

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-graduação em Patologia

CLARA LUCAS BERNARDINO FELIX

**IMUNOPATOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM LINHAGENS
MURINAS DEFICIENTES PARA MASTÓCITOS**

Belo Horizonte

2025

CLARA LUCAS BERNARDINO FELIX

**IMUNOPATOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI EM LINHAGENS
MURINAS DEFICIENTES PARA MASTÓCITOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais, com requisito para a obtenção do título de Doutora em Patologia.

Área de Concentração: Patologia Experimental

Orientador: Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier

Coorientadora: Dr^a. Paula Vieira Teixeira Vidigal

Belo Horizonte

2025

043

Felix, Clara Lucas Bernardino.

Imunopatologia da esquistossomose mansoni em linhagens murinas deficientes para mastócitos [manuscrito] / Clara Lucas Bernardino Felix. – 2025. 181 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier. Coorientadora: Dr^a. Paula Vieira Teixeira Vidigal.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Patologia.

1. Patologia. 2. Schistosoma mansoni. 3. Esquistossomose. 4. Mastócitos. 5. Sistema Imunitário. I. Xavier, Marcelo Antônio Pascoal. II. Vidigal, Paula Vieira Teixeira. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 616



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ICB - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFMG - ICB/UFMG - SECRETARIA

**ATA DA DEFESA DA TESE DE DOUTORADO Nº 511 DE CLARA LUCAS BERNARDINO
FELIX**

Realizou-se, no dia 11 de dezembro de 2025, às 14:00 horas, no formato on-line, a defesa de Tese, intitulada *"Imunopatologia da esquistossomose mansoni em linhagens murinas deficientes para mastócitos"*, apresentada por **Clara Lucas Bernardino Felix**, número de registro 2021662238, graduada no curso de Biomedicina, e como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor em PATOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: **Profa. Dra. Paula Piedade Garcia**, FM/UFMG; **Profa. Dra. Déborah Aparecida Negrão-Corrêa**, FM/UFMG; **Profa. Dra. Andréa Teixeira de Carvalho**, FIOCRUZ/MG; **Profa. Dra. Milene Alvarenga Rachid**, ICB/UFMG; **Prof. Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier**, FM/UFMG – **ORIENTADOR**.

A Comissão considerou a Tese:

(X) APROVADA

() REPROVADA

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 11 de dezembro de 2025.

*** De acordo com as Normas Gerais de Pós-Graduação da UFMG o grau de Doutor só será concedido ao aluno que entregar ao Colegiado do Curso, no prazo máximo de 60 dias, a versão final da Tese, em conformidade com as indicações da Comissão Examinadora. Após a entrega da versão final com a documentação exigida para emissão de diploma, a secretaria emitirá Certificado de Conclusão do Doutorado.**



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Antonio Pascoal Xavier**, Professor do Magistério Superior, em 11/12/2025, às 18:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paula Piedade Garcia**, Professora do Magistério Superior, em 29/12/2025, às 21:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Deborah Aparecida Negrão Correa**, Professora do Magistério Superior, em 30/12/2025, às 17:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Milene Alvarenga Rachid**, Servidor(a), em 30/12/2025, às 23:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andréa Teixeira de Carvalho**, Usuário Externo, em 06/02/2026, às 07:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Em memória de Cecília Bernardino Felix (27/08/2024)

Minha florzinha... Minha amada filha!

AGRADECIMENTOS

A minha trajetória no doutorado foi uma vivência transformadora, tanto na perspectiva profissional, quanto pessoal, onde me recordo com muito carinho de dois aprendizados que me marcaram no início dessa jornada.

A primeira foi a frase de Van Gogh, que dizia:

"Se ouvir uma voz de dentro de você dizendo que você não é capaz de pintar, pinte a qualquer custo e essa voz será silenciada."

E assim continuei... em meio aos medos, receios de incapacidade e inseguranças continuei e hoje acredito que essa voz já não evidencia tanto quem eu sou e aonde posso chegar!

A segunda foi uma canção do Frei Gilson, que de forma sutil ecoou um convite dentro de mim, um convite que a cada dia durante esses árduos anos da pós-graduação, sustentou a continuar a ser perseverante e confiar no melhor, o melhor de Deus!

"Deixa Deus sonhar em ti, deixa. Deixa Deus sonhar em ti! Não tenhas medo, é Deus quem te segura. Segue além, segue além [...] Verás um caminho difícil demais, verás tempestades que te assustarão, mas quando o sonho é Deus ninguém destruirás, se Ele prometeu também cumprirá, tenha paciência e saiba esperar, o melhor de Deus virá [...]"

Assim, posso iniciar esse agradecimento no anseio de entoar louvores a Deus em agradecimento por tamanha bondade e sustento para com a minha vida, mesmo diante dos desafios e das dores de transformação.

Obrigada por ter me visto em meio à multidão, me amado e convidado para ir além, mesmo em meio as tempestades, desafios e tribulações, hoje essa conquista é testemunho de quão grande é o Senhor, onde nunca nos desampara e sustenta para continuarmos. Obrigada, por tanta bondade para com a minha vida, por ser auxílio e conforto para continuar, seja através de uma canção, poema, frase, nascer do sol, soprar do vento e tantos outros momentos que no simples percebi sua presença e auxílio!

Agradeço ao meu marido, Edson, sei que a vida nos proporcionou intensos desafios na nossa jornada matrimonial, mas mesmo diante desses desafios que bom que tive você ao meu lado, sendo suporte, consolo, abraço, escuta, paciência, cuidado, abrigo, segurança e confiança para a vivência deste tempo... A vida é boa com você! Obrigada por todos os seus esforços, renúncias e cuidados para que alcançasse essa conquista.

Agradeço ao meu primeiro filho, Daniel, que de maneira única me ensinou a ter habilidades inimagináveis para a construção do doutorado, compreendendo “a mamãe vai trabalhar” e me proporcionando a vivência dos cuidados que somente a maternidade é capaz de proporcionar. Obrigada meu amado filho por me ensinar tanto, por me impulsionar a ser uma pessoa melhor!

Agradeço e recordo com muito carinho da minha filha Cecília, *in memoriam*, minha amada florzinha! A sua vida foi um doce bálsamo na minha... Sinto saudades de ti, mas sigo continuando daqui, me lembrando que você veio para gerar vida, mesmo diante da morte.

Nas surpresas da vida, agradeço a minha filha Teresa, que hoje faz morada em meu ventre, vai sendo companhia nessa reta final do doutorado e permitindo viver novos horizontes da vida, construindo sonhos e ressignificando histórias.

Agradeço aos meus pais, Denise e Aluizio, por todo esforço e dedicação que tiveram por mim, às minhas irmãs, Paula e Gisely e aos meus cunhados, Wislan e Renan, por todo incentivo.

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Marcelo Pascoal, por todo ensinamento e cuidado durante essa caminhada, que me permitiram sentir o cuidado nos momentos de alegria e fragilidade vivenciado. A minha co-orientadora, professora Dra. Paula Vidigal, obrigada pelas boas risadas e docilidade de ensino.

Agradeço com muito entusiasmo e gratidão os ensinamentos, paciência e confiança de três grandes pesquisadores professores que me forjaram a ser melhor, a realizar os meus sonhos de infância (ser pesquisadora) e a aprender muito diante da sabedoria, experiência de vida, docência e ciência deles. Muito obrigada professores Dr. Elio Babá, Dr. José Renan e Dr. Paulo Marcos. Obrigada por serem inspiração e ensinamento profissional e pessoal nessa vida!

Agradeço a toda equipe do Biotério do IRR, a Dra. Ana Carolina e Dra. Fernanda Trindade por toda paciência e disponibilidade para o esclarecimento das dúvidas e necessidades relacionadas ao modelo murino, a toda equipe do Biotério, de modo especial a Elem Maria, Rosângela

Pereira, Paloma Ruttiely e o Marcelo da Silva por todo cuidado e auxílio com os meus camundongos. A equipe do Moluscário do IRR, de modo especial a Dra. Lângia Montessor, pelo auxílio, cuidado e ensinamento na compreensão das cercárias e dos desafios da vida.

Agradeço a todos os colegas do Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG, do Laboratório DATA e IDV do IRR - FIOCRUZ/MG. E de modo muito especial agradeço aos meus colegas de profissão que tornaram todo esse caminho rico em aprendizados, conhecimentos, boas risadas e algumas lágrimas... Muito obrigada Áureo Almeida, Dra. Cristhiane Oliveira, Dra. Fernanda Aranha, Fernanda César, Fernanda Gambogi, Fernanda Oliveira, Jussara Miranda, Dra. Patrícia Martins, Priscilla Fernanda e Sueleny Teixeira por todo apoio técnico e amizade construída ao longo dessa trajetória científica.

Agradeço a professora Dra. Renata Guerra, pelas suas sábias palavras que forjaram o meu caminho profissional e a Dra. Flávia Arêdes e Dra. Thayane Alves por todo cuidado, esforço e acolhimento em Ouro Preto. Agradeço aos professores Dra. Rafaela Fortini, Dr. Marcus Vinícius e Dr. Wander Jeremias pela paciência e ensino. Agradeço a todos que colaboraram para a realização do projeto, direta e indiretamente, e ao órgão de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro que possibilitou o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço aos amigos que iniciaram essa jornada comigo, mas hoje percorremos caminhos diferentes, aos amigos que chegaram durante essa jornada e aqueles que permanecem até hoje. Obrigada por terem de alguma maneira sido auxílio durante essa árdua caminhada, com risadas, conselhos, consolo, orações e abraços.

Não encontro as mais sinceras palavras para expressar o brilho dos meus olhos por poder ter essa experiência profissional, mas deixo externar os meus sinceros e profundo agradecimento a todos que direta ou indiretamente me ajudaram a realizar este projeto, busca profissional ou sonho... Muito obrigada!

“Deus não poderia me inspirar desejos irrealizáveis, portanto, posso, apesar da minha pequenez, aspirar à santidade.” Santa Teresinha do Menino Jesus

RESUMO

No Brasil, a esquistossomose é uma doença endêmica e negligenciada, configurando-se em um grave problema de saúde pública. As manifestações clínicas no hospedeiro humano estão associadas à reação inflamatória granulomatosa aos ovos do parasito, em decorrência das atividades de células que compõem o sistema imunológico. Entretanto, o papel dos mastócitos na imunopatogênese da esquistossomose é muito pouco conhecido, evidenciando uma lacuna de conhecimento que pode ser mitigada com a utilização de modelos murinos. A presente pesquisa analisou, através do monitoramento clínico e análises parasitológicas, macroscópicas, histológicas, imunológicas e sorológicas, um grupo controle ($Kit^{+/+}$), que contém mastócitos, constituído por 116 camundongos e um grupo deficiente para mastócitos ($Kit^{W-sh/W-sh}$), constituído por 110 camundongos. Os resultados parasitológicos evidenciaram uma diferença significativa entre os grupos, relacionada à maior detecção de ovos dos parasitos nas fezes dos camundongos com mastócitos. Na análise de peso dos camundongos e dos órgãos fígado e baço foram observadas diferenças significativas entre os camundongos dos grupos. Nas análises histopatológicas do fígado, baço, pulmão e pâncreas, foram observadas maiores proporções de alterações estruturais e da resposta inflamatória no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ e nos segmentos intestinais delgado e grosso, foram observadas no grupo com mastócitos. Nas análises imunológicas foram observadas maiores concentrações dos mediadores imunes TGF- β , IL-10 e IL-33 no grupo com mastócitos. Em relação à análise da resposta imunológica sistêmica, foram observadas menores concentrações de quimiocinas, citocinas reguladoras e reguladoras nos camundongos do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$. Em conjunto, estes resultados, demonstram a importância dos mastócitos na resposta imune do hospedeiro contra o *Schistosoma mansoni*, reduzindo o dano tecidual da resposta inflamatória granulomatosa e contribuindo para uma melhor compreensão da imunopatologia da esquistossomose, bem como a participação e atuação dos mastócitos nessa doença.

Palavra-Chave: *Schistosoma mansoni*; esquistossomose; imunopatologia; mastócitos; modelo murino.

ABSTRACT

In Brazil, schistosomiasis is an endemic and neglected disease that represents a major public health problem. The clinical manifestations in the human host are associated with the granulomatous inflammatory response to parasite eggs, resulting from the activity of cells that compose the immune system. However, the role of mast cells in the immunopathogenesis of schistosomiasis remains poorly understood, highlighting a knowledge gap that can be addressed using murine models. This study analyzed, through clinical monitoring and parasitological, macroscopic, histological, immunological, and serological assessments, a control group containing mast cells (Kit^{+/+}; n = 116 mice) and a mast cell-deficient group (Kit^{W-sh/W-sh}, n = 110 mice). Parasitological analyses revealed a significant difference between groups, with higher detection of parasite eggs in the feces of mice with mast cells. Significant differences were also observed in the body weight of the mice and in liver and spleen weights between the groups. Histopathological analyses of the liver, spleen, lung, and pancreas demonstrated a higher proportion of structural alterations and inflammatory responses in the Kit^{W-sh/W-sh} group, whereas greater alterations in the small and large intestinal segments were observed in the mast cell-sufficient group. Immunological analyses showed higher concentrations of the immune mediators TGF- β , IL-10, and IL-33 in the mast cell-sufficient group. Regarding the systemic immune response, lower concentrations of chemokines and regulatory and anti-inflammatory cytokines were observed in mice from the Kit^{W-sh/W-sh} group. Taken together, these results demonstrate the importance of mast cells in the host immune response against *Schistosoma mansoni*, reducing tissue damage associated with the granulomatous inflammatory response and contributing to a better understanding of the immunopathology of schistosomiasis and the role of mast cells in this disease.

Keywords: *Schistosoma mansoni*; schistosomiasis; immunopathology; mast cells; murine model.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BALT	<i>Bronchus Associated Lymphoid Tissue</i> (Tecido Linfoide Associado ao Brônquio)
BIOP	Biotério de Produção
BIOTEX	Biotério de Experimentação
c-Kit	Tirosina-proteína quinase KIT
CAPI	Centro de Aquisição e Processamento de Imagens
CD4+	Grupamento de diferenciação 4 +
CDC	Centro de Controle de Doenças
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal
d.p.i.	dias pós infecção
DATA	Laboratório de Doenças Infecciosas e Câncer
FCεRI	Receptor de Imunoglobulina E de Alta Afinidade
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HE	Hematoxilina & Eosina
HPJ	Hoffman, Pons e Janer ou Lutz
IDV	Laboratório de Imunologia de Doenças Virais
IFN-γ	Interferon-gama
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
IRR	Instituto René Rachou
MCM	<i>Mucosal Mast Cells</i> (Mastócitos da Mucosa)
MCTC	<i>Connective Tissue Mast Cells</i> (Mastócitos do Tecido Conjutivo)
Min	Minutos
N	Número
PAF	<i>Platelet Activating Factor</i> (Fator de Ativação Plaquetário)
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i> (Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas)
Pág.	Página
S.	<i>Schistosoma</i>
SEA	<i>Soluble Egg Antigens</i> (Antígenos Solúveis do Ovo)
Seg.	Segundos

TGF-β	<i>Transformative Growth Factor beta</i> (Fator de Crescimento Transformante beta)
Th1	Células T CD4 ⁺ auxiliaadoras do tipo 1
Th2	Células T CD4 ⁺ auxiliaadoras do tipo 2
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i> (Fator de Necrose Tumoral alfa)
Tregs	Células T reguladoras
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)
ml	Microlitros
A	Alfa
B	Beta
Γ	Gamma
(+/+)	<i>Kit</i> ^{+/+}
(-/-)	<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo evolutivo do parasito de <i>Schistosoma mansoni</i> no hospedeiro vertebrado e invertebrado.....	24
Figura 2 - Citocinas e quimiocinas importantes na resposta granulomatosa aos ovos de <i>S. mansoni</i> presentes no fígado.....	30
Figura 3 - Citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento liberados pelos Mastócitos	33
Figura 4 - Diagrama com a distribuição dos camundongos do grupo Controle ($Kit^{+/+}$) e Deficiente ($Kit^{W-sh/W-sh}$)	40
Figura 5 - Representação da colônia de camundongos heterozigotos ($Kit^{W-sh/Kit^{+}}$)	41
Figura 6 - Imagens de amostras representativas do baço dos camundongos $Kit^{W-sh/W-sh}$ e $Kit^{+/+}$ infectados por <i>Schistosoma mansoni</i>	71
Figura 7 - Achados histopatológicos da estrutura hepática dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> eutanasiados no tempo de 140 d.p.i.....	75
Figura 8 - Achados histopatológicos relacionados à arquitetura do espaço porta no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	79
Figura 9 - Achados histopatológicos da análise do infiltrado inflamatório no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>S. mansoni</i>	82
Figura 10 - Achados histopatológicos da análise da atividade inflamatória periportal e no parênquima hepático dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	92
Figura 11 - Achados histopatológicos do baço dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> eutanasiados no tempo de 70 d.p.i.	102
Figura 12 - Achados histopatológicos da estrutura pulmonar dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> eutanasiados com 70d.p.i.	107
Figura 13 - Achados histopatológicos da quantidade de granulomas no intestino delgado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> eutanasiados com 140d.p.i.	113
Figura 14 - Tricrômico de Masson no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	118
Figura 15 - Azul de Toluidina no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	119
Figura 16 - Pannel geral das reações imuno-histoquímicas no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	121

Figura 17 - Paine! geral das reações imuno-histoquímicas no fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	141
Figura 18 - Síntese dos principais resultados observados entre os camundongos infectados por <i>Schistosoma mansoni</i> nos grupos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	144

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Análise comparativa da média do peso dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ no tempo de “45 dias”	60
Gráfico 2 - Análise comparativa da média do peso dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ no tempo de “70 dias”	61
Gráfico 3 - Análise comparativa da média do peso dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ no tempo de “140 dias”	62
Gráfico 4 - Peso corporal dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ na data da eutanásia	66
Gráfico 5 - Peso do fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ na data da eutanásia	68
Gráfico 6 - Peso do baço dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ na data da eutanásia	70
Gráfico 7 - Análise da estrutura hepática dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados por <i>Schistosoma mansoni</i>	73
Gráfico 8 - Análise da arquitetura do espaço porta no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	76
Gráfico 9 - Análise do infiltrado inflamatório no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	80
Gráfico 10 - Análise da quantidade de granulomas no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	84
Gráfico 11 - Análise da fase do granuloma no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	86
Gráfico 12 - Análise da atividade inflamatória periportal no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	88
Gráfico 13 - Análise da atividade inflamatória no parênquima no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	90
Gráfico 14 - Análise da estrutura do baço dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	95
Gráfico 15 - Análise da estrutura do pulmão dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	104
Gráfico 16 - Análise do Tecido Linfoide associado ao Brônquio (BALT) dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação de características fenotípicas dos camundongos mutantes.....	35
Tabela 2 - Estruturação do Delineamento Experimental.....	42
Tabela 3 - Parâmetros Avaliados de acordo com Experimento e Tempo de Eutanásia	43
Tabela 4 - Descrição dos mediadores imunes utilizado na marcação da imuno-histoquímica	53
Tabela 5 - Valores percentuais da distribuição dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia.....	58
Tabela 6 - Valores percentuais da perda de pelo conforme a variável de infecção nos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$	63
Tabela 7 - Valores percentuais da recuperação dos vermes conforme a variável do tempo de eutanásia dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$	65
Tabela 8 - Média do peso dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia e infecção	67
Tabela 9 - Média do peso do fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia e infecção	69
Tabela 10 - Média do peso do baço dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia e infecção	72
Tabela 11 - Valores percentuais da estrutura do fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	74
Tabela 12 - Valores percentuais da arquitetura do espaço porta do fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	77
Tabela 13 - Valores percentuais do infiltrado inflamatório do fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	81
Tabela 14 - Valores percentuais da presença de granulomas no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	83
Tabela 15 - Valores percentuais da quantidade de granulomas no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	85
Tabela 16 - Valores percentuais da fase dos granulomas no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	87

Tabela 17 - Valores percentuais da atividade inflamatória periportal dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	89
Tabela 18 - Valores percentuais da atividade inflamatória no parênquima dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	91
Tabela 19 - Valores percentuais da viabilidade dos ovos no fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	93
Tabela 20 - Descrição das variáveis de importância clínica da esquistossomose mansoni nos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	94
Tabela 21 - Valores percentuais da estrutura do baço dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	96
Tabela 22 - Valores percentuais da estrutura do baço dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	97
Tabela 23 - Valores percentuais da polpa vermelha dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	98
Tabela 24 - Valores percentuais da polpa vermelha dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	99
Tabela 25 - Valores percentuais da polpa branca dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	100
Tabela 26 - Valores percentuais da polpa branca dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	101
Tabela 27 - Valores percentuais da estrutura do pulmão dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	105
Tabela 28 - Valores percentuais da estrutura do pulmão dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia.....	106
Tabela 29 - Valores percentuais do espessamento dos septos dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados e não infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	111
Tabela 30 - Valores percentuais da fibrose de substituição no fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> conforme a variável do tempo de eutanásia	117
Tabela 31 - Intensidade da imunorreatividade da IL-33 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	123

Tabela 32 - Distribuição da imunorreatividade da IL-33 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	124
Tabela 33 - Escore da imunorreatividade da IL-33 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	125
Tabela 34 - Intensidade da imunorreatividade da IL-10 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	126
Tabela 35 - Distribuição da imunorreatividade da IL-10 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	127
Tabela 36 - Escore da imunorreatividade da IL-10 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	128
Tabela 37 - Intensidade da imunorreatividade da IL-4 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	129
Tabela 38 - Distribuição da imunorreatividade da IL-4 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	130
Tabela 39 - Escore da imunorreatividade da IL-4 nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	131
Tabela 40 - Intensidade da imunorreatividade da VEGF nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	132
Tabela 41 - Distribuição da imunorreatividade da VEGF nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	133
Tabela 42 - Escore da imunorreatividade da VEGF nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	134
Tabela 43 - Intensidade da imunorreatividade PDGF nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	135
Tabela 44 - Distribuição da imunorreatividade do PDGF nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	136
Tabela 45 - Escore da imunorreatividade do PDGF nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	137
Tabela 46 - Intensidade da imunorreatividade da TGF-β nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	138
Tabela 47 - Distribuição da imunorreatividade da TGF-β nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	139
Tabela 48 - Escore da imunorreatividade da TGF-β nas amostras de fígado dos camundongos <i>Kit</i> ^{+/+} e <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia	140

Tabela 49 - Comparação da concentração de mediadores imunes nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, de acordo com a infecção e tempo de eutanásia	143
--	-----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REFERENCIAL TEÓRICO	23
2.1	Esquistossomose mansoni	23
2.2	Histopatologia da esquistossomose mansoni	25
2.3	Imunopatogênese da Esquistossomose mansoni	27
2.4	Mastócitos	30
2.5	Modelo Murino	34
3	JUSTIFICATIVA	37
4	OBJETIVO	39
4.1	Objetivo Geral	39
4.2	Objetivos Específicos	39
5	MATERIAIS E MÉTODOS	40
5.1	Aspecto Ético	40
5.2	Modelo Murino	40
5.3	Delineamento Experimental	42
5.4	Infecção dos Camundongos por Via Percutânea	44
5.5	Contagem das cercárias para a Infecção dos camundongos	45
5.6	Monitoramento Clínico	46
5.7	Exame Parasitológica das Fezes	47
5.8	Eutanásia dos Camundongos	48
5.9	Análise Microscópica: Coloração de Hematoxilina & Eosina	49
5.10	Colorações Especiais: Azul de Toluidina e Tricrômico de Masson	51
5.11	Análise das marcações dos anticorpos por Imuno-histoquímica	52
5.12	Análises Sorológicas pela tecnologia de imunoensaio LUMINEX	55
5.13	Análise Estatística	56
6	RESULTADOS	57
6.1	População do Estudo de Pesquisa	57
6.2	Monitoramento Clínico	58

6.3	Análises Parasitológicas.....	63
6.3.1	Exame parasitológico de fezes	63
6.3.2	Recuperação dos vermes adultos.....	64
6.4	Pesagem dos camundongos na eutanásia	65
6.5	Análise macroscópica descritiva dos órgãos durante a necropsia.....	67
6.5.1	Fígado	67
6.5.2	Baço.....	69
6.6	Análises Microscópicas.....	72
6.6.1	Alterações Hepáticas	72
6.6.2	Alterações Esplênicas	94
6.6.3	Alterações Pulmonares	103
6.6.4	Alterações Intestinais - Intestino Delgado.....	111
6.6.5	Alterações Intestinais - Intestino Grosso	114
6.6.6	Alterações Pancreáticas	115
6.6.7	Coloração Especial: Tricrômico de Masson.....	116
6.6.8	Coloração Especial: Azul de Toluidina.....	118
6.7	Análise Imuno-histoquímica	120
6.7.1	IL-33	122
6.7.2	IL-10	125
6.7.3	IL-4.....	128
6.7.4	VEGF.....	131
6.7.5	PDGF.....	134
6.7.6	TGF- β	137
6.8	Análise Sorológica	140
6.8.1	Quimiocinas.....	142
6.8.2	Citocinas Pró-inflamatórias	143
6.8.3	Citocinas reguladoras	144
7	DISCUSSÃO	145

8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	156
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	157
10	ANEXOS	169
10.1	Anexo A: Comitê de Ética no Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz.....	169
10.2	Anexo B: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica do fígado.	170
10.3	Anexo C: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica do baço....	171
10.4	Anexo D: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica do pulmão.....	172
10.5	Anexo E: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica do pâncreas.....	173
10.6	Anexo F: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica dos intestinos.....	174
10.7	Anexo G: Média da concentração das quimiocinas no sangue periférico.....	175
10.8	Anexo H: Média da concentração das citocinas pró-inflamatórias no sangue periférico.....	176
10.9	Anexo I: Média da concentração das citocinas reguladoras no sangue periférico	177

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença negligenciada causada pela infecção por helmintos do gênero *Schistosoma*. No Brasil, a espécie *Schistosoma mansoni* é o agente etiológico desta doença, conhecida popularmente como “xistose”, “barriga d’água” e “doença dos caramujos” (KATZ & ALMEIDA, 2003; BARBOSA *et. al.*, 2008; McMANUS *et. al.*, 2018; BRASIL, 2024), endêmica em grande extensão do território e um grave problema de Saúde Pública no Brasil (NOYA *et. al.*, 2015; KATZ, 2018; BRASIL, 2024).

Essa parasitose acomete cerca de 240 milhões de pessoas no mundo, com ocorrência em 78 países na África, Ásia e Américas, onde também é considerada como um grave problema de Saúde Pública. Nas Américas, o Brasil é o país com maior prevalência de esquistossomose, com cerca de 1,5 milhão de pessoas infectadas por *Schistosoma mansoni*. Esse expressivo quantitativo de casos se deve, entre outros, às diversidades geográfica, climática, econômica e social brasileiras, que favorecem a manutenção do ciclo de vida do parasito (CRUZ; SALAZAR &CORTE, 2020; BRASIL, 2024).

As manifestações clínicas da esquistossomose no hospedeiro humano são classificadas em forma aguda (fase inicial) e forma crônica (fase tardia) e são provocadas principalmente pela resposta imune do próprio hospedeiro devido a infecção. Considerando que a principal característica histopatológica da doença é o desenvolvimento de granulomas em torno dos ovos do parasito e que a formação deste granuloma depende da participação das células que constituem a resposta imune inata, como os macrófagos, neutrófilos e eosinófilos, (LENZI, *et. al.*, 2008; ANDRADE, 2008; McMANUS *et. al.*, 2020; MALTA *et. al.*, 2021; BRASIL, 2024), porém, ainda existe uma importante lacuna de conhecimento sobre a participação dos mastócitos na imunopatologia dessa parasitose.

Os mastócitos possuem um relevante potencial de secreção de mediadores químicos atuantes na modulação do sistema imunológico e no processo de defesa do hospedeiro, podendo destacar a expressão do receptor FCεRI, que tem afinidade e capacidade de se ligar ao anticorpo imunoglobulina E (IgE) fixado à superfície dos parasitos, direcionando uma resposta celular antiparasitária. A ativação dos mastócitos ocorre quando seus receptores celulares se ligam ao antígeno, induzindo eventos de sinalização intracelular que acarreta a

liberação do conteúdo presente nos grânulos citoplasmáticos para o espaço extracelular (RECH & GRAÇA, 2006; SANTOS *et. al.*, 2010; COSTANZA; COLOMBO & PEDOTTI, 2011; MUKAI *et. al.*, 2018; GALLI; GAUDENZIO & TSAI 2020; ABBAS *et.al.*, 2023; WORRALL & REBER, 2025).

Modelos murinos têm sido muito utilizados para analisar a imunopatologia da esquistossomose, possibilitando uma melhor compreensão da doença em humanos a partir dos estudos da resposta imunológica e das alterações histopatológicas observadas (ATTA, *et. al.*, 1981; CHEEVER, *et. al.* 2002; BURKE, *et. al.*, 2009; ABDUL-GHANI & HASSAN, 2010).

No caso do estudo dos mastócitos, o modelo experimental deficiente para o receptor *c-Kit* é utilizado para analisar o desenvolvimento e função destas células em patologias de interesse médico (COSTANZA; COLOMBO & PEDOTTI, 2011; MUKAI, *et. al.*, 2016). Devido à deficiência do receptor *c-Kit* em camundongos, observa-se a ausência de mastócitos circulantes e teciduais, essa característica viabiliza sua utilização como modelo experimental para o estudo das respostas imunes na ausência dos mastócitos, permitindo investigar a sua função em diferentes tecidos, contribuindo para a compreensão dos mecanismos de proteção contra infecções e reinfecções, bem como das possíveis consequências imunopatológicas decorrentes da ausência de mastócitos durante processos infecciosos. (GRIMBALDESTON, *et. al.*, 2005; REBER; MARICHAL & GALLI, 2012; GALLI; GAUDENZIO & TSAI, 2020).

Assim, devido a existência de uma lacuna de conhecimento sobre a participação dos mastócitos nas respostas ao *Schistosoma mansoni* e à alta incidência desta parasitose no mundo, o presente trabalho objetivou analisar a imunopatologia da esquistossomose mansoni em modelo experimental deficiente em mastócitos para então produzir evidências e esclarecimentos sobre a participação das células na modulação da resposta imunopatológica do hospedeiro à infecção esquistossomótica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Esquistossomose mansoni

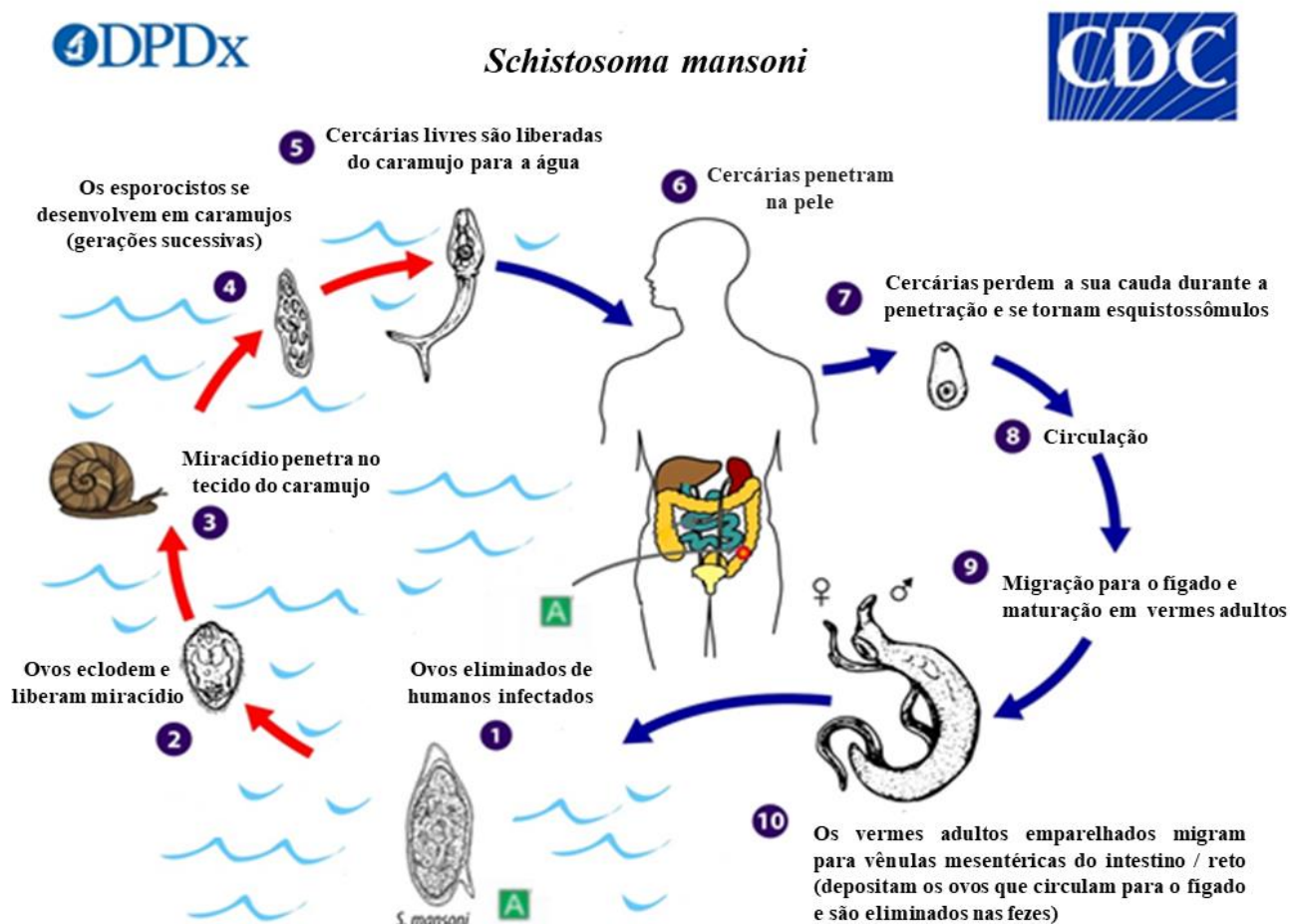
A esquistossomose, doença parasitária causada por trematódeos do gênero *Schistosoma*, é considerada uma das principais doenças tropicais negligenciadas no mundo e um grave problema de Saúde Pública (BARBOSA *et. al.*, 2008; BRASIL, 2024). Nas Américas, o Brasil é o país com maior prevalência da doença, com histórico de alta endemicidade nos estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe e Minas Gerais, a transmissão da doença está associada a fatores ambientais, climáticos, geográficos e socioeconômicos que favorecem a manutenção do ciclo biológico do parasito, especialmente em regiões com condições sanitárias inadequadas e presença do hospedeiro intermediário (KATZ, 2018; BRASIL, 2019; BRASIL, 2024).

O agente causador da esquistossomose no Brasil é o *Schistosoma mansoni*, sendo conhecida popularmente como “xistose”, “barriga d’água” e “doença dos caramujos”. Este parasito tem um ciclo heteroxênico, no qual o seu desenvolvimento depende de um hospedeiro invertebrado intermediário, o molusco do gênero *Biomphalaria*, e um hospedeiro vertebrado definitivo, como o ser humano (KATZ & ALMEIDA, 2003; NOYA, *et. al.*, 2015; McMANUS, *et. al.*, 2018; BRASIL, 2024). A manutenção do ciclo de vida do parasito (Figura 01) ocorre quando as fezes contendo os ovos de *S. mansoni* entram em contato com recursos hídricos, onde os ovos maduros eclodem e liberam o miracídio que, ao penetrarem no molusco do gênero *Biomphalaria*, transformam-se em esporocistos. A partir desse ponto inicia-se a reprodução assexuada, transformam-se em esporocisto primário e por poliembryonia em esporocisto secundário, dando origem a numerosas cercárias, que são as formas infectantes para o hospedeiro definitivo (BRASIL, 2008; SILVA; NEVES & GOMES, 2008; COELHO *et. al.*, 2008; BARBOSA, GOMES, OLIVEIRA, 2024).

No hospedeiro definitivo, a infecção ocorre quando o homem tem contato com recursos hídricos contaminados com cercárias de *S. mansoni* e é infectado pela penetração dos parasitos através da pele e mucosas. Após a penetração das cercárias, inicia-se um processo de adaptação bioquímica e morfológica específica para esquistossômulos que migram através da corrente sanguínea e/ou via linfática para o lado direito do coração, sendo

distribuídos via artéria pulmonar até os pulmões, onde o seu desenvolvimento completa-se nos vasos e veias do sistema intra-hepáticos, transformando-se em vermes adultos (macho ou fêmea) e atingindo a maturidade sexual. Em seguida, os casais migram para veias mesentéricas próximas ao intestino, onde realizam a postura dos ovos que podem ser encontradas nas fezes do hospedeiro, entretanto os ovos que não chegam à luz intestinal são carregados pela corrente sanguínea e acumulam-se nos tecidos, principalmente no fígado, onde são alvos da resposta imune, induzindo a uma resposta granulomatosa imunomediada ao redor dos ovos, que pode evoluir com fibrose tissular (MILLER, WILSON, 1978, 1980; LENZI, *et. al.*, 2008; COLEY, *et. al.*, 2014; NATION, *et. al.*, 2020; ALIBRAHIM, *et. al.*, 2024; BRASIL, 2024).

Figura 1 - Ciclo evolutivo do parasito de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro vertebrado e invertebrado



Fonte: adaptado CDC, 2019.

A evolução da infecção por *S. mansoni* pode provocar manifestações clínicas no hospedeiro definitivo em duas fases: aguda e crônica. A fase aguda é o estágio inicial da doença, quando o indivíduo pode apresentar dermatite cercariana, síndrome de *Katayama* e manifestações inespecíficas, como febre, mal-estar, emagrecimento, dor abdominal, náuseas e diarreia. A fase crônica está relacionada principalmente a resposta inflamatória devido a presença dos ovos de *S. mansoni* no organismo do hospedeiro vertebrado, sendo caracterizado distúrbios vasculares, pulmonares e formas clínicas hepatointestinal, hepatoesplênica e hepática, evidenciando como principal característica a reação granulomatosa em torno dos ovos com infiltrado inflamatório celular na região periportal, com consequente formação de tecido fibrótico, conhecida como fibrose de *Symmers* (1904). Todo esse processo de desenvolvimento da doença, desde a fase aguda até a fase crônica é muito complexo e depende, fundamentalmente, da interação do parasito com o sistema imunológico do hospedeiro (LENZI, *et. al.*, 2008; ANDRADE, 2008; GOMES; DOMINGUES & BARBOSA, 2017; LoVERDE, 2019; McMANUS, *et. al.*, 2020; BRASILEIRO FILHO, 2021).

2.2 Histopatologia da esquistossomose mansoni

As respostas inflamatórias e imunológicas contra o verme adulto e os ovos de *S. mansoni*, são mediadas pelas citocinas, quimiocinas e células do sistema imune, sendo cruciais para o estabelecimento das lesões teciduais observadas na esquistossomose mansoni (SILVA; SANTANA & JESUS, 2008; CARVALHO; FILHO & OLIVEIRA, 2008; BRASILEIRO FILHO, 2021).

As alterações morfológicas mais características da esquistossomose mansoni são observadas no fígado, que apresenta fibrose portal e periportal, com formação de septos conjuntivos que interconectam espaços portais adjacentes e alterações vasculares. Microscopicamente o fígado pode apresentar alargamento fibroso dos espaços portais e dos septos, e lesões obstrutivas e destrutivas dos ramos intra-hepáticos da veia porta, que foram ocluídos por fibrose, constituindo a fibrose de *Symmers-Bogliolo*. Outro achado histopatológico comum é a proliferação da rede arterial hepática nos espaços portais. No parênquima hepático

observa-se a conservação da sua estrutura lobular, mas também pode-se observar atrofia, congestão sinusoidal e fibrose perissinusoidal. E a formação de septos fibrosos finos e longos a partir de espaços portais em direção ao parênquima, às vezes interconectando espaços portais adjacentes (ANDRADE, 2008; BRASILEIRO FILHO, 2021).

Apresentando-se também nos espaços portais, granulomas em torno de ovos de *S. mansoni* são encontrados em grande número e em diferentes estágios evolutivos, como estágios pré-granulomatosos (Fracamente/inicialmente reativo e Exsudativo) e estágios granulomatosos (Exsudativo-produtivo; Produtivo; Involutivo) conforme descritos por Lenzi, *et.al.* (1998) que varia de acordo o tempo de evolução e da resposta imunitária do hospedeiro. Os granulomas podem ser encontrados com diferentes composições celulares, no qual são constituídos principalmente por células gigantes multinucleadas, macrófagos epitelioides e quantidade variável de linfócitos, eosinófilos e ocasionais plasmócitos (CHEEVER, *et. al.*, 1987; LENZI, *et. al.*, 2008B; AMARAL, *et. al.*, 2017; MALTA, *et. al.*, 2021; BRASILEIRO FILHO, 2021).

No baço, há hiperplasia e proliferação das células do sistema retículo endotelial, congestão, dilatação e fibrose dos cordões venosos intraesplênicos, o que desencadeia a retenção de células sanguíneas, tendo domínio pelas alterações que atingem a polpa vermelha e ocasionando um grau de atrofia da polpa branca (NEVES, 1986; COUTINHO & DOMINGUES, 1993; ANDRADE, ANDRADE, 1965; ANDRADE, 2008; BRASIL, 2024).

Na forma pulmonar, os ovos de *S. mansoni* podem se alojar nas arteríolas pulmonares ou nos capilares septais, promovendo obstrução vascular e desencadeando reação inflamatória granulomatosa. O número de granulomas formados e a gravidade da hipertensão pulmonar associada variam de acordo com a carga parasitária do hospedeiro definitivo, bem como com a intensidade da deposição de imunocomplexos circulantes. A presença dos ovos obstruindo as arteríolas pulmonares ocasiona o depósito de fibrina, proliferação de células endoteliais, infiltração de células inflamatórias mononucleadas e eosinófilos com formação de células gigantes em torno dos ovos. Cujos, o processo pode ocasionar a lesão plexiforme em ramos arteriais pequenos, representando a proliferação de paredes delgadas ao lado ou em torno de segmentos arteriais e pequenos vasos tortuosos (NEVES, *et. al.*, 1978; NIEMANN, *et. al.*, 2010; PAPAMATHEAKIS, *et. al.*, 2014; BRASILEIRO FILHO, 2021).

No pâncreas, pode-se observar a presença de alterações vasculares, com um discreto espessamento intimal, lesões inflamatórias e fibróticas no parênquima do órgão, de forma difusa e focal (FILHO; ANDRADE, 1973). A presença de granulomas com ovo ou sem ovo, foram escassos com pouca alteração no parênquima do órgão, observando alguns ovos sem qualquer reação inflamatória em torno, como também descrito no relato de caso de Raso e Filho (2014).

No intestino pode-se observar inflamação, hiperplasia, ulceração e formação de microabcessos devido a retenção dos ovos na parede intestinal, além de achados histológicos como granulomas em diferentes fases evolutivas, isolados ou múltiplos, podendo observar em torno dos ovos granulomas fibrosados com a presença ou ausência dos ovos (BRASILEIRO FILHO, 2021).

2.3 Imunopatogênese da Esquistossomose mansoni

No começo da infecção, a partir da penetração cutânea da cercária no hospedeiro vertebrado, observa-se uma importante reação inflamatória dérmica e subdérmica. Essa dermatite cercariana é considerada a primeira linha de defesa contra a infecção, devido a sua capacidade de destruir cercárias e esquistossômulos ainda na pele. A reação inflamatória no local, pode desencadear a partir de um contato prévio, a resposta de hipersensibilidade do tipo I, que ocasiona a ativação e degranulação dos mastócitos mediada por IgE, tendo a liberação de grânulos e mediadores inflamatórios (LENZI, *et. al.*, 2008B; SILVA; SANTANA & JESUS, 2008; SOUZA *et al.*, 2011; GIESECK; WILSON; WYNN, 2018).

Em seguida, durante a migração dos esquistossômulos, ocorre a diferenciação e maturação dos vermes adultos, a resposta imune do tipo 1 (Th1) e células CD4⁺ são predominantes, com a produção de interferon-gama (IFN- γ), interleucina-2 (IL-2), IL-12 e citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), IL-1 e IL-6 e baixa produção de citocinas do tipo 2 (Th2) (SILVA; SANTANA & JESUS, 2008; CARVALHO; FILHO & OLIVEIRA, 2008; ZHENG, *et. al.*, 2020; MALTA, *et. al.*, 2022). Os mediadores imunológicos específicos que estimulam a patogênese da fase aguda e os antígenos do parasito que induzem a resposta do hospedeiro definitivo ainda não estão totalmente

esclarecidos, mas, diversos estudos ao longo dos anos vêm demonstrando que os antígenos dos esquistossômulos são, de fato, os mediadores das respostas imunológicas (HIATT *et al.* 1979; CAPRON; DESSAINT 1985; BUTTERWORTH *et al.* 1994; SILVA; SANTANA & JESUS, 2008; BURKE, *et. al.*, 2009; LI, *et. al.*, 2020).

Durante o desenvolvimento do parasito em verme adulto e a produção de ovos, ocorre liberação de antígenos que ocasionam a diminuição da resposta Th1 e o aumento da resposta Th2, com a produção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 (GIESECK; WILSON; WYNN, 2018; ZHENG, *et. al.*, 2020; MALTA, *et. al.*, 2022). Essa mudança no tipo de resposta tem sido relacionada principalmente à produção de IL-4, que tem como importante atividade a determinação do perfil da resposta imune Th2, induzindo o aumento da expressão dos receptores de alta afinidade para IgE, como eosinófilos e mastócitos, através do reconhecimento dos antígenos solúveis do ovo (SEA). Esses antígenos induzem a produção de citocinas Th2 reguladoras que modulam a resposta Th1 e alteram a organização da resposta inflamatória nos tecidos (LENZI *et al.* 1998; CORRÊA-OLIVEIRA, *et. al.*, 1998; CHEEVER; HOFFMANN & WYNN, 2000; BURKE, *et. al.*, 2009; MUKAI, *et. al.*, 2016; ZHENG, *et. al.*, 2020).

Destaque importante deve ser dado a IL-10, citocina que também pode ser produzida por mastócitos, entretanto, na esquistossomose, sua principal fonte são células T CD4+, onde a IL-10 exerce papel fundamental na modulação da resposta inflamatória, promovendo a inibição da resposta Th1 e contribuindo para o controle da imunopatologia. Essa regulação resulta na redução da função citolítica e secretora das citocinas que são liberadas, como IL-2, que atua como fator de crescimento e ativação de células T, facilitando assim, o desenvolvimento da resposta Th2, demonstrado ser uma eficaz citocina na regulação das respostas Th1 e Th2. A IL-33, está fortemente associada à resposta imune Th2 e, conseqüentemente, à formação de granulomas e à fibrose hepática, tornando-se importante na resposta imune da esquistossomose mansoni, entretanto, o seu papel exato ainda é objeto de pesquisa e pode demonstrar complexidade (BURKE, *et. al.*, 2009; MUKAI, *et. al.*, 2016; ZHENG, *et. al.*, 2020).

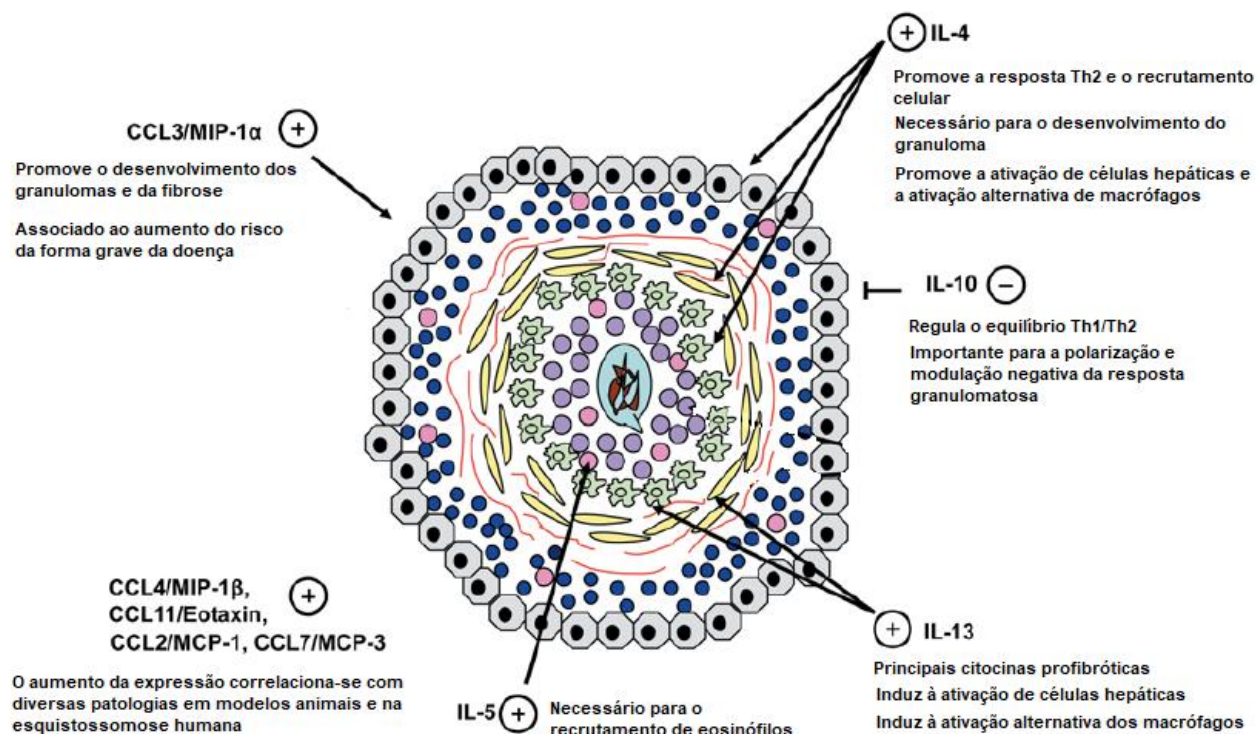
O granuloma, é caracterizado por ser uma reação inflamatória que circunda os ovos de *S. mansoni* (ANDRADE, 2008; LENZI, *et. al.*, 2008B; MALTA, *et. al.*, 2021). A participação de citocinas e quimiocinas apresenta uma função importante na formação e modulação da resposta granulomatosa, tendo a sua formação composta por macrófagos, eosinófilos,

mastócitos e linfócitos T e B, no qual essas células são recrutadas e acumulam-se em torno dos ovos, dando origem ao granuloma (BURKE, *et. al.*, 2009; MALTA, *et. al.*, 2021).

