Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Alba Cristina Miranda de Barros Alencar

Análise parasitológica e morfológica dos efeitos do artesunato e sinvastatina em camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos

Rio de Janeiro

2015

Alba Cristina Miranda de Barros Alencar

Análise parasitológica e morfológica dos efeitos do artesunato e sinvastatina em camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva

Rio de Janeiro

2015

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

A368 Alencar, Alba Cristina Miranda de Barros.
Análise parasitológica e morfológica dos efeitos do artesunato e sinvastatina em camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos / Alba Cristina Miranda de Barros Alencar. – 2015.
113 f.

Orientador: José Roberto Machado e Silva.
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-Graduação em Microbiologia.

1. Esquistossomose - Teses. 2. Dieta hiperlipídica - Teses. 3. Sinvastatina - Teses. 6. Análise parasitológica. 7. Vermes intestinais e parasitários – Teses. 8. Microscopia eletrônica de varredura - Teses. I. Silva, José Roberto Machado e. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.995.122

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

_____ _____

Assinatura Data

Alba Cristina Miranda de Barros Alencar

Análise parasitológica e morfológica dos efeitos do artesunato e sinvastatina em camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Microbiologia Médica Humana.

Aprovada em 16 de janeiro de 2015.

Banca Examinadora: _____

Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva (Orientador)

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

_____

Prof. Dr. Eduardo José Lopes Torres

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

_____

Prof.ª Dra. Deborah Negrão

Universidade Federal de Minas Gerais

_____

Prof.ª Dra. Dra. Simone Cohen

Fundação Oswaldo Cruz

_____

Prof. Dr. Valber da Silva Frutuoso

Fundação Oswaldo Cruz

Rio de Janeiro

2015

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe e minha irmã pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

A Universidade do Estado do Rio de Janeiro/UERJ ao Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz e à Universidade Federal do Rio de Janeiro por possibilitar a elaboração deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por me conceder uma bolsa.

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro de parte desse projeto.

Ao Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva pelo conhecimento que me foi transmitido, pela confiança e paciência. Agradeço imensamente pelo incentivo ao longo destes anos. Sou uma profissional honrada por tê-lo como orientador.

À Profª. Dra. Renata Heisler Neves por ter me dado a alegria de conhecer e acompanhar o trabalho de biólogo desde a iniciação científica. Obrigada por sempre acreditar e estimular o meu potencial. Agradeço, sobretudo pela amizade.

Ao Profº Eduardo José Lopes Torres pela honra de me apresentar a beleza da microscopia eletrônica de varredura. Agradeço por toda contribuição acadêmica dada a este trabalho.

À aluna de iniciação científica Thaís Silva dos Santos por sua grande dedicação em boa parte deste trabalho. Sem a sua presença este trabalho seria ainda mais difícil.

À Dra. Rosangela Rodrigues e Silva do Serviço de Referência Nacional em Hidatidose Laboratório de Helmintos Parasitos de Vertebrados, Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz por aceita realizar a revisão desta tese.

À Dra. Lygia dos Reis Corrêa do Departamento de Malacologia, IOC/Fiocruz pelo fornecimento das cercárias da cepa BH de *Schistosoma mansoni*.

À Dra. Mariana Conceição de Souza do Laboratório de Farmacologia Aplicada Farmanguinhos e à Dra. Monica Farah Pereira do Laboratório de Imunofarmacologia – FIOCRUZ pelo fornecimento do artesunato.

Ao Prof. Dr. José Firmino Nogueira Neto, do Laboratório de Lípides – LabLip - UERJ pela utilização dos equipamentos que permitiram a análise bioquímica das amostras.

Aos Laboratórios de Biologia de Helmintos Otto Wucherer e de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho UFRJ pela utilização dos equipamentos.

À bióloga Thatiany Marinho Departamento de Anatomia/FCM/UERJ pelas belas fotos no microscópio a laser confocal e pela conversa sempre agradável.

Ao Isaac Albert Mallet por todo cuidado e atenção para fotografar os vermes no MEV.

À Vanessa Coelho Góes e à Luciana Brandão por toda ajuda na formatação desse trabalho e pelo companheirismo ao longo desses anos.

À Joyce Gonçalves pelas indagações e sugestões que contribuíram para a ampliação do meu conhecimento e pela divertida companhia no caminho de retorno à casa.

A todos os integrantes do Laboratório de Helmintologia Romero Lascasas Porto, Disciplina de Parasitologia, Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia/FCM/UERJ e, em especial: Regina Maria Figueiredo de Oliveira Michele Costa da Silva, Suellen Eugênio Trindade, Dayane dos Santos, Makoto Enoki e Vanessa Saldanha que colaboraram diretamente ou indiretamente para a elaboração desse trabalho.

Aos professores e funcionários da Disciplina de Parasitologia. Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, FCM/UERJ pelo bom convívio que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Daniel Guerrero pelos bons momentos de reflexão que foram fundamentais na minha jornada.

Aos meus amigos: William, Flavia, Priscila, Thais, Fernanda que sempre torceram para essa realização.

Ao meu namorado Marcio por ser compreensivo com a minha ausência nesses últimos meses. Agradeço por tornar a minha vida ainda mais colorida com o seu amor.

E principalmente, à minha família por todo incentivo, apoio e amor.

É muito melhor arriscar coisas grandiosas,
alcançar triunfo e glória mesmo expondo-se à derrota, do
que formar fila com os pobres de espíritoque nem gozam
muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra
cinzenta que não conhece vitória nem derrota.

Theodore Roosevelt

RESUMO

ALENCAR, Alba Cristina Miranda de Barros. *Análise parasitológica e morfológica dos efeitos do artesunato e sinvastatina em camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos.* 2015. 113 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

A administração por longo prazo de uma dieta rica em gordura favorece o desenvolvimento de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* e a infecção em camundongos. As estatinas são drogas hipolipidêmicas que promovem alterações morfológicas, principalmente no sistema reprodutivo de *S. mansoni* adulto. O artesunato, uma droga antimalárica, reduz o tempo de sobrevivência dos vermes e a eliminação dos ovos *in vitro*. Não se conhece a eficácia destes fármacos na esquistossomose de camundongos hiperlipídicos. Camundongos fêmeas, *Swiss Webster* receberam uma dieta hiperlipídica (29% de lipídios) ou dieta padrão (12% lipídios). Depois de seis meses foram infectados por via subcutânea com 80 cercárias de *S. mansoni* (cepa BH). Após 9 semanas de infecção, os animais foram tratados com sinvastatina ou artesunato, no que resultou nos grupos experimentais: dieta padrão ou dieta hiperlipídica não tratado, dieta padrão tratado com sinvastatina com uma dose durante cinco dias consecutivos, dieta padrão tratado com artesunato com uma dose ou durante cinco dias consecutivos, dieta hiperlipídica tratado com sinvastatina com uma dose ou durante cinco dias consecutivos e dieta hiperlipídica tratado com artesunato com uma dose ou durante cinco dias consecutivos. Duas semanas após o tratamento, os animais foram necropsiados para a coleta de sangue (dosagem de colesterol), intestino (oograma) e vermes (determinação da redução da carga parasitária, análise morfométrica, morfológica, microscopia confocal e de varredura). A análise bioquímica do soro mostrou que os animais que receberam a dieta hiperlipídica apresentaram níveis mais altos de colesterol total do que os controles. O tratamento com sinvastatina teve ação hipolipidêmica (independentemente da dieta), reduziu a carga parasitária, causou alterações no sistema reprodutor e no tegumento principalmente dos vermes recuperados de camundongos dislipidêmicos. A diferença entre as dosagens da sinvastatina não pareceu interferir nas alterações observadas. O artesunato promoveu intensa redução na média de recuperação dos vermes e elevação na taxa de redução parasitária no grupo dislipidêmico. O sistema reprodutor e o tegumento apresentaram alterações moderadas a intensas, principalmente quando relacionado à dieta. O efeito do artesunato foi maior quando administrado em cinco doses em vermes recuperados de camundongos dislipidêmicos. Conclui-se que os fármacos utilizados nesse experimento apresentaram maior eficácia nos grupos de camundongos dislipidêmicos.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*. Modelo murino. Dieta hiperlipídica. Sinvastatina. Artesunato. Análise parasitológica. Vermes adultos. Microscopia laser confocal. Microscopia de varredura.

ABSTRACT

ALENCAR, Alba Cristina Miranda de Barros. *Parasitological and morphological analysis of the effects of artesunate and simvastatin in schistosomiasis and dyslipidemic mice.* 2015. 113f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

The long-term administration of a high fat diet favors the development of adult worms and *Schistosoma mansoni* infection in mice. Statins are hypolipidemic drugs that cause morphological changes, mainly in the reproductive system of *S. mansoni* adult. The artesunate, an antimalarial drug, reduces the survival time of the worms and the elimination of eggs *in vitro*. It is unknow the effectiveness of these drugs in schistosomiasis hyperlipidemic mice. Female mice, Swiss Webster received a high-fat diet (29% fat) or standard diet (12% lipids). After six months were infected subcutaneously with 80 cercariae of *S. mansoni* (BH strain). After 9 weeks of infection, the animals were treated with simvastatin or artesunate, which resulted in the experimental groups: standard diet or a high fat diet untreated standard diet treated with simvastatin or five doses standard diet treated with artesunate or five doses high-fat diet treated with simvastatin with or five doses high-fat diet and treated with artesunate with one or five doses. Two weeks after treatment, the mice were sacrificed to collect blood (cholesterol levels), intestine (oogram) and worms (determination of worm burden reduction, morphometric analysis, morphological, confocal microscopy and scanning). Serum biochemical analysis showed that the animals that received the high-fat diet exhibited higher total cholesterol levels than controls. Treatment with simvastatin had hypolipidemic action (regardless of diet), reduced parasitic load, and caused changes in the reproductive system and especially the integument of worms recovered from dyslipidemic mice. The difference between the simvastatin doses did not appear to interfere with the observed changes. The artesunate promoved intense reduction in mean worm recovery and increase in parasitic rate of reduction in dyslipidemic group. The reproductive system and the integument showed moderate to intense change, especially when related to diet. The effect of artesunate was higher when given five doses of worms recovered dyslipidemic mice. It is concluded that the drugs used in this study had better in groups of dyslipidemic mice.

Keywords: *Schistosoma mansoni*. Murine model. Hight fat diet. Simvastatin. Artesunate. Parasitological analysis. Adult worms. Laser confocal microscopy. Scanning microscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição mundial da esquistossomose em 2011..... 17
Figura 2 – Caramujo do gênero *Biomphalaria*..... 18
Figura 3 – Probabilidade da distribuição espacial do hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* no Brasil; (D) *Biomphalaria spp*..... 19
Figura 4 – Estimativa da distribuição espacial da prevalência da infecção por *S. mansoni* no Brasil..... 20
Figura 5 – Tendências proporcionais da taxa de mortalidade da esquistossomose no Brasil separado por regiões, em 2000-2011..... 21
Figura 6 – Ciclo do *Schistosoma mansoni*..... 22
Figura 7 – Segmento anterior do corpo do macho (à esquerda) e da fêmea (à direita) de *S. mansoni*, mostrando esquematicamente os principais órgãos internos..... 23
Figura 8 – Região anterior do *S. mansoni* mostrando as ventosas oral, ventral (acetábulo) e tubérculos na região dorsal..... 25
Figura 9 – Lobos testiculares do *S. mansoni* macho observado por microscopia laser confocal..... 25
Figura 10 – Vermes adultos de *S. mansoni*. Macho (M) com a fêmea (F) no interior do canal ginecóforo (CG)..... 26
Figura 11 – Tegumento de vermes adultos machos de *S. mansoni* com tubérculos apresentando espinhos..... 27
Figura 12 – Verme adulto fêmea de *S. mansoni*. Ovário (OV) e receptáculo seminal (RS)..... 28
Figura 13 – Granuloma exsudativo com arranjo de fibras no tecido hepático de camundongos infectados experimentalmente por *S. mansoni*..... 29
Figura 14 – *Arthemisia annua*..... 33
Figura 15 – Estrutura química da artemisinina..... 34
Figura 16 – Estrutura química do arteméter e do artesunato..... 34
Figura 17 – Pró-fármaco (SVL) e sua conversão para a forma ativa-hidroácido (SVA)..... 36
Figura 18 – Desenho experimental..... 45

Figura 19 – Imagens de microscopia confocal a laser do tegumento de *S. mansoni* machos adultos recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, d) ou hiperlipídica (b, d, f)..... 55
Figura 20 – Imagens por microscópio a laser confocal dos lóbulos testiculares de *S. mansoni* machos adultos recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, e) ou hiperlipídica (b, d, f)..... 57
Figura 21 – Imagens de microscopia confocal a laser do sistema reprodutivo de fêmeas de *S. mansoni* recuperados de camundongos alimentados com dieta SC (a, c, e) ou HFC (b, d, f)..... 59
Figura 22 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *S. mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta SC (a, c, e) ou HFC (b, d, f)..... 61
Figura 23 – Imagens de microscopia confocal a laser do tegumento de *S. mansoni* machos adultos recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, d) ou hiperlipídica (b, d, f)..... 70
Figura 24 – Imagens por microscópio a laser confocal dos lóbulos testiculares de *S. mansoni* machos adultos recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, e) ou hiperlipídica (b, d, f)..... 72
Figura 25 – Imagens de microscopia confocal a laser do sistema reprodutivo de fêmeas de *S. mansoni* recuperados de camundongos alimentados com dieta SC (a, c, e) ou HFC (b, d, f)..... 74
Figura 26 – Região antero-dorsal mostrando tegumento, tubérculos e canal ginecóforo com aspecto normal..... 76
Figura 27 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *S. mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica... 78
Figura 28 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *S. mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta padrão com tratamento prolongado de sinvastatina..... 80
Figura 29 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *S. mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica com tratamento prolongado de sinvastatina..... 82
Figura 30 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *S. mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta padrão com

tratamento prolongado de artesunato..... 84

Figura 31 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *S. mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica com tratamento prolongado de artesunato..... 86

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Concentração do colesterol total (mg/dL) no soro plasmático de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica submetidos a sinvastatina ou artesunato em dose única..... 47

Gráfico 2 – Média da recuperação dos vermes em camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica..... 48

Gráfico 3 – Percentual da distribuição dos vermes no sistema porta em camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica..... 49

Gráfico 4 – Taxa de redução da carga parasitária nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratados com artesunato ou sinvastatina..... 50

Gráfico 5 – Concentração do colesterol total (mg/dL) no soro plasmático de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica tratamento prolongado de sinvastatina ou artesunato..... 62

Gráfico 6 – Média da recuperação de vermes nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica com tratamento prolongado com artesunato ou sinvastatina 63

Gráfico 7 – Percentual da distribuição dos vermes no sistema porta em camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica..... 64

Gráfico 8 – Taxa de redução da carga parasitária nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratados com artesunato ou sinvastatina..... 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros parasitológicos nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratados com artesunato ou sinvastatina em dose única..... 51

Tabela 2 Número de vermes analisados por grupo de acordo com o tipo de microscopia utilizada..... 52

Tabela 3 – Alterações nos vermes recuperados de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento com artesunato ou sinvastatina em dose única, por via oral... 53

Tabela 4 – Dados morfométricos das fêmeas de *Schistosoma mansoni* recuperados de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento com artesunato ou sinvastatina em dose única, por via oral..... 54

Tabela 5 – Parâmetros parasitológicos nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e com tratamento prolongado de artesunato ou de sinvastatina..... 66

Tabela 6 – Número de vermes analisados por grupo de acordo com o tipo de microscopia utilizada..... 67

Tabela 7 – Alterações nos vermes machos recuperados de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento prolongado de artesunato ou de sinvastatina, por via oral..... 68

Tabela 8 – Número de vermes analisados por grupo de acordo com o tipo de microscopia utilizada..... 69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ApoE	Apoliproteína E
ApoCII	Apoliproteína CII
cepa BH	Cepa isolada de Belo Horizonte
HDL	Lipoproteínas Alta Densidade
HFC	Dieta Hiperlipídica
HFCA	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Hiperlipídica e Tratado com Sinvastatina
HFCA5	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Hiperlipídica e com Tratamento Prolongado de Artesunato
HFCNT	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Hiperlipídica Não Tratado
HFCNT5	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Hiperlipídica Não Tratado
HFCS	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Hiperlipídica e Tratado com Sinvastatina
HFCS5	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Hiperlipídica com Tratamento Prolongado de Sinvastatina
HMG-CoA	Enzima Hidroximetilglutaril-CoA Redutase
LCAT	Enzima Colesterol Acil Transferase
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LPL	Lipoproteína Lipase
SCNT	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Padrão Não Tratado
SCS	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Padrão Tratado com Sinvastatina
SCA	Grupo Infectado Alimentado com Dieta Padrão com Artesunato
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
1	**JUSTIFICATIVA**	38
2	**OBJETIVO**	39
2.1	**Geral**	39
2.2	**Específicos**	39
3	**MATERIAL E MÉTODOS**	40
3.1	**Animais.**	40
3.2	**Dietas**	40
3.3	**Infecção experimental**	40
3.4	**Esquema terapêutico e grupos experimentais**	41
3.5	**Coleta de material biológico**	42
3.6	**Análise bioquímica**	42
3.7	**Quantificação de ovo no tecido (oograma)**	43
3.8	**Recuperação e processamento dos vermes**	43
3.9	**Análises morfométrica e morfológica dos vermes**	44
3.10	**Comitê de ética**	44
3.11	**Análise estatística dos dados**	45
3.12	**Desenho experimental**	45
4	**RESULTADOS**	46
4.1	**Experimentos com animais que foram submetidos à dose única dos fármacos**	46
4.1.1	Análise bioquímica	46
4.1.2	Análise parasitológica	47
4.1.3	Análises morfométrica e morfológica dos vermes	51
4.2	**Experimentos com animais que foram submetidos ao tratamento prolongado**	62
4.2.1	Análise bioquímica	62
4.2.2	Análise parasitológica	63
4.2.3	Análises morfométrica e morfológica dos vermes	66
5	**DISCUSSÃO**	87

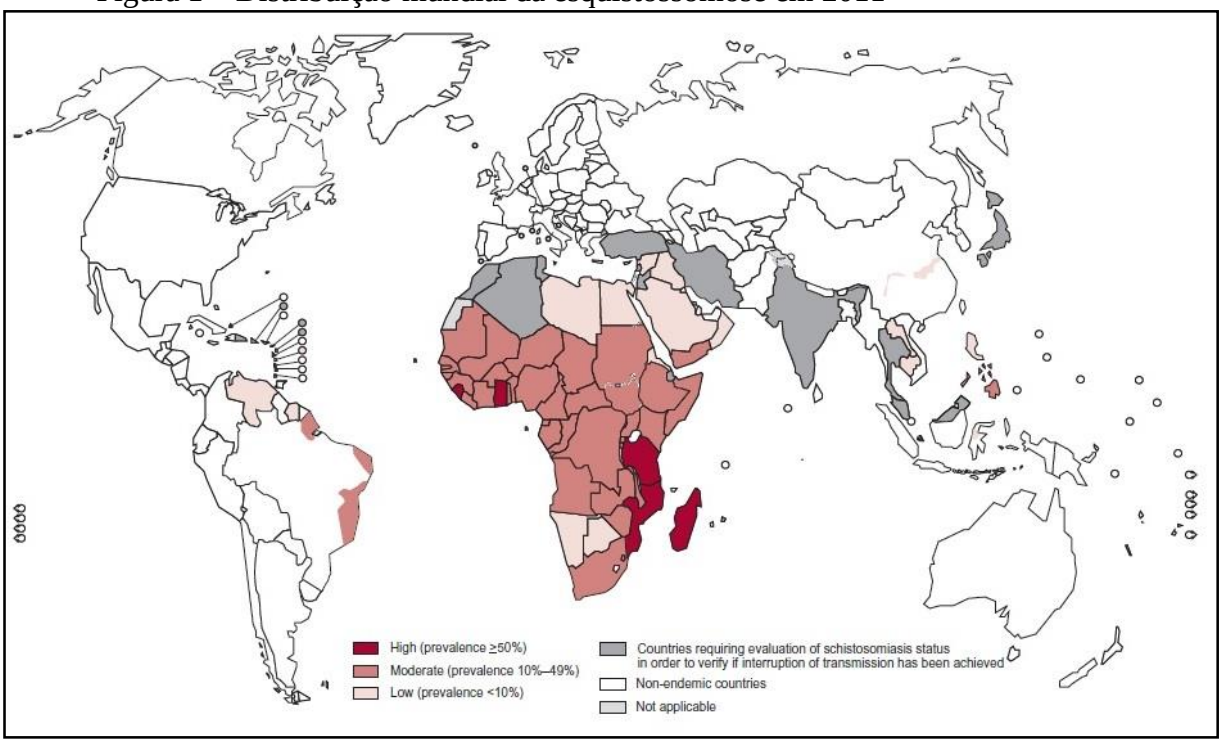
CONCLUSÕES..... 97
REFERÊNCIAS..... 98

INTRODUÇÃO

Esquistossomose mansônica

A esquistossomose causada por um trematódeo do gênero *Schistosoma*, é uma das doenças parasitárias negligenciadas mais prevalentes. Estima-se que 779 milhões de pessoas, mais do que 10% da população do mundo, estavam em risco de esquistossomose nos meados de 2003 e cerca de 207 milhões de pessoas foram infectadas neste período (STEINMANN et al., 2006). A doença é endêmica em 78 países em todo o mundo, mas pesquisas recentes apontam que a transmissão foi interrompida em 19 países (Figura 1). Há um risco de que 240 milhões de novas infecções, sendo que mais de 200 milhões poderão ocorrer (o que representa mais de 90 % dos casos) somente na África (WHO, 2010). A esquistossomose intestinal é causada pelo *Schistosoma mansoni* e atinge a África, sudeste da Ásia, ilhas do Caribe, Venezuela, Bolívia e Suriname (WHO, 2013; 2014).

Figura 1 – Distribuição mundial da esquistossomose em 2011



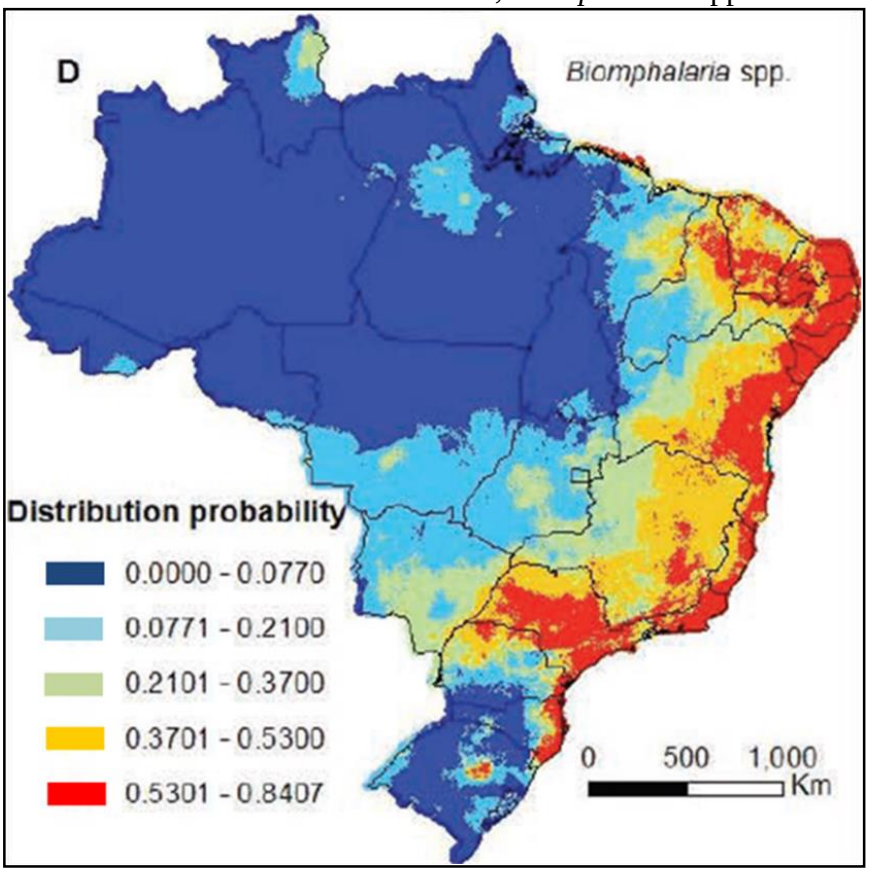
Fonte: WHO, 2013.

O Brasil apresenta uma área extensa de transmissão da esquistossomose, com áreas endêmicas ou focais englobando 19 dos 27 estados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Esta doença vem se expandindo devido a uma série de fatores que estão associados aos altos níveis de pobreza, às precárias condições sanitárias e a presença do hospedeiro intermediário, o caramujo do gênero *Biomphalaria* (Figura 2). Recentemente, um estudo sobre a distribuição espacial da *Biomphalaria spp*. mostrou que há uma relação entre condições climáticas e diferentes espécies de caramujos infectados com o *S. mansoni.* Esses dados são importantes para o programa de controle e eliminação da esquistossomose no país (Figura 3) (SCHOLTE et al., 2012).

Figura 2 – Caramujo do gênero *Biomphalaria*

Fonte:http://www2.uol.com.br/sciam/reportagens/genoma_contra_a_esquistossomose_imprimir.html. Acesso em 11/11/2013.

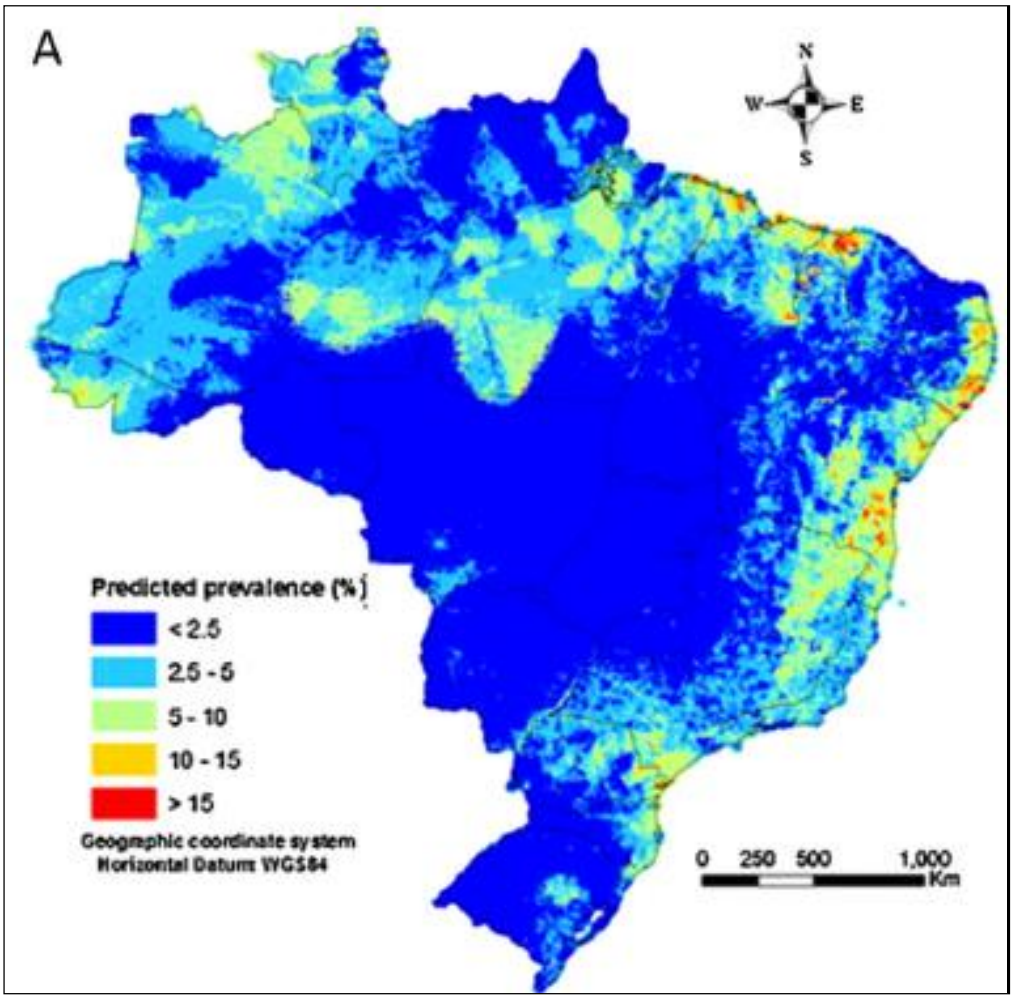
Figura 3 – Probabilidade da distribuição espacial do hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* no Brasil; *Biomphalaria* spp.



Fonte: SCHOLTE et al., 2012.

Atualmente, um mapeamento preditivo mostrou que as áreas de risco elevado estão localizadas na parte nordeste da região Norte, na parte oriental da região Nordeste e na parte nordeste da região Sudeste. A Amazônia, o Centro-Oeste e o Sul são considerados de baixo risco (Figura 4) (SCHOELTE et al., 2014). Estima-se que aproximadamente 2,5-6.000.000 pessoas estão infectadas (5-10% poderão desenvolver a forma hepatoesplênica grave e potencialmente fatais) e 25 milhões que vivem em áreas endêmicas estão em risco de infecção. Entre 1990 e 2010, um número significativo de formas graves foi registrado, com uma média de 1.567 internações anuais e 527 mortes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Somente no ano de 2010, os indicadores de mortalidade de *S. mansoni* revelam uma maior magnitude no estado de Pernambuco, que teve 39,4 % das mortes. A taxa de mortalidade do *S. mansoni* no Brasil foi 0,3 / 100 000 habitantes, enquanto que a de São Paulo foi de 0,2 e de Pernambuco 2.4. Os gastos públicos diretos com a esquistossomose foram de R$ 815 433,04 (US$ 45 027,0), sendo R$ 73 616,54 (US $ 40 989,16) de custos não sanitários diretos (NASCIMENTO & OLIVEIRA, 2013).

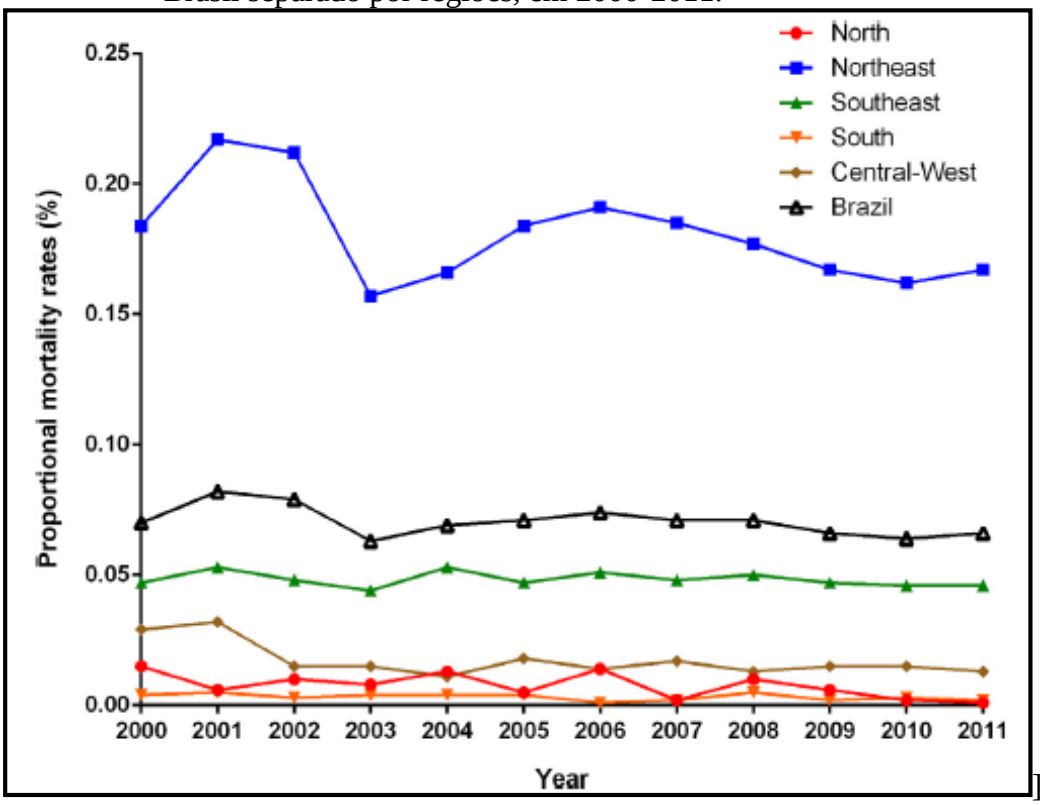
Figura 4 – Estimativa da distribuição espacial da prevalência da infecção por *Schistosoma mansoni* no Brasil.



Fonte: SCHOELTE et al., 2014.

Recentemente foi publicado um levantamento sobre o risco de mortalidade da esquistossomose no Brasil entre os anos de 2000-2011. Os pesquisados verificaram que a mortalidade foi maior nas regiões endêmicas (Nordeste e Sudeste), apesar de ter havido redução na mortalidade de forma geral no país (Figura 5) (MARTINS-MELO et al., 2014).

Figura 5 - Tendências proporcionais da taxa de mortalidade da esquistossomose no Brasil separado por regiões, em 2000-2011.



