the disease. **PLoS One**, v. 6, n. 8, p. e23547, 2011.
- PEARCE, E. J. et al. Th2 response polarization during infection with the helminth parasite schistosoma mansoni. **Immunol Rev**, v. 201, n., p. 117-126, 2004.
- PELLEGRINO, J., SIQUEIRA A. F. Técnica de perfusão para colheita de schistosoma mansoni em cobaias experimentalmente infestadas. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v., n., p., 1956.
- PELLEGRINO, J. K., N. . Experimental therapy of schistosomiasis. X. Diaminodiphenylsulfone (dds) in experimental schistosomiasis. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v., n., p., 1975.

PICA-MATTOCCIA, L. et al. Schistosoma mansoni: Lack of correlation between praziquantel-induced intra-worm calcium influx and parasite death. v. 119, n. 3, p. 332-335, 2008.

QUEIROZ, L. C. D. **Avaliação do efeito dos tratamentos com praziquantel e dapsona no remodelamento da matriz extracelular hepática em modelo experimental de esquistossomose.** Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina. Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz 2025. 59 p.

RODRIGUES, V., JR. et al. Genetic control of schistosome infections by the sm1 locus of the 5q31-q33 region is linked to differentiation of type 2 helper t lymphocytes. **Infect Immun**, v. 67, n. 9, p. 4689-4692, 1999.

ROSS, A. G. et al. Katayama syndrome. **Lancet Infect Dis**, v. 7, n. 3, p. 218-224, 2007.

ROVER JÚNIOR, L. et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. v. 24, n., p. 112-119, 2001.

RUIZ-OJEDA, F. J. et al. Impact of 3-amino-1,2,4-triazole (3-at)-derived increase in hydrogen peroxide levels on inflammation and metabolism in human differentiated adipocytes. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0152550, 2016.

SADIA, K. et al. Antioxidant enzymes and association of cat snp-21 a/t (rs7943316) with male infertility. **Mol Reprod Dev**, v. 88, n. 9, p. 598-604, 2021.

SAIFY, K.; SAADAT, I.; SAADAT, M. Influence of a-21t and c-262t genetic polymorphisms at the promoter region of the catalase (cat) on gene expression. **Environ Health Prev Med**, v. 21, n. 5, p. 382-386, 2016.

SCHWARTZ, C.; FALLON, P. G. Schistosoma "eggs-iting" the host: Granuloma formation and egg excretion. **Front Immunol**, v. 9, n., p. 2492, 2018.

SEVAG M.G., S. M., IBSEN M. . Inhibition of catalase by hydroxylamine and p-hydroxylaminobenzenesulfonamide and the reversal of inhibition by serum, crystalline serum albumin, and hemin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 144, n. 3, p. 711-717, 1942.

SHEN, J. et al. Inos is essential to maintain a protective th1/th2 response and the production of cytokines/chemokines against schistosoma japonicum infection in rats. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 16, n. 5, p. e0010403, 2022.

SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J. The infection of laboratory hosts with cercariae of schistosoma mansoni and the recovery of the adult worms. **Parasitology**, v. 55, n. 4, p. 695-700, 1965.

SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J.; HOCKLEY, D. J. Host antigens in schistosomiasis. **Proc R Soc Lond B Biol Sci**, v. 171, n. 1025, p. 483-494, 1969.

TOKI, S. et al. Tslp and il-33 reciprocally promote each other's lung protein expression and ilc2 receptor expression to enhance innate type-2 airway inflammation. **Allergy**, v. 75, n. 7, p. 1606-1617, 2020.

TROTTEIN, F. et al. Schistosoma mansoni activates host microvascular endothelial cells to acquire an anti-inflammatory phenotype. **Infect Immun**, v. 67, n. 7, p. 3403-3409, 1999.

VALE, N. et al. Praziquantel for schistosomiasis: Single-drug metabolism revisited, mode of action, and resistance. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 61, n. 5, p., 2017.