Considerando que o evento patogênico mais importante da doença é a formação e a modulação de granulomas hepáticos, podemos chamar a atenção para a IL-4 que atua como um fator determinante para o tamanho do granuloma, através da indução e proliferação de linfócitos produtores de citocinas, tornando-se também um importante potencializador para os efeitos da IL-13, que demonstra um importante papel na fibrogênese hepática e da IL-5, que estimula a proliferação de precursores e ativação dos eosinófilos, tornando-se necessária para o recrutamento dos eosinófilos na resposta granulomatosa. No granuloma, a IL-10 é uma citocina importante na regulação da reatividade granulomatosa, agindo no controle da inflamação, desempenhando um papel central na modulação da resposta imune (Th1/Th2) (BURKE, *et. al.*, 2009; MUKAI, *et. al.*, 2018; MALTA, *et. al.*, 2022).

As quimiocinas, atuam no recrutamento de células para os locais de inflamação e demonstram um provável papel no recrutamento de células para o granuloma, no qual, na fase inicial da formação, as células inflamatórias liberam quimiocinas, como MIP-1 α (CCL3), MIP-1 β (CCL4), MCP-3 (CCL7) e CCL11 (eotaxina) que se ligam aos seus receptores específicos e atuam na migração das células (BURKE, *et. al.*, 2009; MALTA, *et. al.*, 2022). Os componentes do granuloma induzidos pelo ovo do *S. mansoni*, estão demonstrados na Figura 02.

Figura 2 - Citocinas e quimiocinas importantes na resposta granulomatosa aos ovos de *S. mansoni* presentes no fígado



Fonte: adaptado Burke, *et. al.*, 2009.

Paralelamente à destruição dos ovos nos granulomas teciduais, ocorre um processo de fibrose e cicatrização, mediado principalmente por fibroblastos que produzem fibras da matriz extracelular, como o colágeno, atuando inicialmente como um mecanismo de reparo, limitando o dano tecidual e isolando os ovos do parasita, no entanto, quando o processo é exacerbado ou prolongado, a deposição excessiva de colágeno e outros componentes da matriz extracelular podem ocasionar a perda de função do tecido (ANDRADE, 2008; LENZI, *et. al.*, 2008B; GIESECK; WILSON; WYNN, 2018).

2.4 Mastócitos

Os mastócitos, são células originadas na medula óssea, provenientes de células progenitoras hematopoiéticas CD34+, que se tornam células agranulares indiferenciadas na circulação periférica em processo de maturação sob influência de microambientes relacionados com a área de contato dos parasitos e outros patógenos (DAHLIN & HALLGREN, 2015; GALLI *et. al.*, 2020; BRASILEIRO FILHO, 2021; ABBAS *et.al.*, 2023). O processo de diferenciação terminal dos mastócitos ocorre nos tecidos, onde o fator de células-tronco (ligante *c-Kit*) é uma citocina fundamental para o seu desenvolvimento, estando estrategicamente posicionados por todo o corpo, mas numerosamente na pele e no epitélio das mucosas do trato gastrointestinal e respiratório, sendo uma das primeiras células imunes a interagir com patógenos invasores (EL-AGAMYS, 2012; GALLI *et. al.*, 2020; ABBAS *et.al.*, 2023; WORRALL & REBER, 2025).

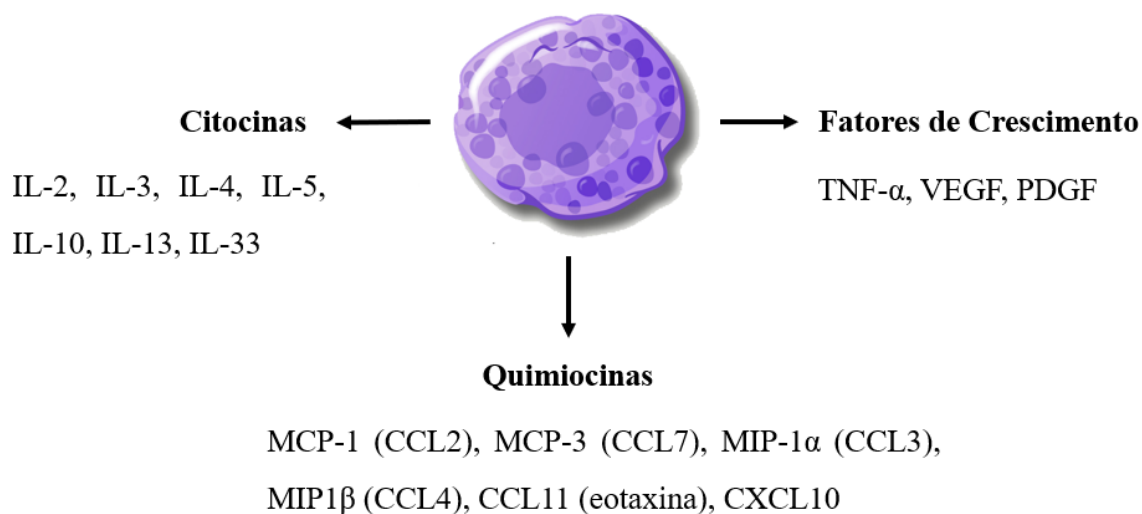
Os mastócitos participam dos mecanismos de defesa do organismo, estando envolvidos em processos fisiológicos, patológicos e imunológicos, sendo reconhecidos como células importantes na defesa contra helmintos. Em suas membranas, expressam receptores capazes de reconhecer diferentes estímulos, desencadeando a liberação de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, que desempenham papel fundamental na modulação do processo inflamatório (URB & SHEPPARD, 2012; WILGUS & WULFF, 2014; MUKAI, *et al.*, 2018; ABBAS *et.al.*, 2023).

A ativação clássica dos mastócitos quando imunoglobulinas previamente ligadas a receptores de alta afinidade em sua superfície reconhecem o antígeno correspondente, desencadeando sinais intracelulares que resultam na liberação do conteúdo dos grânulos citoplasmáticos para o espaço extracelular. Essa ativação pode ser dependente de IgE, mediada pelos receptores de alta afinidade FcεRI, nesse processo, a ligação é cruzada entre os antígenos e a IgE, que ao ligar ao receptor FcεRI induz a degranulação dos mastócitos, liberando aminas vasoativas, citocinas e quimiocinas que promovem inflamação e auxiliam na destruição do parasito. Além disso, os mastócitos podem ser ativados de forma independente da ligação cruzada de IgE e antígeno ao FcεRI, no qual essas vias adicionais são importantes em reações não imunomediadas ou em estímulos que podem atuar junto com a ativação clássica mediada pela IgE, reforçando ou modulando a resposta inflamatória (RECH; GRAÇA, 2006; COSTANZA; COLOMBO & PEDOTTI, 2011; GAUDENZIO, *et.al.*, 2016; ABBAS *et.al.*, 2023; WORRALL & REBER, 2025).

Os mastócitos são capazes de secretar um conjunto diversificado de mediadores após a ativação, incluindo histaminas, enzimas triptase, quimase, leucotrienos, prostaglandinas, Fator Ativador de Plaquetas (PAF) e citocinas, como interleucinas (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-33), Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), fatores de crescimento, como Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF) e Fator de Crescimento Transformante beta (TGF- β), quimiocinas, como MCP-1 (CCL2), MCP-3 (CCL7), MIP-1 α (CCL3), MIP-1 β (CCL4), CCL11 (eotaxina), RANTES (CCL5) (GALLI, NAKAE & TSAI, 2005; WILGUS & WULFF, 2014; WERNERSSON & PEJLER, 2014; MUKAI, *et al.*, 2018; GALVÁN-MORALES, *et al.*, 2025).

Entre os mediadores liberados pelos mastócitos (Figura 03), destacam-se diversas citocinas e fatores de crescimento que desempenham papéis fundamentais na modulação da resposta imunológica e nos processos de reparo tecidual. A IL-4 auxilia nas respostas imunes do tipo 2, sendo essencial para o desenvolvimento de células Th2 e para a ocorrência de reações alérgicas. A IL-10 contribui para a regulação da imunidade, exercendo um efeito anti-inflamatório que ajuda a controlar a intensidade da resposta imune. A IL-33 atua como uma importante alarmina, promovendo a produção de uma variedade de citocinas e quimiocinas após estimulação, amplificando a resposta inflamatória local. Por sua vez, a IL-2, quando liberadas pelos mastócitos, apresenta um papel complexo na modulação imunológica, estando envolvida tanto na redução da inflamação quanto na ativação das células T reguladoras (Tregs), que limitam a resposta imune e ajudam a prevenir danos teciduais. O TGF- β é fundamental para processos de fibrose, angiogênese e reparo tecidual, pois os mastócitos podem estimular a produção de colágeno tipo I pelos fibroblastos, além de liberar fatores de crescimento como VEGF e PDGF, que promovem a formação de novos vasos e a regeneração do tecido. Além dessas citocinas e fatores de crescimento, os mastócitos também liberam quimiocinas, que funcionam como mensageiros químicos, orientando a migração de células imunes para os locais de inflamação, infecção ou lesão tecidual. Dessa forma, a liberação desses mediadores pelos mastócitos integra a defesa imunológica e contribui para a manutenção e reparo do tecido lesionado (GALLI, NAKAE & TSAI, 2005; KATSANOS, *et al.*, 2008; WILGUS & WULFF, 2014; McLEOD, BAKER, RYAN, 2015; MUKAI, *et al.*, 2018; SOLIMANDO, DESANTIS & RIBATTI, 2022; GALVÁN-MORALES, *et al.*, 2025).

Figura 3 - Citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento liberados pelos Mastócitos



Durante as infecções parasitárias por helmintos, como *Schistosoma mansoni*, ocorre a indução de uma resposta imunológica complexa, caracterizada por uma fase inicial predominantemente inflamatória seguida por modulação imunológica associada à formação de granulomas hepáticos, no qual, os mastócitos desempenham papel relevante tanto na imunidade inata quanto na adaptativa, atuando como células sentinelas e moduladoras do microambiente inflamatório (RECH & GRAÇA, 2006; MUKAI, *et. al.*, 2016; WEISKIRCHEN, *et. al.*, 2019; WILGUS, UD-DIN & BAYAT, 2020).

Na fase inicial da infecção, os mastócitos participam da resposta imune inata por meio do reconhecimento de produtos do parasito e sinais de dano tecidual, ocorrendo a sua ativação através dos receptores de reconhecimento padrão, mediadores do complemento ou alarmina que culminam na liberação de mediadores pré-formados e proteases, no qual, esses mediadores promovem aumento da permeabilidade vascular, recrutamento de leucócitos e organização inicial do infiltrado inflamatório hepático (GALLI, *et. al.*, 2005; SILVA; SANTANA & JESUS, 2008; ABRAHAM & JOHN, 2010).

Considerando o início da deposição de ovos no fígado e a ocorrência da transição para uma resposta imune predominantemente do tipo Th2, os mastócitos, por meio da expressão do receptor de alta afinidade para IgE (Fc ϵ RI), participam da imunidade adaptativa ao se ligar na IgE, potencializando a sua ativação e favorecendo a produção de citocinas, como IL-4, IL-5 e IL-13, a secreção de IL-10 e TGF- β , sugerindo um papel na modulação da intensidade

da resposta inflamatória e na transição para a fase crônica da doença, através da liberação de mediadores profibróticos e fatores angiogênicos que contribuem para o remodelamento tecidual e para o desenvolvimento da fibrose periportal (PEARCE & MacDONALD, 2002; WYNN, *et. al.*, 2004; MARSHALL, 2004; GALLI, *et. al.*, 2005; KALESNIKOFF & GALLI, 2008; CARVALHO; FILHO & OLIVEIRA, 2008; GALLI & TSAI, 2012)

2.5 Modelo Murino

Modelos experimentais têm sido utilizados para auxiliar na compreensão da imunopatologia da esquistossomose, devido a sua similaridade com o sistema imune humano, possibilitando assim compreender e estudar a participação das células, como os mastócitos, através do uso de camundongos geneticamente modificados. No estudo e compreensão da participação dos mastócitos na parasitose utiliza-se como modelo experimental camundongos mutantes para o receptor *c-Kit*, essa mutação compromete o desenvolvimento e a presença de mastócitos circulantes e teciduais, permitindo a avaliação da resposta imunológica na ausência dessa célula, bem como a investigação e descrição da função e importância dos mastócitos na modulação e manutenção da resposta imune frente à doença estudada (GRIMBALDESTON, *et. al.*, 2005; ABDUL-GHANI & HASSAN, 2010; COSTANZA; COLOMBO & PEDOTTI, 2011; MUKAI, *et. al.*, 2016; GALLI; GAUDENZIO; TSAI 2020).

Estudos realizados com esses camundongos mutantes demonstram que os mastócitos exercem papéis relevantes em determinadas doenças autoimunes mediadas por anticorpos e células T, contudo, as mutações no gene *Kit* não afetam exclusivamente os mastócitos, mas também diversas linhagens celulares de origem imune e não imune, no qual, a sinalização de *Kit* é essencial não apenas para o desenvolvimento dos mastócitos, mas também para várias outras linhagens celulares, o que ressalta as limitações desses modelos (FEYERABEND, *et. al.*, 2011; MICHEL, *et. al.*, 2013; TSAI, VALENTE, GALLI, 2022).

Os modelos mais comumente utilizados para tais estudos tem sido o WBB6F₁ - *Kit*^{W/W^v} e C57BL/6-*Kit*^{W-sh/W-sh}, devido ao fato de apresentarem deficiência em mastócitos a partir da mutação do receptor *c-Kit*, resultando em um déficit embrionário e eventual abolição dos mastócitos logo após o nascimento, além da carência de melanócitos e células intersticiais

de Cajal. Entretanto, apesar da comum diferença entre os modelos, os camundongos da linhagem C57BL/6-*Kit*^{W-sh/W-sh}, tem sido mais utilizado devido ao fato de apresentarem anormalidades fenotípicas menos graves do que as observadas WBB6F₁- *Kit*^{W/W^v}, conforme descrito na Tabela 01. Apesar das limitações associadas às mutações no gene *Kit*, o modelo murino continua sendo uma ferramenta importante e amplamente empregada para o estudo da biologia dos mastócitos, viabilizando a análise funcional dessas células e permitindo investigar sua participação na resposta imune em diferentes contextos patológicos (METZ, *et. al.*, 2007; REBER; MARICHAL; GALLI, 2012; TSAI, VALENTE, GALLI, 2022).

Tabela 1 - Comparação de características fenotípicas dos camundongos mutantes

Características fenotípicas de camundongos ingênuos	Camundongos	Camundongos
	C57BL/6- <i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	WBB6F ₁ - <i>Kit</i> ^{W/W^v}
Marcadamente reduzido Sinalização KIT	Sim	Sim
Estéril	Não	Sim
Anêmico	Não	Sim
Praticamente não tem melanócitos	Sim	Sim
Ausência de células intersticiais de Cajal	Sim	Sim
Praticamente faltam mastócitos em todos os tecidos	Sim	Sim
Desenvolver populações de mastócitos após transferência de Kit+/p	Sim	Sim
BMMCs congênitos		
Células não fracionadas da medula óssea	Não	Sim
Níveis normais de neutrófilos e macrófagos na medula óssea, baço e cavidade peritoneal	Sim	Sim
Níveis normais de basófilos na medula óssea e no baço	Sim	Sim
Níveis normais de CD11c+ células dendríticas e células natural killer	Sim	Sim
cells no baço		
Níveis normais de células CD19+ B na medula óssea e no baço	Sim	Sim
Níveis normais de células T CD8+ e CD4+ no timo e no baço	Sim	Sim
Deficiência no número de células T no intestino delgado	Não	Sim
Exibir refluxo biliar	Sim	Sim
Desenvolver papilomas estomacais e úlcera	Não	Sim
Desenvolver dermatite idiopática	Não	Sim

Fonte: adaptado METZ, *et. al.*, 2007

Dessa maneira, devido existência da lacuna no conhecimento, na compreensão e na elucidação da participação dos mastócitos na resposta imune da esquistossomose o presente

trabalho objetivou caracterizar a imunopatologia da esquistossomose em modelo experimental deficiente em mastócitos para produzir evidências da participação dessas células na modulação da resposta imunopatológica do hospedeiro à infecção esquistossomótica.

3 JUSTIFICATIVA

A esquistossomose mansonii permanece como uma importante doença parasitária endêmica em diversas regiões do mundo, particularmente em países em desenvolvimento, onde constitui relevante problema de saúde pública. No Brasil, a infecção por *Schistosoma mansonii* apresenta ampla distribuição geográfica e mantém-se associada a condições socioambientais desfavoráveis, afetando milhares de indivíduos e contribuindo para significativa morbidade. As manifestações clínicas da doença estão diretamente relacionadas à resposta imunológica do hospedeiro frente aos ovos do parasito depositados nos tecidos, especialmente no fígado e no intestino, onde ocorre a formação de granulomas inflamatórios. Esse processo granulomatoso, embora represente um mecanismo de defesa do organismo, pode evoluir para alterações estruturais importantes, incluindo fibrose hepática e comprometimento funcional de órgãos.

A formação e a modulação do granuloma esquistossomótico constituem fenômenos complexos, resultantes da interação entre diferentes populações celulares do sistema imunológico e de uma ampla rede de mediadores inflamatórios. Diversos estudos têm demonstrado a participação de células como macrófagos, eosinófilos, linfócitos T e células dendríticas nesse processo. Entretanto, apesar dos avanços no entendimento da resposta imunológica associada à esquistossomose, o papel de outras células do sistema imune inato, particularmente os mastócitos, ainda permanece pouco elucidado.

Os mastócitos são células imunológicas residentes em tecidos, tradicionalmente reconhecidas por sua participação em respostas alérgicas e em mecanismos de defesa contra parasitos. Essas células possuem grande capacidade de liberação de mediadores bioativos, incluindo citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, capazes de modular o recrutamento celular, a resposta inflamatória e os processos de remodelamento tecidual. Em diferentes doenças infecciosas e inflamatórias, evidências indicam que os mastócitos podem atuar tanto na amplificação quanto na regulação da resposta imune. No entanto, na esquistossomose mansonii, ainda são escassos os estudos que investigam de forma sistemática a contribuição dessas células para a imunopatogênese da doença, especialmente no contexto da formação do granuloma e da modulação da inflamação tecidual.

Nesse cenário, a utilização de modelos experimentais em animais representa uma estratégia fundamental para o avanço do conhecimento sobre os mecanismos envolvidos na interação parasito-hospedeiro. Modelos murinos, em particular, têm sido amplamente empregados no estudo da esquistossomose experimental, permitindo a análise integrada de aspectos parasitológicos, imunológicos e histopatológicos da infecção. Entre esses modelos, camundongos geneticamente modificados deficientes em mastócitos constituem uma ferramenta valiosa para investigar, de forma mais específica, a participação dessas células na resposta imune. A comparação entre animais com e sem mastócitos possibilita avaliar como a ausência dessas células influencia a dinâmica da infecção, o recrutamento de células inflamatórias, a produção de mediadores imunológicos e o desenvolvimento de alterações estruturais nos tecidos afetados.

Diante disso, torna-se relevante investigar de maneira sistemática a participação dos mastócitos na esquistossomose experimental por *Schistosoma mansoni*, considerando não apenas aspectos parasitológicos, mas também alterações histopatológicas e imunológicas associadas à infecção. A compreensão mais aprofundada do papel dessas células na modulação da resposta inflamatória e na formação do granuloma pode contribuir para ampliar o entendimento da imunopatologia da doença, bem como fornecer subsídios para futuras abordagens terapêuticas ou estratégias de controle que considerem os mecanismos celulares envolvidos na resposta do hospedeiro ao parasito.

Assim, o presente estudo justifica-se pela necessidade de preencher lacunas existentes no conhecimento sobre a participação dos mastócitos na esquistossomose mansoni experimental, contribuindo para o avanço da pesquisa nas áreas de parasitologia, imunologia e patologia, além de fortalecer a compreensão dos processos celulares e moleculares que determinam a evolução da doença no hospedeiro.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo Geral

Caracterizar os aspectos imunopatológicos da esquistossomose mansoni em modelo murino deficiente para mastócitos.

4.2 Objetivos Específicos

- Realizar o monitoramento clínico e o exame parasitológico dos camundongos;
- Descrever e comparar as alterações macro e microscópicas do fígado, baço, pulmão, pâncreas e intestinos delgado e grosso dos camundongos infectados por *S. mansoni* nos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh};
- Analisar a presença de mastócitos, fibrose e a expressão dos mediadores imunes TGF- β , PDGF, VEGF, IL-4, IL-10 e IL-33 no fígado dos camundongos infetados;
- Quantificar as interleucinas, quimiocinas e citocinas no sangue periférico.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

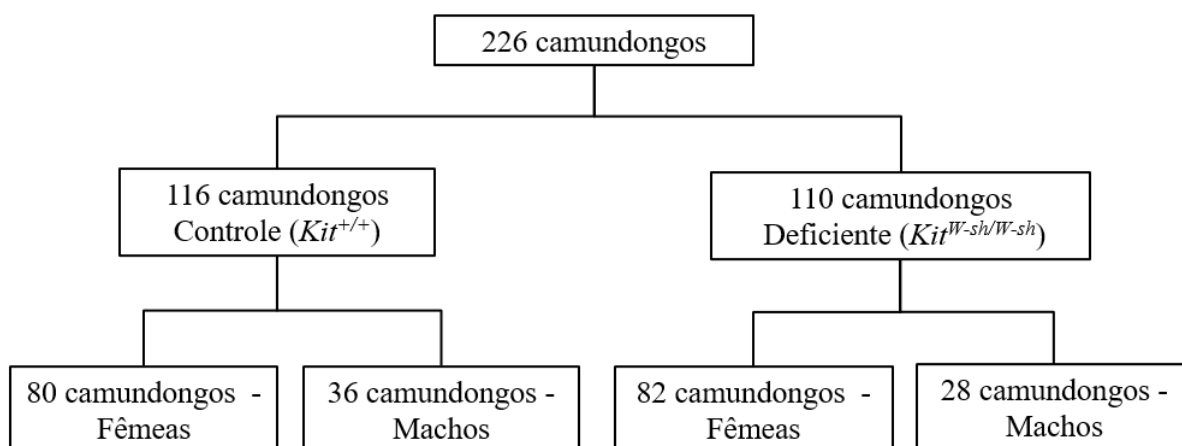
5.1 Aspecto Ético

O presente projeto foi submetido e aprovado ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA/ Fiocruz) (Anexo A), obtendo aprovação sob o Protocolo n°30/17-5 e licença LW20/18 no Instituto René Rachou (IRR)/ Fiocruz Minas.

5.2 Modelo Murino

A pesquisa foi composta por 226 camundongos, que foram divididos em dois grupos de estudo, o grupo Controle ($Kit^{+/+}$), com camundongos que contém mastócitos e o grupo Deficiente ($Kit^{W-sh/W-sh}$), com camundongos deficiente para mastócitos circulantes e teciduais. Na pesquisa foram utilizados machos e fêmeas distribuídos em ambos os grupos de acordo com a natalidade, conforme ilustrado no diagrama da Figura 04.

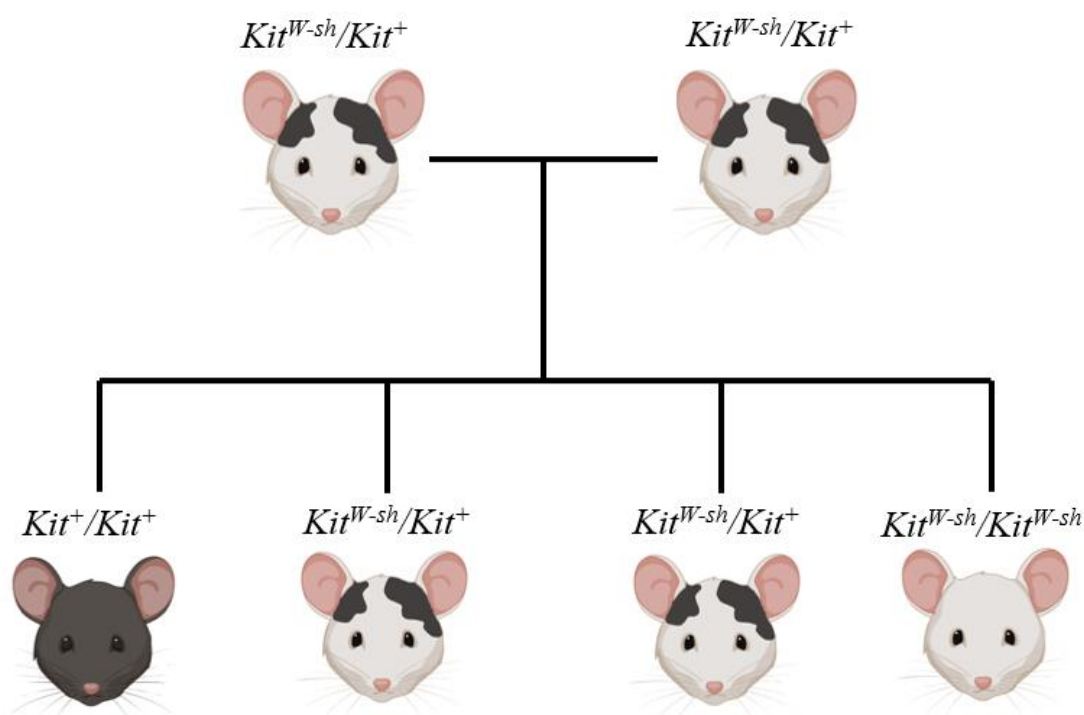
Figura 4 - Diagrama com a distribuição dos camundongos do grupo Controle ($Kit^{+/+}$) e Deficiente ($Kit^{W-sh/W-sh}$)



No Biotério de Produção (BIOP) do IRR/ Fiocruz Minas, temos colônias de reprodução, com camundongos homozigotos e heterozigoto, originadas da Taconic Farms. Os camundongos Controle (B6-*Kit*^{+/+}), são homozigotos selvagens, férteis com características fenotípicas preto, não afetado, indistinguível de C57BL/6. Os camundongos Deficiente (B6-*Kit*^{W-sh/W-sh}), são homozigotos, mutante congênito, férteis, possuem características fenotípicas de pelagem branca, olhos pretos, não são albinos e apresentam algumas pigmentações ao redor das orelhas, no qual, são deficientes em mastócitos, tornando-se viáveis para experimentação. A diferença entre C57BL/6-*Kit*^{W-sh/W-sh} e B6-*Kit*^{W-sh/W-sh}, se refere apenas a nomenclatura, no qual, ambas as notações descrevem camundongos que possuem a mutação recessiva no gene *Kit* que causa deficiência de mastócito.

Os camundongos heterozigotos (B6-*Kit*^{W-sh/Kit}⁺), que possuem características fenotípicas metade branco e metade preto, são utilizados para manter a origem da linhagem e para a produção dos camundongos, tendo como espécimes heterozigotos, homozigoto controle (B6-*Kit*^{+/+}) e homozigoto deficiente (B6-*Kit*^{W-sh/W-sh}), com o percentual de 50%, 25% e 25% respectivamente, conforme representado no diagrama da Figura 05.

Figura 5 - Representação da colônia de camundongos heterozigotos (*Kit*^{W-sh/Kit}⁺)



Na realização da experimentação, foram solicitados ao BIOP camundongos Controle (*Kit^{+/+}*) e Deficiente (*Kit^{W-sh/W-sh}*), mantidos em mini-isoladores, tendo acesso a enriquecimento ambiental (folha de papel toalha e rolinhos de papel ou PVC), sob condições controladas de temperatura (min. 20 °C/ máx. 26 °C), umidade (40 a 60%) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas), com livre acesso à água e ração, respeitando as orientações preconizadas pelo Biotério de Experimentação (BIOTEX) do IRR/ Fiocruz Minas em conformidade com o Guia do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

5.3 Delineamento Experimental

Na presente pesquisa, com amostragem por conveniência, foram planejados e realizados quatro grupos experimentais, conforme descrito na Tabela 02, que demonstra o mês/ano que ocorreram as infecções, o número de camundongos pertencentes a cada experimento, juntamente com o tempo de eutanásia dos camundongos de acordo com o experimento e a proposta inicial de estudar os aspectos imunopatológicos no início dos sintomas, na fase da infecção estabelecida e na fase crônica, respectivamente.

Tabela 2 - Estruturação do Delineamento Experimental

Experimentos	Mês/Ano da Infecção	Nº de Camundongos	Tempo de Eutanásia
Experimento 01	Nov. 2019	47	45, 70 e 140 dias
Experimento 02	Fev. 2020	66	45, 70 e 140 dias
Experimento 03	Jun. 2022	50	70 e 140 dias
Experimento 04	Dez. 2022	63	45 e 70 dias

A partir do Experimento 01, todos os demais experimentos foram passando por processos de adequações para mitigar as limitações observadas e permitir o aperfeiçoamento das técnicas e análises definidas para a pesquisa dos mastócitos na esquistossomose mansonii,

viabilizando assim um modelo murino para o estudo desta parasitose e de outras doenças relacionadas aos mastócitos.

Ao todo, o delineamento experimental foi composto por 226 camundongos, subdivididos em experimentos realizados e os tempos de eutanásia, conforme especificado na Tabela 02. O tamanho amostral de cada experimento foi definido de acordo com a disponibilidade de camundongos no BIOP, no qual, a organização experimental foi realizada conforme a liberação e disponibilidade dos camundongos, o que resultou na variação no tamanho amostral entre os diferentes experimentos conduzidos e quando considerados de forma conjunta, os experimentos totalizam um tamanho amostral global superior, correspondente à soma dos camundongos utilizados em cada etapa experimental.

Dessa forma, o tamanho amostral variou conforme a técnica empregada ao longo da pesquisa, considerando os diferentes tempos de eutanásia e as especificidades metodológicas de cada análise. Como distintas abordagens experimentais foram realizadas, nem todos os camundongos foram submetidos a todas as técnicas, o que justifica a variação amostral entre os diferentes procedimentos realizados, podendo observar na Tabela 03 os parâmetros avaliados de acordo com cada experimento e tempo de eutanásia.

Tabela 3 - Parâmetros Avaliados de acordo com Experimento e Tempo de Eutanásia

Técnica / Metodologia	Experimento Analisado	Tempo de Eutanásia
Monitoramento Clínico	Experimentos 03 e 04	45, 70 e 140 dias
Exame Parasitológico de Fezes	Experimentos 01, 02, 03 e 04	45 e 70 dias
Recuperação de Vermes Adultos	Experimentos 01, 02, 03 e 04	45, 70 e 140 dias
Peso dos Camundongos - Eutanásia	Experimentos 03 e 04	70 e 140 dias
Análise Macroscópica - Fígado	Experimentos 03 e 04	70 e 140 dias
Análise Macroscópica - Baço	Experimentos 03 e 04	70 e 140 dias
Análise Microscópica - Hematoxilina & Eosina	Experimentos 01, 02, 03 e 04	45, 70 e 140 dias
Coloração Tricrômico de Masson	Amostras selecionadas dos Experimentos 01, 02, 03 e 04	70 e 140 dias
Coloração Azul de Toluidina		
Análise Imuno-histoquímica		
Análise Sorológica	Amostras selecionadas dos Experimentos 03 e 04	45, 70 e 140 dias

5.4 Infecção dos Camundongos por Via Percutânea

A infecção dos camundongos por via percutânea foi escolhida com o objetivo de mimetizar a via de infecção em humanos, podendo assim estudar a resposta imune do hospedeiro a partir do ciclo natural da doença, observando a participação dos mastócitos na infecção.

No dia anterior da infecção percutânea, todos os camundongos foram pesados e, aqueles que seriam infectados, realizou-se a remoção dos pelos da região abdominal de forma manual, tomando os devidos cuidados para evitar que fossem machucados durante o procedimento. Posterior à remoção dos pelos, os camundongos foram mantidos em microisolador sem maravalha, contendo papel filtro, este procedimento foi necessário para evitar lesões na região abdominal do camundongo e comprometer a viabilidade da infecção, devido ao atrito existente após a remoção dos pelos e o contato com a maravalha.

A infecção percutânea dos camundongos foi realizada com cercárias de *S. mansoni*, que foram obtidas de moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata* infectados, originando um *pool* de cercárias (SOUZA, 1993), disponibilizados pelo Moluscário Lobato Paraense do IRR/ Fiocruz Minas. As cercárias de *S. mansoni*, foram utilizadas da cepa LE, que foi isolada do paciente infectado Luiz Evangelista, no ano de 1959.

No BIOTEX, realizou-se a organização dos materiais, limpeza e higienização da bancada utilizada para a infecção dos camundongos, sendo importante ressaltar que a bancada para a experimentação deve ser de madeira, para evitar o risco do camundongo ter um quadro de hipotermia durante a experimentação.

Para a anestesia dos camundongos, aplicou-se pela via intraperitoneal 50-100 mg/kg de Cloridrato de Cetamina 10% e 5-10 mg/kg de Cloridrato de Xilazina 2%, onde os anestésicos foram misturados e diluídos em solução salina estéril para conseguir volume ideal na seringa de acordo com o peso do camundongo. Inicialmente utilizou-se a média do peso dos camundongos de cada microisolador, porém com o objetivo de reduzir o índice de óbitos, modificou-se a conduta para o cálculo do volume final de anestésicos considerando o peso vivo de cada animal. A utilização do anestésico é justificada pelo fato dos camundongos necessitarem permanecer imobilizados por um período de 45 a 60 minutos (min.), ao serem expostos às cercárias.

Após o início do efeito anestésico os camundongos foram colocados em posição decúbito dorsal, prendendo as suas patas e rabo com esparadrapo ou fita micropore, intercalando os camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}. Depois, foi realizada a limpeza da região abdominal do camundongo com água declorada, secagem com algodão e em seguida preso os anéis de infecção, que são uma placa de acrílico retangular (2,0 x 2,5 cm) perfurada no centro (0,8 cm de diâmetro e 0,5 cm de profundidade).

No anel de infecção foi colocado 150 microlitros (µl) de água declorada contendo cercárias, deixando cerca de 45 a 60 min., possibilitando a exposição para infecção, após esse tempo, o líquido contido no anel de infecção foi removido e analisado a presença/ausência de cercárias na placa escavada com lugol, para um melhor controle da infecção.

Em seguida, foi retirado cuidadosamente os anéis de infecção e os esparadrapos, retornando os camundongos para o microisolador com maravalha, observando a presença de água, alimento e se o microisolador foi fechado/encaixado corretamente. Após a data de infecção foi realizado o monitoramento clínico até a data prevista da eutanásia.

5.5 Contagem das cercárias para a Infecção dos camundongos

Para a realização da infecção dos camundongos foi solicitado um *pool* de cercárias de *S. mansoni* no Moluscário Lobato Paraense do IRR/ Fiocruz Minas, obtidas de moluscos infectados da espécie *Biomphalaria glabrata*. Na data da infecção dos camundongos, 02 horas antes do início do experimento, os moluscos foram expostos a luz para a liberação das cercárias de forma que estas apresentassem alta motilidade e capacidade de penetração cutânea nos camundongos.

Após o recebimento do recipiente contendo o *pool* de cercárias, foi realizado a contagem de cercárias presentes em 150 µl, através do microscópio estereoscópico, com o auxílio da placa escavada e lugol. Na placa escavada, após homogeneização, foi colocado 150 µl do *pool* de cercárias em três poços, contendo uma gota de lugol, em seguida foi feita a contagem do número de cercárias presentes em cada poço. Posteriormente, foi realizada, a média do valor encontrado, com o objetivo de obter a estimativa do número de cercárias em 150 µl. Quando necessário, caso o valor previsto não estivesse de acordo com o número proposto para a

infecção, foi realizado a diluição do *pool* de cercárias com água decolorada e feito a contagem em três poços da placa escavada e em seguida a média, até a obtenção do valor 15 (± 5) cercárias em 150 μ l, de acordo com o experimento (SOUZA, 1993).

Inicialmente a contagem das cercárias para a infecção dos camundongos foi realizada através do protocolo citado acima (SOUZA, 1993), mas diante da perspectiva de melhorar a eficácia da infecção foi proposta a padronização de um novo protocolo.

Na data de infecção, após o recebimento do *pool* de cercárias, realizou a contagem individual, para a obtenção de 15 cercárias por camundongos, no BIOTEX com o auxílio do microscópio estereoscópico e o uso da micropipeta de 200 μ l e ponteira transparente. Na placa escavada foi utilizado dois poços, um contendo a amostra do *pool* de cercárias e no outro somente água decolorada para complementar o volume final proposto para aplicação no camundongo (150 μ l). Assim um volume necessário para adquirir as 15 cercárias foi colocada no primeiro poço da placa escavada, em seguida a realização da confirmação do número de cercárias presente na ponteira, e após a conferência, a pipeta foi ajustada para 150 μ l, onde, inicialmente foi aspirado o líquido contendo as 15 cercárias e em sequência completado o volume com água decolorada até atingir 150 μ l, realizando a aplicação do conteúdo nos anéis de infecção presos na região abdominal do camundongo.

Após a aplicação do volume nos anéis, foi realizada a lavagem da ponteira usada para verificar se ficaram cercárias aderidas. A seguir, a ponteira foi trocada e o mesmo procedimento foi realizado novamente até a infecção de todos os roedores.

5.6 Monitoramento Clínico

O monitoramento clínico foi realizado nos camundongos pertencentes aos experimentos 03 e 04, conforme descrito na Tabela 02 (pag. 39), no qual, a pesagem individual foi realizada duas vezes por semana, preferencialmente às terças e sextas-feiras, utilizando balança de precisão (Bioprecisa ®, modelo BS 3000A), possibilitando o acompanhamento do ganho e/ou perda de peso dos camundongos até a data prevista para eutanásia, no período de 45, 70 e 140 dias.

O peso corporal foi registrado desde o primeiro dia de pesagem pós-infecção até a data prevista para eutanásia, registrando os pesos nos dias estabelecidos ao longo do período experimental, sendo posteriormente calculada a média do peso corporal por grupo em cada dia de pesagem, utilizando esses valores como parâmetro para as análises estatísticas comparativas.

Durante a realização da pesagem dos camundongos observou-se a presença/ausência da perda de pelo ou de lesões epiteliais, sendo descrita a região quando observado a presença.

5.7 Exame Parasitológica das Fezes

Na realização do exame parasitológico de fezes, foram coletadas amostras individuais para a descrição de presença/ausência de ovos de *S. mansoni*, avaliando a infecção dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, sem a perspectiva inicial da análise a partir do tempo de coleta após a data de infecção. Posteriormente foi proposto a análise da presença/ausência de ovos de *S. mansoni* nas fezes dos camundongos, no período de 45 e 70 dias pós infecção, possibilitando a avaliação do desenvolvimento do ciclo de vida do parasito, diante da eliminação dos ovos nas fezes.

Na realização da coleta, os camundongos foram colocados individualmente em gaiolas contendo papel filtro e as fezes foram armazenadas em tubos falcon de 50 mL, sendo coletado aproximadamente 0,5 mL de fezes conservadas em formol tamponado 10% até a realização dos exames.

A análise das fezes foi realizada pelo método de sedimentação espontânea, técnica de Hoffman, Pons e Janer ou Lutz (HPJ). Após o recebimento das amostras parasitológicas conservadas em formol tamponado 10 % no Laboratório de Doenças Infecciosas e Câncer (DATA - IRR/ Fiocruz Minas), elas foram maceradas no tubo falcon com formol e filtradas por uma gaze nos cálices de sedimentação utilizando água para limpar o tubo e a gaze com as fezes. Em seguida, manteve-se em repouso as amostras no cálice de sedimentação por 60 min. e após este período realizou-se a lavagem, desprezando o sobrenadante cuidadosamente, no qual a lavagem foi realizada no mínimo duas vezes por amostra. Em seguida, descartou-se o sobrenadante, analisando apenas todo o sedimento precipitado no

cálice que foi analisado na lâmina com lamínula diretamente ao microscópio óptico para a determinação qualitativa, da presença/ausência de ovos de *S. mansoni* nas fezes.

Na realização da padronização e definição do método utilizado na análise parasitológica de fezes, não foi realizada a utilização da técnica de Kato Katz, padrão ouro para o diagnóstico parasitológico da esquistossomose mansoni em humanos, devido durante a padronização ter se observado uma maior precipitação de detritos, contendo as extremidades clara e o meio mais concentrado/escuro, ocasionando uma dificuldade de visualização na análise microscópica e o objetivo proposto para a análise da pesquisa ser qualitativa, optando-se assim pela análise através da técnica de HPJ.

5.8 Eutanásia dos Camundongos

Para avaliar a eficácia da infecção, bem como, estudar os eventos imunopatológicos, os camundongos foram submetidos em tempos determinados da eutanásia (45 dias, 70 dias e 140 dias). A escolha dos tempos decorre da intenção de verificar os aspectos imunopatológicos no início dos sintomas, na fase da infecção estabelecida e na fase crônica, respectivamente.

O procedimento de eutanásia ocorreu através de sobredose medicamentosa com os anestésicos 50 mg/Kg Cloridato de Xilazina 2% + 500 mg/Kg Cloridato de Cetamina 10% de acordo com o protocolo orientado pelo BIOTEX. Após este procedimento o camundongo foi colocado em posição decúbito dorsal para a realização da punção cardíaca, utilizando seringas de 01 ml com agulha 20G e posteriormente armazenando a amostra sanguínea em microtubos devidamente identificados com os dados do camundongo. Estes tubos foram posteriormente centrifugados, separando o soro do coágulo sanguíneo em novos tubos e armazenando as amostras no freezer (-10 à -35 °C) do Laboratório DATA e do Laboratório de Imunologia de Doenças Virais (IDV) IRR/ Fiocruz Minas.

Em seguida, após o procedimento da punção cardíaca, foi realizada a perfusão dos camundongos para a obtenção dos vermes adultos presentes no sistema porta-hepático. Inicialmente, foi realizada a abertura da cavidade abdominal para exposição das vísceras, em seguida, procedeu-se à abertura da cavidade torácica, com deslocamento dos pulmões e

do coração para o lado esquerdo, possibilitando a exposição da aorta descendente. Posteriormente, a veia porta foi seccionada para permitir o escoamento do conteúdo sanguíneo e uma agulha foi então introduzida na aorta descendente para infusão da solução salina heparinizada (1 mL de heparina diluído em solução salina preparada com 51 g de NaCl em 6 L de água), promovendo a lavagem das veias do mesentério. Em seguida, realizou-se a perfusão por meio da veia cava superior, possibilitando a coleta dos vermes localizados no sistema porta-hepático. O material coletado foi filtrado e transferido para placas apropriadas para posterior contagem. A quantificação dos vermes foi realizada em microscópio estereoscópico, sendo registrados os números de machos, fêmeas e casais (macho e fêmea acasalados) obtidos de cada camundongo.

Durante a necropsia, primeiramente foi realizada a pesagem dos camundongos e em seguida a retirada dos órgãos: fígado, baço, pulmão, pâncreas, intestinos delgado e grosso, realizando também a pesagem do fígado e do baço, além da observação macroscópica do fígado, avaliando presença/ausência de alterações hepáticas características da esquistossomose (coloração e presença/ausência de nódulos).

A amostra macroscópica destinada para as análises microscópicas dos tecidos fígado, baço, pulmão, pâncreas foi realizada seleções aleatórias da região, o intestino delgado foi retirado a partir do ceco, a parte mais distal do íleo (1 a 1,5cm) e o intestino grosso retirado a última porção do órgão, antes de penetrar na pelve, a parte mais distal (1 a 1,5cm), em seguida foram armazenadas em tubos falcon (15 ml) contendo formol tamponado 10% e destinadas para o Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG para processamento e análise.

5.9 Análise Microscópica: Coloração de Hematoxilina & Eosina

Após a obtenção do fígado, baço, pulmão, pâncreas, intestinos delgado e grosso, durante a necropsia, e o armazenamento no tubo falcon (15 mL) contendo formol tamponado 10% para a preservação e transporte do tecido, no Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina/UFMG, os tecidos foram processados rotineiramente e incluídos em parafina. Posteriormente realizou-se a microtomia, com a execução de secções com

aproximadamente 04 micrômetros de espessura e à coloração com Hematoxilina & Eosina (HE), utilizada para visualizar as características estruturais do tecido.

Na coloração de HE, realizou-se a preparação das lâminas através da desparafinização em banhos de xilol, posteriormente a hidratação em álcool e a lavagem com água destilada para a aplicação de Hematoxilina sobre o corte histológico por 04 min., em seguida realizou-se a lavagem com água corrente e a aplicação de Eosina por 02 min. Posteriormente a esse período foi realizada a lavagem das lâminas, a desidratação rapidamente em série de álcool ascendente até o xilol e a montagem das lâminas com Etellan™ (Sigma-Aldrich, ref. 1.07961.0100) e lamínulas cover glass 24 x 60 mm (Vision Glass).

Nos cortes histológicos, dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*, foram analisadas lesões teciduais observadas a partir de alterações morfológicas características da esquistossomose, conforme descrito (FILHO, ANDRADE, 1973; NEVES, *et. al*, 1978; RASO, FILHO, 2014; MIRANDA, 2016; BRASILEIRO FILHO, 2021):

- **Fígado:** Estrutura do fígado; Número de tratos portais (> que 10); Arquitetura do espaço portal; Infiltrado inflamatório portal; Presença de granuloma portal; Quantidade de granulomas; Constituição dos granulomas; Fase do Granuloma; Atividade inflamatória periportal; Atividade inflamatória parênquima; Viabilidade dos ovos; Infiltrado em torno da veia.
- **Baço:** Estrutura do baço; Polpa Vermelha; Polpa Branca; Quantidade de granulomas esplênicos; Constituição dos granulomas; Viabilidade dos ovos.
- **Pulmão:** Estrutura do pulmão; Proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar; Lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar; Tecido linfóide associado ao brônquio (BALT); Quantidade de granulomas pulmonares; Constituição dos granulomas; Viabilidade dos ovos; Presença de neutrófilos no espaço dos brônquios; Espessamento dos septos; Inflamação perivascular.
- **Pâncreas:** Estrutura do pâncreas; Inflamação; Alteração vascular (espessamento intimal); Quantidade de granulomas pancreáticos; Constituição dos granulomas; Fibrose; Viabilidade dos ovos.
- **Intestinos delgado e grosso:** Estrutura do intestino; Hipotrofia/ Atrofia intestinal; Ulceração intestinal; Quantidade de granulomas intestinais; Constituição dos granulomas; Viabilidade dos ovos.

As variáveis histológicas, consideradas para as análises do fígado, baço, pulmão, pâncreas e intestinos delgado e grosso encontram-se de forma detalhada nas tabelas em anexo B, C, D, E e F, respectivamente. Para a realização das análises comparativas de importância clínica, as variáveis foram categorizadas em ausente + discreto/leve (0), caracterizadas por ausência de manifestação clínica da doença e moderado + forte/acentuado (1), caracterizada pela presença da repercussão clínica progressiva.

Os cortes histológicos dos órgãos foram analisados sem conhecimento prévio do tempo de eutanásia após infecção e do grupo pertencente dos camundongos. As imagens foram digitalizadas no Centro de Aquisição e Processamento de Imagens (CAPI), localizada no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e fotografadas no software CaseViewer.

5.10 Colorações Especiais: Azul de Toluidina e Tricrômico de Masson

Para a análise das colorações especiais, as amostras foram selecionadas a partir dos critérios: camundongos expostos à infecção pela via percutânea com 15 cercárias de *S. mansoni*, exame parasitológico de fezes positivo, análise descritiva presente para a recuperação dos vermes adultos e presença de ovos do parasito de *S. mansoni* na análise microscópica do fígado pela coloração de HE. Sendo selecionadas 14 amostras de camundongos *Kit*^{+/+} e 15 amostras de camundongos *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 70 dias pós infecção (d.p.i.) e 11 amostras de camundongos *Kit*^{+/+} e 15 *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 140 d.p.i.

Na técnica da coloração de Azul de Toluidina, realizou a preparação da lâmina com amostra tecidual de fígado através da desparafinização em banhos de xilol, posteriormente a hidratação em álcool e a lavagem com água destilada para a aplicação sobre o corte histológico da solução de Azul de Toluidina a 1 % (Marca: VETEC), durante 02 min. Após este período realizou-se a lavagem da lâmina com água destilada para a remoção do excesso do corante, seguida da desidratação em álcool e a montagem das lâminas com EtellanTM (Sigma-Aldrich, ref. 1.07961.0100) e lamínulas cover glass 24 x 60 mm (Vision Glass). A contagem dos mastócitos foi realizada em toda a área do corte amostral do fígado, avaliando a presença e ausência da célula no tecido, no qual os mastócitos foram observados em tom violeta e o fundo da amostra em azul através do microscópio de luz comum.

A técnica de coloração de Tricrômico de Masson, foi realizada utilizando o Kit de coloração especial HistoKit - Tricrômico de Masson (Masson Trichrome), da marca EasyPath|Diagnósticos, tendo como objetivo analisar a presença de fibras colágenas nos tratos portais do tecido hepático de forma semi-quantitativa.