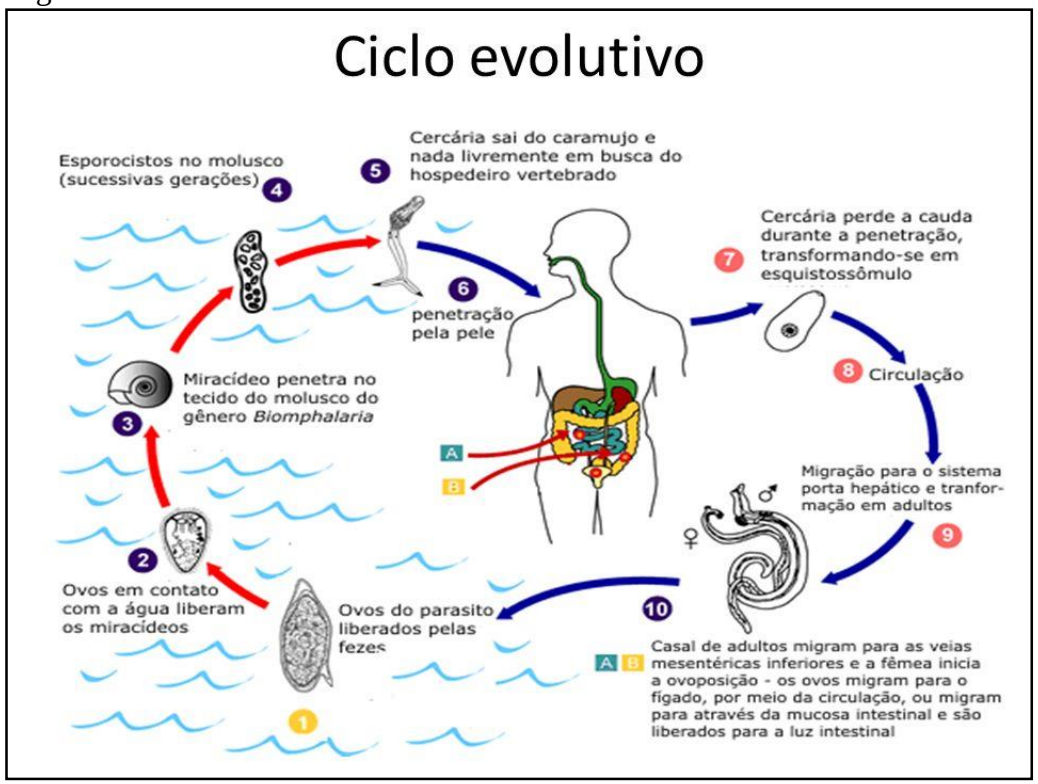
Fonte: MARTINS-MELO et al., 2014.

Ciclo biológico

O hospedeiro vertebrado (homem e algumas espécies de roedores silvestres como o *Nectomys squamipes* e o *Holochilus iciureus*) elimina nas fezes os ovos que em contato com as coleções de água eclodem os miracídios, que nadam através de movimentos ciliares até encontrar o caramujo hospedeiro. Após a penetração neste, o miracídio passa por uma brusca transformação, iniciada pela perda dos cílios e reorganização morfológica e biológica, resultando na produção de esporocistos primários e depois secundários, os quais tem a capacidade de gerar milhares de cercárias que são as formas infectantes para o hospedeiro definitivo, entre eles, o homem. Penetrando ativamente pela pele do hospedeiro definitivo, a cercária perde sua cauda, sofre reorganização, principalmente no tegumento, passando a se chamar esquistossômulo. Esta forma evolutiva migra pela pele até penetrar em um vaso sanguíneo. Uma vez na corrente sanguínea, o esquistossômulo passa pelo coração, pulmão até chegar ao sistema porta intra-hepático, onde se desenvolve tornando-se adulto e acasala. Uma

vez acasalado, os vermes migram para as veias mesentéricas onde ocorre a oviposição (Figura 6) (COLLINS III et al., 2011; GRYSEELS et al., 2006; KING & DANGERFIELD-CHA, 2008). Este ciclo já é reproduzido em laboratórios no mundo inteiro para o estudo *in vivo* e *in vitro* do *S. mansoni* (KEISER, 2012).

Figura 6 – Ciclo do *Schistosoma mansoni*.

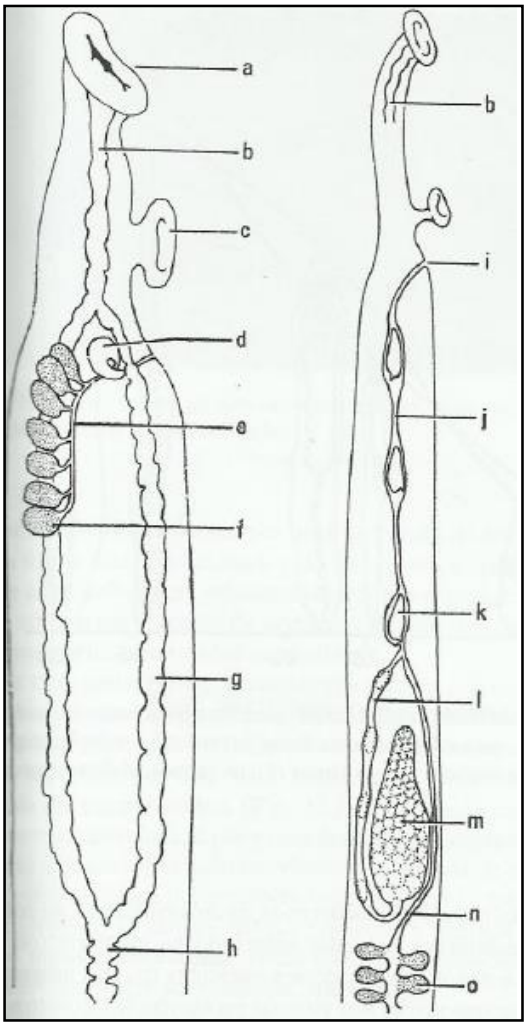


Fonte: http://www.cdc.gov. Acesso em: 11/08/2013 – Modificado do CDC Center for Disease Control and Prevention.

Schistosoma mansoni

Na classe Trematoda encontra-se a família *Schistosomatidae*, que apresenta espécies que tem sexos separados e são parasitos de vasos sanguíneos de aves e mamíferos. A subfamília Schistosomatinae é representada por um nítido dimorfismo sexual (Figura 7), com espécies parasitando humanos e animais (MELO & COELHO, 2011).

Figura 7 – Segmento anterior do corpo do macho (à esquerda) e da fêmea (à direita) de *Schistosoma mansoni*, mostrando esquematicamente os principais órgãos internos.



Legenda: a, ventosa oral e boca; b, esôfago (desenho incompleto na fêmea); c, acetábulo ou ventosa ventral; d, vesícula seminal; e, canal deferente; f, testículo; g, porção média bifurcada do intestino; h, início do ceco; i, orifício genital feminino; j, útero; k, um ovo em processo de formação da casca no oótipo; l, oviduto; m, ovário; n, viteloduto; o, glândulas vitelinas.
Fonte: REY, 2013.

As fases larvares das espécies do gênero *Schistosoma* Weinland, 1858 ocorrem em moluscos gastrópodes aquáticos, principalmente dos gêneros *Biomphalaria*, *Bulinus* ou *Oncomelania*. Os ovos liberados são não operculados, com espinho lateral ou terminal, embrionados (com miracídio) e as formas infectantes (cercárias) penetram por via transcutânea no hospedeiro definitivo.

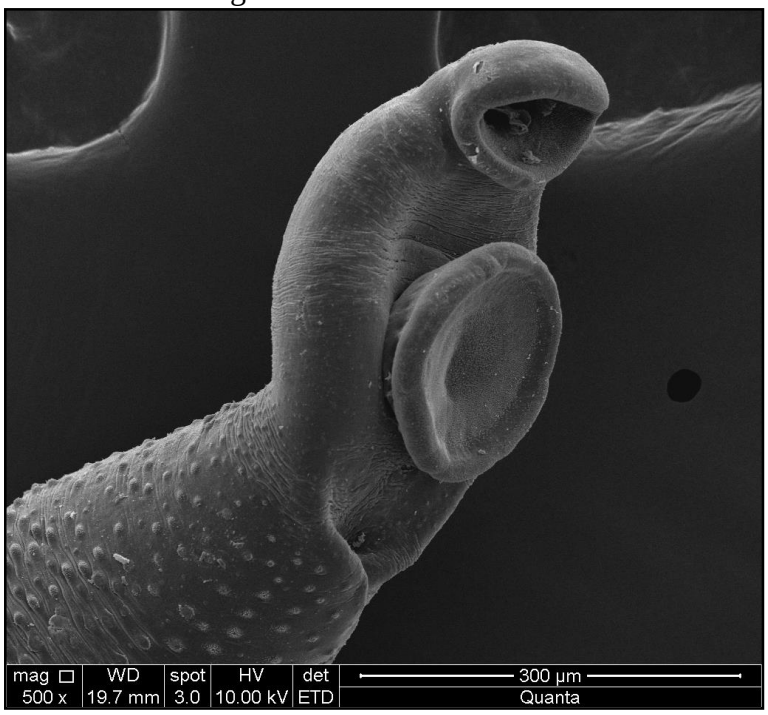
Estudos relacionados com a filogenia e a coevolução do *Schistosoma* apontam que o dimorfismo sexual foi acompanhado de alterações fenotípicas, como afilamento do corpo das fêmeas e o surgimento da protandria nos machos (PLATT & BROOKS, 1997). Sugere-se que

a modificação surgida no corpo das fêmeas seria resultado de diferenças determinadas pela especialização na deposição dos ovos. Nas atuais fêmeas houve redução na capacidade de locomoção e musculatura faringiana, porém elas investiram na produção e seleção de local para postura de ovos. Aparentemente, o papel mais importante dos machos seria não só de garantir a espécie através da fecundação e também, o papel de transporte das fêmeas para as pequenas vênulas para a oviposição e a ajuda na ingestão de sangue (BASCH, 1990).

Outros caracteres morfológicos, como o canal ginecóforo e os lóbulos testiculares não foram considerados como determinantes na mudança para sexos separados (MORAND & MULLER-GRAF, 2000). Esses autores admitem a possibilidade de ter ocorrido uma seleção sexual determinada pela desproporção entre machos e fêmeas, com maior número de machos presentes em infecções naturais ou experimentais (MORAND & MULLER-GRAF, 2000).

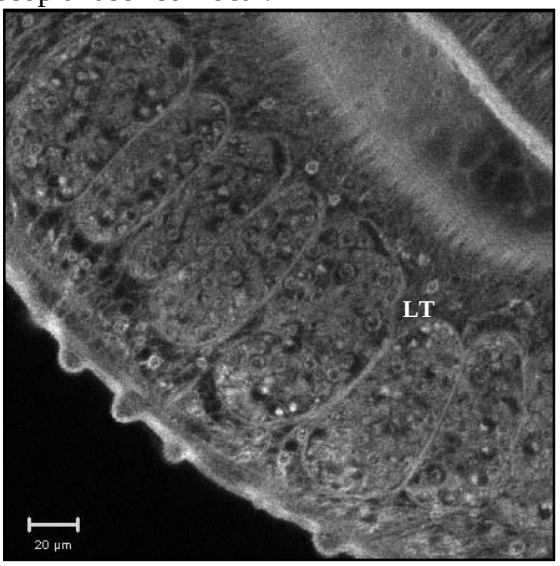
Os esquistossômulos chegam ao fígado e começam a se desenvolver em vermes adultos. O macho adulto apresenta cerca de 1 cm. Na região anterior estão presentes as ventosas oral e ventral (acetábulo), maior e mais proeminente do que a ventosa oral (Figura 8). Abaixo da ventosa oral há o esôfago, que se bifurca na altura do acetábulo e se funde depois formando um ceco único que irá terminar na extremidade posterior. Logo atrás do acetábulo são encontradas de sete a nove testículos ou massas testiculares (Figura 9), que produzem esperma que é eliminado no canal ginecóforo ou passado para a fêmea por meio que de um cirro na extremidade anterior desse canal (Figura 10) (COLLINS III et al., 2011; MELO & COELHO, 2011).

Figura 8 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da região anterior do *Schistosma mansoni* mostrando as ventosas oral, ventral (acetábulo) e tubérculos na região dorsal.



Fonte: Laboratório Romero Lascasas Porto, UERJ, 2014.

Figura 9 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da região anterior dos lobos testiculares do *Schistosoma. mansoni* macho observado por microscopia laser confocal.



Fonte: Laboratório Romero Lascasas Porto, UERJ, 2014.

Figura 10 – Vermes adultos de *Schistosoma mansoni*.

Legenda: Macho (M) com a fêmea (F) no interior do canal ginecóforo (CG).
Fonte: Laboratório Romero Lascasas Porto, UERJ, 2014.

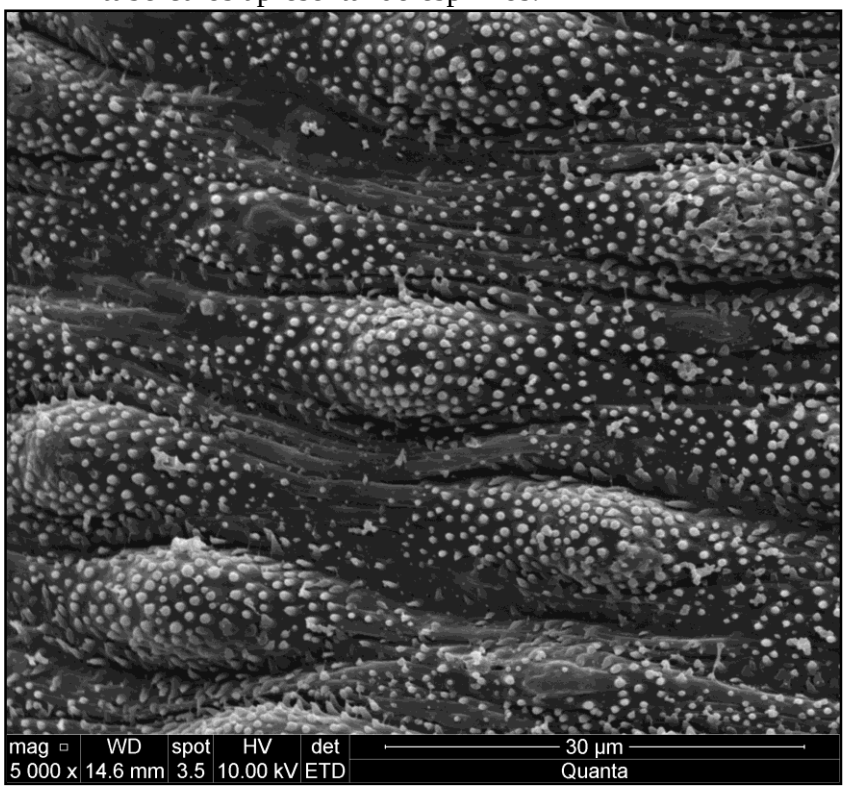
Os vermes adultos exibem um intestino funcional que está envolvido na ingestão e digestão de células e presumivelmente macromoléculas, enquanto existe um intenso tráfego de moléculas pequenas pelo tegumento destes organismos. O revestimento externo dos vermes adultos é formado por uma citomembrana que mostra, à microscopia eletrônica de transmissão, possuir sete camadas e, na superfície exterior, uma camada poliônica, constituindo o glicocálix, rico em carboidratos. Esse revestimento se renova continuadamente, visto que é formado pela interface entre o parasito e o hospedeiro e parece ser a rota principal para a absorção de glicose, aminoácidos e outros nutrientes de tamanho semelhante, assim como a excreção de produtos catabólicos, tais como o ácido láctico (CORNFORD et al., 1981; CORNFORD & HVOT, 1981; CORNFORD et al., 1983; BRYANT, 1993; CAMACHO & AGNEW, 1995). Além disso, pela sua hidrofobicidade, as membranas superficiais do tegumento também se ligam uma ampla variedade de moléculas hospedeiras, as quais incluem o radical glicolípido das substâncias do grupo sanguíneo e proteínas, tais como os antígenos de histocompatibilidade, imunoglobulinas e muitos outros (GOLDRING et al., 1976).

O tegumento dos machos contém inúmeros pequenos tubérculos, mais abundantes na superfície dorsal (externa) do segmento posterior. Esses tubérculos apresentam vários espinhos e receptores sensoriais quando observados ao microscópio eletrônico de varredura (Figura 11).

A fêmea apresenta um corpo cilíndrico, mais longo e fino que o macho (1,2 a 1,6 cm). Seu tubo digestivo costuma estar repleto de hemozoína (derivado da digestão do sangue) e por esse motivo, apresenta a coloração escura. Contém duas ventosas muito pequenas. Abaixo da ventosa ventral há a vulva, o útero e o ovário (Figura 12). Esse é oblongo, ligeiramente lobado, e fica na metade anterior do corpo. Um oviduto curto conduz ao oótipo, que se continua com o tubo uterino. Neste são encontrados um ou dois ovos. O poro genital feminino, por onde saem os ovos, abre-se ventralmente, pouco atrás do acetábulo e serve também para a cópula (REY, 2013).

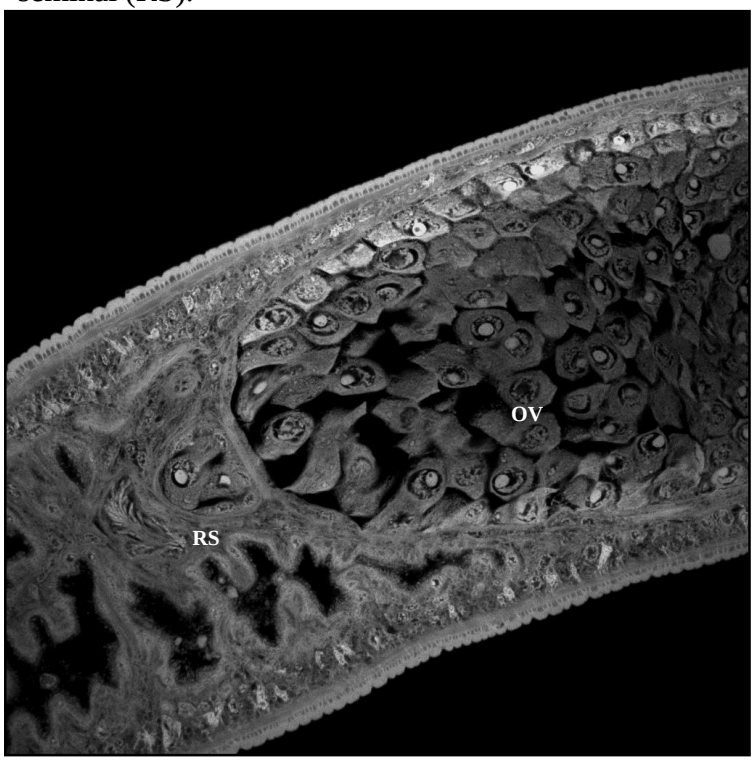
A metade posterior é preenchida por glândulas vitelínicas (ou vitelinas) e seu canal sinuoso, que se une ao oviduto pouco antes de alcançar o oótipo. A parte proximal funciona como receptáculo seminal (Figura 12) (REY, 2013).

Figura 11 – Tegumento de vermes adultos machos de *Schistosoma mansoni* com tubérculos apresentando espinhos.



Fonte: Laboratório Romero Lascasas Porto, UERJ, 2014.

Figura 12 – Verme adulto fêmea de *Schistosoma mansoni*. Ovário (OV) e receptáculo seminal (RS).



Fonte: Laboratório Romero Lascasas Porto, UERJ, 2014.

O granuloma esquistossomótico

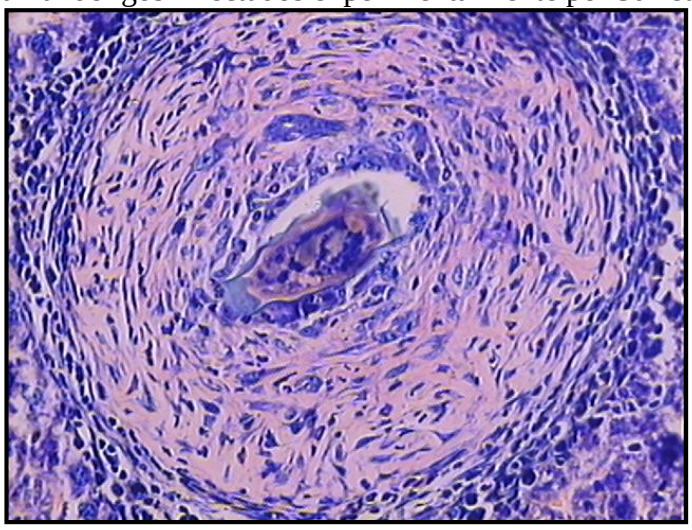
Após a oviposição nas vênulas que irrigam o intestino, os ovos podem seguir diferentes destinos: enquanto uma parcela atravessa o lúmen intestinal, sendo eliminada com as fezes, outra parte pode ficar retida na parede intestinal ou ser carreado até o fígado e, posteriormente, até outros órgãos como o baço, os pulmões, o coração, os rins. O miracídio que tem vida média em torno de 21 dias (PRATA, 1957), libera antígenos que estimulam uma reação inflamatória, denominada granuloma que é composta por eosinófilos, linfócitos, macrófagos e neutrófilos, os quais podem ou não ser acompanhados por pontos de necrose ou infiltração de neutrófilos (WARREN & DOMINGO, 1970). Paradoxalmente, enquanto o granuloma é a causa da patologia também pode proporcionar alguma proteção, em que o granuloma minimiza o dano tecidual colateral no fígado e intestinos. Além disso, esta resposta inflamatória facilita a excreção dos ovos do hospedeiro pela luz intestinal (HAMS et al., 2013).

O granuloma é, portanto, uma coleção compacta e organizada destas células

migrantes, que junto com células do órgão afetado, dispõem-se em meio a componentes de uma matriz extracelular heterogênea, formando uma estrutura esférica, que circunda individualmente cada ovo. Por essa razão, o ovo, neste caso, é rotulado como agente granulomatogênico, isto é, capaz de provocar a reação granulomatosa por liberação, para o tecido adjacente, de vários componentes próprios, em geral glicoproteínas (LENZI et al., 1991). Os fibroblastos se proliferam e depositam fibras de colágeno de forma concêntrica, principalmente na periferia e posteriormente, aumentando e envolvendo toda a lesão (ANDRADE, 1991). Durante o seu desenvolvimento, os granulomas esquistossomóticos apresentam diferentes estágios de maturação que vai da fase pré-granulomatosa até a fase necrótica (LENZI et al., 1999).

Em suma, o granuloma esquistossomótico (Figura 13) é uma estrutura dinâmica que tem início, meio e fim, caracterizando morfologicamente a fase de amadurecimento e de involução (LENZI et al., 2008). Isto se deve ao fato desta estrutura organizada ser composta pelos componentes do hospedeiro e do parasito, funcionando como uma relação híbrida entre dois seres filogeneticamente diferentes, dependendo das características epigenéticas do hospedeiro (LENZI et al., 1998). Outros fatores também influenciam a formação e modulação do granuloma. Estudos morfométricos confirmam que o processo de desenvolvimento do granuloma esquistossomótico hepático é influenciado pelo hospedeiro (COSTA-SILVA et al., 2002), pela cepa do parasito (COELHO et al., 1989) e pela fase da doença (aguda ou crônica) (RASO et al., 1978, CHEEVER et al., 2002).

Figura 13 – Granuloma exsudativo com arranjo de fibras no tecido hepático de camundongos infectados experimentalmente por *Schistosoma mansoni*.



Fonte: NEVES et al., 2007a.

Lipídeos e a esquistossomose

O metabolismo do colesterol e das lipoproteínas em roedores tem sido a temática de vários artigos, considerando-se a sua importância no curso da evolução de doenças inflamatórias, infecciosas ou parasitárias (FERNANDEZ, 2000, ÁGUILA & MANDARIM-DE-LACERDA, 2001; KHOVIDHUNKIT et al., 2004; BANSAL et al., 2005; NEVES et al., 2007a). Experimentos *in vitro* demonstraram que os vermes adultos de *S. mansoni* não são capazes de sintetizar colesterol (RUMJANEK & SIMPSON, 1980). Entretanto, diversos esteróis podem ter o colesterol como precursor (MENDONÇA et al., 2000). DIMENSTEIN e colaboradores (1992) estudando os níveis de lipoproteínas plasmáticas de pacientes com esquistossomose verificaram que as concentrações das lipoproteínas de baixa e alta densidade (LDL e HDL) estavam significativamente reduzidas se comparadas com as taxas normais. Porém, a lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) não se alterou.

Um fator conhecido por afetar as concentrações de lipídios plasmáticos humanos é A apolipoproteína E, que distribui entre as lipoproteínas ricas em triglicérides (lipoproteínas de densidade muito baixa, VLDL e quilomícrons) e lipoproteínas de alta densidade (HDL), ajudando a regular o seu metabolismo e os níveis plasmáticos de colesterol e de triglicéridos. A produção excessiva de ApoE hepática estimula a síntese VLDL e de triglicéridos e, também inibe a lipoproteína de lípase (LPL) lipólise mediada, em grande parte através do deslocamento de um ApoCII co-fator essencial para a LPL a partir da superfície do VLDL (PAPAIOANNOU et al., 2012). Infecções e inflamações induzem a resposta na fase aguda, levando a múltiplas alterações nos lipídios e no metabolismo de lipoproteínas, aumentando a secreção de triglicerídeos e VLDL como resultado da lipólise do tecido adiposo, elevando a síntese de ácidos graxos nos hepatócitos. Com a infecção mais grave, ocorre a redução do VLDL, da lipoproteína lipase e da apolipoproteína E (KHOVIDHUNKIT et al., 2014).

Diversos autores analisaram a interação entre lipídios e esquistossomose mansônica em modelos experimentais, primatas não-humanos ou roedores. Em saguis há 50% da redução da atividade da enzima colesterol acil transferase (LCAT), redução do éster de colesterol no plasma de animais com mais de 60 dias de infecção (LIMA et al., 1998). Em animais reinfectados há reduções significativas nas concentrações plasmáticas de colesterol total, colesterol esterificado, triglicerídeos e fosfolipídios totais (RAMOS et al., 2004).

MARZOUKI & AMIN (1997a) confirmaram que o HDL (colesterol de alta densidade) estava reduzido na infecção esquistossomótica experimental de camundongos. Esta

diminuição nos níveis de colesterol pode estar relacionada à existência de um inibidor da esterificação do colesterol em fígados infectados, ao aumento da hidrólise do éster de colesterol ou a redução da síntese da enzima acetil Co A (SOARES & BORGERS, 1990). A esquistossomose mansônica tem um importante efeito redutor no nível sérico de testosterona e na concentração de triglicerídeos dos camundongos, e elevação na concentração de lipídeos testiculares (MARZOUKI & AMIN, 1997b).

As relações fisiológicas existentes entre os parasitos e os hospedeiros são complexas e representam uma tentativa de manter um estado de equilíbrio entre diversos componentes. Portanto, determinadas modificações no metabolismo do hospedeiro podem afetar a evolução da infecção e a biologia do parasito. Observações feitas em infecção experimental de modelo murino indicaram que os vermes adultos poderiam neutralizar os efeitos da aterosclerose, modulando o metabolismo lipídico do hospedeiro e induzindo a redução da concentração de colesterol total no sangue (DOENHOFF et al., 2002), o mesmo não acontecendo quando há apenas a presença dos ovos (La FLAME et al., 2007).

O verme adulto de *S. mansoni* não possui algumas vias metabólicas essenciais, o que impossibilita a síntese de importantes compostos para o seu desenvolvimento. Estes parasitos não são capazes de sintetizar ácido graxo de cadeia longa, e nem todos os esteróis. Contudo, a literatura (BENNETT & CAULFIELD, 1991; TEMPONE et al., 1997; LOUKAS et al., 2001; FAN et al., 2003) indica que eles são dependentes de tais moléculas para o modulação da sua membrana, que está em constante mudança. Assim, é evidente que os mecanismos de transferência de lipídios ou precursores de lipídios entre o hospedeiro definitivo e o parasito devem existir. PEREIRA e colaboradores (2011) verificaram *in vitro* que a ligação do LDL ao tegumento de vermes machos de *S. mansoni* não é uniforme, sendo mais forte na região dorsal, sugerindo maior exposição de sítios de ligação nesta área. No entanto, a ausência de interação de LDL na superfície da membrana nas vermes fêmeas pode indicar a transferência direta de lipídios pelo canal ginecóforo do verme macho para a fêmea.

A dislipidemia e a obesidade são fatores que alteram a resposta inflamatória do hospedeiro (KHOVIDHUNKIT et al., 2004; OLEFSKY & GLASS, 2010;), mas também favorece o parasito (NEVES et al., 2007a) Animais com dislipidemia eliminam até três vezes mais ovos, tanto na fase aguda quanto na fase crônica da infecção, do que os controles (NEVES et al., 2007a; ALENCAR et al., 2009). Isso está relacionado ao fato do colesterol ser um estímulo positivo sobre o aparelho reprodutor dos vermes adultos de ambos os sexos, aumentando, assim a produção de ovos (NEVES et al., 2007b). Além disso, nosso grupo vem verificando as alterações histológicas em diferentes órgãos (fígado, intestino, pulmão, baço e

coração) de animais submetidos à dieta hiperlipídica e infectados com *S. mansoni* durante as fases aguda e crônica. Estes estudos tem mostrado que a associação destas morbidades parece intensificar os danos da esquistossomose, principalmente na fase crônica (NEVES et al., 2005; NEVES et al., 2007a ; ALENCAR et al., 2012; GÓES et al., 2012; SILVA et al., 2012).

Alguns trabalhos sobre a epidemiologia da esquistossomose e de síndromes metabólicas sugerem a co-morbidade em regiões do Brasil (KLOSS et al., 2012, PINTO et al., 2013, PIMENTA et al., 2012), apesar de ainda não existirem investigações epidemiológicas desses dois problemas de saúde em um só artigo.

Recentemente, FONSECA e colaboradores (2014) investigaram o plasma de humanos confirmando que a esquistossomose causa dislipidemia, pois o *S. mansoni* perturba a regulação prevista de lipídios plasmáticos pelas diferentes isoformas da gene polimórfico Apolipoproteína E (APOE). Esta constatação sugere maneiras de identificar novas vias metabólicas afetadas pela esquistossomose e também potenciais alvos moleculares para o tratamento associado a morbidades.

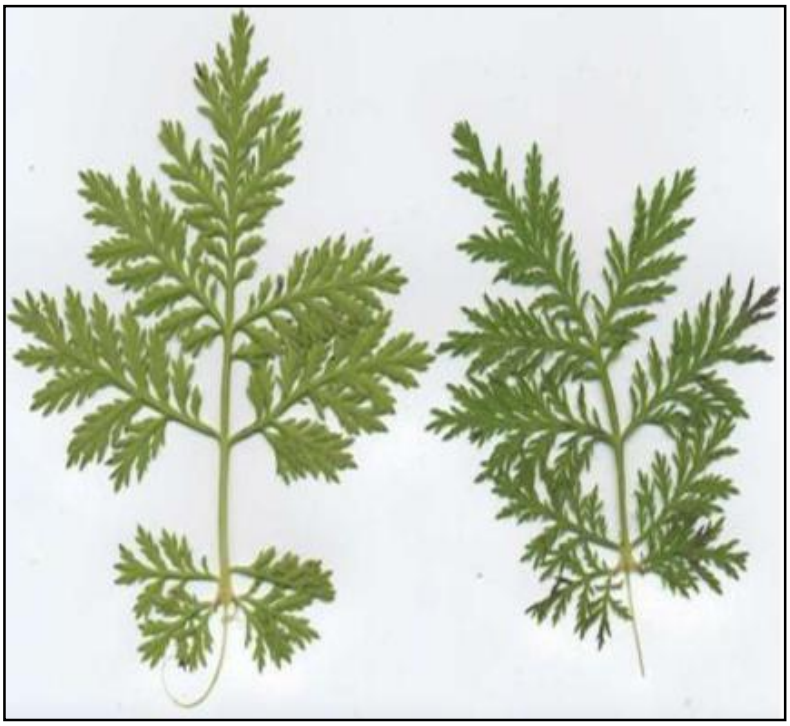
O tratamento da esquistossomose mansônica

O atual fármaco de escolha para o tratamento clínico e uso em saúde pública nas áreas endêmicas da esquistossomose é o praziquantel (KATZ, 2008). Este fármaco é utilizada há mais de trinta anos em todo mundo, principalmente na África Subsariana contra *S. mansoni* e helmintos de transmitidos pelo solo (KOUKOUNARI et al., 2007; ZHANG et al., 2007; HOTEZ & FENWICK, 2009; FRENCH et al., 2010; LESLIE et al., 2011; FENWICK, 2012; HOTEZ et al., 2012). Ainda que o mecanismo de ação do praziquantel não seja totalmente conhecido, há evidências de que o tegumento e a musculatura sejam afetados e que resulte na morte dos esquistossomos adultos. As outras formas evolutivas do *S. mansoni* são pouco ou nada afetadas (WEI et al., 2011). Como vem sendo administrado há décadas e mesmo com tratamento em massa da população, uma série de estudos clínicos e experimentais despertaram o interesse sobre um possível desenvolvimento da tolerância e/ou resistência ao praziquantel (FALLON, 1998; CIOLI, 2000, LIANG et al., 2000; GEERTS & GRYSEELS, 2000; WILLIAM et al., 2000; DOENHOEFF et al., 2002, 2008; PICA-MATTOCCIA, 2006; CAFFREY, 2007). Por isso, a disponibilidade de somente um único fármaco anti-esquistossoma é preocupante para a comunidade científica, o que tem levado à pesquisa e desenvolvimento de novas drogas ou associação entre drogas anti-esquistossoma para cura da

esquistossomose (CIOLI, 1998, 2000; WANG et al., 2012).

Interessantemente, derivados da artemisina, os quais são altamente eficazes no tratamento da malária, tem mostrado também propriedades esquistossomicidas (UTZINGER et al., 2001a,b, 2007; KRISHNA et al., 2008)**.** A artemisina é o princípio ativo das folhas de *Arthemisia annua*, planta utilizada há mais de dois mil anos para o tratamento de febre na China (Figura 14).

