

RESUMO

A esquistossomose é uma doença parasitária tropical causada por helmintos do gênero *Schistosoma*. Durante a infecção por *S. mansoni*, os ovos depositados pela fêmea são levados pelo fluxo sanguíneo e se prendem principalmente aos capilares sinusóides do fígado. Neste ambiente, secretam proteínas que induzem a formação do granuloma. IPSE/alpha-1 é uma das proteínas secretadas em maior abundância pelos ovos do *S. mansoni*. O objetivo do presente estudo é a caracterização da resposta imunológica e patológica induzida por IPSE/alpha-1 recombinante em camundongos C57BL/6.

IPSE/alpha-1 recombinante foi expressa em *Escherichia coli* acrescida de uma cauda de 6 histidinas. Para caracterização da resposta imunológica, camundongos C57BL/6 foram imunizados com a proteína recombinante ou receberam PBS como controle. A produção de anticorpos específicos foi avaliada no soro dos animais por ELISA. A imunização com IPSE/alpha-1r induziu uma produção expressiva de IgG total, IgG1 e IgG2a, sendo que, a produção de IgG1 foi a mais relevante. Esplenócitos extraídos de animais imunizados foram cultivados e incubados com a proteína recombinante. Por ELISA, foi detectada a produção de níveis significativos de IFN- γ , TNF- α , IL-5 e IL-13 nos sobrenadantes da cultura.

Para caracterização da resposta patológica induzida por IPSE/alpha-1r, camundongos imunizados foram infectados com *S. mansoni* e, sete semanas após a infecção, fragmentos do tecido hepático foram coletados. O número de ovos e de granulomas e a área total e de fibrose do granuloma foram analisados por morfometria. Os granulomas também foram classificados em três estágios de maturação baseado na intensidade da fibrose e da celularidade e avaliados quanto à prevalência destes estágios. Exceto pela área total do granuloma, não houve alterações nos demais parâmetros. Animais imunizados com IPSE/alpha-1r desenvolveram granulomas 25% maiores em comparação ao grupo controle. Além disso, foi verificado que este aumento estava restrito ao terceiro estágio de maturação. A infiltração de macrófagos e eosinófilos no tecido hepático foi avaliada pelos ensaios da peroxidase eosinofílica (EPO) e da n-acetyl- β -glucosaminidase (NAG),

respectivamente. Nenhuma alteração na atividade de EPO foi detectada. Entretanto, a atividade de NAG foi maior nos animais imunizados e infectados. Os níveis de CCL2, CCL3, CCL5 e CCL11 foram dosados nos sobrenadantes de macerados do tecido hepático por ELISA. Porém não foram detectadas alterações significativas na produção dessas quimiocinas.

Estes resultados demonstram que a imunização com IPSE/alpha-1r induz uma resposta imunológica do tipo Th1/Th2 em camundongos C57BL/6 e um aumento do granuloma hepático no terceiro estágio de maturação. Este aumento resulta em parte de um maior infiltrado de macrófagos.

ABSTRACT

Schistosomiasis is a tropical parasitic disease caused by helminths of the genus *Schistosoma*. During *S. mansoni* infection, eggs deposited by female worm in mesenteric veins can be pushed by blood flow and get trapped mainly in liver's sinusoid capillaries. In this environment, egg secretes antigens that induce granuloma development. IPSE/alpha-1 is one of the most abundant proteins in *S. mansoni* egg secretions. The aim of this work is the evaluation of the immunological and pathological response induced by recombinant IPSE/alpha-1 in C57BL/6 mice.

Recombinant IPSE/alpha-1 was expressed in *Escherichia coli* as a His tag fusion protein. C57BL/6 mice were immunized with IPSE/alpha-1r or PBS as control. Production of specific antibodies were analysed in mice sera by ELISA. Immunization with IPSE/alpha-1r induced the production of high levels of total IgG, IgG1 and IgG2a. The production of IgG1 was the most relevant. Splenocytes from immunized were incubated with the recombinant protein. The production of high levels of IFN- γ , TNF- α , IL-5 and IL-13 was detected by ELISA.

Immunized mice were infected with *S. mansoni* and seven weeks post-infection liver fragments were collected. The number of eggs and granulomas, granuloma's total area and fibrosis area were analysed by morphometry. Additionally granulomas were categorized into three stages of maturation based on cellularity and fibrosis level and the prevalence of the stages were analyzed. Except for granuloma's total area, no alteration in the other parameters was detected. IPSE/alpha-1 immunized mice developed 25% larger granulomas compared to control group. In addition the increase in the granuloma area was limited to the third stage of maturation. The eosinophil and macrophage infiltration into the hepatic tissue was determined by eosinophil peroxidase (EPO) and n-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) assays, respectively. No alteration of EPO activity was detected. Conversely, NAG activity was higher in IPSE/alpha-1r immunized and infected mice. Levels of CCL2, CCL3, CCL5 and CCL11 were measured in supernatants of macerated tissue by ELISA. However no significant alterations in the production of these chemokines were detected.

These results shows that immunization with IPSE/alpha-1r induces a Th1/Th2 type of immune response in C57BL/6 mice and an increase in hepatic

granuloma in the third stage of maturation. This enlargement is partially due to a higher macrophage infiltration.