



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Thainá de Melo Ubirajara

**Remodelamento do tecido hepático e do tecido adiposo em camundongos
Swiss Webster na esquistossomose aguda e submetidos à dieta hiperlipídica**

Rio de Janeiro

2020

Thainá de Melo Ubirajara

**Remodelamento do tecido hepático e do tecido adiposo em camundongos Swiss Webster
na esquistossomose aguda e submetidos à dieta hiperlipídica**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-
Graduação em Microbiologia Médica Humana, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Renata Heisler Neves

Coorientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva

Rio de Janeiro

2020

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

U15 Ubirajara, Thainá de Melo.
Remodelamento do tecido hepático e do tecido adiposo em camundongos Swiss Webster na esquistossomose aguda e submetidos à dieta hiperlipídica/
Thainá de Melo Ubirajara. – 2020.
104f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Renata Heisler Neves.
Coorientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva.

Mestrado (Dissertação) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Microbiologia.

1. *Schistosoma mansoni* - Teses. 2. Dislipidemias - Teses. 3. Esquistossomose - Teses. 4. Fígado - Teses. 5. Dieta hiperlipídica - Teses. I. Neves, Renata Heisler. II. Silva, José Roberto Machado e. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Humana e Experimental. IV. Título.

CDU 595.122.22

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB/7 – 6382

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

Assinatura

Data

Thainá de Melo Ubirajara

**Remodelamento do tecido hepático e do tecido adiposo em camundongos Swiss Webster
na esquistossomose aguda e submetidos à dieta hiperlipídica**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-
Graduação em Microbiologia Médica Humana, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 5 de maio de 2020.

Orientadora: Prof.^a Dra. Renata Heisler Neves
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Coorientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora: _____
Prof. Dr. Eduardo José Lopes Torres
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof.^a Dra. Claudia Maria Antunes Uchôa Souto Maior
Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Alba Cristina Miranda de Barros Alencar
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2020

DEDICATÓRIA

Dedico todo o esforço que depus em este trabalho aos meus avós, Tereza e Joel (*in memoriam*), pois sempre acreditaram no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

A jornada do mestrado é muito intensa, o desafio é enorme, as motivações foram grandiosas somadas às espontâneas generosidades que foram fundamentais para que eu muitas vezes renovasse as minhas forças para cumprimento do que me propus, com o máximo possível de aproveitamento. Eis que chegou o momento de expressar meus sinceros agradecimentos a todos que foram importantes e que contribuíram direta ou indiretamente não só no desenvolvimento deste trabalho, mas para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a Deus, por sua grandiosa presença e inspiração em todos os momentos.

A razão da minha existência, minha família, à minha mãe, minha irmã e minhas sobrinhas, pelo apoio, formação moral, pelo incentivo constante, por serem sinônimos de amor e companheirismo. Não seria nada sem vocês. Amo vocês.

Ao meu marido, pela paciência, lealdade, dedicação e por seu amor.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Renata Heisler Neves por ter me proporcionado a participação neste grandioso estudo, por ter acreditado no meu potencial, pelo apoio, pelo carinho, pela inspiração e incentivo durante toda a minha formação acadêmica. A você, toda minha admiração e gratidão.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva pela sua vasta experiência em esquistossomose e pelas suas contribuições fundamentais para que eu concluísse com êxito mais uma etapa de meu aperfeiçoamento profissional e pessoal.

À Prof^a. Dra. Christiane Leal Corrêa, pela amizade, disponibilidade e contribuição nas análises histológicas.

Ao Prof. Dr. Eduardo José Lopes Torres, pela revisão, ensinamento e colaboração no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Sr. Paulo, do departamento de Malacologia – IOC, Fiocruz por ceder às cercarias que foram utilizadas neste trabalho.

Aos professores e técnicos do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, pela colaboração, convívio e pela disposição em sempre me auxiliar no manuseio dos equipamentos durante a realização deste trabalho.

A doutoranda Andreia Carolinne de Souza Brito, pela amizade, apoio e pela disposição em sempre me auxiliar no manuseio dos equipamentos e no desenvolvimento de técnicas que foram fundamentais para a conclusão desta pesquisa.

Aos meus grandes amigos do “grupo de pós-graduação do Laboratório de Helminologia”, pela ajuda nas horas mais complicadas, pelos abraços, pelos sorrisos em momentos difíceis, tornando nossa caminhada mais leve e divertida. Agradeço a todos pela dose de felicidade que sempre me proporcionaram. Amo vocês.

Aos colegas estudantes e demais funcionários do laboratório de Helminologia Romero Lascasas Porto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, pelo bom convívio, disponibilidade, aprendizado, apoio técnico e acolhimento. A vocês o meu carinho e gratidão.

Ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia Médica Humana pela excelência e qualidade. À agência de fomento CAPES pelo apoio financeiro que me permitiu a realização deste trabalho experimental.

A todos aqueles que direta ou indiretamente tenham colaborado para a realização deste trabalho, expresse meu reconhecimento e apreço.

E por último, gostaria de agradecer a minha própria pessoa por ter sido forte e persistente. Por ter aguentado firme e não ter desistido. E que agora, posso levantar a cabeça e ter a certeza que fiz tudo o que foi possível para desenvolver um belo trabalho. Valeu Thainá!

A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.

Albert Einstein

RESUMO

UBIRAJARA, Thainá de Melo. **Remodelamento do tecido hepático e do tecido adiposo em camundongos Swiss Webster na esquistossomose aguda e submetidos à dieta hiperlipídica.** 2020. 104f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica Humana) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

A dislipidemia e a esquistossomose são consideradas um sério problema de saúde pública da atualidade, afetando cerca de 2,5 milhões de pessoas no Brasil e mais de 240 milhões no mundo. Dessa forma, com o objetivo de entender melhor o processo patológico da esquistossomose, foi avaliado o remodelamento do tecido hepático e adiposo na esquistossomose aguda experimental em camundongos Swiss Webster fêmeas submetidos à dieta hiperlipídica e seus respectivos controles. Camundongos fêmeas receberam uma dieta hiperlipídica (29% de lipídios) ou dieta padrão (12% de lipídios) e depois de 5 meses foram infectadas por via subcutânea com 100 cercarias de *Schistosoma mansoni* (cepa BH). Após 9 semanas de infecção, os animais foram eutanasiados e as amostras de sangue foram coletadas para análise bioquímica. O conteúdo do lavado peritoneal foi removido para verificar qual o padrão de resposta imune presente nos macrófagos, para isso foram dosadas as citocinas com ações pró-inflamatórias, anti-inflamatórias e a quimiocina MCP-1. O fígado e o tecido adiposo visceral foram removidos, pesados e submetidos ao processamento histológico de rotina. Utilizamos as colorações de Hematoxilina & Eosina, Lennert's Giemsa, Reticulina de Gomori e Picrosirius Red para realizar as análises histopatológicas; estereológicas, morfométricas; verificação da composição celular e da quantificação de colágeno dos granulomas. Os dados foram analisados pelo teste Mann-Whitney ou pela análise de variância Anova com pós-teste de Tukey-Kramer. A análise bioquímica confirmou o quadro de dislipidemia nos animais alimentados com dieta hiperlipídica, entretanto as concentrações lipídicas e de glicose foram significativamente menores nos animais infectados. A infecção esquistossomótica estimulou diferentes linhagens hematopoiéticas e induziu uma resposta imunológica direcionada para o perfil pró-inflamatório. Além disso, tanto o tecido hepático quanto o adiposo apresentaram modificações na arquitetura morfológica, devido a um intenso processo inflamatório. As análises morfométricas das veias centrolobulares e hepáticas revelaram que tanto a dieta hiperlipídica quanto a infecção esquistossomótica afetaram a morfometria destes vasos. Concluimos que a dislipidemia induzida interfere em alguns parâmetros da infecção aguda experimental, promovendo o remodelamento do perfil imunológico das citocinas produzidas pelos macrófagos, a desestruturação do tecido hepático e adiposo e a modulação de parâmetros morfométricos das veias centrolobulares e hepáticas.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*. Dislipidemia. Comorbidade. Fígado. Tecido adiposo.

ABSTRACT

UBIRAJARA, Thainá de Melo. **Remodeling of liver tissue and adipose tissue in Swiss Webster mice in acute schistosomiasis and submitted to a high-fat diet.** 2020. 104f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica Humana) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Dyslipidemia and schistosomiasis are considered a serious public health problem today, affecting about 2.5 million people in Brazil and more than 240 million worldwide. Thus, in order to better understand the pathological process of schistosomiasis, the remodeling of liver and adipose tissue in experimental acute schistosomiasis in female Swiss Webster mice submitted to the high-fat diet and their respective controls was evaluated. Female mice received a high-fat diet (29% lipids) or a standard diet (12% lipids) and after 5 months were infected subcutaneously with 100 cercariae of *Schistosoma mansoni* (BH strain). After 9 weeks of infection, the animals were euthanized and blood samples were collected for biochemical analysis. The content of the peritoneal lavage was removed to check the pattern of immune response present in the macrophages, for this purpose the cytokines with pro-inflammatory, anti-inflammatory and chemokine MCP-1 were dosed. The liver and visceral adipose tissue were removed, weighed and subjected to routine histological processing. We used Hematoxylin & Eosin, Lennert's Giemsa, Gomori Reticulin and Picrosirius Red stains to perform histopathological analyzes; stereological, morphometric; verification of cell composition and quantification of granuloma collagen. The data were analyzed by the Mann-Whitney test or by the ANOVA analysis of variance with Tukey-Kramer post-test. Biochemical analysis confirmed the condition of dyslipidemia in animals fed a high-fat diet, however, lipid and glucose concentrations were significantly lower in infected animals. Schistosomal infection stimulated different hematopoietic lineage and induced an immune response directed to the pro-inflammatory profile. The infected groups had greater liver mass regardless of the diet introduced. In addition, E both liver and adipose tissue showed changes in morphological architecture, due to an intense inflammatory process. The morphometric analysis of the centrilobular and hepatic veins revealed that both the high-fat diet and schistosomal infection affected the parameters and morphometry of these considered vessels. We conclude that diet-induced dyslipidemia interferes with some parameters of experimental acute infection, as it promotes the remodeling of the immune profile of cytokines produced by macrophages, the disruption of liver and adipose tissue and the modulation of the morphometric parameters of centrolobular and veins hepatic.

