

Silvio Roberto de Sousa Pereira

**CONTRIBUIÇÃO DAS QUIMIOCINAS NO DIAGNÓSTICO DA
MIELORRADICULOPATIA ESQUISTOSSOMÓTICA**

Belo Horizonte

2006

Silvio Roberto de Sousa Pereira

**CONTRIBUIÇÃO DAS QUIMIOCINAS NO DIAGNÓSTICO DA
MIELORRADICULOPATIA ESQUISTOSSOMÓTICA**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Área de concentração: Ciências da Saúde:
Infectologia e Medicina Tropical

Orientador: Prof. José Roberto Lambertucci
Co-orientador: Prof. Antônio Lúcio Teixeira Júnior
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina da UFMG
2006

Universidade Federal de Minas Gerais

Reitor: Prof. Ronaldo Tadêu Pena

Vice-Reitora: Profª. Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-reitor da Pós-graduação: Prof. Jaime Arturo Ramirez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

Sub-Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. João Lúcio dos Santos Jr.

Chefe do Departamento de Clínica Médica: Prof. Dirceu Bartolomeu Greco

Coordenador do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e

Medicina Tropical: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Sub-Coordenador do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e

Medicina Tropical: Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina

Tropical:

Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Prof. Carlos Maurício Figueiredo Antunes

Prof. Dirceu Bartolomeu Greco

Prof. José Roberto Lambertucci

Sílvio Roberto de Sousa Pereira (representante discente)

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. José Roberto Lambertucci, meu ilustre orientador e mestre, que me acolheu e me incentivou com entusiasmo.
- Ao Prof. Antônio Lúcio Teixeira Júnior, meu co-orientador, pela proximidade e auxílio na execução deste projeto.
- À doutoranda Luciana Cristina dos Santos Silva, pela construção do alicerce, sem o qual não seria possível a realização deste estudo e pela amizade.
- Ao Prof. Carlos Maurício Antunes, pelas importantes sugestões estatísticas.
- Aos membros do grupo de pesquisas coordenado pelo Prof. José Roberto Lambertucci, pelas discussões e sugestões.
- Aos acadêmicos da Iniciação Científica Leandro Liberino e Renata Lana pelo precioso estímulo.
- Ao grande amigo Murilo Moreira pela amizade e apoio.
- À minha mãe (*in memoriam*) que sempre está comigo.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

LISTAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE GRÁFICOS.....	xiv
LISTA DE TABELAS.....	xv
RESUMO.....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1. Mielorradiculopatia esquistossomótica.....	6
2.1.1. Introdução.....	6
2.1.2. Manifestações clínicas.....	7
2.1.3. Diagnóstico.....	8
2.1.4. Tratamento.....	17
2.1.5. Aspectos histopatológicos.....	12
2.2. Quimiocinas na neuroinflamação.....	13
2.3. Citocinas na esquistossomose.....	16
2.4. Quimiocinas na esquistossomose.....	20

3. OBJETIVOS.....	23
3.1. Objetivo Geral.....	23
3.2. Objetivos Específicos.....	23
4. PACIENTES E MÉTODOS.....	25
4.1. Pacientes.....	26
4.1.1. Pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica.....	26
4.1.1.1. Pesquisa de infecção pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	26
4.1.1.2. Exclusão de outras causas de mielorradiculopatia.....	27
4.1.1.3. Avaliação de envolvimento hepatoesplênico associado à mielorradiculopatia....	28
4.1.2. Grupo controle.....	29
4.1.2.1. Estudo sérico.....	29
4.1.2.2. Estudo líquórico.....	29
4.2. Métodos.....	30
4.2.1. Processamento do material biológico.....	30
4.2.2. Dosagem de citocinas e quimiocinas.....	31
4.3. Análise estatística.....	32
4.4. Considerações éticas.....	32
5. RESULTADOS.....	33
5.1. Características gerais dos pacientes.....	34
5.2. Concentração de citocinas Th2 no soro e no líquor.....	39
5.3. Concentração de quimiocinas no soro e no líquor.....	40

6. DISCUSSÃO.....	43
7. CONCLUSÃO.....	49
8. SUMMARY.....	52
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
10. ANEXOS.....	71
10.1.ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA DA UFMG.....	72
10.2.ANEXO B – EXAME HISTOLÓGICO DA MEDULA ESPINHAL.....	73
10.3.ANEXO C – IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DA MEDULA ESPINHAL.....	74
10.4.ANEXO D - ARTIGO ORIGINAL: SERUM AND CEREBRAL SPINAL FLUID LEVELS OF CHEMOKINES AND Th2 CYTOKINES IN <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i> MYELORADICULOPATHY.....	75
10.5.ANEXO E - RELATO DE CASO: MYELORADICULOPATHY IN ACUTE SCHISTOSOMIASIS MANSONI.....	81
10.6.ANEXO F – CASO CLÍNICO DE MIELORRADICULOPATIA ESQUISTOSSOMÓTICA.....	83

LISTAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anti-HBc	Anticorpo para o antígeno do “core” do vírus da hepatite B
Anti-HBs	Anticorpo para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
BAAR	Bacilo álcool-ácido resistente
CCL2/MCP-1	“Monocyte chemoattractant protein 2”
CCL3/MIP-1 α	“Macrophage inflammatory protein 1 α ”
CCL4/MIP-1 β	“Macrophage inflammatory protein 1 β ”
CCL5/RANTES	“Regulated on activation normal T cell-expressed and secreted”
CCL7/MCP-3	“Monocyte chemoattractant protein 3”
CCL8/MCP-2	“Monocyte chemoattractant protein 2”
CCL11/Eotaxin	“Eotaxin”
CCL24/Eotaxin-2	“Eotaxin-2”
CXCL8/IL-8	“Interleukin-8”
CXCL9/MIG	“Monokine induced by γ -interferon”
CXCL10/IP10	“ γ -Interferon-inducible-protein 10”
CX3CL1/Fractalkine	“Fractalkine”
CDC	“Centers for Diseases Control”
CMV	Citomegalovírus
ELISA	“Enzyme-linked immunosorbent assay”
EPF	Exame parasitológico de fezes
FAN	Fator antinuclear
HAM/TSP	Mielopatia associada ao HTLV-1/Paraparesia espástica tropical

HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HS	Hepatoesplênica
HTLV	Vírus linfotrópico humano de células T
IFI	Imunofluorescência indireta
IFN γ	Interferon γ
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IHA	Inibição da hemaglutinação
IL	Interleucina
INT	Intestinal
MMII	Membros inferiores
MRE	Mielorradiculopatia esquistossomótica
NK	“Natural killers” - células matadoras naturais
RM	Ressonância magnética
RNI	Razão normatizada internacional
SEA	“Soluble egg antigen” – antígeno solúvel do ovo
SNC	Sistema nervoso central
TE	Tempo de eco
Th1	Linfócito T “helper” tipo 1
Th2	Linfócito T “helper” tipo 2
TR	Tempo de repetição

TGF β 1	“transforming growth factor”: fator de crescimento transformador β 1
TNF α	Fator de necrose tumoral α
VDRL	“Venereal Disease Research Laboratories” – Laboratórios de pesquisa em doenças venéreas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

LISTA DE FIGURAS

- 1- Níveis de quimiocinas no soro de pacientes com diferentes formas de esquistossomose..... 41
- 2- Níveis de quimiocinas no líquido de pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica, pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) e controle sadio 42

LISTA DE GRÁFICOS

1- Caracterização quanto ao sexo dos pacientes portadores de MRE.....	34
2- Positividade do exame parasitológico de fezes para <i>S. mansoni</i>	35
3- Resultados da biópsia retal para pesquisa de <i>S. mansoni</i>	35
4- Resultado da sorologia anti-SEA.....	36

LISTA DE TABELAS

1- Critérios diagnósticos para mielorradiculopatia esquistossomótica e exames complementares.....	8
2- Quimiocinas e seus receptores relacionados a doenças do sistema nervoso central.....	17
3- Participação das quimiocinas na esquistossomose experimental.....	21
4- Perfil epidemiológico dos pacientes submetidos à análise do soro: controle sadio, esquistossomose forma intestinal e hepatoesplênica e esquistossomose mielorradicular.....	29
5- Perfil epidemiológico dos pacientes submetidos à análise do líquido: controle sadio, portador de HAM/TSP e esquistossomose mielorradicular.....	30
6- Características clínicas, neuroimagem e alterações laboratoriais dos pacientes com MRE.....	38
7- Níveis de citocinas (pg/ml) no soro e líquido de pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica e controle sadio.....	56

RESUMO

RESUMO

A mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE) é a forma ectópica mais comum da infecção pelo *Schistosoma mansoni* e a sua manifestação neurológica mais freqüente. Este estudo avaliou a contribuição da dosagem sérica e líquórica de quimiocinas no diagnóstico da MRE. Selecionaram-se 15 pacientes com diagnóstico de MRE, atendidos no complexo do Hospital das Clínicas da UFMG, de março de 2000 a agosto de 2001. Para as dosagens séricas participaram 10 voluntários sadios pareados por idade e 20 pacientes com esquistossomose sem envolvimento neurológico. Coletou-se também líquido de cinco pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) e de 10 controles sadios. Dosaram-se IL-4, IL-13, CCL2, CCL3, CCL11, CCL24 e CXCL10 no soro e no líquido dos pacientes, utilizando-se a técnica de ELISA. Os pacientes com MRE apresentaram níveis líquidos de IL-13 mais elevados do que os portadores de HAM/TSP e controles sadios. Nos portadores de esquistossomose nas formas intestinal, hepatoesplênica e mielorradicular detectaram-se níveis séricos elevados de CCL11 e CCL24, quando comparados a controles sadios. As concentrações líquóricas de CCL2 e CXCL10 foram semelhantes entre os controles sadios e portadores de MRE, mas CXCL10 mostrou-se aumentada nos pacientes com HAM/TSP. Níveis séricos elevados de CCL11 e CCL24 associados a níveis líquidos elevados de IL-13 e baixos de CCL2 e CXCL10 contribuem para o diagnóstico de neuroesquistossomose.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose mansoni é endêmica em cerca de 75 países, nas regiões da África, Caribe e América do Sul com cerca de 200 a 300 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo (WHO, 1996). No Brasil estima-se que aproximadamente 4 milhões de pessoas estejam parasitadas pelo verme (AMARAL & PORTO, 1994; LAMBERTUCCI & BARRAVIERA, 1994; LAMBERTUCCI et al., 1987). Os Estados da Bahia e Minas Gerais concentram 70% dos casos (LAMBERTUCCI et al., 2000; PELLON & TEIXEIRA, 1950). O parasita habita primariamente o sistema porta-mesentérico do homem, onde pode permanecer por cerca de 20 a 30 anos. O verme inicia a sua ovoposição no leito do sistema porta-hepático após quatro a oito semanas da infecção. A partir daí os ovos atingem a parede intestinal de onde são eliminados nas fezes, ou se alojam preferencialmente no fígado. As manifestações clínicas decorrentes da infecção irão ocorrer no sistema digestivo, com predomínio de lesões intestinais e hepáticas, mas o sistema nervoso é o segundo sítio de lesão mais freqüente (ANDRADE & BASTOS, 1989). A deposição assintomática de ovos no SNC se revela mais freqüente que a forma sintomática da doença (MARCIAL-ROSAS & FIOL, 1963). Encontraram-se ovos de *S. mansoni* em vários locais do sistema nervoso como cérebro, cerebelo e meninges, sendo a medula espinhal o sítio mais acometido. Encontraram-se ovos em 26% dos cérebros de 46 necrópsias de portadores da forma hepatoesplênica da esquistossomose (PITTELLA & LANA-PEIXOTO, 1981). A mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE) é a forma neurológica mais comum da infecção pelo *S. mansoni*. Estudo realizado na Tanzânia observou que 1% das paraplegias não-traumáticas em área endêmica eram atribuídas à infecção esquistossomótica

(SCRIMGEOUR, 1981). CAROD-ARTAL et al. (2004) diagnosticaram MRE em 5,6% dos casos de mielopatia inflamatória atendidos em um hospital terciário no Brasil.

Existem dois mecanismos propostos para explicar o deslocamento dos ovos até o sistema nervoso: através do plexo venoso paravertebral avalvular de Batson, que se comunica com o sistema porta por via retrógrada; ou pela deposição *in situ* dos ovos após migração anômala do verme adulto no plexo venoso espinhal (PITTELLA & LANA-PEIXOTO, 1981; SAXE & GORDON, 1975; BATSON, 1940). O aumento da pressão abdominal durante a defecação ou tosse parece favorecer o deslocamento de ovos através do plexo venoso de Batson. A MRE raramente se associa à forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni, sendo mais comum nas formas aguda e crônica intestinal (LAMBERTUCCI et al., 2005a; FERRARI et al., 2001; SANTOS et al., 2001; PITTELLA, 1997; PITTELLA et al., 1996; PEREGRINO et al., 1988; NEVES et al., 1973).

A MRE geralmente manifesta-se precocemente após a infecção e apresenta quadro neurológico com lesão mielorradicular, mielítica ou radicular pura, decorrentes principalmente do acometimento da medula espinhal torácica baixa, lombar, cone ou cauda eqüina (SILVA et al, 2004a; NOBRE et al, 2001). Outros sítios do sistema nervoso central também são afetados, entretanto menos freqüentemente (BRAGA et al., 2003; SILVA et al., 2002). Dor lombar ou de membros inferiores (MMII), disfunção vesical, fraqueza de MMII, parestesia de MMII e impotência sexual mostram-se como manifestações mais freqüentes (SILVA et al., 2004a; SANTOS et al., 2001).

A patogênese da MRE permanece desconhecida, mas a resposta inflamatória exacerbada ao ovo do *Schistosoma* pode ser a responsável pela lesão do tecido nervoso, tal como no fígado (PITTELLA, 1997). Na medula espinhal ocorre a formação do granuloma em torno dos ovos, dependente dos linfócitos T helper tipo 2 (Th2), que são particularmente importantes no processo imunológico contra o parasita, modulando a resposta inflamatória e o conseqüente dano mielorradicular (ROSS et al., 2002).

As quimiocinas representam uma grande família de citocinas de baixo peso molecular com propriedade quimiotática seletiva. Elas participam do recrutamento de leucócitos para o sítio inflamatório ao se ligarem em seus receptores presentes nestas células. Recentemente, algumas quimiocinas têm sido associadas à esquistossomose humana (SOUZA et al, 2005; FALCÃO et al, 2002;), assim como a outras infecções parasitárias, e a afecções do SNC (CHENSUE, 2001; RANSOHOFF, 2002).

Até o presente, nada se sabe sobre o papel das quimiocinas na MRE. A identificação do perfil das quimiocinas nesta forma ectópica da esquistossomose mansoni visa compreender os mecanismos imunopatogênicos responsáveis pela lesão mielorradicular e auxiliar no diagnóstico desta forma clínica, que ainda não possui marcadores biológicos definidos. Além disso, há perspectivas de se estabelecer estratégias terapêuticas imunomoduladoras ao utilizar antagonistas ou agonistas de receptores de quimiocinas presentes nos leucócitos.

O objetivo do presente estudo consiste em descrever o perfil das quimiocinas no soro e no líquido de portadores de MRE e avaliar sua contribuição ao diagnóstico da doença.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Mielorradiculopatia esquistossomótica

2.1.1. Introdução

A MRE é considerada uma lesão ectópica na esquistossomose, pois consiste numa reação local específica ao ovo, ocorrendo fora da circulação venosa porto-cava (FAUST, 1948). Sua prevalência permanece desconhecida, mas cada vez mais casos têm sido relatados. A esquistossomose foi responsável por 1% dos casos de paraplegia não traumática em estudo realizado no norte da Tanzânia (SCRIMGEOUR, 1981); e por 5,6% dos casos de mielopatia inflamatória atendidos em um hospital terciário no Brasil (CAROD-ARTAL et al., 2004). SPINA-FRANÇA et al. (1980) também encontraram 5,6% de casos de MRE entre 353 pacientes com mielopatias não-traumáticas e não-tumorais internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. CAMARGOS et al. (2005) alertam para a necessidade de investigação da MRE nos pacientes com mielopatia residentes ou provenientes de área endêmica para esquistossomose.

Os homens adultos jovens, com idade média de 26 a 29 anos, são mais frequentemente acometidos (SILVA et al., 2004a; PEREGRINO et al., 2002; NOBRE et al., 2001; ANDRADE FILHO et al., 1996). Atribui-se este predomínio à elevada exposição ao verme no local de trabalho, associado a atividades que aumentam a pressão intra-abdominal (MORENO-CARVALHO et al., 2003; PEREGRINO et al., 2002). O aumento da pressão

intra-abdominal e intra-espinhal contribui para a manutenção da pressão negativa no espaço epidural, predispondo à migração de ovos e vermes para a medula espinhal através do plexo venoso de Batson.

2.1.2. Manifestações clínicas

As manifestações decorrem do envolvimento medular e/ou radicular freqüentemente nas regiões torácica baixa, cone medular e cauda eqüina (PEREGRINO, et al., 1988). SILVA e colaboradores (2002) descreveram acometimento também da medula cervical. Na forma medular observa-se quadro semelhante à mielite transversa, na mielorradicular existe a associação de manifestações medulares e radiculares e na localização baixa ocorre a síndrome do cone e cauda eqüina, com envolvimento das raízes nervosas (SILVA et al., 2004a). Segundo este mesmo autor e outros (SANTOS et al., 2001; PEREGRINO et al., 1988), a forma mielorradicular mostra-se responsável por 55,3 a 66,7% dos casos.

