

ANA MARIA APARECIDA GUARALDO

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE À INFECÇÃO POR SCHISTOSOMA MANSONI
EM CAMUNDONGOS C3H/HeJ SUBMETIDOS
A DIETAS HIPOPROTÉICA E NORMOPROTÉICA

*Este exemplar corresponde a redação final da Tese
defendida pela candidata Ana Maria Aparecida Guaraldo e
aprovada pela Comissão Examinadora*

*C. J. 30/11/87
L. H. L.*

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas
para obtenção do grau de Doutor em Ciências

Orientador : PROF.DR. LUIZ AUGUSTO MAGALHÃES

INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA
CAMPINAS - SÃO PAULO
BRASIL
1987

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL



UNICAMP

A DEUS , pela bênção de me proporcionar
desafios constantes que fortalecem o meu
espírito.

A G R A D E C I M E N T O S

A viabilização deste trabalho desenvolvido inteiramente no Departamento de Parasitologia da Unicamp foi possível mediante recursos fornecidos pela Coordenação do Curso de Pós-graduação em Imunologia da Unicamp, FINEP, CNPq e FAPESP.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães pela pronta colaboração e orientação aliadas a leal amizade, demonstradas desde o início de minha carreira.

Ao Prof. Dr. Humberto Araújo Rangel, exemplo de abnegação à conquista de melhoria da ciência, minha gratidão pela aprendizagem na prática científica e convivência universitária.

A todos vinculados ao Departamento de Parasitologia, pela estima e colaboração que me dedicam desde o ingresso no Departamento.

À Profa. Dra. Marlene T. Ueta, pelo inesgotável incentivo e amizade que me dedica há muitos anos.

Ao Prof. Dr. Luiz Cândido de Souza Dias, pelo apoio, esclarecimentos e críticas que contribuíram sobremaneira para valorizar a apresentação deste trabalho.

À Sra. Cleuza dos Santos, sempre prestativa para a elaboração do material histológico empregado neste estudo, minha gratidão pela dedicação e paciência.

À equipe do Laboratório de Estatística, principalmente ao Prof. Dr. José Ferreira de Carvalho e acadêmicos Joacir Araújo Júnior e Paulo Roberto C. Alcocer, que executaram cuidadosa análise estatística, enalteço a abnegação e disponibilidade de tempo para enriquecer este trabalho.

Aos colegas de pós-graduação em Imunologia, sempre prontos à colaboração, principalmente a José Valfrido de Santana, Elizabeth Malagueno de Santana, Maria Helena Soares de Britto, Irandaia Gouvêa, Doralice Balan, pelo incentivo e convivência.

À equipe do Biotério Central que permitiu a realização deste trabalho, principalmente José Augusto de Raffray Barbosa, Denise Vaz de Macedo, Luiz Augusto Corrêa Passos, Rosella de Oliveira e Rovilson Gilioli.

*Minha gratidão a meus pais, Aldo e Olívia
pelo amparo e exemplo de luta.*

*Meu reconhecimento aos seus incansáveis
esforços de suprirem minha ausência na
educação de meu filho, Lineu Gabriel.*

Às manas Lireny e Lenira, pelo amor e dedicação.

S U M Á R I O

	Página
1. INTRODUÇÃO	
1.1. Considerações gerais sobre nutrição, imunidade e infecção	1
1.2. Esquistossomose e desnutrição	9
2. MATERIAL E MÉTODOS	
2.1. Procedência dos animais utilizados	15
2.2. Preparo da dieta semi-sintética	16
2.3. Composição da dieta semi-sintética	18
2.4. Formação dos grupos experimentais	21
2.5. Infecção de camundongos por <u>Schistosoma mansoni</u>	22
2.6. Obtenção dos esquistossomos	22
2.7. Medida de vermes adultos	23
2.8. Determinação do número de granulomas hepáticos	23
2.9. Determinação histológica da medida e frequência de granulomas hepáticos	23
2.10. Imunização de camundongos com hemácias de carneiro	25
2.11. Preparo da suspensão de células esplênicas	25
2.12. Determinação do número de células formadoras de placas hemolíticas	26
2.13. Determinação das células formadoras de rosetas	27
2.14. Avaliação da hipersensibilidade retardada ao dinitroclorobenzeno	28
2.15. Análise estatística	29
3. RESULTADOS	
3.1. Penetração das cercárias	30
3.2. Mortalidade de camundongos	31
3.3. Vermes de <u>Schistosoma mansoni</u>	
3.3.1. Número de esquistossomos	31
3.3.2. Sobrevivência de vermes adultos	32
3.3.3. Comprimento de vermes adultos	32
3.4. Granulomas hepáticos (GH) de <u>Schistosoma mansoni</u>	
3.4.1. Determinação do tamanho de granulomas hepáticos	33
3.4.2. Distribuição de granulomas hepáticos	35
3.4.3. Número de granulomas hepáticos (GH)	36
3.5. Peso corporal (PC), do fígado (PF) e Baço (PB)	
3.5.1. Peso corporal	38
3.5.2. Peso do fígado	39
3.5.3. Peso do baço	39
3.6. Número de células do baço	40
3.7. População de células formadoras de rosetas	41



3.8. Síntese de anticorpos	43
3.9. Hipersensibilidade retardada	44
3.10 Histopatologia hepática	46
TABELAS	48 a 62
FIGURAS	63 a 70
4. DISCUSSÃO	
4.1. Penetração das cercárias	71
4.2. Número de vermes adultos de <u>Schistosoma mansoni</u>	71
4.3. Desenvolvimento e tamanho de vermes adultos de <u>Schistosoma mansoni</u>	72
4.4. Número de Granulomas hepáticos	73
4.5. Influência da desnutrição no tamanho de granulomas hepáticos	74
4.6. Mortalidade dos camundongos	76
4.7.0 fígado no animal subnutrido, esquistossomótico	77
4.8.0 baço no animal subnutrido, esquistossomótico	79
4.9. Desnutrição e seus efeitos no tecido linfóide	82
4.10. Avaliação da atividade de células esplênicas em camundongos subnutridos para produção de anticorpos	84
4.11. Efeito da subnutrição e da esquistossomose sobre a imunidade celular	87
4.12. Efeito isolado da subnutrição sobre a resposta imune	90
5. RESUMO E CONCLUSÕES	96
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

1. I N T R O D U Ç Ã O

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE NUTRIÇÃO , IMUNIDADE E INFECÇÃO

Logo após o término da primeira Guerra Mundial muitos pesquisadores procuraram esclarecer os efeitos da desnutrição humana nos processos infecciosos; concomitantemente iniciaram investigações para o reconhecimento de novos agentes patogênicos, assim como nutrientes específicos, a fim de estabelecer bases científicas da nutrição humana no campo bioquímico. Durante e após a segunda Guerra Mundial surgiram controvérsias sobre o valor profilático de vitaminas nas doenças infecciosas. O uso indiscriminado de vitaminas e a falha de resultados quando se fazia a adição destes elementos sobre uma dieta adequada, gerou resistência em aceitar a nutrição como fator importante na capacidade do indivíduo reagir a infecções. Em 1949 observou-se uniformidade entre os resultados de diferentes autores que associavam a frequência com que as deficiências nutricionais diminuíam a resistência às infecções bacterianas, em modelos experimentais. Desde 1907 já se conhecia a associação íntima entre inanição e tuberculose. CLAUSEN, em 1934, já havia sugerido que, embora a dieta não tivesse influência sobre a frequência das infecções, o agravamento poderia ser facilitado pela dieta inadequada. ROBERTSON & DOYLE , em 1936 assinalaram a frequência com que a deficiência protéica e das vitaminas A e C diminuía a resistência a infecções bacterianas. Apesar da opinião pública geral sobre o efeito anti-infeccioso atribuído à vitamina C, nesta época não apareceram evidências comprobatórias deste efeito. Até hoje pouco se conhece sobre o papel específico da vitamina C sobre a reatividade

imunológica, apesar dos mecanismos de defesa não imunes em que esta vitamina comprovadamente participa (CAMERON & PAULING, 1974).

Problemas de nutrição e infecção devem ser encarados como interdependentes em experimentos laboratoriais, na clínica e em programas de Saúde Pública.

A infecção por si só produz significantes alterações no estado nutricional e na função imune. A gravidade será determinada pela espécie e virulência da linhagem do parasita, exigência nutricional do parasita, duração da doença, duração e tipo de desnutrição do hospedeiro, estado de saúde antes do processo infeccioso ou parasitário, competência dos mecanismos imunológicos e outros fatores de resistência do hospedeiro. Em geral, doenças infecciosas geram estados febris que aumentam consideravelmente o metabolismo dos tecidos e as perdas urinárias, que associadas à anorexia resulta numa diminuição de absorção pelo intestino ou em gastroenteropatia por perda protéica. Estas interações induzem a deterioração do próprio estado nutricional (BEISEL-1975).

Vários fatores contribuem para absorção inadequada de gorduras e proteínas em crianças desnutridas. MEHTA *et al.* (1984) discutiram a fisiopatologia da má absorção em função da atrofia pancreática, aumento da microflora intestinal, alterações na mucosa gastrointestinal, diminuição na concentração de ácidos biliares conjugados e deficiência de dissacaridases no intestino.

É bastante complexa a análise de resultados obtidos em populações com deficiências nutricionais porque há grande possibilidade de combinações de carências em nutrientes, tais como proteínas, aminoácidos específicos, calorias, vitaminas, ácidos graxos essenciais,

micronutrientes como zinco, cobre e outros íons inorgânicos. Outro fator que dificulta a comparação direta de diversas populações desnutridas refere-se à forma de avaliar o estado nutricional segundo dados antropométricos.

Destacam-se classicamente três tipos de entidades clínicas distintas na desnutrição humana: "Kwashiorkor"- deficiência em proteínas com dieta em calorias adequada; "Marasmus" - deficiência em calorias totais com proporção adequada de proteínas; e "PCM" (protein-calorie malnutrition) desnutrição em deficiência proteico-calórica, uma forma mista onde a proporção de proteínas e calorias apresentam-se inadequadas na dieta. Uma proposta para classificação mais definitiva das três formas de desnutrição considerando dados antropométricos, parâmetros clínicos e laboratoriais foi apresentada por THANANGKUL *et al.* (1980) com a finalidade de possibilitar melhor interpretação dos resultados em várias partes do mundo. WATERLOW, em 1976, já havia estabelecido uma classificação antropométrica para reconhecer desnutrição leve e desnutrição moderada.

Outros fatores interferem na classificação correta da desnutrição, pois não se deve negligenciar que o tamanho do indivíduo é um reflexo da hereditariedade, assim como expressa o resultado integrado de experiências de vida que englobam exposição a agentes tóxicos, infecções e muitos outros agentes que modificam a exigência de nutrientes, tais como fatores climáticos, ocupacionais, ambientes, gravidez, deficiência genética, etc.

Há de se considerar ainda que pode existir uma desnutrição marginal, principalmente em vitaminas, em indivíduos aparentemente com estado nutricional íntegro, alterando o curso de uma infecção ou a

resposta terapêutica. De um grupo de 120 pacientes hospitalizados nos Estados Unidos, selecionados ao acaso, 88% revelaram deficiências em vitaminas entre 11 elementos testados; 61% dos pacientes apresentavam consumo de uma dieta padrão. Entretanto, apenas 38% dos pacientes com carência na dieta evidenciavam sinais clínicos da deficiência (LEEY *et al.*, 1965).

Ultimamente tem se dado atenção aos casos de desnutrição aguda de adultos, principalmente nos casos de desordens gastrointestinais, patologia oral, estados pós-operatórios, disfunções do sistema nervoso central, carcinomas e muitas outras doenças que obrigam hospitalização. Segundo BISTRAN *et al.* (1974), 50% dos pacientes operados em um Hospital da cidade de Boston desenvolvem desnutrição proteico-calórica durante o período de internação. Quando se propõe avaliar o estado nutricional destes pacientes deve-se ter a cautela de adotar um critério padrão para definir com a máxima exatidão os portadores de PCM segundo determinações antropométricas clássicas e não apenas pela baixa concentração de albumina sérica. Os resultados obtidos até o momento revelam que há comprometimento imunológico de ordem celular e humoral (LAW *et al.*, 1973; BISTRAN *et al.*, 1975; WATSON & McMURRAY, 1979; GROSS & NEWBERNE, 1980; BEISEL, 1982).

Estudos epidemiológicos documentam a interação entre desnutrição e infecção demonstrando a grande incidência de gastroenterite e doenças respiratórias em indivíduos subnutridos. Doenças infecciosas são a maior causa de morte em crianças com PCM (SCRIMSHAW, TAYLOR & GORDON, 1968). A Organização Panamericana de Saúde apresentou um estudo sobre os padrões de mortalidade infantil na América do Sul e

América Central em 1974, constatando desnutrição em 57% das crianças que morreram até 5 anos de idade, a maioria delas acometida por doenças infecciosas. RIVERÓN & GUTIERREZ (1982) analisando a mortalidade pré-escolar nas Américas, de 1970 a 1979, referiram que de 125 milhões de crianças nascidas no mundo em 1978, 12 milhões não alcançaram o primeiro ano de vida.

Kwashiorkor é o maior fator que contribui para alta mortalidade entre crianças na fase pré-escolar em pelo menos 50 países tecnologicamente subdesenvolvidos. O índice de mortalidade em crianças desnutridas com sarampo numa comunidade rural na Guatemala em 1959 foi 189 vezes maior do que o índice registrado em crianças americanas (GORDON *et al.*, 1965). O sarampo comumente produz pneumonia fatal em crianças africanas com Kwashiorkor. Entretanto, existe uma inexplicável diferença do sarampo que acomete crianças asiáticas também desnutridas pois o quadro clínico neste caso não chega a tal gravidade. Também as infecções por herpes são generalizadas e fatais em Kwashiorkor. Nos casos de PCM grave e moderada, frequentemente as infecções por *Pneumocystis carinii* levam a septicemia e infecções respiratórias (SCRIMSHAW *et al.*, 1968; CHANDRA & NEWBERNE, 1977).

CHANDRA (1979) relata a associação entre carência nutricional e sensibilidade à infecção. Nesta revisão foram analisadas observações clínicas e epidemiológicas que demonstraram aumento da suscetibilidade à infecção em indivíduos subnutridos, como também os efeitos das deficiências nutricionais, tanto isoladamente como associadas a resposta imune. O significado destes achados para a saúde pública foram discutidos principalmente no que se refere aos esquemas de imunização, assim como as estratégias para enfrentar o complexo desnutrição-infecção.

É escasso o conhecimento da influência da desnutrição sobre a resposta imunológica frente a doenças parasitárias. A este fato adiciona-se que o efeito dos diferentes nutrientes sobre a resposta imune ainda não recebeu a devida atenção por parte dos pesquisadores. Tanto o estado nutricional como a resposta imunológica do hospedeiro podem agir por mecanismos ainda não elucidados, induzindo uma facilitação ou um efeito supressor na evolução da patogenicidade da doença parasitária. A subnutrição grave leva a atrofia do tecido linfóide e conseqüentemente afeta a competência imunológica (SUSKIND, 1977).

A interação entre nutrição e infecção é dinâmica ; frequentemente caracterizada pelo sinergismo e menos comumente pelo antagonismo. A interação sinérgica se estabelece quando na vigência de desnutrição pré-existente, o hospedeiro apresenta-se menos resistente e o processo infeccioso induz gravidade maior do que a esperada. O efeito antagônico resulta de um processo infeccioso que é menos grave que a observada no hospedeiro tratado com dieta normal. Numa ampla revisão descrita em 325 estudos clínicos e experimentais ,apresentada por SCRIMSHAW, TAYLOR & GORDON (1968) sobre interação de nutrição e infecção, ficou evidenciada que a deficiência nutricional é sinérgica para 83% das infecções bacterianas, com grande uniformidade nos diferentes hospedeiros testados, para diversos nutrientes. O sinergismo também foi predominante em infecções por *richettsias* e helmintos. As doenças parasitárias contribuíram com 63% de interações sinérgicas. No caso de infecções virais a reação mais expressiva foi o antagonismo, principalmente nas deficiências de vitaminas do complexo B. Devemos considerar que à luz do conhecimento atual da imunologia e da biologia molecular, estas interações devem ser revistas para elucidar os mecanismos envolvidos.(BEISEL, 1982).

A dificuldade de análise no campo nutricional humano advém do fato de que as deficiências nutricionais são complexas quanto a gravidade, duração, natureza e raramente ocorrem isoladas. Poliparasitismo é a regra e pode estar associado com agentes bacterianos e virais. MURRAY *et al* (1978) verificaram uma interessante associação entre ascariose e malária em duas populações de crianças desnutridas, habitantes de 2 ilhas num arquipélago no Oceano Índico. 93% de 632 crianças examinadas apresentaram parasitismo por *Ascaris lumbricoides* e nesta comunidade a malária estava presente em 1,7% das crianças. Na segunda população testada o quadro era o inverso, pois em 237 crianças, a incidência de *Ascaris lumbricoides* foi de 24% associada com 27% de malária. O tratamento com piperazina nas duas populações resultou que, naquelas portadoras de infecção maciça por *Ascaris lumbricoides* e negativas para malária, ocorreu manifestação da infecção tanto por *Plasmodium vivax* como *Plasmodium falciparum*, num prazo de 6 a 14 dias. Nas 23 crianças portadoras de infecção leve pelo *Ascaris lumbricoides*, a infecção por malária, após o tratamento, foi observada numa única criança, enquanto apenas duas das que receberam placebo, a infecção por malária evoluiu. Os autores interpretaram estes resultados considerando a supressão da malária como consequência da ascariose grave no hospedeiro subnutrido, o que representa a consequência de um balanço ecológico que regula a coexistência do hospedeiro com os dois parasitas. Entretanto este estudo recebeu críticas severas sobretudo na forma de avaliação exata da natureza e grau de desnutrição infantil, assim como a comprovação de que a terapia erradicou a verminose (STEPHENSON & LATHAM, 1979).

A análise da resposta imunológica envolve o estudo de alguns tipos de parâmetros amplamente adotadas pelos pesquisadores. Estes parâmetros podem ser qualitativos ou quantitativos. Destacam-se a influência da desnutrição sobre a resposta imune mediada por células, alterações nos tecidos linfóides, efeito sobre a resposta imune humoral, imunidade secretora, sistema complemento, fagocitose e interação da desnutrição com vários agentes patogênicos. O papel das deficiências em proteínas e calorias sobre a resposta imune tem sido amplamente documentado em revisões recentes. (WATSON & MC MURRAY , 1979; GROSS & NEWBERNE , 1980 ; BEISEL , 1982 ; WATSON & PETRO , 1984)

O campo de pesquisas na desnutrição humana encontra-se em franco progresso. Os parâmetros de alteração da resistência provocada pela PCM, quando devidamente avaliados, poderão minimizar os problemas de infecções por microorganismos oportunistas e sem dúvida a resposta terapêutica poderá ser mais eficaz, uma vez que a terapia nutricional recupera rapidamente as funções imunes.

Em 1980, houve um simpósio internacional na Itália, patrocinado pela Fundação Rockefeller e outras Instituições com a finalidade de avaliar os avanços no conhecimento da interação de Nutrição e doenças parasitárias. Este grupo recomendou, por unanimidade, que a prioridade fosse dada a pesquisas com ancilostomose, ascariose e esquistossomose. A preferência da inclusão destas parasitoses em programas de saúde Pública reside no fato de que todas tem alta prevalência e podem ser facilmente diagnosticadas além de que a terapêutica é eficiente não provocando complicações .Aceita-se que o parasitismo por *Ascaris lumbricoides* atinja cerca de 1,2 bilhões de pessoas, acompanhadas de 700 milhões com ancilostomose e 200 milhões com esquistossomose. (LATHAM , 1982).

1.2. ESQUISTOSSOMOSE E DESNUTRIÇÃO

A maior prevalência da esquistossomose ocorre em áreas onde predomina a deficiência alimentar. A interação desnutrição - infecção pode levar ao antagonismo ou sinergismo, conforme a proposição de SCRIMSHAW *et al* (1959), onde destacaram a ação sinérgica da esquistossomose em ratos deficientes de Vitamina A (KRAKOWER, HOFFMAN & AXTMAYER, 1940) e camundongos deficientes de Vitamina E, selênio e cistina (DE WITT, 1957).

O trabalho pioneiro de KRAKOWER *et al*, (1940) testou a deficiência de nutrientes na dieta, sobre a esquistossomose. Os resultados da infecção de ratos mantidos com rações sem Vitamina A indicaram maior número de vermes de *Schistosoma mansoni* recuperados, em comparação com ratos alimentados com a dieta completa. Na população humana este dado é de grande repercussão, pois 60.000 a 100.000 crianças, provavelmente, tornam-se cegas a cada ano como resultado da deficiência de Vitamina A e milhões de pessoas apresentam baixa concentração sérica deste nutriente.

Os mesmos autores, em 1944, observaram que cobaias infectadas com *Schistosoma mansoni* mostraram desenvolvimento normal do verme quando a dieta do hospedeiro era deficiente em Vitamina C; entretanto, a casca do ovo produzida mostrava-se anormal e a viabilidade do ovo questionável.

O comportamento entre ratos e camundongos expostos a dieta hipoprotéica (4%) parece diferir quanto ao desenvolvimento da cirrose portal perilobular. A indução desta patologia só ocorreu em ratos (BHATTACHARYYA, 1965).

A contribuição destes estudos em ratos e cobaias é muito limitada, considerando que não representam hospedeiros naturais, além da infecção de ratos por *Schistosoma mansoni* resultar em cura espontânea (PHILLIPS *et al.*, 1975; KNOFF *et al.*, 1977).

De WITT, em 1957 avaliou o efeito da dieta baseada no levedo de *Torula* (deficiente em Fator 3, Vitamina E e cistina), na evolução da infecção em camundongos esquistossomóticos. Esta ração de *Torula* produziu degenerações necróticas em vários órgãos dos camundongos: coração, fígado, músculos, rins e uma profunda influência no desenvolvimento dos vermes. Estes não atingiram o tamanho previsto do verme adulto e, com exceção de poucos, não alcançaram maturidade sexual. Sob estas condições, o trematódeo não produziu ovos durante 51 dias que durou o experimento. A histopatologia hepática e intestinal nos camundongos infectados mostrou ligeiras alterações devido a presença de pequeno número de ovos no fígado e na parede intestinal.

Em outra abordagem feita por De WITT (1957), adotando a mesma dieta, ficou demonstrado que o desenvolvimento do esquistossomo na oitava semana de infecção tinha as seguintes alterações: o desenvolvimento somático estava marcadamente diminuído e poucos vermes atingiram a maturidade sexual. A dieta utilizada neste estudo diminuiu a resistência natural do hospedeiro.

Estudo similar foi realizado por DeMEILLON & PATERSON (1958) na África do Sul, evidenciando que a dieta carente em proteínas (12,8%) atuou sobre uma linhagem egípcia de *Schistosoma mansoni*, prejudicando o desenvolvimento somático dos vermes. Os raros ovos produzidos em camundongos também apresentaram-se anormais e associados a baixa eliminação dos ovos nas fezes.

MALDONADO (1958) ressaltou a importância da qualidade protéica na dieta de camundongos infectados pelo *Schistosoma mansoni* destacando-se o conteúdo de metionina e triptofano que atuam aumentando a sobrevivência do hospedeiro infectado.