Na realização da coloração de Tricrômico de Masson, utilizou o protocolo orientado pelo fabricante, no qual, realizou-se a preparação da lâmina com amostra tecidual de fígado através da desparafinização em banhos de xilol, posteriormente a hidratação em álcool e a lavagem com água destilada para a aplicação sobre o corte histológico de 10 gotas da junção dos reagentes A+B (Hematoxilina Férrica + Cloreto Férrico), deixando agir por 10 min. Após esse período foi realizada a lavagem em água destilada e a aplicação de 10 gotas do reagente C (Escarlate de Blebrich), deixando agir por 5 min. Em seguida foi realizada a lavagem da lâmina com água destilada e aplicada 10 gotas do reagente D (Ácido Fosfotúngstico + Fosfomolibdico), deixando agir por 10 min. Após esse período, realizou-se a lavagem das lâminas com água destilada e aplicação de 10 gotas do reagente E (Azul de Anilina), por 07 min. Posteriormente, foi realizada a lavagem com água destilada e aplicado 10 gotas do reagente F (Água-Ácido), deixando agir por 03 min. Por fim, foi realizada a lavagem das lâminas, a desidratação rapidamente em série de álcool ascendente até o xilol e a montagem das lâminas com EtellanTM (Sigma-Aldrich, ref. 1.07961.0100) e lamínulas cover glass 24 x 60 mm (Vision Glass).

As análises foram realizadas considerando a fibrose de substituição, conforme os descritores: (0) Totalmente preservado ou normal; (1) Alargados, mas sem septos; (2) Alargados e com início da emissão de septos; (3) Alargados e com septos incompletos; (4) Alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente.

5.11 Análise das marcações dos anticorpos por Imuno-histoquímica

Na presente pesquisa, para a análise imuno-histoquímica, foram selecionadas 14 amostras de camundongos *Kit*^{+/+} e 15 amostras de camundongos *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 70 d.p.i. e 11 amostras de camundongos *Kit*^{+/+} e 15 *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 140 d.p.i., as amostras foram selecionadas a partir dos seguintes critérios: camundongos expostos a infecção pela

via percutânea com 15 cercárias de *S. mansoni*, exame parasitológico de fezes positivo, análise descritiva presente para a recuperação dos vermes adultos e presença de ovos do parasito de *S. mansoni* na análise microscópica do fígado pela coloração de HE.

A escolha dos mediadores imunes, TGF- β , PDGF, VEGF, IL-4, IL-10 e IL-33, se justifica devido o objetivo de avaliarmos as suas expressões a partir da produção pelos mastócitos e a contribuição na resposta imunológica à infecção por *S. mansoni*, avaliando fator de fibrose, angiogênese, reparo tecidual, papel anti-inflamatório e regulador.

Todos os ensaios foram realizados utilizando Kit comercial para imuno-histoquímica (Novocastra - Novolink Max Polymer Detection System, Leica Biosystems), realizando a padronização para os marcadores, conforme descrito na Tabela 04.

Tabela 4 - Descrição dos mediadores imunes utilizado na marcação da imuno-histoquímica

Mediadores Imunes	Descrição do Anticorpo	Tempo de Revelação	Diluição do Anticorpo
TGF-β	Anticorpo monoclonal de camundongo, 3C11, SC-130348, Santa Cruz Biotechnology	20'' a 30''	1:500
PDGF	Anticorpo monoclonal de camundongo, E-10, SC-9974, Santa Cruz Biotechnology	20'' a 25''	1:500
VEGF	Anticorpo monoclonal de camundongo, C-1, SC- 7269, Santa Cruz Biotechnology	20'' a 25''	1:500
IL-4	Anti-IL-4 antibody [C1] ab239508	20'' a 25''	1:100
IL-10	Anticorpo monoclonal de camundongo, E-10; SC-8438; Santa Cruz Biotechnology	20'' a 25''	1:500
IL-33	IL-33 (Nessy-1): sc-517600	20'' a 30''	1:500

Cada amostra foi preparada em uma lâmina de vidro silanizada e com carga eletrostática positiva (ImmunoSlide, EasyPath|Diagnósticos) fixando, através de aquecimento em estufa a 56 °C overnight, com um corte de aproximadamente 04 micrômetros de espessura. Após

fixação do material na lâmina foi realizada a desparafinização em xilol (2x a cada 10 min.), desidratação através de uma série de três banhos de álcool etílico (5 min. cada) e lavagem em água corrente por 03 min. A recuperação antigênica foi realizada em solução tampão de EDTA (10 mM, pH = 9) a 90 °C durante 20 min. As amostras foram resfriadas sobre a bancada por 20 min. e em seguida lavadas três vezes (3x) com solução de lavagem TRIS (pH = 7,6).

A peroxidase endógena foi neutralizada com a solução de peróxido de hidrogênio (NOVOLINK) por 10 min. em temperatura ambiente, lavando-se em seguida as lâminas com solução de TRIS (3x) e incubando com a solução de bloqueio de proteínas (NOVOLINK) por 10 min. Após este período, as lâminas foram lavadas com solução TRIS (3x) e incubadas, em temperatura ambiente na câmara úmida durante 60 min. com os anticorpos descritos na Tabela 03. Após nova lavagem com TRIS, foi adicionado 400 µl do bloqueio Pós Primário (NOVOLINK) nas amostras, que foram incubadas por 50 min. Foram lavadas, novamente, com TRIS (3x) e aplicado nas amostras, 400 µl da solução de polímero (NOVOLINK) por 30 min., em temperatura ambiente na câmara úmida. Foram, novamente, lavadas com TRIS (3x) e para reação do sistema de detecção, foi diluído 50 µl do cromógeno DAB em 1000 µl de solução substrato da peroxidase (NOVOLINK), aplicando 100 µl da solução diluída 1:500, deixando o tempo descrito na Tabela 03 para cada marcador, lavando-se em seguida com TRIS.

As lâminas contendo os cortes histológicos foram finalizadas com a coloração com hematoxilina por 05 min. e hidratação com álcool etílico (3x por 01 min. cada) e xilol (2x por 01 min. cada), deixando secar na estufa após esta etapa. As lâminas foram montadas com EtellanTM (Sigma-Aldrich, ref. 1.07961.0100) e lamínulas *cover glass* 24 x 60 mm (Vision Glass), após o tempo de secagem foram analisadas em microscopia óptica.

Para as análises semi-quantitativas, a reatividade dos anticorpos primários em cada amostra de fígado, foram classificadas pela intensidade: Ausente; Leve (+); Moderado (++); Acentuado (+++), e pelo percentual da distribuição da área de imunorreatividade da marcação imuno-histoquímica conforme os critérios: Ausente; Pontual (1 a 25%); Focal (26 a 50%); Multifocal (51 a 75%); Difusa (>75%). Em seguida, foi estabelecido um escore para a expressão da imuno-histoquímica, sendo categorizado, para cada anticorpo primário, a multiplicação das categorias da intensidade pelo percentual da distribuição, resultando em “expressão elevada” (produto ≥ 4) ou “expressão baixa” (produto < 4).

5.12 Análises Sorológicas pela tecnologia de imunoensaio LUMINEX

No imunoensaio, foram selecionadas amostras de camundongos infectados pela via percutânea com 15 cercárias de *S. mansoni*, eutanasiados 45, 70 e 140 d.p.i. e que apresentaram dados positivos para a recuperação dos vermes adultos, exame parasitológico de fezes e/ou alterações histológicas características da doença, como presença de ovos do parasito *S. mansoni* e granulomas na análise do fígado pela coloração de HE. Sendo selecionadas 06 amostras de camundongos infectados para cada grupo, *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, no tempo de 45 e 70 d.p.i., e 06 amostras para o grupo *Kit*^{+/+} e 05 para o *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 140 d.p.i., realizando a análise das amostras em duplicata. Realizou-se também a inclusão de 05 amostras de camundongos do grupo *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, no tempo 70 d.p.i. que não foram infectados, além das amostras, incluiu-se na placa experimental a solução padrão e branca.

A concentração dos mediadores imunes foi realizada utilizando o Kit ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassays|Thermo Fisher Scientific que permite a avaliação simultânea de 36 analitos, por meio do emprego de microesferas magnéticas (beads magnéticas), avaliando quimiocinas (CXCL5; CCL11; CXCL1; CXCL10; MCP-1 (CCL2); MCP-3 (CCL7), MIP-1α (CCL3), MIP-1β (CCL4), MIP-2α (CXCL2), RANTES (CCL5), citocinas pró-inflamatórias (IFN-γ; IL-1 α; IL-1 β; IL-18; IL-6; TNF α; LIF; IL-12p70; IL-17 A; IL-15; IL-23; IFN α) e citocinas reguladoras (IL-2; IL-4; GM-CSF; G-CSF; IL-3; IL-10; IL-5; IL-31; IL-9; IL-13; IL-28; IL-22; M-CSF; IL-27).

Resumidamente, alíquotas de 100 µL de soros, 50 µL dos padrões de quimiocinas, citocinas e fatores de crescimento humanos foram submetidos à diluição seriada com diluente “Assay Buffer” (reagente presente no Kit ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassays), 50 µL dos “Quality Controls” 1 e 2 e 50 µL de diluente “Assay Buffer” (“Background”), foram transferidos para poços de placas de fundo chato, com características compatíveis com as propriedades químicas comuns às microesferas magnéticas. Em seguida, em cada poço, foram adicionados 25 µL da mistura de microesferas magnéticas conjugadas com anticorpos monoclonais. As placas foram seladas e seguidas para incubação overnight (18h), a 4°C sob agitação (shaker a 500±50rpm). Após incubação, as placas foram lavadas com 200 µL de Wash buffer 1x empregando o suporte magneto. Em seguida, foram adicionados 25 µL de

anticorpo de detecção, e após uma hora de incubação, foram adicionados 25 µl de reagente de revelação, estreptavidina conjugada com o fluorocromo ficoeritrina, em cada poço. Seguindo-se a incubação de 30 minutos, as placas foram novamente lavadas com 200 µl de Wash buffer 1x. Na sequência, foram adicionados 150 µl do reagente “Sheath fluid”. A aquisição de dados foi realizada no equipamento Luminex 200 usando-se o software específico, conforme recomendações do fabricante. As concentrações finais dos mediadores solúveis séricos foram estimadas por regressão logística de cinco parâmetros de acordo com a curva padrão inserida em cada lote experimental e os resultados expressos em pg/mL.

5.13 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram armazenados em planilhas eletrônicas usando o programa EXCEL, no qual, para determinar se um conjunto de dados de uma dada variável aleatória apresentou ou não uma distribuição normal, foram utilizados testes da normalidade Anderson-Darling e Kolmogorov-Smirnov.

Para comparar e analisar a relação entre as variáveis qualitativas e quantitativas, foram utilizados os testes Z, Qui-quadrado, correlação linear de Spearman (dados não paramétricos) ou de Pearson (dados paramétricos) e teste exato de Fisher. As diferenças estatisticamente significativas foram consideradas quando $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 População do Estudo de Pesquisa

Na pesquisa, foram avaliados 226 camundongos, subdivididos nos grupos de análise, Controle, que contém mastócitos ($Kit^{+/+}$ n = 116) e Deficiente para mastócitos ($Kit^{W-sh/W-sh}$ n = 110), representando uma proporção de 51,33% e 48,67% desse total, respectivamente, destes, 162 (71,68%) eram fêmeas e 64 (28,32%) machos. O grupo $Kit^{+/+}$ foi composto por 80 (68,97%) fêmeas e 36 (31,03%) machos, já no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, 82 fêmeas (74,55%) e 28 machos (25,45%), no qual as proporções dos sexos foram equilibradas nos grupos (p = 0,352).

Ao longo da pesquisa, 88,05% (n = 199) dos camundongos permaneceram vivos até a data prevista para eutanásia e 11,95% (n = 27) evoluíram a óbitos antes desta data, sendo 11 camundongos do grupo $Kit^{+/+}$ e 16 do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, não sendo observada diferença de óbito entre os grupos (p = 0,241). Dos camundongos que evoluíram a óbito, 02 morreram sem terem sido expostos a infecção e 25 morreram durante o protocolo anestésico, o procedimento de infecção ou logo após a exposição a infecção, dessa forma, o índice de mortalidade não foi associado à evolução e progressão da esquistossomose.

A infecção experimental com 15 cercárias de *S. mansoni*, ocorreu pela via percutânea, sendo expostos a infecção 136 (68,34%) camundongos e 63 (31,66%) não foram expostos à infecção, correspondendo ao controle não infectado da pesquisa. O grupo $Kit^{+/+}$, foi composto por 109 camundongos, sendo que 74 (70,48%) foram expostos a infecção e 31 (29,52%) não foram expostos. O grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ foi composto por 94 camundongos, dos quais 62 (65,96%) foram expostos a infecção e 32 (34,04%), não foram expostos.

A infecção experimental, foi realizada com o objetivo de estudar os aspectos imunopatológicos no tempo de 45, 70 e 140 dias pós infecção (d.p.i.), apresentando em cada tempo 49 (24,62%), 88 (44,22%) e 62 (31,16%) camundongos, respectivamente. No qual, na análise do tempo de eutanásia, foi possível observar maior proporção dos camundongos no tempo de 70 d.p.i., tanto para o grupo $Kit^{+/+}$ 42,86% (n = 45) quanto para o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ 45,74% (n = 43). No tempo de 45 d.p.i. as proporções foram de 21,90% (n = 23) e

27,66% (n = 26) para $Kit^{+/+}$ e o $Kit^{W-sh/W-sh}$, respectivamente, e no tempo de 140 d.p.i. 35,24% (n = 37) para $Kit^{+/+}$ e 26,60% (n = 25) para $Kit^{W-sh/W-sh}$.

A Tabela 05 representa a quantidade de camundongos distribuídos nos diferentes tempos de eutanásia, juntamente com a descrição infectados e não infectados de acordo com cada grupo, sendo observada proporções equilibradas entre os grupos de acordo com o tempo previsto para eutanásia.

Tabela 5 - Valores percentuais da distribuição dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Infecção	D.P.I.	Grupos					
		$Kit^{+/+}$		$Kit^{W-sh/W-sh}$		Total	
		N	%	N	%	N	%
Infectados	45 dias	15	20,27	14	22,58	29	21,32
	70 dias	33	44,59	31	50,00	64	47,06
	140 dias	26	35,14	17	27,42	43	31,62
	Total	74	100,00	62	100,00	136	100,00
Não Infectados	45 dias	8	25,81	12	37,50	20	31,75
	70 dias	12	38,71	12	37,50	24	38,10
	140 dias	11	35,48	8	25,00	19	30,16
	Total	31	100,00	32	100,00	63	100,00

Legenda: D.P.I.: dias pós infecção

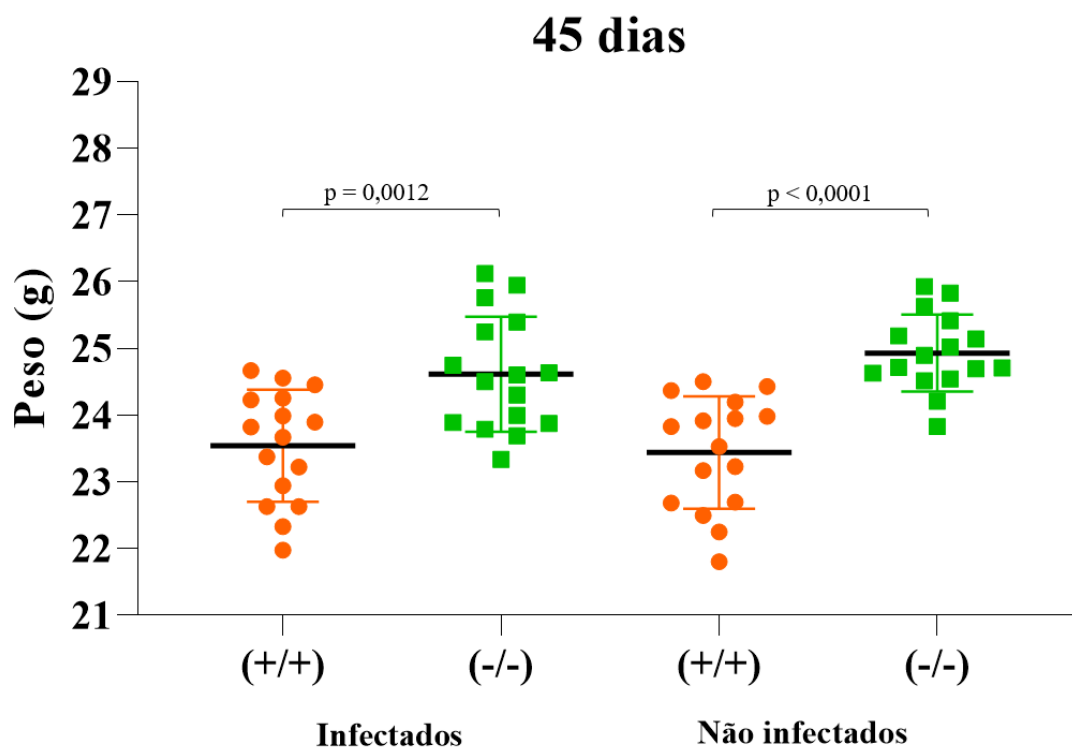
Durante a realização do protocolo de contagem de cercárias, não foram observadas diferenças significativas na eficácia dos protocolos nos grupos experimentais, no qual, os camundongos submetidos à infecção apresentaram alterações características compatíveis com a esquistossomose mansoni, evidenciadas ao longo das análises conduzidas por meio das diferentes técnicas experimentais empregadas.

6.2 Monitoramento Clínico

O monitoramento clínico foi realizado com 109 camundongos, sendo 55 do grupo $Kit^{+/+}$ e 54 do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$. Durante o acompanhamento do peso, foi realizado a pesagem dos camundongos até a data prevista para eutanásia de 45, 70 e 140 dias, os dados obtidos foram agrupados em médias por data de eutanásia.

No tempo de “45 dias” a média do peso dos camundongos do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ ($24,80 \text{ g} \pm 2,77$) foi maior em relação ao grupo $Kit^{+/+}$ ($23,50 \text{ g} \pm 2,25$) ($p < 0,0001$). Ao comparar os camundongos infectados, foi observado a média de peso maior no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ ($24,61 \text{ g} \pm 1,96$) comparado com o $Kit^{+/+}$ ($23,54 \text{ g} \pm 2,60$) ($p = 0,0012$). Ao analisar os camundongos não infectados, foi observado que a média do peso do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ ($24,93 \text{ g} \pm 3,19$) foi maior comparado com o grupo $Kit^{+/+}$ ($23,44 \text{ g} \pm 1,56$) ($p < 0,0001$) (Gráfico 01). Não foi observada diferença significativa ao comparar camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

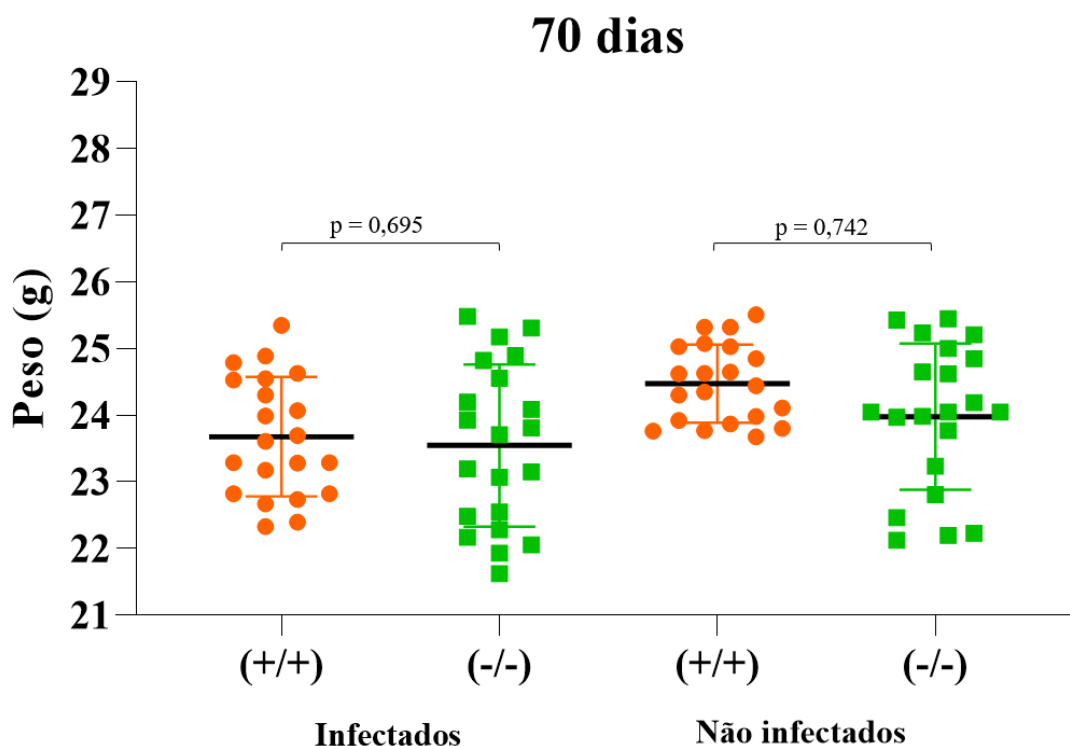
Gráfico 1 - Análise comparativa da média do peso dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ no tempo de “45 dias”



Legenda: (+/+) grupo $Kit^{+/+}$ em laranja (-/-) grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em verde. As barras centrais representam a média $\pm$ desvio padrão. Nota-se maior peso médio em camundongos deficientes em mastócitos, infectados e não infectados. As diferenças significativas foram expostas na figura.

No tempo de “70 dias” observou uma média semelhante entre os grupos, $Kit^{+/+}$ (24,07 g $\pm$ 1,82) e $Kit^{W-sh/W-sh}$ (23,74 g $\pm$ 3,38), sem diferença significativa. Ao comparar os camundongos infectados dos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, também foi observado média semelhante (23,67 g $\pm$ 1,23 e 23,54 g $\pm$ 3,22, respectivamente), assim como na comparação dos camundongos que não foram infectados, sendo 24,47 g ($\pm$ 2,19) para o grupo $Kit^{+/+}$ e 23,97 g ($\pm$ 3,54) para o $Kit^{W-sh/W-sh}$, sem diferença significativa (Gráfico 02). Ao realizar a comparação dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ se observou maior média nos camundongos infectados em relação aos não infectados ($p = 0,0015$) e no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ não foi observada diferença significativa.

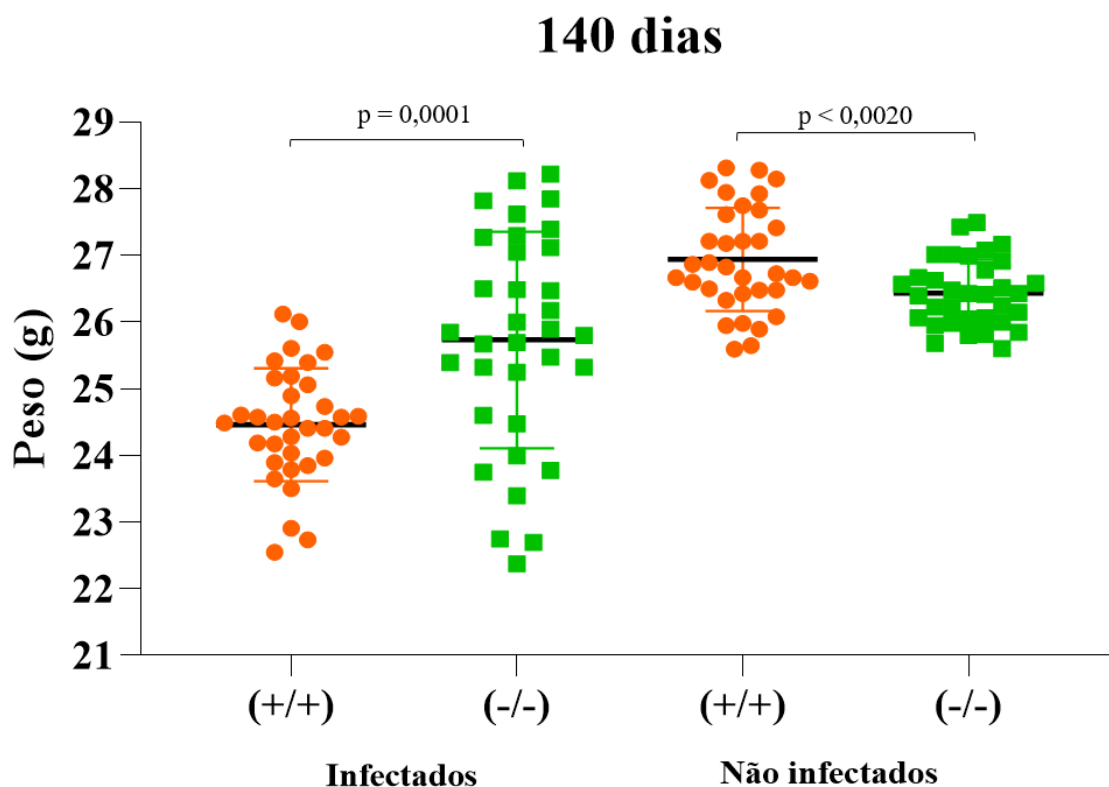
Gráfico 2 - Análise comparativa da média do peso dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ no tempo de “70 dias”



Legenda: (+/+) grupo $Kit^{+/+}$ em laranja (-/-) grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em verde. As barras centrais representam a média $\pm$ desvio padrão. Não foram observadas diferenças significativas entre os camundongos infectados e não infectados de ambos os grupos experimentais.

No tempo de “140 dias” foi observada uma média de peso maior nos camundongos do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ (26,20 g $\pm$ 2,81) em relação ao grupo $Kit^{+/+}$ (25,50 g $\pm$ 2,11) ($p = 0,0030$). Ao comparar os camundongos infectados, a média de peso foi maior no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ (26,20 g $\pm$ 2,81) em relação ao grupo $Kit^{+/+}$ (24,50 g $\pm$ 1,93) ($p = 0,0001$). E ao comparar os camundongos que não foram infectados, foi observado, em contraste, uma média de peso maior no grupo $Kit^{+/+}$ (26,92 g $\pm$ 1,39) que no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ (26,40 g $\pm$ 2,57) ($p < 0,0020$), conforme observado no Gráfico 03. Ao realizar a comparação dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ notou-se diferença significativa ($p < 0,0001$ e $p = 0,018$, respectivamente), em que os camundongos não infectados demonstraram maior média em relação aos camundongos infectados, de ambos os grupos.

Gráfico 3 - Análise comparativa da média do peso dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ no tempo de “140 dias”



Legenda: (+/+) grupo $Kit^{+/+}$ em laranja (-/-) grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em verde. As barras centrais representam a média $\pm$ desvio padrão. Dentre os camundongos infectados, o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ apresentou maior peso médio e dentre os camundongos não infectados o grupo $Kit^{+/+}$ apresentou maior peso médio. As diferenças significativas foram expostas na figura.

Durante a realização da pesagem, observou-se que 58,18% dos camundongos do grupo $Kit^{+/+}$ apresentaram perda de pelo e 41,82% não apresentaram, já no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ 31,48% apresentaram perda de pelo e 68,52% não apresentaram, sendo observado diferença significativa ($p = 0,005$) entre os grupos, no qual o grupo $Kit^{+/+}$ demonstra maior percentual da perda de pelo nos camundongos. Isso caracteriza um comportamento de *barbering*, no qual observou-se a perda de pelo principalmente nas regiões do dorso, cervical, cabeça e em alguns casos pontuais próximo da região da orelha, das patas e no focinho.

Na realização da comparação entre os camundongos infectados e não infectados, se observou maior percentual na presença da perda de pelo dos camundongos do grupo $Kit^{+/+}$, diferentemente do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ que demonstrou maior percentual na ausência da perda

de pelo, não sendo relacionada a descrição desta análise a associação a infecção, conforme demonstrado na Tabela 06.

Tabela 6 - Valores percentuais da perda de pelo conforme a variável de infecção nos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$

Infecção	Perda de Pelo	Grupos					
		$Kit^{+/+}$		$Kit^{W-sh/W-sh}$		Total	
		N	%	N	%	N	%
Infectado	Presente	18	<u>56,25</u>	8	32,00	26	45,61
	Ausente	14	43,75	17	<u>68,00</u>	31	54,39
	Total	32	100,00	25	100,00	57	100,00
Não Infectado	Presente	14	<u>60,87</u>	9	31,03	23	44,23
	Ausente	9	39,13	20	<u>68,97</u>	29	55,77
	Total	23	100,00	29	100,00	52	100,00

Legenda: Os valores sublinhados se referem a uma maior porcentagem na presença da perda de pelo dos camundongos do grupo $Kit^{+/+}$, infectados e não infectados, e maior porcentagem na ausência da perda de pelo do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados.

Na descrição da lesão epitelial, observou-se que 9,09% (n = 05) dos camundongos do grupo $Kit^{+/+}$ apresentaram lesão e 90,91% (n = 50) não apresentaram, já no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ obteve-se respectivamente 7,41% (n = 04) e 92,59% (n=50), não sendo observada diferença significativa entre os grupos. Dos camundongos que apresentaram lesão epitelial, no grupo $Kit^{+/+}$ 02 foram infectados e 03 não foram infectados e no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ 04 não foram infectados, sendo descritas para ambos os grupos, lesões ulcerativas em pontas de orelha e na região cervical dorsal.

6.3 Análises Parasitológicas

6.3.1 Exame parasitológico de fezes

O exame parasitológico de fezes foi realizado em 178 camundongos, dos quais, 25,28% (n = 45) apresentaram ovos de *S. mansoni*. Considerando os grupos experimentais, a presença de ovos foi observada em 32,29% (n = 31) dos camundongos *Kit*^{+/+} e 17,07% (n = 14) dos camundongos *Kit*^{W-sh/W-sh}, sendo observada diferença significativa (p = 0,020).

Na análise dos períodos de 45 dias após infecção (d.p.i.) e de 70 d.p.i., o exame parasitológico de fezes foi realizado em 109 e 48 camundongos, respectivamente, com proporções de positividade de 19,27% (n = 21) e 31,25% (n = 15). Podendo observar no período de 45 d.p.i., a presença de ovos nas fezes de 29,09% (n = 16) dos camundongos do grupo *Kit*^{+/+} e em 9,26% (n = 5) do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, constatando uma diferença na comparação dos grupos de camundongos infectados neste período de análise (p = 0,009).

Na análise parasitológica de fezes após 70 d.p.i., foram observados ovos de *S. mansoni*, em 37,04% (n = 10) e 23,81% (n = 5) dos camundongos infectados dos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, respectivamente, não sendo observado diferença significativa (p = 0,327). Os camundongos que não foram infectados dos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} não apresentaram ovos de *S. mansoni* nas fezes nos períodos de análise.

6.3.2 Recuperação dos vermes adultos

Na realização da obtenção dos vermes adultos presente no sistema porta-hepático, foram utilizados 172 camundongos, sendo observado presença em 54,07% (n = 93) camundongos e ausência em 45,93% (n = 79). Dos camundongos *missing* (n = 54), 27 morreram antes da data prevista para a eutanásia e em 27 não foi possível acessar os dados referente a perfusão.

O grupo *Kit*^{+/+} demonstrou em 53,41% (n = 47) camundongos com a presença de vermes adultos e em 46,59% (n = 41) a ausência. No grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} essas proporções foram de 54,76% (n = 46) e 45,24% (n = 38), não sendo observado diferença significativa entre a recuperação dos vermes nos grupos.

Na descrição da análise do tempo, observou-se maior percentual da presença de vermes adultos recuperados em 45 e 70 d.p.i. no grupo *Kit*^{+/+}, enquanto no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} os maiores percentuais foram registrados aos 70 e 140 d.p.i. (Tabela 07). Ao realizar a

comparação dos grupos, de acordo com o tempo de eutanásia, não se observou diferença significativa na quantidade de vermes adultos recuperados.

Tabela 7 - Valores percentuais da recuperação dos vermes conforme a variável do tempo de eutanásia dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*

Recuperação dos Vermes		Tempo							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	Presente	9	<u>50,00</u>	27	<u>60,00</u>	11	44,00	47	53,41
	Ausente	9	50,00	18	40,00	14	56,00	41	46,59
	Total	18	100,00	45	100,00	25	100,00	88	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	Presente	9	40,91	25	<u>60,98</u>	12	<u>57,14</u>	46	54,76
	Ausente	13	59,09	16	39,02	9	42,86	38	45,24
	Total	22	100,00	41	100,00	21	100,00	84	100,00

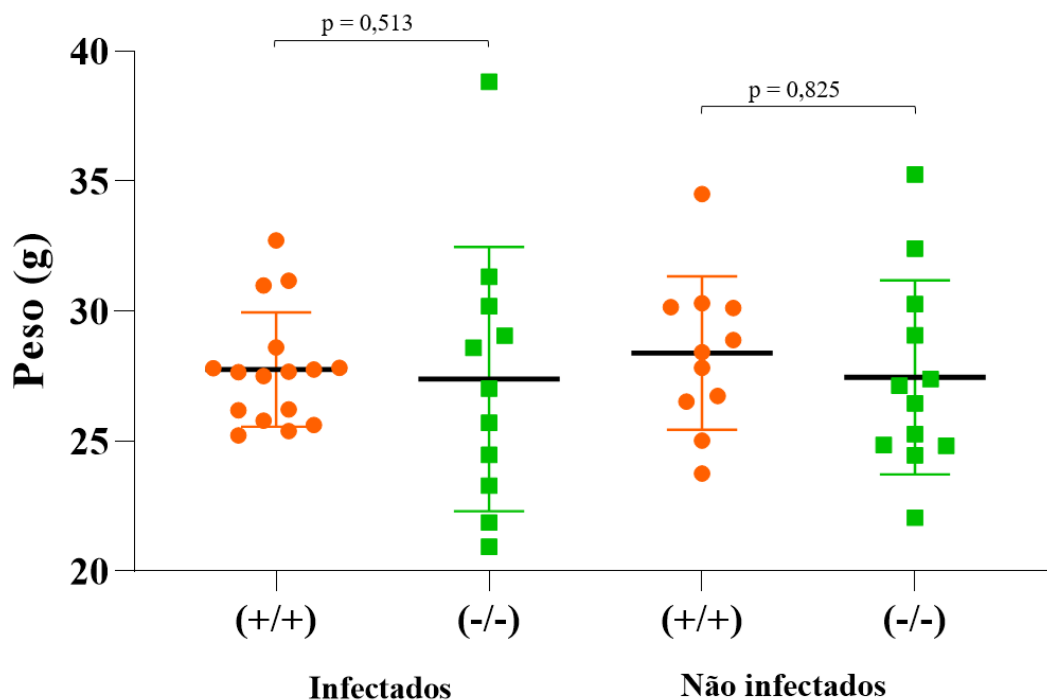
Legenda: Os valores sublinhados se referem no grupo *Kit^{+/+}* a uma maior porcentagem da presença de vermes adultos recuperados em 45 e 70 d.p.i.; No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, maior porcentagem da presença de vermes adultos recuperados em 70 e 140 d.p.i.

Ao segregar e analisar a quantidade de machos, fêmeas e casal (macho e fêmea acoplados), foi observada a presença das três descrições de vermes adultos nos camundongos, obtendo assim no grupo *Kit^{+/+}* uma média de 1,52 de machos, 1,84 de fêmeas e 1,65 de casal. E no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* observou-se uma média de 2,40 de machos, 1,48 de fêmeas e 1,56 de casal, com maior média de fêmeas no grupo *Kit^{+/+}* e de machos no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*.

6.4 Pesagem dos camundongos na eutanásia

Na análise referente a pesagem dos camundongos na eutanásia, comparando o peso médio dos camundongos infectados, observou-se no grupo *Kit^{+/+}* uma média de 27,76 g ($\pm 2,13$) e 27,39 g ($\pm 4,84$) no *Kit^{W-sh/W-sh}* ($p = 0,513$). Nos camundongos não infectados dos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*, se observou 28,38 g ($\pm 2,80$) e 27,45 g ($\pm 3,57$), respectivamente ($p = 0,825$) (Gráfico 04). Considerando a comparação do peso médio entre os camundongos infectados e não infectados no grupo *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*, não se observou diferença significativa.

Gráfico 4 - Peso corporal dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ na data da eutanásia



Legenda: (+/+) grupo $Kit^{+/+}$ em laranja (-/-) grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em verde. As barras centrais representam a média $\pm$ desvio padrão. Não foram observadas diferenças significativas entre infectados e não infectados de ambos os grupos experimentais.

Na análise de acordo com o tempo de eutanásia e infecção, não se observou diferença ao comparar os camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, podendo observar na Tabela 08 a descrição da média do peso do camundongo da data de eutanásia.

Tabela 8 - Média do peso dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia e infecção

Média do Peso do Camundongo – Eutanásia							
Infecção	D.P.I.	Grupos					
		$Kit^{+/+}$		$Kit^{W-sh/W-sh}$		Total	
		N	Média ($\pm$)	N	Média ($\pm$)	N	Média ($\pm$)
Infectado	70 dias	8	27,27 (0,75)	7	26,95 (5,82)	15	27,12 (4,02)
	140 dias	8	28,24 (2,84)	4	28,16 (2,08)	12	28,21 (2,61)
	Total	16	27,76 (2,13)	11	27,39 (4,84)	27	27,61 (3,50)
Não Infectado	70 dias	5	26,43 (2,13)	6	26,46 (2,30)	11	26,44 (2,23)
	140 dias	6	30,01 (2,19)	6	28,45 (4,27)	12	29,23 (3,48)
	Total	11	28,38 (2,80)	12	27,45 (3,57)	23	27,90 (3,26)

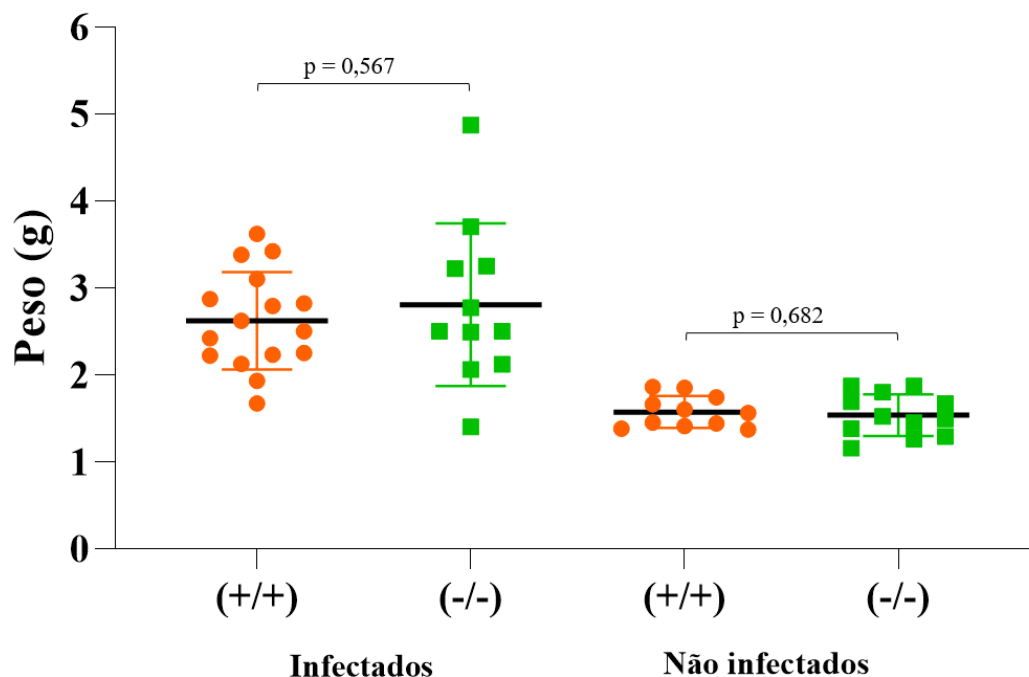
Legenda: D.P.I.: dias pós infecção; ($\pm$) desvio padrão.

6.5 Análise macroscópica descritiva dos órgãos durante a necropsia

6.5.1 Fígado

Na análise descritiva do peso médio do fígado dos camundongos infectados se observou no grupo $Kit^{+/+}$ uma média de 2,62 g ($\pm$ 0,54) e 2,80 g ($\pm$ 0,89) no $Kit^{W-sh/W-sh}$ ($p = 0,567$). E nos camundongos não infectados dos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, se observou 1,57 g ($\pm$ 0,17) e 1,53 g ($\pm$ 0,23), respectivamente ($p = 0,682$) (Gráfico 05). Analisando o peso médio do fígado, entre os camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$, observou uma maior média dos camundongos infectados em relação dos não infectados ($p = 0,000$). E no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, pode-se observar uma média maior nos camundongos infectados em relação dos não infectados ($p = 0,001$).

Gráfico 5 - Peso do fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ na data da eutanásia



Legenda: (+/+) grupo $Kit^{+/+}$ em laranja (-/-) grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em verde. As barras centrais representam a média $\pm$ desvio padrão. Não foram observadas diferenças significativas entre infectados e não infectados de ambos os grupos experimentais.

Na análise de acordo com o tempo de eutanásia e infecção, não se observou diferença significativa ao comparar os camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, conforme descrito a média do peso do fígado da data de eutanásia na Tabela 09.

Tabela 9 - Média do peso do fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia e infecção

Média do Peso do Fígado							
Infecção	D.P.I.	Grupos					
		$Kit^{+/+}$		$Kit^{W-sh/W-sh}$		Total	
		N	Média ($\pm$)	N	Média ($\pm$)	N	Média ($\pm$)
Infectado	70 dias	8	2,60 (0,35)	7	2,60 (0,75)	15	2,60 (0,57)
	140 dias	8	2,63 (0,67)	4	3,15 (0,99)	12	2,81 (0,83)
	Total	16	2,62 (0,54)	11	2,80 (0,89)	27	2,69 (0,71)
Não Infectado	70 dias	5	1,48 (0,08)	6	1,41 (0,23)	11	1,44 (0,18)
	140 dias	6	1,65 (0,18)	6	1,66 (0,15)	12	1,65 (0,17)
	Total	11	1,57 (0,17)	12	1,53 (0,23)	23	1,55 (0,20)

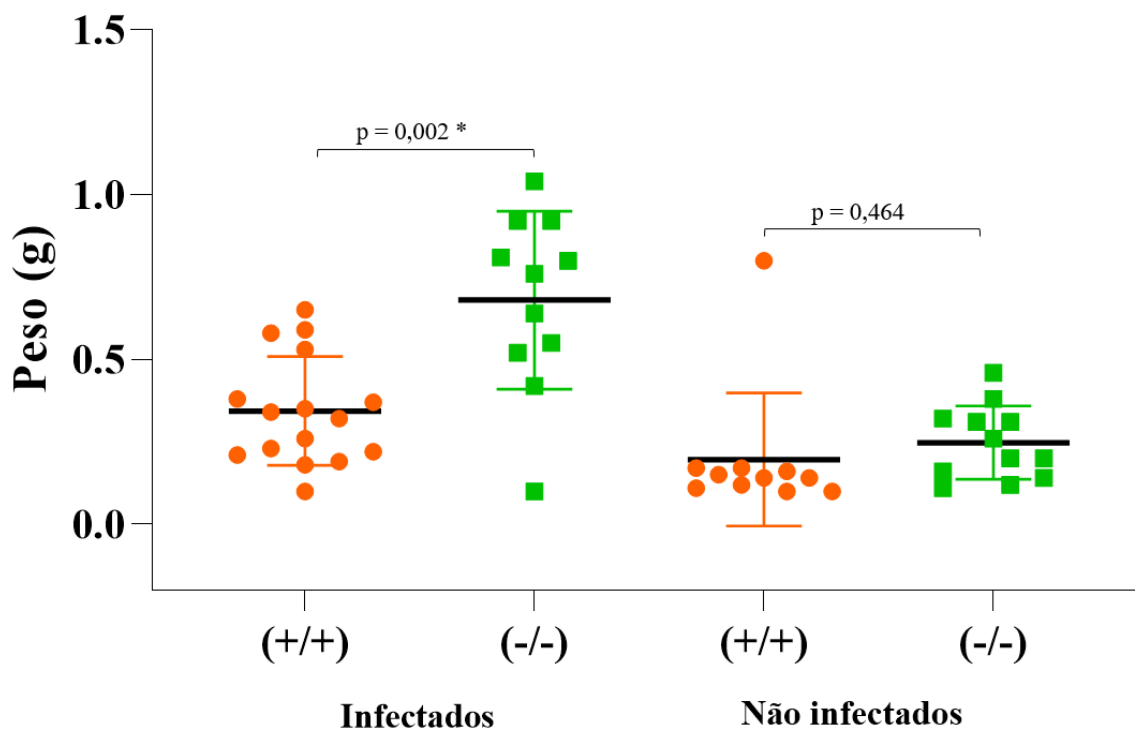
Legenda: D.P.I.: dias pós infecção; ($\pm$) desvio padrão.

Na avaliação geral da presença/ausência de alterações hepáticas características da esquistossomose, observou-se que a maioria dos fígados dos camundongos infectados apresentava alterações compatíveis com a doença. No grupo $Kit^{+/+}$, essas alterações foram identificadas em 93,75% dos camundongos ($n = 30$), estando ausentes em 6,25% ($n = 02$). De forma semelhante, no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, verificou-se a presença de alterações hepáticas em 96,00% dos animais ($n = 24$) e ausência em 4,00% ($n = 01$), não sendo observada diferença significativa entre os grupos quanto à presença dessas alterações.

6.5.2 Baço

Na análise descritiva do peso do baço dos camundongos infectados foi possível observar uma maior média no $Kit^{W-sh/W-sh}$ ($0,68 \text{ g} \pm 0,25$) em relação ao grupo $Kit^{+/+}$ ($0,34 \text{ g} \pm 0,16$), com diferença significativa ($p = 0,002$). Já nos camundongos que não foram infectados foi observada uma média de $0,19 \text{ g} (\pm 0,19)$ no grupo $Kit^{+/+}$ e $0,24 \text{ g} (\pm 0,10)$ no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, sem diferença significativa ($p = 0,468$) (Gráfico 06). Analisando o peso médio, entre os camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{+/+}$, não se observou diferença significativa ($p = 0,060$). Já no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ pode-se observar uma maior média nos camundongos infectados em relação aos não infectados ($p = 0,000$).

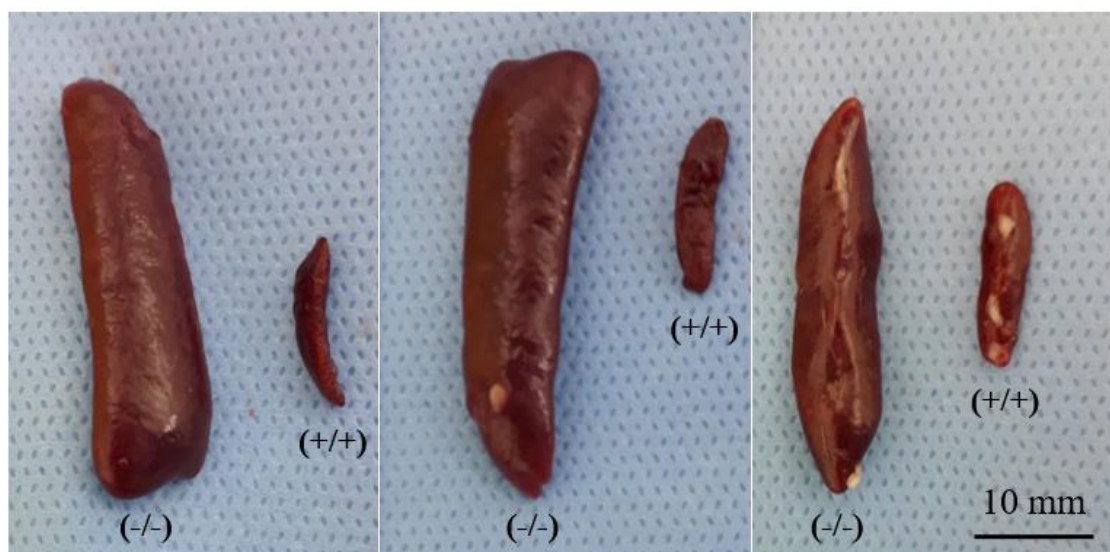
Gráfico 6 - Peso do baço dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ na data da eutanásia



Legenda: $(+/+)$ grupo $Kit^{+/+}$ em laranja $(-/-)$ grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em verde. As barras centrais representam a média $\pm$ desvio padrão. Camundongos infectados do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ apresentaram maior peso médio em relação ao grupo $Kit^{+/+}$. Não foram observadas diferenças significativas entre camundongos não infectados.

As diferenças macroscópicas descritas acima, estão ilustradas na Figura 06, no qual, à esquerda, observa-se baço do camundongo do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, de coloração pardo-avermelhada, pesando 1,43g, mostrando-se de volume aumentado em contraste ao baço à direita do grupo $Kit^{+/+}$, que se apresenta com volume reduzido e pesando 0,06g. Ambas as peças anatômicas são de camundongos que foram infectados com cercárias de *S. mansoni* por via percutânea e eutanasiados 140 d.p.i.

Figura 6 - Imagens de amostras representativas do baço dos camundongos *Kit^{W-sh/W-sh}* e *Kit^{+/+}* infectados por *Schistosoma mansoni*



Legenda: (+/+) grupo *Kit^{+/+}* (-/-) grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*. Na figura, estão representados os baços de camundongos infectados de cada grupo, evidenciando o aumento do tamanho no grupo deficiente de mastócitos (-/-) quando comparado ao grupo controle (+/+).