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

VEGGI, L. M. et al. Dapsone induces oxidative stress and impairs antioxidant defenses in rat liver. **Life Sci**, v. 83, n. 5-6, p. 155-163, 2008.

VERJOVSKI-ALMEIDA, S. et al. Schistosome transcriptome: Insights and perspectives for functional genomics. **Trends Parasitol**, v. 20, n. 7, p. 304-308, 2004.

WANG, W.; WANG, L.; LIANG, Y. S. Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: A review. **Parasitol Res**, v. 111, n. 5, p. 1871-1877, 2012.

WHO. **Ending the neglect to attain the sustainable development goals: A road map for neglected tropical diseases 2021–2030**. Geneva: World Health Organization, 2020

WHO. Weekly epidemiological record. Geneva: World Health Organization. 9: 80 p. 2011.

WHO. **Who guideline on control and elimination of human schistosomiasis**. Geneva: World Health Organization, 2022

WIGNER, P. et al. Variation of genes encoding nitric oxide synthases and antioxidant enzymes as potential risks of multiple sclerosis development: A preliminary study. **Sci Rep**, v. 12, n. 1, p. 10603, 2022.

WILSON, R. A. Virulence factors of schistosomes. **Microbes Infect**, v. 14, n. 15, p. 1442-1450, 2012.

WILSON, S. et al. Rapidly boosted plasma il-5 induced by treatment of human schistosomiasis haematobium is dependent on antigen dose, ige and eosinophils. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 7, n. 3, p. e2149, 2013.

WINTER, H. R.; WANG, Y.; UNADKAT, J. D. Cyp2c8/9 mediate dapsone n-hydroxylation at clinical concentrations of dapsone. **Drug Metab Dispos**, v. 28, n. 8, p. 865-868, 2000.

WOLF, R.; TUZUN, B.; TUZUN, Y. Dapsone: Unapproved uses or indications. **Clin Dermatol**, v. 18, n. 1, p. 37-53, 2000.

WOZEL, G.; BLASUM, C. Dapsone in dermatology and beyond. **Arch Dermatol Res**, v. 306, n. 2, p. 103-124, 2014.

WU, Y. P. et al. Differential platelet adhesion to distinct life-cycle stages of the parasitic helminth schistosoma mansonii. **J Thromb Haemost**, v. 5, n. 10, p. 2146-2148, 2007.

XU, X. et al. Interleukin-33 gene polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease in the chinese han population. **J Int Med Res**, v. 48, n. 12, p. 300060520962340, 2020.

YAHOUEDDEHOU, S. et al. Sickle cell anemia: Variants in the cyp2d6, cat, and slc14a1 genes are associated with improved hydroxyurea response. **Front Pharmacol**, v. 11, n., p. 553064, 2020.

ZHANG, W.; FENG, C.; JIANG, H. Novel target for treating alzheimer's diseases: Crosstalk between the nrf2 pathway and autophagy. **Ageing Res Rev**, v. 65, n., p. 101207, 2021.

ZIEGLER, S. F. et al. The biology of thymic stromal lymphopoietin (tslp). **Adv Pharmacol**, v. 66, n., p. 129-155, 2013.

ZWANG, J.; OLLIARO, P. L. Clinical efficacy and tolerability of praziquantel for intestinal and urinary schistosomiasis-a meta-analysis of comparative and non-comparative clinical trials. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 8, n. 11, p. e3286, 2014.