COUTINHO-ABATH (1962) avaliou o efeito de diferentes níveis de proteína (8%, 25% e 60%) na dieta de camundongos, sobre a penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni* na pele de animais primoinfectados e reinfectados. Os animais reinfectados apresentaram reação inflamatória exacerbada na vigência da dieta hiperprotéica; esta reação foi transitória e de pouca intensidade nos animais primoinfectados. No mesmo ano, COUTINHO *et al.*, estudaram a histopatologia hepática demonstrando que o grau de proteína na dieta dos camundongos influi na resposta inflamatória provocada pelos ovos do trematódeo. Os fenômenos exsudativos tornaram-se mais evidentes nos animais tratados com dieta hiperprotéica. Um levantamento sobre os conhecimentos disponíveis na literatura mundial a respeito da interação da nutrição com a esquistossomose foi apresentado pelo mesmo autor, em 1964, destacando que já havia um consenso geral de que a desnutrição é responsável pela redução na capacidade de desenvolvimento dos vermes.

A resposta granulomatosa aos ovos em animais subnutridos encontra-se diminuída (KNAUFT & WARREN 1969 ; AKPOM & WARREN , 1975; MAGALHÃES *et al.*, 1986). Este efeito supressor parece atuar sobre os mecanismos responsáveis pela expressão da resposta imune. Por outro lado, a deficiência nutricional do hospedeiro pode afetar o parasita, de modo a diminuir a oviposição e alterar a capacidade dos ovos na indução da reação granulomatosa (AKPOM ,1981).

A deficiência nutricional pode ocorrer na fase aguda ou crônica da esquistossomose, assumindo características diferentes. A desnutrição na fase crônica, apesar de não alterar o desenvolvimento somático do *Schistosoma mansoni*, acarreta diminuição da oviposição à medida que se agrava a desnutrição (KNAUFT & WARREN , 1969 ; AKPOM & WARREN , 1975).

Quando se induz a deficiência proteica-calórica (4% proteína e 50% caloria) o parasita elimina ovos defeituosos ou anormais, sem viabilidade (AKPOM & WARREN , 1969). Este fenômeno tem importante implicação epidemiológica. A dieta rica em carboidratos e pobre em proteínas induz maior fibrose hepática em camundongos esquistossomóticos (ZUCKERMAN & MAC DONALD , 1964).

A associação da desnutrição calórica experimental em camundongos favoreceu a sobrevivência do hospedeiro (91%); quando comparada ao grupo controle e aqueles submetidos a dieta 4% em proteína, a sobrevivência do hospedeiro foi respectivamente de 71% e 69%. (AKPOM & WARREN , 1975).

Com relação à desnutrição proteica , MAGALHÃES *et al.* (1986) constataram que a interação com esquistossomose assume efeito sinérgico , induzindo maior mortalidade em camundongos infectados tratados com dieta hipoprotéica 4% em caseína.

AKPOM (1982) abordou os parâmetros que atuam de maneira sinérgica e antagônica na esquistossomose experimental, considerando a intensidade e estágio da infecção com o tipo de deficiência nutricional. Na desnutrição moderada, o principal resultado é a inibição da produção dos ovos, favorecendo uma evolução benigna da doença.

Existem poucos estudos clínicos sobre as implicações nutricionais na esquistossomose para recomendar qualquer programa nas áreas endêmicas. No entanto, qualquer que seja a reabilitação nutricional sobre crianças com desnutrição grave, há melhoria da resposta imunológica; os efeitos adversos do parasita devem ser imediatamente neutralizados com a quimioterapia. (De WITT et al., 1964).

Procurando pesquisar alguns fatores que interferem na resposta do hospedeiro subnutrido frente a esquistossomose na fase aguda e crônica, elaboramos este trabalho experimental submetendo-se camundongos a uma dieta contendo 4% em proteína. A intensidade da infecção foi mantida constante. Os parâmetros que selecionamos para estudo foram:

Penetração das cercárias;

Comprimento dos esquistossomos na oitava semana de infecção;

Número de vermes machos, fêmeos e esquistossômulos recuperados do plexo porta-hepático;

Sobrevivência dos vermes em função do tempo de infecção;

Número e tamanho de granulomas hepáticos;

Distribuição de granulomas por área de corte histológico do fígado;

Hepato-esplenomegalia;

Mortalidade do hospedeiro no decorrer da infecção;

Quantificação de células do baço;

Capacidade funcional de células esplênicas formarem placas hemolíticas (IgM) e rosetas frente a eritrócitos de carneiro;

Resposta de Hipersensibilidade retardada frente a dinitroclorobenzeno (DNCB);

Acreditamos que os resultados aqui encontrados possam contribuir, de alguma forma, para melhor esclarecimento do que se passa na evolução da esquistossomose experimental em hospedeiros submetidos a dieta hipoprotéica, que é a regra da população brasileira carente habitante em zona endêmica de esquistossomose.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. PROCEDÊNCIA DOS ANIMAIS UTILIZADOS.

CAMUNDONGOS (*Mus musculus*): camundongos convencionais utilizados nos experimentos, foram selecionados de três raças isogênicas disponíveis na época, no Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas: B10A/J, C57BL/10 e C3H/HeJ. O critério de escolha da estirpe obedeceu uma seleção rigorosa, frente à infecção pelo *Schistosoma mansoni*. Outro fator importante na escolha da raça mais adequada referiu-se à integridade tecidual do baço, pois, apesar das raças C57BL/10 e B10A/J apresentarem níveis de infecção satisfatórios pelo trematódeo, foram descartadas pela ocorrência de patologia não explicada, caracterizada por congestão esplênica com áreas hemorrágicas em 17% de 157 animais sadios da raça B10A/J necropsiados. A raça C3H/HeJ em momento algum apresentou este problema, o que permitiu sua utilização. O comportamento desta linhagem quanto à recuperação de vermes é muito semelhante ao de camundongos Swiss heterogênicos, roedores onde comumente são mantidas as linhagens deste verme.

MOLUSCOS: Há pelo menos 20 anos, o Departamento de Parasitologia da Unicamp mantém moluscos albinos *Biomphalaria glabrata* nascidos no laboratório, para fins de manutenção da linhagem mineira (BH) de *Schistosoma mansoni*. Exemplares desta espécie foram adotados para obtenção das cercárias.

Schistosoma mansoni : pela facilidade de manutenção em laboratório e grande disponibilidade de cercárias, utilizou-se apenas a linhagem BH de *Schistosoma mansoni*. A obtenção de cercárias seguiu a técnica recomendada por PELLEGRINO & MACEDO (1955).

2.2. PREPARO DA DIETA SEMI-SINTÉTICA

O preparo das dietas normoprotéica (20% de proteína) e hipoprotéica (4% de proteína) obedeceu a fórmula proposta pelo grupo de estudos em Nutrição (DEPAN-Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP). Nesta fórmula os ingredientes que entram na composição da dieta constam de caseína, amido de milho, sais minerais, óleo vegetal, vitaminas e açúcar. Entretanto, como os experimentos tiveram longa duração, fomos obrigados a substituir a caseína devido a sua inexistência no comércio. De início adotamos o leite de soja (Novomilk) como fonte protéica, que depois foi substituído pelo farelo de soja torrado. Apesar da diversidade da fonte protéica nos diferentes lotes dos animais, ajustou-se o teor protéico de cada partida da dieta pelo método de Kjeldahl para dosagem do nitrogênio protéico em duplicatas das amostras.

No início do experimento, alguns animais recebiam as dietas protéicas semi-sintéticas, mas o crescimento ponderal destes animais foi abaixo do obtido com a ração comercial. Em função deste fato, o grupo de animais tratados com a dieta normoprotéica passou a receber a ração na forma comercial peletizada. Quanto aos camundongos tratados com a dieta hipoprotéica, todos os grupos receberam exclusivamente a dieta semi-sintética. A composição da dieta normoprotéica ficou então

assim constituída na maioria dos grupos experimentais , de acordo com a composição dada pelo fabricante:(Purina Alimentos Ltda.)

composição básica: milho, Farelo de soja, Farelo de arroz cru, Carbonato de cálcio, fosfato de cálcio, sal, pré-mix.

Enriquecimento por quilograma do produto : (mg/Kg ração): Vitamina A- 20.000 UI; Vitamina D3- 6.600 UI; Vitamina E- 80 UI; Vitamina K - 6,0; Vitamina B12 -10,0, Vitamina B2-8,0; Pantotenato de Cálcio - 24,0; Niacina - 95,0 ; Tiamina - 4,0 ; Colina - 2.000 ; Piridoxina - 6,0 ; Biotina - 0,1 ; Ácido fólico - 0,5 ; Manganês - 50,0 ; Iodo - 2,0; Ferro - 65,0 ; Zinco - 35,0 ; Cobre - 26,0 ; Antioxidante (Etoxiqum) 100,0.

2.3 . COMPOSIÇÃO DA DIETA SEMI-SINTÉTICA

TABELA I

=====

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA MISTURA SALINA ADOTADA NA DIETA HIPOPROTÉICA

=====

COMPONENTES

molibdato de amônio	0,003
carbonato de cálcio	29,290
fosfato dibásico de cálcio	0,430
sulfato cúprico	0,156
cittrato férrico	0,620
sulfato de magnésio heptahidratado	9,98
sulfato de manganês monohidratado	0,121
iodeto de potássio	0,0005
fosfato dibásico de potássio	34,31
cloreto de sódio	25,060
selenito de sódio	0,002
cloreto de zinco	0,020
cloreto de cobalto hexahidratado	0,023

A fórmula das dietas normoprotéica (20%) e hipoprotéica (4%), foi mantida nas seguintes proporções (percentagem) dos seguintes produtos :

INGREDIENTES	DIETA NORMOPROTÉICA	DIETA HIPOPROTÉICA
proteína	20,0	4,0
óleo de soja	8,0	8,0
mistura salina (TABELA 1)	5,0	5,0
mistura de vitaminas (TABELA 2)	2,0	2,0
sacarose	15,0	15,0
biscomil (amido de milho)	50,0	66,0

A dieta foi preparada na forma seca e administrada em placas de petri, diariamente aos camundongos.

TABELA II

COMPOSIÇÃO DA MISTURA VITAMÍNICA EM mg/Kg DE DIETA

COMPONENTES	QUANTIDADE (mg/Kg) (*)
Vitamina A	90.000 UI
Vitamina D	10.000
Vitamina E	500
Biotina	0,2
Vitamina K	15,0
Vitamina B12	0,01
Inositol	20,0
Niacina	20,0
Riboflavina	5,0
Cloridrato de Tiamina	5,0
Ácido fólico	0,7
Pantotenato de cálcio	20,0
Ácido p-aminobenzóico	20,0
Cloridrato de colina	750,0
Ácido ascórbico	450,0
Sacarose e farinha de mandioca torrada (50% + 50%), veiculada para 1 Kg	843.390,0

(*) exceto para as vitaminas A, E e D que estão em Unidades Internacionais (UI).

O início da administração das dietas ocorreu ao redor da época do desmame, fixada em 20 dias. Os camundongos recém desmamados eram trazidos ao laboratório para adaptação à nova dieta durante pelo menos 10 dias, antes de se proceder a infecção.

2.4. FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Conforme a disponibilidade dos animais da raça C3H/HeJ, do Biotério Central, os grupos de experimentos foram constituídos atendendo aos seguintes parâmetros :

animais tratados com dieta normoprotéica (20%) *ad libitum*, sem infecção.

animais tratados com dieta hipoprotéica (4%) *ad libitum* sem infecção.

animais tratados com dieta normoprotéica (20%) *ad libitum* e infectados com 100 cercárias de *Schistosoma mansoni*

animais tratados com dieta hipoprotéica (4%) *ad libitum* e infectados com 100 cercárias de *Schistosoma mansoni*.

Não foi possível constituir grupos com proporções iguais de camundongos machos e fêmeas porque a maior parte das fêmeas da colônia de C3H/HeJ do Biotério Central era destinada à obtenção de matrizes.

Após a formação destes grupos básicos, e com os animais devidamente agrupados por sexo, outros critérios foram adotados para constituição dos grupos experimentais:

tempos diferentes de infecção (semanas) e respectivos grupos de animais controle.

sensibilização com hemácias de carneiro e grupos controle.

sensibilização com dinitroclorobenzeno (DNCB) e grupos controle.

2.5. INFECÇÃO DE CAMUNDONGOS POR *Schistosoma mansoni*

Para infecção de camundongos utilizou-se a imersão da cauda do animal numa suspensão cercariana contendo 100 larvas de *Schistosoma mansoni* pertencentes à linhagem BH do trematódeo, mantida em *Biomphalaria glabrata* de Belo Horizonte, nascida e mantida no laboratório. Verificou-se a capacidade de penetração das cercárias mediante contagem das porções cefálicas presentes na suspensão após duas horas de exposição dos camundongos à luz e calor, segundo a técnica preconizada por MAGALHAKES (1969).

2.6. OBTENÇÃO DOS ESQUISTOSSOMOS

Os animais infectados tratados com as respectivas dietas foram sacrificados nos tempos de infecção previamente determinados e submetidos à perfusão do sistema porta-mesentérico para obtenção de esquistossômulos e esquistossomos mediante a técnica de YOLLES *et al.* (1947).

Os vermes recolhidos de cada animal foram depositados em solução salina fisiológica 0,15 M, onde foram lavados, contados e posteriormente fixados em Railliet-Henry. Os vermes que se desenvolveram em camundongos submetidos a cada dieta, nos respectivos tempos de infecção, foram agrupados para determinação do comprimento.

2.7. MEDIDA DE VERMES ADULTOS

Para a determinação do comprimento dos vermes que se desenvolveram em camundongos submetidos a cada dieta, foram agrupados todos os esquistossomos adultos machos e fêmeos da oitava semana de infecção. Estes helmintos, devidamente fixados, foram montados em lâminas contendo gelatina formolizada. Com exemplares de cada sexo e de cada dieta foram observados em visopan da Reichert para determinação do comprimento com curvímetro.

2.8. DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE GRANULOMAS HEPÁTICOS.

Após perfusão do sistema porta hepático dos camundongos, os fígados foram isolados mediante seccionamento das veias porta e supra-hepática. Antes da extração dos granulomas, os fígados foram pesados em balança analítica. Cada fígado foi submetido à homogeneização em liquidificador e os granulomas resultantes da lavagem e sedimentação, foram contados em microscópio estereoscópico, segundo técnica de BRENER *et al.* (1956).

2.9. DETERMINAÇÃO HISTOLÓGICA DA MEDIDA E FREQUÊNCIA DE GRANULOMAS HEPÁTICOS

O órgão escolhido para estudo histológico foi o fígado de camundongos controles e infectados. Perfundiu-se o sistema porta também nos animais sem infecção pelo *Schistosoma mansoni*. Uma pequena

porção do maior lobo hepático foi destinada à fixação em Bouin aquoso para preparo de cortes histológicos com 7 μ m de espessura. Estas preparações foram coradas com Hematoxilina eosina ou Tricrômico de Gomori. Os grupos de animais selecionados para o estudo histológico foram aqueles referentes a cada dieta no período compreendido entre a 5ª e 11ª semana de infecção e respectivos controles.

Das preparações histológicas do fígado dos animais submetidos às dietas normoprotéica ou hipoprotéica, procedeu-se a montagem da sequência de cortes histológicos em séries alternadas, de aproximadamente 400 μ m, com a finalidade de não se repetir a medida do mesmo granuloma em lâminas subsequentes.

Para medir os granulomas utilizou-se uma ocular graduada previamente calibrada. O parâmetro adotado para esta variável foi o diâmetro médio da reação granulomatosa contendo um único ovo. Este cálculo considerou a intersecção dos dois diâmetros exatamente no nível em que se visualizava 1 ovo no centro da reação.

Determinou-se o tamanho dos granulomas hepáticos da 6ª até a 11ª semana para animais normoprotéicos e da 7ª até 11ª semana para os animais hipoprotéicos.

Todas preparações histológicas tiveram seu contorno devidamente mapeado com auxílio do visopan da Reichert. Mapas traçados em papel celofane foram utilizados para determinação da área do corte com emprego de planímetro. Obtendo-se o número de granulomas por corte e a respectiva área, calculou-se o número de granulomas por área hepática (cm^2).

2.10. INUNIZAÇÃO DE CAMUNDONGOS COM HEMÁCIAS DE CARNEIRO.

Hemácias de carneiro (HC) foram obtidas por sangria da veia jugular de carneiros adultos saudáveis, mantidos pelo Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biologia da Unicamp. Ao sangue coletado em condições estéreis, adicionou-se igual volume de solução de Alsever. As hemácias distribuídas em alíquotas foram armazenadas em tubos de ensaio a 4 C e utilizadas no período compreendido entre 3 a 15 dias após a data da coleta.

No dia da sensibilização dos camundongos, as hemácias foram lavadas 3 vezes com centrifugações sucessivas em tampão fosfato 0,15M pH 7,2, a 1200 rpm, durante 8 minutos em banho de gelo. Os animais receberam injeção intraperitoneal de 0,2 ml da hemácia diluída a 1,0%. Estes camundongos assim sensibilizados foram destinados às técnicas de determinação de células formadoras de rosetas ou células formadoras de placas hemolíticas. Em ambos os casos a resposta foi avaliada no 4º dia após imunização primária.

2.11. PREPARO DA SUSPENSÃO DE CÉLULAS ESPLÊNICAS

Todos os camundongos foram sacrificados com éter e após perfusão do fígado com solução de NaCl 0,15M, o baço foi extraído e imediatamente depositado em Meio Mínimo Essencial de Eagle (MME) em banho de gelo. Antes do processamento das células, cada baço foi pesado em balança analítica, tomando-se o cuidado de retirar o excesso de líquido com papel filtro. A suspensão celular foi preparada individualmente mediante maceração com homogeneizador Biozzi sendo as células

lavadas em MME 2 vezes para serem ressuspensas logo após em 1 ou 2 ml do mesmo meio, conforme o grau de esplenomegalia provocada pela infecção com *Schistosoma mansoni*

De cada lote de células destinados às técnicas de determinação de células formadoras de placas hemolíticas e de células formadoras de rosetas verificou-se, por amostragem, a viabilidade celular. Adotou-se o azul de trypan em diluições apropriadas das suspensões esplênicas para contagem das células mortas (que se coram em azul) e sua determinação em câmara de Neubauer. A solução de azul de Trypan utilizada neste teste foi a seguinte: 1 mL de azul de Trypan da solução estoque (2mg/mL) + 0,25 mL de NaCl 4,25% + 1 mL tampão fosfato pH 7,2.

2.12. DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS FORMADORAS DE PLACAS HEMOLÍTICAS.

Adotou-se a técnica descrita por JERNE *et al.* (1974), modificada por DRESSER (1978) para determinação da população de células esplênicas formadoras de anticorpos.

Das suspensões esplênicas obtidas conforme o item 12, preparou-se a seguinte mistura em duplicata, fora do banho-maria:

50 µL da suspensão de células esplênicas

50 µL da suspensão de hemácias de carneiro a 5%.

Foram levados 2 tubos por vez para o banho-maria a 42 C, onde era adicionado 100 µL de agarose preparada a 0,8% em MME. Após devida homogeneização sem formação de bolhas, esta mistura foi transferida com auxílio da própria micropipeta em uso, para lâminas de microscopia aquecidas em chapa termo-estável a 37 C. Evitou-se a forma-

ção de qualquer bolha de ar na preparação e as que porventura formavam eram devidamente retiradas com a ponteira da própria micropipeta.

Deixou-se solidificar a preparação para colocá-la invertida em placa de acrílico apropriada para incubação das lâminas em estufa úmida a 37 C durante 2 horas.

Decorrido este período, adicionou-se ao conjunto das lâminas da placa acrílica, volume suficiente de complemento de cobalto (*Cavia porcellus*) na diluição 1:10 em MME, absorvido previamente com hemácias de carneiro.

Estas placas retornaram à estufa por mais uma hora a 37 C. Findo este prazo, as lâminas foram imediatamente lavadas em solução de NaCl 0,15M e fixadas durante 2 minutos em solução de glutaraldeído 0,2% preparado em solução fisiológica 0,15M. Estas lâminas foram deixadas em câmara úmida para contagem das placas com auxílio do microscópio estereoscópico. Os resultados foram expressos considerando as devidas diluições sofridas pelas células indicando o número de células formadoras de placas hemolíticas por peso de baço (pfc/mg baço).

2.15. DETERMINAÇÃO DAS CÉLULAS FORMADORAS DE ROSETAS

Em alguns lotes previamente determinados para esta finalidade, sensibilizados ou não com hemácias de carneiro, processou-se a técnica de determinação da população esplênica capaz de formar rosetas. Para tanto, procedeu-se à mistura das células esplênicas obtidas conforme descrição no ítem 2.11, com hemácias de carneiro obedecendo o seguinte protocolo, conforme metodologia proposta por BIOZZI *et al* (1966), feitos em duplicatas:

0,25 mL de hemácias de carneiro a 5%.

0,20 mL de células linfóides do baço de cada animal.

0,05 mL de soro descomplementado de camundongo absorvido com hemácias de carneiro

0,5 mL de MEM contendo 1% do soro descomplementado absorvido com HC.

Os tubos contendo a mistura acima foram deixados por uma noite em geladeira, após homogeneização durante 30 minutos a 16 rpm , a 37 C , em homogeneizador especialmente construído para esta técnica. Procedeu-se então à contagem das rosetas examinando-se diluições apropriadas em hemocitômetro de Neubauer. A aglutinação de pelo menos quatro eritrócitos sobre uma célula nucleada foi definida como roseta. Expressou-se o resultado considerando a diluição da amostra em número de células formadoras de rosetas por peso do baço (rfc/ mg baço).

2.14. AVALIAÇÃO DA HIPERSENSIBILIDADE RETARDADA AO DINITRO CLOROBENZENO

Para esta técnica foram utilizados camundongos infectados e controles submetidos à cada dieta, em vários tempos de infecção.

O teste constou de uma dose sensibilizante de 50 μ L de dinitro clorobenzeno (DNCB) a 20 mg/mL , em acetona-óleo de oliva, aplicada no abdomen previamente depilado de cada animal. Decorridos cinco dias da dose sensibilizante, a reação foi desencadeada aplicando-se 5 μ L da mesma solução em toda extensão da orelha esquerda (VADAS *et al.* 1975).

Decorridas 24 horas da dose desencadeante, os animais foram sacrificados para retirada das orelhas esquerda e direita cortadas

devidamente na base. Determinou-se a relação entre o peso da orelha esquerda e direita (controle) em balança analítica. (CORSINI, BELLUCI & COSTA, 1979).

2.15. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O método estatístico empregado foi o modelo linear multiplicativo (GLM) para estudar os efeitos dos fatores e suas interações. Os modelos foram validados por extensa análise de resíduos, para garantir as premissas básicas dos ajustes. Comparações de médias foram feitas pelo método de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch. Em alguns casos, observações aberrantes foram eliminadas. Para certas respostas houve necessidade de transformação da variável. Em alguns casos foi aplicada a análise de regressão, dentro do GLM. Os cálculos foram executados em computador VAX 11/780, com o "Statistical Analysis System - SAS".

Algumas respostas foram analisadas à parte, considerando apenas análise de variância (ONE-WAY ANOVA) mediante a utilização de um pacote estatístico para microcomputador (PCxt e I-7000 Junior E da Itautec). Estas análises foram referentes a: capacidade de penetração de cercárias, diâmetro e frequência de granulomas hepáticos, área de granulomas hepáticos e comprimento de vermes adultos desenvolvidos em ambas as dietas.