Keywords: *Schistosoma mansoni*. Dyslipidemia. Comorbidity. Liver. Adipose Tissue.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Distribuição da esquistossomose no Brasil (1998-2008) baseada no Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helmintoses.....	19
Figura 2 –	Diferentes tipos de ovos de <i>Schistosoma mansoni</i>	21
Figura 3 –	Corte histológico das partes moles de moluscos do gênero <i>Biomphalaria sp.</i> contendo esporocisto primário (ES1) e esporocisto secundário (ES2) de <i>Schistosoma mansoni</i>	21
Figura 4 –	Microscopia de luz mostrando a morfologia geral de uma cercaria <i>Schistosoma mansoni</i>	22
Figura 5 –	Microscopia eletrônica de varredura mostrando o momento da penetração (<i>in vitro</i>) da cercaria de <i>Schistosoma mansoni</i> em tecido humano após 5 minutos de exposição.....	22
Figura 6 –	Desenho esquemático das veias mesentéricas, fígado e intestino grosso destacando o local de acasalamento (1) e oviposição (2) dos vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i>	23
Figura 7 –	Ciclo biológico do <i>Schistosoma mansoni</i>	24
Figura 8 –	Diferenças na composição celular dos granulomas hepático e intestinal.....	26
Figura 9 –	Imagem de microscopia de luz (campo claro) destacando gotículas lipídicas multiloculares em tecido adiposo marrom (BAT).....	30
Figura 10 –	Imagem de microscopia de luz (campo claro) evidenciando gotículas uniloculares em tecido adiposo branco (WAT).....	30
Figura 11 –	Fotografia da ração padrão (normocalórica) e ração hiperlipídica utilizada nos grupos experimentais.....	38
Figura 12 –	Fotografia de camundongo Swiss Webster mostrando a medida do comprimento naso-anal utilizada para o índice de Lee.....	40
Figura 13 –	Fotografia de camundongo Swiss Webster onde se observa a gordura visceral e periovariana.....	41
Figura 14 –	Demonstração da realização da punção cardíaca sem a realização de toracotomia.....	42

Figura 15 – Método em Ameia modificado.....	43
Figura 16 – Esquema das etapas de processamento do fígado.....	44
Figura 17 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado de camundongos não infectados destacando o espaço porta do animal, onde se destaca o critério utilizado para identificar a veia porta.....	47
Figura 18 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado de camundongos não infectados mostrando no centro a veia centrolobular do animal.....	47
Figura 19 – Etapas do processamento do tecido adiposo.....	48
Figura 20 – Microscopia de luz de corte histológico dos adipócitos de camundongos não infectados alimentados com dieta rica em lipídio....	50
Figura 21 – Fotografia comparando os animais alimentados com dieta padrão e dieta hiperlipídica.....	52
Figura 22 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado de camundongos controles e infectados por <i>S. mansoni</i> submetidos à dieta padrão ou dieta hiperlipídica.....	64
Figura 23 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado evidenciando as zonas de oxigenação de camundongos não por <i>S. mansoni</i> e alimentados com dieta hiperlipídica (Grupo CDH).....	65
Figura 24 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado de camundongos controles e infectados por <i>S. mansoni</i> submetidos à dieta hiperlipídica.....	66
Figura 25 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado evidenciando o granuloma hepático de camundongos infectados com <i>Schistosoma mansoni</i> e alimentados com dieta padrão ou dieta hiperlipídica.....	68
Figura 26 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado destacando a presença de colágeno em granulomas esquistossomóticos hepáticos de camundongos Swiss Webster fêmeas submetidos a dieta padrão e hiperlipídica.....	72
Figura 27 – Esquema mostrando o local aonde realizamos a morfometria nas veias porta e centrolobular dos camundongos submetidos às quatro condições experimentais.....	73

Figura 28 – Microscopia de luz de corte histológico do tecido adiposo visceral de camundongos fêmeas da linhagem Swiss Webster submetidos a dieta padrão ou dieta hiperlipíica e infectados pelo <i>Schistosoma mansoni</i> ou não.....	79
Figura 29 – Microscopia de luz de corte histológico do tecido adiposo visceral de animais alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica submetidos ou não a infecção esquistossomótica.....	82

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Massa corporal (expressa em gramas) de camundongos Swiss Webster fêmeas após o desmame e após 5 meses de dieta padrão ou hiperlipídica.....	50
Gráfico 2 –	Massa corporal (expressa em gramas) de camundongos Swiss Webster fêmeas submetidos a dieta padrão e hiperlipídica por sete meses e uma semana, infectados ou não.....	52
Gráfico 3 –	Índice de Lee* (g/cm) dos camundongos Swiss Webster fêmeas com ou sem infecção esquistossomótica e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.....	53
Gráfico 4 –	Índice de Adiposidade (g) de camundongos Swiss Webster fêmeas alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica submetidos ou não à infecção esquistossomótica.....	54
Gráfico 5 –	Concentração de colesterol total (mg/dL) e triglicerídeos (mg/dL) plasmático de camundongos fêmeas Swiss Webster esquistossomóticos ou não e alimentados com dietas padrão ou hiperlipídica.....	55
Gráfico 6 –	Perfil lipídico (mg/dL) de camundongos fêmeas Swiss Webster esquistossomóticos ou não e alimentados com dietas padrão ou hiperlipídica.....	56
Gráfico 7 –	Glicemia de jejum (em mg/dL) de camundongos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ou não à infecção esquistossomótica.....	57
Gráfico 8 –	Leucograma de camundongos esquistossomóticos ou não alimentados com dieta padrão e hiperlipídica.....	58
Gráfico 9 –	Citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-12 e TNF produzidas por macrófagos peritoneais de camundongos esquistossomóticos ou não e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.....	60
Gráfico 10 –	Citocinas anti-inflamatórias IL-10 produzidas por macrófagos peritoneais de camundongos esquistossomóticos ou não e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.....	61

Gráfico 11 –	Dosagem da Quimiocina MCP-1 produzidas por macrófagos peritoneais de camundongos esquistossomóticos ou não e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.....	61
Gráfico 12 –	Razão entre as citocinas pró-inflamatória e anti-inflamatória (TNF e IL-10, respectivamente) produzidas por macrófagos peritoneais de camundongos esquistossomóticos ou não e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.....	62
Gráfico 13 –	Massa (g) do fígado de camundongos Swiss Webster fêmeas infectados ou não por <i>Schistosoma mansoni</i> e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.....	63
Gráfico 14 –	Distribuição do percentual dos estágios de granulomas hepáticos encontrados e analisados de camundongos Swiss Webster fêmeas esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.....	68
Gráfico 15 –	Massa (em gramas) da gordura visceral e periovariana de camundongos fêmeas da linhagem Swiss Webster submetidos ou não a infecção esquistossomótica e alimentados com dieta padrão e hiperlipídica.....	77

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Classificação taxonômica do <i>Schistosoma</i> sp.....	20
Quadro 2 –	Composição das dietas experimentais (g/kg)	37
Quadro 3 –	Divisão dos grupos experimentais.....	39
Quadro 4 –	Métodos bioquímicos.....	42
Quadro 5 –	Técnicas de colorações histológicas utilizadas.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Análise estereológica pelo sistema teste D36 do fígado de camundongos Swiss Webster fêmeas submetidos ou não a infecção esquistossomótica e nutridos com a dieta padrão e dieta hiperlipídica.....	67
Tabela 2 –	Análise morfométrica, quantificação celular e concentração do colágeno dos granulomas hepáticos de camundongos Swiss Webster fêmeas esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.....	71
Tabela 3 –	Parâmetro morfométrico (em micrômetros) das veias centrolobulares de camundongos Swiss Webster alimentados com diferentes dietas e submetidos ou não a infecção pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	74
Tabela 4 –	Parâmetros morfométricos das veias hepáticas (em micrômetros) de camundongos Swiss Webster alimentados com diferentes dietas e submetidos ou não a infecção pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	75
Tabela 5 –	Parâmetros morfométricos e da quantificação dos adipócitos por campo de camundongos fêmeas da linhagem Swiss Webster alimentados dieta padrão e dieta hiperlipídica e submetidos ou não a infecção pelo <i>Schistosoma mansoni</i>	81

