



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Joana Bernardo Manoel Maria

Estudo histopatológico do baço de camundongos *Swiss Webster* na fase aguda da esquistossomose *mansoni* e associada à desnutrição proteica

Rio de Janeiro

2021

Joana Bernardo Manoel Maria

Estudo histopatológico do baço de camundongos *Swiss Webster* na fase aguda da esquistossomose *mansoni* e associada à desnutrição proteica

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Renata Heisler Neves

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

M332 Maria, Joana Bernardo Manoel.
Estudo histopatológico do baço de camundongos *Swiss Webster* na fase aguda da esquistossomose *mansoni* e associada à desnutrição proteica / Joana Bernardo Manoel Maria. – 2021.
106 f.
Orientadora: Prof.^a Dra. Renata Heisler Neves

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental.

1. Squistosoma mansoni – Teses. 2. Esquistossomose mansônica - Teses. 3. Desnutrição protéico-calórica. 4. Baço - Teses. I. Neves, Renata Heisler. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 616.995.122

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Joana Bernardo Manoel Maria

Estudo histopatológico do baço de camundongos *Swiss Webster* na fase aguda da esquistossomose *mansoni* e associada à desnutrição proteica

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 30 de agosto de 2021.

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Renata Heisler Neves (Orientadora)

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof.^a Dra. Silvia Amaral da Silva

Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof.^a Dra. Alba Cristina Miranda de Barros Alencar

Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2021

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha vó Maria Rosa. Minha maior referência de dignidade,
amor, fé e solidariedade.

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus e às Forças Sagradas pelo amor, proteção, lealdade, arrimo e inspiração.

Às minhas avós, aos avôs e todos os que vieram antes deles, pelo legado construído do qual muito me orgulho. Às minhas tias, sempre de braços abertos para o colo que traz renovo e incessantes preces e orações.

Aos meus pais, minha irmã e meu filho: AMO VOCÊS! Não há como descrever o sentimento de gratidão por todo apoio, compreensão, incentivo, e carinho que vocês desvelam a mim. Prosperamos nos amando e acolhendo.

A todas as amigas, todos os encontros e desencontros ao longo da vida. Sou só amor e gratidão por cada momento.

Às minhas irmãs do Terapretas, gratidão por todas as coisas! Sem vocês na minha vida nada disso seria possível. Amo muito vocês, seguimos juntas.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Renata Heisler Neves por confiar em abrir as portas do laboratório para mim e apostado no meu potencial. Gratidão pela paciência nos momentos difíceis, por todo incentivo e por todos os ensinamentos, para além da orientação. Admiro demais sua inteligência e solidariedade. Sou grata por tudo.

Ao Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva que com sua linda trajetória e vasto conhecimento evidentemente que nos faz refletir a cada consideração, sempre com um posto de vista diferenciado.

A Prof.^a Dr.^a Cristiane Leal Corrêa profunda gratidão pela disponibilidade e por me encantar a cada encontro com a beleza e o carinho dedicados às análises histológicas.

Ao Sr. Paulo do Departamento de Malacologia — IOC, FIOCRUZ por fornecer as cercarias.

A Sr. Sebastião da PragSoluções Biociências pela viabilização e esclarecimentos referentes à dieta experimental.

AGRADECIMENTOS

A todos os professores e técnicos do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, é uma verdadeira honra poder conviver e contar com o auxílio e conhecimento de vocês.

Às “meninas da Sílvia” agradeço imensamente pela amizade, pela disposição paciente em ensinar e desenvolver técnicas, por não se eximirem em auxiliar sempre que preciso.

À bioterista Dr.^a Nádia das Dores Moreira pelo excelente trabalho prestado e pela convivência maravilhosa.

Enfim, agradeço a todas, todos e todes estudantes e funcionários do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia e demais pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental por todas as contribuições que, sem dúvidas, me aperfeiçoaram pessoal e profissionalmente.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, fundamental para a execução desta pesquisa.

Por fim, após passar por tantos momentos de dificuldades, dúvidas e limitações, posso dizer “que chorei, mas arrasei!” Embora não tenha apresentado o projeto inicialmente desenhado, me orgulho não só do trabalho final, mas de todo o caminho percorrido.

Sou grata a toda Divindade por todos os caminhos que me levaram a estudar esquistossomose, uma doença negligenciada que atinge majoritariamente as minorias sociais. Parablenizo a mim mesma por não ter desistido. A educação transforma e a ciência salva vidas!

Não fiz o melhor, mas fiz tudo para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas sou não o que era antes.

Martin Luther King

RESUMO

MARIA, Joana Bernardo Manoel. **Estudo histopatológico do baço de camundongos *Swiss Webster* na fase aguda da esquistossomose *mansoni* e associada à desnutrição proteica.** 2021. 106 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2021.

A esquistossomose mansônica é a segunda parasitose em prevalência no mundo. O contágio ocorre em corpos d'água doces contaminadas e com presença do hospedeiro intermediário. A patogenia se estabelece devido a reações imunológicas contra ovos do *Schistosoma mansoni* retidos em diferentes tecidos, na forma mais grave da doença o baço é um dos principais órgãos afetados, apresentando o desenvolvimento de esplenomegalia. A desnutrição crônica é ocasionada pela assimilação inadequada de nutrientes e se apresenta de diferentes formas clínicas com variada magnitude. Acomete grande parte da população mundial e tem suas bases na pobreza. As deficiências nutricionais afetam o baço e a modulação da resposta imune. Isto posto, o presente trabalho objetivou realizar estudo histopatológico do baço de animais esquistossomóticos induzidos à desnutrição proteica. Para tal, foram utilizados 26 camundongos machos, linhagem *Swiss Webster*, divididos igualmente em grupos normoproteico e hipoproteico, onde após o desmame aos 21 dias foram alimentados com dieta contendo 22% e 8% de teor proteico respectivamente. Na quarta semana de experimento, 7 animais de cada grupo foi infectado com cerca de 100 cercarias (cepa BH) de *S. mansoni*, formando então os grupos: controle normoproteico (CN), controle hipoproteico (CH), infectado normoproteico (IN) e infectado hipoproteico (IH). A evolução ponderal e consumo alimentar dos animais foram acompanhados durante todo o experimento. A necropsia dos animais foi efetuada na nona semana de infecção. Depois de retirado, o baço foi clivado em duas partes e submetido a processamento histológico de rotina para inclusão em blocos de parafina e confecção de lâminas histológicas, coradas por hematoxilina e eosina (H&E). As alterações no baço foram investigadas por meio de análises histológicas qualitativas e quantitativas, com aplicação da morfometria de polpa branca e cápsula, da estereologia (método D36) e quantificação de megacariócitos. As análises histopatológicas evidenciaram que o grupo infectado hipoproteico apresentou maior deposição de pigmentos de hemossiderina e bilirrubina, aumento quantitativo de trabéculas e megacariócitos, embora estes tenham apresentado síntese deficiente, e intensas alterações organizacionais do parênquima esplênico. Portanto, os dados apresentados sugerem que a deficiência proteica exacerba a desorganização do tecido esplênico, comum na esquistossomose.

Palavras-chave: *Schistosoma*. Desnutrição proteica. Histologia. Morfometria. Estereologia.

ABSTRACT

MARIA, Joana Bernardo Manoel. **Histopathology of splenic tissue from *Schistosoma mansoni* infected Swiss Webster mice induced protein malnutrition**. 2021. 106 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2021.

Schistosomiasis mansoni is the second most prevalent parasitic disease in the world. Contagion occurs in contaminated fresh water bodies and with the presence of the intermediate host. The pathogenesis is established due to immunological reactions against *Schistosoma mansoni* eggs retained in different tissues. Chronic malnutrition is caused by the inadequate assimilation of nutrients and presents itself in different clinical forms of varying magnitude. It affects a large part of the world's population and is based on poverty. Nutritional deficiencies affect the spleen and the modulation of the immune response. Therefore, the present study aimed to perform a histopathological study of the spleen of schistosomal animals induced to protein malnutrition. For this purpose, 26 male Swiss Webster mice were used, equally divided into normoprotein and hypoprotein groups, where after weaning at 21 days, they were fed a diet containing 22% and 8% protein content, respectively. In the fourth week of the experiment, 7 animals from each group were infected with about 100 cercariae (BH strain) of *S. mansoni*, thus forming the groups: normoprotein control (CN), hypoprotein control (CH), normoprotein infected (IN) and hypoprotein infected (HI). The ponderal evolution and food consumption of the animals were followed during the whole experiment. Necropsy of the animals was performed at the ninth week of infection. After removal, the spleen was cleaved in two parts and submitted to routine histological processing for inclusion in paraffin blocks and preparation of histological slides, stained by hematoxylin and eosin (H&E). The spleen alterations were investigated by means of qualitative and quantitative histological analyses, with application of white pulp and capsule morphometry, stereology (D36 method) and megakaryocyte quantification. The histopathological analyses showed that the hypoprotein infected group presented a greater deposition of hemosiderin and bilirubin pigments, quantitative increase of trabeculae and megakaryocytes, although these presented a deficient synthesis, and intense organizational alterations of the splenic parenchyma. Therefore, the data presented suggest that protein deficiency exacerbates the disorganization of splenic tissue, common in schistosomiasis.

Keywords: *Schistosoma*. Protein malnutrition. Histology. Morphometry. Stereology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Mapa de distribuição geográfica da esquistossomose mansônica no mundo.....	21
Figura 2 -	Mapa de distribuição da esquistossomose no Brasil.....	22
Figura 3 -	Classificação taxonômica do <i>Schistosoma mansoni</i>	24
Figura 4 -	Vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i> acasalados.....	25
Figura 5 -	Ciclo biológico do <i>Schistosoma mansoni</i>	26
Figura 6 -	Granuloma hepático e intestinal.....	28
Figura 7 -	Estrutura do baço.....	32
Figura 8 -	Hipertensão portal.....	35
Figura 9 -	Alterações esplênicas em camundongos esquistossomóticos.	36
Figura 10 -	Mapa da Fome crônica mundial 2020.....	38
Figura 11 -	Distribuição geográfica da insegurança alimentar grave.....	40
Figura 12 -	Multifatorialidade da desnutrição.....	43
Figura 13 -	Delineamento experimental.....	49
Figura 14 -	Etapas do processamento histológico.....	54
Figura 15 -	Etapas da coloração por HE.....	55
Figura 16 -	Representação esquemática do método estereológico D36....	57
Figura 17 -	Esquema de corte histológico para morfometria da capsula....	58
Figura 18 -	Representação esquemática do método para quantificação de megacariócitos.....	59
Figura 19 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos não infectados submetidos à dieta normoproteica.....	69
Figura 20 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos não infectados submetidos à dieta hipoproteica.....	70
Figura 21 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos não infectados submetidos à dieta hipoproteica.....	71
Figura 22 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta normoproteica.....	72
Figura 23 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta normoproteica.....	73

Figura 24 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta normoproteica.....	74
Figura 25 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta normoproteica.....	75
Figura 26 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta hipoproteica.....	76
Figura 27 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta hipoproteica.....	77
Figura 28 -	Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta hipoproteica.....	78

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Consumo alimentar de camundongos infectados ou não, submetidos à dieta normo ou hipoproteica.....	61
Gráfico 2 -	Consumo proteico de camundongos infectados ou não, submetidos à dieta normo ou hipoproteica.....	62
Gráfico 3 -	Massa corporal de camundongos não infectados submetidos à dieta normo ou hipoproteica.....	63
Gráfico 4 -	Evolução ponderal de camundongos não infectados submetidos à dieta normo ou hipoproteica.....	64
Gráfico 5 -	Densidade de volume das estruturas esplênicas de camundongos esquistossomóticos ou não submetidos à dieta normo ou hipoproteica.....	65
Gráfico 6 -	Espessura da cápsula do baço de camundongos esquistossomóticos ou não submetidos à dieta normo ou hipoproteica.....	66
Gráfico 7 -	Análise morfométrica da polpa branca de baço camundongos esquistossomóticos ou não submetidos à dieta normo ou hipoproteica.....	67
Gráfico 8 -	Quantificação de megacariócitos encontrados no baço camundongos esquistossomóticos ou não submetidos à dieta normo ou hipoproteica.....	68

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro – 1	Funções do baço.....	33
Quadro – 2	Níveis de Insegurança Alimentar.....	39
Quadro – 3	Sumário dos dados do modelo de desnutrição proteica...	45
Tabela – 1	Composição nutricional das dietas experimentais (%).....	51
Quadro – 4	Grupos experimentais.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
D36	Técnica estereológica contendo grade com 36 pontos testes
DPE	Desnutrição proteico energética
EBIA	Escala Brasileira de Insegurança Alimentar
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos- macrófagos
HE	Hematoxina e eosina
HSC	Células estaminais hematopoiéticas
HSPCs	Células-tronco hematopoiéticas
IA	Insegurança Alimentar
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN - γ	Interferon Gama
IL-10	Interleucina-10
IL-6	Interleucina-6
INPEG	Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helmintoses
M	Megacariócito
MCP-1	Proteína quimiotática de monócito-1
MHC I	Complexo de histocompatibilidade principal
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PB	Polpa branca
PCR	Proteína C reativa
pH	Potencial hidrogeniônico
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
PV	Polpa vermelha
RDB	Dieta regional brasileira
SA	Segurança Alimentar
SUS	Sistema Único de Saúde

T	Trabécula
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TPO	Trombopoetina
Vv	Densidade de volume
VWF	Fator de von Willebrand

LISTA DE SÍMBOLOS

CO₂ Dióxido de Carbono

°C Graus Celsius

μL Microlitro

μm Micrometro

μm² Micrometro ao quadrado

mL Mililitro

% Porcentagem

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	18
1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
1.1	Esquistossomose.....	20
1.2	O parasito e seu ciclo biológico.....	23
1.3	Patologia da esquistossomose.....	27
1.4	Esquistossomose e distúrbios metabólicos do hospedeiro.....	29
1.5	Baço.....	31
1.6	Desnutrição.....	36
1.7	Distúrbios da desnutrição proteica.....	41
1.8	Esquistossomose e desnutrição.....	43
2	OBJETIVOS.....	47
2.1	Geral.....	47
2.2	Específicos.....	47
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.1	Delineamento experimental.....	48
3.2	Comitê de ética.....	49
3.3	Animais.....	50
3.4	Dietas experimentais.....	50
3.5	Biometria dos animais.....	51
3.5.1	<u>Consumo de ração.....</u>	51
3.5.2	<u>Ganho de massa.....</u>	52
3.6	Infecção experimental.....	52
3.7	Grupos experimentais.....	52
3.8	Eutanásia.....	53
3.9	Processamento histológico do baço e coloração das lâminas.....	53
3.10	Análises histológicas do tecido esplênico.....	55
3.10.1	<u>Análises quantitativas.....</u>	56
3.10.1.1	Estereologia.....	56
3.10.1.2	Morfometria.....	57
3.10.1.3	Quantificação de megacariócitos.....	58

3.10.2	<u>Análise qualitativa</u>	59
3.11	Análise estatística	59
4	RESULTADOS	60
4.1	Biometria dos animais	60
4.1.1	<u>Consumo alimentar</u>	60
4.1.	<u>Massa corporal</u>	62
4.2	Análises histológicas do baço	64
4.2.1	<u>Análises histológicas quantitativas</u>	64
4.2.1.1	Estereologia.....	64
4.2.1.2	Morfometria da cápsula.....	65
4.2.1.3	Morfometria da polpa branca.....	66
4.2.1.4	Quantificação de megacariócitos.....	68
4.2.2	<u>Análise histológica qualitativa</u>	68
5	DISCUSSÃO	79
	CONCLUSOES	87
	REFERÊNCIAS	88
	ANEXO - Certificado de Aprovação do Conselho de Ética	106

INTRODUÇÃO

As infecções parasitárias causadas por helmintos manifestam grande repercussão ao redor do mundo. Dentre as quais, a esquistossomose se sobressai como uma helmintose de evolução crônica, negligenciada e endêmica em países tropicais e subtropicais, com importante impacto clínico e socioeconômico (WHO, 2021a).

A esquistossomose *mansoni* apresenta uma vasta sintomatologia que passa por febre, dor de cabeça, suores, calafrios e falta de apetite à diarreia sanguinolenta, prurido e coceira anal e tenesmo (NEVES, D.P.; MELO, A. L.; LENARDI, P. M.; VITOR, 2016). Possui como característica histopatológica preponderante a modulação de intensa resposta inflamatória ao redor dos ovos maduros (formação granulomatosa) retidos nos órgãos do hospedeiro, especialmente no fígado, intestino e baço. Na sua manifestação mais grave, hepatoesplênica, ocorre o aumento volumétrico e demais desordens estruturais no fígado, devido ao acúmulo de granulomas, com subsequente fibrose secundária, causando hipertensão portal (MASI *et al.*, 2020). O aumento do fluxo sanguíneo e a estase no sistema venoso colateral contribuem para o desenvolvimento da esplenomegalia (DA ROSA, 2019).

A desnutrição crônica se desenvolve de forma sistêmica no organismo em virtude do consumo deficiente, em excesso ou desequilíbrio de macro e/ou micronutrientes (WHO, 2020). Quando ocorre durante a lactação, a desnutrição materna desencadeia efeitos a longo prazo nos seus descendentes que podem chegar até a fase adulta (CORREIA *et al.*, 2011). Diversos graus de deficiência proteica geram uma ampla gama de sintomas e comprometimentos ao organismo, afeta em especial o sistema hematopoiético, podendo causar danos severos ao timo, baço e células estromais da medula óssea (CUERVO-ESCOBAR *et al.*, 2014; FOCK *et al.*, 2010). Também são relatadas alterações na funcionalidade leucocitária e aumento da autofagia e deformação da matriz extracelular (SANTOS *et al.*, 2016a, 2019).

A esquistossomose e a desnutrição proteica são graves problemas de saúde pública devido aos graus de severidade e predomínio geográfico de ambas. Associadas à pobreza, ocorrem frequentemente de forma simultânea, visto que as regiões endêmicas do helminto são comumente habitadas por populações de baixo

poder econômico (COUTINHO *et al.*, 2010; MACIEL *et al.*, 2021; MARQUES *et al.*, 2018).

O baço é o maior órgão linfóide secundário do organismo. Apresenta uma organização estrutural determinante para o cumprimento de seu importante papel no sistema imunológico, também atende aos sistemas hematopoiético e mononuclear fagocitário (FAY, 2002; TARANTINO *et al.*, 2011b). Apesar de raramente originar quadros patológicos, manifesta diversas alterações morfológicas na ocorrência de estresse sistêmico.

O baço esquistossomótico desenvolve aumento volumétrico não somente devido à hipertensão portal, se deve também à hiperatividade imunológica solicitada pela infecção (DKHIL *et al.*, 2017). Quando em comorbidade com demais distúrbios, as estruturas esplênicas exibem variadas alterações (que podem também ser imprevisíveis), dificultando ainda mais a resposta imunológica (DA ROSA, 2019; DA SILVA *et al.*, 2012; FREITAS *et al.*, 1999; GOMES, 2013).

Embora a associação entre esquistossomose e desnutrição apresente um vasto repertório bibliográfico, a variedade metodológica e as insuficientes referências sobre o impacto desta comorbidade ao baço, dificultam a compreensão de certos processos acarretados (COUTINHO, 2008; MACIEL *et al.*, 2021).

Considerando que associação entre desnutrição proteica e esquistossomose agrava as mudanças nas condições de saúde do hospedeiro, o presente estudo apresenta análise histopatológica esplênica em modelo experimental que associa a esquistossomose mansônica à desnutrição proteica, visando contribuir com esclarecimentos para futuras novas abordagens terapêuticas.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Esquistossomose

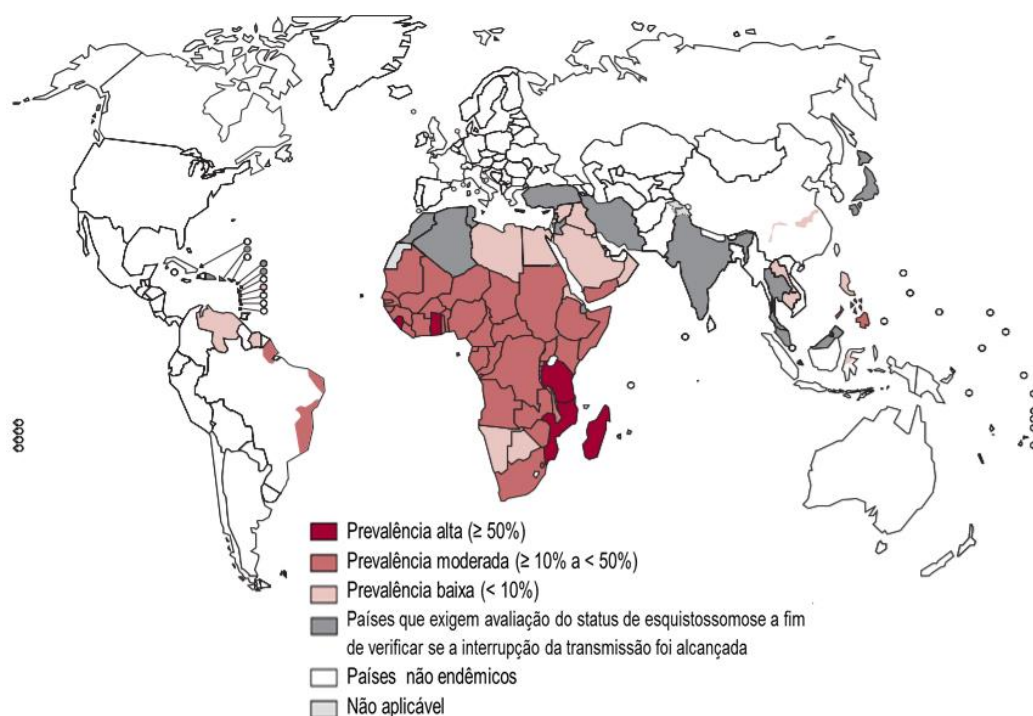
A esquistossomose humana é uma helmintose provocada pelo trematódeo sanguíneo e digenético do gênero *Schistosoma* (CHUAH *et al.*, 2019). Possui seis espécies morfológicamente semelhantes que parasitam o homem, mas que habitam diferentes localizações no corpo humano e divergem em patologia e locais de oviposição. Destas, três apresentam maior importância global ou regional: *Schistosoma japonicum* Katsurata, 1904 (China e sudeste da Ásia), *Schistosoma haematobium* Bilhartz, 1852 (África e Arábia) e *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 (África, Antilhas e América do Sul), sendo a distribuição das espécies determinada pela presença do hospedeiro intermediário (GRYSEELS, 2012).

No século XVII, a escravização de africanos e a imigração de orientais e asiáticos possibilitou a chegada das espécies *S. mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum* às Américas. Embora somente a primeira tenha aqui se estabelecido, devido ao encontro dos hospedeiros intermediários e de condições climáticas semelhantes ao local de origem (NEVES, D.P.; MELO, A. L.; LENARDI, P. M.; VITOR, 2016).

Os gastrópodes pulmonados da família Planorbidae, gênero *Biomphalaria*, são moluscos de água doce que possuem três espécies amplamente difundidas no território e naturalmente infectadas por *S. mansoni*: *Biomphalaria glabrata* Say, 1818; *Biomphalaria tenagophila* D'orbigny, 1835; *Biomphalaria straminea* Dunker, 1848 (BRASIL, 2014a).

A esquistossomose está entre as doenças negligenciadas mais prevalentes e debilitantes em áreas tropicais e subtropicais (CHUAH *et al.*, 2019). A estimativa da OMS é de que as esquistossomoses afetem globalmente cerca de 236,6 milhões de pessoas e ameacem 700 milhões em áreas endêmicas. Em 2019, 105,4 milhões de pessoas necessitaram de tratamento para a doença. A parasitose é distribuída geograficamente em 78 países entre África, Américas (do Sul e Central) e Ásia, e afeta majoritariamente o continente africano, compreendendo 90% de todos os casos (WHO, 2013) (Figura 1).

Figura 1 – Mapa de distribuição geográfica da esquistossomose mansônica no mundo

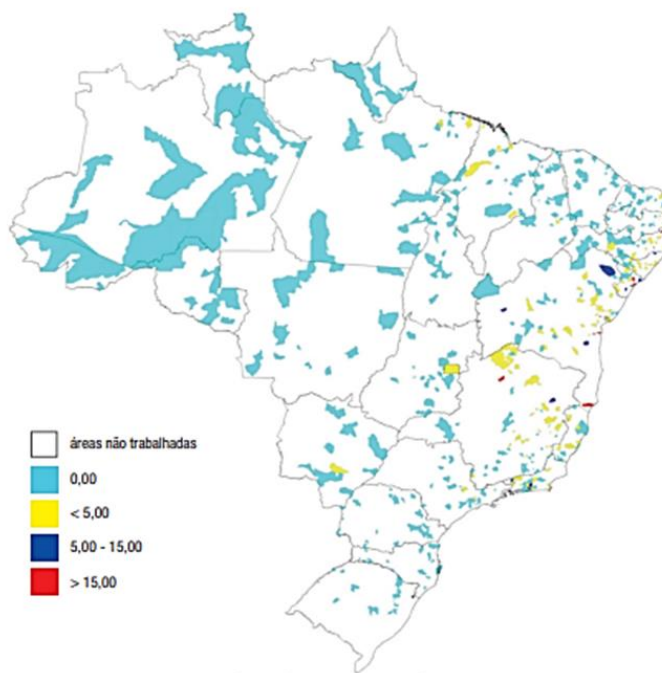


Legenda: As áreas em vermelho escuro mostram as regiões onde a população é mais acometida pela esquistossomose.

Fonte: Adaptado de WHO (2013).

A esquistossomose mansônica ainda é um grave problema de saúde pública no Brasil, apresentando em torno 25 milhões de pessoas em risco de contaminação e expressivos casos de formas graves e óbitos (BRASIL, 2014a). Devido a isto, consta no quadro de prioridades no Plano Integrado de Ações Estratégicas de Eliminação de Doenças Negligenciadas (BRASIL, 2012). Segundo dados registrados no Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses – INPEG (KATZ, 2018), a esquistossomose mansônica ocorre em grande amplitude territorial, com endemismo nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Espírito Santo e Minas Gerais (Figura 2). Embora tenha apresentado crescente queda no número de casos entre 1949, 1977 e 2015 (de 10,09% para 9,24% e 1,79% respectivamente), é imperativa a intensificação e ampliação de ações de controle da parasitose.

Figura 2 – Mapa de distribuição da esquistossomose no Brasil



Legenda: As áreas em vermelho representam regiões com maior positividade para esquistossomose mansônica.

Fonte: Katz (2018)

A transmissão da esquistossomose é impreterivelmente ditada pela interação humana com o caramujo (hospedeiro intermediário) no seu contato homem-água. Devido a isto, MCMANUS e colaboradores (2018) apontam a distribuição focal como característica chave da doença. A ocupação de comunidades de baixo poder e desenvolvimento econômico, em condições precárias de acesso à água limpa e saneamento básico próximo de corpos d'água doce implica na necessidade de utilização de águas naturais contaminadas para fins domésticos, recreativos, profissionais ou agrícolas (BRASIL, 2014c; KATZ; PEIXOTO, 2000), o que faz da esquistossomose uma doença associada à pobreza. Segundo o Ministério da Saúde, 9231 óbitos foram registrados entre os anos 2000 e 2017, casos em regiões não endêmicas somaram 6632 de 2007 a 2017 e estima-se que 1,5 milhões de pessoas habitem áreas de risco, o que ratifica a importância de políticas de prevenção e controle desta parasitose pelos gestores da saúde pública do país (BRASIL, 2021).

A patogenia da esquistossomose varia devido a uma série de fatores relativos tanto ao parasito quanto ao hospedeiro (KATZ; ALMEIDA, 2003) e os sintomas

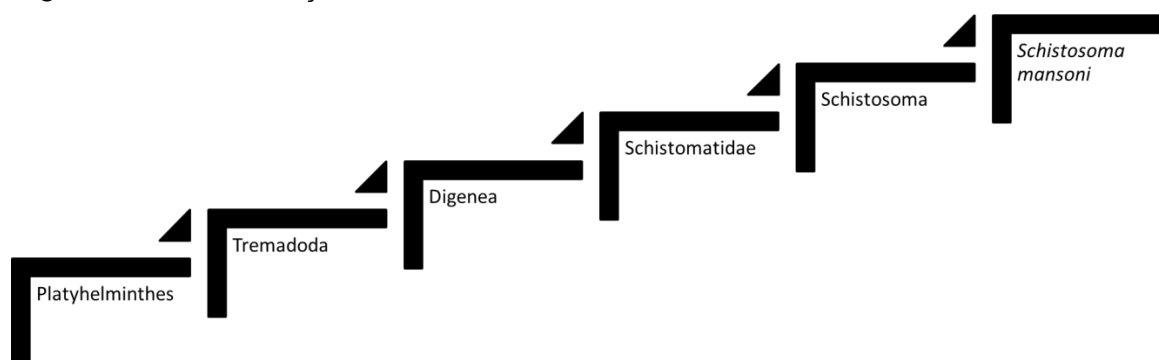
diferem não só consoante à fase da infecção (GRYSEELS *et al.*, 2006), mas também pela exposição prévia ao parasito, o que frequentemente ocorre em regiões endêmicas (BINA; PRATA, 2003), retardando e/ou dificultando o diagnóstico.

Ainda não há métodos diagnósticos para a esquistossomose no período pré-patente (WU *et al.*, 2010). O método de detecção de ovos nas fezes recomendado pela OMS como padrão ouro é a técnica de Kato-Katz (KATZ; CHAVES; PELLEGRINO, 1972) que possibilita o diagnóstico quantitativo de fácil aplicabilidade e baixo custo (WHO, 2013). Entretanto, a baixa sensibilidade em pessoas com baixa carga parasitária pode subestimar a prevalência da esquistossomose, causando prejuízo aos esforços de controle (DE VLAS; GRYSEELS, 1992; DUAN *et al.*, 2018; GRENFELL *et al.*, 2013). O que impulsiona o estudo de novas técnicas aprimoradas como: a Helmintex® (TEIXEIRA *et al.*, 2007) que se baseia no caráter paramagnético dos ovos de *S. mansoni*, o método de gradiente salino (COELHO *et al.*, 2009), o uso de técnicas moleculares (ENK; OLIVEIRA E SILVA; RODRIGUES, 2012; GOMES *et al.*, 2010; POMARI *et al.*, 2019) e o teste imunológico POC-CCA (COLLEY *et al.*, 2013; VAN DAM *et al.*, 2004), que vêm apresentando bons resultados em áreas de baixa carga parasitária.

1.2. O parasito e seu ciclo biológico

O agente causador da esquistossomose intestinal, pertence ao filo Platyhelminthes por apresentar corpo achatado dorso-ventralmente (Figura 3). É incluído na classe Trematoda, subclasse Digenea, e possui particularidades como sexos separados, elevado dimorfismo sexual e ciclo heteróximo (com hospedeiro intermediário e definitivo) que o coloca na família Schistomatidae. São vermes longos e finos que apresentam corpo em forma de fenda, motivando a etiologia do gênero *Schistosoma* (gr. *schisto*= fenda; *soma*= corpo). A espécie *Schistosoma mansoni* é a única registrada no Brasil e sua manifestação clínica é popularmente conhecida como “barriga d’água”, “xistose” ou “mal do caramujo” (MACHADO E SILVA, J. R.; NEVES, R. H.; GOMES, 2008).

Figura 3 – Classificação taxonômica do *Schistosoma mansoni*



Legenda: A Figura apresenta a classificação taxonômica do *S. mansoni* desde filo à espécie.
 Fonte: Adaptado de Machado e Silva, J. R.; Neves, R. H. & Gomes, (2008).