Anexo A – Comprovante de submissão do primeiro manuscrito

PLOS Neglected Tropical Diseases
Endothelial cells protect Schistosoma mansoni from hydrogen peroxide-induced death
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	PNTD-D-25-01246
Full Title:	Endothelial cells protect Schistosoma mansoni from hydrogen peroxide-induced death
Short Title:	Endothelial cells protect Schistosoma mansoni from hydrogen peroxide-induced death
Article Type:	Research Article
Keywords:	Schistosoma mansoni; Endothelia cells; Oxidative stress; Dapsone hydroxylamine
Corresponding Author:	Ricardo R. Oliveira FIOCRUZ Bahia: Instituto Goncalo Moniz Salvador, Bahia BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	FIOCRUZ Bahia: Instituto Goncalo Moniz
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Bruna Oliveira Lopes Souza
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Bruna Oliveira Lopes Souza Ronald Alves dos Santos Kelvin Edson Marques de Jesus Juliana Bezerra Dória Lima Andressa Moreira Lima Brenda Rodrigues Brito Cunha Silva Fernanda Freitas Costa Lorena Conceição Queiroz Camilla Almeida Menezes Sânzio Silva Santana Karine Araujo Damasceno Isadora Cristina Siqueira Marilda de Souza Gonçalves Dalila Luciola Zanette Thassila Nogueira Pitanga Ricardo Riccio Oliveira
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	Introduction: Schistosoma mansoni, the causative agent of intestinal schistosomiasis, thrives in the human host, particularly within the vascular system. Understanding the role of endothelial cells during infection is crucial. Currently, schistosomiasis treatment depends solely on praziquantel (PZQ), but emerging evidence suggests decreasing efficacy. This highlights the need for new therapeutic strategies, including agents that modulate the host antioxidant response, such as dapsone. Methods: Adult S. mansoni worms were harvested from infected mice via portal perfusion. Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were cultured and exposed to worm pairs and PZQ for 1, 3, or 6 hours. Post-exposure, RNA was extracted and analyzed by qPCR to assess the

	<p>expression of antioxidant genes (NRF2, SOD1, GPx, GSR, CAT). Additionally, worm viability under oxidative stress was evaluated by incubating worms with hydrogen peroxide (H₂O₂), in the presence or absence of HUVECs, catalase, or dapsone hydroxylamine. Results: Worms did not significantly alter expression of host antioxidant genes except for catalase. H₂O₂ exposure led to worm death, but co-incubation with HUVECs improved worm viability and survival, suggesting a protective role of endothelial cells against oxidative stress. Furthermore, dapsone hydroxylamine reversed the protective effect of catalase, reducing worm viability. However, worms remained viable in co-culture with HUVECs, indicating additional, unidentified mechanisms of protection. Conclusion: Endothelial cells may play a key role in protecting <i>S. mansoni</i> against host oxidative defenses. Dapsone hydroxylamine interferes with this protection by inhibiting catalase activity. These findings point to potential therapeutic strategies targeting the host-parasite interface and the antioxidant environment in schistosomiasis.</p>
Suggested Reviewers:	
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response
<p>Government Employee</p> <p>Are you or any of the contributing authors an employee of the United States government?</p> <p>Manuscripts authored by one or more US Government employees are not copyrighted, but are licensed under a CC0 Public Domain Dedication, which allows unlimited distribution and reuse of the article for any lawful purpose. This is a legal requirement for US Government employees.</p> <p>This will be typeset if the manuscript is accepted for publication.</p>	<p>No - No authors are employees of the U.S. government.</p>
<p>Financial Disclosure</p> <p>Enter a financial disclosure statement that describes the sources of funding for the work included in this submission. Review the submission guidelines for detailed requirements. View published research articles from PLOS Neglected Tropical Diseases for specific examples.</p> <p>This statement is required for submission and will appear in the published article if the submission is accepted. Please make sure it is accurate.</p>	<p>Yes</p>

<p>Funded studies Enter a statement with the following details:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Initials of the authors who received each award • Grant numbers awarded to each author • The full name of each funder • URL of each funder website • Did the sponsors or funders play any role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript? 	
<p>Did you receive funding for this work?</p>	
<p>Please add funding details as follow-up to "Financial Disclosure</p> <p>Enter a financial disclosure statement that describes the sources of funding for the work included in this submission. Review the submission guidelines for detailed requirements. View published research articles from PLOS Neglected Tropical Diseases for specific examples.</p> <p>This statement is required for submission and will appear in the published article if the submission is accepted. Please make sure it is accurate.</p>	<p>This study was supported by Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz - PROEP/IGM/2020) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). The funding was used to support the research activities and did not include any direct personal payment to the authors.</p>
<p>Funded studies Enter a statement with the following details:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Initials of the authors who received each award • Grant numbers awarded to each author • The full name of each funder • URL of each funder website • Did the sponsors or funders play any role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript? 	
<p>Did you receive funding for this work?"</p>	
<p>Please select the country of your main research funder (please select carefully as in some cases this is used in fee</p>	<p>BRAZIL - BR</p>








