

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CLARA LUCAS BERNARDINO

**HISTOPATOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MURINA EM LINHAGENS
MUTANTES SEM MASTÓCITOS**

Belo Horizonte

2021

CLARA LUCAS BERNARDINO

**HISTOPATOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MURINA EM LINHAGENS
MUTANTES SEM MASTÓCITOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador: Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier

Co-orientadora: Dr^a. Paula Vieira Teixeira Vidigal

Belo Horizonte

2021

043 Bernardino, Clara Lucas.

Histopatologia da esquistossomose murina em linhagens mutantes sem mastócitos [manuscrito] / Clara Lucas Bernardino. - 2021.

102 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier. Co-orientadora: Dr^a. Paula Vieira Teixeira Vidigal.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia.

CDU:



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFMG

FOLHA DE APROVAÇÃO

"HISTOPATOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE MURINA EM LINHAGENS MUTANTES SEM MASTÓCITOS"

CLARA LUCAS BERNARDINO

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Patologia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em PATOLOGIA, área de concentração PATOLOGIA INVESTIGATIVA.

Aprovada em 25 de março de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Prof^ª. Milene Alvarenga Rachid - Departamento Patologia Geral – ICB/UFMG

Prof^ª. Érica Alessandra Rocha Alves - FIOCRUZ/MG

Prof^ª. Paula Vieira Teixeira Vidigal - Faculdade de Medicina/UFMG - COORIENTADORA

Prof. Marcelo Antônio Pascoal Xavier - Faculdade de Medicina/UFMG - ORIENTADOR

Belo Horizonte, 25 de março de 2021.



Documento assinado eletronicamente por Milene Alvarenga Rachid, Servidor(a), em 27/12/2021, às 18:11, 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 Vieira Teixeira Vidigal, Secretário(a), em 04/01/2022, às 15:03, 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 Marcelo Antonio Pascoal Xavier, Professor do Magistério Superior, em 10/01/2022, às 16:01, 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 Érica Alessandra Rocha Alves, Usuário Externo, em 11/01/2022, às 17:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

[https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0)

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 1163137 e o código CRC 8AEE10F9.

AGRADECIMENTOS

A construção desse agradecimento se tornou um importante momento de reflexão pessoal, onde a percepção da existência de um cansaço e um mix de emoções indefinidas muitas vezes sobrepuseram a alegria de viver essa fase de conclusão. Mas, percebo que ao parar um minuto, apenas um minuto, e respirar fundo buscando me recordar do primeiro desejo que impulsionou o anseio de trilhar esse caminho profissional, um leve sorriso é capaz de surgir no rosto!

E desse tão simples sorriso, aquele sorriso de canto que está ali mesmo sem ter muitas forças para aparecer, posso me recordar da alegria de ser aprovada no processo seletivo do Mestrado, das disciplinas que concluí com sucesso, dos conselhos que recebi dos professores, dos experimentos que realizei (até dos que não obtive tanto sucesso), das amizades que encontrei, das orientações que recebi, das situações que superei, do crescimento e amadurecimento que pude viver no decorrer desses dois árduos e longos anos. Anos que acabaram se tornando contraditórios diante de um novo olhar, onde percebo que agora tudo passou tão rápido, os dias de sorrisos, as trocas de conhecimentos, as lágrimas, decepções, frustrações, aprendizados, discussões, mudanças, conquistas, abraços, olhares de força, acasos, promessas, esperança... E que bom que tenho esperança, pois ela não engana!

Albert Einstein disse que só há duas maneiras de viver a vida: a primeira é vivê-la como se os milagres não existissem. A segunda é vivê-la como se tudo fosse milagre. E hoje tenho a certeza que milagres estão por toda a parte, sentindo a imensa alegria por ter a oportunidade de vivenciar os cuidados de Deus, podendo perceber a cada dia o cumprimento e a realização das suas promessas na minha vida. A sua bondade constrange o meu coração, revigora a esperança, fortalece a coragem, rompe com os medos e me leva a realizar os meus sonhos. Podendo hoje compreender que se o Senhor permitiu foi porquê a minha alma precisava! Eternamente cantarei louvores ao Senhor, obrigada por tanto!

Agradeço aos meus pais, Denise e Aluízio, por todo esforço e dedicação que tiveram e tem por mim. Às minhas irmãs, Paula e Gisely, por toda inspiração profissional que encontro em vocês e aos meus cunhados, Wislan e Renan. Amo muito vocês!

Agradeço ao professor Dr. Marcelo Pascoal, meu orientador, por todo cuidado durante essa trajetória, por acreditar em mim e me permitir ir além de tudo que acreditei que fosse uma limitação.

A professora Dra. Paula Vidigal, minha co-orientadora, obrigada pelas boas risadas, docilidade de ensino e por ser essa mulher inspiradora.

Ao professor Dr. José Renan, por confiar esse tão belo e importante projeto que idealizou e pela inspiração de construir uma trajetória no meio científico, acadêmico e profissional. A sua chegada inesperada em uma reunião com o professor Marcelo trouxe bons frutos para a minha trajetória pessoal e profissional! Ao professor Dr. Paulo Marcos por toda idealização e realização desse projeto, pelo seu olhar atencioso que juntamente com o professor Dr. José Renan nos permitiu contribuir para o meio científico.

Agradeço a todos que colaboraram para a realização do projeto e ao órgão financiador pelo apoio financeiro que possibilitou o desenvolvimento desse trabalho.

Ao professor Dr. Wagner Tafuri pela oportunidade de aprendizagem no Laboratório de Patologia das Leishmanioses (LPL) e a prof. Dra. Izabela de Amorim, que me auxiliaram no início dessa trajetória. E também a todos os membros do LPL, de modo especial a Dra. Lucélia Pinheiro, Ramon Alencar e a prof. Dra. Amanda Reis.

Agradeço a Fernanda Aranha e Santuza Coelho, por tirarem água do meu barco, pelas risadas, lágrimas, conselhos e todos os bons momentos que vivenciamos. Vocês se tornaram duas preciosidades que o mestrado me presenteou! A Deivenita do Carmo e a Flávia Aguiar por dividirem essa trajetória acadêmica e profissional, tornando-se importantes inspirações.

Aos meus amigos que durante essa caminhada se tornaram refúgio para o meu perseverar e sempre enfatizaram o quanto acreditavam em mim, obrigada Andressa Sandes, Andreza Alves, Ariane Xavier, Flávia Cristina, Gabriela Alves, Marcos Gonçalves (meu afilhado), Phelipy Marques, Rosiane Silva, Suelen Aparecida, Thais Kelly, Thiago Braga, Victor Hugo. E de modo especial a Nagila de Souza e sua família (Magali, Johara e Caique) que me acolheram, a Luciana minha amiga e confidente, a Sandra Neves e sua família, minha amada Sandrinha, amiga, madrinha e inspiração de pessoa. Amo vocês!

Agradeço aos intercessores que foram sustento nessa caminhada e também aos colegas e amigos que deixaram durante essa caminhada 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 e todas 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, como linfócitos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos. 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. No presente estudo, a histopatologia da infecção por *Schistosoma mansoni* em modelo murino deficiente de mastócitos foi avaliada no fígado, baço, pulmão e intestinos delgado e grosso. Foram observados, nos tratos portais dos camundongos deficientes de mastócitos, maiores intensidades de atividades inflamatórias em 34,29% dos camundongos e menor fibrose em 4,29%, com diferenças estatisticamente significativas dos camundongos Controle, que apresentaram em 4,40% dos camundongos menor intensidade de atividade inflamatória e em 18,68% maior fibrose. Nos pulmões, intestinos e no baço foram observadas alterações arquiteturais e resposta inflamatória granulomatosa ao redor de ovos do parasito no grupo deficiente de mastócitos, mas sem diferenças estatisticamente significativas com o grupo Controle. Esses resultados demonstram que os mastócitos participam da imunopatologia da esquistossomose, indicando um provável papel regulador da inflamação e indutor da sua resolução por fibrose. O presente estudo permite novas perspectivas na busca de compreender e elucidar a ocorrência da resposta imune da esquistossomose, bem como a participação e atuação dos mastócitos na doença.

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

ABSTRACT

In Brazil, schistosomiasis is an endemic and neglected disease, becoming a serious public health problem. The clinical manifestations in the human host are associated with the granulomatous inflammatory reaction to the parasite's eggs, due to the activities of cells that make up the immune system, such as lymphocytes, macrophages, neutrophils and eosinophils. However, the role of mast cells in the immunopathogenesis of schistosomiasis is very little known, showing a knowledge gap that can be mitigated with the use of murine models. In the present study, the histopathology of *Schistosoma mansoni* infection in a deficient murine model of mast cells was evaluated in the liver, spleen, lung and small and large intestines. In the portal tracts of mast cell deficient mice, greater intensities of inflammatory activities were observed in 34.29% of the mice and less fibrosis in 4.29%, with statistically significant differences in the Control mice, which presented in 4.40% of the mice lower intensity of inflammatory activity and 18.68% higher fibrosis. In the lungs, intestines and spleen, architectural changes and granulomatous inflammatory response were observed around the parasite's eggs in the mast cell deficient group, but without statistically significant differences with the Control group. These results demonstrate that mast cells participate in the immunopathology of schistosomiasis, indicating a probable role that regulates inflammation and induces its resolution by fibrosis. The present study allows new perspectives in the search to understand and elucidate the occurrence of the immune response of schistosomiasis, as well as the participation and performance of mast cells in the disease.

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

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BALT	Tecido linfoide associado ao brônquio
C3a	Componente 3 do complemento
CAPI	Centro de Aquisição e Processamento de Imagens
CD18	Integrina beta-2
CD4+	Grupamento de diferenciação 4
CDC	Centro de Controle de Doenças
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
c-kit	KIT proto-oncogene receptor tirosina quinase
Fc	Fragmento cristalizável
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
H1	Histamina 1
H2	Histamina 2
HE	Hematoxilina & Eosina
IFN-γ	Interferon-gama
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
MTC	Mastócito de Tecido Conjuntivo
MM	Mastócito de Mucosas
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAF	Fator de Ativação Plaquetário
S.	<i>Schistosoma</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
Th1	T auxiliar do tipo 1
Th2	T auxiliar do tipo 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral – alfa

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica dos países endêmicos para esquistossomose no ano de 2020.....	19
Figura 2 - Ciclo evolutivo do parasito de <i>S. mansoni</i>	20
Figura 3 - Indução da resposta Th1 e Th2 e o desenvolvimento das células após infecção pelo <i>S. mansoni</i>	23
Figura 4 - Principais componentes da resposta granulomatosa contra os ovos de <i>S. mansoni</i> e as principais citocinas e quimiocinas que regulam essa resposta	24
Figura 5 - Representação esquemática de um mastócito, seus principais produtos e receptores.....	25
Figura 6 - Diagrama com a divisão dos camundongos.....	32
Figura 7 - Esquema dos critérios utilizados para avaliação da arquitetura do espaço porta	35
Figura 8 - Achados histopatológicos da estrutura do fígado dos camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	39
Figura 9 - Achados histopatológicos da análise da arquitetura do espaço portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	42
Figura 10 - Achados histopatológicos da análise do infiltrado inflamatório portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	44
Figura 11 - Análise da constituição do granuloma no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	48
Figura 12 - Achados histopatológicos da análise da atividade inflamatória periportal e no parênquima do fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	52
Figura 13 - Achados histopatológicos do baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	58
Figura 14 - Achados histopatológicos da estrutura do pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	64
Figura 15 - Achados histopatológicos vasculares do tecido pulmonar de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	67
Figura 16 - Achados histopatológicos da estrutura do intestino grosso de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	78

Figura 17 - Achados histopatológicos da quantidade de granulomas no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*..... 82

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Análise da estrutura do fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	37
Gráfico 2 - Análise do número de tratos portais no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	40
Gráfico 3 - Análise da arquitetura do espaço portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	41
Gráfico 4 - Análise do infiltrado inflamatório portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	43
Gráfico 5 - Análise da presença de granuloma portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	45
Gráfico 6 - Análise da quantidade de granulomas no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	46
Gráfico 7 - Análise da constituição dos granulomas no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	47
Gráfico 8 - Análise da fase do granuloma no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	49
Gráfico 9 - Análise da atividade inflamatória periportal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	50
Gráfico 10 - Análise da atividade inflamatória no parênquima no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	51
Gráfico 11 - Análise da viabilidade dos ovos no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	53
Gráfico 12 - Análise da estrutura do baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	55
Gráfico 13 - Análise da polpa vermelha do baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	56
Gráfico 14 - Análise da polpa branca do baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	57
Gráfico 15 - Análise da quantidade de granulomas esplênicos nos camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	59

Gráfico 16 - Análise da constituição dos granulomas no baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	60
Gráfico 17 - Análise da viabilidade dos ovos no baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	61
Gráfico 18 - Análise da estrutura do pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	63
Gráfico 19 - Análise da proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	65
Gráfico 20 - Análise da lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	66
Gráfico 21 - Análise do BALT de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	68
Gráfico 22 - Análise da quantidade de granuloma no pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	69
Gráfico 23 - Análise da constituição dos granulomas no pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	70
Gráfico 24 - Análise da viabilidade dos ovos no pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	71
Gráfico 25 - Análise da presença de neutrófilos no espaço dos brônquios pulmonares de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	72
Gráfico 26 - Análise do espessamento dos septos pulmonares de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	73
Gráfico 27 - Análise da inflamação perivascular no pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	74
Gráfico 28 - Análise da estrutura do intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	76
Gráfico 29 - Análise da estrutura do intestino grosso de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	77
Gráfico 30 - Análise da ulceração no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	79
Gráfico 31 - Análise da quantidade de granuloma no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	80

Gráfico 32 - Análise da constituição dos granulomas no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	81
Gráfico 33 - Análise da quantidade de granuloma no intestino grosso de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	83
Gráfico 34 - Análise da constituição dos granulomas no intestino grosso de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	84
Gráfico 35 - Análise da viabilidade dos ovos no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo <i>S. mansoni</i>	85

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Principais alterações descritas na análise das variáveis no fígado	54
Tabela 2: Principais alterações descritas na análise das variáveis no baço	62
Tabela 3: Principais alterações descritas na análise das variáveis no pulmão.....	75
Tabela 4: Principais alterações descritas na análise das variáveis no intestino delgado	86
Tabela 5: Principais alterações descritas na análise das variáveis no intestino grosso	86

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
	2.1. Esquistossomose mansoni	18
	2.2. Imunopatogênese da esquistossomose	21
	2.3. Mastócitos.....	25
	2.4. Histopatologia da esquistossomose	27
3	OBJETIVOS	30
	3.1. Objetivo Geral	30
	3.2. Objetivo Específico	30
4	MATERIAS E MÉTODOS	31
	4.1. Animais e aspecto ético	31
	4.2. Delineamento Experimental	33
	4.2.1. Pré-infecção.....	33
	4.2.2. Infecção	33
	4.2.3. Pós-infecção	34
	4.3. Análises Histológicas	34
	4.4. Análise Estatística	36
5	RESULTADOS	37
	5.1. Alterações Hepáticas	37
	5.2. Alterações Esplênicas.....	55
	5.3. Alterações Pulmonares	62
	5.4. Alterações Intestinais.....	75
6	DISCUSSÃO	87
7	CONCLUSÃO.....	91
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
	ANEXO A.....	99
	ANEXO B.....	100
	ANEXO C.....	101
	ANEXO D.....	102

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença negligenciada causada pela infecção por helmintos que pertencem à classe Trematoda, família Schistosomatidae e gênero *Schistosoma*, as três espécies mais importantes para a saúde humana são: *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum* (CARVALHO, 2008; CAMPOS, 2012; McMANUS, *et. al.*, 2018). No Brasil, a espécie *S. mansoni* é o agente etiológico desta doença, conhecida popularmente como “xistose”, “barriga d’água” e “doença dos caramujos” (BRASIL, 2017), sendo endêmica em grande extensão do território e um grave problema de Saúde Pública no Brasil (BRASIL, 2014; NOYA, *et. al.*, 2015; KATZ, 2018).

Essa parasitose acomete cerca de 240 milhões de pessoas no mundo, tendo incidência em 78 países na África, Ásia e Américas, sendo considerada como um grave problema de Saúde Pública. Nas Américas, o Brasil é o país mais prevalente em número de casos, com cerca de 1,5 milhão de pessoas infectadas por *Schistosoma mansoni*, sendo acometido devido à diversidade geográfica, climática, econômica e social que permitem a incidência dos casos e manutenção do ciclo de vida do parasito (BRASIL, 2014; BORGES, 2018; KATZ, 2018; CRUZ; SALAZAR; CORTE, 2020).

As manifestações clínicas da esquistossomose no hospedeiro humano são classificadas em forma aguda (fase inicial) e forma crônica (fase tardia), sendo provocadas principalmente pela resposta imune do próprio hospedeiro frente à presença e quantidade dos parasitos. 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, particularmente linfócitos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos, (AMARAL, 2015; ROCHA, 2015; SOUZA, 2015; BRASIL, 2017), há importante lacuna de conhecimento sobre a participação dos mastócitos na imunopatologia dessa parasitose.

Os mastócitos são células da imunidade inata que possuem um relevante potencial de secreção de mediadores químicos atuantes na modulação do sistema imunológico e no processo de defesa do hospedeiro. Destaca-se, nos mastócitos, a expressão do receptor FC ϵ RI, que tem afinidade e capacidade de se ligar ao anticorpo imunoglobulina E (IgE)

fixado à superfície dos parasitos, direcionando a resposta celular antiparasitária. A ativação dos mastócitos ocorre quando esses anticorpos se ligam ao antígeno, induzindo eventos de sinalização intracelular que acarreta a liberação do conteúdo presente nos grânulos citoplasmáticos para o espaço extracelular. Essa ligação pode ocorrer através do receptor Fcε por helmintos revestidos de IgE que resulta na eliminação de grânulos, que contém aminas vasoativas e na secreção de citocinas, como TNF- α e quimiocinas que induzem à inflamação, ajudando na destruição do parasito. Os mastócitos também estimulam os leucócitos recrutados envolvidos na imunidade adquirida através da liberação de citocinas imunomoduladoras, como a IL-4 e a IL-10 que são responsáveis pela indução da diferenciação das células Th2, participando do processo de fibrose e remodelação tecidual. (BRAGA, 2006; ABBAS *et.al.*, 2011; COSTANZA, 2011; MUKAI, *et. al.*, 2018; RECH; GRAÇA, 2006; SANTOS, *et. al.*, 2010; GALLI; GAUDENZIO; TSAI 2020).

Modelos murinos têm sido muito utilizados para analisar a imunopatologia da esquistossomose e, mesmo diante de limitações existentes, extrapolar a resposta imunológica e alterações histopatológicas observadas, para uma melhor compreensão da doença em humanos (ATTA, *et. al.*, 1981; CHEEVER, *et. al.* 2002; ROCHA, 2015). No caso do estudo dos mastócitos, o modelo experimental knockout para o receptor c-kit são utilizados para analisar o desenvolvimento e função dessas células em diversas patologias, como nematóides intestinais, malária, leishmaniose, esquistossomose e doenças de carrapato (COSTANZA, 2011; MUKAI, *et. al.*, 2016). Os camundongos apresentam características próprias, tais como a ausência de melanócitos e de mastócitos circulantes e teciduais, que permitem a interpretação das diferentes respostas imunes, bem como estudo da função dos mastócitos nos diferentes tecidos, contribuindo para o conhecimento dos aspectos do mecanismo de proteção contra infecções e reinfecções, bem como para as consequências imunopatológicas decorrentes de infecções na ausência de mastócitos (GRIMBALDESTON, *et. al.*, 2005; REBER; MARICHAL; GALLI, 2012; AMARAL, 2015; GALLI; GAUDENZIO; TSAI 2020).

Assim, devido a essa lacuna de conhecimento, o presente trabalho objetivou analisar a histopatologia 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.

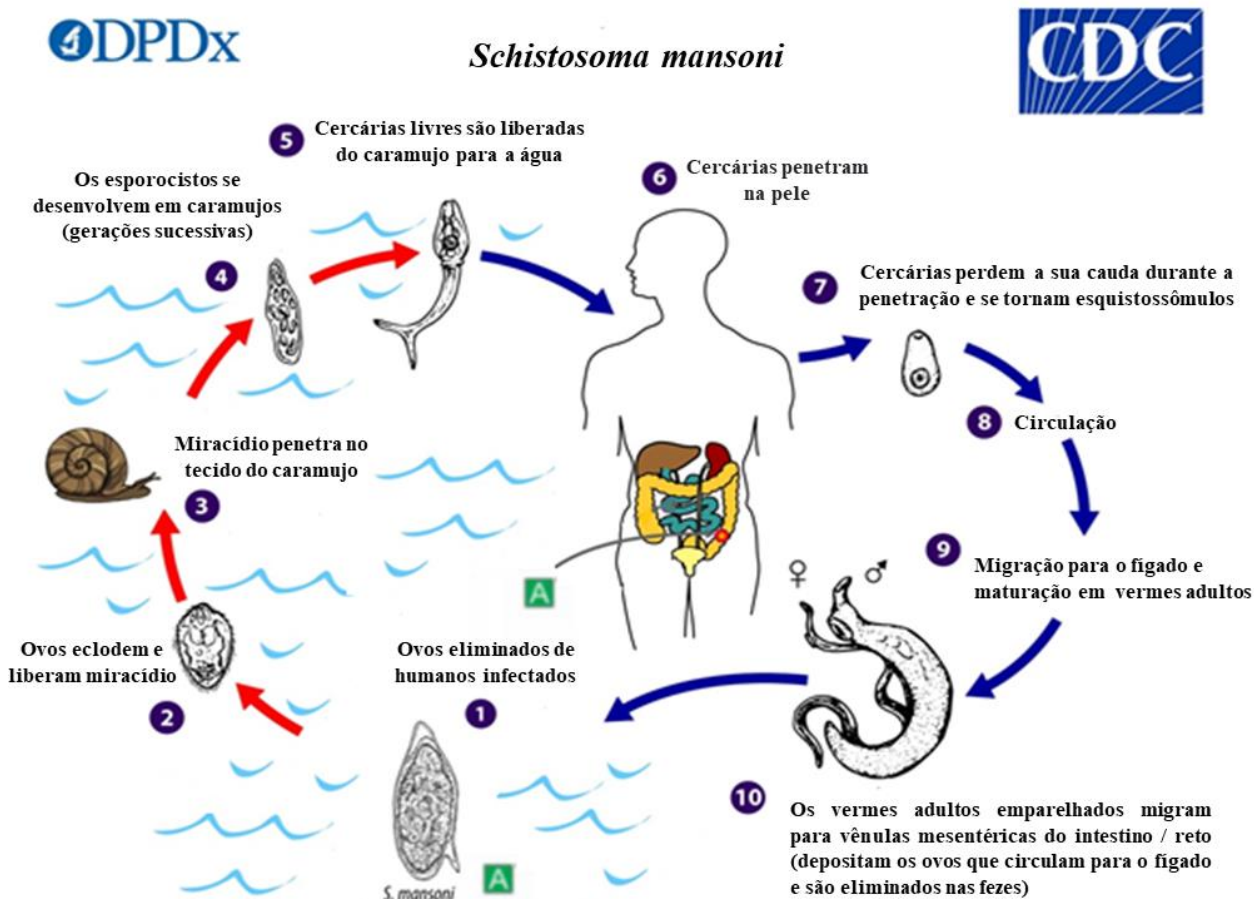
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Esquistossomose mansoni

A esquistossomose é uma doença parasitária, causada por trematódeos do gênero *Schistosoma*, onde é considerada uma das principais doenças tropicais negligenciadas (CARVALHO, 2008; ROCHA, 2015). Essa parasitose acomete cerca de 240 milhões de pessoas no mundo, tendo incidência em 78 países na África, Ásia e América (Figura 1), sendo considerada como um grave problema de Saúde Pública. Nas Américas, o Brasil, é o país mais prevalente em número de casos, devido à diversidade geográfica, climática, econômica e social que permitem a incidência dos casos e manutenção do ciclo de vida do parasito. A esquistossomose acomete cerca de 1,5 milhões de pessoas, apresentando relatos em todas as cinco regiões brasileiras, tendo os estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe endêmicos. Aonde, atualmente, a esquistossomose é identificada em uma extensão contínua que adentra o interior da Bahia, Minas Gerais e Maranhão e nas regiões Norte, Centro Oeste e Sul a transmissão ocorre em áreas restritas (BRASIL, 2014; BORGES, 2018; KATZ, 2018; CRUZ; SALAZAR; CORTE, 2020).

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 carreados pela corrente sanguínea e acumulam-se nos tecidos, principalmente no fígado, onde são alvos da resposta imune (CARVALHO, 2008; OLIVEIRA, 2016).

Figura 2 - Ciclo evolutivo do parasito de *S. mansoni*



Fonte: adaptado CDC, 2019.

A evolução da infecção por *S. mansoni* pode apresentar manifestações clínicas no hospedeiro definitivo, desenvolvendo em duas fases: aguda e crônica. A fase aguda é considerada como o estágio inicial da doença, onde o indivíduo pode apresentar dermatite

cercariana, síndrome de *Katayama* e manifestações inespecíficas, como febre, mal-estar, emagrecimento, dor abdominal, náuseas e diarreia (ROCHA, 2015; GOMES; DOMINGUES; BARBOSA, 2017). A fase crônica está relacionada a evolução da doença, que pode apresentar distúrbios vasculares pulmonares, forma clínica hepatointestinal, hepatoesplênica e hepática, tendo como principal característica a reação granulomatosa em torno dos ovos com infiltrado inflamatório celular na região periportal e discreta fibrose, conhecida como fibrose de Symmers (SILVA, 2008; MELO, 2010; GOMES; DOMINGUES; BARBOSA, 2017).

2.2. Imunopatogênese da esquistossomose

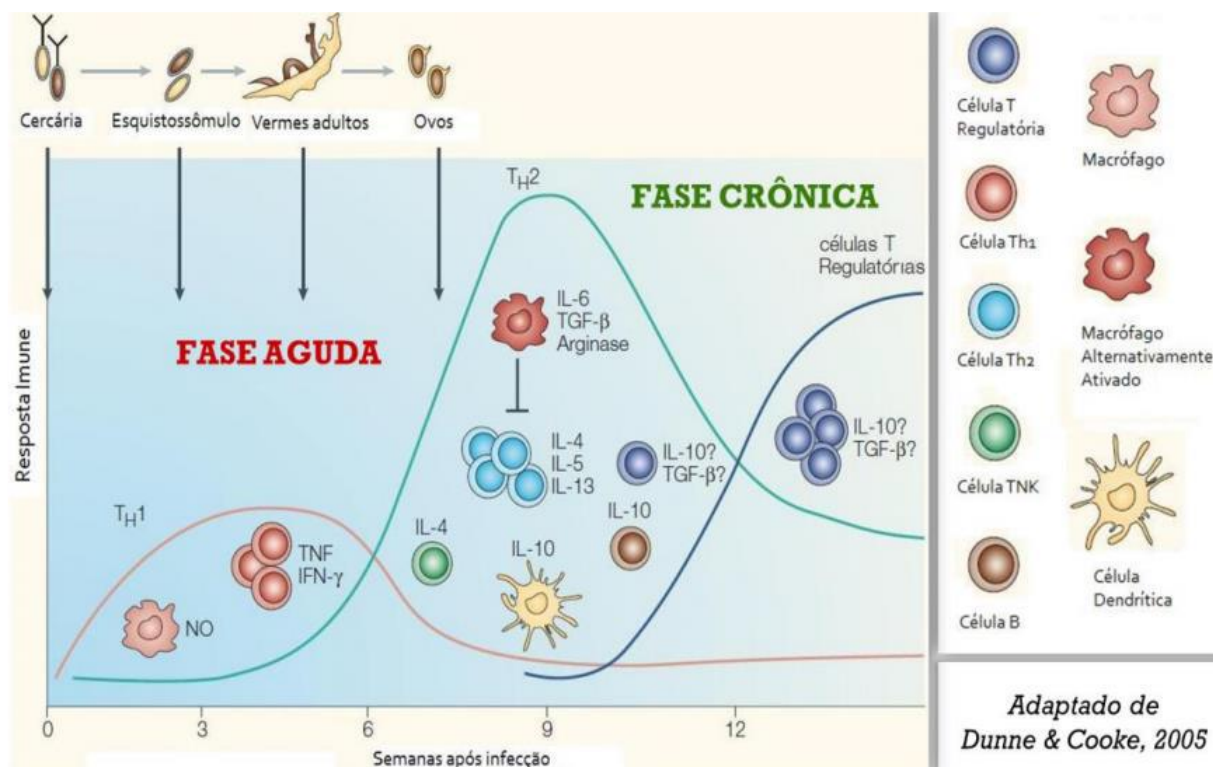
As fases de migração apresentadas pelo parasito de *S. mansoni* no organismo do hospedeiro definitivo possuem a resposta imunológica como um fator determinante para a sua eliminação e o desenvolvimento de alterações histopatológicas, assim, a resposta imunológica induzida pelo parasito vem sendo estudada. A resposta imunológica induzida pelo parasito no hospedeiro definitivo está envolvida no desenvolvimento das alterações patológicas concomitantemente a infecção, demonstrando que o perfil da resposta imunológica varia no decorrer da infecção por *S. mansoni* (CARVALHO, 2008; OLIVEIRA, 2014).

No começo da infecção, a partir da penetração da cercária no hospedeiro vertebrado através da pele, observa-se uma importante reação inflamatória dérmica e subdérmica, ocasionando dermatite crônica, podendo considerar como 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 desencadeia uma resposta de hipersensibilidade do tipo I, ocasionando a ativação e desgranulação mediada por IgE (SOUZA, 2011; SOUZA, 2015). Na qual na fase aguda, onde ocorre a migração dos esquistossômulos, a diferenciação e maturação dos vermes adultos, a resposta imune 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 Th2 (SILVA, 2008; SOUZA, 2015). Os mediadores imunológicos 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 estudos demonstram que os antígenos dos esquistossômulos sejam os mediadores da resposta (HIATT *et al.* 1979; CAPRON; DESSAINT 1985; BUTTERWORTH *et al.* 1994; OLIVEIRA, 2016).

A transcrição da fase aguda para a crônica é marcada pelo predomínio da resposta imune Th2 (BRASILEIRO, 2016), onde com 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 resposta Th2, com a produção de IL-4, IL-13 e IL-5 (MELO, 2010; ROCHA, 2015). Essa mudança no tipo de resposta tem sido relacionada a produção de IL-4 que é induzida por antígenos do ovo, na qual os ovos liberam antígenos solúveis (SEA) que induzem a produção de citocinas Th2 reguladoras, resultando na modulação da resposta Th1 e a diminuição do tamanho do granuloma, essa resposta imune é considerada de transição ou subaguda, onde não tem características intensas da aguda e não tem características marcantes da crônica (Figura 3). A IL-10 tem demonstrado ser uma eficaz e importante citocina na regulação da resposta Th1 e Th2 por meio da redução do IFN-gama e IL-4, respectivamente (SOUZA, 2015; MIRANDA, 2020).