Este parasito habita o sistema venoso portal mesentérico, o macho é esbranquiçado e mede entre 0,6 a 1,0 cm de comprimento. Seu corpo é dividido em porção anterior, região cilíndrica onde se encontram as ventosas oral e ventral, e porção posterior, achatada dorso-ventralmente onde abriga a fêmea no canal ginecóforo (Figura 4). O corpo é todo revestido por tegumento que contém pequenas estruturas denominadas tubérculos e possibilitam sua locomoção (MACHADO-SILVA *et al.*, 1995). A fêmea tem o corpo cilíndrico mais longo e mais fino que do macho medindo entre 1,2 a 1,6 cm e coloração mais escura e acinzentada devido à presença de hemozoína em seu tubo digestivo. Seu delgado corpo permite a oviposição nos capilares sanguíneos mais finos (NEVES *et al.*, 1998).

Diversos estudos apontam que o *S. mansoni* detém grande plasticidade fenotípica como estratégia de sobrevivência que permite adaptar-se a diferentes condições fisiológicas de seus hospedeiros (ALENCAR *et al.*, 2016; BARROS *et al.*, 2009; HULSTIJN *et al.*, 2011; MACHADO-SILVA *et al.*, 1995; NEVES *et al.*, 1998, 2001, 2007a).

Figura 4 – Vermes adultos de *Schistosoma mansoni* acasalados



Legenda: A Figura apresenta vermes acasalados corados por carmim clorídrico.
Fonte: Machado e Silva, J. R. ; Neves, R. H.; Gomes (2008).

Possui um ciclo biológico complexo com a fase de reprodução sexuada no hospedeiro vertebrado (homem e pequenos mamíferos), e a fase de reprodução assexuada no hospedeiro intermediário (caramujo do gênero *Biomphalaria*) (REY, 2010).

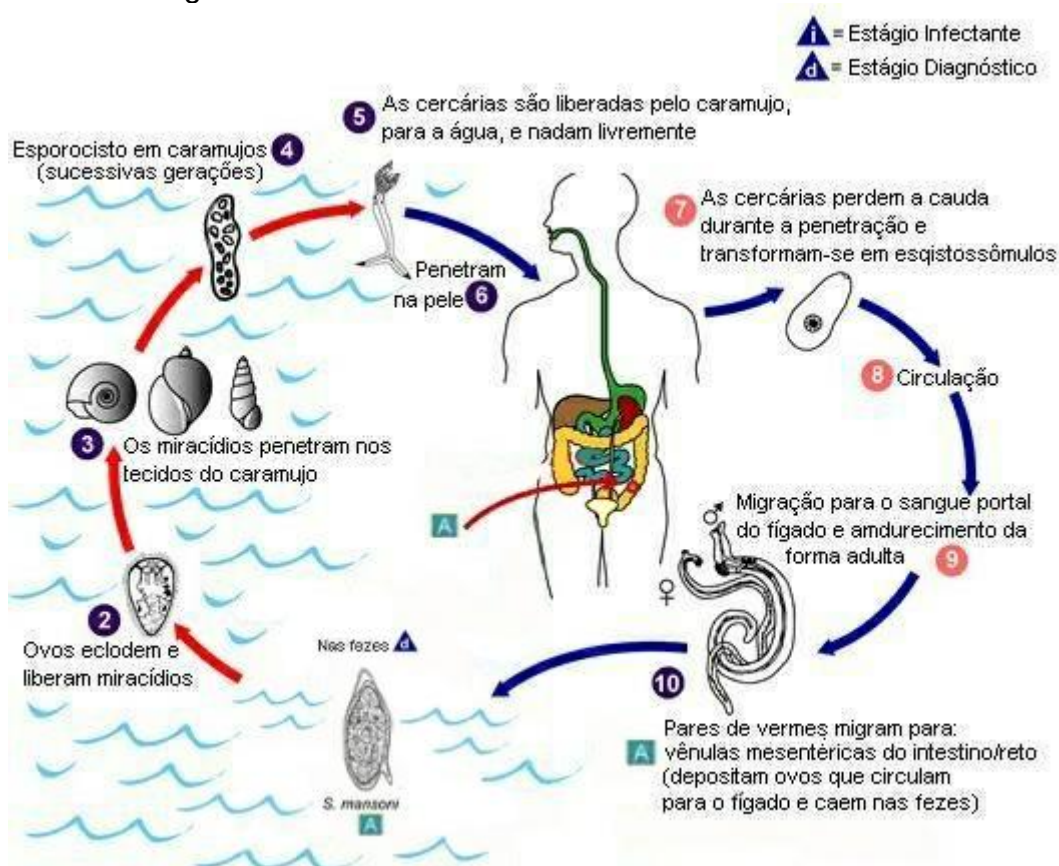
Os vermes adultos habitam os ramos das veias mesentéricas inferiores, principalmente na altura da parede intestinal do plexo hemorroidário, onde as fêmeas iniciam a postura dos ovos. Parte desses ovos chega à luz intestinal sendo eliminada nas fezes (NEVES, D.P.; MELO, A. L.; LENARDI, P. M.; VITOR, 2016).

O ciclo inicia quando ovos viáveis do parasito, eliminado junto às fezes, entra em contato com a água. Estimulados por condições ambientais propícias (luz intensa, temperatura alta e oxigenação da água), os ovos eclodem liberando larvas ciliadas, denominadas miracídios. Estes nadam em meio aquático, encontram o caramujo e penetram em suas partes moles através de movimentos rotatórios e secreções glandulares. Neste ambiente passam por modificações, sofrem reprodução assexuada e se desenvolvem em cercarias (forma infectante). Completada a formação da cercaria, (período de 27 a 30 dias), ela emerge ao meio aquático, quando em condições ideais de temperatura (28 °C) (CHUAH *et al.*, 2019).

Em águas contaminadas, o hospedeiro vertebrado é infectado pelas cercarias que se fixam preferencialmente nos folículos pilosos e com ações lítica e mecânica penetram através da pele, o que provoca a perda da cauda (MACHADO E SILVA, J.

R.; NEVES, R. H.; GOMES, 2008). As cercárias se transformam em esquistossômulos e ganham a circulação sanguínea, por onde são carreados passivamente para o coração e pulmões, até chegarem ao sistema porta intra-hepático onde as formas jovens amadurecem sexualmente em macho e fêmea (LAMBERTUCCI, 2010). Vermes acasalados migram contra a corrente sanguínea para as veias mesentéricas inferiores, onde a fêmea inicia a oviposição. Cada fêmea consegue produzir cerca de 300 ovos por dia. A postura é realizada no nível da submucosa, na parede de capilares e vênulas. Cerca de 50% dos ovos atravessam a parede do intestino e eliminados nas fezes, dão continuidade ao ciclo (GRYSEELS, 2012) (Figura 5). Os demais seguem pelo fluxo sanguíneo e ficam retidos nos tecidos do hospedeiro (MCMANUS *et al.*, 2018).

Figura 5 – Ciclo biológico do *Schistosoma mansoni*.



Legenda: Ilustração do ciclo evolutivo do *S. mansoni* no hospedeiro definitivo (desde a penetração na pele até a eliminação nas fezes) e após os ovos alcançarem a água e o hospedeiro intermediário.

Fonte: Adaptado de McManus e colaboradores (2018).

1.3. Patologia da esquistossomose

A patogenia da esquistossomose *mansoni* pode desencadear diversas manifestações clínicas no hospedeiro definitivo. Fatores como linhagem do parasito e sua localização no organismo, carga parasitária, estado nutricional, idade e imunidade do indivíduo são cruciais para a evolução clínica da parasitose (KATZ; ALMEIDA, 2003). O papel patogênico de maior relevância não está propriamente relacionado ao verme adulto, mas sim aos ovos que não alcançaram a luz intestinal (BAPTISTA; ANDRADE, 2005).

É clinicamente classificada em fase aguda e fase crônica, sendo a aguda dividida em período pré-patente (antes da postura dos ovos) e período patente (após o início da oviposição) (HIATT *et al.*, 1979).

No período pré-patente a sintomatologia é variada. Embora grande parte dos infectados seja assintomática, outros podem apresentar reações imediatas de dermatite cercariana, também conhecido como “doença de nadador”, quando ao penetrar na pele a secreção das glândulas acetabulares cercarianas provoca a liberação de diversas moléculas imunogênicas. A resposta inflamatória mediada pela resposta imune inata causa erupção cutânea e coceira intensas, geralmente não reconhecidas e negligenciadas (KALI, 2015; KOLÁŘOVÁ *et al.*, 2013; LAMBERTUCCI, 1993).

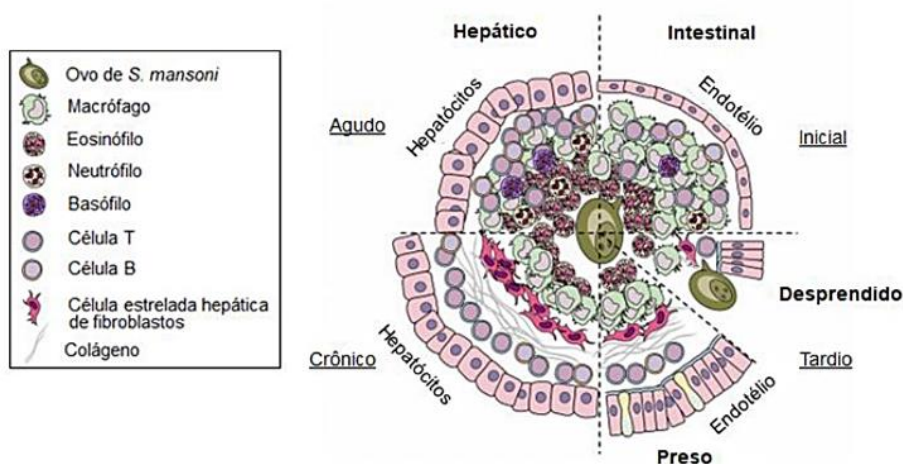
Na fase aguda, a resposta imune inata é seguida pela resposta adaptativa do tipo Th1 com mediação de imunocomplexos contra migração de esquistossômulos e seu estabelecimento no sistema intra-hepático (HIATT *et al.*, 1979; LEWIS; TUCKER, 2014). Pode apresentar linfadenia generalizada, tosse não produtiva, aumento volumétrico do baço e febre (BURKE *et al.*, 2009; COURA; AMARAL, 2004; SCHWARTZ; FALLON, 2018). Com o início do período patente, a presença de ovos retidos nos tecidos inicia uma intensa resposta granulomatosa (DE VLAS; GRYSEELS, 1992; RASO; PEDROSO; NEVES, 1986).

O granuloma pode ser compreendido como uma estrutura organizada, necessariamente composta por elementos do hospedeiro e do parasito, que mantém uma relação híbrida (LENZI *et al.*, 1998). O granuloma esquistossomótico é entendido como um processo imunológico do hospedeiro para neutralizar a dispersão das substâncias antigênicas exsudadas pelos ovos (LENZI *et al.*, 1997).

Ao se estabelecer nos tecidos, o miracídio presente no interior do ovo libera antígenos solúveis. Estes ativam o recrutamento de células leucocitárias que iniciam a formação granulomatosa. Macrófagos são as primeiras células a se apresentarem, seguidos de eosinófilos, linfócitos, neutrófilos e plasmócitos. As células se agrupam ao redor do ovo de acordo com suas afinidades moleculares e no decorrer da infecção são substituídas por células similares a fibroblastos que sintetizam fibras colágenas ao redor do ovo para sua calcificação (AMARAL *et al.*, 2017; LENZI *et al.*, 1998).

A inflamação granulomatosa nos tecidos hepático e intestinal possui diferença funcional e estrutural (Figura 6). A presença de eosinófilos é de grande importância não só pela intensa ação inflamatória, como por favorecer a eliminação dos ovos ao estimular o peristaltismo intestinal (AMARAL *et al.*, 2017; HUANG; APPLETON, 2016). Takaki e colaboradores (2021) sugerem que a casca do ovo seja imunologicamente inerte, inibindo assim a resposta granulomatosa de corpo estranho em ovos imaturos, isto permitiria o amadurecimento do miracídio no seu interior. Seria esta uma adaptação evolutiva para que granulomas facilitassem a extrusão apenas de ovos viáveis.

Figura 6 – Granuloma hepático e intestinal



Legenda: Alterações das formações celulares estruturais de granuloma intestinal e hepático.

Fonte: Adaptado de Schwartz & Fallon, (2018).

Neste período, as lesões originadas pela deposição de ovos em diferentes tecidos ditará a forma de apresentação da doença. Em sua manifestação mais

grave, a hepatoesplênica, a hipersensibilidade aos ovos desenvolve hipertensão e fibrose portal, cirrose hepática e hepatoesplenomegalia (HIATT *et al.*, 1979; NEVES, JAYME; RASO, 1965; STRAUSS, 2002).

1.4. Esquistossomose e distúrbios metabólicos do hospedeiro

Diversos trabalhos demonstram que comorbidades ou deficiências fisiológicas desencadeiam alterações no desenvolvimento do *Schistosoma* e/ou na oviposição (SAULE *et al.*, 2005). Os distúrbios metabólicos podem ser compreendidos como alterações de ordem metabólica ou hemodinâmica que servem de substrato para doenças crônicas como diabetes, dislipidemia, obesidade e cardiopatias (HOTAMISLIGIL, 2006). Os constantes deslocamentos populacionais entre regiões endêmicas e não endêmicas, seja para fins migratórios, profissionais, turísticos ou de exílio estão associados a múltiplos fatores que afetam os padrões alimentares. Desta forma, podem causar até mesmo a sobreposição das formas de desnutrição, quando associados às complexidades interativas da relação parasito-hospedeiro. Devido a isso, tornam-se meritórios os estudos que investiguem comorbidades entre a parasitose e demais desordens metabólicas (HALTON, 1997; MARCHESE *et al.*, 2018; MCMANUS *et al.*, 2018; WHO, 2017).

Estudos que relacionam a esquistossomose a doenças autoimunes sugerem que a infecção prévia por *S.mansoni* pode suprimir autoanticorpos estimuladores do receptor de tireotropina (TSHR) do tipo Th1. Possibilitando desta forma a prevenção do desenvolvimento do hipertireoidismo de Graves (NAGAYAMA *et al.*, 2004), camundongos diabéticos apresentaram redução da carga parasitária e de ovos maduros no intestino delgado, com consequente aumento de ovos imaturos (HULSTIJN *et al.*, 2011). A infecção por *S.japonicum* possui efeito inibidor da resposta Th1 e mediador pró-inflamatório, resultando na redução da artrite autoimune ao nível estrutural (SONG *et al.*, 2011). TANG e colaboradores (2019) justificam que, no curso da infecção por *Schistosoma*, a modulação da resposta imune Th1 para Th2 propicia uma resposta protetora a tais patologias.

Análises morfométricas e estereológicas demonstraram que o intestino de camundongos esquistossomóticos com diabetes induzida por estreptozotocina

deflagrou maior desarranjo morfoestrutural do jejuno, com presença intensa de infiltrados inflamatórios em confluência e extensa hipertrofia da camada muscular (DA SILVA, 2019). Neste mesmo modelo, foi investigada a biodistribuição do radionuclídeo Tecnécio-99m (^{99m}Tc). Foi observada a diminuição na captação do radiofármaco, principalmente no fígado e no pâncreas, órgãos onde ocorrem as principais alterações fisiopatológicas na esquistossomose mansônica e no diabetes, respectivamente (GÓES *et al.*, 2016).

O *Schistosoma* tem no hospedeiro uma fonte lipídica para fins biossintéticos crucial para produção de ovos (BEXKENS *et al.*, 2019). Ubirajara (2020) observou que a associação entre esquistossomose e dislipidemia embora tenha encontrado equilíbrio metabólico da hepatomegalia em relação às condições isoladas, promoveu maior inflamação e desestruturação organizacional dos tecidos hepático e adiposo. Neves e colaboradores (2007a) ratificaram que a dieta com alto teor de gordura favorece o desenvolvimento dos vermes adultos, além impactar positivamente na viabilidade, maturidade e na excreção de ovos (NEVES *et al.*, 2007b). Na dislipidemia associada à esquistossomose, as alterações esplênicas caracterizam-se por esplenomegalia com atrofia da polpa branca e hiperplasia dos centros germinativos, assim como aumento volumétrico da polpa vermelha comprometendo a geração de respostas imunes pelo hospedeiro (DA SILVA *et al.*, 2012).

Em estudo de DA SILVA FILOMENO e colaboradores (2020) sobre efeitos da síndrome metabólica em comorbidade à esquistossomose na fase aguda observou-se que, embora capaz de amenizar os níveis lipídicos e a esteatose macro e microvesicular, a esquistossomose promove o agravamento das lesões hepáticas.

Outros estudos avaliaram a esquistossomose com interação medicamentosa e demais morbidades. Alencar e colaboradores (2016) realizaram a administração de sinvastatina e artesunato como tratamento alternativo da parasitose em camundongos hipercolesterolêmicos. Os autores detectaram que alterações no tegumento, nos tubérculos e sistema reprodutor dos vermes adultos acarretam a redução da carga parasitária.

O alcoolismo é uma condição não infecciosa que provoca distúrbios nutricionais e hepáticos, com alteração do metabolismo lipídico (LIEBER, 1991). Trabalhos que estudaram os efeitos do etanol sobre o curso da esquistossomose mansônica observaram depressão da imunidade mediada por células, desencadeando diferenças na modulação do granuloma hepático, com redução de

seu diâmetro (CASTRO *et al.*, 1993). Também foi relatada a desestruturação esplênica com aumento quantitativo de trabéculas e megacariócitos, e desarranjo da polpa esplênica, além da redução na produção de citocinas produzidas por linfócitos (DA ROSA, 2019). Segundo BRANDÃO-BEZERRA e colaboradores (2019) houve danos ao tegumento e órgãos reprodutores de vermes adultos, ocasionados possivelmente pela peroxidação lipídica induzida pelo etanol.

1.5. Baço

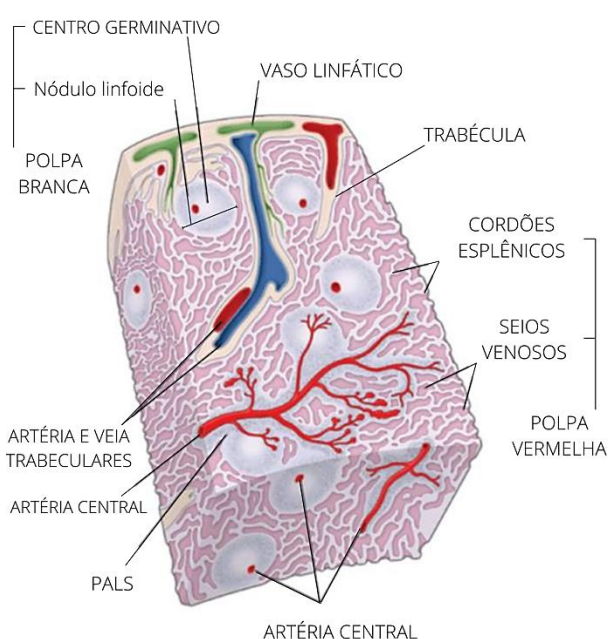
O baço é um órgão intraperitoneal, localizado no quadrante superior esquerdo do abdome, está situado abaixo do diafragma, posterior ao estômago, medial ao rim e superior à flexura esquerda do cólon. Apresenta-se como uma massa alongada, de coloração que varia do vermelho-escuro ao azul-arroxeadado (MOORE, KEITH L .; DALLEY, 2013). Possui participação na circulação porta e no sistema imunológico sendo considerado o maior órgão linfóide secundário do organismo. Desempenha funções de filtração de partículas estranhas presentes no sangue, é local de hematopoese entre os 4.º e 8.º meses de desenvolvimento fetal, podendo recuperar esta função quando na incapacidade de suprimento adequado pela medula óssea. Também atua como reservatório de eritrócitos e efetua aporte emergencial destas células na corrente sanguínea quando em estresse físico (FAY, 2002; MEBIUS; KRAAL, 2005).

O órgão é revestido por uma capsula composta por tecido conjuntivo denso, fibras elásticas e miofibroblastos. A cápsula emite trabéculas constituídas por músculo liso e miofibroblastos que abrigam vasos sanguíneos e linfáticos além de nervos (TARANTINO *et al.*, 2011a). Quando o organismo é exposto a hipóxia aguda a contração dos miofibroblastos permite aumento de até 30% do volume de eritrócitos circulantes (STEWART; MCKENZIE, 2002). Na superfície medial ocorre espessamento da cápsula para formação do hilo, local com maior concentração de trabéculas, por onde artéria e veia esplênicas acessam o órgão. Ao penetrar no parênquima a artéria esplênica se divide em ramos consecutivamente menores até resultar nas artérias centrais da polpa branca (BRENDOLAN *et al.*, 2007).

O parênquima esplênico (ou polpa esplênica) é dividido em duas regiões

distintas funcional e morfológicamente, facilmente visualizadas a olho nu. Quando em corte a fresco ou fixado, a superfície apresenta regiões em vermelho-escuro (polpa vermelha) pontilhadas por nódulos cinza-esbranquiçados que formam a polpa branca (RIVA *et al.*, 2019). A organização da arquitetura esplênica é fundamental para o sucesso na identificação e eliminação de patógenos (LEWIS; WILLIAMS; EISENBARTH, 2019) (Figura 7).

Figura 7 – Estrutura do baço



Legenda: Diagrama esquemático da estrutura esplênica.

Fonte: Adaptado de Wojciech e Ross (2021).

A polpa branca consiste em um agregado de células linfóides que se organiza a partir das artérias centrais. É dividida em três regiões: (i) bainha linfática periarteriolar (PALS) formada por linfócitos T em maturação; (ii) nódulo linfoide, área formada pela expansão PALS que pode promover o deslocamento das artérias no arranjo estrutural da polpa branca, neste local há presença de centros germinativos com linfoblastos e pró-linfócitos B em diferenciação, se desenvolvem após ativação da resposta imune e quando aumentados são denominados nódulos esplênicos; (iii) zona marginal, área de transito de células advindas da corrente sanguínea com grande concentração de macrófagos especializados, células dendríticas e linfócitos B, atua como “interface” entre polpa branca e polpa vermelha (BRONTE; PITTET,

2013; LEWIS; WILLIAMS; EISENBARTH, 2019).

A polpa vermelha é formada por seios venosos separados por cordões esplênicos (ou de Billroth). Os cordões são uma rede frouxa tridimensional de células reticulares e fibras reticulares (colágeno III e IV) onde há grande concentração de eritrócitos, macrófagos, monócitos, linfócitos, células dendríticas, plasmócitos e granulócitos (WOJCIECH; ROSS, 2021).

Ao sair da polpa branca as ramificações das artérias centrais formam artérias peniciladas, seguidas de capilares arteriais que escoam o sangue nos sinusóides esplênicos. Esta configuração permite ativação de respostas imunes inatas e adaptativas. A organização esplênica similar a um linfonodo, com áreas de células T e B, permite que os diversos subconjuntos de células T e B, células dendríticas e macrófagos exerçam funções distintas. A exemplo dos macrófagos, enquanto na zona marginal são especializados no reconhecimento e remoção de vírus e bactérias, na polpa vermelha atuam na fagocitose de eritrócitos e reciclagem do ferro (BRONTE; PITTET, 2013). O quadro 1 apresenta diferentes funções de polpa branca e polpa vermelha.

Quadro 1 – Funções do baço

Polpa Branca	Polpa vermelha
• Fagocitose de antígenos e imunocomplexos circulantes; • Apresentação de antígenos a linfócitos T; • Ativação e proliferação de linfócitos T e B; • Liberação de anticorpos após desafio antigênico; • Remoção de antígenos macromoleculares e microorganismos opsonizados.	• Liberação de anticorpos produzidos por plasmócitos; • Hematopoiese (fetal ou compensatória); • Filtro sanguíneo para patógenos e células danificadas e senescentes; • Ambiente onde eritrócitos se desprendem de resíduos sólidos • Armazenamento de eritrócitos, plaquetas e monócitos indiferenciados; • Reciclagem do ferro presente na hemoglobina com formação de pigmentos de bilirrubina e hemossiderina.

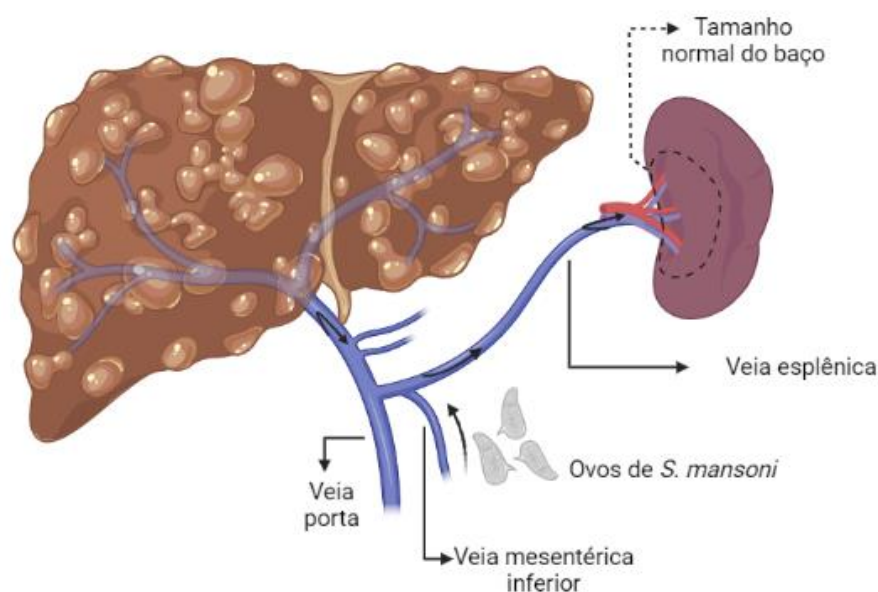
Fonte: Bronte & Pittet (2013); Wojciech & Ross (2021).

Embora raramente seja local inicial e de principal manifestação clínica de uma patologia, o baço ocupa papel central no sistema de defesa do sangue (FAY, 2002; KASHIMURA, 2020). As principais histopatologias do baço infeccioso agudo exibem dilatação dos seios venosos, espessamento hiperplásico dos cordões esplênicos, aumento dos depósitos de hemossiderina, hiperplasia dos nódulos linfóides e/ou PALS, atrofia de polpa branca e/ou polpa vermelha fibrose capsular ou parenquimatosa e congestão intensa das veias trabeculares (SUTTIE, 2006). Em deficiência proteica, observa-se desarranjo estrutural da polpa esplênica, redução e supressão dos nódulos linfóides, alteração percentual das subpopulações de linfócitos, desregulação da expressão de citocinas e hipotrofia ou atrofia do órgão (BORELLI *et al.*, 2004; CUERVO-ESCOBAR *et al.*, 2014).

No curso da infecção esquistossomótica o aumento volumétrico do baço se deve à ação constante da pressão com estase sanguínea em sua estrutura esponjosa e à hiperatividade imunológica (DKHIL *et al.*, 2017). Apesar de apresentar indivíduos infectados por *S.mansoni* assintomáticos, em sua maioria, em uma parcela de 5% a 10% dos casos a fibrose hepática evolui com gravidade provocando hipertensão portal, esplenomegalia e varizes esofágicas (FERREIRA *et al.*, 2017).

A deposição de ovos nos ramos intra-hepáticos incita a reação inflamatória granulomatosa que caracteriza a patologia da esquistossomose (LENZI *et al.*, 1997). A inflamação solicita o surgimento da fibrose hepática, que pode alterar o fluxo sanguíneo, tornando-o hepatofugal (MASI *et al.*, 2020). Conforme a intensidade da infecção, o deslocamento dos ovos na corrente sanguínea pode provocar oclusão venosa e associado à fibrose hepática. Fato que provoca o aumento do fluxo e estase no sistema venoso colateral, especialmente na veia esplênica, elevando o suprimento de células sanguíneas no baço, suscitando o desenvolvimento da esplenomegalia (CORREIA *et al.*, 2009) (Figura 8).

Figura 8 – Hipertensão portal

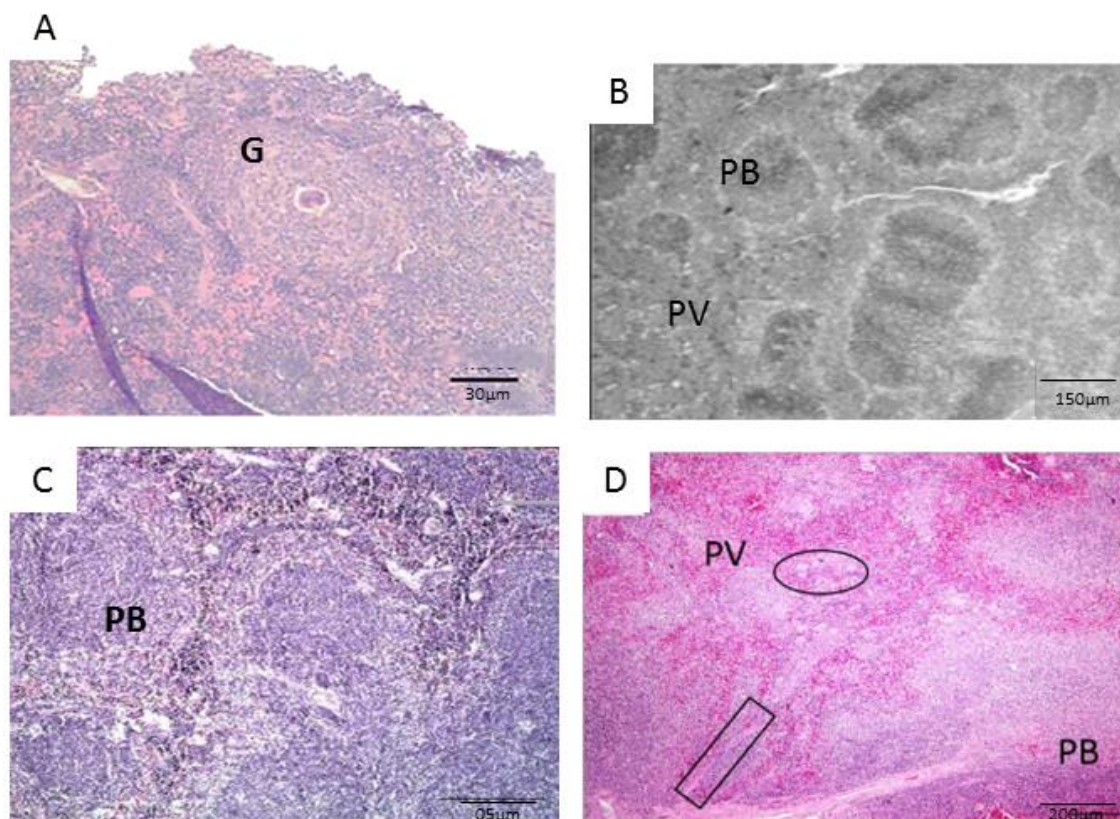


Legenda: A imagem apresenta a representação do fluxo sanguíneo quando na hipertensão portal.
Fonte: A autora, 2021.

Análises morfométricas do baço de indivíduos portadores de hepatoesplenismo esquistossomótico realizadas por Freitas e colaboradores (1999) evidenciou que o aumento do baço está relacionado à expansão congestiva da polpa vermelha e ao aumento das trabéculas fibrosas. Os autores ressaltam que as alterações da polpa branca são imprevisíveis e variáveis, podem apresentar nódulos linfoides aumentados e com centro germinativo largo e claro ou atróficos e com níveis de fibrose.

Ao associar a esquistossomose com dislipidemia Da Silva e colaboradores (2012) observaram uma desorganização estrutural do baço com decréscimo de células da polpa branca e polpa vermelha, hiperplasia do centro germinativo e formação granulomatosa (Figura 9; imagens A e B). A programação metabólica por restrição calórica provocou hiperplasia e hipertrofia de polpa branca e presença de agregados linfocitários nos seios marginais, além do acréscimo de megacariócitos e trabéculas em polpa vermelha em camundongos esquistossomóticos (Figura 9; imagem C) (GOMES, 2013). A helmintose teve sua morbidade exacerbada quando atrelada ao alcoolismo. No parênquima esplênico Da Rosa (2019) constatou a desestruturação total da polpa branca, centros germinativos hiperplásicos ou atróficos, fibrose capsular e aumento quantitativo de megacariócitos, trabéculas e pigmentos de hemossiderina (Figura 9; imagem D).