A história de exposição ao verme ou de infecção prévia auxilia o diagnóstico. Entretanto a MRE pode ocorrer na ausência deste relato, e ainda muitos anos após o desaparecimento das manifestações intestinais. Inicialmente o paciente apresenta dor lombar ou de MMII, seguido de disfunção vesical, paresia e parestesia de MMII, e impotência sexual (SILVA et al., 2004a; SANTOS et al., 2001; FERRARI, 1999). A evolução é aguda ou subaguda com duração de 15 dias em média, até a instalação completa de mielorradiculopatia. Descreve-se melhora clínica espontânea, contudo a recorrência é freqüente (MARRA, 1993); LECHTENBERG & VAIDA, 1977). Na ausência de tratamento, 95% dos pacientes evoluem para a morte ou seqüelas neurológicas com disfunção motora dos MMII,

esfincteriana e erétil, além de dor parestésica de MMII (SILVA et al., 2004a; FERRARI, 1999; HARIBHAI et al., 1991; PEREGRINO et al., 1988).

2.1.3. Diagnóstico

O padrão-ouro para o diagnóstico é a demonstração histopatológica do ovo na medula espinhal através da biópsia. Entretanto, tal procedimento é considerado invasivo e pode comprometer o tecido neural, devendo ser reservado para os casos duvidosos ou que não respondem ao tratamento (PEREGRINO, et al., 1988; 2002). O diagnóstico da MRE se baseia nos critérios clínicos e laboratoriais mostrados na TABELA 1.

TABELA 1. Critérios diagnósticos para mielorradulopatia esquistossomótica e exames complementares.

Critérios diagnósticos*	Manifestações clínicas e exames complementares
<i>Evidência clínica de lesão neurológica torácica baixa/lombar</i>	Dor lombar e/ou em MMII, paraparesia ou paraplegia, anestesia, hipoestesia ou parestesia de MMII, disfunção esfincteriana (vesical ou anal), disfunção erétil
<i>Evidência de infecção pelo S. mansoni</i>	EPF, biópsia retal, pesquisa de anticorpos IgG anti-SEA, biópsia medular
<i>Exclusão de outras causas de mielite transversa</i>	RM de medula espinhal, dosagem de vitamina B12 e ácido fólico, sorologia viral (CMV, HIV, HTLV, HSV e HBV), VDRL, anticorpos anticardiolipina e antifosfolípide, fator anti-nuclear, pesquisa de BAAR, análise líquórica.

*segundo HOUPIIS, et al. 1984. MMII= membros inferiores, EPF=exame parasitológico de fezes, IgG anti-SEA= imunoglobulina G anti-antígeno solúvel do ovo, RM= ressonância magnética, CMV= citomegalovírus, HIV= vírus da imunodeficiência humana, HTLV= vírus linfotrófico humano, HSV= vírus herpes simples, HBV= vírus da hepatite B.

Diante disso, alguns exames são fundamentais para o diagnóstico:

- exame parasitológico de fezes (EPF): a técnica de sedimentação espontânea de Hoffman, Pons e Janer (HPJ) indica a viabilidade dos ovos e a atividade parasitária. Nos casos de baixa carga parasitária torna-se necessária a repetição deste exame por no mínimo três vezes, o que permite o diagnóstico em cerca de 75% a 85% dos pacientes com esquistossomose ativa (LAMBERTUCCI et al., 2005a);

- biópsia retal: utilizada quando o EPF for negativo em até seis exames. Realiza-se a biópsia nas válvulas de Houston, com a retirada de vários fragmentos e análise microscópica. Sua positividade pode chegar a 80% dos casos (LAMBERTUCCI et al., 2005a);

- biópsia medular ou de outros sítios (hepática, pulmonar, cerebral, cutânea, testicular, ovariana, ou de pólipos intestinais): consiste em técnica invasiva, sendo reservada para os casos com forte evidência epidemiológica e clínica da doença e com demais exames negativos ou duvidosos. Geralmente se realiza sob orientação de algum método de imagem (ultra-som, tomografia computadorizada ou laparoscopia) em lesão sugestiva da infecção esquistossomótica;

- testes sorológicos para *S. mansoni*: SILVA et al. (2004b) encontraram positividade sérica do teste ELISA anti-SEA IgG em 93,8% dos casos de MRE.

- análise do líquor: as alterações líquóricas revelam-se úteis no diagnóstico de processo inflamatório mielorradicular com aumento de proteínas e da celularidade, com predomínio de linfócitos, podendo-se encontrar eosinófilos (ANDRADE FILHO, et al., 1996; ANDRADE FILHO & QUEIROZ, 1991; PAMMENTER et al., 1992; LIVRAMENTO et al., 1985; CORREA et al., 1983). Em estudo realizado por MORENO-

CARVALHO et al. (2003) com 377 pacientes com diagnóstico de neuroesquistossomose, observou-se aumento da celularidade (acima de 4 células/mm³) em 66%, com eosinofilia em 46.9% e hiperproteínoorraquia (acima de 40mg/dl) em 85%. Embora estas alterações sejam inespecíficas, quando associadas à epidemiologia para o *S. mansoni*, IFI ou IHA positiva e quadro clínico mielorradicular, indicam alta probabilidade para o diagnóstico de MRE (MORENO-CARVALHO et al., 2003). Pelas técnicas de ELISA, imunofluorescência indireta (IFI) ou inibição da hemaglutinação (IHA) identificam-se no líquido anticorpos anti-*Schistosoma*. Ainda segundo MORENO-CARVALHO et al. (2003), os testes sorológicos através de IFI e IHA foram positivos em 75,3% dos pacientes com neuroesquistossomose. Em alguns casos, utilizou-se a análise do líquido para acompanhamento da resposta terapêutica, descrevendo-se redução da celularidade e persistência de hiperproteínoorraquia (ANDRADE FILHO et al., 1996).

- ressonância magnética de medula espinhal: tem sido o método de escolha para o estudo de imagem da medula espinhal, mostrando-se útil na diferenciação das mielopatias compressivas (PEREGRINO et al., 2002; NOBRE et al., 2001; GOFFETTE et al., 1998; DUPUIS et al., 1990; MASSON et al., 1990), e na avaliação da resposta ao tratamento (SILVA et al., 2004b). As alterações comumente encontradas consistem em alargamento da medula espinhal, aumento da intensidade do sinal nas seqüências ponderadas em T2, e captação nodular difusa após contraste (LAMBERTUCCI et al., 2005; SILVA et al., 2004b; NOBRE et al., 2001; SHARIF et al., 1992; GERO et al., 1991).

- exames para exclusão de outras causas de mielite transversa: VDRL, anticoagulante lúpico, anti-cardiolipina, anticorpo antinuclear, sorologia para hepatite B e

C, anti-HIV, anticorpo IgM para citomegalovírus e herpes vírus simples, anticorpo para HTLV 1 e 2, dosagem de vitamina B12 e ácido fólico.

2.1.4. Tratamento

Diagnóstico e tratamento precoces permitem um melhor prognóstico com a preservação ou recuperação completa da função neurológica (SILVA et al., 2004b; PEREGRINO et al., 2002; NOBRE et al., 2001; PEREGRINO et al., 1988; ANDRADE et al., 1996).

O tratamento consiste na associação do esquistossomicida ao corticosteróide. O esquistossomicida visa a destruição do verme adulto, e conseqüentemente, da ovoposição, ao passo que o corticosteróide promove a redução da resposta inflamatória medular. Entre os esquistossomicidas utilizam-se a oxaminiquina na dose de 15mg/kg de peso corporal, via oral, em dose única para adultos e 20mg/kg de peso para crianças, com índice de cura de aproximadamente 80% e 70%, respectivamente; ou o praziquantel na dose de 50mg/kg de peso corporal no adulto e 60mg/kg na criança, via oral, em dose única ou em duas tomadas com intervalo de 4 horas, com índice de cura semelhante a oxaminiquina (LAMBERTUCCI, et al., 2005a). SILVA et al. (2004b) preconizam o uso de metilprednisolona 15mg/kg/dia (dose máxima de 1g/dia) por 5 dias, seguido de prednisona 1mg/kg/dia por seis meses, verificando-se melhora clínica e da imagem por ressonância magnética após tratamento.

Embora o tempo de uso do corticosteróide ainda não esteja bem estabelecido, há relatos de recidiva da mielorradiculopatia após sua retirada precoce (SILVA et al., 2004b; NOBRE et

al., 2001; ANDRADE FILHO et al., 1996; PEREGRINO et al., 1988). Descreveu-se melhora da função neurológica em um paciente em quem a corticoterapia foi iniciada após um ano de evolução da MRE (SILVA et al., 2004b).

2.1.5. Aspectos histopatológicos

As lesões no SNC, usualmente granulomatosas, são secundárias à reação tecidual aos ovos depositados, podendo se associar à infiltração leucocitária perivascular (PITTELLA & LANA-PEIXOTO, 1981). Em torno do local de deposição do ovo há uma área de células do tecido nervoso em processo de necrose lítica e de coagulação. Externamente a esta zona há um envelope de macrófagos, células epitelióides e células gigantes, circundados periféricamente por um infiltrado inflamatório rico em eosinófilos e linfócitos. À medida que a lesão progride, a infiltração por fibroblastos pode resultar em encapsulamento do ovo por fibrose (BUDZILOVICH et al., 1964; FAUST, 1948). Em alguns casos de necrópsia os ovos podem ser encontrados no tecido medular sem produzir qualquer reação inflamatória (BUDZILOVICH et al., 1964). As manifestações clínicas estarão relacionadas aos efeitos compressivos do granuloma, à infiltração perivascular, e à inflamação com destruição tecidual.

Acredita-se que a formação do granuloma consista em uma reação imunológica ao ovo do tipo hipersensibilidade tardia, o que resulta na rapidez do déficit neurológico, com destruição tecidual ou efeito de massa (WARREN, 1973). Também se descreveram casos com progressão lenta do déficit por meses associada a aracnoidite (LECHTENBERG & VAIDA, 1977). Por outro lado, um quadro súbito de paraplegia aguda pode resultar da

oclusão da artéria espinal anterior por ovos embolizados, sem representar lesão inflamatória de evolução rápida (SIDDORN, 1978; LEVY, 1970).

2.2. Quimiocinas na neuroinflamação

As quimiocinas constituem uma grande família de citocinas responsáveis pela movimentação dos leucócitos, incluindo sua migração para locais de inflamação tecidual a partir do sangue. As quimiocinas são polipeptídios de 8 a 12 kD, sendo classificadas em subfamílias divididas de acordo com o número e a localização dos resíduos de cisteína N-terminais em XC, CC, CXC e CX3C, sendo o X um outro aminoácido. As duas principais subfamílias constituem as quimiocinas CC, que possuem dois resíduos de cisteína adjacentes, e as CXC, em que os resíduos de cisteína são separados por um aminoácido (X). A família CC atua em vários tipos celulares incluindo monócitos, linfócitos T, basófilos, eosinófilos e células dendríticas. As quimiocinas CXC agem principalmente sobre os neutrófilos. A XC é quimiotática para linfócitos T e matadoras naturais (NK), e por fim a CX3C atrai linfócitos T, NK e neutrófilos (KARPUS, 2001). Em adição à ação quimiotática, observa-se outras funções biológicas das quimiocinas, como a indução da adesão celular, fagocitose, diferenciação e ativação de célula T, apoptose, angiogênese, proliferação e secreção de citocinas. Já foram descritas aproximadamente 50 diferentes quimiocinas humanas que interagem com 19 diferentes receptores de quimiocinas, ainda (PROUDFOOT et al., 2003; MURPHY et al., 2000; ZLOTNIK & YOSHIE, 2000). Os receptores de quimiocinas expressam-se predominantemente em leucócitos e classificam-se em XCR, CCR, CXCR e CX3CR, conforme a natureza do ligante. Ressalta-se que a

maioria dos receptores reconhece mais de uma quimiocina, conferindo considerável redundância a esse sistema.

O recrutamento ou a atração química seletiva de leucócitos ocorre pela complexa combinação entre as quimiocinas e seus receptores, expressos diferentemente conforme o tipo celular, bem como por mediadores lipídicos e componentes do sistema de complemento. Por exemplo, no caso das quimiocinas, os neutrófilos apresentam receptores CXCR2 que são alvo de ligação da quimiocina CXCL8, que predomina na fase aguda da inflamação. Já em processos inflamatórios crônicos, há liberação da quimiocina CXCL10 que atua sobre os receptores CXCR3 presentes em células mononucleares, determinando infiltrado mononuclear e ativação das células Th1 (CHENSUE, 2001).

A inflamação é uma resposta complexa do organismo que envolve várias células, componentes plasmáticos e produtos celulares, e tem a função de reparar o dano produzido por um agente infeccioso, trauma, isquemia, necrose ou hemorragia (CHAVARRIA & ALCOCER-VARELA, 2004). A resposta inflamatória local desencadeia inicialmente aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade capilar. No SNC, a migração leucocitária possui características únicas decorrentes da presença da barreira hemato-encefálica (BHE). Utilizando-se o modelo experimental da encefalomielite aguda, acredita-se que o linfócito migra para o SNC em duas fases: no início somente linfócitos participam, eles são ativados independentemente de sua especificidade, sendo capazes de atravessar a BHE intacta. Numa segunda fase, que é acompanhada pela ruptura da BHE, há uma intensa infiltração de outros tipos celulares. É possível que após a primeira entrada específica de linfócitos T ativados, estas reconheçam seu antígeno e isto origine um processo inflamatório com a

subseqüente produção de citocinas que ativam o endotélio da BHE, permitindo a passagem de outras células inflamatórias (CHAVARRIA & ALCOCER-VARELA, 2004). Os leucócitos circulantes atravessam o endotélio em etapas, com a interação de selectinas, integrinas, moléculas de adesão celular e componentes da matriz extracelular. Primeiro os leucócitos rolam, depois aderem fortemente à superfície endotelial até que atravessam o endotélio vascular em direção ao local da inflamação. Este direcionamento da migração celular decorre da reorganização do citoesqueleto induzida pela ligação da quimiocina a receptores 7-transmembrana (7TM) acoplados à proteína G, que inibem o AMPc (monofosfato de adenosina cíclico) e aumentam o cálcio intracelular transitoriamente (THELEM, 2001). As células endoteliais e gliais, uma vez ativadas por citocinas pró-inflamatórias produzidas pelos linfócitos T, liberam quimiocinas. O fator de necrose tumoral- α (TNF- α) induz a presença de leucócitos no espaço perivascular e no líquido cefalorraquidiano e, junto com o interferon- γ (IFN- γ), possuem propriedades citotóxicas no endotélio vascular mediadas pelo óxido nítrico. De nota, as células endoteliais, além de liberar citocinas e quimiocinas, expressam os receptores de quimiocinas CCR5 e CXCR4. Os astrócitos também produzem várias quimiocinas, como CCL2, CCL5, CXCL8 e CXCL10, em resposta a citocinas pró-inflamatórias, e expressam receptores como CCR1, CCR5 e CXCR4 (HESSELGESSER & HORUK, 1999). As quimiocinas liberadas favorecem a migração de células como neutrófilos, linfócitos T e monócitos (HUANG et al., 2000; WEKERLE et al., 1987). Assim que essas células atingem o parênquima cerebral, secretam mais citocinas e quimiocinas, amplificando o processo inflamatório (HICKEY, 1999; KARPU & RANSOHOFF, 1998).

Outras células endógenas do SNC também podem expressar receptores de quimiocinas, como os oligodendrócitos, micróglia e até neurônios. A expressão desses receptores no SNC parece ser regulada pelo TGF β 1 (fator de crescimento transformador β 1) e pelo IFN- γ . A liberação de quimiocinas no SNC é geralmente determinada por estímulo inflamatório através de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-1, exceto no caso da CX3CL1 e CXCL12, que são expressas de forma constitutiva, respectivamente, em neurônios e astrócitos (BAJETO et al., 1999; MANTOVANI, 1999; HARRISON et al., 1998). As quimiocinas mais comumente relacionadas às lesões do SNC, incluindo pesquisas em modelo experimental, são CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL8, CXCL8 e CXCL10 (BIBER et al., 2002; HUANG et al., 2001; BACON & HARRISON, 2000; FIFE et al., 2000; IZIKSON et al., 2000; SIEBERT et al., 2000; ASENSIO & CAMPBELL, 1999; HESSELGESSER & HORUK, 1999; MENNICKEN et al., 1999; RANSOHOFF & TANI, 1998) (TABELA 2).

2.3. Citocinas na esquistossomose

O modelo Th1/Th2 de diferenciação de linfócitos T *helper* CD4⁺ é importante para o conhecimento da resposta imune na patogênese ou proteção do hospedeiro diante de um parasita. As linfócitos Th1 secretam IFN- γ , TNF- α , e IL-2 e promovem a imunidade contra infecções mediada por fagócitos, especialmente microrganismos intracelulares, enquanto as linfócitos Th2 produzem IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, e são responsáveis pelas reações imunes mediadas por IgE e eosinófilos/mastócitos em resposta a infecções por helmintos (ABBAS et al., 1996). Ademais, ambos padrões produzem respostas cruzadas entre si, onde o IFN- γ

TABELA 2. Quimiocinas e seus receptores relacionados a doenças do sistema nervoso central.

Doença do SNC	Quimiocinas	Receptores de quimiocinas
Doença de Alzheimer	CCL2 CXCL10 CCL4	CCR3 CCR5 CXCR2 CXCR3
Esclerose Múltipla	CCL2 CCL8 CCL7 CCL5 CCL3 CCL4 CXCL10 CXCL9	CCR2 CCR3 CCR5 CXCR3
Demência pelo HIV	CCL2	CCR5 CXCR4
Encefalite pelo HIV	CCL2 CCL3 CCL4	CCR2 CCR5 CXCR4
Meningite infecciosa	CCL2 CCL3 CXCL1 CXCL8 CXCL10	
Doença de Behçet	CCL3	
Trauma crânio-encefálico	CCL2 CXCL8	
Trauma medular	CCL2 CCL3 CXCL1	
Mielopatia pelo HTLV	CXCL10	
Coréia de Sydenham	CXCL9 CXCL10	

Adaptado de SOUSA-PEREIRA et al., 2005.

inibe o desenvolvimento de linfócitos Th2, enquanto IL-4 e IL-10 antagonizam a diferenciação Th1. Muitos estudos utilizam modelos experimentais com camundongos para avaliar a resposta Th1/Th2 na esquistossomose, observando-se a predominância de um padrão Th2 nesta infecção. Na esquistossomose humana ainda é pouco esclarecido o papel

da resposta Th1/Th2 nas diferentes formas clínicas da doença (CHEEVER et al., 2000; FALLON, 2000; MONTENEGRO et al., 1999).