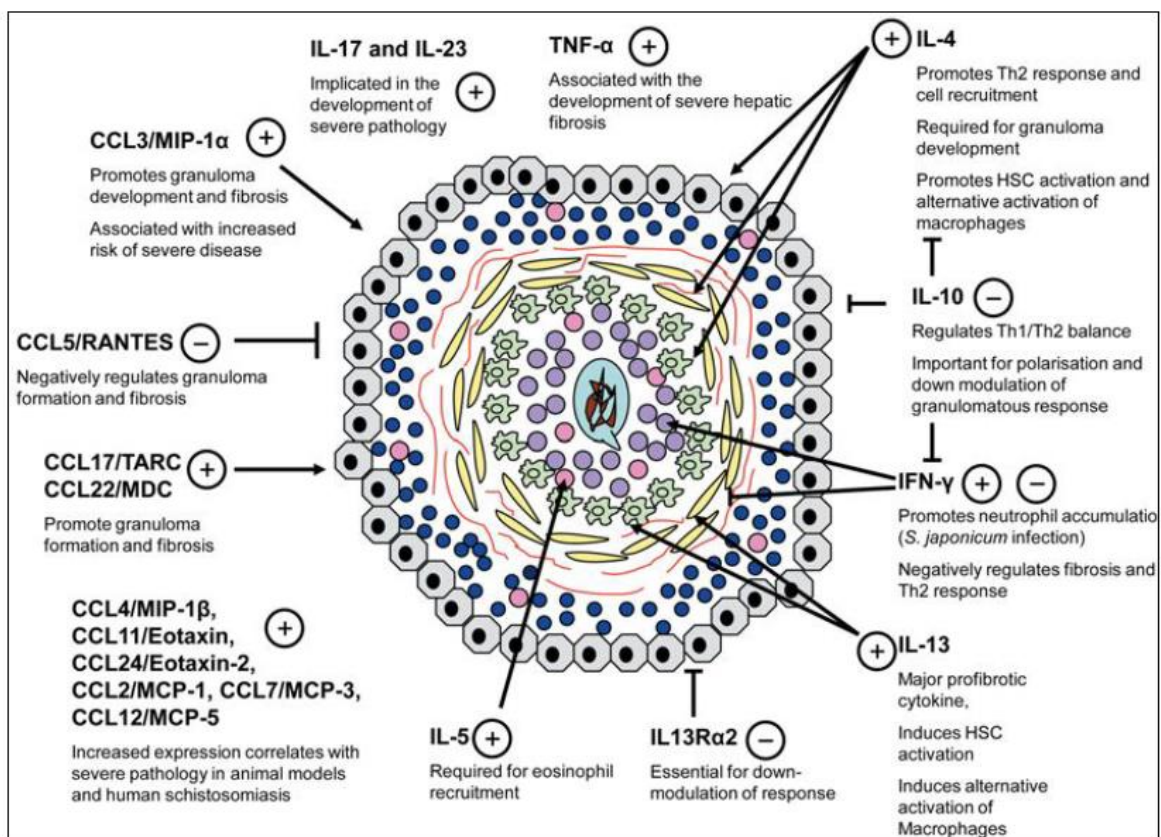
Figura 3 - Indução da resposta Th1 e Th2 e o desenvolvimento das células após infecção pelo *S. mansoni*.



Fonte: MIRANDA, 2020.

O granuloma é caracterizado por ser uma reação inflamatória que circunda os ovos de *S. mansoni*, sendo uma lesão típica da doença, aonde os ovos maduros liberam antígenos que são fundamentais para a reação granulomatosa (SILVA, 2008; SOUZA, 2015). A participação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas apresenta uma função importante na formação e modulação da resposta granulomatosa (Figura 4), entretanto, na literatura não está estabelecido a sua associação com a taxa de incidência da esquistossomose humana (OLIVEIRA, 2014).

Figura 4 - Principais componentes da resposta granulomatosa contra os ovos de *S. mansoni* e as principais citocinas e quimiocinas que regulam essa resposta



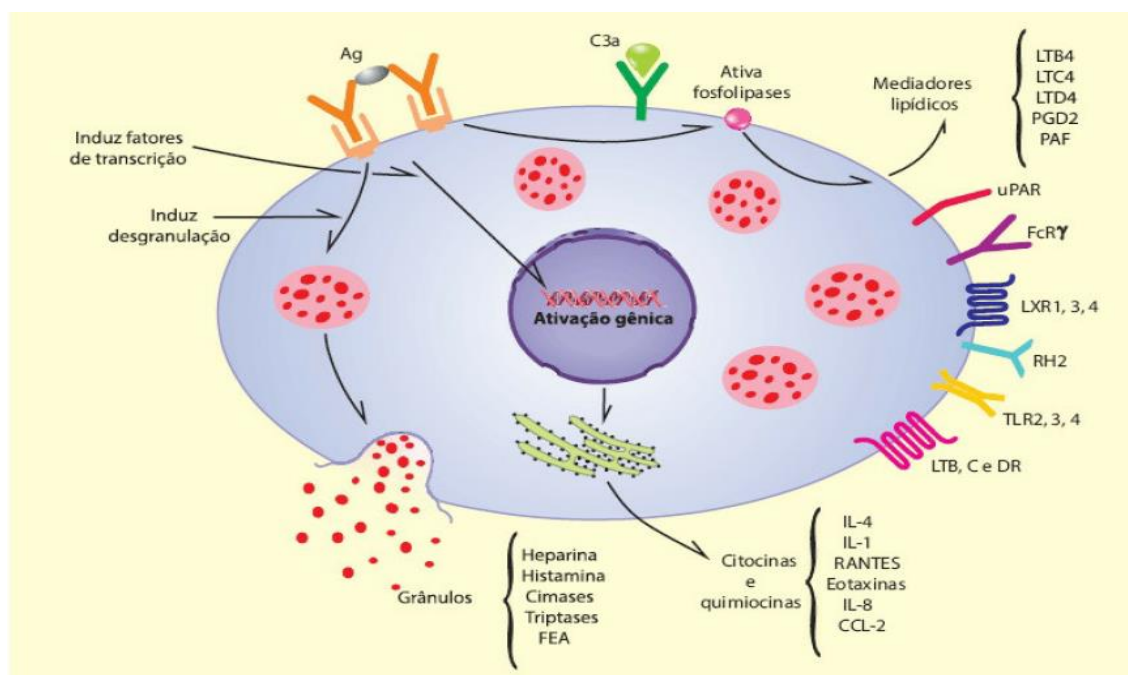
Fonte: adaptado BURKE *et al.* 2009.

A sua formação é composta por elementos que compõem a resposta imune inata, como macrófagos, eosinófilos, mastócitos e células dendríticas e da resposta imune adquirida, como linfócitos T e B (SOUZA, 2015). Essas células são recrutadas, acumulando-se em torno dos ovos dando origem ao granuloma, permitindo a destruição local dos tecidos e a presença de fibrose, que é um processo de cicatrização, aonde os fibroblastos são conduzidos para a lesão e produzem colágeno, que podem ocasionar a perda de função do tecido (MELO, 2010). Uma peculiaridade do granuloma esquistossomótico é a indução de uma potente resposta do tipo Th2 que sobrepõe a resposta Th1, aonde a IL-10 é capaz de regular esse tipo de resposta, além de minimizar os danos teciduais causados e diminuir o tamanho dos granulomas (SOUZA, 2015; OLIVEIRA, 2016).

2.3. Mastócitos

Os mastócitos são células originadas na medula óssea, proveniente de células progenitoras hematopoiéticas CD34+, que ao deixarem a medula óssea se tornam células agranulares indiferenciadas na circulação periférica, passando por um processo de amadurecimento sob influência de micro-ambientes relacionados com a área de contato dos parasitos e outros patógenos, existindo dois tipos de mastócitos: tecido conjuntivo (MTC) e de mucosas (MM) (BRAGA, 2006; ABBAS *et.al.*, 2011; GALLI *et. al.*, 2020). O processo de diferenciação terminal dos mastócitos ocorre nos tecidos, estando presentes na pele e no epitélio das mucosas, aonde o fator de células tronco (ligante c-kit) é uma citocina fundamental para o seu desenvolvimento. Em suas membranas existem diferentes receptores Fc épsilon para imunoglobulina E (IgE) de alta afinidade, além de receptores para proteínas de complemento (C3a e C5a), β -adrenérgicos, colinérgicos e para histamina (H1 e H2). E seus grânulos contêm histamina, heparina e outros mediadores (Figura 5) (ABBAS *et. al.*, 2011; BRASILEIRO, 2016; GALLI *et. al.*, 2020).

Figura 5 - Representação esquemática de um mastócito, seus principais produtos e receptores



Fonte: BRASILEIRO, 2016.

Os mastócitos participam dos mecanismos de defesa do organismo, estando relacionados com processos fisiológicos, patológicos e imunológicos, no qual as citocinas e histaminas liberadas dos grânulos fazem parte do processo inflamatório provocando alterações nos vasos sanguíneos. Essas células também expressam receptores que reconhecem proteínas do complemento, neuropeptídeos e produtos microbianos, sendo considerada uma célula importante na defesa contra helmintos (BRAGA, 2006; ABBAS *et. al.*, 2011).

A ativação dos mastócitos ocorre quando os anticorpos presentes na sua superfície se ligam ao antígeno, induzindo eventos de sinalização intracelular que acarreta a liberação do conteúdo presente no grânulo citoplasmático para o espaço extracelular. Essa ligação pode ocorrer através do receptor Fc ϵ por helmintos revestidos de IgE que resulta na desgranulação dos mastócitos, e liberação de aminas vasoativas e a secreção de citocinas, como TNF- α e quimiocinas que induzem à inflamação ajudando na destruição do parasito (RECH; GRAÇA, 2006; ABBAS *et. al.*, 2011; COSTANZA, 2011).

A ampla variedade de mediadores liberados pelos mastócitos possibilita o desenvolvimento de processos fisiológicos e patológicos, estando intimamente envolvidos com a patogénia da inflamação aguda, devido à liberação de histamina que é responsável pela vasodilatação e o fator de ativação plaquetário (PAF) que promove a adesão leucocitária dependente de CD18, sendo assim os mastócitos realizam a liberação de fatores essenciais para o recrutamento dos leucócitos como: selectinas, moléculas de adesão e fatores quimiotáticos. Os mastócitos estimulam os leucócitos recrutados envolvidos na imunidade adquirida através de citocinas imunomoduladoras liberadas, na qual a IL-4 e a IL-10 são responsáveis pela indução da diferenciação das células Th2, também participam do processo de fibrose e remodelação tecidual, aonde as áreas fibróticas expressam um excesso de mastócitos, devido a histamina e heparina estimularem o crescimento dos fibroblastos, a síntese do colágeno e a formação de cicatrizes (RECH; GRAÇA, 2006; SANTOS, *et. al.*, 2010; MUKAI, *et. al.*, 2018).

Durante as infecções parasitárias por helmintos, ocorre a ligação dos mastócitos com IgE, onde os mediadores liberados podem ocasionar danos ao parasito e/ou estimular o recrutamento de células efetoras, como eosinófilos. Os mastócitos são considerados células de defesa complementar durante a resposta imune adquirida, podendo proporcionar autorregulação ou atenuação da resposta imune através da secreção de citocinas (RECH; GRAÇA, 2006; MUKAI, *et. al.*, 2016).

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. Para o estudo e compreensão da participação dos mastócitos na parasitose utiliza-se como modelo experimental camundongos deficientes em mastócitos (KitW / W^v e KitW-sh / W-sh). Os camundongos mutantes knockout para o receptor c-kit KitW / W^v apresentam deficiência na melanogênese, resultando em anemia, esterilidade e ausência de mastócitos circulantes e teciduais. Em contraposição, os camundongos KitW-sh / W-sh, têm deficiência de mastócitos, mas carecem de anemia e esterilidade, possibilitando a observação da resposta imune na presença ou ausência dos mastócitos e a descrição sobre a sua função e importância na manutenção da resposta imune frente a doença estudada (GRIMBALDESTON, *et. al.*, 2005; COSTANZA, 2011; MUKAI, *et. al.*, 2016; GALLI; GAUDENZIO; TSAI 2020).

2.4. Histopatologia da esquistossomose

A esquistossomose se apresenta de forma aguda e crônica no organismo do hospedeiro definitivo, onde essa parasitose é responsável por estabelecer lesões histopatológicas em determinados órgãos, causando assim alterações que comprometem a sua funcionalidade. Sabendo-se que a intensidade e gravidade das lesões não dependem apenas da presença do parasito, mas como também da capacidade imunológica do organismo, as alterações morfológicas são encontradas em órgão que participam da manutenção do ciclo, tendo como órgão alvo o fígado e em outros órgãos por consequência da alteração hepática (CARVALHO, 2008; BRASILEIRO, 2016). As manifestações clínicas e as alterações morfológicas também podem ser observadas através de alterações pulmonares como vasculopulmonar e hipertensão pulmonar, nos rins como glomerulopatia, forma neurológica com alterações no sistema nervoso central (SNC) e outras formas clínicas que aparecem com menor frequência, podendo citar como importantes localizações o coração, a pele, os órgãos genitais femininos, testículos, retina, tireoide e em qualquer órgão ou tecido do corpo humano (BRASIL, 2014; BRASILEIRO, 2016).

As alterações morfológicas mais características 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 como alteração hepática a fibrose de Symmers, alargamento fibroso dos espaços portais e dos septos, encontrando-se lesões obstrutivas e destrutivas dos ramos intra-hepáticos da veia porta, que foram ocluídos por fibrose. 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/acinar, 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 (BRASILEIRO, 2016).

Apresentando também nos espaços portais, granulomas em torno de ovos de *S. mansoni*, onde podem ser encontrados de forma numerosa no órgão, contendo 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 (CARVALHO, 2008; BRASILEIRO, 2016).

Observa-se como manifestação clínica do baço o seu aumento, devido à hiperplasia e proliferação das células do sistema retículo endotelial, podendo apresentar hipertensão portal, 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 (CARVALHO, 2008; BRASIL, 2014).

Na forma pulmonar os ovos de *S. mansoni* podem-se alojar nas arteríolas ou capilares septais provocando uma obstrução vascular, na qual o número de granulomas e a gravidade da hipertensão pulmonar podem variar de acordo com a carga parasitária presente no hospedeiro definitivo. 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. Podendo 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 (BRASILEIRO, 2016).

E no intestino pode-se observar achados histológicos como granulomas em diferentes fases evolutivas, isolados ou múltiplos em torno dos ovos do parasito, no qual os granulomas podem ser observados em torno dos ovos embrionados ou granulomas fibrosados, com a presença ou ausência dos ovos (BRASILEIRO, 2016).

Dessa maneira, devido existência da lacuna de conhecimento, na compreensão e elucidação da participação dos mastócitos na resposta imune da esquistossomose o presente trabalho objetivou analisar a histopatologia 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 OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Analisar a histopatologia da esquistossomose murina em linhagens mutantes sem mastócitos.

3.2. Objetivo Específico

- Estabelecer linhagens de camundongos WB (WBB6F1/J-*Kit*^W/*Kit*^{W-v}) e SH (B6.Cg-*Kit*^{W-sh}) em biotério;
- Descrever as alterações histopatológicas do fígado, baço, pulmão e segmentos intestinais (delgado e grosso);
- Comparar as alterações histopatológicas observadas entre os camundongos Deficientes em mastócitos com camundongos Controle.

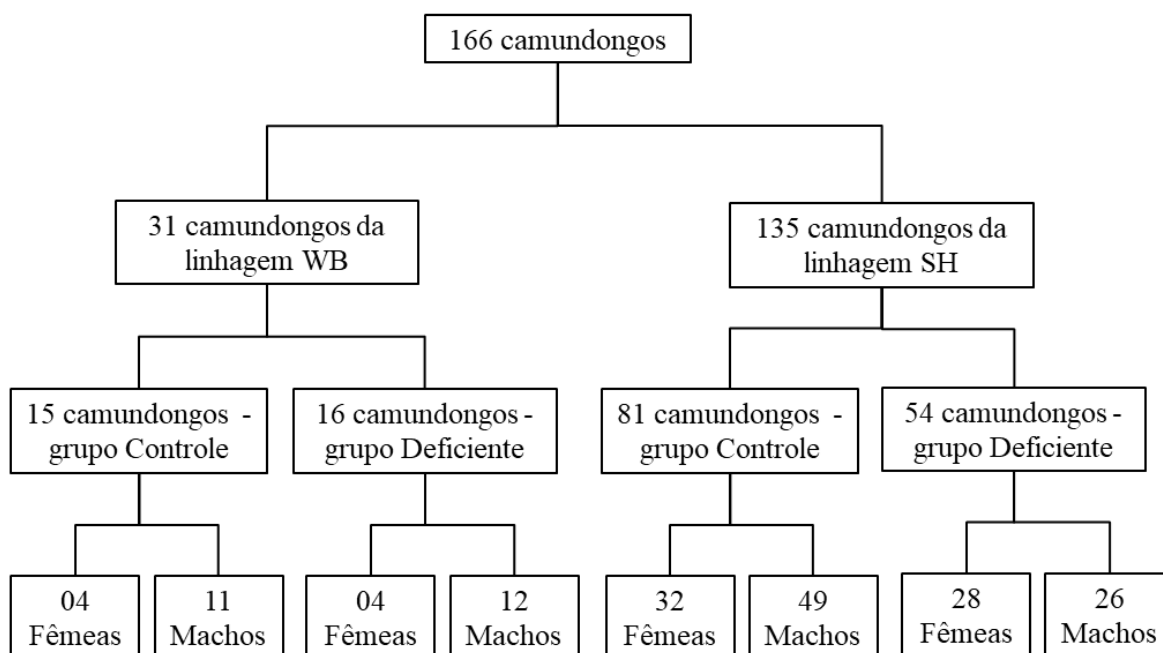
4 MATERIAS E MÉTODOS

4.1. Animais e aspecto ético

O presente estudo foi realizado com o total de 166 camundongos, sendo 31 camundongos da linhagem WB (WBB6F1/J-*Kit*^W/*Kit*^{W-v}) e 135 camundongos da linhagem SH (B6.Cg-*Kit*^{W-sh}). A linhagem WB foi o modelo experimental inicial, mas foi substituída por dificuldade de adaptação aos experimentos pela linhagem SH, que contém as mesmas características fenotípicas, garantindo continuidade do projeto. O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA/FIOCRUZ), obtendo aprovação sob o Protocolo n°30/17-5.

Os camundongos foram mantidos em gaiolas grandes contendo 20 animais, sob condições controladas de temperatura (mantidas entre 22 e 25°C) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas), com livre acesso à água e ração, respeitando as orientações preconizadas no biotério do Instituto René Rachou/ FIOCRUZ Minas. Os camundongos das linhagens descritas foram divididos em dois grupos de estudo, o grupo Controle que avaliado no estudo é considerado os animais que contém mastócitos (96 camundongos) e o grupo Deficiente, são os animais que não contém mastócitos circulantes e teciduais (70 camundongos). No qual na linhagem WB 15 camundongos pertencem ao grupo Controle e 16 ao grupo Deficiente e na linhagem SH 81 camundongos pertencem ao grupo Controle e 54 ao grupo Deficiente. Na linhagem WB, o grupo Controle contém 04 fêmeas e 11 machos, e no grupo Deficiente 04 fêmeas e 12 machos. Na linhagem SH, o grupo Controle contém 32 fêmeas e 49 machos, e no grupo Deficiente 28 fêmeas e 26 machos, segundo o diagrama ilustrado pela Figura 6.

Figura 6 - Diagrama com a divisão dos camundongos



Do total de camundongos, 152 foram infectados com aproximadamente 15 cercárias de *S. mansoni*, que é a forma infectante ao hospedeiro vertebrado, e 14 não foram infectados, esse delineamento foi baseado na experiência do Grupo Diagnóstico e Terapia de Doenças Infecciosas e Câncer da FIOCRUZ Minas. Dentre dos dois grupos, no Controle 85 camundongos foram infectados com cercárias de *S. mansoni* e 11 não foram infectados com o parasito. E do grupo Deficiente 67 camundongos foram infectados com cercárias de *S. mansoni* e 03 não foram infectados.

Nas cinco primeiras semanas, após a infecção, foram eutanasiados 13 camundongos do grupo Controle e 14 do grupo Deficiente, na décima semana foram 51 e 40 camundongos, na vigésima semana 32 e 16 camundongos, respectivamente ao grupo Controle e Deficiente.

4.2. Delineamento Experimental

4.2.1. Pré-infecção

No dia anterior da infecção percutânea, os camundongos tiveram a remoção dos pelos por tricotomia, utilizando aparelho de barbear, em uma área de 2,5 cm da região abdominal, os mesmos foram imobilizados para a realização da remoção. Posterior à remoção dos pelos, os camundongos foram mantidos em gaiolas sem maravalha e contendo papel filtro. Esse procedimento foi necessário antes e após a infecção devido a possibilidade da maravalha liberar substâncias que interferem na viabilidade das cercárias de *S. mansoni*, podendo assim, comprometer a infecção (ARAÚJO *et. al.*, 2008A; ARAÚJO *et. al.*, 2008B; COUTO *et. al.*, 2010A; COUTO *et. al.*, 2010B).

4.2.2. Infecção

A infecção dos camundongos foi realizada com cercárias de *S. mansoni*. As cercárias foram obtidas de caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata* infectados e foram colocadas em um becker (SOUZA, 1993), originando um *pool* de cercárias provenientes dos caramujos. Logo após foi retirada uma alíquota de aproximadamente, 0,2mL do *pool* de cercárias para serem contadas com auxílio de uma lupa. As alíquotas foram ajustadas, a fim de se obter uma concentração equivalente a 15 (± 5) cercárias, em um volume de 0,2mL.

Os camundongos foram anestesiados com Cloridato de Xilazina (15mg/kg) + Cloridato de Ketamina (160mg/kg), via intraperitoneal, onde os anestésicos foram misturados e diluídos em solução salina estéril para conseguir volume ideal na seringa. A utilização da anestesia é justificada pelo fato dos camundongos necessitarem permanecer imobilizados por um período de 30 minutos, ao serem expostos às cercárias.

Os animais anestesiados ficaram sobre uma mesa, em decúbito dorsal imobilizados, com as patas afixadas à mesa por meio de tiras de esparadrapo. Sobre o abdômen de cada

camundongo foi preso, por esparadrapo, 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) para a deposição de 200µL de solução contendo 15 (\pm 5) cercárias de *S. mansoni*. Essa via de infecção foi escolhida com o objetivo de mimetizar a via de infecção em humanos.

Após 30 minutos, o esparadrapo e a placa de acrílico foram removidos e os camundongos colocados novamente na gaiola sem maravalha. E no dia seguinte da infecção foram colocados em gaiolas contendo maravalha.

4.2.3. Pós-infecção

Para avaliar a eficácia da infecção, bem como, estudar os eventos imunopatológicos, os animais infectados foram submetidos em tempos determinados a eutanásia, sendo 05 semanas, 10 semanas e 20 semanas. A escolha dos tempos decorre da intenção de verificar os aspectos imunopatológicos no início dos sintomas (05 semanas), na fase da infecção estabelecida (10 semanas) e na fase crônica (20 semanas). O procedimento de eutanásia ocorreu através do deslocamento cervical do animal, método rápido que induz a perda da sensibilidade e a morte imediata do animal, sendo realizado por um técnico treinado e capacitado.

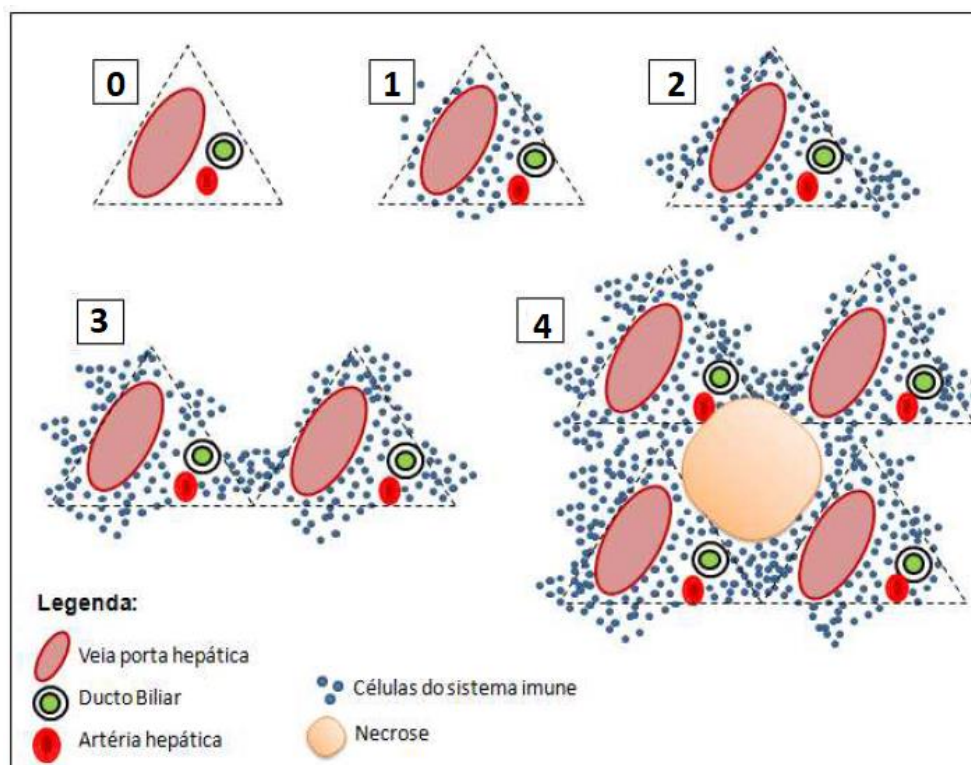
4.3. Análises Histológicas

Após a eutanásia dos camundongos, foi realizada a coleta de amostras do fígado, baço, pulmão e segmentos intestinais (delgado e grosso), na qual a metodologia utilizada para a realização da coleta dos órgãos foi baseada na experiência do Grupo Diagnóstico e Terapia de Doenças Infecciosas e Câncer da FIOCRUZ Minas, obtendo a maior quantidade possível do órgão para uma amostragem mais ampla. Posteriormente as amostras dos órgãos foram processadas rotineiramente e incluídos em parafina. Secções de aproximadamente 4 µm de espessura foram obtidas em micrótomo e submetidas à coloração com Hematoxilina & Eosina (HE). Nos cortes histológicos, foram analisadas as

seguintes variáveis, conforme trabalhos prévios de MIRANDA, 2016; MIRANDA *et. al.* 2020; FIDELIS *et. al.*, 2020:

- **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. Especificamente, para a avaliação da atividade inflamatória e infiltrado inflamatório portal, foram utilizados os critérios descritos na Figura 7.

Figura 7 - Esquema dos critérios utilizados para avaliação da arquitetura do espaço porta



Legenda: (0) Trato portal totalmente preservado ou normal; (1) Trato portal alargado, mas sem septos; (2) Trato portal alargado e com septos incompletos; (3) Trato portal alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente; (4) Cirrose. Fonte: Adaptado de Miranda, 2016.

- **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.

- **Segmentos intestinais (delgado e grosso):** Estrutura do intestino; Hipotrofia/ Atrofia; Ulceração; Quantidade de granulomas; Constituição dos granulomas; Viabilidade dos ovos.

Os parâmetros histológicos considerados para as análises do fígado, baço, pulmão e segmentos intestinais (delgado e grosso) encontram-se de forma detalhada nos quadros em anexo A, B, C e D, respectivamente. Os cortes histológicos dos órgãos foram analisados sem conhecimento prévio do tempo de infecção e do grupo dos camundongos. Todas as análises foram efetuadas sob a orientação da Professora Dr^a. Paula Vieira Teixeira Vidigal, médica Patologista do Departamento de Patologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais. 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.

4.4. Análise Estatística

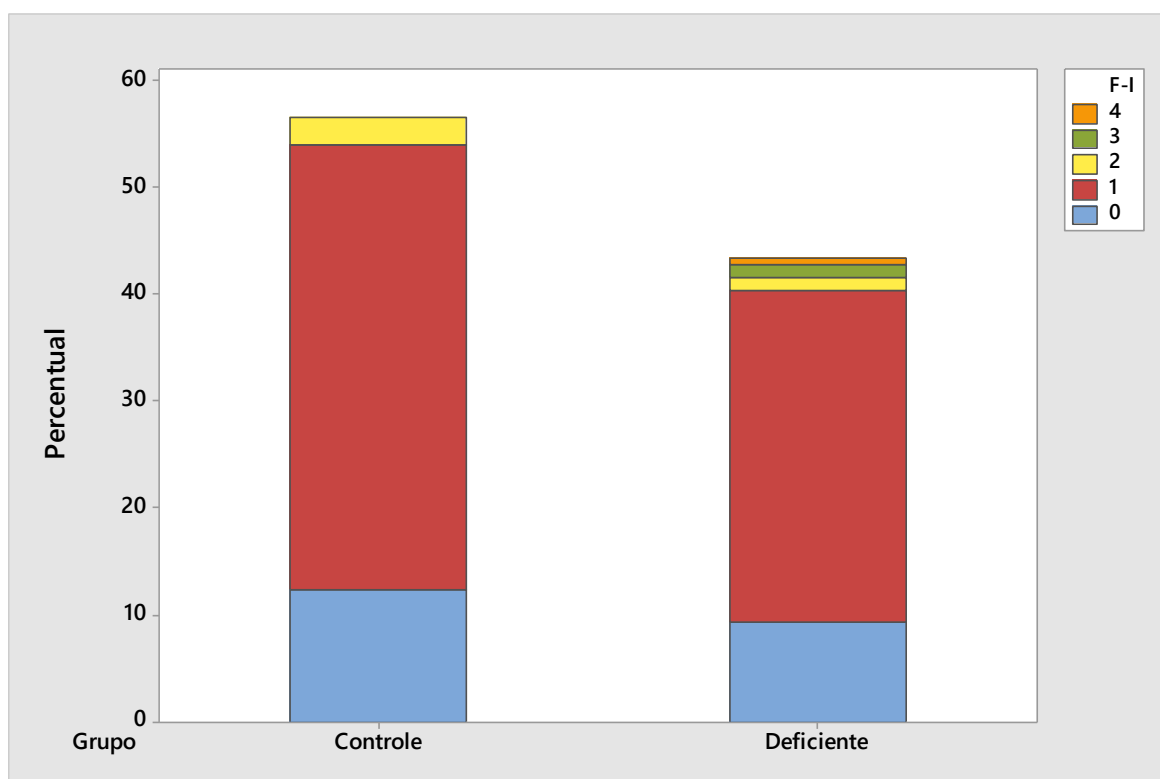
Os resultados obtidos foram armazenados em planilhas eletrônicas usando o programa EXCEL e submetidos à análise através do MINITAB 17 (versão 17). Para análises descritivas, as variáveis categóricas foram apresentadas como números e porcentagens. Para análise comparativa da diferença entre os grupos, foram utilizadas abordagens paramétrica, pelo teste t de Student, e não paramétrica, pelo teste Mann Whitney. As diferenças estatisticamente significativas foram consideradas quando $p < 0.05$.

5 RESULTADOS

5.1. Alterações Hepáticas

Na análise da estrutura do fígado, 67 (73,63%) dos camundongos do grupo Controle apresentaram uma estrutura parcialmente alterada. Adicionalmente, 20 (21,98%) e 04 (4,4%) desse mesmo grupo apresentaram estruturas totalmente e moderadamente alteradas, respectivamente. Entre as amostras do grupo Deficiente (n = 70), 50 (71,43%) camundongos apresentaram uma estrutura parcialmente alterada, 15 (21,43%) totalmente preservada, 02 (2,86%) moderadamente alterada, 02 (2,86%) muito alterada e 01 (1,43%) totalmente alterada (Gráfico 1).