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	18
1	JUSTIFICATIVA	33
2	OBJETIVOS	34
2.1.	Geral	34
2.2.	Específicos	34
3	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1.	Delimitação experimental	35
3.2.	Modelo experimental murino	36
3.2.1	<u>Aspectos éticos</u>	36
3.2.2	<u>Ensaio <i>in vivo</i></u>	36
3.2.3.	<u>Composição das rações</u>	36
3.2.4.	<u>Infecção e eutanásia</u>	38
3.2.5.	<u>Pesagem dos animais</u>	39
3.3.1.	<u>Índice de Lee</u>	39
3.3.2.	<u>Índice de Adiposidade</u>	40
3.4.	Análises bioquímicas	41
3.5.	Análises hematológicas	42
3.6.	Perfil imunológico dos macrófagos peritoneais	43
3.6.1.	<u>Caracterização dos macrófagos</u>	43
3.7.	Análise histopatológica do fígado	44
3.7.1.	<u>Qualitativas</u>	44
3.7.2.	<u>Estereologia pelo método de D36</u>	45
3.7.3.	<u>Morfometria dos vasos hepáticos</u>	46
3.8.	Análise histopatológica do tecido adiposo	48
3.8.1.	<u>Qualitativas</u>	48
3.8.2.	<u>Avaliação morfométrica do adipócito</u>	49
3.9.	Análise estatística	50
4.	RESULTADOS	51
4.1.	Ganho de massa	52
4.2.	Índice de Lee e índice de Adiposidade	53

4.3.	Análises bioquímicas	54
4.3.1.	<u>Dosagens</u>	53
4.3.2.	<u>Glicemia</u>	57
4.4.	Análise hematológica	57
4.4.1.	<u>Leucograma</u>	57
4.5.	Perfil imunológico dos macrófagos peritoneais	58
4.5.1.	<u>Citocinas dos macrófagos</u>	58
4.6.	Análises do tecido hepático	63
4.6.1.	<u>Histopatologia</u>	63
4.6.2.	<u>Estereologia pelo método de D36</u>	66
4.6.3.	<u>Morfometria dos vasos hepáticos</u>	73
4.6.3.1.	Veias centrolobulares.....	73
4.6.3.2.	Veias hepáticas.....	74
4.7.	Análise do Tecido Adiposo Visceral	76
4.7.1.	<u>Histopatologia</u>	76
4.7.2.	<u>Avaliação quantitativa e qualitativa dos adipócitos</u>	80
5	DISCUSSÃO	83
	CONCLUSÃO	92
	REFERÊNCIAS	93

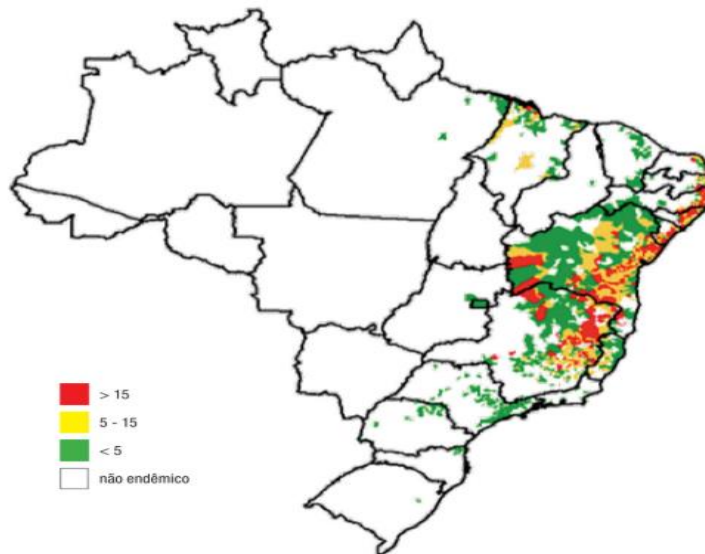
INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença parasitária de extrema importância para a saúde pública e afeta cerca de 240 milhões de pessoas no mundo e mais de 700 milhões vivem em áreas de risco de infecção na África, na Ásia e na América Latina (WHO, 2019). É considerada uma doença negligenciada relacionada com a pobreza, visto que a maior parte das pessoas parasitadas reside em comunidades sem acesso à água potável e saneamento básico adequado (CALASANS *et al.* 2018; SAMPAIO *et al.* 2017; SILVA, RAMOS & ANDRADE, 2018). Existem alguns fatores que são fundamentais para o avanço da doença em escala mundial, como: a escassez de investimentos em pesquisas que trabalham na erradicação da doença; a ausência de interesse das indústrias farmacêuticas em investir nos avanços terapêuticos; condições favoráveis do meio ambiente; moluscos suscetíveis; e a falta de educação em saúde como principal prática profilática da esquistossomose (COSTA *et al.* 2017a).

As espécies *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum* afetam 54 países distribuídos nos continentes africano, asiático e americano (KATZ, 2018). Estas espécies são responsáveis por altas taxas de morbidade, contribuindo para que a esquistossomose seja um grande problema de saúde pública mundial (OLVEDA *et al.* 2014; SILVA *et al.* 2016). Esta é uma das doenças de maior prevalência entre aquelas veiculadas pela água, pois afeta um grande número de pessoas que necessitam da utilização deste recurso natural para a realização de suas atividades agrícolas, domésticas e/ou de lazer (BRASIL, 2014).

No Brasil a espécie associada à esquistossomose é *S. mansoni*, como as demais sua distribuição geográfica está intimamente relacionada com as condições socioeconômicas da região. Em nosso país, existem cerca de 1,5 milhões de pessoas habitando áreas de risco e que estão distribuídas principalmente nos Estados do Nordeste e Sudeste, que vão desde o Rio Grande do Norte até Minas Gerais. Há focos isolados no Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Goiás, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Santa Catarina (Figura 1) (COSTA *et al.* 2017a; COSTA *et al.* 2017b; KATZ, 2018; WHO, 2019).

Figura 1 – Distribuição da esquistossomose no Brasil (1998-2008) baseada no Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helminthoses



Fonte: KATZ, 2018.

Agente etiológico

O parasito causador da esquistossomose (Quadro 1) apresenta o corpo achatado dorsoventralmente e pertence ao filo *Platyhelminthes* (MACHADO-SILVA, NEVES & GOMES, 2008). Esses parasitos são incluídos na classe Trematoda e subclasse Digenea. Suas características morfológicas são peculiares, já que a família *Schistosomatidae* apresenta dimorfismo sexual e dois hospedeiros no ciclo (moluscos e vertebrados). A etimologia do gênero *Schistosoma*, refere-se ao corpo em forma de fenda (*Schisto*= fenda / *soma*= corpo) e atualmente existem cinco espécies do gênero *Schistosoma* de importância médica humana: *Schistosoma haematobium* Bilharz, 1852 – responsável pela esquistossomose vesical; *Schistosoma japonicum* Katsurada, 1904, *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, *Schistosoma intercalatum* Fischer, 1934 e *Schistosoma mekongi* Vogt, Brickner & Bruce, 1978 são os agentes causadores da esquistossomose intestinal (TERRA *et al.* 2018).

Quadro 1 – Classificação taxonômica do *Schistosoma* sp.

FILO	CLASSE	SUBCLASSE	FAMÍLIA	GÊNERO	ESPÉCIES
<i>Platyhelminthes</i>	<i>Trematoda</i>	<i>Digenea</i>	<i>Schistosomatidae</i>	<i>Schistosoma</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
					<i>Schistosoma mekongi</i>
					<i>Schistosoma intercalatum</i>
					<i>Schistosoma japonicum</i>
					<i>Schistosoma mansoni</i>

Fonte: MACHADO-SILVA, NEVES & GOMES, 2008 (adaptado).

Ciclo biológico

A esquistossomose apresenta um ciclo complexo, do tipo heteroxênico. O hospedeiro definitivo quando parasitado por *S. mansoni* libera ovos (comprimento/largura: 150µm x 65µm) de formato oval com um espículo lateral, contendo uma larva no interior (miracídio) juntamente com as fezes (Figura 2) (MACHADO-SILVA, NEVES & GOMES, 2008; TERRA *et al.* 2018). Em contato com a água doce, o miracídio (comprimento/largura: 160µm x 60µm) eclode induzido por estímulos luminosos e térmicos. Com o auxílio de cílios buscam os moluscos do gênero *Biomphalaria*, o miracídio se fixa pelo terebratorium que adquire forma de ventosa e descarrega o conteúdo das glândulas de adesão que contém secreções com ação proteolítica associada aos movimentos vibratórios e rotatórios o que possibilita a penetração ativa no hospedeiro intermediário (MACHADO-SILVA, NEVES & GOMES, 2008; COELHO *et al.* 2008).

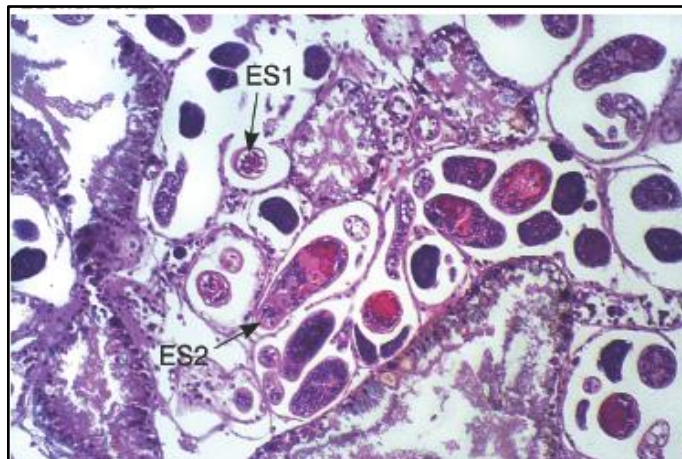
Figura 2 – Ovos de *Schistosoma mansoni*.



Fonte: MACHADO-SILVA, NEVES & GOMES, 2008.