<p>calculation). as follow-up to "Financial Disclosure</p> <p>Enter a financial disclosure statement that describes the sources of funding for the work included in this submission. Review the submission guidelines for detailed requirements. View published research articles from PLOS Neglected Tropical Diseases for specific examples.</p> <p>This statement is required for submission and will appear in the published article if the submission is accepted. Please make sure it is accurate.</p> <p>Funded studies Enter a statement with the following details:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Initials of the authors who received each award • Grant numbers awarded to each author • The full name of each funder • URL of each funder website • Did the sponsors or funders play any role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript? <p>Did you receive funding for this work?"</p>	
<p>Competing Interests</p> <p>On behalf of all authors, disclose any competing interests that could be perceived to bias this work.</p> <p>This statement will be typeset if the manuscript is accepted for publication.</p> <p>Review the instructions link below and PLOS NTDs' competing interests policy to determine what information must be disclosed at submission.</p>	<p>The authors have declared that no competing interests exist.</p>
<p>Data Availability</p>	<p>All relevant data will be made available upon publication through the Arca Dados platform, the official data repository of Fiocruz, at https://arcadados.fiocruz.br/</p>

<p>calculation). as follow-up to "Financial Disclosure</p> <p>Enter a financial disclosure statement that describes the sources of funding for the work included in this submission. Review the submission guidelines for detailed requirements. View published research articles from PLOS Neglected Tropical Diseases for specific examples.</p> <p>This statement is required for submission and will appear in the published article if the submission is accepted. Please make sure it is accurate.</p> <p>Funded studies Enter a statement with the following details:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Initials of the authors who received each award • Grant numbers awarded to each author • The full name of each funder • URL of each funder website • Did the sponsors or funders play any role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript? <p>Did you receive funding for this work?"</p>	
<p>Competing Interests</p> <p>On behalf of all authors, disclose any competing interests that could be perceived to bias this work.</p> <p>This statement will be typeset if the manuscript is accepted for publication.</p> <p>Review the instructions link below and PLOS NTDs' competing interests policy to determine what information must be disclosed at submission.</p>	<p>The authors have declared that no competing interests exist.</p>
<p>Data Availability</p>	<p>All relevant data will be made available upon publication through the Arca Dados platform, the official data repository of Fiocruz, at https://arcadados.fiocruz.br/</p>

Anexo B - Outros artigos publicados durante o doutorado

Article

Lipidomic Profile of Individuals Infected by *Schistosoma mansoni*

Thainá Rodrigues de Souza Fialho ¹, Ronald Alves dos Santos ¹, Yuri Tabajara ¹, Ane Caroline Casaes ¹, Michael Nascimento Macedo ¹, Bruna Oliveira Lopes Souza ¹, Kelvin Edson Marques de Jesus ¹, Leonardo Paiva Farias ¹, Camilla Almeida Menezes ¹, Isadora Cristina de Siqueira ¹, Carlos Arterio Sorgi ², Adriano Queiroz ¹ and Ricardo Riccio Oliveira ^{1,*}

- ¹ Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz Bahia, Salvador 40296-710, Brazil; thaina.fialho@outlook.com (T.R.d.S.F.); ronald.santos@fiocruz.br (R.A.d.S.); yuritabajara@gmail.com (Y.T.); ane.casaes@fiocruz.br (A.C.C.); macedo.m@outlook.com (M.N.M.); bruna.souza@fiocruz.br (B.O.L.S.); kelvinedson2@gmail.com (K.E.M.d.J.); leonardo.farias@fiocruz.br (L.P.F.); camilla.almeida@fiocruz.br (C.A.M.); isadora.siqueira@fiocruz.br (I.C.d.S.); adrianoqs@gmail.com (A.Q.)
- ² Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo—USP, São Paulo 01246-904, Brazil; carlos.sorgi@usp.br
- * Correspondence: ricardo.riccio@fiocruz.br