3- RESULTADOS

3.1. - PENETRAÇÃO DE CERCÁRIAS

A determinação do número de cercárias penetrantes foi realizada para alguns grupos de camundongos submetidos a dieta proteica ou hipoproteica. Os resultados referem-se a 139 animais : 76 da dieta normoprotéica e 63 da dieta hipoprotéica. A análise de variância evidencia que houve maior penetração das cercárias nos animais que receberam a dieta proteica, apesar da diferença ser significativa apenas a nível de 0,05% (Tabela III)

TABELA III- Análise de variância da penetração de cercárias em camundongos (C3H/HeJ) tratados com dieta normoprotéica e hipoprotéica.

GRUPO	MÉDIA CERCÁRIAS	FONTE DE VARIACÃO	SQ	DF	QM	PROB	F ratio
protéico	90,13	dieta	217,45	1	217,45	0,0113	6,59
hipoprotéico	87,62	animais	451,75	137	32,97		

3.2. MORTALIDADE DE CAMUNDONGOS

Os resultados percentuais de mortalidade de diferentes grupos estudados encontram-se dispostos nas Tabelas IV a VII.

A dieta por si só não contribuiu para a mortalidade dos camundongos.

A infecção nos animais subnutridos provocou a morte a partir da oitava semana enquanto que no grupo tratado com a dieta normoprotéica, a morte dos animais só aconteceu a partir da 11ª semana após a infecção. O período máximo de sobrevivência nos animais sem deficiência alimentar foi de 42 semanas. Camundongos subnutridos não resistiram à infecção já na 16ª semana.

3.3 VERMES DE *Schistosoma mansoni*

3.3.1 - NÚMERO DE ESQUISTOSSOMOS

O tratamento estatístico para esta variável demonstrou que tanto a dieta como o tempo de infecção exerceram papel importante sobre o número de vermes totais (VM+VF+VI). No decorrer do tempo, foi possível constatar dois segmentos distintos para a dieta normoprotéica, que correspondem ao período da 3ª a 10ª semanas, com médias iguais. Após a 10ª semana até a 27ª ficou constatado outro grupo com menor número de vermes.

A dieta normoprotéica apresentou em média, maior número de vermes que a dieta hipoprotéica no período compreendido até a oitava semana. Nos períodos subsequentes, observou-se que a dieta hipoprotéica deteve maior número de vermes. (Fig. 3)

As Tabelas VIII e IX exibem respectivamente, o número de vermes encontrados em camundongos tratados com dieta hipoprotéica e normoprotéica, no decorrer da infecção.

3.3.2 - SOBREVIVÊNCIA DE VERMES ADULTOS

Adotou-se apenas os dados referentes ao número de vermes a partir da 9ª semana de infecção, quando se observou, o decréscimo do número de vermes totais. A análise de regressão adotada para estabelecer uma curva de sobrevivência foi feita com identificação de resíduos aberrantes :DFfits, D Cook e resíduos "estudentizados".

A Fig. 3 ilustra a sobrevivência dos vermes adultos para ambos os tratamentos alimentares.

3.3.3. COMPRIMENTO DE VERMES ADULTOS

A Tabela X demonstra o resultado da análise de variância das medidas de comprimento de 400 vermes adultos, obtidos na oitava semana de infecção em camundongos submetidos à dieta normoprotéica ou hipoprotéica. O comprimento médio de vermes machos e fêmeos desenvolvidos em cada dieta foi:

dieta normoprotéica/vermes machos	(VM): 5,580 mm;
dieta normoprotéica/vermes fêmeos	(VF): 7,375 mm;
dieta hipoprotéica/vermes machos	(VM): 4,567 mm;
dieta hipoprotéica/vermes fêmeos	(VF): 5,720 mm;

TABELA X - Análise de variância de medidas de comprimento de 400 vermes adultos recuperados na oitava semana de infecção do *Schistosoma mansoni*.

FONTE DE VARIACAO	SQ	GL	QM	F	PROB.
dieta	51,31	1	51,31	53,42	1,000E-10
verme macho	190,16	198	0,96		
dieta	136,95	1	136,95	118,27	2,200E-09
verme fêmeo	229,27	198	1,16		

Os diagramas de frequência do tamanho de vermes machos e fêmeos em cada dieta encontram-se ilustrados nas Figuras 1 e 2.

3.4. GRANULOMAS HEPATICOS (GH) DE *Schistosoma mansoni*

3.4.1.- DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DE GRANULOMAS HEPATICOS

Foram medidos 510 granulomas hepáticos em camundongos tratados com dieta normoprotéica e 295 referentes a camundongos subnutridos. Na dieta hipoprotéica não foram observados granulomas na 6ª semana após infecção. Nesta dieta foi possível observar que os tamanhos de granulomas foram praticamente iguais na 8ª, 9ª, 10ª e 11ª semana. Apenas na 7ª semana os granulomas nos animais subnutridos apresentaram-se significativamente menores. (Tabela XI)

No caso da dieta normoprotéica, a 6ª semana diferiu de todas as outras da mesma dieta; as médias expressas pela 8ª, 9ª, 10ª e 11ª semana foram iguais, assim como ocorreu na dieta hipoprotéica. Observou-se apenas que a 9ª semana diferiu da 10ª e 11ª a nível de 0,05% apresentando menor diâmetro médio. É interessante observar que o tamanho do granuloma na 11ª semana na dieta normoprotéica revelou-se menor que o da 10ª semana, a nível de 0,05%. Este fenômeno não ocorreu com a dieta hipoprotéica.

Quando comparamos os tamanhos dos granulomas da 9ª, 10ª e 11ª semanas, entre a dieta normoprotéica e hipoprotéica, resultou tamanho (diâmetro médio) maior para os granulomas hepáticos produzidos sob vigência de dieta controle.

TABELA XI- Comparação dos níveis de significância para diâmetro médio de granulomas hepáticos em ambas as dietas.

HIPOPROTÉICA		NORMOPROTÉICA					
		6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª
semana (média)							
	micra	(189,4)	(242,3)	(267,9)	(250,4)	(279,1)	(253,4)
6ª	não tem	-					
7ª	(214,9um)		S*				
8ª	(260,7um)			NS			
9ª	(240,6um)				NS		
10ª	(252,3um)					S*	
11ª	(272,8um)						NS

NS - não significativo

S* - significativo a nível de 0,05%

3.4.2 - DISTRIBUIÇÃO DE GRANULOMAS HEPATICOS DE *Schistosoma mansoni*

Esta análise envolveu os resultados de número de granulomas hepáticos / cm^2 de área hepática em corte histológico, nos períodos compreendidos entre 6ª e 11ª semana, com intervalos semanais, nos camundongos de ambas as dietas.

A análise de variância aplicada sobre este parâmetro, no período global, nos indicou que a dieta provocou uma distribuição de granulomas hepáticos / cm^2 (GH/ cm^2) menor no fígado sujeito à subnutrição. Os dados analisados semana a semana, entre as duas dietas, revelou que são significativamente distintas a 6ª, 7ª, 8ª e 11ª semanas. A 9ª e 10ª semanas não apresentaram diferenças significativas a nível de 0,05% .

A Tabela XII ilustra o resultado desta análise a nível de significância:

TABELA XII - Comparação de níveis de significância para frequência de distribuição de granulomas hepáticos em corte histológico.

DIETA		DIETA NORMOPROTÉICA					
HIPOPROTÉICA		6º/	7º/	8º/	9º/	10º/	11º/
SEMANAS	(Média)	(0,026)	(1,026)	(1,905)	(2,049)	(3,395)	(3,392)
6º	(0,0)	S***					
7º	(4,145)		S*				
8º	(1,104)			S***			
9º	(2,455)				NS		
10º	(2,688)					NS	
11º	(1,819)						S***

() = média de número de granulomas hepáticos/cm

S*** = significativo a nível de 0,01%.

S* = significativo a nível de 0,05%

NS = Não significativo.

3.4.3 - NÚMERO DE GRANULOMAS HEPÁTICOS

Os resultados aqui expostos referem-se àqueles granulomas hepáticos obtidos conforme a descrição do item 2.8.

A variável resposta estudada foi o número de granulomas hepáticos (GH) por casal de vermes adultos.

Da análise estatística referente a este capítulo verificou-se que a interação dieta e tempo de infecção foi significativa a um nível de 0,01%. Também foi possível detectar diferenças de respostas de número de granulomas hepáticos /casal de vermes, em função do tempo de infecção. As semanas iniciais apresentaram médias iguais para esta variável. Da oitava semana em diante, as médias foram nitidamente iguais. As diferenças foram observadas entre a 6ª, 7ª e 8ª semanas pós-infecção, que se caracterizam por médias totalmente diferentes entre si.

Camundongos submetidos à dieta hipoprotéica iniciaram a oviposição com atraso de uma semana (7ª semana). É interessante notar que o número de granulomas hepáticos obtido em camundongos subnutridos foi maior do que aqueles animais submetidos à dieta controle. A discussão deste fato será tratada oportunamente.

Para efeito de análise global do fenômeno de evolução dos granulomas hepáticos, apresentamos a Fig. 4 referente ao número de GH presentes em cada dieta, nos períodos compreendidos entre a 6ª e 14ª semanas após infecção.

A análise isolada, considerando a dieta, demonstrou que os fatores que influenciam na capacidade de indução de granulomas hepáticos, assumem características próprias para cada dieta do hospedeiro. Deste modo, foi possível comprovar que na dieta hipoprotéica, o peso do fígado e tempo de infecção são parâmetros altamente significativos sobre a variável GH. Quando se analisa a dieta protéica, surge outra variável importante no modelo, que se refere à resposta de células formadoras de rosetas (RFC). Neste último caso, o peso do fígado não teve influência sobre o número de granulomas hepáticos resultantes.

Foi possível estimar estatisticamente, por ajuste de um modelo de regressão múltipla aos dados, o tempo necessário para que o número de granulomas hepáticos alcançasse um estágio de estabilização. O máximo de oviposição do Schistosoma mansoni no fígado de animais infectados ocorre entre a 16ª e 18ª semana. Convém ressaltar que só foi possível esta observação nos camundongos tratados com dieta proteica, uma vez que os subnutridos não alcançaram este tempo de infecção.

As Tabelas VII e IX ilustram o número de granulomas encontrados em função do tempo, assim como a percentagem de peso de fígado e baço dos camundongos referentes, respectivamente, à dieta normoprotéica e hipoprotéica.

3.5. PESO CORPORAL (PC), DO FÍGADO (PF) E BAÇO (PB)

As Tabelas XII e XIV ilustram, respectivamente, peso corporal (PC), de fígado (PF) e do baço (PB) de camundongos submetidos à dieta normoprotéica e hipoprotéica em função do tempo de infecção ou idade do hospedeiro.

3.5.1. Peso corporal

A variável em estudo é peso corporal (PC) e recebeu tratamento estatístico avaliando quais os fatores significativos no crescimento do animal; a única variável não significativa foi infecção. Dieta, sexo, tempo de infecção, assim como suas interações, mostraram-se altamente significativas.

A análise individual do sexo dos animais demonstrou que para as fêmeas e machos, as únicas interações não significativas foram infecção e dieta, e tempo de infecção e dieta. Dieta e tempo de infecção foram os fatores que mais contribuíram para dar respostas diferenciadas para as fêmeas. No caso de camundongos machos, as variáveis dieta, infecção e tempo de infecção foram significativas.

3.5.2. Peso do fígado

Em se tratando do peso do fígado dos camundongos, a análise geral dos dados revelou que as variáveis mais influentes foram: infecção, tempo de infecção, dieta, interação infecção x dieta x tempo de infecção; infecção x tempo de infecção e tempo de infecção x sexo. Portanto, neste caso, a variável sexo não se mostrou significativa, apesar de resultar significativa a interação com tempo de infecção. Hepatomegalia decorrente da infecção aconteceu em ambas as dietas nos camundongos infectados. A dieta protéica proporcionou maior grau de hepatomegalia que a dieta hipoprotéica (1,75 e 1,5 vezes respectivamente)

3.5.3. Peso do baço

A análise individual do peso do baço revelou, pela soma dos quadrados, que os fatores significativos (a nível de 0,01%) foram : infecção; sexo; infecção x dieta x sexo ; infecção x tempo de infecção ; tempo de infecção; tempo de infecção x sexo. Em geral, o peso do baço das fêmeas sadias é maior do que o dos machos sadios, na mesma idade.

Esplenomegalia ocorreu em camundongos infectados tratados com qualquer das dietas, e apresentou a seguinte evolução no decorrer do tempo de infecção: na dieta protéica, a percentagem esplênica foi máxima na 7ª semana e representou um aumento de 2,7 vezes a percentagem do grupo controle; na dieta hipoprotéica, a esplenomegalia atingiu o máximo valor na 11ª semana, assumindo um aumento de 4,3 vezes o seu respectivo controle.

3.6 - NÚMERO DE CÉLULAS DO BAÇO

Para tratamento estatístico, o número de células esplênicas foram expressos em número de células $\times 10^8$ /mg de baço. A consideração desta relação foi um artifício para minimizar os erros decorrentes da esplenomegalia provocada pela infecção esquistossomótica.

Estatisticamente foi possível estabelecer que o número de células do baço está na dependência do tempo de infecção, da interação infecção \times tempo de infecção e dieta \times tempo de infecção. A variável infecção isolada não influenciou no modelo. A sensibilização com hemácias de carneiro foi influente para o crescimento celular do baço, assim como sua interação com o tempo de infecção. Camundongos sensibilizados com hemácias de carneiro tiveram maior número de células esplênicas do que aqueles sem esta sensibilização. (respectivamente 1,44 e $1,26 \times 10^8$ /mg de baço).

Os fatores que acarretam aumento de células no baço foram estatisticamente estudados. No caso da dieta hipoprotéica, mostraram-se influentes no modelo, o número total de vermes, peso do baço, peso corporal, número de granulomas hepáticos, tempo de infecção e

tempo de infecção ao quadrado. Esta última variável foi introduzida no modelo pelo fato dos resíduos da variável tempo de infecção apresentarem tendência quadrática.

Para a dieta protéica, as variáveis influentes sobre o número de células do baço foram: número total de vermes, número de células formadoras de placas hemolíticas (PFC), peso do animal e peso do baço. O tempo de infecção neste caso não foi influente e este modelo teve melhor ajuste que o da dieta hipoprotéica

As tabelas XV a XXI demonstram os resultados referentes a número de linfócitos presentes em cada caso estudado: camundongos infectados ou não; dieta protéica ou hipoprotéica; sensibilização positiva ou negativa para hemácias de carneiro (HC).

3.7 - POPULAÇÃO DE CÉLULAS FORMADORAS DE ROSETAS

Esta variável (RFC) representa o resultado do número de células formadoras de rosetas por miligrama de peso do baço. O modelo geral ajustado, demonstrou que a variável mais influente no modelo foi exatamente a sensibilização por hemácias de carneiro. A análise de fatores influentes para cada tipo de dieta, demonstrou que são comuns apenas três variáveis significativas em ambas as dietas: sensibilização a HC, tempo de infecção e a interação sexo x tempo de infecção. No caso de animais subnutridos, a variável sexo não se mostrou significativa e ainda temos que levar em consideração as seguintes variáveis: infecção, infecção x sexo e sensibilização a HC x tempo de infecção.

Para a dieta normoprotéica, a influência do sexo do animal revelou-se altamente significativa.

Em animais subnutridos, o número de células formadoras de rosetas foi maior para as fêmeas infectadas e sensibilizadas com HC. Existe ainda uma tendência de animais jovens expressarem maior número de células formadoras de rosetas quando submetidos à subnutrição. O número de células formadoras de rosetas de camundongos subnutridos, de uma maneira geral, revelou-se superior aos níveis apresentados pelos animais tratados com a dieta protéica.

As Tabelas XVIII a XXV expressam os resultados do número de células formadoras de rosetas para camundongos normais e infectados, em ambas as dietas, sensibilizados ou não com HC, em função da idade do animal ou do tempo de infecção. O resumo destes mesmos parâmetros constam respectivamente nas Tabelas XXIV e XXV para camundongos submetidos à dieta normoprotéica e hipoprotéica.

A Fig. 5 ilustra o diagrama do número de células formadoras de rosetas/mg de baço para camundongos tratados com a dieta protéica, infectados, na 1ª e 8ª semanas, com sensibilização negativa e positiva para hemácias de carneiro.

A Fig. 6 representa os resultados obtidos em camundongos subnutridos, referentes a rosetas/mg de baço, para sensibilização positiva com hemácias de carneiro, nas 1ª e 8ª semanas nos grupos sem infecção e infectados por *Schistosoma mansoni*.

3.8 - SÍNTESE DE ANTICORPOS

Avaliou-se a população de células do baço formadoras de placas hemolíticas (PFC)/ mg de baço, em camundongos tratados com dieta normoprotéica ou hipoprotéica. O modelo ajustado por dieta revelou variáveis comuns de suma importância para ambos, tais como: infecção, sensibilização com HC, tempo de infecção e sexo do hospedeiro. Em geral, animais não infectados, em ambas as dietas, apresentaram maior população de células formadoras de placas hemolíticas frente a HC, com tendência a resposta mais alta nos camundongos machos.

Na dieta hipoprotéica, animais sensibilizados com HC dão resposta de PFC 3,4 vezes maior enquanto que esta relação está estimada em 8,6 vezes maior na dieta proteica, independentemente se os animais estão infectados ou não. As Tabelas XVIII a XXIII expressam os resultados referentes a PFC nos diferentes tratamentos dos animais. As Figuras 7 e 8 representam o número de células formadoras de placas hemolíticas (PFC)/mg de baço, tratados com dieta normoprotéica e hipoprotéica, sensibilizados com hemácias de carneiro, sem infecção pelo *Schistosoma mansoni*.

3.9 - HIPERSENSIBILIDADE RETARDADA

A variável aqui analisada refere-se à relação de peso de orelha esquerda e peso da orelha direita, onde a primeira recebeu o tratamento com DNCB e a segunda expressa o controle do tratamento.

A variável mais significativa é a própria sensibilização com DNCB, seguida pelo tempo de infecção (idade dos animais, nos gru

pos sem infecção) . A dieta não teve relevância neste tipo de resposta.

Estatisticamente a análise ficou prejudicada uma vez que os dados disponíveis para camundongos sem qualquer sensibilização com DNCB ficou restrito a 4 animais, o que desequilibrou o grupo controle na análise matemática.

É curioso notar que a infecção propriamente dita, também não afetou a análise. Porém, é importante referir que a aplicação do DNCB, em alguns grupos, contribuiu para aumentar a mortalidade dos camundongos da seguinte forma:

Camundongos tratados com dieta normoprotéica ou hipoprotéica, sem infecção, apresentaram índices de mortalidade decorrente da sensibilização pelo DNCB muito maiores que os grupos infectados pelo *Schistosoma mansoni*

Nas Tabelas XXVI e IXXX demonstram estes índices de mortalidade por tempo de infecção. É interessante observar que no caso de camundongos tratados com dieta normoprotéica infectados, apenas 1 animal jovem (1 semana de infecção) sofreu o efeito do DNCB enquanto que na dieta hipoprotéica a morte de um único camundongo ocorreu na fase crônica (14 semanas) da infecção.

3.10. HISTOPATOLOGIA HEPATICA

No exame histopatológico do fígado de camundongos subnutridos, pudemos observar poucas alterações que pudessem diferenciá-los do fígado de camundongos alimentados com a dieta protéica, a não ser pela intensidade das lesões granulomatosas. O desenvolvimento das lesões em camundongos sem deficiência protéica pareceu ser mais rápido e já na oitava semana de infecção foi observada fibrose nos camundongos submetidos à dieta normoprotéica.

As reações inflamatórias consistiram de infiltrados linfocitos-eosinofílicos, circunscrivendo ovos viáveis. O parênquima hepático apresentou grande número de células de Kúpffer hipertrofiadas, contendo pigmento castanho escuro. A arquitetura dos lóbulos hepáticos apresentou-se em desarranjo e os espaços sinusoidais aumentados.

Nos hepatócitos de animais expostos à subnutrição, foi possível observar em alguns casos, alterações hialinas intracelulares, mas, de modo algum a esteatose encontrada se igualou à descrita por COUTINHO (1980).

Histologicamente foi possível observar reações mais precoces naqueles animais sem deficiência protéica, com aparecimento das primeiras infiltrações em torno dos ovos do trematódeo na quinta semana de infecção.

ABREVIATURAS ADOTADAS NAS TABELAS DE RESULTADOS

- TEMPO (T) : semanas a partir da data de infecção ou de 30 dias de idade.
- % PB : percentagem do peso do baço
- % PF : percentagem do peso do fígado
- VT : número de vermes totais; dVT : desvio padrão de vermes totais
- VF : número de vermes fêmeas; dVF : desvio padrão de vermes fêmeas
- VM : Número de vermes machos; dVM : desvio padrão de vermes machos
- VI : número de vermes imaturos; dVI: desvio padrão de vermes imaturos.
- GH : número de granulomas hepáticos; dGH : desvio padrão de granulomas hepáticos.
- PC : Peso corporal do camundongo, em gramas
- dPC : desvio padrão do peso corporal
- PF : Peso do fígado em gramas
- dPF : desvio padrão do peso do fígado
- PB : peso do baço em miligramas
- dPB : desvio padrão do peso do baço
- LINF : Número de linfócitos no baço total ($\times 10^8$)
- dLINF: desvio padrão do número de linfócitos
- ROSETAS : número de rosetas por mg de baço.
- dROS: desvio padrão do número de rosetas/mg de baço
- PLACAS: Número de células formadoras de placas hemolíticas/mg de baço
- dPLACAS: desvio padrão do número de células formadoras de placas hemolíticas/mg de baço
- SENSHC: sensibilização com hemácias de carneiro (+ ou -)
- OE/OD : peso da orelha esquerda/ peso da orelha direita
- doE/OD : desvio padrão da relação OE/OD

TABELA 4 - MORTALIDADE DOS CAMUNDONGOS C3H/HeJ TRATADOS COM DIETA PROTEICA,
SEM INFECCÃO PELO Schistosoma mansoni

TEMPO (semanas)	NÚMERO ANIMAIS EXAMINADOS	% MORTE
1	10	0
2	2	0
3	11	0
4	11	0
5	21	0
6	6	0
7	9	0
8	44	0
10	20	0
12	46	0
16	5	0
17	2	0
22	4	0
27	17	0
33	8	0
39	14	0

TABELA 5 - MORTALIDADE DE CAMUNDONGOS C3H/HeJ TRATADOS COM DIETA HIPOPROTEICA
SEM INFECCÃO PELO Schistosoma mansoni.

TEMPO (semanas)	NÚMERO ANIMAIS EXAMINADOS	%MORTE
1	17	0
2	19	0
4	21	0
6	6	0
8	4	0
12	13	0
16	4	0

TABELA 6 - MORTALIDADE DE CAMUNDONGOS C3H/HeJ TRATADOS COM DIETA PROTÉICA INFECTADOS COM 100 CERCÁRIAS DE Schistosoma mansoni.

TEMPO (semanas)	NÚMERO ANIMAIS EXAMINADOS	NÚMERO ANIMAIS MORTOS	% MORTE
1	36	0	0
4	13	0	0
6	25	0	0
7	11	0	0
8	26	0	0
9	11	0	0
10	10	0	0
11	6	4	40,00
14	2	4	66,70
17	5	3	60,00
27	7	4	36,40
42	1	8	88,90

TABELA 7 - MORTALIDADE DOS CAMUNDONGOS C3H/HeJ TRATADOS COM DIETA HIPOPROTÉICA INFECTADOS COM 100 CERCÁRIAS DE Schistosoma mansoni.