Os miracídeos ao penetrarem nas partes moles do caramujo, sofrem uma reorganização celular devido a uma intensa multiplicação assexuada que posteriormente irá contribuir para a formação dos esporocistos de primeira geração, em seguida aos esporocistos de segunda geração, e por fim, as cercarias (Figura 3). É importante ressaltar que um único miracídeo pode gerar até 300 mil cercarias e cada miracídeo já leva definido o sexo das cercarias que serão produzidas (NEVES, 2005).

Figura 3 – Corte histológico das partes moles de moluscos do gênero *Biomphalaria sp.* contendo esporocisto primário (ES1) e esporocisto secundário (ES2) de *Schistosoma mansoni*



Fonte: MACHADO-SILVA, NEVES, GOMES, 2008.

Cerca de 30 dias após a penetração dos miracídeos e em condições favoráveis de temperatura, luminosidade e oxigenação da água, as cercarias começam a deixar os moluscos (comprimento/largura: 230 μ m x 70 μ m) caem na água e nadam em busca do hospedeiro definitivo vertebrado (LENZI *et al.* 2008a). As cercarias (Figura 4) conseguem sobreviver na

água por 2 a 3 dias, entretanto, grande parte delas acaba morrendo após há primeira hora após a sua liberação do hospedeiro intermediário (SOUZA *et al.* 2011).

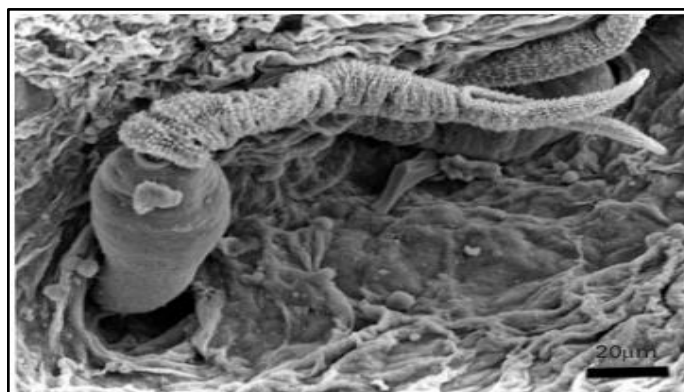
Figura 4 – Microscopia de luz mostrando a morfologia geral de uma cercaria de *Schistosoma mansoni*.



Legenda: (1) Região anterior especializada (corpo); (2) Região posterior (cauda bifurcada).
Fonte: MACHADO-SILVA, NEVES, GOMES, 2008.

As cercarias são atraídas por produtos químicos da pele que estimulam a fixação no hospedeiro vertebrado pela ventosa oral e a invasão na pele do hospedeiro pela ação de enzimas proteolíticas que vão abrir um caminho no tecido epitelial (Figura 5) (LENZI *et al.* 2008a; SOUZA *et al.* 2011).

Figura 5 – Microscopia eletrônica de varredura mostrando o momento da penetração (*in vitro*) da cercaria de *Schistosoma mansoni* em tecido humano após 5 minutos de exposição.

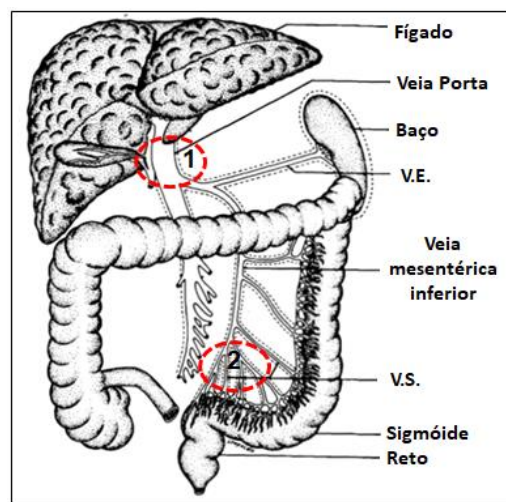


Fonte: KHAMMO, BARTLETT, CLOTHIER *et al.* 2002.

A principal modificação morfológica no momento da penetração é a perda da cauda bifurcada, se transformando em esquistossômulos. Os esquistossômulos migram pelas camadas da pele até penetrar nos vasos sanguíneos do hospedeiro definitivo e, aqueles que não forem eliminados pelo sistema imunológico do vertebrado migram para o coração e

pulmões até atingirem o fígado, onde alcançarão a maturidade sexual e realizarão o acasalamento (LENZI *et al.* 2008a; TERRA *et al.* 2018). Depois de acasalados, os vermes adultos macho e fêmea migram para as veias mesentéricas inferiores para realizarem a oviposição (Figura 6) (NEVES, 2005).

Figura 6 – Desenho esquemático das veias mesentéricas, fígado e intestino grosso destacando o local de acasalamento (1) e oviposição (2) dos vermes adultos de *Schistosoma mansoni*.

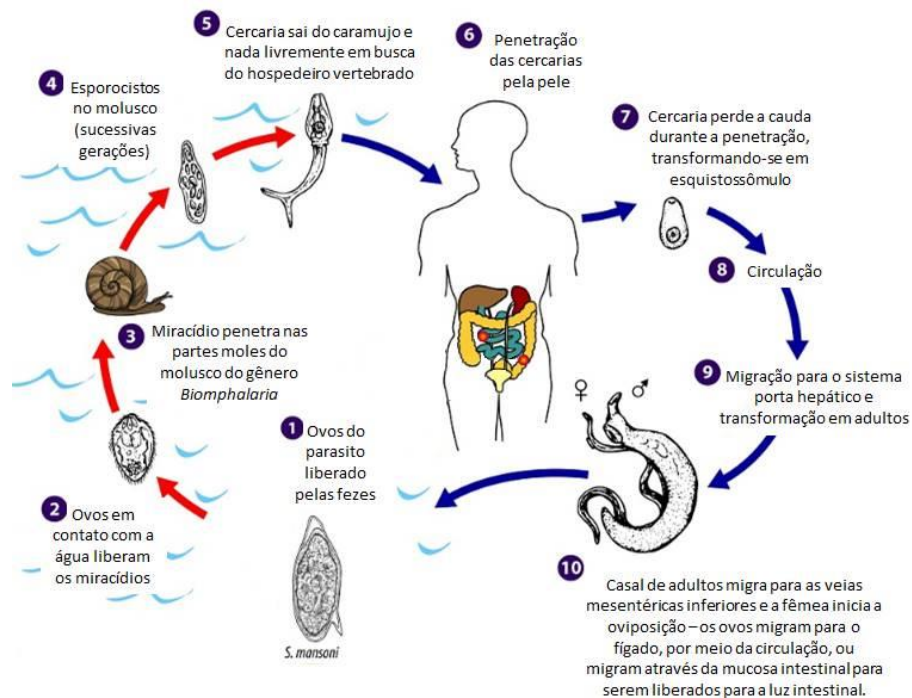


Legenda: Veia esplênica (V.E.); Veia sigmoide (V.S.); Maturidade sexual e acasalamento (1); Local de oviposição (2).

Fonte: NEVES, 2005 (adaptado).

Por fim, os ovos atravessam a parede do intestino, alcançam a luz intestinal e são liberados juntamente com as fezes para o ambiente externo, reiniciando o ciclo biológico (Figura 7).

Figura 7 – Ciclo biológico de *Schistosoma mansoni*.



Fonte: <https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>. Acesso em: 20/07/2019 – CDC – Center for Disease Control and Prevention (Adaptado).

Patologia e imunopatologia da esquistossomose

A evolução da doença no hospedeiro definitivo vai depender do processo de equilíbrio na relação parasito-hospedeiro, que é intimamente relacionada com a cepa do parasito, carga parasitária, estado nutricional e resposta imune dos indivíduos infectados (NEVES, 2005). A perda do equilíbrio entre o parasito-hospedeiro ocorre justamente no desencadeamento de uma resposta imunitária exacerbada com objetivo de ocorrer à defesa efetiva do hospedeiro vertebrado frente a um organismo estranho externo invasor (MACHADO *et al.* 2004).

Clinicamente a doença se divide em duas fases: aguda (estágio inicial) e a crônica (estágio tardio) (SOUZA *et al.* 2011). Na fase aguda ocorre o período pré-patente (fase antes da oviposição) e o pós-patente (fase após a postura de ovos) (SILVA, SANTANA & JESUS, 2008). O período pré-patente desencadeia uma reação de hipersensibilidade chamada de dermatite cercariana, desencadeado por segregação de células como mastócitos e eosinófilos a fim de realizarem uma contenção do organismo externo invasor no hospedeiro definitivo (NEVES, 2005; SILVA *et al.* 2016). O período pós-patente inicia-se em torno de quatro a cinco semanas após a infecção quando as fêmeas de *S. mansoni* iniciam a oviposição dos ovos (SILVA, SANTANA & JESUS, 2008). Parte dos ovos sai junto às fezes e a outra é drenada

pelo sistema sanguíneo, via veias mesentéricas para o fígado pela veia porta, se alojando nos vasos de menor calibre e no parênquima hepático, forma os granulomas hepáticos (ANDRADE, 2008). A migração dos ovos na parede intestinal é mediada por citocinas (IFN- γ , TNF e IL-13) que influenciam na resistência epitelial intestinal, ou seja, os estímulos impostos por estas citocinas contribuem para o aumento da permeabilidade intestinal e consequentemente para a passagem dos ovos (COSTAIN, MACDONALD & SMITS, 2018).