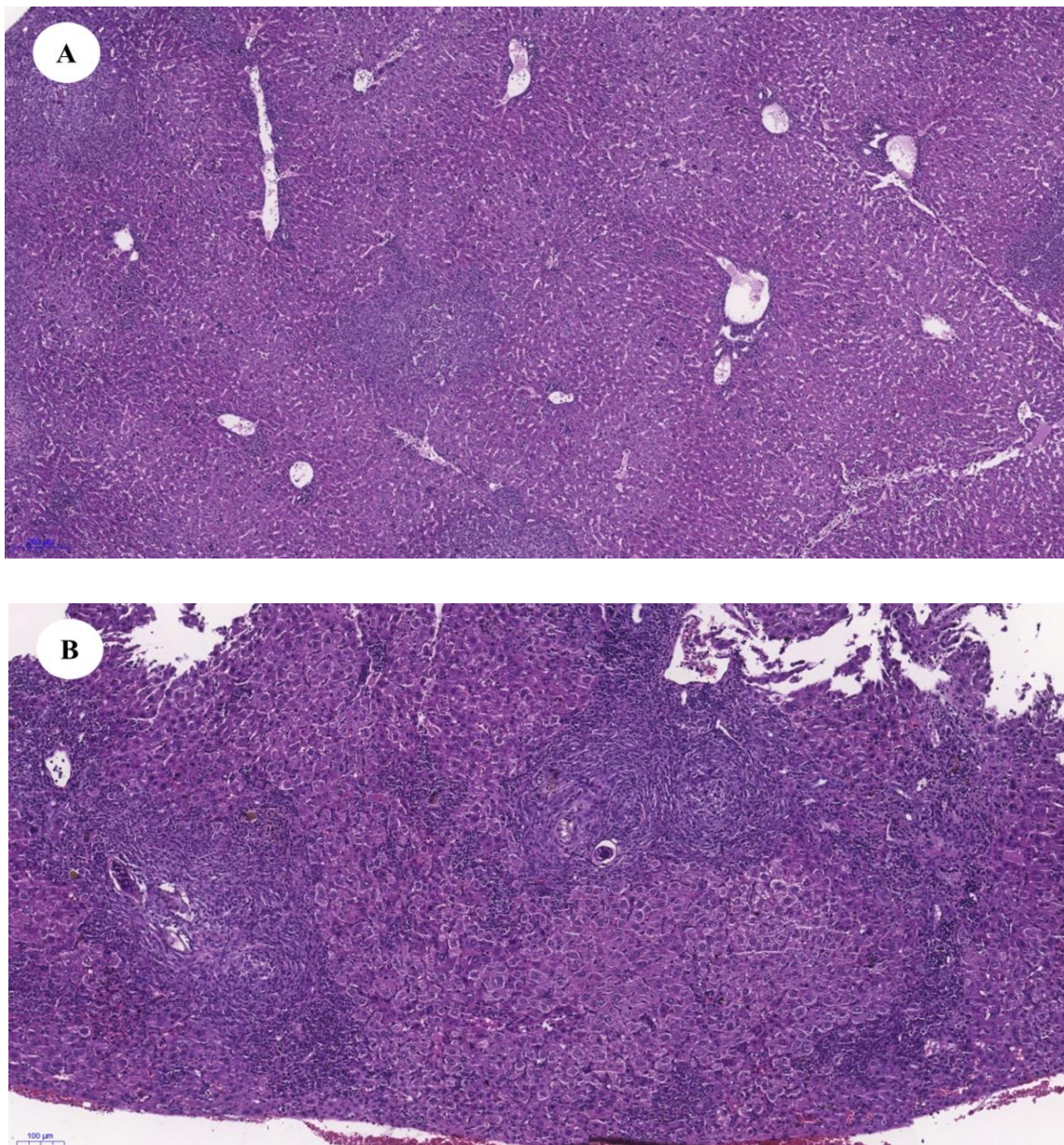
Gráfico 1 - Análise da estrutura do fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

Conforme observado, há predomínio de alterações arquiteturais discretas e não foram observadas diferenças estatísticas significativas na estrutura do fígado entre os grupos Controle e Deficiente. Essas observações arquiteturais estão ilustradas na Figura 8, que demonstra em menor aumento, um parênquima hepático com focos de aspecto mais basofílicos no grupo Controle (**A**). E no grupo Deficiente (**B**), um parênquima hepático com os cordões de hepatócitos desorganizados e focos de aspecto mais basofílicos.

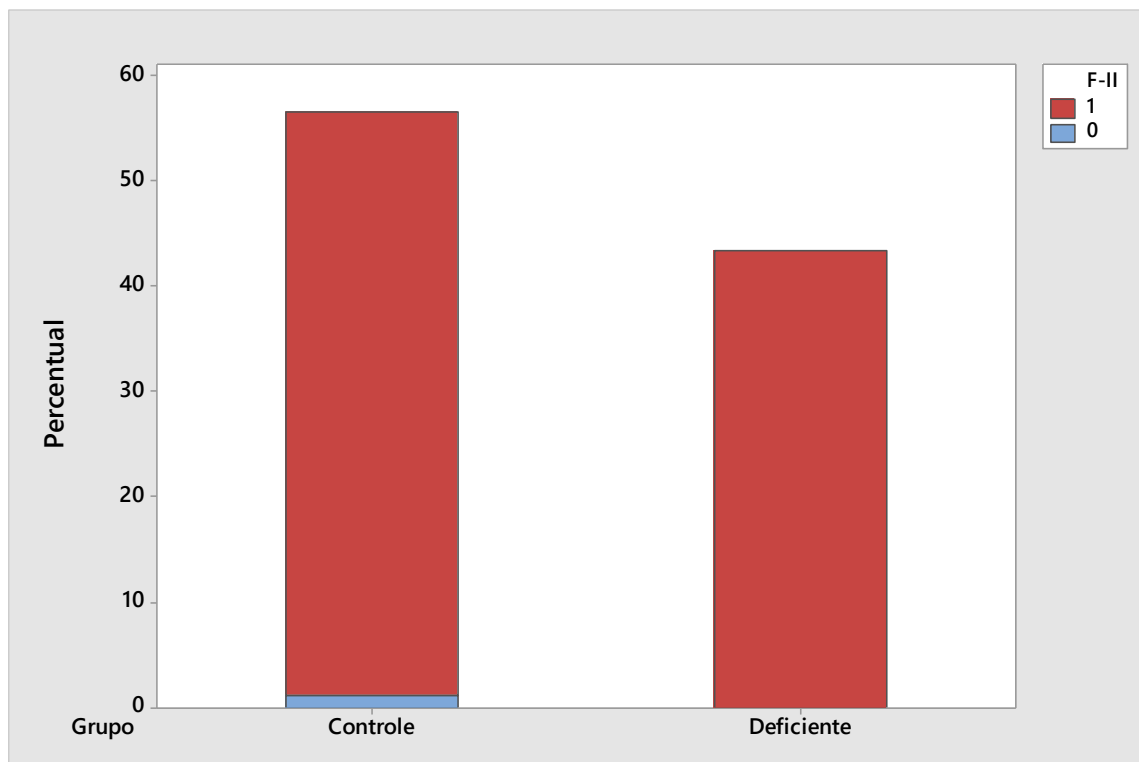
Figura 8 - Achados histopatológicos da estrutura do fígado dos camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a estrutura do fígado. Em (A) Grupo Controle, observa-se um parênquima com descrição: moderadamente alterada e imagem no aumento de 5x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: muito alterada e imagem no aumento de 5x.

Em relação aos tratos portais, no grupo Controle, 89 amostras (97,80%) apresentaram o número de tratos portais superior a 10 e somente 02 amostras (2,20%) apresentaram inferior a 10. No grupo Deficiente, 70 amostras (100%) dos camundongos apresentaram o número de tratos portais superior a 10. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para essa variável (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Análise do número de tratos portais no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



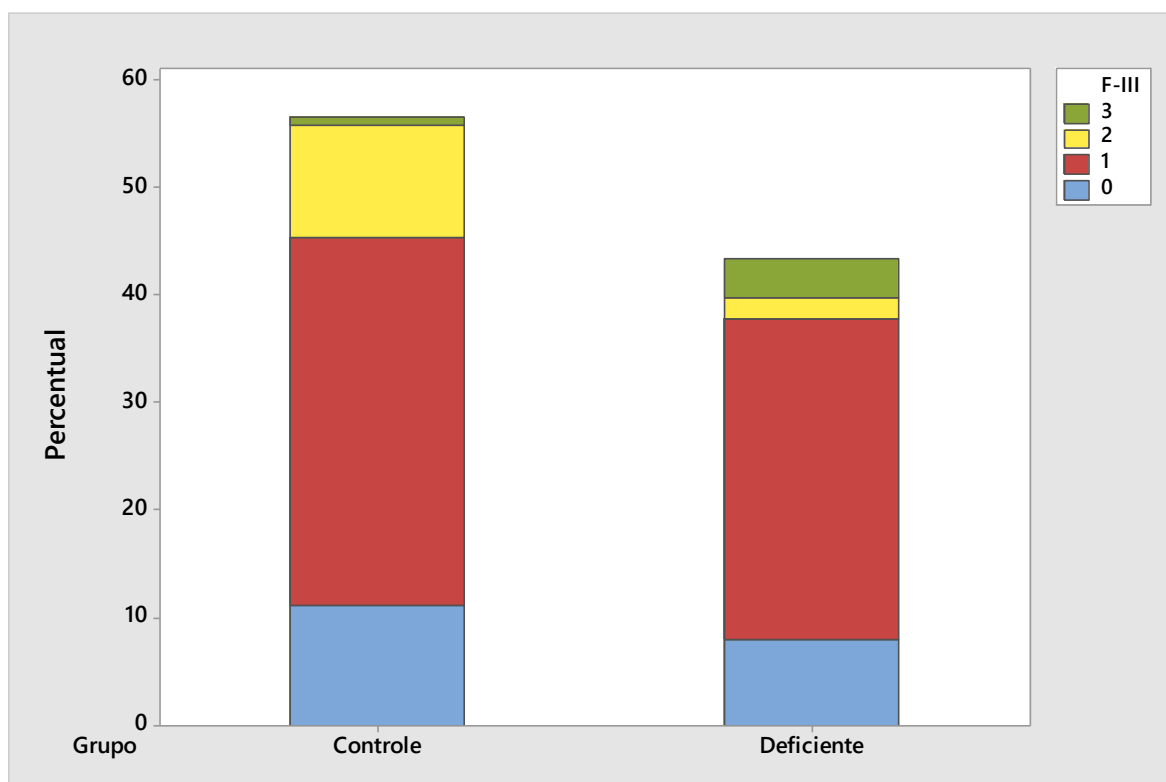
Legenda: (0) Menor que 10 tratos portais. (1) Maior que 10 tratos portais.

As análises da reação inflamatória portal, de acordo com a esquematização da Figura 7 (vide página 35), demonstraram, no grupo Controle, 18 (19,78%) camundongos com arquitetura tecidual totalmente preservada ou normal, 55 (60,44%) com tratos portais alargados, 17 (18,68%) alargados e com septos incompletos e 01 (1,10%) alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente. No grupo Deficiente, 13 (18,57%) camundongos apresentaram uma arquitetura totalmente preservada ou normal, 48 (68,57%) alargados, mas com septos, 03 (4,29%) alargados e com septos incompletos e 06 (8,57%) alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente (Gráfico 3).

A análise estatística demonstrou uma associação significativa da presença de fibrose no trato portal no grupo Controle (18,68%), em relação ao Deficiente (4,29%). Avaliando outros parâmetros, como as semanas de infecção (05, 10 e 20) pode-se observar que na variável que teve diferença estatística (alargados e com septos incompletos), nas cinco primeiras semanas nenhum camundongo apresentou alteração, na décima semana apenas

01 camundongo apresentou a alteração e na vigésima semana 19 camundongos apresentaram alterações.

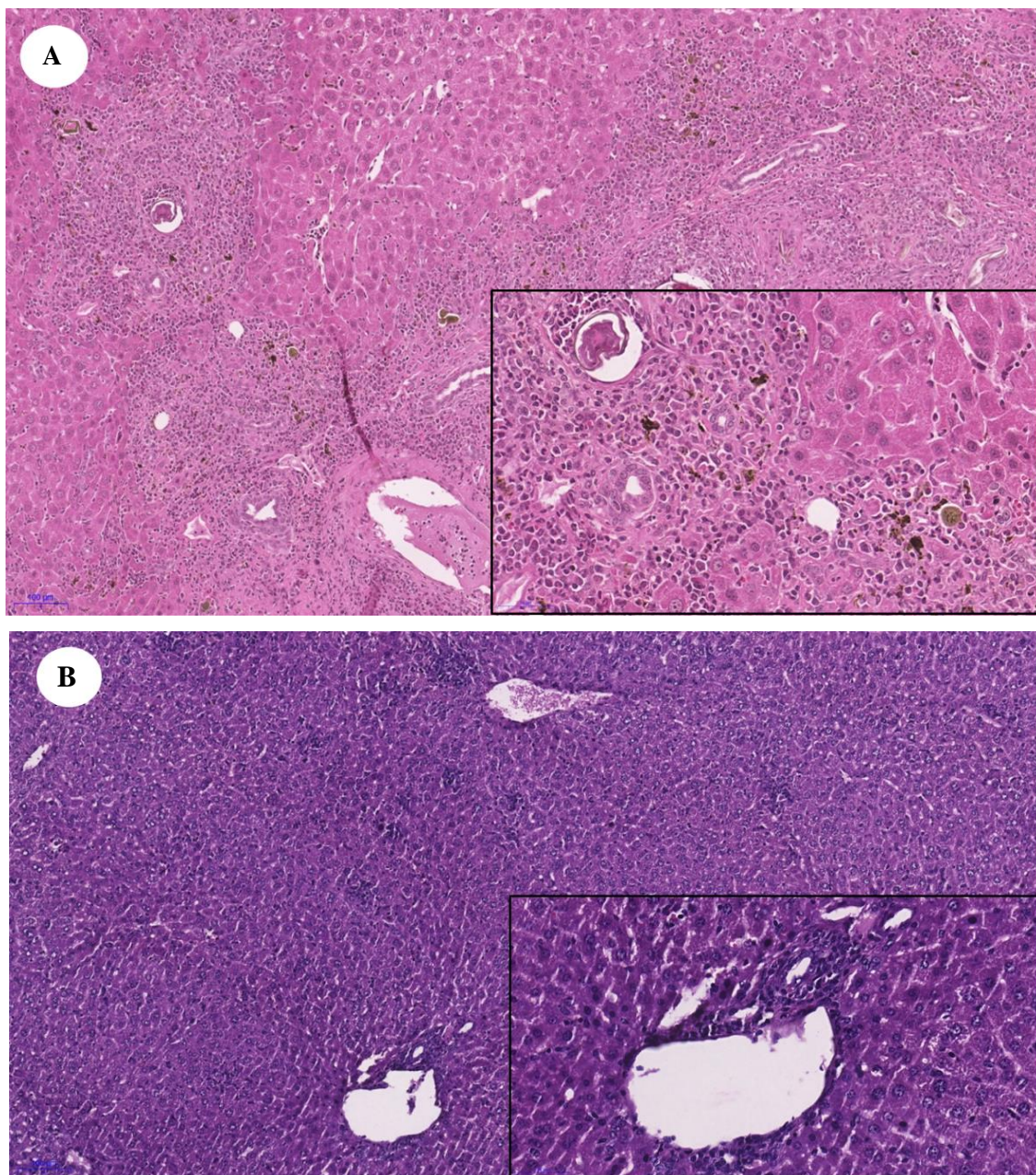
Gráfico 3 - Análise da arquitetura do espaço portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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.

A avaliação da arquitetura do espaço portal no fígado demonstrou no grupo Controle, figura 9 (A), um parênquima hepático com arquitetura alargada e com septos completos ou pontes ou coalescente, com a presença de fibras finas e pigmentos acastanhado, sugestivo de pigmentos esquistossomóticos e de ovos de *S. mansoni*, evidenciando a alteração causada com a presença dos mastócitos. No grupo Deficiente, figura 9 (B), observou-se um parênquima hepático com uma arquitetura alargada, mas sem septos, com focos basofílicos.

Figura 9 - Achados histopatológicos da análise da arquitetura do espaço portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



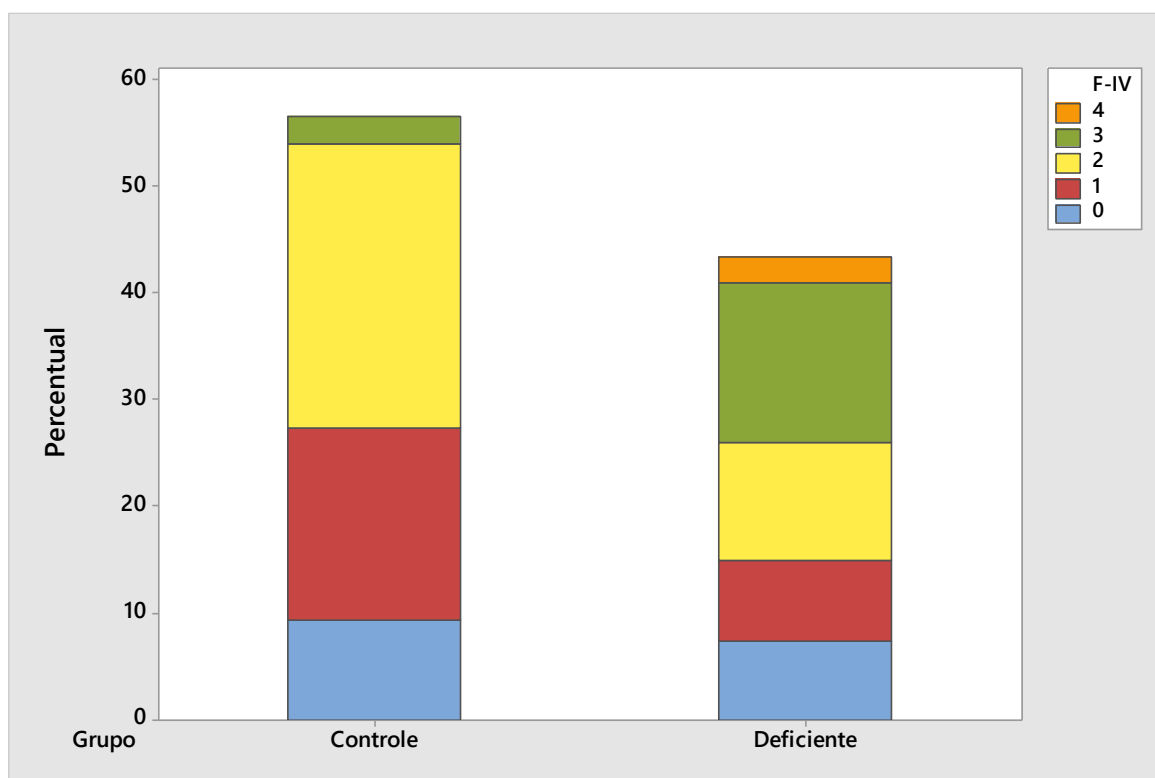
Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a arquitetura do espaço portal no fígado. Em (A) Grupo Controle, tendo como descrição: alargados e com septos completos ou pontes ou coalescente e imagem no aumento de 10x e *insert* de 40x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: alargados, mas sem septos e imagem no aumento de 10x e *insert* de 40x.

Em relação ao infiltrado inflamatório portal, o grupo Controle apresentou 15 (16,48%) dos camundongos sem a presença de infiltrado inflamatório, 29 (31,87%) com infiltrado inflamatório portal discreto, 43 (47,25%) moderado e 04 (4,40%) acentuado. E no grupo Deficiente, 12 (17,14%) não apresentaram infiltrado inflamatório, mas 12 (17,14%)

apresentaram infiltrado inflamatório portal discreto, 18 (25,71%) moderado, 24 (34,29%) acentuado e 04 (5,71%) muito acentuado (Gráfico 4).

Os grupos analisados demonstraram uma associação estatisticamente significativa do grupo Deficiente (34,29%) para o Controle (4,40%), onde os camundongos deficientes em mastócitos mostraram maior atividade inflamatória. Avaliando outros parâmetros, como as semanas de infecção (05, 10 e 20) pode-se observar que na variável que houve diferença estatística (acentuado), nas cinco primeiras semanas 03 camundongos apresentaram de forma acentuada o infiltrado inflamatório, na décima semana 18 camundongos e na vigésima semana 07 camundongos.

Gráfico 4 - Análise do infiltrado inflamatório portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

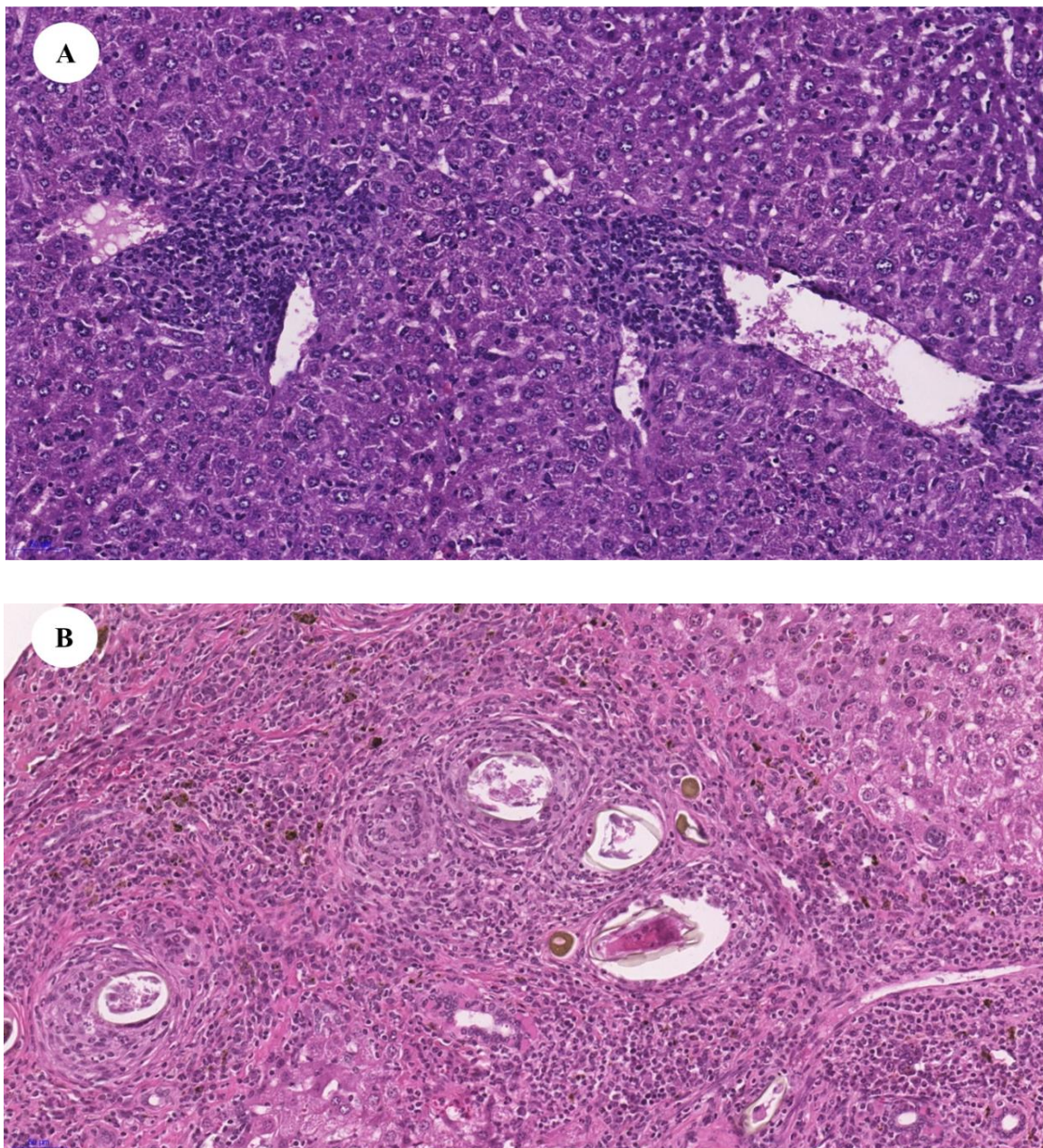


Legenda: (0) Ausente ou escasso. (1) Discreto. (2) Moderado. (3) Acentuado (4) Muito acentuado.

A avaliação do infiltrado inflamatório no fígado demonstrou no parênquima do grupo Controle a presença de áreas mais basofílicas exibindo um infiltrado inflamatório em focos multifocais, figura 10 (A), e no grupo Deficiente o parênquima hepático apresentou um

acentuado infiltrado celular difuso, em relação ao Controle, contendo a presença pigmentos acastanhado, sugerindo ser pigmentos esquistossomóticos e de ovos, figura 10 **(B)**, evidenciando o aumento do infiltrado inflamatório na ausência dos mastócitos.

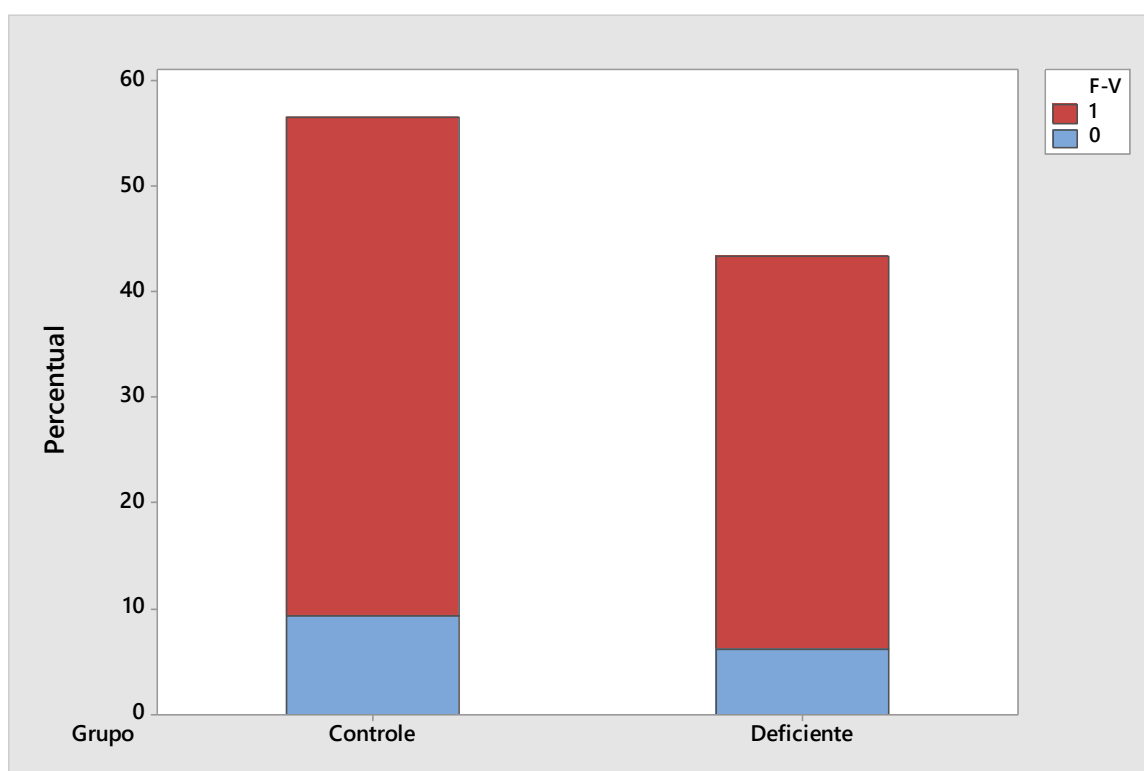
Figura 10 - Achados histopatológicos da análise do infiltrado inflamatório portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando o infiltrado inflamatório no fígado. Em **(A)** Grupo Controle, tendo como descrição: discreto e imagem no aumento de 20x. Em **(B)** Grupo Deficiente, tendo como descrição: acentuado e imagem no aumento de 20x.

Em relação à presença de granuloma, no grupo Controle, 76 (83,52%) dos camundongos apresentaram presença de granuloma e 15 (16,48%) não apresentaram e no grupo Deficiente, 60 (85,71%) apresentaram presença de granuloma e 10 (14,29%) não apresentaram (Gráfico 5). Nos grupos, Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na presença e ausência de granuloma portal, onde 136 (84,47%) dos camundongos apresentaram a presença de granuloma portal e 25 (15,53%) não apresentaram.

Gráfico 5 - Análise da presença de granuloma portal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

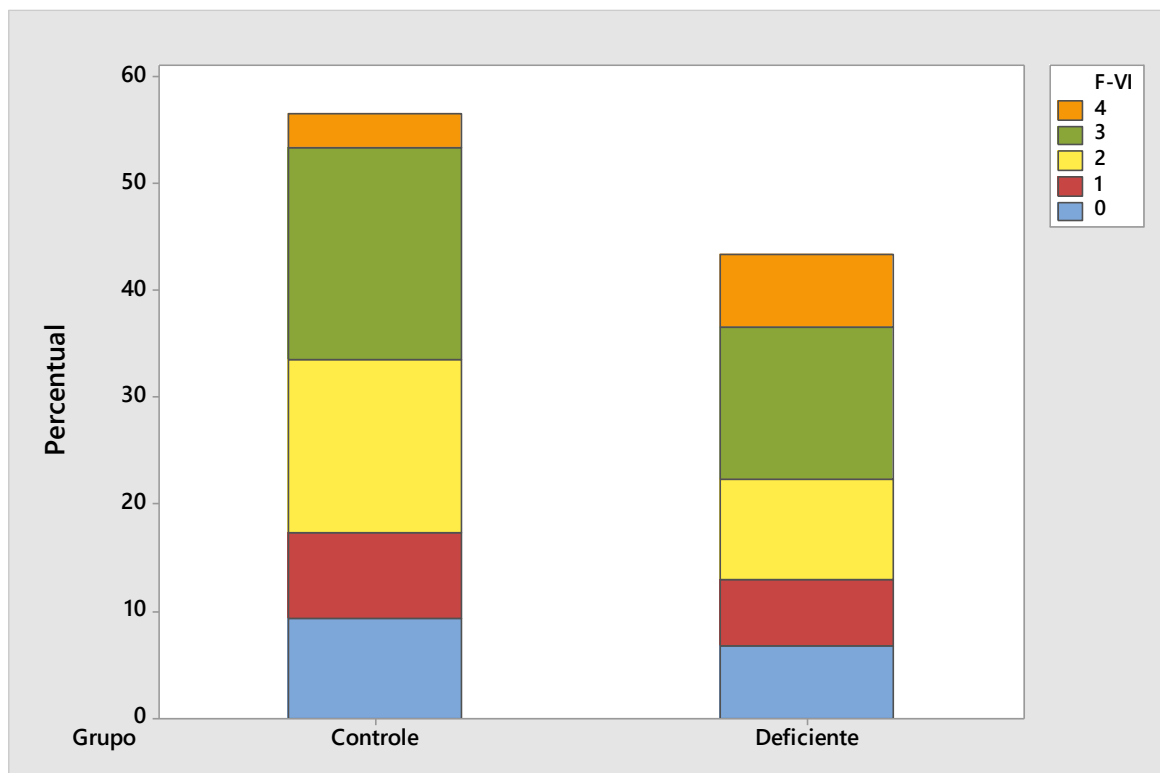


Legenda: (0) Ausente. (1) Presente.

Em relação à quantidade de granulomas, no grupo Controle 15 (16,48%) dos camundongos não apresentaram presença de granuloma, 13 (14,29%) apresentaram raros ou escassos, 26 (28,57%) discretos, 32 (35,16%) moderados e 05 (5,49%) acentuados. E no grupo Deficiente, 11 (15,71%) não apresentaram presença de granuloma, 10 (14,29%) raros ou escassos, 15 (21,43%) discretos, 23 (32,86%) moderados e 11 (15,71%) acentuados

(Gráfico 6). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na quantidade de granuloma portal, onde 55 (34,16%) dos camundongos apresentaram uma quantidade moderada de granulomas.