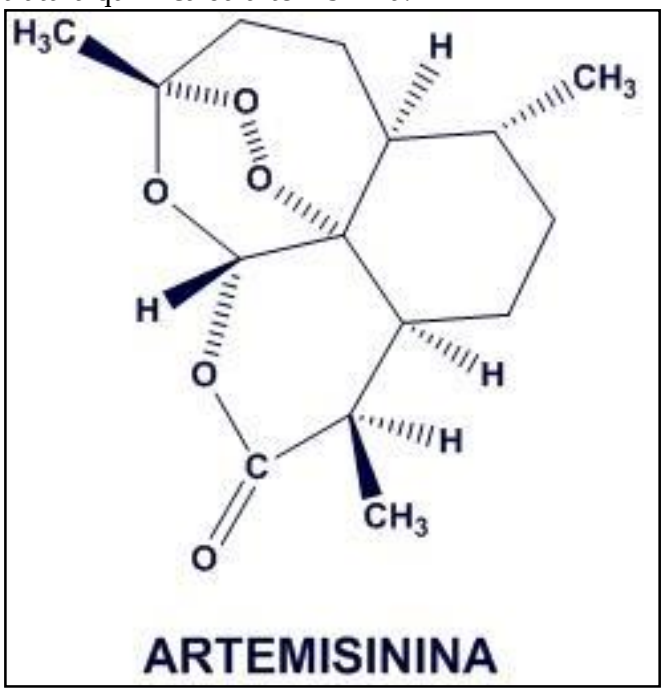
Figura 14 - *Arthemisia annua.*



Fonte: http://www.acp-paludisme.org/plante-contre-paludisme.html.
Acesso em: 11/08/2013.

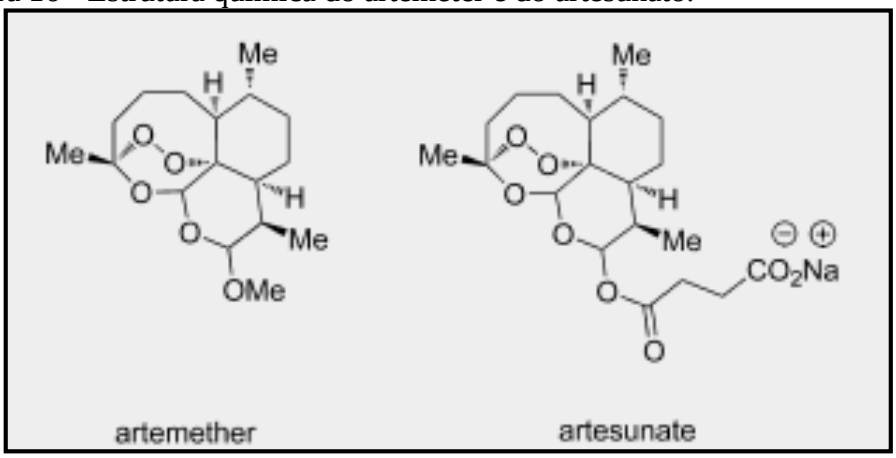
A artemisinina é uma lactona sesquiterpênica que possui uma ligação endoperóxido (Figura 15) (KLAYMAN, 1985). A primeira geração de semi sintéticos da artemisina – dihidroartemisina, arteméter e artesunato – se tornou largamente usado contra a malária atualmente (ASHEY & WHITE, 2005). A figura 16 mostra a estrutura química do arteméter e do artesunato.

Figura 15 - Estrutura química da artemisinina.



Fonte: http://www.info-farmacia.com/actualidad/desarrollo-y-conciencia-social/planta-china-para-el-tratamiento-de-la-malaria-resistente.
Acesso em: 15/11/14.

Figura 16 - Estrutura química do arteméter e do artesunato.



Fonte: TERENTÉV et al., 2014.

A atividade esquistossomicida e de seus derivados (arteméter e artesunato), foi descoberta em 1980 por um grupo de cientistas chineses. A droga, administrada em vários animais com infecção experimental com *S. japonicum*, resultou na redução acentuada na carga de vermes, quando comparados com os animais controles não tratados (CHEN et al., 1980). Em 1982, a propriedade esquistossomicida foi confirmada para arteméter (LE et al.,

1982).

Subsequentemente, estudos laboratoriais confirmaram as propriedades esquistossomicidas do artesunato (LE et al., 1983), arteméter (YIN et al., 1991; ARAÚJO et al., 1991; XIAO et al., 1992) e também da dihidroartemisina (ABDEL AZIZ & EL-BADAWY, 2000). Diversos autores realizaram diferentes protocolos *in vitro* ou *in vivo* e verificaram alterações no comprimento e no sistema reprodutor de *S. mansoni* fêmeas adultas e, consequentemente, na produção de ovos (SHUHUA & CATTO, 1989; ARAÚJO et al., 1999; MITSUI et al., 2009). Estudo *in vitro* com *S. japonicum, S. mansoni* e *S. haematobium* incubados em quantidades médias de arteméter (0,5-20 µm/ml) e heme (50-100µg/ml), mostrou que os vermes apresentaram redução na atividade motora, seguida de gradual aumento de vesículas no tegumento e, finalmente, morte dos helmintos entre 24-72 horas. Quando incubados apenas com o arteméter ou heme sozinhos, não havia impacto na sua sobrevivência. Isto sugeriu que a interação entre o arteméter e heme resulta em um efeito tóxico ao helminto (XIAO et al., 2001; 2007). A artemisina tem sido bastante utilizada no tratamento contra esquistossomose. Ensaios clínicos randomizados foram realizados na China e na África com patentes do arteméter e do artesunato na infecção por *S. japonicum, S. mansoni* e *S. haematobium* (UTZINGER et al., 2005; 2007). Em recente revisão sistemática e meta-análise sobre a sua aplicação isolada ou associada a outras drogas em pacientes com malária em regiões endêmicas de esquistossomose, ressaltaram a importância desta droga pelos seus efeitos benéficos (PÉREZ VILLAR et al., 2012).

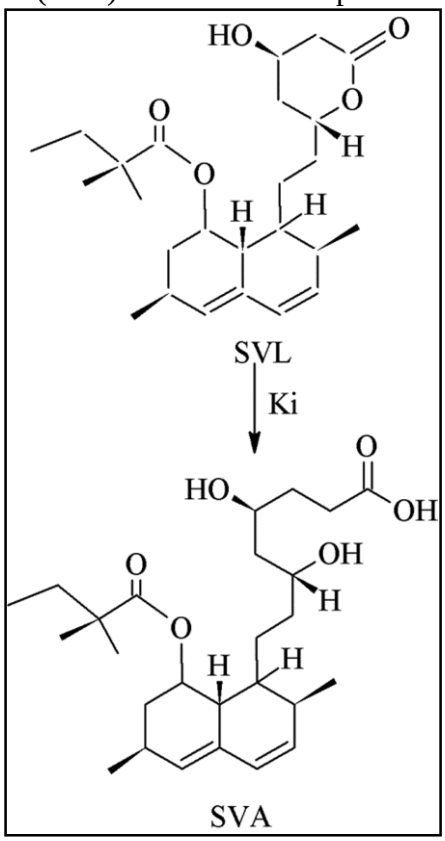
Fármacos redutores de colesterol e a esquistossomose

As estatinas são os fármacos mais usados para o tratamento das hiperlipidemias em prevenção primária e secundária, com o propósito de diminuir os níveis de lipoproteínas plasmáticas ricas em colesterol e reduzir os riscos de doença arterial coronariana (DAC). Esses efeitos são resultantes da atividade inibidora das estatinas sobre a enzima HMG-CoA redutase (hidroximetilglutaril-CoA redutase), com a propriedade de bloquear a conversão do substrato HMG-CoA em ácido mevalônico, inibindo os primeiros passos da biossíntese de colesterol (CAMPO & CARVALHO, 2007).

Seis estatinas são empregadas clinicamente: lovastatina, pravastatina, sinvastatina, e fluvastatina, atorvastatina e rosuvastatina (WERMUTH, 1996). A sinvastatina é o

medicamento disponível pelo programa de Farmácia Popular do governo brasileiro (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). A sinvastatina é na verdade um pró-fármaco com uma lactona inativa, a qual é metabolizada no fígado em sua forma ativa (que corresponde à ß-hidroácido), como mostra a figura 17 (UNGARO et al., 2011).

Figura 17 – Pró-fármaco (SVL) e sua conversão para a forma ativa-hidroácido (SVA).



Fonte: UNGARO et al., 2011.

É também conhecido que este fármaco tem ação na esquistossomose. VANDEWAA & BENNETT (1987) mostraram que a substância mevinolin, um inibidor da síntese de colesterol, bloqueava a produção de ovos de *S. mansoni*. CHEN et al (1990), mostraram que a administração de 0,2% de mevinolin na dieta de camundongos infectados pelo *S. mansoni*, durante 14 dias, resultou em 96-100% de eliminação de parasitos adultos. A administração da mesma dose por dois e 15 dias, antes da infecção, resultou em 93-96% de redução carga parasitária por vermes adultos. ARAÚJO et al (2002) verificaram em camundongos esquistossomóticos tratados com lovastatina, que havia redução significativa na oviposição pelas fêmeas, com até 80% de alterações no oograma e menor média significativa de ovos no

jejuno e fígado quando comparados com o grupo controle. Este mesmo grupo observou alterações degenerativas no sistema reprodutor dos vermes. Anteriormente, estudos com a nicarbazina, outra droga hipocoleristêmica, mostraram que a droga inibia a postura de ovos, mas que esta inibição era reversível, uma vez que as fêmeas reiniciavam a postura quando o tratamento era interrompido (PELLEGRINO & KATZ, 1969).

Há, entretanto, vários pontos obscuros na interação parasito-hospedeiro e desordens metabólicas que necessitam de estudo. Por exemplo, há uma modificação no perfil epidemiológico nutricional da população rural brasileira, uma vez que a cada dia, aumenta o número de indivíduos com dislipidemia. Assim sendo, em áreas endêmicas da esquistossomose, pode haver maior morbidade na concomitância entre as duas morbidades e/ou mesmo alguma dificuldade de tratamento e cura desta parasitose (MARTINS-BEDÊ et al., 2010; PIMENTA ET AL., 2011).

1 **JUSTIFICATIVA**

O praziquantel é o atual fármaco de escolha para o tratamento da esquistossomose. Muitos estudos têm sido feitos na tentativa de elucidar as questões relacionadas a uma possível resistência do mesmo. Por este mesmo motivo, há um incentivo para a pesquisa de novos fármacos. Outro fator importante é a modificação do perfil nutricional da população brasileira em áreas endêmicas. Nos últimos dez anos muitos estudos vem mostrando a importante relação do colesterol na infecção esquistossomótica. Sabe-se que uma grande disponibilidade de lipídios no meio favorece o parasito, seja a sua fertilidade, o funcionamento da estratégia de escape contra o sistema imune do hospedeiro. Consequentemente, a associação da dislipidemia com a esquistossomose intensifica sua patologia, o que significa aumento da morbidade. Portanto, reduzir a dislipidemia e a carga parasitária são os alvos para a redução da morbidade.

O efeito como agente redutor das taxas de colesterol e pleiotrópico das estatinas são bem conhecidos na literatura médica. Neste último, inclui-se a sua ação esquistossomicida. Propriedade semelhante tem sido demonstrada para o artesunato, que é um produto vegetal amplamente usado na África e mesmo no Brasil, em casos de malária humana. Em geral, o artesunato que é utilizado em regiões endêmicas com caráter preventivo, e experimentalmente, nas fases pós-posturais, apresenta também propriedades anti-inflamatórias. No presente trabalho, buscamos testar a hipótese de que a sinvastatina e artesunato modificam o curso da infecção esquistossomótica no modelo dislipidêmico, contribuindo para a redução da morbidade. Acreditamos que este trabalho possa também contribuir para a elucidação da ação medicamentosa sobre a dislipidemia.

2 **OBJETIVOS**

2.1 **Geral**

Avaliar os efeitos parasitológicos e morfológicos da monoterapia com artesunato e da sinvastatina sobre o curso da infecção esquistossomótica aguda experimental de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica.

2.2 **Específicos**

1- Determinar mudanças nos estágios evolutivos de ovos no intestino (oograma);
2- Avaliar a taxa de redução da carga parasitária de vermes adultos;
3- Analisar qualitativamente e quantitativamente os ovos liberados nas fezes;
4- Realizar a análise morfológica e morfométrica dos vermes recuperados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. **Animais**

Noventa e nove camundongos, fêmeas *Mus musculus* Swiss Webster (3 semanas de vida), foram obtidas do Centro de Criação de Animais do Laboratório da Fiocruz e armazenados em caixas de propileno (40 x 33 cm) com grades de cobre e aço inoxidável. Os camundongos foram mantidos no biotério com temperatura (21 ± 1º C), umidade (60± 10%) e ciclo diário de luminosidade (12:12) controladas.

3.2. **Dietas**

Os animais foram alimentados com dieta específica após o desmame de 21 dias. A dislipidemia foi induzida com a alimentação da dieta hiperlipídica (HFC) composta por banha de porco, gema de ovo, farinha de trigo, amido de milho, caseína e vitaminas e sais minerais (47% de carboidratos, 24% de proteínas, 29% de lipídios) (5.7 kcal/g massa corporal/dia) (NEVES et al., 2006a) por seis meses após o desmame. O grupo controle foi alimentado com dieta padrão (SC) para camundongos (Nuvilab CR-I-NUVITAL) Nutrients Ltda., Colombo, Paraná, contendo 60% de carboidratos, 28% de proteínas e 12% de lipídios (4,6 kcal/g massa corporal/dia). Todos os animais tiveram livre acesso de água e alimento durante todo o experimento.

3.3. **Infecção experimental**

Após seis meses de ingestão das respectivas dietas, 99 camundongos foram infectados por via subcutânea com 80 cercárias de *S. mansoni* (cepa BH) recém-eliminadas por *B. glabrata* infectada, cujo ciclo é mantido no Laboratório de Malacologia (Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro), utilizando *B. glabrata* e *Mus musculus*, como hospedeiros invertebrados e vertebrados, respectivamente. Os procedimentos da infecção experimental

foram seguidos de acordo com a metodologia descrita previamente por MARTINEZ et al (2003).

3.4. **Esquema terapêutico e grupos experimentais**

Dezoito animais foram tratados com artesunato em dose única (em pó na sua forma pura, lote 10.04, fornecido e produzido pela Farmanguinhos) e vinte animais foram tratados com artesunato durante o período de cinco dias seguidos fornecidos pela Fiocruz. As drogas foram administradas por gavagem com uma cânula em dose única de 300 mg/kg ou doses de 300 mg/kg por cinco dias consecutivos (tratamento prolongado) em 1000 µl de água e 250 µl de cremophor EL (óleo de rícino polioxietilado, Sigma, Chemical Company, St. Louis, MO, USA) na nona semana após a infecção (PI).

Onze animais foram tratados com sinvastatina (em pó) comercial (lote 13011511) em dose única e dezoito animais em por cinco dias consecutivos (tratamento prolongado). A droga foi administrada em dose única ou por cinco dias consecutivos com doses de 200 mg/kg em 1000 µl de água e 250 µl de Cremophor EL (Sigma, Chemical Company, St. Louis, MO, USA) também na nona semana após a infecção (PI). Os grupos não tratados, que funcionaram como controle, receberam apenas 250 µl de Cremofor diluído em 1000 µl de água.

Os animais foram divididos em doze grupos dependendo do tipo de dieta e do tipo de tratamento ministrado:

a) Experimento de dose única;

- SC NT; grupo (n=7) infectado alimentado com dieta padrão e não tratado;
- HFCNT; grupo (n=8) infectado alimentado com dieta hiperlipídica e não tratado;
- SCS; grupo (n=9) infectado alimentado com dieta padrão e tratado com sinvastatina;
- HFCS; grupo (n=5) infectado alimentado com dieta hiperlipídica e tratado com sinvastatina;
- SCA; grupo (n=10) infectado alimentado com dieta padrão e tratado com artesunato;
- HFCA; grupo (n=8) infectado alimentado com dieta hiperlipídica e tratado com artesunato.

b) Experimento do tratamento prolongado (cinco dias consecutivos);

- SCNT5; grupo (n=7) infectado alimentado com dieta padrão e não tratado;
- HFCNT5; grupo (n=7) infectado alimentado com dieta hiperlipídica e não tratado;
- SCS5; grupo (n=9) infectado alimentado com dieta padrão e tratado com sinvastatina;
- HFCS5; grupo (n=9) infectado alimentado com dieta hiperlipídica e tratado com sinvastatina;
- SCA5; grupo (n=11) infectado alimentado com dieta padrão e tratado com artesunato;
- HFCA5; grupo (n=9) infectado alimentado com dieta hiperlipídica e tratado com artesunato.

3.5. **Coleta de material biológico**

Foram realizados exames de fezes individuais (duas lâminas para cada animal) semanais entre a 6ª e 11ª semanas por meio da técnica quantitativa de Kato-Katz (KATZ et al., 1972).

Depois de onze semanas de infecção, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical para coleta de sangue, recuperação de vermes e órgãos. Foi feita uma incisão entre o tórax e o abdome do camundongo. Foram removidos o intestino delgado e grosso (desde o estômago até a região do reto na cavidade pélvica). O sangue foi puncionado diretamente da cavidade esquerda do coração. Neste sangue foi acrescentado anticoagulante heparina e depois centrifugado a 2000g por 10 minutos para separar o plasma, o qual permaneceu congelado a – 20 ◦C para posterior análise dos parâmetros bioquímicos.

3.6. **Análise bioquímica**

O colesterol total foi determinado pelo método enzimático colorimétrico como previamente descrito (NEVES et al., 2006a). Os exames foram realizados no LABLIP -

Laboratório de Lípides da Policlínica Piquet Carneiro da UERJ, respeitando todos os critérios e normas de padronização e de biossegurança, conforme ateste do Sistema Nacional de Acreditação (DICQ) da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC).

3.7. **Quantificação de ovos no tecido (oograma)**

O oograma foi executado pelo método do esmagamento entre lâminas e de digestão tecidual. Um centímetro do intestino delgado foi prensado entre lâminas e lido em microscópio de campo claro (MACHADO-SILVA et al., 1991). Os ovos foram classificados segundo o estágio evolutivo em: maduro (presença do miracídio completamente formado, com contorno visível), imaturo (embrião tomando 2/3 da dimensão longitudinal do ovo, bem como grânulos finos e escuros localizados principalmente nos polos dos ovos) e morto (ovos pardacento e com granulações, sem delimitações entre o miracídio e a casca ou com massa arredondada no centro) (PRATA, 1957). O restante do intestino delgado e o segmento grosso foram digeridos em hidróxido de potássio a 56ºC (CHEEVER, 1968) e centrifugado (2.000 giros) por 120 minutos. Cinco alíquotas de 100 µl do tecido digerido foram colocadas em lâmina histológica, cobertas com lamínula e os ovos contados por microscopia de luz (MARTINEZ et al., 2003).

3.8. **Recuperação e processamento dos vermes**

Os helmintos adultos foram retirados do sistema porta e das veias mesentéricas através da coleta manual com o auxílio de estilete e pincel, contados à lupa estereoscópica para determinar a infectividade, a qual foi estabelecida pela diferença entre o percentual de helmintos adultos recuperados e das cercárias inoculadas (FREIRE et al., 2003). O percentual da redução da carga parasitária em cada grupo tratado (CIOLI et al., 2004) foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

> % Redução: número de vermes recuperados do grupo controle – número de vermes recuperados do grupo tratado/(número de vermes do grupo controle) x 100

Os vermes foram fixados em AFA (70% álcool, 2% formaldeído e 2% ácido acético glacial), corados pelo carmim clorídrico alcoólico (2,5%), desidratados na série alcoólica (70%, 90% e 100%), diafanizados e montados em bálsamo do Canadá (1:2) e salicilato. Os espécimes foram montados como preparações permanentes entre lâmina e lamínula (NEVES et al., 1998).

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV) os vermes foram lavados em solução salina, fixados em AFA e preparados seguindo TORRES et al (2011), com 10 segundos de revestimento de ouro com espessura de 20-25nm.

3.9. **Análise morfológica e morfométrica dos vermes**

Um total de 583 espécimes do grupo HFC (n=288) e do grupo SC (n=295) foi analisado durante todo o experimento no microscópio de luz (Olympus BX50 Miami, Florida, USA), Foram analisados órgãos do sistema reprodutor (lóbulos testiculares, vesícula seminal, ovário, oócitos, receptáculo seminal, glândulas vitelinas, oótipo e útero) e do tegumento (espessamento e alterações dos tubérculos). O microscópio de laser confocal [(LSM 510–ZETA, Zeiss, Laser confocal Microscopy, Germany) (NEVES et al., 2004)] foi utilizado para analisar as alterações do tegumento e tubérculos dos grupos HFC (n=116) e SC (n=60), previamente analisados no microscópio de luz. Para a análise do tegumento através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) os vermes foram examinados e fotografados em um Jeol / EO JSM- 6510 (CENABIO -UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil) e pela FEI Quanta 250 (Instituto de Química - UERJ, Rio de Janeiro, Brasil).

3.10. **Comitê de Ética**

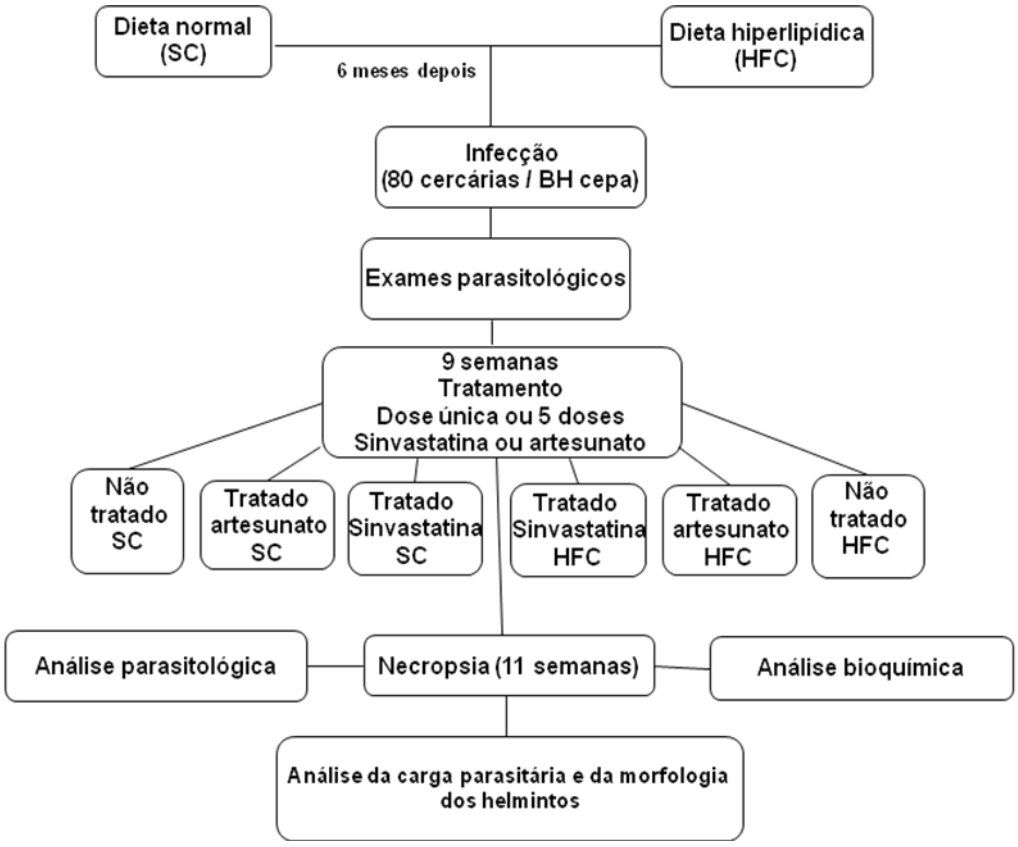
O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ, licença CEUA/013/2013.

3.11. **Análise estatística dos dados:**

Os dados foram analisados estatisticamente através do software SPSS. Os grupos foram comparados usando os testes: Mann-Whitney, teste T de Student e análise de variância (pós-teste de Tukey). As medidas com valores de $p \leq 0,05$ foram consideradas significativamente diferentes.

3.12. **Desenho experimental**

Figura 18 – Desenho experimental.



Fonte: A autora, 2015.

4 **RESULTADOS**

4.1 **Experimento com animais que foram submetidos à dose única das drogas**

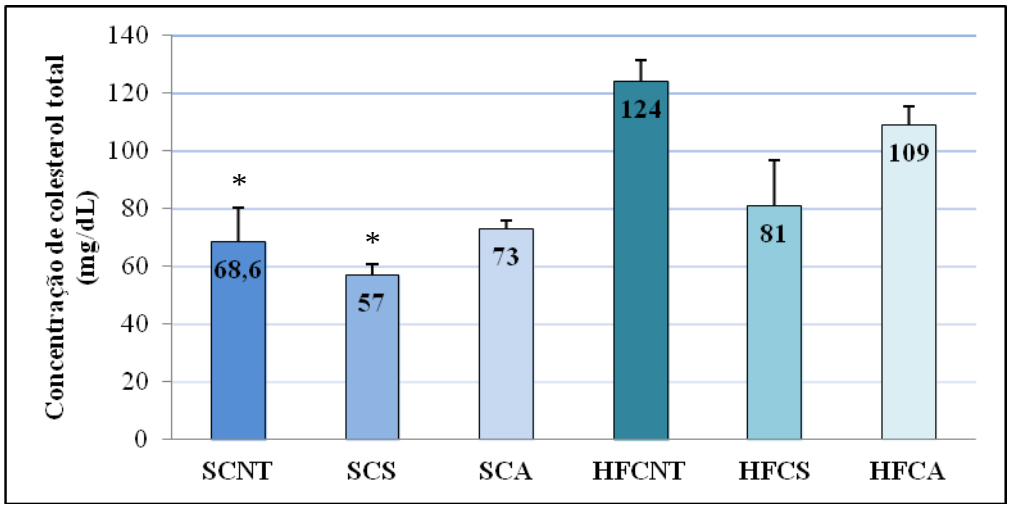
4.1.1. Análise bioquímica

A dosagem do colesterol total está representada no gráfico 1. Podemos verificar que os níveis de colesterol total no plasma dos camundongos alimentados com a dieta hiperlipídica eram maiores do que o controle (dieta padrão), em todos os grupos independentemente do tratamento. Verificamos isso de forma significativa entre os grupos controle alimentados com dieta padrão (SCNT, 68,6±11,6) e hiperlipídica (HFCNT, 124±7,5).

Os grupos tratados com sinvastatina apresentaram redução no colesterol plasmático no grupo alimentado com dieta hiperlipídica (HFCS, 81±16).

Nos grupos tratados com artesunato, podemos verificar um padrão similar aos grupos não tratados, ou seja, as diferenças significativas ocorreram em entre os grupos SCA (73±2,8) e o grupo HFCA (109±6,5).

Gráfico 1 - Concentração do colesterol total (mg/dL) no soro plasmático de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica submetidos a sinvastatina ou artesunato em dose única.



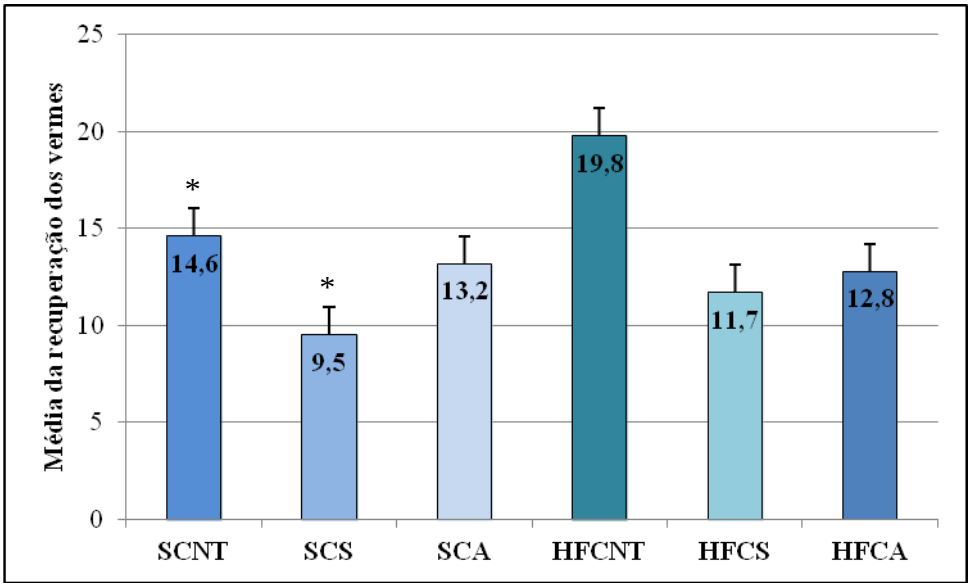
Legenda: Diferenças significativas entre: (*) seus respectivos controles (SCNT x HFCNT; SCS x HFCS; SCA x HFCA). SCNT, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina alimentado com dieta padrão; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica. Todos os dados estão apresentados com média e erro padrão.
Fonte: A autora, 2015.

4.1.2. Análise parasitológica

Os dados parasitológicos estão representados nos gráficos 2-4 e na tabela 1. O gráfico 2 mostra a recuperação dos vermes em camundongos tratados com artesunato ou sinvastatina, alimentados com dieta padrão (SC) e hiperlipídica (HFC). De forma geral, os grupos tratados apresentaram menor recuperação de vermes. O grupo não tratado com dieta padrão (SCNT) apresentou recuperação significativamente menor de vermes (14,7±0,6) do que o grupo não tratado alimentado com dieta hiperlipídica [HFCNT (19,8±1,0)]. A sinvastatina apresentou um efeito significativamente redutor entre os grupos com a dieta padrão [SCS (9,5±0,6)] e dieta hiperlipídica [HFCS (11,7±0,5)]. Os grupos tratados com a dieta apresentaram o efeito semelhante tanto no grupo alimentado com a dieta padrão [SCS (13,2±0,5)] quanto [HFCS (12,8±1,1)]. A sinvastatina não influenciou no deslocamento dos vermes para a veia porta como podemos observar no gráfico 3. O artesunato parece promover o deslocamento dos

vermes até a veia porta (SCA, 52,4%), mas quando a droga foi administrada em animais alimentados com a dieta hiperlipídica (HFCA) houve uma distribuição equivalente tanto na veia porta e no mesentério.

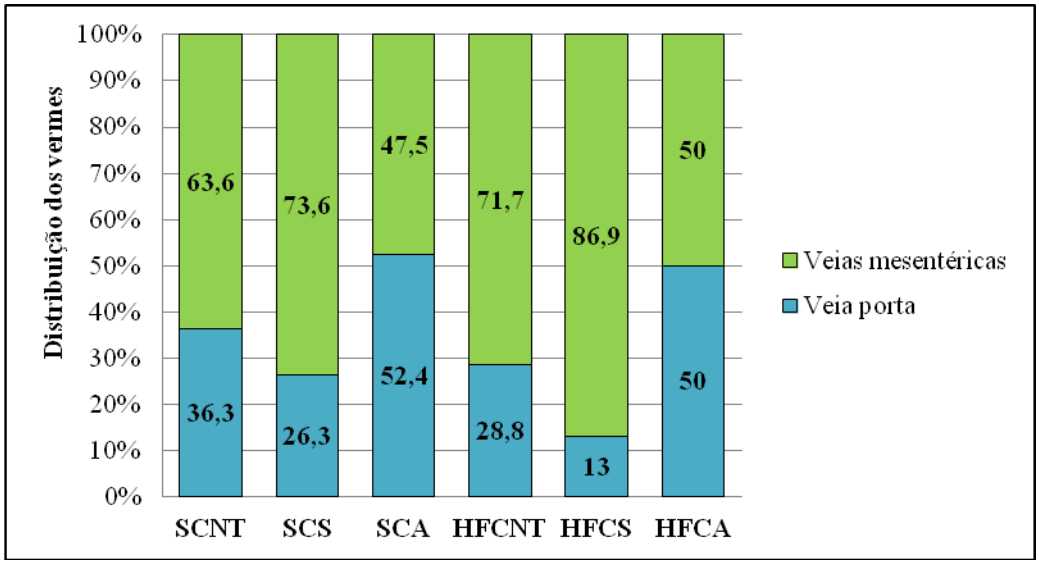
Gráfico 2 – Recuperação média dos vermes em camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento com artesunato (300mg/kg) ou sinvastatina (200mg/kg) em dose única, por via oral.



Legenda: Diferenças significativas entre: (*) seus respectivos controles. SCNT, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica. Todos os dados estão apresentados com média e erro padrão.

Fonte: A autora, 2015.

Gráfico 3 – Percentual da distribuição dos vermes no sistema porta em camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.

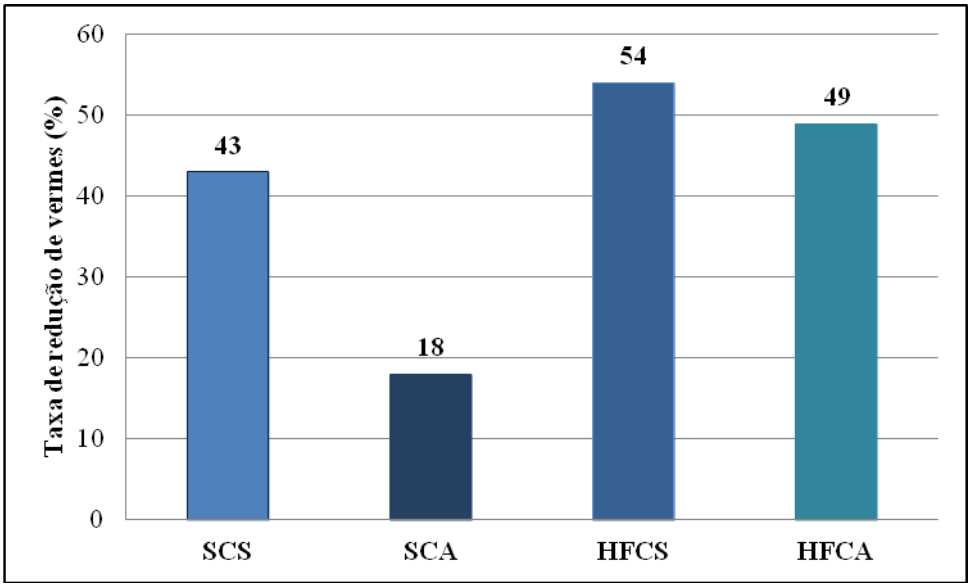


Legenda: SCNT, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica. Tratamento com artesunato (300mg/kg) ou sinvastatina (200mg/kg) em dose única, por via oral.