Na análise de acordo com o tempo de eutanásia e infecção, no tempo de 70 d.p.i. não foi observada diferença significativa nos camundongos dos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*, quando infectados e não infectados. Já no tempo de 140 d.p.i., foi possível observar diferença significativa nos camundongos infectados ($p = 0,055$) e não infectados ($p = 0,029$) do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, que demonstraram maior média em relação ao *Kit^{+/+}* (Tabela 10).

Tabela 10 - Média do peso do baço dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia e infecção

Infecção	D.P.I.	Média do Peso do Baço					
		Grupos					
		$Kit^{+/+}$		$Kit^{W-sh/W-sh}$		Total	
		N	Média ($\pm$)	N	Média ($\pm$)	N	Média ($\pm$)
Infectado	70 dias	8	0,40 (0,15)	7	0,66 (0,27)	15	0,52 (0,25)
	140 dias	8	<u>0,27 (0,13)</u>	4	<u>0,70 (0,22)</u>	12	0,42 (0,26)
	Total	16	0,34 (0,16)	11	0,68 (0,25)	27	0,48 (0,26)
Não Infectado	70 dias	5	0,25 (0,27)	6	0,21 (0,10)	11	0,22 (0,20)
	140 dias	6	<u>0,15 (0,01)</u>	6	<u>0,28 (0,09)</u>	12	0,21 (0,09)
	Total	11	0,19 (0,19)	12	0,24 (0,10)	23	0,22 (0,15)

Legenda: D.P.I.: dias pós infecção; ($\pm$) desvio padrão. Os valores sublinhados se referem-se à maior média do peso do baço dos camundongos infectados e não infectados do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em relação ao grupo $Kit^{+/+}$, com diferença significativa nos camundongos infectados ($p = 0,055$) e não infectados ($p = 0,029$).

6.6 Análises Microscópicas

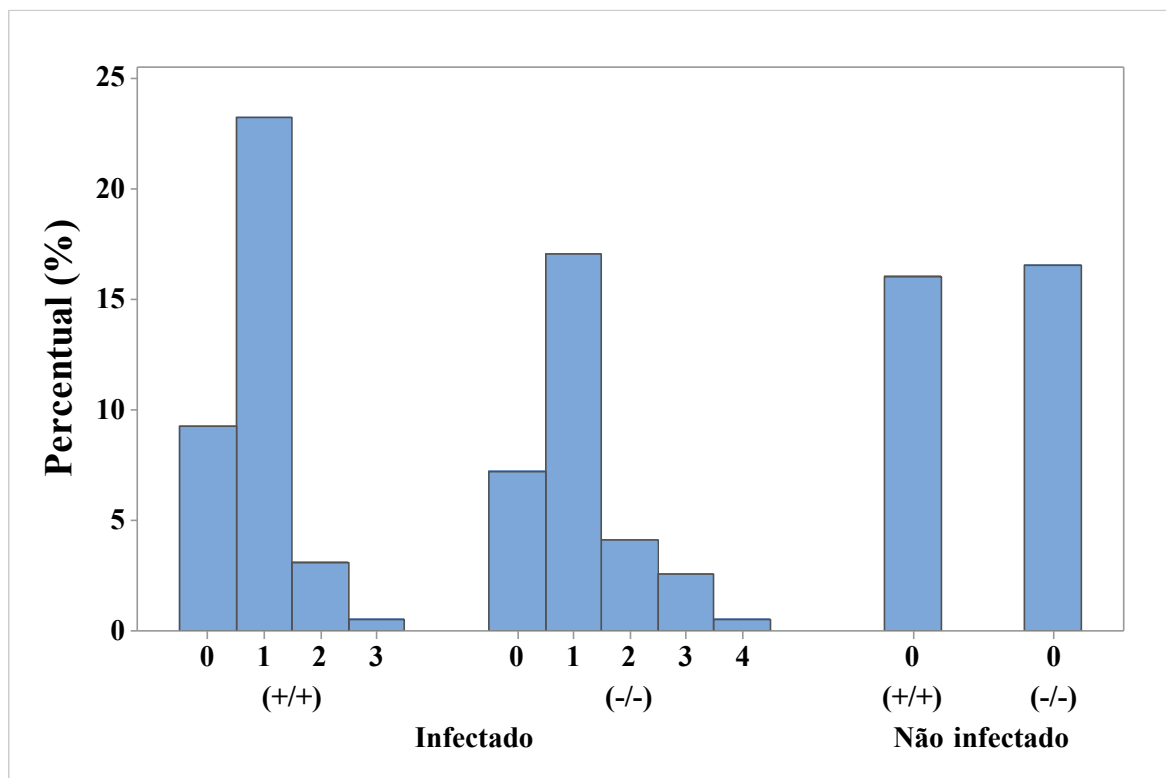
6.6.1 Alterações Hepáticas

Na análise microscópica das alterações hepáticas (variáveis de F-I até F-XII, detalhadas no Anexo B), foram examinadas em 194 camundongos, sendo 101 do grupo $Kit^{+/+}$ e 93 $Kit^{W-sh/W-sh}$, no qual 32 amostras foram *missing*, sendo amostras dos camundongos que morreram antes da data prevista para eutanásia ou tiveram problema no processamento/coloração por hematoxilina e eosina. Considerando a infecção experimental, foram examinados 70 e 61 camundongos infectados com cercárias de *S. mansoni*, 31 e 32 camundongos não infectados, respectivamente, dos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$. As análises histopatológicas das amostras de fígado dos camundongos que não foram infectados não demonstraram alterações características à esquistossomose, em ambos os grupos, demonstrando a arquitetura hepática totalmente preservada ou normal.

Na descrição da variável F-I (estrutura do fígado), foi possível observar no grupo $Kit^{+/+}$ em 64,29% dos camundongos uma estrutura parcialmente alterada, 8,57% moderadamente e 1,43% muito alterada, observando em 25,71% uma estrutura totalmente preservada ou normal. No grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ observou-se em 54,10% parcialmente alterada, 13,11%

moderadamente alterada, 8,20% muito alterada e 1,64% totalmente alterada, observando em 22,95% uma estrutura totalmente preservada ou normal, no qual não foram observadas diferenças significativas entre os grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ (Gráfico 07).

Gráfico 7 - Análise da estrutura hepática dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados por *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo $Kit^{+/+}$ (+/+) e $Kit^{W-sh/W-sh}$ (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação à estrutura hepática: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Parcialmente alterada. (2) Moderadamente alterada. (3) Muito Alterada. (4) Totalmente Alterada.

Na análise de acordo com o tempo de eutanásia, foi observado nos camundongos infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ um maior percentual para uma estrutura totalmente preservada ou normal no tempo de 45 d.p.i. e parcialmente alterada no tempo de 70 d.p.i., sem diferença significativa. No tempo de 140 d.p.i. foi possível observar diferença significativa ($p = 0,049$), que demonstrou mais alterações da estrutura no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em relação ao grupo $Kit^{+/+}$, conforme observado na Tabela 11, com a descrição dos valores percentuais de cada tempo e grupo.

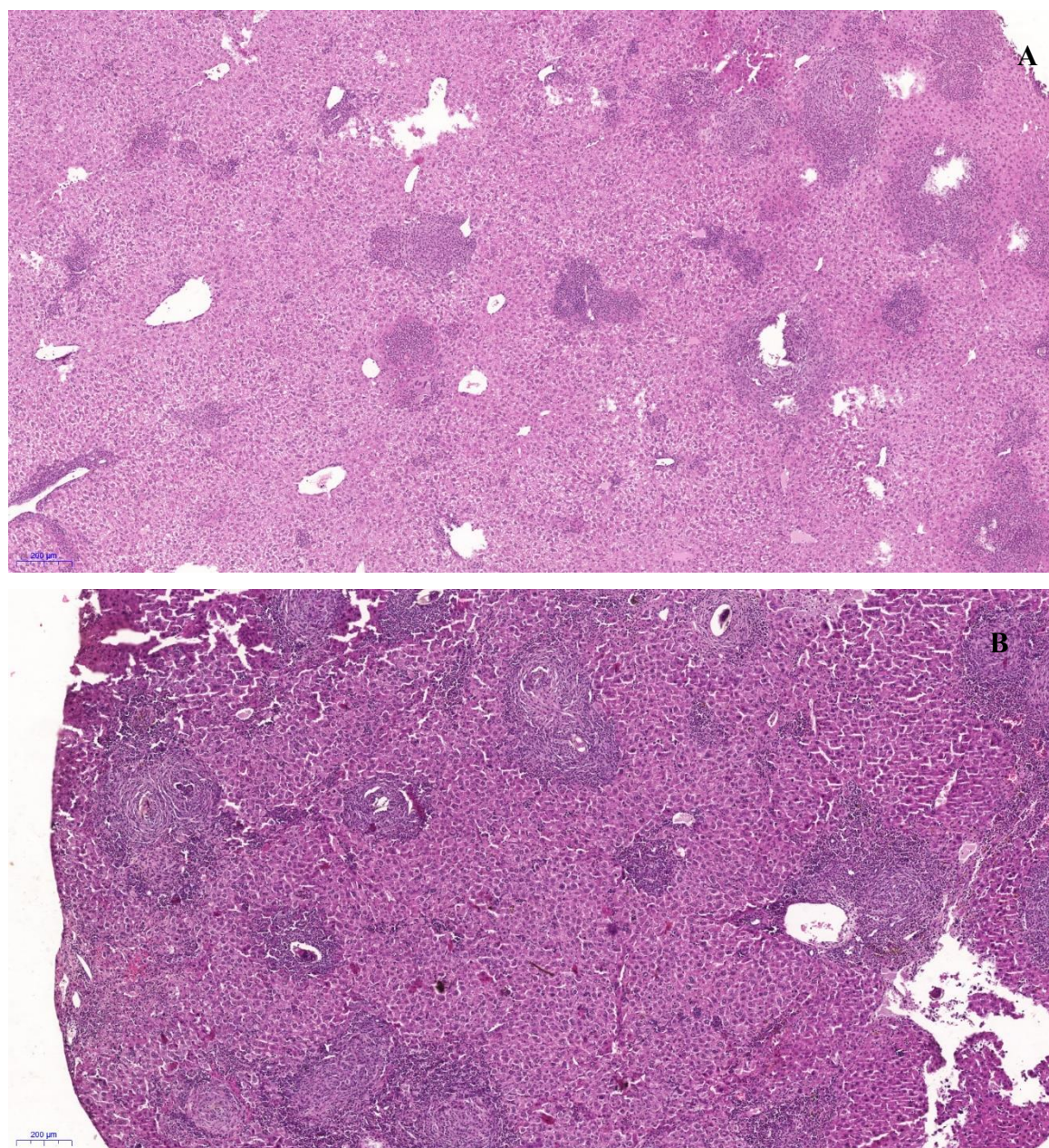
Tabela 11 - Valores percentuais da estrutura do fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Camundongo Infectado									
F-I Estrutura do Fígado		Tempo (dias)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	12	<u>85,71</u>	3	10,00	3	11,54	18	25,71
	1	2	14,29	25	<u>83,33</u>	18	<u>69,23</u>	45	64,29
	2	0	0,00	2	6,67	4	<u>15,38</u>	6	8,57
	3	0	0,00	0	0,00	1	<u>3,85</u>	1	1,43
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	9	<u>64,29</u>	4	13,33	1	<u>5,88</u>	14	22,95
	1	4	28,57	20	<u>66,67</u>	9	<u>52,94</u>	33	54,10
	2	1	7,14	4	13,33	3	<u>17,65</u>	8	13,11
	3	0	0,00	2	6,67	3	<u>17,65</u>	5	8,20
	4	0	0,00	0	0,00	1	<u>5,88</u>	1	1,64
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Parcialmente alterada. (2) Moderadamente alterada. (3) Muito Alterada. (4) Totalmente Alterada. Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual observado no grupo *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 45 (estrutura totalmente preservada ou normal) e 70 d.p.i. (parcialmente alterada), destacando uma variação percentual no tempo de 140 d.p.i. demonstrando mais alterações da estrutura no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} em relação ao grupo *Kit*^{+/+} (p = 0,049).

As alterações estruturais observadas no parênquima hepático estão ilustradas na figura 07, que demonstra em menor aumento no grupo *Kit*^{+/+} (A) a presença de múltiplos granulomas com ovos de *S. mansoni* distribuídos no parênquima, caracterizados por agregados celulares inflamatórios organizados, associados a infiltrado inflamatório periportal e estrutura alterada. No grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} (B) um parênquima hepático com os cordões de hepatócitos desorganizados e focos de aspecto mais basofílicos, com a presença de ovos de *S. mansoni* e formação de granulomas.

Figura 7 - Achados histopatológicos da estrutura hepática dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* eutanasiados no tempo de 140 d.p.i.



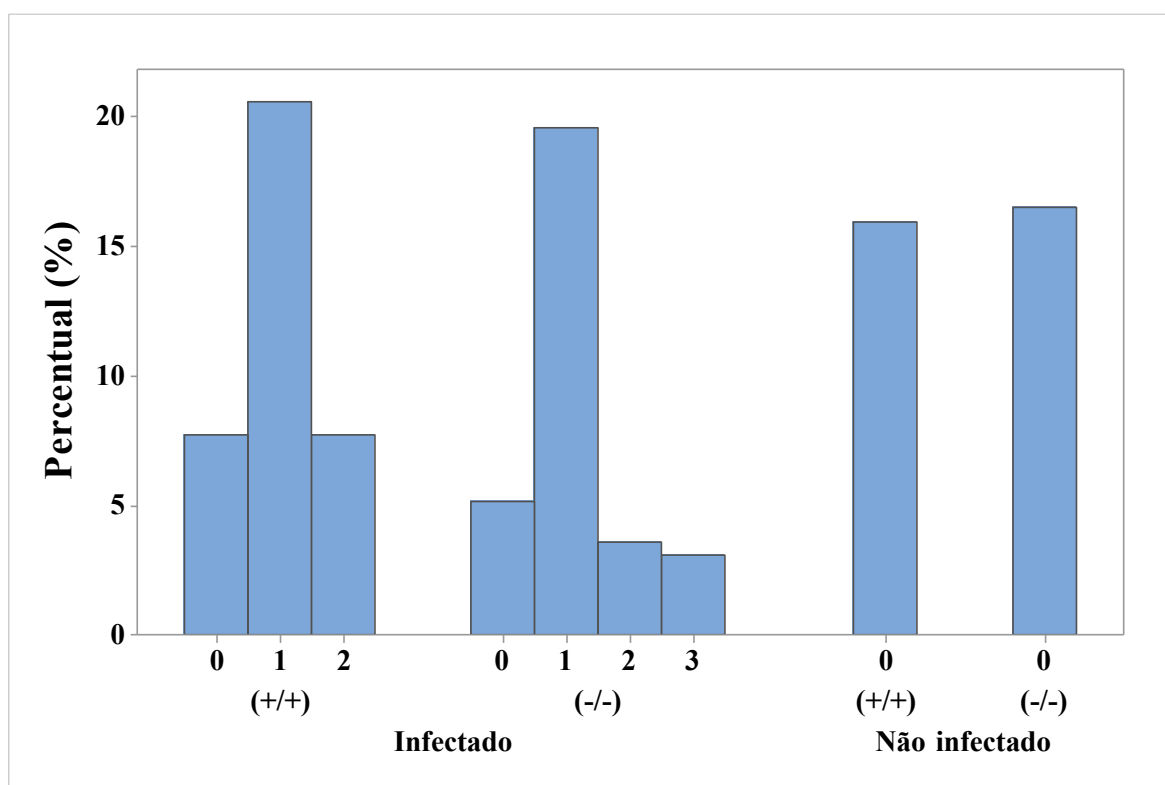
Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a estrutura do fígado. Em (A) Grupo *Kit*^{+/+}, observa-se um parênquima hepático com descrição: parcialmente alterada e imagem no aumento de 5x. Em (B) Grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, tendo como descrição: moderadamente alterada e imagem no aumento de 5x.

Na análise F-II (Nº de Tratos Portais), que correspondendo a viabilidade para a análise das amostras na pesquisa, dos camundongos infectados do grupo *Kit*^{+/+} 97,14% apresentaram o número de tratos portais superior a 10 e somente 2,86% apresentaram inferior a 10, no grupo

Kit^{W-sh/W-sh}, 100% dos camundongos apresentaram o número de tratos portais superior a 10. Dos camundongos que não foram infectados 83,87% e 96,88% demonstraram o número de tratos portais superior a 10, respectivamente aos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*, no qual 16,13% e 3,13% apresentaram inferior a 10, respectivamente.

A análise da Arquitetura do Espaço Portal (F-III) demonstrou em 21,43% dos camundongos do grupo *Kit^{+/+}* e 16,39% do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* uma estrutura totalmente preservada ou normal. Das alterações observadas o grupo *Kit^{+/+}* demonstrou em 57,14% alargados, mas sem septos e 21,43% alargados e com septos, o grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* demonstrou em 62,30% alargados, mas sem septos, 11,48% alargados e com septos e 9,84% alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente, no qual, foi possível identificar a fibrose mais intensa nos camundongos deficiente de mastócitos, uma vez que eles apresentaram níveis de modificação estrutural mais avançados em relação aos do grupo *Kit^{+/+}* com diferença significativa ($p = 0,021$) (Gráfico 08).

Gráfico 8 - Análise da arquitetura do espaço porta no fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo *Kit^{+/+}* (+/+) e *Kit^{W-sh/W-sh}* (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação à arquitetura do espaço porta hepática: (0) Totalmente preservado ou normal.

(1) Alargados, mas sem septos. (2) Alargados e com septos incompletos. (3) Alargados e com septos completos ou pontes ou coalescentes.

Na análise, de acordo com o tempo de eutanásia, pode-se observar aos 45 d.p.i. um maior percentual de alteração na arquitetura do espaço portal para “alargados, mas sem septos” no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em relação ao grupo $Kit^{+/+}$, que demonstrou maior percentual para “totalmente preservado ou normal” ($p = 0,054$), no tempo de 70 d.p.i. ambos os grupos apresentaram maior percentual da variável “alargados, mas sem septos” ($p = 0,385$). E no tempo de 140 d.p.i. foi possível observar diferença significativa ($p = 0,001$), sendo descritivo no grupo $Kit^{+/+}$ a presença de maior percentual para “alargados e com septos incompletos” e no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ maior percentual para “alargados e com septos completos ou pontes ou coalescentes”, conforme observado na Tabela 12.

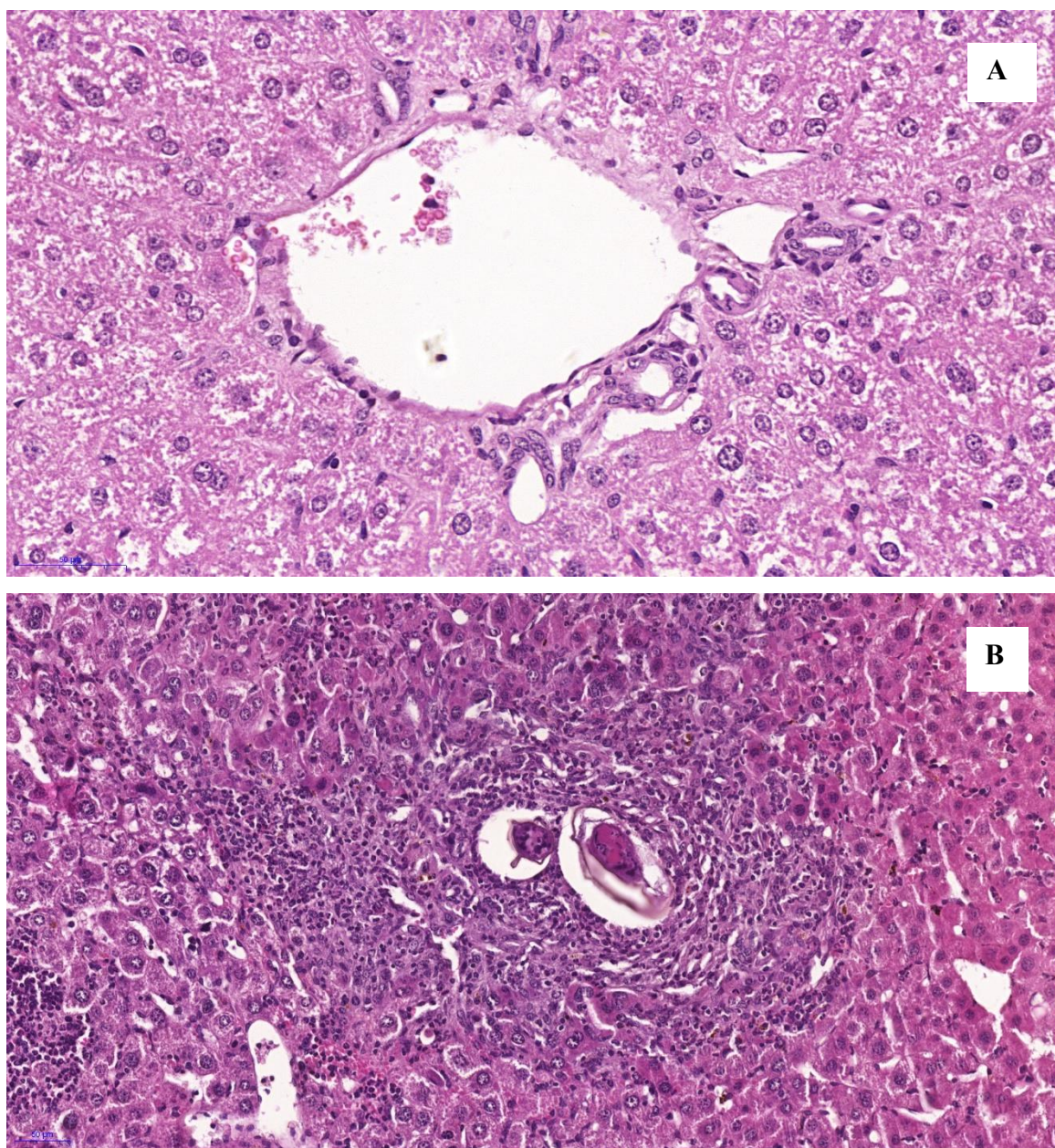
Tabela 12 - Valores percentuais da arquitetura do espaço porta do fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Camundongo Infectado									
F-III Arquitetura do espaço portal		Tempo							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	11	<u>78,57</u>	1	3,33	3	11,54	15	21,43
	1	3	21,43	28	<u>93,33</u>	9	34,62	40	57,14
	2	0	0,00	1	3,33	14	<u>53,85</u>	15	21,43
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	5	35,71	4	13,33	1	5,88	10	16,39
	1	9	<u>64,29</u>	24	<u>80,00</u>	5	29,41	38	62,30
	2	0	0,00	2	6,67	5	29,41	7	11,48
	3	0	0,00	0	0,00	6	<u>35,29</u>	6	9,84
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Alargados, mas sem septos. (2) Alargados e com septos incompletos. (3) Alargados e com septos completos ou pontes ou coalescentes. (4) Cirrose. Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual observado no grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ nos tempos de 45, 70 e 140 d.p.i. Aos 45 e 140 d.p.i., observou-se maior percentual de alteração da arquitetura do espaço porta no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em relação ao grupo $Kit^{+/+}$, com diferença significativa ($p = 0,054$) e ($p = 0,001$).

A avaliação da arquitetura do espaço portal no fígado (Figura 08) demonstrou no grupo *Kit*^{+/+} (A), um parênquima hepático com uma arquitetura alargada, mas sem septos. No grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} (B), observou-se um parênquima hepático com arquitetura alargada e com septos completos ou pontes ou coalescente, com a presença de ovos de *S. mansoni*, evidenciando a alteração causada com a presença dos mastócitos.

Figura 8 - Achados histopatológicos relacionados à arquitetura do espaço porta no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni*

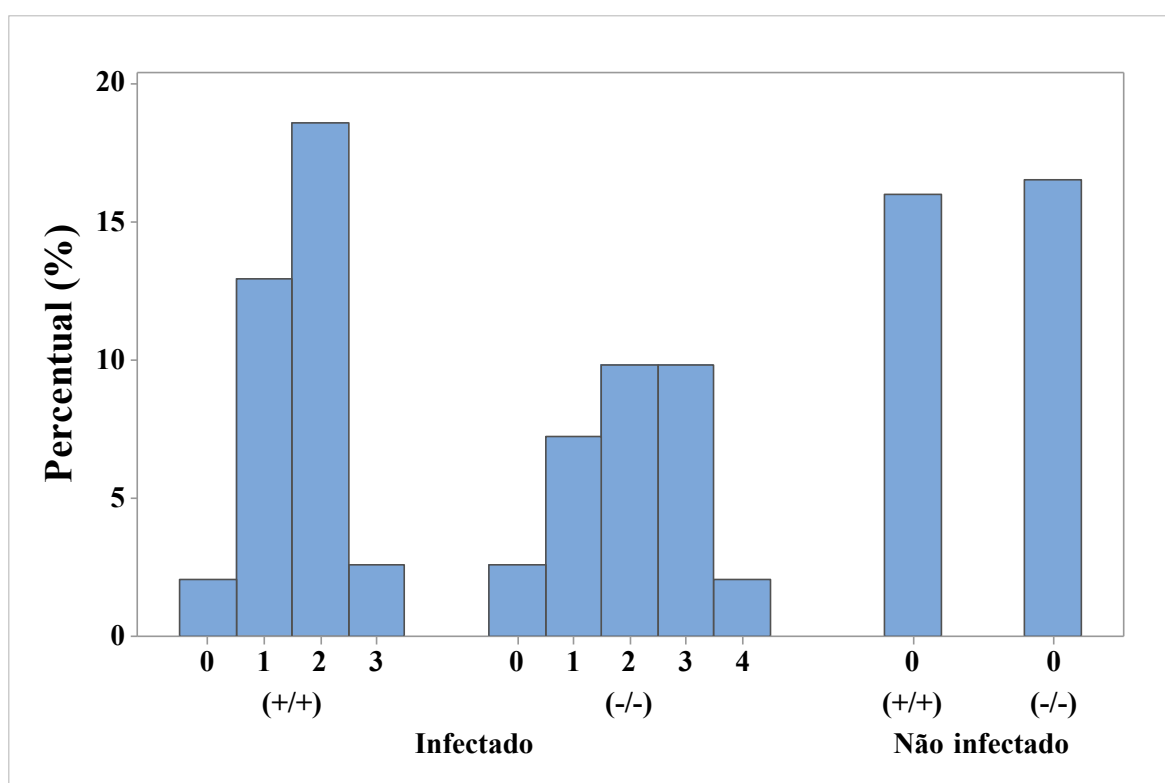


Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a arquitetura do espaço portal no fígado. Em (A) Grupo *Kit*^{+/+}, tendo como descrição: preservados e sem septos e imagem no aumento de 40x. Em (B) Grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} tendo como descrição: alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente e imagem no aumento de 10x e *insert* de 40x.

A análise da reação inflamatória portal (F-IV) (Gráfico 09), demonstrou no grupo *Kit*^{+/+} a ausência do infiltrado inflamatório em 5,71%, infiltrado inflamatório portal discreto em

35,71%, moderado em 51,43% e acentuado em 7,14% dos camundongos. E no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* foi possível observar em 8,20% a ausência do infiltrado inflamatório, em 22,95% infiltrado inflamatório portal discreto, 31,15% moderado, 31,15% acentuado e 6,56% muito acentuado, com diferença significativa ($p = 0,000$) entre os grupos, no qual os camundongos do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* demonstraram maior atividade inflamatória.

Gráfico 9 - Análise do infiltrado inflamatório no fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo *Kit^{+/+}* (+/+) e *Kit^{W-sh/W-sh}* (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação ao infiltrado inflamatório hepático: Legenda: (0) Ausente ou escasso. (1) Discreto. (2) Moderado. (3) Acentuado (4) Muito acentuado.

Na análise, de acordo com o tempo de eutanásia, pode-se observar uma maior variabilidade do infiltrado inflamatório no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* em relação ao grupo *Kit^{+/+}*, sem diferença no tempo 45 d.p.i. e com diferença significativa no tempo de 70 e 140 d.p.i. ($p = 0,000$ e $p = 0,059$, respectivamente) e conforme observado na Tabela 13.

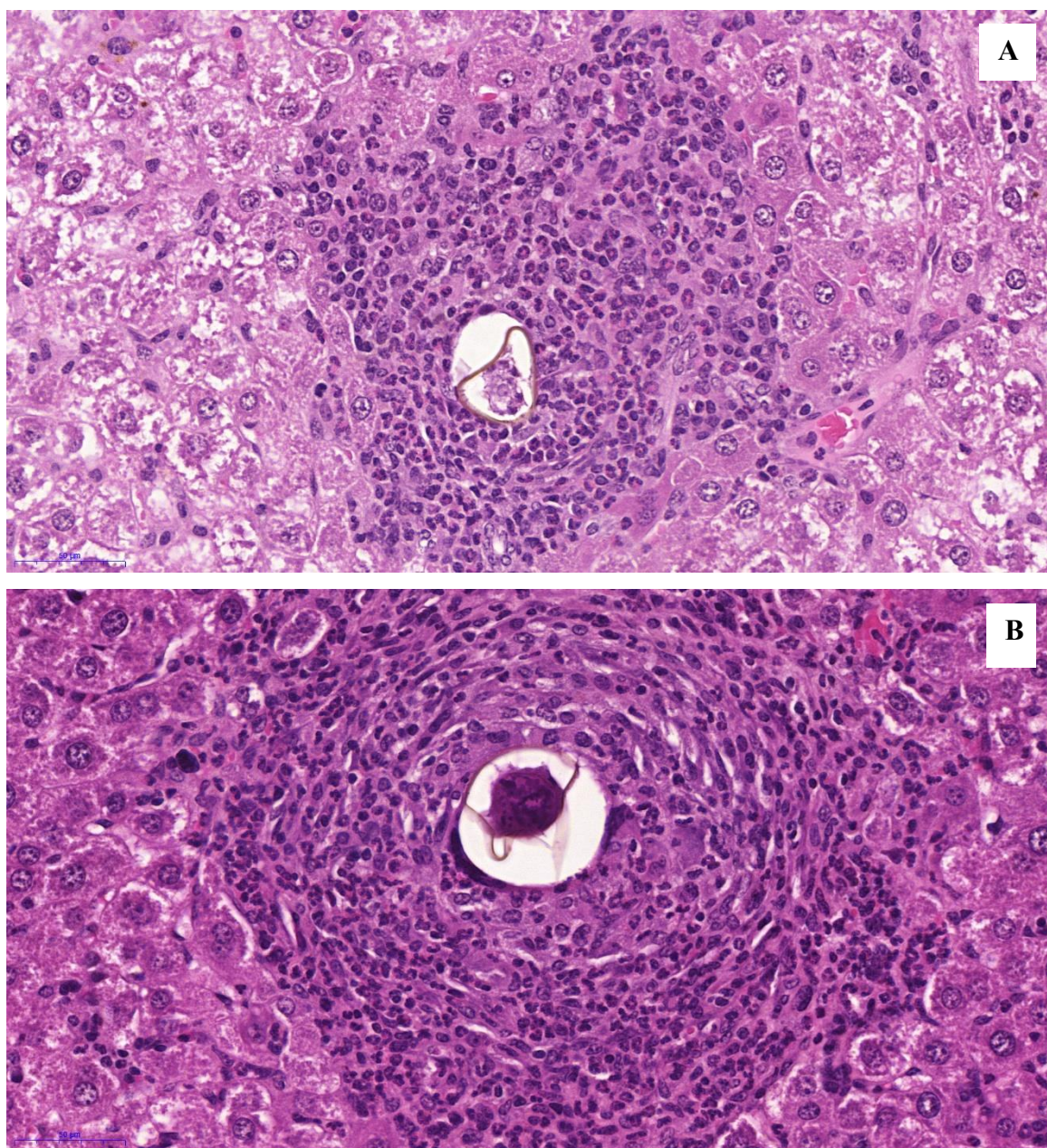
Tabela 13 - Valores percentuais do infiltrado inflamatório do fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

F-IV Infiltrado Inflamatório		Camundongo Infectado							
		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	3	21,43	1	3,33	0	0,00	4	5,71
	1	10	71,43	5	<u>16,67</u>	10	<u>38,46</u>	25	35,71
	2	1	7,14	21	<u>70,00</u>	14	<u>53,85</u>	36	51,43
	3	0	0,00	3	<u>10,00</u>	2	<u>7,69</u>	5	7,14
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	3	21,43	2	6,67	0	0,00	5	8,20
	1	6	42,86	4	<u>13,33</u>	4	<u>23,53</u>	14	22,95
	2	3	21,43	8	<u>26,67</u>	8	<u>47,06</u>	19	31,15
	3	2	14,29	12	<u>40,00</u>	5	<u>29,41</u>	19	31,15
	4	0	0,00	4	<u>13,33</u>	0	0,00	4	6,56
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Ausente ou escasso. (1) Discreto. (2) Moderado. (3) Acentuado (4) Muito acentuado. Os valores sublinhados referem-se à variabilidade do infiltrado inflamatório no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} em relação ao grupo *Kit*^{+/+}, com diferença significativa no tempo de 70 e 140 d.p.i. (p = 0,000 e p = 0,059, respectivamente).

A avaliação do infiltrado inflamatório no fígado (Figura 09) demonstrou no parênquima do grupo *Kit*^{+/+} (A), a presença de um infiltrado inflamatório polimorfonucleares em focos multifocais, e no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} (B), o parênquima hepático apresentou um acentuado infiltrado celular mononuclear difuso, em relação ao *Kit*^{+/+}, evidenciando o aumento do infiltrado inflamatório na ausência dos mastócitos.

Figura 9 - Achados histopatológicos da análise do infiltrado inflamatório no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *S. mansoni*



Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando o infiltrado inflamatório no fígado. Em (A) Grupo *Kit*^{+/+}, tendo como descrição: misto, com predomínio de polimorfonucleares e imagem no aumento de 40x. Em (B) Grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, tendo como descrição: misto, com maior proporção de mononucleares e imagem no aumento de 40x.

Na análise correspondente a presença de granulomas (F-V) observou-se no grupo *Kit*^{+/+} a sua presença em 92,86% dos camundongos e em 95,08% do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, nos demais

camundongos não identificou a presença de granulomas (7,14% *Kit*^{+/+} e 4,92% *Kit*^{W-sh/W-sh}), podendo observar na Tabela 14 a distribuição da presença/ausência dos granulomas de com o tempo de eutanásia e o grupo.

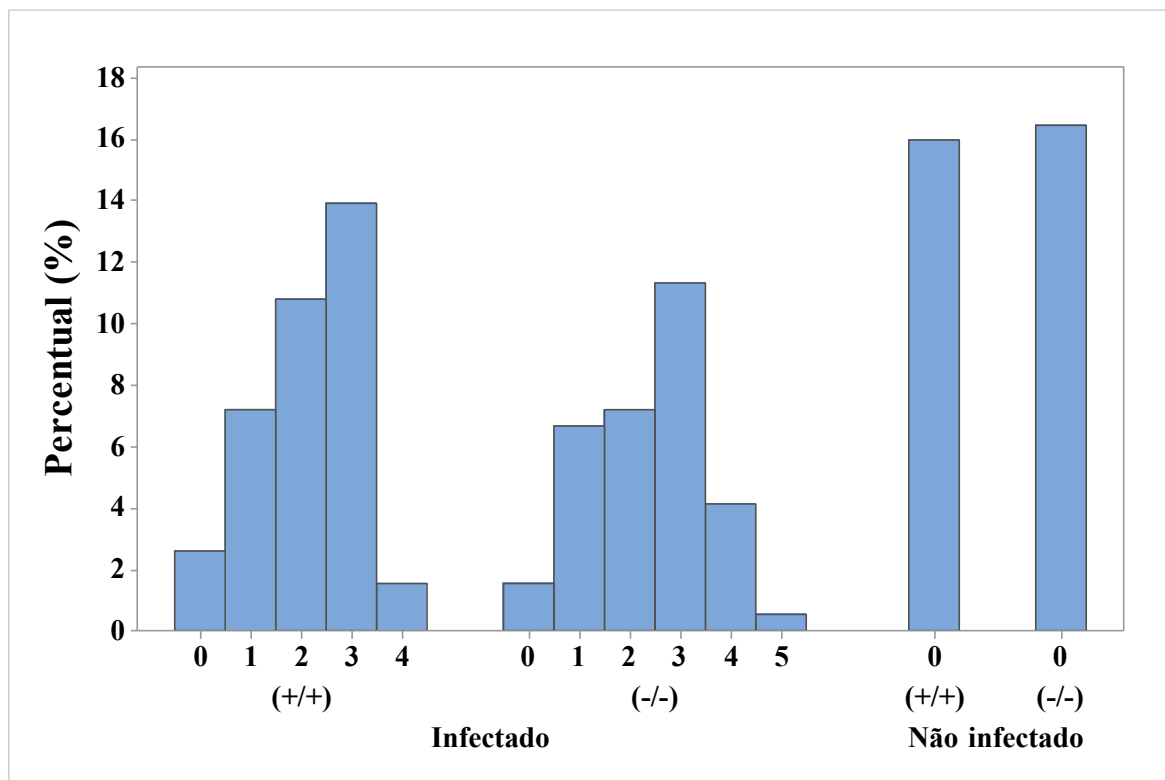
Tabela 14 - Valores percentuais da presença de granulomas no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

		Camundongo Infectado							
F-V Presença de Granuloma		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	3	21,43	1	3,33	1	3,85	5	7,14
	1	11	78,57	29	96,67	25	96,15	65	92,86
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	1	7,14	2	6,67	0	0,00	3	4,92
	1	13	92,86	28	93,33	17	100,00	58	95,08
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Ausente. (1) Presente.

Analisando a quantidade de granulomas (F-VI), observou-se no grupo *Kit*^{+/+} o percentual de 20,00% como raros ou escassos, 30,00% discreto, 38,57% moderado e 4,29% acentuado. Já no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, 21,31% apresentaram granulomas raros ou escassos, 22,95% discreto, 36,07% moderado, 13,11% acentuado e 1,64% muito acentuado. Os camundongos, de ambos os grupos, apresentaram um maior percentual moderado para a quantidade de granulomas, sem diferença significativa (Gráfico 10).

Gráfico 10 - Análise da quantidade de granulomas no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo $Kit^{+/+}$ (+/+) e $Kit^{W-sh/W-sh}$ (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação a quantidade de granulomas hepático: (0) Nenhum granuloma. (1) Rara ou escassa. (2) Discreta. (3) Moderada. (4) Acentuada. (5) Muito acentuada.

Na análise de comparação entre os grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, de acordo com o tempo de eutanásia, não se observou diferença significativa entre os grupos, podendo observar uma distribuição semelhante da quantidade de granulomas de acordo com o grupo no tempo de eutanásia, embora exista uma variabilidade de distribuição da quantificação (Tabela 15).

Tabela 15 - Valores percentuais da quantidade de granulomas no fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Camundongo Infectado									
F-VI Quantidade de Granulomas		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kit ^{+/+}	0	3	21,43	1	3,33	1	3,85	5	7,14
	1	7	50,00	3	10,00	4	15,38	14	20,00
	2	4	28,57	10	33,33	7	26,92	21	30,00
	3	0	0,00	15	50,00	12	46,15	27	38,57
	4	0	0,00	1	3,33	2	7,69	3	4,29
	5	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
Kit ^{W-sh/W-sh}	0	1	7,14	2	6,67	0	0,00	3	4,92
	1	7	50,00	3	10,00	3	17,65	13	21,31
	2	3	21,43	6	20,00	5	29,41	14	22,95
	3	3	21,43	12	40,00	7	41,18	22	36,07
	4	0	0,00	6	20,00	2	11,76	8	13,11
	5	0	0,00	1	3,33	0	0,00	1	1,64
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Rara ou escassa. (2) Discreta. (3) Moderada. (4) Acentuada. (5) Muito acentuada.

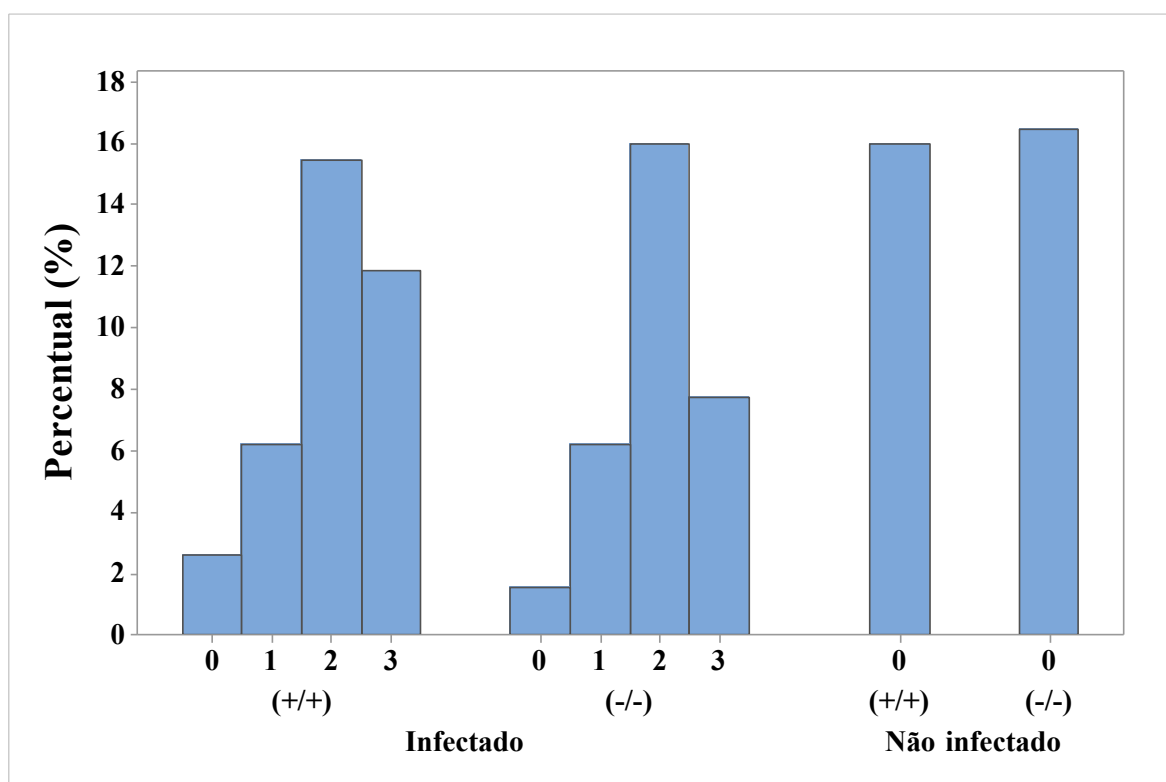
Analisando a constituição dos granulomas (F-VII), no grupo *Kit^{+/+}* observou-se um predomínio de 84,29% de linfócitos, macrófagos e eosinófilos e 8,57% de linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. Já no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* observou-se em 68,85% o predomínio de linfócitos, macrófagos e eosinófilos e em 26,23% somente linfócitos e macrófagos.

Na análise F-VII, de acordo com o tempo de eutanásia, em 45 d.p.i foram identificadas apenas a presença de granulomas constituídos de linfócitos, macrófagos e eosinófilos, 78,57% no grupo *Kit^{+/+}* e 92,86% no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, assim como no tempo de 70 d.p.i. (96,67% *Kit^{+/+}* e 93,33% *Kit^{W-sh/W-sh}*). Apenas no tempo de 140 d.p.i. foi identificada a presença de dois tipos de constituição dos granulomas, no grupo *Kit^{+/+}* observou-se em 73,08% granulomas constituídos de linfócitos, macrófagos e eosinófilos e em 23,08% linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos, no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* observou-se somente

linfócitos e macrófagos em 94,12% dos camundongos e em 5,88% a constituição de linfócitos, macrófagos e eosinófilos.

Em relação à fase do granuloma (F-VIII), no grupo $Kit^{+/+}$ se observou em 17,14% dos camundongos granulomas exsudativos, 42,86% precoces e 32,86% avançados, já no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ se observou em 19,67% granulomas exsudativos, 50,82% precoces e 24,59% avançados, não sendo observadas diferenças significativas nas fases dos granulomas portais, em que ambos os grupos apresentaram um maior percentual precoce, conforme observado no Gráfico 11.

Gráfico 11 - Análise da fase do granuloma no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo $Kit^{+/+}$ (+/+) e $Kit^{W-sh/W-sh}$ (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação a fase do granuloma hepático: (0) Nenhum granuloma. (1) Exsudativa. (2) Precoce. (3) Avançado. (4) Fibrótico.

Na análise da fase do granuloma conforme o tempo de eutanásia, não se observou diferença significativa, sendo identificado um predomínio percentual da fase precoce no tempo de 45

e 70 d.p.i., em ambos os grupos, e no tempo de 140 d.p.i. no grupo $Kit^{+/+}$ avançado e no $Kit^{W-sh/W-sh}$ o mesmo percentual para precoce e avançado (Tabela 16).

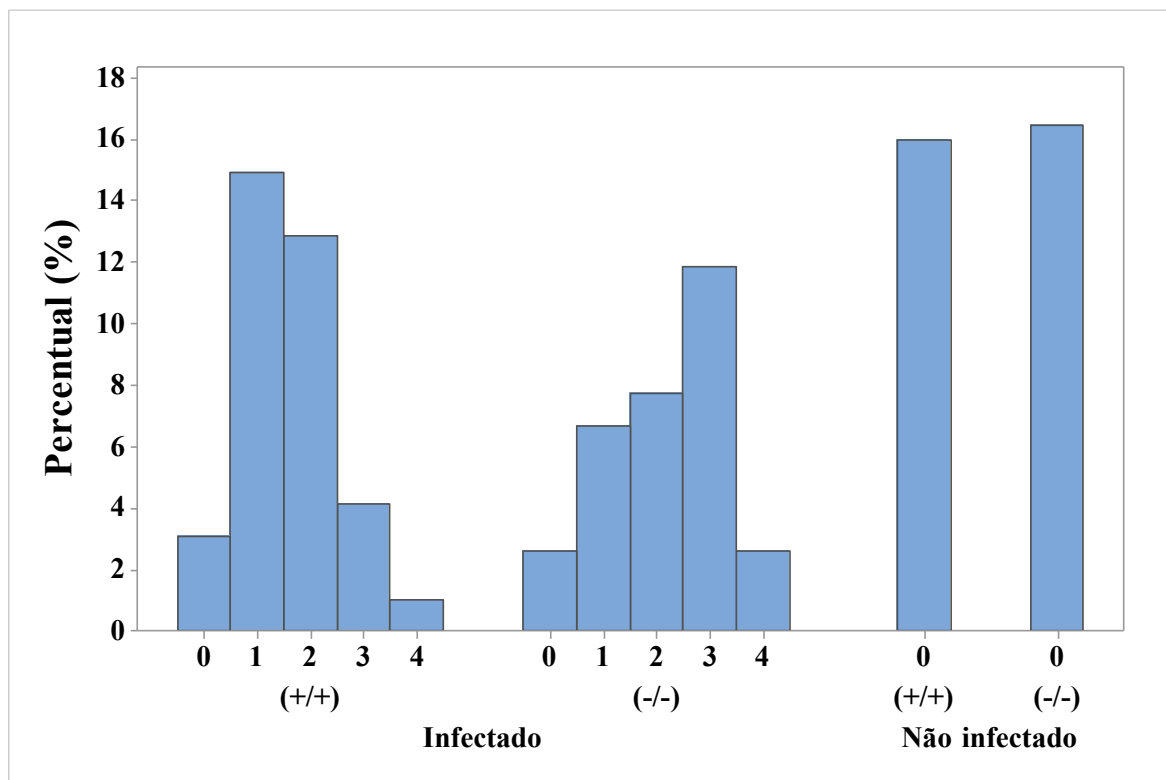
Tabela 16 - Valores percentuais da fase dos granulomas no fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

F-VIII Fase do Granuloma		Camundongo Infectado							
		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	3	21,43	1	3,33	1	3,85	5	7,14
	1	5	35,71	5	16,67	2	7,69	12	17,14
	2	6	<u>42,86</u>	16	<u>53,33</u>	8	30,77	30	42,86
	3	0	0,00	8	26,67	15	<u>57,69</u>	23	32,86
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	1	7,14	2	6,67	0	0,00	3	4,92
	1	5	35,71	6	20,00	1	5,88	12	19,67
	2	7	<u>50,00</u>	16	<u>53,33</u>	8	<u>47,06</u>	31	50,82
	3	1	7,14	6	20,00	8	<u>47,06</u>	13	21,31
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Exsudativa. (2) Precoce. (3) Avançado. (4) Fibrótico. Os valores sublinhados referem-se a maior percentual observado no grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ nos tempos de 45, 70 e 140 d.p.i. Aos 45 e 140 d.p.i.

A análise da atividade inflamatória periportal (F-IX), demonstrou em 41,43% dos camundongos do grupo $Kit^{+/+}$ extravasamento de linfócitos, 35,71% necrose saca-bocado discreta, 11,43% moderada e 2,86% acentuada, no qual, 8,57% dos camundongos não apresentaram grau de inflamação. No grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, 21,31% com extravasamento de linfócitos, 24,59% necrose saca-bocado discreta, 37,70% moderada e 8,20% acentuada, no qual, 8,20% dos camundongos não apresentaram grau de inflamação. Sendo possível observar diferença significativa ($p = 0,001$), em que o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ demonstrou maior percentual para necrose saca-bocado discreta, em relação ao grupo $Kit^{+/+}$ que demonstrou maior percentual para extravasamento de linfócitos (Gráfico 12).

Gráfico 12 - Análise da atividade inflamatória periportal no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo *Kit*^{+/+} (+/+) e *Kit*^{W-sh/W-sh} (-/-), a percentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação a atividade inflamatória periportal hepática: **(0)** Nenhuma atividade periportal. **(1)** Extravasamento de linfócitos. **(2)** Necrose saca-bocado discreta. **(3)** Necrose saca-bocado moderada. **(4)** Necrose saca-bocado acentuada.