O verme adulto do *Schistosoma mansoni* aloja-se nas veias mesentéricas e no sistema porta do homem, e inicia sua ovoposição quatro a oito semanas após a infecção. Os ovos que atingem o fígado induzem uma inflamação granulomatosa que limita a difusão de substâncias tóxicas para o tecido hepático. Os produtos da inflamação, incluindo moléculas liberadas pela lesão celular, estimulam a diferenciação de células estreladas em miofibroblastos que secretam proteínas da matriz extracelular no espaço de Disse. A doença hepática é uma consequência do acúmulo excessivo destes componentes da matriz no espaço periportal. A maioria dos pacientes infectados que moram em áreas de alta endemicidade controla a infecção com manifestações patológicas mínimas. Entretanto uma pequena porcentagem dos pacientes infectados irá desenvolver intensa fibrose hepática periportal que leva à hipertensão portal, varizes esofágicas e hematemese (HENRI, et al., 2002). A produção de proteínas da matriz extracelular no local da inflamação é parte do processo normal de reparação e serve para conter os ovos. Este processo se inicia através de moléculas liberadas no tecido lesado, com a regulação mediada por citocinas.

Em modelos experimentais, o IFN- γ reduz a fibrose, enquanto a IL-4 tem ação pró-inflamatória e a IL-13 é fibrinogênica. A IL-4 e IL-13 são produzidas pelas células Th2 e desempenham papel fundamental no desenvolvimento da resposta inflamatória esquistossomótica granulomatosa e na fibrose periportal. A IL-10, produzida por vários tipos celulares, atua como regulador no controle da polarização Th1 e Th2 na resposta granulomatosa e contribui para a progressão da fibrose periportal ao inibir a resposta Th1

(MONTENEGRO et al., 1999). A IL-12, quando administrada com antígenos do ovo, estimula a proteção contra a fibrose ao aumentar o IFN- γ e o TNF- α (WYNN et al., 1995). O TNF- α pode ter ação protetora, bem como efeitos pró-inflamatórios e pró-fibróticos (HENRI et al., 2002).

No homem, a infecção esquistossomótica e por outros helmintos está associada à elevação de IgE e eosinófilos, que são marcadores da resposta imune do tipo Th2 (ABBAS et al., 1996). De forma semelhante às observações verificadas nos modelos experimentais, a esquistossomose humana também apresenta evidências no sentido da resposta Th2 com baixos níveis de IFN- γ e elevados níveis de IL-4 (SABIN et al., 1996). O IFN- γ é uma potente citocina anti-fibrinogênica. Nos pacientes com fibrose de Symmers houve produção de IFN- γ somente quanto a IL-10 era neutralizada por anticorpo *in vitro*, utilizando células mononucleares do sangue periférico e esplenócitos (MONTENEGRO, et al., 1999). Indivíduos não infectados vivendo em área endêmica para esquistossomose têm níveis de IFN- γ mais elevados se comparados aos infectados, enquanto níveis baixos de IFN- γ estão associados com fibrose periportal. Além disso, o TNF- α pode agravar a fibrose nos pacientes cronicamente infectados (HENRY et al., 2002). FALLON (2000) propõe a possibilidade da resposta do tipo Th1 estar relacionada com a forma hepatoesplênica da esquistossomose, uma vez que o TNF- α circulante encontrou-se aumentado nestes pacientes. Além disso, nos estudos *in vitro* o IFN- γ e o TNF- α (resposta Th1) também estavam elevados, enquanto a IL-5 (resposta Th2), achava-se reduzida (MWATHA et al., 1998; ZWINGERBERGER et al., 1990). A modulação da resposta Th1/Th2 pelas citocinas

parece ser indispensável para a formação do granuloma e para a fibrose hepática, participando da patogênese da esquistossomose mansoni.

2.4. Quimiocinas na esquistossomose

O papel das quimiocinas na formação do granuloma na esquistossomose mansoni ainda é pouco conhecido e a maioria dos estudos utiliza camundongos. As estratégias mais freqüentemente utilizadas consistem no uso de anticorpos neutralizantes, camundongos “knockout” para receptores específicos de quimiocinas ou antagonistas peptídicos e não peptídicos destes receptores. Nestes modelos experimentais, evidencia-se intensa resposta imunológica do tipo Th2 contra o ovo e ao mesmo tempo, inibição do componente Th1 após cerca de cinco a seis semanas do início da ovoposição do verme (CHEEVER et al., 2000; HOFFMANN et al., 2000). Os linfócitos e eosinófilos são células importantes na formação do granuloma Th2. Seu recrutamento para os sítios de infecção pelo antígeno do ovo é mediado por uma combinação de interações entre moléculas de adesão e quimiocinas.

LUKACS et al. (1994), utilizando anticorpos para bloquear os receptores de CCL3, observaram redução no tamanho do granuloma em modelos experimentais. Além disso, camundongos deficientes de CCR1 (um dos receptores de CCL3) apresentavam redução de 40% no tamanho do granuloma após embolização pulmonar por ovos de *Schistosoma mansoni* (GAO et al., 1997). As quimiocinas que se ligam aos receptores CCR2 e CCR3 como CCL2, CCL7 e CCL12 são importantes na regulação de interleucinas padrão Th2 (IL-4 ou IL-13). Análise de camundongos deficientes para CCR2 revela que seus ligantes

CCL2 e CCL12 atraem os macrófagos para a fase inicial da formação do granuloma, enquanto que CCL7 recruta eosinófilos (CHIU & CHENSUE, 2002). Camundongos deficientes de CCR8 também têm o infiltrado de eosinófilos diminuído para o granuloma, mas nesse caso parece que esse déficit é secundário à disfunção da resposta Th2 também existente nessa condição (CHIU & CHENSUE, 2002). PARK et al. (2001) avaliaram a expressão do mRNA de 17 quimiocinas em camundongos infectados por *S. mansoni*, e verificaram que CCL1, CCL3 e CCL11 estão envolvidas no padrão de resposta Th2 (TABELA 3).

TABELA 3. Participação das quimiocinas na esquistossomose experimental

Quimiocinas	Ação	Referência
<i>CCL1</i>	Resposta Th2	PARK et al., 2001
<i>CCL2</i>	Regula padrão Th2	CHIU & CHENSUE, 2002
<i>CCL3</i>	Resposta granulomatosa; padrão Th2; atrai monócitos, linfócitos e eosinófilos; forma crônica da esquistossomose; se liga a receptores CCR1 e CCR5	SOUZA et al, 2005
<i>CCL5</i>	Resposta granulomatosa	
<i>CCL7</i>	Regula padrão Th2	CHIU & CHENSUE, 2002
<i>CCL11</i>	Resposta Th2	PARK et al., 2001
<i>CCL12</i>	Regula padrão Th2	CHIU & CHENSUE, 2002

Em estudo realizado por FALCÃO et al., (2002) em humanos infectados pelo *S. mansoni*, verificaram-se concentrações elevadas de CCL3, CCL5 e CCL11 no plasma de pacientes com esquistossomose crônica. Os autores observaram também correlação entre a concentração de CCL3 e a forma clínica hepatoesplênica. Em outro estudo, os pacientes infectados pelo *Schistosoma mansoni*, com concentração sérica elevada de CCL3 (acima de 400 pg/ml), tiveram 14 vezes mais chance de apresentar hepatoesplenomegalia ao exame

ultra-sonográfico do abdome do que aqueles com baixa concentração (SOUZA et al., 2005). A CCL3 se liga a receptores CCR1 e CCR5, atraindo para o local da inflamação monócitos, linfócitos e eosinófilos, entre outros tipos celulares, que são importantes para a inflamação induzida pelo ovo (SOUZA et al., 2005).

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Avaliar a contribuição das quimiocinas no diagnóstico da mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE).

3.2. Objetivos Específicos

- Definir o perfil de quimiocinas na MRE;
- Quantificar as citocinas IL-4 e IL-13, de perfil Th2, no soro e no líquido de pacientes com MRE;
- Quantificar quimiocinas CCL2, CCL3, CCL11, CCL24 e CXCL10 no soro e no líquido de pacientes com MRE;
- Comparar os níveis de citocinas e quimiocinas no soro entre os portadores de MRE, pacientes com esquistossomose intestinal e hepatoesplênica e controles saudáveis;
- Comparar os níveis de citocinas e quimiocinas no líquido de portadores de MRE. portadores de mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical e controles saudáveis.

PACIENTES E MÉTODOS

4. PACIENTES E MÉTODOS

4.1. Pacientes

4.1.1. Pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica

Durante o período de março de 2000 a agosto de 2001, selecionaram-se 15 pacientes adultos com média de idade de $27,0 \pm 10,0$ anos e sexo M/F: 10/5, com diagnóstico de MRE. Todos os pacientes participantes deste estudo são provenientes do Estado de Minas Gerais (Brasil) onde a esquistossomose mansoni é endêmica, e foram atendidos no complexo do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Armazenou-se o material biológico destes pacientes, soro e líquido, até o presente estudo, para a dosagem de citocinas e quimiocinas. Para o diagnóstico da MRE, utilizaram-se os critérios propostos pelo CDC (HOUPIS et al, 1984).

4.1.1.1. Pesquisa de infecção pelo *S. mansoni*

Para a demonstração de infecção pelo *S. mansoni* foram realizados os seguintes exames:

- Exame parasitológico de fezes: realizado em três amostras colhidas em dias diferentes, processadas pela técnica de sedimentação espontânea de Hoffman, Pons e Janer (HPJ), cuja sensibilidade é de 75 a 85%. Naqueles pacientes em que estes exames foram negativos, realizou-se a biópsia retal.

- Biópsia retal: coleta de fragmentos da parede intestinal na ampola retal, com análise microscópica para a presença de ovos ou granulomas esquistossomóticos.
- Pesquisa de anticorpos IgG anti-SEA no soro: realizada utilizando-se o método de ELISA, com pesquisa de anticorpos IgG e IgA contra o antígeno solúvel do ovo do *Schistosoma*, segundo CARTER & COLLEY (1978) e HARN e colaboradores (1984). Valores de absorvância acima de 0,170 para IgG e acima de 0,062 para IgA foram considerados positivos. A sensibilidade e especificidade do teste de ELISA para pesquisa de anticorpos anti-SEA no soro são de 98,8% e 67,8%, respectivamente (SANTOS et al, 2000).

4.1.1.2. Exclusão de outras causas de mielorradiculopatia

No diagnóstico diferencial das mielorradiculopatias revela-se indispensável à realização de exames para exclusão de doenças desmielinizantes do SNC, doenças inflamatórias (colagenoses), infecções (*Treponema pallidum*, HTLV-1, HIV, vírus da hepatite B, *Mycobacterium tuberculosis*), deficiência de vitamina B12 ou de folato, tumores medulares, deformidades ósseas e lesões ligamentosas. Portanto, foram realizados os seguintes exames:

- Hemograma completo, tempo e atividade de protrombina, RNI, glicemia de jejum dosagem sérica de uréia, creatinina, sódio, potássio, vitamina B12, folato, pesquisa de anticoagulante lúpico e FAN, teste de VDRL, pesquisa de HBsAg, anti-HBs, anti-CMV, ELISA anti-HTLV-1/2 e ELISA anti-HIV.*

- Análise de rotina do líquido (dosagem de glicose e proteínas, citologia, citometria, pesquisa de fungos e BAAR, GRAM e cultura para bactérias) e teste de VDRL.*
- Radiografia de tórax.*
- Ressonância magnética da medula espinhal: feita utilizando-se o sistema magnético supercondutor Magnetom Impact Expert de 1,0 Tesla da Siemens (Erlangen, Alemanha). Obtiveram-se imagens nas projeções sagital e coronal em cortes de 2 a 5 mm de espessura. Utilizaram-se seqüências curtas de eco de spin com tempo de repetição (TR) de 500 a 700ms e tempo de eco (TE) de 12 a 15 ms para as imagens ponderadas em T1. As imagens de seqüência longa (ponderadas em T2) foram obtidas com TR de 2.000 a 5.000 ms e TE de 60 a 112 ms. As imagens em T1 foram obtidas também imediatamente após injeção endovenosa de gadolínio na dose de 0,1mmol/kg.

4.1.1.3. Avaliação de envolvimento hepatoesplênico associado a mielorradiculopatia

- Exame ultra-sonográfico do abdome*, para identificação de formas clínicas com envolvimento hepático e/ou esplênico da esquistossomose, segundo critérios de PINTO-SILVA et al (1994).

* Todos os exames hematológicos, bioquímicos, sorológicos, parasitológicos, microbiológicos, radiológicos e de análise líquórica foram realizados utilizando técnicas laboratoriais convencionais que são adotadas pelo Laboratório Central e Setor de Radiologia do Hospital das Clínicas da UFMG.

4.1.2. Grupo controle

4.1.2.1. Estudo sérico

Para os estudos séricos, recrutaram-se 10 indivíduos voluntários sadios, que se apresentavam assintomáticos e exame parasitológico de fezes negativo, com média de idade de $29,0 \pm 5,0$ anos e sexo M/F: 7/3. Avaliaram-se ainda outros 20 pacientes com esquistossomose, sem envolvimento neurológico, com média de idade de $30,5 \pm 7,0$ anos e sexo M/F: 14/6. A infecção por *S. mansoni* foi confirmada por identificação dos ovos do parasita em no mínimo uma amostra de fezes pelo método de Kato-Katz (KATZ et al, 1972). Os indivíduos foram classificados de acordo com exame físico e ultra-sonográfico do abdome em forma intestinal ou hepatoesplênica esquistossomótica (TABELA 4).

TABELA 4. Perfil epidemiológico dos pacientes submetidos à análise do soro: controle sadio, esquistossomose forma intestinal e hepatoesplênica e esquistossomose mielorradicular.

	Controle sadio	Esquistossomose INT/HE	Esquistossomose MRE
N ^o de pacientes	10	20	15
Idade (anos)	$29,0 \pm 5,0$	$30,5 \pm 7,0$	$27,3 \pm 10,0$
Sexo (M/F)	7/3	14/6	10/5

INT=intestinal; HE=hepatoesplênica; MRE=mielorradiculopatia esquistossomótica; M=masculino; F=feminino.

4.1.2.2. Estudo líquórico

Para os estudos no líquido, recrutaram-se 10 indivíduos, com média de idade de $8,8 \pm 7,0$ anos; e sexo M/F: 6/4, sem doença neurológica, mas foram submetidos à punção lombar como parte de procedimento anestésico para intervenção cirúrgica. O líquido também foi obtido de 5 outros pacientes com média de idade de $32,2 \pm 6,0$ anos; e sexo M/F: 3/2, com infecção pelo mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP), como parte de investigação neurológica de rotina para mielopatia (TABELA 5).

TABELA 5. Perfil epidemiológico dos pacientes submetidos à análise do líquido: controle sadio, portador de HAM/TSP e esquistossomose mielorradicular.

	Controle sadio	HAM/TSP	Esquistossomose MRE
N ^o de pacientes	10	5	15
Idade (anos)	28,8 ±7,0	32,2±6,0	27,3±10,0
Sexo (M/F)	6/4	3/2	10/5

MRE=mielorradiculopatia esquistossomótica; HAM/TSP=mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical; M=masculino; F=feminino.

4.2. Métodos

4.2.1. Processamento do material biológico

Coletaram-se o sangue e o líquido assepticamente, separando-se o soro do sangue por centrifugação. Armazenou-se o material biológico a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das dosagens. Para a dosagem de citocinas e quimiocinas no soro, as amostras foram descongeladas, e o excesso de proteínas removido por precipitação ácido/sal como rotineiramente realizado no laboratório de imunofarmacologia (SOUZA et al., 2005; TEIXEIRA-JR et al., 2004; FALCÃO et al., 2002). Rapidamente, igual volume de soro e ácido trifluoroacético 1,2%/NaCl 1,35M foram misturados e mantidos em temperatura ambiente por 10 minutos.

Depois as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 10.000 rpm. Ajustou-se o sobrenadante para o conteúdo de sal (cloreto de sódio 0,14M e fosfato de sódio 0,01) e pH (7,4) para a determinação das concentrações de citocinas e quimiocinas.

4.2.2. Dosagem de citocinas e quimiocinas

Mediu-se a concentração de citocinas e quimiocinas no soro e líquido usando kits ELISAs para IL-4 e IL-13 (BD Opteia, San Diego, CA, USA), CCL2, CCL3, CCL11, CCL24 e CXCL10 (DuoSet R&D Systems, Minneapolis MN, USA). Testaram-se todas as amostras em duplicata e na mesma placa. Para as análises do líquido, as amostras não foram diluídas. Os limites de detecção para o material analisado foi de 5 pg/ml.

Primeiramente adicionou-se na placa o anticorpo de captura (concentração fornecida pelo fabricante) diluído em tampão de fosfato (PBS), armazenando-a a 4°C durante uma noite. No dia seguinte, após lavagem com Tween 20 (Sigma) a 0,05% em PBS, a placa foi bloqueada com solução de albumina sérica bovina a 1% em PBS por uma hora a temperatura ambiente. Após lavagem, adicionaram-se as amostras e os padrões, sendo a placa novamente incubada por uma noite a 4°C. No terceiro dia, após lavagem, a placa foi incubada com anticorpo de detecção biotilado (concentração fornecida pelo fabricante) por duas horas em temperatura ambiente. Após lavagem, adicionou-se estreptavidina conjugada com peroxidase, com incubação por 30 minutos. Posteriormente, adicionou-se o reagente *o*-fenilenediamina, permitindo que a reação se desenvolvesse no escuro por 15 minutos. Interrompeu-se a reação com 1 M H₂SO₄. A absorbância foi lida no comprimento de onda de 492 nm no espectrofotômetro (Emax, Molecular Devices, MN, USA).