Fonte: A autora, 2015.

No gráfico 4 observamos a taxa de redução da carga de vermes encontrada nos grupos SC e HFC. A taxa de redução foi elevada nos grupos dos camundongos alimentados com dieta hiperlipídica tratados com sinvastatina (HFCS, 54%), quando comparado com seu respectivo controle alimentado com dieta padrão (SCS, 43%). O grupo tratado com artesunato apresentou perfil semelhante, embora menos efetivo: 49% e 18%, grupo HFCA e SCA, respectivamente.

Gráfico 4 – Taxa de redução da carga parasitária* nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratados com artesunato ou sinvastatina.



Legenda: * Percentual de redução = número de vermes recuperados do grupo controle – número de vermes recuperados do grupo tratado/(número de vermes do grupo controle) x 100). SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica.
Fonte: A autora, 2015.

Os parâmetros parasitológicos estão representados na tabela 1. Conforme esperado, os animais não tratados e alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maior eliminação de ovos nas fezes (3711±1712), apesar de não haver diferenças significativas entre os grupos (p=0,2050). O grupo alimentado com dieta hiperlipídica e tratado com sinvastatina (834±131) mostrou redução na eliminação de ovos quando comparado com o seu controle (1250±325) (p=0,2893).

Em relação ao oograma intestinal, podemos notar que houve maior quantidade de ovos nos grupos alimentados com a dieta hiperlipídica. Entretanto, diferenças significativas foram observadas apenas entre os grupos que receberam a sinvastatina alimentados com dieta padrão (238±25) ou dieta hiperlipídica (448±65)

Tabela 1 – Parâmetros parasitológicos nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratados com artesunato ou sinvastatina em dose única

Parâmetros	**Grupos**					
	SCNT	**SCS**	**SCA**	**HFCNT**	**HFCS**	**IHFCA**
Ovos nas fezes	1324±273	1250±325	829±181	3711±1712	834±131	1370±326
Contagem de ovos no intestino	503±106	238±25*	171±23	838±270	448±65	182±74
Oograma (%)						
Maduro	48	37	55	58	53	82
Imaturo	33	39	12	22	26	7
Morto	19	24	33	20	21	11

Legenda: * Diferenças significativas <0,05. Média ± erro padrão. *: quando comparado com o seu respectivo grupo controle. SCNT, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica.

Fonte: A autora, 2015.

4.1.3. Análises morfométrica e morfológica dos vermes

Um total de 280 espécimes foi analisado, grupo HFC (n=137) e do grupo SC (n= 143) dose única. A tabela 2 mostra o número de vermes analisados em cada tipo de microscopia. O resultado da análise morfológica por microscopia de luz está descrita nas Tabelas 3 e 4.

Não houve diferenças significativas na quantidade de lóbulos testiculares, entretanto, pode-se observar diferença significativa em relação ao percentual reduzido na densidade de células testiculares nos animais tratados com artesunato (HFCA, 53%; SCA, 7,0%). A área dos lóbulos testiculares foi significativamente reduzida no grupo SCA (16957±1040), comparada com o grupo HFCA (21245±1270). O perímetro dos lóbulos apresentou aumento significativo nos grupos da dieta: (HFCNT, 993±34), (HFCA, 869±80) quando comparados com os seus respectivos controles tratados: (SCNT, 818±28) (SCA, 646±27). A densidade dos espermatozoides mostrou-se reduzida nos grupos (HFCS, 11,11%) e (HFCA, 18,75%). Houve redução na espessura do tegumento dos vermes recuperados do grupo (HFCA, 12±1.1). Já em relação à altura dos tubérculos, houve reduções significativas nos grupos (HFCS, 5.2±0.2) e (HFCA, 4.8±0.2) quando comparados com os seus respectivos controles. A densidade dos tubérculos também foi reduzida nos grupo tratados, sobretudo naqueles associados à dieta:

(HFCS,36%) e (HFCA, 5%).

Tabela 2 – Número de vermes analisados por grupo de acordo com o tipo de microscopia utilizada

Grupos	**MO**		**MC**		**MEV**
	♂	♀	♂	♀	♂
SCNT	34	15	10	10	06
SCS	29	05	10	05	12
SCA	29	08	10	08	05
HFCNT	36	24	10	10	07
HFCS	15	06	10	06	13
HFCA	16	13	10	10	07

Legenda: MO: Microscopia ótica; MC: Microscopia laser confocal; MEV: Microscopia eletrônica de varredura. SCNT, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica.

Fonte: A autora, 2015.

Tabela 3 – Alterações nos vermes recuperados de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento com artesunato ou sinvastatina em dose única, por via oral

Parâmetros	**Grupos**					
	SCNT	**SCS**	**SCA**	**HFCNT**	**HFCS**	**HFCA**
Nº de lóbulos testiculares	8.0±0.2	7.0±0.3	7.0±0.3	8.0±0.3	6.0±0.6	8.0±0.4
Densidade de células testiculares (%)						
Normal	97	88	92	100	36	46
Reduzido	03	12	7,1*	0	64	53
Área	22528±1289	16434±1256	16957±1040*	23953±808	16593±2704	21245±1270
Perímetro	818±28*	737±35	646±27*	993±34	743±80	869±80
Área da vesícula seminal	1443±94	1246±181	1022±77	1941±561	1963±1046	1228±126
Concentração de Espermatozoides (%)						
Normal	75	77	73	94	67	67
Reduzido	25	23	27	6	33	33
Espessura do tegumento	20±0.9*	18±1.3	17±1.1*	15±0.7	16±6.1	12±1.1
Altura do tubérculo	8.2±0.3	6.4±0.3*	6.3±0.4*	5.7±0.2	5.2±0.3	4.8±0.2*
Densidade de tubérculos (%)						
Normal	97	88	92	100	64	46
Reduzido	03	12	07	0	36	53

Legenda: Nível de intensidade do percentual de células: (+++) muito, (++) moderado, (+) pouco. * Diferenças significativas <0.05. Média ± erro padrão. *: quando comparado com o seu respectivo grupo controle. SCNT, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica. Unidades de medidas: área (μm²), perímetro, espessura e altura (μm).

Fonte: A autora, 2015.

Não houve diferenças significativas em relação aos dados morfométricos das fêmeas tratadas com sinvastatina ou artesunato (Tabela 4).

Tabela 4 – Dados morfométricos das fêmeas de *Schistosoma mansoni* recuperados de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento com artesunato ou sinvastatina em dose única, por via oral

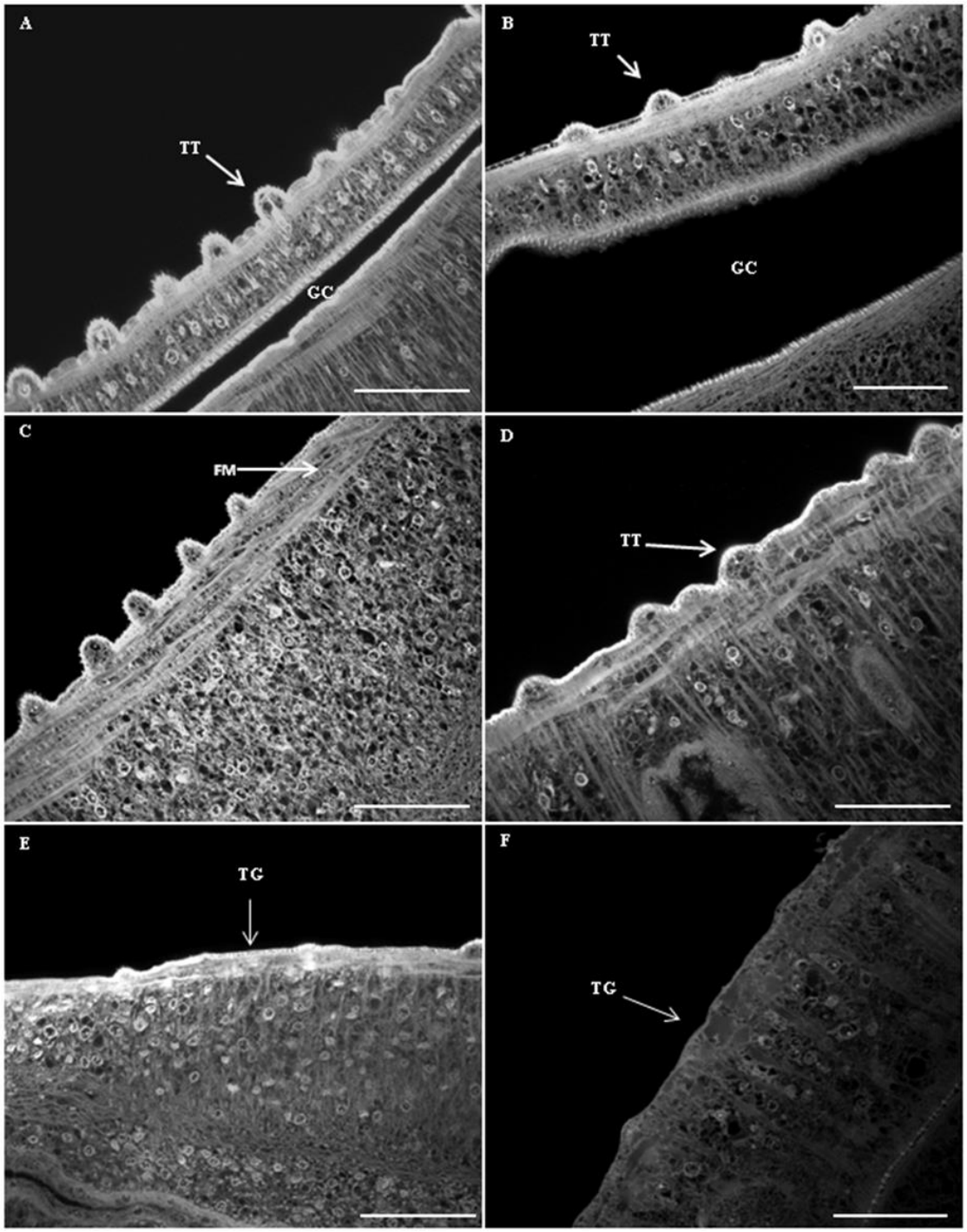
Parâmetros	**Grupos**					
	SCNT	**SCS**	**SCA**	**HFCNT**	**HFCS**	**HFCA**
Área do ovário	23793±988	33118±19691	23977±2538	29544±1649	25577±6473	25155±1881
Densidade das glândulas vitelínicas (%)						
Normal	93	80	89	100	80	100
Reduzido	07	20	11	0	20	0
Densidade de vitelo (%)						
Normal	93	80	83	96	80	87,5
Reduzido	07	20	17	04	20	12,5
Espessura do tegumento	3147±0.1	2100±0.1	2760±0.1	4913±0.3	3550±0.6	2758±0.09

Legenda: Média ± erro padrão. *: quando comparado com o seu respectivo grupo controle. SCNT, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica. Unidades de medidas: área (μm²), perímetro, espessura e altura (μm).

Fonte: A autora, 2015.

Os dados morfológicos dos vermes estão representados nas figuras 19, 20 e 21. Para avaliar a morfologia dos vermes utilizamos o microscópio confocal a laser. Vermes não tratados apresentam tegumento com tubérculos com aspecto normais, e feixes de células musculares (FM) compactos e organizados (Figura 19-a, b). Podemos verificar que o tegumento do *S. mansoni* do grupo SCS apresentou alterações na organização das células musculares (Figura 19-c). A sinvastatina também mostrou seus efeitos em relação à redução da espessura e achatamento do número de tubérculos quando presente em um meio rico em colesterol (Figura 19-d). O artesunato pareceu atuar na quantidade e tamanho dos tubérculos tanto no grupo SCA quanto no HFCA (Figura 19-e, f).

Figura 19 – Imagens por microscópio a laser confocal do tegumento de *Schistosoma mansoni* machos adultos recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, e) ou hiperlipídica (b, d, f)



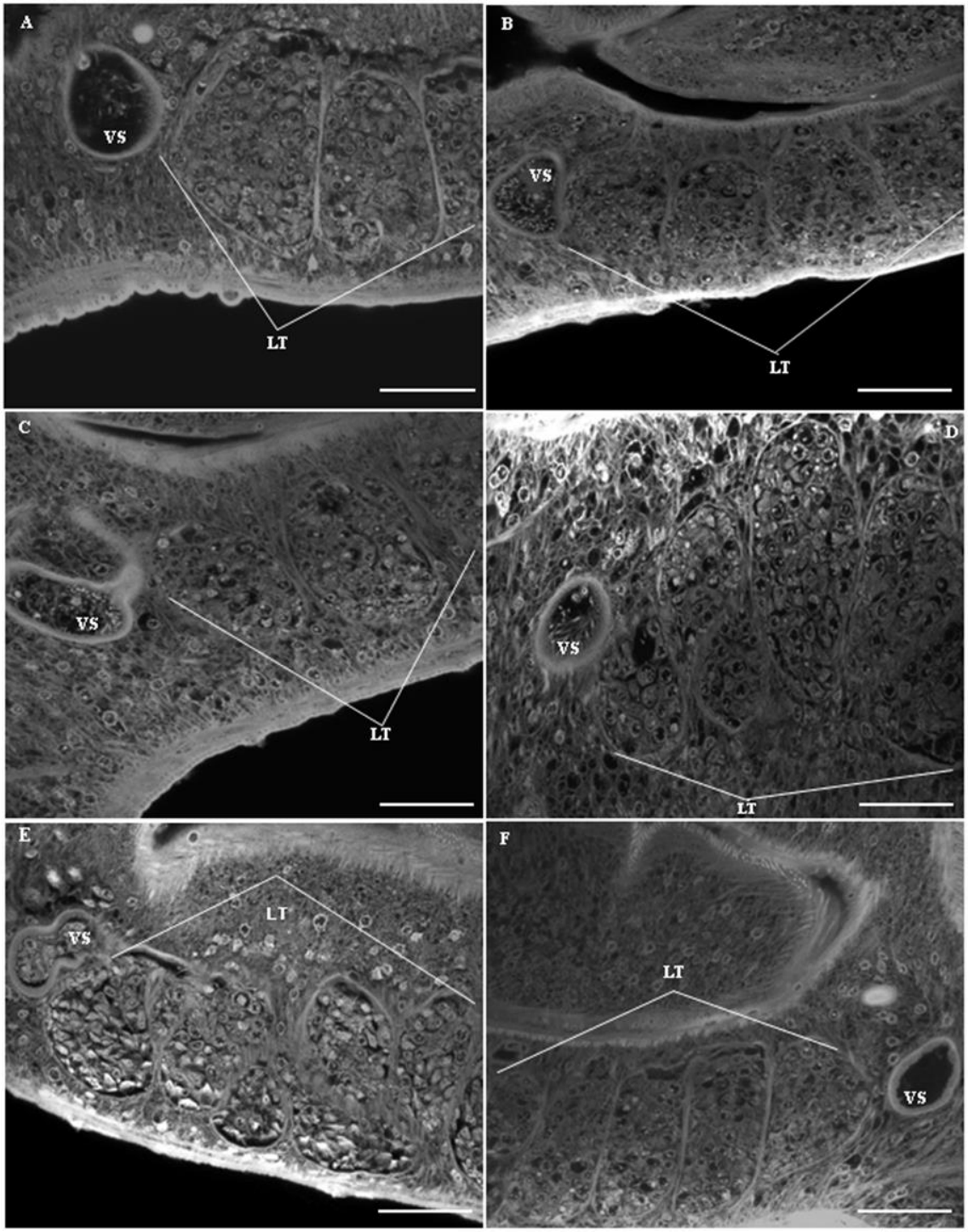
Legenda: Vermes não tratados apresentando tegumento (TG), tubérculo (TB), canal ginecóforo (GC), e feixes de células musculares (FM) com aspecto normal (a,b). Vermes expostos à sinvastatina apresentando feixes de células musculares desorganizados e tegumento reduzido (c), tubérculos tegumentares achatados (d), vermes expostos ao artesunato apresentando tegumento fino e poucos tubérculos (e), tegumento liso, desprovido de tubérculos (f) (Barra = 50µm).

Fonte: A autora, 2015.

Podemos observar que as drogas alteraram o formato das células dos lóbulos testiculares independentemente da associação ou não associação à dieta hiperlipídica. Estas células se mostraram sem núcleo evidente e de aspecto irregular (Figura 20-c, d, e) ao contrário das células encontradas nos lóbulos dos vermes recuperados de camundongos não tratados (Figura 20-a, b).

Vermes não submetidos ao tratamento apresentaram vesícula com aspecto normal com alta densidade de espermatozoides (Figura 20-a, b). O tratamento com sinvastatina parece reduzir esta densidade de espermatozoides na vesícula como observamos nos grupos SCS e HFCS (Figura 20-c, d). O artesunato pareceu não interferir morfologicamente neste aspecto (Figura 20-e, f).

Figura 20 – Imagens por microscópio a laser confocal dos lóbulos testiculares de *Schistosoma mansoni* machos adultos recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, e) ou hiperlipídica (b, d, f)

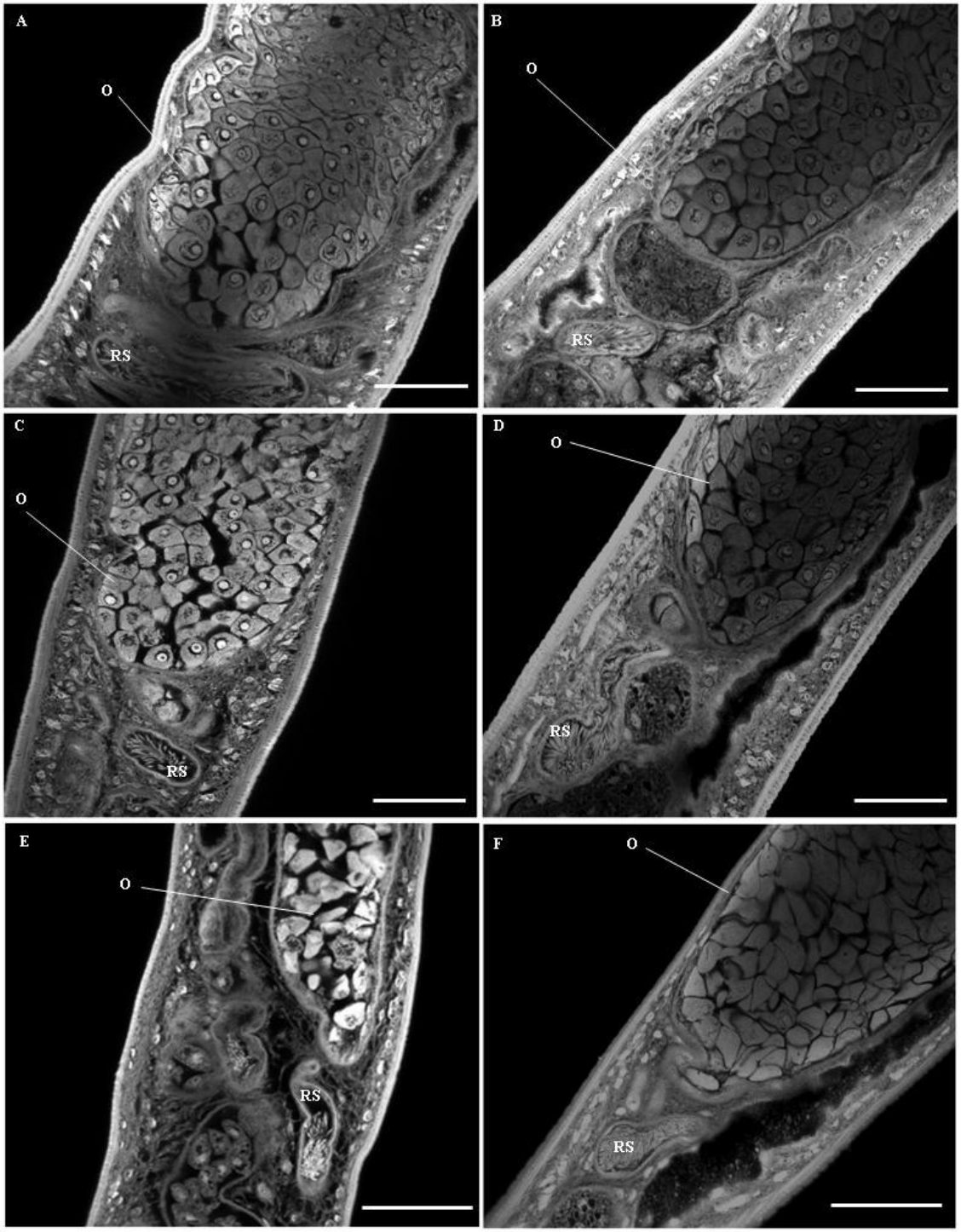


Legenda: Vermes não tratados apresentando células com núcleo visível no interior dos lóbulos testiculares (LT) e vesícula seminal (VS). Vermes expostos à sinvastatina apresentando células imaturas e baixa densidade de espermatozoides na vesícula seminal (c, d). Vermes expostos ao artesunato apresentando lóbulos testiculares com células imaturas, amorfas, vesícula seminal com células imaturas, sem formação de espermatozoides (e, f). (Barra = 50 µm).

Fonte: A autora, 2015.

O sistema reprodutor feminino do *S. mansoni* foi analisado pela microscopia confocal. Os vermes recuperados de camundongos não tratados apresentaram ovários e receptáculo seminal de aspecto normal com as células arredondadas de núcleo aparente e presença de espermatozoides no receptáculo seminal (Figura 21-a, b). As fêmeas expostas à sinvastatina recuperadas de vermes alimentados com dieta padrão apresentaram ovários com células amorfas, sem núcleo evidente ou núcleos granulosos, receptáculo seminal regular (Figura 21-c). Já as fêmeas recuperadas de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram ovários com células triangulares e receptáculo seminal com espermatozoides abundantes (Figura 21-d). Vermes tratados com dose única de artesunato apresentaram o ovário com células amorfas, triangulares ou anucleadas e presença de receptáculo seminal com espermatozoides (Figura 21-e, f).

Figura 21 – Imagens de microscopia confocal a laser do sistema reprodutivo de fêmeas de *Schistosoma mansoni* recuperados de camundongos alimentados com dieta normal (a, c, e) ou hiperlipídica (b, d, f)



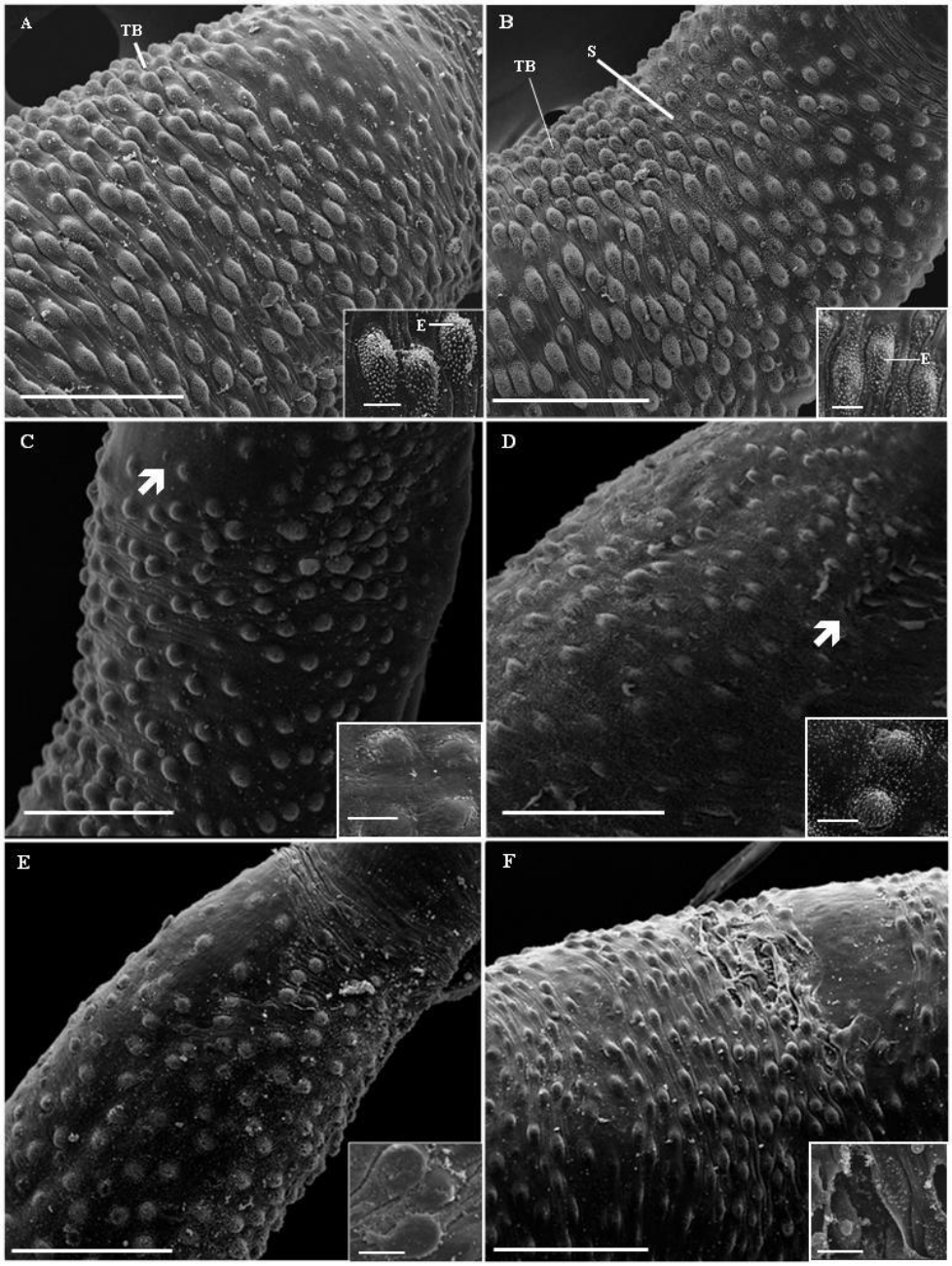
Legenda: Vermes não tratados apresentando ovário (O) com células arredondadas com núcleo aparente e presença de espermatozoides no receptáculo seminal (RS) de camundongos alimentados com dieta normal (a) ou hiperlipídica (b). Vermes expostos à dose única de sinvastatina apresentando ovários com células amorfas, sem núcleo evidente ou núcleos granulosos, receptáculo seminal regular (c) e ovários com células triangulares e receptáculo seminal com espermatozoides abundantes (d). Vermes tratados com artesunato com o ovário (O) apresentando células amorfas, triangulares ou anucleadas e presença de receptáculo seminal com espermatozoides (e, f). (Barra = 50 µm).

Fonte: A autora, 2015.

A topografia da superfície do macho de *S. mansoni* [HFCNT (n = 7), SCNT (n = 6); HFCS (n = 13); SCS (n = 12); HFCA (n = 7) e SCA (n = 5)] estudada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) é mostrada na Figura 22. Os vermes não tratados mostraram tegumento normal com tubérculos, espinhos e sulcos (Fig. 22A e 22B).

Todos os vermes analisados mostraram danos leves ou moderados na superfície dorsal do tegumento. O grupo SCS mostrou perda de tubérculos (Fig. 22c) e encurtamento dos tubérculos causando desaparecimento de espinhos dentro do tegumento (Fig. 22c, no detalhe). O grupo HFCS mostrou inchaço moderado, achatamento e ruptura de alguns tubérculos; focos com danos moderados e leve erosão do tegumento (Fig. 22 d, detalhe). O grupo tratado com artesunato apresentou danos severos no tegumento dos vermes (e, f). Observou-se áreas com poucos tubérculos ou achatados (e). Houve também, descamação severa e extensiva em algumas regiões do tegumento com total ausência de tubérculos (f).

Figura 22 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *Schistosoma mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, e) ou hiperlipídica (b, d, f)



Legenda: Vermes não tratados apresentando tubérculos (TB), espinhos (E), sulcos (S) e espinhos (E) (a, b). Imagem ampliada (detalhe) mostrando os tubérculos e espinhos (a, b) com o aspecto normal. Vermes tratados com dose única de sinvastatina apresentando poucos tubérculos (seta) (c). Imagem ampliada (inserida) mostrando tubérculos achatados com desaparecimento dos espinhos no tegumento. Tegumento com regiões lisas devido a erosão e ao achatamento dos tubérculos (seta) (d). Imagem ampliada (detalhe) na erosão tegumentar das bases dos tubérculos. Danos severos foram observados em vermes tratados com artesunato em dose única (e, f). Áreas com poucos tubérculos ou achatados (e). Imagem ampliada (detalhe) mostrando tubérculos achatados. Algumas regiões apresentação severa e extensiva descamação no tegumento sem tubérculos (f). Imagem ampliada (detalhe) apresentando o detalhamento da lesão erosiva. Todas as barras das imagens foram de 100µm e das imagens ampliadas de 10µm.

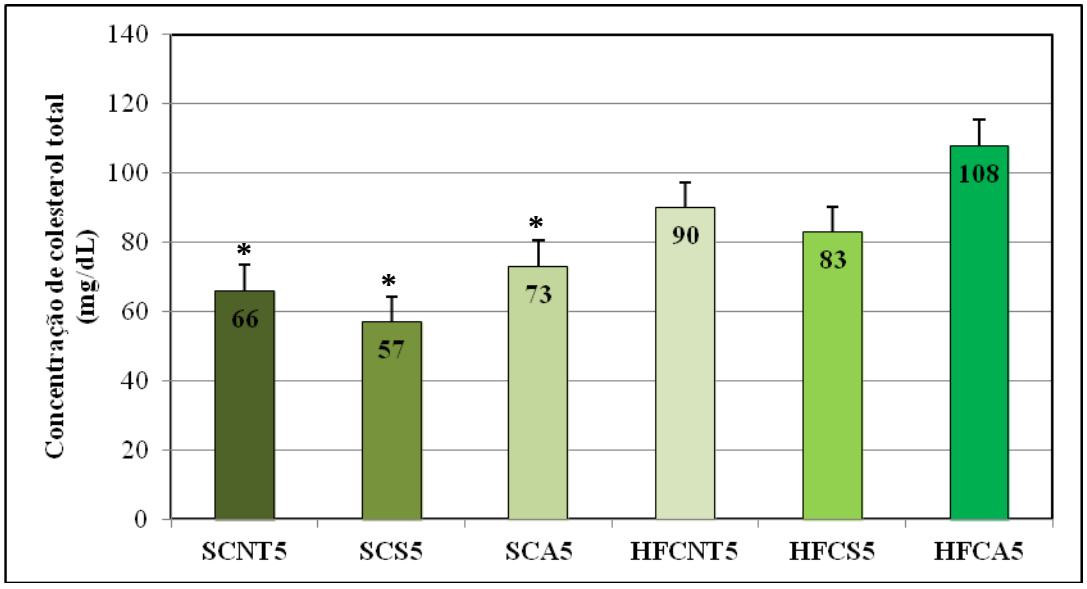
Fonte: A autora, 2015.

4.2. Experimento com animais que foram submetidos ao tratamento prolongado (cinco doses consecutivas dos fármacos).

4.2.1. Análise bioquímica

Os níveis de colesterol total plasmático estão representados no gráfico 5. As taxas foram extremamente significativas entre os grupos e seus respectivos controles. O nível de colesterol foi significativamente elevado nos grupos que receberam a dieta hiperlipídica, independentemente do tipo de tratamento: (SCNT, 66±4,1) x (HFCNT, 89±3); (SCS, 57±3.8) x (HFCS, 83±4,7); (SCA, 73±2,8) x (HFCA, 107±6,1). A sinvastatina mostrou sua eficácia tanto nos grupos SC quanto nos grupos HFC, apesar destes últimos apresentarem uma menor taxa de redução.

Gráfico 5 – Concentração do colesterol total (mg/dL) no soro plasmático de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratamento prolongado de sinvastatina ou artesunato



Legenda: Diferenças significativas entre: (*) seus respectivos controles. SCNT5, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA5, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT5, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS5, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA5, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica. Todos os dados estão apresentados com média e erro padrão.

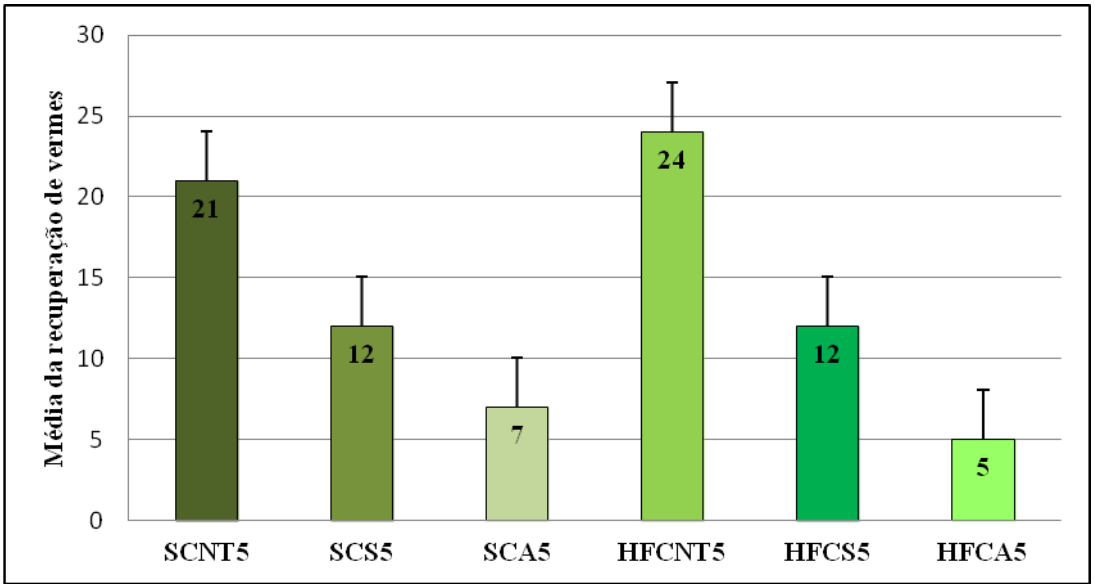
Fonte: A autora, 2015.