TEMPO	NÚMERO ANIMAIS EXAMINADOS	NÚMERO ANIMAIS MORTOS	%MORTE
1	6	0	0
3	4	0	0
5	5	0	0
6	5	0	0
7	15	0	0
8	2	6	75,00
9	5	4	44,50
10	8	4	66,70
11	8	2	25,00
13	2	4	66,70
14	5	7	58,30
16	0	6	100,00

TABELA 11

RESULTADOS DE NÚMERO DE VERMES , GRANULOMAS HEPÁTICOS , PERCENTUAL DO PESO DE FÍGADO E BAÇO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A DIETA HIPOPROTEICA INFECTADOS POR *Schistosoma mansoni*

TEMPO	%PB	%PF	VT	VF	VM	VI	GH
1	0,44	6,41	0	0	0	0	0
3	0,67	6,37	33	6	17	10	0
5	0,78	5,27	34	15	19	0	0
6	0,58	5,60	18	9	9	0	0
7	1,14	6,72	35	19	16	0	124
8	1,09	7,28	10	4	6	0	2863
9	1,42	9,00	59	17	42	0	5424
10	1,37	6,97	29	13	16	0	3634
11	1,89	8,66	24	10	14	0	2929
13	1,11	ND	22	10	12	0	ND
14	1,31	7,31	21	11	10	0	5446

TABELA 12

RESULTADOS DE NÚMERO DE VERMES E PERCENTAGEM ESPLÊNICA E HEPÁTICA
DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTEICA, INFECTADOS POR
Schistosoma mansoni

TEMPO	%PB	%PF	VT	VF	VM	VI	GH
1	0,60	6,10	0	0	0	0	0
4	0,82	6,84	35	8	21	6	0
6	0,84	5,77	41	19	22	0	114
7	1,36	9,00	41	12	29	0	563
8	1,36	8,50	39	14	25	0	3107
9	1,27	7,70	35	13	22	0	2699
10	1,34	8,20	24	8	16	0	3778
11	1,77	8,60	37	12	25	0	5260
14	1,32	8,70	11	3	8	0	ND
17	4,50	7,00	13	4	9	0	2895
27	1,53	7,20	12	3	9	0	6077
42	1,05	6,10	3	1	2	0	4495

TABELA 13

RESULTADOS DE PESOS CORPORAL(g), PESO DO FIGADO (g), PESO DO BAÇO (mg), VERMES ADULTOS E GRANULOMAS HEPATICOS DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTEICA E INFECTADOS COM *S.mansoni*.

TEMPO	NÚMERO ANIMAIS	PC	dPC	PF	dPF	%PF
1	36	17,40	2,88	1,0627	0,16	6,10
4	13	18,14	1,72	1,2403	0,08	6,84
6	25	21,13	2,04	1,2187	0,10	5,77
7	11	19,76	2,17	1,7762	0,22	9,00
8	26	20,36	2,24	1,7384	0,33	8,50
9	11	19,74	3,18	1,5238	0,39	7,70
10	10	23,24	3,47	1,9106	0,29	8,20
11	6	21,60	2,79	1,8574	0,16	8,60
14	2	20,92	3,40	1,8161	0,98	8,70
17	1	20,68	-	1,4524	-	7,00
27	7	22,52	3,50	1,6180	0,26	7,20
42	1	18,94	0,00	1,1508	0,00	6,10

TEMPO	PB	dPB	%PB	VF	dVF	VM	dVM	VI	dVI	GH	dGH
1	105,4	25,7	0,60	0	0	0	0	0	0	0	0
4	149,3	29,7	0,82	8	4	21	3	6	3	0	0
6	178,4	29,1	0,84	19	7	22	8	0,3	0,6	114	65
7	268,4	61,0	1,36	12	4	29	9	0	0	563	217
8	277,6	99,7	1,36	14	5	25	8	0	0	3107	1630
9	250,4	147,7	1,27	13	6	22	10	0	0	2699	1847
10	312,5	90,5	1,34	8	5	16	9	0	0	3778	2428
11	381,9	135,4	1,77	12	6	25	20	0	0	5260	1787
14	276,2	179,6	1,32	3	1	8	1	0	0	ND	-
17	940,0	-	4,50	4	-	9	-	0	-	2895	-
27	345,3	69,9	1,53	3	1	9	5	0	0	6077	1294
42	200,0	-	1,05	1	-	2	-	0	0	4495	-

T A B E L A 14

RESULTADOS DE PESOS CORPORAL (g) PESU DE FIGADU (g) E PESO DE BACON (mg) DE CAMUNDONGOS

TRATADOS COM DIETA HIPOPROTEICA E INFECTADOS POR *Schistosoma mansoni*

TEMPO (sem.)	NÚMERO ANIMAIS	PC	dPC	PF	dPF	xPF	PB	dPB	xPB
1	6	12,71	1,10	0,8157	0,12	6,42	55,98	7,27	0,44
3	4	17,36	0,83	1,10/b	0,05	6,38	116,57	20,13	0,67
5	5	15,14	1,26	0,7975	0,08	5,27	117,86	12,68	0,78
6	5	11,54	0,88	0,6462	0,09	5,60	66,78	11,85	0,58
7	15	13,13	2,01	0,8828	0,23	6,72	149,84	50,73	1,14
8	2	16,22	0,00	1,181b	0,05	7,28	177,35	35,29	1,09
9	5	13,84	1,17	1,2455	0,27	9,00	196,82	70,69	1,42
10	7	16,33	2,15	1,1391	0,22	6,98	223,73	20,32	1,32
11	8	14,67	3,17	1,2710	0,52	8,66	277,88	38,40	1,89
13	2	16,73	1,41	ND	-	-	186,20	4,24	1,11
14	5	16,39	2,56	1,1978	0,19	6,27	215,50	19,29	1,27

TABELA 15

RESULTADOS DE PESOS CORPORAL (PC) FÍGADO (PF) E BAÇO (PB) DE
CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTEICA, SEM INFECÇÃO

TEMPO (sem.)	NÚMERO ANIMAIS	PC (g)	dPC	PF (g)	dPF	XPF	PB (mg)	dPB	XPB
1	10	17,22	1,08	1,2487	0,090	7,25	86,18	5,19	0,50
2	2	22,10	0,07	1,3318	0,005	6,03	124,10	9,19	0,56
3	11	18,40	3,83	1,1244	0,350	6,11	106,96	38,46	0,58
4	11	20,62	2,87	1,0713	0,280	5,19	132,76	21,65	0,64
5	21	18,71	2,11	1,2849	0,190	6,87	121,49	28,84	0,65
6	6	21,91	0,42	0,9125	0,050	4,16	81,88	2,84	0,37
7	9	22,73	1,99	1,1589	0,070	5,10	94,90	13,17	0,42
8	44	17,95	1,63	1,2640	0,160	7,04	100,14	11,53	0,56
10	20	20,86	2,25	1,1326	0,120	5,44	103,09	11,49	0,49
12	46	22,88	4,17	1,2657	0,390	5,53	120,98	32,58	0,53
16	5	18,12	1,80	1,1842	0,140	6,53	107,16	21,66	0,59
17	1	22,22	0,00	1,2213	-	5,49	102,80	-	0,46
22	4	21,81	1,36	1,3035	0,040	5,97	106,02	8,71	0,48
27	17	23,25	3,28	1,3903	0,170	5,98	104,31	24,33	0,45
33	8	24,41	2,10	1,4385	0,230	5,89	142,62	34,87	0,58
39	14	27,84	3,32	1,5805	0,270	5,68	134,67	39,09	0,48

TABELA 16

RESULTADOS DE PESOS CORPORAL(g), FÍGADO (g) E BAÇO (mg) DE CAMUNDONGOS
TRATADOS COM DIETA HIPOPROTEICA , SEM INFECÇÃO.

=====									
NÚMERO									
T	ANIMAIS	PC	dPC	PF	dPF	%PF	PB	dPB	%PB
=====									
1	17	13,04	1,15	0,6935	0,07	5,32	72,50	12,29	0,55
2	19	15,89	1,87	0,9216	0,11	5,79	90,50	17,73	0,57
4	21	14,43	2,01	0,7361	0,09	5,10	91,79	20,18	0,63
6	6	12,07	3,77	0,5328	0,19	4,41	54,52	23,75	0,45
8	4	14,58	1,67	0,8692	0,10	5,96	114,72	18,23	0,78
12	13	18,86	1,28	ND	-	-	74,78	9,30	0,39
=====									

TABELAS 18 e 21

RESULTADOS DO NÚMERO DE LINFÓCITOS ESPLENICOS, ROSETAS E PLACAS HEMOLÍTICAS DE ANIMAIS TRATADOS COM DIETA HIPOPROTEICA PARA SENSIBILIZAÇÃO POSITIVA OU NEGATIVA COM HEMACIAS DE CARNEIRO:

TABELA 18- CAMUNDONGOS INFECTADOS : SENSIBILIZAÇÃO NEGATIVA PARA HC

TEMPO	LINF	dLINF	ROSETAS	dROS	PLACAS	dPLACAS
6	0,86	0,13	22700	9130	ND	ND
7	7,64	0,69	0	0	15,87	16,46
10	2,73	1,80	1045	705	ND	ND
14	6,00	1,10	ND	ND	0,85	0,25

TABELA 19 CAMUNDONGOS SEM INFECÇÃO : SENSIBILIZAÇÃO NEGATIVA PARA HC

TEMPO	LINF	dLINF	ROSETAS	dROS	PLACAS	dPLACAS
1	2,18	0,56	ND	ND	0,39	0,52
2	2,48	0,77	3431	1603	ND	-
4	ND	ND	4459	2100	ND	-
6	1,47	1,10	9261	4400	ND	-

TABELA 20 CAMUNDONGOS SEM INFECÇÃO : SENSIBILIZAÇÃO POSITIVA PARA HC

TEMPO	LINF	dLINF	ROSETAS	dROS	PLACAS	dPLACAS
1	3,97	1,60	10886	4548	203,17	98,27
2	3,06	1,30	13925	5601	376,00	166,10
4	1,98	1,00	36312	15154	93,55	42,00
8	4,52	0,64	27112	8163	38,60	4,70

TABELA 21 CAMUNDONGOS INFECTADOS : SENSIBILIZAÇÃO POSITIVA PARA HC:

TEMPO	LINF	dLINF	ROSETAS	dROS	PLACAS	dPLACAS
1	1,98	0,47	75567	23062	129,48	71,27
3	3,90	0,96	16635	13494	8,16	5,9
5	4,68	1,67	13070	4671	26,73	13,43
7	5,88	1,63	29704	12531	43,51	2,91
8	5,15	1,20	4678	4519	169,83	18,94
10	6,87	3,27	8512	2581	77,42	43,33

TABELA 22

RESULTADO DE NÚMERO DE LINFÓCITOS ESPLÊNICOS, ROSETAS E PLACAS HEMOLÍ-
TICAS EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTEICA E INFECTADOS COM *S.*
mansonii . SENSIBILIZAÇÃO NEGATIVA PARA HEMÁCIAS DE CARNEIRO.

TEMPO	LINF	dLINF	ROSETAS	dROS	PLACAS	dPLACAS
1	2,4	1,7	5068	535	1,560	4,210
8	13,4	4,7	1298	479	0,798	1,100
9	6,4	2,1	654	456	ND	ND
10	9,2	3,4	3791	2893	ND	ND
11	32,7	19,3	0	0	0,411	0,039
27	10,3	2,8	808	577	0,408	0,400
42	5,4	0,0	2250	ND	0,500	-

TABELA 23

RESULTADO DE NÚMERO DE LINFÓCITOS ESPLÊNICOS, ROSETAS E PLACAS HEMOLÍTICAS EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTEICA E INFECTADOS COM *S. mansoni* PARA SENSIBILIZAÇÃO POSITIVA COM HEMÁCIAS DE CARNEIRO.

TEMPO	NºLINF	dLINF	ROSETAS	dROS	PLACAS	dPLACAS
1	4,37	1,84	27449	9966	338,54	195,89
4	8,34	0,70	7909	813	ND	-
6	6,40	4,00	12300	7000	ND	-
7	13,96	4,99	8595	681	ND	-
8	8,95	2,29	5262	2022	47,92	-
17	82,20	-	5319	0	14,04	-

TABELA 24

RESULTADOS DE MÉDIAS DO NÚMERO DE ROSETAS/mg BAÇO EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTEICA, SENSIBILIZADOS OU NÃO COM HEMACIAS DE CARNEIRO E INFECTADOS OU NÃO COM *Schistosoma mansoni*.

INFECÇÃO	TEMPO	SENSHC	MÉDIA	NºANIMAIS
+	1	+	27449	18
+	4	+	7909	5
+	6	+	12300	18
+	7	+	8595	7
+	8	+	5262	4
+	1	-	5068	23
+	8	-	1298	6
+	9	-	654	2
+	10	-	3791	3
+	11	-	0	2
+	27	-	808	5
+	42	-	2250	1
-	1	+	17573	3
-	5	+	17076	4
-	7	+	5604	5
-	10	+	7972	4
-	12	+	44199	5
-	3	-	2568	1
-	5	-	0	3
-	8	-	231	7
-	17	-	2918	1

TABELA 25

RESULTADOS DE MÉDIAS DO NÚMERO DE ROSETAS/mg BAÇO EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA HIPOPROTEICA SENSIBILIZADOS OU NÃO COM HEMACIAS CARNEIRO . ANIMAIS INFECTADOS OU NÃO COM *Schistosoma mansoni*

SENSIBILIZAÇÃO COM HEMACIAS	INFECÇÃO	TEMPO	MÉDIA	Nº ANIMAIS
+	+	1	75567	5
+	+	3	16635	4
+	+	5	13070	5
+	+	7	29704	4
+	+	8	4678	2
+	+	10	8512	3
+	-	1	10886	13
+	-	2	13925	8
+	-	4	36312	6
+	-	8	27112	4
-	-	2	3431	8
-	-	4	4459	6
-	-	6	9291	6
-	+	6	22700	5
-	+	7	0	4
-	+	10	1045	3

TAB 26_ RESULTADOS DE HIPERSENSIBILIDADE RETARDADA DOS ANIMAIS
TRATADOS COM DIETA PROTEICA, SEM INFECCAO.

TEMPO	N Ú M E R O A N I M A I S			%MORTE	OE/OD	dOE/OD
	EXPOSTOS	EXAMINADOS	MORTOS			
3	4	4	0	0	1,7877	0,356
5	18	17	1	5,50	1,5076	0,279
8	44	44	0	0,00	1,6377	0,178
12	25	23	2	8,00	1,8162	0,304
16	9	5	4	44,40	1,6619	0,253
22	6	4	2	33,33	2,4119	0,227
27	20	13	7	35,00	1,7987	0,248

TAB 27- RESULTADOS DE HIPERSENSIBILIDADE RETARDADA DOS ANIMAIS
TRATADOS COM DIETA PROTEICA, INFECTADOS COM *S. mansoni*

TEMPO	N Ú M E R O A N I M A I S			%MORTE	OE/OD	dOE/OD
	EXPOSTOS	EXAMINADOS	MORTOS			
1	15	14	1	6.7	1,3281	0,230
4	8	8	0	0	1,5532	0,200
6	8	8	0	0	1,4853	0,330
7	10	10	0	0	1,6144	0,310
8	14	14	0	0	1,6275	0,360
9	5	5	0	0	1,7438	0,560
10	3	3	0	0	1,5774	0,045
14	1	1	0	0	1,5222	-

TAB 28 RESULTADOS DE HIPERSENSIBILIDADE RETARDADA DOS ANIMAIS TRATADOS COM DIETA HIPOPROTEICA, SEM INFECÇÃO.

TEMPO	NÚMERO ANIMAIS			%MORTE	OE/OD	dOE/OD
	EXPOSTOS	EXAMINADOS	MORTOS			
4	11	9	2	12,8	1,2339	0,131
12	13	13	0	0	1,4829	0,161
16	06	0	6	100	ND	ND

TAB 29_ RESULTADOS DE HIPERSENSIBILIDADE RETARDADA DOS ANIMAIS TRATADOS COM DIETA HIPOPROTEICA, INFECTADOS COM *Schistosoma mansoni*

TEMPO	NÚMERO ANIMAIS			%MORTE	OE/OD	dOE/OD
	EXPOSTOS	EXAMINADOS	MORTOS			
3	4	4	0	0	1,3857	0,135
11	8	0	0	0	1,2202	0,095
14	2	1	1	50,0	2,4599	-

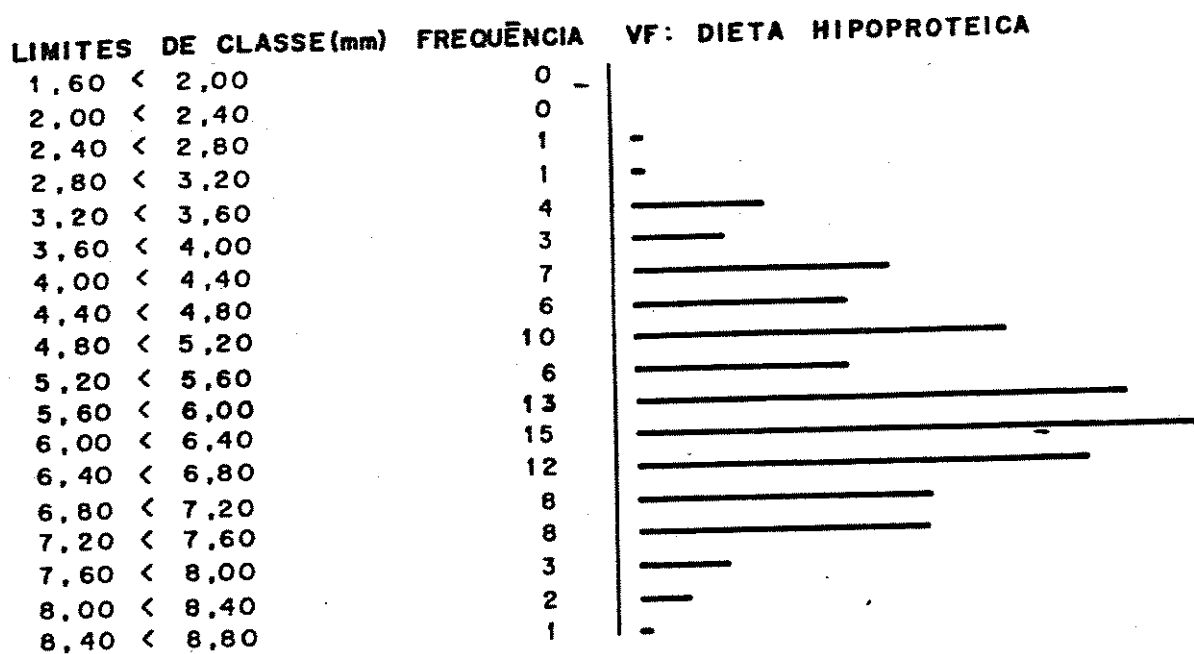
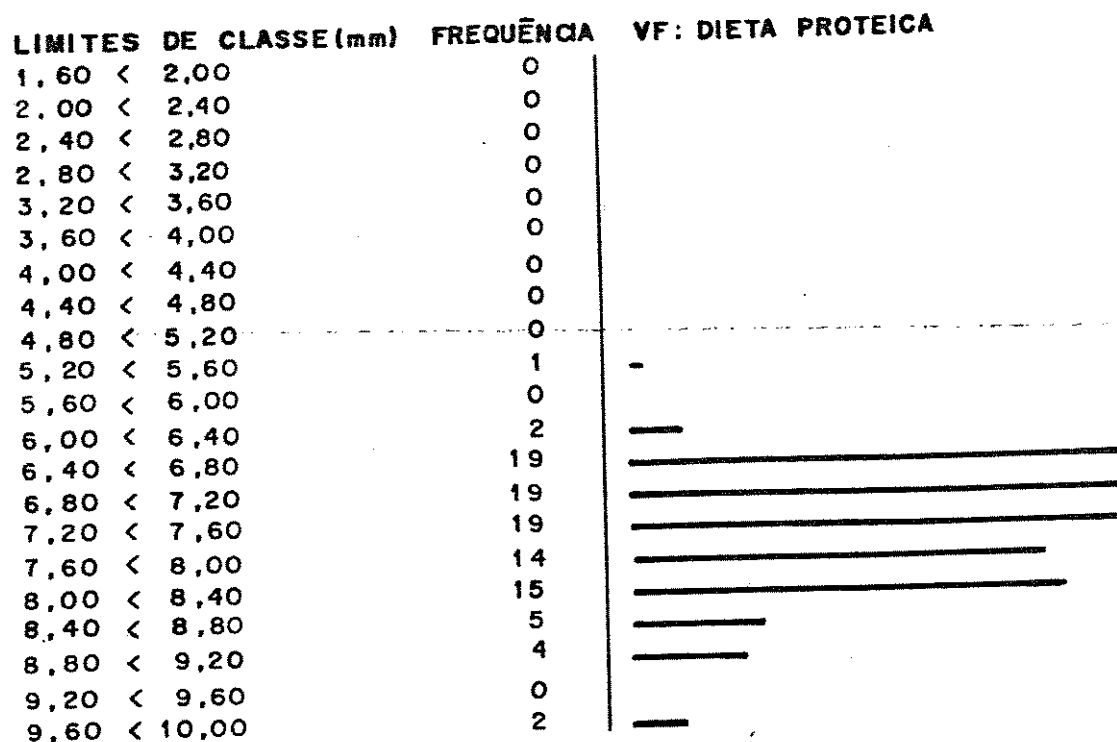


FIG.1 - HISTOGRAMA DA FREQUÊNCIA DE COMPRIMENTO (mm) DE VERMES ADULTOS FÊMEOS DE Schistosoma mansoni RECUPERADOS DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTÉICA E HIPOPROTÉICA (89 semana)

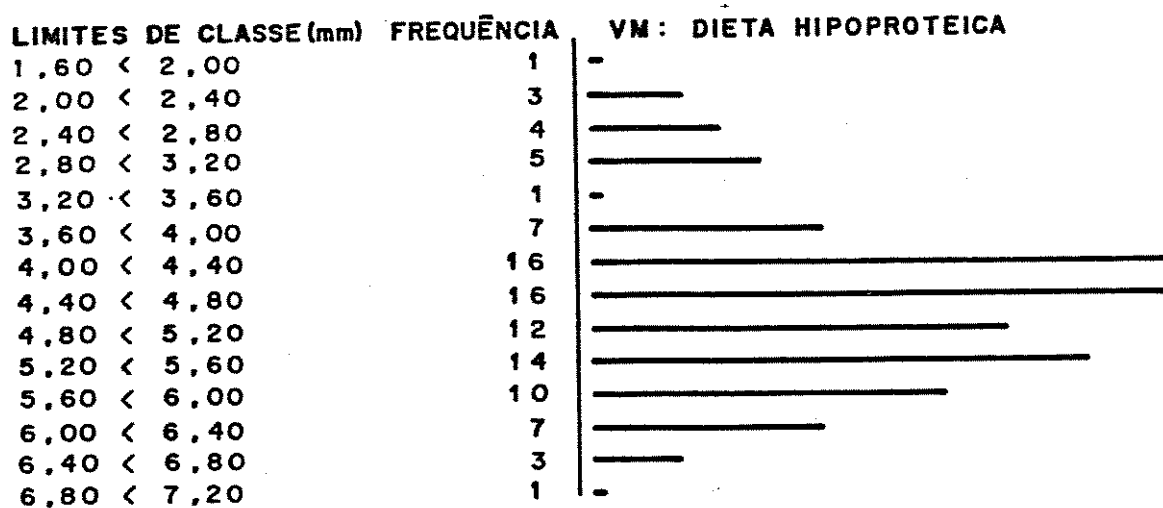
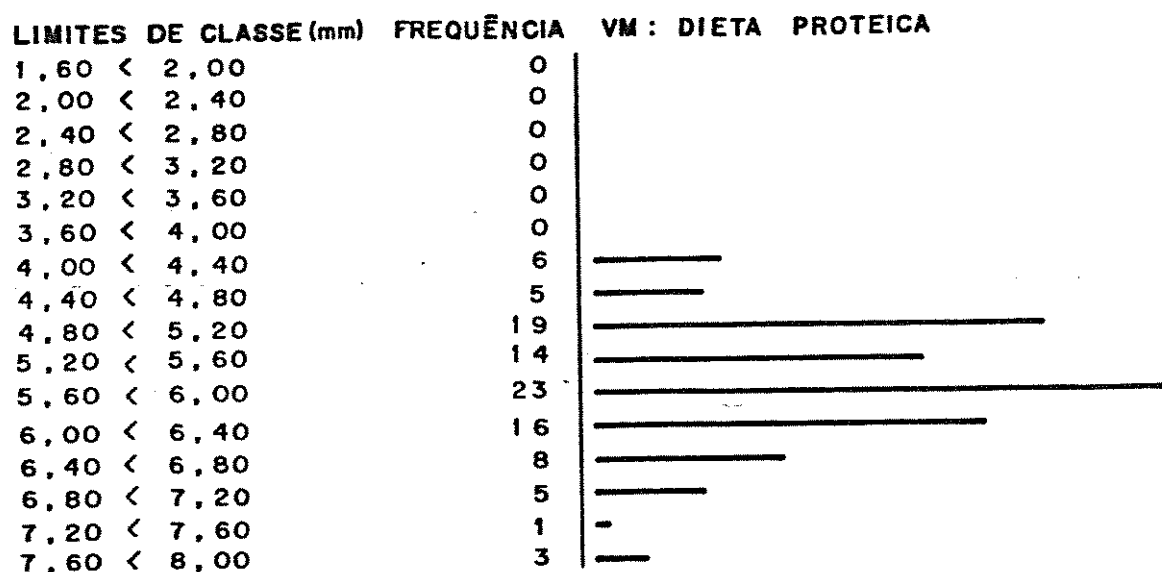


FIG.2- HISTOGRAMA DA FREQUÊNCIA DE COMPRIMENTO (mm) DE VERMES ADULTOS MACHOS DE Schistosoma mansoni RECUPERADOS DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTÉICA E HIPOPROTÉICA (89 semana).