Gráfico 6 - Análise da quantidade de granulomas no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

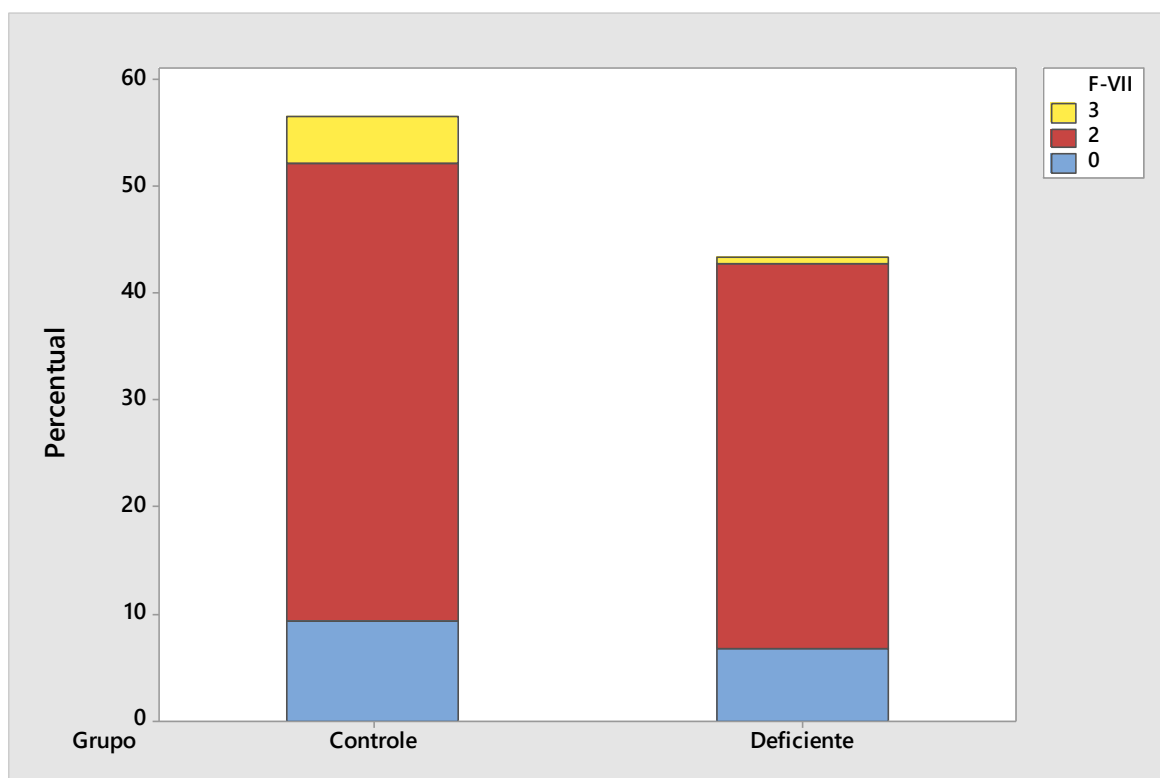


Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Rara ou escassa. (2) Discreta. (3) Moderada. (4) Acentuada. (5) Muito acentuada.

A análise da constituição dos granulomas presentes no fígado, no grupo Controle, 69 (75,82%) camundongos apresentaram como constituição dos granulomas linfócitos, macrófagos e eosinófilos e 07 (7,69%) linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. E no grupo Deficiente 58 (82,86%) apresentaram como constituição dos granulomas linfócitos, macrófagos e eosinófilos e 01 (1,43%) linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. E 15 (16,48%) e 11 (15,71%) dos camundongos não apresentaram presença de granuloma no grupo Controle e Deficiente, respectivamente (Gráfico 7). Não foram observadas diferenças estatísticas no grupo Controle e Deficiente na constituição dos

granulomas portais entre os grupos, onde 127 (78,88%) dos camundongos apresentaram a mesma constituição dos granulomas (linfócitos, macrófagos e eosinófilos).

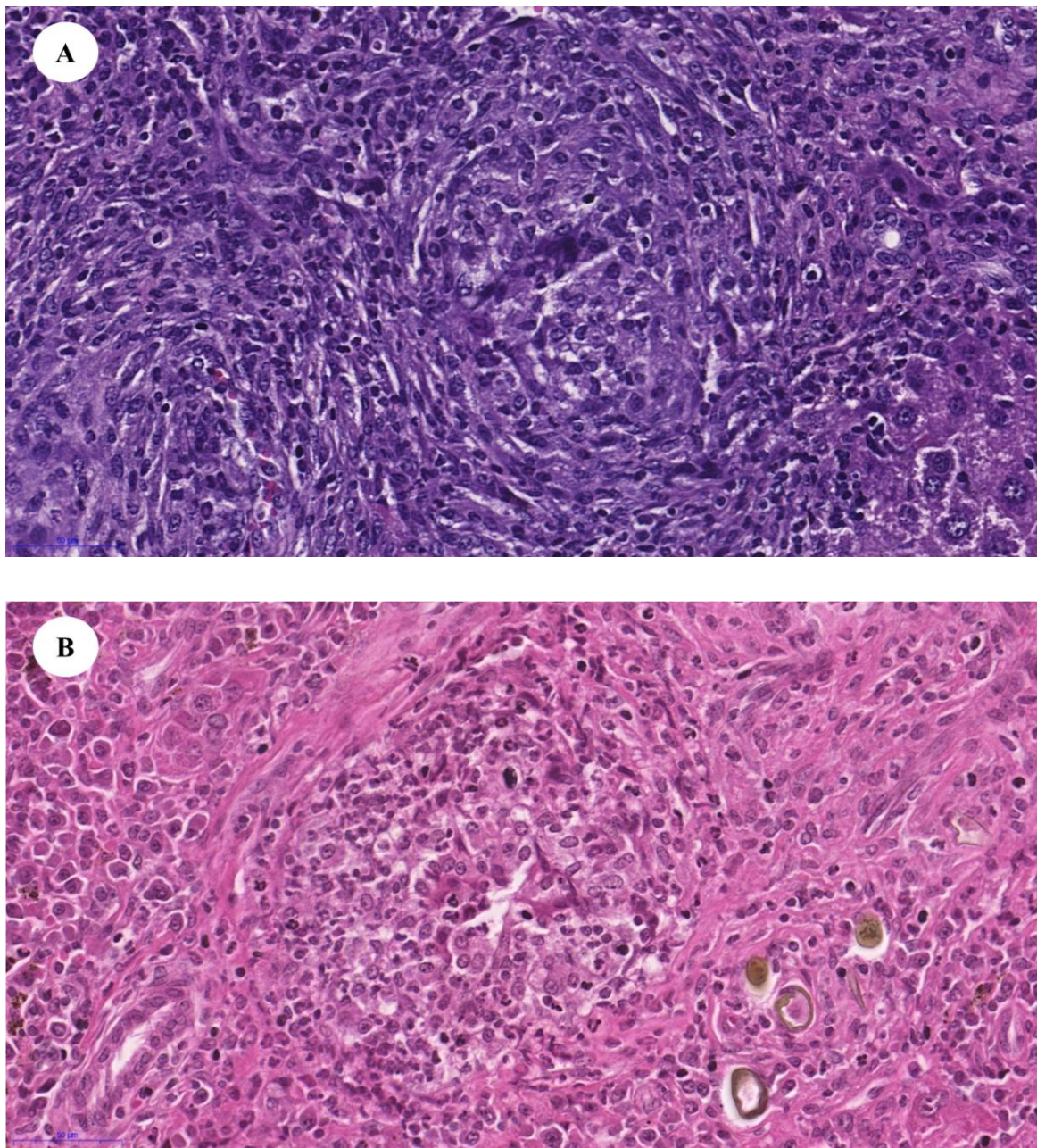
Gráfico 7 - Análise da constituição dos granulomas no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Somente linfócitos e macrófagos (2) Linfócitos, macrófagos e eosinófilos. (3) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. (4) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes. (5) Todas as anteriores e outras células.

A avaliação da constituição dos granulomas presentes no fígado indicou pela morfologia celular que no grupo Controle continha linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos demonstrado na Figura 11 (A). E no grupo Deficiente linfócitos, macrófagos e eosinófilos demonstrado na Figura 11 (B).

Figura 11 - Análise da constituição do granuloma no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

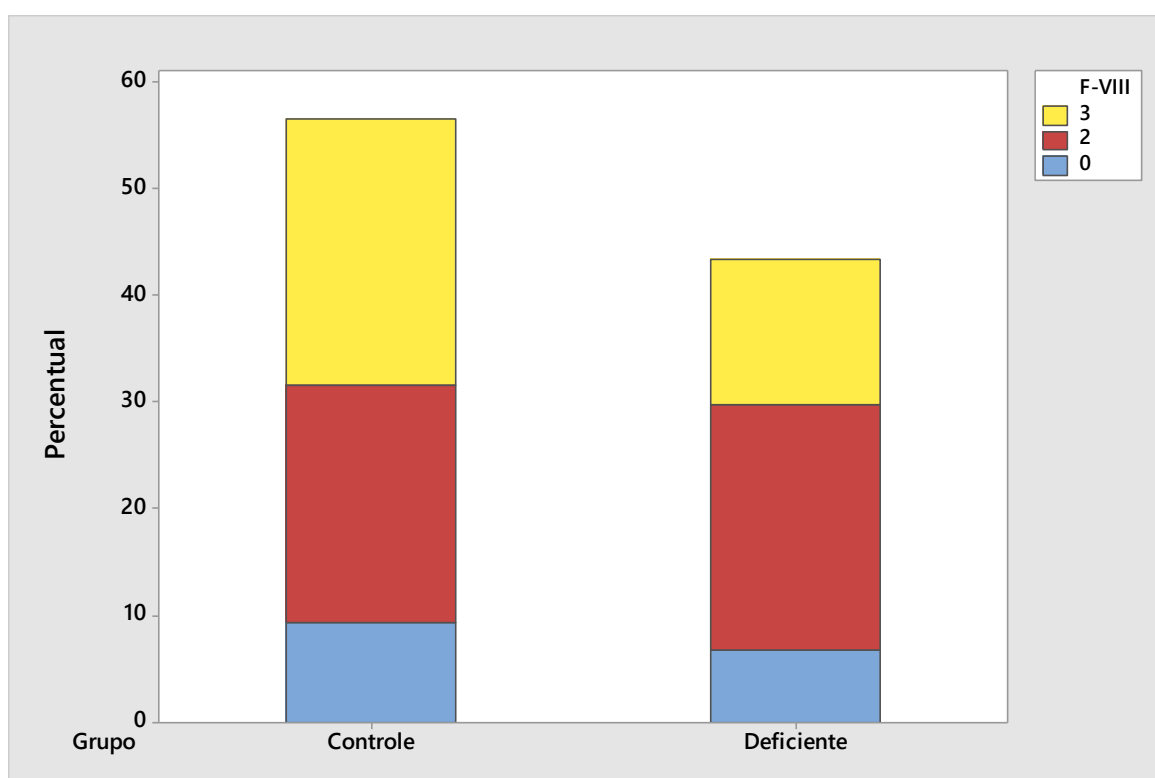


Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a constituição do granuloma no fígado. Em (A) Grupo Controle, tendo como descrição: linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos e imagem no aumento de 40x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: linfócitos, macrófagos e eosinófilos e imagem no aumento de 40x.

Em relação à fase do granuloma, no grupo Controle, 36 (39,56%) tiveram o granuloma precoce e 40 (43,96%) avançado, no grupo Deficiente 37 (52,86%) precoce e 22 (31,43%)

avanzado. 15 (16,48%) e 11 (15,71%) dos camundongos não apresentaram presença de granuloma no grupo Controle e Deficiente, respectivamente (Gráfico 8). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas nas fases dos granulomas portais, onde 73 (45,34%) dos camundongos apresentaram como precoce a fase do granuloma.

Gráfico 8 - Análise da fase do granuloma no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

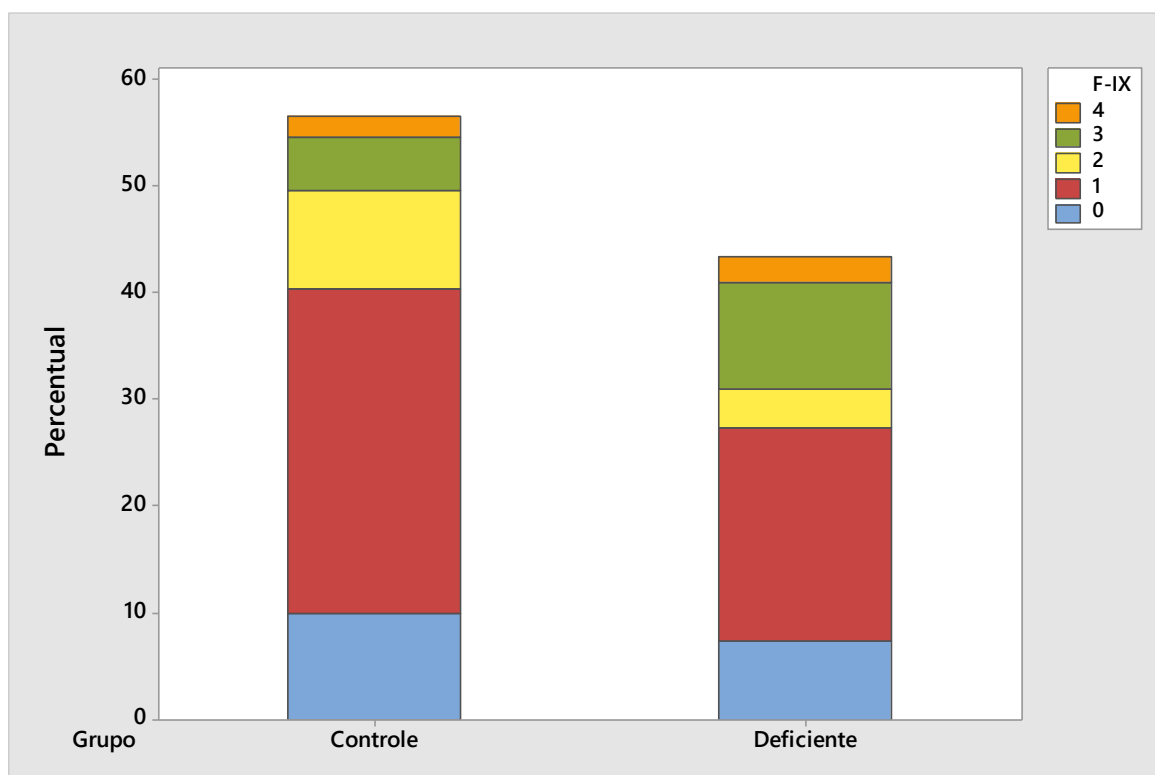


Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Exsudativa. (2) Precoce. (3) Avanzado. (4) Fibrótico.

A análise da atividade inflamatória periportal demonstrou no grupo Controle 49 (58,85%) dos camundongos com extravasamento de linfócitos, 15 (16,48%) necrose saca-bocado discreta, 08 (8,79%) moderada e 03 (3,30%) acentuada. E no grupo Deficiente, 32 (45,71%) com extravasamento de linfócitos, 06 (8,57%) necrose saca-bocado discreta, 16 (22,86%) moderada e 04 (5,71%) acentuada. 16 (17,58%) e 12 (17,14%) camundongos não apresentaram grau de inflamação, no grupo Controle e Deficiente, respectivamente (Gráfico 9). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas

significativas na atividade inflamatória periportal, onde 81 (50,31%) camundongos apresentaram extravasamento de linfócitos.

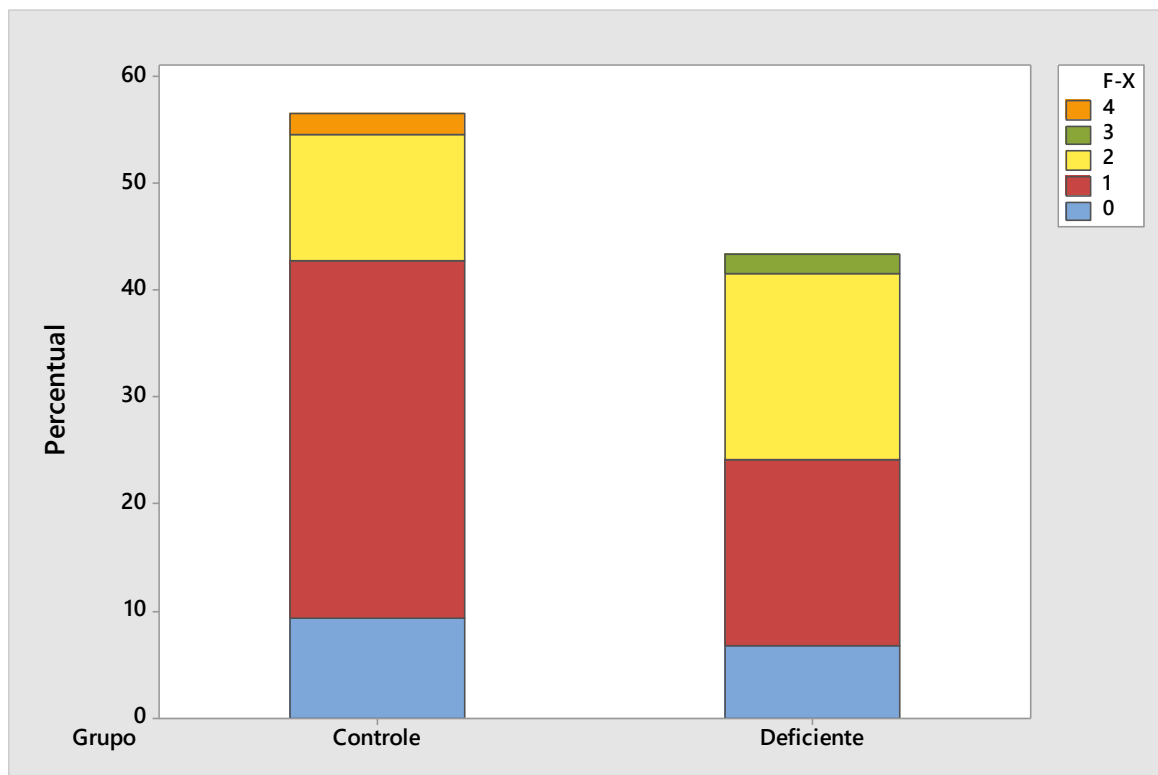
Gráfico 9 - Análise da atividade inflamatória periportal no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Nenhuma atividade periportal. (1) Extravasamento de linfócitos. (2) Necrose saca-bocado discreta. (3) Necrose saca-bocado moderada. (4) Necrose saca-bocado acentuada.

A análise da atividade inflamatória no parênquima indicou que, no grupo Controle, 54 (59,34%) dos camundongos demonstraram uma atividade discreta e focal, 19 (20,88%) uma necrose focal em vários sítios, 03 (3,30%) uma necrose focal extensa e 15 (16,48%) não apresentaram atividade inflamatória no parênquima. No grupo Deficiente, 28 (40%) dos camundongos demonstraram uma atividade discreta e focal, 28 (40%) uma necrose focal em vários sítios, 03 (4,29%) uma necrose focal e confluyente e 11 (15,71%) não apresentaram atividade inflamatória no parênquima (Gráfico 10). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na atividade inflamatória no parênquima, onde 82 (50,93%) dos camundongos apresentaram atividade discreta e focal.

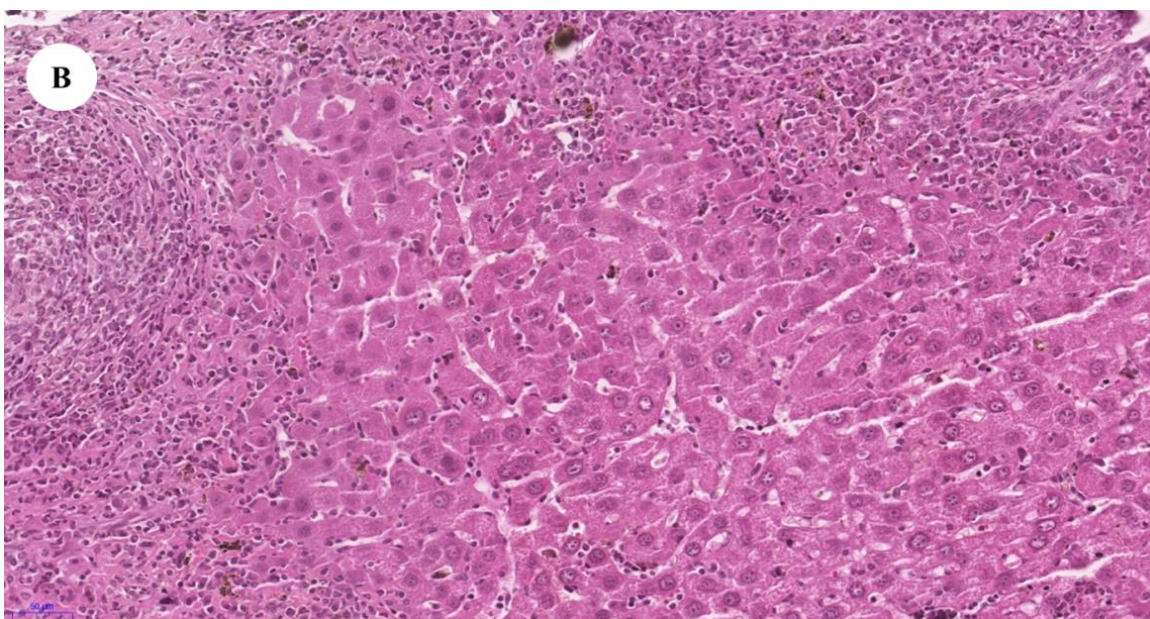
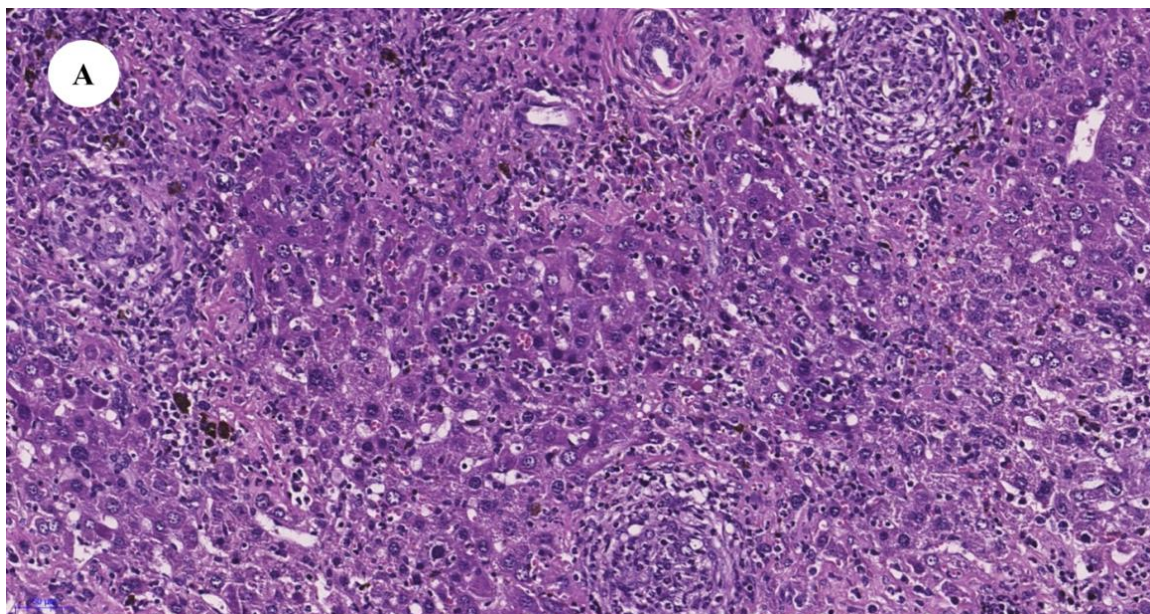
Gráfico 10 - Análise da atividade inflamatória no parênquima no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Nenhuma atividade intralobular. (1) Atividade discreta e focal. (2) Necrose focal em vários sítios. (3) Necrose focal e confluyente. (4) Necrose focal extensa.

A avaliação da atividade inflamatória periportal e no parênquima do fígado, demonstrou no grupo Controle, figura 12 (A), necrose saca-bocado acentuado, com penetração de células inflamatórias entre os hepatócitos e necrose focal extensa no espaço periportal e parênquima, respectivamente, e a presença de pigmentos acastanhados (esquistossomóticos). E no grupo Deficiente, figura 12 (B), necrose saca-bocado discreta e necrose focal em vários sítios no espaço periportal e parênquima, respectivamente, apresentando menor intensidade.

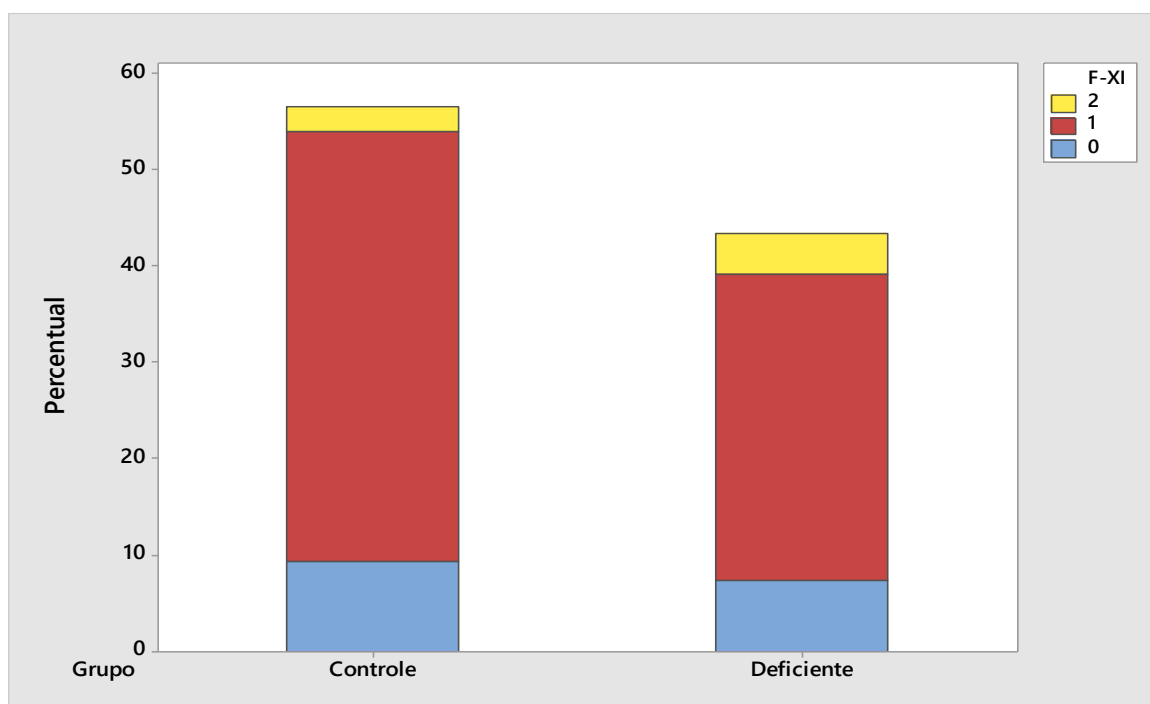
Figura 12 - Achados histopatológicos da análise da atividade inflamatória periportal e no parênquima do fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a atividade inflamatória periportal e no parênquima do fígado. Em (A) Grupo Controle, tendo como descrição: necrose saca-bocado acentuado e necrose focal extensa no espaço periportal e parênquima, respectivamente e imagem no aumento de 40x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: necrose saca-bocado discreta e necrose focal em vários sítios no espaço periportal e parênquima, respectivamente e imagem no aumento de 40x.

Na medida em que os granulomas se desenvolvem os ovos de *S. mansoni* perdem a sua viabilidade, descrevendo assim a viabilidade dos ovos presentes no fígado, em que no grupo Controle 72 (79,12%) dos camundongos demonstraram ovos viáveis e 04 (4,40%) ovos inviáveis, no grupo Deficiente, 51 (72,86%) dos camundongos demonstraram ovos viáveis e 07 (10%) ovos inviáveis. 15 (16,48%) e 12 (17,14%) dos camundongos não continham ovos de *S. mansoni* no grupo Controle e Deficiente, respectivamente (Gráfico 11). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na viabilidade dos ovos, sendo que em 123 (76,40%) dos camundongos apresentaram a maioria dos ovos viáveis.

Gráfico 11 - Análise da viabilidade dos ovos no fígado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

As análises histopatológicas das amostras de fígado dos animais não infectados demonstraram a arquitetura hepática totalmente preservada ou normal, número de tratos portais superior a 10, tratos portais totalmente preservados ou normais e ausência do infiltrado inflamatório portal. Essas amostras também não apresentaram granulomas portais ou intralobulares e, conseqüentemente, ausência de atividade inflamatória

periportal, de atividade inflamatória no parênquima e de ovos de *S. mansoni*. Entre essas amostras de animais não infectados, cinco não apresentaram a estrutura do fígado para as análises histopatológicas completas. Na tabela 01, encontra-se descrita as principais alterações observadas na análise das variáveis no fígado.

Tabela 1: Principais alterações descritas na análise das variáveis no fígado

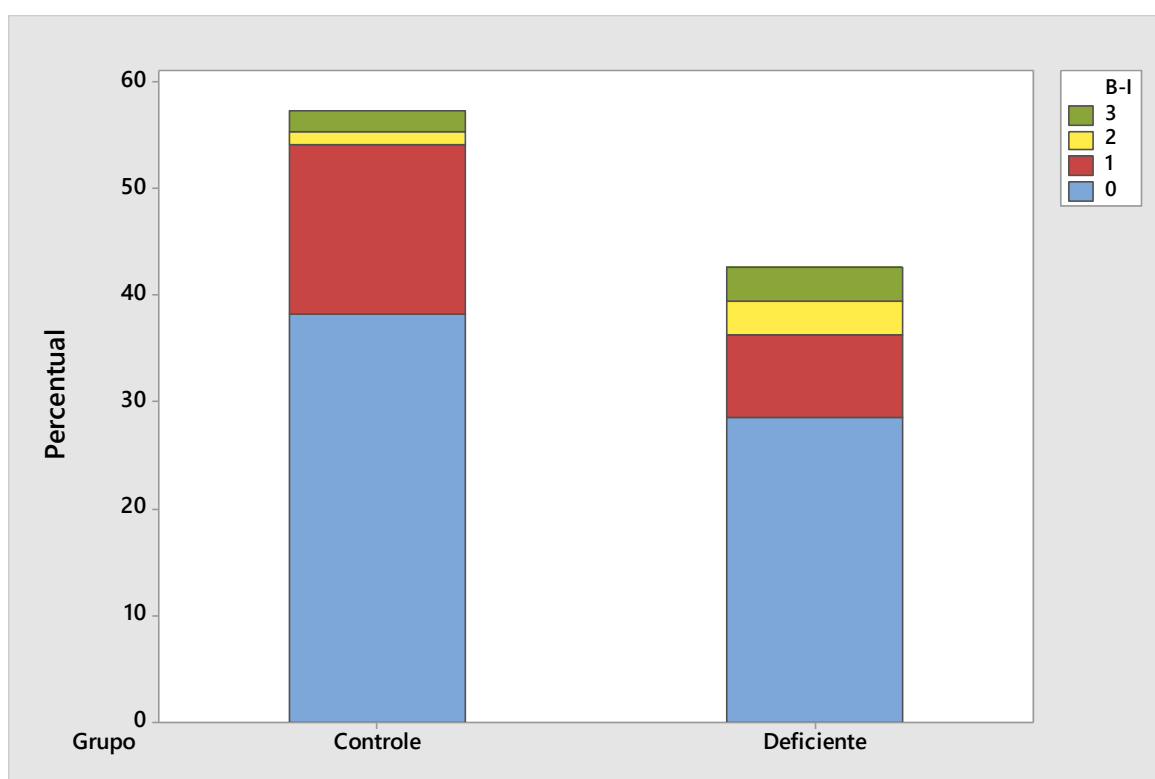
Fígado	Resultado
Estrutura do órgão	Maior % com estrutura parcialmente alterada
Número de tratos portais	Maior % com número de tratos portais maior que 10
Arquitetura do espaço portal	Maior % com arquitetura do espaço portal alargados, mas sem septos. Apresentando diferença estatística significativa entre os grupos na análise da descrição alargados e com septos incompletos
Infiltrado inflamatório portal	Maior % com infiltrado inflamatório portal moderado. Apresentando diferença estatística significativa entre os grupos na análise da descrição acentuado
Presença de granuloma portal	Presença de granuloma em maior % dos camundongos
Quantidade de granuloma	Maior % com moderadas quantidades de granuloma no fígado
Constituição dos granulomas	Maior % dos granulomas constituídos de linfócitos, macrófagos e eosinófilos.
Fase do granuloma	Maior % com granulomas em fase precoce
Atividade inflamatória periportal	Maior % com extravasamento de linfócitos na atividade inflamatória periportal
Atividade inflamatória no parênquima	Maior % com atividade inflamatória no parênquima hepático discreta e focal
Viabilidade dos ovos	Maioria viável

Fonte: Elaborada pela autora.