4.3. Análise estatística

As variáveis categóricas (sexo e proporção entre os pacientes com níveis de citocinas detectáveis) foram analisadas pelo teste exato de Fischer ou qui-quadrado para amostras independentes comparando dois ou mais grupos, respectivamente. Os dados contínuos (níveis de citocinas/quimiocinas) tinham distribuição não-normal e, portanto, analisaram-se as diferenças entre os dois grupos usando o teste de Mann-Whitney U. As diferenças entre três ou mais grupos foram analisadas utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis. Posteriormente, a análise de significância entre os grupos se deu pelo teste de Comparação Múltipla de Dunn. Considerou-se significância estatística $p < 0,05$. Utilizou-se o “software” InStat (GraphPad, San Diego, CA, USA) para os cálculos.

4.4. Considerações éticas

Este estudo foi submetido à apreciação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa – COEP, Universidade Federal de Minas Gerais, processo no. 0308.0.203.000-05 (ANEXO A) de acordo com as resoluções n^{os} 196/96 e 347/05 do Conselho Nacional de Saúde.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Características gerais dos pacientes

Participaram deste estudo 15 pacientes (10 homens e 5 mulheres) com diagnóstico de MRE, sendo 66,7% do sexo masculino e 33,3% do sexo feminino (GRÁFICO 1).

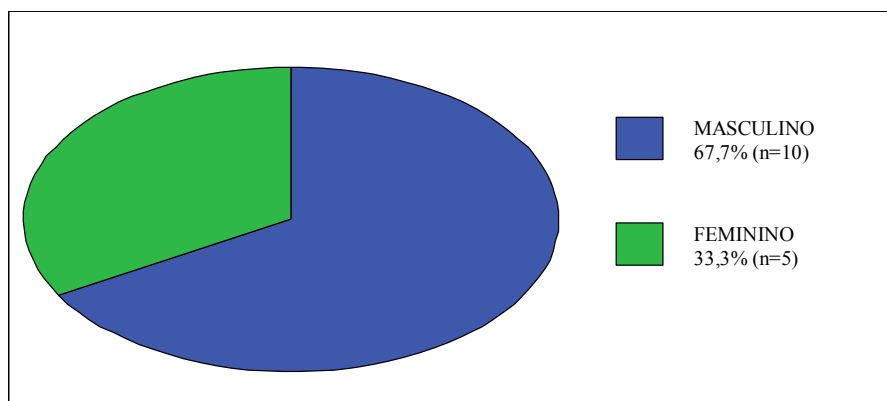


GRÁFICO 1. Caracterização quanto ao sexo dos pacientes portadores de MRE.

A idade variou de 16 a 55 anos (média de $27,0 \pm 10,0$ anos). O tempo entre a primeira manifestação da doença e a coleta do material biológico variou entre 3 a 365 dias (média $53,8 \pm 94,3$ dias e mediana 14 dias). Um dos pacientes chegou até o atendimento no complexo do Hospital das Clínicas após 365 dias de instalação do quadro neurológico completo. As manifestações iniciais mais comuns eram de dor lombar e em MMII, parestesias e paraparesia de MMII e disfunção urinária (TABELA 6).

O EPF mostrou-se positivo em 26,7% dos casos (GRÁFICO 2). A biópsia retal foi realizada em 12 casos, resultando positiva em 58,3% dos pacientes (GRÁFICO 3). A

sorologia anti-SEA mostrou-se positiva em 91,7% dos 12 pacientes que se submeteram ao exame (GRÁFICO 4).

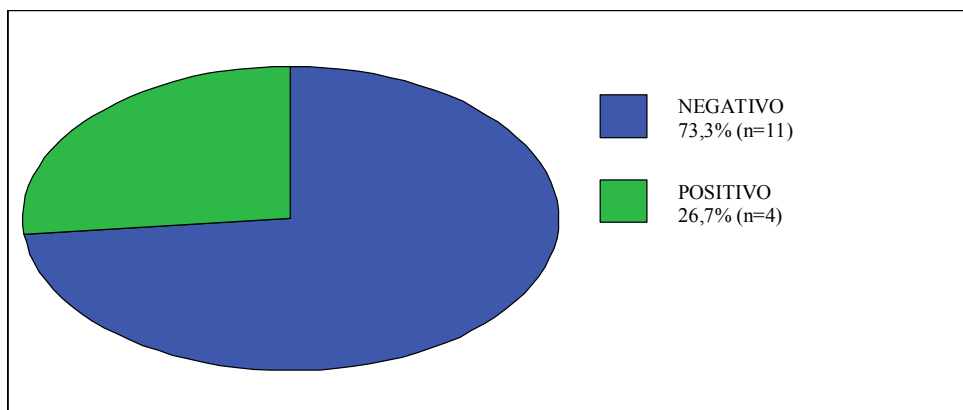


GRÁFICO 2. Positividade do exame parasitológico de fezes para *S. mansoni*.

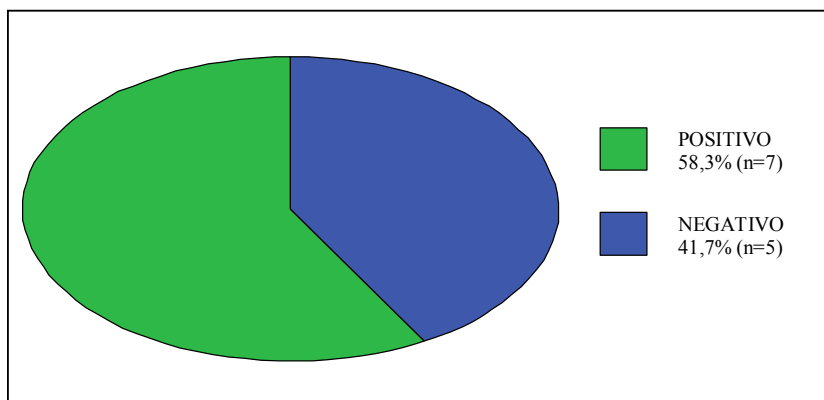


GRÁFICO 3. Resultados da biópsia retal para pesquisa de *S. mansoni*.

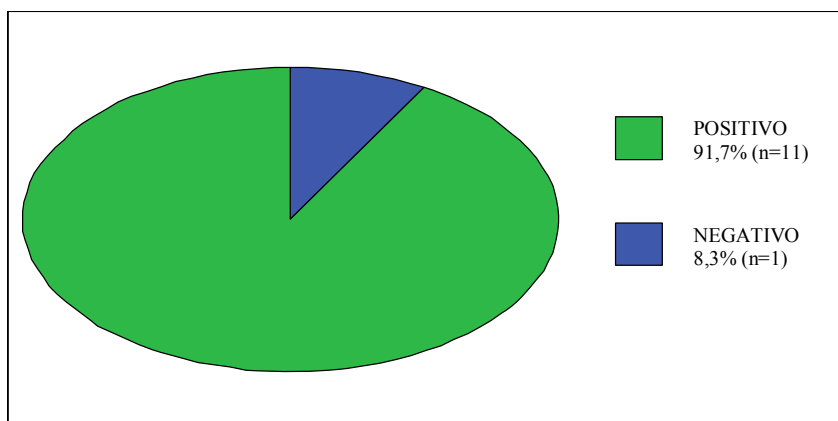


GRÁFICO 4. Resultado da sorologia anti-SEA para *S. mansoni*.

Na análise de rotina do líquido os pacientes com MRE apresentaram pleocitose em 86,6% dos casos (acima de 5 células/mm³), com presença de eosinófilos em 46,6%. Detectou-se hiperproteinorraquia (acima de 45mg/dl) em 93,3% dos pacientes (TABELA 6).

Todos os exames de ressonância magnética da medula espinhal revelaram alterações, sendo as regiões torácica e cone as mais frequentemente acometidas (60,0%), seguidas da região do cone e cauda equina (26,7%) e torácica baixa (T6 a T12) como mostra a TABELA 6. O ANEXO 2 mostra o resultado da RM de um paciente com MRE, evidenciando-se hiperintensidade de sinal no segmento torácico baixo em seqüência ponderada em T2.

Os casos 5 e 10 portadores de MRE (TABELA 6) tinham hiperecogenicidade periportal à ultra-sonografia abdominal sem sinais de hipertensão portal.

Os demais exames utilizados no diagnóstico diferencial de mielorradiculopatia como FAN, VDRL, HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, anti-HCV, anti-HIV, IgM anti-HSV, anti-HTLV1-2,

anticoagulante lúpico, anti-cardiolipina resultaram normais. As dosagens de vitamina B12 e ácido fólico encontraram-se dentro dos limites da normalidade. A radiografia de tórax, hemograma, coagulograma, função renal e ionograma mostraram-se dentro dos limites de normalidade nos 15 pacientes.

Não se observaram diferenças quanto à idade ($p=0,45$) ou ao sexo ($p=0,83$) entre os grupos estudados – controle sadio, esquistossomose intestinal e hepatoesplênica e esquistossomose mielorradicular. Os pacientes com a forma intestinal e hepatoesplênica da esquistossomose tinham em média 36 e 240 ovos/g de fezes ($p < 0,05$), respectivamente. Estes pacientes submeteram-se à ultra-sonografia abdominal para a identificação da forma hepatoesplênica.

TABELA 6. Características clínicas, neuroimagem e alterações laboratoriais dos pacientes com MRE.

Paciente	Idade (anos)	Sexo	Tempo do diagnóstico a punção (dias)	Sintomas clínicos iniciais	Evidência de infecção pelo <i>Schistosoma</i>			Nível medular na RM	Líquor		
					EPF	Biópsia retal	Anti-SEA		Celularidade (% eosinófilos)	Glicose (mg/dl)	Proteína (mg/dl)
1	16	M	90	Dor lombar	-	+	NR	Torácica, cone	0 (0)	51	55
2	19	M	14	Parestesias em MMII	+	NR	NR	Cone	35 (2)	52	77
3	20	M	3	Dor lombar	-	-	+	Torácica, cone	8 (3)	43	96
4	21	F	7	Dor lombar	+	-	+	Torácica, cone	72 (3)	55	179
5	21	F	13	Disfunção urinária	-	+	-	Torácica, cone	8 (5)	47	81
6	21	M	10	Dor lombar	-	-	+	Torácica, cone	30 (0)	81	91
7	24	F	15	Dor lombar e parestesias em MMII	+	NR	+	Torácica, cone	56 (0)	77	39
8	26	F	5	Dor em MMII	-	+	+	Cone	90 (0)	69	53
9	26	M	30	Dor lombar, paraparesia	-	+	NR	Cauda equine	73 (3)	57	112
10	27	M	100	Dor em MMII	-	-	+	Torácica baixa	3 (13)	46	87
11	28	M	12	Dor lombar e paraparesia	+	NR	+	Torácica, cone	47 (3)	65	84
12	31	M	5	Dor lombar	-	+	+	Cone	22 (0)	95	66
13	32	M	365	Dor lombar	-	+	+	Torácica, cone	29 (0)	106	34
14	42	M	120	Dor em MMII	-	-	+	Torácica baixa	9 (0)	34	48
15	55	F	18	Dor lombar	-	+	+	Torácica, cone	190 (0)	51	63

M = masculino; F = feminino; MMII = membros inferiores; EPF = exame parasitológico de fezes; anti-SEA = anticorpo anti-antígeno solúvel do ovo no soro; NR = não realizado; RM = ressonância magnética.

5.2. Concentração de citocinas Th2 no soro e no líquido

Não houve diferença significativa entre a concentração de IL-4 entre pacientes com MRE e controles sadios, tanto no soro quanto no líquido (TABELA 7). A mediana da concentração de IL-13 foi semelhante nos dois grupos, tanto no soro quanto no líquido, entretanto o número de pacientes com MRE que apresenta nível líquido detectável de IL-13, foi maior do que no grupo controle sadio ($p=0,04$). O nível sérico de IL-13 mostra-se maior nos portadores de MRE que nos controles sadios. Observou-se uma tendência à elevação dos níveis séricos de IL-13 nos portadores de MRE quando comparados aos controles sadios (TABELA 7). Pacientes com HAM/TSP não apresentaram níveis detectáveis de IL-4 ou IL-13 no líquido.

TABELA 7: Níveis de citocinas (pg/ml) no soro e líquido de pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica e controle sadio.

Citocinas		Controle sadio (n=10)	MRE (n=15)	P*
IL-4 no soro	Mediana	0	0	0,18
	(percentil 25-75)	(0-0)	(0-4,5)	
	% detectável	10%	40%	
IL-4 no líquido	Mediana	0	0	0,34
	(percentil 25-75)	(0-0)	(0-3)	
	% detectável	10%	33%	
IL-13 no soro	Mediana	0	0	0,08
	(percentil 25-75)	(0-0)	(0-51,5)	
	% detectável	10%	46,6%	
IL-13 no líquido	Mediana	0	5,0	0,04
	(percentil 25-75)	(0-0)	(0-10,9)	
	% detectável	10%	53,3%	

*O valor de p refere-se à comparação entre o número de indivíduos com níveis de citocinas detectáveis em cada grupo. (Teste estatístico: X^2).

5.3. Concentração de quimiocinas no soro e no líquido

A concentração de quimiocinas CC (CCL2 e CCL3) no soro foi similar entre os indivíduos do grupo controle sadio, forma intestinal e mielorrádicular da esquistossomose. Os pacientes com a forma hepatoesplênica tinham níveis séricos mais elevados de CCL2 e CCL3 do que os outros grupos (FIGURA 1). Todos os grupos de pacientes com esquistossomose tinham níveis séricos aumentados de CCL11 quando comparados com indivíduos não infectados (FIGURA 1). Pacientes com a forma hepatoesplênica e mielorrádicular apresentaram concentração sérica elevada de CCL24 quando comparados aos pacientes com a forma intestinal e o grupo controle sadio (FIGURA 1). Não houve diferença entre os grupos nos níveis séricos de CXCL10.

A maioria dos indivíduos do grupo controle e pacientes com MRE e HAM/TSP não apresentaram níveis líquóricos detectáveis de CCL3, CCL11 e CCL24; e não houve diferença significativa entre eles.

As concentrações de CCL2 e CXCL10 foram semelhantes no grupo controle sadio e pacientes com MRE. Enquanto no grupo de pacientes com HAM/TSP os níveis de CCL2 e CXCL10 estavam elevados no líquido (FIGURA 2).

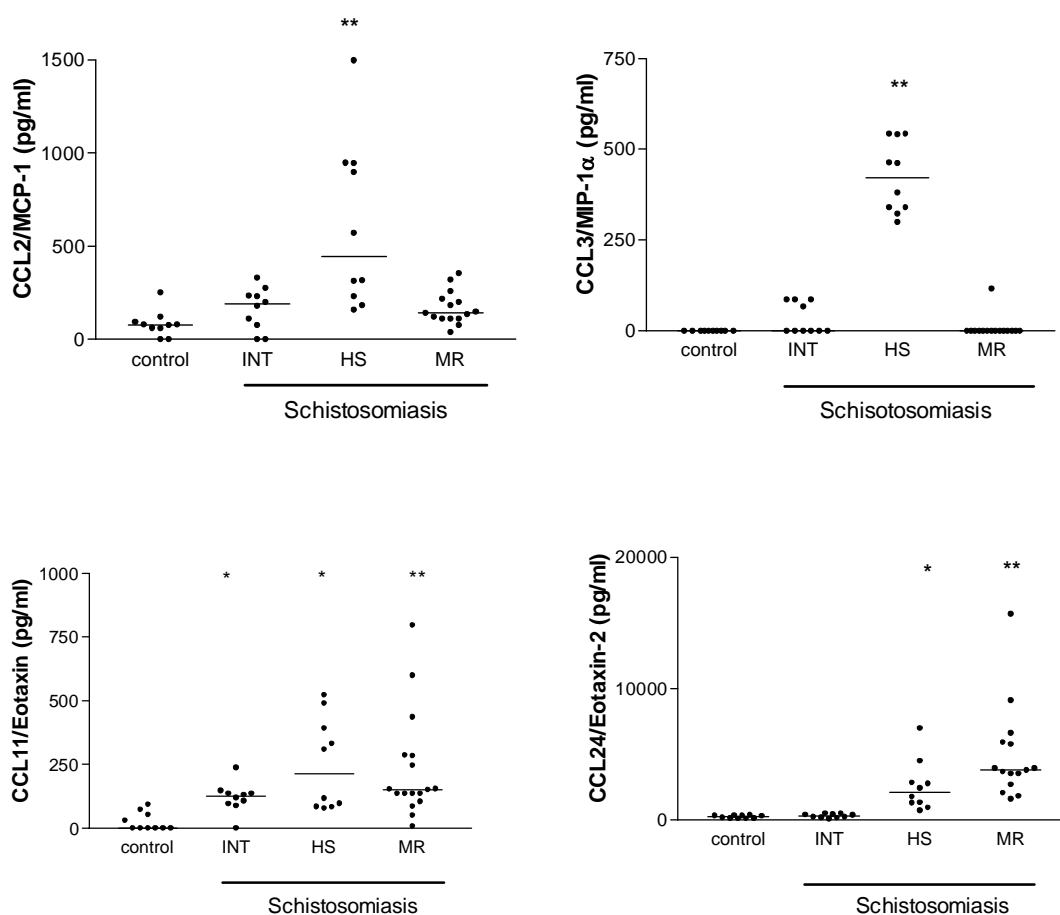


FIGURA 1. Níveis de quimiocinas no soro de pacientes com diferentes formas de esquistossomose (INT= intestinal, HS= hepatoesplênica, MR= mielorradicular) e CONTROLE= controle sadio. * $p < 0.05$ quando comparado ao controle; ** $p < 0.001$ quando comparado ao controle. (Teste estatístico: Kruskal-Wallis com pós-teste Dunn.)