4.2.2. Análise parasitológica

Os dados relativos à análise parasitológica estão representados nos gráficos 6- 8 e tabela 5.

A média da recuperação de vermes está representada no gráfico 6. Não houve diferenças significativas entre dietas, porém pode-se observar intensa redução na recuperação de vermes dos grupos tratados. A sinvastatina teve o mesmo efeito tanto no grupo com a dieta padrão (SCS, 12±3) como na dieta hiperlipídica (HFCS, 12±2). Os grupos tratados com o artesunato mostraram maior redução: (SCA, 7±1), (HFCA, 5±1).

Gráfico 6 – Recuperação média de vermes nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratamento prolongado de artesunato ou sinvastatina

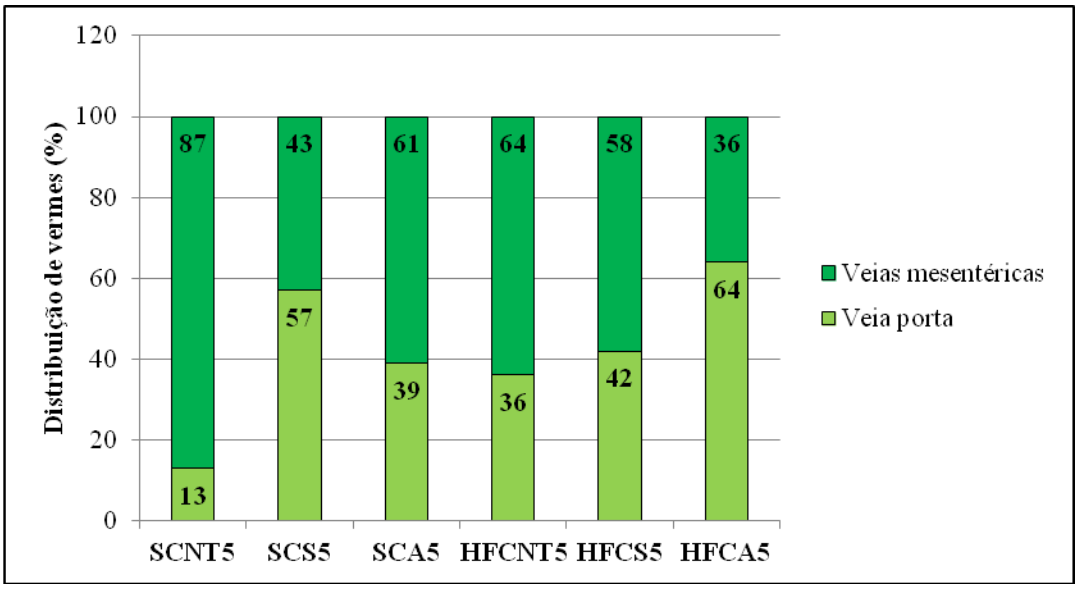


Legenda: SCNT5, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS5, tratado com cinco doses de sinvastatina; SCA, tratado com cinco doses de artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT5, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS5, tratado com cinco doses de sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA5, tratado com cinco doses de artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica.
Fonte: A autora, 2015.

O gráfico 7 mostra a distribuição dos vermes recuperados de camundongos no sistema porta. Os grupos não tratados apresentaram maior distribuição dos vermes nas veias mesentéricas, conforme o esperado, visto que esse é o local de deposição de ovos pelos

vermes. Os vermes submetidos ao tratamento pela sinvastatina apresentaram maior concentração na veia porta (SC, 57%), mas o mesmo não ocorreu no grupo (HFCS, 42%). Os vermes submetidos ao artesunato apresentaram permanência nas veias mesentéricas no grupo (SCA, 61%), mas o oposto ocorreu no grupo alimentado com dieta hiperlipídica, onde houve maior deslocamento para a veia porta (HFCA, 64%).

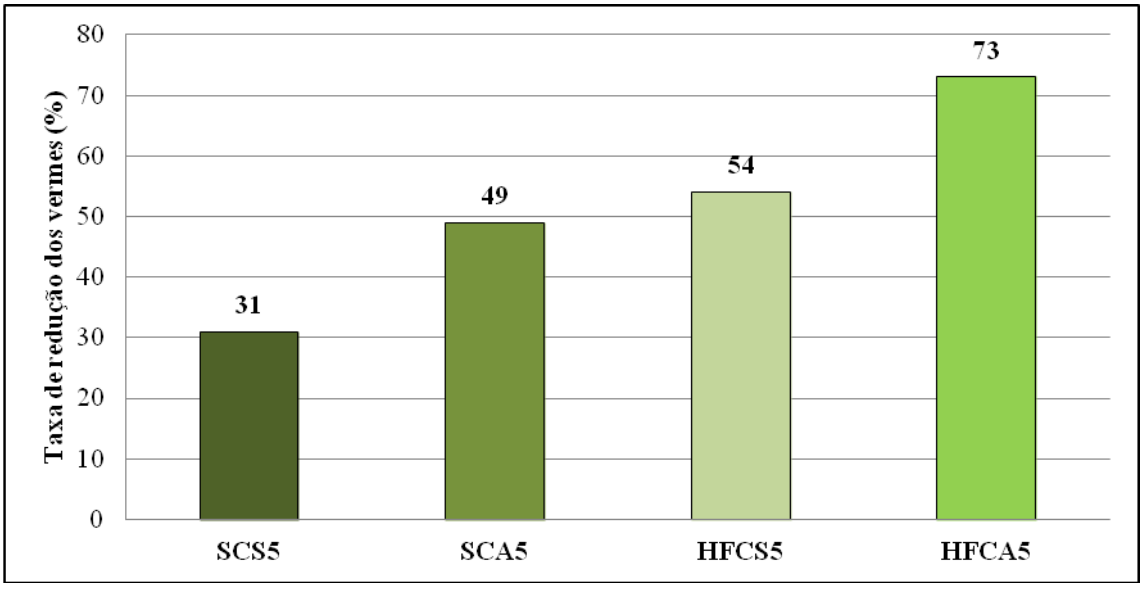
Gráfico 7 – Percentual da distribuição dos vermes no sistema porta em camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento prolongado com artesunato (300mg/kg) ou sinvastatina (200mg/kg) por via oral



Legenda: SCNT5, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS5, tratado com dose única de sinvastatina; SCA5, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT5, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS5, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA5, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica.
Fonte: A autora, 2015.

O gráfico 8 apresenta os dados a respeito da taxa de redução da carga parasitária. Os grupos tratados e alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maiores taxas de redução, principalmente o grupo tratado com artesunato (HFCA, 73%).

Gráfico 8 – Taxa de redução da carga parasitária* nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratados com artesunato ou sinvastatina



Legenda: * Percentual de redução = número de vermes recuperados do grupo controle – número de vermes recuperados do grupo tratado/(número de vermes do grupo controle) x 100). SCNT5, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS5, tratado com dose única de sinvastatina; SCA5, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT5, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS5, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA5, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica.
Fonte: A autora, 2015.

Os parâmetros parasitológicos estão representados na tabela 5. Pode-se observar a influência significativa da dieta em relação à quantidade de ovos nas fezes dos grupos não tratados [SCNT5 (2667±420) x HFCNT5 (11978±4078)], os grupos tratados apresentaram o mesmo padrão, embora não significativos quando comparados entre dietas. Não foi verificada alteração entre dietas, mas de um modo geral, houve redução na quantidade de ovos nos grupos tratados com sinvastatina [SCS5 (3093±786) x HFCS5 (5116±1316)] ou com artesunato [SCA5 (4262±1199) x HFCA5 (6796±2290)].

Em relação ao oograma intestinal, se observou redução na quantidade de ovos dos grupos tratados com sinvastatina [SCS5 (794±141) x HFCS5 (518±103)] e principalmente nos tratados com artesunato [SCA5 (602±166) x HFCA5 (331±53)].

Tabela 5 – Parâmetros parasitológicos nos camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica e tratamento prolongado com artesunato ou com a sinvastatina

Parâmetros	**Grupos**					
	SCNT5	**SCS5**	**SCA5**	**HFCNT5**	**HFCS5**	**HFCA5**
Ovos nas fezes	2667±420	3093±786	4262±1199	11987±4078	5116±1316	6796±2290
Contagem de ovos no intestino*	449±78	794±141	602±166	1580±400	518±103	331±53
Oograma						
Maduro	97	99	58	58	63	63
Imaturo	02	0	12	22	05	07
Morto	01	01	30	20	32	30

Legenda: * Média ± erro padrão. SCNT5, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS5 tratamento prolongado de sinvastatina; SCA5 tratamento prolongado de artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT5, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS5, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA5, tratamento prolongado com o artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica.

Fonte: A autora, 2015.

4.2.3. Análises morfométrica e morfológica dos vermes

Um total de 303 espécimes foi analisado, grupo HFC (n=151) e do grupo SC (n=152) em cinco doses. A tabela 6 mostra o número de vermes analisados em cada tipo de microscopia. O resultado da análise morfológica por microscopia de luz está descrita nas Tabelas 7 e 8.

Os lóbulos testiculares não mostraram alterações significativas em relação ao seu número ou densidade de células. A redução da densidade de células nos lóbulos testiculares se apresentou de forma sutil nos grupos tratados com sinvastatina (SCC5, 6%), (HFCS5, 7%), e um pouco mais elevado nos grupos submetidos ao artesunato (SCA5, 10%) e (HFCA5, 12%). A área e o perímetro do lóbulo testicular foram significativamente reduzidos no grupo HFCS5 (932±39) quando comparado com o grupo SCS5 (26350±1535). O perímetro também foi significativamente reduzido no grupo HFCA5 (919±38) comparado ao grupo SCA5 (1162±77). A concentração de espermatozoides foi reduzida nos grupos tratados com poucas diferenças entre as dietas: (SCS5, 40%), (HFCS5, 30%), (SCA5, 32%), (HFCA5, 28%). De forma geral, os grupos tratados apresentaram a espessura do tegumento foram menores nos grupos tratados, apesar de não haver diferença significativa entre eles: SCS5 (11±0,5) x HFCS5 (9,9±0,3), SCA5 (10±1,1) x HFCA5 (10±0,5).

Tabela 6 – Número de vermes analisados por grupo de acordo com o tipo de microscopia utilizada

Grupos	**MO**		**MC**		**MEV**
	♂	♀	♂	♀	♂
SCNT5	32	14	10	10	07
SCS5	25	21	10	10	07
SCA5	25	14	10	10	07
HFCNT5	35	22	10	10	07
HFCS5	34	12	10	10	16
HFCA5	07	03	10	10	15

Legenda: MO: Microscopia ótica; MC: Microscopia laser confocal; MEV: Microscopia eletrônica de varredura. SC NT5, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS5, tratado com cinco doses de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFC NT5, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS5, tratamento prolongado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA5, tratamento prolongado com o artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica.

Fonte: A autora, 2015.

Tabela 7 – Alterações nos vermes machos recuperados de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento prolongado de artesunato ou de sinvastatina, por via oral

Parâmetros morfométricos	**Grupos**					
	SCNT5	**SCS5**	**SCA5**	**HFCNT5**	**HFCS5**	**HFCA5**
Nº de lóbulos testiculares	8±0,3	8±0,4	7±0,2	8±0,3	7±0,3	8±0,2
Densidade células testiculares (%)						
Normal	97	94	90	100	93	87
Reduzido	3	6	10	0	7	13
Área	22671±1444	26350±1535*	22877±1072	23201±1796	932±39	24094±1937
Perímetro	829±36	1162±77*	1046±38	1007±40*	919±38	6085±5054
Área da vesícula seminal	1468±82	1526±264*	1312±102	2073±712	5385±1709	1535±184
Concentração de espermatozoides (%)						
Normal	75	60	68	94	70	72
Reduzido	25	40	32	06	30	28
Espessura do tegumento	21±1,7*	11±0,5	10±1,1	15±0,8	9,9±0,3	10±0,5
Altura do tubérculo	8,2±0,4	5,5±0,2	5,9±0,2*	5,9±0,2	5,3±0,2	4,9±0,1
% densidade de tubérculos						
Normal	97	89	98	100	79	86
Reduzido	3	11	2	0	21	14

Legenda: * Diferenças significativas <0,05. Média ± erro padrão. *: quando comparado com o seu respectivo grupo controle. SCNT5, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS5, tratado com cinco doses de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT5, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS5, tratamento prolongado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA5, tratamento prolongado com o artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica. Unidades de medidas: área (µm²), perímetro, espessura e altura (µm).

Fonte: A autora, 2015.

Tabela 8 – Alterações nos vermes fêmeas recuperados de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Tratamento prolongado com o artesunato ou com a sinvastatina, por via oral

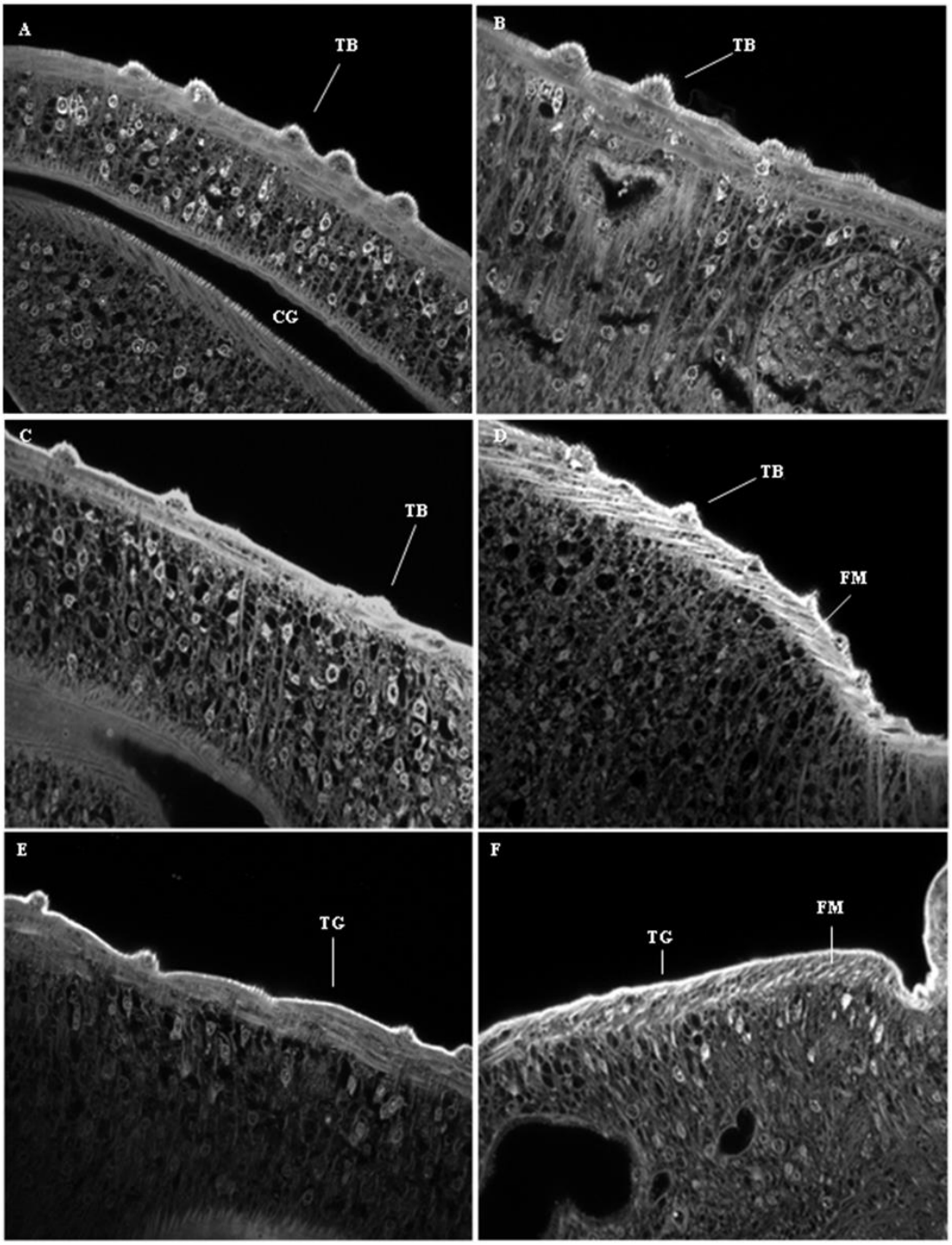
Parâmetros	**Grupos**					
	SCNT5	**SCS5**	**SCA5**	**HFCNT5**	**HFCS5**	**HFCA5**
Área do ovário	24543±984	12013±1757	26447±1681	29377±1854	14986±2223	57714±35919
Densidade das glândulas vitelínicas (%)						
Normal	99	81	86	99	96	99
Reduzida	01	19	14	01	04	01
Densidade de vitelo (%)						
Normal	99	100	99	100	100	100
Reduzido	01	0	01	0	01	0
Espessura do tegumento	3,1±0,1	3,7±0,1	4±0,4	4,8±0,3	3,8±0,3	3,7±0,2

Legenda: Média ± erro padrão. *: quando comparado com o seu respectivo grupo controle. SCNT, não tratado alimentado com dieta padrão; SCS, tratado com dose única de sinvastatina; SCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta padrão; HFCNT, não tratado alimentado com dieta hiperlipídica; HFCS, tratado com sinvastatina e alimentado com dieta hiperlipídica; HFCA, tratado com artesunato e alimentado com dieta hiperlipídica. Unidades de medidas: área (μm²), perímetro, espessura e altura (μm).

Fonte: A autora, 2015.

Os dados morfológicos obtidos através da microscopia confocal estão representados nas figuras 23-25. O tegumento dos machos não tratados apresentou aspecto normal com tubérculos e musculatura organizada independentemente do tipo de dieta (Figura 23-a, b). Pode-se observar em vermes tratados com cinco doses de sinvastatina do grupo SCS5 que o tegumento se apresentava mais fino do que os não tratados e com regiões lisas devido a presença de poucos tubérculos (Figura 23-c). Os vermes do grupo HFCA5 apresentaram feixes de células musculares desorganizados e poucos tubérculos achatados no tegumento (Figura 23-d). O tegumento dos vermes submetidos ao artesunato pareceu apresentar maior efeito redutor nos tubérculos e na musculatura (Figura 23-e), principalmente no grupo HFCA5 (Figura 23-f).

Figura 23 – Imagens de microscopia confocal a laser do tegumento de *Schistosoma mansoni* machos adultos recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, d) ou hiperlipídica (b, d, f)

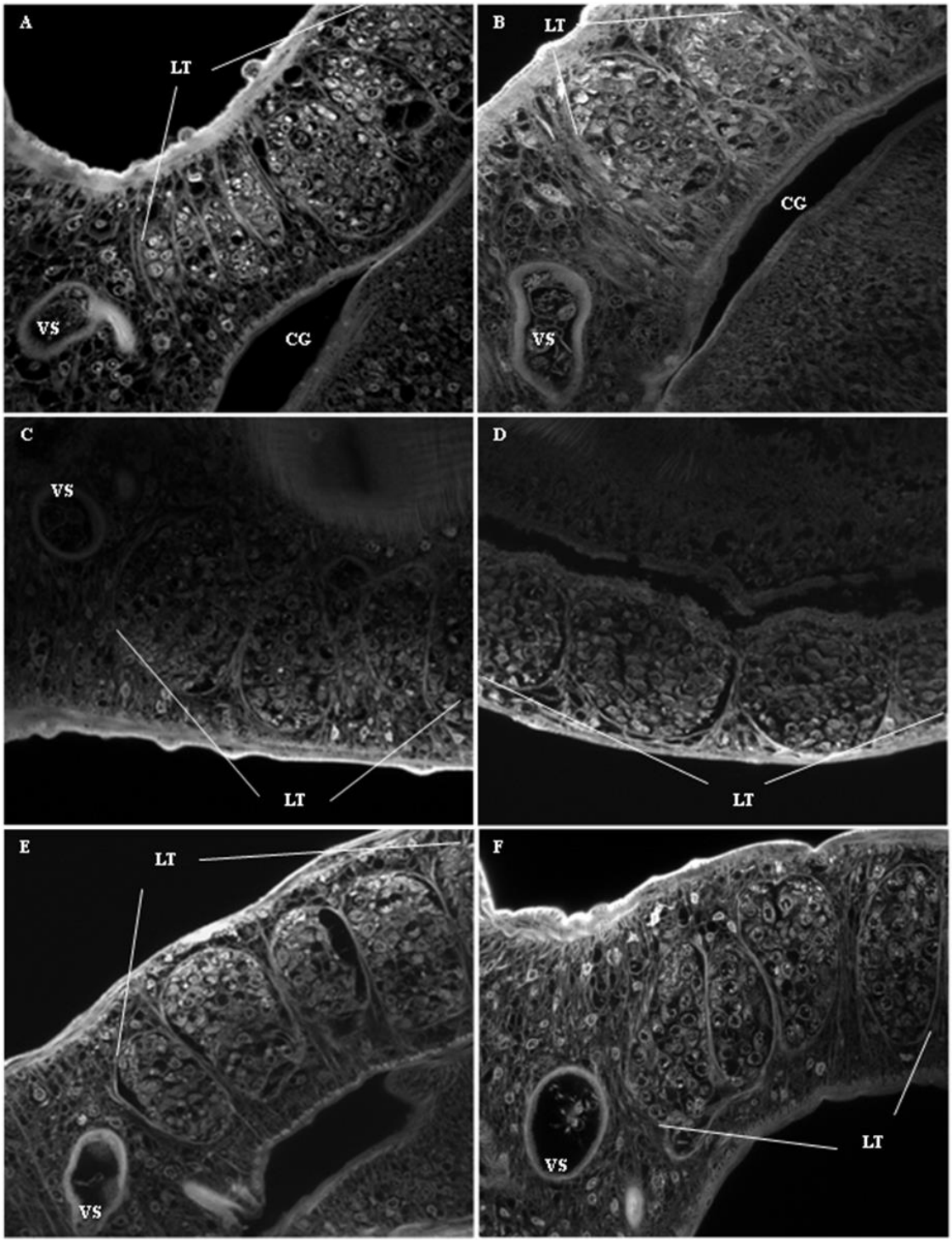


Legenda: Vermes expostos ao tratamento prolongado com a sinvastatina apresentando tegumento fino com regiões lisas devido a presença de poucos tubérculos (c), feixes de células musculares desorganizados, tegumento com poucos tubérculos achatados (d), vermes expostos ao tratamento prolongado com o artesunato apresentando tegumento fino e poucos tubérculos (e), tegumento liso, desprovido de tubérculos e feixes musculares desorganizados (f) . Todas as imagens estão no aumento de 60x.

Fonte: A autora, 2015.

O sistema reprodutor masculino do *S. mansoni* foi analisado e representado na figura 24. Pode-se observar nos vermes não tratados o aspecto normal das células dos lóbulos testiculares com aspecto arredondado e núcleo bem evidente. A vesícula seminal também se mostrou normal com a presença de espematozoides. A dieta não interferiu neste aspecto (Figura 24-a, b). A sinvastatina parece ter efeito nas células dos lóbulos testiculares, visto que foram observadas células imaturas e anucleadas. Houve também uma baixa densidade de espermatozoides na vesícula seminal no grupo SCS5 (Figura 24-c). Já no grupo HFCS5, foram observadas as mesmas alterações, além de células amorfas (Figura 24-d). O artesunato também provocou alterações no sistema reprodutor masculino. Foram encontradas células imaturas, amorfas com núcleo granuloso, anucleadas e vesícula seminal com células imaturas sem formação de espermatozoides tanto no grupo SCA quanto no grupo HFCA (Figura 24-e, f).

Figura 24 – Imagens por microscópio a laser confocal dos lóbulos testiculares de *Schistosoma mansoni* machos adultos recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, e) ou hiperlipídica (b, d, f)

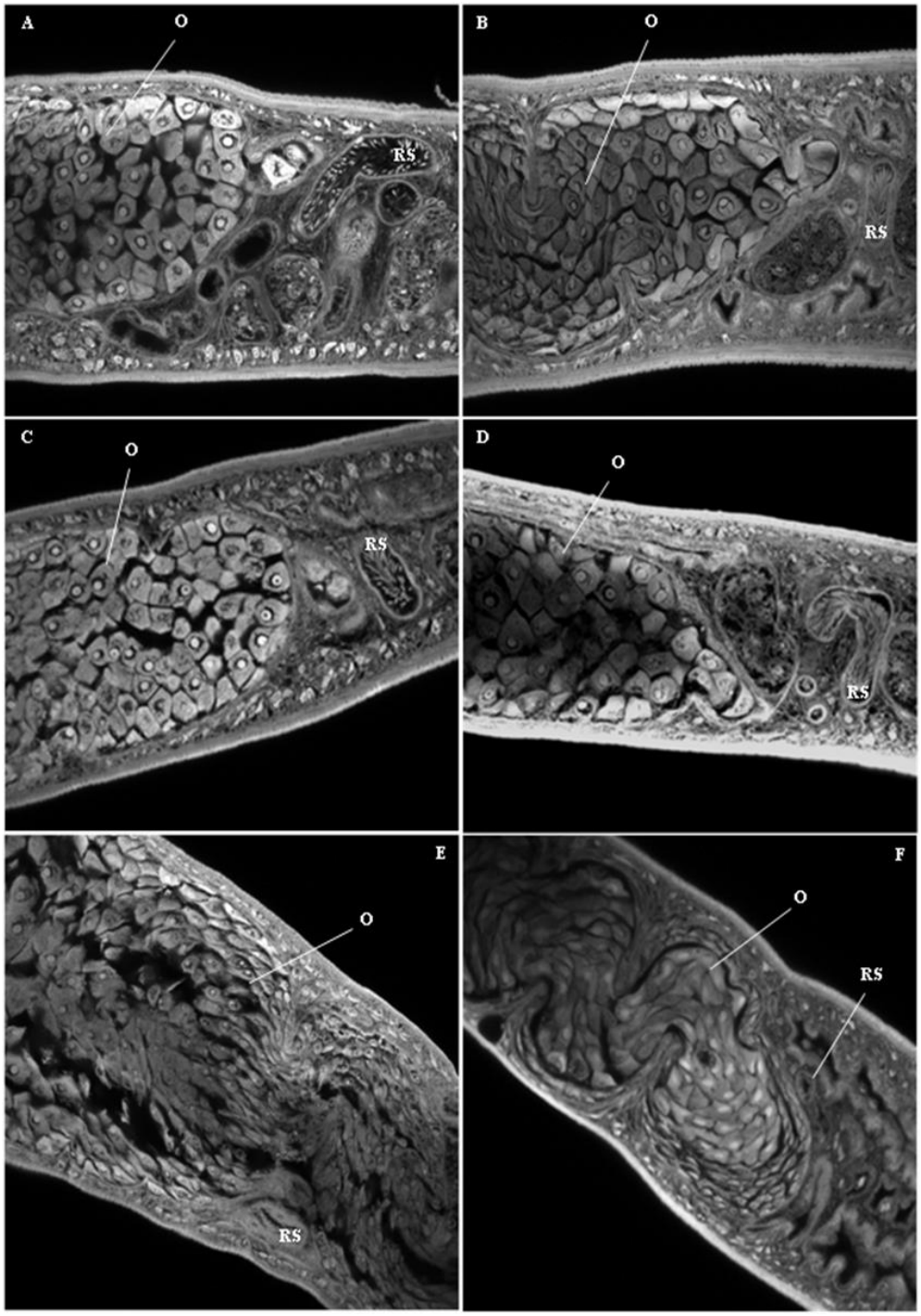


Legenda: (a, b) Vermes não tratados apresentando com canal ginecóforo (CG), células com núcleo visível no interior dos lóbulos testiculares (LT) e vesícula seminal (VS). Vermes expostos ao tratamento prolongado com a sinvastatina apresentando células imaturas, anucleadas e espermatozoides na vesícula seminal (c), presença de células amorfas e anucleadas (d). Vermes expostos ao tratamento prolongado com o artesunato apresentando lóbulos testiculares com células imaturas, amorfas com núcleo granuloso ou anucleadas e vesícula seminal com pouca densidade de células imaturas, sem formação de espermatozoides (e,f). Todas as imagens estão em aumento de 60x.

Fonte: A autora, 2015.

O sistema reprodutor feminino também foi analisado. Fêmeas não tratadas apresentaram ovários normais com células arredondadas com núcleo evidente e presença de espermatozoides no receptáculo seminal (Figura 25- a, b). A exposição à cinco doses de sinvastatina provocou alterações no formato das células dos ovários. A maioria dessas células não apresentou núcleo ou continham núcleos granulosos no grupo SCS5 (Figura 25-c). O grupo HFCS5 apresentou ovários com células triangulares (Figura 25-d). As alterações causadas pelo artesunato foram mais intensas, independentemente da dieta. Podem-se observar alterações diversas como: células amorfas, triangulares e/ou anucleadas (Figura 25-e, f).

Figura 25 – Imagens de microscopia confocal a laser do sistema reprodutivo de fêmeas de *Schistosoma mansoni* recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão (a, c, e) ou hiperlipídica (b, d, f)

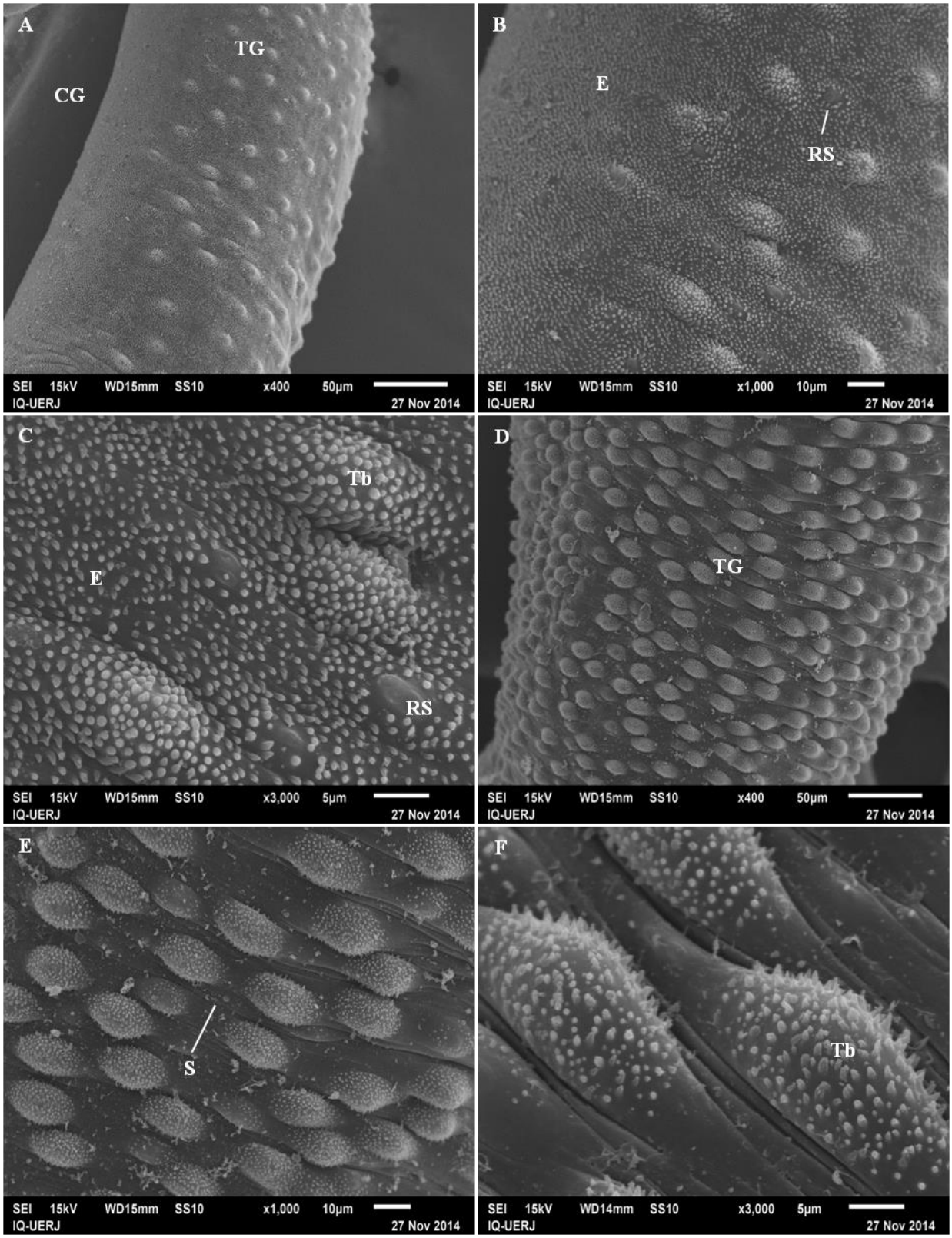


Legenda: Vermes não tratados apresentando ovários (O) com células arredondadas com núcleo aparente e presença de espermatozoides no receptáculo seminal (RS) de camundongos alimentados com dieta SC (a) ou HFC (b). Vermes expostos ao tratamento prolongado com a sinvastatina apresentando ovários com células amorfas, sem núcleo evidente ou núcleos granulosos (c) e ovários com células triangulares e receptáculo seminal com espermatozoides abundantes (d). Vermes expostos ao tratamento prolongado com o artesunato com o ovário (O) apresentando células amorfas, triangulares, alongadas e/ou anucleadas e presença de receptáculo seminal com espermatozoides (e, f). (Imagens 60x).