A fase crônica é determinada devido à evolução da infecção ocasionada pela deposição de inúmeros ovos e consequentemente de reações granulomatosas nos tecidos do hospedeiro vertebrado (PORDEUS *et al.* 2008). A intensa formação dos granulomas promove ao sistema imunológico um recrutamento de citocinas fibrinogênicas que são responsáveis por induzir áreas extensas de fibrose periportal no fígado de Symmers (CALDAS *et al.* 2008). Com a fibrose, ocorre uma diminuição da elasticidade dos vasos intra-hepáticos e consequentemente ocorre um aumento da pressão vascular (CARVALHO, FILHO & OLIVEIRA, 2008; REY, 2010). A hipertensão portal é uma das causas que proporciona o surgimento de esplenomegalia e de varizes esofagianas que podem se romper e ocasionar hemorragias, ou seja, o desenvolvimento sequencial da congestão vascular compromete e agrava o quadro clínico do indivíduo (CALDAS *et al.* 2008).

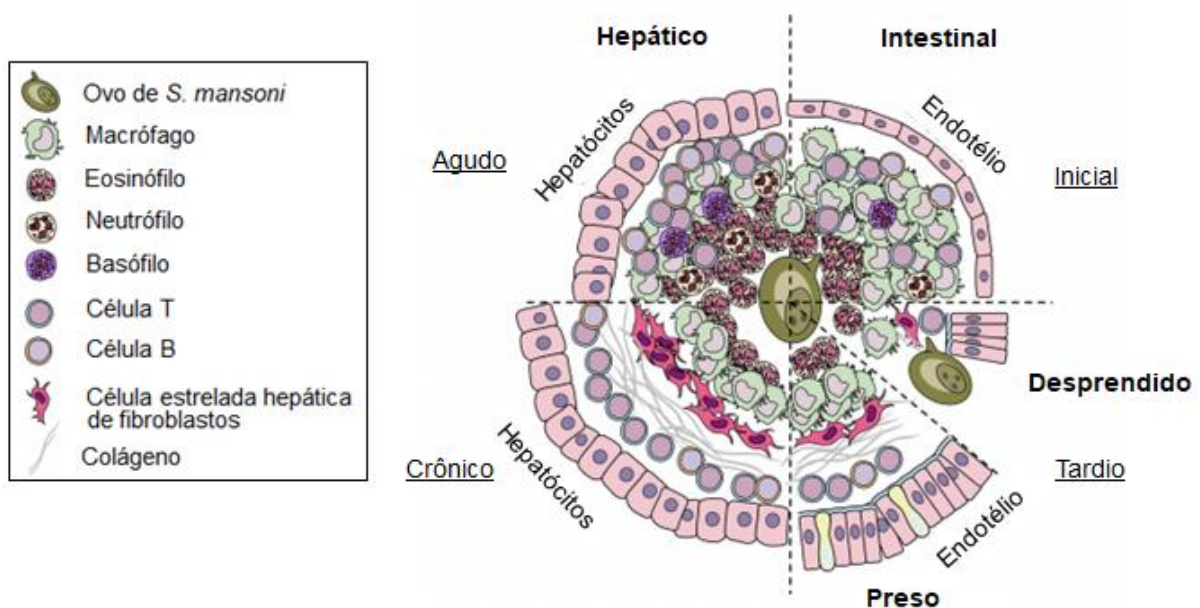
O fígado é um dos principais órgãos acometidos por *S. mansoni* devido à chegada dos ovos que acabam promovendo uma resposta inflamatória e consequentemente alterações morfológicas e funcionais no tecido (COUTO *et al.* 2007). Dentre as principais alterações estão: a presença de infiltrado leucocitário e colágeno distribuído em camadas concêntricas; hiperplasia das células de Kupffer; formação de granulomas com agregação de fagócitos mononucleares, neutrófilos, linfócitos, células plasmáticas e fibroblastos (CARVALHO, ALVARENGA & MELO, 1986; COUTO *et al.* 2007; WU & HALIM, 2000).

A reação granulomatosa ou granuloma pode ser descrito como uma hipersensibilidade celular que funciona no organismo do indivíduo como uma barreira frente à dispersão dos antígenos solúveis (*SEA – Soluble Egg Antigens*) liberados pelo miracídio que se encontra no interior do ovo e que consequentemente seria tóxico ao hospedeiro definitivo (ARAÚJO, 2015; LENZI *et al.* 2008b). O granuloma esquistossomóticos apresenta fases evolutivas bem definidas (Figura 9) que sofrerá influência direta do estado de reatividade do organismo hospedeiro (LENZI *et al.* 2008b; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017; RASO *et al.* 1978).

As primeiras células recrutadas pelos antígenos solúveis dos ovos são os macrófagos, que logo formam as células epitelíoides e os gigantócitos (HAMS, AVIELLO & FALLON, 2013). Logo após, chegam uma infiltração acentuada de eosinófilos, linfócitos, neutrófilos e

plasmócitos que são mediados pelo fator de necrose tumoral (TNF), pelos linfócitos T CD4⁺, CD8 e pelas células produtoras de citocinas Th1 e Th2 (LENZI *et al.* 2008b; SOUZA *et al.* 2011). Grande parte da constituição celular presente no granuloma hepático é constituída por eosinófilos que apresentam a importante função de neutralizar as hepatotoxinas liberadas pelos antígenos solúveis dos ovos do parasito (AMARAL *et al.* 2017). As células inflamatórias começam a se organizar de acordo com a sua afinidade molecular ao redor do ovo, isto é os macrófagos passam a migrar para o centro (próximo ao ovo central), enquanto que as outras células (eosinófilos e fibroblastos) se posicionam nas regiões mais externas (LENZI *et al.* 1998). À medida que a infecção esquistossomótica progride, as células inflamatórias vão sendo substituídas por células semelhantes a fibroblastos que fabricam uma faixa espessa de fibras de colágeno ao redor do ovo e assim, facilitando a sua calcificação (Figura 8) (AMARAL *et al.* 2017; SCHWARTZ & FALLON, 2018).

Figura 8 - Diferenças na composição celular dos granulomas hepático e intestinal



Fonte: SCHWARTZ & FALLON, 2018. Adaptado.

Obesidade e dislipidemia

A obesidade é caracterizada como uma doença crônica não transmissível (DCNT) definida pelo Ministério da Saúde como um distúrbio metabólico ocasionado pelo excesso de

gordura corporal, que causa prejuízos à saúde de um indivíduo (PINHEIRO, FREITAS & CORSO, 2004; RECINE & RADAELLI, 2003). Esse distúrbio é extremamente complexo, apresenta múltiplos fatores que podem ser responsáveis pela sua tendência de crescimento em uma determinada região. A inadequada prática alimentar é o principal fator que contribui para que esta doença seja considerada uma pandemia afetando a população em múltiplas faixas etárias, raças e gêneros distribuídos em diferentes condições socioeconômicas (DIAS *et al.* 2017; FRANCISCHI *et al.* 2000).

Estudos de Francischi e colaboradores (2000), já retratavam que a obesidade é provavelmente o distúrbio metabólico mais antigo conhecido pela ciência no mundo que afeta tanto países em desenvolvimento quanto desenvolvidos. Atualmente, as informações sugerem que os índices de obesidade mundial quase triplicaram entre 1975 e 2016, ou seja, mais de 1,9 milhões de adultos acima de 18 anos e cerca de 41 milhões de crianças com idade inferior a 5 anos estavam acima do peso ou obesas (WHO, 2018). Essas informações confirmam uma tendência para a mudança no perfil das causas de óbitos no Brasil, pois, anteriormente o grande problema era a desnutrição e recentemente observa-se uma diminuição progressiva desta causa, para um aumento gradual de doenças crônicas associadas à obesidade (FRANCISCHI *et al.* 2000). Essa transição nutricional reflete um dos maiores desafios de saúde pública, pois a desnutrição e a obesidade não são antagônicas, ou seja, atualmente há um reconhecimento crescente da coexistência de desnutrição, juntamente com sobrepeso e obesidade (WHO, 2020). Isso é refletido pela baixa qualidade da dieta nos primeiros anos de vida, seguido pelo consumo excessivo de energia que pode ser atribuído principalmente ao rápido desenvolvimento econômico, a urbanização e as mudanças demográficas que levam a baixos níveis de atividades físicas e um alto consumo de alimentos industrializados ricos em açúcar e sódio e pobres em cereais, leguminosas, frutas, verduras e legumes (COUTINHO, GENTIL & TORAL, 2008; GRIJALVA-ETERBOD *et al.* 2012; WHO, 2020).

Diversos estudos em modelos experimentais têm elucidado os mecanismos e disfunções fisiológicas ocasionadas pelo excesso de gordura corporal. (BALLESTRERI, MARCON & TAVARES, 2015; BORTOLIN *et al.* 2017; PEREIRA-LANCHA, CAMPOS-FERRAZ & JUNIOR, 2012; ROSINI, SILVA & MORAES, 2012).

Sabe-se que os principais responsáveis pela regulação do armazenamento de gordura corporal no indivíduo não estão apenas associados à relação da ingestão e o gasto energético. Pereira-Lancha, Campos-Ferraz & Junior (2012) e Negrão & Licínio (2000) mostraram que existe uma relação das atividades lipolíticas do tecido adiposo com a secreção do hormônio da leptina que é extremamente importante para o controle da homeostase energética.

O acúmulo de gordura corporal e a dislipidemia estão associados à obesidade (GARCEZ *et al.* 2014; MARTINS, 2018). A dislipidemia é caracterizada pela alteração nas concentrações de lipídios no sangue, ou seja, equivale ao aumento de colesterol total, LDL e triglicérides, conseqüentemente a diminuição da fração de HDL no sangue (XAVIER *et al.* 2013).