Figura 9 – Alterações esplênicas em camundongos esquistossomóticos



Legenda: Observamos em A: presença de granuloma (G) na polpa esplênica; B: atrofia da polpa branca (PB) e polpa vermelha (PV); C: hiperplasia e hipertrofia de polpa branca (PB); D: desestruturação da polpa branca (PB), presença de megacariócitos (círculo) e trabécula (retângulo).

Fonte: Adaptado de: imagem A e B: da Silva e colaboradores ,(2012); imagem C: (GOMES, 2013); imagem D: (DA ROSA, 2019).

1.6. Desnutrição

A má-nutrição pode ser compreendida como uma condição fisiológica anormal decorrente da assimilação inadequada de nutrientes, que conduz o organismo a um estado patológico com diferentes graus de gravidade e manifestações clínicas (GÓMEZ SANTOS, 2016). Por estar relacionada a excessos e desequilíbrios na ingestão de calorias e de macro/micronutrientes é categorizada em três grandes grupos: (i) desnutrição, (ii) deficiência de micronutrientes e (iii) sobrepeso e obesidade (WHO, 2020).

Reconhecendo que exterminar a fome e a desnutrição em todo o mundo, com desenvolvimento de agricultura e sistemas alimentares saudáveis, é fundamental

para alcançar os desafios da Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, a Organização das Nações Unidas (ONU) lançou em 2012 o Desafio Fome Zero. Nele foi firmado o compromisso em promover transformação efetiva em todos os estados-membros (ONU, 2015). Embora sejam grandes os esforços, segundo o relatório *The State of Food Security and Nutrition in the World*, publicado em 2020, um número inaceitável de pessoas ainda sofre fome, insegurança alimentar e desnutrição por não poderem arcar com os custos de uma alimentação saudável. Em todo o mundo, 1,5 bilhões de pessoas não pode pagar por uma dieta que cumpra com os níveis essenciais de nutrientes e mais de 3 bilhões não têm acesso a mais barata das dietas saudáveis (FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO, 2020).

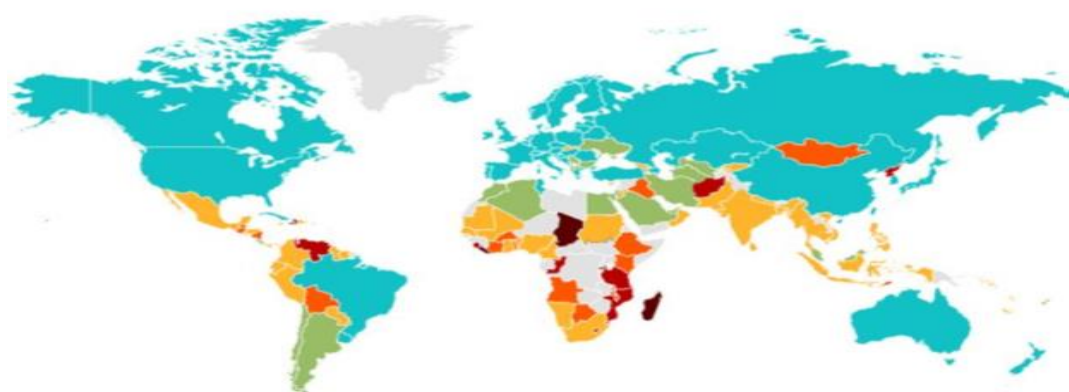
A desnutrição tem aspecto clínico-social multifatorial, ao discorrer sobre fatores que influenciam na mortalidade, CALDWELL (1979) questiona qual a possibilidade de melhoria nutricional de determinados membros da sociedade sem o aumento da renda *per capita*. A Declaração Universal dos Direitos Humanos estabelece, no artigo 25, que o acesso físico e econômico de todas as pessoas a alimentos e recursos (o que inclui acesso à água) de forma contínua é direito humano inalienável e imprescindível à cidadania. Independente de fatores culturais, sociais, étnicos, econômicos, climáticos e ecológicos de cada pessoa ou grupo social (BRASIL, 2014b). Investir na prevenção da desnutrição favorece o desenvolvimento de uma nação, visto que os consequentes problemas de saúde promovem perda da produtividade e da capacidade cognitiva, impactando os setores econômico, cultural e tecnológico (IFAD, 2019).

Em 2020, a pandemia do novo coronavírus (Covid-19) além de afetar o setor de alimentos e agricultura, contribuiu para elevar as desigualdades sociais devido ao aumento do endividamento e/ou desemprego e da interrupção dos sistemas de transporte e conexões globais utilizados por profissionais humanitários e da saúde (FARRELL *et al.*, 2020; PENSSAN, 2021). Neste cenário, segundo *World Food Programme* (WFP), 155 milhões de pessoas experimentou a forma aguda da fome (WFP, 2021).

A desnutrição crônica afetava globalmente 678,1 milhões de pessoas em 2018. Quadro que se agravou em 2019 para 687,8 milhões e estima-se que atualmente 872 milhões tenham consumo alimentar insuficiente, correspondente a 8,9% de toda a população (FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO, 2020; WFP, 2021). Trata-se de um dos maiores problemas de saúde pública e afeta todos os países,

principalmente regiões em desenvolvimento, com destaque para Ásia e África que registram 381,1 e 250,3 milhões de desnutridos, respectivamente (FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO, 2020). A distribuição geográfica da desnutrição crônica está representada na Figura 10.

Figura 10 – Mapa da Fome crônica mundial 2020



Mapa da Fome Crônica 2020



Prevalência da população com consumo insuficiente de alimentos
(porcentagem) de 2017 a 2019

Legenda: No mapa, as cores frias representam áreas com menor prevalência da fome crônica, enquanto as cores quentes indicam maior incidência de acordo com a intensidade.

Fonte: Adaptado de WFP, 2020.

Segundo a Escala Brasileira de Insegurança Alimentar (EBIA), entende-se como segurança alimentar (SA), a condição de acesso pleno a alimentos, tanto em quantidade como em qualidade, em um ambiente domiciliar. A insegurança alimentar (IA) ocorre em um processo progressivo composto por quatro níveis (Quadro 2), que inicia com a perda da qualidade nutricional, passa pela instabilidade e privação alimentar dos indivíduos adultos, culminando no quadro de fome, atingido todos os membros da família, inclusive crianças (BRASIL, 2014b).

Quadro 2 – Níveis de Insegurança Alimentar

Nível de segurança alimentar	Descrição
SA	A família tem acesso regular e permanente a alimentos, garantindo as necessidades essenciais.
IA leve	Eminência de restrição alimentar domiciliar. Redução estratégica da qualidade alimentar a fim de garantir a quantidade de consumo a todos os membros.
IA moderada	Redução/privação quantitativa de alimentos entre os adultos da família.
IA severa	Privação quantitativa de alimentos entre adultos e crianças. Estabelecimento da fome domiciliar.

Fonte: Adaptado de Brasil, (2014b).

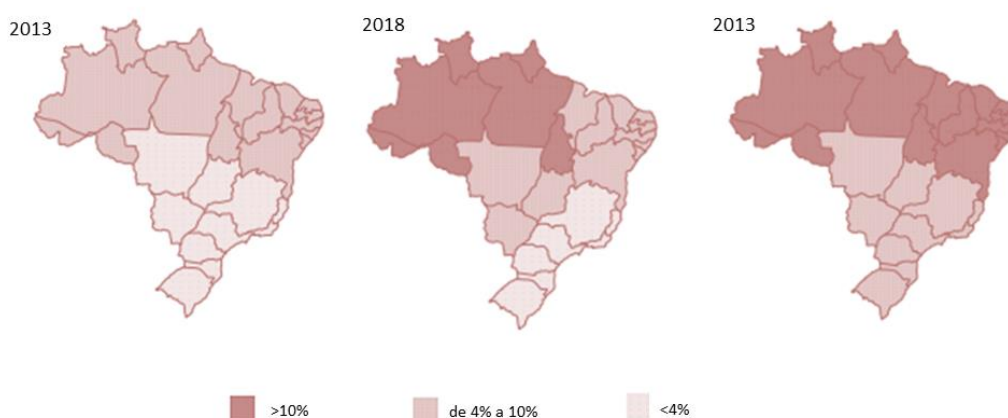
Em 2014, uma série de políticas públicas em atenção a pessoas em vulnerabilidade social possibilitou a saída do Brasil do mapa da fome da ONU (PENSSAN, 2021). Embora este fato ainda seja divulgado pelo Governo Federal, com reafirmação da aplicação de ações sociais, sobretudo durante a pandemia da Covid-19 (BRASIL, 2020), de acordo com IBGE, (2020) entre os anos de 2017 e 2018, 36,7% dos 68,9 milhões de domicílios nacionais apresentavam algum dos níveis de IA, o que representa 84,9 milhões de pessoas. Vale ressaltar que um país entra no Mapa da Fome quando a fome crônica (IA severa) atinge 5% ou mais de sua população (WFP, 2020). O Inquérito Nacional Sobre Insegurança Alimentar no Contexto da Pandemia da Covid-19 no Brasil ressalta que o recrudescimento da fome destaca o retrocesso ocorrido no país nos últimos cinco anos. Neste período a IA teve um aumento de 8,0% ao ano, taxa que entre os anos de 2018 e 2020 foi elevada para 27,6% ao ano (PENSSAN, 2021).

O representante do Brasil na ONU – Daniel Balaban – justifica que a ausência do país no relatório FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO (2020) se deve ao envio de dados sem a atualização da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2017–2018, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Balaban associa o impacto negativo na SA à crise econômica seguida de reajustes fiscais que promoveram o desmantelamento de políticas sociais (BARRUCHO, 2020).

PENSSAN (2021) elabora que o aumento da pobreza como agravante da IA relacionado à multiplicidade fatorial de aspectos sociais fortemente afetados pela crise sanitária vigente coloca o Brasil em uma condição de sindemia. Segundo a pesquisa, em 2020 o país possuía 211,7 milhões de habitantes e destes, 116,8

milhões viviam em algum nível de IA. A fome crônica era sofrida por 19,1 milhões, ou seja, 9,0% da população. Apenas entre os anos de 2018 e 2020, 9 milhões experienciaram este quadro. Ainda conforme o relatório, as desigualdades sociodemográficas se confirmaram com maiores concentrações de IA grave nas regiões Norte e Nordeste, em lares chefiados por mulheres e domicílios com pessoas autodeclaradas negras. Na Figura 11 está representada a distribuição geográfica da IA grave em evolução entre os anos de 2013 e 2020.

Figura 11 – Distribuição geográfica da insegurança alimentar grave



Legenda: Representação gráfica da evolução da IA grave entre os anos de 2013 e 2020.
Fonte: Adaptado de (PENSSAN, 2021).

Comumente associada à fome, a desnutrição também está etimologicamente ligada a dietas que estimulam o consumo inadequado de macro/micronutrientes, ao desbalanço entre fornecimento nutricional e demanda do organismo e a demais processos patológicos que interferem na absorção, digestão e/ou excreção (ALBERDA; GRAF; MCCARGAR, 2006; SAUNDERS; SMITH, 2010). Isto implica na variação de perfis da desnutrição, que podem ser independentes ou concomitantes entre si e a demais patologias. De fato, a desnutrição é uma das principais causas de mortalidade em comorbidade a inúmeras doenças (FRANÇA *et al.*, 2009).

1.7. Distúrbios da desnutrição proteica

A patogenia da desnutrição depende de fatores como idade do indivíduo, da intensidade, duração e causa da insuficiência nutricional (CHANDRA, 1997). Promove perda de peso, retardo no crescimento, compromete a imunidade inata e adaptativa, causa danos à mucosa gastrointestinal provocando perda de apetite e má absorção dos alimentos. Também gera alterações psicomotoras, psicossociais, hematológicas e endócrinas, com a desregulação humoral afetando principalmente os hormônios da tireoide, do crescimento e insulina (GROVER; EE, 2009; SAWAYA, 2006).

Segundo FAO e WHO (1973) a desnutrição proteico-energética (DPE) é caracterizada pelo suprimento celular insuficiente de proteínas e/ou energia. Pode ou não estar vinculada a deficiência vitamínica, mineral ou de oligoelementos (ALBERDA; GRAF; MCCARGAR, 2006). Essa categoria de desnutrição, que atualmente se destaca em prevalência mundial, avança progressivamente no organismo provocando compensações metabólicas adaptativas que afetam todos os processos do organismo (MONTE, 2000).

As alterações no metabolismo proteico provoca perda do músculo esquelético com ação inflamatória que induz a promoção do catabolismo muscular e inibição da síntese proteica para reparo tecidual (GROVER; EE, 2009; JENSEN *et al.*, 2009). As proteínas constituem o principal componente estrutural celular. Seu consumo escasso implica na perturbação do metabolismo de carboidratos, por serem fontes primárias de energia. O prolongamento desta condição gera incapacidade adaptativa de todos os tecidos, órgãos e sistemas fadando-os à falência (JIA *et al.*, 2012; KHAN; BHUTTA, 2010).

As manifestações clínicas da DPE variam de acordo com sua gravidade, idade do indivíduo e possíveis comorbidades. Com maior prevalência em crianças e idosos, está associada a 45% das causas de morte infantis (WHO, 2020). Apresentam-se nas formas clínicas Kwashiorkor e Marasmo, que podem ocorrer isoladamente ou combinadas.

O termo africano Kwashiorkor conduz referência ao filho mais velho. Foi introduzido em 1935 por Cicely D. Willians para indicar a negligência ao filho mais velho após o nascimento de uma nova criança. Esta forma de DPE é determinada

por dieta pobre em proteína, vitaminas e minerais, e caracterizada pelo retardo no crescimento, perda de peso, hepatomegalia e edema, localizado preferencialmente nos membros inferiores, alterações mentais e no humor. Também é parte da sintomatologia a queda capilar associada à alteração em sua textura, brilho e cor. A pele pode apresentar despigmentação, descamação e lesões (KRAWINKEL, 2003; MONTE, 2000).

No Brasil, a forma preponderante de DPE é o marasmo. Frequentemente observado em crianças, é causado pela privação crônica de energia. Instaure-se ao longo do primeiro ano de vida, quando ao ser desmamada precocemente, a criança recebe alimentação deficiente (SAWAYA, 2006). A perda ponderal é marcada pela depleção do tecido muscular esquelético e gordura subcutânea para tentativa de proteção aos órgãos vitais. Pode apresentar abdome proeminente, extremidades delgadas e pele com aparência envelhecida e pregas frouxas, principalmente na região das nádegas (MONTE, 2000).

A resposta imune é um processo que se desenvolve com a proliferação celular e síntese proteica. Desta forma a deficiência nutricional causa inabilidade metabólica celular, prejudicando a eficiência na reação a estímulos patogênicos. A conexão entre imunidade e nutrição não se estabelece somente ao nível celular, como atinge órgãos e sistemas. Os tecidos mais atingidos são aqueles com alto teor de renovação celular (CORISH; KENNEDY, 2000; DEO, 1978).

Borelli e colaboradores (2007) observaram hipoplasia de medula óssea em camundongos submetidos à desnutrição proteica. O comprometimento estrutural acompanhou quadros de anemia, leucopenia e neurogenia, tornando o organismo mais susceptível a infecções (NAKAJIMA *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2016a).

A desnutrição provoca atrofia do timo e esta é uma alteração de grande impacto imunológico, pois permite excesso de falhas no processo de diferenciação de células T, prejudicando a funcionalidade das mesmas (CHANDRA, 1997; CUERVO-ESCOBAR *et al.*, 2014). A DPE abala os processos de proliferação, diferenciação e maturação dos linfócitos, reduzindo quantitativamente sua presença no timo, baço e linfonodos (NAKAJIMA *et al.*, 2014).

As bases da multifatorialidade da desnutrição são alicerçadas na pobreza. O indivíduo incapaz de obter uma nutrição adequada está majoritariamente exposto a condições precárias de habitação e saneamento que aumentam a vulnerabilidade a infecções parasitárias, arboviróticas e/ou demais desordens metabólicas e

imunológicas (CAMPINO, 1986). A desnutrição potencializa a susceptibilidade e a gravidade a infecções, por outro lado, a redução do apetite, a má absorção e o aumento na demanda de nutrientes promovidos pela infecção agravam a desnutrição. Neste contexto, uma criança desnutrida está mais destinada à mortalidade antes de completar 5 anos, e sua sobrevivência é atrelada à sequelas incapacitantes que mantêm o ciclo da pobreza e da fome (CHISTI *et al.*, 2009; RYTTER *et al.*, 2014). A Figura 12 ilustra esta pluralidade.

Figura 12 – Multifatorialidade da desnutrição



Legenda: Esquematização da interação entre os múltiplos fatores relacionados à desnutrição.

Fonte: Adaptado de RYTTER e colaboradores (2014).

1.8. Esquistossomose e desnutrição

Estudos que relacionam doenças infecto-parasitárias à má-nutrição são comumente realizados em populações humanas e em modelos experimentais murinos (COUTINHO, 2008). São de grande valia para identificação de áreas de maior gravidade e para elaboração de estratégias de controle e prevenção por

governos locais e ações de organizações humanitárias (MILLWARD; JACKSON, 2004).

Trabalhos que examinam a sobreposição de parasitoses a processos inflamatórios crônicos em humanos destacam a contribuição da esquistossomose para a evolução da anemia e subnutrição. São fatores que provocam impactos fisiológicos e sociais como retardo do crescimento, baixo desempenho escolar e produtividade laboral, contribuindo para o manutenção da pobreza (CASTRO *et al.*, 1971; COLLEY *et al.*, 2013; MNKUGWE *et al.*, 2020). São estudos de grande importância epidemiológica que buscam direcionar profissionais da saúde e da gestão pública (KABONGO *et al.*, 2018; MUNISI *et al.*, 2016).

O uso de modelos animais permite a avaliação controlada de fenômenos naturais. A vantagem do estudo animal consiste na possibilidade de verificação individual de cada parâmetro, algo que não ocorre em populações humanas (FERREIRA; HOCHMAN; BARBOSA, 2005; HENRIQUES BRITO *et al.*, 2016). As relações entre deficiências nutricionais e esquistossomose possui uma vasta literatura, mas a diversidade de abordagens metodológicas permite a existência de aspectos ainda mal elucidados, com resultados que podem se apresentar de forma conflitante (COUTINHO, 2008).

Coutinho (1980) não observou influencia da desnutrição no curso da infecção esquistossomótica, embora a parasitose tenha contribuído para o agravamento da desnutrição prévia no hospedeiro. No entanto, Magalhães e colaboradores (1986b) encontraram menor reação inflamatória granulomatosa no fígado e jejuno em animais com deficiência nutricional.

Oliveira e colaboradores (2003) especularam que ocorreram adaptações fisiológicas tanto no hospedeiro quanto no parasito para a ausência de efeitos prejudiciais da desnutrição nos vermes adultos, pois mesmo apresentando diferentes modificações morfológicas, não houve impacto na capacidade reprodutiva. Não obstante, a privação proteica seja determinante para a fecundidade, evidenciado efeito negativo no número de ovos retidos no intestino (MACIEL *et al.*, 2021).

Nosso grupo de pesquisa estabeleceu um modelo de restrição proteica por um período de 13 semanas (do desmame a eutanásia) que visou avaliar os efeitos da comorbidade na morfologia e plasticidade fenotípica de vermes adultos (BARROS *et al.*, 2009; NEVES *et al.*, 2001, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2003), biometria

dos animais (SIMÕES *et al.*, 2002), estudos parasitológicos (cinética de postagem de ovos e oograma) (CORRÊA *et al.*, 2011; SIMÕES *et al.*, 2002) e histopatologia e morfometria hepática e esplênica (CORRÊA *et al.*, 2011; GOMES, 2013).

Observamos que a restrição proteica promoveu alterações na modulação da resposta imune e no desenvolvimento do *S. mansoni* e embora não tenha influenciado ou aumentado a quantidade de ovos, impactou na viabilidade dos mesmos. O quadro 3 sumariza as alterações observadas mais relevantes:

Quadro 3 – Sumário dos dados do modelo de desnutrição proteica

Tipo de dieta	Hospedeiro	Efeito	Referência
Dieta hipoproteica 8% RDB	Camundongo Swiss Webster	Alteração dos parâmetros estruturais do parasito	Neves <i>et al.</i> , 2001
Dieta hipoproteica 8% RDB	Camundongo Swiss Webster	↓ Massa de lóbulos testiculares ↓ Estrutural de ovos intrauterinos	Neves <i>et al.</i> , 2002
Dieta hipoproteica 8%	Camundongo Swiss Webster	↓ Massa corporal ↓ Ovos na porção distal do intestino ↑ Quantidade e duração da ovoposição	Simões <i>et al.</i> , 2002
Dieta hipoproteica 8% RDB	Camundongo Swiss Webster	↓ Parâmetros morfométricos dos vermes adultos	Oliveira <i>et al.</i> , 2003
Dieta hipoproteica 8%	Camundongo Swiss Webster	↓ Concentração de albumina sérica ↓ Ganho de peso pós- infecção ↓ Parâmetros morfométricos dos vermes adultos	Barros <i>et al.</i> , 2009
Programação metabólica; dieta hipoproteica 8%	Camundongo Swiss Webster	↓ Massa corporal ↓ Consumo alimentar ↑ Ovoposição ↑ Área de granulomas exudativos ↓ Área de granulomas exudativos produtivos Infiltrados leucocitários na ausência de granulomas	Corrêa <i>et al.</i> , 2011
Programação metabólica; dieta hipoproteica 8%	Camundongo Swiss Webster	Hiperplasia e hipertrofia da polpa branca ↓ Quantitativa de eritrócitos, macrófagos e megacariócitos ↑ Pigmentos de hemossiderina e bilirrubina	Gomes, 2013

Legenda: RDB:dieta básica regional.

A esquistossomose é considerada a segunda maior parasitose em prevalência e impactos socioeconômicos, atrás apenas da malária (WHO, 2021b). Representa ao Brasil um ônus de R\$ 155 milhões aos cofres públicos apenas no que se refere ao tratamento de saúde ofertado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (NASCIMENTO *et al.*, 2019). Trata-se de uma doença relacionada à pobreza que depende do contato humano com águas pluviais contaminadas para transmissão e da presença do caramujo hospedeiro para conclusão do seu ciclo biológico (MACHADO-SILVA *et al.*, 1995).

Atualmente cerca de 100 milhões de brasileiros vivem em IA. Esta é uma sindemia causada por estrutura social de desigualdades que entre muitos fatores, relaciona a IA à insegurança hídrica. Dentre os domicílios com classificação de IA severa e moderada, apenas 43,4% e 47,8% apresentam esgotamento sanitário (IBGE, 2020).

A ampla prevalência e distribuição geográfica da esquistossomose, sobreposta ao recrudesimento da IA em áreas endêmicas e não endêmicas, torna crucial a realização de estudos acerca desta associação para haver maior compreensão dos processos fisiopatológicos ocorridos e respectivos agravos gerados.

2 OBJETIVOS

2.1. Geral

Realizar estudo histopatológico do baço de camundongos Swiss Webster esquistossomóticos e com desnutrição proteica

2.2. Específicos

- a) Comparar massa corporal e consumo alimentar dos grupos experimentais;
- b) Identificar alterações histológicas qualitativas do parênquima esplênico;
- c) Utilizar a estereologia pelo método D36 para estudar o arranjo estrutural tridimensional interno do baço;
- d) Realizar a morfometria da polpa branca e cápsula;
- e) Quantificar megacariócitos no tecido esplênico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

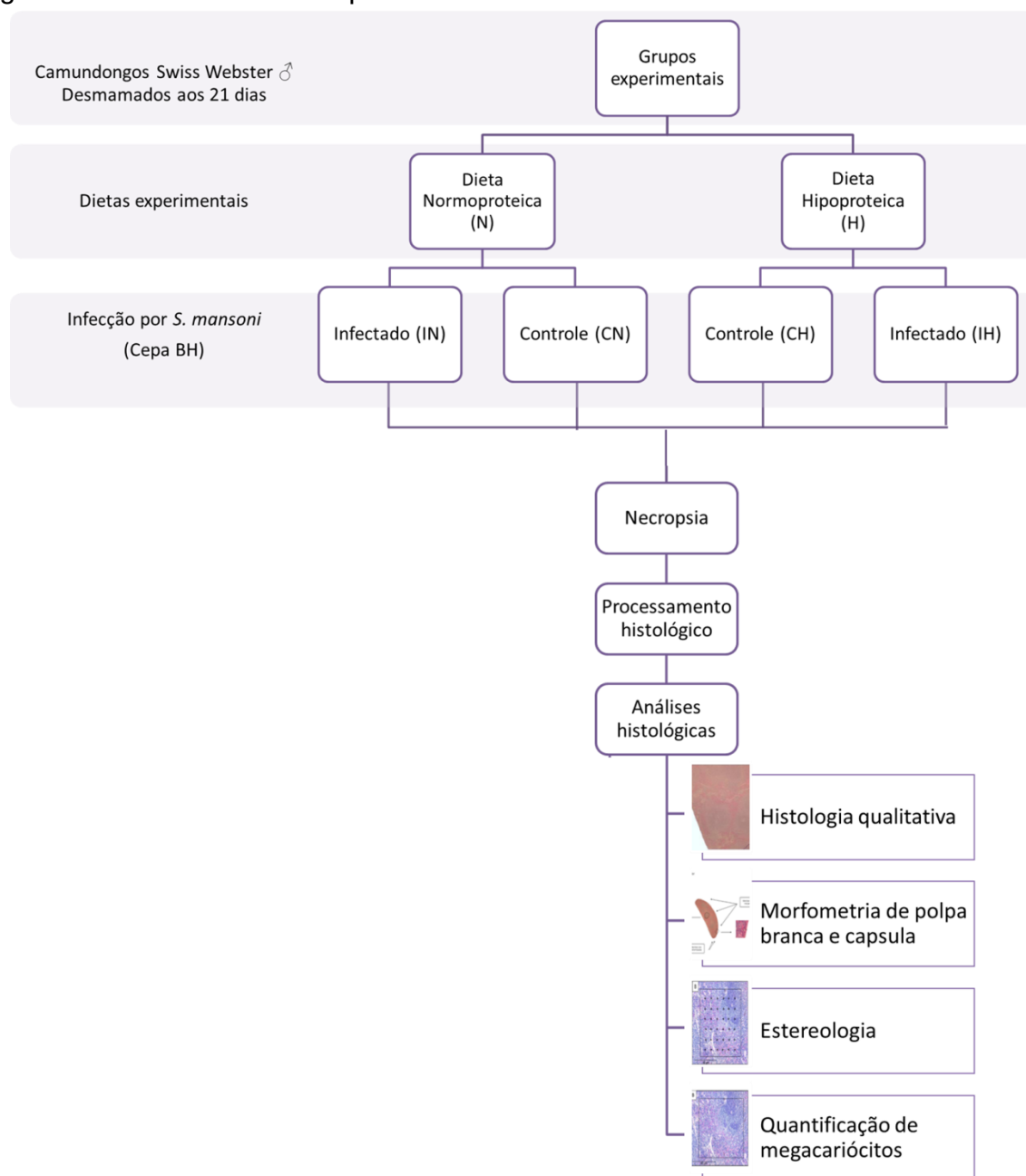
3.1. Delineamento experimental

Neste experimento foram utilizados 20 camundongos *Swiss Webster* machos que receberam dieta padrão ou hipoproteica e água *ad libitum* (Figura 13). Originalmente foram criados dois grupos com 10 animais (grupo normoproteico) que receberam dieta padrão e 10 animais (grupo hipoproteico) que receberam dieta com déficit de proteínas.

Na 4.^a semana, 5 animais de ambos os grupos foram infectados com cerca de 100 cercarias de *S. mansoni*, formando os grupos: infectado normoproteico e infectado hipoproteico.

A eutanásia dos animais ocorreu na 9.^a semana de infecção, caracterizando a fase aguda da esquistossomose. Os itens posteriores descrevem notadamente a metodologia empregada.

Figura 13 – Delineamento experimental



Fonte: A autora, 2021.

3.2. Comitê de ética

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal, do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (Universidade do Estado do Rio de Janeiro — UERJ) sob o protocolo de número CEUA 062/2018 (Anexo A).

3.3. Animais

Foram utilizados 20 camundongos machos da espécie *Mus musculus*, linhagem *Swiss Webster*, desmamados aos 21 dias de vida. Dentre eles, 10 não infectados e 10 infectados.

Durante o experimento, os animais foram mantidos no biotério da Disciplina de Parasitologia divididos em grupos de dois ou três animais em gaiolas de polipropileno (40 x 33 cm) forradas com maravalha de pinho autoclavada, com acesso à água e ração *ad libitum*, em sala com umidade e temperatura controladas ($60 \pm 10\%$; $21 \pm 1^\circ\text{C}$), expostos a ciclos de luz artificial e escuro (12/12 horas) e exaustor para circulação do ar. Não houve mortalidade espontânea de animais ao longo do experimento.

3.4. Dietas experimentais

Após o desmame (21 dias), os animais do grupo hipoproteico receberam dieta específica produzida comercialmente com 8% de proteínas pela PragSoluções Biociências® São Paulo, Brasil, para indução da desnutrição (BARROS *et al.*, 2009; CORRÊA *et al.*, 2011; GOMES, 2013; SIMÕES *et al.*, 2002). Enquanto animais do grupo normoproteico (controle) receberam dieta comercial CR1 da Nuvilab®, São Paulo, Brasil, com 22% de proteína. Foram oferecidos cerca de 100g de ração (dieta padrão ou hipoproteica) por animal em cada caixa (gaiola). A tabela 1 apresenta a composição nutricional das referidas dietas.

Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais (%)

Nutrientes	Dietas	
	Padrão	Hipoproteica
	Valores percentuais (%)	
Proteína Bruta	22	8
Carboidratos	54	74
Extrato etéreo (gorduras)	4	4
Material mineral	10	8
Fibra bruta	8	6
Cálcio (máx.)	1,4	1,7
Fósforo (min.)	0,8	0,8
Misturas de vitaminas (mg)	*	*
Misturas de minerais (mg)	*	*
Valor calórico total (Kcal)	3400	3640
Carboidratos (% de calorias)	63,5	81,32
Proteínas (% de calorias)	25,88	8,79
Lipídios (% de calorias)	10,59	9,89

*De acordo com as recomendações do *American Institute of Nutrition*, AIN-93G (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993).

Fatores de conversão: carboidratos 4 kcal/g, proteínas 4 kcal/g, lipídios 9 kcal/g.

3.5. Biometria dos animais

Durante todo o experimento aferimos o consumo alimentar e a massa corporal dos animais em balança de precisão Marte Científica AD 2000 a cada sete dias. Desta forma, realizamos os seguintes cálculos:

3.5.1. Consumo de ração

Obtivemos a média de consumo semanal (g) de ração com a fórmula:

$$\text{Consumo alimentar semanal} = \frac{\text{sobra de ração } (t) - \text{ração ofertada } (t-1)}{n \text{ animais}} \quad (1)$$

Onde: t representa o tempo experimental e n o número de animais.

A partir dos valores proteicos percentuais, disponíveis na tabela nutricional (tópico 3.4), determinamos o consumo proteico semanal dos animais com aplicação da fórmula:

$$\text{Consumo proteico semanal} = \frac{\text{Consumo alimentar}}{100} \times \% \text{ proteico} \quad (2)$$

3.5.2. Ganho de massa

O ganho de massa semanal (g) foi realizado com a fórmula:

$$\text{Ganho de massa semanal} = \text{massa corporal } (t) - \text{massa corporal } (t - 1) \quad (3)$$

Onde: t representa o tempo experimental.

3.6. Infecção experimental

A infecção experimental foi realizada na quarta semana do experimento. Foram utilizadas cercarias da cepa BH (Belo Horizonte) de *S. mansoni* fornecidas pelo Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz. Após quantificar o número de cercarias em microscópio Nikon modelo Eclipse E200LED MV R, Nikon Corporation, Tóquio/Japão, e ajustar a concentração desejada, inoculamos cada animal por via subcutânea na região torácica, com cerca de 100 cercarias diluídas em água destilada, recém-liberadas de caramujos *Biomphalaria glabrata*. Animais não infectados foram mantidos como controle negativo.