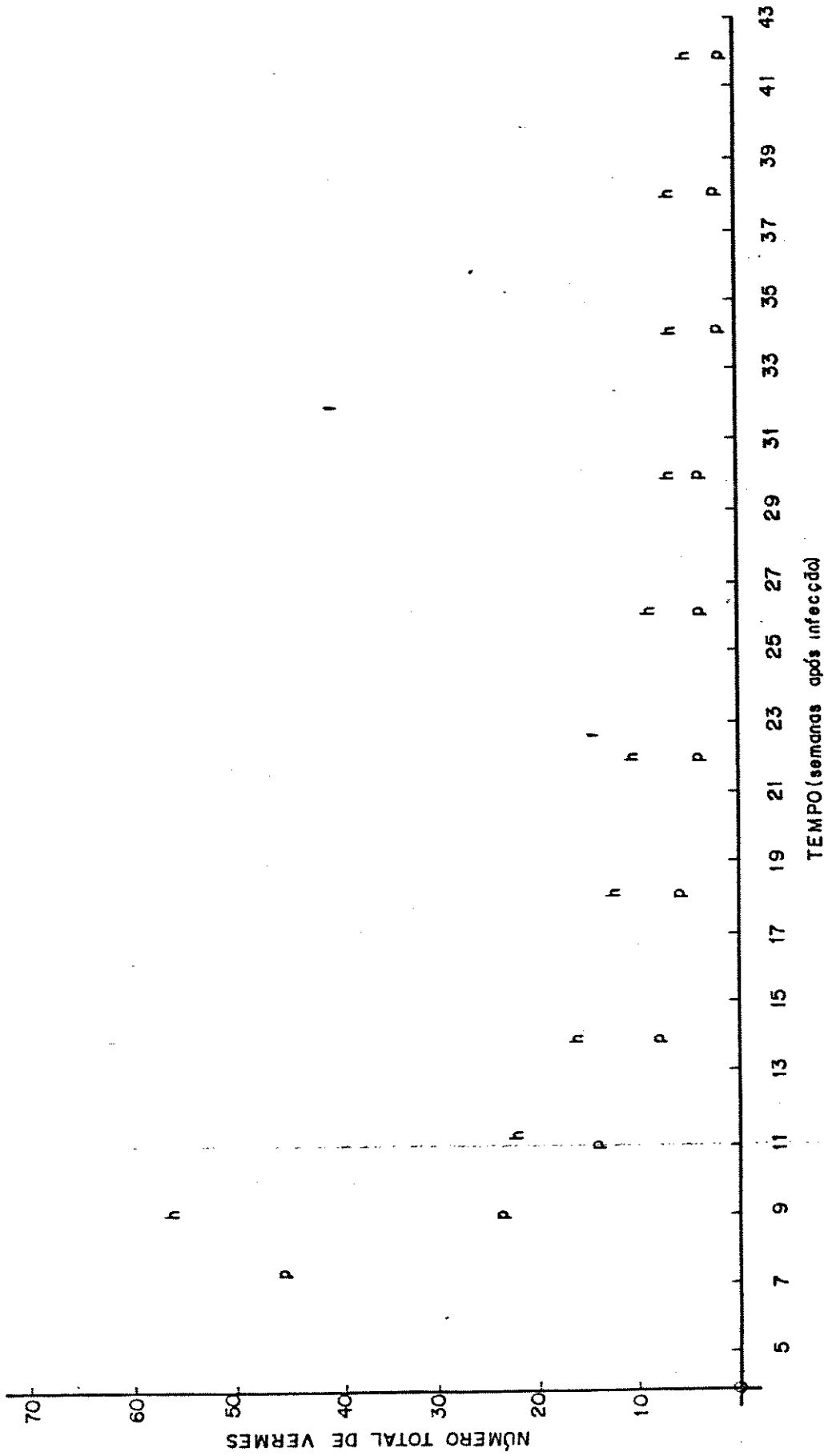


FIG. 3 - CURVA DE SOBREVIVÊNCIA PARA VERMES ADULTOS DE *Schistosoma mansoni* RECUPERADOS DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A DIETA PROTEICA (p---p) E HIPOPROTEICA (h---h).

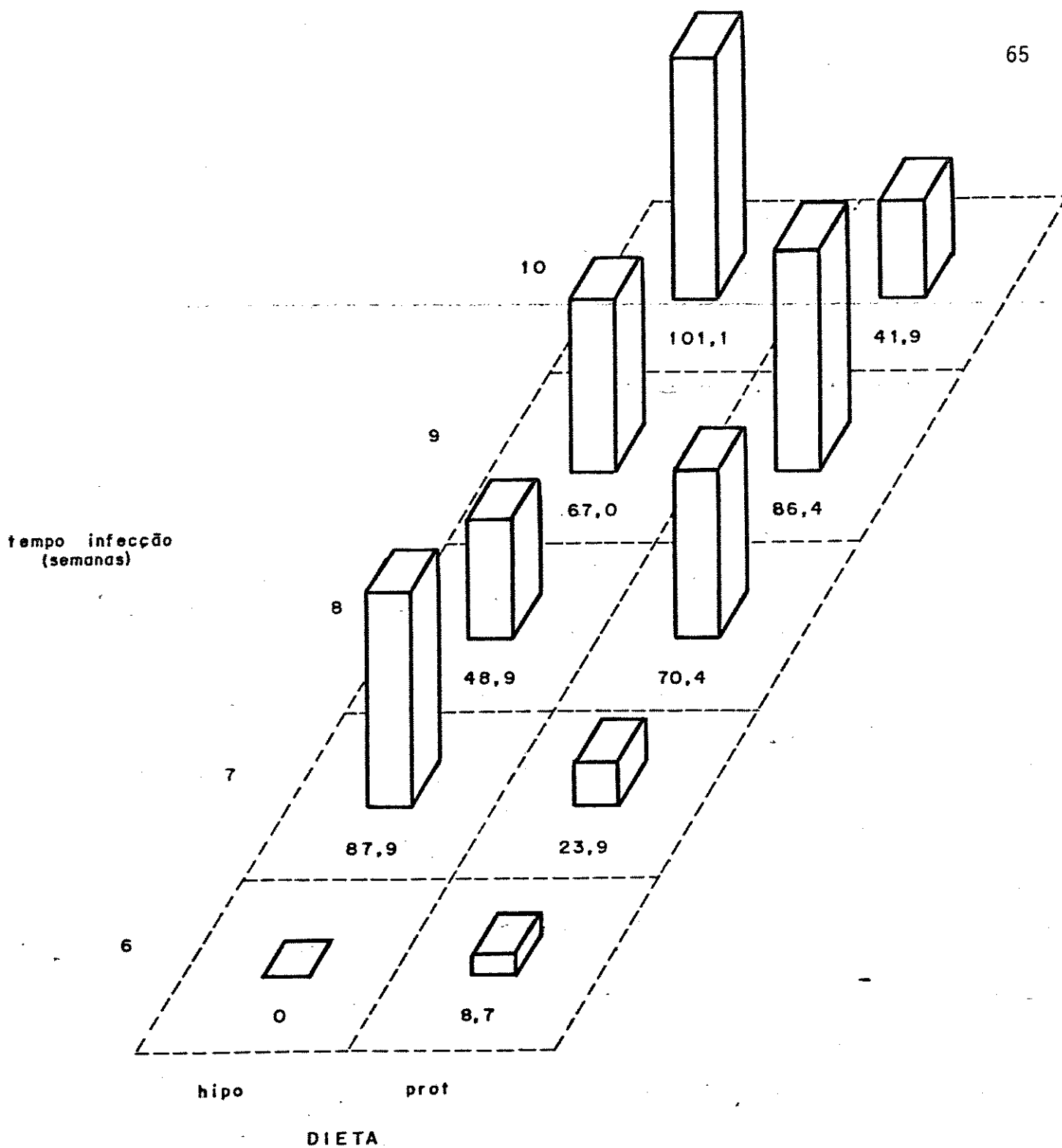


FIG. 4 - Diagrama em blocos de médias de Granulomas Hepáticos/casal de vermes, obtidos em camundongos tratados com dieta Proteica e Hipoproteica em função do tempo de infecção (6^ª, 7^ª, 8^ª, 9^ª e 10^ª semanas), pelo Schistosoma mansoni.

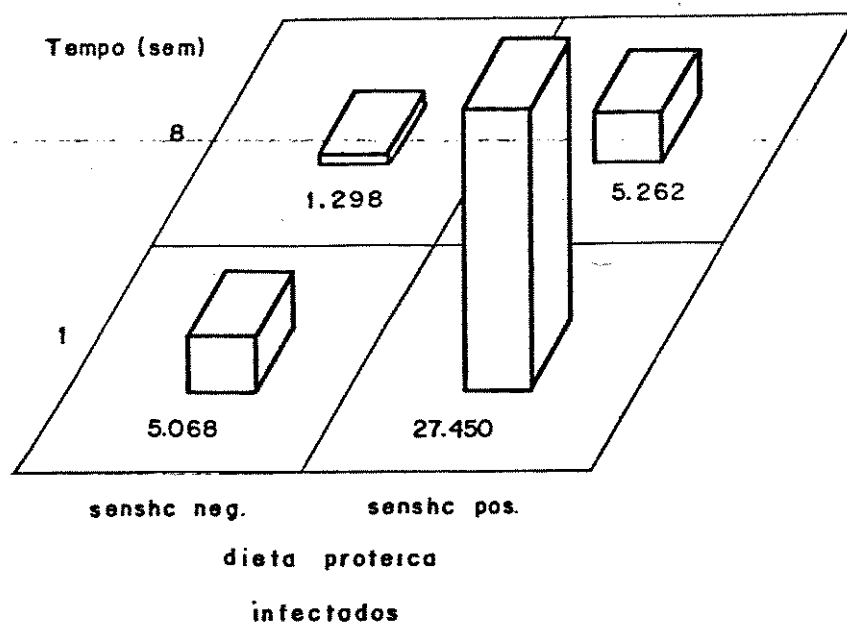


FIG. 5 - DIAGRAMA DE NÚMERO DE CÉLULAS FORMADORAS DE ROSETAS/mg DE BAÇO EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTEICA, INFECTADOS COM Schistosoma mansoni, NAS 1ª E 8ª SEMANAS, COM SENSIBILIZAÇÃO NEGATIVA E POSITIVA PARA HEMÁCIAS DE CARNEIRO.

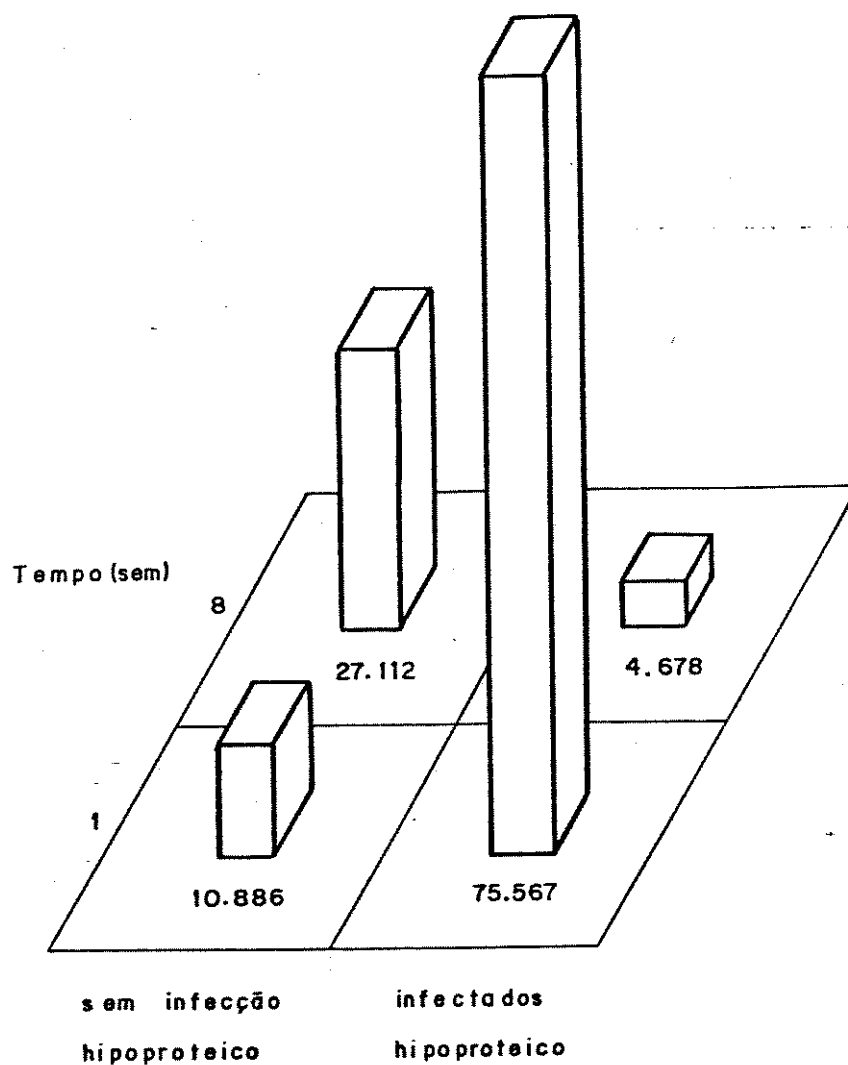


FIG. 6 - DIAGRAMA DE NÚMERO DE CÉLULAS FORMADORAS DE ROSETAS/mg DE BAÇO EM CAMUNDONGOS SUBNUTRIDOS, COM SENSIBILIZAÇÃO POSITIVA PARA HEMÁCIAS DE CARNEIRO, NAS 1.ª E 8.ª SEMANAS NOS GRUPOS CONTROLES E INFECTADOS POR Schistosoma mansoni.

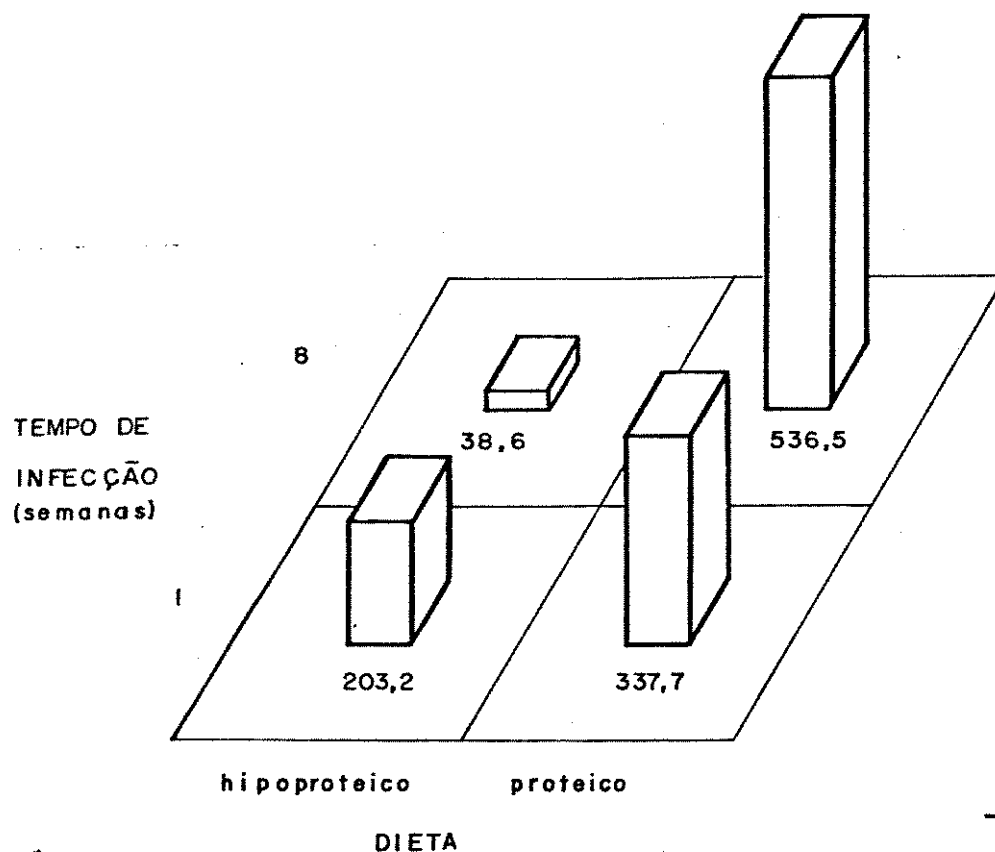
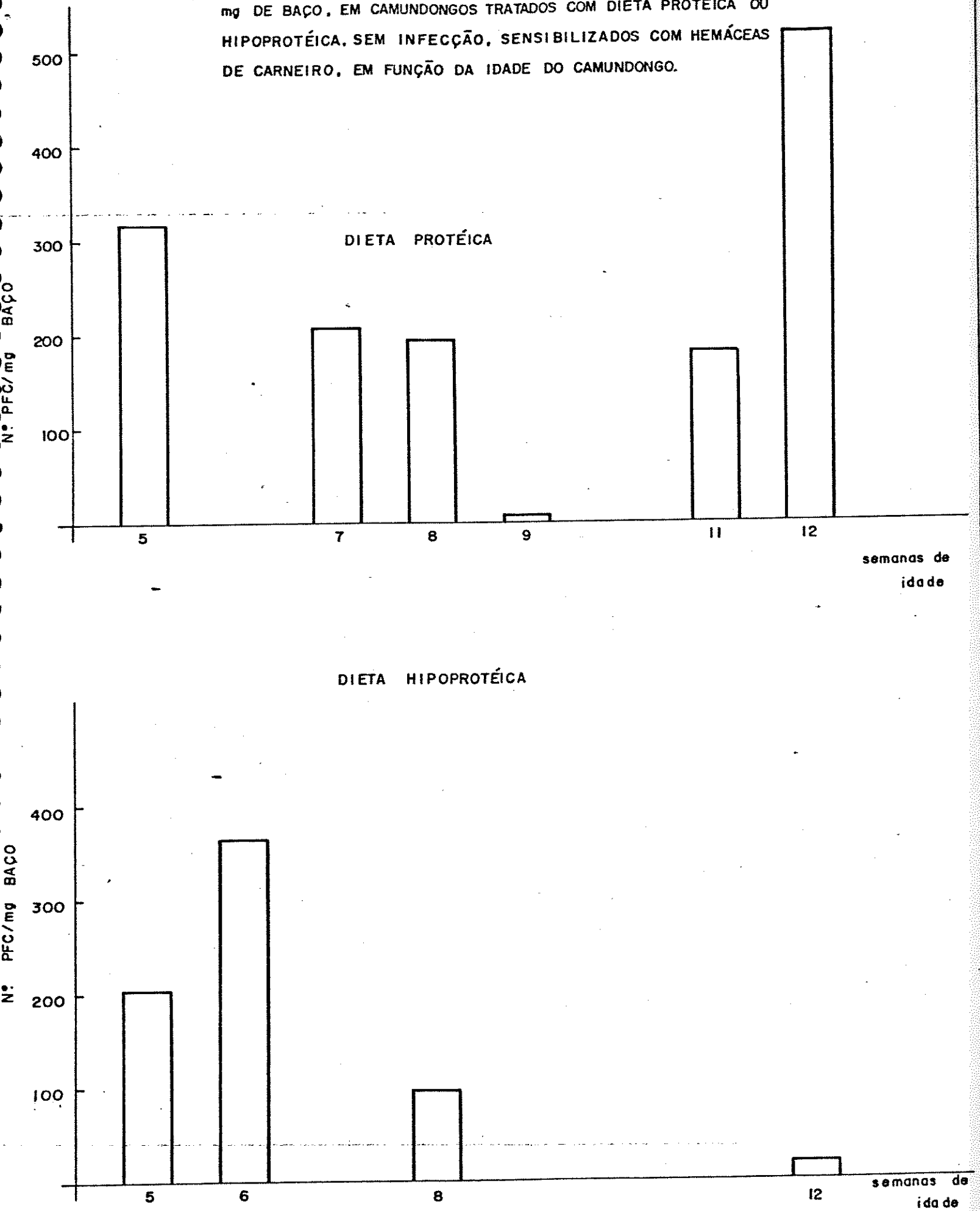


FIG. 7 - DIAGRAMA DE NÚMERO DE PLACAS HEMOLÍTICAS/mg DE BAÇO DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTEICA E HIPOPROTEICA, SENSIBILIZADOS COM HEMÁCIAS DE CARNEIRO, SEM INFECÇÃO PELO Schistosoma mansoni.

FIG. 8 - NÚMERO DE CÉLULAS FORMADORAS DE PLACAS HEMOLÍTICAS (PFC) POR 70
mg DE BAÇO, EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM DIETA PROTÉICA OU
HIPOPROTÉICA, SEM INFECÇÃO, SENSIBILIZADOS COM HEMÁCEAS
DE CARNEIRO, EM FUNÇÃO DA IDADE DO CAMUNDONGO.



4. D I S C U S S Ã O

4.1. - Penetração das cercárias.