Em consequência destes desequilíbrios, o fígado é o principal órgão afetado quando ocorrem estas alterações, pois é responsável pela síntese de lipoproteínas: *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL) e *High Density Lipoprotein* (HDL) (VAZ *et al.* 2006). Os VLDL são lipoproteínas responsáveis por transportar os ácidos graxos na forma de triglicérides que são sintetizados pelo fígado com objetivo de serem utilizados como fonte de energia, principalmente pelo tecido adiposo e pelo tecido muscular. As LDL são partículas ricas em colesterol que são responsáveis pela distribuição do colesterol no sangue, assim, o acúmulo dessa lipoproteína no compartimento plasmático resulta em hipercolesterolemia. As HDL são lipoproteínas que apresentam a função de transporte reverso, ou seja, removem o colesterol livre dos tecidos periféricos e transportam para o fígado para serem metabolizados e degradados na forma de ácidos e sais biliares (LUDKE & LÓPEZ, 1999; VAZ *et al.* 2006; XAVIER *et al.* 2013). Por esta razão, quando há uma concentração anormal de lipídios circulantes, ocorre um acúmulo de metabólitos tóxicos no meio intracelular e o fígado sofre dano celular devido à lipotoxicidade e a lipoapoptose (LACERDA, BOCK & FUNCHAL, 2015).

A hipercolesterolemia é caracterizada como o aumento das concentrações plasmáticas de colesterol em virtude da elevada ingestão de alimentos com alto teor de gordura. Estas moléculas são absorvidas no intestino, carreadas para o fígado e, posteriormente, as lipoproteínas de LDL transportaram o colesterol do fígado para a corrente sanguínea (XAVIER *et al.* 2013). Esta alteração promove o aumento do risco para a aterosclerose e doenças cardiovasculares e de acordo com estudos realizados no Brasil, cerca de um terço da população de adultos apresentam alterações no perfil de colesterol (LACERDA, BOCK & FUNCHAL, 2015; MALTA *et al.* 2019)

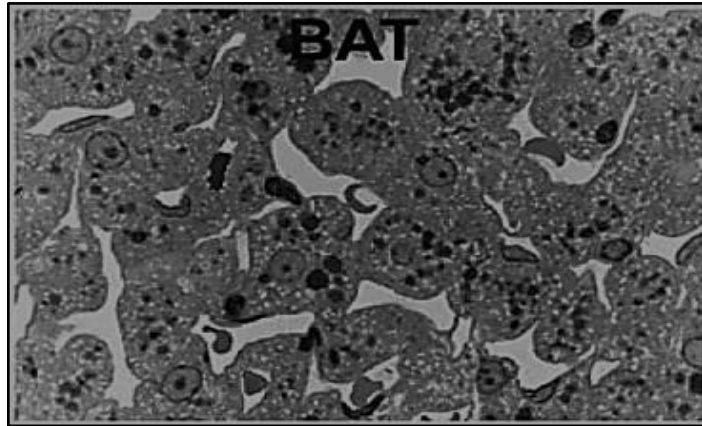
Tecido adiposo

O tecido adiposo é um tipo de tecido conjuntivo especializado em reservar as energias do organismo (FONSECA-ALANIZ *et al.* 2006). Estudos retratam a grande importância endócrina que este tecido tem no organismo, devido a sua capacidade de sintetizar e secretar inúmeros peptídeos e proteínas bioativas que mediam à comunicação intracelular, sendo capazes de transmitir a informação para as células-alvo (LACERDA, MALHEIROS & ABREU, 2016; PRADO *et al.* 2009). Composto por células denominadas de adipócitos que desempenha uma importante função da síntese da adipocina, proteína cuja finalidade está intimamente relacionada com o sistema imunológico, cardiovascular e homeostase energética (COSTA & DUARTE, 2006). É importante ressaltar que o tecido adiposo também sintetiza e excreta quase que exclusivamente o hormônio Leptina, cuja principal função é estabelecer uma comunicação do tecido adiposo com o sistema nervoso central, regulando o controle a ingestão alimentar e o gasto energético. A leptina também contribui em vias intracelulares, aumentando a capacidade das mitocôndrias de oxidarem lipídios no processo de respiração celular, gerando energia com base nestas fontes lipídicas (COSTA & DUARTE, 2006; LACERDA, MALHEIROS & ABREU, 2016; PINTO, 2014; WAJCHENBERG, 2000).

Existem dois tipos de tecido adiposo, marrom e branco, estes estão organizados em vários sítios anatômicos de um organismo (depósitos subcutâneos e viscerais) e que são classificados de acordo com as funções desenvolvidas pelas suas células, gerando diferenças na coloração e vascularização tecidual (PINTO, 2014; PRADO *et al.* 2009).

O tecido adiposo marrom (TAM) (Figura 9) encontra-se praticamente ausente em indivíduos adultos. A sua principal função é induzir os mecanismos de termorregulação em neonatos de mamíferos. Mais comum encontrar este tipo de tecido adiposo em adultos de roedores e em espécies que desenvolvem comportamento de hibernação. Sua principal função é o controle térmico, as mitocôndrias exercem uma alta atividade metabólica na oxidação de lipídios para produzir ATP e assim, a energia pode ser dissipada em forma de calor em ambientes mais frios para que haja a manutenção e equilíbrio da temperatura corporal (BROETTO, 2012; PINTO, 2014).

Figura 9 – Imagem de microscopia de luz (campo claro) destacando gotículas lipídicas multiloculares em tecido adiposo marrom (BAT)

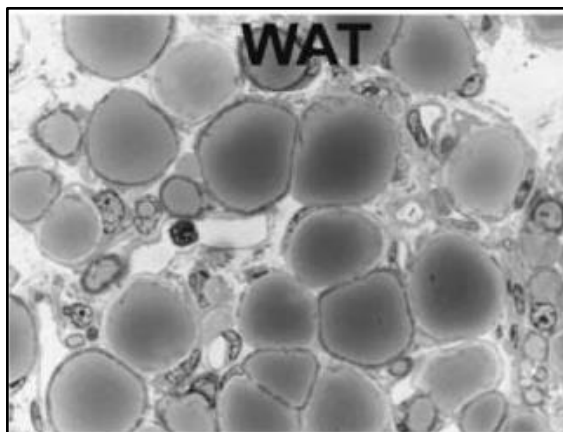


Legenda: *Brown Adipose Tissue (BAT)*.

Fonte: CINTI & VETTOR, 2010.

O tecido adiposo branco (TAB) (Figura 10) é o mais abundante nos tecidos de indivíduos adultos e está intimamente relacionado com o armazenamento de lipídios em períodos de balanço energético positivo (BROETTO, 2012). Dentre as suas funções, fornece proteção aos órgãos viscerais contra choque mecânico, desempenha uma alta capacidade de isolante térmico, além de ser fonte para a produção de vitaminas, lipoproteínas e hormônios (BONFANTE *et al.* 2015; FONSECA-ALANIZ *et al.* 2006; PINTO, 2014).

Figura 10 – Imagem de microscopia de luz (campo claro) evidenciando gotículas uniloculares em tecido adiposo branco (WAT)



Legenda: *White Adipose Tissue (WAT)*.

Fonte: CINTI & VETTOR, 2010.

Associação da esquistossomose com as desordens metabólicas

As desordens metabólicas podem ser descritas como um conjunto de anormalidades metabólicas e hemodinâmicas que se manifestam num indivíduo e podem desencadear diversas doenças crônicas, como a: obesidade, dislipidemia, diabetes e as doenças cardiovasculares (FILHO *et al.* 2006; WHO, 2018).

Ao analisar o conjunto parasito, hospedeiro e ambiente, como um sistema único é possível compreender como as desordens metabólicas podem ser mais um agente que modificam o equilíbrio desta inter-relação. Estudos anteriores de Ferreira (1973) já retratavam a existência de uma evolução conjunta tanto do hospedeiro quanto do parasito em relação às influências externas impostas. Assim sendo, pesquisas utilizando modelos experimentais observaram alterações importantes que o padrão alimentar pode desencadear sobre a biologia de *S. mansoni* (COUTINHO, 2008; FRANCO *et al.* 2009; MARQUES *et al.* 2018). Os vermes adultos de *S. mansoni* vivem no sistema porta-hepático e se nutrem na corrente sanguínea do hospedeiro definitivo. Desta forma, qualquer alteração no microambiente pode contribuir para alterações morfológicas e/ou biológicas do parasito (LENZI *et al.* 2008a).