3.7. Grupos experimentais

Completadas quatro semanas da administração das dietas, os animais foram distribuídos em quatro grupos de estudo com cinco animais em cada grupo não infectado e cinco animais em cada grupo infectado pelo *S. mansoni* (Quadro 4).

Quadro 4 – Grupos experimentais

Dieta	N.º de animais	Grupo	Legenda
Padrão	5	CN	Não infectado normoproteico (controle)
		CH	Não infectado hipoproteico
Hipoproteica	5	IN	Infectado normoproteico
		IH	Infectado hipoproteico

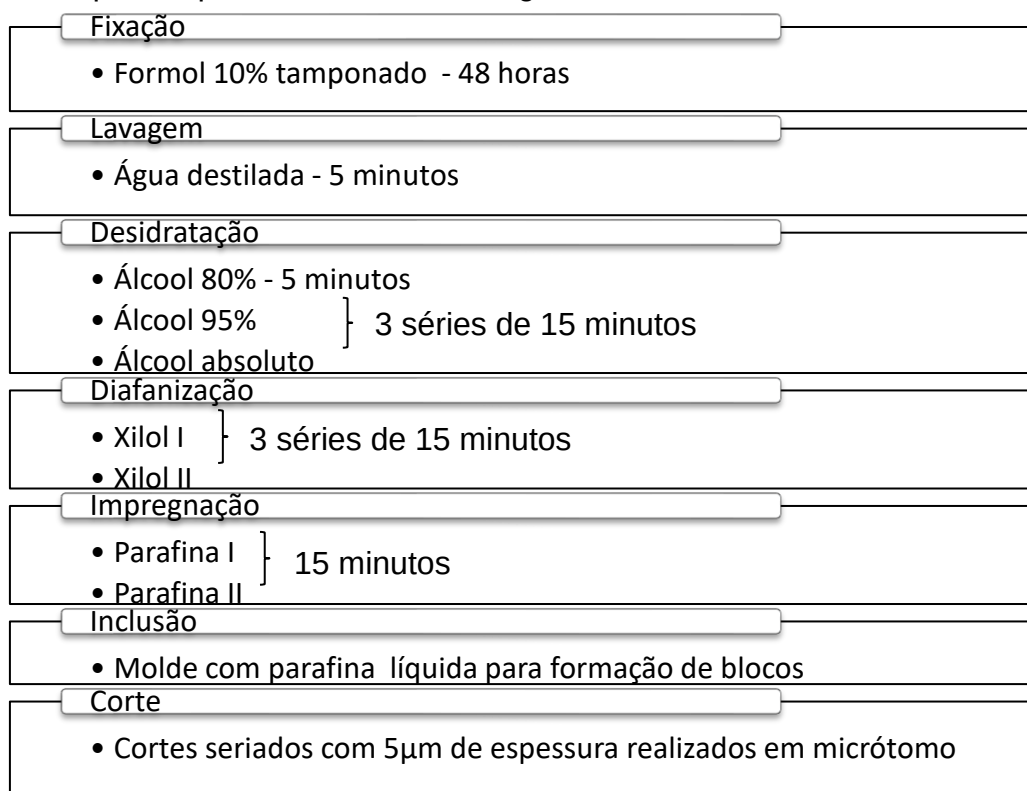
3.8. Eutanásia

A eutanásia ocorreu na nona semana de infecção, totalizando 13 semanas de experimento. Após submetidos à injeção de 100 µl de heparina por via subcutânea, os animais foram a óbito em câmara de CO₂.

3.9. Processamento histológico do baço e coloração das lâminas

O baço dos animais foi retirado, clivado longitudinalmente em dois e fixado em formol 10% tamponado, à temperatura ambiente. Após 48 horas, iniciamos o processamento histológico de rotina com etapas de desidratação em série alcoólica gradual, diafanização em xilol e inclusão em blocos de parafina (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2010) (Figura 14). Os blocos foram cortados em micrótomo Leica Biosystemd RM2125 RTS, China (espessura de 5 µm) para confecção de lâminas histológicas.

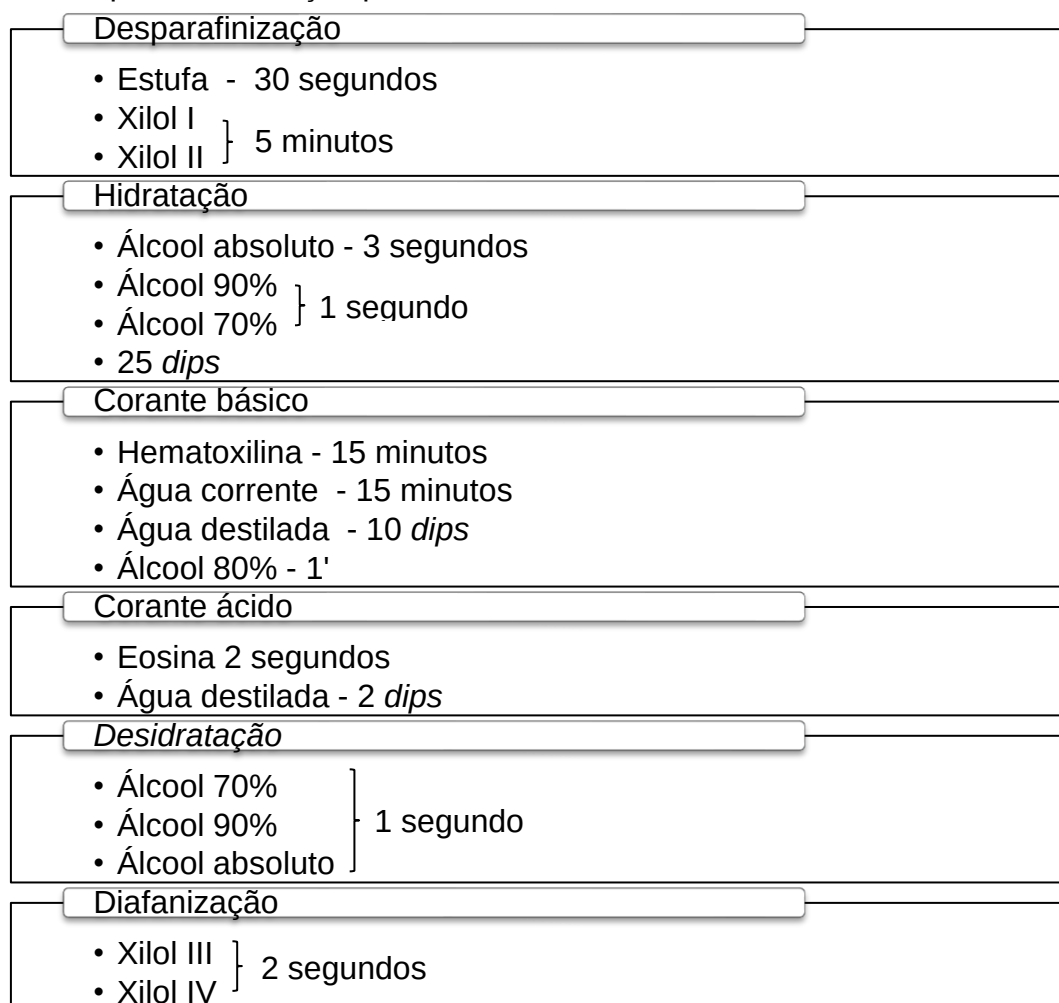
Figura 14 – Etapas do processamento histológico



Fonte: Molinaro; Caputo; Amendoeira, (2010)

De modo a realizar os estudos histológicos, após a microtomia as lâminas foram coradas por hematoxilina e eosina (H&E) para caracterização morfológica com tonalização dos núcleos em azul e citoplasma em diversas gradações de rosa (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2010)(Figura 15).

Figura 15 – Etapas da coloração por HE



Legenda: *Dips*: mergulho.

Fonte: Molinaro; Caputo; Amendoeira (2010).

3.10. Análises histológicas do tecido esplênico

Para avaliar as alterações no parênquima esplênico ocorridas nos grupos experimentais utilizamos microscópio Olympus BX53 equipado com Olympus SN 4M04717, U-TV0.35XC-2, Tokyo, Japan. As imagens capturadas foram transferidas para computador contendo o software de análise de imagens Olympus CellSens Entry (versão 1.18). O estudo foi desenvolvido com análises quantitativas e qualitativa.

3.10.1. Análises quantitativas

3.10.1.1. Estereologia

A estereologia é um método baseado em princípios estatísticos e teoria geométrica estocástica que viabiliza uma estimativa tridimensional de tecidos e estruturas, os avanços em tecnologia e teoria estereológica tornam-na cada vez mais acessível e eficiente (BROWN, 2017). Para a análise é necessário obter a seção mais fina do objeto de estudo, como uma imagem bidimensional, e considerar três características: cada estrutura do tecido é cortada aleatoriamente por sessão não orientada; uma estrutura n-dimensional do tecido é reproduzida por uma imagem (n-1) — dimensional, onde os corpos são vistos como áreas, as superfícies como linhas e as linhas como pontos; a ocorrência quantitativa de imagens nas seções é definida pela presença quantitativa de estruturas na seção do tecido (WEIBEL; KISTLER; SCHERLE, 1966).

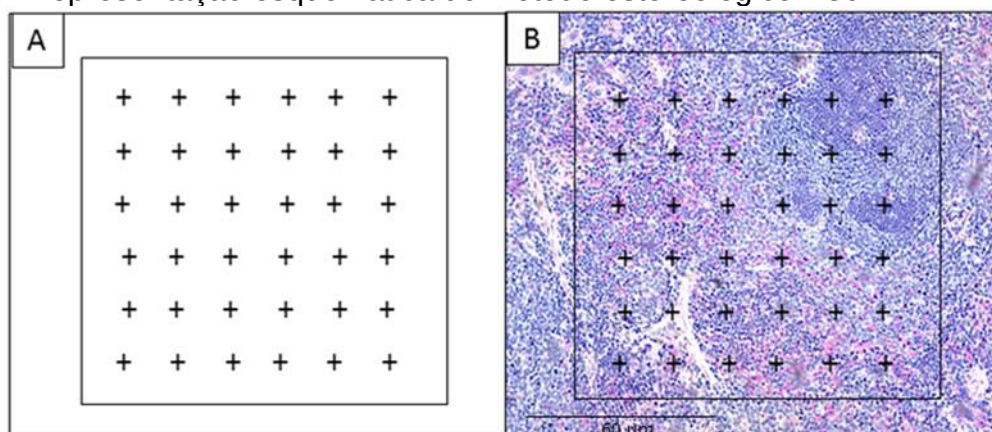
Para quantificar as estruturas e possíveis desordens estruturais no baço foi utilizado um sistema sem linhas constituído por 36 pontos testes (Pt), o método D36, que permite uma contagem rápida, podendo ser conveniente para a maioria dos usos (MANDARIM-DE-LACERDA, 2003).

Com auxílio do sistema de teste composto por 36 cruces sobre a tela do monitor, foram avaliados 10 campos por animal, em objetiva de 20X, considerando as seguintes estruturas: polpa branca (PB), polpa vermelha (PV), trabéculas (T) e megacariócitos (M) (Figura 16). A densidade de volume (Vv) foi calculada com a aplicação da fórmula:

$$Vv = \frac{Pp}{Pv} (\%) \quad (4)$$

Onde: densidade de volume é igual ao percentual da relação de pontos que tocam as estruturas (Pp) e pontos testes (Pv).

Figura 16 – Representação esquemática do método estereológico D36



Legenda: Imagem A: sistema de teste com 36 cruces e imagem B sistema de testes com 36 cruces sobre imagem captada do tecido esplênico.

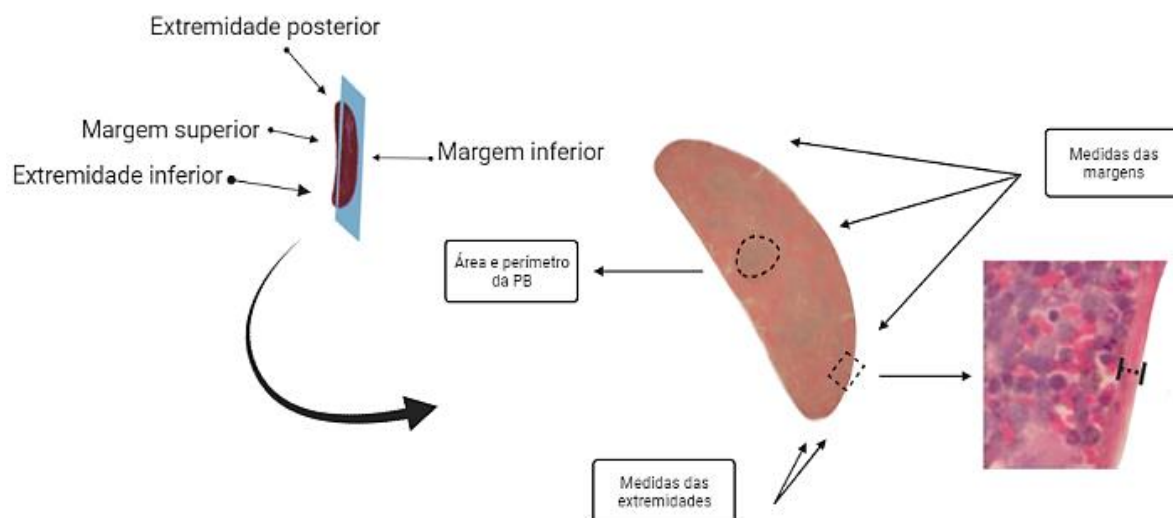
Fonte: A autora, 2021.

3.10.1.2. Morfometria

Para a análise morfométrica da polpa branca, foram captadas imagens aleatórias do corte histológico de cada animal, na objetiva de 10X. Foram mensuradas 10 PB de cada animal para determinação da área e do perímetro (Figura 17).

Da mesma forma, para análise morfométrica da cápsula determinamos a espessura da estrutura selecionando imagens aleatórias com a objetiva de 40X. Foram consideradas duas medidas nas extremidades anterior e posterior do baço e três medidas nas margens superior e inferior do baço, totalizando 10 medidas por animal (Figura 17).

Figura 17 – Esquema de corte histológico para morfometria da capsula

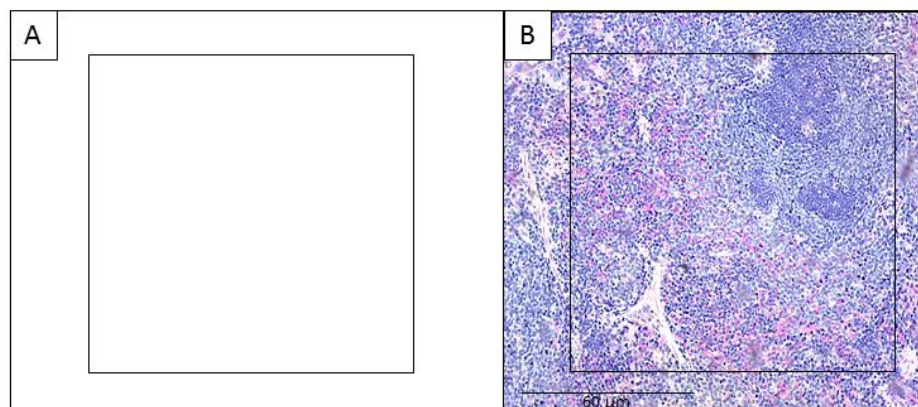


Fonte: A autora, 2021.

3.10.1.3. Quantificação de megacariócitos

A quantificação dos megacariócitos foi realizada com captura de imagens aleatórias dos cortes histológicos de cada animal. Pré-determinamos uma área de $600\mu\text{m} \times 800\mu\text{m}$ ($480.000\mu\text{m}^2$) para a contagem de células. Avaliamos 10 campos aleatórios, por animal, considerando apenas as células cujos núcleos foram visualizados (GOMES, 2013) (Figura 18).

Figura 18 – Representação esquemática do método para quantificação de megacariócitos



Legenda: Imagem A: área para quantificação de megacariócitos e imagem B: área para quantificação de megacariócitos sobre imagem captada do tecido esplênico.

Fonte: A autora, 2021.

3.10.2. Análise qualitativa

Para a análise histológica qualitativa o tecido esplênico foi avaliado em diferentes objetivas (4X, 10X, 20X e 40X) em microscópio de campo claro.

3.11. **Análise estatística**

Na análise estatística dos dados utilizamos o programa GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). As diferenças entre grupos foram analisadas pelo teste de variância (One-Way ANOVA), seguida de pós-teste de Tukey. Para dados referentes à evolução ponderal, utilizamos o teste de variância por dois fatores (Two-Way ANOVA), seguido pelo teste de Tukey, onde foram verificadas as diferenças específicas entre as médias dos grupos em um determinado tempo, e temporalmente em um mesmo grupo. Consideramos diferenças significativas apenas medidas com valores de $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1. Biometria dos animais

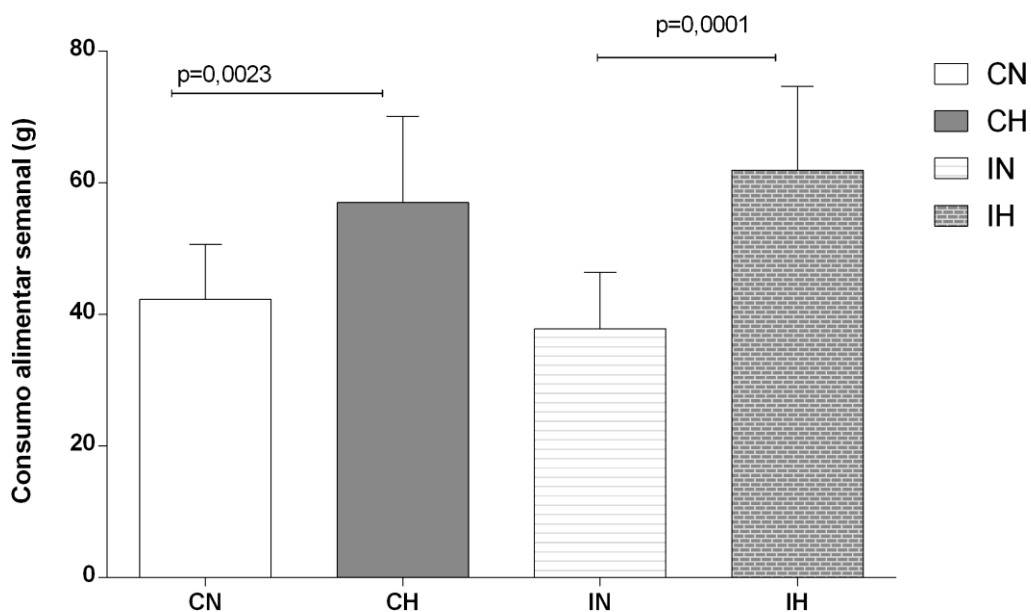
De modo a avaliar o impacto das diferentes dietas na biologia dos animais, determinamos a variação de consumo alimentar e proteico, e o ganho de massa.

4.1.1. Consumo alimentar

Para melhor compreender os aspectos relacionados à nutrição dos animais, acompanhamos periodicamente o consumo alimentar dos grupos estudados almejando estipular o padrão manifestado.

Observamos que o grupo CH obteve consumo 35% maior que o CN ($p=0,0023$) e que esse comportamento se repetiu nos grupos infectados com IH exibindo consumo 64% maior que o IN ($p=0,0001$) (Gráfico1).

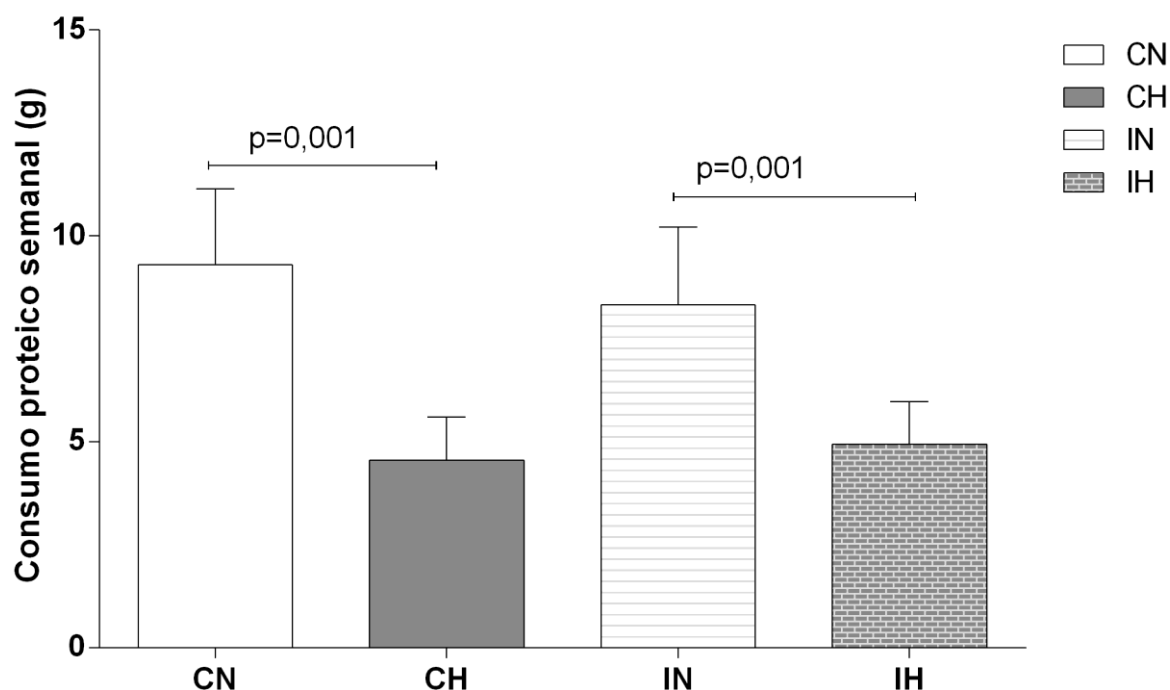
Gráfico 1 – Consumo alimentar de camundongos infectados ou não, submetidos à dieta normo ou hipoproteica



Legenda: CN: não infectado normoproteico; CH: não infectado hipoproteico; IN: infectado normoproteico; IH: infectado hipoproteico. Análise estatística: One-way ANOVA, seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos estão indicadas nos gráficos. Valores representados em média $\pm$ desvio-padrão ($n=5$).

Mensuramos o consumo proteico dos animais e, assim como esperado, observamos redução significativa nos grupos CH em relação ao CN (-51%; $p=0,0001$) e IH comparado ao IN (-41%; $p=0,0001$) (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Consumo proteico de camundongos infectados ou não, submetidos à dieta normo ou hipoproteica

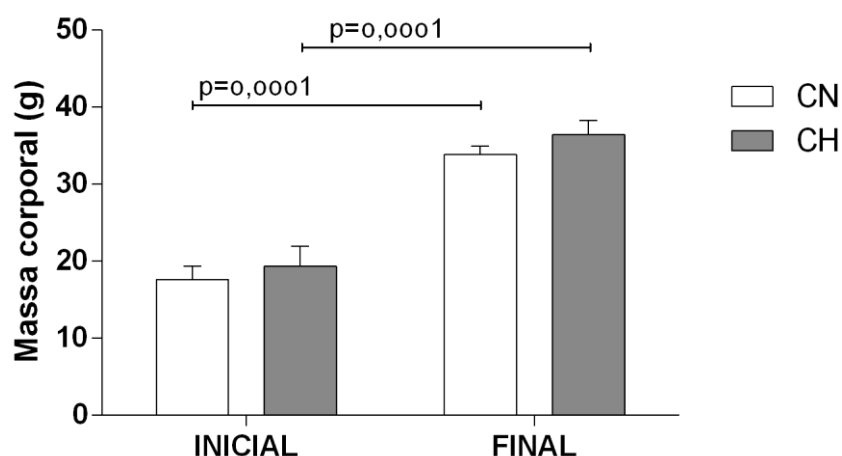


Legenda: CN: não infectado normoproteico; CH: não infectado hipoproteico; IN: infectado normoproteico; IH: infectado hipoproteico. Análise estatística: One-way ANOVA, seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos estão indicadas nos gráficos. Valores representados em média $\pm$ desvio-padrão ($n=5$).

4.1.2. Massa corporal

Conforme exposto no gráfico 3, a dieta hipoproteica não interferiu no ganho de massa corporal dos animais não infectados (CH). Destacamos que, completadas as 13 semanas de experimento, os grupos CN e CH obtiveram aumento da massa corporal de 92% e 88% ($p=0,0001$), respectivamente (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Massa corporal de camundongos não infectados submetidos à dieta normo ou hipoproteica

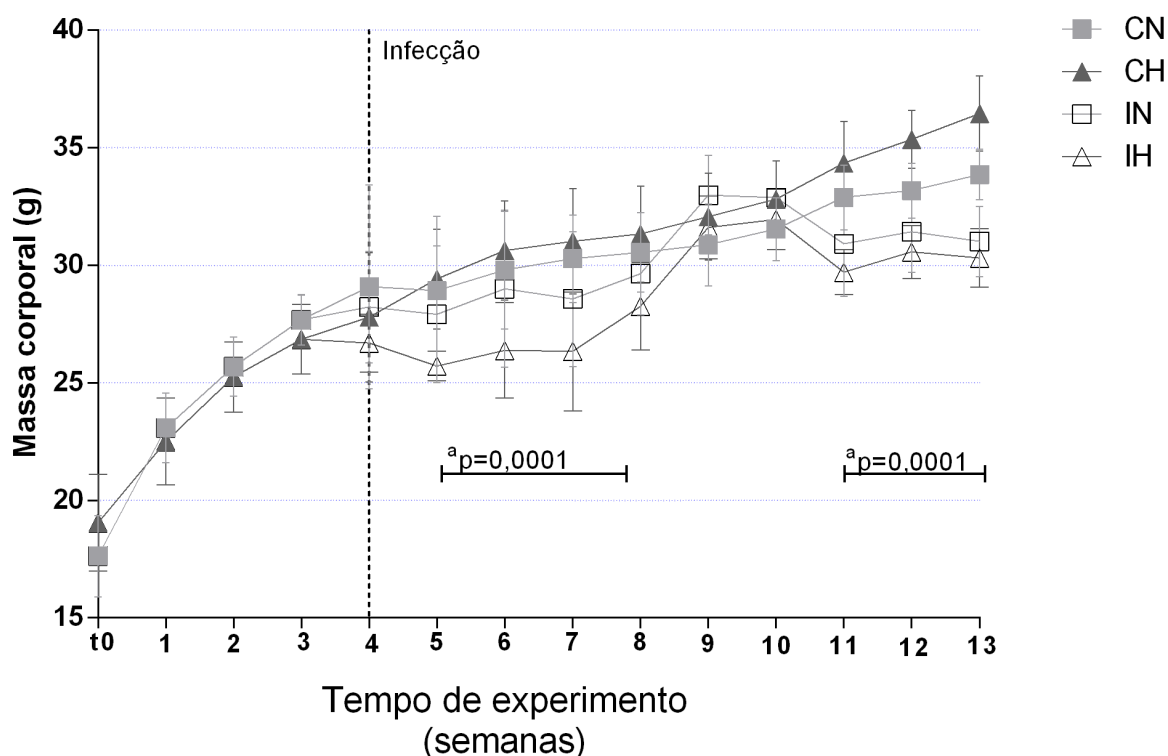


Legenda: CN: não infectado normoproteico; CH: não infectado hipoproteico. Análise estatística: One-way ANOVA, seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos estão indicadas nos gráficos. Valores representados em média $\pm$ desvio-padrão ($n=5$).

O gráfico 4 demonstra a evolução do ganho de massa corporal dos grupos experimentais ao longo do experimento. Observamos que todos os grupos apresentaram aumento de massa corporal ao final do período experimental, mesmo que em menor escala nos grupos infectados.

Notamos no grupo IH uma constante oscilação no ganho de massa. O grupo manteve diferença significativa em relação ao CH (-9% a -14%; $p=0,0001$) a partir da 5.^a semana, com exceção do intervalo entre a 9.^a e 10.^a semana, onde obteve um pico de acréscimo de massa corporal.

Gráfico 4 – Evolução ponderal de camundongos não infectados submetidos à dieta normo ou hipoproteica ao longo do período experimental



Legenda: CN: não infectado normoproteico; CH: não infectado hipoproteico; IN: infectado normoproteico; IH: infectado hipoproteico. Análise estatística: Two-way ANOVA, seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Linha pontilhada aponta o período da infecção experimental. Diferença significativa ($p < 0,05$) ^aCH x IH. Valores representados em média $\pm$ desvio-padrão ($n=5$).

4.2. Análises histológicas do baço

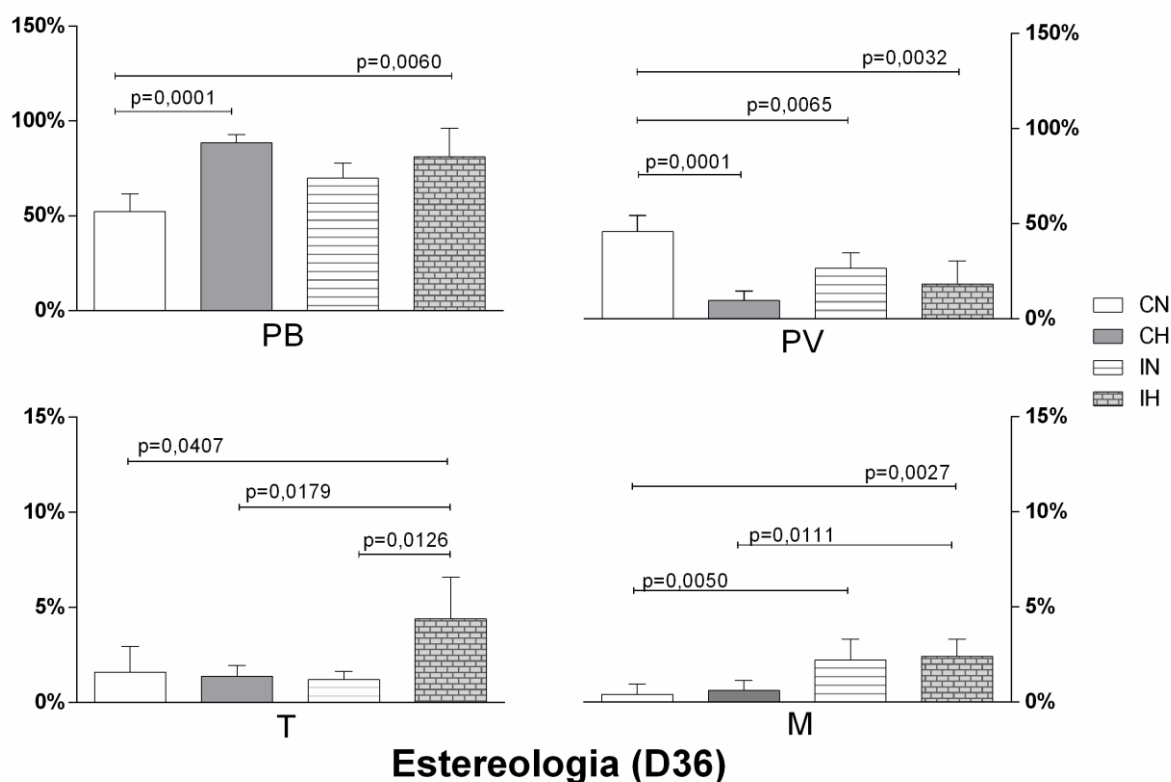
4.2.1. Análises histológicas quantitativas

4.2.1.1. Estereologia

A análise estereológica evidenciou que a dieta hipoproteica proporcionou aumento significativo na densidade de volume da polpa branca no grupo CH (+69%; $p=0,0001$) com consequente redução na densidade de volume da polpa vermelha (-81%; $p=0,0001$) comparado ao grupo CN (Gráfico 5).