A deficiência protéica nos camundongos não afetou significativamente a penetração das cercárias no hospedeiro, possivelmente em função do curto período (10 dias) de vigência da dieta antes da infecção. Estes resultados são concordantes com KNAUFT & WARREN (1969) e De WITT (1957).

COUTINHO-ABATH (1962) verificou que nas infecções primárias pelo *S. mansoni*, a reação inflamatória observada durante a penetração da cercária na pele foi transitória, porém mais evidente em camundongos tratados com dieta hiperprotéica (60% de proteína). Este autor não estudou a recuperação dos vermes no decorrer da infecção.

4.2. - Número de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

Em nosso trabalho, o número de vermes recuperados, obtido em cada tratamento pareceu indicar que o tempo de infecção e a dieta definiram as diferenças de comportamento do hospedeiro frente a infecção. Apesar da dieta protéica permitir o desenvolvimento de maior número de vermes até a oitava semana de infecção, no período subsequente, nos animais subnutridos, houve maior sobrevivência dos trematódeos em relação ao constatado nos camundongos normoprotéicos (Fig. 3). Estes resultados estão de acordo com os DeWITT (1957a) que obteve 69% a mais de vermes na dieta deficiente em fator 3, Vitamina E e cistina.

4.3. Desenvolvimento e tamanho de vermes adultos de *S. mansoni*.

A dieta hipoprotéica induziu um retardamento na maturação dos vermes adultos, provocando atraso de uma semana no início da oviposição em camundongos subnutridos. Este fato reflete que a associação da desnutrição com esquistossomose induz um efeito antagônico sobre o parasita, pois os vermes têm sua vitalidade diminuída. Além disso, os trematódeos, recuperados sob a vigência da deficiência proteica, sofreram uma redução do comprimento, conforme ilustrado nas Figuras 1 e 2. Vermes fêmeos tiveram seu tamanho reduzido em 22,4% e os machos em 18,0%. A análise da frequência do comprimento destes vermes em cada tipo de dieta, nos mostrou que, na oitava semana de infecção, o desenvolvimento da população de helmintos, no ambiente fornecido pelos roedores subnutridos, foi muito mais assincrônico (Figuras 1 e 2).

Camundongos desprovidos de linfócitos T apresentaram atraso de alguns dias para o início da oviposição, embora o número de vermes nestes animais não estivesse alterado em relação aos camundongos normais. (DOENHOFF *et al.* 1979; HARRISON & DOENHOFF, 1983). Esta interessante observação nos fez suspeitar que a própria dieta hipoprotéica simulasse uma deficiência imunológica, fato este que discutiremos mais adiante.

Vários fatores têm sido descritos como capazes de alterar a fertilidade do esquistossomo, tais como a desnutrição (KNAUFT & WARREN, 1969), o hipertireoidismo (ABDEL-WAHAB *et al.*, 1971), a hipofisectomia (KNOPF & SOLIMAN, 1980), a injeção de Silbestrol (ROBINSON, 1970) e a diabetes por aloxana (MAGALHÃES *et al.*, 1978). De WITT

(1957) e DE MEILLON & PATERSON (1958) sugeriram que a desnutrição do hospedeiro acarreta lesões no sistema reprodutor dos vermes. Em trabalho anterior, realizado em nossos laboratórios, MAGALHAES *et al.* (1986) observaram que não houve diferença significativa do número de lobos testiculares entre vermes oriundos de roedores submetidos à dieta protéica e a dieta hipoprotéica com 4% de caseína. Ficou evidenciado que vermes fêmeos apresentavam sempre um ovo perfeito no útero. O número de granulomas hepáticos em camundongos subnutridos e o tamanho das lesões estavam reduzidos.

4.4.- Número de granulomas hepáticos.

Outra investigação que se fez necessária foi a determinação do número de granulomas hepáticos presentes em cada dieta, tanto por meio de homogeneização do tecido hepático total, como pela quantificação em corte histológico. Os resultados obtidos na homogeneização do fígado inteiro, nos pareceram, à primeira análise, bastante incoerentes aqueles obtidos pela análise dos cortes histológicos. A Figura 4 trata da relação de número de granulomas hepáticos por casal de esquistossomos pela técnica de homogeneização, da 6ª até a 10ª semana de infecção, para ambas as dietas. A análise deste gráfico indicou que existiram mais granulomas por casal de vermes nos hospedeiros subnutridos, na 7ª e 10ª semanas. A interpretação desta aparente incoerência deve levar em consideração que os granulomas considerados nesta técnica e que foram submetidos à contagem em microscópio estereoscópico, eram muito menores e apresentaram-se isolados, no caso de fígado de animal subnutrido. Já os granulomas oriundos de roedores que rece-

biam a dieta protéica, não se desfaziam fácilmente na homogeneização, e apresentavam-se em grupos e, na contagem, eram predominantemente representados por granulomas contendo 3 a 6 ovos.

Em consequência deste fato, aparentemente, a dieta hipoprotéica pareceu permitir a formação de maior número de reações granulomatosas. Estes dados devem ser analisados juntamente com os constantes na Tabela 9, que trata da frequência da distribuição de granulomas hepáticos em corte histológico. Desta forma, os resultados obtidos provaram que a dieta hipoprotéica provocou menor distribuição de granulomas no fígado, principalmente na 8ª e 11ª semanas de infecção. A redução de distribuição dos granulomas hepáticos na 7ª e 11ª semanas, na dieta hipoprotéica correspondeu, respectivamente, a 42% e 46,4% com relação aos respectivos valores da dieta protéica. Convém ressaltar que, apesar da maior recuperação de vermes em camundongos com deficiência protéica, possivelmente estes helmintos não alcançaram a plena maturidade sexual.

4.5. Influência da subnutrição no tamanho de granulomas hepáticos.

Sabe-se que a resposta granulomatosa ao *S. mansoni* representa uma reação mediada por linfócitos T a antígenos solúveis dos ovos, cuja máxima reação normalmente se dá na oitava semana de infecção. (BOROS & WARREN, 1970 ; CHENSUE & BOROS , 1979a) . Após este período, outros granulomas recém-formados tornam-se menores, o que representa o fenômeno da modulação (CHENSUE & BOROS , (1979). Outro mecanismo adicional envolvido na imunopatologia da esquistossomose experimental foi proposto por DE BRITO *et al.* (1983). A constatação de imu-

ne-complexos (IgG e C3) junto aos granulomas, funcionaria como uma barreira local humoral, atuando na neutralização de antígenos liberados através da concha de ovos do trematódeo.

Alguns parâmetros foram determinados neste trabalho para que fosse investigada a possibilidade da influência da desnutrição sobre a imunomodulação aos granulomas hepáticos. Na Tabela 10, onde podemos examinar a evolução do tamanho dos granulomas hepáticos em ambas as dietas, da 6ª até 11ª semanas de infecção, observamos que os granulomas produzidos em camundongos subnutridos tiveram seu tamanho reduzido significativamente na 10ª semana, em comparação ao respectivo controle normoproteico. Entretanto, o aumento progressivo de tamanho destes granulomas na dieta hipoprotéica, pode ser reflexo de uma demora na expressão da imunomodulação ou até mesmo da não existência deste mecanismo. Infelizmente, não coletamos material posterior à 11ª semana para esta verificação, o que não nos deu oportunidade de estabelecer se a imunomodulação realmente se processa na subnutrição. O fato real é que granulomas que se desenvolveram no regime protéico, expressaram modulação, pois o tamanho dos granulomas na 11ª semana diminuiu 9,8%.

Os achados que demonstraram a diminuição da reação granulomatosa em hospedeiros subnutridos foram interpretados como supressão da resposta imune mediada por células (WARREN *et al.*, 1967 ; KNAUFT & WARREN , 1969 e AKPOM & WARREN , 1975). Em 1981, AKPOM testou a capacidade de ovos, retirados de hospedeiros subnutridos, induzir granulomas em camundongos sem deficiência protéica. Concluiu que o principal responsável pelo efeito supressor foi o próprio ovo e não só o estado imunológico do hospedeiro.

A utilização de camundongos atímicos submetidos a reinfeção pelo *Schistosoma mansoni* evidenciou que o desenvolvimento da resistência, hipersensibilidade dos granulomas, sua modulação espontânea e a mortalidade do hospedeiro ao verme, são regulados por mecanismos dependentes de linfócitos T. Camundongos atímicos não se mostraram capazes de expressarem modulação espontânea dos granulomas e apresentaram mortalidade aumentada, suportando, no máximo, 16 semanas de infecção (PHILLIPS *et al.*, 1980). Estes resultados são compatíveis com os obtidos em nossos experimentos com animais subnutridos e nos indicam que possam ser roedores portadores de deficiência imunológica.

4.6.- Mortalidade dos camundongos .

A alta mortalidade observada no hospedeiro subnutrido infectado demonstrou que a desnutrição exerceu efeito sinérgico sobre o parasitismo, observação esta que concorda com COUTINHO (1980) e MAGALHÃES *et al.* (1986).

Nossos resultados de recuperação de vermes indicaram que a desnutrição, apesar de favorecer a sobrevivência do parasita, induziu um agravamento da infecção, levando o hospedeiro à morte em 16 semanas. Este comportamento nos parece muito similar ao observado em hospedeiros submetidos a depleção de linfócitos T.

RASO *et al.* (1983) determinaram que em camundongos timectomizados ao nascer e infectados com 60 cercárias de *Schistosoma mansoni*, a recuperação dos vermes (média de 30 casais por roedor), encontrados na veia porta hepática, foi maior que o respectivo controle (média de 10 casais por roedor). A infecção esquistossomótica mostrou-se

responsável pelos fenômenos necróticos degenerativos dos hepatócitos em animais com depleção de linfócitos T.

A mortalidade dos camundongos doentes, com depleção de linfócitos T pode ser provocada pela contaminação da lesão hepática com bactérias de origem intestinal. (BUCHANAN, FINE & COLLEY, 1973), capazes de desenvolver toxemia e septicemia.

ROCHA, KIRK & HEAREY (1971) já haviam reportado que pacientes esquistossomóticos eram portadores de prolongada bacteremia por *Salmonella*. Segundo OTTENS & DICKERSON (1972), a bactéria ficaria no ceco do trematódeo, protegida da ação do antibiótico sendo que a regurgitação dos vermes provocaria a reinfeção e a bacteremia.

4.7. O Fígado no animal subnutrido, esquistossomótico

Levando-se em consideração que os efeitos da desnutrição interferem na capacidade funcional de linfócitos, e que a resposta inflamatória frente a ovos de *Schistosoma mansoni* resulta da mediação de linfócitos T (BOROS & WARREN, 1970), como justificar a alta mortalidade dos camundongos subnutridos à infecção pelo *S. mansoni*?

LICHTENBERG (1964) sugeriu que os granulomas imunes favorecem o hospedeiro, de modo permitir a retenção de produtos tóxicos dos ovos do *Schistosoma mansoni*. Outra evidência experimental que compatibiliza esta hipótese, refere-se a ocorrência de reações hepatotóxicas agudas em camundongos imunossuprimidos, esquistossomóticos (BYRAM & LICHTENBERG, 1977; LUCAS *et al.*, 1980).

DOENHOFF *et al.* (1981) observaram em camundongos timectomizados, infectados com *Schistosoma mansoni*, lesões microvesiculares

de hepatócitos. Prevenção destas citadas lesões pode ser obtida mediante injeção de soro imune, obtido da fase crônica de camundongos esquistossomóticos, não timentomizados

Posteriormente, DOENHOFF *et al.* (1986) elaboraram uma extensa revisão bibliográfica que foi interpretada de modo a permitir a conclusão de que no processo imunopatológico desencadeado pelo *S. mansoni*, a resposta granulomatosa contribui para permitir a sobrevivência do próprio parasita, além da proteção do hospedeiro

Um estudo histopatológico minucioso foi executado por RASO *et al.* (1983) em camundongos timentomizados ao nascer e infectados com *S. mansoni* aos 30 dias de idade. Este estudo foi realizado no período anterior correspondente à oviposição e sete semanas após infecção. Além da diminuição do desenvolvimento dos granulomas do escasso exsudato inflamatório ao redor dos ovos, foi possível visualizar lesões graves no fígado de camundongos com 7 semanas de infecção e sem qualquer reação inflamatória.

A análise histopatológica do fígado de camundongos subnutridos, por nós realizada não revelou evidências de hepatite ou danos celulares mais sérios. Entretanto, como todos os fígados observados foram perfundidos, a lesão mecânica pode ter mascarado eventuais lesões de outra etiologia. Nos camundongos submetidos à dieta hipoprotéica, os granulomas apresentaram-se menores e com grande incidência de granulomas isolados. Reações que se desenvolveram na dieta protéica tiveram tendência de envolverem maior número de ovos, quer seja devido a própria integridade imunológica do hospedeiro ou também porque a maior vitalidade dos vermes observados em roedores submetidos à dieta protéica poderia ter proporcionado maior frequência de granulomas no tecido hepático.

Quanto à hepatomegalia decorrente da esquistossomose, os resultados obtidos para cada regime alimentar foram distintos. Os camundongos subnutridos, pelo fato de induzirem retardamento na maturação dos vermes, apresentaram valor máximo de hepatomegalia (9% do peso corporal, cf Tab 11) na 9ª semana, valor este observado já na 7ª semana em camundongos sem deficiência protéica (Tab. 14). A regressão do fígado observada no decorrer do tempo de infecção foi três vezes mais rápida em camundongos subnutridos (14 semanas) do que no grupo controle (42 semanas).

4.8.- O baço no animal subnutrido, esquistossomótico.

Nos roedores infectados, submetidos à dieta normoprotéica, o baço iniciou o processo de aumento de peso a partir da primeira semana de infecção, quando apresentou aumento de 20% no peso. Em ambas as dietas, a esplenomegalia atingiu o máximo na 11ª semana. Entretanto, o baço de animais tratados com dieta de 20% em proteína, continuou seu aumento progressivo, observando-se um segundo pico na 17ª semana de infecção. Este período coincidiu com o maior número de granulomas hepáticos. Estatisticamente foi possível comprovar que a estabilização do número de granulomas hepáticos ocorre entre a 16ª e 18ª semanas. Na 16ª semana, a infecção nos subnutridos atingiu a máxima mortalidade para o hospedeiro.

O processo involutivo do baço não foi concomitante ao processo de involução do fígado em ambas as dietas, pois observou-se que o processo de involução completa do baço não ocorreu. O fígado de camundongo sem deficiência em proteína involuiu de tal forma que regred

lu ao seu peso inicial na 42ª semana de infecção. Camundongos subnutridos foram acompanhados para verificação desta variável apenas até a 14ª semana, dado a alta mortalidade observada, porém, verificou-se o mesmo fenômeno de regressão mais precoce do fígado em relação ao baço.

Estatisticamente foi possível verificar que o aumento de células do baço foi regulado por fatores distintos, de acordo com o nível nutricional do hospedeiro. Em ambos os casos de tratamento alimentar, a sensibilização do animal com hemácias de carneiro provocou aumento no número de células do baço (pag. 89-ap). Os fatores comuns que interferiram nesta variável foram : número total de vermes, número de granulomas e peso do baço. Entretanto, em camundongos sem deficiência protéica, não houve diferença significativa no tempo de infecção, enquanto que houve diferenças significativa quanto ao número de células formadoras de placas hemolíticas. Em camundongos subnutridos, é importante considerar o tempo de infecção como fator indutor de aumento celular do baço, houve diferença significativa da resposta humoral determinada pela técnica de placas hemolíticas (PFC) a hemácias de carneiro. Estes fatos implicam que a população celular que se desenvolveu no hospedeiro subnutrido, no decorrer da esplenomegalia, pode ter comportamento diferente quanto a sua capacidade de produção de anticorpos.

Segundo ANDRADE (1962) a esplenomegalia em camundongos infectados é consequência da hiperplasia das células do sistema retículo endotelial, evidenciada pela demonstração da atividade fosfatase ácida no citoplasma de células reticulares. Nos períodos mais tardios da doença (18ª semana) ocorre congestão venosa com dilatação dos seios

venosos, hiperplasia e hipertrofia da trama reticulínica. Neste mesmo trabalho, o autor comparou a relação percentual do peso do baço com o peso corporal, em função do tempo de evolução da esquistossomose. Apesar de não tecer qualquer comentário a respeito, o citado autor detectou uma redução percentual da proporção entre peso corporal e peso do baço na 6ª semana, tanto no grupo controle como no grupo de animais infectados. Este fenômeno também foi detectado por nós nos camundongos submetidos a todos os tipos de tratamentos, exatamente na 6ª semana (72 dias de idade), tanto para baço como para fígado (Tabelas 11, 12, 13 e 14). Não possuímos interpretação para este fato, que pode ser uma expressão fisiológica do próprio desenvolvimento dos camundongos.

GEBRASE DE LIMA *et al.* (1975) avaliaram o efeito da restrição protéica, na dieta de camundongos, sobre o peso do baço. Concluíram que se a restrição alimentar fosse imposta no desmame ou logo após, o peso corporal e o índice esplênico ficariam, significativamente, reduzidos durante 85 semanas.

BELL *et al.* (1976) verificaram mudanças no tecido linfóide de camundongos mantidos com dieta a 4% de caseína. Durante a privação protéica, os linfonodos mantiveram a capacidade de formar centros germinativos. As células mais atingidas foram as células tronco, células reticuloendoteliais e linfócitos T não migradores. Os linfócitos T recirculantes e linfócitos B residentes sofreram menor alteração. A repopulação foi possível mediante a reabilitação nutricional, iniciando-se pelas células hematopoéticas e linfócitos B do baço. O timo demorou a responder à terapia nutricional.

4.9.- Desnutrição e seus efeitos no tecido linfóide .

A desnutrição experimental tem sido sistematicamente estudada quanto aos seus efeitos no tecido linfóide. A grande parte dos trabalhos indicam um sério comprometimento na proliferação de linfócitos no timo, resultando baixa repopulação nos órgãos linfóides secundários. Estes resultados são concordantes para a população humana.

ASCHKENASY (1973) examinou histologicamente linfonodos poplíteos de ratos com desnutrição protéica, demonstrando que havia redução tanto das zonas timo dependentes como tipo independentes; entretanto, na resposta secundária, a proliferação celular devido ao estímulo antigênico frente a eritrócitos de carneiro comprometeu mais os linfócitos B do que linfócitos T.

BHUYAN & RAMALINGASWAMI (1974) avaliaram o efeito da deficiência protéica sobre a atividade linfoproliferativa de linfonodos mesentéricos de cobaias. O tamanho e o número dos centros germinativos apresentaram-se reduzidos. As células ali contidas apresentaram menor índice mitótico e o tempo de reposição ficou mais longo. O timo destes animais apresentou-se mais atrofiado que os linfonodos. Parece haver um forte comprometimento da proliferação celular nos órgãos linfóides resultante da carência protéica. Este fenômeno também atinge a espécie humana.

Estudos no homem demonstraram alterações de tamanho, peso, número de células e arquitetura dos órgãos linfóides durante a desnutrição. Um achado consistente foi a involução do timo. VINT (1937) e posteriormente TROWELL, DAVIES & DEAN (1954) relataram atrofia do timo como denominador comum na síndrome de kwashiorkor grave.

MUGERWA (1971) analisou o resultado da necrópsia de dez crianças africanas com kwashiorkor e tomou como controle dez crianças que haviam morrido repentinamente por acidentes traumáticos. O estudo do sistema linforreticular destas crianças mostrou que no kwashiorkor, o timo sofreu atrofia grave e encontrava-se em estado de depleção de linfócitos, não havendo distinção entre a medula e o córtex tímico. Foi também observado um número reduzido de corpúsculos de Hassal. Os linfonodos mostraram redução dos folículos linfóides e depleção nas áreas paracorticais. Os folículos linfóides do baço e do apêndice cecal também apresentaram-se atrofiados.

SMYTHE *et al.* (1971) examinando 47 crianças que morreram com kwashiorkor e 23 com marasmus verificaram, histologicamente, que existiam anormalidades em todas com kwashiorkor e somente em 8% das crianças com marasmus. Os achados destes autores são coincidentes com os de MUGERWA, pois o timo apresentava atrofia lobular, perda de diferenciação corticomedular, com significativa redução do número de linfócitos. DOUGLAS & SCHOPFER (1976) também constataram atrofia tímica e poucos corpúsculos de Hassal típicos.

Em relação ao baço humano, SMITH *et al.* (1971) relataram que a média da redução do peso esplênico no caso de marasmus foi de 70% com relação ao grupo controle, e a perda de peso deste órgão no grupo com kwashiorkor, atingiu 54%. Histologicamente, houve notável redução do centro germinativo em 90% dos animais com deficiência proteíca, contra 78% no grupo portador de marasmus. Nos casos de kwashiorkor, 70% apresentaram depleção de linfócitos nas áreas de linfócitos T, ou seja, junto à bainha periarteriolar e à camada paracortical. DOUGLAS & SCHOPFER (1976) encontraram depleção dos folículos primá-

rios, dos centros germinativos e das áreas paracorticalis. Este quadro se repetiu no apêndice e placas de Peyer, em pacientes portadores de desnutrição protéico-calórica.

4.10 Avaliação da atividade de células esplênicas em camundongos subnutridos para produção de anticorpos.

Muitos relatos de resposta imune em camundongos subnutridos, sugerem que o efeito da privação protéica é primariamente sobre linfócitos T e não na atividade de linfócitos B (NARAYANAN *et al.*).

Várias evidências indicam que na desnutrição protéico-calórica moderada e grave, a síntese de DNA pelos linfócitos T encontra-se reduzida (SMITHE *et al.*, 1971 ; CHANDRA, 1972 ; NEWMANN *et al.*, 1975 ; KEILMANN *et al.*, 1976 ; CHANDRA, 1979). Em casos de kwashiorkor, os linfócitos também sofreram redução drástica (SELLMEYER *et al.*, 1962; BURGESS *et al.*, 1974 e SCHOPFER & DOUGLAS, 1976).

Os estudos referentes a resposta primária, pela técnica de imunocitoaderência, nos indicaram que a infecção, por si só, seja no hospedeiro normal ou no subnutrido, acarretou redução drástica da população de células formadoras de rosetas (RFC) com redução máxima ao redor da 8ª e 9ª semanas.

Camundongos subnutridos infectados expressaram redução gradativa da população de RFC, quer tenham sido sensibilizados ou não por HC, assumindo valores mínimos entre a 7ª e 8ª semanas. Mesmo assim, a desnutrição aparentemente preservou a resposta primária de linfócitos ao antígeno T dependente, uma vez que a sensibilização com HC promoveu resposta 8 vezes maior na 10ª semana de infecção, quando com-

parada com o grupo não sensibilizado com HC (Tabelas 18 e 21). Em nenhum caso houve recuperação do estado imunodepressivo provocado pelo *Schistosoma mansoni*.

MOTA-SANTOS *et al.* (1976) constataram imunodepressão em camundongos infectados com *S. mansoni* e sensibilizados com hemácias de carneiro. Esta imunodepressão foi transitória e iniciou-se a partir da 4ª semana, durando apenas 10 dias e desaparecendo gradualmente. Animais com infecção mantida por 50 vermes não se recuperaram da imunodepressão. Posteriormente, MOTA-SANTOS *et al.* (1977) comprovaram que a imunossupressão é induzida por vermes adultos e não pelos ovos. O uso da quimioterapia específica foi capaz de abolir a imunossupressão.

Sabe-se que a resposta "in vitro" da proliferação de linfócitos de camundongos esquistossomóticos apresenta-se profundamente deprimida quando sob ação de mitógenos de célula T (PHA, con A) (PELLEY *et al.*, 1976).