Abstract

Schistosoma mansoni infection is associated with hepatic inflammation and fibrosis, but its systemic metabolic effects remain poorly understood. This study aimed to investigate changes in the serum lipidomic profile associated with *S. mansoni* infection and parasite load in individuals from an endemic area. This cross-sectional analysis was nested within a longitudinal cohort study conducted in northeastern Brazil. Parasitological diagnosis and quantification were performed using the Kato–Katz technique. A total of 45 individuals were selected and divided into three groups: high parasite load (HL), low parasite load (LL), and uninfected controls (NegE). Serum samples were analyzed using mass-spectrometry-based lipidomics. The most abundant lipid subclasses across all groups were phosphatidylcholines (PC), triacylglycerols (TAG), and phosphatidylethanolamines (PE). However, individuals in the HL group exhibited distinct lipidomic profiles, with increased levels of specific phosphatidylinositols (PI) and reduced levels of certain TAG species compared to the NegE group. These changes may reflect host–parasite interactions and immune–metabolic alterations driven by intense infection. Our findings suggest that *S. mansoni* infection, particularly at higher parasite burdens, can influence the host’s serum lipid profile and may contribute to metabolic disturbances in endemic populations.

Keywords: *Schistosoma mansoni*; lipidomics; schistosomiasis; lipid profile



Academic Editors: Michael Stear and Elisa De Paolis

Received: 30 May 2025

Revised: 17 July 2025

Accepted: 29 July 2025

Published: 2 August 2025

Citation: Fialho, T.R.d.S.; dos Santos, R.A.; Tabajara, Y.; Casaes, A.C.; Macedo, M.N.; Souza, B.O.L.; de Jesus, K.E.M.; Farias, L.P.; Menezes, C.A.; de Siqueira, I.C.; et al. Lipidomic Profile of Individuals Infected by *Schistosoma mansoni*. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 7491. <https://doi.org/10.3390/ijms26157491>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Human schistosomiasis affects approximately 240 million people, with almost 700 million living in areas at risk. This is a tropical infection that has undergone epidemiological changes in recent decades. The disease is no longer present only in rural regions but has begun to show a prevalence of cases in urban areas, mainly those with deficiencies in basic sanitation [1–3]. Some regions remain affected by the presence of transmitting mollusks; it is estimated that about 1.5 million people still live in at-risk areas in Brazil [4]. *Schistosoma mansoni* is the etiological agent of the disease, with humans as its main host and freshwater



Article

Nutritional Status and Quality of Life: Urban–Rural Disparities and the Impact of Obesity

Ane Caroline Casaes ¹, Camilla Almeida Menezes ¹, Ronald Alves dos Santos ¹, Bruna Oliveira Lopes Souza ¹, Brenda Rodrigues Brito Cunha Silva ¹, Yuri Tabajara ¹, Michael Nascimento Macedo ¹, Kelvin Edson Marques de Jesus ¹, Thainá Rodrigues de Souza Fialho ¹, Robson da Paixão de Souza ¹, Isadora Cristina de Siqueira ¹, Monica Leila Portela de Santana ² and Ricardo Riccio Oliveira ^{1,*}

¹ Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz Bahia, Salvador 40296-710, Brazil; ane.casaes@fiocruz.br (A.C.C.); camilla.almeida@fiocruz.br (C.A.M.); ronald.santos@fiocruz.br (R.A.d.S.); bruna.souza@fiocruz.br (B.O.L.S.); brenda.csilva@fiocruz.br (B.R.B.C.S.); yuritabajara@gmail.com (Y.T.); macedo.m@outlook.com (M.N.M.); kelvinedson2@gmail.com (K.E.M.d.J.); thaina.fialho@outlook.com (T.R.d.S.F.); robson.imuno@gmail.com (R.d.P.d.S.); isadora.siqueira@fiocruz.br (I.C.d.S.)

² Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador 40110-040, Brazil; monicalportela@gmail.com

* Correspondence: ricardo.riccio@fiocruz.br

Abstract: The shift in dietary habits has reshaped the population's health profile, leading to a rise in overweight individuals and a subsequent decline in health-related quality of life (HRQoL). This study evaluated the correlations between demographic, social, and health-related factors and HRQoL in rural and urban areas of Bahia, Brazil. The cross-sectional study included 124 participants aged 18–60 who underwent interviews, anthropometric measurements, and laboratory tests. The WHOQoL-BREF instrument assessed the HRQoL. The results showed that rural participants had lower educational levels, income, and access to sanitation. Despite these challenges, rural residents reported better HRQoL in psychological, social relations, and health satisfaction domains, although differences diminished after age adjustment. Urban participants, who had higher rates of obesity and related metabolic risks experienced a negative correlation between BMI and HRQoL, especially in the social relationships domain. The study highlights that environmental and social factors, such as weight-related stigma and social connections, significantly influence HRQoL in urban areas, emphasizing the need for public health interventions that address both nutritional status and urban-specific challenges.

Keywords: quality of life (HRQoL); nutritional status; obesity; urban–rural disparities



Citation: Casaes, A.C.; Menezes, C.A.; dos Santos, R.A.; Souza, B.O.L.; Cunha Silva, B.R.B.; Tabajara, Y.; Macedo, M.N.; de Jesus, K.E.M.; Fialho, T.R.d.S.; de Souza, R.d.P.; et al. Nutritional Status and Quality of Life: Urban–Rural Disparities and the Impact of Obesity. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2024**, *21*, 1455. <https://doi.org/10.3390/ijerph21111455>

Academic Editor: Katarzyna Lomper

Received: 23 September 2024

Revised: 17 October 2024

Accepted: 20 October 2024

Published: 31 October 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

In recent generations, life in Brazil has changed significantly. Families have become smaller due to decreased fertility rates, infant mortality, and increased life expectancy. Brazil has also experienced rapid urbanization, leading to changes in traditional diets, known as the nutrition transition. There is a noticeable trend of replacing essential foods like beans, fruits, and vegetables with ultra-processed foods [1].

The shift in dietary habits has changed the health profile of the population, resulting in a rise in the number of overweight individuals and non-communicable diseases (NCDs). NCDs are responsible for 74% of premature deaths in Brazil. The increased prevalence of obesity is a contributing factor to the onset of NCDs and is linked to a decline in health-related quality of life (HRQoL) as well as higher healthcare costs [2].

In the 1990s, the World Health Organization (WHO) broadly defined HRQoL to include various aspects of an individual's life, such as health. HRQoL was described as an individual's perception of their position in life within the context of the culture and value system in which they live, as well as their goals, expectations, standards, and concerns [3,4].



Contents lists available at ScienceDirect

IJID Regions

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijregi



Case Report

Anaphylactic reaction to praziquantel following schistosomiasis treatment



Géssica Almeida Vasconcelos, Bernardo Gratival Gouvea Costa, Ronald Alves dos Santos, Carolina Dourado de Faria, Fernando Antônio Ramos Schramm Neto, Yuri de Jesus Machado, Ane Caroline Casaes, Marcos Vinicius Lima de Oliveira, Thainá Rodrigues de Souza Fialho, Keila Ramos dos Santos, Bruna Souza S. Oliveira, Ricardo Riccio Oliveira, Isadora Cristina de Siqueira*

Instituto Gonçalo Moniz, FIOCRUZ, Salvador, Bahia, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Schistosomiasis
Praziquantel
Anaphylaxis