A infecção esquistossomótica acarretou aumento significativo de 100% na densidade de volume de megacariócitos nos grupos IN ($p=0,0050$) em relação ao CN e IH ($p=0,0111$) comparado ao CH. Observamos aumento significativo de 100% de trabéculas no grupo IH em relação ao grupo CH ($p=0,0179$) e IH ($p=0,0126$).

Gráfico 5 – Densidade de volume das estruturas esplênicas de camundongos esquistossomóticos ou não submetidos à dieta normo ou hipoproteica



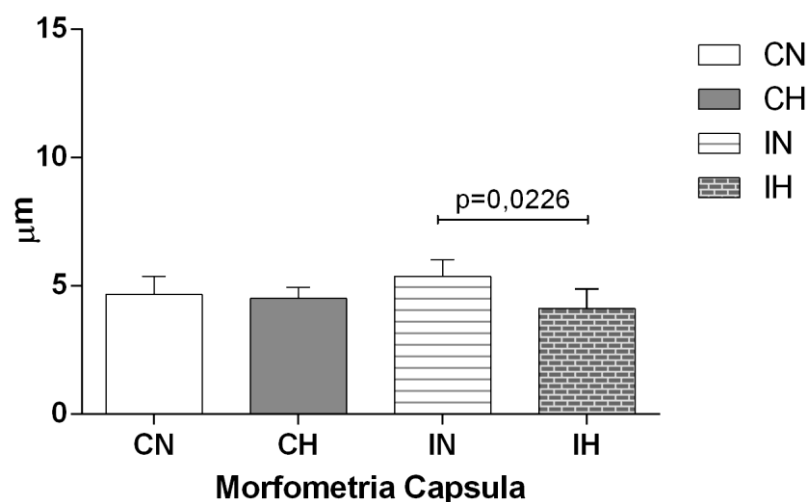
Legenda: PB: polpa branca; PV: polpa vermelha; T: trabéculas; M: megacariócitos; CN: não infectado normoproteico; CH: não infectado hipoproteico; IN: infectado normoproteico; IH: infectado hipoproteico. Análise estatística: One-way ANOVA, seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos estão indicadas nos gráficos. Valores representados em média $\pm$ desvio-padrão ($n=5$). Densidade de volume (%)

4.2.1.2. Morfometria da cápsula

Ao medir a espessura da cápsula foi identificada diferença significativa no grupo IH em relação ao grupo IN (-24%; $p=0,0226$). Embora não significativa, notamos um moderado aumento na espessura da cápsula no grupo IN em relação

ao seu controle (+9%) (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Espessura da cápsula do baço de camundongos esquistossomóticos ou não submetidos à dieta normo ou hipoproteica

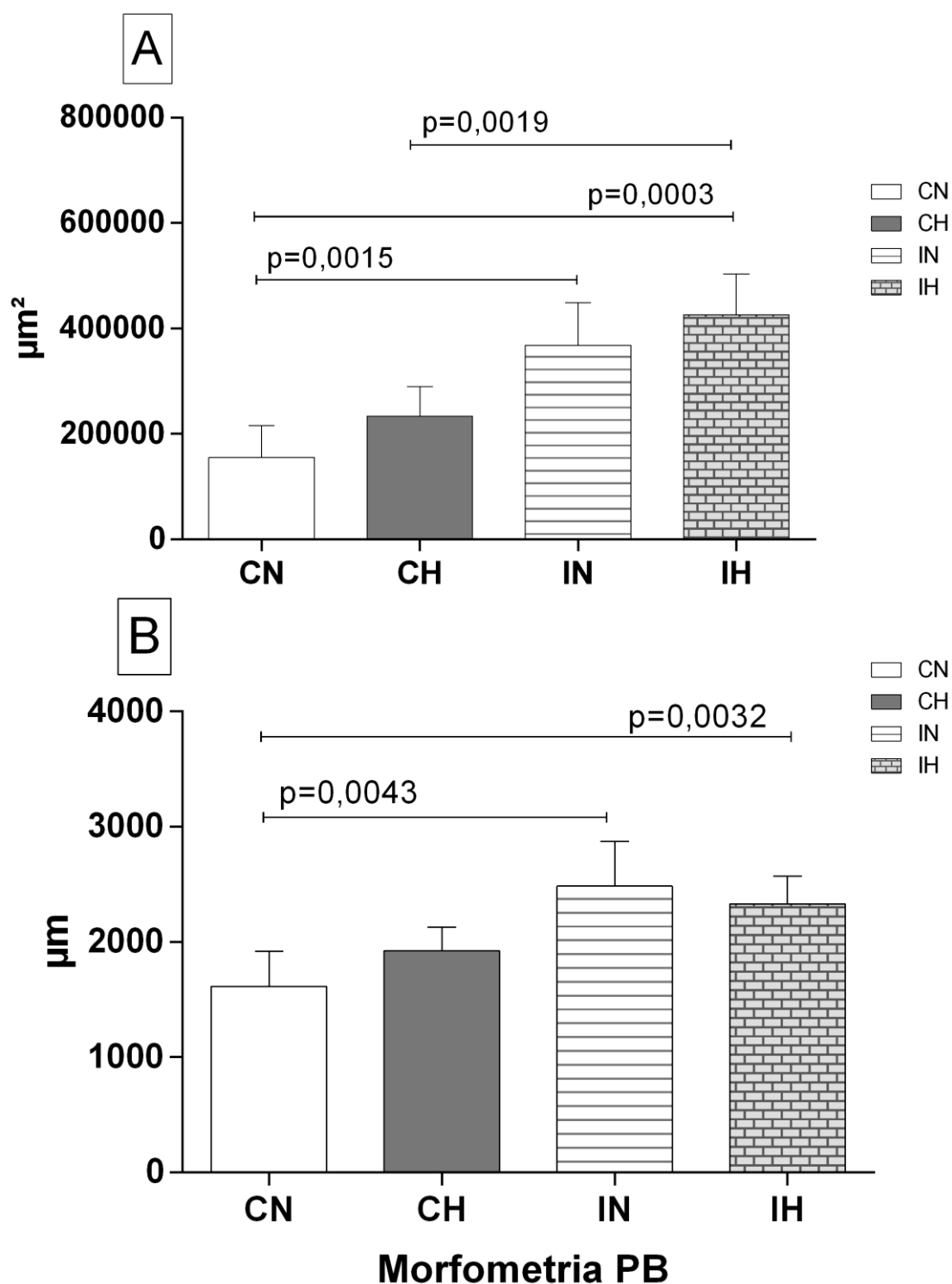


Legenda: CN: não infectado normoproteico; CH: não infectado hipoproteico; IN: infectado normoproteico; IH: infectado hipoproteico. Análise estatística: One-way ANOVA, seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos estão indicadas nos gráficos. Valores representados em média $\pm$ desvio-padrão ($n=5$). Espessura (μm).

4.2.1.3. Morfometria da polpa branca

No gráfico 7 observamos que a morfometria da PB revela aumento significativo tanto em área (Imagem A) quanto em perímetro (Imagem B) em IN comparado a CN (+143%; $p=0,0015$) e (+163%; $p=0,0003$). Os grupos de dieta hipoproteica exibem diferença significativa com aumento da área no grupo IH (+100%; $p=0,0019$).

Gráfico 7 – Análise morfométrica da polpa branca de baço camundongos esquistossomóticos ou não submetidos à dieta normo ou hipoproteica

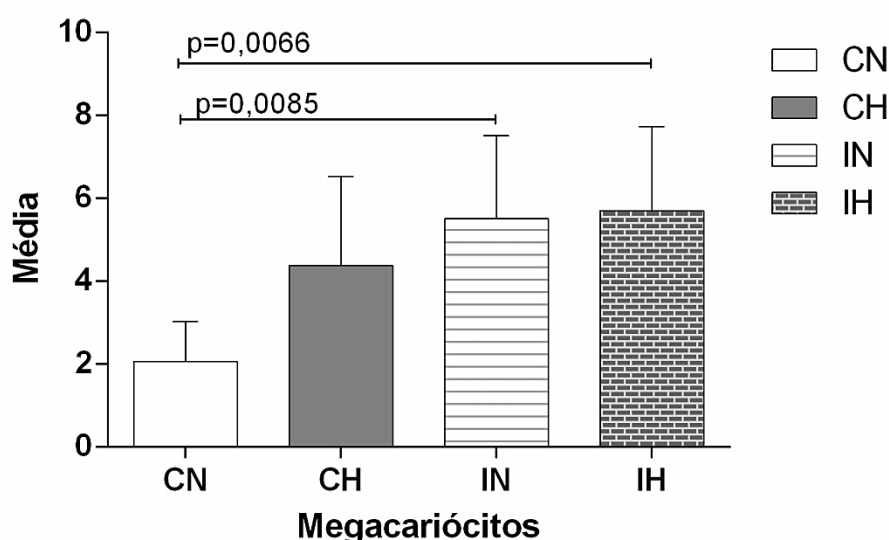


Legenda: CN: não infectado normoproteico; CH: não infectado hipoproteico; IN: infectado normoproteico; IH: infectado hipoproteico. Análise estatística: One-way ANOVA, seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos estão indicadas nos gráficos. Valores representados em média $\pm$ desvio-padrão ($n=5$). Imagem A: área (μm^2); imagem B: perímetro (μm).

4.2.1.4. Quantificação de megacariócitos

A presença de megacariócitos foi significativa no grupo IN (+125%; $p=0,0085$) em relação ao controle CN (Gráfico 8).

Gráfico 8 – Quantificação de megacariócitos encontrados no baço de camundongos esquistossomóticos ou não, submetidos à dieta normo ou hipoproteica

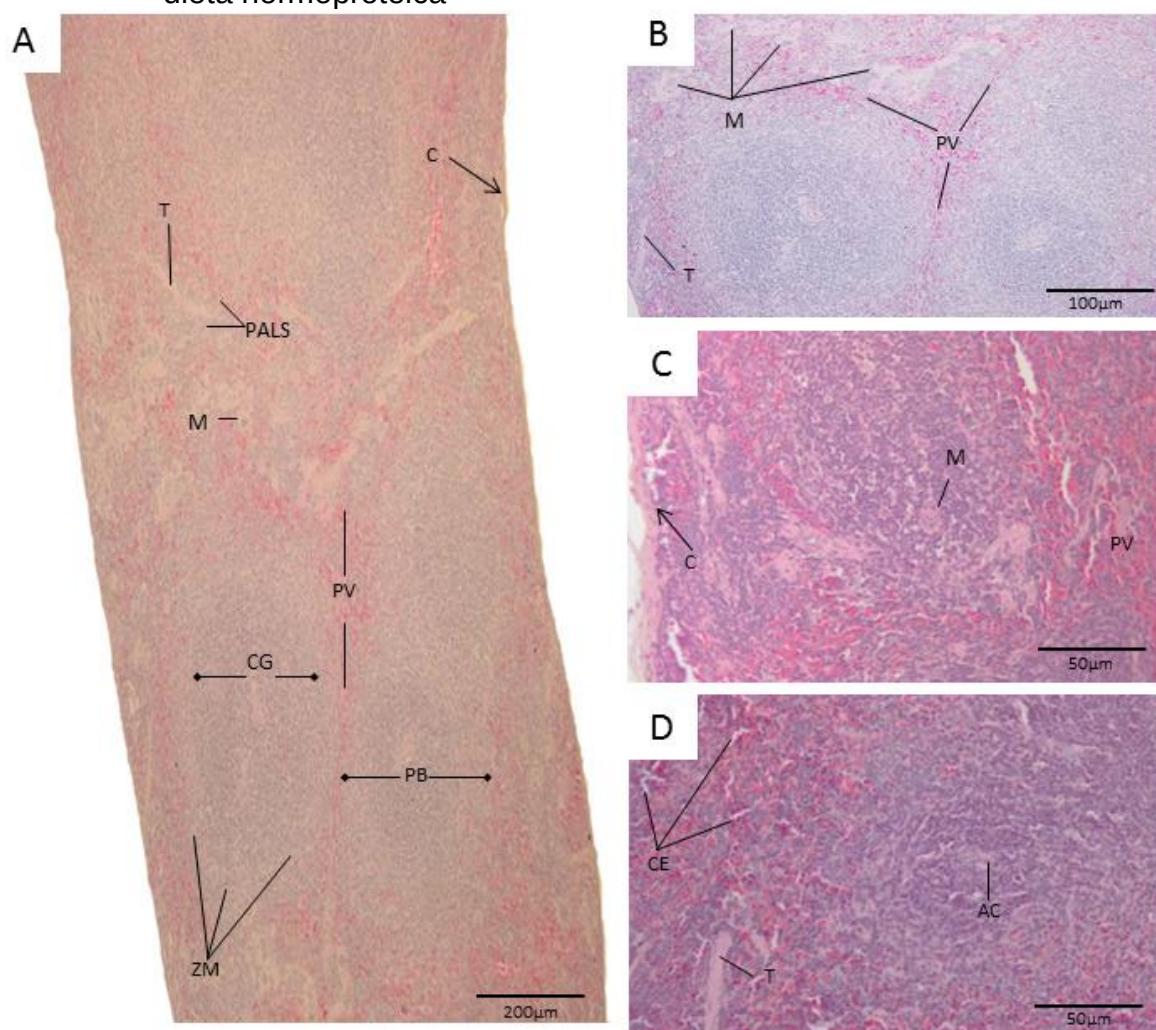


Legenda: CN: não infectado normoproteico; CH: não infectado hipoproteico; IN: infectado normoproteico; IH: infectado hipoproteico. Análise estatística: One-way ANOVA, seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos estão indicadas nos gráficos. Valores representados em média $\pm$ desvio-padrão ($n=5$).

4.2.2. Análise histológica qualitativa

Na histologia do grupo CN o parênquima esplênico apresentou polpa branca circunscrita individualizada da polpa vermelha, visualização da artéria central e centro germinativo com coloração homogênea. Polpa vermelha com presença abundante de hemácias para degradação das células senescentes e megacariócitos escassos, com pouco citoplasma e núcleo poliploide. Também foi observada a presença de trabéculas, que conferem sustentação ao tecido. Visualizamos a cápsula delgada (Figura 19).

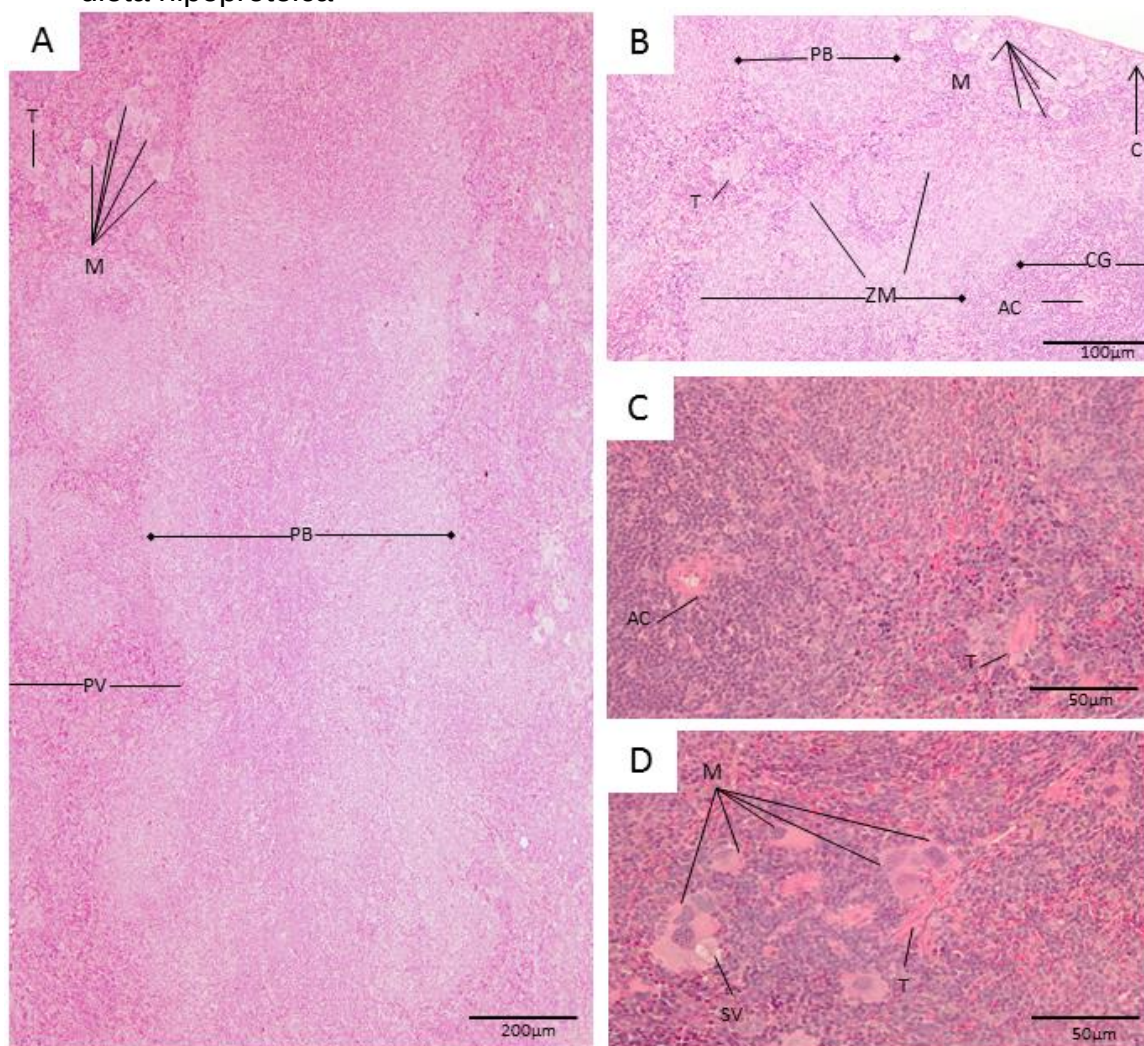
Figura 19 – Fotomicrografia esplênica de camundongos não infectados submetidos à dieta normoproteica



Legenda: Polpa esplênica. PB: polpa branca; PV: polpa vermelha; T: trabécula; M: megacariócito; AC: artéria central; CG: centro germinativo; ZM: zona marginal; C: cápsula; PALS: bainha linfóide periarteriolar. Coloração H&E. Imagem A: 10X, ampliação de 100X, barra 200µm; imagem B: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; Imagens C e D: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm.

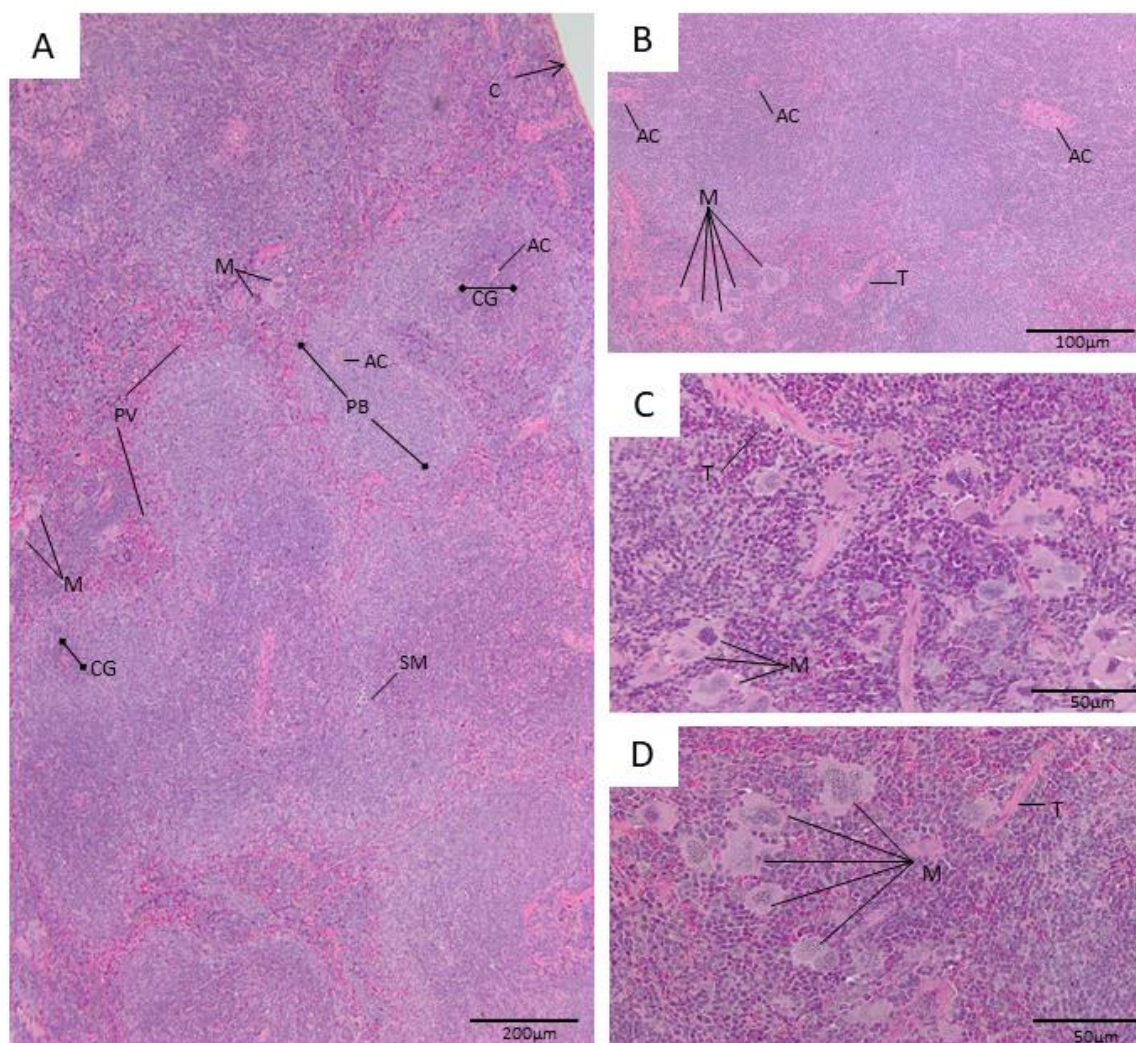
A histopatologia do grupo CH evidenciou intenso desarranjo do parênquima esplênico. Na polpa branca notamos artéria central com diferentes calibres, numerosas confluências e forte desarranjo em sua arquitetura, com expansão acentuada da área. Centros germinativos atróficos ou hiperplásicos, podendo apresentar palidez em sua coloração. Leve dilatação dos seios venosos e seios marginais. Polpa vermelha revela atrofia, redução do número de hemácias e aumento quantitativo de megacariócitos, estes apresentaram expansão do citoplasma, redução da poliploidia e atrofia do núcleo. (Figuras 20 e 21).

Figura 20 – Fotomicrografia esplênica de camundongos não infectados submetidos à dieta hipoproteica



Legenda: Polpa esplênica. PB: polpa branca; PV: polpa vermelha; T: trabécula; M: megacariócito; CG: centro germinativo; ZM: zona marginal; SV: seios venosos; C: cápsula. Coloração H&E. Imagem A: 10X, ampliação de 100X, barra 200µm; imagem B: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; Imagens C e D: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm

Figura 21 – Fotomicrografia esplênica de camundongos não infectados submetidos à dieta hipoproteica

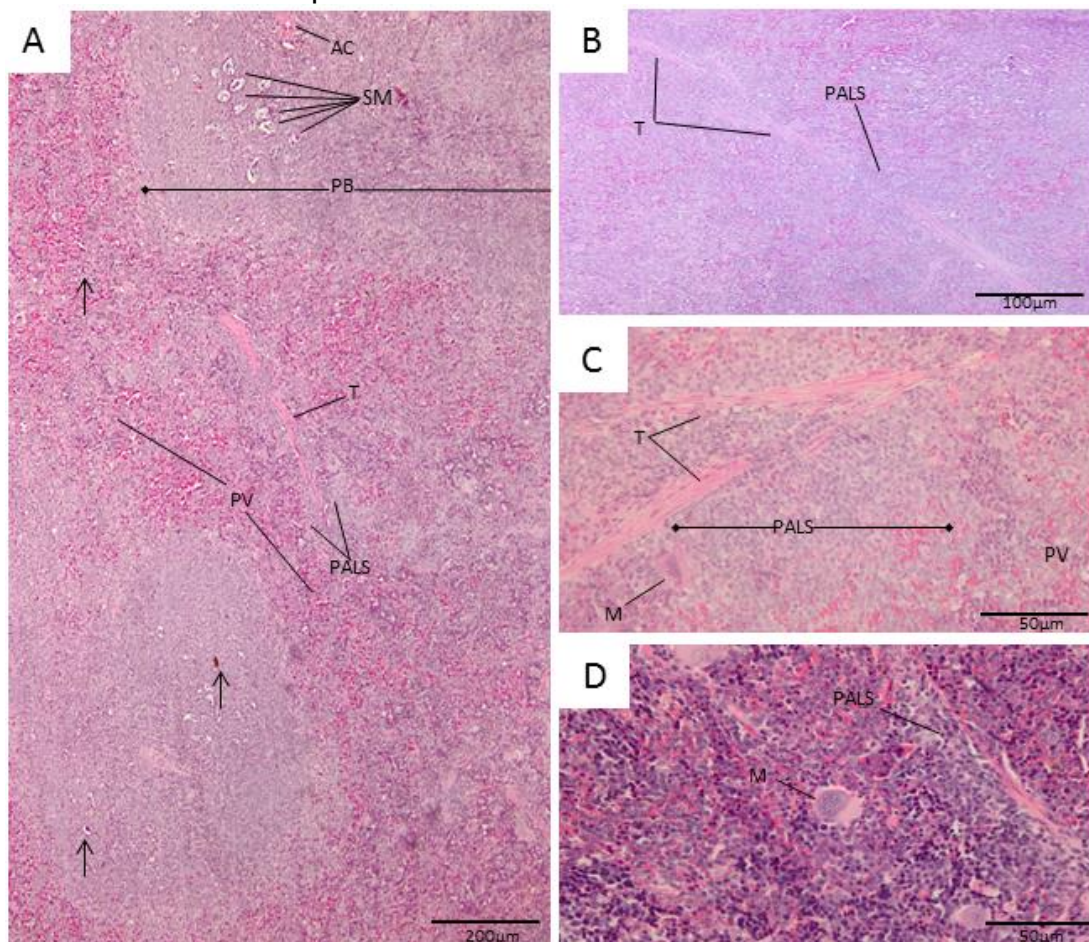


Legenda: Polpa esplênica. PB: polpa branca; T: trabécula; M: megacariócito; AC: artéria central; CG: centro germinativo; SM: seios marginais. Coloração H&E. Imagem A: 10X, ampliação de 100X, barra 200µm; imagem B: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; Imagens C e D: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm.

No grupo IN a histopatologia exhibe polpa branca circunscrita com expansão estrutural, centro germinativo aumentado com coloração pálida sugerindo processo de produção e maturação celular. Há também intensa dilatação de seios marginais com a presença de linfócitos, evidenciando processo inflamatório ativo. Na polpa vermelha é possível notar macrófagos com conteúdo citoplasmático fagocitado, dilatação dos seios venosos e pigmentos de hemossiderina e bilirrubina (Figuras 22 e 23). Na polpa vermelha também identificamos a presença de ovos de *S. mansoni*, com miracídeos formados no interior, promovendo sua desorganização devido ao recrutamento de infiltrado inflamatório (formação granulomatosa) (Figuras 24 e 25). Foi constatada fibrose capsular, com espessamento da estrutura, e aumento do

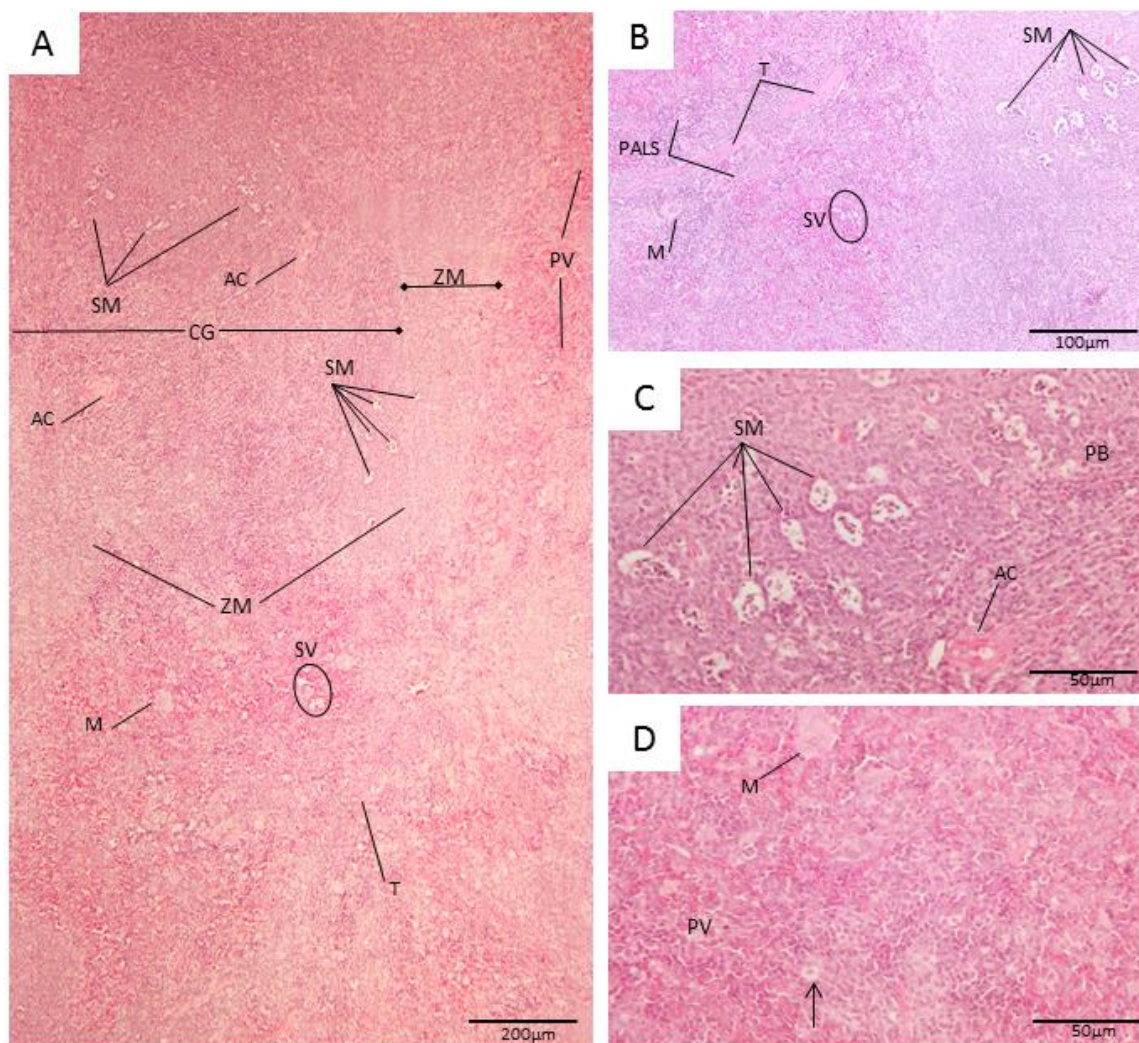
número de trabéculas.