5.2. Alterações Esplênicas

A análise da estrutura do baço demonstrou, no grupo Controle, 60 (66,67%) dos camundongos com uma estrutura totalmente preservada ou normal, 25 (27,78%) parcialmente alterada, 02 (2,22%) moderadamente alterada e 03 (3,33%) muito alterada. No grupo Deficiente, 45 (67,16%) dos camundongos apresentaram uma estrutura totalmente preservada ou normal, 12 (17,91%) parcialmente alterada, 05 (7,46%) moderadamente alterada e 05 (7,46%) muito alterada (Gráfico 12). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na estrutura do baço, já que 105 (66,88%) dos camundongos apresentaram a estrutura totalmente preservada ou normal.

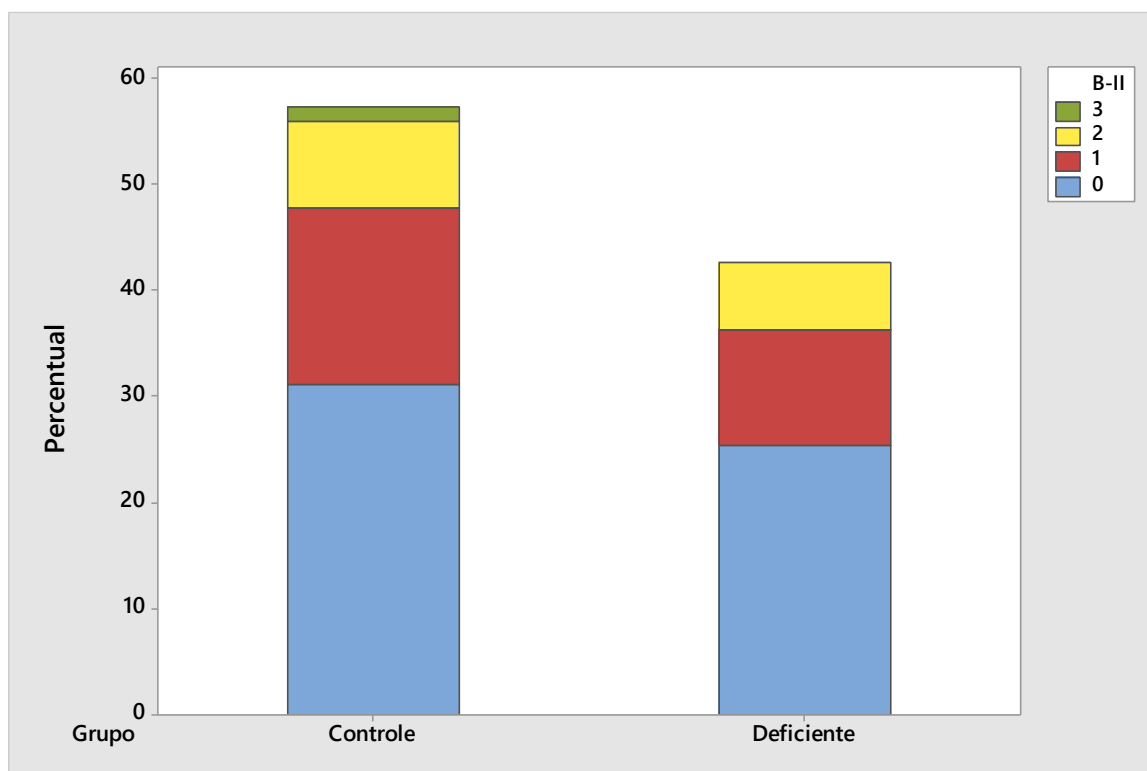
Gráfico 12 - Análise da estrutura do baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

A análise da polpa vermelha do baço dos camundongos do grupo Controle demonstrou que 49 (54,44%) se encontrava imatura, 26 (28,89%) discretamente congesta, 13 (14,44%) moderadamente congesta e 2,22% acentuadamente congesta. No grupo Deficiente, em 40 (59,70%) camundongos a polpa vermelha se encontrava imatura, 17 (25,37%) discretamente congesta e 10 (14,93%) moderadamente congesta (Gráfico 13). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na estrutura da polpa vermelha do baço, onde 89 (56,69%) dos camundongos apresentaram a polpa vermelha imatura.

Gráfico 13 - Análise da polpa vermelha do baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

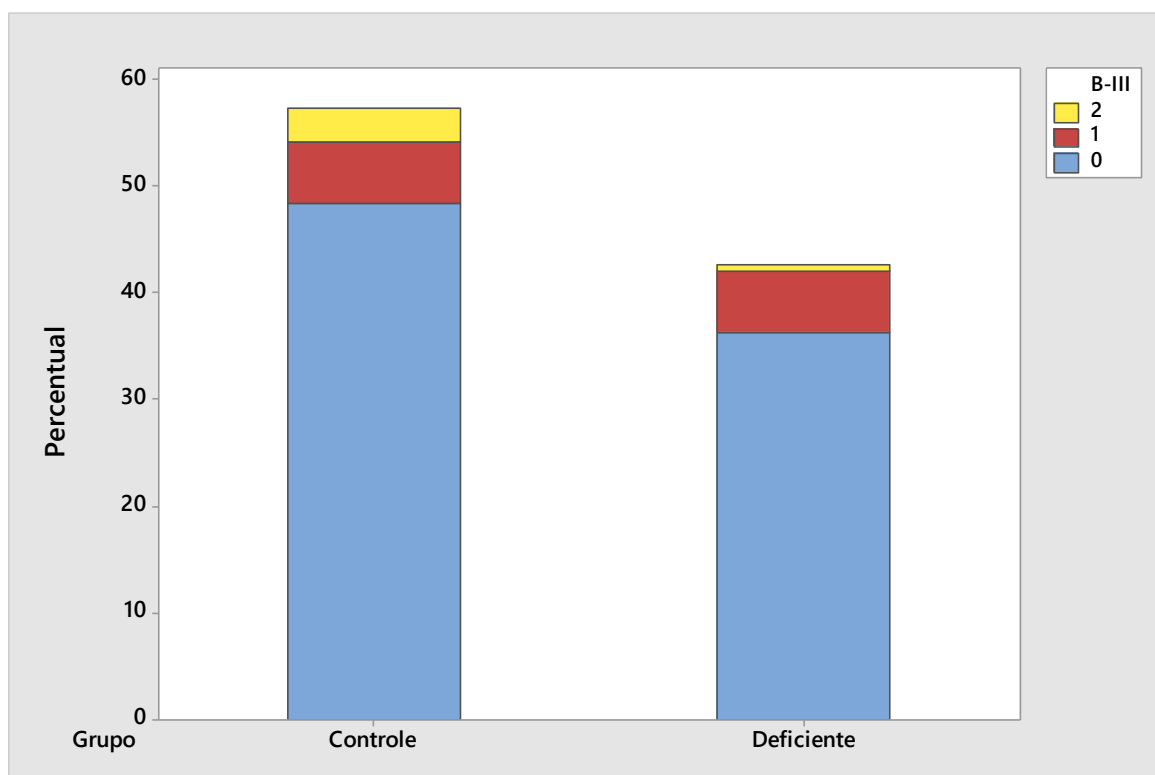


Legenda: (0) Imaturo. (1) Discretamente congesta. (2) Moderadamente congesta. (3) Acentuadamente congesta.

A análise da polpa branca no grupo Controle mostrou que 76 (84,44%) dos camundongos não apresentaram alterações, 09 (10%) apresentaram discreta hiperplasia e 05 (5,56%) moderada. No grupo Deficiente, 57 (85,07%) não apresentaram alterações, 09 (13,43%) discreta hiperplasia e 01 (1,49%) moderada (Gráfico 14). No grupo Controle e Deficiente,

não foram observadas diferenças estatísticas significativas na estrutura da polpa branca do baço, onde 133 (84,71%) dos camundongos apresentaram a polpa branca sem alteração.

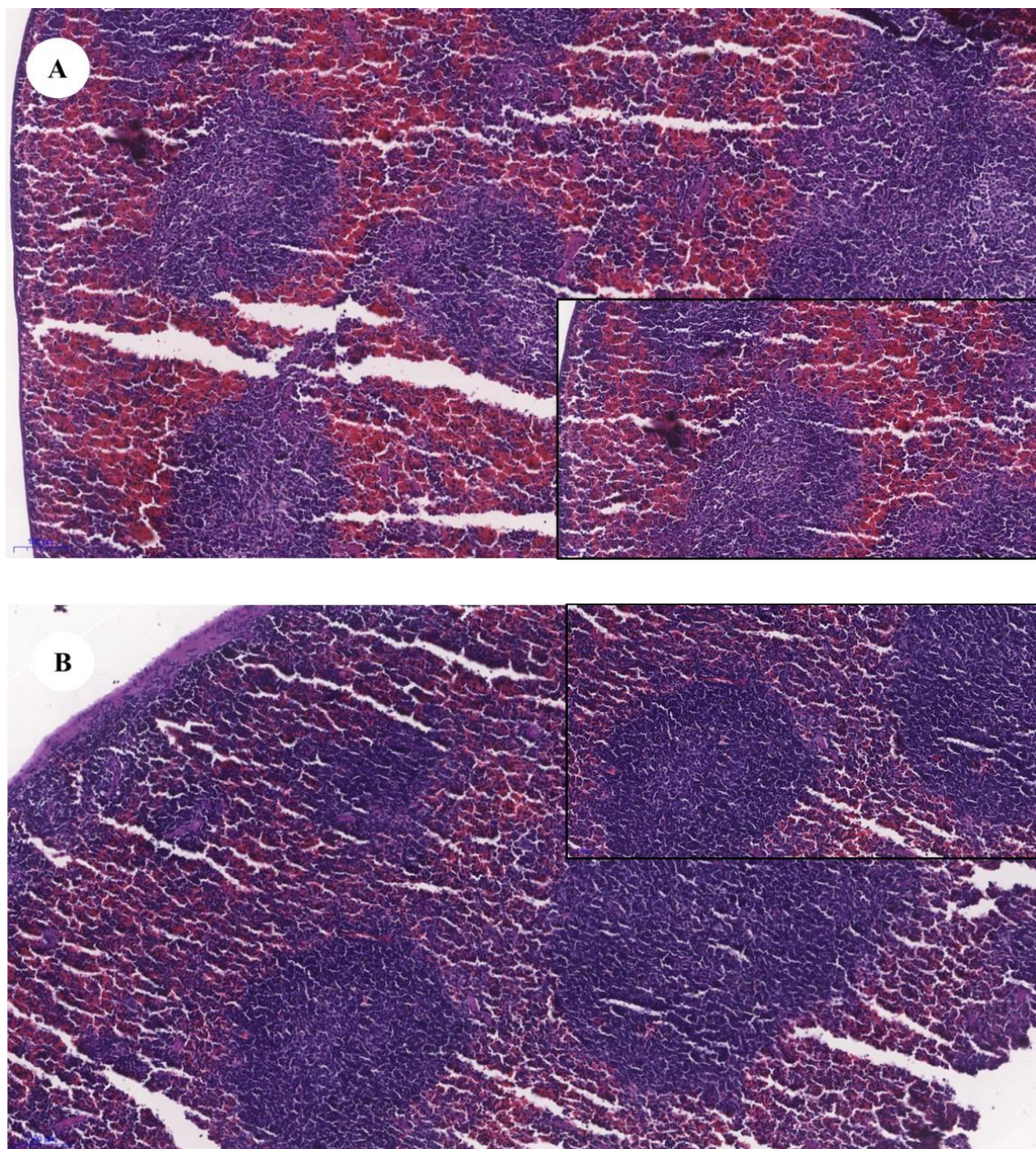
Gráfico 14 - Análise da polpa branca do baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Sem alterações. (1) Discretamente hiperplásica. (2) Moderadamente hiperplásica. (3) Acentuadamente hiperplásica.

A avaliação da estrutura histológica do baço demonstrou no grupo Controle, figura 13 (A), a sua polpa esplênica muito alterada, com acentuada congestão na polpa vermelha e hiperplasia na polpa. No grupo Deficiente, figura 13 (B), o parênquima esplênico demonstrou-se moderadamente alterado, contendo moderados pontos esbranquiçados hiperplásicos referente a polpa branca e pontos congestos referente a polpa vermelha.

Figura 13 - Achados histopatológicos do baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

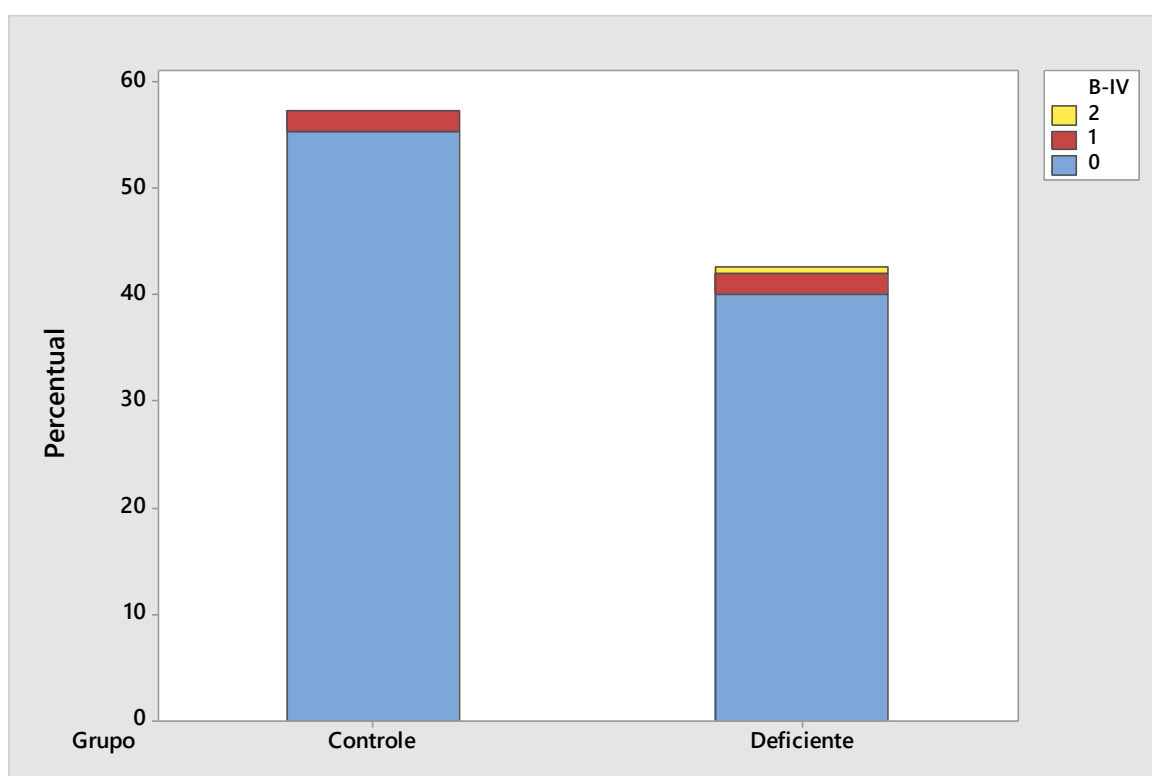


Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a alteração da estrutura no baço, a polpa vermelha e branca. Em (A) Grupo Controle, tendo como descrição: muito alterada para a estrutura, acentuadamente congesta e hiperplásica para polpa vermelha e branca, respectivamente e imagem no aumento de 10x e *insert* de 20x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: moderadamente alterada, congesta e hiperplásica para estrutura, polpa vermelha e branca, respectivamente e imagem no aumento de 10x e *insert* de 20x.

Em relação à quantidade de granulomas esplênicos, pode-se observar que no grupo Controle 87 (96,67%) dos camundongos não apresentaram granulomas e 03 (3,33%)

apresentaram raros ou escassos. No grupo Deficiente, 63 (94,03%) não apresentaram granulomas, 03 (4,48%) apresentaram de forma rara ou escassa e 01 (1,49%) discreta (Gráfico 15). Em tais grupos, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na quantidade de granulomas no baço, onde 150 (95,54%) dos camundongos não apresentaram granulomas.

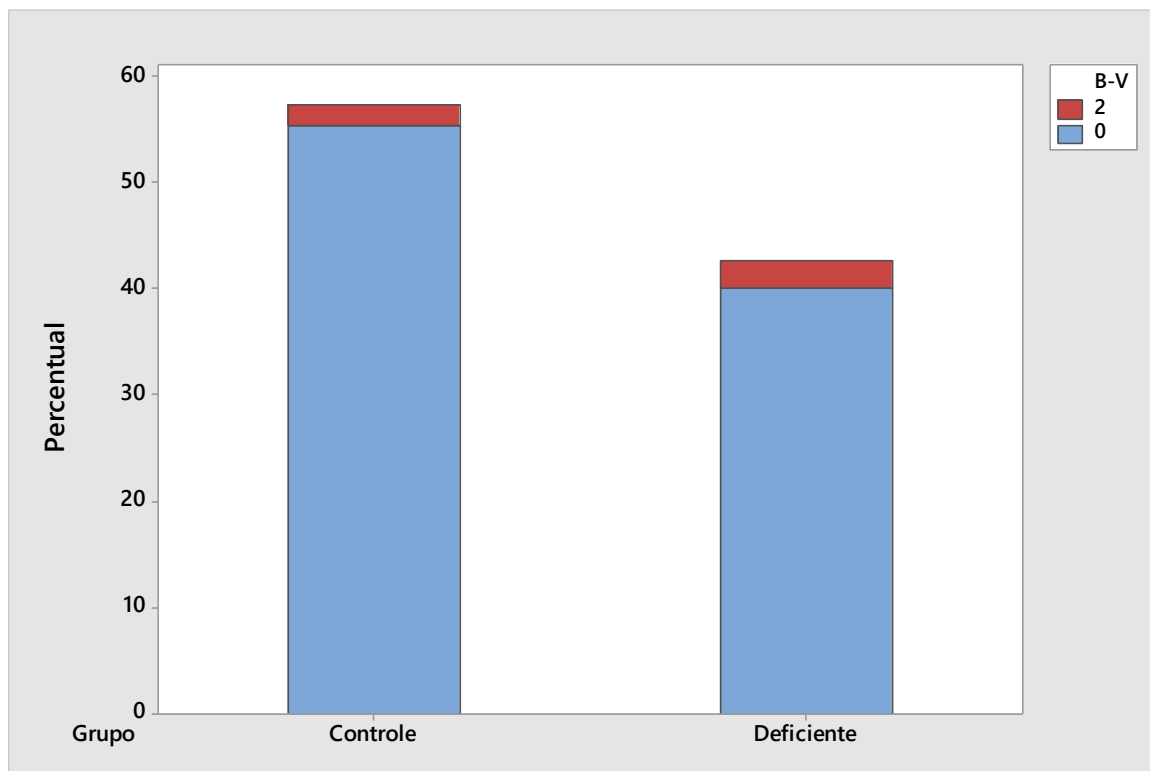
Gráfico 15 - Análise da quantidade de granulomas esplênicos nos camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

Ao avaliarmos a constituição dos granulomas no baço observamos que no grupo Controle 87 (96,67%) não apresentaram granulomas e apenas 03 (3,33%) apresentaram como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos. No grupo Deficiente, 63 (94,03%) não apresentaram granulomas e 04 (5,97%) apresentaram como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos (Gráfico 16). Em ambos os grupos, os camundongos apresentaram como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos, sendo 07 (4,46%), não demonstrando diferenças estatísticas significativas entre o grupo Controle e Deficiente.

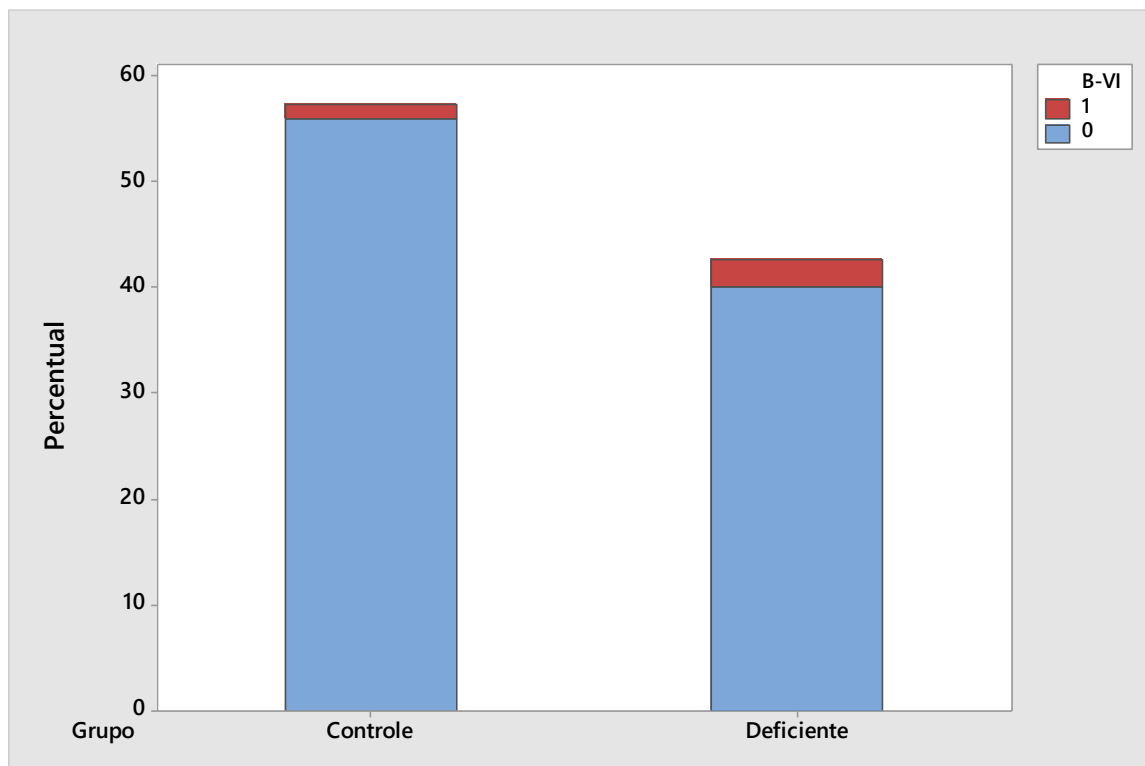
Gráfico 16 - Análise da constituição dos granulomas no baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Somente linfócitos e macrófagos (2) Linfócitos, macrófagos e eosinófilos. (3) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. (4) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes. (5) Todas as anteriores e outras células.

Ao avaliarmos a viabilidade dos ovos de *S. mansoni* presentes no baço, notamos que no grupo Controle 88 (97,78%) dos camundongos não tinham ovos e 02 (2,22%) encontrou-se ovos viáveis. No grupo Deficiente, 63 (94,03%) não havia ovos e 04 (5,97%) encontrou-se ovos viáveis (Gráfico 17). Em 151 (96,18%) dos camundongos não foram encontrados ovos de *S. mansoni* e 06 (3,82%) apresentaram ovos viáveis, não demonstrando diferença estatística significativa entre o grupo Controle e Deficiente.

Gráfico 17 - Análise da viabilidade dos ovos no baço de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

As análises histopatológicas dos animais que não foram infectados demonstraram à estrutura do baço totalmente preservada ou normal, a polpa vermelha imatura, a polpa branca sem alterações, ausência de granuloma e ovos de *S. mansoni*. Das amostras analisadas, nove não tinham a estrutura do baço para realizar a análise histopatológica descrita. Na tabela 02, encontra-se descrita as principais alterações observadas na análise das variáveis no baço.

Tabela 2: Principais alterações descritas na análise das variáveis no baço

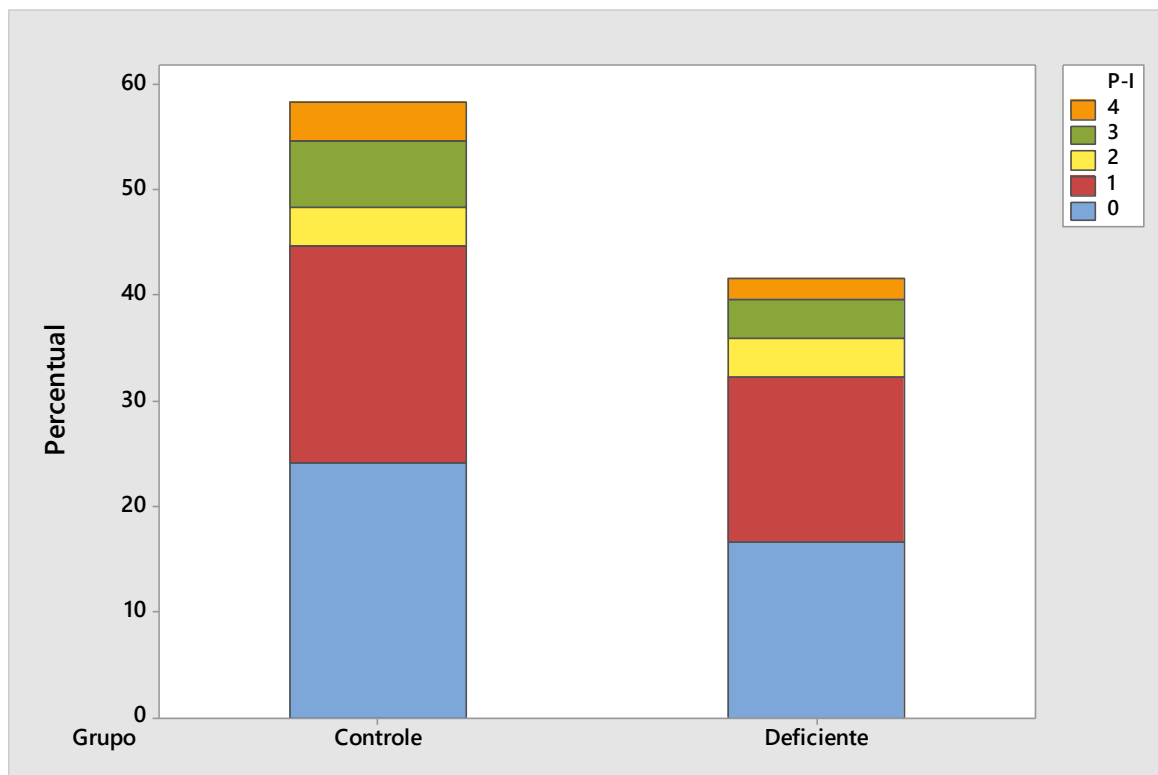
Baço	Resultado
Estrutura do órgão	Maior % com estrutura totalmente preservada ou normal
Polpa Vermelha	Maior % imatura
Polpa Branca	Maior % sem alterações
Quantidade de granuloma	Maior % com ausência de granuloma
Constituição dos granulomas	Todos os granulomas presentes foram constituídos de linfócitos, macrófagos e eosinófilos.
Viabilidade dos ovos	Maioria viável

Fonte: Elaborada pela autora.

5.3. Alterações Pulmonares

No grupo Controle, 39 (41,49%) camundongos apresentaram a sua estrutura totalmente preservada, os demais demonstraram pelo menos uma alteração, sendo 33 (35,11%) parcialmente, 06 (6,38%) moderadamente, 10 (10,64%) muito e 06 (6,38%) totalmente. No grupo Deficiente, 27 (40,30%) camundongos apresentaram a estrutura do pulmão totalmente preservada ou normal, 25 (37,31%) parcialmente alterada, 06 (8,96%) moderadamente alterada, 06 (8,96%) muito alterada e 03 (4,48%) totalmente alterada (Gráfico 18). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na estrutura do pulmão, onde 66 (40,99%) dos camundongos apresentaram a estrutura totalmente preservada ou normal.

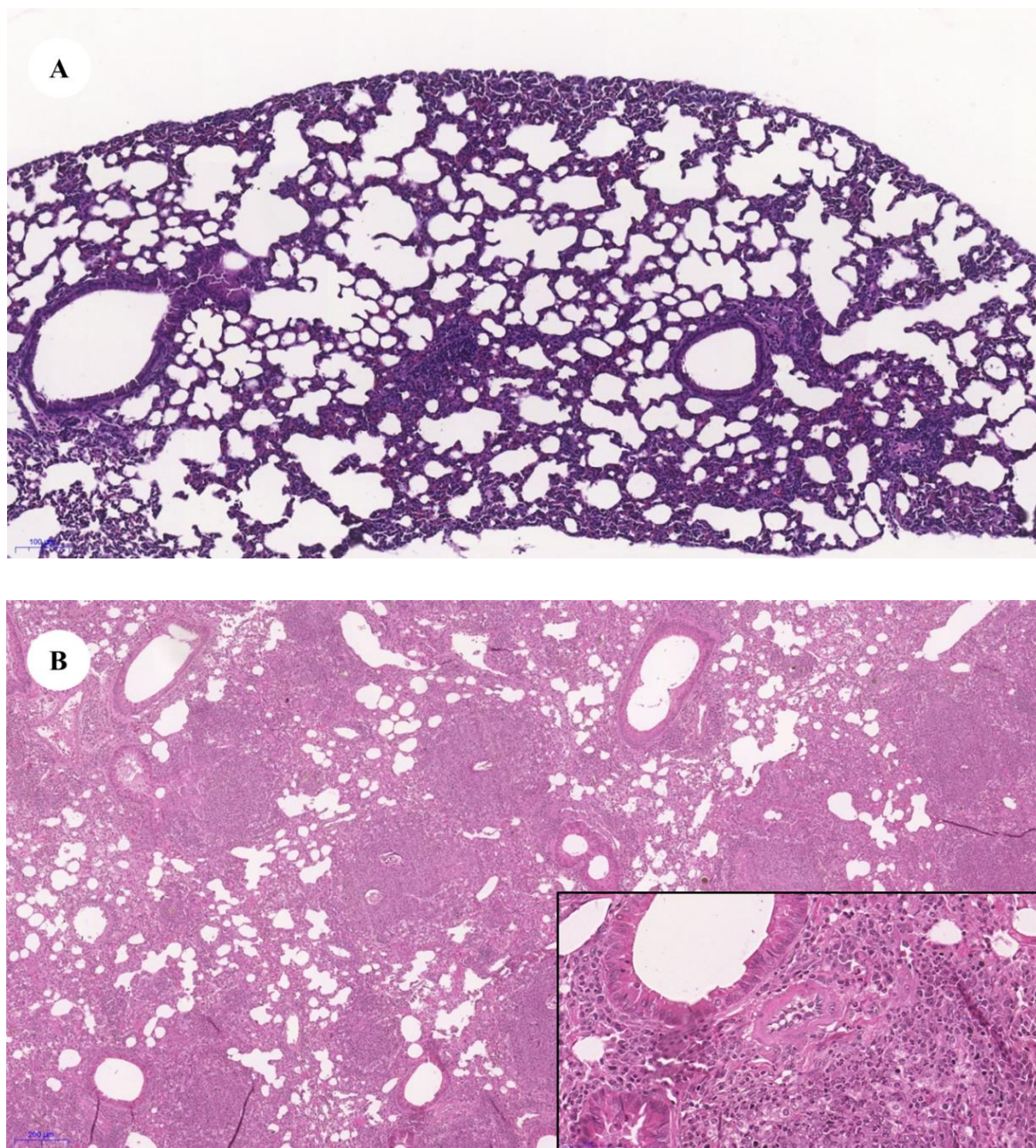
Gráfico 18 - Análise da estrutura do pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

A avaliação da estrutura dos pulmões, observou-se em menor aumento, no grupo Controle, figura 14 (A), a sua estrutura parcialmente alterada, com espessamento dos septos alveolar e diminuição dos alvéolos. No grupo Deficiente, figura 14 (B), uma estrutura muito alterada, observando-se um espessamento dos septos alveolar de forma difusa, com diminuição dos alvéolos e a presença de um infiltrado inflamatório, com neoformação de vasos sanguíneos.