ABSTRACT

Praziquantel (PZQ) is a medication used to treat several parasitic infections, including human schistosomiasis. Although this drug commonly causes transient adverse effects, severe hypersensitivity is rare, and only eight cases have been reported worldwide. Herein we report a case of a 13-year-old Brazilian female who developed anaphylaxis, a severe hypersensitive reaction, after taking praziquantel to treat *Schistosoma mansoni* infection. During a mass drug administration event in a socially vulnerable endemic area of Bahia (Brazil), after taking 60 mg/kg of praziquantel the patient developed rash and generalized edema an hour later, evolving to somnolence and hypotension. Following the anaphylactic episode, she received adequate treatment and recovered approximately 1 day later. Although praziquantel is considered safe, health professionals should be aware of potential life-threatening adverse events.

Introduction

Schistosomiasis, an infectious disease caused by parasites of the genus *Schistosoma*, is a persistent public health problem worldwide, resulting in up to 200 000 deaths annually [1]. Approximately 779 million people live in areas where they are at risk of acquiring infection [2].

Of the six species of *Schistosoma* that parasitize humans, only *Schistosoma mansoni* has been reported in Brazil [3]. Higher prevalence has been reported in the northeast and southeast regions, with 54 026 and 2 480 cases notified, respectively, between 2018 and 2021 [4]. Inadequate hygiene, poor sanitation, and a lack of awareness about the danger of schistosomiasis contribute to the persistent transmission of this parasitic infection [3].

The World Health Organization (WHO) recommends prophylactic administration of praziquantel (PZQ) as a method of controlling schistosomiasis. This drug commonly causes transient adverse effects, such as nausea and abdominal pain [2]. Hypersensitive reactions appear to be rare, with a search of the literature revealing just eight reported cases worldwide [5–12]. Herein, we describe a case of anaphylaxis following PZQ intake in the context of *Schistosomiasis mansoni* treatment in Brazil.

Case

The subject was a 13-year-old-female, weighing 67 kg, who resided in an area endemic for schistosomiasis in the state of Bahia, Brazil. In the rural village where she lived, local surveillance revealed that 56.6% of the population tested positive for schistosomiasis. In accordance with the recommendations outlined by the Brazilian Ministry of Health, mass drug administration (MDA) was indicated for this region [3].

On December 2, 2021, the patient attended an MDA event hosted by the local municipal government. She denied any comorbidities, while drug contraindications, such as gestation, lactation, renal or hepatic insufficiency, or hypersensitivity to the medication, were not evidenced. In accordance with a recommended dosage of 60 mg/kg for PZQ, she took six tablets (600 mg each) of praziquantel (Farmanguinhos, Fiocruz) under direct observation.

About an hour later, the patient experienced rash, pruritus, and generalized edema, evolving into dizziness and somnolence. Fexofenadine hydrochloride (120 mg) was administered, and she was taken to the local municipal health clinic.

* Corresponding author: Isadora Cristina de Siqueira, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, R. Waldemar Alco, 121, Candeal, Salvador-BA, CEP 40296-710, Brazil

E-mail address: isadora.siqueira@fiocruz.br (I.C. de Siqueira).

<https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2023.04.007>

Received 7 March 2023; Received in revised form 10 April 2023; Accepted 11 April 2023

2772-7076/© 2023 The Author(s). Published by Elsevier Ltd on behalf of International Society for Infectious Diseases. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Short Communication

Accuracy of the urine point-of-care circulating cathodic antigen assay for diagnosing *Schistosomiasis mansoni* infection in Brazil: A multicenter study

Otávio Sarmiento Pieri^[1], Fernando Schemelzer Moraes Bezerra^[2], Paulo Marcos Zech Coelho^[3], Martin Johannes Enk^[4], Tereza Cristina Favre^[1], Carlos Graeff-Teixeira^{[5],[6]}, Ricardo Riccio Oliveira^[7], Mitermayer Galvão dos Reis^{[7],[8],[9]}, Lee Senhorinha de Almeida Andrade^[7], Lillian Christina Nóbrega Holsbach Beck^[1], Vivian Favero^[6], Thainá Rodrigues de Souza Fialho^[7], Ricardo José de Paula Souza e Guimarães^[4], Bruna Souza Santos Oliveira^[7], Vanessa Fey Pascoal^[6], Marta Cristhiany Cunha Pinheiro^[2], Ronald Alves dos Santos^[7], Luciano Kalabric Silva^[7], Isadora Cristina de Siqueira^[7], Renata Perotto de Souza^[6] and Naftale Katz^[3]