Figura 22 – Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta normoproteica



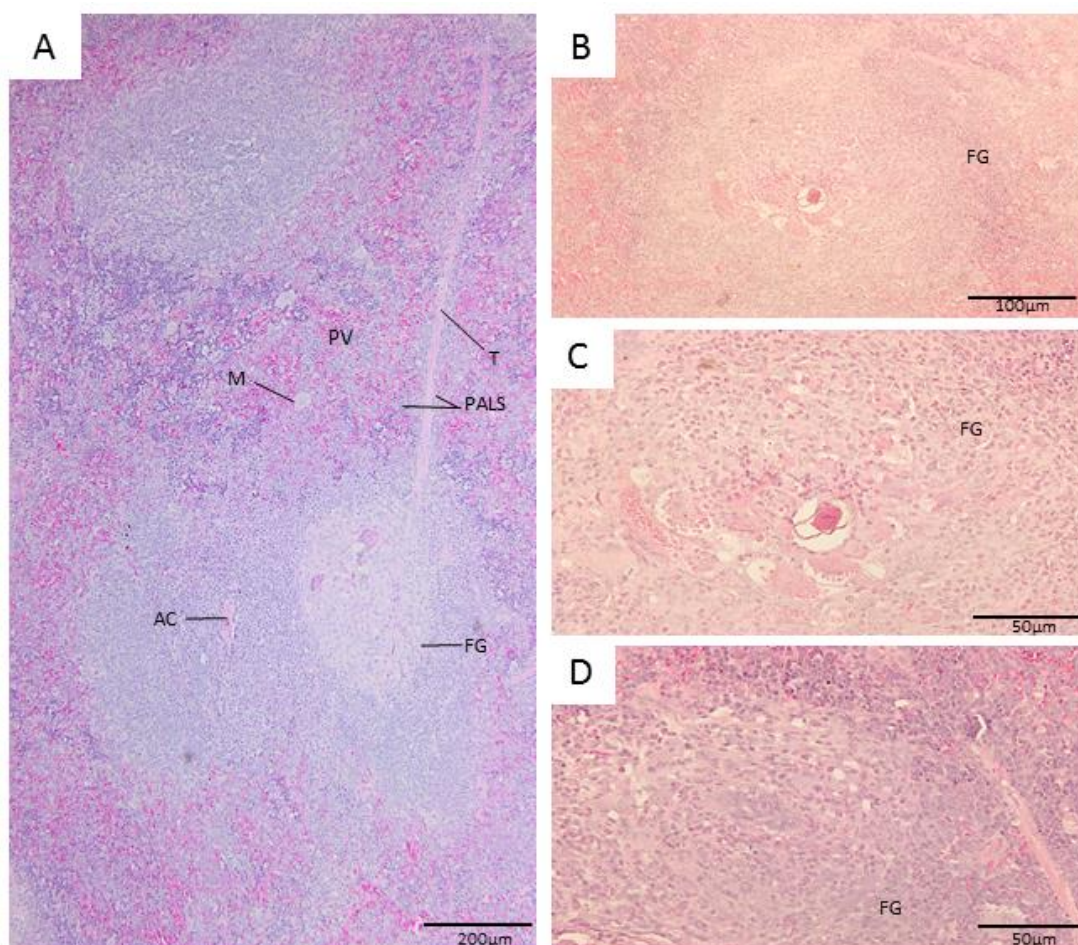
Legenda: Polpa esplênica. PB: polpa branca; PV: polpa vermelha; T: trabécula; M: megacariócito; AC: artéria central; SM: seios marginais; PALS: bainha linfóide periarteriolar; ↑: pigmentos de hemossiderina. Coloração H&E. Imagem A: 10X, ampliação de 100X, barra 200µm; imagem B: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; Imagens C e D: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm.

Figura 23 – Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta normoproteica



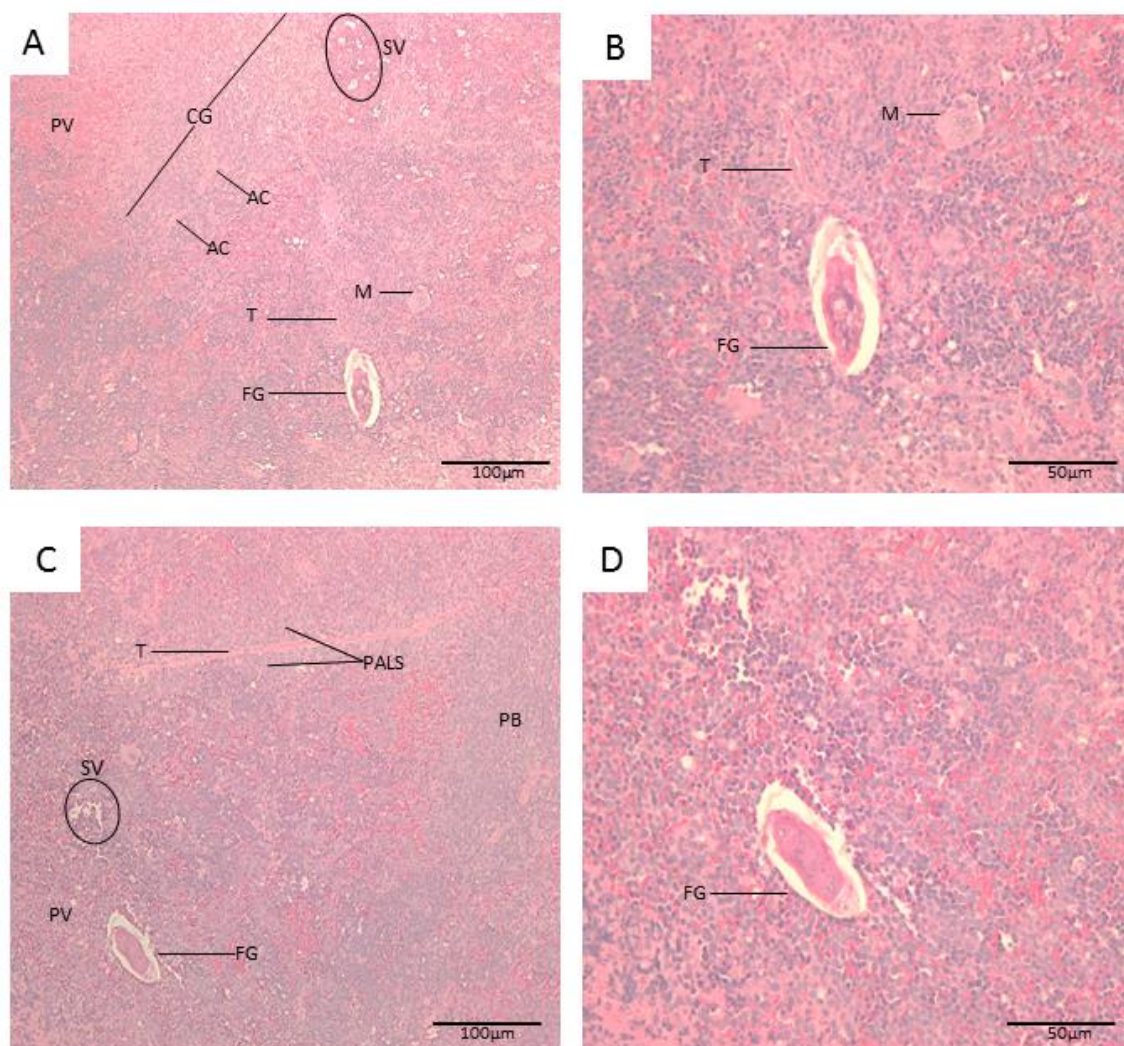
Legenda: Polpa esplênica. PB: polpa branca; PV: polpa vermelha; T: trabécula; M: megacariócito; AC: artéria central; CG: centro germinativo; ZM: zona marginal; SM: seios marginais; SV: seios venosos; PALS: bainha linfóide periarteriolar; ↑: macrófago; C: cápsula. Coloração H&E. Imagem A: 10X, ampliação de 100X, barra 200µm; imagem B: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; Imagens C e D: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm.

Figura 24 – Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta normoproteica



Legenda: Polpa esplênica. PV: polpa vermelha; T: trabécula; M: megacariócito; AC: artéria central; CG: centro germinativo; ZM: zona marginal; SM: seios marginais; PALS: bainha linfóide periarteriolar; FG: formação granulomatosa. Coloração H&E. Imagem A: 10X, ampliação de 100X, barra 200µm; imagem B: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; Imagens C e D: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm.

Figura 25 - Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta normoproteica

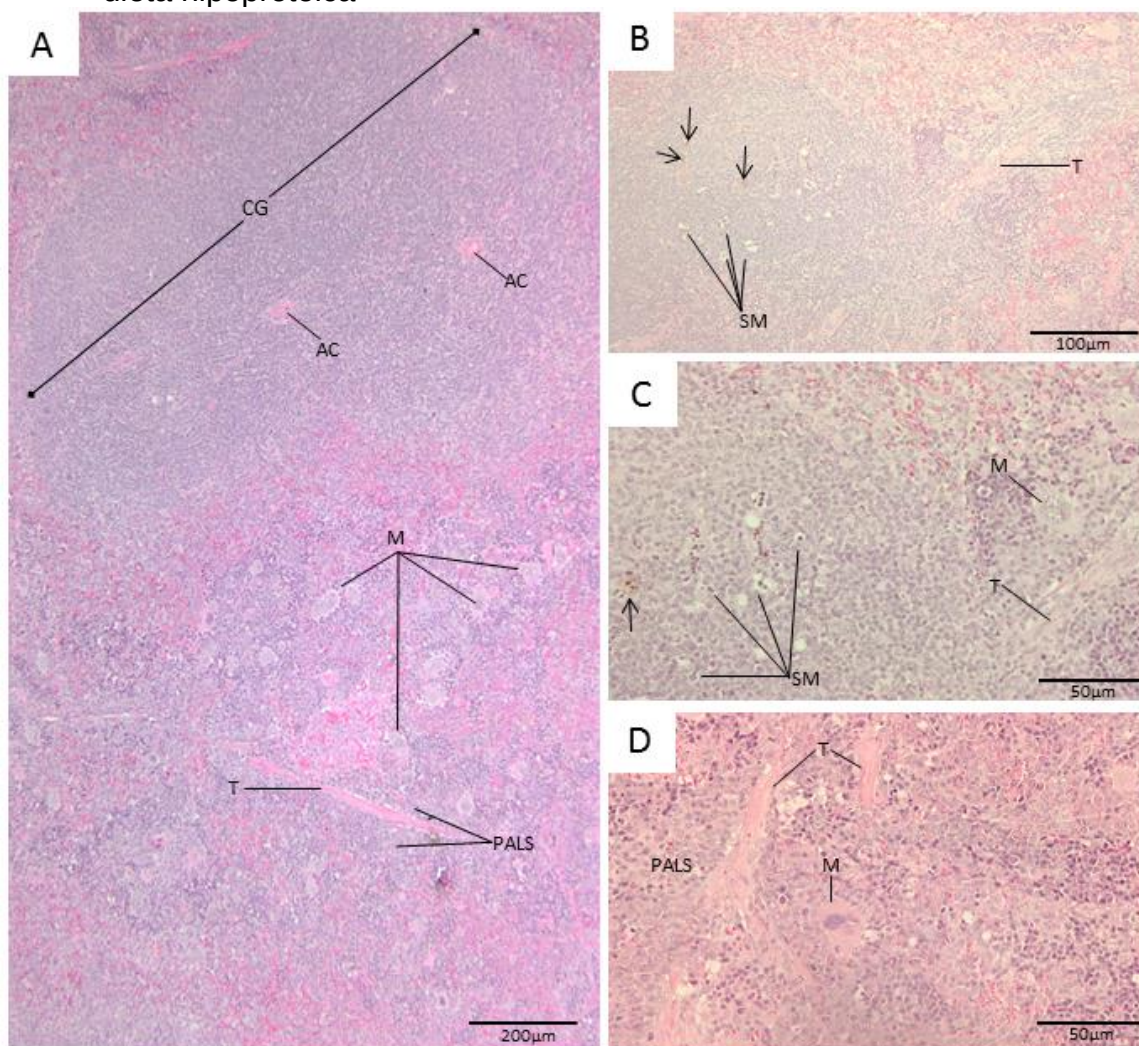


Legenda: Polpa esplênica. PB: polpa branca; PV: polpa vermelha; T: trabécula; M: megacariócito; AC: artéria central; CG: centro germinativo; SV: seios venosos; PALS: bainha linfóide periarteriolar; FG: formação granulomatosa. Coloração H&E. Imagens A e C: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; imagens B e D: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm.

A histopatologia do grupo IH revela desestruturação substancial da polpa esplênica. Na polpa branca figura intensa alteração de sua arquitetura, com hiperplasia acentuada e confluências. Exibe pouca ou nenhuma delimitação com a polpa vermelha. Nota-se também centros germinativos hiperplásicos e intensa dilatação dos seios marginais com presença de células inflamatórias. Visualizamos maior quantidade de pigmentos de bilirrubina e hemossiderina. A polpa vermelha atrófica manifesta redução quantitativa de hemácias e dilatação dos seios venosos. Embora com maior presença, notamos dificuldade na formação de megacariócitos, com descoloração e redução ou supressão da poliploidia. Aumento das estruturas

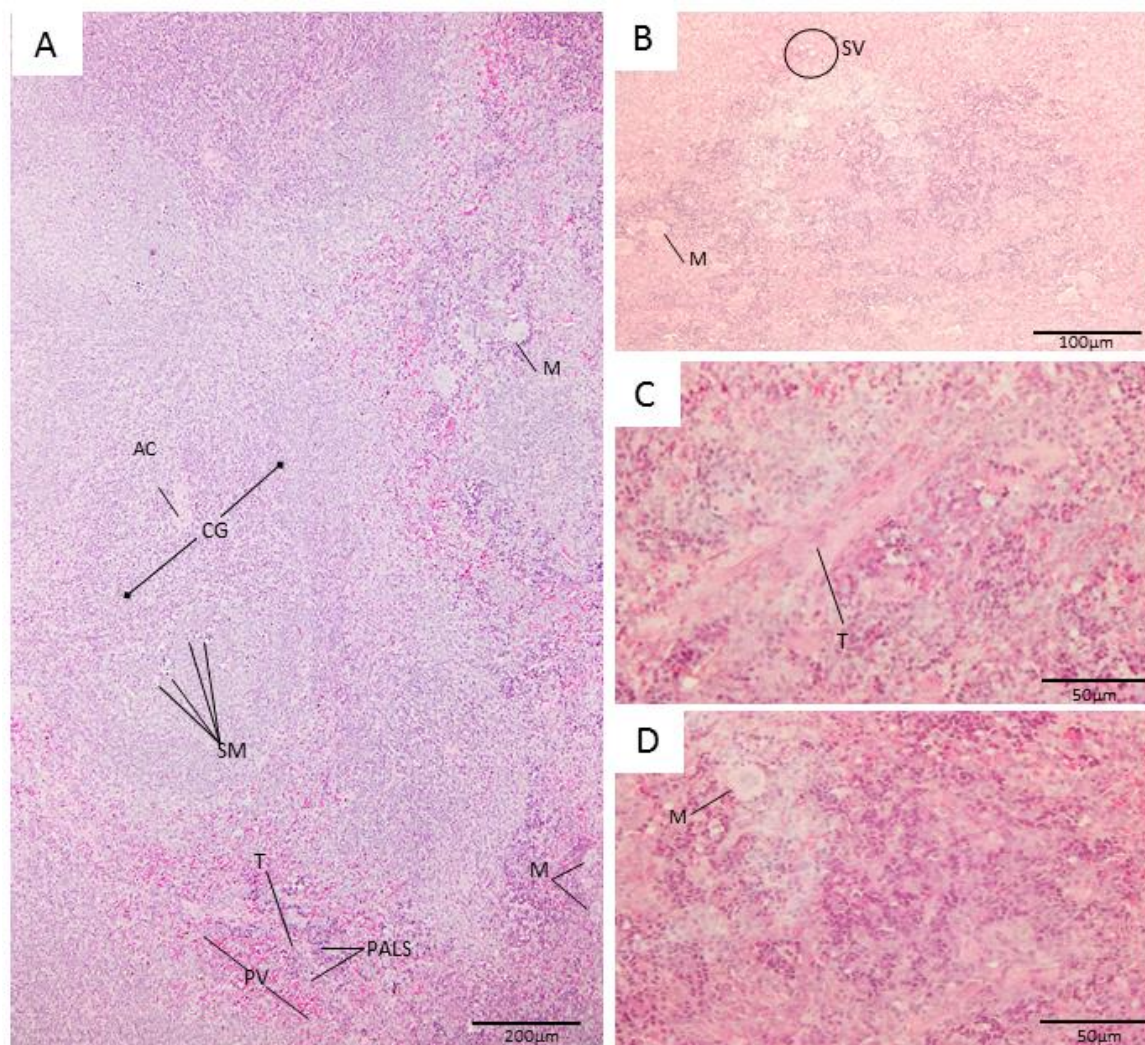
trabeculares, porém apresentando morfologia degradada (Figuras 26 e 27). Foram observados infiltrados leucocitários ao redor de ovos de *S. mansoni*. Cápsula delgada. (Figura 28).

Figura 26 – Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta hipoproteica



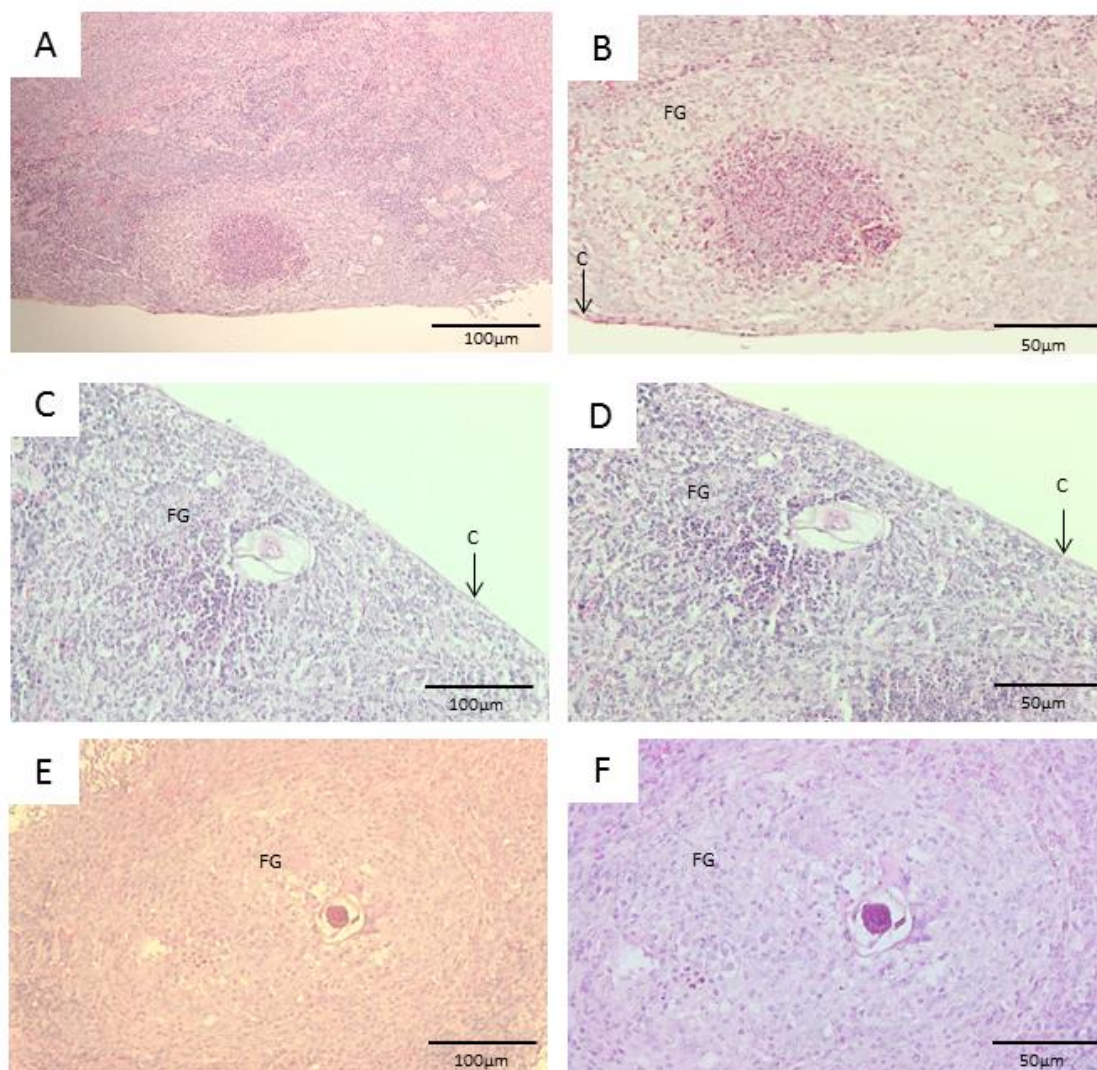
Legenda: Polpa esplênica. T: trabécula; M: megacariócito; AC: artéria central; CG: centro germinativo; SV: seios marginais; PALS: bainha linfóide periarteriolar; ↑: pigmentos de hemossiderina; FG: formação granulomatosa. Coloração H&E. Imagem A: 10X, ampliação de 100X, barra 200µm; imagem B: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; Imagens C e D: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm.

Figura 27 – Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta hipoproteica



Legenda: Polpa esplênica. PV: polpa vermelha; T: trabécula; M: megacariócito; AC: artéria central; CG: centro germinativo; SM: seios marginais; SV: seios venosos; PALS: bainha linfóide periarteriolar. Coloração H&E. Barras: 200µm (imagem A); 100 µm (imagem B) 50 µm (imagens C e D).

Figura 28 – Fotomicrografia esplênica de camundongos infectados submetidos à dieta hipoproteica



Legenda: Polpa esplênica. C: cápsula; FG: formação granulomatosa. Coloração H&E. Imagens A, C e E: 20X, ampliação 200X, barra 100 µm; imagens B, D e F: 40x, ampliação 400X, barra 50 µm.

5 DISCUSSÃO

As relações fisiológicas entre parasitos e hospedeiros são complexas e representam uma tentativa de manter um estado de equilíbrio. Sendo assim, perturbações metabólicas do hospedeiro podem implicar na biologia do parasito e na evolução da infecção (COUTINHO, 2008). Estudos que busquem compreender a repercussão da concomitância entre parasitoses e condições não infecciosas são de suma importância para o conhecimento de seus mecanismos e as alterações resultantes destas associações (ALENCAR *et al.*, 2009). Em consequência, existe uma ampla variedade de abordagens metodológicas relatadas em literatura com a utilização de dietas que apresentam diferentes teores de deficiência proteica, que podem ou não estar vinculada a escassez mineral, ou calórica (ANSTEAD *et al.*, 2001; COUTINHO, 2004; COUTINHO *et al.*, 2003a, 2007; COUTO *et al.*, 2008; FEVANG *et al.*, 2018; LOSADA-BARRAGÁN *et al.*, 2017; MACIEL *et al.*, 2021; MAGALHÃES, F. A.; COUTINHO-ABATH, 1960; MAGALHÃES *et al.*, 1986; SUGAWARA; NIKAIDO, 2014).

Nosso grupo de pesquisa adotou um modelo de desnutrição onde a formulação utilizada (8% proteína, 81% carboidrato, 11% lipídio) nos permite estimar o impacto propiciado ao organismo devido a uma alimentação que não atende às necessidades proteicas. Os trabalhos anteriores constataram que a esquistossomose mansônica, em conjunto com a desnutrição proteica, promove prejuízos em ambas as partes. O verme adulto apresenta diversas alterações fenotípicas que também implicam na viabilidade dos ovos, já o hospedeiro tem o quadro de desnutrição exacerbado, assim como os impactos aos órgãos e tecidos (BARROS *et al.*, 2009; CORRÊA *et al.*, 2011; GOMES, 2013; SIMÕES *et al.*, 2002). Estes resultados prévios corroboram a importância de estudos que avaliem a associação entre estas morbidades para a compreensão da imunopatologia. O presente estudo visa determinar as alterações biométricas dos animais e a histopatologia do tecido esplênico.

A desnutrição humana está majoritariamente associada à falta de obtenção de alimentos em quantidade e qualidade necessárias (FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO, 2020). Ao passo que na experimentação animal, a permanência *ad libitum* nos permite também avaliar o quanto a dieta ofertada

garante a saciedade dos mesmos.

Em nossos grupos, observamos que a dieta hipoproteica estimulou o aumento do consumo alimentar dos animais CH e IH. Cabe ressaltar que mesmo elevando a ingesta, a absorção proteica destes grupos ainda foi muito aquém em comparação aos seus respectivos controles.

O aumento do consumo alimentar por animais de dieta hipoproteica, embora conflitante com trabalhos que observaram o comportamento inverso (BORELLI *et al.*, 2007, 2009; DE OLIVEIRA *et al.*, 2014; MACIEL *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2013), já foi relatado anteriormente (COLOMBO *et al.*, 1992; NAKAJIMA *et al.*, 2014; ROLLS; HETHERINGTON; BURLEY, 1988). Sørensen e colaboradores (2008) elaboraram que a tentativa de manter o equilíbrio proteico implica na ingestão excessiva de energia. Conforme proposto na Hipótese de Alavancagem de Proteínas (SIMPSON; RAUBENHEIMER, 2005), a ingestão de proteínas é priorizada em relação a carboidratos e lipídios e desta forma, a oferta de dietas com teor proteico heterogêneos criaria uma tendência a manter o consumo proteico estável com consequente alternância quantitativa do consumo alimentar.

Curiosamente, apesar do elevado consumo alimentar, nossos animais hipoproteicos não apresentaram alteração significativa no ganho de massa corporal em relação aos seus respectivos controles. Contrariando os resultados observados em modelos de desnutrição com dieta 8% proteica (CORRÊA *et al.*, 2011; COUTINHO, 2004; COUTINHO *et al.*, 2003a, 2007; GOMES, 2013; MACIEL *et al.*, 2021; OLIVEIRA, 2013; SIMÕES *et al.*, 2002), os animais CH finalizaram o período experimental com diferença positiva em relação ao CN (+8%; não significativa). Sugerimos que o elevado consumo lipídico e de carboidratos implicou no aumento do tecido adiposo, favorecendo o ganho de massa destes animais. Corrêa e colaboradores (2011) observaram que mesmo portando menor peso corporal, os animais submetidos à restrição proteica apresentaram maior concentração de gordura corporal que os animais mantidos em restrição calórica. Associaram o fato a uma condição hipometabólica acarretada pela desnutrição.

Sincronicamente, há outro fator pode ter intervindo para a ausência de uma ampla distinção de massa corporal. O déficit de proteína dietética pode ter causado a perda de massa devido ao possível catabolismo muscular desencadeado para liberação de aminoácidos livres com intuito de sustentar demais necessidades fisiológicas (CARBONE; PASIAKOS, 2019; FEVANG *et al.*, 2018; JENSEN *et al.*,

2009; MACIEL *et al.*, 2021).

A disponibilidade plasmática de aminoácidos dietéticos (obtidos da cadeia proteica) é essencial para a síntese de DNA e RNA, proteínas de fase aguda e energia, seu declínio atinge o organismo integralmente provocando intenso comprometimento do sistema imune devido às demandas de expansão clonal para produção de citocinas (CHANDRA, 1997; SAKER, 2006). A urgência imunológica causada pela infecção esquistossomótica pode ter proporcionado uma perda excessiva de massa muscular nos animais do grupo IH. Observamos que mesmo apresentando um alto consumo alimentar, manteve sua massa corporal abaixo dos demais grupos, com diferença significativa ao seu respectivo controle (CH).

Não obstante, a composição nutricional das dietas é preciso salientar que a intensidade da infecção por *S. mansoni* também é de suma importância para nossos resultados. A presença do verme provoca importantes alterações na morfologia intestinal, prejudicando a absorção de nutrientes. Estas lesões são ainda mais intensas quando associadas a dietas desbalanceadas (ALENCAR *et al.*, 2012; DA SILVA, 2019).

Oliveira (2013) observou, ao estudar animais esquistossomóticos induzidos a desnutrição neonatal, que o déficit proteico teve maior impacto no ganho de massa do que a parasitose. Em seu modelo experimental utilizou cerca de 30 cercarias para a infecção. No entanto, trabalhos que adotaram um número maior de cercarias em diferentes modelos de desnutrição proteica puderam deduzir que ambas as morbidades acentuam a gravidade da outra (COUTINHO, 2004; COUTINHO *et al.*, 2003a, 2007; COUTO *et al.*, 2007, 2008; GOMES, 2013; MACIEL *et al.*, 2021). Isto indicaria que tanto a categoria de dieta quanto a carga parasitária são variáveis das quais devemos nos atentar devido a sua importância no curso da esquistossomose.

Sugerimos que embora o grupo IH tenha apresentado elevado consumo alimentar, assim como o CH, a alta carga parasitária promoveu maior comprometimento intestinal que, junto a demais processos sistêmicos, dificultou a absorção e aproveitamento de nutrientes, resultando em menor ganho de peso.

A avaliação histopatológica revelou um importante impacto ao tecido esplênico promovido pela desnutrição proteica. O baço é um órgão de consistência esponjosa que diferente dos demais órgãos linfáticos, recebe aporte diretamente da corrente sanguínea. Sua sustentação estrutural se deve a presença de fibras reticulares, elastina e demais proteínas na composição de suas estruturas (SAITO *et*

al., 1988; WOJCIECH; ROSS, 2021). O déficit proteico impacta no metabolismo do colágeno e afeta a qualidade de síntese destas fibras (COUTINHO *et al.*, 2003b; RAO; RAO; VENKAIAH, 1983), o que poderia justificar a dismorfia da polpa branca e fragilidade trabecular observadas nos grupos CH e IH.

A esquistossomose é determinada por uma forte resposta inflamatória aos ovos retidos nos tecidos, com maior comprometimento aos hepático e intestinais (NEVES *et al.*, 2006). O acúmulo de ovos no fígado favorece a hipertensão portal, que repercute com a promoção da esplenomegalia e formação de circulação colateral (ALVES *et al.*, 2016; ANDRADE; DE AZEVEDO, 1989). Outra condição da parasitose ao baço é a estimulação antigênica do tecido linfo-reticular solicitando intensa proliferação celular contra os antígenos do parasito (ATTA *et al.*, 1981; LOSADA-BARRAGÁN *et al.*, 2017). Observamos neste estudo esta ativação gerando hiperplasia dos centros germinativos em ambos os grupos infectados e no controle da dieta hipoproteica. Este último também apresentou centros germinativos atróficos.

Freitas e colaboradores (1999) destacaram que as alterações de polpa branca não seguem um padrão previsível e ocorrem variadamente. Esta falta de consenso é vista em diferentes trabalhos que investigaram o impacto da desnutrição. Assim como é relatada a perda quantitativa de linfócitos no timo, baço e regiões T dependentes dos linfonodos (FOCK *et al.*, 2010; MELLO *et al.*, 2014; NAKAJIMA *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2016b; SAVINO, 2002), também é possível encontrar descrição de similaridade ou acréscimo destas células (NÁJERA *et al.*, 2004, 2007; RIKIMARU *et al.*, 1998). A ausência de um padrão metodológico dificulta o entendimento sobre a dinâmica dos processos ocorridos, nosso estudo corrobora os resultados alcançados em trabalhos com animais esquistossomóticos submetidos à desnutrição (COUTINHO *et al.*, 2003a; GOMES, 2013; MAGALHÃES *et al.*, 1986; OLIVEIRA-COSTA, 2003) e à ingestão de etanol (DA ROSA, 2019), pois observamos nas análises estereológicas e morfométricas o aumento volumétrico e de área e perímetro desta estrutura, sobretudo no grupo IH. Dado que a deficiência proteica também gera uma resposta imune inflamatória, promovendo a inibição do reparo celular e consequente apoptose (JENSEN *et al.*, 2009), sugerimos que a sobreposição de uma dieta pobre em teor proteico com a infecção esquistossomótica possa exacerbar os processos imunológicos demandados à polpa branca e sua expansão. Tendendo a exibir intenso desarranjo estrutural

devido ao enfraquecimento das fibras que lhe conferem resistência.

Na polpa vermelha são extraídas da circulação as células envelhecidas, mortas ou opsonizadas (CESTA, 2006). Após serem opsonizados por anticorpos ou complemento, os eritrócitos são removidos da circulação por macrófagos que recuperam o ferro presente na hemoglobina formando os pigmentos de bilirrubina e hemossiderina (TARANTINO *et al.*, 2011a). Na histopatologia observamos ocorrência maior destes pigmentos nos grupos infectados.