Fonte: A autora, 2015.

A topografia da superfície do macho *S. mansoni* [HFCNT (n = 7); SC NT (n =7); HFCS (n = 16); SCS (n = 7); HFCA (n = 15); e SCA (n = 7)] estudada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) são mostradas na Figura 26-31. Os grupos não tratados SCNT5 e HFCNT5 estão representados, respectivamente nas figuras 26 e 27. Pode-se observar na região ventral do tegumento no grupo SCCNT5 muitos espinhos próximo do canal ginecóforo (Figura 26-a, b). Na região dorsal havia presença de tegumento com quantidade moderada a pouca de espinhos entre os tubérculos de aspecto normal (Figura 26-d, e). Pode-se observar também tubérculos com espinhos, sulcos e receptores sensoriais visíveis (Figura 26-e, f).

Figura 26 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura de *Schistosoma mansoni* recuperados de camundongos alimentados com dieta padrão

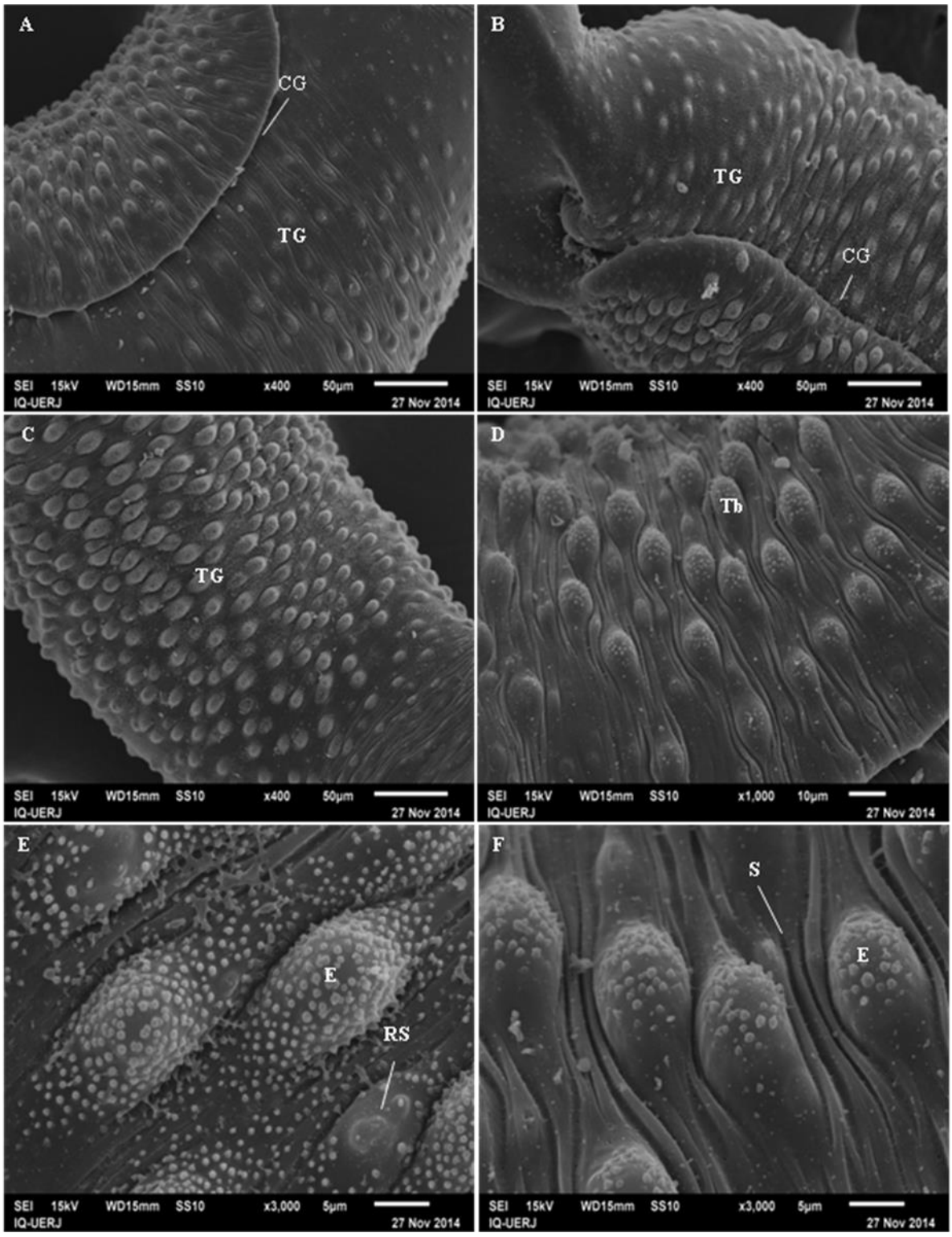


Legenda: Região antero-dorsal mostrando tegumento e canal ginecóforo com aspecto normal (a). Imagem ampliada do tegumento (TG) com presença de espinhos (E) e tubérculos (Tb) (b). Imagem ampliada dos tubérculos (Tb), espinhos (E) e receptores sensoriais (RS) (c). Região dorsal mostrando tegumento (TG) normal (d). Presença de sulcos (S) no tegumento (e). Tubérculos (Tb) com aspecto normal (f).

Fonte: A autora, 2015.

No grupo HFCC5 apresentou tegumento com tubérculos com espinhos na região dorsal, próximo ao canal ginecóforo (Figura 27-a, b) e também na região dorsal (Figura 27- c, d). Foram observados tubérculos com espinhos, receptores sensoriais e sulcos com aspecto normais (Figura 27-e, f).

Figura 27 – Microscopia eletrônica de varredura do teguemnto do *Schistosoma mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica sem tratamento

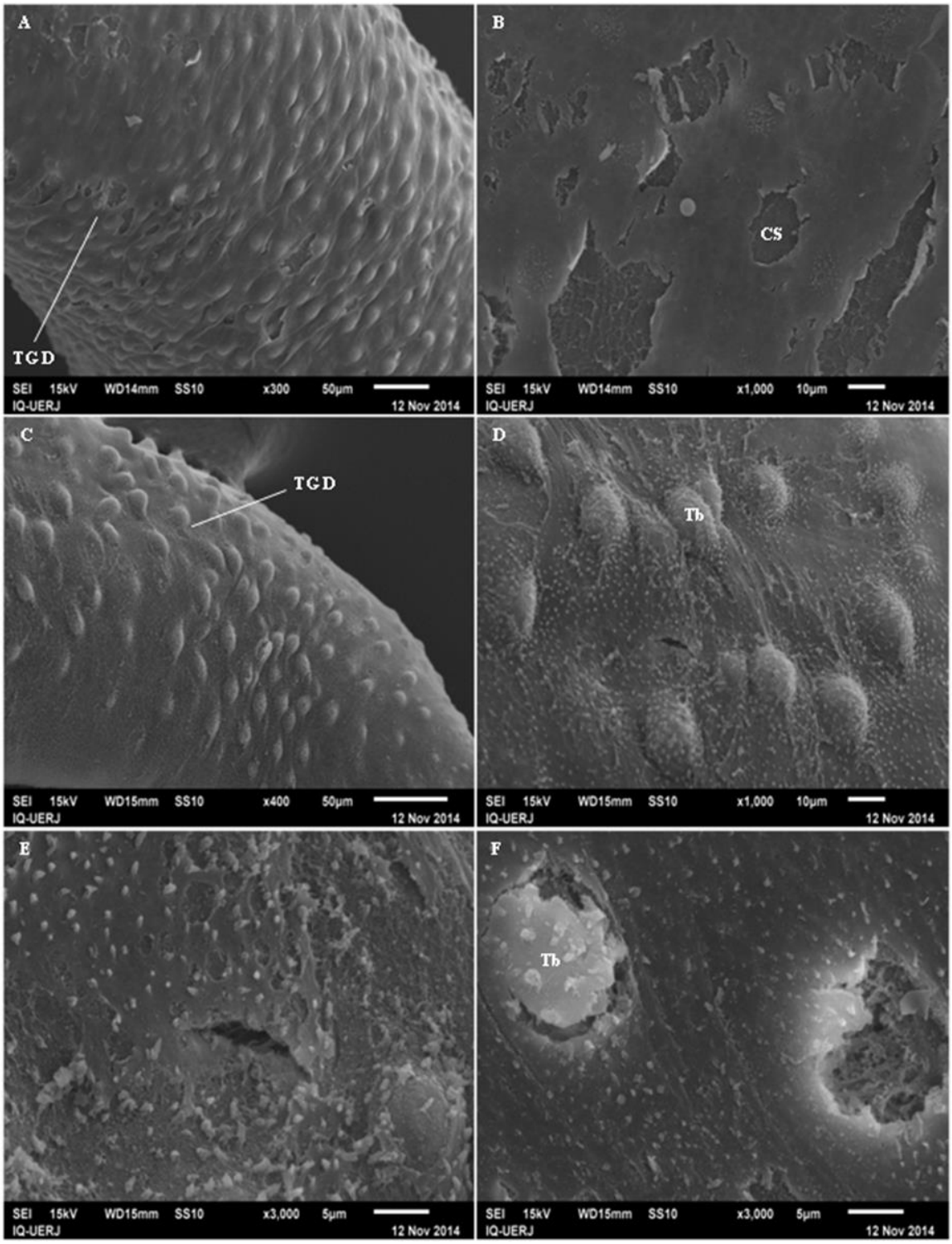


Legenda: Região dorsal mostrando parte externa do canal ginecóforo (CG) e tegumento (TG) com aspecto normal (a, b). Região antero-dorsal com tegumento (TG) normal (c). Tubérculos (Tb) com aspecto normal (d). Imagem ampliada dos tubérculos com espinhos (E) e receptores sensoriais (RS) e sulcos (S) (e, f).

Fonte: A autora, 2015.

O grupo SCS5 apresentou danos leves ou moderados no tegumento. Foram observadas áreas de descamação moderada na região dorsal do verme (Figura 28-a). Imagens com maior aumento mostram com detalhe a descamação do tegumento e a exposição do tecido subtegumentar (Figura 28-b). Alguns vermes apresentaram regiões do tegumento com a leve descamação (Figura 28-c). Foram observadas regiões tegumentares apresentando leve inchaço e descamação tegumentar (Figura 28-e) e, também regiões inchadas (Figura 28-d) e tubérculos com a base descamada (Figura 28-f).

Figura 28 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *Schistosoma mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta padrão tratados com ao tratamento prolongado de sinvastatina

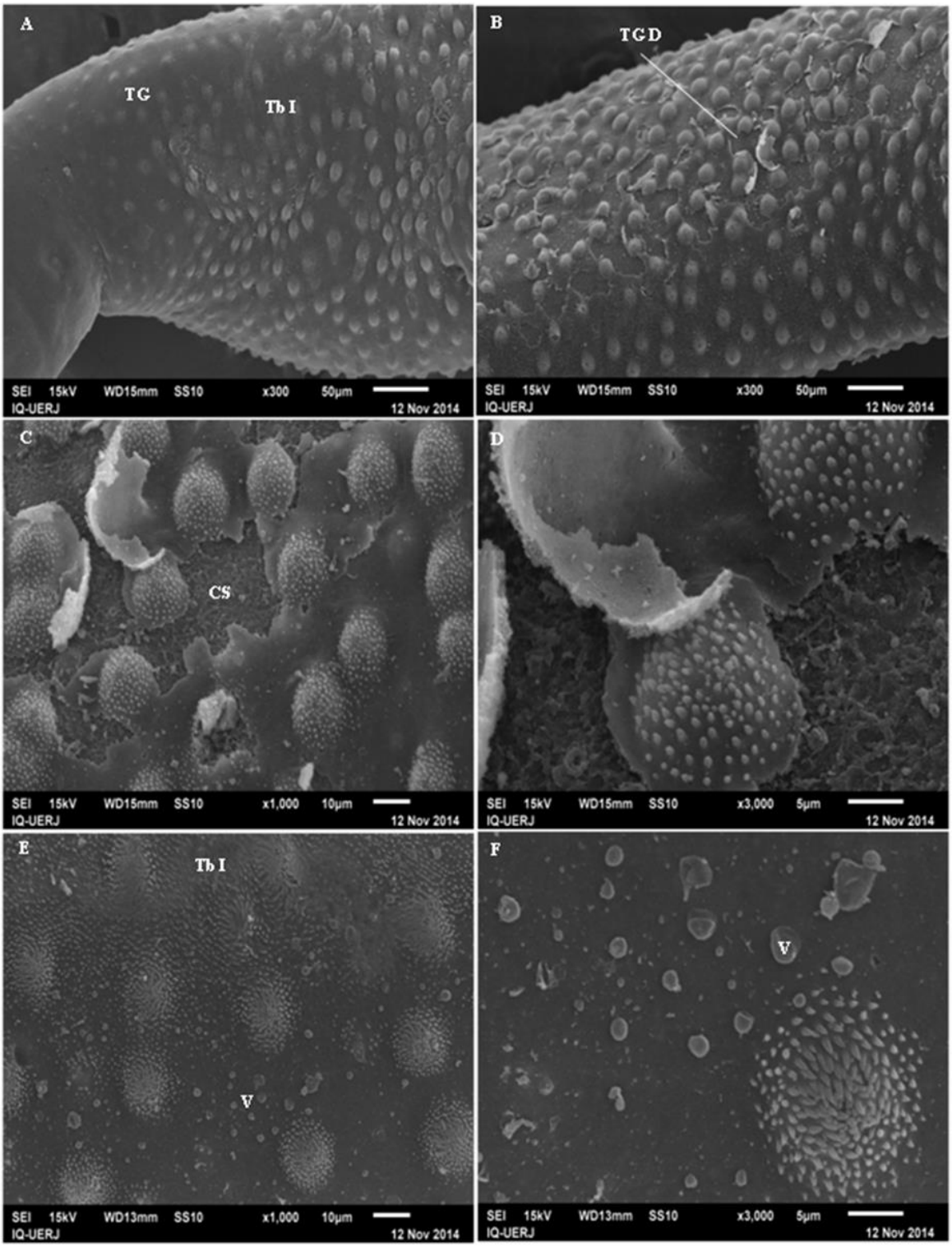


Legenda: Tegumento (TGD) com moderada descamação (a). Imagem ampliada mostrando descamação e camada subtegumentar (CS) (b). Tegumento com danos devido a leve descamação (c). Imagem ampliada com leve descamação e no tegumento e espinhos danificados no tubérculo (Tb) (d). Região tegumentar apresentando leve inchaço e descamação tegumentar (e). Tubérculos com base descamada (f).

Fonte: A autora, 2015.

A microscopia eletrônica de varredura evidenciou as lesões tegumentares em *S. mansoni* machos do grupo HFCS5. Vários vermes apresentaram regiões lisas no tegumento devido a reduzida quantidade de tubérculos e inchaço (Figura 29-a) ou regiões com descamação (Figura 29-b). Descamações mais intensas promoveram a exposição do tecido subtegumentar (Figura 29-c, d). Observou-se também a presença de vesículas e inchaço no tegumento (Figura 29-e, f).

Figura 29 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *Schistosoma mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e alimentado e com tratamento prolongado de sinvastatina

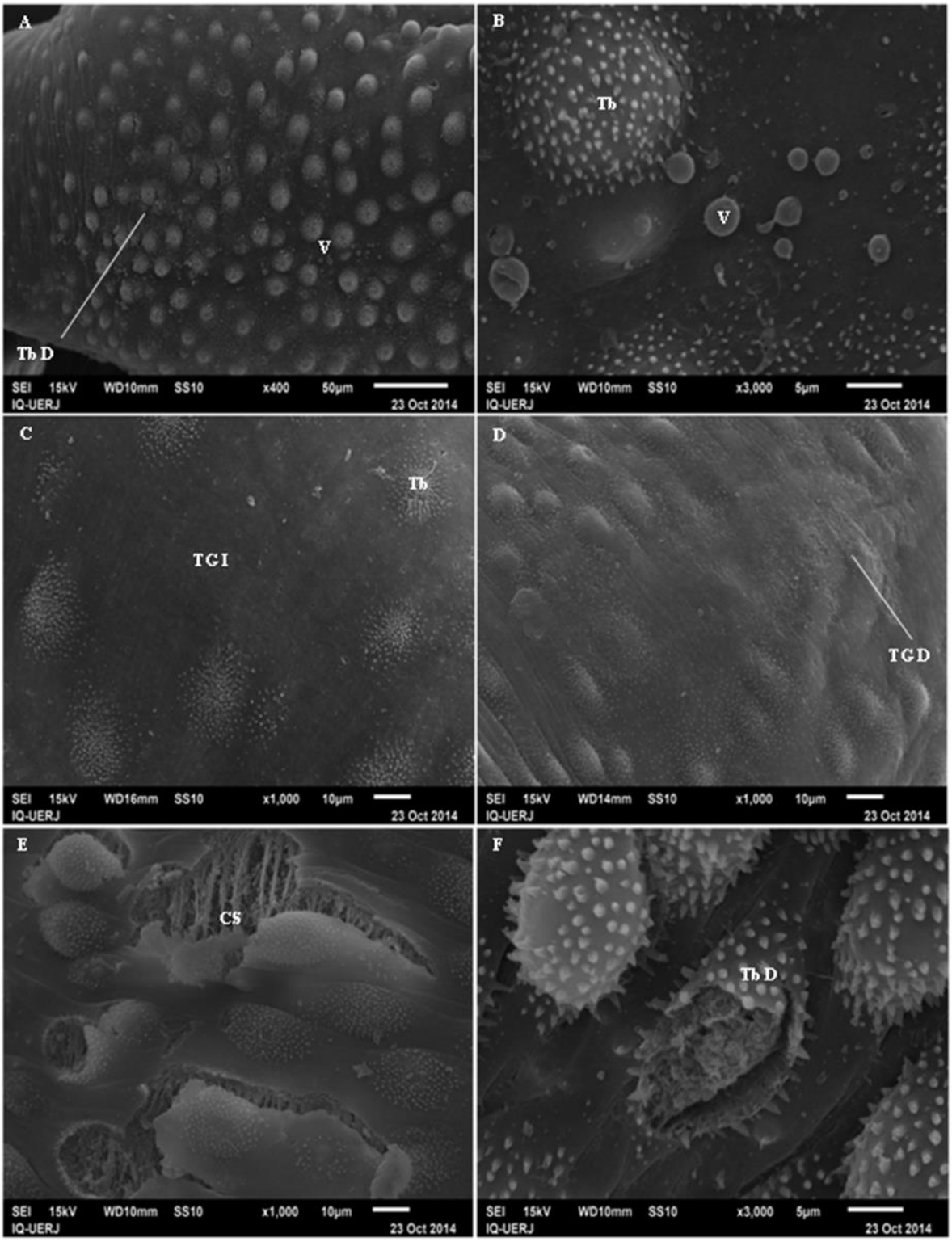


Legenda: Tegumento (TG) apresentado regiões mais lisas, devido a reduzida quantidade de tubérculos e inchaço (TbI) (a). Tegumento com regiões de descamação (TG D) (b). Tegumento com danos intenso devido com descamação e exposição da camada subtegumentar (CS) (c). Imagem ampliada com descamação (d). Região tegumentar apresentando inchaço (Tb I) e vesículas (V) (e). Imagem ampliada mostrando a presença de vesículas no tegumento (f).

Fonte: A autora, 2015.

Danos tegumentares foram observados nos vermes o grupo SCA5. Alguns vermes apresentavam leve descamação na base dos tubérculos e presença de vesículas (Figura 30-a, b, c). Esse grupo também mostrou tubérculos de tamanho reduzido devido ao inchaço no tegumento (Figura 30-d, e), além de descamação com exposição do tecido subtegumentar (Figura 30- e, f).

Figura 30 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *Schistosoma mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta padrão tratados com tratamento prolongado de artesunato

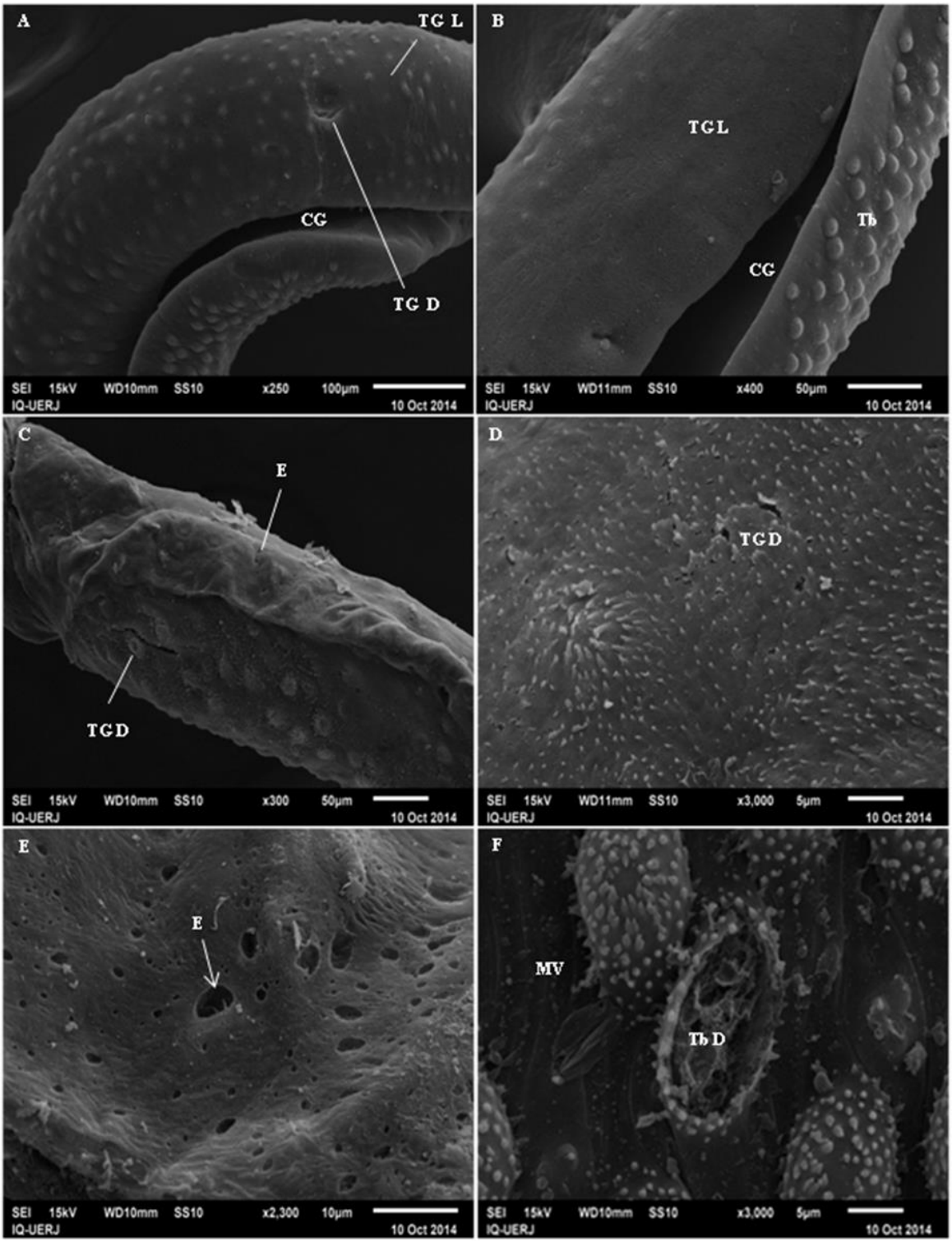


Legenda: Base dos tubérculos (TbD) com descamação leve e presença de vesículas (V) (a). Imagem ampliada das vesículas tegumentares (b). Tegumento inchado (TI) com tubérculos (Tb) de tamanho reduzido (c). Tegumento (TGD) presença de leve descamação e inchaço (d). Exposição da camada sub tegumentar devido a descamação (e). Tubérculo lesionado (Tb) (f).

Fonte: A autora, 2015.

As lesões nos vermes do grupo HFCA forma de moderadas a intensas. Muitos vermes apresentaram regiões do tegumento lisas, devido a ausência de tubérculos (Figura 31-a, b). Observaram-se também regiões de intensa contração no tegumento (Figura 31-c). Todos os vermes apresentaram regiões de descamação leve a intensa com destruição do tegumento ou de tubérculos (Figura 31-d, f). Foram observados pontos com pequenas cavidades devido a um processo erosivo do tegumento (Figura 31-e).

Figura 31 – Microscopia eletrônica de varredura da região dorsal do *Schistosoma mansoni* adulto coletado de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica tratamento prolongado de artesunato



Legenda: Tegumento com grandes áreas lisas (TL) e leve descamação (TGD) (a). Tegumento com uma face praticamente sem tubérculos (TGL) e outra com tubérculos normais (TB) (b). Verme com o corpo contraido e leve descamação (TGD) e erosão (E) no tegumento (c). Descamação do tegumento (TGD) (d). Detalhe da área apresentada em c mostrando as áreas de erosão (E) no tegumento (e). Tubérculo descamado e micro vesículas no tegumento (f).

Fonte: A autora, 2015.

5 **DISCUSSÃO**

A razão da grande longevidade dos vermes adultos de *S. mansoni* nos vasos sanguíneos do hospedeiro ainda não está completamente esclarecida (KUSEL et al., 2007). Foi demonstrado que vermes adultos mantidos *in vitro* (RUMJANEK & SIMPSON, 1980) absorvem colesterol e que esse hormônio é necessário não só para a manutenção do tegumento, a produção de ovos e para a sinalização célula a célula (FURLONG & CAULFIELD, 1991). Mais recentemente, foi confirmada a importância dos lipídeos para os mecanismos de evasão da resposta imune do hospedeiro (VAN HELLEMOND et al., 2006; TALLIMA et al., 2007).

Há cerca de uma década estudos realizados pelo nosso grupo também vêm buscando a elucidação do papel do colesterol na esquistossomose experimental no modelo murino. O desenvolvimento de um modelo experimental, sem depleção gênica, foi o ponto inicial para a experiência do nosso grupo no estudo das comorbidades: esquistossomose e desordem metabólica induzida por dieta hiperlipídica (NEVES et al., 2006a). Posteriormente, estudos realizados em animais infectados permitiram evidenciar que o colesterol influi positivamente ou negativamente nas características morfológicas do *S. mansoni* e no curso da infecção no hospedeiro. Na fase aguda e, principalmente, na fase crônica há alterações favoráveis ao parasito, tanto no desenvolvimento do sistema reprodutor quanto no aumento na produção de ovos (NEVES et al., 2007a,b; ALENCAR et al., 2009, PEREIRA et al., 2011).

A análise de fluidos biológicos em distintos compartimentos de camundongos esquistossomóticos revela a presença de metabólitos, que são biomarcadores da relação parasito-hospedeiro (LI et al., 2011). O mesmo pode ser evidenciado em animais alimentados com uma dieta hiperlipídica, onde a redução do colesterol sérico coincide com o início da produção dos ovos (DOENHOFF et al., 2002). STANLEY e colaboradores (2009) mostraram que a redução dos níveis do colesterol total está relacionada com a indução de produtos secretados pelos ovos dos parasitos incorporados nos tecidos. Essa redução, provavelmente, é independente da resposta imune do hospedeiro.

Em animais com níveis normais de colesterol, o exacerbo na infecção é devido à intensa resposta imunológica aos ovos presentes nos tecidos do hospedeiro (SOUZA et al., 2008), com consequente maior presença de granulomas e danos estruturais no fígado, intestino, baço e coração (NEVES et al., 2006, 2007a,b; ALENCAR et al., 2012; SILVA et al., 2012; GÓES et al., 2012).

Embora numerosos artigos tenham avaliado a resposta terapêutica a esquistossomicidas em modelos experimentais (PEREIRA et al., 1995; ARAÚJO et al., 2008; El BIALY et al., 2013; RAWI et al., 2014), entretanto, não se sabe qual o efeito de drogas na infecção de animais esquistossomóticos com concomitante dislipidemia. Para tal, foram estudados os aspectos parasitológicos da infecção e características dos vermes adultos (morfometria e morfologia), após o tratamento de camundongos dislipidêmicos com sinvastatina ou artesunato. Esses dados foram comparados com camundongos alimentados com uma dieta padrão.

Neste trabalho, os animais esquistossomóticos apresentaram maior nível de colesterol total do que o grupo controle, independentemente do tipo de tratamento. Esse dado corrobora observações anteriores do nosso grupo (NEVES et al., 2007b, ALENCAR et al., 2009). Além disso, os níveis de colesterol mais elevados podem ser propostos como biomarcadores da relação parasito-hospedeiro em animais dislipidêmicos (LI et al., 2011).

O tratamento medicamentoso é indicado para o controle da dislipidemia experimental (JI et al., 2011). O mecanismo de ação das estatinas envolve uma inibição da reductase da HMG-CoA, fundamental para a síntese de mevalonato. Desta ação resulta fundamentalmente uma diminuição da síntese endógena de colesterol. A consequente redução dos níveis plasmáticos do colesterol total, com simultânea diminuição dos níveis de LDL, é concomitante com uma menor disponibilidade de colesterol para incorporação celular, com alteração funcional de vários tipos de células (SOUZA, 2011). O principal alvo de ação das estatinas é o fígado, onde sofre biotransformação, com ampla variação tanto no seu sítio metabólico, como a formação de metabólitos ativos até sua eliminação pela bile (FONSECA, 2006).

A sinvastatina é um derivado sintético de um produto de fermentação do fungo *Aspergillus terreus*. Esse fármaco, que é uma lactona inativa, após a sua ingestão é hidrolisado ao b-hidroxiácido correspondente. Estudos clínicos mostram que sinvastatina é altamente eficaz para reduzir as concentrações plasmáticas do colesterol total, LDL-colesterol, triglicérides e VLDL-colesterol (CAMPOS & CARVALHO, 2007).

A sinvastatina produziu redução no colesterol plasmático, nos grupos da dieta hiperlipídica e no controle. Os níveis de colesterol foram similares em animais que receberam diferentes doses de sinvastatina, embora a redução comparada com o não tratado tenha sido menor nos animais que receberam a dose única. Uma hipótese para explicar esse fato é que poderia haver maior disponibilidade da sinvastatina no tratamento prolongado e com a continuidade da terapia, a sua ação poderia se manter com acentuada resposta ainda em duas

semanas. A eutanásia dos animais foi realizada exatamente após duas semanas do tratamento com dosagens distintas de tratamento. Outra possibilidade é que a sua eficácia é afetada em doenças hepáticas crônicas (VERBEECK, 2008). O uso dos fármacos em maiores dosagens poderia atenuar esse efeito.

Embora efeitos adversos por conta do uso de estatinas sejam documentados (GOLOMB & EVANS, 2008), os seus efeitos pleiotrópicos trazem evidentes consequências benéficas (RUTISHAUSER, 2011). A partir da década de 80 começaram investigações sobre os efeitos anti-helmínticos do mevinolin, também um inibidor da síntese de colesterol. Tal droga promove a eliminação de *S. mansoni* adultos e também alterações na postura dos ovos (VANDERWAA & BENNETT, 1987; CHEN et al., 1990). Este conhecimento estimulou a pesquisa de outras drogas redutoras de colesterol, isoladas ou em associação, com drogas anti-helmínticas sobre a infecção esquistossomótica. No Brasil, a ação da lovastatina foi avaliada na esquistossomose experimental em camundongos alimentados com uma dieta padrão. Foram observadas alterações no oograma e na morfologia dos vermes (ARAÚJO et al., 2002).

Na esquistossomose experimental, a avaliação do efeito medicamentoso é baseada em parâmetros parasitológicos (LAMBERTUCCI et al., 1980; PEREIRA et al., 1995; ARAÚJO et al., 2002, 2008; COSTA-SILVA et al., 2012; MORAES et al., 2012;VIMIEIRO et al., 2013). Nesse estudo, foi observada a ação da sinvastatina na taxa de redução da carga parasitária de vermes adultos, na quantidade de ovos eliminados pelas fezes e naqueles presentes no intestino. Nos animais tratados com dose única, a redução da carga foi maior nos animais dislipidêmicos (-54%) do que os controles (-43%).

Comparando a recuperação de vermes de acordo com a dieta foi observada maior recuperação nos animais alimentados com a dieta hiperlipídica do que os controles. Estudos prévios em nosso laboratório mostraram o mesmo fenômeno em animais na fase aguda da infecção e não tratados (NEVES et al., 2007a). Analisando a distribuição desses vermes, verificamos que a sinvastatina, independente da dieta, promoveu menor deslocamento do que o artesunato. Tal resultado não surpreende porque é conhecido que esse fármaco promove o deslocamento dos vermes (ARAÚJO et al., 1991), embora não haja nenhuma informação no seu mecanismo de ação, até então conhecido, que explique essa ação.

Ao analisar a taxa de recuperação de vermes nos animais que receberam as cinco doses, não houve diferenças entre as dietas, embora tenha ficado claro que os animais tratados apresentavam cerca de 50% da carga dos não tratados. Na comparação entre dose única e tratamento prolongado, não houve diferença no tipo de dieta utilizada. Poderia ser esperado que uma estatina com atividade anti-esquistossoma, aplicada no tratamento prolongado,

promovesse maior redução da carga parasitária do que a de dose única. Isso foi confirmado nos animais submetidos à dieta normal, à semelhança dos achados de ARAÚJO et al. (2002). Com o uso de dosagem múltipla verificamos uma menor recuperação do que os descritos por esses autores. Tal diferença pode ser explicada pelo maior efeito produzido pela sinvastatina (ROJO-ARREOLA et al., 2014) do que a lovastatina (ARAÚJO et al., 2002).