Figura 14 - Achados histopatológicos da estrutura do pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

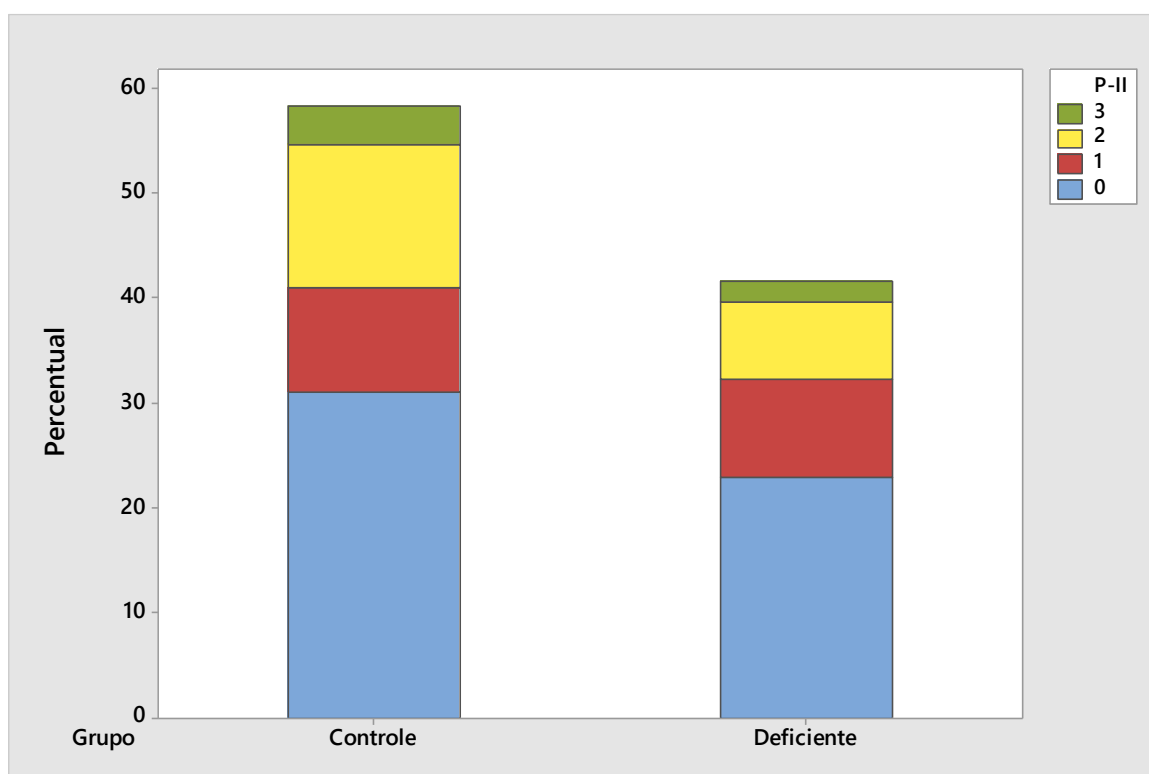


Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a alteração da estrutura no pulmão. Em (A) Grupo Controle, tendo como descrição: parcialmente alterada e imagem no aumento de 10x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: muito alterada e imagem no aumento de 5x e *insert* de 40x.

Os camundongos do grupo Controle demonstraram em 50 (53,19%) a ausência da proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar, 16 (17,02%) raros vasos contendo essa proliferação, 22 (23,40%) frequentes vasos e 06 (6,38%) em quase todos os vasos. No grupo Deficiente, 37 (55,22%) não apresentaram proliferação, 15 (22,39%) raros vasos

lesionados, 12 (17,91%) frequentes vasos, 03 (4,48%) quase todos os vasos (Gráfico 19). No qual, nos grupos Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 87 (54,04%) dos camundongos não apresentaram proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar.

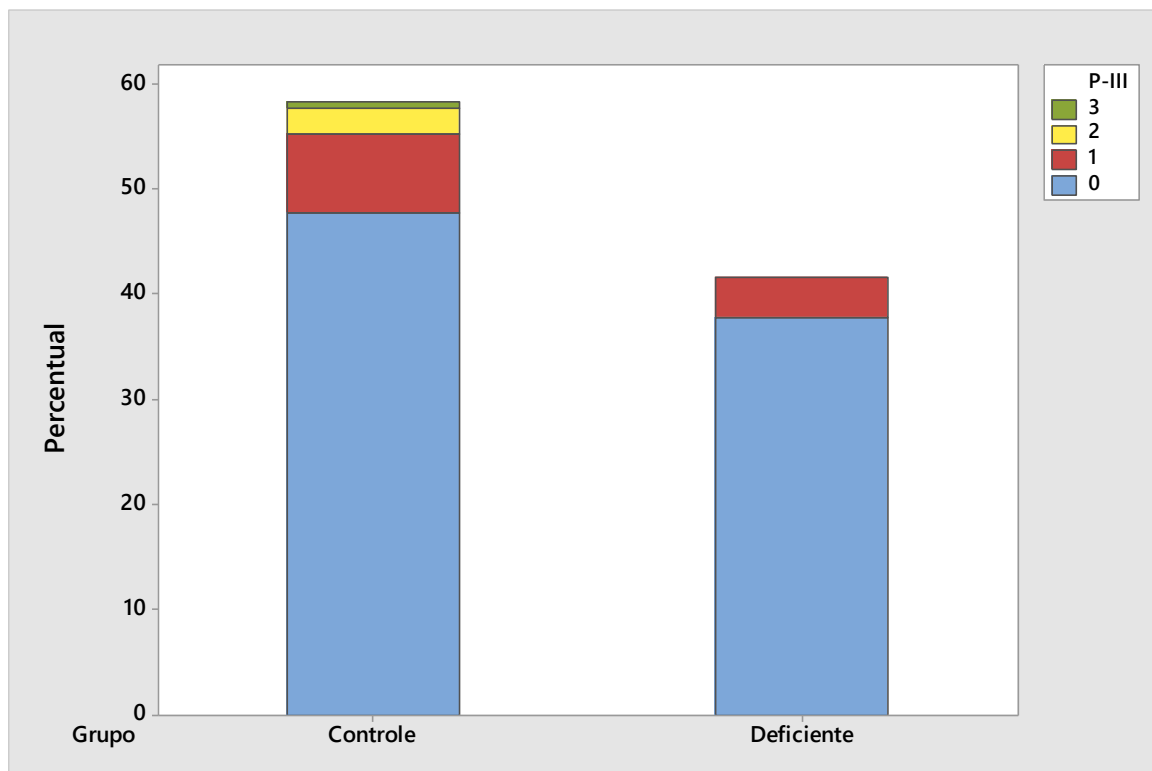
Gráfico 19 - Análise da proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Ausente. (1) Discreta (raros vasos com proliferação endotelial). (2) Moderada (frequentes vasos com proliferação endotelial). (3) Acentuada (quase todos os vasos com proliferação endotelial).

No grupo Controle, 77 (81,91%) dos camundongos não apresentaram lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar, já 12 (12,77%) apresentaram em raros vasos, 04 (4,26%) frequentes vasos, 01 (1,06%) quase todos os vasos. O grupo Deficiente, 61 (91,04%) não demonstrou lesão e 06 (8,96%) em raros vasos (Gráfico 20). Nos grupos Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 138 (85,71%) dos camundongos não apresentaram lesão plexiforme.

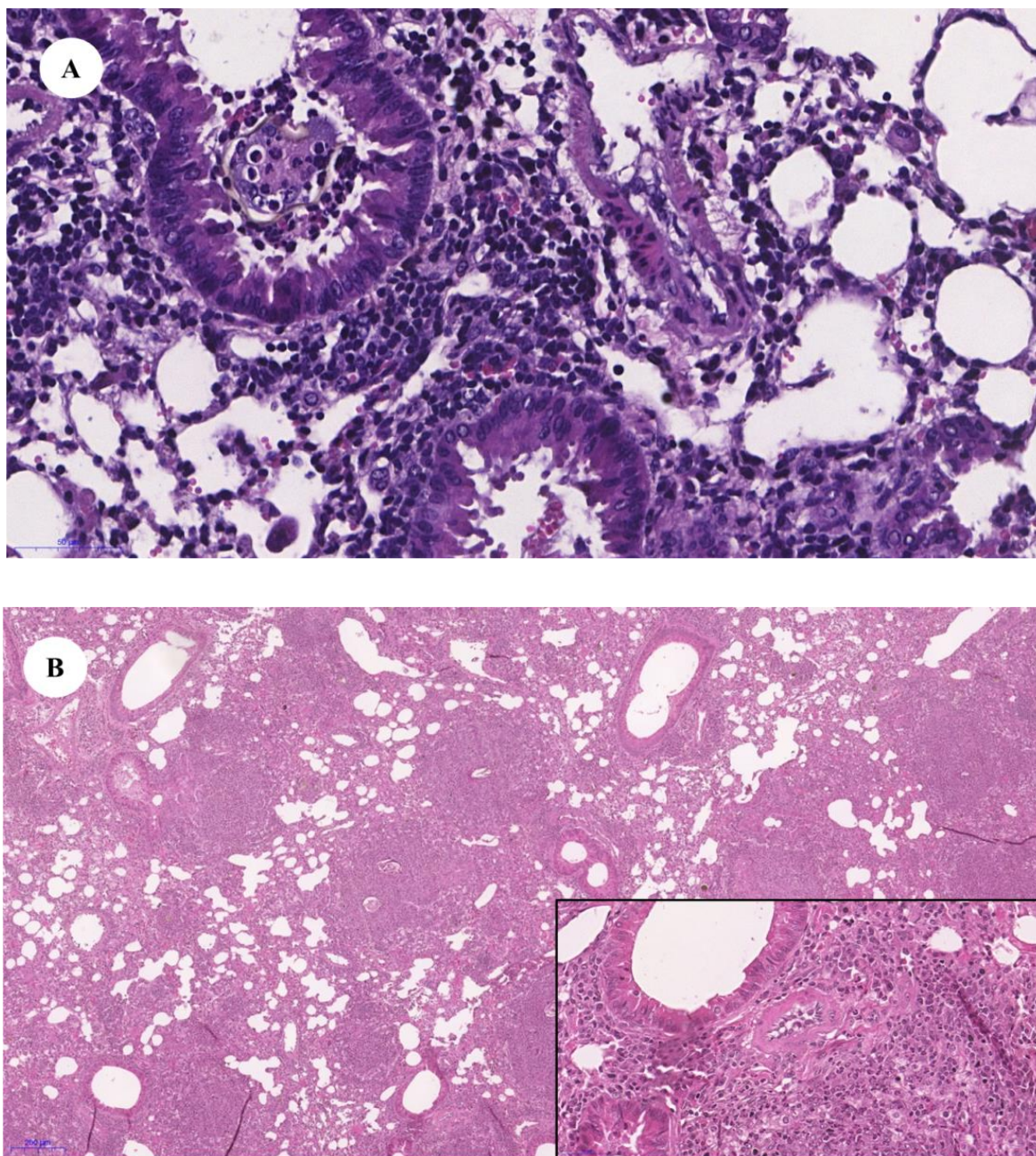
Gráfico 20 - Análise da lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Ausente. (1) Discreta (raros vasos com lesão plexiforme). (2) Moderada (frequentes vasos com lesão plexiforme). (3) Acentuada (quase todos os vasos com lesão plexiforme).

Na análise histopatológica da lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar observou-se no grupo Controle, figura 15 (A), artérias pulmonares com moderada lesão, com presença de infiltrado inflamatório. E no grupo Deficiente, figura 15 (B), artérias pulmonares com discreta lesão apresentando o espessamento dos septos alveolar de forma difusa, com diminuição dos alvéolos e a presença de um infiltrado inflamatório, com neoformação de vasos sanguíneos.

Figura 15 - Achados histopatológicos vasculares do tecido pulmonar de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

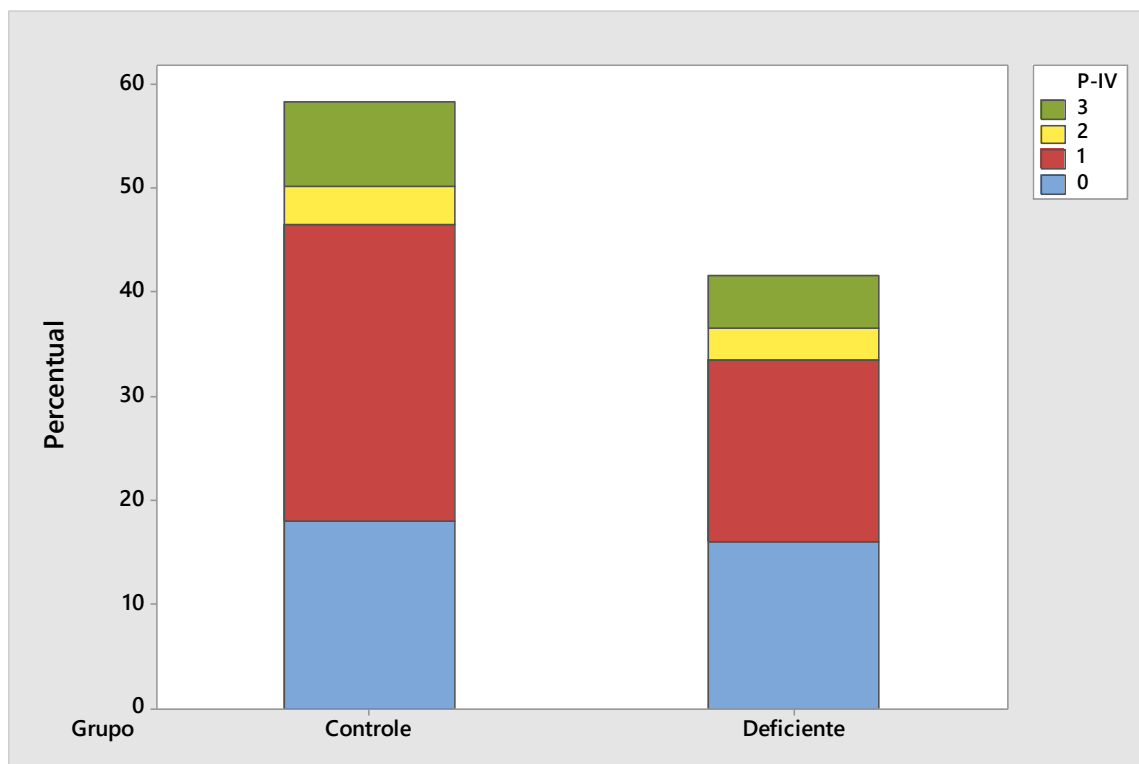


Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar. Em (A) Grupo Controle, tendo como descrição: moderada e imagem no aumento de 40x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: discreta e imagem no aumento de 5x e *insert* de 40x.

No grupo Controle, em 29 (30,85%) dos camundongos não foram encontrados a presença de tecido linfóide associado ao brônquio (BALT), 46 (48,94%) de forma focal, 06 (6,38%) multifocal e 13 (13,83%) difusa. No grupo Deficiente, 26 (38,81%) não apresentou BALT, 28 (41,79%) focalmente, 05 (7,46%) multifocal e 08 (11,94%) difusa (Gráfico 21). Nos

grupos Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 74 (45,96%) dos camundongos apresentaram um BALT focal.

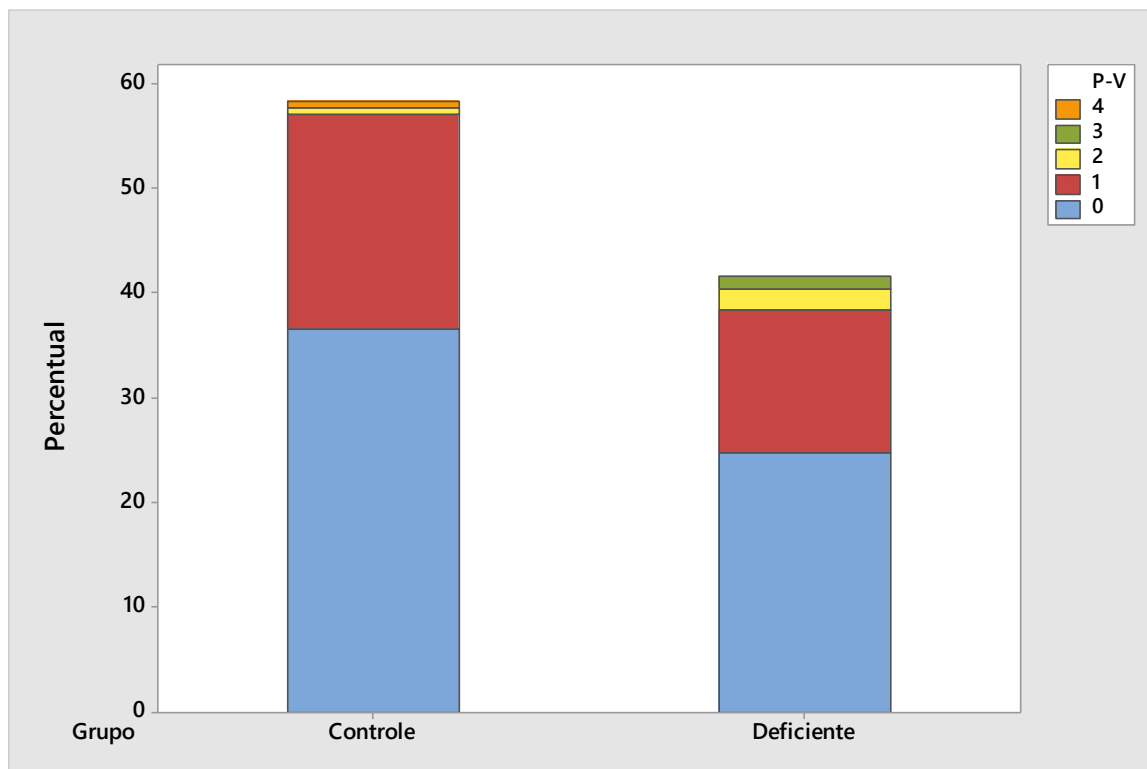
Gráfico 21 - Análise do BALT de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Ausente. (1) Discreta. (2) Focal. (3) Multifocal. (4) Difusa.

A quantificação do número de granulomas presente nos camundongos Controle e Deficiente demonstrou que, no grupo Controle, em 59 (62,77%) dos camundongos não continham granulomas e em 33 (35,11%) encontrou-se raros ou escassos granulomas, em 01 (1,06%) uma quantidade discreta e em 01 (1,06%) uma acentuada. Os do grupo Deficiente, 40 (59,70%) não foram encontrados granulomas, 22 (32,84%) demonstrou granulomas raros ou escassos, 03 (4,48%) discretos e 02 (2,99%) moderados (Gráfico 22). Em tais grupos, não foram observadas diferenças estatísticas significativas na quantidade de granulomas presentes no pulmão, onde 99 (61,49%) dos camundongos não apresentaram granulomas.

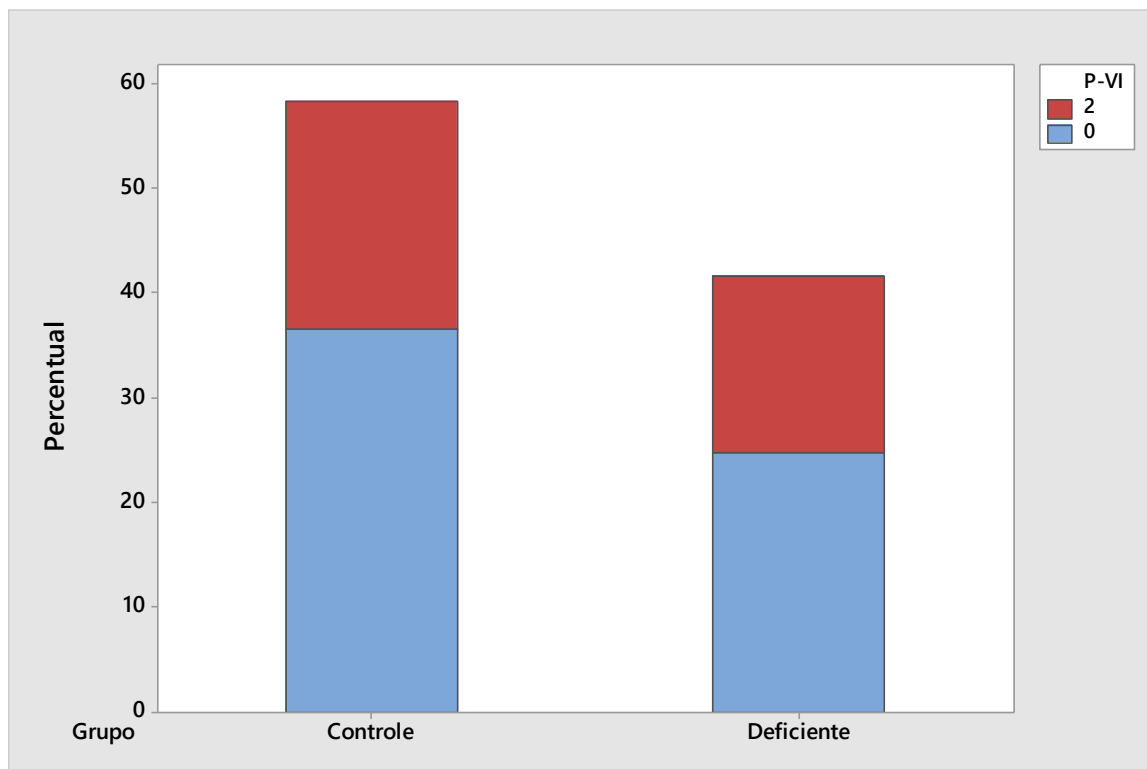
Gráfico 22 - Análise da quantidade de granuloma no pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

Ao avaliarmos a constituição dos granulomas no pulmão observamos que no grupo Controle 59 (62,77%) não apresentaram granulomas e 35 (37,23%) apresentou como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos. E no grupo Deficiente, 40 (59,70%) não continha granulomas e 27 (40,30%) teve como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos (Gráfico 23). Dos camundongos, 62 (38,51%), apresentaram como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos, não demonstrando diferenças estatísticas significativas entre o grupo Controle e Deficiente.

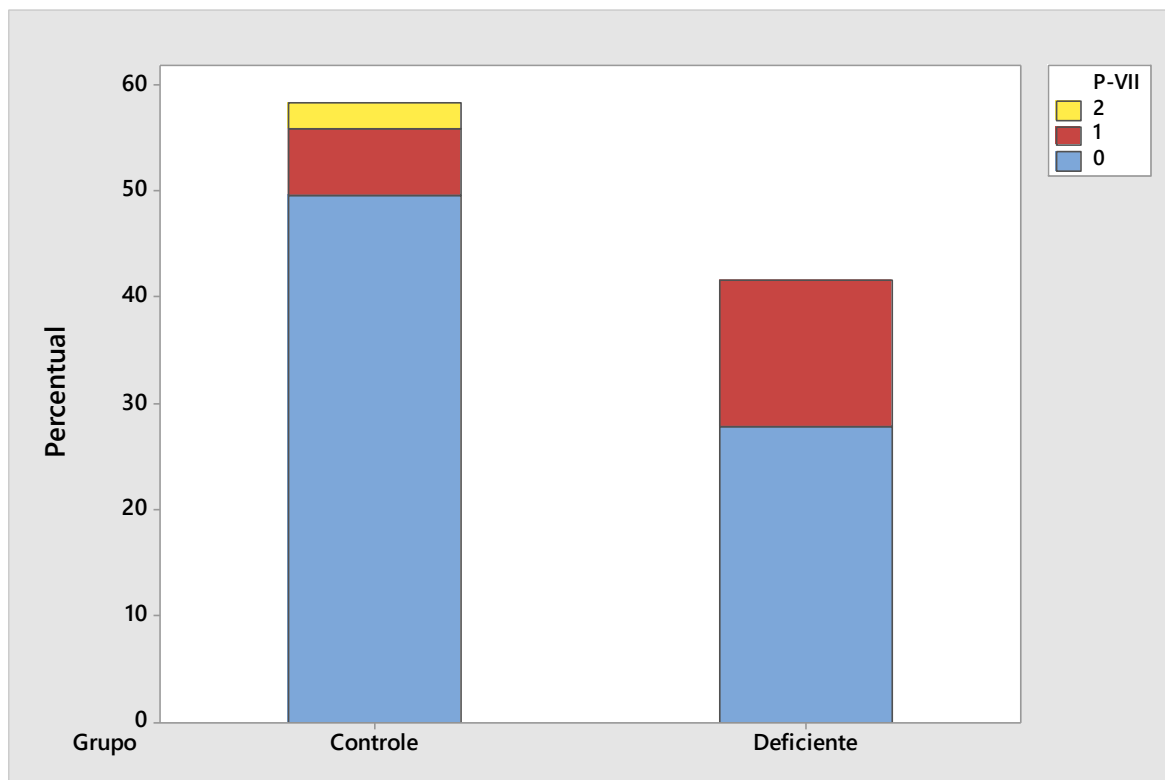
Gráfico 23 - Análise da constituição dos granulomas no pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Somente linfócitos e macrófagos (2) Linfócitos, macrófagos e eosinófilos. (3) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. (4) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes. (5) Todas as anteriores e outras células.

Ao avaliarmos a viabilidade dos ovos de *S. mansoni* presentes no pulmão, notamos que no grupo Controle 80 (85,11%) não apresentou ovos, e nos demais camundongos onde foram encontrados ovos, 10 (10,64%) eram viáveis e 04 (4,26%) inviáveis. No grupo Deficiente, 45 (67,16%) não apresentaram ovos e em 22 (32,84%) encontrou-se apenas ovos viáveis (Gráfico 24). Em 125 (77,64%) dos camundongos não foram encontrados ovos de *S. mansoni*, 32 (19,88%) apresentaram ovos viáveis e 04 (2,48%) ovos inviáveis, não demonstrando diferença estatística significativa entre o grupo Controle e Deficiente.

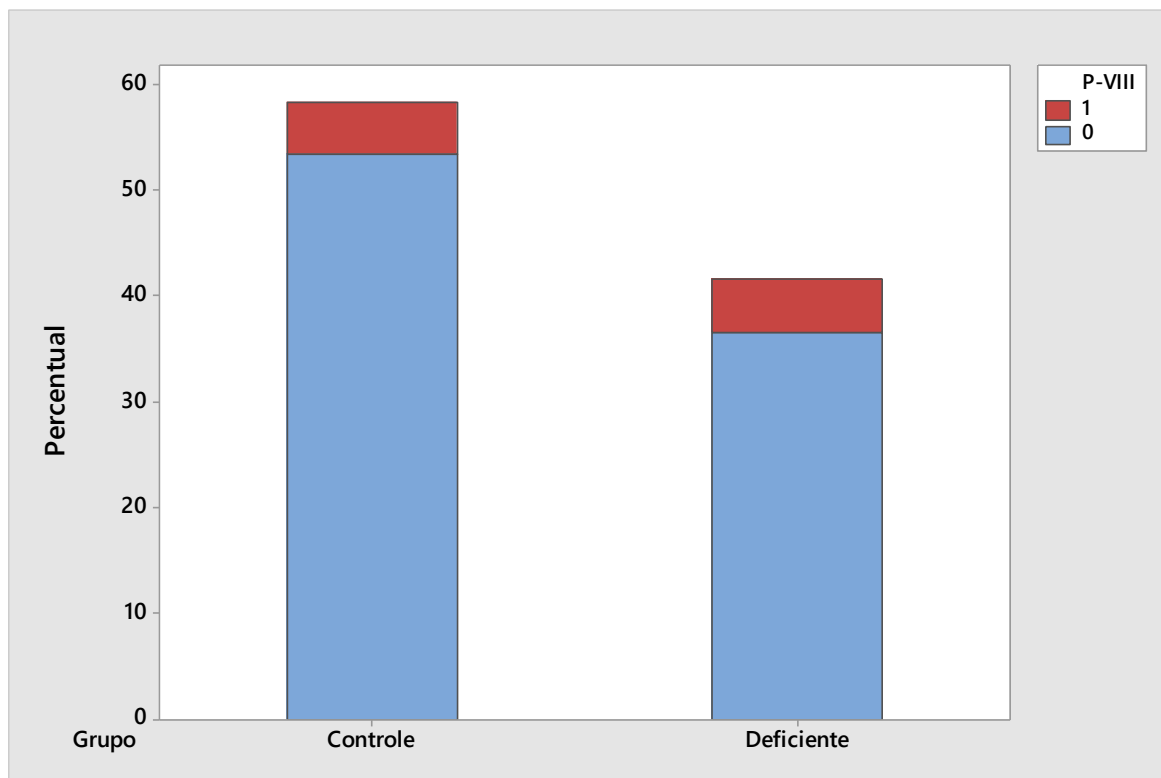
Gráfico 24 - Análise da viabilidade dos ovos no pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

No decorrer da análise observou-se a presença de neutrófilos no espaço dos brônquios, em 08 (8,51%) do grupo Controle e 08 (11,94%) no grupo Deficiente, onde em 86 (91,49%) e 59 (88,06%) dos grupos, respectivamente, não demonstraram a presença dos neutrófilos (Gráfico 25). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 145 (90,06%) dos camundongos não apresentaram neutrófilos intrabrônquicos e 16 (9,64%) apresentaram.

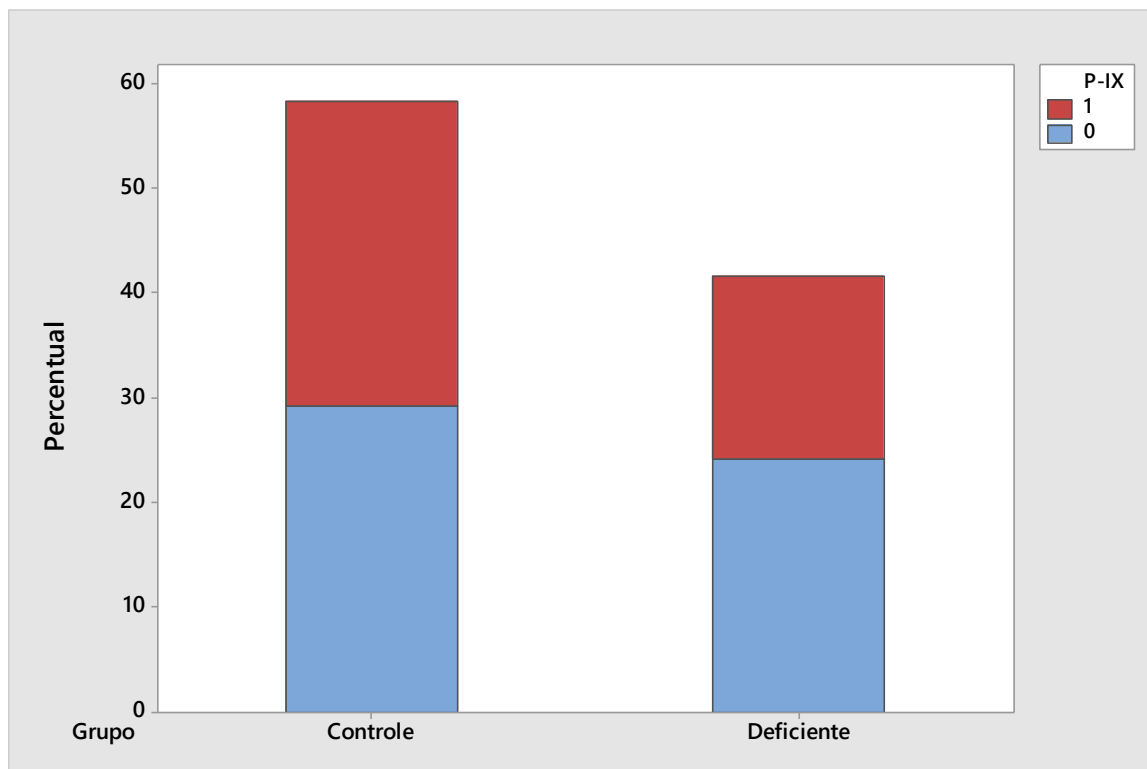
Gráfico 25 - Análise da presença de neutrófilos no espaço dos brônquios pulmonares de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

Na análise do grupo Controle para avaliar o espessamento dos septos dos camundongos, 47 (50%) apresentou o espessamento e 47 (50%) não apresentou. No grupo Deficiente 28 (41,79%) dos camundongos apresentaram o espessamento e 39 (58,21%) não apresentou (Gráfico 26). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 86 (53,42%) dos camundongos não apresentaram espessamento dos septos e 75 (46,58%) apresentaram.