Já foram caracterizadas diversas classes lipídicas que compõe o tegumento dos helmintos adultos de *S. mansoni* e que apresentam grande importância para a adaptação deste parasito em seu respectivo hospedeiro definitivo (SMITH & BROOKS, 1969). Meyer, Meyer e Bueding (1970) examinaram posteriormente o metabolismo lipídico de *S. mansoni* e constataram que durante o desenvolvimento, os vermes adultos perdem a capacidade de sintetizar lipídios, possivelmente em decorrência ao processo de simplificação metabólica gerada a partir da adaptação à vida parasitária. Dessa forma, adultos de *S. mansoni* apresentam diversos receptores localizados no tegumento que são fundamentais para a aquisição do colesterol e de outros lipídios diretamente do hospedeiro (VAN HELLEMOND *et al.* 2006). As LDL são as lipoproteínas responsáveis por transportarem colesterol para o sangue, entretanto na infecção esquistossomótica, elas se ligam tanto à superfície dos esquistossômulos quanto dos vermes adultos, auxiliando na manutenção da integridade do tegumento, na produção de ovos e principalmente na evasão do sistema imune do hospedeiro, pois a LDL adsorvida no tegumento do parasito diminui a sua antigenicidade (FAN *et al.* 2003; GIERA *et al.* 2018). Animais esquistossomóticos submetidos à dieta hiperlipídica apresentaram diferenças no curso da doença e que o alto teor de lipídios promove alterações hepáticas e intestinais importantes, como: modificações na morfologia e morfometria do

intestino delgado (ALENCAR *et al.* 2012); aumento na produção de ovos nas fezes na fase aguda (NEVES *et al.* 2007) e crônica (ALENCAR *et al.* 2009); além de uma intensa mudança quantitativa no número de células hepáticas (hepatócitos binucleados) que promovem o aumento da regeneração do fígado (NEVES *et al.* 2006a);

Adultos de *S. mansoni* apresentam transportadores de glicose distribuídos no tegumento que são extremamente importantes na formação da bicamada lipídica (RUMJANEK, CALDAS & GAZZINELLI, 2008). Além disso, o helminto também utiliza a glicose para a maturação sexual, produção de ovos e também, como mecanismo de escape do sistema imunológico do hospedeiro (HULSTIJN *et al.* 2011; SAULE *et al.* 2005). Foi observado que a glicose em animais com dieta hiperglicêmica, aumenta a sobrevivência dos esquistossomos e diminui o número de granulomas hepáticos (MAGALHÃES *et al.* 1978).

Corrêa (2009) evidenciou que a desnutrição materna na lactação influencia no desenvolvimento de *S. mansoni*, ou seja, o microambiente ofertado pelo hospedeiro provocou alterações no sistema reprodutor (diminuição de células no interior da vesícula seminal), na estrutura do tegumento (distribuição irregular dos tubérculos) e conseqüentemente na eliminação e viabilidade dos ovos (produção reduzida de vitelo) implicando diretamente no avanço dos mecanismos fisiopatológicos da infecção.

A restrição proteica provoca alterações no curso da infecção esquistossomótica, promovendo a diminuição da carga parasitária e conseqüentemente da inflamação granulomatosa (MARQUES *et al.* 2018). Neves e colaboradores (2001) demonstraram que os helmintos adultos não alcançavam completamente o desenvolvimento somático e conseqüentemente exibiam alterações no aparelho reprodutor (diminuição dos lobos testiculares) e no tegumento (menor espessura e áreas vacuolizadas) de machos. Nas fêmeas os impactos foram observados na alteração da oviposição, devido um comprometimento morfológico do ovário e dos ovos (OLIVEIRA *et al.* 2003).

Sabe-se que uma grande disponibilidade de lipídios no meio favorece ao parasito, seja a sua fertilidade ou o mecanismo de escape contra o sistema imune do hospedeiro. Conseqüentemente, a associação da dislipidemia com a esquistossomose intensifica a doença. Devido à prevalência e a distribuição geográfica da esquistossomose e da dislipidemia, não se pode excluir a possibilidade de que em áreas endêmicas haja concomitância entre essas comorbidades.

1 JUSTIFICATIVA

A esquistossomose está inserida no grupo das doenças tropicais negligenciadas que afeta mundialmente 240 milhões de pessoas. Só no Brasil, a Organização Mundial de Saúde estimou uma prevalência de 2,5 milhões de pessoas infectadas distribuídas nos 19 Estados brasileiros localizados principalmente nas regiões nordeste e sudeste. Atualmente houve um decréscimo na positividade da esquistossomose no território nacional, entretanto, a doença ainda representa um sério problema de Saúde Pública, pois está intimamente relacionada com a pobreza de uma região.

A prevalência da dislipidemia é estimada em 46,6% da população brasileira. O Ministério da Saúde gasta em média 1,3 bilhão de reais anualmente com o tratamento ambulatorial e hospitalar. A progressão desta doença resulta num grave problema a ser enfrentado pela saúde pública brasileira, pois pesquisas populacionais realizadas em vários países revelaram taxas relativamente baixas de diagnóstico, conhecimento e controle dos níveis elevados dos lipídios.

Nesse contexto, é de grande relevância que sejam realizados estudos que evidenciam as alterações na infecção esquistossomótica em um quadro de dislipidemia apresentado pelos seus hospedeiro, em virtude do contingente de pacientes com este perfil metabólico que são moradores de áreas endêmicas para esquistossomose, afim de ampliar a compreensão do processo fisiopatológico e prováveis complicações que podem ser decorrentes deste quadro de comorbidade.

Hoje se sabe que existe uma relação entre a dislipidemia e a esquistossomose, porém existem lacunas em relação ao processo patológico. Dessa forma, estamos propondo estudar a fase aguda da esquistossomose em nosso modelo experimental de camundongos dislipidêmicos.

2 OBJETIVOS

2.1. Geral

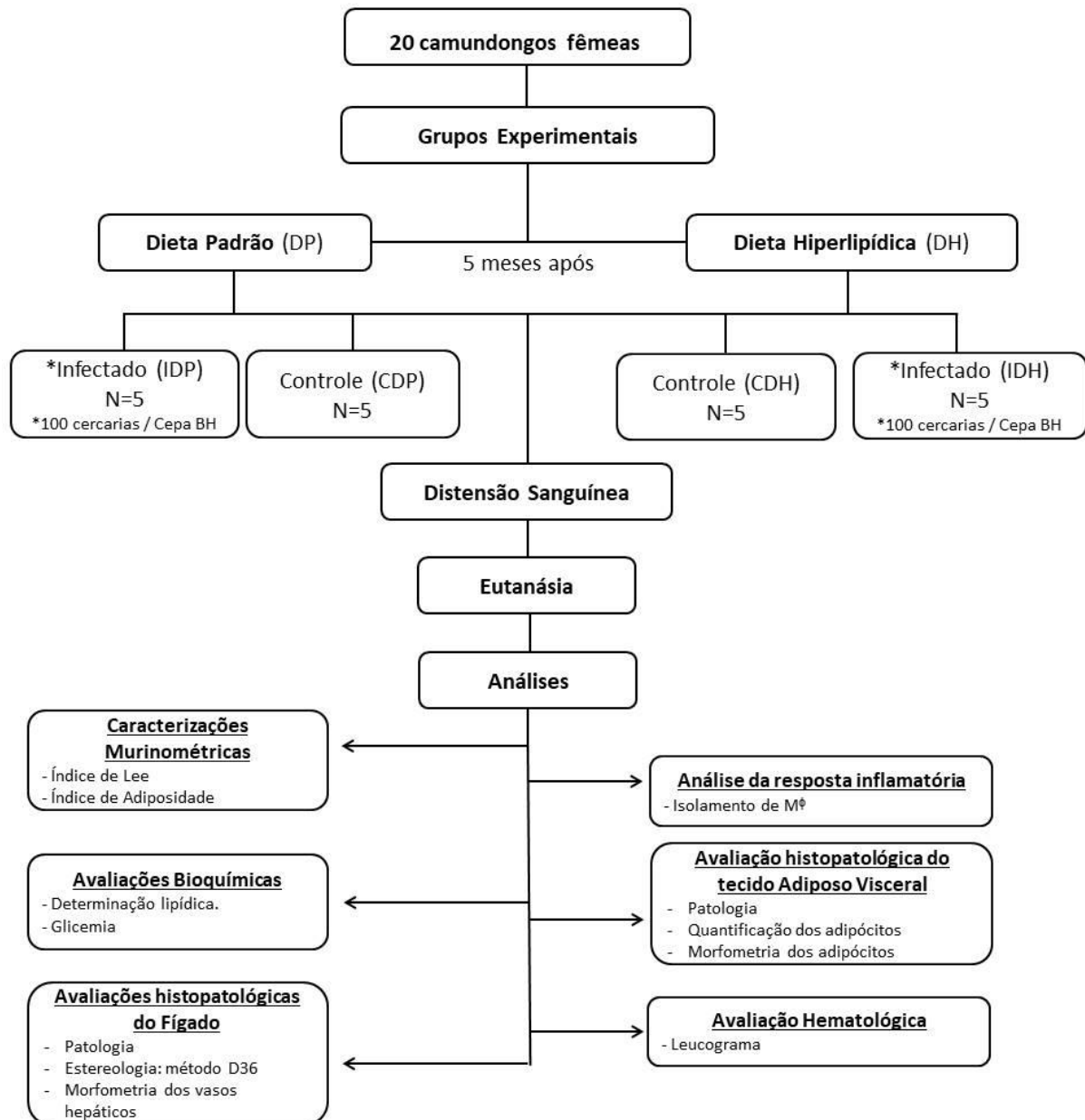
Avaliar o remodelamento do tecido hepático e adiposo na esquistossomose aguda experimental em camundongos Swiss Webster fêmeas submetidas à dieta hiperlipídica e seus controles.

2.2. Específicos

- a) Comparar a massa corporal e mensurar os índices de adiposidade e obesidade dos grupos experimentais estudados;
- b) Verificar alterações no leucograma e no perfil bioquímico sanguíneo dos camundongos dos grupos experimentais;
- c) Dosar as citocinas de macrófagos peritoneais ativos extraídos do lavado peritoneal;
- d) Realizar o estudo histopatológico, estereológico e morfométrico no tecido hepático para avaliar o impacto da infecção esquistossomótica e da dieta hiperlipídica;
- e) Realizar a análise morfométrica, estereológica e de quantificação das fibras de colágeno nos granulomas hepáticos dos camundongos submetidos ou não à dieta;
- f) Qualificar no granuloma hepático as principais células (macrófagos, epitelióides, gigantócitos, eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e fibroblastos) envolvidas na resposta inflamatória;
- g) Realizar a análise morfométrica, histopatológica e a quantificação dos adipócitos no tecido adiposo visceral dos diferentes grupos experimentais. .