[1]. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Educação em Ambiente e Saúde, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

[2]. Universidade Federal do Ceará, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Fortaleza, CE, Brasil.

[3]. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto René Rachou, Belo Horizonte, MG, Brasil.

[4]. Instituto Evandro Chagas, Laboratório de Parasitoses Intestinais, Esquistossomose e Malacologia, Seção de Parasitologia, Ananindeua, PA, Brasil.

[5]. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde, Unidade de Doenças Infecciosas, Vitória, ES, Brasil.

[6]. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Laboratório de Parasitologia Biomédica, Porto Alegre, RS, Brasil.

[7]. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, BA, Brasil.

[8]. Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina, Salvador, BA, Brasil.

[9]. Yale University, School of Public Health, Department of Epidemiology of Microbial Diseases, New Haven, CT, United States of America.

ABSTRACT

Background: The World Health Organization recommends a market-ready, urine-based point-of-care diagnostic test for circulating cathodic antigens (CCA) to determine the prevalence of *S. mansoni*. This study evaluated the performance of the URINE CCA (SCHISTO) ECO TESTE® (POC-ECO), which is currently available in Brazil.

Methods: Residents from eight sites with different prevalence estimates provided one urine sample for POC-ECO and one stool sample for Kato-Katz (KK) and Helminx® (HTX) testing as an egg-detecting reference for infection status.

Results: None of the study sites had significantly higher POC-ECO accuracy than KK.

Conclusions: POC-ECO is not currently recommended in Brazilian schistosomiasis elimination programs.

Keywords: *Schistosoma mansoni*. Point-of-care (POC). Circulating cathodic antigen (CCA). Kato-Katz. Helminx. Brazil.

Corresponding author: Otávio Sarmiento Pieri. e-mail: otavio.pieri@gmail.com

Authors' contribution: OSP: Conceptualization, Validation, Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Formal analysis, Visualization, Supervision. FSMB: Conceptualization, Validation, Methodology, Supervision, Investigation, Data curation. PMZC: Conceptualization, Validation, Methodology, Supervision, Investigation, Data curation. MJE: Conceptualization, Validation, Methodology, Supervision, Investigation, Data curation. TCF: Conceptualization, Validation, Methodology, Supervision, Investigation, Data curation, Writing – review & editing. CG-T: Conceptualization, Validation, Methodology, Supervision, Investigation, Data curation, Writing – review & editing. RRO: Conceptualization, Validation, Methodology, Supervision, Investigation, Data curation. MGR: Conceptualization, Validation, Methodology, Supervision, Investigation, Data curation. LSAA: Investigation, Data curation. LCNHB: Investigation, Data curation. VF: Investigation, Data curation. TRSF: Investigation, Data curation. RJPSG: Investigation, Data curation. BSSO: Investigation, Data curation. VFP: Investigation, Data curation. MCCP: Investigation, Data curation. RAS: Investigation, Data curation. LKS: Supervision, Investigation, Data curation. ICS: Supervision, Investigation, Data curation. RPS: Investigation, Data curation. NK: Conceptualization, Validation, Methodology, Supervision, Investigation, Data curation.

Conflict of Interest: The authors declare that they have no competing interests.

Data availability: Supplementary materials 1 and 2.

Financial Support: This work was funded by the Secretaria de Vigilância em Saúde / Fundo Nacional de Saúde / Ministério da Saúde - [TED/FNS: 118/2017; SIAFI: 691919 / 25000.479741/2017-05].

Received 26 April 2022 | **Accepted** 13 October 2022