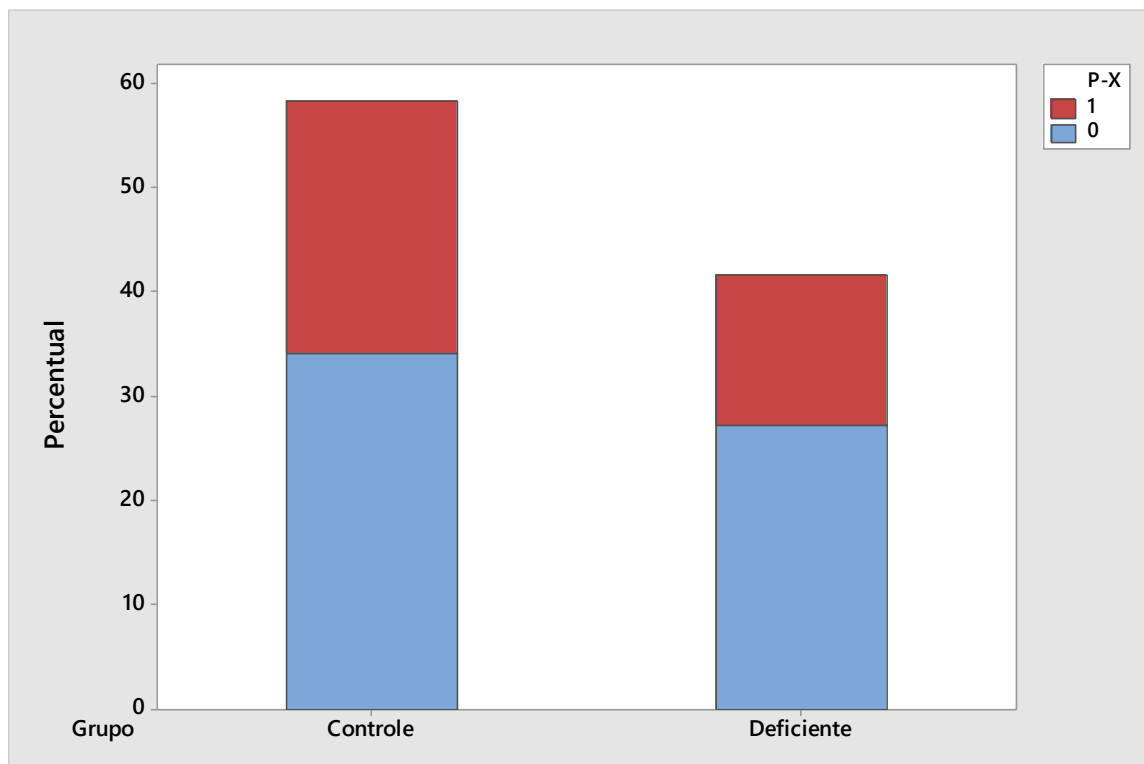
Gráfico 26 - Análise do espessamento dos septos pulmonares de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

Os camundongos do grupo Controle, 55 (58,51%) não apresentaram inflamação perivascular e 39 (41,49%) apresentaram e no grupo Deficiente 44 (65,67%) não apresentaram e 23 (34,44%) apresentaram a inflamação (Gráfico 27). No grupo Controle e Deficiente, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 99 (61,49%) dos camundongos não apresentaram espessamento dos septos e 62 (38,51%) apresentaram.

Gráfico 27 - Análise da inflamação perivascular no pulmão de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

A análise histopatológica dos animais que não foram infectados demonstrou características histopatológicas de normalidade, onde a estrutura do pulmão apresentava-se totalmente preservada ou normal e ausência de proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar, lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar, BALT, granulomas, ovos de *S. mansoni*, neutrófilos intrabrônquios, espessamento de septos e inflamação perivascular. Das amostras analisadas, cinco, não tinham a estrutura do pulmão para realizar a análise histopatológica descrita. Na tabela 03, encontra-se descrita as principais alterações observadas na análise das variáveis no pulmão.

Tabela 3: Principais alterações descritas na análise das variáveis no pulmão

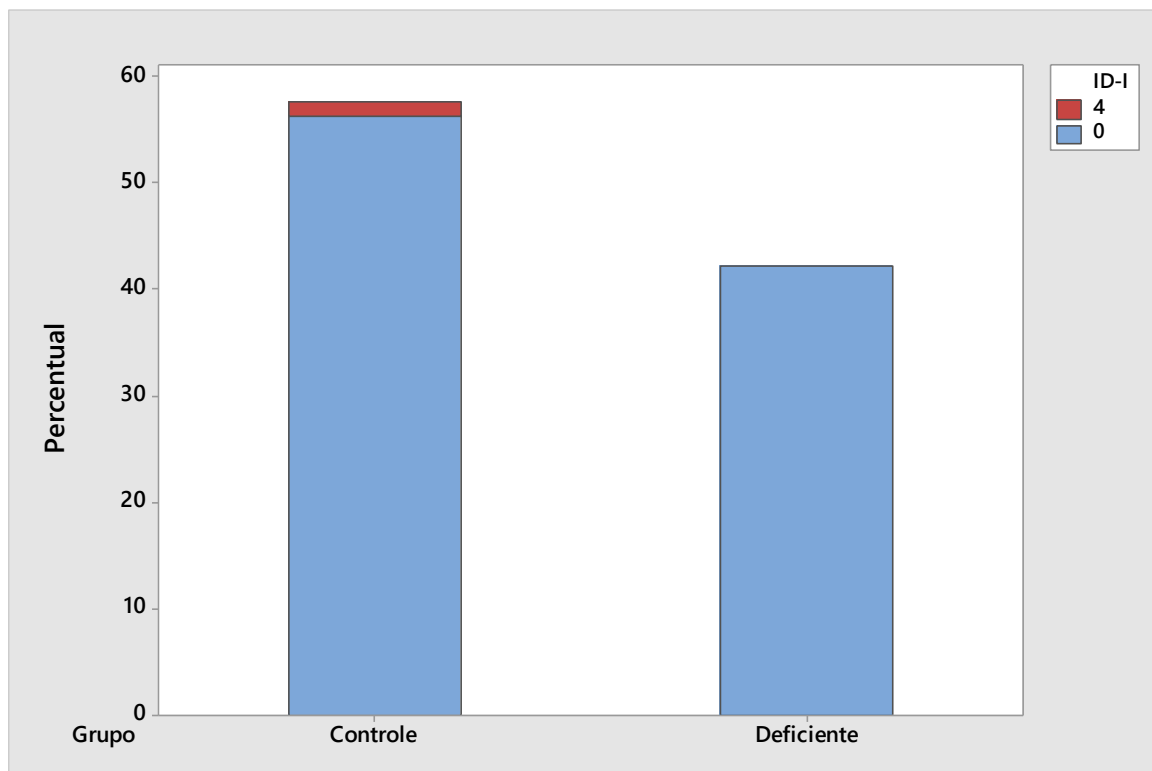
Pulmão	Resultado
Estrutura do órgão	Maior % com estrutura normal e parcialmente alterada
Proliferação endotelial em ramo de artéria pulmonar	Maior % com ausência de proliferação endotelial, quando presente discreta
Lesão plexiforme em ramo de artéria pulmonar	Maior % com ausência de lesão plexiforme, quando presente discreta
Tecido linfoide associado ao brônquio (BALT)	Maior % com BALT focal
Quantidade de granuloma	Maior % com rara ou escassa quantidade de granulomas no pulmão
Constituição dos granulomas	Maior % dos granulomas constituídos de linfócitos, macrófagos e eosinófilos.
Viabilidade dos ovos	Maioria com ausência de ovos e quando presente viáveis
Presença de neutrófilos intrabrônquicos	Maior % com ausência
Espessamento dos septos	Maior % com ausência
Inflamação perivascular	Maior % com ausência

Fonte: Elaborada pela autora.

5.4. Alterações Intestinais

No grupo Controle 84 (97,67%) dos camundongos estavam com a estrutura do intestino delgado totalmente preservada e 02 (2,33%) apresentaram totalmente alterada. No grupo Deficiente 63 (100%) dos animais estavam com a estrutura totalmente preservada ou normal (Gráfico 28). Em tais grupos, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 147 (98,66%) dos camundongos apresentaram a estrutura do intestino delgado totalmente preservado ou normal, e 02 (1,34%) apresentaram a estrutura totalmente alterada.

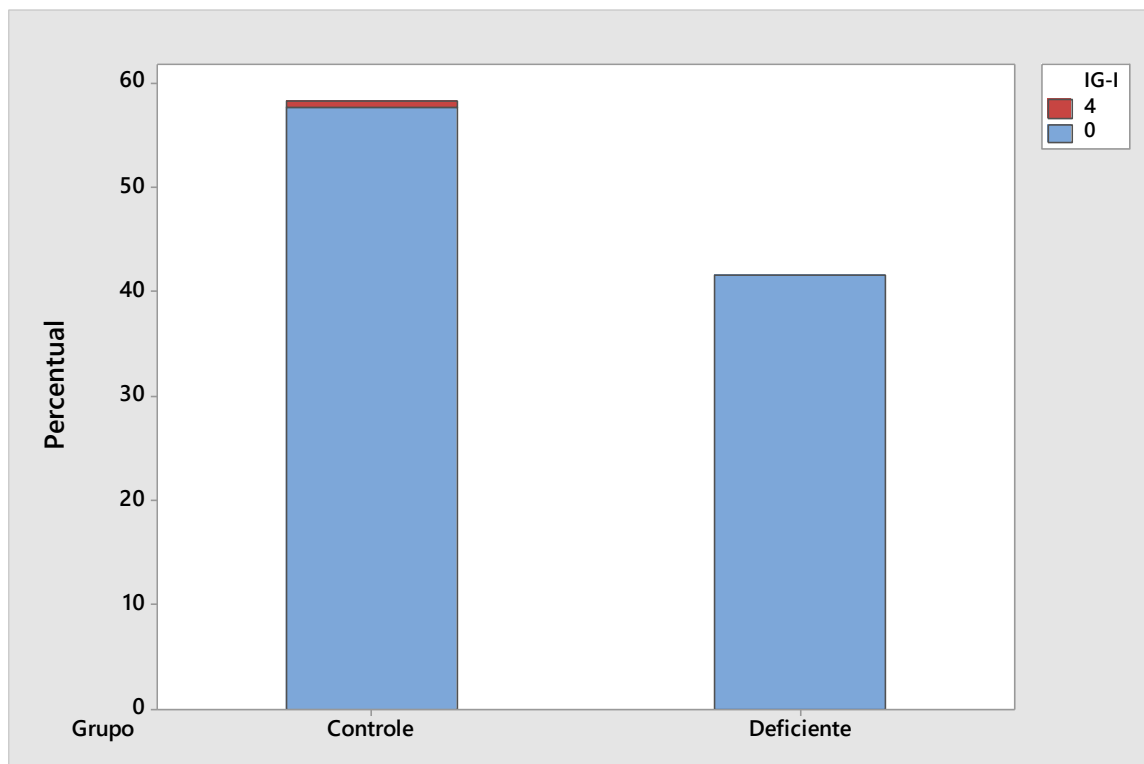
Gráfico 28 - Análise da estrutura do intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

No grupo Controle 90 (98,90%) dos camundongos apresentaram a estrutura do intestino grosso totalmente preservada ou normal e 01 (1,10%) totalmente alterada. E no grupo Deficiente 65 (100%) dos animais apresentaram uma estrutura totalmente preservada ou normal (Gráfico 29). Nos dois grupos não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 155 (99,36%) dos camundongos apresentaram a estrutura do intestino grosso totalmente preservado ou normal, e 01 (0,64%) apresentou a estrutura totalmente alterada.

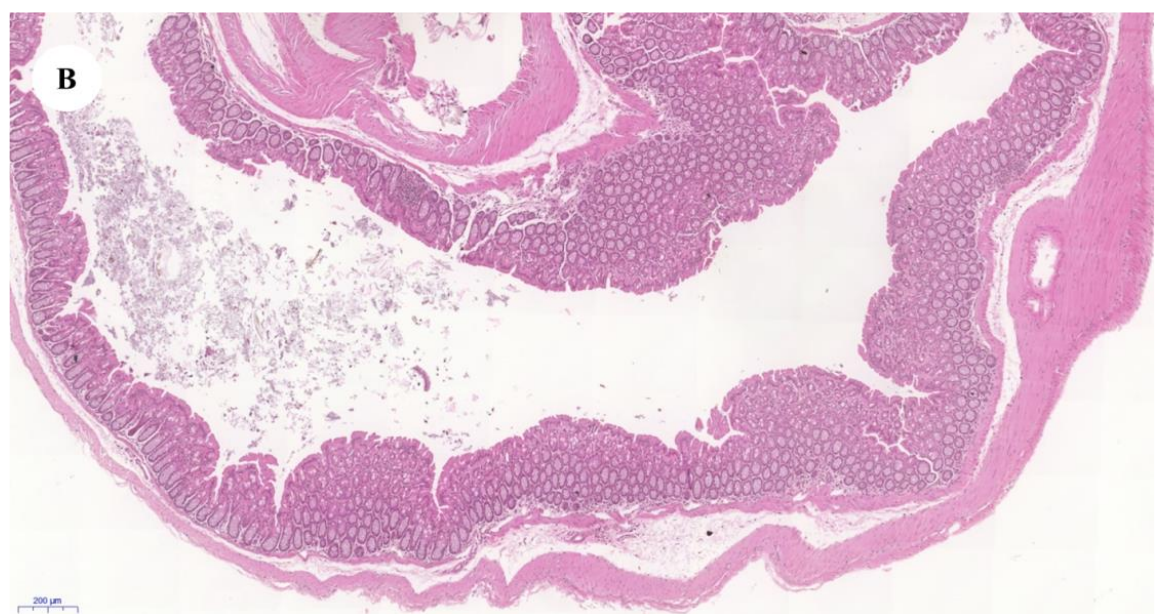
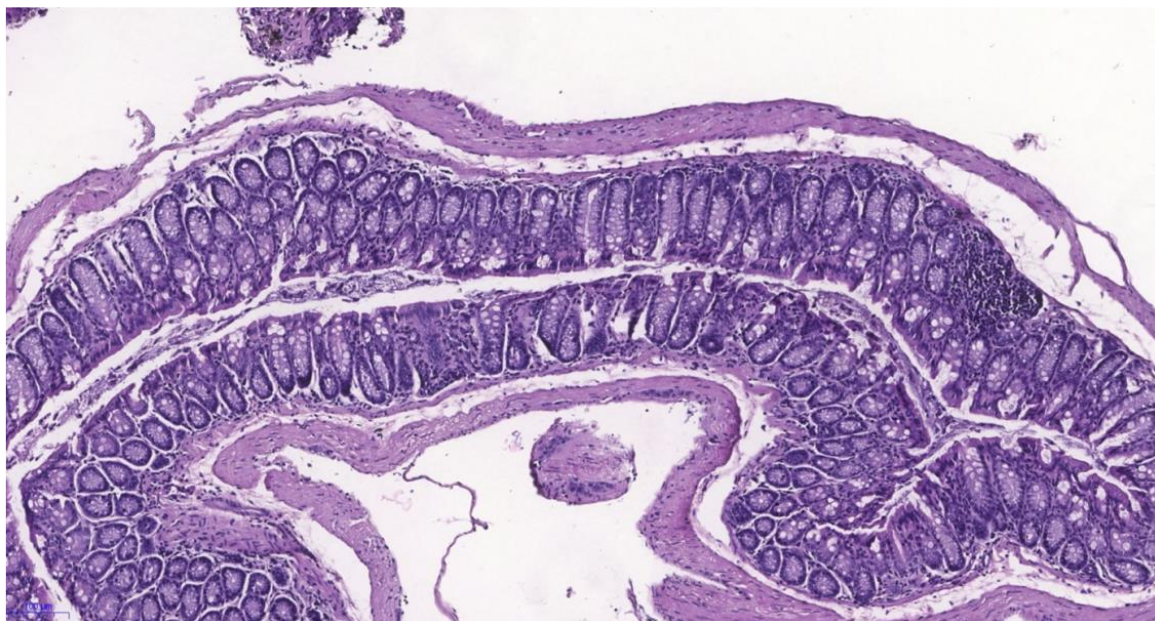
Gráfico 29 - Análise da estrutura do intestino grosso de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

A avaliação da estrutura do intestino grosso, em menor aumento demonstrou no grupo Controle, figura 16 (A), e no grupo Deficiente, figura 16 (B), uma estrutura parcialmente alterada em ambos os grupos, podendo observar no grupo Controle a presença focal de um infiltrado inflamatório.

Figura 16 - Achados histopatológicos da estrutura do intestino grosso de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

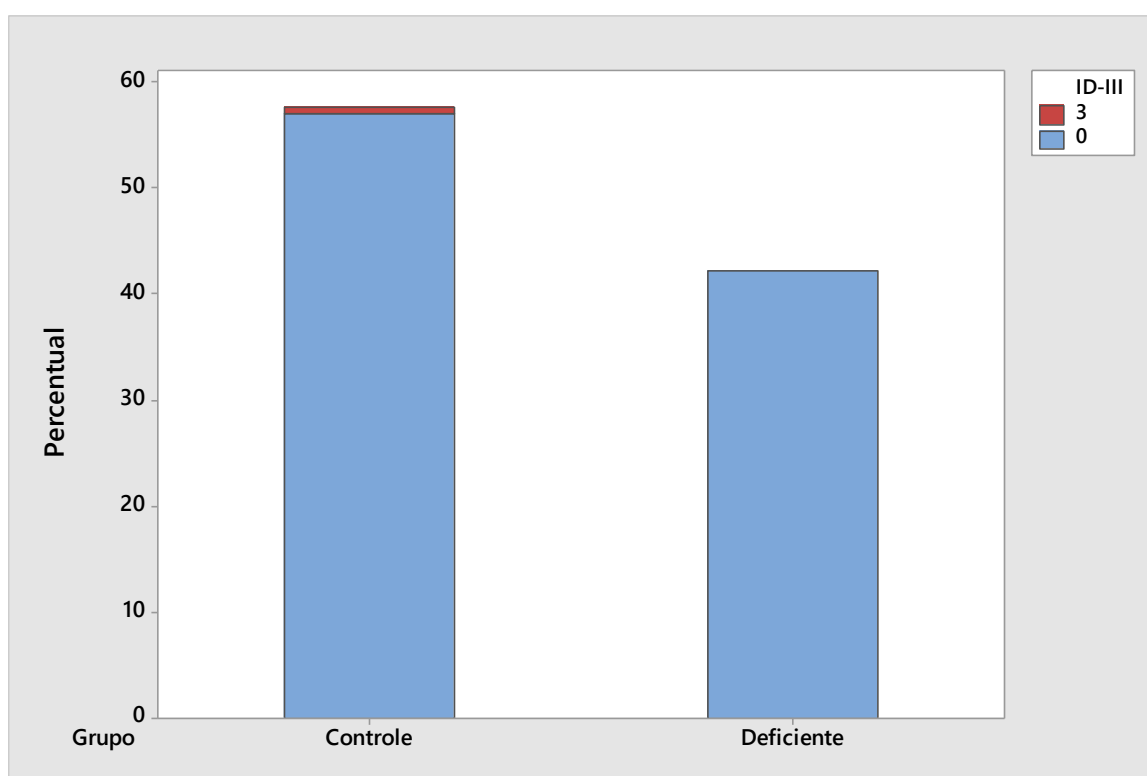


Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando a alteração da estrutura no intestino grosso. Em (A) Grupo Controle, tendo como descrição: parcialmente alterada e imagem no aumento de 10x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: parcialmente alterada e imagem no aumento de 05x.

Nos camundongos do grupo Controle e Deficiente o intestino delgado e grosso, apresentaram ausência de hipotrofia e atrofia nas porções intestinais, 149 (100%) e 156 (100%) respectivamente, não sendo observadas diferenças estatísticas significativas.

No grupo Controle que pertence ao intestino delgado, 85 (98,84%) dos camundongos não apresentaram ulceração e 01 (1,16%) apresentaram de forma difusa. No grupo Deficiente 63 (100%) dos camundongos não apresentaram ulceração (Gráfico 30). Nos grupos analisados, não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 148 (99,33%) dos camundongos apresentaram ausência de ulceração no intestino delgado e 01 (0,67%) apresentou ulceração difusa.

Gráfico 30 - Análise da ulceração no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

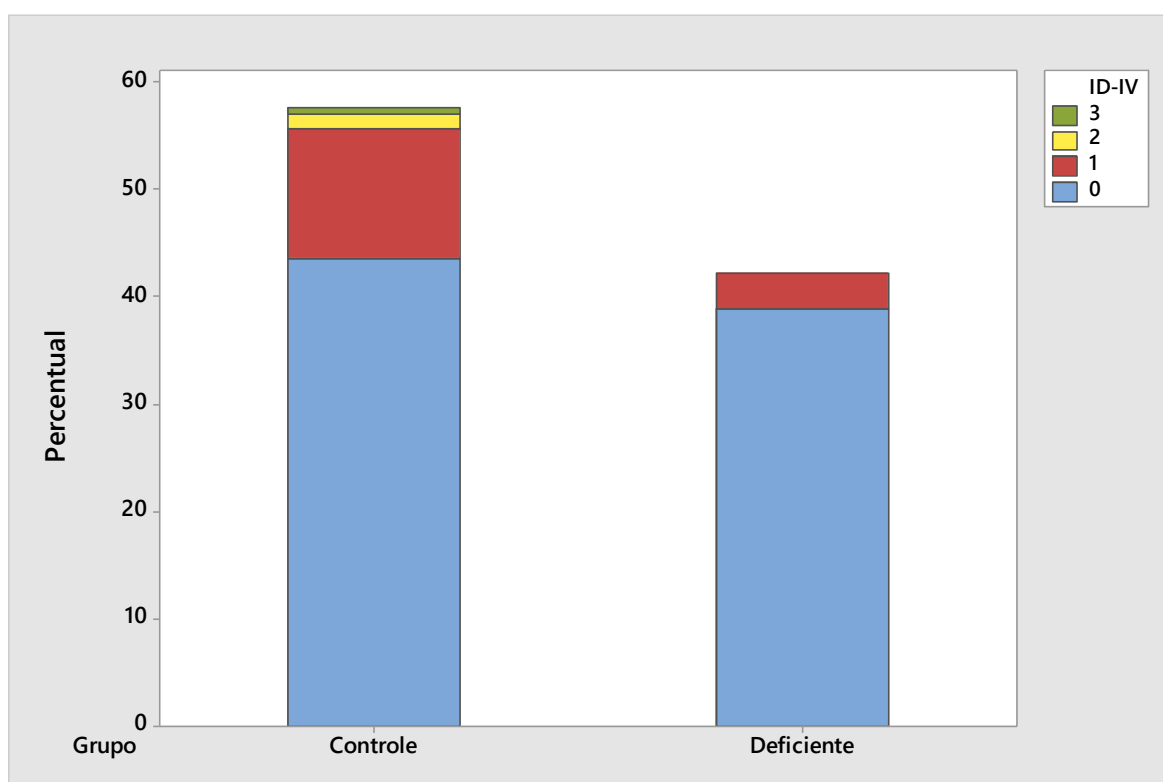


Legenda: (0) Ausente. (1) Focal. (2) Multifocal. (3) Difusa.

Em relação ao intestino grosso, 90 (98,90%) dos camundongos do grupo Controle não apresentaram ulceração e 01 (1,10%) de forma multifocal. No grupo Deficiente 65 (100%) dos camundongos não apresentaram ulceração. Nos grupos não foram observadas diferenças estatísticas significativas, onde 155 (99,36%) dos camundongos apresentaram ausência de ulceração no intestino grosso e 01 (0,64%) apresentou ulceração multifocal.

De acordo com a análise da quantidade de granulomas no intestino delgado, o grupo Controle 65 (75,58%) dos camundongos não apresentaram granulomas, 18 (20,93%) encontrou-se raros ou escassos granulomas, em 02 (2,33%) uma quantidade discreta e em 01 (1,16%) moderada. No grupo Deficiente, 58 (92,06%) não apresentaram granulomas e 05 (7,94%) encontrou-se raros ou escassos granulomas (Gráfico 31). Nos grupos acima não foram observadas diferenças estatísticas significativas na quantidade de granulomas no intestino delgado, onde 123 (82,55%) dos camundongos não apresentaram granulomas.

Gráfico 31 - Análise da quantidade de granuloma no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

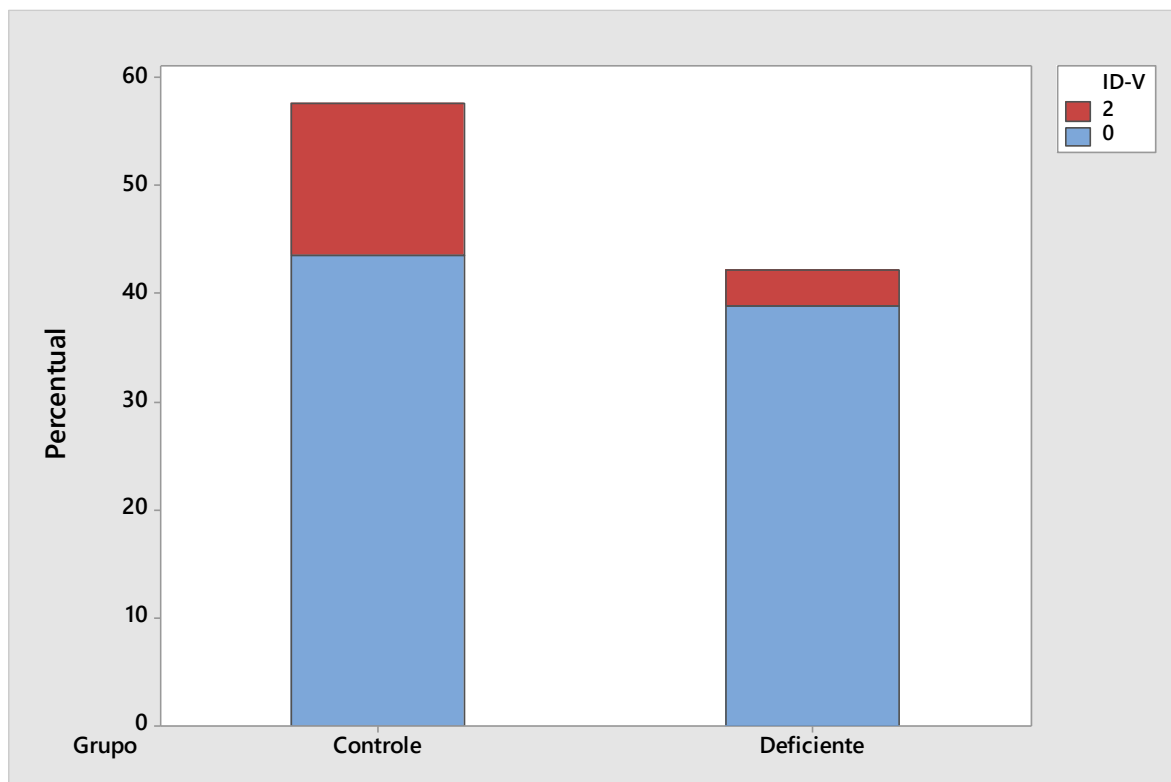


Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Rara ou escassa. (2) Discreta. (3) Moderada. (4) Acentuada. (5) Muito acentuada.

No grupo Controle do intestino delgado, 65 (75,58%) dos camundongos não apresentaram granulomas e 21 (24,42%) dos que apresentaram tiveram como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos. Dos camundongos que pertencem ao grupo Deficiente 05 (7,94%) apresentaram a mesma constituição do granuloma que o grupo Controle e 58 (92,06%) não apresentavam granuloma (Gráfico 32). Ao avaliarmos a constituição dos

granulomas no intestino delgado observamos que 26 (17,45%) dos camundongos apresentaram como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos, não demonstrando diferenças estatísticas significativas entre o grupo Controle e Deficiente.

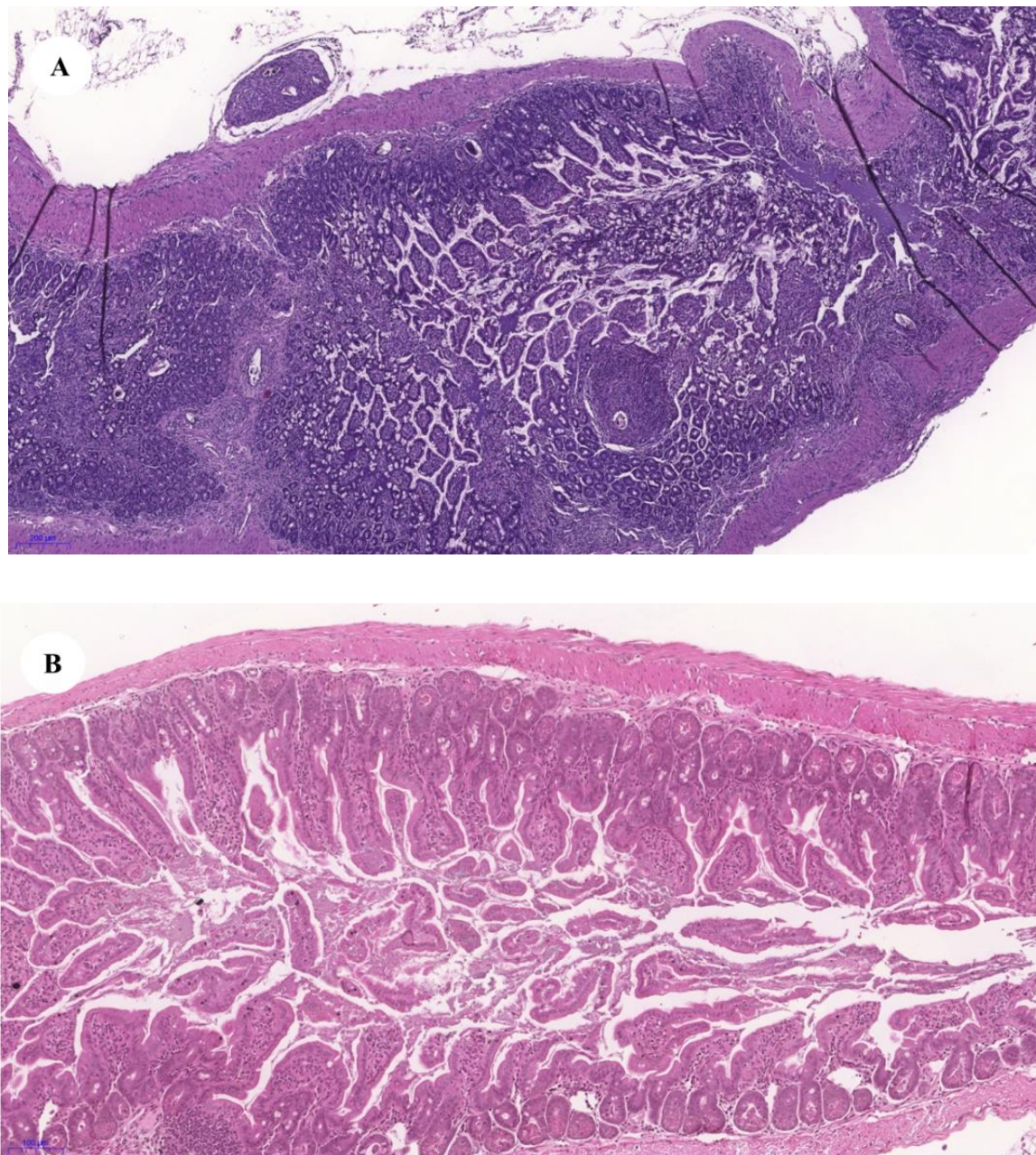
Gráfico 32 - Análise da constituição dos granulomas no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Somente linfócitos e macrófagos (2) Linfócitos, macrófagos e eosinófilos. (3) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. (4) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes. (5) Todas as anteriores e outras células.