A estereologia é uma técnica quantitativa que permite realizar uma análise tridimensional de um órgão (MANDARIM-DE-LACERDA, 2003). Nesta análise, nossos resultados expressaram redução volumétrica de polpa vermelha, com maior ênfase nos grupos induzidos a desnutrição. Compreendemos que esta redução associada ao aumento da atividade hemolítica devido a uma maior necessidade de oxigenação solicitada pela infecção (FREITAS *et al.*, 1999; MEBIUS; KRAAL, 2005), possa ter favorecido o acréscimo da concentração de hemossiderina e bilirrubina tanto em polpa vermelha como em polpa branca. Embora sejam especializados no reconhecimento e remoção de vírus e bactérias, os macrófagos de polpa branca também podem participar do processo de fagocitose de hemácias (CESTA, 2006).

Fato semelhante foi observado em modelo experimental que associava a esquistossomose a demais condições não infecciosas, porém, em camundongos hipercolesterolêmicos este aumento deu-se nos grupos não infectados (DA SILVA *et al.*, 2012). Ao passo que, ao serem submetidos ao consumo de etanol (DA ROSA, 2019) e restrição proteica ou calórica (GOMES, 2013) o fenômeno foi preponderante nos grupos infectados. Isto indica que o aumento destes depósitos está relacionado a diferentes causas de estresse sistêmico.

Na esplenomegalia esquistossomótica a dilatação dos seios venosos e o espessamento dos cordões esplênicos são as principais manifestações microscópicas. Elas sinalizam que o aumento do órgão decorre não só da congestão passiva como pela proliferação celular (ANDRADE, Z. A.; ANDRADE, 1962; MAGALHÃES, F. A.; COUTINHO-ABATH, 1960). Observamos dilatação das estruturas vasculares na histopatologia qualitativa nos grupos CH, IN e IH, com diferentes intensidades.

Difícilmente o baço é a origem de uma manifestação clínica, os processos fisiopatológicos do órgão estão associados aos sistemas vascular, hematopoiético e mononuclear fagocitário (JAMRA, M. A.; RIBEIRO, 1948; TARANTINO *et al.*, 2011b).

A dieta rica em gordura resulta na esplenomegalia por dilatação sinusoidal e depósitos intra e intercelulares (ALTUNKAYNAK; OZBEK; ALTUNKAYNAK, 2007), a visualização de dilatação nos seios marginais e venosos do grupo CH, mesmo que tímida, insinua que a desnutrição proteica também estabeleça uma desorganização sistêmica geradora deste quadro.

Na circulação esplênica, a artéria esplênica alcança o órgão no hilo, adentra em trabéculas e passa por uma série de ramificações até artérias centrais da polpa branca. Em camundongos, as artérias centrais emitem ramos para a própria polpa branca e para os seios marginais (WOJCIECH; ROSS, 2021). A presença de linfócitos em seios marginais dilatados no grupo CH aponta que o déficit proteico de fato promove a ativação de uma resposta inflamatória com proliferação celular, com importante papel na congestão esplênica. Ao observar a intensidade das manifestações vasculares promovidas no grupo IH podemos propor que o aumento vascular além de ocasionar expansão volumétrica do órgão, é um dos fatores que contribui para a desorganização estrutural da polpa esplênica.

A fibrose capsular se estabelece como um processo reparador após lesões esplênicas de origem inflamatória, tóxica ou neoplásica (SUTTIE, 2006). A análise morfométrica demonstrou que nossos grupos infectados expressaram comportamentos contrários. O grupo IN apresentou aumento moderado da espessura capsular quando comparado ao CN, já os animais do grupo IH exprimiram uma importante diferença negativa em relação ao IN. Sugerimos que a dieta hipoproteica tenha deteriorado a síntese dos componentes da estrutura.

Notamos que o aumento trabecular em infectados, comumente relatado em literatura (COUTO *et al.*, 2007; DA ROSA, 2019; DA SILVA *et al.*, 2012; GOMES, 2013), ocorreu em maior grau no grupo IH. Sugerimos que o estado superior de injúria ao parênquima esplênico tenha solicitado maior sustentação ao órgão, mas a condição de deficiência proteica culminou na formação de estruturas fragilizadas.

O baço é um sítio de hematopoiese fetal e neonatal em camundongos (CESTA, 2006; SUTTIE, 2006). Sabe-se que uma fração das células-tronco hematopoiéticas e células progenitoras (HSPCs) da medula óssea conseguem entrar na circulação em estado estacionário e reenxertar nichos da medula óssea em demais tecidos, a exemplo do baço, permitindo a hematopoiese extramedular. Na vida adulta, a hematopoiese esplênica é motivada pela liberação de fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), interleucina 1 β (IL-

1 β) e 3 (IL-3) que permitem a formação de células progenitoras de linhagens mielocítica, linfocítica, eritroblastos e megacariócitos (BRONTE; PITTET, 2013; DA ROSA, 2019; DA SILVA *et al.*, 2012; SUTTIE, 2006). Megacariócitos são derivados de células estaminais hematopoiéticas (HSC) que assim se diferenciam devido à expressão do fator de transcrição GATA 1 (fator de transcrição eritróide), do receptor trombopoetina (TPO) e do fator de agregação plaquetária von Willebrand (VWF). Sua produção também é estreitamente influenciada pela família de interleucinas (IL), pois estas atuam, em geral, na regulação de TPO. A IL-3 também age no aumento da célula em tamanho e estimula sua proliferação, embora não interfira na maturação, enquanto a IL-1 α causa a ruptura de megacariócitos maduros (KASER *et al.*, 2001; NISHIMURA *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 1986). Após a diferenciação, os megacariócitos passam por um processo de maturação onde sofrem endomitose para formação de núcleo poliplóide de 16N em média, mas que pode chegar a 128N (NOETZLI; FRENCH; MACHLUS, 2019).

Para além da produção de plaquetas, os megacariócitos também se apresentam como células imunes e inflamatórias, uma vez que expressam marcadores de superfície com função imunológica (CRIST *et al.*, 2013; MARKOVIC *et al.*, 1995), envolvem citocinas e quimiocinas em suas micropartículas e α -grânulos, que quando liberados, contribuem para patogênese de condições pró-inflamatória e realizam apresentação de antígenos através da expressão do complexo de histocompatibilidade principal (MHC I) (CHAPMAN *et al.*, 2012; CRIST *et al.*, 2013; LINGE *et al.*, 2018; MARKOVIC *et al.*, 1995; ZUFFEREY *et al.*, 2017).

No processo de infecção pelo *Schistosoma*, durante a fase aguda, focos hematopoiéticos são regulados localmente com intenção de amplificar e/ou compensar a resposta hematológica sistêmica (LENZI *et al.*, 1995). No fígado, há indução de resposta inflamatória com liberação de proteína C reativa (PCR), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon gama (IFN- γ), IL-2, IL-6 e IL-12 (HIATT *et al.*, 1979; LEWIS; TUCKER, 2014; RASO; PEDROSO; NEVES, 1986). A atividade plaquetária é inerente a processos inflamatórios, de reparo e coagulação, no curso do processo de fibrose hepática elas interagem com as células estelares em grande número, junto a macrófagos e demais leucócitos (SOARES *et al.*, 2007).

Nossos grupos experimentais apresentaram aumento de megacariócitos presentes no baço, com maior ênfase nos grupos infectados. Sugerimos que a liberação focal de GM-CSF e ILs, além da secreção granular plaquetária, induza a

liberação hepática de TPO, que via circulação, a proximidade com o baço favorece maior produção de megacariócitos. Podemos observar também que no grupo IH existe uma debilidade na formação destas células, seus núcleos se apresentam sem poliploidia, aumento do citoplasma e coloração pálida. Especulamos que a maturação destas células tenha sido prejudicada não somente pela urgência fisiológica, mas pela escassez proteica para sua síntese.

Granulomas são conglomerados de células inflamatórias que visam proteger o tecido hospedeiro contra toxinas secretadas por miracídios presentes nos ovos (AMARAL *et al.*, 2017). Embora seja raro, podem ser visualizados no parênquima esplênico durante a fase aguda da esquistossomose (COUTO *et al.*, 2007; DA SILVA *et al.*, 2012; SILVA-SOUZA; D. VASCONCELOS, 2007). Nos nossos grupos infectados observamos a presença de granulomas distribuídos escassamente na polpa vermelha de alguns animais. Notamos, no grupo IH, que embora tenha havido eficiência na modulação de uma resposta periovular, a polpa esplênica apresenta maior desordem estrutural em relação ao IN.

Reforçamos que a condição de estresse imposta ao organismo, seja pelo deficiente consumo proteico e/ou pela infecção esquistossomótica, causou importantes alterações morfológicas ao baço. Embora tenha sido um órgão por muito tempo negligenciado, estudos atuais atribuem ao baço um papel vital para o manutenção das funções orgânicas. Sendo assim, estudos que avaliem alterações esplênicas, provocadas por variados fatores, possuem grande relevância científica.

Lamentavelmente, a interrupção das atividades laboratoriais imposta pela pandemia da Covid-19 impediu a conclusão e realização de demais análises, como bioquímica, perfil da resposta inflamatória, imuno-histoquímica esplênica e quantificação das fibras reticulares. Estudos estes, que evidentemente trariam ao presente trabalho maiores contribuições.

CONCLUSÕES

O desenvolvimento deste estudo nos permitiu concluir que a concomitância entre esquistossomose mansônica e desnutrição proteica alterou o curso da infecção esquistossomótica proporcionando:

- a) Agravamento do desbalanço nutricional observado pela redução do ganho de massa e aumento do apetite;
- b) Maior dano ao parênquima esplênico ao modular uma resposta imunológica;
- c) Intenso estresse sistêmico evidenciado pelo aumento quantitativo de megacariócitos e concentração de pigmentos de hemossiderina e bilirrubina.

REFERÊNCIAS

- ALBERDA, C.; GRAF, A.; MCCARGAR, L. Malnutrition: Etiology, consequences, and assessment of a patient at risk. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*, v. 20, n. 3, p. 419–439, 2006.
- ALENCAR, A. C. M. DE B.; NEVES, R. H.; ÁGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; GOMES, D. C.; MACHADO-SILVA, J. R. High fat diet has a prominent effect upon the course of chronic schistosomiasis mansoni in mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 4, p. 608–613, Jul. 2009.
- ALENCAR, A. C. M. DE B.; NEVES, R. H.; DE OLIVEIRA, A. V.; MACHADO-SILVA, J. R. Changes in the small intestine of *Schistosoma mansoni*-infected mice fed a high-fat diet. *Parasitology*, v. 139, n. 6, p. 716–725, 2012.
- ALENCAR, A. C. M. DE B.; SANTOS, T. DA S.; NEVES, R. H.; LOPES TORRES, E. J.; NOGUEIRA-NETO, J. F.; MACHADO-SILVA, J. R. Simvastatin and artesunate impact the structural organization of adult *Schistosoma mansoni* in hypercholesterolemic mice. *Experimental Parasitology*, v. 167, p. 115–123, 2016.
- ALTUNKAYNAK, B. Z.; OZBEK, E.; ALTUNKAYNAK, M. E. A stereological and histological analysis of spleen on obese female rats, fed with high fat diet. *Saudi medical journal*, v. 28, n. 3, p. 353–7, Mar. 2007.
- ALVES, C. C.; ARAUJO, N.; CASSALI, G. D.; FONSECA, C. T. Parasitological, Pathological, and Immunological Parameters Associated with *Schistosoma mansoni* Infection and Reinfection in BALB/c AND C57BL/6 Mice. *Journal of Parasitology*, v. 102, n. 3, p. 336, 1 Jun. 2016.
- AMARAL, K. B.; SILVA, T. P.; DIAS, F. F.; MALTA, K. K.; ROSA, F. M.; COSTA-NETO, S. F.; GENTILE, R.; MELO, R. C. N. Histological assessment of granulomas in natural and experimental *Schistosoma mansoni* infections using whole slide imaging (P. L. Ho, Ed.) *PLoS ONE*, 13 Sep. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184696>>
- ANDRADE, Z. A.; ANDRADE, S. G. A patologia do baço na esquistossomose hepatoesplênica. *Revi. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 7, p. 218–227, 1962.
- ANDRADE, Z. A.; DE AZEVEDO, T. M. Treatment of acute experimental schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1989.
- ANSTEAD, G. M.; CHANDRASEKAR, B.; ZHAO, W.; YANG, J.; PEREZ, L. E.; MELBY, P. C. Malnutrition Alters the Innate Immune Response and Increases Early Visceralization following *Leishmania donovani* Infection. *Infection and Immunity*, v. 69, n. 8, p. 4709–4718, Aug. 2001.

ATTA, A. M.; MAGALHÃES, L. A.; DE ALCÂNTARA, F. G.; PAREJA, G. Esquistossomose mansônica. I - Evolução do quadro patológico: análise parasitológica, hematológica e histopatológica. *Revista de Saúde Pública*, v. 15, n. 1, p. 72–92, 1981.

BAPTISTA, A. P.; ANDRADE, Z. A. Angiogenesis and schistosomal granuloma formation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 2, p. 183–185, Apr. 2005.

BARROS, L. A.; NEVES, R. H.; DE MOURA, E. G.; MACHADO-SILVA, J. R. Effects of low-protein diet on *Schistosoma mansoni* morphology visualized by morphometry and confocal laser scanning microscopy. *Journal of Helminthology*, v. 83, n. 1, p. 13–21, 2009.

BARRUCHO, L. “Luz amarela para fome no Brasil foi acesa”, diz brasileiro de agência da ONU que venceu Nobel da Paz - BBC News Brasil. Disponível em: <<https://www.bbc.com/portuguese/brasil-54478223>>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BEXKENS, M. L.; MEBIUS, M. M.; HOUWELING, M.; BROUWERS, J. F.; TIELENS, A. G. M.; VAN HELLEMOND, J. J. *Schistosoma mansoni* does not and cannot oxidise fatty acids, but these are used for biosynthetic purposes instead. *International Journal for Parasitology*, v. 49, n. 8, p. 647–656, Jul. 2019.

BINA, J. C.; PRATA, A. Esquistossomose na área hiperendêmica de Taquarandi: I Infecção pelo *Schistosoma mansoni* e formas graves. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 2, p. 211–216, 2003.

BORELLI, P.; BARROS, F. E. V.; NAKAJIMA, K.; BLATT, S. L.; BEUTLER, B.; PEREIRA, J.; TSUJITA, M.; FAVERO, G. M.; FOCK, R. A. Protein-energy malnutrition halts hemopoietic progenitor cells in the G0/G1 cell cycle stage, thereby altering cell production rates. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 42, n. 6, p. 523–530, 2009.

BORELLI, P.; BLATT, S. L.; ROGERO, M. M.; FOCK, R. A. Haematological alterations in protein malnutrition. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 26, n. 1, p. 49–56, 2004.

BORELLI, P.; BLATT, S.; PEREIRA, J.; DE MAURINO, B. B.; TSUJITA, M.; DE SOUZA, A. C.; XAVIER, J. G.; FOCK, R. A. Reduction of erythroid progenitors in protein-energy malnutrition. *British Journal of Nutrition*, v. 97, n. 2, p. 307–314, 1 Feb. 2007.

BRANDÃO-BEZERRA, L.; DE CARVALHO MARTINS, J. S. C.; DE OLIVEIRA, R. M. F.; LOPES-TORRES, E. J.; NEVES, R. H.; CORRÊA, C. L.; MACHADO-SILVA, J. R. Long-term ethanol intake causes morphological changes in *Schistosoma mansoni* adult worms in mice. *Experimental Parasitology*, v. 203, n. September 2018, p. 30–35, 2019.

BRASIL. Estudo Técnico nº 01/2014: Escala Brasileira de Insegurança Alimentar – EBIA: análise psicométrica de uma dimensão da Segurança Alimentar e Nutricional. Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome, p. 1–15, 2014a.

BRASIL. Direito humano à alimentação adequada e soberania alimentar — Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional. Disponível em: <<http://www4.planalto.gov.br/consea/comunicacao/artigos/2014/direito-humano-a-alimentacao-adequada-e-soberania-alimentar>>. Acesso em: 24 jun. 2021b.

BRASIL, G. DO. Brasil continua fora do mapa da fome, diz relatório da ONU — Português (Brasil). Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/noticias/assistencia-social/2020/07/brasil-continua-fora-do-mapa-da-fome-diz-relatorio-da-onu>>. Acesso em: 17 jun. 2021.

BRASIL, M. DA S. Esquistossomose — Português (Brasil). Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/e/esquistossomose>>. Acesso em: 27 may. 2021.

BRASIL, M. DA S. S. DE V. EM S. D. DE V. E. VIGILÂNCIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI Diretrizes técnicas. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014c.

BRASIL, M. DA S. S. DE V. EM S. D. DE V. EM D. T. Plano integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase, filariose, esquistossomose e oncocercose como problema de saúde pública, tracoma como causa de cegueira e controle das geohelmintíases : plano de ação 2011-2015 / Ministério da Saúde, SecrSérie C. Projetos, Programas e Relatórios, 7 Nov. 2012. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_integrado_acoes_estrategicas_2011_2015.pdf>

BRENDOLAN, A.; ROSADO, M. M.; CARSETTI, R.; SELLERI, L.; DEAR, T. N. Development and function of the mammalian spleen. *BioEssays*, v. 29, n. 2, p. 166–177, 2007.

BRONTE, V.; PITTET, M. J. The spleen in local and systemic regulation of immunity. *Immunity*, v. 39, n. 5, p. 806–818, 2013.

BROWN, D. L. Practical Stereology Applications for the Pathologist. *Veterinary Pathology*, v. 54, n. 3, p. 358–368, 2017.

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, n. 4, p. 163–176, 2009.

CALDWELL, J. C. Population Investigation Committee Education as a Factor in Mortality Decline An Examination of Nigerian Data. *Population Studies*, v. 33, n. 3, p. 395–413, 1979.

CAMPINO, A. C. C. Aspectos sócio-econômicos da desnutrição no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 20, n. 1, p. 83–101, Feb. 1986.

CARBONE, J. W.; PASIAKOS, S. M. Dietary Protein and Muscle Mass: Translating Science to Application and Health Benefit. 2019.

CASTRO, L. DE P.; DANI, R.; ALVARENGA, R. J.; CHAMONE, D. DE A.; DE OLIVEIRA, C. A. A peroral biopsy study of the jejunum in human schistosomiasis mansonii. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, v. 13, n. 2, p. 103–9, 1971.

CASTRO, L. P. F.; BAMBIRRA, E. A.; COELHO, P. M. Z.; SILVA, M. E. The effect of chronic ingestion of ethanol on modulation of granulomatous inflammation in experimental schistosomiasis in mice. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 35, n. 5, p. 391–394, Oct. 1993.

CESTA, M. F. Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen. *Toxicologic Pathology*, v. 34, n. 5, p. 455–465, 25 Aug. 2006.

CHANDRA, R. K. Nutrition and the immune system: An introduction *American Journal of Clinical Nutrition*, 1 Aug. 1997. Disponível em:
<<https://academic.oup.com/ajcn/article/66/2/460S/4655769>>

CHAPMAN, L. M.; AGGREY, A. A.; FIELD, D. J.; SRIVASTAVA, K.; TURE, S.; YUI, K.; TOPHAM, D. J.; BALDWIN, W. M.; MORRELL, C. N. Platelets Present Antigen in the Context of MHC Class I. *The Journal of Immunology*, v. 189, n. 2, p. 916–923, 15 Jul. 2012.

CHISTI, M. J.; TEBRUEGGE, M.; LA VINCENTE, S.; GRAHAM, S. M.; DUKE, T. Pneumonia in severely malnourished children in developing countries - Mortality risk, aetiology and validity of WHO clinical signs: A systematic review *Tropical Medicine and International Health*, Oct. 2009. Disponível em:
<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3156.2009.02364.x>>

CHUAH, C.; GOBERT, G. N.; LATIF, B.; HEO, C. C.; LEOW, C. Y. Schistosomiasis in Malaysia: A review. *Acta Tropica*, v. 190, p. 137–143, 1 Feb. 2019.

COELHO, P. M. Z.; JURBERG, A. D.; OLIVEIRA, Á. A.; KATZ, N. Use of a saline gradient for the diagnosis of schistosomiasis. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 5, p. 720–723, 2009.

COLLEY, D. G.; BINDER, S.; CAMPBELL, C.; KING, C. H.; TCHUEM TCHUENTÉ, L.-A.; N'GORAN, E. K.; ERKO, B.; KARANJA, D. M. S.; KABATEREINE, N. B.; VAN LIESHOUT, L.; RATHBUN, S. A Five-Country Evaluation of a Point-of-Care Circulating Cathodic Antigen Urine Assay for the Prevalence of *Schistosoma mansonii*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 88, n. 3, p. 426–432, 6 Mar. 2013.

COLOMBO, J.-P.; CERVANTES, H.; KOKOROVIC, M.; PFISTER, U.; PERRITAZ, R. Effect of Different Protein Diets on the Distribution of Amino Acids in Plasma, Liver and Brain in the Rat. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 36, n. 1, p. 23–33, 1992.

CORISH, C. A.; KENNEDY, N. P. Protein-energy undernutrition in hospital in-patients *British Journal of Nutrition*, 9 Jun. 2000. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1017/S000711450000074X>>

CORRÊA, C. L.; LISBOA, P. C.; DE OLIVEIRA, E.; DE MOURA, E. G.; DE OLIVEIRA, R. M. F.; GOMES, A. C.; MACHADO-SILVA, J. R. The outcome of acute schistosomiasis infection in adult mice with postnatal exposure to maternal malnutrition. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 106, n. 5, p. 584–593, 2011.

CORREIA, M. C. B.; DOMINGUES, A. L. C.; LACERDA, H. R.; SANTOS, E. M.; MACHADO, C. G. F.; HORA, V.; NEVES, M. A.; BRITO, A.; COELHO, M. R. C. D.; SILVA, J. L. A. Platelet function and the von Willebrand factor antigen in the hepatosplenic form of schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 103, n. 10, p. 1053–1058, Oct. 2009.

COURA, J. R.; AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 99, n. 5, p. 13–19, 2004.

COUTINHO, E. DE M. Patologia da Esquistossomíase na Má-Nutrição: uma visão abrangente | 655. In: CARVALHO, OMAR DOS SANTOS; COELHO, PAULO MARCOS ZECH; LENZI, H. L. (Ed.). *Schistosoma mansoni & Esquistossomose- Uma visão multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Fundacao Oswaldo Cruz, 2008. p. 01–1123.

COUTINHO, E. M. Estado nutricional e esquistossomose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 13, n. 1, p. 91–96, Dec. 1980.

COUTINHO, E. M. Malnutrition and hepatic fibrosis in murine schistosomiasis. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 99, n. 5, p. 85–92, 2004.

COUTINHO, E. M.; BARROS, A. F.; BARBOSA, A.; OLIVEIRA, S. A.; SILVA, L. M.; ARAÚJO, R. E.; ANDRADE, Z. A. Host Nutritional Status as a Contributory Factor to the Remodeling of Schistosomal Hepatic Fibrosis. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 7, p. 919–925, 2003a.

COUTINHO, E. M.; DE OLIVEIRA, S. A.; DE BARROS, A. F.; SILVA, F. L.; RAMOS, R. P.; OLIVEIRA, S. A. DE; BARROS, A. F. DE; SILVA, F. L.; RAMOS, R. P. Manson's schistosomiasis in the undernourished mouse: some recent findings. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, n. 4, p. 359–366, Jul. 2010.

COUTINHO, E. M.; DE SOUZA, M. M.; SILVA, L. M.; CAVALCANTI, C. L.; DE ARAUJO, R. E.; BARBOSA JR., A. A.; CHEEVER, A. W.; ANDRADE, Z. A. Pathogenesis of schistosomal 'pipestem' fibrosis: a low-protein diet inhibits the development of 'pipestem' fibrosis in mice. *International Journal of Experimental Pathology*, v. 78, n. 5, p. 337–342, 30 Oct. 2003b.

COUTINHO, E. M.; SILVA, F. L.; BARROS, A. F.; ARAÚJO, R. E.; OLIVEIRA, S. A.; LUNA, C. F.; BARBOSA, A. A.; ANDRADE, Z. A. Repeated infections with *Schistosoma mansoni* and liver fibrosis in undernourished mice. *Acta Tropica*, v. 101, n. 1, p. 15–24, 2007.

COUTO, J. L. A.; DA SILVA VIEIRA, R. C.; BARBOSA, A. M.; ROCHA, D. B.; FERREIRA, H. S. Esquistossomose murina associada à desnutrição: alterações histopatológicas no fígado, baço e jejuno. *Revista de Patologia Tropical*, v. 36, n. 1, p. 54–66, 3 Oct. 2007.

COUTO, J. L. A.; VIEIRA, R. C. D. S.; BARBOSA, J. M.; MACHADO, S. S.; FERREIRA, H. D. S. Alterações da função hepática de camundongos desnutridos e infectados pelo *Schistosoma mansoni*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 41, n. 4, p. 390–393, Aug. 2008.

CRIST, S. A.; ELZEY, B. D.; AHMANN, M. T.; RATLIFF, T. L. Early Growth Response-1 (EGR-1) and Nuclear Factor of Activated T Cells (NFAT) Cooperate to Mediate CD40L Expression in Megakaryocytes and Platelets * □ S. 2013.

CUERVO-ESCOBAR, S.; LOSADA-BARRAGÁN, M.; UMAÑA-PÉREZ, A.; PORROZZI, R.; SABOIA-VAHIA, L.; MIRANDA, L. H. M.; MORGADO, F. N.; MENEZES, R. C.; SÁNCHEZ-GÓMEZ, M.; CUERVO, P. T-Cell Populations and Cytokine Expression Are Impaired in Thymus and Spleen of Protein Malnourished BALB/c Mice Infected with *Leishmania infantum*. *PLoS ONE*, v. 9, n. 12, p. e114584, 23 Dec. 2014.

DA ROSA, A. A. Alterações no tecido esplênico e perfil da resposta imunológica de camundongos esquistossomóticos submetidos à ingestão de etanol. [s.l.] Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2019.

DA SILVA, A. DE O. Inter-relação entre a Esquistossomose mansoni e o Diabetes experimental em camundongos Swiss Webster: uma análise histopatológica do jejuno. [s.l.] Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2019.

DA SILVA, A. M.; CORRÊA, C. L.; NEVES, R. H.; MACHADO-SILVA, J. R. A high-fat diet associated with acute schistosomiasis mansoni causes disorganization in splenic architecture in mice. *Experimental Parasitology*, v. 132, n. 2, p. 193–199, 2012.

DA SILVA FILOMENO, C. E.; COSTA-SILVA, M.; CORRÊA, C. L.; NEVES, R. H.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; MACHADO-SILVA, J. R. The acute schistosomiasis mansoni ameliorates metabolic syndrome in the C57BL/6 mouse model. *Experimental Parasitology*, v. 212, n. March, p. 107889, 2020.

DE OLIVEIRA, D. C.; HASTREITER, A. A.; MELLO, A. S.; DE OLIVEIRA BELTRAN, J. S.; OLIVEIRA SANTOS, E. W. C.; BORELLI, P.; FOCK, R. A. The effects of protein malnutrition on the TNF-RI and NF-κB expression via the TNF-α signaling pathway. *Cytokine*, v. 69, n. 2, p. 218–225, Oct. 2014.

DE VLAS, S. J.; GRYSEELS, B. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. *Parasitology Today*, v. 8, n. 8, p. 274–277, 1992.

DEO, M. G. Cell biology of protein-calorie malnutrition. World review of nutrition and dietetics, 1978. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/401762>>

DKHIL, M. A.; KHALIL, M. F.; DIAB, M. S. M.; BAUOMY, A. A.; AL-QURASHY, S. Effect of gold nanoparticles on mice splenomegaly induced by schistosomiasis mansoni. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 24, n. 6, p. 1418–1423, Sep. 2017.

DUAN, Y.; ZENG, L.; ZHENG, C.; SONG, B.; LI, F.; KONG, X.; XU, K. Inflammatory links between high fat diets and diseases. *Frontiers in Immunology*, v. 9, n. NOV, p. 1–10, 2018.

ENK, M. J.; OLIVEIRA E SILVA, G.; RODRIGUES, N. B. Diagnostic Accuracy and Applicability of a PCR System for the Detection of *Schistosoma mansoni* DNA in Human Urine Samples from an Endemic Area. *PLoS ONE*, v. 7, n. 6, p. e38947, 11 Jun. 2012.

FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO; The State of Food Security and Nutrition in the World 2020. [s.l.] FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO, 2020.

FARRELL, P.; THOW, A. M.; WATE, J. T.; NONGA, N.; VATUCAWAQA, P.; BREWER, T.; SHARP, M. K.; FARMERY, A.; TREVENA, H.; REEVE, E.; ERIKSSON, H.; GONZALEZ, I.; MULCAHY, G.; EURICH, J. G.; ANDREW, N. L. COVID-19 and Pacific food system resilience: opportunities to build a robust response. *Food Security*, v. 12, n. 4, p. 783–791, 20 Aug. 2020.

FAY, D. L. *The Complete Spleen*. Totowa, NJ: Humana Press, 2002.

FERREIRA, F. T.; FIDELIS, T. A.; PEREIRA, T. A.; OTONI, A.; QUEIROZ, L. C.; AMÂNCIO, F. F.; ANTUNES, C. M.; LAMBERTUCCI, J. R. Sensitivity and specificity of the circulating cathodic antigen rapid urine test in the diagnosis of *Schistosomiasis mansoni* infection and evaluation of morbidity in a low- endemic area in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 50, n. 3, p. 358–364, Jun. 2017.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Experimental models in research. *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 20, n. SUPPL. 2, p. 28–34, 2005.

FEVANG, P.; HAVEMANN, K.; FEVANG, B.; HØSTMARK, A. T. Malaria and Malnutrition: Kwashiorkor Associated with Low Levels of Parasitaemia. *Malaria Research and Treatment*, v. 2018, p. 1–5, 27 Sep. 2018.

FOCK, R. A.; BLATT, S. L.; BEUTLER, B.; PEREIRA, J.; TSUJITA, M.; DE BARROS, F. E. V.; BORELLI, P. Study of lymphocyte subpopulations in bone marrow in a model of protein-energy malnutrition. *Nutrition*, v. 26, n. 10, p. 1021–1028, 2010.

FRANÇA, T. G. D.; ISHIKAWA, L. L. W.; ZORZELLA-PEZAVENTO, S. F. G.; CHIUSO-MINICUCCI, F.; DA CUNHA, M. L. R. S. M.; SARTORI, A. Impact of malnutrition on immunity and infection. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, v. 15, n. 3, p. 374–390, 2009.

FREITAS, C. R. L.; BARBOSA JR, A. A.; FERNANDES, A. L. M.; ANDRADE, Z. A. Pathology of the spleen in hepatosplenic schistosomiasis. Morphometric evaluation and extracellular matrix changes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 94, n. 6, p. 815–822, Nov. 1999.

GÓES, V. C.; NEVES, R. H.; ARNÓBIO, A.; BERNARDO-FILHO, M.; MACHADO-SILVA, J. R. Streptozotocin (STZ) and schistosomiasis mansoni change the biodistribution of radiopharmaceutical sodium ^{99m}Tc-pertechnetate in mice. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 43, n. 9, p. 581–586, 2016.

GOMES, A. C. Alterações no tecido esplênico de camundongos esquistossomóticos com desnutrição calórica e protéica induzida no período de lactação. [s.l.] Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2013.

GOMES, L. I.; MARQUES, L. H. DOS S.; ENK, M. J.; DE OLIVEIRA, M. C.; COELHO, P. M. Z.; RABELLO, A. Development and Evaluation of a Sensitive PCR-ELISA System for Detection of Schistosoma Infection in Feces. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 4, n. 4, p. e664, 20 Apr. 2010.

GÓMEZ SANTOS, F. Desnutrición. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, v. 73, n. 5, p. 297–301, Sep. 2016.