A responsabilidade da inibição da resposta celular também pode estar associada com a presença de um fator inibitório derivado de verme adulto de *S. mansoni*, denominado SDIF, capaz de inibir a transformação do linfócito e a degranulação do mastócito (COHEN, 1982).

A evolução das imunoglobulinas séricas envolvidas na resposta imune de camundongos infectados com *S. mansoni* foi analisada por BASTOS *et al.* (1984) indicando que a resposta primária se dá na segunda semana de infecção, constituída por IgM e IgA. Na 6ª semana inicia-se a resposta secundária, aparecendo aumento relativo de IgA, IgG1 e IgM, que atingem, na oitava semana as seguintes proporções em relação aos níveis correspondentes dos controles: 4,5; 3 e 2 vezes, respectivamente. A falta de anticorpos circulantes entre a 3ª e 5ª

semanas após a infecção, registrado neste mesmo trabalho, coincide com os resultados demonstrados por MOTA-SANTOS *et al.* (1976).

Em pacientes esquistossomóticos, os anticorpos efetores na fase aguda correspondem à IgM (KANAMURA *et al.*, 1978).

A imunossupressão generalizada expressa um fenômeno que favorece a evasão do parasita. A ativação policlonal pode induzir a imunossupressão (COHEN & WARREN, 1982). *Schistosoma mansoni* tem capacidade de induzir ativação policlonal de células B (FISCHER *et al.* 1981)

Verificamos que, independentemente do tipo da dieta, quando os camundongos são infectados pelo *Schistosoma mansoni*, no início da infecção, o nível de rosetas espontâneas (sem -sensibilização com HC) é alto, possivelmente resultante da ativação policlonal nestes animais doentes. (Tab.18). Convém ressaltar ainda que esta resposta chega a zero na sétima semana de infecção, possivelmente pela exaustão dos clones expandidos pela infecção. No caso dos camundongos infectados, sem deficiência protéica, o fenômeno de "exaustão" ocorre na 11ª semana, onde o número de RFC chega a zero (Tab. 22). A constatação definitiva de que existiu uma ativação policlonal no início da infecção em camundongos protéicos, consta na Tabela 22, onde o número de células formadoras de placas hemolíticas na primeira semana, é pelo menos, o dobro dos valores correspondentes observados nas semanas subsequentes.

A resposta humoral medida pela PFC (IgM) contra HC em camundongos, sob qualquer regime alimentar, foi máxima no início da infecção (1ª e 2ª semanas) sendo que, gradativamente, foi diminuindo. Na dieta protéica o menor valor de PFC ocorreu na 17ª semana, curiosa-

mente ,em um baço que apresentou a maior esplenomegalia (7,5 vezes do seu peso no início da infecção -Tab 12). Coincidentemente, este período (17 semanas) foi estimado, estatisticamente, como o correspondente à estabilização do número de granulomas hepáticos para a dieta protéica.

A Fig. 7 ilustra a boa resposta primária de IgM em camundongos sem infecção tratados pela dieta normoprotéica . Devemos destacar que a imunossupressão induzida pela dieta hipoprotéica , expressou na oitava semana (12 semanas de idade) inibição avaliada em 81% de sua capacidade normal de PFC a HC . Camundongos sem deficiência protéica respondem de forma radicalmente oposta, apresentando um aumento de 58,5% sua população de células produtoras de anticorpos IgM .

Da mesma forma que observamos uma supressão da resposta de imunocitoaderência (RFC) em camundongos infectados com *S. mansoni*, foi possível verificarmos que os níveis de resposta humoral, (IgM) em camundongos normoprotéicos ,estão mantidos na primeira semana, tanto nos roedores infectados como naqueles não infectados (respectivamente 338,5 e 337,7 PFC/ mg de baço). A infecção por *Schistosoma mansoni* proporcionou inibição de 85,8% da resposta humoral.

4.11. Efeito da subnutrição e da esquistossomose sobre a imunidade celular

Quando analisamos a resposta mediada por células, no teste de hipersensibilidade cutânea a DNCB, podemos observar que a resposta de camundongos infectados, submetidos aos dois tipos de dieta, foi menor, o que evidencia mais uma vez ,a influência da esquistossomose so-

bre linfócitos T. Em ambos os casos, a análise da mortalidade decorrente da sensibilização, demonstrou que a imunossupressão protegeu o hospedeiro.

CORSINI *et al.*, em 1980, obteve resultado semelhante de supressão da hipersensibilidade retardada a DNFB em camundongos Balb/c que receberam uma fração (Fad) de epimastigota de *T. Cruzii*. A resposta a DNFB estava deprimida em animais que tinham recebido injeção de Fad 3 dias após a sensibilização ou então numa dose única do DNFB, no mesmo dia do "challenge". Neste mesmo trabalho foi possível comprovar que a resposta humoral primária e secundária a HC ficou deprimida em consequência da injeção de Fad das formas epimastigotas do parasita.

Existe a descrição de um fator de baixo peso molecular liberado pelo verme adulto de *S. mansoni* (DSIP), que mostrou-se capaz de inibir a resposta de hipersensibilidade retardada a HC. (CAMUS *et al.*). Em se tratando de nossos resultados, o único caso de morte devido a resposta frente a DNCB, em camundongos infectados, submetidos à dieta normoprotéica, ocorreu exatamente na primeira semana, período que corresponde ainda a presença de esquistossômulos. (Tab.27). Além disso, a visualização macroscópica da reação cutânea ao DNCB no abdômen de animais não infectados, tratados com a dieta proteica, mostrou alto índice de reatividade à droga, chegando às vezes a provocar a ruptura da pele no dia do "challenge". Este fenômeno não ocorreu em camundongos infectados e principalmente naqueles tratados com dieta hipoprotéica.

Existem evidências de que a desnutrição no homem, tanto na PEM aguda como no marasmus adquirido na idade adulta, reflete a resposta deprimida, tanto a nível de linfócitos circulantes como na hipersensibilidade retardada. (BISTRIAN *et al.*, 1975, 1977).

A resposta cutânea de hipersensibilidade retardada tem sido um método rotineiro para avaliação clínica "in vivo" do estado imunológico em indivíduos subnutridos. Os antígenos mais indicados podem ser obtidos de proteína purificada de tuberculina (PPD), *Candida albicans*, *Tricophyton*, antígenos de streptococco: estreptoquinase-streptodornase (SK-SD), bacilos diftéricos e alguns fungos. Nestes casos é imprescindível que os indivíduos tenham tido contato prévio com o antígeno, quer por infecção ou por vacinação. Resposta primária de hipersensibilidade retardada com antígenos aos quais o indivíduo nunca teve contato incluem BCG para indivíduos tuberculina negativos, KLH, além de agentes químicos irritantes como dinitroclorobenzeno (DNCB) e dinitrofluorbenzeno (DNFB). Apesar de não ser imunogênica, a fitohemaglutinina (PHA) também pode ser adotada porque os linfócitos sofrem transformação blástica na pele e expressam hipersensibilidade retardada (FERGUSON *et al.*, 1975 ; NEUMANN *et al.*, 1975).

Todos os autores que utilizaram antígenos de PPD, *Candida albicans*, *Tricophyton* , SK-SD obtiveram resultados de baixa reatividade em indivíduos subnutridos (LLOYD, 1968 ; EDELMAN - 1977; EDELMAN *et al.*, 1973 ; SCHELESINGER & STEKEL , 1947 ; NEUMANN *et al.*, 1975; KEILMANN *et al.*, 1976; CHANDRA , 1972 , 1979 ; Mc MURRAY, 1981). É conveniente ressaltar que a resposta de expressão de hipersensibilidade retardada a tuberculina pode estar diminuída simplesmente na presença de vários tipos de patógenos associados a diversas infecções, tais como difteria, pertussis, escarlatina, influenza, broncopneumonia, sarampo, varicela, hepatite, poliomielite e vacinas virais (SCHELESINGER & STECKEL, 1974).

A falha no mecanismo de indução da hipersensibilidade retardada em indivíduos subnutridos foi questionada por EDELMAN *et al.* (1973), quando avaliou a resposta em crianças sensibilizadas com DNFB e testadas na pele com *Candida*. Além da ausência de resposta a DNFB, a resposta inflamatória estava muito reduzida. No decorrer da terapia nutricional foi possível verificar que tanto a fase de sensibilização, reconhecimento e a resposta inflamatória, estavam profundamente alteradas na PCM. Após 70 dias de terapia nutricional, houve recuperação dos 3 componentes da hipersensibilidade cutânea. Muitos experimentos ainda terão de ser elaborados para evidências concretas sobre a natureza do bloqueio neste tipo de resposta e avaliação da atividade das células envolvidas.

4.12. Efeito isolado da subnutrição sobre a resposta imune.

Quando se considera o efeito isolado da deficiência de proteína, nossos resultados indicam que houve uma perda quantitativa em células produtoras de IgM anti HC (Fig. 7). Este fato pode ser resultante de um desequilíbrio nas subpopulações de linfócitos T e B. Estes resultados concordam com os de KENNEY *et al.* (1968), que observaram em ratos submetidos a dieta hipoprotéica, índices mais baixos de PFC do que no grupo controle.

Paradoxalmente, no teste de linfócitos capazes de formarem rosetas com HC ficou evidenciado (Fig 6), que em camundongos subnutridos, sem infecção, com o decorrer da vigência da dieta hipoprotéica, houve aumento desta população de linfócitos.

ASCHKENASY (1973) encontrou resultado similar de RFC em linfonodos e baços de ratos imunizados com HC, portadores de deficiência protéica. O número destas células por órgão inteiro não se alterou, mas a proporção por 10 linfócitos excedeu muito os valores obtidos no controle. Este fenômeno, aparentemente, significa a redução da população de linfócitos T, uma vez que o timo sofreu atrofia decorrente da deprivação protéica. Da mesma forma, ratos adultos que foram timectomizados aos 25 dias, apresentaram queda do nível de hemaglutinina anti HC, paralelamente ao aumento de RFC/10 linfócitos no linfonodo e baço. É interessante observar que a diminuição da população de linfócitos T devido a privação protéica ou à timectomia no adulto, foram insuficientes para influenciar o fenômeno da imunocitoaderência. As reações de RFC e de hemaglutinação só foram reduzidas quando houve associação dos dois tratamentos.

Apesar da subnutrição ser causa de imunodeficiência secundária, alguns autores defendem que a qualidade da resposta imune na deficiência protéico-calórica, onde se observa a função deficiente de linfócitos T, possa ser compensada por aumento da atividade biológica de outras células.

GARCIA-TAMAYO *et al* (1981) testaram a resposta imune em ratos Sprague-Dawley subnutridos quanto à formação de rosetas (EA) e a citotoxicidade com células de Leydig. Nos ratos subnutridos houve um significativo aumento de linfócitos formadores de rosetas EA e diminuição de unidades das células de Leydig. Os autores sugeriram que ratos subnutridos compensam o "deficit" imunológico aumentando a população de linfócitos K ou então que as relações entre linfócitos Ts e Th estariam alteradas.

Em 1977, CHANDRA já havia relatado que a subnutrição em crianças interferiu de tal modo a população de linfócitos T que aumentou sobremaneira a população de linfócitos "null", implicando em diminuição de linfócitos T sem afetar a população de linfócitos B. Linfócitos "null" expressaram citotoxicidade e suprimiram blastogênese induzida por PHA sobre linfócitos de indivíduos normais.

A ação de células NK em alguns mecanismos regulatórios imunológicos tem sido discutida por parte de vários pesquisadores, uma vez que camundongos atímicos não apresentam maior incidência de tumores primários espontâneos. Nos últimos anos, o estudo destas células tem evidenciado que sua atividade pode ser modulada pelo interferon e pela interleucina 2. As próprias células NK podem sintetizar interferon. Atualmente, estudos revelam seu papel fundamental fisiológico na regulação da hematopoese e da linfopoese. Evidências incontestáveis indicam que células NK afetam a diferenciação, a proliferação e atividade de linfócitos B, demonstrando que linfócitos NK ativados lisam linfócitos ativados com LPS (não restrito ao MHC) e suprimem a resposta primária de PFC a eritrócitos de carneiro, de galinha e a Ficoll trinitrofenilado. Células NK de camundongo também suprimem a evolução de IgM "in vivo". (JAMES & RITCHIE, 1984).

Em revisão recente da função de células NK *in vivo*, no homem, HERBERMAN (1986) destacou o papel destas células em reações inflamatórias e resistência do hospedeiro, desempenhando esta função não só no sangue e no baço, mas também no fígado e pulmões. Tratamento de camundongos com imunomoduladores induz a obtenção de preparações 20 vezes mais concentradas em linfócitos granulares largos (LGL) no fígado e, expressam marcadores característicos de células T, assim como alguns marcadores associados a monócitos ou granulócitos.

O papel de linfócitos NK em camundongos foi estudado por SUZUKI *et al.* (1986) e sugeriram que células NK (ASGM) exibem propriedades supressoras sobre linfócitos B que estejam sofrendo diferenciação espontânea ou induzida por mitógeno. GIAMPIETRI *et al.* (1986) estudaram a cinética de linfócitos NK em camundongos . Animais jovens e aqueles com mais de 12 a 14 semanas apresentam níveis baixos ou não detectáveis de atividade das células NK. A Atividade máxima destas células ocorre quando os camundongos tem 6 a 10 semanas de idade.

A associação da atividade do linfócito NK com o estado nutricional tem recebido atenção de pesquisadores que trabalham na área de nutrição humana. DOWD *et al.* (1986) estudaram 70 pacientes hospitalizados com vários graus de desnutrição , a fim de relacionar imunidade celular com estado nutricional. Observaram que a proliferação de linfócitos à estimulação mitogênica estava deprimida e encontraram correlação significativamente positiva entre a atividade de linfócito NK e a vitamina C. Não encontraram correlação entre as medidas nutricionais e ADCC, ou resposta de linfócitos com PHA ou PWM. Estes resultados sugerem que certos nutrientes individuais, particularmente vitamina C e Zinco, influenciam na imunoreatividade de diferentes subpopulações de linfócitos.

Em adição a este fato, JOSE & GOOD , desde 1973 constataram que a privação protéica aumenta a resistência a virus em várias espécies, tais como galinhas, coelhos, camundongos e homem. Além disso, diminui notavelmente a incidência de vários tumores espontâneos em roedores subnutridos. O mecanismo imunológico possível para explicar a resistência do hospedeiro a tumores foi sugerido em experimentos en-

volvendo ratos subnutridos inoculados com células tumorais. Estes animais não tem anticorpos bloqueadores, pois no animal bem nutrido, existe inibição parcial ou completa da imunidade mediada por células que agem na destruição do tumor. Em camundongos submetidos à dietas com teor menor que 10% em caseína, não apresentam atividade de anticorpos bloqueadores no soro. A ausência destes anticorpos em dieta contendo 5% de caseína foi capaz de produzir danos dez vezes maiores sobre células alvo.

A luz das interações observadas entre a atividade da célula NK com a resposta imunológica, podemos analisar como foi a resposta de observada em camundongos subnutridos, sem infecção, à estimulação com HC, analisando o comportamento "sui generis" destes camundongos quando comparado ao observado no grupo controle. A Tabela 20, ilustra a resposta de PFC com relação a idade do animal. Os resultados da 1ª, 2ª, 4ª e 8ª semana correspondem a idade de 5ª, 6ª, 8ª e 12ª semanas dos roedores. Se realmente a imunidade humoral, neste tipo de resposta primária a HC, estiver sobre o controle de células NK, observamos que, exatamente quando a atividade destas células em camundongos é máxima, os níveis de PFC sofrem uma redução que representa um efeito de aproximadamente 90% de inibição sobre esta população. Quanto ao resultado paralelo de RFC, nada podemos concluir, uma vez que participam vários clones celulares que contribuem para o resultado final na imunocitoaderência. Observamos, no entanto, um aumento na população de células capazes de formarem rosetas a eritrócitos de carneiro nesta população de camundongos subnutridos sem infecção.

Outro mecanismo possível que justifique a baixa produção de anticorpos na resposta primária a hemácias de carneiro foi proposto

por VIA ~~et al.~~ (1986) , onde IgG2b pode modular linfócitos T supressores via receptor Fc para produzir e secretar fatores supressores que deprimem linfócitos B. Neste experimento avaliaram a resposta de PFC a hemácias de carneiro e estes achados podem estar envolvidos no mecanismo de modulação que age na patogênese de doenças provocadas por imune-complexos.

Os mecanismos de supressão da imunidade celular presentes na subnutrição ainda aguardam esclarecimentos sobre as principais questões a nível experimental e clínico. Não se sabe a que nível estão afetadas as subpopulações linfocitárias de B ,Ts, Th, Tdh ,NK, assim como a atividade funcional de linfócitos T quanto a produção de interferon, interleucinas, efeitos de citotoxicidade, fatores humorais supressores e a resposta destas subpopulações celulares frente à terapia nutricional.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

É escasso o conhecimento sobre a interação da esquistossomose com a subnutrição e a resposta imunológica. Decidimos avaliar alguns parâmetros desta interação no campo experimental, utilizando camundongos convencionais da raça C3H/HeJ infectados com 100 cercárias de linhagem BH do *Schistosoma mansoni*.

Os grupos experimentais receberam a dieta ad libitum e ficaram assim constituídos :

animais tratados com dieta normoprotéica (20%) sem infecção.

animais tratados com dieta normoprotéica (20%) infectados.

animais tratados com dieta hipoprotéica (4%) sem infecção.

animais tratados com dieta hipoprotéica (4%) infectados.

Fundamentados nos diferentes tempos de infecção ou na idade dos camundongos, constituímos grupos de animais sensibilizados com hemácias de carneiro ou sensibilizados com 2-4- Dinitroclorobenzeno (DNCB). Foram constituídos também grupos controles compatíveis.

Os parâmetros selecionados para estudo foram:

Penetração de cercárias.

Comprimento dos esquistossomos na oitava semana de infecção

Número de vermes machos, fêmeos e esquistossômulos recuperados do plexo porta-hepático.

Sobrevivência dos esquistossomos.

Número e tamanho de granulomas hepáticos.

Distribuição de granulomas por área de corte histológico hepático

Hepato-esplenomegalia.

Mortalidade do hospedeiro.

Quantificação de células do baço.

Capacidade funcional de células esplênicas formarem rosetas na resposta primária a hemácias de carneiro.

Capacidade funcional de células esplênicas formarem placas hemolíticas (IgM) na resposta primária a hemácias de carneiro.

Resposta de hipersensibilidade retardada frente a DNCB.

Os resultados obtidos foram estatisticamente analisados pelo modelo linear multiplicativo (GLM) e os cálculos executados em computador VAX 11/780 com o "Statistical Analysis System" - SAS.

Classificamos separadamente os efeitos da dieta sobre o parasita e sobre o hospedeiro.

Efeitos da Dieta sobre o Parasita.

1. A deficiência protéica nos camundongos não afetou significativamente a penetração das cercárias nos camundongos.
2. A recuperação de vermes no plexo porta-hepático em camundongos sem deficiência protéica mostrou-se maior até a oitava semana de infecção. No período subsequente a sobrevivência dos esquistossomos foi maior no hospedeiro subnutrido.
3. A dieta hipoprotéica induziu retardamento na maturação do esquistossomo, provocando atraso de uma semana no início do surgimento dos ovos no fígado de camundongos subnutridos.
4. O desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* foi afetado pela deficiência de proteína na dieta, de modo que foi possível observar maior assincronismo nos esquistossomos que se desenvolveram em camundongos

6. A esquistossomose provocou maior grau de hepatomegalia em camundongos sem deficiência protéica. O fígado de camundongo subnutrido regressou ao seu peso original em tempo equivalente a 1/3 do observado para a dieta normoprotéica.
7. Para ambos os tratamentos alimentares, o máximo da esplenomegalia ocorreu na 11ª semana de infecção. Em ambas as dietas, o baço não sofreu involução total, mesmo na fase crônica da doença.
8. Para ambos os grupos de animais, a sensibilização com hemácias de carneiro induziu aumento celular no baço.
9. A infecção por *Schistosoma mansoni* acarretou imunodepressão na resposta primária constatada tanto pela técnica de imunocitoaderência, como pela PFC.
10. Houve ativação policlonal na primeira semana de infecção esquistossomótica, tanto em camundongos subnutridos como nos submetidos a dieta normoprotéica.
11. A dieta hipoprotéica, quando estudada isoladamente, induziu aumento na população de células formadoras de rosetas, na resposta primária a hemácias de carneiro.
12. Camundongos sem deficiência protéica, não infectados, mostraram-se capazes de aumentar 58,5% sua população de células formadoras de placas hemolíticas na 8ª semana (12 semanas de idade) quando avaliados para resposta primária a hemácias de carneiro. Por outro lado, com relação à capacidade de produção de anticorpos IgM contra hemácias de carneiro, avaliada pela técnica de PFC, na 8ª semana (12 semanas de idade), os linfócitos de camundongos subnutridos apresentaram um decréscimo de 81% com relação a resposta padrão avaliada na primeira semana (5 semanas de idade).

13. Os resultados referentes à avaliação da imunidade mediada por células sugerem que a infecção esquistossomótica suprimiu a população de células responsáveis pela hipersensibilidade retardada, sendo que os menores níveis de resposta foram observados em camundongos subnutridos.

Os parâmetros aqui analisados nos permitem concluir que numa população exposta à restrição protéica em sua dieta, a esquistossomose agrava sobremaneira a evolução da doença, aumentando a mortalidade do hospedeiro. A esquistossomose também acarreta imunossupressão irreversível no hospedeiro, quer esteja com dieta padrão, quer esteja submetido à deficiência protéica. Esta imunossupressão afeta várias subpopulações de linfócitos, diminuindo a produção de anticorpos IgM, diminuindo a população de células formadoras de rosetas para eritrócitos de carneiro e imunidade mediada por células. Hospedeiros subnutridos sem infecção pelo *Schistosoma mansoni* revelam baixa produção de células formadoras de anticorpos, reagem mal para hipersensibilidade cutânea tardia e aumentam sobremaneira sua população celular capaz de formar rosetas com eritrócitos de carneiro. As implicações do efeito da subnutrição sobre a atividade de diferentes subpopulações linfocitárias e sobre os mecanismos imunológicos regulatórios ainda aguardam esclarecimentos por parte dos pesquisadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-WAHAB, M.F. , WARREN, K.S. & LEVY, R.P. -1971
Function of the thyroid and the host-parasite relation
in murine schistosomiasis mansoni. J. Inf. Dis. 124:161.
- AKPOM, C.A.-1981. Suppression of granuloma formation
around Schistosoma mansoni eggs in severe protein
malnutrition: the role of the egg. Trans. Roy. Soc.
trop. Med. Hyg. 75: 444.
- AKPOM, C. A. & WARREN ,K.S.-1975. The inhibition of
granuloma formation around Schistosoma mansoni eggs.
VI - Protein, Calorie and Vitamin deficiency. Am. J.
Path. 79 : 435.
- AKPOM, C.A.-1982. Schistosomiasis: nutritional implica
tions. Rev. Inf. Dis. 40: 776.
- ANDRADE, Z.A.-1962. Aspectos experimentais da esplenomegalia da esquistossomose. Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo 4: 249.
- ASCHKENASY, A.-1973. Differing effects of dietary protein deprivation on the production of rosette-forming cells in the Lymph Nodes and the spleen and on the levels of serum haemagglutinin in rats immunized to sheep red blood cells. Immunology 24: 617.
- BASTOS, O.C., RANGEL, H.A., MAGALHAES, L.A. & PIEDRABUENA, A.E.-1984. Evolução das imunoglobulinas envolvidas na resposta imune de camundongos ao Schistosoma mansoni. Rev. Saúde públ., S. Paulo 18:138.
- BEISEL, W.R.-1982a Single nutrients and immunity. Am. J. Clin. Nutr. 35: 407.
- BEISEL, W.R.-1975. Metabolic response to infection. Ann. Re. Med. 26: 9
- BEISEL, W.R.-1982. Synergism and antagonism of parasitic diseases and malnutrition. Rev. Inf. Dis. 4: 746
- BELL, R.G., HALZELL, L.A. & PRICE, P.-1976. Influence of dietary protein restriction on immune competence. II. Effect on lymphoid tissue. Clin. Exp. Immunol. 26: 314.
- BHATTACHARYYA, K.K.-1965. Low protein diet as a factor in the production of experimental schistosomal hepatic fibrosis. J. Path. Bact. 89: 13.