Analisando a atividade inflamatória de acordo com o tempo de eutanásia, foi observada diferença significativa entre os tempos de 45 e 70 d.p.i. ($p = 0,031$ e $p = 0,000$, respectivamente), que apresentaram níveis de maior percentual e variabilidade da atividade inflamatória no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, não sendo observado no tempo de 140 d.p.i., conforme descrito os valores percentuais de acordo com cada tempo na Tabela 17.

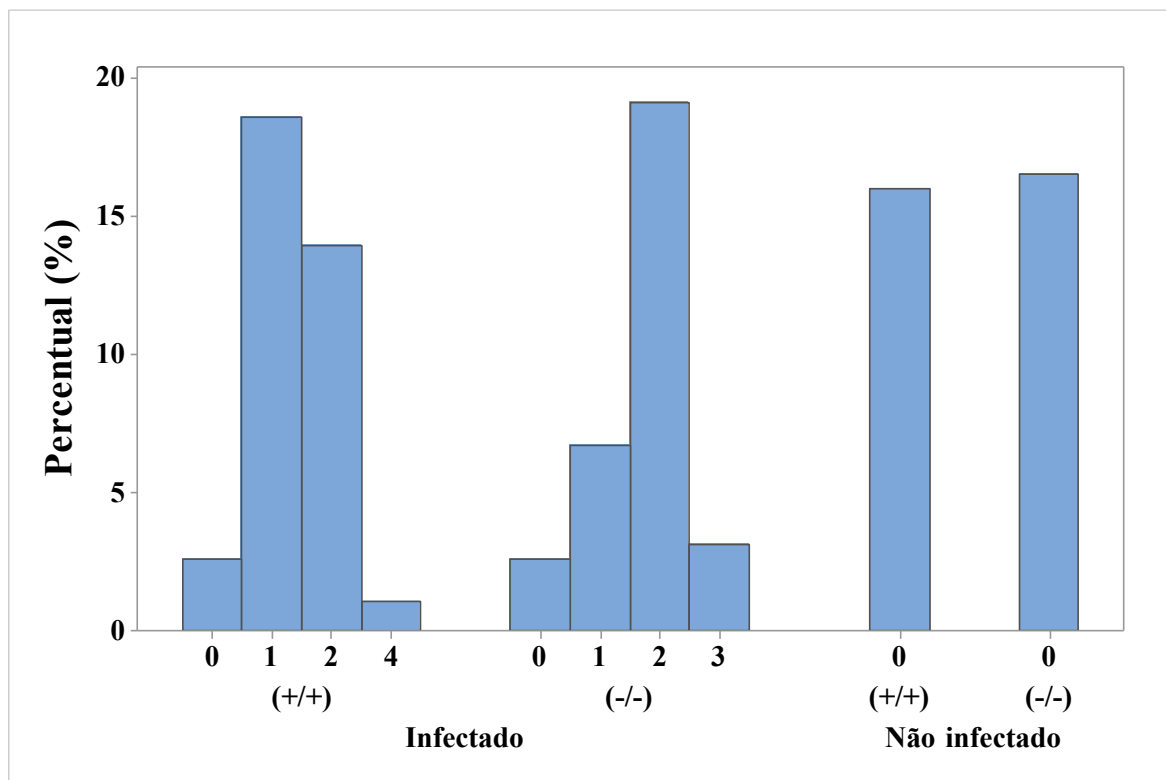
Tabela 17 - Valores percentuais da atividade inflamatória periportal dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

		Camundongo Infectado							
F-IX Atividade Inflamatória Periportal		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	5	35,71	1	3,33	0	0,00	6	8,57
	1	7	<u>50,00</u>	12	<u>40,00</u>	10	38,46	29	41,43
	2	2	<u>14,29</u>	13	<u>43,33</u>	10	38,46	25	35,71
	3	0	0,00	3	<u>10,00</u>	5	19,23	8	11,43
	4	0	0,00	1	<u>3,33</u>	1	3,85	2	2,86
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	2	14,29	3	10,00	0	0,00	5	8,20
	1	4	<u>28,57</u>	2	<u>6,67</u>	7	41,18	13	21,31
	2	4	<u>28,57</u>	7	<u>23,33</u>	4	23,53	15	24,59
	3	4	<u>28,57</u>	13	<u>43,33</u>	6	35,29	23	37,70
	4	0	0,00	5	<u>16,67</u>	0	0,00	5	8,20
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Nenhuma atividade periportal. (1) Extravasamento de linfócitos. (2) Necrose saca-bocado discreta. (3) Necrose saca-bocado moderada. (4) Necrose saca-bocado acentuada. Os valores sublinhados referem-se a níveis de maior percentual e variabilidade da atividade inflamatória no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} em relação ao grupo *Kit*^{+/+}, com diferença significativa no tempo de 45 e 70 d.p.i. (p = 0,031 e p = 0,000, respectivamente).

A análise da atividade inflamatória no parênquima (F-X) indicou que, no grupo *Kit*^{+/+}, 51,43% dos camundongos demonstraram uma atividade discreta e focal, 38,57% uma necrose focal em vários sítios, 2,86% uma necrose focal extensa e 7,14% não apresentaram atividade inflamatória no parênquima. No grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, 21,31% dos camundongos demonstraram uma atividade discreta e focal, 60,66% uma necrose focal em vários sítios, 9,84% uma necrose focal e confluyente e 8,20% não apresentaram atividade inflamatória no parênquima, sendo observadas diferenças significativas (p = 0,000), no qual, o grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} demonstrou maior percentual para “necrose focal em vários sítios” em relação ao grupo *Kit*^{+/+}, que demonstrou para “atividade discreta e focal” (Gráfico 13).

Gráfico 13 - Análise da atividade inflamatória no parênquima no fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo *Kit^{+/+}* (+/+) e *Kit^{W-sh/W-sh}* (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação a atividade inflamatória no parênquima hepático: (0) Nenhuma atividade intralobular. (1) Atividade discreta e focal. (2) Necrose focal em vários sítios. (3) Necrose focal e confluyente. (4) Necrose focal extensa.

Analisando a atividade inflamatória de acordo com o tempo de eutanásia, foi observada diferença significativa no tempo de 45 d.p.i. ($p = 0,023$), que demonstrou no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* maior percentual para “necrose focal em vários sítios” e no tempo de 70 d.p.i. ($p = 0,044$), que apresentaram semelhança no nível “necrose focal em vários sítios”, mas maior percentual na “necrose focal e confluyente” do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* em relação ao *Kit^{+/+}* que demonstrou em “atividade discreta e focal”. No tempo de 140 d.p.i. não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, conforme demonstrado os valores percentuais de acordo com cada tempo na Tabela 18.

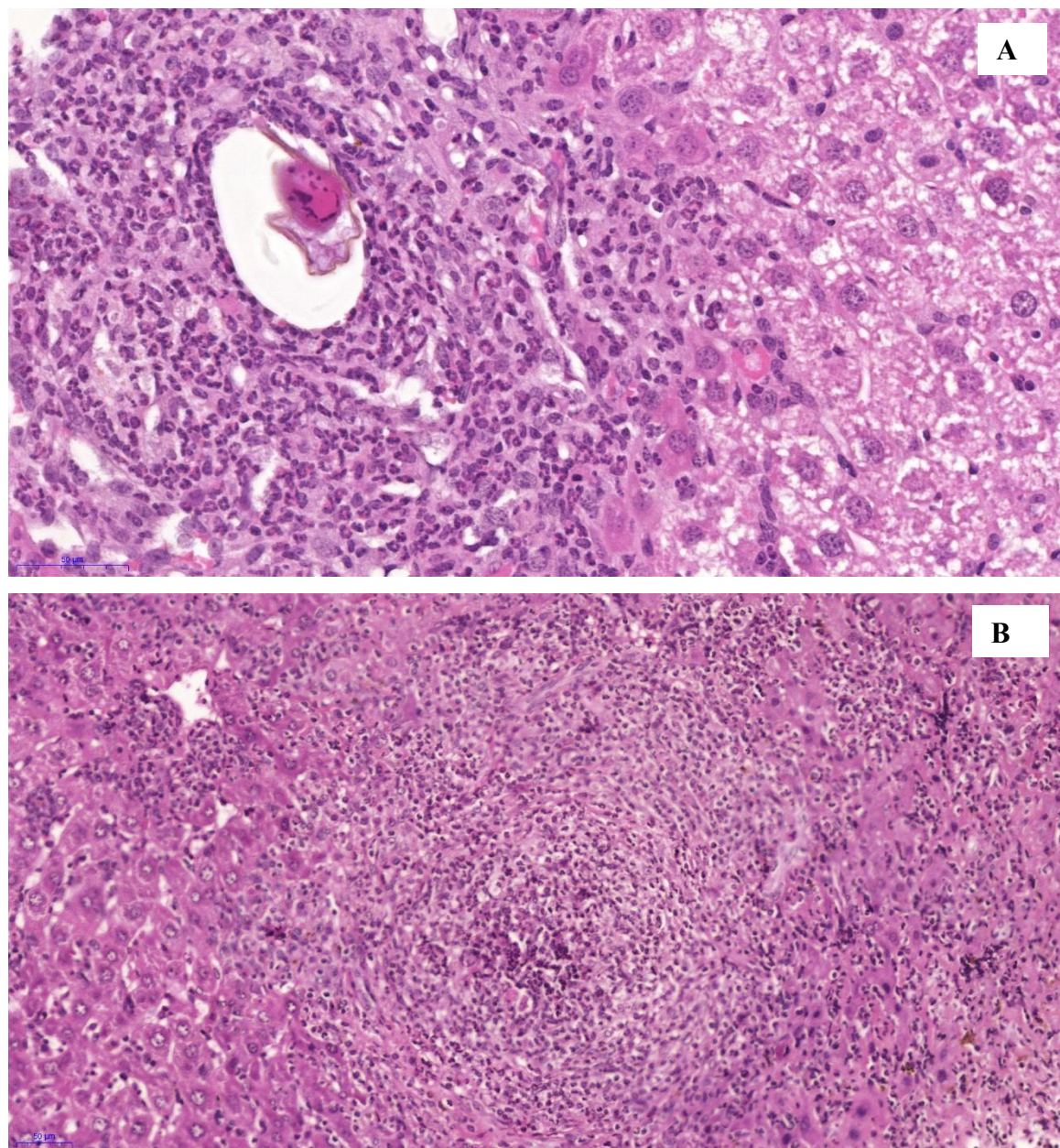
Tabela 18 - Valores percentuais da atividade inflamatória no parênquima dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Camundongo Infectado									
F-X Atividade Inflamatória Parênquima		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	4	28,57	1	3,33	0	0,00	5	7,14
	1	9	<u>64,29</u>	13	<u>43,33</u>	14	53,85	36	51,43
	2	1	7,14	15	<u>50,00</u>	11	42,31	27	38,57
	3	0	0,00	0	<u>0,00</u>	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	1	<u>3,33</u>	1	3,85	2	2,86
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	2	14,29	3	10,00	0	0,00	5	8,20
	1	4	28,57	2	<u>6,67</u>	7	41,18	13	21,31
	2	8	<u>57,14</u>	19	<u>63,33</u>	10	58,82	37	60,66
	3	0	0,00	6	<u>20,00</u>	0	0,00	6	9,84
	4	0	0,00	0	<u>0,00</u>	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Nenhuma atividade intralobular. (1) Atividade discreta e focal. (2) Necrose focal em vários sítios. (3) Necrose focal e confluenta. (4) Necrose focal extensa. Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual de atividade inflamatória no parênquima hepático dos camundongos do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* em relação ao *Kit^{+/+}*, observando diferença significativa no tempo de 45 d.p.i. ($p = 0,023$) e 70 d.p.i. ($p = 0,044$).

A avaliação da atividade inflamatória periportal e no parênquima do fígado (Figura 10), demonstrou no grupo *Kit^{+/+}* (A), necrose saca-bocado acentuado, com penetração de células inflamatórias entre os hepatócitos e necrose focal extensa no espaço periportal e parênquima. Já no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* (B), necrose saca-bocado discreta e necrose focal em vários sítios no espaço periportal e parênquima, respectivamente, apresentando menor intensidade.

Figura 10 - Achados histopatológicos da análise da atividade inflamatória periportal e no parênquima hepático dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo *Schistosoma mansoni*



Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a atividade inflamatória periportal e no parênquima do fígado. Em (A) Grupo $Kit^{+/+}$, tendo como descrição: necrose saca-bocado no espaço periportal e parênquima, respectivamente e imagem no aumento de 40x. Em (B) Grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, tendo como descrição: necrose saca-bocado acentuada e necrose focal em vários sítios no espaço periportal e parênquima, respectivamente e imagem no aumento de 20x.

A análise da viabilidade dos ovos de *Schistosoma mansoni* presentes no fígado (F-XI) demonstrou maior percentual para ovos viáveis nos grupos *Kit*^{+/+} (85,71%) e *Kit*^{W-sh/W-sh} (75,41%) ($p = 0,244$). Na análise de acordo com o tempo de eutanásia, não foram identificadas diferenças significativas nos valores percentuais, conforme o tempo e a viabilidade dos ovos (Tabela 19).

Tabela 19 - Valores percentuais da viabilidade dos ovos no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

F-XI Viabilidade dos Ovos		Camundongo Infectado							
		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	3	21,43	1	3,33	1	3,85	5	7,14
	1	11	78,57	28	93,33	21	80,77	60	85,71
	2	0	0,00	1	3,33	4	15,38	5	7,14
	Total	14	100,00	30	100,00	26	100,00	70	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	2	14,29	3	10,00	0	0,00	5	8,20
	1	11	78,57	25	83,33	10	58,82	46	75,41
	2	1	7,14	2	6,67	7	41,18	10	16,39
	Total	14	100,00	30	100,00	17	100,00	61	100,00

Legenda: (0) Nenhum ovo. (1) Maioria viável. (2) Maioria inviável.

Na análise referente à presença ou ausência do infiltrado em torno da veia (F-XII), foi possível observar a sua presença em 28,13% dos camundongos infectados do grupo *Kit*^{+/+} e em 44,00% do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, estando ausente 71,88% e 56,00% dos camundongos do grupo *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, respectivamente. Dos camundongos que não foram infectados, observou-se a presença em 26,09% e 13,79% do grupo *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} e a ausência em 73,91% e 86,21%, respectivamente aos grupos.

A partir dos achados de importância clínica da esquistossomose mansoni no fígado, foi possível observar uma relevância nas variáveis F-I, F-III, F-IV e F-IX, que demonstraram maior percentual nos camundongos do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, sendo possível observar uma diferença significativa, conforme descrito na Tabela 20.

Tabela 20 - Descrição das variáveis de importância clínica da esquistossomose mansoni nos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* infectados pelo *Schistosoma mansoni*

Variável	Categorias	Grupo						P-valor*
		<i>Kit</i> ^{+/+}		<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}		Total		
		N	%	N	%	N	%	
F-I	0	69	98,57	55	90,16	124	94,66	0,03
	1	1	<u>1,43</u>	6	<u>9,84</u>	7	5,34	
	Total	70	100,00	61	100,00	131	100,00	
F-III	0	70	100,00	55	90,16	125	95,42	0,01
	1	0	<u>0,00</u>	6	<u>9,84</u>	6	4,58	
	Total	70	100,00	61	100,00	131	100,00	
F-IV	0	65	95,86	38	62,30	103	78,63	0,00
	1	5	<u>7,14</u>	23	<u>37,70</u>	28	21,37	
	Total	70	100,00	61	100,00	131	100,00	
F-IX	0	60	85,71	33	54,10	93	70,99	0,00
	1	10	<u>14,29</u>	28	<u>45,90</u>	38	29,01	
	Total	70	100,00	61	100,00	131	100,00	
F-X	0	68	97,14	55	90,16	123	93,89	0,10
	1	2	<u>2,86</u>	6	<u>9,84</u>	8	6,11	
	Total	70	100,00	61	100,00	131	100,00	

Legenda: * Qui-quadrado. (F-I) Estrutura do Fígado. (F-III) Arquitetura do Espaço Portal. (F-IV) Infiltrado Inflamatório. (F-IX) Atividade Inflamatória Periportal. (F-X) Atividade Inflamatória Parênquima. (0) Sem importância clínica. (1) Com importância clínica. Os valores sublinhados referem-se aos achados de importância clínica da esquistossomose mansoni no fígado, observando maior percentual no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* em relação ao grupo *Kit^{+/+}*.

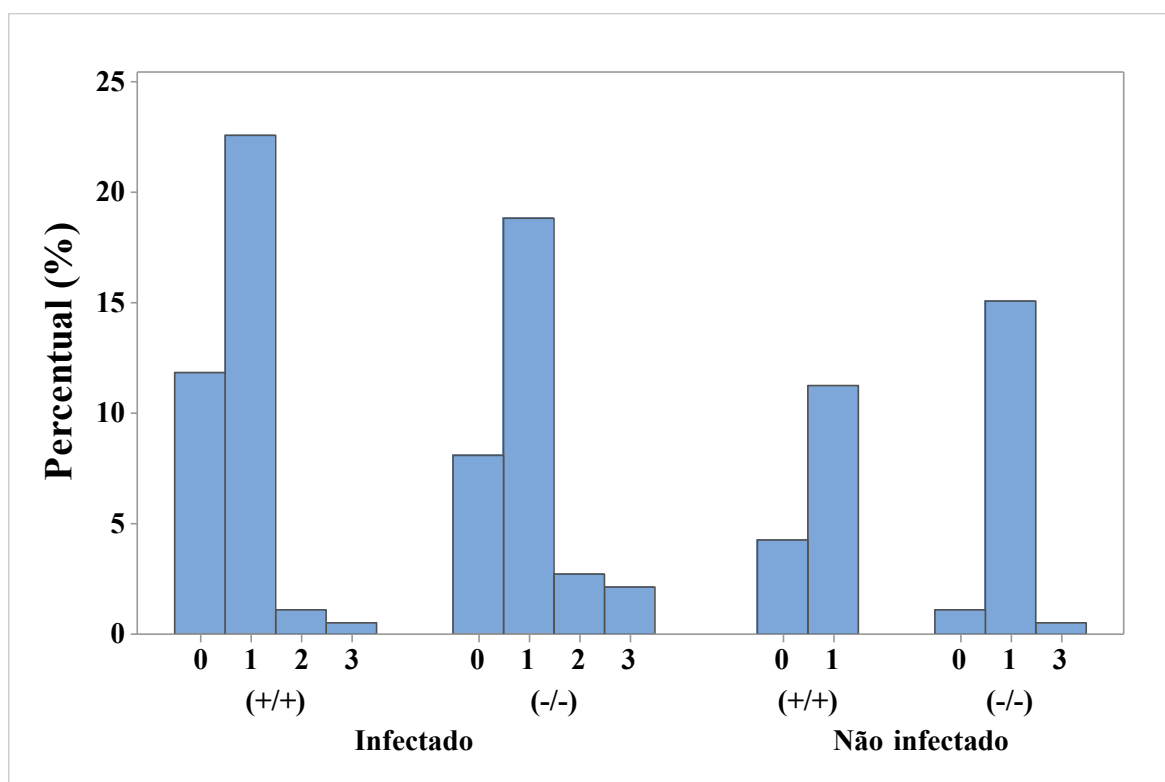
6.6.2 Alterações Esplênicas

Na análise microscópica das alterações esplênicas (variáveis de B-I até B-VI, detalhadas no Anexo C), foram examinadas no total de 186 camundongos, sendo 96 do grupo *Kit^{+/+}* e 90 do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, tendo 40 amostras *missing*. Considerando a infecção experimental, foram examinados 67 e 59 camundongos infectados com cercárias de *S. mansoni*, 29 e 31 camundongos não infectados, respectivamente aos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

Na análise da variável B-I (estrutura do baço), conforme o Gráfico 14, foi observado em 62,69% dos camundongos infectados do grupo *Kit^{+/+}* uma estrutura parcialmente alterada, em 2,99% moderadamente alterada e em 1,49% muito alterada. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* 59,32% dos camundongos apresentaram uma estrutura parcialmente alterada, 8,47% para a descrição

moderadamente alterada e 6,78% muito alterada. Nos grupos, $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, observou-se um percentil de 32,84% e 25,42% para a análise da estrutura totalmente preservada ou normal, respectivamente. Os camundongos de ambos os grupos apresentaram um maior percentual na estrutura parcialmente alterada, não sendo observadas diferenças significativas. Dos camundongos não infectados, observou no grupo $Kit^{+/+}$ uma estrutura totalmente preservada ou normal em 27,59% e parcialmente alterada em 72,41%. Já no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ observou uma estrutura totalmente preservada ou normal em 6,45%, parcialmente alterada em 90,32% e muito alterada em 3,23%, podendo observar uma diferença significativa entre os grupos ($p = 0,039$).

Gráfico 14 - Análise da estrutura do baço dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo $Kit^{+/+}$ (+/+) e $Kit^{W-sh/W-sh}$ (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação a estrutura esplênica: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Parcialmente alterada. (2) Moderadamente alterada. (3) Muito alterada. (4) Totalmente alterada.

Na análise, de acordo com o tempo de eutanásia, pode-se observar nos camundongos infectados do grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ um maior percentual para uma estrutura parcialmente alterada nos tempos de 45 e 70 d.p.i., sem diferença significativa, já no tempo de 140 d.p.i. foi possível maiores níveis de modificação estrutural no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em relação ao $Kit^{+/+}$, observando diferença significativa ($p = 0,029$), conforme demonstrado na Tabela 21.

Tabela 21 - Valores percentuais da estrutura do baço dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

B-I Estrutura do Baço		Camundongo Infectado							
		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	4	30,77	9	31,03	9	<u>36,00</u>	22	32,84
	1	9	69,23	18	62,07	15	<u>60,00</u>	42	62,69
	2	0	0,00	1	3,45	1	<u>4,00</u>	2	2,99
	3	0	0,00	1	3,45	0	0,00	1	1,49
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	13	100,00	29	100,00	25	100,00	67	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	1	7,69	11	37,93	3	<u>17,65</u>	15	25,42
	1	11	84,62	17	58,62	7	<u>41,18</u>	35	59,32
	2	0	0,00	1	3,45	4	<u>23,53</u>	5	8,47
	3	1	7,69	0	0,00	3	<u>17,65</u>	4	6,78
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	13	100,00	29	100,00	17	100,00	59	100,00

Legenda: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Parcialmente alterada. (2) Moderadamente alterada. (3) Muito alterada. (4) Totalmente alterada. Os valores sublinhados no tempo de 140 d.p.i. referem-se à variabilidade percentual na estrutura esplênica dos camundongos do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ em relação ao $Kit^{+/+}$, com diferença significativa ($p = 0,029$).

Entre os camundongos não infectados, o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ apresentou maior percentual de alterações na estrutura esplênica aos 45 d.p.i., com 100% dos animais exibindo arquitetura parcialmente alterada, em comparação ao grupo $Kit^{+/+}$ ($p = 0,027$), conforme observado na Tabela 22. Nos tempos de 70 e 140 d.p.i. não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 22 - Valores percentuais da estrutura do baço dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* não infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Camundongo Não Infectado									
B-I Estrutura do Baço		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kit ^{+/+}	0	3	<u>37,50</u>	0	0,00	5	45,45	8	27,59
	1	5	<u>62,50</u>	10	100,00	6	54,55	21	72,41
	2	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	8	100,00	10	100,00	11	100,00	29	100,00
Kit ^{W-sh/W-sh}	0	0	<u>0,00</u>	1	8,33	1	12,50	2	6,45
	1	11	<u>100,00</u>	11	91,67	6	75,00	28	90,32
	2	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	3	0	0,00	0	0,00	1	12,50	1	3,23
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	11	100,00	12	100,00	8	100,00	31	100,00

Legenda: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Parcialmente alterada. (2) Moderadamente alterada. (3) Muito alterada. (4) Totalmente alterada. Os valores sublinhados no tempo de 45 d.p.i. referem-se a maior porcentagem da alteração na estrutura esplênica dos camundongos do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* em relação ao *Kit^{+/+}*, com diferença significativa ($p = 0,027$).

A análise da polpa vermelha do baço (B-II), os camundongos infectados do grupo *Kit^{+/+}*, demonstraram em 43,28% uma estrutura discretamente congesta, 37,31% moderadamente congesta e 1,49% acentuadamente congesta, tendo 17,91% uma polpa vermelha imatura. Já no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, se observou em 44,07% dos camundongos a polpa vermelha discretamente congesta, 35,59% moderadamente congesta e em 20,34% dos camundongos imatura, demonstrando um maior percentual para discretamente congesta nos grupos, sem diferença significativa. Dos camundongos que não foram infectados, observou-se no grupo *Kit^{+/+}* uma estrutura imatura em 27,59%, discretamente congesta em 51,72% e moderadamente congesta em 20,69%. E no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* observou-se uma estrutura imatura em 6,45%, discretamente congesta em 67,74% e moderadamente congesta em 25,81%, demonstrando um maior percentual para discretamente congesta em ambos os grupos sem diferença significativa.

Estratificando de acordo com o tempo de eutanásia, não foi observada diferença entre os camundongos infectados do grupo *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*, sendo descrito no tempo de 45 d.p.i.

um maior percentual para moderadamente congesta e 70 d.p.i. discretamente congesta, em ambos os grupos de análise, apenas no tempo de 140 d.p.i. houve distinção, no qual o grupo $Kit^{+/+}$ demonstrou maior percentual para discretamente congesta e o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ para moderadamente congesta, conforme observado na Tabela 23.

Tabela 23 - Valores percentuais da polpa vermelha dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Camundongo Infectado									
B-II Polpa Vermelha		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	4	30,77	6	20,69	2	8,00	12	17,91
	1	1	7,69	15	51,72	13	52,00	29	43,28
	2	8	61,54	7	24,14	10	40,00	25	37,31
	3	0	0,00	1	3,45	0	0,00	1	1,49
	Total	13	100,00	29	100,00	25	100,00	67	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	2	15,38	9	31,03	1	5,88	12	20,34
	1	5	38,46	16	55,17	5	29,41	26	44,07
	2	6	46,15	4	13,79	11	64,71	21	35,59
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	13	100,00	29	100,00	17	100,00	59	100,00

Legenda: (0) Imaturo. (1) Discretamente congesta. (2) Moderadamente congesta. (3) Acentuadamente congesta.

Nos camundongos que não foram infectados, foi possível observar uma diferença significativa ($p = 0,041$) no tempo de 45 d.p.i., no qual, 50,00% dos camundongos do grupo $Kit^{+/+}$ apresentaram uma estrutura discretamente congesta, enquanto 54,55% dos camundongos do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ apresentaram moderadamente congesta, conforme observado na Tabela 24, não sendo observado diferença significativa para o tempo de 70 d.p.i. que demonstraram maior percentual para discretamente congesta em ambos os grupos e 140 d.p.i. que demonstrou maior percentual para imatura no grupo $Kit^{+/+}$ e discretamente congesta para o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Tabela 24 - Valores percentuais da polpa vermelha dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* não infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Camundongo Não Infectado									
B-II Polpa Vermelha		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Kit ^{+/+}	0	3	<u>37,50</u>	0	0,00	5	45,45	8	27,59
	1	4	<u>50,00</u>	9	90,00	2	18,18	15	51,72
	2	1	<u>12,50</u>	1	10,00	4	36,36	6	20,69
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	8	100,00	10	100,00	11	100,00	29	100,00
Kit ^{W-sh/W-sh}	0	0	<u>0,00</u>	1	8,33	1	12,50	2	6,45
	1	5	<u>45,45</u>	11	91,67	5	62,50	21	67,74
	2	6	<u>54,55</u>	0	0,00	2	25,00	8	25,81
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	11	100,00	12	100,00	8	100,00	31	100,00

Legenda: (0) Imaturo. (1) Discretamente congesta. (2) Moderadamente congesta. (3) Acentuadamente congesta. Os valores sublinhados no tempo de 45 d.p.i. referem-se a maior percentual e variação da polpa vermelha nos camundongos do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* em relação ao *Kit^{+/+}*, com diferença significativa ($p = 0,041$).

Na análise da polpa branca (B-III) foi observado nos camundongos infectados do grupo *Kit^{+/+}* a ausência de alterações em 40,30% e uma hiperplasia discreta (11,94%) e moderada (47,76%) da polpa branca. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* 45,76% não apresentaram alterações, 20,34% e 33,90% dos camundongos demonstraram, respectivamente, uma discreta e moderada hiperplasia. Dos camundongos que não foram infectados, observou-se a ausência de alterações em 27,59% do grupo *Kit^{+/+}*, em 37,93% uma discreta hiperplasia e 34,48% uma moderada hiperplasia. E do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, pode-se observar a ausência de alterações em 9,68%, discreta hiperplasia em 41,94% e moderada hiperplasia em 48,39%. Na análise estatística descritiva aos grupos, não se observou diferença significativa nos camundongos infectados e não infectados.

Analisando de acordo com o tempo de eutanásia, não foram observadas diferenças entre os camundongos infectados do grupo *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*. No tempo de 45 d.p.i. foi observado maior percentual para alteração moderadamente hiperplásica e 140 d.p.i. sem alterações em ambos os grupos, apenas no tempo de 70 d.p.i. observou uma distinção percentual, no qual o grupo *Kit^{+/+}* demonstrou maior percentual para moderadamente hiperplásica e o grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* para sem alterações, conforme observado na Tabela 25.

Tabela 25 - Valores percentuais da polpa branca dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

B-III Polpa Branca		Camundongo Infectado							
		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	4	30,77	10	34,48	13	<u>52,00</u>	27	40,30
	1	0	0,00	3	10,34	5	20,00	8	11,94
	2	9	<u>69,23</u>	16	<u>55,17</u>	7	28,00	32	47,76
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	13	100,00	29	100,00	25	100,00	67	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	4	30,77	12	<u>41,38</u>	11	<u>64,71</u>	27	45,76
	1	4	30,77	6	20,69	2	11,76	12	20,34
	2	5	<u>38,46</u>	11	37,93	4	23,53	20	33,90
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	13	100,00	29	100,00	17	100,00	59	100,00

Legenda: (0) Sem alterações. (1) Discretamente hiperplásica. (2) Moderadamente hiperplásica. (3) Acentuadamente hiperplásica. Os valores sublinhados referem-se aos maiores percentuais de alterações na polpa branca observados no grupo *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} aos 45, 70 e 140 d.p.i.

Nos camundongos que não foram infectados, foi possível observar uma diferença significativa ($p = 0,020$) no tempo de 45 d.p.i., no qual, os camundongos do grupo *Kit*^{+/+} apresentaram uma estrutura discretamente hiperplásica, enquanto no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} os camundongos apresentaram alterações moderadamente hiperplásica, conforme observado na Tabela 26, não sendo observado diferenças no tempo de 70 d.p.i., que demonstraram maior percentual para discretamente hiperplásica e em 140 d.p.i. que demonstrou maior percentual para moderadamente hiperplásica, em ambos os grupos.

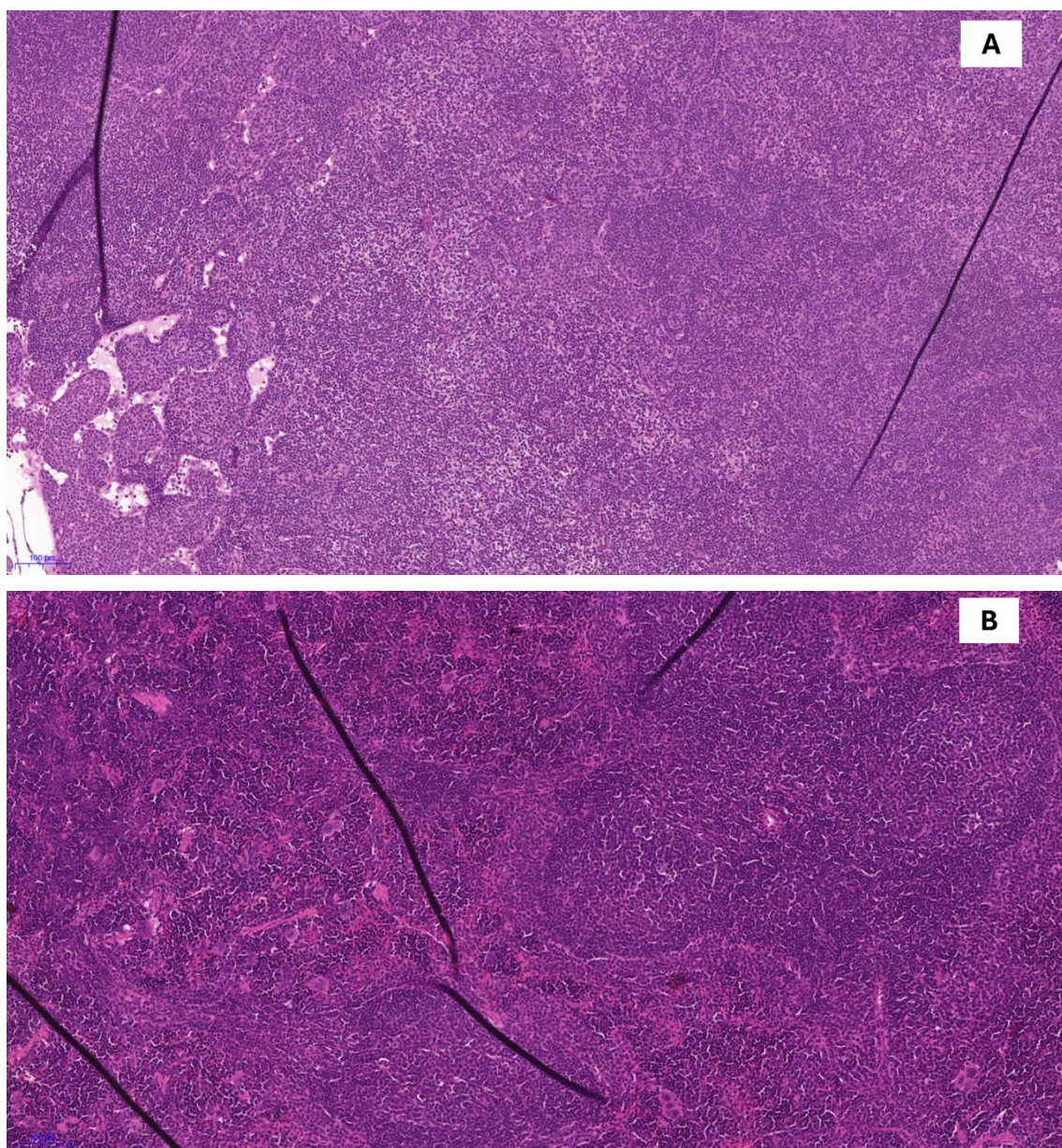
Tabela 26 - Valores percentuais da polpa branca dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} não infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Camundongo Não Infectado									
B-III Polpa Branca		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	3	<u>37,50</u>	0	0,00	5	45,45	8	27,59
	1	5	<u>62,50</u>	6	<u>60,00</u>	0	0,00	11	37,93
	2	0	0,00	4	40,00	6	<u>54,55</u>	10	34,48
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	8	100,00	10	100,00	11	100,00	29	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	0	<u>0,00</u>	1	8,33	2	25,00	3	9,68
	1	6	<u>54,55</u>	6	<u>50,00</u>	1	12,50	13	41,94
	2	5	<u>45,45</u>	5	41,67	5	<u>62,50</u>	15	48,39
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	11	100,00	12	100,00	8	100,00	31	100,00

Legenda: (0) Sem alterações. (1) Discretamente hiperplásica. (2) Moderadamente hiperplásica. (3) Acentuadamente hiperplásica. Os valores sublinhados aos 45 d.p.i. referem-se a maior percentual de alterações na polpa branca do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} em relação ao *Kit*^{+/+}, com diferença significativa (p = 0,020). Aos 70 e 140 d.p.i. os maiores percentuais correspondem a classificação discretamente hiperplásica e moderadamente hiperplásica, respectivamente, em ambos os grupos.

A avaliação da estrutura histológica do baço no tempo de 70 d.p.i. (Figura 11) demonstrou no grupo *Kit*^{+/+} (A), o parênquima esplênico com arquitetura parcialmente alterada, com expansão da polpa branca representada por folículos linfoides e da polpa vermelha, com congestão. No grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} (B), o parênquima esplênico demonstrou-se parcialmente alterado, contendo expansão da polpa branca composta por folículos linfoides e pontos esbranquiçados hiperplásicos referente a polpa branca e pontos congestos referente a polpa vermelha.

Figura 11 - Achados histopatológicos do baço dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* eutanasiados no tempo de 70 d.p.i.



Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a alteração da estrutura no baço, a polpa vermelha e branca. Em (A) Grupo *Kit*^{+/+}, tendo como descrição: parcialmente alterada, moderadamente congesta e hiperplásica para estrutura, polpa vermelha e branca, respectivamente e imagem no aumento de 10x. Em (B) Grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, tendo como descrição: parcialmente alterada e congesta para estrutura e polpa vermelha, moderadamente hiperplásica para a polpa branca, com imagem no aumento de 10x.

Na análise referente a quantidade de granulomas esplênicos (B-IV), dos camundongos infectados, no grupo *Kit*^{+/+} houve a ausência de granulomas em 100% dos camundongos. E

no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* observou a ausência em 94,92% (n = 56) dos camundongos, a presença de raros ou escassos granulomas em 3,39% (n = 02), descrito para o tempo de 70 e 140 d.p.i. e em 1,69% (n = 01) discreta, descrito no tempo de 140 d.p.i. Dos granulomas identificados no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* a sua constituição (B-V) era de linfócitos, macrófagos e eosinófilos.

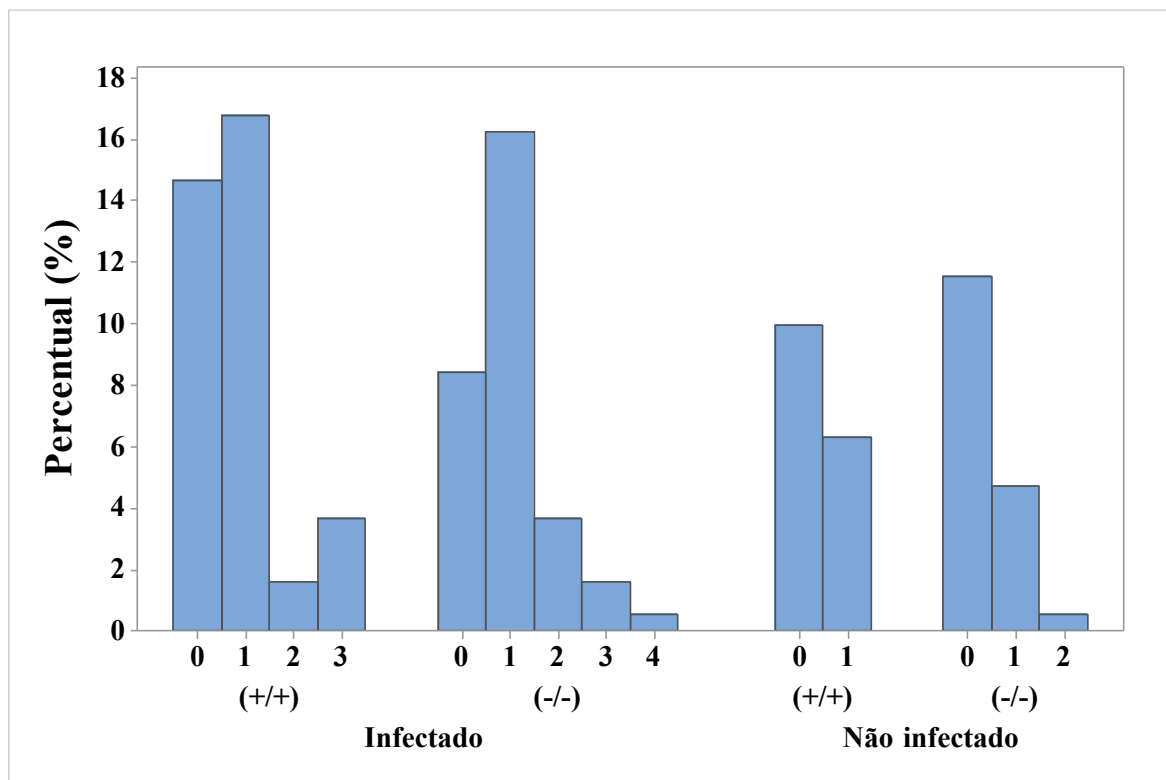
Analisando a viabilidade dos ovos (B-VI) de *S. mansoni* presentes no baço, notamos que no grupo *Kit^{+/+}* 100% não tinham ovos e no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* 96,61% (n = 57) dos camundongos não tinham e 3,39% (n = 02) ovos viáveis, descritos no tempo de 70 e 140 d.p.i. cada.

6.6.3 Alterações Pulmonares

Na análise microscópica das alterações pulmonares, (variáveis de P-I até P-X, detalhadas no Anexo D), foram examinadas em 191 camundongos, sendo 101 *Kit^{+/+}* e 90 *Kit^{W-sh/W-sh}*, tendo 35 amostras *missing*. Considerando a infecção experimental, foram examinados 70 e 58 camundongos infectados com cercárias de *S. mansoni*, 31 e 32 camundongos não infectados, respectivamente, aos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

Na análise da estrutura do pulmão (P-I) observou uma redundante gama de alterações na descrição em ambos os grupos analisados, infectados ou não, conforme demonstrado no Gráfico 15. Entre os camundongos infectados, 40,00% do grupo *Kit^{+/+}* e 27,59% do *Kit^{W-sh/W-sh}* demonstraram uma estrutura totalmente preservada ou normal. O grupo *Kit^{+/+}* demonstrou em 45,71% dos camundongos uma estrutura parcialmente alterada, 4,29% moderadamente e 10,00% muito alterada, já o grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, 53,45% dos camundongos demonstraram uma estrutura parcialmente alterada, 12,07% moderadamente, 5,17% muito alterada e em 1,72% totalmente alterada. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, que demonstraram um maior percentual na estrutura parcialmente alterada. Dos camundongos que não foram infectados, pode observar no grupo *Kit^{+/+}* uma estrutura totalmente preservada ou normal em 61,29% e parcialmente alterada em 38,71%. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* observou uma estrutura totalmente preservada ou normal em 68,75%, parcialmente alterada em 28,13% e moderadamente alterada em 3,13%, não sendo observado diferença significativa entre os grupos, que demonstraram um maior percentual para uma estrutura totalmente preservada ou normal.

Gráfico 15 - Análise da estrutura do pulmão dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo *Kit*^{+/+} (+/+) e *Kit*^{W-sh/W-sh} (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições em relação a estrutura pulmonar: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Parcialmente alterada. (2) Moderadamente alterada. (3) Muito alterada. (4) Totalmente alterada.

De acordo com o tempo de eutanásia, comparando os camundongos infectados, no tempo de 45 d.p.i. observou no grupo *Kit*^{+/+} maiores proporções para uma estrutura totalmente preservada ou normal, diferentemente do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} que demonstrou maiores proporções para uma estrutura parcialmente alterada, observando uma diferença significativa ($p = 0,002$). No tempo de 70 e 140 d.p.i. não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (Tabela 27).

Tabela 27 - Valores percentuais da estrutura do pulmão dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

P-I Estrutura do Pulmão		Camundongo Infectado							
		Tempo (dias pós infecção)						Total	
		45		70		140			
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	11	<u>78,57</u>	13	41,94	4	16,00	28	40,00
	1	3	<u>21,43</u>	16	51,61	13	52,00	32	45,71
	2	0	0,00	1	3,23	2	8,00	3	4,29
	3	0	0,00	1	3,23	6	24,00	7	10,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	31	100,00	25	100,00	70	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	2	<u>16,67</u>	11	37,93	3	17,65	16	27,59
	1	9	<u>75,00</u>	14	48,28	8	47,06	31	53,45
	2	1	<u>8,33</u>	3	10,34	3	17,65	7	12,07
	3	0	0,00	0	0,00	3	17,65	3	5,17
	4	0	0,00	1	3,45	0	0,00	1	1,72
	Total	12	100,00	29	100,00	17	100,00	58	100,00

Legenda: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Parcialmente alterada. (2) Moderadamente alterada. (3) Muito alterada. (4) Totalmente alterada. Os valores sublinhados aos 45 d.p.i. referem-se a maior percentual de alterações da estrutura pulmonar no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* em relação ao *Kit^{+/+}*, com diferença significativa ($p = 0,002$).

Dos camundongos que não foram infectados, não se observou diferença no tempo de análise, no qual no grupo *Kit^{+/+}* observou-se apenas alterações parcialmente alteradas, descritas no tempo de 45, 70 e 140 d.p.i. Já no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* observou alterações parcialmente alteradas no tempo 45 e 70 d.p.i. e parcialmente alterado e moderadamente alterada no tempo de 140 d.p.i., conforme demonstrado na Tabela 28.

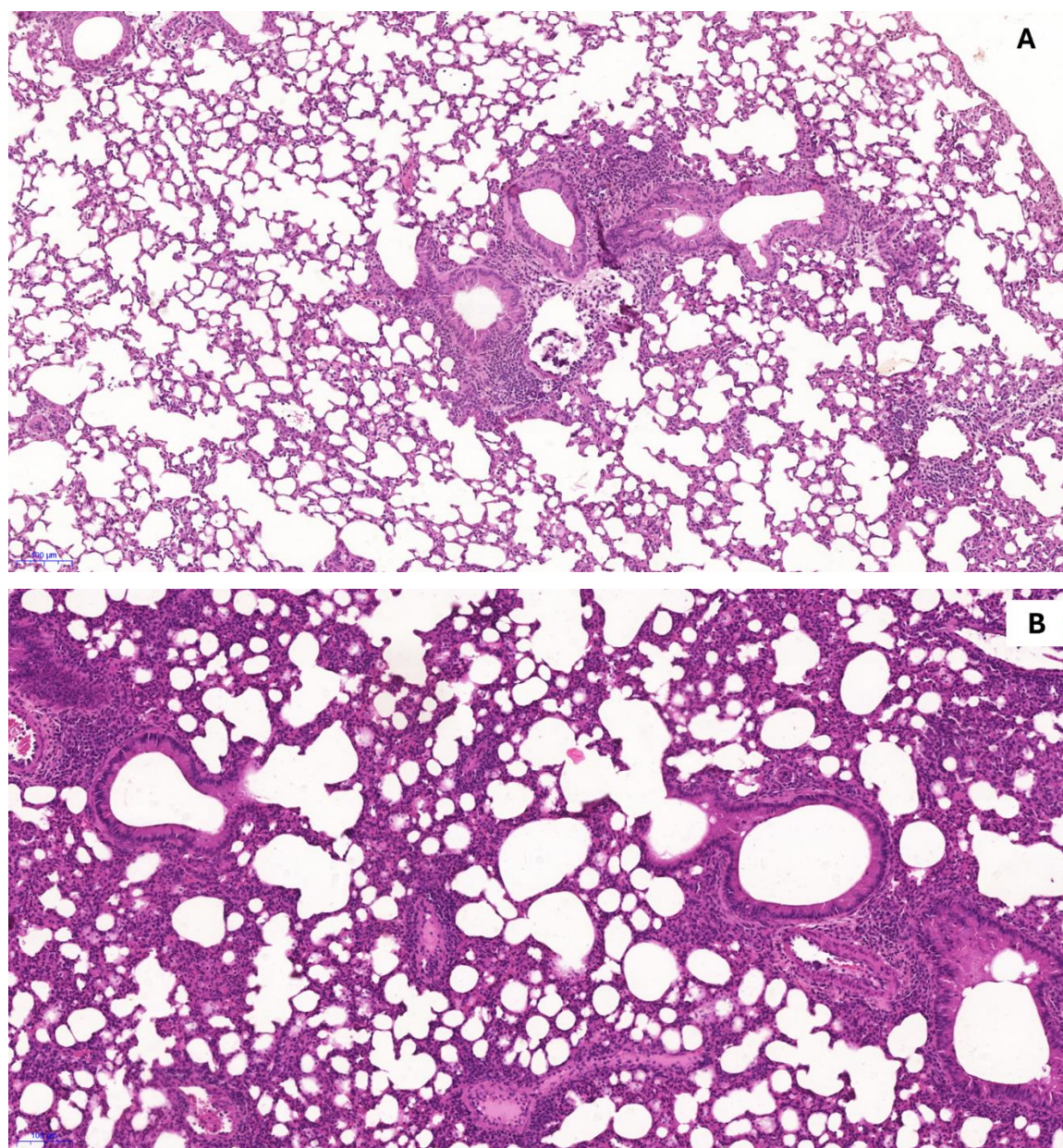
Tabela 28 - Valores percentuais da estrutura do pulmão dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* não infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

P-I Estrutura do Pulmão		Camundongo Não Infectado							
		Tempo (dias pós infecção)							
		45		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	6	75,00	8	66,67	5	45,45	19	61,29
	1	2	25,00	4	33,33	6	54,55	12	38,71
	2	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	8	100,00	12	100,00	11	100,00	31	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	8	66,67	11	91,67	3	37,50	22	68,75
	1	4	33,33	1	8,33	4	50,00	9	28,13
	2	0	0,00	0	0,00	1	12,50	1	3,13
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	12	100,00	12	100,00	8	100,00	32	100,00

Legenda: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Parcialmente alterada. (2) Moderadamente alterada. (3) Muito alterada. (4) Totalmente alterada

Quanto à avaliação da estrutura dos pulmões nos camundongos infectados delgado no tempo de 70 d.p.i. (Figura 12), observou-se em menor aumento, no grupo *Kit^{+/+}* (A), a sua estrutura do parênquima pulmonar preservada, com septos finos e espessamento focal dos septos, presença de infiltrado inflamatório peribronquiolar com presença de células inflamatórias em alguns espaços alveolares. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* (B), parênquima pulmonar apresenta arquitetura alveolar parcialmente alterada, com a presença de septos alveolares discretamente espessados e infiltrado inflamatório intersticial leve, com distribuição focal e acúmulo celular na região peribronquiolar.