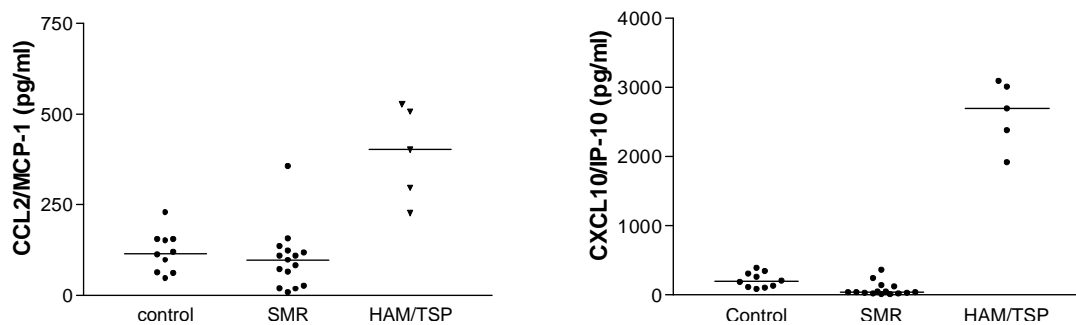


FIGURA 2: Níveis de quimiocinas no líquido de pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica (SMR), pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) e controle sadio (CONTROLE). (Teste estatístico: Kruskal-Wallis com pós-teste Dunn.)

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Níveis séricos normais de quimiocinas CCL2 e CCL3 e elevados de CCL11 e CCL24, associados aos níveis líquidos normais de CCL2 e CXCL10 contribuem para o diagnóstico da MRE em pacientes com alta suspeição clínica.

As quimiocinas são um subgrupo de citocinas com propriedades quimiotáticas seletivas. Elas desempenham um papel importante no recrutamento de leucócitos nos locais de lesão tecidual no sistema nervoso (RANSOHOFF, 2002). A CCL2, produzida principalmente por astrócitos e macrófagos perivasculares, participa da quimiotaxia de macrófagos e monócitos, enquanto a CCL3, também produzida por macrófagos perivasculares, aumenta a expressão de outras quimiocinas como CXCL10 e CCL5 e da própria CCL3 por macrófagos e astrócitos. A quimiocina CXCL10 atua sobre os receptores CXCR3 presentes em células mononucleares, determinando infiltrado mononuclear e ativação das células Th1, e a CCL5 age sobre linfócitos T. Os eosinófilos são atraídos para o local da inflamação principalmente pelas CCL11 e CCL24. Anormalidades na concentração de quimiocinas e de seus receptores têm sido descritas em muitas doenças neurológicas, como meningite infecciosa, neuropatias desmielinizantes, miopatias inflamatórias e esclerose múltipla (TREBST & RANSOHOFF, 2001; RANSOHOFF, 2002).

No presente estudo, não se observaram alterações significativas nos níveis séricos das quimiocinas CCL2 e CCL3 nas formas intestinal e mielorradicular da esquistossomose. Os pacientes com a forma hepatoesplênica apresentaram elevação nos níveis séricos destas quimiocinas, reforçando sua correlação com a gravidade da doença, já sugerida por outros

autores (SOUZA et al., 2005; FALCÃO et al., 2002; ROSS et al., 2002). Em contraste, elevação nos níveis plasmáticos de CCL3, já foram observadas em pacientes infectados pelo *S. mansoni* independente da forma clínica da doença (FALCÃO et al., 2002). Todas as formas clínicas da esquistossomose mostraram concentrações séricas elevadas de CCL11, mas somente as formas hepatoesplênica e a mielorradicular cursaram com níveis elevados de CCL24. Tanto a CCL11 quanto a CCL24 participam do recrutamento de eosinófilos nas infecções helmínticas (CHENSUE, 2001). Os portadores de MRE apresentaram um perfil sérico de quimiocinas semelhante aos pacientes com a forma intestinal da esquistossomose. Tal achado está de acordo com a observação da associação entre a MRE e as formas aguda e crônica intestinal da esquistossomose (LAMBERTUCCI et al., 2005; SILVA et al., 2004a; SANTOS et al., 2001; PITTELLA, 1997; PITTELLA et al., 1996;).

Em contraste com os níveis séricos, não se observaram diferenças nas concentrações de quimiocinas no líquor de pacientes com MRE quando comparadas aos controles saudáveis. Este achado pode se relacionar à falta de produção intratecal de quimiocinas. Entretanto, os pacientes com MRE revelaram aumento discreto de leucócitos e da concentração de proteína no líquor, sugerindo quebra da barreira hemato-encefálica (TABELA 6). Quimiocinas podem ser secretadas por células inflamatórias, mas seqüestradas no micro-ambiente medular (PROUDFOOT et al., 2003a). Os achados de lesões inflamatórias com captação de contraste à RM da medula espinhal nos pacientes com MRE (TABELA 4) reforçam esta hipótese. Outra possibilidade seria a produção de quimiocinas pelo endotélio do SNC, levando a níveis séricos elevados, mas níveis líquóricos inalterados. Em modelos experimentais há evidências de secreção de quimiocinas por células endoteliais na inflamação do SNC (KIESEIER et al., 2002).

Pacientes com HAM/TSP, uma mielopatia crônica imunomediada causada pelo HTLV-1, mostraram altos níveis líquóricos de CXCL10 e CCL2. Aumento do nível de CXCL10 na HAM/TSP também foi descrito por NARIKAWA et al. (2005). Estes achados podem tem implicações no diagnóstico diferencial entre a MRE e a HAM/TSP, uma vez que na MRE não se detectou a presença de quimiocinas no líquido. Outras condições, como tumores medulares, doenças inflamatórias e desmielinizantes, devem ser consideradas também no diagnóstico de mielopatia (COHEN-GADOL et al., 2003). Para um diagnóstico definitivo da MRE seria necessário o exame histopatológico da medula espinhal através de biópsia, procedimento que implica elevado risco de complicações. Diante disso, faz-se necessária, a identificação de outras evidências laboratoriais que, associadas às endêmicas, clínicas e epidemiológicas, corroborem o diagnóstico da MRE. O presente estudo sugere que os níveis elevados de CCL2 e CXCL10 indicam uma mielopatia inflamatória não esquistossomótica. Sabe-se que na esclerose múltipla com perfil imunológico do tipo Th1, nos casos manifestos por mielite transversa, observa-se elevação no nível líquórico de CXCL10, enquanto o nível de CCL2 encontra-se diminuído (SORENSEN et al., 1999; TREBST & RANSOHOFF, 2001).

Observou-se diferença significativa na concentração de IL-13 no líquido de pacientes com MRE, quando comparada ao grupo controle sadio. Este aumento significativo de IL-13 sugere produção intratecal desta citocina. CCL11 e CCL24, quimiocinas que se ligam ao receptor CCR3 expresso por linfócitos Th2, estimulam a produção de IL-13 e o deslocamento de leucócitos para o local da inflamação (MOSER & LOETSCHER, 2001). Esta cooperação entre IL-13 e quimiocinas relacionadas ao recrutamento de eosinófilos contribui na fisiopatologia de doenças imunomediadas com resposta Th2, como a doença pulmonar

alérgica (ZIMMERMANN et al., 2003). A elevação do nível de IL-13, observada nos pacientes com MRE, reforça sua importância no processo imunológico contra o *S. mansoni* (PEARCE, 2005; ROSS et al., 2002). FERRARI et al., (2006) também encontraram um perfil de resposta imunológica Th2 na esquistossomose medular com elevação de IL-4, IL-6 e IL-10 e baixas concentrações de IFN- γ e TNF- α (perfil Th1). Ao contrário destes autores, no presente estudo não se evidenciou nível elevado de IL-4 no líquido, o que poderia ser explicado pelo tamanho reduzido da amostra de pacientes com MRE.

O perfil de quimiocinas no soro dos pacientes com MRE (CCL2 e CCL3, em níveis normais e CCL11 e CCL24 elevados) é mais semelhante à forma intestinal da esquistossomose (CCL2 e CCL3, normais e CCL11 elevado), do que à forma hepatoesplênica (elevação de CCL2, CCL3, CCL11 e CCL24). Os pacientes estudados com MRE apresentaram níveis séricos elevados de quimiocinas que agem no receptor CCR3 e aumentam IL-13, portanto, ambos poderiam facilitar a expressão da resposta Th2 no processo imunopatológico da lesão medular esquistossomótica.

A ausência de quimiocinas detectáveis no líquido sugere que não há sua produção intratecal no processo inflamatório mielorradicular da esquistossomose mansoni. Entretanto mais estudos serão necessários para corroborar esta proposição, estimulando-se a produção de quimiocinas *in vitro* através de células mononucleares do líquido. Outras limitações do presente estudo relacionam-se à amostra reduzida de pacientes com MRE, bem como a ausência de outras mielopatias inflamatórias e infecciosas para o grupo controle. Idealmente, o estudo líquido no grupo de pacientes com mielorradiculopatia também deveria ser comparado a um grupo

com esquistossomose intestinal e/ou hepatoesplênica, entretanto por motivos éticos não se realizou punção líquórica nesses pacientes.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

- 7.1. Níveis séricos normais de quimiocinas CCL2 e CCL3 e elevados de CCL11 e CCL24, associados aos níveis líquóricos normais de CCL2 e CXCL10 e elevados de IL-13 contribuem para o diagnóstico da MRE em pacientes com alta suspeição clínica.
- 7.2. O perfil de quimiocinas no soro de portadores de mielorradiculopatia esquistossomótica se assemelha mais ao dos portadores da forma intestinal que os da hepatoesplênica;
- 7.3. As quimiocinas CCL2, CCL3, CCL11, CCL24 e CXCL10 estão presentes no soro e líquido de portadores da mielorradiculopatia esquistossomótica;
- 7.4. Os níveis séricos elevados de CCL11 e CCL24, responsáveis pelo recrutamento de eosinófilos para o local da inflamação, estão elevados na forma mielorradicular da esquistossomose mansoni;
- 7.5. O nível líquórico da citocina IL-13 com perfil Th2 está elevado na mielorradiculopatia esquistossomótica, quando comparado aos controles sadio e com mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical; seu nível sérico também se encontra elevado, entretanto sem significância estatística;

- 7.6. Os níveis séricos de CCL2 e CCL3 estão igualmente baixos no soro de pacientes controle sadio, com esquistossomose intestinal e mielorradiculopatia, diferentemente da elevação detectada na forma hepatoesplênica;
- 7.7. Os pacientes com mielorradiculopatia esquistossomótica não apresentaram níveis líquóricos detectáveis de CCL3, CCL11 e CCL24; e os níveis de CCL2 e CXCL10 não se diferenciaram significativamente do grupo controle sadio;
- 7.8. Os pacientes com mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical apresentaram elevações nos níveis de CCL2 e CXCL10 no líquor;
- 7.9. A presença de níveis líquóricos elevados das quimiocinas CCL2 e CXCL10, num quadro clínico de mielorradiculopatia, sugere uma mielopatia inflamatória não esquistossomótica;

SUMMARY

8. SUMMARY

Schistosomal myeloradiculopathy (SMR) is the most common neurological form of *Schistosoma mansoni* infection. This study evaluates the expression of chemokines and cytokines in serum and cerebral spinal fluid (CSF) in SMR by ELISA and defines markers of neuroschistosomiasis. Fifteen patients with a new diagnosis of SMR entered the study. For serum studies, 10 age-matched healthy volunteers and 20 patients with schistosomiasis but no neurological involvement were recruited. CSF was also collected from five patients with HTLV-1 associated myelopathy or tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) and ten controls. Chemokines and cytokines in serum and CSF of schistosomiasis patients and controls were measured using ELISA for IL-4 and IL-13, CCL2, CCL3, CCL11, CCL24 and CXCL10. SMR patients who had detectable levels of IL-13 in CSF were greater than controls. All groups of schistosomiasis patients had increased levels of serum CCL11 and CCL24. CSF concentrations of CCL2 and CXCL10 were similar in controls and SMR, but CXCL10 was increased in HAM/TSP patients. High serum levels of CCL11 and CCL24 combined with detectable CSF levels of IL-13 and low CSF levels of CCL2 and CXCL10 favor the diagnosis of neuroschistosomiasis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS, A.A. et al. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*, v.383, p.787-793, 1996.
2. AMARAL, R.S.; PORTO, M.A.S. Evolução e situação atual do controle da esquistossomose na Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.27 (suplemento III), p.73-90, 1994.
3. ANDRADE, N.A.; BASTOS, C.I. Esquistossomose mansônica cerebral. *Arq Neuropsiquiatr*, v.47, p.100-104, 1989.
4. ANDRADE FILHO, A.S.; QUEIROZ, A.C. Meningorradiculite esquistossomótica: estudo clínico-laboratorial de três casos tratados. *Arq Neuropsiquiatr*, v.44, p.80-82, 1991.
5. ANDRADE FILHO, A.S. et al. Neuroesquistossomose mansônica: aspectos clínicos, laboratoriais e terapêuticos. *Arq Neuropsiquiatr*, v.54, p.232-237, 1996.
6. ASENSIO, V.C.; CAMPBELL, I.L. Chemokines in the CNS: plurifunctional mediators in the diverse states. *Trends Neurosci*, v.11, p.504-512, 1999.
7. BACON, K.B.; HARRISON, J.K. Chemokines and their receptors in neurobiology: perspectives in physiology and homeostasis. *J Neuroimmunol*, v.104, p.92-97, 2000.

8. BAJETTO, A. et al. Glial and neuronal cells express functional chemokine receptor CXCR4 and its natural ligand stromal cell-derived factor 1. *J Neurochem*, v. 73, p.2348-2357, 1999.
9. BATSON, O.V. The function of the vertebral veins and their role in the spread of metastases. *Ann Surg*, v.112, p.138-149, 1940.
10. BRAGA, B.P.; COSTA JUNIOR, L.B.; LAMBERTUCCI, J.R. Magnetic resonance imaging of cerebellar schistosomiasis mansoni. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.36, n.5, p.635-636, 2003.
11. BUDZILOVICH, G.N.; MOST, H.; FEIGIN, I. Pathogenesis and latency of spinal cord schistosomiasis. *Arch Pathol*, v.77, p.383-388, 1964.
12. CAMARGOS, S.T.; DANTAS, F.R.; TEIXEIRA, A.L. Schistosomal myelopathy mimicking spinal cord neoplasm. *Scand J Infect Dis*, v.37, n.5, p.365-367, 2005.
13. CAROD-ARTAL, F.J. et al. *Schistosoma mansoni* myelopathy: clinical and pathologic findings. *Neurology*, v.63, p.388-391, 2004.
14. CARTER, C.E.; COLLEY, D.G. An electrophoretic analysis of *Schistosoma mansoni* soluble egg antigenic preparation. *J Parasitol*, v.64, p.385-390, 1978.

15. CHAVARRIA, A.; ALCOCER-VARELA, J. Is damage in central nervous system due to inflammation? *Autoimmun Rev*, v.3, p.251-260, 2004.
16. 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.
17. CHENSUE, S.W. Molecular machinations: chemokine signals in host-pathogen interactions. *Clin Microbiol Rev*, v.14, n.4, p. 821-835, 2001.
18. CHIU, B.C.; CHENSUE, S.W. Chemokine responses in schistosomal antigen-elicited granuloma formation. *Parasite Immunol*, v.24, n.6, p.285-294, 2002.
19. COHEN-GADOL, A.A. et al. Spinal cord biopsy: a review of 38 cases. *Neurosurgery*, v.52, p.806-816, 2003.
20. CORREA, R. L. B. et al. Comprometimento neurológico na esquistossomose mansônica. *Rev Bras Neurol*, v.19, p.101-104, 1983.
21. DUPUIS, M.J.M. et al. MR imaging of Schistosomal myelitis. *Am J Neuroradiol*, v.11, p.782-783, 1990.
22. EL-BANHAWY, A.; ELWAN, O.; TAHER, U. Bilharzial granuloma of conus medullaris and cauda equina. *Paraplegia*, v.10, p.172-180, 1972.

23. FALCÃO, P.L. et al. Plasma concentrations and role of macrophage inflammatory protein-1 α during chronic *Schistosoma mansoni* infection in humans. *J Infect Dis*, v.186, p.1696-1700, 2002.
24. FALLON, P.G. Immunopathology of schistosomiasis: a cautionary tale of mice and men. *Immunol Today*, v.21, p.29-35, 2000.
25. FAUST, E.C. An inquiry into the ectopic lesions in schistosomiasis. *Am J Trop Med*, v.28, p.175-199, 1948.
26. FERRARI, T.C.A. Spinal cord schistosomiasis: a report of 2 cases and review emphasizing clinical aspects. *Medicine*, v.78, p.176-190, 1999.
27. FERRARI, T.C.A.; et al. Intratecal cytokines in spinal cord schistosomiasis. *J Neuroimmunol*, v.177, p.136-141, 2006.
28. FERRARI, T.C.A.; MOREIRA, P.R.; CUNHA, A.S. Spinal-cord involvement in the hepatosplenic form of *Schistosoma mansoni* infection. *Ann Trop Med Parasitol*, v.95, p.633-635, 2001.
29. FIFE, B.T. et al. CC chemokine receptor 2 is critical for induction of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med*, v.192, p.899-905. 2000.