- BHUYAN, U.N. & RAMALINGASWAMI, V. -1974. Lymphopoiesis in protein deficiency. Stathmokinetic and tritiated thymidine uptake studies of the mesenteric lymph node of the guinea pig. *Am. J. Pathol.* 76:315.
- BIOZZI, G., STIFFEL, C., MOUTON, D., LIACOPOULOS-BRIOT, M., DECREUSEFOND, C. & BOUTHILLIER, Y. -1966. Etude du phenomene de l'immuno-cyto-adherence au cours de l'immunisation. *Annales de l'Institut Pasteur*, 110:7.
- BISTRIAN, B.S., BLACKBURN, N.S., HALLOWELL, E. & DEDDLE, R. 1974. - Protein status of general surgical patients. *J. Am. Med. Assoc.* 230: 858.
- BISTRIAN, B.S., BLACKBURN, G.L., SCRIMSHAW, N.S. & FLATT, J.P. - 1975. Cellular immunity in semistarved states in hospitalized patients. *J. Am. Med. Assoc.* 230: 858.
- BOROS, D.L. & WARREN, K.S. -1970. Delayed hypersensitivity type granuloma formation and dermal reaction induced and elicited by a soluble factor isolated from *Schistosoma mansoni* eggs. *J. Exp. Med.* 132: 488.
- BRENER, Z., PELLEGRINO, J. & OLIVEIRA, F.D. - 1956. Terapêutica experimental da esquistossomose mansoni. Aplicação do metodo de isolamento de granulomas de figado de camundongo. *Rev. Bras. Malar. Doenç. trop.* 8: 583.
- BUCHANAN, R.D., FINE, D.P. & COLLEY, D.G. -1973. *Schistosoma mansoni* infection in mice depleted of thymus-dependent lymphocytes. II. Pathology and altered pathogenesis. *Amer. J. Pathol.* 71: 207.
- BURGESS, B.J., VOS, G.H., COOVADIA, H.M., SMYTHE, P.M., PARENT, M.A. & LOENING, W.E.K. -1974. Radio-isotope assessment of PHA-stimulated lymphocytes from patients with protein-calorie malnutrition. *S. Afr. Med. J.* 48 :1870.
- BYRAM, J.E. & LICHTENBERG, F.V. -1977. Altered schistosome granuloma formation in nude mice. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 26: 944.
- CAMERON, E. & PAULING, L. -1974. The orthomolecular treatment of cancer. I - The role of ascorbic acid in host resistance. *Chem. Biol. Interact.* 9: 273
- CAMUS, D., NOSSEIR, A., MAZINGUE, C. & CAPRON, A. -1981. Immunoregulation by *Schistosoma mansoni*. *Immunopharmacology* 3: 193.
- CHANDRA, R.K. & NEWBERNE, P.M. -1977. Nutrition, Immunity and Infection. New York: Plenum

- CHANDRA, R.K.-1979. Nutricional deficiency and susceptibility to infection. Bull. W.H.O. 57: 167.
- CHANDRA, R.K.-1977. Lymphocyte subpopulations in human malnutrition: cytotoxic and suppressor cells. Pediatrics 59: 423.
- CHANDRA, R.K.-1972. Immunocompetence in undernutrition J. Pediatr. 81:1194.
- CHANDRA, R.K.-1979a Interaction of nutrition infection and immune response. Acta. Paediatr. Scand. 68: 144.
- CHANDRA, R.K.-1977. Lymphocyte subpopulations in human malnutrition : cytotoxic and suppressor cells. Pediatrics 59: 423.
- CHEMSEW, S.W. & BOROS, D.L. -1979a ,Modulation of granulomatous hypersensitivity I - Characterisation of T-lymphocytes involved in the adoptive suppression of granuloma formation in Schistosoma mansoni infected mice. J. Immunol. 123: 1409.
- CHEMSEW, S.W. & BOROS, D.L.-1979. Population dynamics of B lymphocytes in the lymphoid organs, circulating and granulomas of mice infected with Schistosoma mansoni. Am. J. trop. Med. Hyg. 28: 291.
- CLAUSEN, S.W. 1959. - apud Scrimshaw, N.S., Taylor, C.E. & Gordon, J.E.(1959), -" in interactions of nutrition and infection". Am. J. Med. Sci. 367.
- COHEN, S. & WARREN, K.S.-1982. Survival of Parasites in the immunocompetent host - in "Immunology of Parasitic Infections" 2nd ed. by Blackwell Scientific Publications Chapter 6: 138.
- CORSINI, A.C., BELLUCCI, S.B. & COSTA, M.G.-1979. A simple method of evaluating delayed type hypersensitivity in mice. J. Immunol. Meth. 30: 195.
- CORSINI, A.C., COSTA, M.G., OLIVEIRA, O.L.P. , CAMARGO , I. J.B. & RANGEL, H.A.-1980. A fraction (FAd) from Trypanosoma cruzi epimastigotes depresses the immune response in mice. Immunology 40:505.
- COUTINHO, E.M.-1980. Patobiologia da desnutrição nas doenças parasitárias. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, RJ 75: 63.
- COUTINHO-ABATH, E. -1962. Influence of protein intake on the penetration of cercariae of Schistosoma mansoni in the skin of normal and experimentally infected mice. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 4: 230.

- COUTINHO-ABATH, E., MAGALHAES FILHO, A. & BARBOSA, J.M. - 1962. - Lesões hepáticas no camundongo albino experimentalmente infestado por *Schistosoma mansoni* submetido a dietas de diferente teor proteico. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 4: 311.
- COUTINHO-ABATH, E. - 1964. - Esquistossomose Mansônica e Nutrição. Rev. Bras. Malar. Doenç. Trop. 16: 233.
- DE BRITO, T., HOSHINO-SHIMIZU, S., DA SILVA, L.C., KANAMURA H., COSTA, C.M. & PINTO, F.S. - 1983. Immunopathology of experimental schistosome (*Schistosoma mansoni*) egg granulomas in mice. Possible defence mechanisms mediated by local immune complexes. J. Pathol. 140:17
- DE MEILLON, B. & PATTERSON, S. - 1958. Experimental bilharziasis in animals. Effect of a low-protein diet on bilharziasis in white-mouse. S. Afr. Med. J., 32: 1086
- DOENHOFF, M., MUSALLAM, R., BAIN, J. & MCGREGOR, A. - 1979. *Schistosoma mansoni* infections in T-cell deprived mice, and the ameliorating effect of administering chronic infection serum. I. Pathogenesis. Amer. J. Trop. Med. and Hyg., 28: 260.
- DOENHOFF, M.J., HASSOUNAH, O., MURARE, H., BAIN, J. & LUCAS, S. 1986. The schistosome egg granuloma: immunopathology in the cause of host protection or parasite survival? Trans. Roy. Soc. trop. Med. and Hyg., 80: 503
- DOENHOFF, M.J., PEARSON, S., DUNNE, D.W., BICKLE, O., LUCAS, S.S. & BAIN, J. - 1981. Immunological control of hepatotoxicity and parasite egg excretion. In: *S. mansoni* infections stage specificity of the reactivity of immune serum in T-cell -deprived mice. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 75:41.
- DOUGLAS, S.D. & SCHOPFER, K. - 1976. Analytical review: host defense mechanisms in protein-energy malnutrition Clin. Immunol. Immunopathol., 5: 1.
- DOWD, P.S., KELLEHER, J., WALKER, B.E. & GUILLOU, P.J. - 1986 Nutrition and cellular immunity in hospital patients Br. J. Nutr. 55:515.
- DRESSER, D.W. - 1978. Assays for Immunoglobulin secreting cells. In "Handbook of Experimental Immunology" ed. by Oxford Blackwell Scientific Publications.
- De WITT, W.B. - 1957. Experimental Schistosomiasis mansoni in mice maintained on nutritionally deficient diets I - Effects on *Torula* yeast ration deficient in Factor 3, Vitamin E, and cystine. J. Parasitol. 43:119

- De WITT, W.B.-1957a Experimental Schistosomiasis in mice maintained on nutritionally deficient diets. II Survival and development of *Schistosoma mansoni* in mice maintained on a *Torula* yeast diet deficient in Factor 3, Vitamin E and cystine. *J. Parasitol.* 43: 129.
- EDELMAN, R. -1977. Cell-mediated immune response in protein-calorie malnutrition- a review. In : *Malnutrition and the immune response*, edited by R.M. Suskind, New York.
- EDELMAN, R., SUSKIND, R., OLSON, R.E. & SIRIDINHA, S.-1973. Mechanisms of defective delayed cutaneous hypersensitivity in children with protein-calorie malnutrition. *Lancet* 1: 506.
- FERGUSON, A.C., LAWLOR Jr., G.J., NEWMANN, G.C., & STIEHM, E.R.-1975. Transient cellular immunodeficiencies in malnutrition. *Fed. Proc.*, 34: 227.
- FISCHER, E., CAMUS, D., SANTORO, F. & CAPRON, A.-1981. *Schistosoma mansoni*: autoantibodies and polyclonal B cell activation in infected mice. *Clin. exp. Immunol.* 56:89.
- GARCIA-TAMAYO, F., CASTELAN-BRISENO, J. & KUMATE, J. -1981 Malnutrition and Immunity. Effect of malnutrition on the number of rosettes that form splenic lymphocytes in Rats. in *Immun. Abstracts*, 7: 51, resumo 2648
- GEBRASE-de LIMA, M., LIU, R.K., CHENEY, K.E., MICKEY, R. & WALFORD, R.L.-1975. Immune function and survival in a long lived mouse strain subject to undernutrition. *Gerontologia* 21: 184.
- GIAMPIETRI, A., MIGLIORATI, G., FRATI, L. & HERBERMAN, R.B. -1987. in *Immunological Abstract* 12: 34
- GOOD, R.A., FERNANDES, G., YUNIS, R.J., COOPER, W.C., JOSE, D.C., KRAMER, T.R. & HANSEN, M.A.-1976. Nutritional deficiency, immunological function and disease. *Am. J. Pathol.* 84: 599.
- GORDON, J.E., JANSEN, A.A. & ASCOLI, W.-1965. Measles in rural Guatemala. *J. Pediat.* 66: 779
- GROSS, R.L. & NEWBERNE, P.M.-1980. Role of nutrition in Immunologic function. *Physiol. Rev.* 60: 188.
- HARRISON, R.A. & DOENHOFF, M.J.-1983. Retarded development of *Schistosoma mansoni* in immunosuppressed mice. *Parasitology* 86: 429.
- HERBERMAN, R.B.-1986. Natural killer cells. *Ann. Rev. Med.* 37: 347.

- JERNE, N.K., HENRY, C., NORDIN, A.A., FUJI, H., KOROS, A.M. C. & LEFKOVILS, I.-1974. Plaque forming cell. Methodology and theory. Transplant. Rev. 18:347.
- JOSE, D.G. & GOOD, R.A.-1973. Quantitative effects of nutritional protein and calorie deficiency upon immune responses to tumors in mice. Cancer research 33: 807.
- KANAMURA, H.J., HOSHINO-SHIMIZU, S., CAMARGO, M.E. & SILVA L.C. -1979. Class specific antibodies and fluorescent staining patterns in acute and chronic forms of *Schistosoma mansoni*. Am. J. trop. Med Hyg., 28: 242
- KEILMANN, A.A., UBEROL, I.S., CHANDRA, R.K. & MEHRA, V.L. 1976. - The effect of nutritional status on immune capacity and immune responses in preschool children in a rural community in India. Bull. WHO 54: 477.
- KENNEY, M.A., RODERICK, C.E., ARNRICH, L. & PIEDAD, F.-1968 Effect of protein deficiency on the spleen and antibody formation in rats. J. Nutr. 95:173.
- KNAUPT, R.F. & WARREN, K.S.-1969. - The effect of calorie and Protein malnutrition on both the parasite and the host in acute murine Schistosomiasis *Mansoni*. J. Inf. Dis. 120: 560.
- KNOFF, P.M., NUTMAN, T.B. & REASONER, J.A. -1977. *Schistosoma mansoni* : resistance to reinfection in the rat. Exp. Parasit. 41: 74.
- KNOFF, P.M. & SOLIMAN, M. -1980. Effects of host endocrine gland removal on the permissive status of laboratory rodents to infections by *Schistosoma mansoni*. Int. J. Parasitology 10: 197.
- KRAKOWER, C.A., HOFFMAN, W.A. & AXTMAYER, J.H.-1940. The fate of schistosomes (*Schistosoma mansoni*) in experimental infections in normal and vitamin A deficient white rats. Puerto Rico J. Pub. Health and trop. Med. 16:269.
- KRAKOWER, C.A., HOFFMAN, W.A. & AXTMAYER, J.H.-1944. Defective granular eggshell formation by *Schistosoma mansoni* in experimentally infected guinea pigs on a vitamin C deficient diet. J. Infect. Dis. 74: 178.
- LA VIA, M.F., MISERAFI, A., VENZA-TETI, D., TETI, G., GABRIELLI, A. & PAVESE, I.-1984. Depression of direct plaque-forming cell response in mouse spleen cell culture by aggregated IgG2b - induced factors. Immunology Letters 8: 165.

- LATHAM, M.C.-1982. Needed research on the Interactions of certain parasitic diseases and Nutrition in Humans Rev. Inf. Dis. 4: 896.
- LAW, D.K., DUDRICK, S.J. & ABDU, N.I.-1973. Immunocompetence of patients with protein-calorie malnutrition. Ann. Intern. Med. 79: 545.
- LEEVY, C.M., CARDI, L., FRANK, O., GELLENE, R. & BAKER, H. -1965. Incidence and significance of hypovitaminemia in a randomly selected municipal hospital population Am. J. Clin. Nutr. 17:259
- LICHTENBERG, F. Von -1964. Studies on granuloma formation III - Antigen sequestration and destruction in the schistosome pseudotubercle. Amer. J. Path., 45: 75
- LLOYD, A.V.C. -1968. Tuberculin test in children with malnutrition. Br. Med. J. 3: 529.
- LUCAS, S., MUSALLAM, R., BAIN, J., HASSOUNAH, O., BICKLE, O. & DOENHOFF, M.-1980. The pathological effects of immunosuppression of S. m. infected mice, with particular reference to survival and hepatotoxicity after thymectomy and treatment with antithymocyte serum, and treatment with hydrocortisone. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg., 74: 633.
- MAGALHAES, L.A., GUARALDO, A.M.A., BASTOS, O.C., BOSCHERO, A.C., PIEDRABUENA, A.E. & DOTTAVIANO, E.J.-1978. Influência da dieta hiperglicêmica e do diabetes aloxânico sobre a vitalidade do Schistosoma mansoni Sambon, 1907, em camundongos experimentalmente infectados. Rev. Saúde públ. ,S. Paulo 12:267.
- MAGALHAES, L.A., GUARALDO, A.M.A., ZANOTTI-MAGALHAES, E.M., CARVALHO, J.F., SGARBIERI, V.C. & ALCANTARA F.G.-1986. Esquistossomose mansônica em camundongos experimentalmente subnutridos. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 20: 362.
- MAGALHAES, L.A.-1969. Técnica para avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de Schistosoma mansoni em Mus musculus. Hospital, Rio de Janeiro 75: 137.
- MALDONADO, J.F.- 1959. The host-parasite relationships in schistosomiasis mansoni. Bol. Assoc. Med. Puerto Rico (Puerto Rico) 51: 228.
- MEHTA, H.C., SAINI, A.S., SINGH, H. & DHATT, F.S.-1984. - Bio Biochemical aspects of malabsorption in marasmus. Br. J. Nutr. 51: 1

- MOTA-SANTOS, T.A., GAZZINELLI, G., RAMALHO-PINTO, F.J., PELLEGRINO, J. & SILVA, W.D. -1976. Immunodepression in mice following *Schistosoma mansoni* infection. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 18: 246.
- MOTA-SANTOS, T.A., GAZZINELLI, G., RAMALHO-PINTO, F.J., PELLEGRINO, J. & SILVA, W.D. -1976. Immunodepression in mice following *Schistosoma mansoni* infection. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 18: 246.
- MOTA-SANTOS, T.A., TAVARES, C.A.F., GAZZINELLI, G. & PELLEGRINO, J. -1977. Immunosuppression mediated by adult worms in chronic schistosomiasis mansoni. Am. J. trop. Med. Hyg. 26: 727.
- MUGERWA, J.W. -1971. - The lymphoreticular system in kwashiorkor. J. Path. 105:105.
- MURRAY, M.J., MURRAY, A.B., MURRAY, M.B. & MURRAY, C.J. -1978. The biological suppression of malaria : an ecological and nutritional interrelationship of a host and two parasites. Am. J. Clin. Nutr. 31:1363.
- McMURRAY, D.N. -1981. - Cellular immunity changes in undernourished children. Prog. Clin. Res. 67: 305.
- NARAYANAN, L.B., NATH, I., BHUYAN, U.N. & TALWAR, G.P. -1977. Depression of T-cell function and normality of B cell response in protein calorie malnutrition. Immunology 32:345.
- NEUMANN, C.G., LAWLOR Jr, G.L., STIEHM, E.R., SWENDSEID, M. E., NEWTON, C., HERBERT, J., AMMANN, A.J. & JACOB, M. 1975. Immunologic responses in malnourished children. Am. J. Clin. Nutr. 28: 89.
- OTTENS, H. & DICKERSON, G. -1972. Studies on the effects of bacteria on experimental schistosome infections in animals. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 66:85.
- PELLEGRINO, J. & BRENER, Z. -1956. Method for isolating Schistosome granulomas from mouse liver. J. Parasit. 42:564.
- PELLEGRINO, J. & MACEDO, D.G. -1955. - A simplified method for the concentration of cercariae. J. Parasit. 41:329.
- PELLEY, R.P., RUFFIES, J.J. & WARREN, K.S. -1976. Suppressive effect of a chronic helminth infection schistosomiasis mansoni, on the "in vitro" responses of spleen and lymph node cells to the T cell mitogens phytohemagglutinin and concanavalin A. Inf. Immun. 13: 1176

- PHILLIPS, S.M., REID, W.A., DOUGHTY, B.L. & BENTLEY, A. - 1980. The immunologic modulation of morbidity in Schistosomiasis: Studies in athymic mice and in vitro granuloma formation. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 29: 820
- PHILLIPS, S.M. & LAMMIE, P.J. - 1986. Immunopathology of granuloma formation and fibrosis in schistosomiasis *Parasitology Today* 2: 296.
- RAO, V.S., BENNETT, J.A., SHEN, F.W., GERSHON, R.K. & MICHELL, M.S. - 1980. Antigen-Antibody complexes generate Ly1 inducers of suppressor cells. *J. Immunol.* 125:63.
- RASO, P., ROCHA, O.A., PEREIRA, L.H. & TAFURI, W.L. - 1983. Efeito da timentomia neonatal na esquistossomose mansoni experimental. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 16: 112.
- RIVERON, R. & GUTIERRES, J.A. - 1982. - Mortalidad preescolar en las Americas, en el decenio 1970 - 1979: la situacion en Cuba. *Bol. Ofic. Sanit. panamer.*, 92: 293.
- ROBERTSON, E.C. & DOYLE, M.E. 1936. - Higher resistance of rats fed casein than those fed vegetable proteins *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 35: 374
- ROBINSON, E.J. - 1960. Survival and developmental aberrations in *Schistosoma mansoni* following administration of Silbestrol to hosts. *J. Helminthol.* 34: 81.
- ROCHA, H., KIRK, J.W. & HEAREY, C.D. Jr. - 1971. Prolonged *Salmonella* bacteremia in patients with *Schistosoma mansoni* infection. *Arch. Intern. Med.* 128: 254.
- SCHLESINGER, R. & STEKEL, A. - 1974. - Impaired cellular immunity in marasmic infants. *Amer. J. Clin. Nutr.* 27:615.
- SCRIMSHAW, N.S., TAYLOR, C.E. & GORDON, J.E. 1968. - Interactions of nutrition and infection. Geneva: WHO Monogr. Ser. 57:329p
- SELLMEYER, E., BHETTAY, E., TRUSWELL, A.S., MEYERS, O.L. & HANSEN, J.D.L. - 1972. Lymphocyte transformation in malnourished children. *Arch. Dis. Child.* 47: 429.
- SMYTHE, F.M., SCHONLAND, M., BRERETON-STILES, G.G., COOVARIA H.M., GRACE, H.J., LOENING, W.E., MAFOYANE, A PAREMT, M.A. & VOS, G.H. - 1971. Thymolymphatic deficiency and depression of cell mediated immunity in protein-calorie malnutrition. *Lancet* 2: 939.
- STEPHENSON, L.S. & LATHAM, M.C. - 1979. Suppression of malaria by ascariasis? *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 730.
- SUZUKI, S., SUZUKI, R., ONTA, T. & KUMAGAI, K. - 1987. Suppression of B-cell differentiation by natural killer (asialo GMS1+) cells in mice. in *Immunology Abstracts* 12:43

- THANANGKUL, D., DAMRONGSAK, D., VITHAYASAI, V. & OLSON, R. E. 1980. Clinical aspects of protein deficiency with special reference to protein calorie malnutrition (PCM) in children. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 26: 189.
- TROWELL, H. C., DAVIES, J. N. P. & DEAN, R. F. A. -1954. Kwashiorkor. *Nature (London)*, 155:
- VADAS, M. S., MILLER, J. F. A. P., GAMBLE, J. & WHITELAW, A. -1975. A radioisotopic method to measure delayed-type hypersensitivity in the mouse. I - Studies in sensitized and normal mice. *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* 49:670
- VINT, F. W. -1937. Post-mortem findings in natives in Kenya East. *Afr. Med. J.*, 13: 332.
- WARREN, K. S., DOMINGO, E. O. & COWAN, R. B. T. -1967. Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *Am. J. Pathol.*, 51:735.
- WATERLOW, J. C. -1976. Classification and definition of protein-energy malnutrition. *W.H.O. Monogr. Ser.*, 62: 530.
- WATSON, R. R. & McMURRAY, D. N. -1979. - The effects of malnutrition on secretory and cellular immune processes *CRC Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 12: 113.
- WATSON, R. R. & PETRO, T. M. -1984. Resistance to bacterial and parasitic infections in the nutritionally compromised host. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 10: 297.
- YOLLES, T. K., MOORE, D. V., DE GINSTE, D. L., RIPSON, G. A. & MELENEY, H. E. -1947. A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. *J. Parasit.* 33: 419.
- ZUCKERMAN, A. J., & MACDONALD, L. -1964. The role of dietary carbohydrates and infection on liver lipid and collagen. *Brit. J. Exp. Path.* 45: 589.