O deslocamento de vermes do mesentério para o fígado também é uma variável para analisar o efeito de drogas esquistossomicidas. Como outros estudos com animais mantidos em dieta normal e não tratados, menos vermes estavam localizados no sistema porta (MATI & MELO, 2012). A distribuição dos vermes para o sistema porta foi pouco alterada no grupo tratado com estatina em dose única, reproduzindo o estudo com lovastatina (ARAÚJO et al., 2002).

Como consequência à observação de que houve redução da carga parasitária com sinvastatina, ainda que parcial, a próxima etapa foi avaliar se os vermes sobreviventes apresentavam alguma alteração morfológica. Poucos trabalhos mostram os efeitos das estatinas sobre a morfologia dos vermes por meio de microscopia de luz. Sabe-se que a lovastina promove alterações degenerativas no aparelho reprodutor das fêmeas, maior percentual de ausência de ovos nos ovários, redução e alteração dos folículos vitelínicos e do ovário, enquanto os machos apresentam modificações nos testículos, tegumento com parênquima edemaciado e tubérculos com distribuição irregular (ARAÚJO et al., 2002). Recentemente, alterações similares foram detectadas em espécimes tratados com edelfosine, que é um éter fosfolípidio sintético (YEPES et al., 2014).

Os espécimes dos grupos alimentados com dieta hiperlipídica e tratados com sinvastatina apresentaram alterações no tegumento como redução na espessura, na altura e densidade dos tubérculos independente da dosagem. A microscopia de luz nos deu algumas informações que corroboram com esses trabalhos, enquanto a microscopia confocal permitiu maior esclarecimento dessas alterações.

As alterações do tegumento dos animais submetidos à sinvastatina foram mais evidentes quando examinados à microscopia confocal. Os vermes analisados apresentaram redução na quantidade e tamanho dos tubérculos, feixes musculares desorganizados com diminuição no espessamento do tegumento. A diferença entre as dosagens não pareceu influenciar tanto nesse aspecto, não obstante nos grupo com dieta hiperlipídica essas alterações terem sido mais intensas. A sinvastatina parece ter efeito nas células dos lóbulos testiculares, visto que foram observadas células imaturas e anucleadas. Houve também uma baixa densidade de espermatozoides na vesícula seminal nos grupos que receberam a dieta

padrão (SCS e SCS5). Já no grupo alimentado com a dieta hiperlipídica (HFCS e HFCS5), foram observadas as mesmas alterações, além de células amorfas.

A exposição à sinvastatina provocou alterações no formato das células dos ovários, mas houve poucas diferenças entre as dosagens. A maioria dessas células não apresentou núcleo ou continham núcleos granulosos nos grupos tratados com dieta padrão. Os efeitos foram mais intensos sobre os grupos tratados com dieta hiperlipídica, onde se encontrou ovários com células triangulares.

Embora a análise por microscopia eletrônica de varredura seja comum na avaliação do efeito de fármacos na esquistossomose causada por *S. mansoni* (LIMA et al., 2011; BERTÃO et al., 2012), até o presente momento, apenas um trabalho investigou as alterações causadas por uma estatina (atorvastatina). SOLIMAN & IBRAHIM (2005) observaram lesões moderadas a intensas no tegumento dos vermes adultos de *S. haematobium* machos: erosão e esfoliação, com exposição do tecido subtegumentar, perda de espinhos nos tubérculos e rachaduras profundas. Aplicando a mesma metodologia, verificamos que os helmintos machos coletados de animais tratados com sinvastatina e alimentados com a dieta hiperlipídica, apresentavam lesões semelhantes, mas com maior intensidade e presença de vesículas. Nesse caso, as lesões pareciam mais intensas no grupo com tratamento prolongado (HFCS5), sugerindo que o efeito depende do esquema terapêutico utilizado.

Em situação oposta ao efeito anti-helmíntico da estatina, o excesso de mevalonato pode prevenir a morte do parasito (CHEN et al., 1990). Os resultados dos experimentos in vitro mostraram a eficiência da sinvastatina causando degeneração, indução à apoptose dos esquistossômulos e dos vermes adultos, sendo mais letal que as demais estatinas testadas (ROJO-ARREOLA et al., 2014). Foi provado que o gene SmHMGR é o alvo relevante para a atividade de estatinas esquistossomicidas e confirmado que a morte dos vermes é impedida por excesso de mevalonato. Esses dados genéticos demonstram que *S. mansoni* HMGR é um gene essencial e o alvo relevante de estatinas que podem formar a base para o desenvolvimento de uma nova terapia esquistossomicida medicamentosa.

O desenvolvimento de novos fármacos ou associação entre drogas com atividade na esquistossomose mansoni é justificado porque o único produto disponível é o praziquantel (CIOLI, 1998, 2000; WANG et al., 2012). A sua aplicação objetiva a redução da morbidade e a transmissão em áreas endêmicas (KATZ et al., 1979), com base na eliminação ou diminuição da carga parasitária, o que significa menor eliminação de ovos para o ambiente (NDJONKA et al., 2013).

Extratos oleosos de vegetais constituem os primeiros produtos anti-helmínticos

produzidos na tradicional medicina chinesa (NDJONKA et al., 2013). Assim como ocorrido na década de 60 na produção de novos fármacos contra a malária, um grupo de cientistas chineses demonstrou a atividade esquistossomicida da artemisina e de seus derivados (arteméter e artesunato), na infecção experimental com *S. japonicum* (LE et al., 1982). Desde então, numerosos estudos ampliaram o conhecimento sobre a sua atividade esquistossomicida, incluindo espécies que ocorrem em outros continentes (LI et al., 1994, 1996; ADJUIKM et al., 2004; LI et al., 2005; DUFFY & MUTABINGWA, 2006; DOUGLAS et al., 2010; GIHA, 2010; HUA et al., 2010; KEISER & UTZINGER, 2012; LIU et al., 2011, 2012a; PÉREZ DEL VILLAR et al., 2012; ZHANG et al., 2014).

Embora a relação entre lipídios e artesunato não esteja totalmente elucidada, alguns pesquisadores vem investigando essa interação. Ratos albinos (*Rattus norvegicus*) tratados com artesunato com duas doses diárias por três dias apresentaram redução dos níveis de colesterol total e HDL (ADEBAYO et al., 2011). Sabe-se que há um efeito hipolipidêmico do artesunato em coelhos dislipidêmicos alimentados com dieta hiperlipídica (WANG et al., 2013) e sugere-se que haja uma correlação confiável entre as estruturas de endoperóxidos no mecanismo antimalárico, e sua contribuição para a decomposição de fosfolipídios insaturados. Esta informação apresenta grande valor no desenvolvimento de novas drogas (KUMURA et al., 2009).

Algumas pesquisas mostram que a ação dos derivados da artemisina tem ação similar sobre o gênero *Schistosoma.* Conforme tem sido evidenciado, os estudos com artesunato e seus derivados produzem redução da carga parasitária e modificações na organização geral de formas jovens ou adultas de espécies de Schistosoma. O esquema terapêutico e a via de administração utilizada são fatores que interferem na avaliação da ação do medicamento (XIAO et al., 1998c; SHAOHONG et al., 2006).

No presente estudo, a maior eficácia do artesunato ocorreu nos animais dos grupos pertencentes à dieta hiperlipídica com tratamento prolongado. De uma forma geral, as alterações relacionadas com a dislipidemia e o artesunato foram encontradas, principalmente, em relação à redução da carga parasitária. Essa observação corrobora os experimentos realizados com arteméter, onde houve redução da carga parasitária em *S. mansoni* e *S. japonicum* (XIAO et al., 1989; 1995), devido ao esquema terapêutico e a administração por via gástrica comparada com a via intramuscular (XIAO et al., 1998c). O arteméter aplicado durante sete dias consecutivos em diferentes concentrações promoveu a redução da carga parasitária em 53-61% (UTIZINGER et al., 2001b), confirmando que esse fármaco tem maior efeito em formas jovens do que em adultos (SHUHUA et al., 2002; LIU et al., 2014).

Camundongos infectados com uma cepa do Egito do *S. mansoni* e tratados por via oral mostram que o tratamento aplicado na fase pré-postural (formas jovens, 21 dias) ou postural (49 dias) causa nítida diferença eficácia de redução da carga, 91,52% e 55,17% respectivamente (EL-BESHBISHI et al., 2013). Os estudos com dihidroartemisina (um derivado da *Arthemisia annua*) provaram maior eficácia (maior taxa de redução da carga parasitária e da oviposição) contra o *S. mansoni*, quando administrada em inúmeras dosagens do que em dose única (LI et al., 2012).

No presente trabalho, a baixa redução encontrada nos animais alimentados com dieta padrão, pode ser explicada pela diferença de suscetibilidade entre as formas evolutivas. As formas jovens (esquistossômulos) são mais susceptíveis às drogas que as formas adultas (EL-BESHBISHI et al., 2013). Por outro lado, a eficácia ficou aquém (18%) em comparação com o percentual de redução (entre 40,7% e 59,7%) de uma cepa do Egito (ABDUL-GHANI et al., 2011). A ausência de dados mais concretos da literatura sobre o tema permite formular hipóteses: 1. O ambiente com mais lipídio aumenta a biodisponibilidade do arteméter, o que poderia ter como consequência a maior incorporação de colesterol no tegumento do verme adulto, conforme recentemente demonstrado (PEREIRA et al., 2011). Alguns estudos com o antimalárico lumefantrine que é prescrito associado com arteméter mostram que a gordura aumenta a biodisponibilidade do lumefantrine para populações africanas (PREMJI et al., 2008). 2. O arteméter pode atuar como protetor hepático na infecção esquistossomótica, o que poderia prevenir mudanças nos citocromos P450 relacionados com a metabolização de drogas no fígado (EL-LAKKANY et al., 2004).

A localização dos vermes após a exposição não evidenciou que doses múltiplas de artesunato causassem importante deslocamento dos vermes dos vasos mesentéricos para o sistema porta, nos animais com dieta normal (valor abaixo de 40%). Estudo de outro grupo, com a mesma dosagem, entretanto com intervalo menor (sete dias) para a observação da localização dos vermes, mostrou maior concentração no mesentério (ARAÚJO et al., 1999). Entretanto, ao que parece, deve existir uma relação entre a dieta hiperlipídica e o artesunato, visto que o padrão de distribuição foi inverso ao do controle.

Desde longa data é conhecido que os helmintos adultos, acasalados, migram para os vasos mesentéricos para realizar a oviposição. No presente estudo, observamos menor contagem de ovos no intestino dos animais tratados, o que sugere menor produção de ovos relacionada à redução parasitária ou algum efeito na capacidade reprodutiva dos vermes. Desde os anos 60 foi proposto avaliar o desenvolvimento dos ovos localizados na parede intestinal, após o tratamento com esquistossomicida (PELLEGRINO et al., 1962). Entretanto,

os dados obtidos no presente estudo não permitem uma avaliação da aplicação do oograma para avaliação do efeito de drogas.

Face às indicações de que o artesunato provocara diminuição da carga parasitária, o próximo passo foi ver se esse fato também estava acompanhado de alterações morfológicas. Nos camundongos tratados (arteméter) com sete semanas de infecção, os vermes fêmeas apresentavam visíveis alterações morfológicas, incluindo degeneração severa nas glândulas vitelínicas, atrofia do ovário, extensão, distorção e despigmentação do intestino (SHUHUA & CATTO, 1989). Em animais tratados com artesunato em diferentes dosagens foi verificada também alteração no sistema reprodutor feminino com diminuição do volume ovariano, redução e rarefação dos folículos vitelínicos com alterações celulares (ARAÚJO et al., 1999). Pela análise morfológica e morfométrica, não foram observadas alterações significativas em relação às glândulas vitelínicas, área do ovário, densidade de vitelos e espessura do tegumento nas fêmeas tratadas, independente das dietas e das dosagens. Embora não tenha havido diferença significativa, os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maior densidade de glândula vitelínica e vitelo do que os controles, confirmando estudos prévios do grupo (NEVES et al., 2007a).

Assim como os dados analisados para sinvastatina, a microscopia confocal permitiu detalhar algumas características do sistema reprodutor e do tegumento. Assim, a associação da dieta hiperlipídica e aumento da dosagem da droga causaram alterações na morfologia das células ovarianas, que não haviam sido detectadas pela microscopia de campo claro. A ação contra o esquistossoma do artesunato em células ovarianas, ainda não havia sido descrito na literatura. Essa alteração pode explicar a redução à metade na contagem de ovos no intestino.

A observação dos dados morfométricos dos machos permitiu verificar um número um pouco maior de caracteres diferenciais (área e perímetro dos lóbulos testiculares, área da vesícula seminal, densidade e altura dos tubérculos), entre os animais tratados e não tratados. Em alguns casos (redução da densidade das células testiculares, perímetro dos lóbulos e redução da densidade de tubérculos), mais acentuado no grupo dislipidêmico, tratado com dose única. Entretanto, nesse grupo com o tratamento prolongado, apenas foram verificadas diferenças na densidade e altura dos tubérculos.

Por microscopia confocal verificamos que os vermes machos tratados com dose única de artesunato apresentavam tubérculos tegumentares achatados, tegumento fino e poucos tubérculos ou tegumento liso desprovido de tubérculos. Do nosso conhecimento, o efeito da artemisina sobre o tegumento dos vermes ainda não foi examinado por microscopia confocal. Entretanto, essa técnica tem sido aplicada para descrição das alterações tegumentares de

vermes adultos tratados com *Tanacetum vulgare* (catinga-de-mulata) (GODINHO et al., 2014). As células dos lobos testiculares apresentavam aspecto atípico, isto é células imaturas ou sem formato definido e, vesículas com pouca densidade de espermatozoides. A aplicação de microscopia confocal no sistema reprodutor de *S.mansoni* submetido a drogas foi realizado apenas em fêmeas (ARAÚJO et al., 1999) e, portanto, as nossas observações são inéditas.

Não há dados na literatura sobre o emprego da microscopia eletrônica de varredura, para o estudo das características dos vermes adultos provenientes de animais dislipidêmicos. Mesmo que a dieta hiperlipídica estimule a maior atividade do sistema reprodutor (masculino e feminino) (NEVES et al., 2007a), os dados desse estudo não sugerem o mesmo efeito no tegumento dos vermes de cada dieta. A topografia da superfície do verme macho apresentava na região ventral do tegumento, espinhos próximos do canal ginecóforo, enquanto na região dorsal havia presença de tegumento com quantidade moderada a pouca de espinhos entre os tubérculos de aspecto normal, tubérculos com espinhos, sulcos e receptores sensoriais visíveis. Tais estruturas foram comuns nos espécimes coletados de ambas as dietas. Inúmeros trabalhos mostram os efeitos do arteméter e do artesunato por meio da microscopia eletrônica de varredura sobre o Schistosoma. Em geral, são descritas alterações no tegumento como descamação, erosão, vesículas, redução dos tubérculos e espinhos e, aderência de células do hospedeiro (XIAO et al., 1996, 2000a, JIRAUNGKOORSKUL et al., 2006; SHAOHONG et al., 2006; ABDEEN et al., 2011). Estudos *in vitro* com adultos de *S. japonicum, S. mansoni* e *S. haematobium* incubados com arteméter e heme mostraram redução na atividade motora, seguida de aumento de vesículas no tegumento e morte em 24-72 horas (XIAO et al., 2001a). Nesse estudo, os vermes provenientes dos camundongos hiperlipídicos e tratados com cinco doses de artesunato, apresentaram o tegumento com grandes áreas lisas, leve descamação, tegumento com uma face praticamente sem tubérculos, contração do corpo do espécime, erosão e micro vesículas no tegumento. Tais modificações são semelhantes às descritas na ação do gengibre (*Zingiber officinale*) (MOSTAFA et al., 2011). É importante destacar que essas alterações no tegumento podem explicar a maior redução da carga parasitária nesse grupo.

Embora o comprimento do espécime não tenha sido objeto desse estudo, por microscopia eletrônica verificamos contração no corpo dos espécimes. É possível que essa distorção do tegumento esteja relacionada com a atuação do artesunato na desorganização dos feixes musculares, evidenciada pela microscopia confocal, nos animais submetidos, principalmente, a doses múltiplas e com dieta hiperlipídica. Por outro lado, não foi objeto do estudo analisar as características das ventosas, ainda que se tenham dados mostrando ser este

órgão um alvo para drogas que tenham ação sobre *S. mansoni*, como o praziquantel (SILVA & NOEL, 1990) e arteméter (XIAO et al., 2000). O deslocamento dos vermes dos vasos mesentéricos para o sistema porta deve estar relacionado com a ação dos fármacos afetando a adesão das suas ventosas aos vasos do hospedeiro.

CONCLUSÕES

A sinvastatina administrada em camundongos dislipidêmicos e esquistossomóticos promove redução na concentração de colesterol plasmático.

O tratamento com sinvastatina em cinco doses reduziu a recuperação dos vermes independentemente da dieta administrada.

A taxa de redução da carga parasitária foi influenciada positivamente com o tratamento com a sinvastatina nos animais do grupo da dieta hiperlipídica.

Os grupos alimentados com dieta hiperlipídica e tratados com sinvastatina apresentaram alterações no sistema reprodutor de machos e fêmeas, independentemente da dose aplicada.

O tratamento com sinvastatina em cinco doses promoveu lesões mais intensas presentes no tegumento dos vermes machos adultos do grupo alimentado com dieta hiperlipídica.

O artesunato administrado em cinco doses promoveu intensa redução na média da recuperação dos vermes e elevação na taxa de redução parasitária no grupo dislipidêmico.

O sistema reprodutor dos vermes machos e fêmeas apresentaram alterações “dose-dependente” quando recuperados de camundongos dislipidêmicos.

Vermes recuperados de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram lesões mais intensas quando tratados com cinco doses de artesunato.

REFERÊNCIAS

ABDEL AZIZ, S. S.; El-BADAWY, N. M. Experimental trials of an artemisinin derivative in treatment of *Schistosoma mansoni* infected mice. J Egypt Soc Parasitol, v.30, n.1, p.295-303.2000.

ABDEEN SH, REDA ES, El-SHABASY EA, OUHTIT A. Ultrastructural changes of adult Schistosoma mansoni worms recovered from C57BL/6 mice passively immunized with normal and vaccinated rabbit sera in vivo. Parasitol Res, v.110, n.1, p.37-47. 2011.

ABDUL-GHANI R.; LOUTFY N.; SHETA M.; HASSAN A. Artemether shows promising female schistosomicidal and ovicidal effects on the Egyptian strain of *Schistosoma mansoni* after maturity of infection. Parasitol Res, v.108, p.1199-205. 2011.

ADEBAYO A.H.; ABOLAJI A.O.; KELA R.; AYEPOLA O.O.; OLORUNFEMI T.B.; TAIWO O.S. Antioxidant activities of the leaves of *Chrysophyllum albidum* G. Pak J Pharm Sci, v.24, n.4, p. 545-51. 2011

ADJUIK, M.; BABIKER, A.; GARNER, P.; OLLIARO, P.; TAYLOR, W.; WHITE, N. International Artemisinin Study Group Artesunate combinations for treatment of malaria: meta-analysis. Lancet, v.363, p. 9–17. 2004.

ÁGUILA, M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Blood pressure, ventricular volume and number of cardiomyocyte nuclei in rats fed for 12 months on diets differing in fat composition. Mech. Ageing Dev, v.122, p. 77-88. 2001.

ALENCAR, A. C. M. B.; NEVES, R. H.; AGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; GOMES, D.C.; MACHADO-SILVA, J. R. High fat diet has a prominent effect upon the course of chronic schistosomiasis mansoni in mice. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.4, p.608-13. 2009.

ALENCAR, A. C. M. B.; NEVES, R. H.; OLIVEIRA, A. V.; MACHADO-SILVA, J. R. Changes in the small intestine of *Schistosoma mansoni*-infected mice fed a high-fat diet. Parasitol, v.139, p. 716–725. 2012.

ANDRADE ZA. Extracellular matrix and schistosomiasis. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.86, n. 3: p.61-73. Review. 1991.

ARAÚJO, N.; KOHN, A.; KATZ, N. Activity of the artemether in experimental *Schistosomiasis mansoni*. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.86, n.2, p. 185-188. 1991.

ARAÚJO, N.; KOHN, A.; KATZ, N. Therapeutic evaluation of artesunate in experimental *Schistosoma mansoni* infection. Rev Soc Bras Med Trop, v.32, n.1, p. 7-12. 1999.

ARAÚJO, N.; KOHN, A.; OLIVEIRA, A. A.; KATZ, N. *Schistosoma mansoni*: the action of lovastatin on the murine model. Rev Soc Bras Med Trop, v. 35, n.1, p. 35-38. 2002.

ARAÚJO N, MATTOS AC, COELHO PM, KATZ N. Association of oxamniquine praziquantel and clonazepam in experimental *Schistosomiasis mansoni*. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 103, n. 8, p.781-5. 2008.

ASHLEY EA, WHITE NJ. Artemisinin-based combinations. Curr Opin Infect Dis, v. 18, n. 6, p.:531-6. Review. 2005

BANSAL, D.; BHATTI, H. S.; SEHGAL, R. Lipids in Health and Disease. Role of cholesterol in parasitic infections. Lipids in Health and Disease, v.4, n.10. 2005.

BASH, P. F. Why do Schistosomes have separate sexes? Parasitology Today, v.6, p. 160-163.1990.

BENNETT, M. W.; CAULFIELD, J. P. Specific binding of human low-density lipoprotein to the surface of schistosomula of *Schistosoma mansoni* and ingestion by the parasite. Am J Pathol, v. 138, n.5, p.1173-82. 1991.

BERTÃO H.G.; SILVA R.A.; PADILHA R.J.; AZEVEDO A.M.C.; RÁDIS-BAPTISTA G. Ultrastructural analysis of miltefosine-induced surface membrane damage in adult *Schistosoma mansoni* BH strain worms. Parasitol Res, *v.* 110, n. 6, p. 2465-73.2012.

BRYANT, C. Organic acid excretion by helminths. *Parasitol Today*; 9 (2), p. 58–60. 1993.
CAFFREY, C. R. Chemotherapy of schistosomiasis: present and future. Curr Opin Chem Biol, v. 11, n.4, p.433-439. 2007.

CARAMUJO DO GÊNERO *BIOMPHALARIA.* Disponível em: http://www2.uol.com.br/sciam/reportagens/genoma_contra_a_esquistossomose_imprimir.html. Acesso em 11/11/2013.

CAMACHO, M.; AGNEW, A. Schistosoma: Rate of glucose import is altered by acetylcholine interaction with tegumental acetylcholine receptors and acetylcholinesterase. Exp Parasitol, v. 81, p.584–591. 1995.

CAMPOS, V. L.; CARVALHO, I. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. Quim. Nova, v.30, n.2, p. 425-430. 2007.

CHEEVER, A. W.; POWER, K. G. Counting of *Schistosoma mansoni* eggs in feces. Comparison of a filtration technique and a dilution technique. J Parasitol, v.54, n. 3, p.632-633. 1968.

CHEEVER, A. W.; LENZI, J. A.; LENZI, H. L.; Andrade, Z. A. Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 97, n.7, p.917-940. 2002.

CHEN, G. Z.; FOSTER, L.; BENNETT, J. L. Antischistosomal action of mevinolin: evidence that 3-hydroxy-methylglutaryl-coenzyme a reductase activity in *Schistosoma mansoni* is vital for parasite survival. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmaco, v.342, n.4, p.477-482. 1990.

CICLO DO *SCHSITOOSMA MANSONI*. Fonte: http://www.cdc.gov. Acesso em: 11/08/2013 – Modificado do CDC Center for Disease Control and Prevention.

CIOLI, D .Chemotherapy of schistosomiasis: an update. Parasitol Today, v. 14, p.10, p. 418-422.1998.

CIOLI, D. Praziquantel: is there real resistance and are there alternatives? Curr Opin Infect Dis, v. 13, n.6, p.659-663. 2000.

CIOLI, D.; BOTROS, S. S.; WHEATCROFT-FRANCKLOW, K.; MBAYE, A.; SOUTHGATE, V.; TCHUENTÉ, L. A.; PICA-MATTOCIA, L.; TROIANI, A. R.; EL-DIN, S. H.; SABRA A. N.; ALBIN, J.; ENGELS, D.; DOENHOFF, M. J. Determination of ED50 values for praziquantel in praziquantel-resistant and susceptible *Schistosoma mansoni* isolates. Int J Parasitol, v.34, n.8, p.979-987. 2004.

COELHO, P. M.; RASO, P.; MELLO, R. T.; TOPPA, N. H. Size of hepatic granuloma produced by eggs of 2 geographic strains of *Schistosoma mansoni*, in mice. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 84, n.2, p.213-7. 1989.

COLLINS, JJ RD, KING, R, S.; COGSWELL, A.; WILLIAMS, D. L.; NEWMARK, P. A. An atlas for *Schistosoma mansoni* organs and life-cycle stages using cell type-specific markers and confocal microscopy. PLoS Negl Trop Dis, v. 5, n. 3, p.1009. 2011.

CORNFORD, E. M.; HUOT, M. E. Glucose transfer from male to female schistosomes. Science, v. 213, p.1269–1271. 1981.

CORNFORD, E. M.; DIEP, C. P.; ROWLEY, G. A. *Schistosoma mansoni, S. japonicum, S. haematobium*: Glycogen content and glucose uptake in parasites from fasted and control hosts. Exp Parasitol, v. 56, p. 397–408. 1983.

COSTA-SILVA, M.; RODRIGUES-SILVA, J.R.; HULSTIJIN, M.; NEVES, R. H.; SOUZA, P. M.; LENZI, H. L.; MACHADO-SILVA, J. R. Natural *Schistosoma mansoni* infection in *Nectomys squamipes*: histopathological and morphometric analysis in comparison to experimentally infected N. squamipes and C3H/He mice. Mem Inst Oswaldo Cruz, *v.* 97, n. 1, p.129-142. 2002.

DIMENSTEIN, R.; CARVALHO, V. C. O.; OLIVEIRA, D. N. G.; GILLETT, M. P. T. Alterations in the levels and composition of plasma lipoproteins (VLDL, LDL AND HDL) in brazilian patients with hepatosplenic schistosomiasis mansoni. Braz J Med Biol Res, v. 25, p. 1091-1102. 1992.

DOENHOFF, M. J.; STANLEY, R. G.; GRIFFITHS, K.; JACKSON, C. L. An anti-atherogenic effect of *Schistosoma mansoni* infections in mice associated with a parasite-induced lowering of blood total cholesterol. Parasitolology, v. 125, p. 415-421. 2002.

DOENHOFF, M. J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. Curr Opin Infect Dis, v. 21, n.6, p.659-667. 2008.

DOUGLAS N.M.; ANSTEY N.M.; ANGUS B.J.; NOSTEN F.; PRICE R.N. Artemisinin combination therapy for vivax malaria. Lancet Infect Dis, v. 10, n.6, p. 405-16. 2010.

DUFFY P.E.; MUTABINGWA T.K. Artemisinin combination therapies. Lancet, v. 24, n. 367(9528), p. 2037-9. 2006.

El-BESHBISHY HA, ALY HA, EL-SHAFEY M. Lipoic acid mitigates bisphenol A-induced testicular mitochondrial toxicity in rats. Toxicol Ind Health, v. 29, n. 10, p.875-87. 2013.

EL BIALY S.A.; TAMAN A.; EL-BESHBISHI S.N.; MANSOUR B.; EL-MALKY M, BAYOUMI W.A.; ESSA H.M. Effect of a novel benzimidazole derivative in experimental *Schistosoma mansoni infection.* Parasitol Res, v. 112, n. 12, p. 4221-9. 2013.

EL-LAKKANY N.M.; SEIF EL-DIN S.H.; BADAWY A.A.; EBDEIN F.A. Effect of artemether alone and in combination with grapefruit juice on hepatic drug-metabolising enzymes and biochemical aspects in experimental *Schistosoma mansoni.* Int J Parasitol, v. ;34, n. 12, p. 405-12. 2004

FALLON, PG. Schistosome resistance to praziquantel. Drug Resist Updat, v. 1, n. 4, p.236-241.1998.

FAN, J.; GAN, X.; YANG, W.; SHEN, L.; MCMANUS, D. P.; BRINDLEY, P. J. A *Schistosoma japonicum* very low-density lipoprotein-binding protein. Int J Biochem Cell Biol, v. 35, n. 10, p.1436-51. 2003.

FERNANDEZ, F.; SHARMA, R.; HINTON, M.; BEDFORD, M. R. Diet influences the colonisation of *Campylobacter jejuni* and distribution of mucin carbohydrates in the chick intestinal tract. Cell Mol Life Sci, v. 57, n. 12, p.1793-1801. 2000.

FENWICK A. The global burden of neglected tropical diseases. Public Health, v. 126, n. 3, p. 233-236. 2012.

FRENCH, M. D.; CHURCHER, T. S.; GAMBHIR, M.; FENWICK, A.; WEBSTER, J. P.; KABATEREINE, N. B.; BASÁÑEZ, M. G. Observed reductions in *Schistosoma mansoni* transmission from large-scale administration of praziquantel in Uganda: a mathematical modelling study. PLoS Negl Trop Dis, v. 4, n. 11. 2010.

FREIRE, N.; RODRIGUES-SILVA, R.; MACHADO-SILVA, J. R.; REY, L. A comparative parasitologic study on Biomphalaria glabrata snail and C3H/He mice infected with human and murine isolates of *Schistosoma mansoni* derived from Sumidouro, Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.98, n.6, p.783-7. 2003.

FONSECA F.A. Pharmacokinetics of statins. Arq Bras Cardiol, v.85, n. 5, p. 9-14. 2006

FONSECA C.S.M.; Adenor Almeida PIMENTA FILHO A.A.; SANTOS, B.S.; SILVA, A.C.; DOMINGUES A.L.C.; OWEN J.S. O.; LIMA L.M . Human plasma lipid modulation in schistosomiasis mansoni depends on apolipoprotein E polymorphism. Plos One, v. 9, n. 7. 2014.

FURLONG S.T.; CAULFIELD J.P. Head group precursors modify phospholipid synthesis in *Schistosoma mansoni.* J Lipid Res, v. 32, p.703-12. 1991.

GEERTS, S.; GRYSEELS, B. Drug resistance in human helminths: current situation and lessons from livestock. Clin Microbiol Rev, v. 13, n. 2, p. 207-222. 2000.

GIHA H., A. Prospects of intermittent preventive treatment of adults against malaria in areas of seasonal and unstable malaria transmission, and a possible role for chloroquine. Expert Opin Pharmacother, v.11, n.6, p.871-6. 2010.

GÓES, V. C.; NEVES, R. H.; ALENCAR, A, C.; OLIVEIRA, A. V.; GOMES, D. C.; MACHADO-SILVA, J. R. Effects of high-fat chow on heart tissue in acute and chronic experimental murine schistosomiasis mansoni. Parasitology, v. 139, n. 11:1462-1470. 2012.

GODINHO LS.; CARVALHO LSA.; CASTRO CCB.; DIAS MM.; PINTO PF.; CROTTI AEM.; PINTO PLS.; MORAES J.; FILHO AASF. Anthelmintic activity of crude extract and essential oil of *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) against adult worms of *Schistosoma mansoni*. Scientific World Journal, v. 460342, p. 1-9. 2014

GOLDRING, O. L.; CLEGG, J. A.; SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J. Acquisition of human blood group antigens by *Schistosoma mansoni.* Clin Exp Immunol, v. 26, p.181–187. 1976.

GOLOMB B.A.; EVANS M.A.; Statin adverse effects : a review of the literature and evidence for a mitochondrial mechanism. Am J Cardiovasc Drugs, v. 8, n. 6, p. 373-418. 2008.

GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Human schistosomiasis. Lancet, v. 23, n. 368 (9541), p. 1106-1118. 2006.

HAMS, E.; AVIELLO, G.; FALLON, P. G. The Schistosoma granuloma: friend or foe? Front Immunol, v. 4, p.89. 2013.

HOTEZ, P. J.; FENWICK, A. Schistosomiasis in Africa: an emerging tragedy in our new global health decade. PLoS Negl Trop Dis, v. 3, n.9. 2009.

HOTEZ, P. J.; SAVIOLI, L.; FENWICK, A. Neglected Tropical Diseases of the Middle East and North Africa: Review of Their Prevalence, Distribution, and Opportunities for Control. PLoS Negl Trop Dis, v. 6, n.2, p. 1-8. 2012.

HUA HY, LIANG YS, ZHANG Y, WEI JF, GUO HX. The sensitivity of artesunate against *Schistosoma japonicum* decreased after 10 years of use in China. Parasitol Res, v. 107, n. 4, p. 873-8. 2010.

JI G.; ZHAO X.; LENG L.; LIU P.; JIANG Z. Comparison of dietary control and atorvastatin on high fat diet induced hepatic steatosis and hyperlipidemia in rats. Lipids Health Dis, v. 26, p. 10-23. 2011.

JIRAUNGKOORSUL W, SAHAPHONG S, SOBHON P, RIENGROIPITAK S, KANGWnrNGSAN N. *Schistosoma mekongi*: the in vitro effect of praziquantel and artesunate on the adult fluke. Exp Parasitol, v. 113, n. 1, p.16-23. 2006.

KATZ N.; ROCHA R.S.; CHAVES A. Preliminary trials with praziquantel in human infections due to *Schistosoma mansoni.* Bull World Health Organ.v. 57, n. 5, p. 781-5. 1979.

KATZ, N. Terapia experimental da esquistossomose mansoni. In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L.; organizadores. *Schistosoma mansoni-Esquistossomose uma visão multidisciplinar*. Rio de Janeiro: editora: Fiocruz; p. 823-847. 2008.

KEISER, J. In vitro and in vivo trematode models for chemotherapeutic studies. Parasitology, v. 137, p. 589–603. 2010.