30. GAO, J.L. et al. Impaired host defense, hematopoiesis, granulomatous inflammation, and type 1-type2, cytokine balance in mice lacking CC chemokine receptor 1. *J Exp Med*, v.185, p.1959-1968, 1997.
31. GERO, B.; SZE, G.; SHARIF, H.S. MR imaging of intradural inflammatory diseases of the spine. *Am J Neuroradiol*, v.12, p.1009-1019, 1991.
32. GOFFETE, S. et al. Schistosomal myelopathy: relevance and limits of contrast enhanced magnetic resonance imaging in spinal cord infections. *Acta Neurol Belg*, v.98, p.289-291, 1998.
33. HARN, D.A.; MITSUYAMA, M.; DAVID, J.R. *Schistosoma mansoni* anti-egg monoclonal antibodies protect against cercarial challenge in vivo. *J Exp Med*, v.159, p.1371-1378, 1984.
34. HARRISON, J.K. et al. Role for neuronally derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.95, p.10896-10901, 1998.
35. HENRI, S. et al. Cytokine regulation of periportal fibrosis in humans infected with *Schistosoma mansoni*: IFN- γ is associated with protection against fibrosis and TNF- α with aggravation of disease. *J Immunol*, v.169, p. 929-936, 2002.

36. HESSELGESSER, J.; HORUK, R. Chemokine and chemokine receptor expression in the central nervous system. *J Neurovirol*, v.1, p.13-26, 1999.
37. HICKEY, W. Leucocyte traffic in the central nervous system: the participants and their roles. *Semin Immunol*, v.11, p.125-137, 1999.
38. HOFFMANN, K.F., CHEEVER, A.W., WYNN, T.A. IL-10 and the dangers of immune polarization: excessive type 1 and type 2 cytokine responses induce distinct forms of lethal immunopathology in murine schistosomiasis. *J Immunol*, v.164, p.6406-6416, 2000.
39. HOUPIS, J. et al. Acute schistosomiasis with transverse myelitis in American students returning from Kenya. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, v.33, p.445-447, 1984.
40. HUANG, D. et al. Chemokines and chemokine receptors in inflammation of the nervous system: manifold roles and exquisite regulation. *Immunol Rev*, v.177, p.52-67, 2000.
41. HUANG, D. et al. Absence of monocyte chemoattractant protein 1 in mice leads to decreased local macrophage recruitment and antigen-specific T helper cell type 1 immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med*, v.93, p.713-726, 2001.
42. IZIKSON, L. Resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking the CC chemokine receptor (CCR2). *J Exp Med*, v.192, p.1075-1080, 2000.

43. KARPUS, W.J.; RANSOHOFF, R.M. Chemokine regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis: temporal and spatial expression patterns govern disease pathogenesis. *J Immunol.* v.191, p.2667-2671, 1998.
44. KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.14, p.397-400, 1972.
45. KIESEIER, B.C. et al. Chemokines and chemokine receptors in inflammatory demyelinating neuropathies: a central role for IP-10. *Brain*, v.125, p.823-834, 2002.
46. LAMBERTUCCI, J.R.; BARRAVIERA, B. Esquistossomose mansônica. Estudo clínico. *J Bras Med*, v.67, p.59-100, 1994.
47. LAMBERTUCCI, J.R. et al. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control. *Acta Trop*, v.77, p.101-109, 2000.
48. LAMBERTUCCI, J.R. et al. A esquistossomose mansoni em Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.20, p.47-52, 1987.
49. LAMBERTUCCI, J.R.; SILVA, L.C.S.; VOIETA, I. *Esquistossomose mansônica*. In: COURA JR. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005a. Cap.76, p.931-946.

50. LAMBERTUCCI, J.R.; SOUSA-PEREIRA, S.R.; SILVA, L.C.S. Mielorradiculopatia na esquistossomose mansônica aguda. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.38, n.3, p.277-278, 2005b.
51. LECHTENBERG, R.; VAIDA, G.A. Schistosomiasis of the spinal cord. *Neurology*, v.27, p.55-59, 1977.
52. LEVY, L.F. Bilharzial involvement of the central nervous system. *Med J Zambia*, v. 4, p. 191-198, 1970.
53. LIVRAMENTO, J.A. et al. Síndrome do líquido cefalorraqueano na neuroesquistossomose. *Arq Neuropsiquiatr*, v.43, p.372-377, 1985.
54. LUKACS, N.W. et al. Macrophage inflammatory protein-1 alfa influences eosinophil recruitment in antigen-specific airway inflammation. *Eur J Immunol*, v.25, p.245-251, 1994.
55. MACIAL-ROSAS, R.A., FIOL, R.E. Neurological complications of schistosomiasis: review of the literature and report of two cases of transverse myelitis due to *Schistosoma mansoni*. *Ann Intern Med*, v.59, p.215-230, 1963.
56. MANTOVANI, A. The chemokine system: redundancy for robust outputs. *Immunol Today*, v.20, p.254-257, 1999.

57. MARRA, B. Aspects évolutifs d'une myélopathie bilharzienne a *Schistosoma mansoni*. *Med Trop*, v.53, p.455-470, 1993.
58. MASSON, C. et al. Schistosomiase médullaire: Apport de l'imagerie par résonance magnétique. *Presse Med*, v.19, p.1223-1224, 1990.
59. MENNICKEN, F.; MAKI, R.; DE SOUZA, E.B. Chemokines and chemokine receptors in the CNS: a possible role in neuroinflammation and patterning. *Trends Pharmacol Sci*, v.2, p.73-78, 1999.
60. MONTENEGRO, S.M.L. et al. Cytokine production in acute versus chronic human schistosomiasis mansoni: the cross-regulatory role of interferon- γ and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. *J Infect Dis*, v. 179, p.1502-1514, 1999.
61. MORENO-CARVALHO, O.A. et al. Clinical and cerebrospinal fluid (CSF) profile and CSF criteria for the diagnosis of spinal cord schistosomiasis. *Arq Neuropsiquiatr*, v.61 p.353-358, 2003.
62. MOSER, B.; LOESTSCHER, P. Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nature Immunol*, v.2, p.123-128, 2001.

63. MURPHY, P.M. et al. International Union of Pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev*, v.52, p.145-176, 2000.
64. MWATHA, J.K. et al. High levels of TNF, soluble TNF receptors, soluble ICAM-1, and INF- γ but low levels of IL-15, are associated with hepatosplenic disease in human schistosomiasis mansoni. *J Immunol*, v.160, n.4, p.1992-1999, 1998.
65. NARIKAWA, K. et al. CSF chemokines in HTLV-1 associated myelopathy: CXCL10 up-regulation and therapeutic effect of interferon- α . *J Neuroimmunol*, v.159, p.177-182, 2005.
66. NEVES, J. et al. Spinal cord complications of acute schistosomiasis mansoni. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, v.67, p.782-792, 1973
67. NOBRE, V. et al. Schistosomal myeloradiculopathy due to *Schistosoma mansoni*: report on 23 cases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.96, p.137-141, 2001.
68. PAMMENTER, M.D.; EPSTEIN, S.R.; REES, R.T. Cross reactions in the immunodiagnosis of schistosomiasis and cysticercosis by a cerebrospinal fluid enzyme-linked immunosorbent assay. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, v.86, p. 51-52, 1992.

69. PARK, M.K. et al. Patterns of chemokine expression in models of *Schistosoma mansoni* inflammation and infection reveal relationships between type 1 and type 2 responses and chemokines in vivo. *Infect Immun*, v. 69, n. 11, p. 6755-6768, 2001.
70. PEARCE, E.J. Priming of the immune response by schistosome eggs. *Parasite Immunol*, v.27, p.265-270, 2005.
71. PELLON, A.B.; TEIXEIRA, L. *Distribuição geográfica da esquistossomose mansônica no Brasil*. Rio de Janeiro: Divisão de Organização Sanitária, 1950.
72. PEREGRINO, A.J.P. et al. Meningomiellorradiculite por *Schistosoma mansoni*. *Arq Neuropsiquiatr*, v.46, p.49-60, 1988.
73. PEREGRINO, A.J.P. et al. Esquistossomose medular: análise de 80 casos. *Arq Neuropsiquiatr*, v.60, p.603-608, 2002.
74. PINTO-SILVA, R.A. et al. Sonographic features of portal hypertension in schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, v.36, p.355-361, 1994.
75. PITTELLA, J.E.H. et al. Tumoral form of cerebral schistosomiasis mansoni: a report of four cases and a review of the literature. *Clin Neurol Neurosurg*, v.98, p.15-20, 1996.
76. PITTELLA, J.E.H. Neuroschistosomiasis. *Brain Pathol*, v.7, p.649-662, 1997.

77. PITTELLA, J.E.H.; LANA-PEIXOTO, M.A. Brain involvement in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *Brain*, v.104, p.621-632, 1981.
78. PROUDFOOT, A.E.I. et al. Glycosaminoglycan binding and oligomerization are essential for the in vivo activity of certain chemokines. *Proc Natl Acad Sci USA*, v.100, p.1885-1990, 2003.
79. PROUDFOOT, A.E.I. et al. Strategies for chemokine antagonists as therapeutics. *Semin Immunol*, v.15, p.57-65, 2003.
80. RANSOHOFF, R.M.; TANI, M. Do chemokines mediate leukocyte recruitment in post-traumatic CNS inflammation? *Trends Neurosci*, v.4, p.154-159, 1998.
81. RANSOHOFF, R.M. The chemokine system in neuroinflammation: an update. *J Infect Dis*, v.186 (suppl 2), p.S152-S156, 2002.
82. ROSS, A.G. et al. Schistosomiasis. *N Engl J Med*, v.346, p.1212-1220, 2002.
83. SABIN, E.A. et al. Impairment of tetanus toxoid-specific Th1-like immune responses in humans infected with *Schistosoma mansoni*. *J Infect Dis*, v.173, p.269-272, 1996.
84. SANTOS, E.C. et al. Perfil clínico e critérios diagnósticos da mielorradiculopatia esquistossomótica. *Arq Neuropsiquiatr*, v.59, p.772-777, 2001.

85. SANTOS, M.M. et al. Oral fluids for the immunodiagnosis of *Schistosoma mansoni* infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, v.94, p.289-292, 2000.
86. SAXE, N.; GORDON, W. Schistosomiasis of spinal cord and skin. *S Afr Med J*, v. 49, p. 57-58, 1975.
87. SCRIMGEOUR, E.M. Non-traumatic paraplegia in northern Tanzania. *Br Med J*, v.283, p.975-978, 1981.
88. SHARIF, H.S. Role of MR imaging in the management of spinal infections. *Am J Roentgenol*, v.158, p.1333-1345, 1992.
89. SIDDORN, J.A. Schistosomiasis and anterior spinal artery occlusion. *Am J Trop Med Hyg*, v.27, p.532-534, 1978.
90. SIEBERT, H. et al. The chemokine receptor CCR2 is involved in macrophage recruitment to the injured peripheral nervous system. *J Neuroimmunol*, v.100, p.177-185, 2000.
91. SILVA LCS. *Tratamento da mielorradiculopatia esquistossomótica com corticosteróides e avaliação pela ressonância magnética: um estudo prospectivo*. Belo Horizonte, 2002. 118p. Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical, Universidade Federal de Minas Gerais.

92. SILVA, L.C.S. et al. Schistosomal myeloradiculopathy. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.37, p.261-272, 2004a.
93. SILVA, L.C.S. et al. Treatment of schistosomal myeloradiculopathy with praziquantel and corticosteroids and evaluation by magnetic resonance imaging: a longitudinal study. *Clin Infect Dis*, v.39, p.1618-1624, 2004b.
94. SILVA, L.C.S.; KILL, C. M.; LAMBERTUCCI, J.R. Cervical spinal cord schistosomiasis. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.35, n.5, p.543-544, 2002.
95. SORESEN, T.L. et al. Expression of specific chemokines and chemokine receptors in the central nervous system of multiple sclerosis patients. *J Clin Invest*, v.103, p.807-815, 1999.
96. SOUZA, A.L.S. et al. Potential role of the chemokine macrophage inflammatory protein 1 in human and experimental schistosomiasis. *Infection and Immunity*, v. 73, p. 2515-2523, 2005.
97. SOUSA-PEREIRA, S.R. et al. O papel das quimiocinas na neuroinflamação. *Rev Bras Neurol*, v.41, n.4, p.23-29, 2005.
98. SPINA-FRANÇA, A. et al. Mielopatias: aspectos diagnósticos. *Arq Neuropsiquiatr*, v.38, p.360-366, 1980.

99. TEIXEIRA-JR, A.L. et al. Increased serum concentrations of monokine induced by interferon- γ /CXCL9 and interferon- γ -inducible protein 10/CXCL-10 in Sydenham's chorea patients. *J Neuroimmunol*, v.150, p.157-162, 2004.
100. THELEM, M. Dancing to the tune of chemokine. *Nat Immunol*, v.2, p.129-134, 2001.
101. TREBST, C.; RANSOHOFF, R.M. Investigating chemokines and chemokine receptors in patients with multiple sclerosis: opportunities and challenges. *Arch Neurol*, v.58, p.1975-1980, 2001.
102. WARREN, K.S. The pathology of schistosome infections. *Helminthological Abstracts*, v.42, p.592-633, 1973.
103. WEKERLE, H. et al. Immune reactivity in the nervous system: modulation of T-lymphocyte activation by glial cells. *J Exp Biol*, v.132, p.43-57, 1987.
104. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Schistosomiasis. Geneva, p.1-4, 1996.
105. WYNN, T.A. et al. IL-12 exacerbates rather than suppresses T helper 2-dependent pathology in the absence of endogenous IFN- γ . *J. Immunol*, v.154, p.3999-4009, 1995.
106. ZIMMERMANN N, et al. Chemokines in asthma: cooperative interaction between chemokines and IL-13. *J Allergy Clin Immunol*, v.111, p.227-242, 2003.

107. ZLOTNIK, A.; YOSHIE, O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*, v.2, p.121-127, 2000.
108. ZWINGERBERGER, K. et al. Tumour necrosis factor in hepatosplenic schistosomiasis. *Scand. J. Immunol.* 31, 205–211, 1990.

ANEXOS

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP


Parecer nº. ETIC 308/05

Interesse: Prof. José Roberto Lambertucci
Depto. de Clínica Médica - FMUFMG

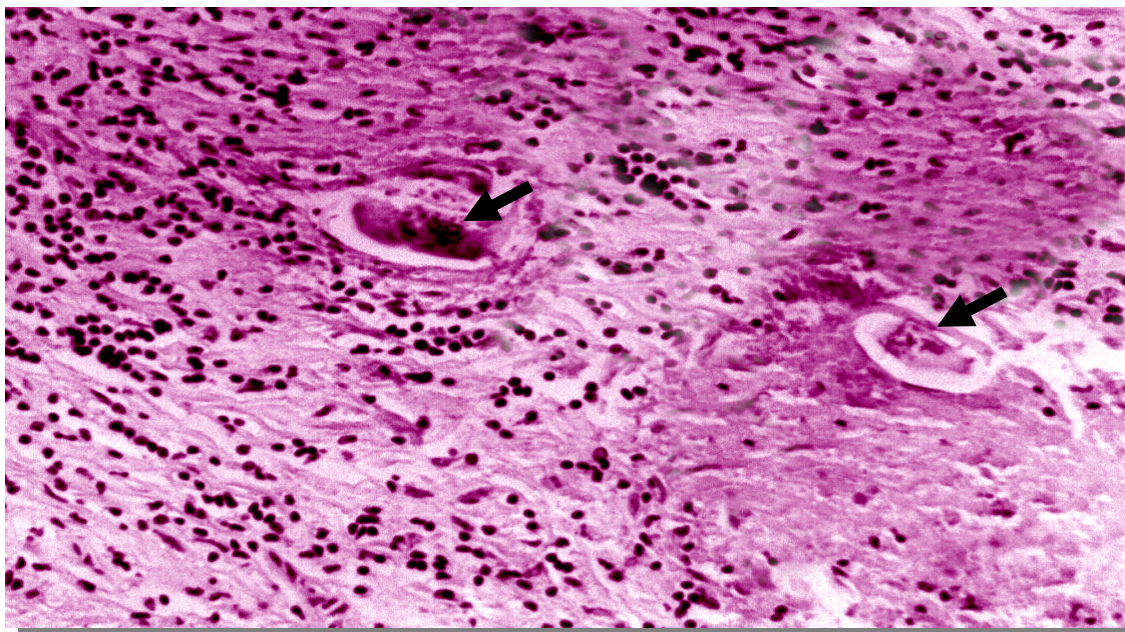
DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 14 de dezembro de 2005, o projeto de pesquisa intitulado « **A importância das quimiocinas na mielorradiculopatia esquistossomática** » com as recomendações contidas no parecer anexo bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