Figura 12 - Achados histopatológicos da estrutura pulmonar dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* eutanasiados com 70d.p.i.



Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a alteração da estrutura no pulmão no tempo de 70 d.p.i. Em (A) Grupo *Kit*^{+/+}, tendo como descrição: parcialmente alterada e imagem no aumento de 10x. Em (B) Grupo e *Kit*^{W-sh/W-sh}, tendo como descrição: muito alterada e imagem no aumento de 10x.

A análise da presença da proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar (P-II) demonstrou, respectivamente, nos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} ausente em 72,86% (n = 51) e 70,69% (n = 41), respectivamente. Das proliferações observadas no grupo *Kit*^{+/+} 11,43% (n

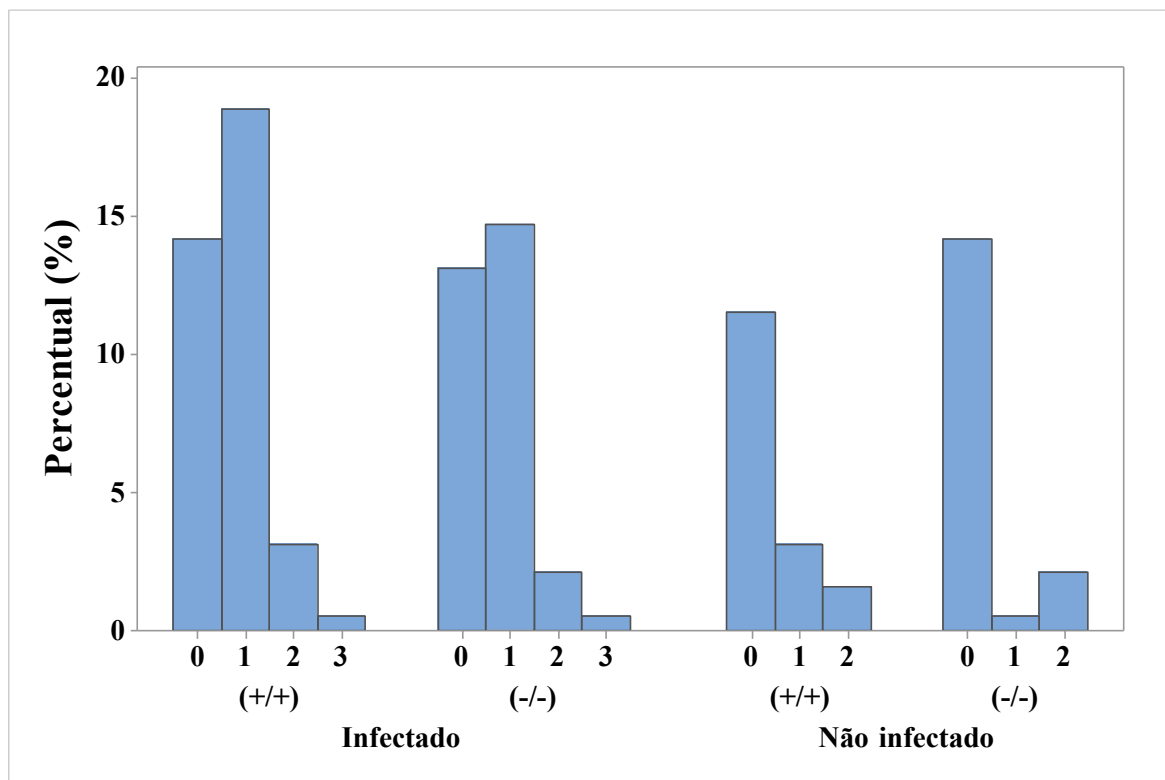
= 08) era discreta, 14,29% (n = 10) moderada e 1,43% (n = 01) acentuada, sendo que 01 alteração estava presente em 45 d.p.i., 10 estava em 70 d.p.i. e 08 em 140 d.p.i. E no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* observou uma proliferação discreta em 10,34% (n = 06), moderada em 17,24% (n = 10) e acentuada em 1,72% (n = 01) dos camundongos estudados, no qual, 01 alteração estava presente no tempo de 45 d.p.i., 09 em 70 d.p.i. e 07 em 140 d.p.i., não sendo observado diferença significativa na análise comparativa entre os grupos e o tempo de eutanásia.

Na variável P-III, descritiva de lesão plexiforme, em 88,57% (n = 62) dos camundongos do grupo *Kit^{+/+}* e 93,10% (n = 54) do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, não foi observada a presença de nenhuma lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar. No grupo *Kit^{+/+}* foi observada uma discreta lesão plexiforme no ramo das artérias pulmonares em 7,14% (n = 05) dos camundongos e 4,29% moderada (n = 03), sendo observado no tempo de 70 d.p.i. 04 discreta e em 140 d.p.i. 01 discreta e 03 moderada. E no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, se observou apenas uma discreta lesão plexiforme em 6,90% (n = 04) dos camundongos, descritos duas alterações para o tempo 70 e 140 d.p.i., no qual, não foram observadas diferenças significativas na análise comparativa do grupo e tempo de eutanásia.

Os camundongos que não foram infectados demonstraram 100% de ausência nas variáveis P-II e P-III nos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

Na análise da variável P-IV, referente ao tecido linfóide associado ao brônquio (BALT), Gráfico 16, nos camundongos infectados do grupo *Kit^{+/+}*, observou em 38,57% (n = 27) a ausência de BALT e em 51,43% (n = 36) a presença de forma focal (05 aos 45 d.p.i., 15 aos 70 d.p.i. e 16 aos 140 d.p.i.), 8,57% (n = 06) multifocal (03 em 70 d.p.i. e 03 em 140 d.p.i.) e 1,43% (n = 01) difusa (01 no tempo de 140 d.p.i.). No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* 43,10% (n = 25) não apresentaram BALT, 48,28% (n = 28) apresentaram de forma focal (06 no tempo de 45 d.p.i., 14 no tempo de 70 d.p.i. e 08 no tempo de 140 d.p.i.), 6,90% (n = 04) multifocal (01 em 70 d.p.i. e 03 em 140 d.p.i.) e 1,72% (n = 01) difusa (01 aos 140 d.p.i.). Os camundongos não infectados, no grupo *Kit^{+/+}* 70,97% (n = 22) não demonstraram BALT, mas 19,35% (n = 06) demonstrou de forma focal (03 no tempo de 70 d.p.i. e 03 no tempo de 140 d.p.i.) e 8,57% (n = 03) multifocal (01 no tempo de 70 d.p.i. e 02 no tempo de 140 d.p.i.). No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* 84,38% (n = 27) não demonstraram BALT, mas 3,13% (n = 01) demonstrou de forma focal no tempo de 70 d.p.i. e 12,50% (n = 04) multifocal no tempo de 140 d.p.i. No qual, não foi observada diferença significativa nos grupos dos camundongos infectados e não infectados.

Gráfico 16 - Análise do Tecido Linfoide associado ao Brônquio (BALT) dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni*



O gráfico demonstra, no grupo *Kit*^{+/+} (+/+) e *Kit*^{W-sh/W-sh} (-/-), a porcentagem de camundongos apresentando as seguintes condições pulmonares em relação a presença de Tecido Linfoide associado ao Brônquio (BALT): (0) Ausente. (1) Focal. (2) Multifocal. (3) Difusa.

A quantificação dos granulomas pulmonares (P-V) observados nos camundongos do grupo *Kit*^{+/+} demonstrou ausência em 78,57% (n = 55) e em 21,43% (n = 15) haviam raros ou escassos granulomas, sendo identificados 07 no tempo de 70 d.p.i. e 08 no tempo de 140 d.p.i. Nos camundongos do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} não foram observados granulomas em 74,14% (n = 43), no qual, 17,24% (n = 10) demonstraram granulomas raros ou escassos, 5,17% (n = 03) discretos e 3,45% (n = 02) moderados, sendo identificados 09 no tempo de 70 d.p.i. (descrito 07 raro ou escasso e 02 discreto) e 06 no tempo de 140 d.p.i. (descrito 03 raro ou escasso, 01 discreto e 02 moderado), não sendo observado diferença significativa entre os grupos. Dos granulomas identificados no grupo *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} a sua constituição (P-VI) era de linfócitos, macrófagos e eosinófilos, em ambos os grupos.

Na análise da viabilidade dos ovos (P-VII) observou-se no grupo *Kit*^{+/+} a presença de ovos viáveis em 5,71% (n = 04) dos camundongos, ovos inviáveis 1,43% (n = 01) e ausência de

ovos em 92,86% (n = 65), sendo identificados nos tempos de 70 d.p.i. 02 ovos viáveis e 01 inviável e 140 d.p.i. 02 viáveis. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* se observou em 79,31% (n = 46) a ausência de ovos no pulmão e apenas ovos viáveis, correspondendo a 20,69% (n = 12) dos camundongos, sendo 07 no tempo de 70 d.p.i. e 05 em 140 d.p.i., com diferença significativa (p = 0,014) na análise entre os grupos, no qual o grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* demonstrou maior percentual de ovos.

Na análise da presença de neutrófilos (P-VIII), observou a ausência em todos os camundongos do grupo *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*. Na análise P-IX, referente ao espessamento dos septos, pode-se observar a presença nos camundongos infectados do grupo *Kit^{+/+}* em 47,14% e no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* 72,41%, sendo descritiva para 45, 70 e 140 d.p.i. em ambos os grupos. Entre os camundongos que não foram infectados, observou-se o grupo *Kit^{+/+}* a presença em 22,58% e no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* 18,75%, também descrita nos tempos de 45, 70 e 140 d.p.i. (Tabela 29).

Tabela 29 - Valores percentuais do espessamento dos septos dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados e não infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

P-IX Espessamento dos septos			Tempo (dias pós infecção)							
			45		70		140		Total	
			N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	Infectado	0	10	71,43	16	51,61	11	44,00	37	52,86
		1	4	28,57	15	48,39	14	56,00	33	47,14
		Total	14	100,00	31	100,00	25	100,00	70	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	Infectado	0	1	8,33	12	41,38	3	17,65	16	27,59
		1	11	91,67	17	58,62	14	82,35	42	72,41
		Total	12	100,00	29	100,00	17	100,00	58	100,00
<i>Kit</i> ^{+/+}	Não Infectado	0	5	62,50	11	91,67	8	72,73	24	77,42
		1	3	37,50	1	8,33	3	27,27	7	22,58
		Total	8	100,00	12	100,00	11	100,00	31	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	Não Infectado	0	8	66,67	11	91,67	7	87,50	26	81,25
		1	4	33,33	1	8,33	1	12,50	6	18,75
		Total	12	100,00	12	100,00	8	100,00	32	100,00

Legenda: (0) Ausente. (1) Presente.

Na análise da inflamação perivascular (P-X), pode-se observar a presença em 25,71% (n = 18) dos camundongos infectados do grupo *Kit*^{+/+}, sendo descritivo 05 no tempo de 70 d.p.i. e 13 no tempo de 140 d.p.i. Dos camundongos infectados do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, 37,93% (n = 22) apresentaram inflamação perivascular, sendo 02 amostras descritivas para o tempo de 45 d.p.i., 12 para 70 d.p.i. e 08 para 140 d.p.i. Sendo descritivo a ausência em 74,29% (n = 52) dos camundongos do grupo *Kit*^{+/+} e 62,07% (n = 36) do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}. Dos camundongos que não foram infectados, no grupo *Kit*^{+/+}, observou-se a presença 12,90% (n = 04), caracterizada no tempo 140 d.p.i. e ausência em 87,10% (n = 27), já no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} observou ausência em 100% (n = 32) dos camundongos.

6.6.4 Alterações Intestinais - Intestino Delgado

Na análise microscópica do intestino delgado, (variáveis de ID-I até ID-VI, detalhadas no Anexo F) foram compostas por 99 camundongos do grupo *Kit*^{+/+} e 92 do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, tendo 35 amostras *missing*. Considerando a infecção experimental, foram examinados 68 e

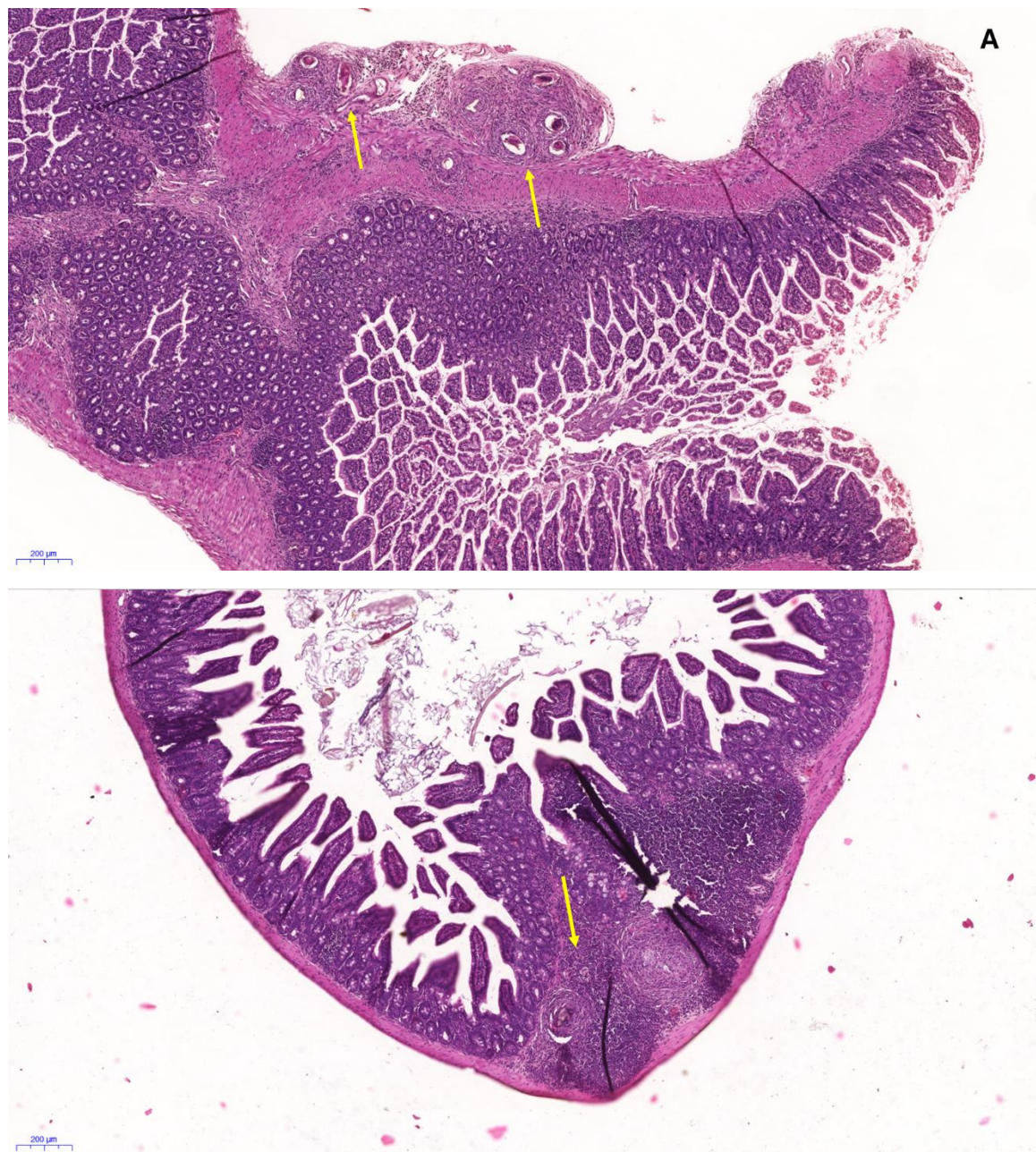
60 camundongos infectados com cercárias de *S. mansoni*, 31 e 32 camundongos não infectados, respectivamente, aos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$. Onde nos camundongos que não foram infectados não se observou alterações características da esquistossomose.

Na análise da estrutura do intestino delgado (ID-I) o grupo $Kit^{+/+}$ demonstrou uma estrutura totalmente preservada ou normal em 97,06% dos camundongos e em 2,94% para a descrição parcialmente alterada, sendo identificada no tempo de 45 d.p.i. essa alteração. Já os camundongos do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, todos (100%) demonstraram uma estrutura totalmente preservada ou normal durante a análise.

Na análise referente a presença de hipotrofia/atrofia intestinal (ID-II) e ulceração intestinal (ID-III), tanto no grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ não se observou alteração em nenhum camundongo analisado.

Na análise da quantidade de granulomas no intestino delgado (ID-IV), no grupo $Kit^{+/+}$ observou a ausência de granulomas em 73,53%, granulomas raros ou escassos em 25% (n = 17) e discreto em 1,47% (n = 1), no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$, se observou a presença de raros ou escassos granulomas em 8,33% (n = 5) e em 91,67% a ausência de granulomas, identificando diferença significativa (p = 0,0135) entre os grupos, no qual os camundongos do grupo $Kit^{+/+}$ que demonstrou a presença de mais granulomas em relação ao grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$. A avaliação da quantidade de granulomas no intestino delgado no tempo de 140 d.p.i., demonstrou em menor aumento no grupo $Kit^{+/+}$ a presença de ovos com granulomas com ovos de *S. mansoni* identificados pela seta amarela (A), e no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ a alteração da estrutura com a presença de granulomas(B) identificados pela seta amarela (Figura 13).

Figura 13 - Achados histopatológicos da quantidade de granulomas no intestino delgado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* eutanasiados com 140d.p.i.



Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando os granulomas presentes. Em (A) Grupo *Kit*^{+/+}, tendo como descrição: discreto e imagem no aumento 5x. Em (B) Grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, tendo como descrição: raros ou escassos e imagem no aumento 5x.

Dos granulomas identificados (ID-IV), no grupo *Kit*^{+/+}, 03 foram no tempo de 45 d.p.i., 05 no tempo de 70 d.p.i. e 10 no tempo de 140 d.p.i. E do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} 03 foram

identificados no tempo de 70 d.p.i. e 02 no tempo de 140 d.p.i. A constituição dos granulomas (ID-V) identificado em ambos os grupos foi de linfócitos, macrófagos e eosinófilos.

Na variável referente a viabilidade dos ovos (ID-VI), o grupo *Kit*^{+/+} apresentou ovos viáveis em 26,47% (n = 18) dos camundongos, ovos inviáveis em 1,47% (n = 01) e ausência de ovos em 84,62% dos camundongos analisados. Dos ovos identificados 02 estavam presentes no tempo de 45 d.p.i., 09 no tempo de 70 d.p.i. e 08 no tempo de 140 d.p.i. Já no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} se observou ausência de ovos em 80,00% dos camundongos e apenas ovos viáveis, 20,00% (n = 12), sendo 03 presentes no tempo de 45 d.p.i., 06 no tempo de 70 d.p.i. e 03 no tempo de 140 d.p.i.

6.6.5 Alterações Intestinais - Intestino Grosso

Na análise microscópica do intestino grosso, (variáveis de IG-I até IG-VI, detalhadas no Anexo F) foram compostas de 100 camundongos do grupo *Kit*^{+/+} e 93 do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, tendo 33 amostras *missing*. Considerando a infecção experimental, foram examinados 69 e 61 camundongos infectados com cercárias de *S. mansoni*, 31 e 32 camundongos não infectados, respectivamente, aos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}. No qual, os camundongos que não foram infectados não se observou alterações características da esquistossomose.

Na análise da estrutura do intestino grosso (IG-I) o grupo *Kit*^{+/+} demonstrou uma estrutura totalmente preservada ou normal em 95,65% dos camundongos, em 2,90% (n = 02) observou parcialmente alterada, sendo identificada no tempo de 70 e 140 d.p.i. e em 1,45% (n = 01) a descrição totalmente alterada, no tempo de 140 d.p.i. Já nos camundongos do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, todos (100%) demonstraram uma estrutura totalmente preservada ou normal durante a análise.

Na análise referente a presença de hipotrofia/atrofia intestinal (IG-II), tanto no grupo *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} não se observou alteração em nenhum camundongo analisado. Na análise IG-III, da presença de ulceração intestinal, observou-se apenas no grupo *Kit*^{+/+} que 1,45% (n = 01) dos camundongos continham uma ulceração multifocal, sendo observado no tempo de

140 d.p.i., em 98,55% dos camundongos se observou a ausência de úlceras. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, todos os camundongos (100%) apresentaram ausência de ulceração intestinal.

De acordo com a análise da quantidade de granulomas no intestino grosso (IG-IV), foi observado nos camundongos do grupo *Kit^{+/+}* a ausência em 88,41%, em 8,70% (n = 06) dos camundongos apresentaram granulomas raros ou escassos (02 no tempo de 70 d.p.i. e 04 em 140 d.p.i.) e o mesmo percentil de 1,45% para as descrições de discreto e moderado, identificados no tempo de 140 d.p.i. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, observou-se a presença de raros ou escassos granulomas em 3,28% (n = 02), 01 no tempo de 70 d.p.i. e 01 no tempo de 140 d.p.i., discreto em 1,64% (n = 01), no tempo de 140 d.p.i., nos demais camundongos, a ausência de granulomas correspondente a 95,08%. A constituição dos granulomas (IG-V) identificado em ambos os grupos foi de linfócitos, macrófagos e eosinófilos.

Na variável referente a viabilidade dos ovos (IG-VI), o grupo *Kit^{+/+}* apresentou ovos viáveis em 8,70% (n = 06) dos camundongos analisados, sendo 03 identificados no tempo de 70 d.p.i. e 03 no tempo de 140 d.p.i., nos demais camundongos se observou a ausência de ovos, correspondendo a 91,30%. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* se observou ausência de ovos em 96,72% dos camundongos e ovos viáveis em 3,28% (n = 02), identificados no tempo de 70 e 140 d.p.i.

6.6.6 Alterações Pancreáticas

Na análise microscópica do pâncreas, (variáveis de Pa-I até Pa-VI, detalhadas no Anexo E) foram compostas de 52 camundongos do grupo *Kit^{+/+}* e 53 do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, tendo 121 amostras *missing*. Considerando a infecção experimental, foram examinados 32 e 25 camundongos infectados com cercárias de *S. mansoni*, 20 e 28 camundongos não infectados, respectivamente, aos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*. Os camundongos que não foram infectados não observaram alterações características da esquistossomose.

Na análise da estrutura do pâncreas (Pa-I) o grupo *Kit^{+/+}* demonstrou uma estrutura totalmente preservada ou normal em todos (100%) os camundongos e o grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, 96,00% demonstraram estrutura totalmente preservada ou normal durante a análise e 4,00% (n = 01) parcialmente alterada, no tempo de 70 d.p.i.

Na análise de inflamação (Pa-II), observou-se ausente em todos (100%) os camundongos do grupo *Kit*^{+/+} e no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, observou inflamação focal em 8,00% (n = 02) no tempo de 70 d.p.i. e ausente em 92,00%. Na análise referente a alteração vascular (Pa-III) e presença de fibrose (Pa-IV), não foi observada alteração em nenhum camundongo analisado nos grupos experimentais.

De acordo com a análise da quantidade de granulomas no pâncreas (Pa-V), foi observado nos camundongos do grupo *Kit*^{+/+} a ausência de granulomas em todos (100%) e no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, foi observada a presença de raros ou escassos granulomas em 4,00% (n = 01) no tempo de 70 d.p.i., nos demais camundongos, a ausência de granulomas correspondente a 96,00%. A constituição dos granulomas (Pa-VI) identificado no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} foi de linfócitos, macrófagos e eosinófilos.

Na variável referente a viabilidade dos ovos (Pa-VII), o grupo *Kit*^{+/+} não apresentou ovos em todos (100%) os camundongos e o grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} observou ausência de ovos em 96,00% dos camundongos e ovos viáveis em 4,00% (n = 01), sendo identificado no tempo de 70 d.p.i.

6.6.7 Coloração Especial: Tricrômico de Masson

Na análise da coloração especial Tricrômico de Masson do fígado dos camundongos infectados, o N amostral foi composto por 14 amostras de camundongos *Kit*^{+/+} e 15 amostras de camundongos *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 70 d.p.i. e 11 amostras de camundongos *Kit*^{+/+} e 15 *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 140 d.p.i., a análise semi-quantitativa foi realizada de acordo com a presença de fibras colágenas nos tratos portais do tecido hepático.

As análises foram realizadas considerando a fibrose de substituição (Figura 14), observando no grupo *Kit*^{+/+} um percentual de 36,00% de tratos alargados, mas sem septos, 36,00% alargados e com início da emissão dos septos, 24,00% alargados e com septos incompletos e 4,00% alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente. No grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} foi possível observar um percentual de 30,00% de tratos alargados, mas sem septos, 33,33% alargados e com início da emissão dos septos e 36,67% alargados e com septos incompletos,

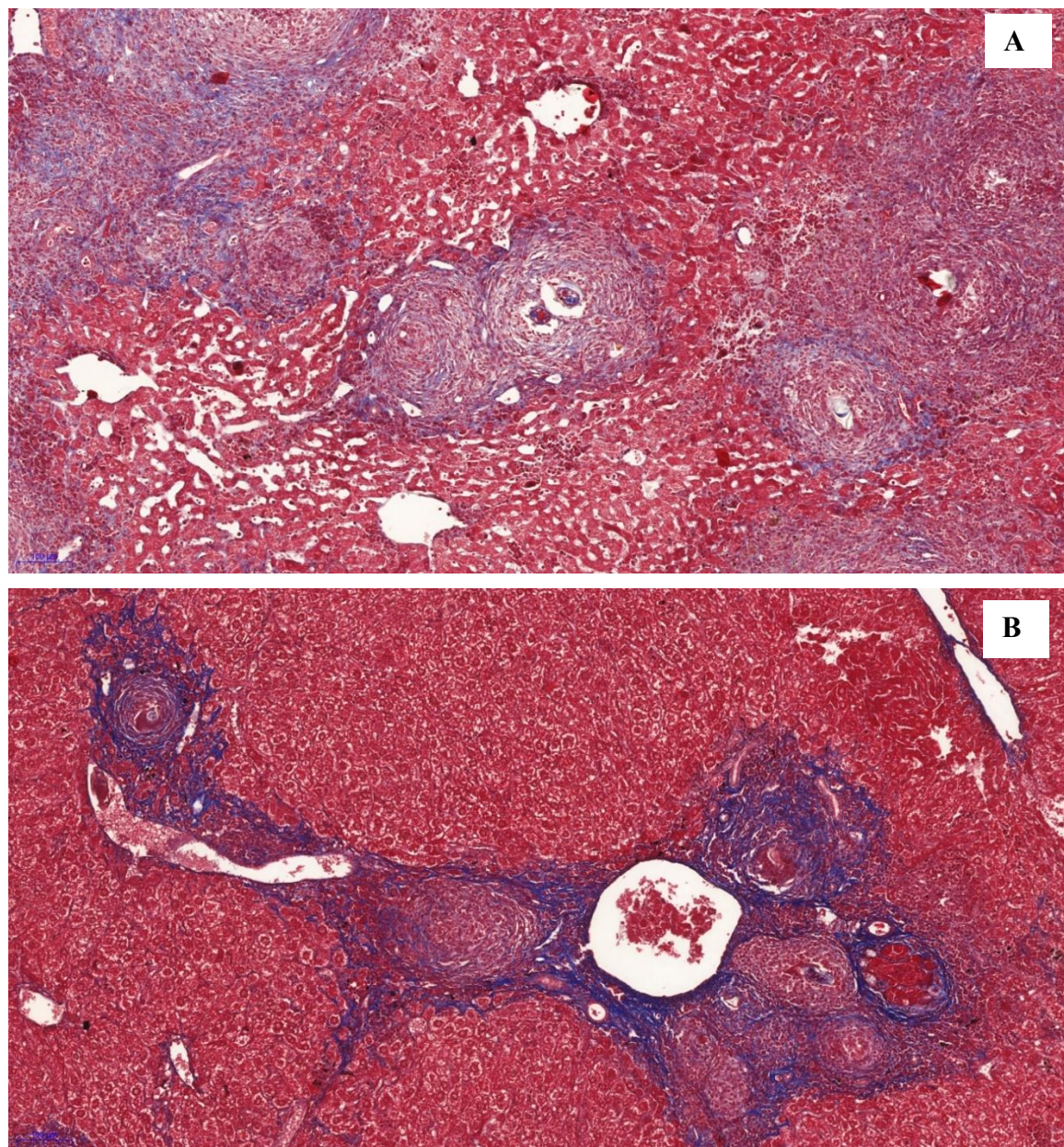
no qual, não foi observado diferença significativa entre os grupos. A Tabela 30 apresenta os valores percentuais da fibrose de substituição no fígado de acordo com o tempo de eutanásia.

Tabela 30 - Valores percentuais da fibrose de substituição no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni* conforme a variável do tempo de eutanásia

Coloração Especial: Tricrômico de Masson		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	6	<u>42,86</u>	3	27,27	9	36,00
	2	5	35,71	4	<u>36,36</u>	9	36,00
	3	3	21,43	3	27,27	6	24,00
	4	0	0,00	1	9,09	1	4,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	6	<u>40,00</u>	3	20,00	9	30,00
	2	5	33,33	5	33,33	10	33,33
	3	5	33,33	6	<u>40,00</u>	11	36,67
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: (0) Totalmente preservado ou normal. (1) Alargados, mas sem septos. (2) Alargados e com início da emissão de septos. (3) Alargados e com septos incompletos. (4) Alargados e com septos completos ou pontes ou coalescentes. Os valores sublinhados referem-se a maior percentual da fibrose de substituição hepática, no tempo de 70 e 140 d.p.i. nos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}.

Figura 14 - Tricrômico de Masson no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni*



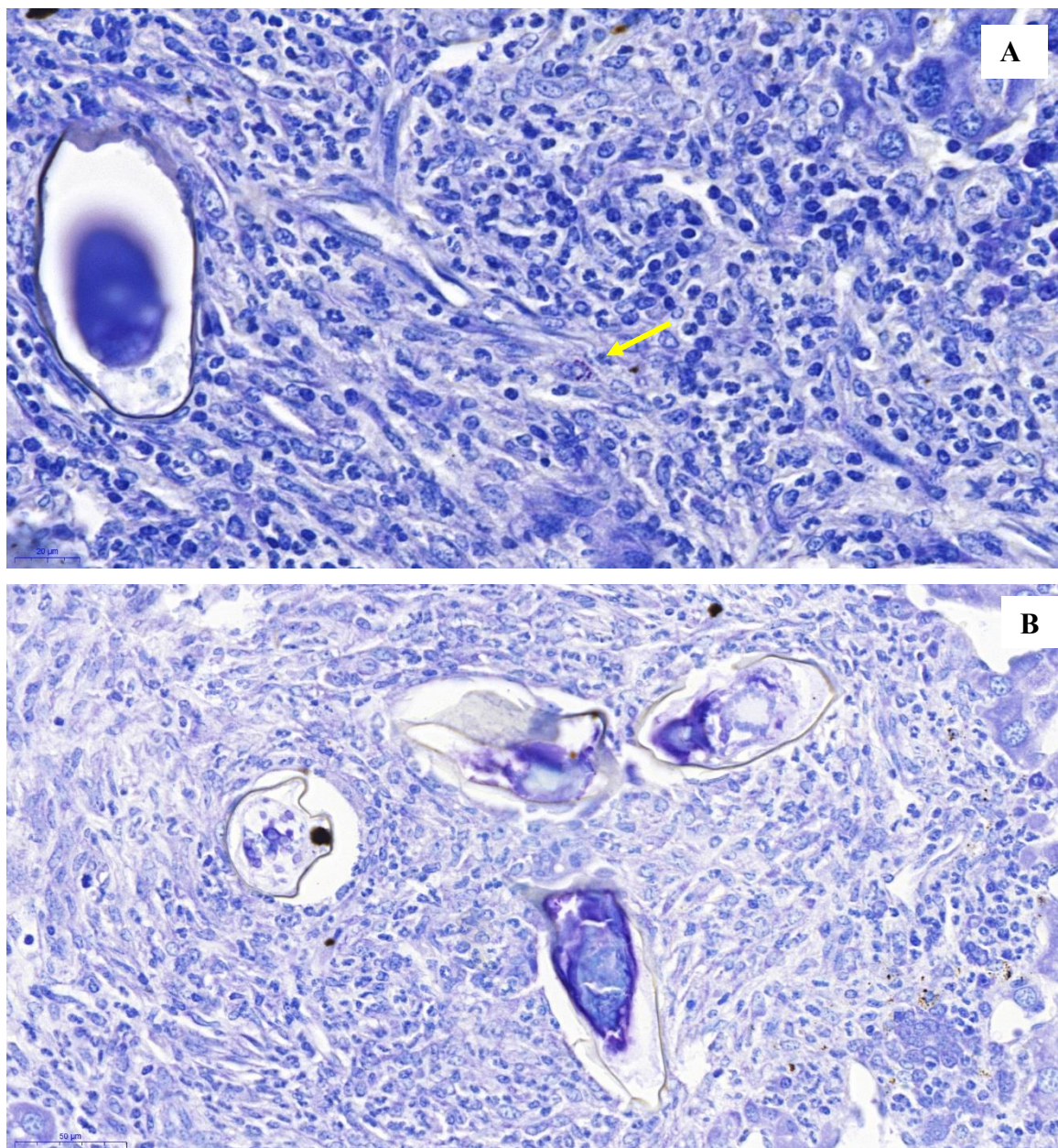
Cortes histológicos com coloração Tricrômico de Masson demonstrando a fibrose hepática. Em (A) Grupo *Kit*^{+/+}, com fibras menos densas e imagem no aumento 10x. Em (B) Grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, com fibras mais densas e compactadas e imagem no aumento 10x.

6.6.8 Coloração Especial: Azul de Toluidina

Na análise descritiva referente a presença e ausência dos mastócitos, observou-se a presença dos mastócitos próximos aos vasos sanguíneos em 100% (n = 25) dos camundongos do

grupo *Kit*^{+/+}. Nos camundongos do grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, foi observada a ausência em 100% (n = 30) dos camundongos, confirmando que todo o modelo utilizado é ausente de mastócitos, viabilizando a utilização do modelo (Figura 15).

Figura 15 - Azul de Toluidina no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni*

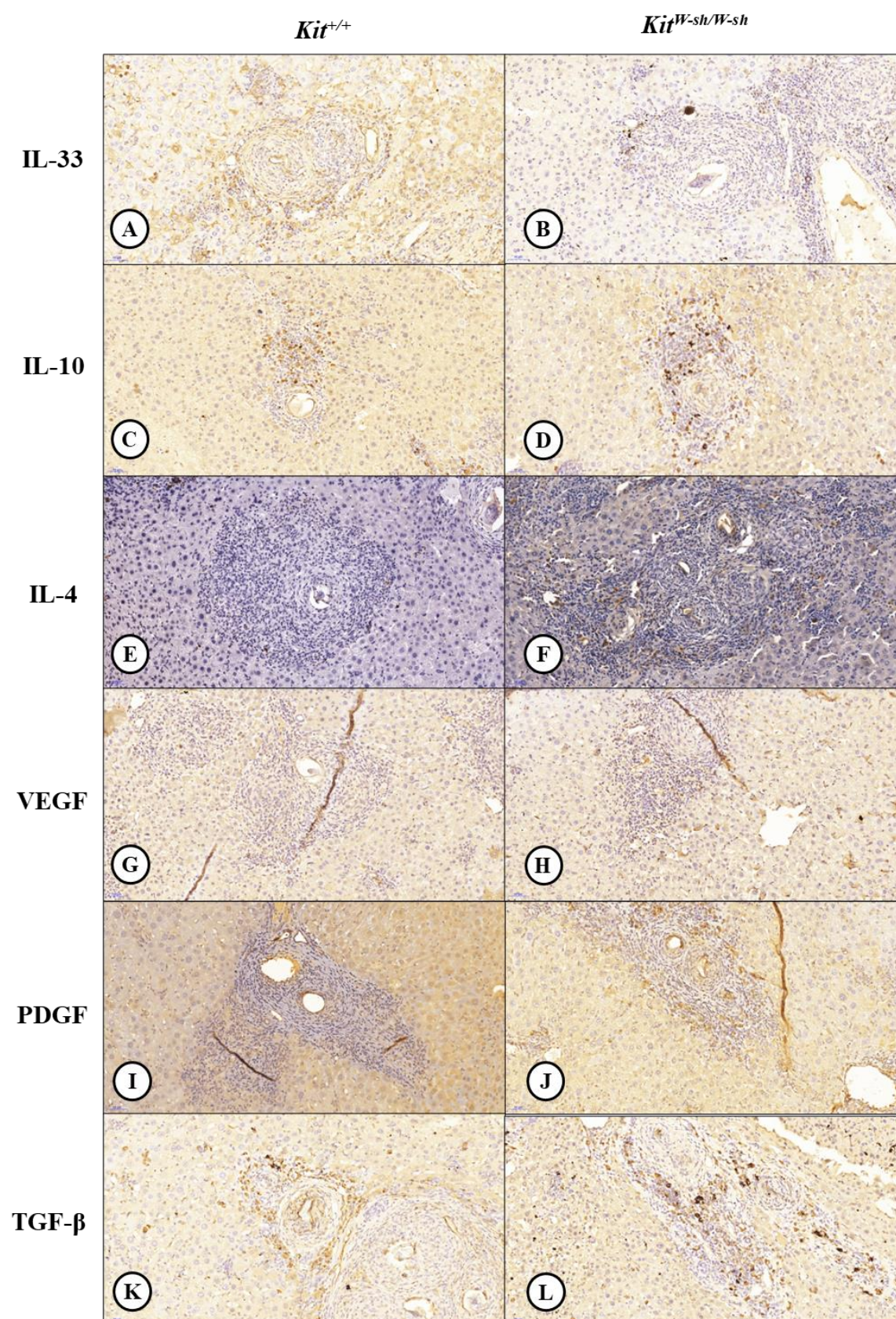


Cortes histológicos com coloração Azul de Toluidina para demonstração dos mastócitos. Em (A) Grupo *Kit*^{+/+}, com mastócito e imagem no aumento 50x. Em (B) Grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, sem mastócitos e imagem no aumento 40x.

6.7 Análise Imuno-histoquímica

Na análise de imuno-histoquímica do fígado dos camundongos, o N amostral foi composto por 14 amostras de camundongos *Kit*^{+/+} e 15 amostras de camundongos *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 70 d.p.i. e 11 amostras de camundongos *Kit*^{+/+} e 15 *Kit*^{W-sh/W-sh} no tempo de 140 d.p.i. A análise semi-quantitativa foi realizada de acordo com a intensidade e o percentual da área de imunorreatividade (distribuição) da marcação ao longo dos cortes de fígado. A Figura 16 apresenta um painel geral das reações imuno-histoquímicas com os marcadores IL-33, IL-10, IL-4, VEGF, PDGF e TGF- β , cujos resultados da intensidade e da distribuição serão apresentados a seguir, nesta sequência.

Figura 16 - Painel geral das reações imuno-histoquímicas no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni*.



Legenda: Cortes histológicos de fígado com reações imuno-histoquímicas para expressão de marcadores da resposta imunológica. Em (A) e (B), (C) e (D), (E) e (F), (G) e (H), (I) e (J) e (K) e (L), imunorreatividade dos marcadores IL-33, IL-10, IL-4, VEGF, PDGF e TGF- β , respectivamente nas amostras dos Grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, nesta ordem, no aumento 20x. Exceto para o marcador IL-33, que apresentou tanto intensidade, quanto distribuição da marcação maiores no Grupo *Kit*^{+/+} (A) do que no *Kit*^{W-sh/W-sh} (B), demais marcadores apresentaram imunorreatividade similar entre os dois grupos.

6.7.1 IL-33

Na análise da intensidade e distribuição do mediador imune IL-33, que é considerada uma importante citocina que atua como um "alarme" para o sistema imunológico em resposta a danos e pode-se observar a presença da expressão imuno-histoquímica em todas as amostras de ambos os grupos, *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}.

Demonstrando, na análise de intensidade, um maior percentual (60,00%) de moderado no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} em relação ao grupo *Kit*^{+/+}, que observou um maior percentual (68,00%) leve, podendo identificar diferença significativa ($p = 0,030$). Na análise de acordo com o tempo, em 70 d.p.i. observou um maior percentual para leve em ambos os grupos, sem diferença significativa e no tempo de 140 d.p.i. observou um maior percentual para moderado no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} em relação ao *Kit*^{+/+}, que demonstrou maior percentual leve ($p = 0,020$) (Tabela 31).

Tabela 31 - Intensidade da imunorreatividade da IL-33 nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Intensidade IL-33		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	11	<u>78,57</u>	6	<u>54,55</u>	17	<u>68,00</u>
	2	3	21,43	5	45,45	8	32,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	10	<u>66,67</u>	1	6,67	11	36,67
	2	5	33,33	13	<u>86,67</u>	18	<u>60,00</u>
	3	0	0,00	1	6,67	1	3,33
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Leve (+); [2] Moderado (++); [3] Acentuado (+++). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da intensidade imunorreativa de IL-33 nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise de distribuição, no grupo $Kit^{+/+}$ observou uma distribuição pontual em 40,00% e focal em 60,00% dos camundongos, já no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ 50,00% apresentaram pontual e 50% focal, sem diferença significativa. Observando a distribuição de acordo com o tempo, em 70 d.p.i. o grupo $Kit^{+/+}$ demonstrou maior percentual focal e o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ para pontual ($p = 0,005$). E no tempo de 140 d.p.i. o grupo $Kit^{+/+}$ demonstrou maior percentual pontual e o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ para focal ($p = 0,067$) (Tabela 32).

Tabela 32 - Distribuição da imunorreatividade da IL-33 nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Distribuição IL-33		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	4	28,57	6	<u>54,55</u>	10	<u>40,00</u>
	2	10	<u>71,43</u>	5	45,45	15	<u>60,00</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	12	<u>80,00</u>	3	20,00	15	<u>50,00</u>
	2	3	20,00	12	<u>80,00</u>	15	<u>50,00</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Pontual (1 a 25%); [2] Focal (26 a 50%); [3] Multifocal (51 a 75%); [4] Difusa (> 75%). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da distribuição imunorreativa de IL-33 nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise do escore da expressão (Tabela 33), que analisou a multiplicação das categorias da intensidade pelo percentual da imunorreatividade celular, observando a os critérios referente a “expressão baixa” (produto < 4) e a “expressão elevada” (produto $\geq$ 4), podendo observar no mediador imune IL-33 o mesmo percentil em relação ao escore nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, que demonstraram “expressão baixa” em 80,00% e 60,00%, e “expressão elevada” em 20,00% e 40,00%, respectivamente aos grupos ($p = 0,110$). Analisando o escore de acordo com o tempo de eutanásia, em 70 d.p.i. ambos os grupos demonstraram um maior percentual de “expressão baixa” ($p = 0,224$), já no tempo de 140 d.p.i. observou um maior percentual no grupo $Kit^{+/+}$ de “expressão baixa” e no $Kit^{W-sh/W-sh}$ de “expressão elevada” ($p = 0,060$).

Tabela 33 - Escore da imunorreatividade da IL-33 nas amostras de fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* de acordo com o tempo de eutanásia

Grupo	IL-33 Escore	Tempo (dias pós infecção)					
		70 dias		140 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	12	<u>85,71</u>	8	<u>72,73</u>	20	80,00
	1	2	14,29	3	27,27	5	20,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	15	<u>100,00</u>	3	20,00	18	60,00
	1	0	0,00	12	<u>80,00</u>	12	40,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] “expressão baixa” (produto < 4); [1] “expressão elevada” (produto $\geq$ 4). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual do escore imunorreativo de IL-33 nos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

6.7.2 IL-10

Na análise da intensidade e distribuição do mediador imune IL-10, que contribui para a regulação imunológica, tendo um importante papel anti-inflamatório e regulador, pode-se observar na intensidade um maior percentual para expressão moderado nos camundongos do grupo *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*. E de acordo com o tempo de eutanásia, o grupo *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* demonstraram um maior percentual na intensidade leve em 70 d.p.i. e moderado em 140 d.p.i., sem diferença significativa (Tabela 34).

Tabela 34 - Intensidade da imunorreatividade da IL-10 nas amostras de fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* de acordo com o tempo de eutanásia

Intensidade IL-10		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	1	7,14	0	0,00	1	4,00
	1	8	<u>57,14</u>	0	0,00	8	32,00
	2	5	35,71	11	<u>100,00</u>	16	<u>64,00</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	10	<u>66,67</u>	1	6,67	11	36,67
	2	5	33,33	14	<u>93,33</u>	19	<u>63,33</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Leve (+); [2] Moderado (++); [3] Acentuado (+++). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da intensidade imunorreativa de IL-10 nos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

Na análise de distribuição (Tabela 35), o grupo *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* demonstraram um maior percentual pontual em ambos os grupos ($p = 0,705$). Ao observar de acordo com o tempo, em 70 d.p.i. o grupo *Kit^{+/+}* demonstrou percentual para uma distribuição pontual, com diferença significativa ($p = 0,041$) em relação aos camundongos do grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* que observou o predomínio percentual de distribuição focal e no tempo de 140 d.p.i. o grupo *Kit^{+/+}* demonstrou maior percentual em pontual e o grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* em focal, sem diferença significativa.

Tabela 35 - Distribuição da imunorreatividade da IL-10 nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Distribuição IL-10		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	1	7,14	0	0,00	1	4,00
	1	8	57,14	5	<u>45,45</u>	13	<u>52,00</u>
	2	5	<u>35,71</u>	4	36,36	9	36,00
	3	0	0,00	2	18,18	2	8,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	14	<u>93,33</u>	5	33,33	19	<u>63,33</u>
	2	1	6,67	7	<u>46,67</u>	8	26,67
	3	0	0,00	3	20,00	3	10,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Pontual (1 a 25%); [2] Focal (26 a 50%); [3] Multifocal (51 a 75%); [4] Difusa (> 75%). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da distribuição imunorreativa de IL-10 nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise do escore da expressão (Tabela 36), pode-se observar maior percentual para “expressão baixa” nos grupos e no tempo de 70 d.p.i., de forma contrária, no tempo de 140 d.p.i. o grupo $Kit^{+/+}$ e o $Kit^{W-sh/W-sh}$ demonstraram maior percentual para “expressão elevada”, sem diferença significativa nos parâmetros de análise.

Tabela 36 - Escore da imunorreatividade da IL-10 nas amostras de fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* de acordo com o tempo de eutanásia

Grupo	IL-10 Escore	Tempo (dias pós infecção)					
		70 dias		140 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	12	<u>85,71</u>	5	45,45	17	<u>68,00</u>
	1	2	14,29	6	<u>54,55</u>	8	32,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	15	<u>100,00</u>	6	40,00	21	<u>70,00</u>
	1	0	0,00	9	<u>60,00</u>	9	30,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] “expressão baixa” (produto < 4); [1] “expressão elevada” (produto $\geq$ 4). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual do escore imunorreativo de IL-10 nos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

6.7.3 IL-4

Analisando a intensidade e distribuição do mediador imune IL-4, que é uma citocina importante na imunidade, atuando principalmente na regulação da resposta imune tipo 2, com efeitos anti-inflamatórios, foi possível observar um maior percentual de na intensidade leve, de ambos os grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* e no tempo de 70 d.p.i., com diferença no tempo de 140 d.p.i., no qual, o grupo *Kit^{+/+}* demonstrou maior percentual leve e o *Kit^{W-sh/W-sh}* moderado, entretanto não se observou diferença significativa (Tabela 37).

Tabela 37 - Intensidade da imunorreatividade da IL-4 nas amostras de fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia

Intensidade IL-4		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	1	7,14	0	0,00	1	4,00
	1	11	<u>78,57</u>	8	<u>72,73</u>	19	<u>76,00</u>
	2	2	14,29	3	27,27	5	20,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	10	<u>66,67</u>	6	40,00	16	<u>53,33</u>
	2	5	33,33	8	<u>53,33</u>	13	43,33
	3	0	0,00	1	6,67	1	3,33
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Leve (+); [2] Moderado (++); [3] Acentuado (+++). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da intensidade imunorreativa de IL-4 nos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}.

Analisando a distribuição (Tabela 38), ambos os grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, demonstraram um maior percentual em pontual, sem diferença significativa na análise do grupo e do tempo de 70 d.p.i., diferentemente do tempo de 140 d.p.i. ($p = 0,028$), no qual o grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} demonstrou maior expressão focal e multifocal em relação aos camundongos do grupo *Kit*^{+/+} que demonstrou pontual.

Tabela 38 - Distribuição da imunorreatividade da IL-4 nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Distribuição IL-4		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	1	7,14	0	0,00	1	4,00
	1	12	<u>85,71</u>	11	<u>100,00</u>	23	<u>92,00</u>
	2	1	7,14	0	0,00	1	4,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	14	<u>93,33</u>	9	60,00	23	<u>76,67</u>
	2	1	6,67	5	<u>33,33</u>	6	20,00
	3	0	0,00	1	<u>6,67</u>	1	3,33
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Pontual (1 a 25%); [2] Focal (26 a 50%); [3] Multifocal (51 a 75%); [4] Difusa (> 75%). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da distribuição imunorreativa de IL-4 nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise do escore da expressão (Tabela 39), pode-se observar maior percentual para “expressão baixa” nos grupos e no tempo de 70 d.p.i., diferentemente do tempo de 140 d.p.i., que demonstrou em 33,33% dos camundongos um percentual de “expressão elevada” no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ e uma “expressão baixa” em todos os camundongos do grupo $Kit^{+/+}$, demonstrando diferença significativa ($p = 0,033$).