A avaliação da quantidade de granulomas no intestino delgado, demonstrou em menor aumento no grupo Controle, figura 17 (A), a presença de granulomas de forma moderada, com alteração da estrutura. E no grupo Deficiente, figura 17 (B), raros ou escassos granulomas.

Figura 17 - Achados histopatológicos da quantidade de granulomas no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

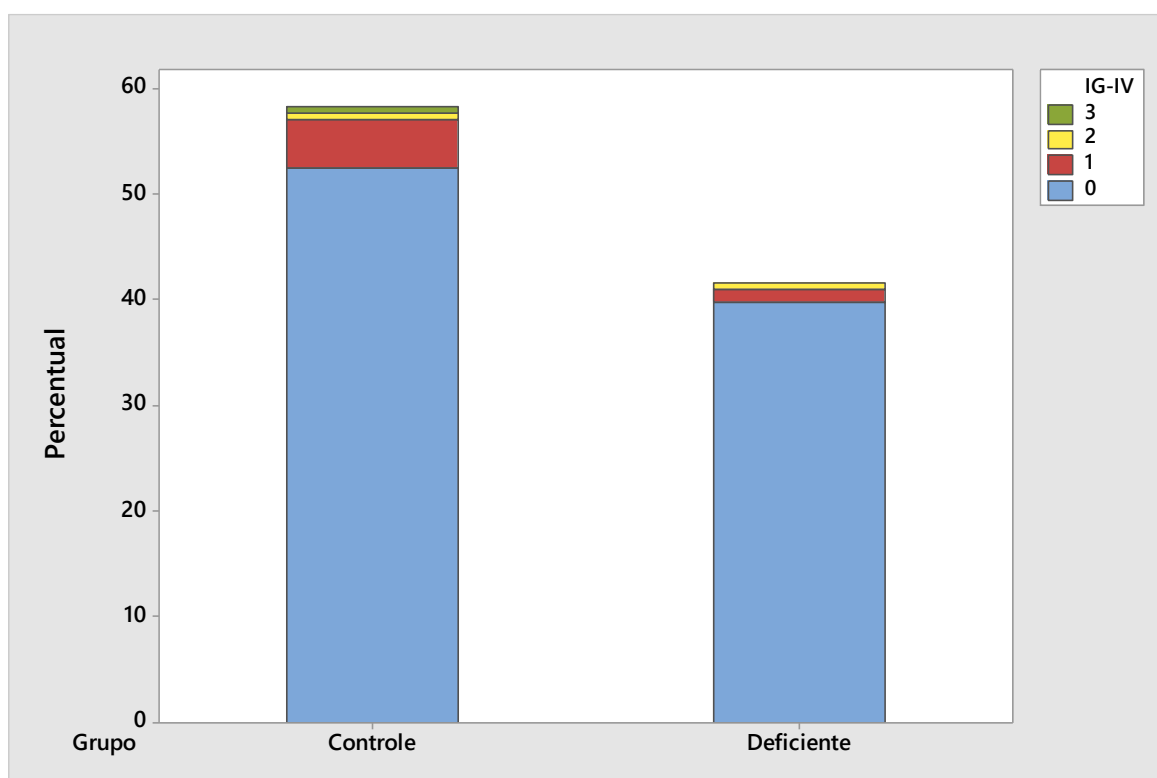


Corte histológico com coloração Hematoxilina & Eosina demonstrando os granulomas presentes. Em (A) Grupo Controle, tendo como descrição: moderada e imagem no aumento 5x. Em (B) Grupo Deficiente, tendo como descrição: rara ou escassa e imagem no aumento 10x.

Quanto à análise da quantidade de granuloma presentes no intestino grosso, no grupo Controle, 82 (90,11%) camundongos não apresentaram granulomas, 07 (7,69%) encontrou-se raros ou escassos granulomas, em 01 (1,10%) uma quantidade discreta e em 01 (1,10%) moderada. No grupo Deficiente, 62 (95,38%) não apresentaram granulomas, 02 (3,08%)

encontrou-se raros ou escassos granulomas e 01 (1,54%) uma quantidade discreta (Gráfico 33). Nos grupos não foram observadas diferenças estatísticas significativas na quantidade de granulomas no intestino grosso, onde 144 (92,31%) dos camundongos não apresentaram granulomas.

Gráfico 33 - Análise da quantidade de granuloma no intestino grosso de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*

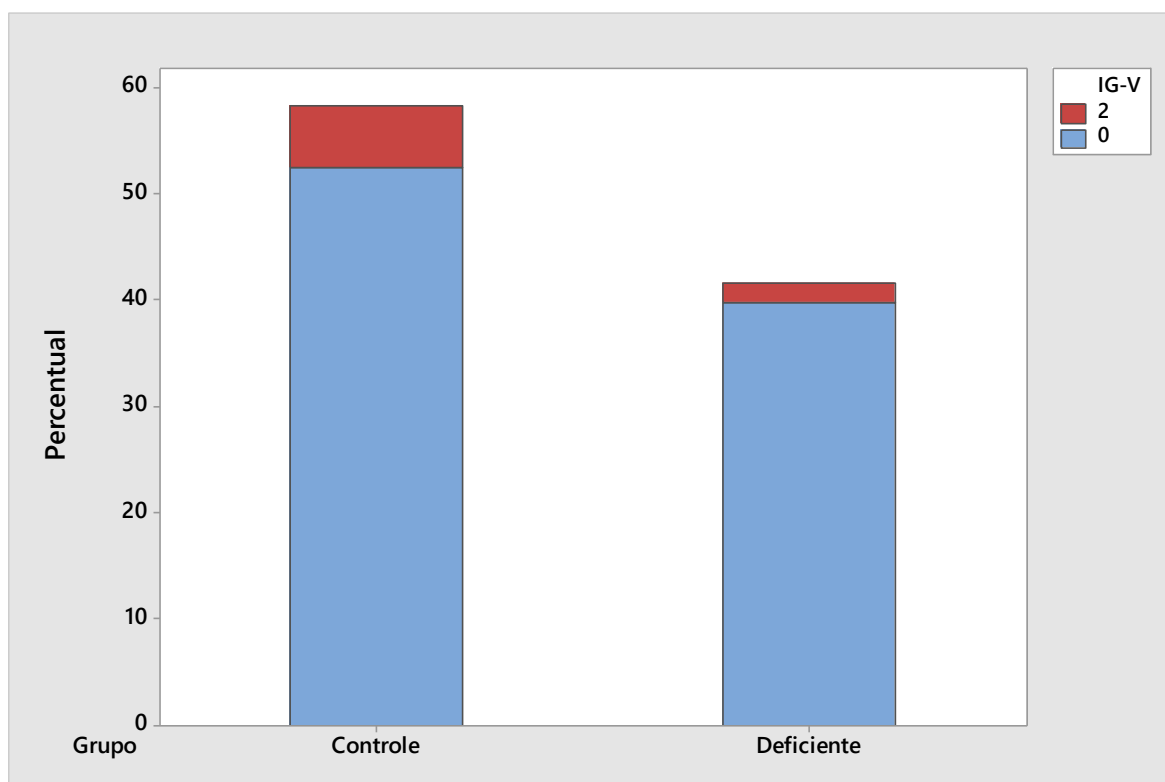


Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Rara ou escassa. (2) Discreta. (3) Moderada. (4) Acentuada. (5) Muito acentuada.

E nas análises referente a constituição dos granulomas no intestino grosso, foi observado que no grupo Controle 82 (90,11%) dos camundongos não apresentaram granulomas e 09 (9,89%) dos que apresentaram tiveram como constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos. Dos camundongos que pertencem ao grupo Deficiente 03 (4,62%) apresentaram a mesma constituição do granuloma que o grupo Controle e 62 (95,31%) não apresentavam granuloma (Gráfico 34). Ao avaliarmos a constituição dos granulomas no intestino grosso observamos que 12 (7,69%) dos camundongos apresentaram como

constituição linfócitos, macrófagos e eosinófilos, não demonstrando diferenças estatísticas significativas entre o grupo Controle e Deficiente.

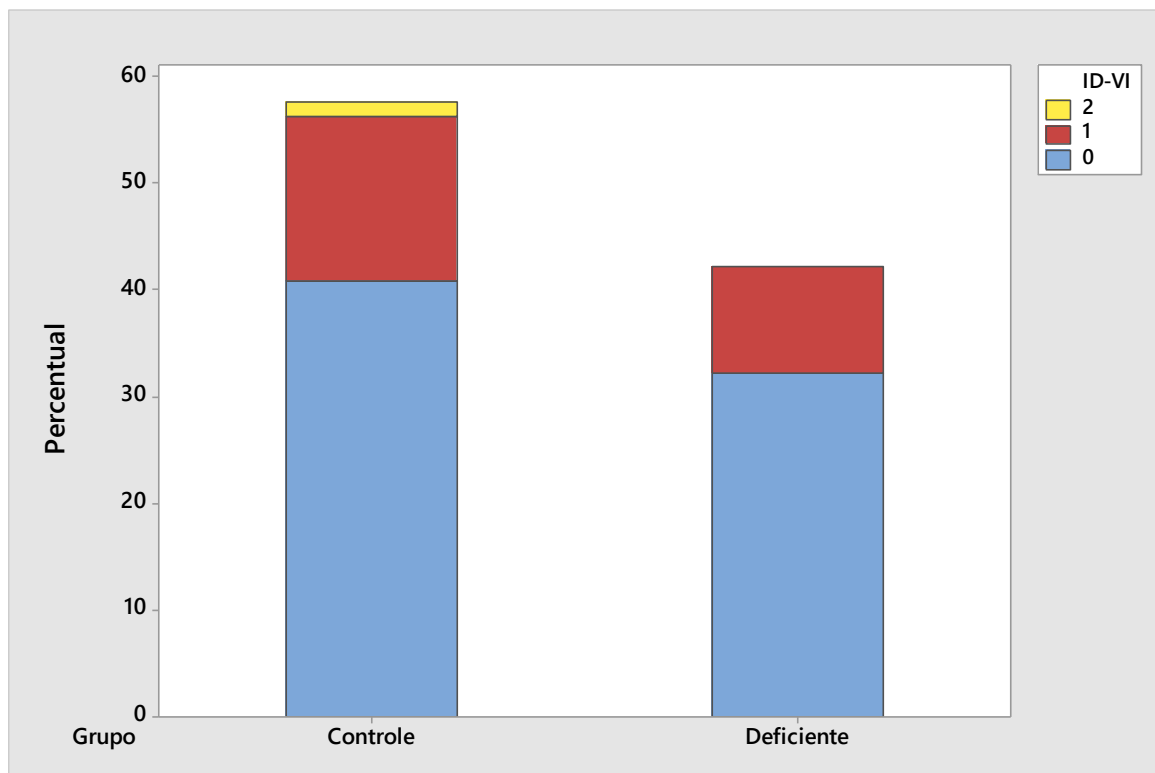
Gráfico 34 - Análise da constituição dos granulomas no intestino grosso de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



Legenda: (0) Nenhum granuloma. (1) Somente linfócitos e macrófagos (2) Linfócitos, macrófagos e eosinófilos. (3) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. (4) Linfócitos, macrófagos, eosinófilos, plasmócitos e células gigantes. (5) Todas as anteriores e outras células.

Ao avaliarmos a viabilidade dos ovos de *S. mansoni* presentes no intestino delgado, notamos que no grupo Controle 23 (26,74%) dos ovos eram viáveis, 02 (2,33%) era inviáveis e em 61 (70,93%) dos camundongos não foram encontrados ovos. Em relação ao grupo Deficiente, nos camundongos que foram encontrados ovos 15 (23,81%) eram viáveis e em 48 (76,19%) não foram encontrados ovos (Gráfico 35). Nos grupos Controle e Deficiente, 109 (73,15%) dos camundongos não apresentaram ovos de *S. mansoni*, 38 (25,50%) apresentaram ovos viáveis e 02 (1,34%) ovos inviáveis, não demonstrando diferença estatística significativa entre o grupo Controle e Deficiente.

Gráfico 35 - Análise da viabilidade dos ovos no intestino delgado de camundongos Controle e Deficiente em mastócitos infectados pelo *S. mansoni*



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

Ao avaliarmos a viabilidade dos ovos de *S. mansoni* presentes no intestino grosso, foi observado no grupo Controle que em 06 (6,59%) dos camundongos encontrou-se apenas ovos viáveis e em 86 (93,41%) não foram encontrados ovos. No grupo Deficiente, em 63 (96,92%) não foram encontrados ovos e em 02 (3,08%) ovos viáveis. Em tais grupos, 148 (94,87%) dos camundongos não apresentaram ovos de *S. mansoni*, 08 (5,13%) apresentaram ovos viáveis e em nenhum camundongo foi observado ovos inviáveis, não demonstrando diferença estatística significativa entre o grupo Controle e Deficiente.

A análise histopatológica do intestino delgado e grosso dos animais que não foram infectados mostrou, em todos os casos, características histopatológicas de normalidade. Das amostras analisadas, dezessete não tinham a estrutura do intestino delgado e dez não tinham a estrutura do intestino grosso para realizar a análise histopatológica descrita. Na tabela 04 e 05, encontra-se descrita as principais alterações observadas na análise das variáveis no intestino delgado e grosso, respectivamente.

Tabela 4: Principais alterações descritas na análise das variáveis no intestino delgado

Intestino Delgado	Resultado
Estrutura do órgão	Maior % com estrutura normal
Hipotrofia/atrofia intestinal	Todos os camundongos com ausência
Ulceração intestinal	Maior % com ausência
Quantidade de granuloma	Maior % com ausência, quando presente rara ou escassa a quantidade de granuloma
Constituição dos granulomas	Maior % dos granulomas constituídos de linfócitos, macrófagos e eosinófilos
Viabilidade dos ovos	Maioria com ausência de ovos e quando presente viáveis

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 5: Principais alterações descritas na análise das variáveis no intestino grosso

Intestino Grosso	Resultado
Estrutura do órgão	Maior % com estrutura normal
Hipotrofia/atrofia intestinal	Todos os camundongos com ausência
Ulceração intestinal	Maior % com ausência
Quantidade de granuloma	Maior % com ausência, quando presente rara ou escassa a quantidade de granuloma
Constituição dos granulomas	Maior % dos granulomas constituídos de linfócitos, macrófagos e eosinófilos
Viabilidade dos ovos	Maioria com ausência de ovos e quando presente viáveis

Fonte: Elaborada pela autora.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, os resultados das análises histopatológicas do fígado, principal órgão comprometido pelos ovos de *S. mansoni*, demonstraram importantes diferenças entre os grupos Controle e Deficiente para mastócitos, especialmente relacionadas à maior presença de fibrose e menores intensidades de atividades inflamatórias nos animais com mastócitos, indicando assim, que os mastócitos participam da imunopatologia da esquistossomose. Para produção desses resultados, apesar das limitações, foi reproduzido um modelo experimental murino e técnicas clássicas de análise morfológica.

As limitações existentes no trabalho relacionaram-se ao tempo de infecção e à eficácia da quantidade de cercárias proposta para a infecção. Na proposta para o tempo de infecção e considerando-se o papel dos mastócitos na resposta inflamatória, o trabalho foi inicialmente estruturado para abordagem da fase aguda da esquistossomose. Quanto à eficácia da quantidade de cercárias em provocar infecção, foram seguidas as recomendações do Laboratório de Esquistossomose do Grupo de Pesquisa Diagnóstico e Terapia de Doenças Infecciosas e Oncológicas da FIOCRUZ Minas, que tem longa experiência com protocolos bem estabelecidos para modelo murino de esquistossomose. Neste estudo, conforme o protocolo estabelecido, realizou-se um projeto piloto prévio para determinar um número satisfatório de cercárias, tanto para mimetizar a resposta imune quanto permitir um maior tempo de sobrevivência do modelo murino. Outra limitação inerente ao modelo experimental está relacionada à transposição dos resultados para humanos, a mesma ocorreu porque, diferentemente das infecções humanas naturalmente adquiridas, as infecções no modelo murino são associadas a elevadas cargas parasitárias que podem influenciar a intensidade e organização das respostas imunes (FLANNERY, 2003; ABATH, *et. al.* 2006). Entretanto, mesmo diante dessas limitações, o modelo murino utilizado mimetizou a história natural da esquistossomose e permitiu avaliação adequada da resposta inflamatória.

Controladas essas limitações, os resultados deste estudo são corroborados por outras pesquisas realizadas em camundongos mutantes deficientes em mastócitos que indicaram a influência dos mastócitos nas respostas inflamatórias. Considerando a localização dos mastócitos nos tecidos, principalmente na pele e mucosas, a expressão de FcεRI e a grande produção de IgE nas infecções por parasitos, compreende-se a possibilidade de

participação dos mastócitos nos diversos eventos ou etapas do processo inflamatório. Por isso, interpreta-se que o modelo murino da esquistossomose neste estudo, onde esses eventos inflamatórios se iniciaram com a entrada das cercárias na pele e se amplificaram com a deposição de ovos nos tecidos, particularmente no fígado, se aproxima dos modelos das reações cutâneas desencadeadas pela injeção intradérmica de IgE seguida por antígeno específico e das reações inflamatórias nas vias aéreas e desencadeadas pela alergia alimentar, além modelos murinos deficientes em mastócitos que estudaram respostas imunológicas contra parasitos, como nematódeos. Em todos esses modelos, foi constatada a participação dos mastócitos no processo inflamatório. No caso específico dos modelos murinos deficientes em mastócitos que avaliaram respostas imunológicas contra espécies do gênero *Strongyloides*, os mastócitos representaram um componente importante da resistência do hospedeiro a infecções primárias. No caso específico da esquistossomose, acredita-se que essa resistência do hospedeiro é dependente do papel da IgE, o que, em tese, favorece o papel dos mastócitos (GALLI *et. al.*, 2020).

Por isso, neste contexto da participação dos mastócitos na resposta inflamatória, as menores intensidades de atividades inflamatórias evidenciadas nos animais com mastócitos do presente estudo indicam influência ou efeito regulatório dos mastócitos. Fundamentando essa leitura, pesquisas com camundongos deficientes em mastócitos forneceram evidências de que os mastócitos podem limitar o desenvolvimento de edema cutâneo e necrose provocados por reações de hipersensibilidade e mostraram que a referida capacidade regulatória dos mastócitos era dependente da quantidade de IL-10. Essa produção de IL-10 por mastócitos foi também associada à modulação de reações inflamatórias desencadeadas na bexiga urinária (GALLI *et. al.*, 2020).

No caso da progressão da fibrose hepática, os animais com mastócitos apresentaram espaços portais mais alargados e com emissão de septos incompletos, indicando que a presença de mastócitos está associada à indução de resposta imune com polarização do tipo Th2 e fibrose. Na recente revisão de Galli, Gaudenzio e Tsai (2020), esta resposta se caracteriza por elevada participação das citocinas e quimiocinas produzidas e liberadas pelos mastócitos, como IL-4, IL-1, RANTES, Eotaxinas, IL-8 e CCL-2. Na recente de revisão de Weuskirchen e colaboradores (2019), foi demonstrado que após a lesão hepática ocorre um aumento significativo do número de mastócitos no tecido, aonde no fígado os mastócitos estão principalmente associados ao tecido conjuntivo localizado ao redor das

artérias hepáticas, veias e ductos biliares, sugerindo a existência de um papel importante dessas células no fígado, onde se demonstra a sua contribuição para a patogênese da fibrose, permitindo então esse trabalho ser um suporte para os achados desse estudo.

Adicionalmente, o grupo deficiente apresentou uma maior quantidade de células demonstrando que os mastócitos participam ativamente na regulação do infiltrado inflamatório, aonde na presença do mastócito a inflamação não é exuberante, devido à produção da IL-4, IL-5, IL-13 e IL-10 que são interleucinas moduladoras. Esses resultados podem ser explicados pela presença de IL-10 que são produzidas pelos mastócitos, como recentemente observado por Reber e colaboradores (2017) nas dermatites tóxicas ou por hipersensibilidade.

Nos demais órgão analisados, baço, pulmões e intestinos, não foi observado diferença estatística significativa entre os grupos analisados, entretanto pode-se observar alguns achados histopatológicos frente a infecção da esquistossomose que caracteriza a doença. As observações histopatológicas analisadas nos órgãos correspondem aos descritos encontrados na literatura sobre as lesões causadas pelo *S. mansoni* já observadas em modelo murino. No trabalho de Atta (1981), foi observado no baço dos camundongos infectados hiperplasia da polpa branca de intensidade variável e uma leve/moderada congestão da polpa vermelha, com similaridade na análise encontrada no trabalho.

No caso das lesões pulmonares, foi possível observar a ocorrência de lesão plexiforme arterial associadas a mastócitos, indicando que as citocinas e quimiocinas mastocitárias participam da angiogênese, além da fibrose. Essas evidências de angiogênese e fibrose associadas ao mastócito também foram recentemente observadas por Kyritsi e colaboradores (2020) em modelo murino e foram associadas à síntese de TGF- β 1. O comprometimento do sistema vascular dos pulmões também foi observado no trabalho de Coelho (1954), que demonstrou um aspecto característico no pulmão, associando as lesões observadas com o tempo de infecção, onde demonstrou na infecção recente uma perivasculite exsudativa e nos casos crônicos um espessamento das túnicas vasculares ocasionando a sua obstrução e a recanalização do vaso. No trabalho de Ali e colaboradores (2020), avaliou-se o número e a distribuição de células inflamatórias em camundongos infectados com *S. mansoni*, encontrando um aumento significativo de mastócitos no pulmão, sugerindo assim, que os mastócitos podem contribuir para a vascularização

pulmonar e a compreensão da fisiopatologia da esquistossomose que pode resultar em doenças vasculares pulmonares.

Entre os resultados expressivos do estudo na análise do intestino, a presença do mastócito foi associada com maiores quantidade e variedade celular dos granulomas intestinais, tornando um indicativo que os mastócitos participam do recrutamento de linfócitos e macrófagos, típicos representantes do perfil Th1 da imunidade adaptativa, e de eosinófilos, que caracterizam a polarização do tipo Th2. Observações similares foram observadas por Metwali e colaboradores (1996), em modelo murino que avaliou a importância das citocinas produzidas pelos mastócitos na formação dos granulomas esquistossomóticos no intestino. No trabalho de Coelho (1954) foi observado a presença dos ovos de *S. mansoni* com mais frequência no intestino delgado e excepcionalmente no grosso, semelhante aos achados do trabalho, no qual o intestino delgado apresentou um maior número de granulomas comparado com o intestino grosso.

A execução do estudo foi de fundamental importância devido a utilização de um modelo experimental que demonstrou resultados significativos em relação a alteração e a avaliação da participação dos mastócitos na resposta imunológica induzida pelo *S. mansoni*. Proporcionando dessa maneira, uma colaboração ímpar sobre a atuação dos mastócitos nessa resposta, preenchendo a lacuna do conhecimento existente na compreensão dos processos de atuação e alteração realizados por esse tipo celular. Pois, apesar de existir na literatura nacional e internacional vários estudos sobre a relação do sistema imunológico com a doença, não há informações sobre esse aspecto, configurando nosso estudo como o pioneiro no entendimento desse papel.

Ademais, a escolha por esse tipo celular enriquece os estudos já existentes sobre a relação dos componentes imunológicos ativados na presença de helmintos, como o IgE e os mecanismos utilizados pelos mastócitos ao se ligar a essas moléculas e ativar suas funções frente ao parasito. O conjunto desses resultados demonstrou que os mastócitos participam da imunopatogênese da esquistossomose, indicando um papel predominantemente regulador da inflamação e indutor da sua resolução por fibrose. Esse estudo nos permite aprofundar na compreensão da participação dos mastócitos e assim compreender melhor a lacuna de conhecimento que existe na esquistossomose em relação a maneira que a resposta imune determina a doença.

7 CONCLUSÃO

Concluimos, a partir desse estudo, que os mastócitos participam da imunopatologia da esquistossomose, apresentando um papel provavelmente regulador da inflamação e indutor da sua resolução por fibrose.

O presente estudo fortalece a necessidade de novas pesquisas, sobretudo moleculares, para melhor compreensão desta participação dos mastócitos na imunopatologia da esquistossomose e, desta forma, cria perspectivas para conhecimento dos mecanismos reguladores da inflamação e fibrose pelos mastócitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. [tradução de Tatiana Ferreira Robaina *et. al.*] Elsevier 7^o ed. Rio de Janeiro, 2011.

ABATH, F. G.; MORAIS, C. N.; MONTENEGRO, C. E.; WYNN, T. A.; MONTENEGRO, S. M.; **Immunopathogenic mechanisms in schistosomiasis: what can be learnt from human studies?** Trends in Parasitology, v. 22, p. 85-91, 2006.

ALI, Z.; KOSANOVIC, D.; KOLOSIONEK, E.; SCHERMULY, R. T.; GRAHAM, B. B.; MATHIE, A.; BUTROUS, G. **Enhanced inflammatory cell profiles in schistosomiasis-induced pulmonary vascular remodeling**. Pulmonary Circulation. v. 7, n^o1, p. 244–252, 2017.

AMARAL, K. B. **Estudo comparativo da esquistossomose mansônica no reservatório silvestre *Nectomys squamipes* naturalmente infectados e no modelo experimental camundongo swiss: análises histopatológicas, bioquímicas e ultraestruturais**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Juiz de Fora, 2015.

ARAÚJO, N.; MATTOS, A. C. A.; SARVEL, A. K. COELHO, P. M. Z.; KATZ, N. **Oxamniquine, praziquantel and lovastatin association in the experimental *Schistosomiasis mansoni***. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. v.103, n. 5, p. 450-454, 2008A.

ARAÚJO, N.; MATTOS, A. C. A.; SARVEL, A. K. COELHO, P. M. Z.; KATZ, N. **Association of oxamniquine, praziquantel and clonazepam in experimental *Schistosomiasis mansoni***. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz v.103, n. 8, p. 781-785, 2008B.

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.

BORGES, Y. C. L. **Avaliação do potencial diagnóstico de métodos imunológico e molecular para diagnóstico da Esquistossomose Mansônica**. Tese (Mestrado) -

Universidade Federal da Bahia. Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2018.

BRAGA, J. R. M. **Mastócitos e outras células imuno-associadas nos subtipos de Carcinoma Basocelular em população de Salvador - BA.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Imunologia, 2006.

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.– 2. ed. –Editora do Ministério da Saúde. Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii: diretrizes técnicas** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 4. ed. – Editora do Ministério da Saúde. Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde: volume 3** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 1. ed. atual. – Editora do Ministério da Saúde. Brasília, 2017.

BRASILEIRO, G. F. **Bogliolo Patologia.** Editora Guanabara Koogan, 9. ed. – Rio de Janeiro, 2016.

BURKE, M. L.; JONES, M. K.; GOBERT, G. N.; LI, Y. S.; ELLIS, M. K.; McMANUS, D. P. **Immunopathogenesis of human schistosomiasis.** Parasite Immunology , v. 31, p. 163-176, 2009.

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

CAMPOS, J. M. **Alterações hepatoesplênicas associadas à infecção por *Schistosoma mansoni* no modelo murino: clínica, histopatologia e proteômica.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Ouro Preto, 2012.

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, O. S. (Org.) ***Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar.** Organizado por Omar dos Santos Carvalho, Paulo Marcos Zech Coelho e Henrique Leonel Lenzi. Editora Fiocruz. 20.ed. Rio de Janeiro, 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.

COELHO, B. **Histopatologia da esquistossomose mansônica natural em *Rattus rattus frugivorus*.** Publicações avulsas do Instituto Aggeu Magalhães, v. III, nº 2, p. 5 - 38, Recife, 1954.

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

COUTO, F. F. B.; COELHO, P. M. Z.; ARAÚJO, N.; KUSEL, J. R.; KATZ, N.; JANNOTTI-PASSOS, L.K.; MATTOS, A. C.A. ***Schistosoma mansoni*: method for inducing resistance to praziquantel using *Biomphalaria glabrata* snails infected with LE strain.** Parasitology. v. 106, nº.2. 2010A.

COUTO, F. F. B.; COELHO, P. M. Z.; ARAÚJO, N.; KUSEL, J. R.; KATZ, N.; MATTOS, A. C.A. **Use of fluorescent probes as a useful tool to identify resistant**

Schistosoma mansoni isolates to praziquantel. Parasitology. v. 137, nº12, p.1791-7. 2010 B.

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.

FIFELIS, T. A. A.; FILHO, G. B.; PARREIRAS, P. M.; COELHO, P. M. Z.; ARAUJO, N.; CHAUD, M. V.; BALDO, D. A.; SANTOS, N. B.; LAMBERTUCCI, J. R. ***Schistosoma mansoni* granulomas in the skeletal striated muscles in the murine model of neuroschistosomiasis: histological findings.** Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 115, Rio de Janeiro, 2020.

FLANNERY, L. M. S. **Estudo sobre a patogenia da fibrose hepática periportal na esquistossomose do camundongo.** Tese (Doutorado) - Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz. Bahia, 2003.

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.; 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.

GOMES, E. C. S.; DOMINGUES, A. L. C.; BARBOSA, C. S. **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 *Kit^{W-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.

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

KYRITSI, K.; KENNEDY, L.; MEADOWS, V.; HARGROVE, L.; DEMIEVILLE, J.; PHAM, L.; SYBENGA, A.; KUNDU, D.; CERRITOS, K.; MENG, F.; ALPINI, G.; FRANCIS, H. **Mast cells (MCs) induce ductular reaction mimicking liver injury in mice via MC-derived TGF- β signaling**. Hepatology, article type: doi: 10.1002 / HEP.31497, 2020.

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.

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.

MELO, T. T. **Avaliação da imunoproteção induzida em camundongos pelo tegumento de esquistossômulo do *Schistosoma mansoni***. Dissertação (Mestrado) - Centro de Pesquisa René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte, 2010.

METWALI, A.; ELLIOTT, D.; BLUM, A. M.; LI, J.; SANDOR, M.; LYNCH, R.; NOBEN-TRAUTH, N; WEINSTOCK, J. V. **The granulomatous response in murine Schistosomiasis mansoni does not switch to Th1 in IL-4-deficient C57BL/6 mice**. The Journal of Immunology. v. 157; p. 4546-4553. 1996.

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.

MIRANDA, V. H. S.; GOMES, T. R. ELLER, D. E.; FERRAZ, L. C. N.; CHAVES, A. T.; BICALHO, K. A.; SILVA, C. E. C.; BIRBRAIR, A.; PASCOAL, M. A. X.; GOES, A. M.; OLIVEIRA, R. C.; ALVES, E. A. R.; BOZZI, A. **Liver damage in schistosomiasis is reduced by adipose tissue-derived stem cell therapy after praziquantel treatment**. PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES. v. 14; nº. 8. 2020.

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.

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

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

OLIVEIRA, J. L. **Participação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas no recrutamento e ativação celular no granuloma hepático e possíveis associações destes mediadores imunológicos com a morbidade da esquistossomose em área endêmica e em modelo murino**. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

OLIVEIRA, V. G. **Participação de eosinófilos na evolução da infecção experimental por *Schistosoma mansoni* em camundongos**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.

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.

ROCHA, I. C. **Participação de IL-33 na formação e modulação do granuloma hepático em camundongos infectados por *Schistosoma mansoni***. Tese (Doutorado) - Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

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, F. L. **Resposta imune celular e patologia hepática de camundongos desnutridos, infectados com *Schistosoma mansoni*.** Dissertação (Mestrado) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte, 2008.

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.

SOUZA, R. P. **Fatores imunológicos associados à resistência a infecção pelo *Schistosoma mansoni* em uma área endêmica da Bahia, Brasil.** Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Imunologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

WEUSKIRCHEN, R.; MEURER, S. K.; LIEDTKE, C.; HUBER, M. **Mast Cells in Liver Fibrogenesis.** Cells, v. 8, nº 1429, 2019.

WHO, World Health Organization, 2020. **Schistosomiasis: Status of schistosomiasis endemic countries: 2020.** Disponível em: https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/sch/sch.html. Acesso em: 17 de Janeiro de 2021.

ANEXO A

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

ANEXO B

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 acentuada (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

ANEXO C

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

ANEXO D

Tabela dos parâmetros utilizados para a análise histológica dos intestinos.

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 acentuado (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