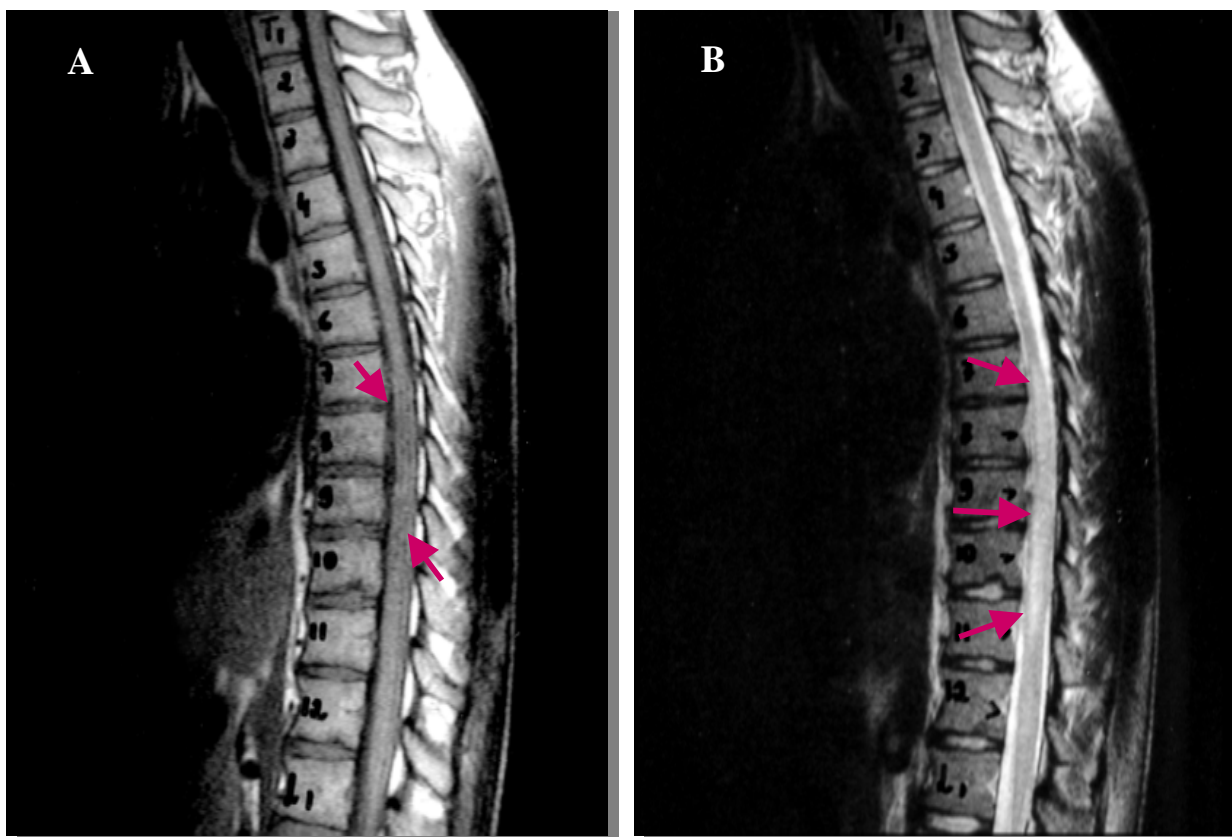

Prof. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG

ANEXO B – EXAME HISTOLÓGICO DA MEDULA ESPINHAL



Fotografia do material de biópsia de medula espinhal, mostrando corte histológico de tecido nervoso apresentando inflamação crônica granulomatosa esquistossomótica, com granuloma em fase produtiva e de cura por fibrose, envolvendo dois ovos de *Schistosoma mansoni* (setas). Há astrocitose fibrilar reacional envolvendo os granulomas. Coloração por hematoxilina e eosina, x200. (Fonte: SILVA, 2002)

ANEXO – C: IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DA MEDULA ESPINHAL



(A) Fotografia de RM com imagem em T1, apresentando intumescimento do segmento medular que se estende de T7 a T12 relacionado à ligeira hipointensidade do sinal medular (setas). (B) Imagem em T2 mostra hiperintensidade de sinal de forma heterogêneo na região acometida (setas). Fotografia de portador de mielorradiculopatia esquistossomótica (Fonte: SILVA, 2002).

Serum and cerebral spinal fluid levels of chemokines and Th2 cytokines in *Schistosoma mansoni* myeloradiculopathy

S. R. SOUSA-PEREIRA,¹ A. L. TEIXEIRA,^{1,2} L. C. S. SILVA,² A. L. S. SOUZA,² C. M. ANTUNES,³ M. M. TEIXEIRA² & J. R. LAMBERTUCCI¹

¹Neurology Unit, University Hospital, Federal University of Minas Gerais, ²Laboratory of Immunopharmacology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, ³Infectious and Parasitic Diseases Branch, Medical School, Federal University of Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil

SUMMARY

Schistosomal myeloradiculopathy (SMR) is the most common neurological form of Schistosoma mansoni infection. In this study we investigated the expression of chemokines and Th2 cytokines in serum and cerebral spinal fluid (CSF) of SMR patients. SMR patients presented increased serum levels of CCL11/eotaxin and CCL24/eotaxin-2 when compared to controls. SMR patients also had higher levels of IL-13 in CSF. Thus, SMR patients present enhancement of both IL-13 and CCR3 acting chemokines, both of which may facilitate the expression of a Th2 response and Th2-dependent damage to the spinal cord. As this cytokine is responsible for promoting Th2 responses, this finding is in accordance to the view that Th2 cells are important in the immunological process against the S. mansoni.

Keywords chemokines, cytokines, myeloradiculopathy, neuroschistosomiasis, schistosomiasis

INTRODUCTION

Schistosomal myeloradiculopathy (SMR) is the most common neurological form of *Schistosoma mansoni* infection. This trematode parasite affects over 100 million people worldwide. In Brazil, *S. mansoni* infection affects approximately 4 million people, but the prevalence of SMR is undetermined (1). In a recent study, Carod-Artal *et al.* found that 5–6% of inflammatory myelopathies seen at a tertiary Brazilian hospital were due to SMR (2).

SMR may assume different clinical pictures. In most cases, acute medullary and radicular signs are associated. Pure spinal cord or radiculopathy syndromes can also occur (3,4). The diagnosis of SMR is based on clinical, laboratory and radiological data but, except for the presence of eggs of the worm in a biopsy of the spinal cord, there is no definite marker of neuroschistosomiasis (5,6). Physicians working in areas where the disease is not endemic, such as the USA and Europe, should also consider the diagnosis of schistosomiasis when they are treating patients returning from countries of endemicity and who have a clinical picture compatible with myeloradiculopathy (7).

The pathogenesis of SMR remains unknown, but the inflammatory response to schistosomal eggs ectopically deposited in the nervous system could be responsible for the spinal cord lesion (8). Granulomatous inflammation around the eggs trapped in the liver is the pathological substrate of human schistosomiasis. The granuloma formation is largely a T-cell-dependent phenomenon and, as infection evolves, there is a modulation of the granulomatous response, including modification of the cell types (9,10). T-helper subset 2 (Th2) cells are particularly important in this immunological process against the parasite (9).

Chemokines are a large family of low-molecular weight cytokines with selective chemoattractant properties and are implicated in the recruitment of leukocytes to inflammatory sites in several conditions. Recently, chemokines, especially

Correspondence: Prof. José Roberto Lambertucci and Prof. Antonio Lucio Teixeira, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, UFMG, 30130-100 Av. Alfredo Balena, 190. Santa Efigênia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil (e-mail: lamber@uai.com.br or altexr@gmail.com).

Received: 14 December 2005

Accepted for publication: 4 May 2006

CCL3/MIP-1 α , have been proposed to play an important role in hepatosplenic human schistosomiasis (11,12). They have also been studied in several human diseases affecting the central nervous system (CNS) (13).

Most immunological studies in human schistosomiasis focus on protective immune responses or immunopathology resulting in fibrosis and severe hepatosplenic disease. Less severe forms of schistosomiasis as well as SMR have been neglected in these studies (14). Thus, the objective of the present work was to evaluate the expression of chemokines and IL-4 and IL-13, cytokines responsible for promoting Th2 responses, in serum and cerebral spinal fluid (CSF) of SMR patients.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Adult patients admitted to the Infectious Diseases Unit of the General Hospital of the Federal University of Minas Gerais, Brazil who had a diagnosis of SMR were invited to participate in this study. Fifteen patients with a new diagnosis of SMR entered the study (mean \pm SD age, years: 27.3 \pm 10.0; sex, M/F: 10/5).

SMR was defined according to the Centers for Disease Control criteria: presence of clinical signs and symptoms of lumbar myeloradiculopathy, evidence of low spinal cord lesion in magnetic resonance imaging (MRI) study, demonstration of schistosomal infection by parasitological techniques, and careful exclusion of other causes of myeloradiculopathy (7). Stool examination was done on three samples in different days in all patients. Rectal biopsy was performed in patients whose stool examination did not reveal *S. mansoni* eggs. All SMR patients underwent abdominal ultrasound examinations to evaluate the presence of liver damage, mainly periportal fibrosis. A comprehensive laboratory work-up was performed to exclude other causes of myelitis, including: blood cell count, fasting glucose, serum cyanocobalamin, lupus anticoagulant, antinuclear antibodies and serological studies for syphilis, hepatitis B, cytomegalovirus, herpes simplex virus, human T-cell lymphotropic virus (HTLV) types 1 and 2, and HIV (6).

For serum studies, 10 age-matched healthy volunteers (mean \pm SD age, years: 29.0 \pm 5.0; sex, M/F: 7/3) and 20 patients with schistosomiasis but no neurological involvement (mean \pm SD age, years: 30.5 \pm 7.0; sex, M/F: 14/6) were recruited. *Schistosoma mansoni* infection was confirmed by identification of the parasite eggs in at least one Kato-Katz thick-smear stool examination (15). The infected individuals were classified on the basis of physical and ultrasound examination as having the intestinal (INT) or hepatosplenic (HS) forms of the disease.

For CSF studies, 10 individuals (mean \pm SD age, years: 28.8 \pm 7.0; sex, M/F: 6/4) with no neurological disease undergoing lumbar puncture as part of an anesthetic procedure for surgical intervention were recruited as the control group. This was the only ethical way of obtaining CSF from neurologically healthy individuals. CSF was also collected from five patients (mean \pm SD age, years: 32.2 \pm 6.0; sex, M/F: 3/2) with HTLV-1-associated myelopathy or tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) undergoing CSF collection as part of their routine investigations. We used CSF from these patients as a positive control for an inflammatory disease of the CNS.

All subjects (patients and controls) included in this study were from the state of Minas Gerais, Brazil, where schistosomiasis is endemic. Procedures were in accordance with the ethical standards of the Ethical Committee on Human Experimentation of the University Hospital of the Federal University of Minas Gerais.

Magnetic resonance imaging

MRI studies were performed on a Magnetom Impact Expert superconducting 1.0 Tesla magnetic system (Siemens, Erlangen, Germany). Scans were obtained in sagittal and axial projections with repetition time (TR) of 500–700 ms and echo time (TE) of 12–15 ms, for T1-weighted images. The longer TR/TE (T2-weighted) images were acquired with TRs of 2000–5000 ms and TEs of 60–112 ms. T1 sequences were also obtained after intravenous administration of gadopentetate dimeglumine contrast material (gadolinium, 0.1 mmol/kg body weight). Slice thickness was 2–5 mm.

Serum processing for chemokine analysis

Blood was collected aseptically and serum prepared and stored at -70°C until required. For analysis, samples were thawed, and excess proteins removed by acid/salt precipitation, as routinely performed in our laboratory (11,12,16). Briefly, an equal volume of serum and 1.2% trifluoroacetic acid/1.35 M NaCl were mixed and left at room temperature for 10 min. The samples were then centrifuged for 5 min at 3000 g, and supernatants adjusted for salt content (0.14 M sodium chloride and 0.01 M sodium phosphate) and pH (4.7) for the determination of chemokine concentrations.

Chemokine and cytokine analysis

The concentration of chemokines and cytokines in serum and CSF of schistosomiasis patients and controls was measured using sandwich ELISA kits for IL-4 and IL-13 (BD Opteia, San Diego, CA, USA), CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL11/eotaxin, CCL24/eotaxin-2 and CXCL10/IP-10 (DuoSet R & D Systems, Minneapolis, MN, USA).

The first name of the chemokine refers to the International Nomenclature, while the second to the originally described name. All samples were assayed on duplicate and on the same plate. For CSF studies, samples were used undiluted. The detection limits for these assays were 5 pg/mL. Briefly, the capture antibody (concentration provided by the manufacturer) was diluted in phosphate-buffered saline (PBS), added to each well and left overnight at 4°C. The plate was washed four times in PBS with 0.05% Tween 20 (Sigma). The plate was blocked with 1% bovine serum albumin (BSA)/PBS and incubated for 1 h at room temperature before washing four times with PBS and 0.05% Tween 20. The samples were added and the plate incubated overnight at 4°C and washed as previously described. The detection antibody (concentration provided by the manufacturer) diluted in PBS was added, incubated for 2 h at room temperature and the plate washed as previously described. The color reagent (*o*-phenylenediamine) was added to each well and the reaction allowed to develop in the dark for 15 min. The reaction was stopped with the addition of 1 M H₂SO₄ to each well. The absorbance was read on a plate reader at 492 nm wavelength (Emax, Molecular Devices, MN, USA).

Statistical analysis

Categorical variables (sex, proportion of patients with detectable levels of cytokines) were analysed by Fisher's exact test or χ^2 test for independence when comparing two or more groups, respectively. As continuous data (cytokine values) had a non-normal distribution, differences between

two groups were evaluated using Mann-Whitney *U*, while differences among three or more groups were evaluated using Kruskal-Wallis. Post-hoc analysis of significance between groups was given by performing Dunn's multiple comparison test. Statistical significance was set at $P < 0.05$. All calculations were performed using INSTAT software (GraphPad, San Diego, CA, USA).

RESULTS

The characteristics of individual SMR patients who entered the study are summarized in Table 1. There was no statistical difference among the three groups – control, SMR and other forms of schistosomiasis – in age ($P = 0.45$) or sex ($P = 0.83$). Diagnosis of schistosomiasis was made by rectal biopsy in 46.7% of SMR patients. In the remaining SMR patients, there were occasional eggs in the stool that were deemed sufficient for diagnosis. Patients with the INT and HS forms of schistosomiasis had a median of 36 and 240 eggs/g of stool ($P < 0.05$), respectively.

Concentration of Th2 cytokines in serum and CSF

There was no significant difference between the concentration of the Th2 cytokine IL-4 in the serum and the CSF of SMR patients and control individuals (Table 2). Although the median concentration of IL-13 was similar in SMR patients and control individuals, the number of SMR patients who had detectable levels of IL-13 in CSF was greater than controls. SMR patients also tended to have

Table 1 Clinical, neuroimaging and laboratory findings of patients with schistosomal myeloradiculopathy

Patient	Age (years)	Sex	Time to diagnosis (days)	Initial clinical symptoms	Level of medullary lesion on MRI	Cerebrospinal fluid study		
						White cells (% eosinophils)	Glucose (mg/dL)	Proteins (mg/dL)
1	16	M	90	Lumbar pain	Thoracic, cone	0 (0)	51	55
2	19	M	14	Lower limb paresthesia	Cone	35 (2)	52	77
3	20	M	3	Lumbar pain	Thoracic, cone	8 (3)	43	96
4	21	F	7	Lumbar pain	Thoracic, cone	72 (3)	55	179
5	21	F	13	Urinary dysfunction	Thoracic, cone	8 (5)	47	81
6	21	M	10	Lumbar pain	Thoracic, cone	30 (0)	81	91
7	24	F	15	Lumbar pain, lower limb paresthesias	Thoracic, cone	56 (0)	77	39
8	26	F	5	Lower limb pain	Cone	90 (0)	69	53
9	26	M	30	Lumbar pain, paraparesis	Cauda equina	73 (3)	57	112
10	27	M	100	Lower limb pain	Low thoracic	3 (13)	46	87
11	28	M	12	Lower limb pain and paresthesias	Thoracic, cone	47 (3)	65	84
12	31	M	5	Lumbar pain	Cone	22 (0)	95	66
13	32	M	365	Lumbar pain	Thoracic, cone	29 (0)	106	34
14	42	M	120	Lower limb pain	Low thoracic	9 (0)	34	48
15	55	F	18	Lumbar pain	Thoracic, cone	190 (0)	51	63

MRI, magnetic resonance imaging.

Table 2 Levels of cytokines (pg/mL) in serum and CSF of SMR patients and controls. The *P*-value refers to the comparison between the number of subjects with detectable levels of cytokines in each group

Cytokines		Control (<i>n</i> = 10)	SMR (<i>n</i> = 15)	<i>P</i> -value
Serum IL-4	Median	0	0	0.18
	(25–75th percentile)	(0–0)	(0–4.5)	
	% detectable	10%	40%	
CSF IL-4	Median	0	0	0.34
	(25–75th percentile)	(0–0)	(0–3)	
	% detectable	10%	33%	
Serum IL-13	Median	0	0	0.08
	(25–75th percentile)	(0–0)	(0–51.5)	
	% detectable	10%	46.6%	
CSF IL-13	Median	0	5.0	0.04
	(25–75th percentile)	(0–0)	(0–10.9)	
	% detectable	10%	53.3%	

CSF, cerebral spinal fluid; SMR, schistosomal myeloradiculopathy.

more detectable levels of serum IL-13 (Table 2). HAM/TSP patients had no detectable levels of IL-4 and IL-13 in CSF.

Concentration of chemokines in serum and CSF

There was a significant increase in the serum concentration of the CC chemokines CCL2/MCP-1 ($P < 0.01$) and CCL3/MIP-1 α ($P < 0.05$) in patients with schistosomiasis when compared to non-infected subjects. Of note, whereas the concentration of CCL2/MCP-1 and CCL3/MIP-1 α was similar among control individuals, INT and SMR patients, HS patients had greater higher levels than the other groups (Fig. 1). Patients with schistosomiasis had increased levels of serum CCL11/eotaxin when compared to non-infected individuals ($P < 0.001$) and there did not appear to be a difference between the different subtypes of clinical presentation (Fig. 1). The levels of CCL24/eotaxin-2 were greater in infected than non-infected subjects ($P < 0.001$). In a subgroup analysis, HS and SMR patients presented higher concentration of serum CCL24/eotaxin-2 than INT patients and control individuals (Fig. 1). There was no difference among the groups in the CXCL10/IP-10 serum levels (data not shown).

Most control subjects, SMR and HAM/TSP patients had nondetectable CSF levels of CCL3/MIP-1 α , CCL11/eotaxin and CCL24/eotaxin-2; and there were no differences among them (data not shown). The CSF concentrations of CCL2/MCP-1 and CXCL10/IP-10 were similar in controls and SMR patients. For comparison, HAM/TSP patients had higher levels of CCL2/MCP-1 and CXCL10/IP-10 in CSF (Fig. 2).