Tabela 39 - Escore da imunorreatividade da IL-4 nas amostras de fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* de acordo com o tempo de eutanásia

Grupo	IL-4 Escore	Tempo (dias pós infecção)					
		70 dias		140 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	13	<u>92,86</u>	11	<u>100,00</u>	24	<u>96,00</u>
	1	1	7,14	0	0,00	1	4,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	14	<u>93,33</u>	10	66,67	24	<u>80,00</u>
	1	1	6,67	5	<u>33,33</u>	6	20,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] “expressão baixa” (produto < 4); [1] “expressão elevada” (produto => 4). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual do escore imunorreativo de IL-4 nos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

6.7.4 VEGF

Na análise da intensidade e distribuição do mediador imune VEGF, fator de crescimento endotelial vascular, pode-se observar um maior percentual de intensidade leve em ambos os grupos, na análise de acordo com o tempo de eutanásia, em 70 d.p.i. observou um maior percentual em leve no grupo *Kit^{+/+}* e moderado no *Kit^{W-sh/W-sh}* e em 140 d.p.i. observou-se maior percentual leve para ambos os grupos, sem diferença significativa nos parâmetros analisados (Tabela 40).

Tabela 40 - Intensidade da imunorreatividade da VEGF nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Intensidade VEGF		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	8	<u>57,14</u>	9	<u>81,82</u>	17	<u>68,00</u>
	2	6	42,86	2	18,18	8	32,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	7	46,67	12	<u>80,00</u>	19	<u>63,33</u>
	2	8	<u>53,33</u>	3	20,00	11	36,67
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Leve (+); [2] Moderado (++); [3] Acentuado (+++). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da intensidade imunorreativa de VEGF nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise de distribuição, grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ demonstrou maior percentual focal em relação ao grupo $Kit^{+/+}$, que demonstrou maior percentual pontual, com diferença significativa ($p = 0,001$). Aos analisar de acordo com o tempo, em 70 e 140 d.p.i., o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ demonstrou maior percentual focal em relação ao grupo $Kit^{+/+}$, que demonstrou maior percentual em pontual, podendo observar uma diferença significativa em cada tempo ($p = 0,040$ e $p = 0,008$ respectivamente) (Tabela 41).

Tabela 41 - Distribuição da imunorreatividade da VEGF nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Distribuição VEGF		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	10	<u>71,43</u>	10	<u>90,91</u>	20	<u>80,00</u>
	2	4	28,57	1	9,09	5	20,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	5	33,33	6	40,00	11	36,67
	2	10	<u>66,67</u>	9	<u>60,00</u>	19	<u>63,33</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Pontual (1 a 25%); [2] Focal (26 a 50%); [3] Multifocal (51 a 75%); [4] Difusa (> 75%). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da distribuição imunorreativa de VEGF nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise do escore da expressão, pode-se observar um maior percentual para “expressão baixa” em ambos os grupos e na análise dos tempos, não demonstrando diferença significativa (Tabela 42).

Tabela 42 - Escore da imunorreatividade da VEGF nas amostras de fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* de acordo com o tempo de eutanásia

Grupo	VEGF Escore	Tempo (dias pós infecção)					
		70 dias		140 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	12	<u>85,71</u>	11	<u>100,00</u>	23	<u>92,00</u>
	1	2	14,29	0	0,00	2	8,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	12	<u>80,00</u>	12	<u>80,00</u>	24	<u>80,00</u>
	1	3	20,00	3	20,00	6	20,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] “expressão baixa” (produto < 4); [1] “expressão elevada” (produto $\geq$ 4). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual do escore imunorreativo de VEGF nos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

6.7.5 PDGF

Na análise da intensidade e distribuição do mediador imune PDGF, fator de crescimento derivado de plaquetas, foi observada o predomínio da presença da expressão leve no fígado dos camundongos infectados de ambos os grupos e ao analisar de acordo com o tempo de eutanásia, o grupo *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* demonstraram maior percentual leve em 70 d.p.i. e no tempo de 140 d.p.i., foi observado no grupo *Kit^{+/+}* leve e no *Kit^{W-sh/W-sh}* moderado, sem diferença significativa entre os grupos nos parâmetros analisados (Tabela 43).

Tabela 43 - Intensidade da imunorreatividade PDGF nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Intensidade PDGF		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	11	<u>78,57</u>	6	<u>54,55</u>	17	<u>68,00</u>
	2	3	21,43	5	45,45	8	32,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	13	<u>86,67</u>	6	40,00	19	<u>63,33</u>
	2	2	13,33	9	<u>60,00</u>	11	36,67
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Leve (+); [2] Moderado (++); [3] Acentuado (+++). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da intensidade imunorreativa de PDGF nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise de distribuição, no grupo $Kit^{+/+}$ observou uma distribuição pontual em 44,00% e focal em 56,00% dos camundongos, já no grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ foi possível observar nos camundongos, 50,00% pontual e 50,00% focal. Observando a distribuição de acordo com o tempo, em 70 d.p.i. o grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ demonstrou maior percentual para pontual e no tempo de 140 d.p.i. o grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ demonstraram maior percentual focal, sem diferença significativa nos parâmetros analisados (Tabela 44).

Tabela 44 - Distribuição da imunorreatividade do PDGF nas amostras de fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* de acordo com o tempo de eutanásia

Distribuição PDGF		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	7	<u>50,00</u>	4	36,36	11	<u>44,00</u>
	2	7	<u>50,00</u>	7	<u>63,64</u>	14	<u>56,00</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	12	<u>80,00</u>	2	13,33	15	<u>50,00</u>
	2	3	<u>20,00</u>	13	<u>86,67</u>	15	<u>50,00</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Pontual (1 a 25%); [2] Focal (26 a 50%); [3] Multifocal (51 a 75%); [4] Difusa (> 75%). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da distribuição imunorreativa de PDGF nos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

Na análise do escore da expressão, pode-se observar um maior percentual para “expressão baixa” em ambos os grupos e na análise do tempo de eutanásia (70 e 140 dias), não demonstrando diferença significativa (Tabela 45).

Tabela 45 - Escore da imunorreatividade do PDGF nas amostras de fígado dos camundongos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}* de acordo com o tempo de eutanásia

Grupo	PDGF Escore	Tempo (dias pós infecção)					
		70 dias		140 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit^{+/+}</i>	0	14	<u>100,00</u>	8	<u>72,73</u>	22	<u>88,00</u>
	1	0	0,00	3	27,27	3	12,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit^{W-sh/W-sh}</i>	0	14	<u>93,33</u>	8	<u>53,33</u>	22	<u>73,33</u>
	1	1	6,67	7	46,67	8	26,67
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] “expressão baixa” (produto < 4); [1] “expressão elevada” (produto $\geq$ 4). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual do escore imunorreativo de PDGF nos grupos *Kit^{+/+}* e *Kit^{W-sh/W-sh}*.

6.7.6 TGF- β

Na análise da intensidade e distribuição do mediador imune TGF- β , um importante fator para a fibrose, angiogênese e reparo tecidual, pode-se observar intensidade moderado em ambos os grupos, demonstrando no tempo de 70 d.p.i. 50% leve e 50% moderado no grupo *Kit^{+/+}* e maior percentual moderado no grupo *Kit^{W-sh/W-sh}* e em 140 d.p.i. maior percentual moderado em ambos os grupos, sem diferença significativa nos parâmetros analisados (Tabela 46).

Tabela 46 - Intensidade da imunorreatividade da TGF- β nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Intensidade TGF- β		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	7	<u>50,00</u>	4	36,36	11	44,00
	2	7	<u>50,00</u>	7	<u>63,64</u>	14	<u>56,00</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	6	40,00	3	20,00	9	30,00
	2	9	<u>60,00</u>	12	<u>80,00</u>	21	<u>70,00</u>
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Leve (+); [2] Moderado (++); [3] Acentuado (+++). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da intensidade imunorreativa de TGF- β nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise de distribuição (Tabela 47), o grupo $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ demonstraram maior percentual pontual, sem diferença significativa. Ao observar de acordo com o tempo, em 70 d.p.i. o grupo $Kit^{+/+}$ demonstrou uma maior distribuição focal (21,43%) em relação ao grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ que observou em 100% dos camundongos uma distribuição pontual ($p = 0,058$), no tempo de 140 d.p.i. observou-se em ambos os grupos um maior percentual de focal, sem diferença significativa.

Tabela 47 - Distribuição da imunorreatividade da TGF- β nas amostras de fígado dos camundongos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$ de acordo com o tempo de eutanásia

Distribuição TGF- β		Tempo (dias pós infecção)					
		70		140		Total	
		N	%	N	%	N	%
$Kit^{+/+}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	11	<u>78,57</u>	5	45,45	16	<u>64,00</u>
	2	3	21,43	6	<u>54,55</u>	9	36,00
	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
$Kit^{W-sh/W-sh}$	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	1	15	<u>100,00</u>	4	26,67	19	<u>63,33</u>
	2	0	0,00	10	<u>66,67</u>	10	33,33
	3	0	0,00	1	6,67	1	3,33
	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

Legenda: [0] Ausente; [1] Pontual (1 a 25%); [2] Focal (26 a 50%); [3] Multifocal (51 a 75%); [4] Difusa (> 75%). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual da distribuição imunorreativa de TGF- β nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

Na análise do escore da expressão, pode-se observar um maior percentual para “expressão baixa” em ambos os grupos e na análise do tempo de eutanásia (70 e 140 dias), não demonstrando diferença significativa (Tabela 48).

Tabela 48 - Escore da imunorreatividade da TGF- β nas amostras de fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} de acordo com o tempo de eutanásia

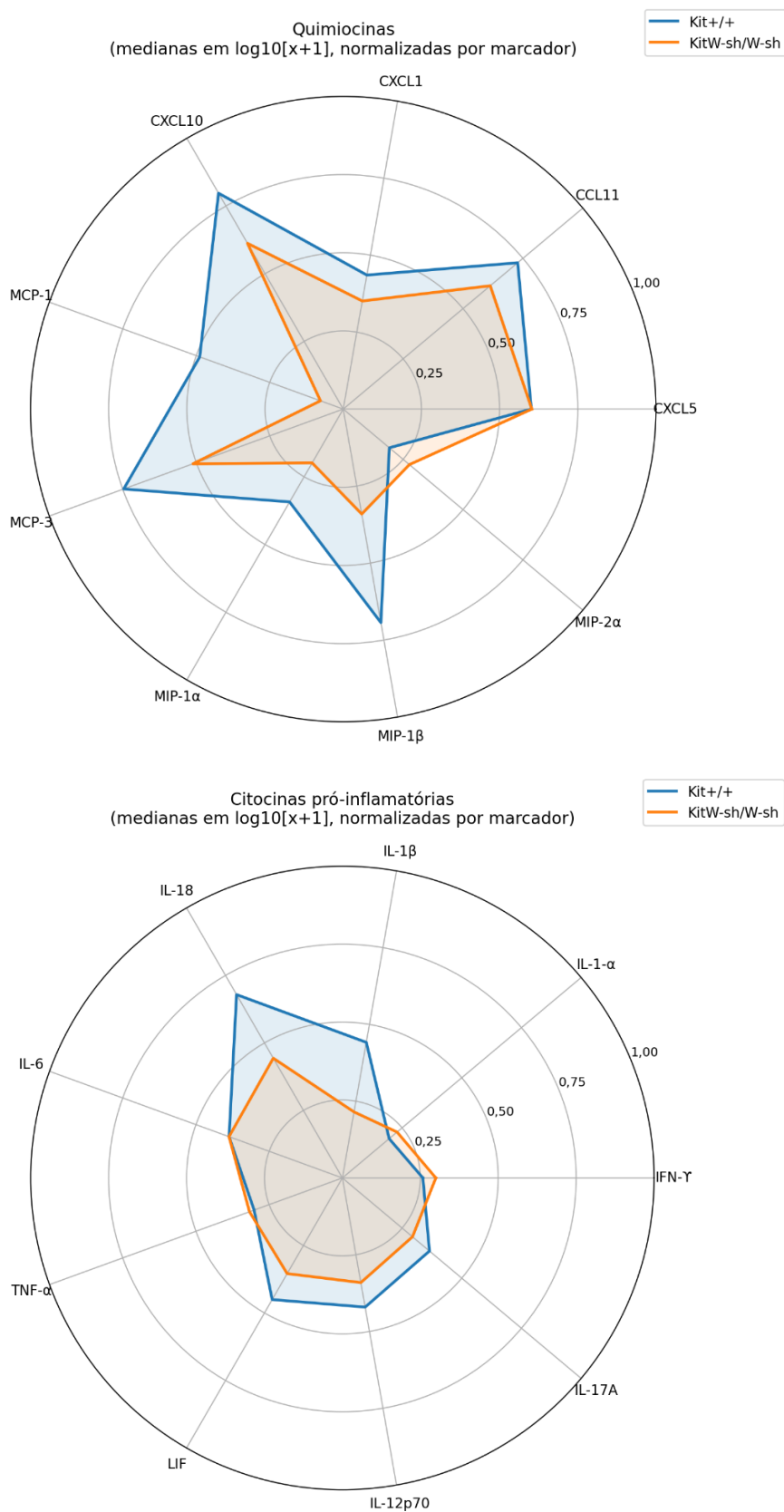
Grupo	TGF- β Escore	Tempo (dias pós infecção)					
		70 dias		140 dias		Total	
		N	%	N	%	N	%
<i>Kit</i> ^{+/+}	0	12	<u>85,71</u>	6	<u>54,55</u>	18	<u>72,00</u>
	1	2	14,29	5	45,45	7	28,00
	Total	14	100,00	11	100,00	25	100,00
<i>Kit</i> ^{W-sh/W-sh}	0	15	<u>100,00</u>	6	40,00	21	<u>70,00</u>
	1	0	0,00	9	<u>60,00</u>	9	30,00
	Total	15	100,00	15	100,00	30	100,00

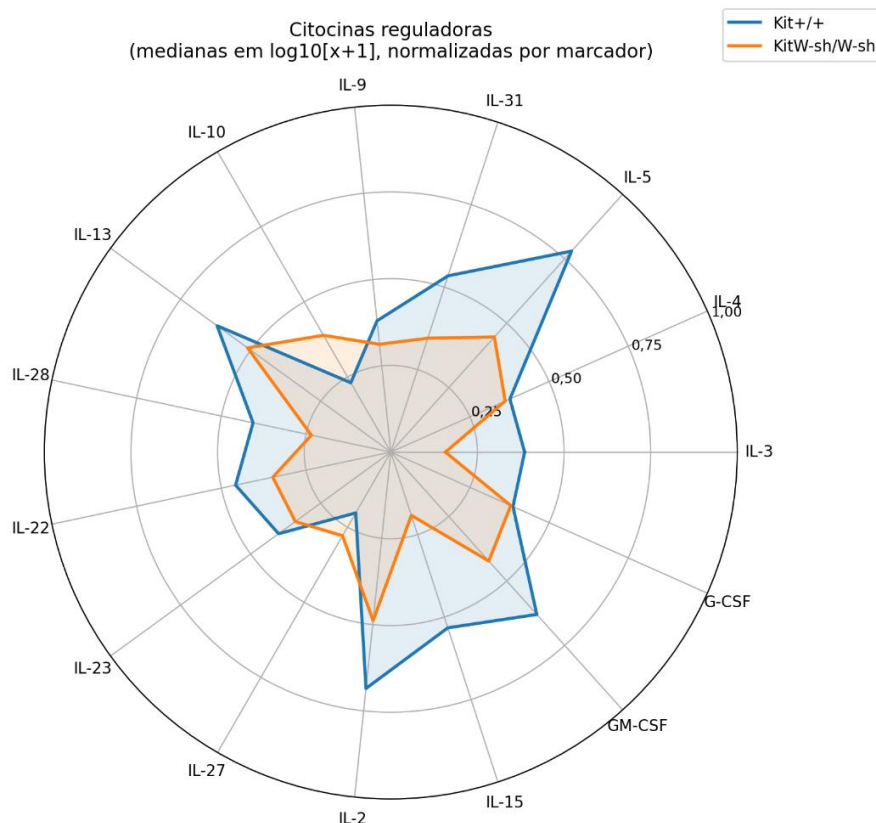
Legenda: [0] “expressão baixa” (produto < 4); [1] “expressão elevada” (produto $\geq$ 4). Os valores sublinhados referem-se ao maior percentual do escore imunorreativo de TGF- β nos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}.

6.8 Análise Sorológica

Inicialmente, foram comparadas as concentrações de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias e citocinas reguladoras nas amostras de sangue periférico entre os grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}. A Figura 17 apresenta gráficos de radar para comparação das medianas normalizadas para cada marcador, destacando a concentração dos marcadores CCL11, IL-5, MCP-3, MCP-1, CXCL10, MIP-1 β e IL-15 no grupo *Kit*^{+/+}. O grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} mostra redução mais consistente em quimiocinas e citocinas reguladoras. Os marcadores CXCL5, G-CSF, IL-4, IL-6, TNF- α , IL-12p70 e MIP-2 α mostram perfil similar entre os grupos.

Figura 17 - Painel geral das reações imuno-histoquímicas no fígado dos camundongos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados pelo *Schistosoma mansoni*.





Legenda: Gráficos de radar da concentração sérica de marcadores imunológicos nos Grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}. Os marcadores imunológicos encontram-se funcionalmente agrupados em Quimiocinas (CXCL5, CCL11, CXCL1, CXCL10, MCP-1, MCP-3, MIP-1a, MIP-1b e MIP-2a); Citocinas reguladoras (IL-3, IL-4, IL-5, IL-31, IL-9, IL-10, IL-13, IL-28, IL-22, IL-23, IL-27, IL-2, IL-15, GM-CSF e G-CSF) e Citocinas pró-inflamatórias (IFN- γ , IL-1a, IL-1b, IL-18, IL-6, TNF- α , LIF, IL-12p70 e IL-17A). Foram observadas maiores concentrações, com significância estatística ($p < 0,05$) na concentração dos marcadores CCL11, IL-5, MCP-3, MCP-1, CXCL10, MIP-1 β e IL-15 no grupo *Kit*^{+/+}. O grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} mostra redução mais consistente em quimiocinas e citocinas reguladoras. Os marcadores CXCL5, G-CSF, IL-4, IL-6, TNF- α , IL-12p70 e MIP-2 α mostram perfil similar entre os grupos.

A seguir, serão detalhadas as análises das concentrações séricas dos marcadores de acordo com o tempo de eutanásia dos animais infectados (45, 70 e 140 d.p.i.) e não infectados (70 d.p.i.), mantendo-se o agrupamento funcional de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias e citocinas reguladoras.

6.8.1 Quimiocinas

Ao analisar a concentração das quimiocinas de acordo com o tempo de eutanásia (Tabela 49), nos camundongos infectados observou-se aos 45 d.p.i. diferença no mediador imune CCL11 ($p = 0,048$), aos 70 d.p.i. CCL11 ($p = 0,039$), MCP-3 ($p = 0,018$) e MIP-1 α ($p =$

0,004) e aos 140 d.p.i. CCL11 ($p = 0,037$), CXCL10 ($p = 0,001$) e MCP-3 ($p = 0,029$), no qual demonstraram maior concentração no grupo $Kit^{+/+}$ em relação ao $Kit^{W-sh/W-sh}$. Na análise dos camundongos não infectados no tempo de 70 d.p.i. observou diferença significativa apenas no mediador imune CCL11 ($p = 0,035$), que demonstrou o mesmo padrão de concentração. A tabela detalhada com os valores das concentrações de todas quimiocinas, se encontra no anexo G.

Tabela 49 - Comparação da concentração de mediadores imunes nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, de acordo com a infecção e tempo de eutanásia

Mediadores Imunes	Grupo	Infectado			Não Infectado
		45 d.p.i.	70 d.p.i.	140 d.p.i.	70 d.p.i.
		Média ($\pm$)	Média ($\pm$)	Média ($\pm$)	Média ($\pm$)
<u>CCL11</u>	(+/+)	809,74 (175,75)	759,53 (209,10)	432,13 (152,85)	1129,88 (372,55)
	(-/-)	566,49 (159,70)	457,32 (186,01)	201,26 (100,89)	547,22 (211,33)
	Total	688,11 (207,34)	608,43 (248,98)	339,78 (175,73)	838,55 (420,24)
<u>CXCL10</u>	(+/+)	133,16 (12,91)	120,71 (21,49)	95,83 (23,15)	51,55 (13,77)
	(-/-)	106,62 (27,48)	95,36 (45,27)	28,90 (14,19)	60,91 (18,79)
	Total	119,89 (25,24)	108,03 (37,63)	69,06 (38,43)	56,23 (17,13)
<u>MCP-3</u>	(+/+)	256,17 (75,55)	257,54 (56,08)	148,33 (34,50)	125,84 (38,38)
	(-/-)	191,51 (57,14)	136,27 (65,79)	77,52 (33,83)	95,33 (50,52)
	Total	223,84 (74,37)	191,90 (82,65)	120,01 (48,74)	110,58 (47,39)
<u>MIP-1α</u>	(+/+)	3,13 (0,47)	4,78 (1,35)	9,82 (10,27)	1,41 (1,02)
	(-/-)	4,82 (4,04)	1,95 (0,82)	2,18 (1,15)	2,02 (1,77)
	Total	3,98 (2,99)	3,36 (1,80)	6,76 (8,82)	1,71 (1,47)

Legenda: d.p.i.: dias pós infecção; (+/+) grupo $Kit^{+/+}$ (-/-) grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$; ($\pm$) desvio padrão. Os valores sublinhados referem-se à concentração dos mediadores imunes nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, de acordo com o tempo de eutanásia.

6.8.2 Citocinas Pró-inflamatórias

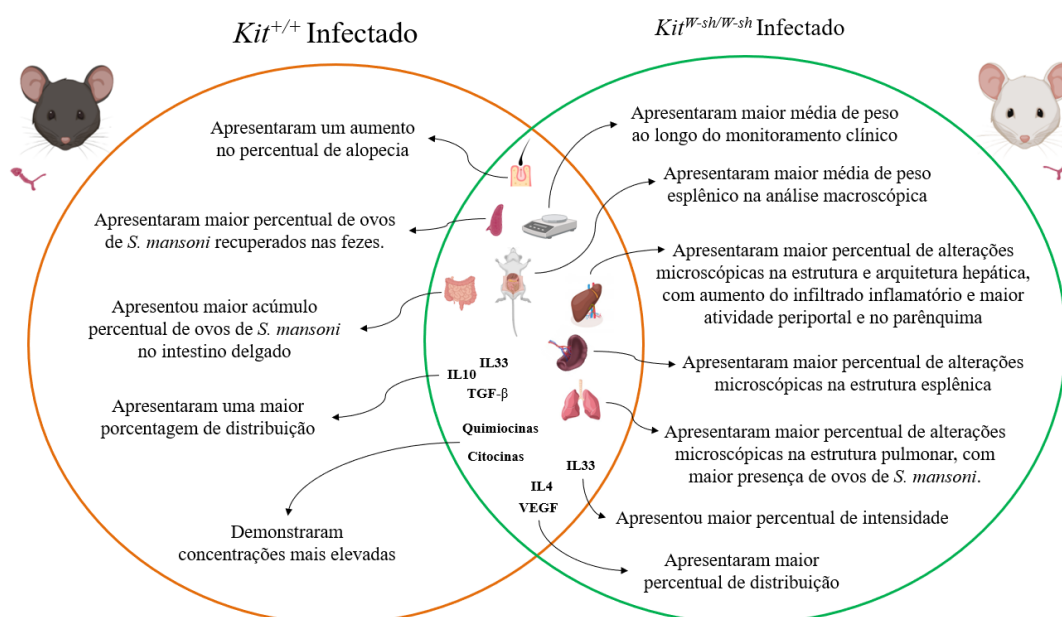
Na análise das citocinas pró-inflamatórias nas amostras de sangue periférico não foi identificado uma diferença significativa ao realizar a análise da concentração das citocinas com o tempo de eutanásia (Anexo H), nos camundongos infectados e não infectados dos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$.

6.8.3 Citocinas reguladoras

Ao realizar a análise da concentração das citocinas reguladoras, observou-se no tempo de 70 d.p.i. diferença significativa ($p = 0,008$) na IL-5, demonstrando maiores concentrações nos camundongos do grupo $Kit^{+/+}$ ($266,84 \pm 95,88$) em relação ao $Kit^{W-sh/W-sh}$ ($81,66 \pm 74,07$). E nos camundongos não infectados, não se observou diferença significativa entre os grupos. A tabela detalhada com os valores das concentrações de todas as citocinas reguladoras, encontra no anexo I.

Em resumo, os resultados evidenciaram positividade na detecção de ovos dos parasitos nas fezes dos camundongos com mastócitos, diferenças nos pesos entre os camundongos dos grupos, maiores proporções de alterações estruturais e da resposta inflamatória no grupo deficiente de mastócitos, maiores concentrações de distribuição dos mediadores imunes TGF- β , IL-10 e IL-33 no grupo com mastócitos, maiores concentrações de intensidade para IL-33 e distribuição de VEGF e IL-4 e no grupo deficiente de mastócitos e menores concentrações de quimiocinas, citocinas reguladoras e reguladoras nos camundongos do grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$ (Figura 18).

Figura 18 - Síntese dos principais resultados observados entre os camundongos infectados por *Schistosoma mansoni* nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$



7 Discussão

Considerando os resultados sintetizados anteriormente observamos que os mastócitos participam da resposta imune da esquistossomose mansoni. As evidências apresentadas nas análises histopatológicas, especialmente do fígado, principal órgão comprometido pelos ovos de *S. mansoni*, demonstraram importantes diferenças entre os grupos Controle *Kit*^{+/+} (contém mastócitos) e Deficiente *Kit*^{W-sh/W-sh} (deficiente para mastócitos) na intensidade da atividade inflamatória e fibrose nos camundongos sem mastócitos, indicando participação dos mastócitos na imunopatologia da esquistossomose mansoni.

Mais detalhadamente, como interpretação da patogênese, da anatomia patológica e da fisiopatologia da esquistossomose neste modelo murino, ao realizar a análise macroscópica do fígado e baço durante a necropsia, foram observadas maiores proporções da média do peso nos camundongos infectados em relação aos não infectados em ambos os grupos. Esses achados indicam que a infecção resulta em um aumento significativo do peso dos órgãos, contribuindo para a hepatoesplenomegalia, lesão característica da doença. Na análise macroscópica do baço dos camundongos infectados, foi possível observar ainda diferença entre os grupos, na qual o grupo *Kit*^{W-sh/W-sh} demonstrou maiores proporções da média do peso em relação ao *Kit*^{+/+}. Este achado demonstra que as lesões hepáticas estimulam o aumento da pressão nos vasos sanguíneos, causando o acúmulo de sangue que sobrecarrega o baço, além das condições patológicas estimularem o sistema imunológico, causando uma resposta inflamatória intensa com a proliferação e ativação de células imunes no tecido e mostram como a presença de mastócitos é importante tanto para a homeostase esplênica, quanto para a modulação da resposta imune durante a infecção.

Nos achados parasitológicos, foi observada maior positividade na detecção de ovos de *S. mansoni* nas fezes dos camundongos do grupo *Kit*^{+/+}, tornando-se sugestível a existência de uma possível diferença no tempo de desenvolvimento do ciclo de vida do parasita relacionado à imunodeficiência dos mastócitos e indicando um importante papel dos mastócitos na modulação da resposta imunológica da esquistossomose.

Nas análises imunológicas, foram observadas maiores concentrações de distribuição dos mediadores imunes TGF- β , IL-10 e IL-33 no grupo *Kit*^{+/+}, durante o tempo de eutanásia de 70 dias, demonstrando uma possível relação dos mediadores imunes liberados pelos

mastócitos na infecção por *Schistosoma mansoni* com a modulação da resposta imune e inflamatória, considerando o início da fase de modulação que culmina na cronicidade da doença, outro aspecto possível de se considerar, está relacionado na possibilidade de interferir no ambiente inflamatório, induzindo a migração de determinados tipos celulares que possam ter seu perfil alterado ou fortalecido pela ação dos mastócitos. No grupo *Kit^{W-sh/W-sh}*, foi observado maiores concentrações de intensidade para IL-33, que é um importante mediador liberado durante danos teciduais, atuando como uma alarmina para o sistema imunológico durante a infecção e estimulando a ativação de novas células para o local, como os mastócitos, demonstrando que na ausência dos mastócitos, a estimulação da IL-33 aumenta para ativar o recrutamento de mais células no local da lesão. Também foram observadas maiores concentrações de VEGF e IL-4, marcadores da formação de novos vasos sanguíneos durante a inflamação e o reparo tecidual, contribuindo para a organização dos granulomas ao redor dos ovos do parasito e demonstrando estratégias que o organismo cria para compensar a ausência dos mastócitos.

Nos achados sorológicos, foram observadas maiores concentrações das quimiocinas (CCL11, CXC10, MIP-1 α e MCP-3) e citocina reguladora (IL-5) no grupo *Kit^{+/+}*, demonstrando a imunodeficiência global nos camundongos com ausência dos mastócitos, induzindo alteração ou atraso da resposta imune, ocasionando o comprometimento da defesa contra os patógenos devido a deficiência em mecanismos microbianos e prejudicando a capacidade do organismo em combater a infecção parasitária.

Por isso, esses achados sugerem um papel potencial dos mastócitos durante a patogênese da esquistossomose, demonstrando a importância dos mastócitos na resposta imune do hospedeiro contra o *S. mansoni* por reduzirem o dano tecidual da resposta inflamatória granulomatosa, além de contribuir para uma melhor compreensão da imunopatologia da esquistossomose, bem como a participação e atuação dos mastócitos nessa doença. Para produção desses resultados, apesar das limitações, foi reproduzido um modelo experimental murino e técnicas clássicas de análises morfológicas, macroscópicas, parasitológicas e sorológicas.

Em relação às limitações da pesquisa, a amostra tecidual para análise microscópica, o tempo de infecção e a quantidade de cercárias proposta para a infecção representaram possíveis vieses de seleção. Para a análise microscópica, foram utilizadas amostras teciduais parciais dos órgãos, escolhidas aleatoriamente, podendo influenciar na redução dos achados

histopatológicos característicos da esquistossomose mansoni. Ainda que todos os camundongos expostos a infecção apresentassem alterações características da doença, seja no âmbito parasitológico ou microscópico, alguns tecidos, especialmente o intestinal, não demonstraram alterações, podendo estar relacionado à região selecionada para a análise. Na proposta para o tempo de infecção, considerando-se o papel dos mastócitos na resposta inflamatória, o trabalho foi inicialmente estruturado para abordagem transversal comparativa entre o grupo com mastócitos e deficiente para mastócitos, estabelecendo marcos descritos no tempo de 45, 70 e 140 dias, períodos relativamente curtos para avaliação da progressão e evolução da doença no longo prazo. Quanto à eficácia da quantidade de cercárias em provocar infecção, foram verificados diferentes protocolos de contagem das cercárias e selecionado aquele com indicativo de maior experiência para modelo murino de esquistossomose e manuseio de cercárias. Outra limitação inerente ao modelo experimental, está relacionada as limitações existências dos modelos experimentais com imunodeficiência *c-kit* e à transposição dos resultados para humanos, a mesma ocorre porque, diferentemente das infecções humanas naturalmente adquiridas, as infecções no modelo murino são associadas a uma única exposição e a elevadas cargas parasitárias, que podem influenciar a intensidade e organização das respostas imunes (ABATH, *et. al.*, 2006; MICHEL, *et. al.*, 2013). Entretanto, mesmo diante dessas limitações, o modelo murino utilizado mimetizou a história natural da esquistossomose e permitiu avaliação adequada da resposta inflamatória, a partir da utilização de protocolos que determinassem um número satisfatório de cercárias, tanto para mimetizar a resposta imune quanto permitir um maior tempo de sobrevivência do modelo murino.

Na esquistossomose mansoni, o evento patogênico mais importante é a formação de granulomas, principalmente no fígado, órgão mais afetado pelas complicações da doença. O granuloma hepático é observado a partir da fase aguda da doença, após o início da oviposição do parasito, comprovando a realização do ciclo da esquistossomose mansoni no hospedeiro. A identificação da presença dos granulomas hepáticos, nos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, demonstra que a nossa pesquisa é um modelo de estudo promissor para a avaliação da participação dos mastócitos na esquistossomose mansoni, considerando que o granuloma hepático é uma característica central da resposta imune e que os mastócitos estão localizados nos tecidos, expressando FcεRI e participando da resposta dependente de IgE durante infecções parasitárias, podendo atuar em diferentes etapas do processo inflamatório, os

achados desta pesquisa demonstram lesões clássicas da esquistossomose mansoni, com padrões diferentes.

Na análise da resposta inflamatória, os camundongos deficientes para mastócitos demonstraram maiores intensidade de atividades inflamatória, indicando a importância da influência ou efeito regulatório dos mastócitos no recrutamento de novas células, a partir dos mediadores liberados para o recrutamento celular. Esse achado também foi observado no trabalho de Prendergast, Sanin e Mountford (2016), que analisou camundongos expostos a cercárias de *S. mansoni*, uma ou a quatro vezes, no qual, a ausência dos mastócitos levou a um aumento no número de células e a diminuição da IL-10 dérmica, demonstrando que os mastócitos têm um papel regulatório importante, promovendo a produção de IL-10 e ajudando a limitar a ativação imunológica nas exposições repetidas ao parasita. Adicionalmente, o trabalho de Reber e colaboradores (2017) mostraram que a produção de IL-10 pelos mastócitos pode limitar significativamente a inflamação e a patologia tecidual observadas em reações graves de hipersensibilidade de contato. Esses achados apoiam o entendimento de que os mastócitos regulam populações celulares com função de apresentação de antígenos, aonde na presença do mastócito a inflamação não é exuberante, devido à produção de interleucinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13.

Os camundongos deficientes em mastócitos demonstraram maior índice de alterações características de fibrose, em relação aos camundongos com mastócitos, no entanto, Brito e Borojevic (1997) discute o papel de mastócitos na persistência/intensidade da fibrose hepática em esquistossomose experimental, mostrando evidências da participação dos mastócitos na manutenção do processo fibrogênico, através da interação com células estreladas hepáticas, assim como, Malta e colaboradores (2021), mencionam a população de células presentes no granuloma esquistossomótico hepático, demonstrando os mastócitos com possíveis funções de indução e manutenção da fibrose. Entretanto, o trabalho de Galli e Tsai, (2008) propõe que os mastócitos desempenhem papéis importantes na defesa do hospedeiro, podendo influenciar significativamente em múltiplas características da resposta inflamatória ou imune, através de diversos mecanismos que podem promover ou suprir aspectos da inflamação, remodelação tecidual, defesa do hospedeiro e homeostase. A recente revisão de Wang e colaboradores (2024), destaca que os mastócitos têm um papel ambíguo na resposta imune, podendo tanto promover a fibrose quanto inibir, devido a liberação de muitos mediadores diferentes, alguns pró-fibróticos e outros antifibróticos, propondo a

realização de futuros estudos que auxiliem na investigação do papel dos mastócitos na fibrose, no qual, tais achados destacam a complexidade do papel dos mastócitos, diante da heterogeneidade da função.

A partir destes achados de importância clínica, incluindo as alterações na estrutura hepática e presença elevada da atividade inflamatória periportal e no parênquima dos camundongos deficientes para mastócitos, é possível evidenciar que a ausência desta célula agrava o processo inflamatório, levando a respostas inflamatórias mais intensas, prolongada ou desorganizadas, considerando que os mastócitos exercem funções fundamentais após detecção de um patógeno, como a produção de citocinas reguladoras, controle do recrutamento celular, reparo tecidual e a participação na eliminação de parasitas (ŻELECHOWSKA & GÓRALCZYK-BIŃKOWSKA, 2025; ORRICO-FERREIRA, *et al.* 2025).

Os achados macroscópicos hepáticos mostraram aumento do peso médio do fígado nos camundongos infectados, tanto no grupo *Kit*^{+/+} quanto no *Kit*^{W-sh/W-sh}, indicando que a infecção parasitária promove o aumento significativo do peso do fígado, devido a resposta inflamatória e o acúmulo celular. A análise macroscópica do baço revelou aumento do peso médio nos camundongos deficiente para mastócitos infectados, possivelmente refletindo a sobrecarga funcional do órgão em resposta ao comprometimento hepático, esse padrão também foi observado na análise microscópica, que mostrou maiores níveis de alterações estruturais esplênicas nos camundongos *Kit*^{W-sh/W-sh} infectados. Esses achados sugerem que os mastócitos não apenas participam da defesa contra parasitas, mas também modulam a resposta imunológica esplênica e a organização tecidual durante a infecção, considerando que sua ausência provoca alterações na composição celular e na homeostase do baço.

Corroborando esses resultados, a análise microscópica mostrou que camundongos deficiente para mastócitos não infectados apresentaram alterações parciais na estrutura esplênica, incluindo congestão e hiperplasia moderada, aos 45 dias pós infecção, indicando que na ausência de mastócitos e a mutação em *c-Kit* podem provocar alterações estruturais e funcionais no órgão devido ao comprometimento da estabilidade celular e compensações da imunidade esplênica. Adicionalmente, o trabalho de Michel e colaboradores (2013) destaca que as mutações no receptor *c-Kit* afetam de forma ampla processos fundamentais da mielopoiese, o que pode impactar significativamente a pesquisa envolvendo mastócitos, especialmente diante da expansão de células imaturas negativas para marcadores de

linhagem observada nesses modelos. Estes achados evidenciam a importância de mais estudos para melhor compreender a relação dos mastócitos no baço durante a resposta imunológica à infecção por *S. mansoni*.

Além das alterações observadas no peso médio dos órgãos macroscópico, durante o monitoramento clínico também foi possível verificar um aumento significativo do peso corporal médio nos camundongos deficientes para mastócitos infectados, tanto aos 45 quanto aos 140 dias pós-infecção. Os achados relacionados ao peso dos camundongos infectados indicam que a ausência de mastócitos afeta significativamente o sistema imunológico, evidenciando que sua presença exerce efeitos regulatórios e moduladores sobre a doença, mesmo em condições graves.

Considerando que, é bem descrito na literatura que camundongos infectados por *S. mansoni* podem apresentar aumento do peso corporal, observando que aos 45 dias pós-infecção, esse aumento está relacionado à oviposição dos vermes adultos, onde, os ovos que ficam retidos nos tecidos desencadeiam uma intensa resposta inflamatória, resultando no aumento do peso dos órgãos, fígado e baço, e consequentemente, do peso corporal do animal. Aos 140 dias, os camundongos apresentam infecção crônica, caracterizada pela evolução da inflamação para fibrose hepática e alterações crônicas no baço, refletindo os danos persistentes causados pelos ovos e pela resposta imunológica contínua. Nossos achados reforçam a importância dos mastócitos na modulação da resposta imunológica, sugerindo a necessidade de novos estudos para elucidar os mecanismos envolvidos.

Com base no percurso do ciclo da esquistossomose, foi possível observar alterações típicas das doenças nos camundongos deficientes para mastócitos infectados, essas alterações foram significativamente observadas nos pulmões, afetando a estrutura tecidual e a viabilidade dos ovos, sugerindo que os mastócitos participam das lesões pulmonares. O trabalho de Ali e colaboradores (2017), fundamenta essa sugestão, no qual demonstra a infiltração de células imunes alterada e aumentada na esquistossomose, tais como os mastócitos, sugerindo que essas células podem desempenhar um papel relevante na fisiopatologia da doença, contribuindo para o remodelamento vascular pulmonar observado durante a infecção. Além disso, os autores indicam que essas células podem representar potenciais alvos terapêuticos para o controle da inflamação, reforçando a importância de analisar a contribuição das populações celulares, como os mastócitos, na resposta imune à esquistossomose.

Os mastócitos atuam como sentinelas nos tecidos de barreira, liberando mediadores inflamatórios que recrutam eosinófilos, neutrófilos e outras células efectoras, além de modular a formação de granulomas ao redor dos ovos, facilitando sua eliminação e limitando a inflamação local. Na ausência dos mastócitos, esses mecanismos tornam-se desorganizados, o recrutamento celular é menos eficiente, o microambiente inflamatório perde coordenação e o remodelamento tecidual ocorre de maneira disfuncional, como consequência, os ovos podem permanecer viáveis por mais tempo, além da contribuição para as alterações estruturais pulmonares, conforme observado no nosso modelo de estudo. Embora o papel dos mastócitos nas alterações pulmonares características da esquistossomose não esteja descrito de forma direta na literatura, sua atuação no controle da inflamação, na modulação da permeabilidade vascular e na organização dos granulomas permite sugerir que essas células desempenham um papel relevante nesse contexto. O artigo de revisão de Weatherhead e colaboradores (2020), discute como infecções por helmintos afetam o sistema imunológico pulmonar, evidenciando uma resposta complexa que envolve componentes da imunidade inata e adaptativa, com predomínio da resposta Th2, sendo caracterizado com o aumento na produção de citocinas, ativação e recrutamento de várias células efectoras, como os mastócitos. Esses achados, reforçam que uma melhor compreensão da interação helminto-hospedeiro nas respostas pulmonares, são essenciais para o desenvolvimento de novas intervenções terapêuticas, considerando que, a existência de estudos que abordem o papel dos mastócitos em lesões pulmonares induzidas por *S. mansoni* ainda são pouco explorados.

Na análise dos segmentos intestinais, foram observadas maiores alterações no grupo *Kit*^{+/+}, sendo possível observar uma diferença significativa na quantificação dos granulomas presentes no intestino delgado, comparado com o grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, esses achados demonstram que a formação do granuloma depende fortemente de uma resposta imune competente, considerando que a extrusão dos ovos para o lúmen intestinal é um processo fortemente dependente da resposta imune do hospedeiro. Baseado no que a literatura demonstra, a formação do granuloma promove o remodelamento tecidual, no qual, a degradação controlada da matriz extracelular e o estabelecimento de um microambiente inflamatório facilita a migração do ovo através da mucosa, demonstrando que nos camundongos imunodeficientes ocorre o comprometimento dessa resposta inflamatória, viabilizando a redução granulomatosa que resulta em menor extrusão para o lúmen intestinal,

impactando diretamente na eliminação fecal dos ovos de *S. mansoni* e a detecção parasitológica nas fezes. Os achados parasitológicos obtidos corroboram essa fundamentação teórica, no qual, observamos que os camundongos do grupo *Kit^{+/+}* apresentaram maior eliminação fecal de ovos de *S. mansoni* em comparação ao grupo deficiente para mastócitos.

A pesquisa de Kermanizadeh, Hagan e Crompton (2001), fundamenta a importância dos mastócitos a partir dos achados observados no tecido intestinal de camundongos infectados por *S. mansoni*, onde realizaram a identificação de dois tipos de mastócitos, mastócitos da mucosa (MCM) e mastócitos do tecido conjuntivo (MCTC). Os autores observaram um aumento de mastócitos na área infectada, principalmente na porção do intestino delgado, verificando que o número de MCM aumentou inicialmente e posteriormente diminuiu ao longo da infecção, enquanto o número de MCTC permaneceu estável conforme a progressão da infecção/doença. Estes achados o levaram à considerar que os mastócitos podem participar da resposta imune ao induzir inflamação local e o recrutamento celular, o reconhecendo como um importante mecanismo de defesa do hospedeiro contra parasitas. Embora a natureza exata das interações entre mastócitos e parasitas não fosse completamente determinada, a relação temporal entre a maturação do *S. mansoni* e a deposição de ovos fornece suporte para tais considerações e novas pesquisas. A pesquisa de Reitz e colaboradores (2017), observou que no momento da carga parasitária máxima, os camundongos com deficiência de mastócitos apresentaram um número significativamente maior de parasitas adultos no intestino, evidenciando que os mastócitos contribuem para a imunidade intestinal contra *Strongyloides ratti*, exercendo um papel protetor e imunomodulador em infecções helmínticas.

Os resultados da análise microscópica do intestino delgado, juntamente com os achados parasitológicos das fezes, demonstram diferenças na resposta imune dos camundongos com mastócitos, no qual, esses achados indicam um papel potencial dos mastócitos na patogênese da esquistossomose, influenciando na resposta granulomatosa e no desenvolvimento do ciclo de vida do parasito, a partir da eliminação de ovos nas fezes, levantando a hipótese de que o verme necessita desenvolver estratégias para garantir a continuidade do ciclo biológico, favorecendo a eliminação dos ovos nas fezes, tornando perspectivas para novos estudos e compreensões.

No estudo de Davies e colaboradores (2001), foi observada uma via alternativa de desenvolvimento no ciclo de vida do patógeno de *S. mansoni*, no qual, é utilizada para o desenvolvimento parasitário em hospedeiros imunodeficientes. Essa via permite o desenvolvimento alternativo da resposta imunológica, possibilitando ao patógeno ajustar sua progressão e modular a resposta imunológica do hospedeiro de acordo com diferentes condições, sendo também observado no estudo que animais imunodeficientes de linfócitos TCD4 teve a redução na produção de ovos nas fezes. Tais resultados corroboram com o nosso estudo, que observou maior detecção de ovos de *S. mansoni* nas fezes dos camundongos do grupo *Kit*^{+/+}, permitindo a hipótese de que uma via alternativa de desenvolvimento do parasita seja utilizada para a manutenção do ciclo nos camundongos deficiente de mastócitos, a partir da redução da oviposição.

Nas análises imuno-histoquímicas, foi possível observar que os mediadores imunes TGF- β , IL10 e IL33 apresentaram maior distribuição no grupo *Kit*^{+/+}, onde a literatura indica que esses mediadores desempenham funções complementares na modulação da resposta imune durante a esquistossomose mansoni, atuando conjuntamente na regulação da inflamação e na progressão das lesões teciduais. Embora os mastócitos não sejam a principal fonte desses mediadores imunes, é possível considerar uma relação indireta, uma vez que participam do microambiente inflamatório que influencia tanto a expressão quanto a ação dessas moléculas.

Já a caracterização imuno-histoquímica demonstro no grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, maiores intensidades de IL-33, uma importante alarmina encontrada durante a infecção, capaz de estimular o recrutamento e a ativação de diversas células imunológicas, incluindo mastócitos. Esses achados sugerem que, na ausência dos mastócitos, haja maior estímulo ou acúmulo desse mediador, contribuindo para o aumento do recrutamento de células imunes no local da lesão. Na revisão de Saluja e colaboradores (2015), os autores destacam que a IL-33 atua como um regulador essencial da função dos mastócitos, promovendo sua ativação, sobrevivência e proliferação, estimulando a produção de mediadores inflamatórios, onde os mastócitos, por sua vez, processam a IL-33 através da liberação de proteases, potencializando e amplificando a resposta inflamatória. Esse achado também foi observado no estudo de Hsu, Neilsen e Bryce (2010), demonstrando que os mastócitos produzem IL-33 após ativação mediada por IgE na inflamação.

Outro achado importante, foi relacionado aos mediadores imunes VEGF e IL-4, que apresentaram maior distribuição nos camundongos deficiente para mastócitos, podendo considerar que esse aumento pode estar relacionado a mecanismos compensatórios desencadeados pela ausência de mastócitos, considerando que outras células do microambiente inflamatório podem intensificar sua atividade, levando a maior estímulo inflamatório e ao recrutamento ampliado de células capazes de produzir esses mediadores. Entretanto, essa hipótese ainda precisa ser fundamentada com mais estudos, considerando a inexistência de estudos que correlacione diretamente a ausência de mastócitos com o aumento de tais mediadores imunes na esquistossomose mansoni.

Nos achados sorológicos, os camundongos do grupo *Kit*^{+/+} apresentaram maiores concentrações de citocinas e quimiocinas durante a infecção por *S. mansoni*, isso se justifica devido ser um modelo imunocompetente, com todas as vias celulares e humorais funcionais, permitindo uma resposta imunológica robusta, com maior liberação de mediadores inflamatórios e regulatórios a partir do estímulo provocado pelos ovos do parasito, como consequência, produz níveis mais elevados desses mediadores, resultando em maiores concentrações séricas durante a análise, conforme observamos. Em contrapartida, nos camundongos deficiente para mastócitos foi evidenciado uma imunodeficiência global, podendo considerar que em camundongos imunodeficientes, a resposta imune tende a ser reduzida ou desorganizada, caracterizando-se por menor ativação celular, formação limitada de granulomas, diminuição na produção de citocinas regulatórias e inflamatórias e um microambiente menos responsivo aos ovos, o que resulta em concentrações séricas mais baixas dos mediadores imunes, devido menos mediadores imunes chegarem à circulação sistêmica, conforme podemos fundamentar tais observações através dos achados observados no desenvolvimento do nosso estudo.

A execução do estudo foi de fundamental importância para demonstrar a existência da participação dos mastócitos na resposta imunológica induzida pelo *S. mansoni*, proporcionando, dessa maneira, uma colaboração ímpar sobre a atuação dos mastócitos nessa resposta, na busca de preencher a lacuna do conhecimento existente na compreensão dos processos de atuação e alteração realizados por esse tipo celular, configurando nosso estudo como o pioneiro no entendimento desse papel.

Ademais, a escolha desse tipo celular enriquece os estudos já existentes sobre a relação entre os componentes imunológicos ativados na presença de helmintos e os mecanismos pelos

quais os mastócitos reconhecem estímulos e são ativados para desempenhar suas funções frente ao parasito. Essa pesquisa contribui para impulsionar e orientar novos estudos voltados a aprofundar a compreensão da participação dos mastócitos, ajudando a preencher a lacuna de conhecimento existente na esquistossomose mansoni em relação a maneira pelas quais a resposta imune influencia a evolução da doença.

8 Considerações Finais

Na esquistossomose mansoni, a resposta imune é um dos principais determinantes da manifestação clínica da doença. Nossos resultados fortalecem esse entendimento e permitem concluir que os mastócitos participam da imunopatologia da esquistossomose mansoni porque, na presença dos mastócitos, os danos teciduais decorrentes da infecção pelo *Schistosoma mansoni* são menos intensos e substancialmente menores.