KEISER J.; UTZINGER J. Antimalarials in the treatment of schistosomiasis. Curr Pharm Des, v.18, n. 24, p. 3531-8. 2012

KHOVIDHUNKIT, W.; KIM, M. S.; MEMEON, R. A.; SHIGENAGA, J. K.; MOSER, A. H.; FEINGOLD, K. R.; GRUNFELD, C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. J Lipid Res, v. 45, n. 7, p. 1169-1196. 2004.

KING, C. H.; DANGERFIELD-CHA, M. The unacknowledged impact of chronic schistosomiasis. Chronic Illn, v. 4, n. 1, p. 65-79. 2008.

KLOOS, H.; QUITES, H. F.; OLIVEIRA, R. C.; LOVERDE, P.; GAZZINELLI, A. Rural electrification in Brazil and implications for schistosomiasis transmission: a preliminary study in a rural community in Minas Gerais State, Brazil. Trop Med Int Health, v.17, n.4, p.526-30, 2012.

KLAYMAN, D. L. Qinqhaosu (Artemisinin): an antimalarial drug from China. Science, v. 228, p. 1049-1055. 1985.

KONDRACHINE, A. V.; TRIGG, P. I. Global overview of malaria. Indian J. Med. Res, v. 106, p. 39-52. 1997.

KOUKOUNARI, A.; GABRIELLI, A. F.; TOURE, S.; BOSQUE-OLIVA, E.; ZHANG, Y.; SELLIN, B.; DONNELLY, C. A.; FENWICK, A.; WEBSTER, J. P. Schistosoma haematobium infection and morbidity before and after large-scale administration of praziquantel in Burkina Faso. J Infect Dis, v. 196, n. 5, p.659-669. 2007.

KRISHNA, S.; BUSTAMANTE, L.; HAYNES, R. K.; STAINES, H. M. Artemisinins: their growing importance in medicine. Trends Pharmacol Sci, v. 9, n. 10, p.520-7. 2008.

KUMURA, N., FURUKAWA H.; ONYANGO N.A.; IZUMI M.; NAKAJIMA S.; ITO H.; HATARO T.; KIM H.; WATAYA Y.; BABA N. Different behaviour of artemisinin and tetraoxane in the oxidative degradation of phospholipid. Chem Phys Lipid, v. 160, p.114-120. 2009.

KUSEL, J,R.; ALADHAMI BH, DOENHOFF MJ. The schistosome in the mammalian host: understanding the mechanisms of adaptation. Parasitology, v.134, p.1477-526. 2007.

LA FLAMME, A. C.; HARVIE, M.; KENWRIGHT, D.; CAMERON, K.; RAWALENCE, N.; LOW, Y. S,. MACKENZIE, S. Chronic exposure to schistosome eggs reduces serum cholesterol but has no effect on atherosclerotic lesion development. Parasite Immunol, v. 29, p. 259-266. 2007.

LAMBERTUCCI, J. R.; PEDROSO, E. R.; DE SOUZA, D. W.; DE LIMA, D. P.; NEVES, J.; SALAZAR, H. M.; MARINHO, R. P.; DA COSTA ROCHA, M. O.; COELHO, P. M.; DE LIMA COSTA, M. F.; GRECO, D. B. Therapeutic efficacy of oral oxamniquine in the toxemic form of schistosomiasis mansoni: treatment of eleven individuals from two families, and experimental study. Am J Trop Med Hyg, v. 29, n. 1, p. 50-3. 1980.

LE, W. J.; YOU, J.Q.; MEI, J. Y. Chemotherapeutic effect of artesunate in experimental schistosomiasis .Yao Xue Xue Bao, v. 18, n. 8, p. 619-21.1983.

LE, WJ.; YOU, J. Q.; YANG, Y. Q.; MEI, J. Y.; GUO, H. F.; YANG, H. Z.; ZHANG, C. W. Studies on the efficacy of artemether in experimental schistosomiasis. Yao Xue Xue Bao, v. 17, n. 3, p.187-93. 1982.

LENZI, H. L.; KIMMEL, E.; SCHECHTMAN, H.; PELAJO-MACHADO, M.; VALE, B. S.; PANASCO, MS.; LENZI, J. A. Collagen arrangement in hepatic granuloma in mice infected with *Schistosoma mansoni*: dependence on fiber radiation centers. Braz J Med Biol Res, v. 32, n. 5, p.639-643. 1999.

LENZI, H. L. A Dinâmica da Resposta Hematológica e Celular na Esquistossomose Mansônica Murina, com Ênfase nas Séries Eosinofílica e Mastocitária. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais. 1991.

LENZI, H. L.; KIMMEL, E.; SCHECHTMAN, H.; PELAJO-MACHADO, M.; ROMANHA, W. S.; PACHECO, R. G.; MARIANO, M.; LENZI, J. A. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 93, n.1, p. 141-151. 1998.

LENZI, H. L., ROMANHA, W.S., PELAJO, M. M.; MOTA, E. M., LENZI, J.A. Patologia Experimental com Enfoque no Granuloma Esquistossomótico. In: *Schistosoma mansoni Esquistossomose: uma visão multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Editora: Fiocruz, Parte III – Esquistossomose, p.577. 2008.

LESLIE, J.; GARBA, A.; OLIVA, E. B.; BARKIRE, A.; TINNI, A. A.; DJIBO, A.; MOUNKAILA, I.; FENWICK, A.Schistosomiais and Soil-Transmitted Helminth Control in Niger: Cost Effectiveness of School Based and Community Distributed Mass Drug Administration. PLoS Negl Trop Dis, v. 5, n.10, p. 1-11. 2011.

LI Y, RABELLO AL, SIMPSON AJ, KATZ N. The serological differentiation of acute and chronic *Schistosoma japonicum* infection by ELISA using keyhole limpet haemocyanin as antigen. Trans R Soc Trop Med Hyg, v.88, n. 2, p.:249-51. 1994.

LI S, WU L, LIU Z, HU L, XU P, XUAN Y, LIU Y, LIU X, FAN J. Studies on prophylactic effect of artesunate on schistosomiasis japonica. Chin Med J (Engl), v. 109, n.11, p. 848-53. 1996.

LI YS, CHEN HG, HE HB, HOU XY, ELLISs M, McMANUS DP. A double-blind field trial on the effects of artemether on *Schistosoma japonicum* infection in a highly endemic focus in southern China. Acta Trop, v. 96, n.2-3, p.184-90.2005.

LI HJ.; WANG W.; TAO YH, QU GL.; XING YT.; LI YZ.; WEI JY,; DAI JR.; LIANG YS. Dihydroartemisinin-praziquantel combinations and multiple doses of dihydroartemisinin in the treatment of *Schistosoma japonicum* in experimentally infected mice. Ann Trop Med Parasitol, v. 105, n.4, p.329-33. 2011.

LI HJ, WANG W, QU GL, LI YZ, TAO YH, XING YT, WANG XT, DAI Y, WEI JY, DAI JR, COLES GC, LIANG YS. Effect of the in vivo activity of dihydroartemisinin against *Schistosoma mansoni* infection in mice. Parasitol Res, v.110, n.5, p. 1727-32. 2012.

LIANG, Y. S.; COLES, G. C.; DOENHOFF, M. J. Detection of praziquantel resistance in schistosomes. Trop Med Int Health, v. 5, n. 1, p. 72. 2000.

LIMA, V. L. M.; SENA, V. L. M.; STEWART, B.; OWEN, J. S.; DOLPHIN, P. J. An evaluation of the marmoset *Callitix jacchus* (sagui) as an experimental model for dyslipoproteinemia of human *Schistosomaisis mansoni*. Biochem Biophys Acta; v. 1393, p. 235-243. 1998.

LIMA C.M.; FREITAS F.I.; MORAIS L.C., CAVALCANTI M.G., SILVA L.F., PADILHA R.J.; BARBOSA C.G., SANTOS F.A.; ALVES L.C.; DINIZ M.F. Ultrastructural study on the morphological changes to male worms of *Schistosoma mansoni* after in vitro exposure to allicin. Rev Soc Bras Med Trop, v.44, n. 3, p.327-30. 2011.

LIU R, DONG HF, GUO Y, ZHAO QP, JIANG MS. Efficacy of praziquantel and artemisinin derivatives for the treatment and prevention of human schistosomiasis: a systematic review and meta-analysis. Parasit Vectors, v.17, n.4, p. 201. 2011.

LIU R.; DONG H.F.; JIANG M.S.; Artemisinin: the gifts from traditional Chinese medicine not only for malaria control but also for schistosomiasis control. Parasitol Res, v.110, n.5, p.2071-4. . 2012

LIU Y.X.; WU W.; LIANG Y.J.; JIE Z.L.; WANG H; WANG W.; HUANG Y.X. New uses for old drugs: the tale of artemisinin derivatives in the elimination of schistosomiasis japonica in China. Molecules, v. 19, n. 9, p.15058-74. 2014.

LOUKAS, A.; JONES, M. K.; KING, L. T.; BRINDLEY, P. J.; MCMANUS, D. P. Receptor for Fc on the surfaces of schistosomes. Infect Immun, v. 69, n. 6, p. 3646-3651. 2001.

MACHADO E SILVA, J. R.; DE OLIVEIRA, R. M.; RODRIGUES e SILVA, R.; MALDONADO JÚNIOR A, REY L. Wild rodents as experimental models of schistosomiasis mansoni: *Akodon arviculoides* (Rodentia: Cricetidae). Rev Inst Med Trop São Paulo, v. 33, n 4, p.257-261. 1991.

MARTINS-BEDÊ, F.T.; DUTRA, L.V.; FREITAS, C. C.; GUIMARÃES, R. J. P. S.; AMARAL, R. S.; DRUMMOND, S. C.; CARVALHO, O. S. Schistosomiasis risk mapping in the state of Minas Gerais, Brazil, using a decision tree approach, remote sensing data and sociological indicators. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 105, n.4, p.541-548. 2010.

MARTINEZ, E. M.; NEVES, R. H.; OLIVEIRA, R. M. F.; MACHADO-SILVA, J. R.; REY, L. Parasitological and morphological characteristics of Brazilian strains of *Schistosoma mansoni* in *Mus musculus.* Rev Soc Bras Med Trop, v. 38, p. 557-564. 2003.

MARZOUKI, Z. M.; AMIN, A. M. Changes in serum lipids of mice experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. J Egypt Soc Parasitol, v. 27, p. 419-429. 1997a.

MARZOUKI, Z. M., AMIN A. M. The effect of *Schistosoma mansoni* infection on testicular lipid in mice. J Egypt Soc Parasitol, v. 27, p. 581-595. 1997b.

MATINS, V. L.; MELO, A. L. Current applications of oogram methodology in experimental schistosomiasis; fecundity of female *Schistosoma mansoni* and egg release in the intestine of AKR/J mice following immunomodulatory treatment with pentoxifylline. J Helminthol; v. 87, n.1, p. 115-124. 2013.

MELO, A, L.; COELHO, P. M. Z. *Schistosoma mansoni* e a esquistossomose. Separata de NEVES, DP. Parasitologia humana. São Paulo: Editora Atheneu, p 211-212. 2011.

MENDONÇA, R. L.; ESCRIVÁ, H.; BOUTON, D.; LAUDET, V.; PIERCE, R. J. Hormones and nuclear receptors in Schistosome development. Parasitol Today, v. 16, p. 233-240. 2000.

MESHNICK, S. R.; TAYLOR, T. E.; KAMCHONWONGPAISAN, S. Artemisinin and the Antimalarial Endoperoxides; from Herbal Remedy to Targeted Chemotherapy. Microb. Rev, v. 60, p. 301-315. 1996.

MESHNICK, S.R. et al. W. Second-generation Antimalarial Endoperoxides. Parasitol. Today; v. 12, p.79-82. 1996.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012. Plano integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase, filariose, esquistossomose e oncocercose como problema de saúde pública, tracoma como causa de cegueira e controle das geohelmintíases: plano de ação 2011–2015. Ministério da Saúde, Brasília. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_integrado_acoes_estrategicas_2011_2015.pdf (Acesso em: fevereiro 2012).

MITSUI, Y.; MIURA, M.; AOKI, Y. In vitro effects of artesunate on the survival of worm pairs and egg production of *Schistosoma mansoni*. J Helmintol, v. 83, p.7-11. 2009.

MOSTAFA, OM.; EID RA.; ADLY MA. Antischistosomal activity of ginger (Zingiber officinale) against *Schistosoma mansoni* harbored in C57 mice. Parasitol Res, v. 109, p.395-403. 2011.

MORAES J.; NASCIMENTO C.; YAMAGUCHI L.F.; KATO M.J.; NAKANO E. *Schistosoma mansoni*: in vitro schistosomicidal activity and tegumental alterations induced by piplartine on schistosomula. Exp Parasitol, v. 132, n.2, p. 222-7. 2012.

MORAND S & MULLER-GRAF, C. D. M. Muscles or testes? Comparative evidence for sexual completion among dioecius blood parasites (Schistosomatidae) of vertebrates. Parasitology, v. 120, p. 45-56. 2000.

NASCIMENTO, G. L.; OLIVEIRA, M. R. F. Severe forms of schistosomiasis mansoni: epidemiologic and economic impact in Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg, v.108, p. 29–36. 2014.

NDJONKA D.; RAPADO L.N.; SILBER A.M.; LIEBAU E.; WRENGER C. Natural products as a source for treating neglected parasitic diseases. Int J Mol Sci, v. 6, n.14, p.3395-439. 2013.

NEVES, R.H.; PEREIRA, M.J.; DE OLIVEIRA, R.M.; GOMES, D.C.; MACHADO E SILVA , J.R. *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907: morphometric differences between adult worms from sympatric rodent and human isolates. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 93, n.1, p. 309-12. 1998.

NEVES, R. H.; DE LAMARE, C. B.; MACHADO-SILVA, J.R.; CARVALHO, J.J.; BRANQUINHO, T. B.; LENZI, H.L.; HULSTIJIN, M.; GOMES, D. C. A new description of the reproductive system of *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Schistosomatidae) analyzed by confocal laser scanning microscopy. Parasitol Res, v. 95, n. 1, p. 43-9. 2005.

NEVES, R. H.; COSTA-SILVA, M.; MARTINEZ, E. M.; BRANQUINHO, T. B.; DE OLIVEIRA, R. M.; LENZI, H. L; GOMES, D. C.; MACHADO-SILVA, J. R. Phenotypic plasticity in adult worms of *Schistosoma mansoni* (Trematoda:Schistosomatidae) evidenced by brightfield and confocal laser scanning microscopies. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 99, n.2, p.131-6. 2004.

NEVES R.H.; ALENCAR, A.C.M.B.; ÁGUILA M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA; MACHADO E SILVA J.R.; GOMES D.C. Somatic, biochemical and hepatic alterations in wild type mice chronically fed high fat diet .Int. J. Morphol, v. 24, n. 4, p. 625-632, 2006a.

NEVES, R. H.; ALENCAR, A. C. M. B.; ÁGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; MACHADO-SILVA, J. R.; GOMES, D. C. Hepatic stereology of schistosomiasis mansoni infected-mice fed a hight-fat diet. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 101, p. 253-260. 2006b.

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

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

NEVES, R. H.; PEREIRA, M. J.; DE OLIVEIRA, R. M.; GOMES, D. C.; MACHADO-SILVA, J. R. *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907: morphometric differences between adult worms from sympatric rodent and human isolates. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.93, n. 1, p.309-12. 1998.

OLEFSKY, J. M.; GLASS, C. K. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. Annu Rev Physiol, v. 72, p.219-46. 2010.

PAPAIOANNOU, I.; SIMONS, J. P.; OWEN, J. S. Targeted In Situ Gene Correction of Dysfunctional APOEAlleles to Produce Atheroprotective Plasma ApoE3 Protein. Cardiology Research and Practice. p. 1-16. 2012.

PEREIRA, A. S. A.; PADILHA, R. J. R.; LIMA-FILHO, J. L.; CHAVES, M. E. C. Scanning electron microscopy of the human low-density lipoprotein interaction with the tegument of *Schistosoma mansoni*. Chaves Parasitol Res, v. 109, p.1395–1402. 2011.

PELLEGRINO, J.; OLIVEIRA, C. A.; CUNHA, A. S.; SIQUEIRA, A. F. New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis in mice. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v.11, p. 210–215. 1962.

PELLEGRINO, J.; KATZ, N. Experimental chemotherapy of schistosomiasis. IV. Oogram studies with nicarbazin, an egg-suppressive agent. Rev Inst Med Trop São Paulo, v. 11, n. 3, p.215-21. 1969.

PEREIRA LH.; COELHO PM.; COSTA JO.; MELLO RT. Activity of 9-acridanone-hydrazone drugs detected at the pre-postural phase, in the experimental schistosomiasis mansoni. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 90, n.3: p. 425-8. 1995.

PERERIA A.S.A.; PADILHA, R.J.R.; LIMA-FILHO J.L.; CHAVES M.E.C.. Chaves Scanning electron microscopy of the human low-density lipoprotein interaction with the tegument of *Schistosoma mansoni*. Parasitol Res, v. 109, p.1395–1402. 2011.

PÉREZ DELL VILLAR, P.; BURGUILLO, F. J.; LÓPEZ-ABÀN, J.; MURO, A. Systematic review and meta-analysis of artemisinin based therapies for tratament and prevention of schistosomiasis. Plos One, v. 7, n. 9. 2012.

PINTO, H.A.; MATI, V. L.; MELO, A. L. The Pampulha reservoir remains a potential urban focus of schistosomiasis mansoni in Brazil: changes in the occurrence patterns of *Biomphalaria* species and a new record of the parasite. Rev Soc Bras Med Trop, v. 8, n. 46, p.478-483. 2013.

PIMENTA, A. M.; GAZZINELLI, A.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ. G. Prevalência da síndrome metabólica e seus fatores associados em área rural de Minas Gerais (MG, Brasil) Ciência & Saúde Coletiva, v. 16, n. 7, p.3297-3306. 2011.

PLATT T.R. & BROOKS D.R. Evolution of the schistosomes (Digenea: Schistosomatoidea): the origin of dioecy and colonization of the venous system. J Parasitol, v. 83, n. 6, p.1035-44. 1997.

PRATA, A. A Biopsia Retal na Esquistossomose Mansônica: bases e aplicações no diagnóstico e tratamento, 1957. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Serviço de Educação Sanitária, Ministério da Saúde.

PREMJII Z.G.; ABDULLA S., OGUTU B., NDONG A., FALADE C.O.; SAGARA I.; MULURE N.; NWAIWU O, KOKWARO G. The content of African diets is adequate to achieve optimal efficacy with fixed-dose artemether-lumefantrine: a review of the evidence. Malar J, *v.* 25, n.7, p.:244. Review. 2008.

PICA-MATTOCCIA, L.; CARLINI, D.; GUIDI, A.; CIMICA, V.; VIGOROSI, F.; CIOLI, D. The schistosome enzyme that activates oxamniquine has the characteristics of a sulfotransferase. Mem Inst Oswaldo Cruz, n.101, p. 307-312. 2006.

RAMOS, T. M. B.; VASCONCELOS, A. S.; CARVALHO, V. C. O.; LIMA, V. L. M. Alterações nos níveis de colesterol, triglicerídeos e fosfolipídeo total em plasma de Callithrix jacchus (sagui) reinfectado por *Schistosoma mansoni*. Rev Soc Bras Med Trop, v. 37, p. 37-40. 2004.

RAWI S.; YOUSSEF O.A.; METWALLY A.; BADAWY M.; AL-HAZMI M. Parasitological evaluation of Ro 15-9268, a 9-acridanone-hydrazone derivative against *Schistosoma mansoni* in mice, and observations on changes in serum enzyme levels. Parasitol Res, v. 113, n. 1, p.437-46. 2014.

ROJO-ARREOLA L, LONG T, ASARNOW D, SUZUKI BM, SINGH R, CAFFREY CR. Chemical and genetic validation of the statin drug target to treat the helminth disease, schistosomiasis. Plos One, v. 29, n.9, p. 87594. 2014

RASO, P.; BERNARDES, R. C.; TAFURI, W. L.; BOGLIOLO, L.; NEVES, J. As dimensões do granuloma causado pelos ovos do *Schistosoma mansoni* no fígado humano. Rev. Soc. Bras. Med. Trop, v.12, n.6. 1978.

REY, L. Parasitologia. Guanabara Koogan, 2013.

RUMJANEK, F.D.; SIMPSON, A. J. The incorporation and utilization of radiolabelled lipids by adult *Schistosoma mansoni* in vitro. Mol Biochem Parasitol, v.1, n. 1, p.31-44. 1980.

RUTISHAUSER J. Statins in clinical medicine. Swiss Med Wkly. v. 21, p. 141. 2011.

SCHOLTE, R. G. C.; CARVALHO. O. S.; MALONE, J. B.; UTIZINGER, J.; VOUNATSOU, P. Spatial distribution of Biomphalaria spp., the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil. Geospatial Health, v. 6, n.3, p. 95-101. 2012.

SCHOLTE, R. G. C.; GOSONIUA, L.; MALONED, J. B.; CHAMMARTINA, F.; UTZINGER, J.; VOUNATSOU, P. Predictive risk mapping of schistosomiasis in Brazil using Bayesian geostatistical models. Acta Tropica, v. 132, p. 57–63. 2014.

SHAOHONG L.; KUMAGAIi T.; QINGHUA A.; XIAOLAN Y.; OHMAE H.; YABU Y.; SIWEN L.; LIYONG W.; MARUYAMA H.; OHTAN N. Evaluation of the anthelmintic effects of artesunate against experimental *Schistosoma mansoni* infection in mice using different treatment protocols. Parasitol Int, v. 55, n.1, p.63-8. 2006.

SHUHUA, X.; CATTO, B. A. In vitro and in vivo studies of effect of artemether on *Schistosoma mansoni*. Antimicrob Agent. Chemother, v. 33, n. 9, p.1557 -62. 1989.

SHUHUA X, BINGGUI S, CHOLLET J, TANNER M. Tegumental changes in adult *Schistosoma mansoni* harboured in mice treated with praziquantel enantiomers. Acta Trop, *v.* 18, n.76, p.107-17. 2000.

SILVA SP.; NOEL F.; Praziquantel inhibits *Schistosoma mansoni* attachment in vitro. Braz J Med Biol Res, v.23, p.1005-8. 1990.

SILVA, A. M.; CORRÊA, C. L.; NEVES, R. H.; MACHADO-SILVA, J. R. A high-fat diet associated with acute schistosomiasis mansoni causes disorganization in splenic architecture in mice. Exp Parasitol, v. 132, n.2, p.193-9. 2012.

SOARES, M. G.; BORGES, S. S. Effect of experimental schistosomiasis on 14C-4-cholesterol esterification by mouse liver homogenate. Braz J Med Biol Res, v.23, p. 7-9. 1990.

SOUZA PR, SOUZA AL, NEGRÃO-CORREA D, TEIXEIRA AL, TEIXEIRA MM. The role of chemokines in controlling granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni* infection. Acta Trop, v. 108, n. 2, p. 135-8. Review. 2008.

STANLEY RG.; JACKSON CL.; GRIFFITHS K.; DOENHOFF MJ. Effects of *Schistosoma mansoni* worms and eggs on circulating cholesterol and liver lipids in mice. Atherosclerosis, v. 207, n. 1, p.131-8. 2009.

STEINMANN, P.; KEISER, J.; BOS, R.; TANNER, M.; UTZINGER, J. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. Lancet Infect Dis, v. 6, p. 411–425. 2006.

SOLIMAN M.F.; IBRAHIM M.M. Antischistosomal action of atorvastatin alone and concurrently with medroxyprogesterone acetate on *Schistosoma haematobium* harboured in hamster: surface ultrastructure and parasitological study. Acta Trop, v. 93, n.1, p.1-9. 2005.

SOUZA P.R.; SOUZA A.L.; NEGRÃO-CORREA D.; TEIXEIRA A.L.; TEIXEIRA M.M. The role of chemokines in controlling granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni* infection. Acta Trop, v. 108, p. 135-82008

TALLIMA H, HAMARADA M, El RIDI R. Evaluation of cholesterol content and impact on antigen exposure in the outer lipid bilayer of adult schistosomes. Parasitology, v. 134, n. 12, p.1775-83. 2007.

TEMPONE, A. J.; BIANCONI, M. L.; RUMJANEK, F. D. The interaction of human LDL with the tegument of adult *Schistosoma mansoni*. Mol Cell Biochem, v. 177, n. 1, p.139-144. 1997.

TORRES, E. J. L.; NASCIMENTO, A. P. F.; MENEZES, A. O.; GARCIA, J.; SANTOS, M. A. J.; MALDONADO, A. JR.; MIRANDA, K.; LANFREDI, R. M.; SOUZA, W. DE. A new species of *Trichuris* from *Thrichomys apereoides* (Rodentia: Echimyidae) in Brazil: Morphological and histological studies. Veterinary Parasitology, v. 176, p. 226–235. 2011.

UNGARO, F.; GIOVINO, C.; CATANZANO, O.; MIRO, A.; MELE, A.; QUAGLIA, F.; LA ROTONDA, M. I. Use of cyclodextrins as solubilizing agents for simvastatin: Effect of hydroxypropyl-ß-cyclodextrin on lactone/hydroxyacid aqueous equilibrium. Int J Pharm, v. 404, n. 1, p. 49-56. 2011.

UTZINGER, J.; CHOLLET, J.; TU, Z.; XIAO, S.; TANNER, M. Comparative study of the effects of artemether and artesunate on juvenile and adult *Schistosoma mansoni* in experimentally infected mice. Trans R Soc Trop Med Hyg, v. 96, n. 3, p.318-323. 2002.

UTZINGER, J.; CHOLLET, J.; YOU, J.; MEI, J.; TANNER, M.; XIAO, S. Effect of combined treatment with praziquantel and artemether on *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni* in experimentally infected animals. Acta Trop, v. 1, n.80, p.9-18. 2001(a).

UTZINGER, J.; XIAO, S.; N'GORAN, E. K.; BERGQUIST, R.; TANNER, M. The potential of artemether for the control of schistosomiasis. Int J Parasitol, v. 31, n.14, p.1549-62. 2001(b).

UTZINGER J.; BOOTH M.; N'GORAN E.K.; MULLER I.; TANNER M.; LENGELER C. Relative contribution of day-to-day and intra-specimen variation in faecal egg counts of *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. Parasitology, v. 122. n. 5, p. 537-44. 2001(c).

UTZINGER, J.; KEISER, J. Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: common drugs for treatment and control. Expert Opin Pharmacothe, v. 5, p. 263–285. 2004b.

UTZINGER J.; ZHOU X.N.; CHEN M.G.; ERGQUIST R. Conquering schistosomiasis in China: the long march. Acta Trop, v. 96, n. 2, p.69-96. Review. 2005.

UTZINGER, J.; XIAO, S. H.; TANNER, M.; KEISER, J. Artemisinins for schistosomiasis and beyond. Curr Opin Investig Drugs, v. 8, n.2, p.105-16. 2007.

VAN HELLEMOND J.J; RETRA K.; BROUWERS J.F.; VAN BALKOM B.W., YAZDANBAKHSH M.; SHOEMAKER CB.; TIELENS AG. Functions of the tegument of schistosomes: clues from the proteome and lipidome. Int J Parasitol, v. 31, n.36, p. 691-9. 2006.

VANDEWAA E.A.; BENNETT J.I. HMG-CoA reductase: role in schistoosma egg production. Agabian N (ed) Mol Strateg of Paras Invas, p.627-640. 1987.

VASCONCELOS, A. S. et al. Biting indices, Host-seeking Activity and Natural Infection Rates of Anopheline Species in Boa Vista, Roraima, Brazil from 1996 to 1998. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 97, n. 2, p. 151-161. 2002.

VERBEECK R.K. Pharmacokinetics and dosage adjustment in patients with hepatic dysfunction. Eur J Clin Pharmacol, v. 64, n.12, p.1147-61. 2008.

VIMEIRO A.C.; ARAÚJO N.; KATZ N.; KUSEL J.R., COELHO P.M. Schistogram changes after administration of antischistosomal drugs in mice at the early phase of *Schistosoma mansoni* infection. Mem Inst Oswaldo Cruz, v 108, n.7, p.881-6. 2013.

WANG, W.; WANG, L.; LIANG, Y. S. Susceptibility or resistence of praziquantel in human schistosomiasis: a review. Parasitol Res, v. 111, p. 1871-1877. 2012.

WANG W, LI TY, JI Y, QU GL, QIAN YL, LI HJ, DAI JR, LIANG YS. Efficacy of artemether and artesunate in mice infected with praziquantel non-susceptible isolate of *Schistosoma japonicum*. Parasitol Res, v. 113, n. 3, p.925-31. 2013.

WARREN, K. S.; DOMINGO, E. O. *Schistosoma mansoni*: stage specificity of granuloma formation around eggs after exposure to irradiated cercariae, unisexual infections, or dead worms. Exp Parasitol, v. 27, n. 1, p.60-66. 1970.

WEI, W.; WANG, W.; HUANG Y. New insight into praziquantel against various developmental stages of schistosomes. Parasitol Res, 109, p.1501-1507. 2011.

WILLIAM, S.; BOTROS, S.; ISMAIL,.; FARGHALLY, A.; DAY, T. A.; BENNETT, J. L. Praziquantel-induced tegumental damage in vitro is diminished in schistosomes derived from praziquantel-resistant infections. Parasitolog, v. 122, n. 1, p.63-6. 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Disponível em:<http://www.who.int/inf-fs/en/fact094.html>. Acesso em: 11 abr. 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Second WHO report on neglected tropical diseases. *World Health Organization*,Geneva. Disponível em: http://www.who.int/neglected_diseases/schistosomiasis_WHO_calls_for_action/en/. Acesso: outubro, 2014) 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD): 10th Revision. Version 2010. *World Health Organization*, Geneva. Disponível em: <http://apps.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/> Acesso: outubro, 2013. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Second WHO report on neglected tropical diseases. *World Health Organization*, Geneva. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, Schistosomiasis. Fact sheet 115. *World Health Organization, Geneva*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/> Acesso: abril, 2014. 2014.

YEPES, E.; VARELA-M, R. E.; MURO, A.; LÓPEZ-ABÁN, J.; DAKIR, E L H.; MOLLINEDO, F. *In Vitro* and *In Vivo* Anti-Schistosomal Activity of the Alkylphospholipid Analog Edelfosine. Plos one, v. 9, p. 1-12. 2014.

XIAO S.H.; CATTO B.A. In vitro and in vivo studies of the effect of artemether on *Schistosoma mansoni.* Antimicrob Agents Chemother, v. 33, n.9, p. 1557-62. 1989.

YIN, J. W.; YANG, Y. Q.; XIAO, S. H.; LI, Y.; JIANG, H. J. Comparative studies on histological and histochemical alterations of *Schistosoma japonicum* induced by arteether and artemether. Zhongguo Yao Li Xue Bao, v.12, n.5, p.478-80. 1991.

XIAO, S. H.; YIN, J. W.; MEI, J. Y.; YOU, J. Q.; LI, Y.; JIANG, H. J. Effect of arteether on *Schistosoma japonicum*. Yao Xue Xue Bao, v. 27, n. 3, p.161-51. 1992.

XIAO S.H.; YOU J.Q.; YANG Y.Q.; WANG C.Z. Experimental studies on early treatment of schistosomal infection with artemether. Southeast Asian J Trop Med Public Health, v. 26, n. 2, p.306-18. 1995.

XIAO SH, SHEN BG, HORNER J, CATTO BA. Tegument changes of *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni* in mice treated with artemether. Zhongguo Yao Li Xue Bao, v.17, n.6, p.535-7. 1996.

XIAO SH. Development of antischistosomal drugs in China, with particular consideration to praziquantel and the artemisinins. Acta Trop, v. 96, n.2, p. 153-67. Review. 2005.

XIAO SH. Study progress on the mode of action of praziquantel against schistosomes. Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi, v. 25, p. 6, p.492-502. Review. 2007.

XIAO S. H.; YOU J.Q.; MEI J.Y.; JIAO P.Y.; GUO H.F.; FENG Z. Preventive effect of artemether in rabbits infected with *Schistosoma japonicum* cercariae. Zhongguo Yao Li Xue Bao, v. 19, n.1, p. 63-6. 1998a.

XIAO S. H.; YOU J.Q.; GUO H.F.; JIAO P.Y.; MEI J.Y.; YAO M.Y.; FENG Z. Effect of artemether on glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, phosphoglycerate kinase, and pyruvate kinase of *Schistosoma japonicum* harbored in mice. Zhongguo Yao Li Xue Ba, v. 19, n.3, p.279-81. 1998c.

XIAO S.; BINGGUI S.; CHOLLET J.; TANNER M. Tegumental changes in 21-day-old *Schistosoma mansoni* harboured in mice treated with artemether. Acta Trop, v.31, n.75, p.341-8. 2000

XIAO S.; CHOLLET J.; UTZINGER J.; MATILE H.; MEI J.; TANNER M. Artemether administered together with haemin damages schistosomes in vitro. Trans R Soc Trop Med Hyg, v. 95, n. 1, p. 67-71. 2001a.

XIAO S.; SHEN B.; CHOLLET J.; UTZINGER J.; TANNER M. Tegumental alterations in juvenile *Schistosoma haematobium* harboured in hamsters following artemether treatment. Parasitol Int, v.50, n. 3, p.175-83. . 2001.

ZHANG, Y.; KOUKOUNARI, A.; KABATEREINE, N.; FLEMING, F.; KAZIBWE, F.; TUKAHEBWA, E.; STOTHARD, J R.; WEBSTER, J P.; FENWICK, A. Parasitological impact of 2-year preventive chemotherapy on schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Uganda. BMC Medicine, v. 5, n.27, p. 1-11. 2007.

ZHANG, XU-GUANG.; LI, GUI-XIN.; ZHAO, SHU-SHUN, XU, FU-LIANG.; WANG, YUN-HAI.; WANG, W. A review of dihydroartemisinin as another gift from traditional Chinese medicine not only for malaria control but also for schistosomiasis control. Parasitology Research, v. 113, p. 1769-1773. 2014.