DISCUSSION

Chemokines, a contraction of the terms 'chemoattractant' and 'cytokine', are a subgroup of cytokines with selective chemoattractant properties. They are thought to play a major role in the recruitment of leukocytes to sites of tissue damage in the nervous system. Abnormalities in the concentration of chemokines and of their receptors have been described in many neurological disorders, such as infectious meningitis, demyelinating neuropathies, inflammatory myopathies and multiple sclerosis (13,17,18). To the best of our knowledge, no study has evaluated the concentration of chemokines in serum or CSF of patients with SMR.

In a previous study, we found increased plasma levels of CCL3/MIP-1 α and CCL11/eotaxin in *S. mansoni*-infected patients (11,12). Moreover, when patients were grouped according to disease severity, individuals with higher plasma levels of CCL3/MIP-1 α had a greater risk of developing the hepatosplenic form of schistosomiasis. In the present work, there was no abnormality in the serum levels of CCL2/MCP-1 and CCL3/MIP-1 α chemokines in INT and SMR patients. HS patients had increased levels of these same chemokines, reinforcing the view that CCL3/MIP-1 α is associated with the most severe forms of human schistosomiasis (11,12). All groups of schistosomiasis patients had greater concentrations of serum CCL11/eotaxin, but only HS and SMR had increased levels of serum CCL24/eotaxin-2. Overall, the pattern of chemokine concentration in serum of SMR patients (low CCL2 and CCL3, high CCL11 and CCL24) was closer to those of INT (low CCL2, CCL3 and CCL24, high CCL11) than HS (high CCL2, CCL3, CCL11 and CCL24) patients. This is consistent with the fact that neurological involvement has usually been described in patients with the intestinal form of schistosomiasis and never in hepatosplenics (2,3,6).

In contrast to the determinations in serum, there were no differences in the concentration of chemokines in CSF of SMR patients when compared to neurologically healthy controls. This unexpected finding may be consistent with a lack of intrathecal production of the chemokines. However, as the CSF of SMR patients revealed mild increase in white cells and protein concentration suggesting blood-brain barrier leakage (Table 1), chemokines could be secreted by inflammatory cells but would be sequestered within the medullary microenvironment (19). The findings of localized medullary lesions on MRI studies of SMR patients support the latter possibility. One further possibility would be production of chemokines by CNS endothelium, leading to elevated serum levels, but unaltered CSF levels. There are reports showing the ability of endothelial cells to secrete chemokines in models of CNS inflammation (20).

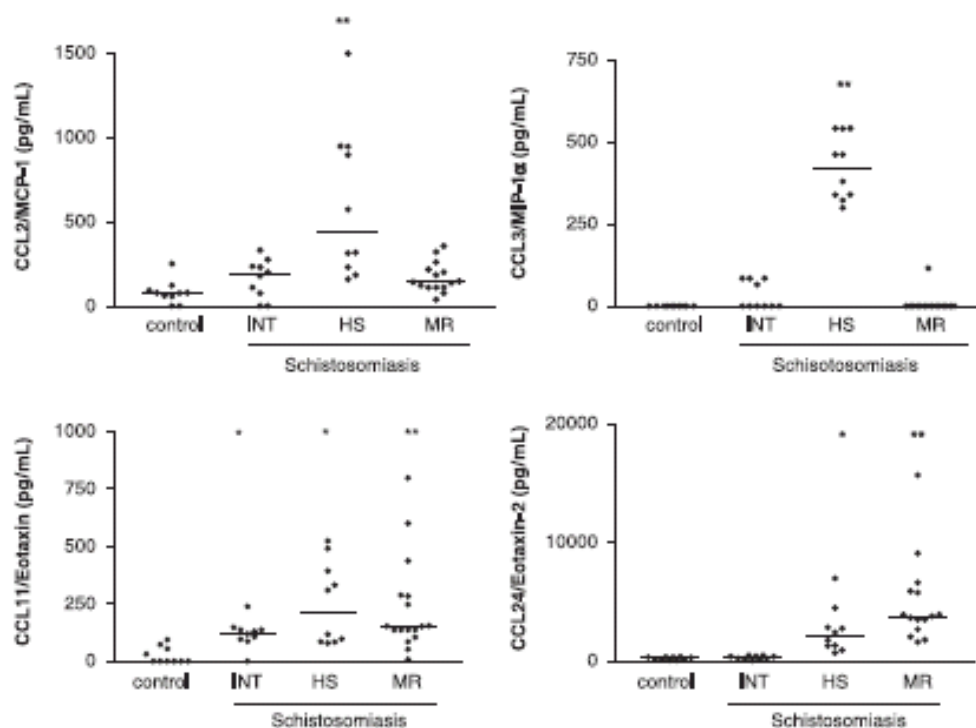


Figure 1 Levels of chemokines in serum of patients with different forms of schistosomiasis (INT intestinal; HS hepatosplenic; MR myeloradiculopathy) and controls. * $P<0.05$ when compared to control; ** $P<0.001$ when compared to control.

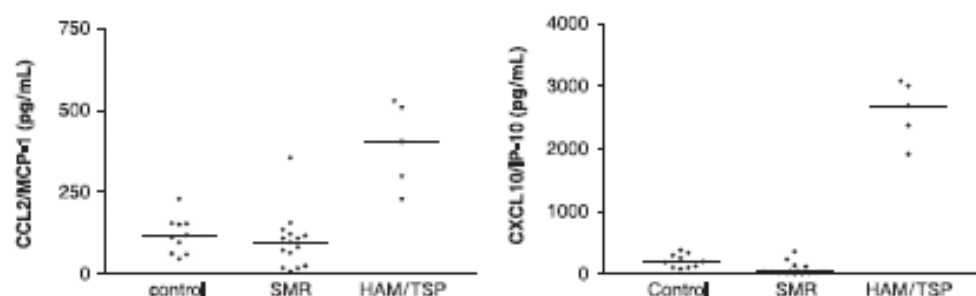


Figure 2 Levels of chemokines in CSF of schistosomal myeloradiculopathy (SMR) patients, HTLV-associated myelopathy (HAM/TSP) patients and controls.

Patients with HAM/TSP, a chronic immune-mediated myelopathy caused by HTLV, displayed higher CSF levels of CXCL10/IP-10 and CCL2/MCP-1. The increased CSF level of CXCL10/IP-10 in HAM/TSP has been recently described (21). This CSF study finding might have an implication for the differential diagnosis of myeloradiculopathy that includes several conditions, such as spinal cord tumours and infectious, inflammatory and demyelinating diseases. As a definite diagnosis would require histological examination of the spinal cord lesion and this procedure has potential serious consequences,

alternative markers for diseases, such as chemokines, would be of much interest. For instance, increased CSF levels of CCL2/MCP-1 and CXCL10/IP-10 would suggest an inflammatory myelopathy other than SMR (13). Furthermore, it is well established that multiple sclerosis relapses, including cases of transverse myelitis, are associated with increased CSF concentration of CXCL10/IP-10, but decreased CSF level of CCL2/MCP-1 (17,18). Further prospective studies should clarify the usefulness of CSF measurement of chemokines in the differential diagnosis of inflammatory diseases of the CNS.

The Th2 cytokine IL-13 was found more frequently and apparently at higher concentrations in SMR patients than in control subjects. IL-13 is produced by Th2 lymphocytes and also promotes Th2 responses. In addition, several studies have now shown that IL-13 is effective at inducing chemokines, especially CCR3-acting chemokines including eotaxin and eotaxin-2 (22). Conversely, CCR3-acting chemokines themselves may promote the migration of Th2 lymphocytes which produce IL-13. Such cooperation between IL-13 and chemokines is thought to be relevant in the pathophysiology of allergic pulmonary diseases (22). The finding of elevated eotaxin, eotaxin-2 and IL-13 in our patients is consistent with a putative role of an IL-13/chemokine axis in the pathophysiology of SMR. The finding is also consistent with the view that Th2 cells are important players in the immune response against *S. mansoni* infection (9,10).

In conclusion, our data demonstrate a preferential detection of chemokines in serum rather than in CSF of patients with SMR. Overall, the chemokine profile of SMR patients (low CCL2 and CCL3, high CCL11 and CCL24) is closer to those with the intestinal (low CCL2, CCL3 and CCL24, high CCL11) than the hepatosplenic (high CCL2, CCL3, CCL11 and CCL24) form of the disease. Finally, SMR patients present enhancement of both IL-13 and CCR3 acting chemokines, both of which may facilitate the expression of a Th2 response and Th2-dependent damage to the spinal cord.

ACKNOWLEDGMENTS

This investigation received financial support from the UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR A20748), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) and Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig, Brazil).

REFERENCES

- Silva LC, Maciel PE, Ribas JG *et al*. Schistosomal myeloradiculopathy. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37: 261–272.
- Carod Artal FJ, Vargas AP, Horan TA, Marinho PB & Coelho Costa PH. *Schistosoma mansoni* myelopathy: clinical and pathologic findings. *Neurology* 2004; 63: 388–391.
- Nobre V, Silva LC, Ribas JG *et al*. Schistosomal myeloradiculopathy due to *Schistosoma mansoni*: report on 23 cases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 137–141.
- Camargos ST, Dantas FR & Teixeira AL. Schistosomal myelopathy mimicking spinal cord neoplasm. *Scand J Infect Dis* 2005; 37: 365–367.
- Lambertucci JR, Serufo JC, Gerspacher-Lara R *et al*. *Schistosoma mansoni*: assessment on morbidity before and after control. *Acta Trop* 2000; 77: 101–109.
- Silva LC, Maciel PE, Ribas JG, Souza-Pereira SR, Antunes CM & Lambertucci JR. Treatment of schistosomal myeloradiculopathy with praziquantel and corticosteroids and evaluation by magnetic resonance imaging: a longitudinal study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 1618–1624.
- Centers for Disease Control. Acute schistosomiasis with transverse myelitis in American students returning from Kenya. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1984; 33: 445–447.
- Pittella JE. Neuroschistosomiasis. *Brain Pathol* 1997; 7: 649–662.
- Pearce EJ. Priming of the immune response by schistosome eggs. *Parasite Immunol* 2005; 27: 265–270.
- Ross AG, Bartley PB, Sleight AC *et al*. Schistosomiasis. *N Engl J Med* 2002; 344: 1212–1220.
- Falcão PL, Corrêa-Oliveira R, Fraga LA *et al*. Plasma concentrations and role of macrophage inflammatory protein-1 α during chronic *Schistosoma mansoni* infection in humans. *J Infect Dis* 2002; 186: 1696–1700.
- Souza AL, Roffê E, Pinho V *et al*. Potential role of chemokine macrophage inflammatory protein-1 α in human and experimental schistosomiasis. *Infect Immun* 2005; 73: 2515–2523.
- Ransohoff RM. The chemokine system in neuroinflammation: an update. *J Infect Dis* 2002; 186 (Suppl. 2): S152–S156.
- Secor WE. Immunology of human schistosomiasis: off the beaten path. *Parasite Immunol* 2005; 27: 309–316.
- Katz N, Chaves A & Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosoma mansoni*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1972; 14: 397–400.
- Teixeira AL, Cardoso F, Souza ALS & Teixeira MM. Increased serum concentrations of monokine induced by interferon- γ /CXCL9 and interferon- γ -inducible protein 10/CXCL10 in Sydenham's chorea patients. *J Neuroimmunol* 2004; 150: 157–162.
- Sorensen TL, Tani M, Jensen J *et al*. Expression of specific chemokines and chemokine receptors in the central nervous system of multiple sclerosis patients. *J Clin Invest* 1999; 103: 807–815.
- Trebst C & Ransohoff RM. Investigating chemokines and chemokine receptors in patients with multiple sclerosis: opportunities and challenges. *Arch Neurol* 2001; 58: 1975–1980.
- Proudfoot AE, Handel TM, Johnson Z *et al*. Glycosaminoglycan binding and oligomerization are essential for the *in vivo* activity of certain chemokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 1885–1990.
- Kieseier BC, Tari M, Mahad D *et al*. Chemokines and chemokine receptors in inflammatory demyelinating neuropathies: a central role for IP-10. *Brain* 2002; 125: 823–834.
- Narikawa K, Fujihara K, Mitsu T *et al*. CSF chemokines in HTLV-1 associated myelopathy: CXCL10 up-regulation and therapeutic effect of interferon- α . *J Neuroimmunol* 2005; 159: 177–182.
- Zimmermann N, Hershey GK, Foster PS & Rothenberg ME. Chemokines in asthma: cooperative interaction between chemokines and IL-13. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 227–242.

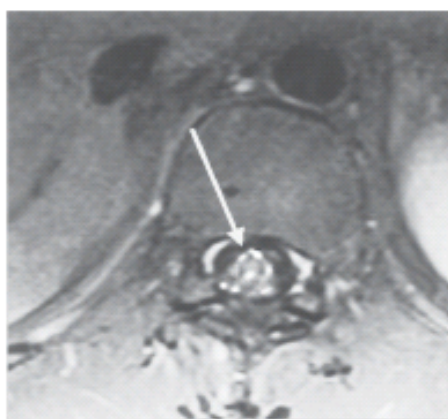
Myeloradiculopathy in acute schistosomiasis mansoni

Mielorradiculopatia na esquistossomose mansônica aguda

José Roberto Lambertucci¹, Silvio Roberto Sousa-Pereira¹
and Luciana Cristina dos Santos Silva¹



A



B

¹ Serviço de Doenças Infecciosas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG
Address to: Prof. José Roberto Lambertucci, Faculdade de Medicina/UFMG, Av. Alfredo Balena 190, 30130-100 Belo Horizonte, MG, Brazil.
e-mail: lambor@ufmg.br
Received for publication on 1/4/2005
Accepted on 6/4/2005

A 22-year-old man was admitted to hospital complaining of fever, diarrhea, low back pain radiating to the lower limbs, paresthesia and weakness, which started 2 days earlier. Forty days before onset of the present symptoms, he together with seven friends had bathed in a small river of a town located 100km to the north of Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. Three out of his seven comrades also developed fever and diarrhea and were admitted to another hospital. In all of them, *S. mansoni* eggs were identified in the stools. His neurological symptoms evolved rapidly with paraparesis (he was unable to walk without support) and urinary retention. Complete blood cell count revealed leukocytosis, and 924 eosinophils/mm³. Cerebral spinal fluid obtained by a lumbar tap showed 62 cells/mm³, and 8% eosinophils (5 cells). Magnetic resonance imaging (MRI) of the spinal cord detected moderate enlargement of the conus medullaris in a T1-weighted sequence with signal enhancement following intravenous gadolinium injection (Figure A, sagittal projection – arrow). In Figure B (arrow), in an axial projection after intravenous contrast administration, there was intense granular impregnation of the low thoracic spinal cord. The patient was treated with oral praziquantel (50mg/kg in a single dose) and received methylprednisolone (1g q.d.) for 5 days, followed by oral prednisone (1mg/kg, body weight) for 6 months. He improved quickly and 2 months later achieved complete recovery, without limitations. Yet, at the time, he still complained of slight paresthesia in the right leg.

O paciente, de 22 anos, chegou ao hospital com queixas de febre, diarréia, dor lombar irradiando para os membros inferiores, parestesia e fraqueza de início havia dois dias. Quarenta dias antes do início da doença, ele e outros sete colegas banharam-se em um riacho, cerca de 100km ao norte de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Três dos sete companheiros que participaram do passeio também desenvolveram febre e diarréia

e foram admitidos em outros hospitais. Em todos, ovos de *S. mansoni* foram identificados nas fezes. A doença neurológica progrediu rapidamente e ele desenvolveu paraparesia (era incapaz de andar sem ajuda) e retenção urinária. O hemograma revelou leucocitose com eosinofilia (924 células/mm³). O líquor mostrou celularidade aumentada (62 células/mm³), com 8% de eosinófilos (5 células). A ressonância magnética da medula espinhal documentou alargamento moderado do cone medular na seqüência ponderada T1, com aumento de sinal após a injeção intravenosa de gadolínio (Figura A, corte sagital – seta). A Figura B (seta), em projeção axial, após a administração intravenosa de contraste, revela intensa impregnação granular do contraste na medula espinhal, em região torácica baixa. O paciente foi tratado com praziquantel por via oral (50mg/kg de peso em dose única) e recebeu terapia de pulso com metilprednisolona (1g/dia) por cinco dias, seguido de prednisona oral (1mg/kg de peso) por seis meses. Houve rápida melhora clínica e dois meses depois ele apresentava recuperação completa, sem limitações. Nessa ocasião, o paciente ainda queixava-se de discreta parestesia em perna direita.

REFERENCES

1. Nobre V, Silva LC, Ribas JC, Reyes A, Senulo JC, Lana-Peixoto MA, Mariano HF, Lambertucci JR. Schistosomal myeloradiculopathy due to *Schistosoma mansoni*: report on 23 cases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96 (Suppl): 137-141, 2001.
2. Silva LC, Maciel PI, Ribas JC, Pereira SR, Senulo J, Andrade LM, Antunes CM, Lambertucci JR. Schistosomal myeloradiculopathy. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37: 261-272, 2004.
3. Silva LCS, Maciel PI, Ribas JCR, Sousa-Pereira SR, Antunes, CM, Lambertucci JR. Treatment of schistosomal myeloradiculopathy with praziquantel and corticosteroids and evaluation by magnetic resonance imaging: a longitudinal study. *Clinical Infectious Diseases* 39: 1618-1624, 2004.

ANEXO F – CASO DE MIELORRADICULOPATIA ESQUISTOSSOMÓTICA



Fotografias de paciente com mielorradiculopatia esquistossomótica internado no Hospital das Clínicas da UFMG, com quadro de paraparesia, atrofia muscular em MMII, nível sensitivo em T12 e presença de cistostomia (devido a complicações ureterais).