Esses achados sugerem a necessidade de novos estudos voltados à compreensão dos mecanismos envolvidos na participação dos mastócitos na resposta inflamatória da esquistossomose, reforçando a importância de investigar de forma aprofundada a atuação dessas células para preencher as lacunas ainda existentes no conhecimento sobre a imunopatologia da esquistossomose mansoni.

9 Referências Bibliográficas

ABATH F. G., MORAIS CN, MONTENEGRO CE, WYNN TA, MONTENEGRO SM. **Immunopathogenic mechanisms in schistosomiasis: what can be learnt from human studies?** Trends Parasitol. 2006 Feb;22(2):85-91. doi: 10.1016/j.pt.2005.12.004.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. GEN Guanabara Koogan 10º ed. Rio de Janeiro, 2023.

ABDUL-GHANI RA., HASSAN AA. **Murine schistosomiasis a model for human schistosomiasis mansoni: similarities and discrepancies**. Parasitol Res. Jun;107(1):1-8. 2010. doi: 10.1007/s00436-010-1855-5.

ABRAHAM, SN; JOHN, AL. **Mast cell-orchestrated immunity to pathogens**. Nature Reviews Immunology, London, v. 10, p. 440–452, 2010. DOI: 10.1038/nri2782.

ALI Z, KOSANOVIC D, KOLOSIONEK E, SCHERMULY RT, GRAHAM BB, MATHIE A, BUTROUS G. **Enhanced inflammatory cell profiles in schistosomiasis-induced pulmonary vascular remodeling**. Pulmonary Circulation 2017 Apr 4;7(1):244-252. doi: 10.1086/690687.

ALIBRAHIM AOE, ELKHOLY WA, EL-DERBAWY MM, ZAHRAN NF, ALEXIOU A, PAPADAKIS M, BATIHA GE. **Schistosomiasis Chemotherapy, Chemoprevention, and Vaccines: History, Progress, and Priorities**. Immun Inflamm Dis. 2024 Nov;12(11):e70054. doi: 10.1002/iid3.70054.

AMARAL KB, SILVA TP, DIAS FF, MALTA KK, ROSA FM, COSTA-NETO SF, GENTILE R, MELO RCN. **Histological assessment of granulomas in natural and experimental *Schistosoma mansoni* infections using whole slide imaging**. PLoS One. 2017 Sep 13;12(9):e0184696. doi: 10.1371/journal.pone.0184696.

ANDRADE Z. A., ANDRADE S. G., **Patologia do baço na esquistossomose hepatoesplênica**. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 7 (4):218-227, julho-agosto, 1965.

ANDRADE, Z. A. **Patologia da Esquistossomose Humana** In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

ATTA, A. M.; MAGALHÃES, L. A.; ALCÂNTRA, F.G.; PAREJA, G. **Esquistossomose mansônica. I - Evolução do quadro patológico: análise parasitológica, hematológica e histopatológica.** Revista Saúde Pública, v.15, p. 72-92, São Paulo, 1981.

BARBOSA CS, GOMES ECS, OLIVEIRA ECA (Org.) **Manual prático para o diagnóstico e controle da esquistossomose.** Instituto Aggeu Magalhães, 4. ed. Recife, 2024.

BARBOSA, C.S.; FAVRE, T. C.; AMARAL, R. S., PIERI, O. S. **Epidemiologia e Controle da Esquistossomose mansonii** In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Doenças Transmissíveis. **Vigilância da esquistossomose mansonii: diretrizes técnicas** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Departamento de Doenças Transmissíveis. Ministério da Saúde, Brasília, 2024.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde: volume único** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3ª. ed. Editora do Ministério da Saúde. Brasília, 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica. Diretrizes Técnicas: Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE)** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica – 2ª. ed. - Editora do Ministério da Saúde. Brasília, 2008.

BRASILEIRO FILHO G. **Bogliolo Patologia.** 10. ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2021.

BRITO JM, BOROJEVIC R. **Liver granulomas in schistosomiasis: mast cell-dependent induction of SCF expression in hepatic stellate cells is mediated by TNF-alpha.** J Leukoc Biol. Sep;62(3):389-96.1997 doi: 10.1002/jlb.62.3.389.

BURKE ML.; JONES MK; GOBERT GN; LI YS; ELLIS MK; McMANUS DP. **Immunopathogenesis of human schistosomiasis.** Parasite Immunology, v. 31, p. 163-176, 2009.

BUTTERWORTH, AE. **Human Immunity to Schistosomes: Some Questions.** Parasitology Jodoy, v. 10, nº. 10, p. 378 - 380, 1994.

CAPRON, A.; DESSAINT, J. P. **Effector and Regulatory Mechanisms in Immunity to Schistosomes: A Heuristic View.** Annual Review of Immunology, v.3, nº. 1, p. 455 - 476.1985.

CARVALHO, A. T., FILHO, O.A. M., OLIVEIRA, R. C. **A Resposta Imune na forma Aguda da Esquistossomose mansoni** In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

CDC, Centers for Disease Control and Prevention, 2019. Biology. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/schistosomiasis/biology.html> Acesso em: 02 de Março de 2021.

CHEEVER, A. W. LENZI, J. A.; LENZI, H. L. ANDRADE, Z. A. **Experimental Models of Schistosoma mansoni Infection.** Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 97, nº7, p. 917-940, Rio de Janeiro, 2002.

CHEEVER, A. W.; DUVALL, R. H.; HALLACK, T. A. J. R.; MINKER, R. G.; MALLEY, J. D.; MALLEY, K. G. Variation of hepatic fibrosis and granuloma size among mouse strains infected with *Schistosoma mansoni*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, vol. 37, n. 1, p. 85-97, 1987.

COELHO, P. M. Z.; ANDRADE, Z. de A.; BORGES, C. M. da C; RIBEIRO, F.; BARBOSA, L. **Evolução de Schistosoma mansoni no hospedeiro intermediário.** In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

COELHO, P. M. Z.; ANDRADE, Z. de A.; BORGES, C. M. da C; RIBEIRO, F.; BARBOSA, L. **Evolução de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro intermediário**. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

COLLEY DG, BUSTINDUY AL, SECOR WE, KING CH. **Human schistosomiasis**. Lancet. Jun 28;383(9936):2253-64. 2014. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61949-2.

CORRÊA-OLIVEIRA R, MALAQUIAS LC, FALCÃO PL, VIANA IR, BAHIA-OLIVEIRA LM, SILVEIRA AM, FRAGA LA, PRATA A, COFFMAN RL, LAMBERTUCCI JR, CUNHA-MELO JR, MARTINS-FILHO OA, WILSON RA, GAZZINELLI G. **Cytokines as determinants of resistance and pathology in human *Schistosoma mansoni* infection**. Braz J Med Biol Res. Jan;31(1):171-7. 1998. doi: 10.1590/s0100-879x1998000100024.

COSTANZA, M.; COLOMBO, M. P.; PEDOTTI, R. **Mast cells in the Pathogenesis of Experimental Multiple Sclerosis**. School of Medicine and Faculty of Science. Program in Translational and Molecular Medicine, 2011.

COUTINHO A & DOMINGUES ALC. **Esquistossomose mansônica**. In: DANI R, CASTRO LP eds. Gastroenterologia clínica. 3ª ed.. Rio de Janeiro: Guanabara, v.2, cap. 108, p.1697-1728. 1993.

CRUZ, J. I.; SALAZAR, G. de O.; CORTE, R. L. **Retrocesso do Programa de Controle da Esquistossomose no estado de maior prevalência da doença no Brasil**. Rev Pan Amaz Saúde, v. 11, 2020.

DAHLIN JS, HALLGREN J. **Mast cell progenitors: origin, development and migration to tissues**. Mol Immunol. Jan;63(1):9-17. 2015. doi: 10.1016/j.molimm.2014.01.018.

DAVIES, S. J.; GROGAN, J. L.; BLANK, R. B.; LIM, K.C.; LOCKSLEY, R. M.; MCKEROW, J. H. **Modulation of Blood Fluke Development in the Liver by Hepatic CD41 Lymphocytes**. SCIENCE, v. 294, 2001.

EL-AGAMY DS. **Targeting c-kit in the therapy of mast cell disorders: current update**. Eur J Pharmacol. Sep 5;690(1-3):1-3. 2012. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.06.030.

FEYERABEND TB, WEISER A, TIETZ A, STASSEN M, HARRIS N, KOPF M, RADERMACHER P, MÖLLER P, BENOIST C, MATHIS D, FEHLING HJ, RODEWALD HR. **Cre-mediated cell ablation contests mast cell contribution in models of antibody- and T cell-mediated autoimmunity.** Immunity. Nov 23;35(5):832-44. 2011. doi: 10.1016/j.immuni.2011.09.015.

FILHO, B. G. C.; ANDRADE, C. C. Q. de. **O pâncreas na forma hepato esplênica da esquistossomose mansonica.** Rev. Pat. Trop. (2): 3, 295-300, 1973.

GALLI SJ, NAKAE S, TSAI M. **Mast cells in the development of adaptive immune responses.** Nat Immunol. Feb;6(2):135-42. 2005. doi: 10.1038/ni1158.

GALLI SJ, TSAI M. **Mast cells: versatile regulators of inflammation, tissue remodeling, host defense and homeostasis.** J Dermatol Sci. Jan;49(1):7-19. 2008. doi: 10.1016/j.jdermsci.2007.09.009.

GALLI, S. J.; GAUDENZIO, N.; TSAI, M. **Mast Cells in Inflammation and Disease: Recent progress and Ongoing Concerns.** Annual Review of Immunology. v. 38, p. 49-77, Califórnia, USA. 2020.

GALLI, S. J.; KALASNIKOFF, J.; GRIMBALDESTON, M. A.; PILIPONSKY, A. M.; WILLIAMS, C. M. M.; TSAI, M. **Mast cells as “tunable” effector and immunoregulatory cells: recent advances.** Nature Reviews Immunology, London, v. 5, n. 10, p. 749-759, 2005. DOI: [10.1146/annurev.immunol.21.120601.141025](https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141025)

GALLI, S. J.; METZ, M.; STARK, P.; MARICHAL, T.; TSAI, M. **Mast cells and IgE in defense against lethality of venoms: Possible “benefit” of allergy[1].** Allergo J Int.; v. 29, nº 2, p. 46 - 62, 2020.

GALLI, S. J.; TSAI, M. *IgE and mast cells in allergic disease.* **Nature Medicine**, London, v. 18, n. 5, p. 693–704, May 2012. DOI: 10.1038/nm.2755.

GALVÁN-MORALES MÁ, VIZUET-DE-RUEDA JC, MONTERO-VARGAS JM, TERAN LM. **ROLE of Mast Cells in Human Health and Disease: Controversies and Novel Therapies.** Int J Mol Sci. Sep 12;26(18):8895. 2025. doi: 10.3390/ijms26188895.

GAUDENZIO N, SIBILANO R, MARICHAL T, STARKL P, REBER LL, CENAC N, MCNEIL BD, DONG X, HERNANDEZ JD, SAGI-EISENBERG R, HAMMEL I, ROERS

A, VALITUTTI S, TSAI M, ESPINOSA E, GALLI SJ. **Different activation signals induce distinct mast cell degranulation strategies.** J Clin Invest. Oct 3;126(10):3981-3998. 2016. doi: 10.1172/JCI85538.

GIESECK RL 3RD, WILSON MS, WYNN TA. **Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis.** Nat Rev Immunol. Jan;18(1):62-76. 2018. doi: 10.1038/nri.2017.90.

GOMES, ECS; DOMINGUES, ALC; BARBOSA, CS. **Esquistossomose: manejo clínico e epidemiológico na atenção básica.** Fiocruz Pernambuco - Recife, 2017.

GRIMBALDESTON, M. A; CHEN, C. C.; PILIPONSKY, A. M.; TSAI, M.; TAM, S. Y.; GALLI, S. J. **Mast Cell-Deficient *W-sash c-kit* Mutant *KitW-sh/W-sh* Mice as a Model for Investigating Mast Cell Biology *in vivo*.** American Journal of Pathology, American Society for Investigative Pathology, v. 167, nº 3, September, 2005.

HIATT, R. A.; SOTOMAYOR, Z. R.; SANCHEZ, G.; ZAMBRANA, M.; KNIGHT, W. B. **Factors in the Pathogenesis of Acute *Schistosomiasis Mansoni*.** Journal of Infectious Diseases, v. 139, nº 6, p. 659 - 666, 1979.

HSU CL, NEILSEN CV, BRYCE PJ. **IL-33 is produced by mast cells and regulates IgE-dependent inflammation.** PLoS One. 3;5(8):e11944. Agosto, 2010. doi: 10.1371/journal.pone.0011944.

KALESNIKOFF, Janet; GALLI, Stephen J. *New developments in mast cell biology.* **Nature Immunology**, London, v. 9, n. 11, p. 1215–1223, Nov. 2008. DOI: 10.1038/ni.f.216

KATSANOS, G.S.; ANOGEIANAKI, U. M.; ORSO, C.; TETÈ, S.; SALINI, V.; ANTINOLFI, P. L.; SABATINO, G. **Mast cells and chemokines.** Journal of Biological Regulation and Homeostatic Agents, v. 22, nº 3, p. 145-151, julho-setembro, 2008.

KATZ, N. & ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. *Ciência e Cultura*, vol.55, n.1, p. 38-43, 2003.

KATZ, N. **Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintos.** Série Esquistossomose - 17, Editora Fiocruz. 22. ed, Belo Horizonte, 2018.

KERMANIZADEH P, HAGAN P, CROMPTON D. **Mast Cells Kinetics during Experimental *Schistosomiasis mansonii* in Mice.** Iranian Biomedical Journal 5 (1): 11-14. January, 2001.

LENZI, H. L., JURBERG, A. D., COELHO, P. M. Z., LENZI, J. A. **Migração e Desenvolvimento de *Schistosoma mansonii* no Hospedeiro Definitivo** In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansonii* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

LENZI, H. L., ROMANHA, W. S., MACHADO, M. P., MOTA, E. M., LENZI, J. A. **Patologia Experimental em enfoque no Granuloma Esquistossomótico** In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansonii* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008 B.

LENZI, H. L.; KIMMEL, E.; SCHECHTMAN, H.; MACHADO, M. P.; ROMANHA, W. S.; PACHECO, R. G.; MARIANO, M.; LENZI, J. A. **Histoarchitecture of Schistosomal Granuloma Development and Involution: Morphogenetic and Biomechanical Approaches.** Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 93, p. 141-151, Rio de Janeiro, 1998.

LI J, LIU H, JIANG J, SHE X, NIU Y, MING Y. **The Potential Role of Schistosome-Associated Factors as Therapeutic Modulators of the Immune System.** Infect Immun. Jul 21;88(8):e00754-19. 2020. doi: 10.1128/IAI.00754-19.

LoVERDE PT. **Schistosomiasis.** Adv Exp Med Biol. 1154:45-70. 2019 doi: 10.1007/978-3-030-18616-6_3.

MALTA KK, PALAZZI C, NEVES VH, AGUIAR Y, SILVA TP, MELO RCN. **Schistosomiasis Mansonii-Recruited Eosinophils: An Overview in the Granuloma Context.** Microorganisms. Oct 13;10(10):2022. doi: 10.3390/microorganisms10102022.

MALTA KK, SILVA TP, PALAZZI C, NEVES VH, CARMO LAS, CARDOSO SJ, MELO RCN. **Changing our view of the *Schistosoma* granuloma to an ecological standpoint.** Biol Rev Camb Philos Soc. Aug;96(4): 2021.1404-1420. doi: 10.1111/brv.12708.

MARSHALL, J. S. *Mast-cell responses to pathogens.* Nature Reviews Immunology, London, v. 4, n. 10, p. 787–799, Out. 2004. DOI: 10.1038/nri1460.

McLEOD JJ, BAKER B, RYAN JJ. **Mast cell production and response to IL-4 and IL-13.** Cytokine. Sep;75(1):57-61. 2015. doi: 10.1016/j.cyto.2015.05.019.

McMANUS DP, BERGQUIST R, CAI P, RANASINGHE S, TEBEJE BM, YOU H. **Schistosomiasis-from immunopathology to vaccines.** Semin Immunopathol. Jun;42(3):355-371. 2020. doi: 10.1007/s00281-020-00789

McMANUS, D. P.; DUNNE, D. W.; SACKO, M.; UTZINGER, J.; VENNERVALD, B. J.; ZHOU, X- N. **Schistosomiasis.** Nature Reviews Disease Primers. v.4, nº.13, p.1-19. Queensland, Austrália, 2018.

METZ, M., GRIMBALDESTON, M. A; NAKAE, S., PILIPONSKY, A. M., TSAI, M., GALLI, S.J. **Mast cells in the promotion and limitation of chronic inflammation.** Immunological Reviews. v. 217, p. 304-328, 2007.

MICHEL A, SCHÜLER A, FRIEDRICH P, DÖNER F, BOPP T, RADSACK M, HOFFMANN M, RELLE M, DISTLER U, KUHAREV J, TENZER S, FEYERABEND TB, RODEWALD HR, SCHILD H, SCHMITT E, BECKER M, STASSEN M. **Mast cell-deficient *Kit*^{W-sh} "Sash" mutant mice display aberrant myelopoiesis leading to the accumulation of splenocytes that act as myeloid-derived suppressor cells.** J Immunol. Jun 1;190(11):5534-44. 2013. doi: 10.4049/jimmunol.1203355.

MILLER P, WILSON RA. **Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from skin to lungs.** Parasitology, Cambridge, 77(3): 281-302. 1978.

MILLER P, WILSON RA. **Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from lungs to the hepatic portal system.** Parasitology, Cambridge, 80(2): 267-288. 1980.

MIRANDA, V. H. S. **Avaliação do efeito das células-tronco mesenquimais na terapêutica da Esquistossomose mansoni experimental.** Dissertação (Mestrado) - Centro de Pesquisa René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte, 2016.

MUKAI K.; TSAI M; SAITO H; GALLI SJ. **Mast cells as sources of cytokines, chemokines and growth factors.** Rev. Immunol, v. 282, nº 1, p. 121 - 150. March, 2018.

MUKAI, K.; TSAI, M.; STARKL, P.; MARICHAL, T.; GALLI, S. J. **IgE and mast cells in host defense against parasites and venoms.** Semin Immunopathol, v. 38, nº5, p. 581-603, September, 2016.

NATION CS, DA'DARA AA, MARCHANT JK, SKELLY PJ. **Schistosome migration in the definitive host.** PLoS Negl Trop Dis. Apr 2;14(4):e0007951. 2020. doi: 10.1371/journal.pntd.0007951.

NEVES J, PEDROSO E.R. P., SOUZA, D. W. C., GREGO, D., ROCHA, M. O. C., RASO, P. **Esquistossomose Pulmonar. II. Forma crônica reativada com hipertensão e cor pulmonale*.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v. XIII, nº 1 a 6, 1978.

NEVES J. **Esquistossomose mansoni: Clínica da Forma Aguda ou Toxêmica.** Ed. Médica e Científica Ltda, Rio de Janeiro, RJ. 1986.

NIEMANN T, HP M, DUHNSEN SH, BONGARTZ G. **Pulmonary schistosomiasis - imaging features.** J Radiol Case Rep. 4(9):37-43. 2010. doi: 10.3941/jrcr.v4i9.482.

NOYA O; KATZ N; POINTIER JP; THERON A; NOYA BA. **Schistosomiasis in America.** Neglected Tropical Diseases: Latin America and the Caribbean, 2015.

ORRICO-FERREIRA, C. M.; CRUZ, P. E. O.; RIOS, J. V. B.; ROSA, W. S.; SANTOS, B. S.; SILVA, R. C.; PINHEIRO, C. S.; FIGUEIREDO, B. C.-P. **Getting into host's skin: initial immune response to *Schistosoma mansoni* infection.** Frontiers in Immunology, v. 16, p. 1661465, 2025. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1661465.

PAPAMATHEAKIS DG, MOCUMBI AO, KIM NH, MANDEL J. **Schistosomiasis-associated pulmonary hypertension.** Pulm Circ. Dec;4(4):596-611. 2014. doi: 10.1086/678507.

PEARCE, E. J.; MacDONALD, A. S. **The immunobiology of schistosomiasis.** Nature Reviews Immunology, London, v. 2, n. 7, p. 499–511, Jul. 2002. DOI: 10.1038/nri843

PRENDERGAST CT, SANIN DE, MOUNTFORD AP. **CD4 T-cell hyporesponsiveness induced by schistosome larvae is not dependent upon eosinophils but may involve connective tissue mast cells.** Parasite Immunol. Feb;38(2):81-92. 2016. doi: 10.1111/pim.12300.

RASO, P., FILHO, J. de S. A. **Esquistossomose mansoni: formas hepatoesplênica, cardiovascular e miliar crônica associadas.** Rev Med Minas Gerais; 24(3): p. 404-408, 2014.

REBER, L. L.; MARICHAL, T.; GALLI, S. J. **New models for analyzing mast cell functions *in vivo***. Trends Immunol. v.33, nº 12, p. 613 - 625. Stanford, USA, 2012.

REBER, L. L.; SIBILANO, R.; STARKL P.; ROERS, A; GRIMBALDESTON, M. A.; TSAI, M.; GAUDENZIO, N.; GALLI, S. J. **Imaging protective mast cells in living mice during severe contact hypersensitivity**. Research Article, JCI Insight, v. 2, nº 9, 2017.

RECH, R. R; GRAÇA, D. L. **Mastócitos em condições normais e patológicas — Revisão**. Vet. Not., v. 12, nº 1, p. 51-60, jan.-jun. Uberlândia, 2006.

REITZ M, BRUNN ML, RODEWALD HR, FEYERABEND TB, ROERS A, DUDECK A, VOEHRINGER D, JÖNSSON F, KÜHL AA, BRELOER M. **Mucosal mast cells are indispensable for the timely termination of *Strongyloides ratti* infection**. Mucosal Immunol. Mar;10(2):481-492. 2017. doi: 10.1038/mi.2016.56.

SALUJA R, KHAN M, CHURCH MK, MAURER M. **The role of IL-33 and mast cells in allergy and inflammation**. Clin Transl Allergy. Sep 29;5:33. 2015. doi: 10.1186/s13601-015-0076-5.

SANTOS, P. P. A.; FREITAS, V. S.; FREITAS, R. A.; PINTO, L. P.; SOUZA, L. B. **Relação entre Mastócitos e Células T na Inflamação**. Artigo de Revisão Odontol. Clín.-Cient., v. 9, nº.3, p. 215-217, jul./set., Recife, 2010.

SILVA, A., SANTANA, L. B., JESUS, A. R. **A Resposta Imune na Forma Aguda da Esquistossomose mansonii** In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansonii* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

SILVA, J. R. M., NEVES, R. H., GOMES, D. C. **Filogenia, Co-Evolução, Aspectos Morfológicos e Biológicos das Diferentes Fases de Desenvolvimento do *Schistosoma mansonii*** In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs). *Schistosoma mansonii* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

SOLIMANDO AG, DESANTIS V, RIBATTI D. **Mast Cells and Interleukins**. Int J Mol Sci. Nov 13;23(22):14004. 2022. doi: 10.3390/ijms232214004

SOUZA, C. P. *Schistosoma mansoni*: aspectos quantitativos da interação hospedeiro-parasito e desenvolvimento em *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria straminea*. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais; 1993.

SOUZA, F. P. C.; VITORINO, R. R.; COSTA, A. P.; JUNIOR, F. C. F.; SANTANA, L. A.; GOMES, A. P. **Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural**. Rev. Bras. Clin. Med. v. 9, nº. 4, p. 300 - 307, jul./ago. São Paulo, 2011.

SYMMERS, W. S. C. **Note on a new form of liver cirrhosis due to the presence of ova of Bilharzia haematobia**. Journal of Pathology and Bacteriology, v. 9, p. 237-239, 1904.

TSAI M, VALENT P, GALLI SJ. **KIT as a master regulator of the mast cell lineage**. J Allergy Clin Immunol. Jun;149(6):1845-1854. 2022. doi: 10.1016/j.jaci.2022.04.012.

URB M, SHEPPARD DC. **The role of mast cells in the defence against pathogens**. PLoS Pathog. 8(4):e1002619. 2012. doi: 10.1371/journal.ppat.1002619.

WANG X, ZHANG P, TANG Y, CHEN Y, ZHOU E, GAO K. **Mast cells: a double-edged sword in inflammation and fibrosis**. Front Cell Dev Biol. Sep 17;12:1466491. 2024. doi: 10.3389/fcell.2024.1466491.

WEATHERHEAD JE, GAZZINELLI-GUIMARAES P, KNIGHT JM, FUJIWARA R, HOTEZ PJ, BOTTAZZI ME, CORRY DB. **Host Immunity and Inflammation to Pulmonary Helminth Infections**. Front Immunol. Oct 20;11:594520. 2020. doi: 10.3389/fimmu.2020.594520.

WEISKIRCHEN R, MEURER SK, LIEDTKE C, HUBER M. **Mast Cells in Liver Fibrogenesis**. Cells. Nov 13;8(11):1429. 2019. doi: 10.3390/cells8111429.

WERNERSSON S, PEJLER G. **Mast cell secretory granules: armed for battle**. Nat Rev Immunol. Jul;14(7):478-94. 2014. doi: 10.1038/nri3690.

WILGUS TA, UD-DIN S, BAYAT A. **A Review of the Evidence for and against a Role for Mast Cells in Cutaneous Scarring and Fibrosis**. Int J Mol Sci. Dec 18;21(24):9673. 2020. doi: 10.3390/ijms21249673.

WILGUS TA, WULFF BC. **The Importance of Mast Cells in Dermal Scarring.** Adv Wound Care (New Rochelle). Apr 1;3(4):356-365. 2014. doi: 10.1089/wound.2013.0457.

WORRALL WPM, REBER LL. **Current and future therapeutics targeting mast cells in disease.** Pharmacol Ther. Sep;273:108892. 2025. doi: 10.1016/j.pharmthera.2025.108892.

WYNN, TA; THOMPSON, RW; CHEEVER, AW; MENTINK-KANE, MM. **Immunopathogenesis of schistosomiasis.** Immunological Reviews, Oxford, v. 201, p. 156–167, out. 2004. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2004.00176.x.

ŻELECHOWSKA P, GÓRALCZYK-BIŃKOWSKA A. **Mast Cell Response to Parasites: from Recognition and Activation to Host Defense Modulation.** *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2025.

ZHENG B, ZHANG J, CHEN H, NIE H, MILLER H, GONG Q, LIU C. T **Lymphocyte-Mediated Liver Immunopathology of Schistosomiasis.** Front Immunol. Feb 18;11:61. 2020. doi: 10.3389/fimmu.2020.00061.

10 Anexos

10.1 Anexo A: Comitê de Ética no Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Vice-Presidência de Pesquisa e

Coleções Biológicas - VPPCB



Comissão de Ética
no Uso de Animais

TERMO ADITIVO AO CERTIFICADO DA LICENÇA Nº LW-20/18 (P-30/17.5)

A Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/Fiocruz, em atenção à solicitação do Dr. **PAULO MARCOS ZECH COELHO** autoriza o presente aditivo, conforme solicitação do proponente, via e-mail, de 19 de agosto de 2021.

1. Prorrogação da licença pelo período de doze meses;

2. Inclusão dos animais, abaixo relacionados:

Mus musculus

- 180 machos de B6.Cg-Kit<W-sh>, idade: 4 semana(s).

- 180 fêmeas de B6.Cg-Kit<W-sh>, idade: 4 semana(s).

Este aditivo tem validade até 03 de dezembro de 2022.

Rio de Janeiro, 13 de setembro de 2021.

Octavio Augusto França Presgrave
Coordenador da CEUA/Fiocruz

10.2 Anexo B: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica do fígado.

FÍGADO			
Código	Variável	Descrição	Categorização
F-I	Estrutura do fígado	Totalmente preservada ou normal	0
		Parcialmente alterada	1
		Moderadamente alterada	2
		Muito alterada	3
		Totalmente alterada	4
F-II	Número de tratos portais (> que 10)	Menor que 10 tratos portais	0
		Maior que 10 tratos portais	1
F-III	Arquitetura do espaço portal	Totalmente preservado ou normal	0
		Alargados, mas sem septos	1
		Alargados e com septos incompletos	2
		Alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente	3
		Cirrose	4
F-IV	Infiltrado inflamatório portal	Ausente ou escasso (raras células inflamatórias)	0
		Discreto (média de 100 células nos tratos portais)	1
		Moderado (média de 1.000 células nos tratos portais)	2
		Acentuado (média de 3.000 células nos tratos portais)	3
		Muito acentuado (média de 5.000 células nos tratos portais)	4
F-V	Presença de granuloma portal	Ausente	0
		Presente	1
F-VI	Quantidade de granulomas	Nenhum granuloma.	0
		Rara ou escassa (média de 1 granuloma/10CPA)	1
		Discreta (média de 10 granulomas/10CPA)	2
		Moderada (média de 20 granulomas/10CPA)	3
		Acentuada (média de 40 granulomas/10CPA)	4
		Muito acentuada (média de 50 granulomas/10CPA)	5
F-VII	Constituição dos granulomas	Nenhum granuloma	0
		Somente linfócitos e macrófagos	1
		Linfócitos, macrófagos e eosinófilos	2
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos	3
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes	4
		Todas as anteriores e outras células (ex.: neutrófilos)	5
F-VIII	Fase do Granuloma	Nenhum granuloma.	0
		Exsudativa	1
		Precoce	2
		Avançado	3
		Fibrótico	4
F-IX	Atividade inflamatória periportal	Nenhuma atividade periportal	0
		Extravasamento de linfócitos	1
		Necrose saca-bocado discreta	2
		Necrose saca-bocado moderada	3
		Necrose saca-bocado acentuada	4
F-X	Atividade inflamatória parênquima	Nenhuma atividade intralobular	0
		Atividade discreta e focal	1
		Necrose focal em vários sítios	2
		Necrose focal e confluyente	3
		Necrose focal extensa	4
F-XI	Viabilidade dos ovos	Nenhum ovo	0
		Maioria viável	1
		Maioria inviável	2
F-XII	Infiltrado em torno da veia	Ausente	0
		Presente	1

10.3 Anexo C: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica do baço.

BAÇO			
Código	Variável	Descrição	Categorização
B-I	Estrutura do baço	Totalmente preservada ou normal	0
		Parcialmente alterada	1
		Moderadamente alterada	2
		Muito alterada	3
		Totalmente alterada	4
B-II	Polpa Vermelha	Imaturo	0
		Discretamente congesta	1
		Moderadamente congesta	2
		Acentuadamente congesta	3
B-III	Polpa Branca	Sem alterações	0
		Discretamente hiperplásica	1
		Moderadamente hiperplásica	2
		Acentuadamente hiperplásica	3
B-IV	Quantidade de granulomas esplênicos	Nenhum granuloma	0
		Rara ou escassa (média de 01 granuloma/10CPA)	1
		Discreta (média de 10 granulomas/10CPA)	2
		Moderada (média de 20 granulomas/10CPA)	3
		Acentuada (média de 40 granulomas/10CPA)	4
		Muito acentuado (média de 50 granulomas/10CPA)	5
B-V	Constituição dos granulomas	Nenhum granuloma	0
		Somente linfócitos e macrófagos	1
		Linfócitos, macrófagos e eosinófilos	2
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos	3
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes	4
		Todas as anteriores e outras células (ex.: neutrófilos)	5
B-VI	Viabilidade dos ovos	Nenhum ovo	0
		Maioria viável	1
		Maioria inviável	2

10.4 Anexo D: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica do pulmão.

PULMÃO			
Código	Variável	Descrição	Categorização
P-I	Estrutura do pulmão	Totalmente preservada ou normal	0
		Parcialmente alterada	1
		Moderadamente alterada	2
		Muito alterada	3
		Totalmente alterada	4
P-II	Proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar	Ausente	0
		Discreta (raros vasos com proliferação endotelial)	1
		Moderada (frequentes vasos com proliferação endotelial)	2
		Acentuada (quase todos os vasos com proliferação endotelial)	3
P-III	Lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar	Ausente	0
		Discreta (raros vasos com lesão plexiforme)	1
		Moderada (frequentes vasos com lesão plexiforme)	2
		Acentuada (quase todos os vasos com lesão plexiforme)	3
P-IV	Tecido linfóide associado ao brônquio (BALT)	Ausente	0
		Focal	1
		Multifocal	2
		Difusa	3
P-V	Quantidade de granulomas pulmonares	Nenhum granuloma	0
		Rara ou escassa (média de 01 granuloma/10CPA)	1
		Discreta (média de 10 granulomas/10CPA)	2
		Moderada (média de 20 granulomas/10CPA)	3
		Acentuada (média de 40 granulomas/10CPA)	4
		Muito acentuada (média de 50 granulomas/10CPA)	5
P-VI	Constituição dos granulomas	Nenhum granuloma	0
		Somente linfócitos e macrófagos	1
		Linfócitos, macrófagos e eosinófilos	2
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos	3
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes	4
		Todas as anteriores e outras células (ex.: neutrófilos)	5
P-VII	Viabilidade dos ovos	Nenhum ovo	0
		Maioria viável	1
		Maioria inviável	2
P-VIII	Presença de neutrófilos no espaço dos brônquios	Ausente	0
		Presente	1
P-IX	Espessamento dos septos	Ausente	0
		Presente	1
P-X	Inflamação perivascular	Ausente	0
		Presente	1

10.5 Anexo E: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica do pâncreas.

PÂNCREAS			
Código	Variável	Descrição	Categorização
Pa-I	Estrutura do pâncreas	Totalmente preservada ou normal	0
		Parcialmente alterada	1
		Moderadamente alterada	2
		Muito alterada	3
		Totalmente alterada	4
Pa-II	Inflamação	Ausente	0
		Focal	1
		Difusa	2
Pa-III	Alteração Vascular: Espessamento intimal	Ausente	0
		Presente	1
Pa-IV	Fibrose	Ausente	0
		Focal	1
		Difusa	2
Pa-V	Quantidade de granulomas pancreáticos	Nenhum granuloma	0
		Rara ou escassa (média de 01 granuloma/10CPA)	1
		Discreta (média de 10 granulomas/10CPA)	2
		Moderada (média de 20 granulomas/10CPA)	3
		Acentuada (média de 40 granulomas/10CPA)	4
		Muito acentuado (média de 50 granulomas/10CPA)	5
Pa-VI	Constituição dos granulomas	Nenhum granuloma	0
		Somente linfócitos e macrófagos	1
		Linfócitos, macrófagos e eosinófilos	2
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos	3
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes	4
		Todas as anteriores e outras células (ex.: neutrófilos)	5
Pa-VII	Viabilidade dos ovos	Nenhum ovo	0
		Maioria viável	1
		Maioria inviável	2

10.6 Anexo F: Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica dos intestinos

- ID: Intestino Delgado
- IG: Intestino Grosso

INTESTINO			
Código	Variável	Descrição	Categorização
I-I	Estrutura do intestino (delgado e grosso)	Totalmente preservada ou normal	0
		Parcialmente alterada	1
		Moderadamente alterada	2
		Muito alterada	3
		Totalmente alterada	4
I-II	Hipotrofia/atrofia intestinal	Ausente	0
		Discreta	1
		Moderada	2
		Acentuada	3
I-III	Ulceração intestinal	Ausente	0
		Focal	1
		Multifocal	2
		Difusa	3
I-IV	Quantidade de granulomas intestinais	Nenhum granuloma	0
		Rara ou escassa (média de 01 granuloma/10CPA)	1
		Discreta (média de 10 granulomas/10CPA)	2
		Moderada (média de 20 granulomas/10CPA)	3
		Acentuada (média de 40 granulomas/10CPA)	4
		Muito acentuada (média de 50 granulomas/10CPA)	5
I-V	Constituição dos granulomas	Nenhum granuloma	0
		Somente linfócitos e macrófagos	1
		Linfócitos, macrófagos e eosinófilos	2
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos	3
		Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes	4
		Todas as anteriores e outras células (ex.: neutrófilos)	5
I-VI	Viabilidade dos ovos	Nenhum ovo	0
		Maioria viável	1
		Maioria inviável	2

10.7 Anexo G: Média da concentração das quimiocinas no sangue periférico

Mediadores Imunes	Grupo	Infectado			Não Infectado
		45 d.p.i.	70 d.p.i.	140 d.p.i.	70 d.p.i.
		Média (±)	Média (±)	Média (±)	Média (±)
CXCL5	(+/+)	1.603,86 (972,23)	1.173,02 (570,62)	1.125,20 (405,84)	1.559,36 (238,97)
	(-/-)	1.375,64 (692,61)	1.427,99 (814,45)	1.029,69 (684,25)	1.740,08 (736,30)
	Total	1.489,75 (851,76)	1.300,51 (714,65)	1.087,00 (536,93)	1.649,72 (554,79)
<u>CCL11</u>	(+/+)	<u>809,74 (175,75)</u>	<u>759,53 (209,10)</u>	<u>432,13 (152,85)</u>	<u>1129,88 (372,55)</u>
	(-/-)	<u>566,49 (159,70)</u>	<u>457,32 (186,01)</u>	<u>201,26 (100,89)</u>	<u>547,22 (211,33)</u>
	Total	688,11 (207,34)	608,43 (248,98)	339,78 (175,73)	838,55 (420,24)
CXCL1	(+/+)	159,14 (72,77)	281,40 (221,15)	252,07 (201,37)	0 (0)
	(-/-)	119,56 (75,83)	125,48 (110,36)	174,55 (197,04)	0 (0)
	Total	141,15 (76,75)	210,53 (195,55)	217,61 (203,14)	0 (0)
<u>CXCL10</u>	(+/+)	133,16 (12,91)	120,71 (21,49)	<u>95,83 (23,15)</u>	51,55 (13,77)
	(-/-)	106,62 (27,48)	95,36 (45,27)	<u>28,90 (14,19)</u>	60,91 (18,79)
	Total	119,89 (25,24)	108,03 (37,63)	69,06 (38,43)	56,23 (17,13)
MCP-1	(+/+)	93,50 (53,86)	44,51 (23,02)	95,37 (46,14)	20,03 (0)
	(-/-)	24,18 (10,81)	56,14 (65,41)	0 (0)	15,38 (0)
	Total	54,99 (50,41)	49,16 (45,40)	95,37 (46,14)	17,70 (2,32)
<u>MCP-3</u>	(+/+)	256,17 (75,55)	<u>257,54 (56,08)</u>	<u>148,33 (34,50)</u>	125,84 (38,38)
	(-/-)	191,51 (57,14)	<u>136,27 (65,79)</u>	<u>77,52 (33,83)</u>	95,33 (50,52)
	Total	223,84 (74,37)	191,90 (82,65)	120,01 (48,74)	110,58 (47,39)
<u>MIP-1α</u>	(+/+)	3,13 (0,47)	<u>4,78 (1,35)</u>	9,82 (10,27)	1,41 (1,02)
	(-/-)	4,82 (4,04)	<u>1,95 (0,82)</u>	2,18 (1,15)	2,02 (1,77)
	Total	3,98 (2,99)	3,36 (1,80)	6,76 (8,82)	1,71 (1,47)
MIP-1 β	(+/+)	7,13 (5,30)	25,21 (15,24)	25,45 (9,85)	0
	(-/-)	7,96 (6,69)	14,18 (7,15)	16,57 (16,86)	2,10 (0,71)
	Total	7,54 (6,05)	20,8 (13,75)	22,12 (13,63)	2,10 (0,71)
MIP-2 α	(+/+)	13,22 (0,50)	13,92 (1,06)	15,25 (2,39)	0 (0)
	(-/-)	13,54 (1,34)	13,85 (0,42)	14,59 (0)	0 (0)
	Total	13,38 (1,02)	13,89 (0,84)	15,14 (2,19)	0 (0)
RANTES	(+/+)	87,04 (18,70)	132,79 (48,22)	132,44 (84,81)	61,26 (28,95)
	(-/-)	112,68 (35,13)	123,23 (59,06)	63,92 (35,23)	60,76 (15,43)
	Total	99,86 (30,92)	128,01 (54,13)	105,03 (77,07)	61,01 (23,20)

Legenda: d.p.i.: dias pós infecção; (+/+) grupo *Kit*^{+/+} (-/-) grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}; (±) desvio padrão. Os valores sublinhados referem-se à concentração dos mediadores imunes nos grupos *Kit*^{+/+} e *Kit*^{W-sh/W-sh}, de acordo com o tempo de eutanásia.

10.8 Anexo H: Média da concentração das citocinas pró-inflamatórias no sangue periférico

Mediadores Imunes	Grupo	Infectado			Não Infectado
		45 dias	70 dias	140 dias	70 dias
		Média (±)1	Média (±)	Média (±)	Média (±)
IFN γ	(+/+)	12,17 (13,18)	10,00 (9,10)	85,61 (140,70)	0 (0)
	(-/-)	16,73 (25,83)	10,02 (6,00)	9,39 (6,31)	3,62 (0)
	Total	14,91 (21,79)	10,01 (7,71)	60,21 (120,42)	3,62 (0)
IL-1 α	(+/+)	4,13 (0,61)	4,32 (0,50)	9,04 (4,75)	0 (0)
	(-/-)	6,10 (2,53)	8,15 (2,85)	4,35 (0,74)	13,83 (0)
	Total	5,00 (2,00)	6,51 (2,88)	7,28 (4,41)	13,83 (0)
IL-1 β	(+/+)	6,98 (7,48)	15,97 (12,35)	41,32 (38,05)	1,46 (0)
	(-/-)	29,12 (39,94)	42,05 (66,80)	13,10 (10,94)	4,21 (0)
	Total	15,28 (26,80)	30,20 (51,69)	30,03 (33,28)	2,83 (1,37)
IL-18	(+/+)	9.235,48 (8.354,81)	26.865,63 (18.203,86)	18.035,18 (16.583,49)	602,78 (0)
	(-/-)	10.067,53 (10.334,20)	8.103,96 (5.612,77)	16.260,17 (23.734,53)	575,72 (0)
	Total	9.613,68 (9.316,08)	17.484,80 (16.414,70)	17.246,29 (20.098,02)	589,25 (13,53)
IL-6	(+/+)	46,37 (30,19)	46,76 (28,70)	180,20 (223,04)	0 (0)
	(-/-)	48,06 (50,15)	46,05 (20,18)	64,77 (52,03)	21,32 (0)
	Total	47,21 (41,40)	46,44 (25,19)	134,03 (184,74)	21,32 (0)
TNF α	(+/+)	9,54 (0,99)	9,64 (4,72)	24,72 (22,45)	2,64 (0)
	(-/-)	13,84 (9,81)	36,65 (46,58)	9,73 (5,35)	10,31 (0)
	Total	11,69 (7,30)	21,92 (34,34)	19,72 (19,88)	6,47 (3,83)
LIF	(+/+)	147,61 (210,88)	455,14 (255,69)	1.026,02 (1.512,45)	22,67 (23,19)
	(-/-)	504,98 (1.060,22)	228,67 (291,43)	153,81 (105,98)	18,46 (17,11)
	Total	326,30 (784,98)	341,90 (296,61)	638,37 (1.209,82)	20,57 (20,48)
IL-12p70	(+/+)	35,56 (34,49)	98,17 (70,17)	89,36 (71,72)	4,98 (0,90)
	(-/-)	29,81 (30,21)	42,51 (31,42)	151,77 (224,24)	7,97 (3,21)
	Total	32,68 (32,55)	70,34 (61,07)	117,10 (161,76)	6,47 (2,79)
IL-17 A	(+/+)	16,23 (14,87)	14,14 (9,06)	175,96 (242,36)	3,42 (0)
	(-/-)	33,71 (59,20)	12,43 (10,64)	25,36 (15,37)	0,95 (0)
	Total	24,97 (44,04)	13,28 (9,92)	109,02 (195,80)	2,18 (1,23)
IL-15	(+/+)	60,09 (0)	26,73 (21,18)	269,20 (310,90)	0 (0)
	(-/-)	57,22 (0)	10,36 (7,17)	15,17 (14,29)	7,10 (0)
	Total	58,65 (1,43)	18,54 (17,80)	160,33 (266,69)	7,10 (0)
IL-23	(+/+)	110,29 (134,44)	492,11 (219,73)	1.353,29 (1.793,30)	49,99 (38,25)
	(-/-)	476,00 (868,25)	169,49 (133,94)	325,27 (273,50)	63,16 (0)
	Total	276,52 (621,03)	330,80 (243,16)	896,39 (1.442,50)	54,38 (31,84)
IFN α	(+/+)	0 (0)	0 (0)	240,69 (0)	0 (0)
	(-/-)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Total	0 (0)	0 (0)	240,69 (0)	0 (0)

Legenda: d.p.i.: dias pós infecção; (+/+) grupo *Kit*^{+/+} (-/-) grupo *Kit*^{W-sh/W-sh}, (±) desvio padrão

10.9 Anexo I: Média da concentração das citocinas reguladoras no sangue periférico

Mediadores Imunes	Grupo	Infectado			Não Infectado
		45 dias	70 dias	140 dias	70 dias
		Média (±)	Média (±)	Média (±)	Média (±)
IL-2	(+/+)	37,61 (32,29)	120,55 (80,29)	68,16 (56,94)	0 (0)
	(-/-)	33,73 (37,26)	38,74 (29,00)	43,71 (64,25)	5,77 (0)
	Total	35,67 (34,92)	79,64 (72,92)	58,38 (61,16)	5,77 (0)
IL-4	(+/+)	6,87 (1,69)	5,53 (2,29)	3,12 (0,84)	0 (0)
	(-/-)	6,63 (5,14)	5,30 (1,41)	2,84 (0,80)	5,54 (0)
	Total	6,75 (3,83)	5,42 (1,95)	3,00 (0,84)	5,54 (0)
GM-CSF	(+/+)	18,92 (14,77)	69,22 (54,23)	82,15 (65,01)	0 (0)
	(-/-)	20,75 (14,98)	31,12 (24,29)	52,49 (53,05)	13,91 (0)
	Total	19,73 (14,89)	51,90 (47,29)	72,26 (62,85)	13,91 (0)
G-CSF	(+/+)	41,26 (54,83)	79,62 (36,98)	180,60 (180,63)	10,58 (8,07)
	(-/-)	78,43 (140,85)	43,12 (39,49)	53,28 (14,74)	9,81 (5,47)
	Total	59,85 (108,48)	61,37 (42,38)	124,01 (149,08)	10,19 (6,91)
IL-3	(+/+)	0 (0)	22,17 (25,33)	6,78 (5,31)	0 (0)
	(-/-)	0 (0)	7,54 (9,75)	3,7 (0)	0,95 (0,16)
	Total	0 (0)	13,81 (19,53)	6,78 (4,90)	0,95 (0,16)
IL-10	(+/+)	13,14 (0)	21,08 (4,39)	117,73 (94,90)	0 (0)
	(-/-)	44,56 (0)	26,40 (10,62)	43,99 (0)	46,64 (19,05)
	Total	28,85 (15,71)	23,21 (7,97)	102,98 (89,86)	46,64 (19,05)
IL-5	(+/+)	333,35 (158,22)	<u>266,84 (95,88)</u>	232,30 (218,17)	13,02 (10,87)
	(-/-)	151,22 (105,48)	<u>81,66 (74,07)</u>	53,75 (54,99)	8,21 (2,64)
	Total	242,28 (162,40)	174,25 (126,14)	160,88 (193,44)	10,27 (7,76)
IL-31	(+/+)	42,43 (32,84)	178,56 (211,19)	298,40 (179,93)	0 (0)
	(-/-)	49,19 (43,56)	100,68 (74,26)	151,63 (169,28)	14,71 (0)
	Total	45,81 (38,72)	147,41 (174,42)	243,36 (189,81)	14,71 (0)
IL-9	(+/+)	19,57 (0)	72,23 (53,23)	190,06 (256,02)	108,90 (0)
	(-/-)	116,36 (74,39)	33,04 (15,45)	68,06 (19,23)	78,23 (59,24)
	Total	97,00 (76,98)	57,53 (47,12)	159,56 (228,13)	88,45 (50,48)
IL-13	(+/+)	53,99 (17,20)	60,57 (23,01)	55,26 (63,65)	4,59 (0)
	(-/-)	59,86 (36,30)	45,30 (26,36)	13,56 (7,33)	9,21 (0)
	Total	56,92 (28,55)	53,63 (25,74)	38,58 (53,57)	6,90 (2,31)
IL-28	(+/+)	232,48 (189,31)	188,61 (126,38)	2.105,68 (2.616,37)	0 (0)
	(-/-)	881,47 (810,55)	163,93 (109,59)	177,39 (45,15)	80,97 (0)
	Total	556,97 (672,09)	178,73 (120,55)	1.382,57 (2.269,49)	80,97 (0)
IL-22	(+/+)	538,31 (486,96)	1.077,85 (353,16)	10.067,77 (13.531,90)	174,97 (0)
	(-/-)	1.344,31 (2.506,17)	850,44 (599,65)	984,29 (519,55)	477,22 (264,65)
	Total	977,95 (1.922,18)	964,15 (505,06)	6.030,67 (11.055,37)	401,66 (263,93)
M-CSF	(+/+)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	(-/-)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Total	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
IL-27	(+/+)	2,72 (0,77)	9,61 (5,23)	24,33 (37,77)	7,73 (0)
	(-/-)	15,32 (9,19)	6,31 (0,49)	6,52 (3,45)	10,95 (9,06)
	Total	7,76 (8,50)	8,51 (4,56)	17,20 (30,61)	9,87 (7,55)

Legenda: d.p.i.: dias pós infecção; (+/+) grupo $Kit^{+/+}$ (-/-) grupo $Kit^{W-sh/W-sh}$; ($\pm$) desvio padrão. O valor sublinhado refere-se à concentração do mediador imune nos grupos $Kit^{+/+}$ e $Kit^{W-sh/W-sh}$, de acordo com o tempo de eutanásia.