GRENFELL, R. F. Q.; MARTINS, W.; ENK, M.; ALMEIDA, Á.; SIQUEIRA, L.; SILVA-MORAES, V.; OLIVEIRA, E.; CARNEIRO, N. F. DE F.; COELHO, P. M. Z. Schistosoma mansoni in a low-prevalence area in Brazil: The importance of additional methods for the diagnosis of hard-to-detect individual carriers by low-cost immunological assays. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 108, n. 3, p. 328–334, 2013.

GROVER, Z.; EE, L. C. Protein Energy Malnutrition. *Pediatric Clinics of North America*, v. 56, n. 5, p. 1055–1068, Oct. 2009.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 26, n. 2, p. 383–397, 2012.

GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Human schistosomiasis. *Lancet*, v. 368, n. 9541, p. 1106–1118, 2006.

HALTON, D. W. Nutritional adaptations to parasitism within the platyhelminthes. *International Journal for Parasitology*, v. 27, n. 6, p. 693–704, 1997.

HENRIQUES BRITO, M. V.; SOUZA PANTOJA, M. DE; OLIVEIRA BRITO, A. P. S.; SILVA ALVES PALHETA, C. DA; PEREIRA DA SILVA, W. M.; COSTA DA SILVA, W. Experimental malnutrition: A systematic review. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, v. 3, n. 3, p. 305–308, 2016.

HIATT, R. A.; ROBERTO SOTOMAYOR, Z.; SANCHEZ, G.; ZAMBRANA, M.; KNIGHT, W. B. Factors in the pathogenesis of acute schistosomiasis mansoni. *Journal of Infectious Diseases*, v. 139, n. 6, p. 659–666, 1979.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, v. 444, n. 7121, p. 860–867, 2006.

HUANG, L.; APPLETON, J. A. Eosinophils in Helminth Infection: Defenders and Dupes. *Trends in Parasitology*, v. 32, n. 10, p. 798–807, Oct. 2016.

HULSTIJN, M.; BARROS, L. DE A.; NEVES, R. H.; DE MOURA, E. G.; MACHADO-SILVA, J. R. Parasitological and morphological study of *Schistosoma mansoni* and diabetes mellitus in mice. *Experimental Parasitology*, v. 129, n. 1, p. 42–47, 2011.

IBGE. 10,3 milhões de pessoas moram em domicílios com insegurança alimentar grave | Agência de Notícias | IBGE. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/28903-10-3-milhoes-de-pessoas-moram-em-domicilios-com-inseguranca-alimentar-grave>>. Acesso em: 23 jun. 2021.

IFAD, I. F. FOR A. D. Mainstreaming nutrition in IFAD. Rome: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.ifad.org/documents/38711624/41237738/IFAD+Nutrition+Action+Plan+2019+2025++web.pdf/91800e90-68cf-a604-0874-2a44723e73d6?t=1564652904000>>. Acesso em: 6 jun. 2021.

JAMRA, M. A.; RIBEIRO, E. B. Pancitopenia esplênica: (considerações sobre o diagnóstico e a natureza da afecção, baseadas na observação de um caso). *Revista de Medicina*, v. 32, n. 173–176, p. 171–180, 1948.

JENSEN, G. L.; BISTRIAN, B.; ROUBENOFF, R.; HEIMBURGER, D. C. Malnutrition syndromes: A conundrum vs continuum. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, v. 33, n. 6, p. 710–716, 2009.

JIA, Y.; CONG, R.; LI, R.; YANG, X.; SUN, Q.; PARVIZI, N.; ZHAO, R. Maternal Low-Protein Diet Induces Gender-Dependent Changes in Epigenetic Regulation of the Glucose-6-Phosphatase Gene in Newborn Piglet Liver. *The Journal of Nutrition*, v. 142, n. 9, p. 1659–1665, 1 Sep. 2012.

JOINT, F. A. O. ; W. H. O. Energy and protein requirements. Report of a Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee. Rome, 22 March - April 1971: FAO and WHO, 1973.

KABONGO, M. M.; LINSUKE, S.; BALOJI, S.; MUKUNDA, F.; RAQUEL, I. DA L.; STAUBER, C.; VAN GEERTRUYDEN, J. P.; LUTUMBA, P. *Schistosoma mansoni* infection and its association with nutrition and health outcomes: A household survey in school-aged children living in Kasansa, Democratic Republic of the Congo. *Pan African Medical Journal*, v. 31, p. 1–17, 2018.

KALI, A. Schistosome infections: An Indian perspective. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, v. 9, n. 2, p. DE01–DE04, 2015.

KASER, A.; BRANDACHER, G.; STEURER, W.; KASER, S.; OFFNER, F. A.; ZOLLER, H.; THEURL, I.; WIDDER, W.; MOLNAR, C.; LUDWICZEK, O.; ATKINS, M. B.; MIER, J. W.; TILG, H. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood*, v. 98, n. 9, p. 2720–2725, 1 Nov. 2001.

KASHIMURA, M. The human spleen as the center of the blood defense system. *International Journal of Hematology*, v. 112, n. 2, p. 147–158, 2020.

KATZ, N. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses. 22. ed. Belo Horizonte: CPqRR, 2018.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. *Ciênc. cult. (São Paulo)*, v. 55, n. 1, p. 38–41, 2003.

KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, v. 14, n. 6, p. 397–400, 1972.

KATZ, N.; PEIXOTO, S. V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 33, n. 3, p. 303–308, 2000.

KHAN, Y.; BHUTTA, Z. A. Nutritional deficiencies in the developing world: Current status and opportunities for intervention. *Pediatric Clinics of North America*, v. 57, n. 6, p. 1409–1441, 2010.

KOLÁŘOVÁ, L.; HORÁK, P.; SKÍRNISSON, K.; MAREČKOVÁ, H.; DOENHOFF, M. Cercarial dermatitis, a neglected allergic disease. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, v. 45, n. 1, p. 63–74, 2013.

KRAWINKEL, M. Kwashiorkor is still not fully understood. *Bulletin of the World Health Organization*, 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14997244/>>

LAMBERTUCCI, J. R. Acute schistosomiasis: Clinical, diagnostic and therapeutic features. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 1993.

LAMBERTUCCI, J. R. Acute schistosomiasis mansoni: Revisited and reconsidered. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 105, n. 4, p. 422–435, 2010.

LENZI, H. L.; KIMMEL, E.; SCHECHTMAN, H.; PELAJO-MACHADO, M.; ROMANHA, W. S.; PACHECO, R. G.; MARIANO, M.; LENZI, J. A. Histoarchitecture of Schistosomal Granuloma Development and Involution: Morphogenetic and Biomechanical Approaches. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 93 SUPPL., n. Mariano 1995, p. 141–151, 1998.

LENZI, H. L.; LENZI, J. A.; ROSMAN, F. C.; PELAJO-MACHADO, M.; MOTA, E. M.; PANASCO, M. S.; OLIVEIRA, D. N. Extramedullary hematopoiesis in murine schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1995.

LENZI, H. L.; PACHECO, R. G.; PELAJO-MACHADO, M.; PANASCO, M. S.; ROMANHA, W. S.; LENZI, J. A. Immunological System and *Schistosoma mansoni*: Co-evolutionary Immunobiology. What is the Eosinophil Role in Parasite-host Relationship? *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92 SUPPL., n. Basch 1990, p. 19–32, 1997.

LEWIS, F. A.; TUCKER, M. S. Chapter 3 Schistosomiasis. *Digenetic Trematodes. Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 766, p. 331–364, 2014.

LEWIS, S. M.; WILLIAMS, A.; EISENBARTH, S. C. Structure and function of the immune system in the spleen. *Science Immunology*, v. 4, n. 33, p. eaau6085, 1 Mar. 2019.

LIEBER, C. S. Alcohol, liver, and nutrition. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 10, n. 6, p. 602–632, 1991.

LINGE, P.; FORTIN, P. R.; LOOD, C.; BENGTSSON, A. A.; BOILARD, E. The non-haemostatic role of platelets in systemic lupus erythematosus. *Nature Reviews Rheumatology*, v. 14, n. 4, p. 195–213, 2018.

LOSADA-BARRAGÁN, M.; UMAÑA-PÉREZ, A.; CUERVO-ESCOBAR, S.; BERBERT, L. R.; PORROZZI, R.; MORGADO, F. N.; MENDES-DA-CRUZ, D. A.; SAVINO, W.; SÁNCHEZ-GÓMEZ, M.; CUERVO, P. Protein malnutrition promotes dysregulation of molecules involved in T cell migration in the thymus of mice infected with *Leishmania infantum*. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 45991, 31 May 2017.

MACHADO-SILVA, J. R.; GALVÃO, C.; DE OLIVEIRA, R. M.; PRESGRAVE, O. A.; GOMES, D. C. *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907: comparative morphological studies of some Brazilian strains. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 37, n. 5, p. 441–447, 1995.

MACHADO E SILVA, J. R. ; NEVES, R. H.; GOMES, D. C. *Schistosoma mansoni* & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar. In: SciELO. [s.l.] Editora FIOCRUZ, 2008. p. 245–281.

MACIEL, P. S.; GONÇALVES, R.; ANTONELLI, L. R. DO V.; FONSECA, C. T. *Schistosoma mansoni* Infection Is Impacted by Malnutrition. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, 19 Mar. 2021.

MAGALHÃES, F. A.; COUTINHO-ABATH, E. Lesões esplênicas iniciais na esquistossomose mansônica humana. *Revi. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 2, p. 251–259, 1960.

MAGALHÃES, L. A.; GUARALDO, A. M.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M.; DE CARVALHO, J. F.; SGARBIERI, V. C.; DE ALCÂNTARA, F. G. *Schistosomiasis mansoni* in experimentally malnourished mice. *Revista de saúde pública*, v. 20, n. 5, p. 362–368, Oct. 1986.

MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Stereological tools in biomedical research. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 75, n. 4, p. 469–486, 2003.

MARCHESE, V.; BELTRAME, A.; ANGHEBEN, A.; MONTEIRO, G. B.; GIORLI, G.; PERANDIN, F.; BUONFRATE, D.; BISOFFI, Z. Schistosomiasis in immigrants, refugees and travellers in an Italian referral centre for tropical diseases. *Infectious Diseases of Poverty*, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2018.

MARKOVIC, B.; WU, Z.; CHESTERMAN, C. N.; CHONG, B. H. Quantitation of soluble and membrane-bound FC7RIIA (CD32A) mRNA in platelets and megakaryoblastic cell line (Meg-01). *British Journal of Haematology*, v. 91, n. 1, p. 37–42, 1995.

MARQUES, D. V. B.; FELIZARDO, A. A.; SOUZA, R. L. M.; PEREIRA, A. A. C.; GONÇALVES, R. V.; NOVAES, R. D. Could diet composition modulate pathological outcomes in schistosomiasis mansoni? A systematic review of in vivo preclinical evidence. *Parasitology*, v. 145, n. 9, p. 1127–1136, 2018.

MASI, B.; PERLES-BARBACARU, T. A.; BERNARD, M.; VIOLA, A. Clinical and Preclinical Imaging of Hepatosplenic Schistosomiasis. *Trends in Parasitology*, v. 36, n. 2, p. 206–226, 2020.

MCMANUS, D. P.; DUNNE, D. W.; SACKO, M.; UTZINGER, J.; VENNERVALD, B. J.; ZHOU, X. N. Schistosomiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 4, n. 1, p. 1–19, 2018.

MEBIUS, R. E.; KRAAL, G. Structure and function of the spleen. *Nature Reviews Immunology*, v. 5, n. 8, p. 606–616, 2005.

MELLO, A. S.; DE OLIVEIRA, D. C.; BIZZARRO, B.; SÁ-NUNES, A.; HASTREITER, A. A.; DE OLIVEIRA BELTRAN, J. S.; XAVIER, J. G.; BORELLI, P.; FOCK, R. A. Protein Malnutrition Alters Spleen Cell Proliferation and IL-2 and IL-10 Production by Affecting the STAT-1 and STAT-3 Balance. *Inflammation*, v. 37, n. 6, p. 2125–2138, 2014.

MILLWARD, D. J.; JACKSON, A. A. Protein/energy ratios of current diets in developed and developing countries compared with a safe protein/energy ratio: implications for recommended protein and amino acid intakes. *Public Health Nutrition*, v. 7, n. 3, p. 387–405, 2 May 2004.

MNKUGWE, R. H.; MINZI, O. S.; KINUNG'HI, S. M.; KAMUHABWA, A. A.; AKLILLU, E. Prevalence and correlates of intestinal schistosomiasis infection among school-aged children in North-Western Tanzania. *PLoS ONE*, v. 15, n. 2, p. 1–17, 2020.

MOLINARO, E.; CAPUTO, L.; AMENDOEIRA, R. Capítulo 3 - Técnicas Histológicas. In: *Conceitos e Métodos para Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde Volume 2*. [s.l.: s.n.]. p. 89–188.

MONTE, C. Malnutrition: a secular challenge to child nutrition. *Jornal de Pediatria*, v. 76, n. 8, p. 285–97, 15 Nov. 2000.

MOORE, KEITH L. ; DALLEY, A. F. Anatomia orientada para a Clínica. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. v. 53

MUNISI, D. Z.; BUZA, J.; MPOLYA, E. A.; KINUNG'HI, S. M. *Schistosoma mansoni* infections, undernutrition and anaemia among primary schoolchildren in two onshore villages in Rorya District, North-Western Tanzania. *PLoS ONE*, v. 11, n. 12, p. 1–15, 2016.

NAGAYAMA, Y.; WATANABE, K.; NIWA, M.; MCLACHLAN, S. M.; RAPOPORT, B. *Schistosoma mansoni* and α -Galactosylceramide: Prophylactic Effect of Th1 Immune Suppression in a Mouse Model of Graves' Hyperthyroidism. *The Journal of Immunology*, v. 173, n. 3, p. 2167–2173, 2004.

NÁJERA, O.; GONZÁLEZ, C.; CORTÉS, E.; TOLEDO, G.; ORTIZ, R. Effector T lymphocytes in well-nourished and malnourished infected children. 2007.

NÁJERA, O.; GONZÁLEZ, C.; TOLEDO, G.; LÓPEZ, L.; ORTIZ, R.; METROPOLITANA-XOCHIMILCO, A.; MATERNO-PEDIÁTRICO, H. Flow Cytometry Study of Lymphocyte Subsets in Malnourished and Well-Nourished Children with Bacterial Infections. v. 11, n. 3, p. 577–580, 2004.

NAKAJIMA, K.; CRISMA, A. R.; SILVA, G. B.; ROGERO, M. M.; FOCK, R. A.; BORELLI, P. Malnutrition suppresses cell cycle progression of hematopoietic progenitor cells in mice via cyclin D1 down-regulation. *Nutrition*, v. 30, n. 1, p. 82–89, 2014.

NASCIMENTO, G. L.; PEGADO, H. M.; DOMINGUES, A. L. C.; XIMENES, R. A. DE A.; ITRIA, A.; CRUZ, L. N.; OLIVEIRA, M. R. F. DE. The cost of a disease targeted for elimination in Brazil: the case of schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 114, n. 1, 2019.

NEVES, D.P.; MELO, A. L.; LENARDI, P. M.; VITOR, R. *Parasitologia Humana*. 13. ed. São Paulo: EDITORA ATHENEU, 2016.

NEVES, JAYME; RASO, P. Estudo anátomo-clínico de um caso da forma toxêmica da esquistossomose que evoluiu para a forma hépato-esplênica em 130 dias (fibrose de Symmers). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 7, p. 256–266, 1965.

NEVES, R. H.; ALENCAR, A. C. M. B.; ÁGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; MACHADO-SILVA, J. R.; GOMES, D. C. Light and confocal microscopic observations of adult *Schistosoma mansoni* from mice fed on a high-fat diet. *Journal of Helminthology*, v. 81, n. 4, p. 361–368, 2007a.

NEVES, R. H.; ALENCAR, A. C. M. D. B.; AGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; MACHADO-SILVA, J. R.; GOMES, D. C. Hepatic stereology of schistosomiasis mansoni infected-mice fed a high-fat diet. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 101, n. SUPPL. 1, p. 253–260, 2006.

NEVES, R. H.; DE OLIVEIRA, S. A.; MACHADO-SILVA, J. R.; COUTINHO, E.; GOMES, D. C. Phenotypic characterization of *Schistosoma mansoni* adult worms recovered from undernourished mice: A morphometric study focusing on the reproductive system. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 35, n. 4, p. 405–407, 2002.

NEVES, R. H.; DOS SANTOS PEREIRA, M. J.; DE OLIVEIRA, R. M. F.; GOMES, D. C.; MACHADO-SILVA, J. R. *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907: Morphometric Differences between Adult Worms from Sympatric Rodent and Human Isolates. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 93 SUPPL., p. 309–312, 1998.

NEVES, R. H.; MACHADO-SILVA, J. R.; PELAJO-MACHADO, M.; OLIVEIRA, S. A.; COUTINHO, E. M.; LENZI, H. L.; GOMES, D. C. Morphological Aspects of *Schistosoma mansoni* Adult Worms Isolated from Nourished and Undernourished Mice: A Comparative Analysis by Confocal Laser Scanning Microscopy. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 7, p. 1013–1016, 2001.

NEVES, R. H.; MIRANDA DE BARROS ALENCAR, A. C.; COSTA-SILVA, M.; ÁGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; MACHADO-SILVA, J. R.; GOMES, D. C. Long-term feeding a high-fat diet causes histological and parasitological effects on murine schistosomiasis mansoni outcome. *Experimental Parasitology*, v. 115, n. 4, p. 324–332, 2007b.

NISHIMURA, S.; NAGASAKI, M.; KUNISHIMA, S.; SAWAGUCHI, A.; SAKATA, A.; SAKAGUCHI, H.; OHMORI, T.; MANABE, I.; ITALIANO, J. E.; RYU, T.; TAKAYAMA, N.; KOMURO, I.; KADOWAKI, T.; ETO, K.; NAGAI, R. IL-1 α induces thrombopoiesis through megakaryocyte rupture in response to acute platelet needs. *Journal of Cell Biology*, v. 209, n. 3, p. 453–466, 11 May 2015.

NOETZLI, L. J.; FRENCH, S. L.; MACHLUS, K. R. New insights into the differentiation of megakaryocytes from hematopoietic progenitors. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 39, n. 7, p. 1288–1300, 2019.

OLIVEIRA-COSTA, J. *Entomologia Forense: Quando os insetos são vestígios*. 1. ed. Campinas: Millenium Editora, 2003.

OLIVEIRA, D. C.; HASTREITER, A. A.; BORELLI, O.; FOCK, R. A. A influência da desnutrição proteica sobre a produção de GM-CSF e M-CSF por macrófagos peritoneiais. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, v. 13, n. 1, p. 97–98, 2013.

OLIVEIRA, D. C. DE. *Associação Entre Esquistossomose Mansônica E Translocação Bacteriana: Estudo Dos Aspectos Imunológicos Em Camundongos Submetidos À Desnutrição Neonatal*. [s.l.: s.n.].

OLIVEIRA, S. A.; BARBOSA, A. A.; GOMES, D. C.; MACHADO-SILVA, J. R.; BARROS, A. F.; NEVES, R. H.; COUTINHO, E. M. Morphometric Study of *Schistosoma mansoni* Adult Worms Recovered from Undernourished Infected Mice. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 5, p. 623–627, 2003.

ONU, O. DAS N. U. Desafio Fome Zero. Disponível em: <<https://www.un.org/zero hunger/content/challenge-hunger-can-be-eliminated-our-lifetimes>>. Acesso em: 6 jun. 2021.

PENSSAN, R. VIGISAN Insegurança Alimentar e Covid-19 no Brasil. Inquérito Nacional sobre Insegurança Alimentar no Contexto da Pandemia da Covid-19 no Brasil Rede Brasileira de Pesquisa em Soberania e Segurança Alimentar e Nutricional. Rio de Janeiro: Rede Penssan. Disponível em: <http://olheparaafome.com.br/VIGISAN_Inseguranca_alimentar.pdf>. Acesso em: 5 jun. 2021.

POMARI, E.; PIUBELLI, C.; PERANDIN, F.; BISOFFI, Z. Digital PCR: a new technology for diagnosis of parasitic infections. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 25, n. 12, p. 1510–1516, 2019.

RAO, J. S.; RAO, V. H.; VENKAIAH, B. Influence of bleomycin on the metabolism of dermal collagen in albino rats. *Biochemical Medicine*, v. 29, n. 2, p. 176–181, Apr. 1983.

RASO, P.; PEDROSO, E. R.; NEVES, J. Patologia da forma aguda, toxêmica, da esquistossomose mansonii. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 19, n. 1, p. 45–55, 1986.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *The Journal of Nutrition*, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 1 Nov. 1993.

REY, L. Bases da Parasitologia Médica. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. v. 42

RIKIMARU, T.; TANIGUCHI, K.; YARTEY, J. E.; KENNEDY, D. O.; NKRUMAH, F. K. Humoral and cell-mediated immunity in malnourished children in Ghana. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 52, n. 5, p. 344–350, 5 May 1998.

RIVA, M. A.; FERRAINA, F.; PALEARI, A.; LENTI, M. V.; DI SABATINO, A. From sadness to stiffness: the spleen's progress. *Internal and Emergency Medicine*, v. 14, n. 5, p. 739–743, 31 Aug. 2019.

ROLLS, B. J.; HETHERINGTON, M.; BURLEY, V. J. The specificity of satiety: The influence of foods of different macronutrient content on the development of satiety. *Physiology & Behavior*, v. 43, n. 2, p. 145–153, Jan. 1988.

RYTTER, M. J. H.; KOLTE, L.; BRIEND, A.; FRIIS, H.; CHRISTENSEN, V. B. The immune system in children with malnutrition - A systematic review (T. Akiyama, Ed.) *PLoS ONE*, 25 Aug. 2014. Disponível em: <www.plosone.org>

SAITO, H.; YOKOI, Y.; WATANABE, S.; TAJIMA, J.; KURODA, H.; NAMIHISA, T. Reticular meshwork of the spleen in rats studied by electron microscopy. *American Journal of Anatomy*, v. 181, n. 3, p. 235–252, Mar. 1988.

SAKER, K. E. Nutrition and Immune Function. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, v. 36, n. 6, p. 1199–1224, 2006.

SANTOS, E. W.; DE OLIVEIRA, D. C.; HASTREITER, A.; DA SILVA, G. B.; BELTRAN, J. S. DE O.; TSUJITA, M.; CRISMA, A. R.; NEVES, S. M. P.; FOCK, R. A.; BORELLI, P. Valores de referência hematológicos e bioquímicos para camundongos das linhagens C57BL/6, Swiss Webster e BALB/c. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 53, n. 2, p. 138–145, 2016a.

SANTOS, E. W.; OLIVEIRA, D. C.; HASTREITER, A.; SILVA, G. B.; DE OLIVEIRA BELTRAN, J. S.; ROGERO, M. M.; FOCK, R. A.; BORELLI, P. Short-term high-fat diet affects macrophages inflammatory response, early signs of a long-term problem. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 55, p. 1–12, 2019.

SANTOS, E. W.; OLIVEIRA, D. C. DE; HASTREITER, A.; SILVA, G. B. DA; BELTRAN, J. S. DE O.; TSUJITA, M.; CRISMA, A. R.; NEVES, S. M. P.; FOCK, R. A.; BORELLI, P. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 53, n. 2, p. 138, 17 Jun. 2016b.

SAULE, P.; VICOONE, J.; DELACRE, M.; MACIA, L.; TAILLEUX, A.; DISSOUS, C.; AURIAULT, C.; WOLOWCZUK, I. Host glucose metabolism mediates T4 and IL-7 action on *Schistosoma mansoni* development. *Journal of Parasitology*, v. 91, n. 4, p. 737–744, 2005.

SAUNDERS, J.; SMITH, T. Malnutrition: Causes and consequences. *Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London*, v. 10, n. 6, p. 624–627, 2010.

SAVINO, W. The thymus gland is a target in malnutrition. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 56, n. 3, p. 46–49, 2002.

SAWAYA, A. L. Desnutrição: Consequências em longo prazo e efeitos da recuperação nutricional. *Estudos Avancados*, v. 20, n. 58, p. 147–158, Dec. 2006.

SCHWARTZ, C.; FALLON, P. G. *Schistosoma* “Eggs-iting” the host: Granuloma formation and egg excretion. *Frontiers in Immunology*, v. 9, n. October, p. 1–16, 2018.

SILVA-SOUZA, N.; D. VASCONCELOS, S. HISTOPATHOLOGY OF *Holochilus brasiliensis*(RODENTIA: CRICETIDAE)INFECTED WITH *Schistosoma mansoni*(SCHISTOSOMATIDA: SCHISTOSOMATIDAE). *Revista de Patologia Tropical*, v. 34, n. 2, p. 145–150, 19 Oct. 2007.

SIMÕES, C.; NEVES, R. H.; DE ANDRADE BARROS, L.; BRITO, P. D.; CRAVO, C. O.; DE MOURA, E. G.; MACHADO-SILVA, J. R. Parasitological characteristics of *Schistosoma mansoni* infection in Swiss mice with underlying malnutrition. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. SUPPL. 1, p. 143–147, 2002.

SIMPSON, S. J.; RAUBENHEIMER, D. Obesity: the protein leverage hypothesis. *Obesity Reviews*, v. 6, n. 2, p. 133–142, May 2005.

- SOARES, S.; RODRIGUES JÚNIOR, V.; SILVA, D. T. N.; MORAES-SOUZA, H. Participação das plaquetas no processo de fibrose dos pacientes com esquistossomose mansônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 3, p. 321–325, Jun. 2007.
- SONG, X.; SHEN, J.; WEN, H.; ZHONG, Z.; LUO, Q.; CHU, D.; QI, Y.; XU, Y.; WEI, W. Impact of *Schistosoma japonicum* infection on collagen-induced arthritis in DBA/1 mice: A murine model of human rheumatoid arthritis. *PLoS ONE*, v. 6, n. 8, 2011.
- SØRENSEN, A.; MAYNTZ, D.; RAUBENHEIMER, D.; SIMPSON, S. J. Protein-leverage in Mice: The Geometry of Macronutrient Balancing and Consequences for Fat Deposition. *Obesity*, v. 16, n. 3, p. 566–571, Mar. 2008.
- STEWART, I. B.; MCKENZIE, D. C. The human spleen during physiological stress. *Sports Medicine*, v. 32, n. 6, p. 361–369, 2002.
- STRAUSS, E. Hepatosplenic schistosomiasis: a model for the study of portal hypertension. *Annals of hepatology : official journal of the Mexican Association of Hepatology*, v. 1, n. 1, p. 6–11, 2002.
- SUGAWARA, E.; NIKAIDO, H. Properties of AdeABC and AdeIJK Efflux Systems of *Acinetobacter baumannii* Compared with Those of the AcrAB-TolC System of *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 58, n. 12, p. 7250–7257, Dec. 2014.
- SUTTIE, A. W. Histopathology of the Spleen. *Toxicologic Pathology*, v. 34, n. 5, p. 466–503, 25 Aug. 2006.
- TAKAKI, K. K.; RINALDI, G.; BERRIMAN, M.; PAGÁN, A. J.; RAMAKRISHNAN, L. *Schistosoma mansoni* Eggs Modulate the Timing of Granuloma Formation to Promote Transmission. *Cell Host and Microbe*, v. 29, n. 1, p. 58- 67.e5, 2021.
- TANG, C. LIAN; GAO, Y. RU; WANG, L. XIA; ZHU, Y. WEN; PAN, Q.; ZHANG, R. HUI; XIONG, Y. Role of regulatory T cells in *Schistosoma*-mediated protection against type 1 diabetes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 491, n. May 2018, p. 110434, 2019.
- TARANTINO, G.; SAVASTANO, S.; CAPONE, D.; COLAO, A. Spleen: A new role for an old player? *World Journal of Gastroenterology*, v. 17, n. 33, p. 3776–3784, 2011a.
- TARANTINO, G.; SPANÒ, A.; LOI, G.; PARISI, A.; TARANTINO, M.; BRANCACCIO, G.; BATTISTA GAETA, G.; RICCIO GIOVANNI TARANTINO, A.; RICCIO, A.; CARLOS MORAES SANTOS, D.; OSWALDO CRUZ, F. Is spleen circulation impaired in systemic sclerosis and what is the role of liver fibrosis? *World J Gastroenterol*, v. 17, n. 12, p. 1606–1613, 2011b.
- TEIXEIRA, C. F.; NEUHAUSS, E.; BEN, R.; ROMANZINI, J.; GRAEFF-TEIXEIRA, C. Detection of *Shistosoma mansoni* eggs in feces through their interaction with paramagnetic beads in a magnetic field. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 1, n. 2, 2007.

UBIRAJARA, T. DE M. Remodelamento do tecido hepático e do tecido adiposo em camundongos Swiss Webster na esquistossomose aguda e submetidos à dieta hiperlipídica. [s.l.] Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2020.

VAN DAM, G. J.; WICHES, J. H.; FERREIRA, T. M. F.; GHATI, D.; VAN AMERONGEN, A.; DEELDER, A. M. Diagnosis of Schistosomiasis by Reagent Strip Test for Detection of Circulating Cathodic Antigen. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 12, p. 5458–5461, Dec. 2004.

WEIBEL, E. R.; KISTLER, G. S.; SCHERLE, W. F. PRACTICAL STEREOLOGICAL METHODS FOR MORPHOMETRIC CYTOLOGY. *The Journal of Cell Biology*, v. 30, n. 1, p. 23–38, 1 Jul. 1966.

WFP. 2020 - Hunger Map | World Food Programme. Disponível em: <<https://www.wfp.org/publications/hunger-map-2020>>. Acesso em: 6 jun. 2021.

WFP. HungerMap LIVE : Global insights and key trends. [s.l.: s.n.].

WHO. Progress report 2001–2011 and strategic plan 2012–2020. 2013.

WHO. The double burden of malnutrition: policy brief. Geneva: [s.n.]. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-6584.1983.tb00740.x>>.

WHO. Malnutrición. Disponível em: <<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>>. Acesso em: 6 jun. 2021.

WHO. Esquistossomose. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>>. Acesso em: 26 may. 2021a.

WHO. Schistosomiasis. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>>. Acesso em: 26 may. 2021b.

WOJCIECH, P.; ROSS, M. H. Ross histologia texto e atlas: correlações com biologia molecular celular e molecular. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.

WU, J.; XU, W.; MING, Z.; DONG, H.; TANG, H.; WANG, Y. Metabolic Changes Reveal the Development of Schistosomiasis in Mice. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 4, n. 8, p. e807, 31 Aug. 2010.

YANG, Y. C.; CIARLETTA, A. B.; TEMPLE, P. A.; CHUNG, M. P.; KOVACIC, S.; WITEK-GIANNOTTI, J. A. S.; LEARY, A. C.; KRIZ, R.; DONAHUE, R. E.; WONG, G. G.; CLARK, S. C. Human IL-3 (multi-CSF): Identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3. *Cell*, v. 47, n. 1, p. 3–10, 1986.

ZUFFEREY, A.; SPECK, E. R.; MACHLUS, K. R.; ASLAM, R.; GUO, L.; MCVEY, M. J.; KIM, M.; KAPUR, R.; BOILARD, E.; ITALIANO, J. E.; SEMPLE, J. W. Mature murine megakaryocytes present antigen-MHC class I molecules to T cells and transfer them to platelets. *Blood Advances*, v. 1, n. 20, p. 1773–1785, 12 Sep. 2017.

ANEXO – Certificado de Aprovação do Conselho de Ética



COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO
DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA)



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **"Avaliação dos efeitos do praziquantel em camundongos esquistossomóticos e com desnutrição protéica"**, registrada com o nº 062/2018, sob a responsabilidade de **Renata Heisler Neves** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ, em reunião de 27/11/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	27/11/2022
Espécie/linhagem/raça	Camundongo Suíço
Nº de animais	48
Peso/idade	25 g / 21 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério setorial

Rio de Janeiro, 27 de Novembro de 2018.

Prof. Dr. Alex C. Manhães
Coordenador
CEUA/IBRAG/UERJ

Profa. Dra. Patrícia C. Lisboa
Vice-Coordenadora
CEUA/IBRAG/UERJ