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Delineamento experimental



3.2. Modelo experimental murino

3.2.1. Aspectos éticos

Todos os procedimentos realizados nos animais foram aprovados pela Comissão de Ética para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais/CEUA, do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), registro no número 028/2018.

3.2.2. Ensaio *in vivo*

O estudo foi realizado no laboratório de Helminologia Romero Lascasas Porto, da Disciplina de Parasitologia do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da UERJ, Rio de Janeiro, Brasil.

Para a realização dos experimentos, foram utilizados vinte camundongos *Mus musculus* fêmeas da linhagem Swiss Webster após o desmame (21 dias), pesando aproximadamente entre 15 a 20 gramas (g), mantidos no biotério da disciplina de Parasitologia (FCM – UERJ). Os animais receberam uma alimentação balanceada (Nuvilab CR-I-NUVITAL – Nutrients Ltda., Colombo, Paraná, Brasil) ou uma dieta hiperlipídica de acordo com os grupos experimentais e água *ad libitum*. Os animais foram mantidos em sala com temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade controlada ($60\pm 10\%$), expostos a um ciclo claro e escuro de 12 horas (luzes artificiais) e a um ciclo de exaustão de ar.

3.2.3. Composição das rações

Os animais receberam uma ração padrão (normocalórica) constituída por 60% de carboidratos, 28% de proteínas e 12% de lipídios da NUVILAB CR-1-NUVITAL (Nutrients Ltda., Colombo, Paraná, Brasil). Os animais dos grupos hiperlipídico receberam uma ração

específica com alto teor de gordura da empresa (Prag Soluções, São Paulo, Brasil) e constituída por 47% de carboidrato, 24% de proteína e 29% de lipídios (Quadro 2).

Quadro 2 – Composição das dietas experimentais (g/kg)

Dieta Padrão (DP)		Dieta Hiperlipídica (DH)	
CONTEÚDOS	QUANTIDADE	CONTEÚDOS	QUANTIDADE
Proteína bruta	220	Caseína	305
Extrato etéreo (gorduras)	40	Amido de milho	150
Matéria mineral	90	Farinha de trigo	245
Fibra bruta	70	Gema de ovo	180
Cálcio	10-14	Banha de porco	120
Fósforo	8000 (mg/kg)		
Misturas de vitaminas (mg)	*	Misturas de vitaminas (mg)	50*
Misturas de minerais (mg)	*	Misturas de minerais (mg)	30*
Colesterol	*	Colesterol	3
		Ácidos graxos saturados	354
		Ácidos graxos monoinsaturados	500
		Ácidos graxos poliinsaturados	146

*De acordo com as recomendações do *American Institute of Nutrition Rodents Diets*, AIN-93G (1993).

As dietas foram administradas aos animais durante cinco meses para a indução da dislipidemia antes da infecção de modo “*ad libitum*” (Figura 11). Os animais permaneceram com suas respectivas dietas desde o desmame até ao final do experimento.

Figura 11 – Fotografia da ração padrão (normocalórica) e ração hiperlipídica utilizada nos grupos experimentais



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

3.2.4. Infecção e eutanásia

Parte dos animais experimentais alimentados com dieta padrão e dieta hiperlipídica por cinco meses foram infectados com 100 cercarias de *Schistosoma mansoni* da cepa BH (Belo Horizonte) recém eliminadas por *Biomphalaria glabrata*, fornecidas pelo Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ – Rio de Janeiro. Os animais foram infectados por via subcutânea após cinco meses (aproximadamente 150 dias) de iniciada a administração das dietas. Após a infecção, foram formados quatro grupos (n=5/grupo) com os animais separados quanto ao tipo de dieta: 1- Grupo Controle de Dieta Padrão (CDP); 2- Grupo Infectado de Dieta Padrão (IDP); 3- Grupo Controle da Dieta Hiperlipídica (CDH) e 4- Grupo Infectado da Dieta Hiperlipídica (IDH) (Quadro 3). Os animais foram submetidos ao exame parasitológico de fezes (Kato-Katz) para comprovar a eficácia da infecção (ALBINO *et al.* 2016).

Depois de sete meses e uma semana desde o início da dieta e dois meses e uma semana após a infecção, os animais foram eutanasiados em câmara sobrecarregada com Dióxido de Carbono (CO₂). Foram removidos o fígado e o tecido adiposo branco (gordura visceral e gordura periovariana) que logo após foram pesados com auxílio de uma balança digital de precisão (Bel Engineering LW303i), e em seguida, armazenados em formol tamponado a 10% para realização das análises histológicas.

Quadro 3 – Divisão dos grupos experimentais

DIETAS	SIGLAS	SIGNIFICADO
Padrão	CDP	Animais Controle Dieta Padrão
	IDP	Animais Infectados Dieta Padrão
Hiperlipídica	CDH	Animais Controle Dieta Hiperlipídica
	IDH	Animais Infectados Dieta Hiperlipídica

3.2.5. Pesagem dos animais

A massa corporal (MC) dos animais foi mensurada semanalmente utilizando uma balança de precisão (Marte Científica AD 2000) ao longo de sete meses e uma semana de experimento, sendo cinco meses de dieta e mais dois meses e uma semana de infecção. A variação ponderal foi obtida a partir da diferença entre os valores de massa corporal inicial e final.

3.3. Caracterizações murinométricas

3.3.1. Índice de Lee

O comprimento naso-anal (CNA) (Figura 12) e o peso corporal de cada animal foi verificado no dia da necropsia para calcular o índice de Lee (BERNARDIS & PATTERSON, 1968). Todos os grupos foram avaliados e comparados utilizando a fórmula:

$$\frac{\sqrt[3]{\text{Peso (g)}}}{\text{CNA (cm)}}$$

Figura 12 – Fotografia de camundongo Swiss Webster mostrando a medida do comprimento naso-anal utilizada para o índice de Lee



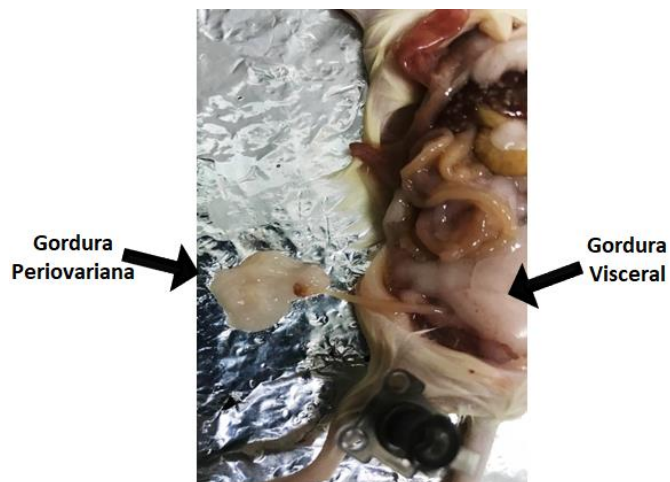
Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

3.3.2. Índice de Adiposidade

Para calcular o índice de adiposidade foi necessário remover a gordura visceral e periovariana (Figura 13) (BORGES *et al.* 2019). Após a remoção, a gordura foi lavada em solução salina 0,9% e posteriormente pesada utilizando uma balança de precisão (Bel Engineering). Consideramos a gordura visceral total como a soma das gorduras visceral mais a ovariana. O índice de adiposidade (PEREIRA *et al.* 2018) foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Adiposidade} = \frac{\text{Gordura Visceral total}}{\text{Peso Corporal final}}$$

Figura 13 – Fotografia de camundongo Swiss Webster onde se observa a gordura visceral e periovariana



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

3.4. Análises bioquímicas

Amostras de sangue foram obtidas através de punção cardíaca sem a realização de toracotomia (Figura 14) e posteriormente o plasma foi separado por centrifugação a 3.500 rotações por minuto (rpm) durante 15 minutos, obtendo então o plasma livre de hemólise para a realização das dosagens das frações lipídicas: Colesterol Total (CT), Triglicerídeos (TG), *High Density Lipoprotein* (HDL). Os valores de *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) e de *Low density lipoprotein* (LDL) foram determinados pela fórmula de *Friedewald* (FRIEDEWALD, LEVY & FREDRICKSON, 1972; MARTIN *et al.* 2013; WARNICK *et al.* 1990).

$$VLDL = \frac{TG}{5}$$

$$LDL = CT - (HDL + VLDL)$$

O colesterol não-HDL foi calculado subtraindo o valor de HDL do colesterol total (FALUDI *et al.* 2017).

Figura 14 – Demonstração da realização da punção cardíaca sem a realização de toracotomia



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

As dosagens foram realizadas com um equipamento semiautomático de bioquímica (BIOCLIN 100, Quibasa Química Básica, Belo Horizonte, MG, Brasil), utilizando os kits (Quadro 4) seguindo as instruções do fabricante.

Quadro 4 – Métodos bioquímicos

MÉTODOS	ANALÍTOS	REFERÊNCIA
COLORIMÉTRICOS	HDL	K071-23
	Colesterol total	K083-2
	Triglicerídeos	K117-2

No dia da eutanásia, a glicose de todos os animais em jejum de 12 horas foi mensurada com auxílio de um glicosímetro (Accu-Chek Performa).

3.5. Análises hematológicas

3.5.1. Leucograma

Amostras de sangue dos animais foram obtidas na oitava semana de infecção. Um pequeno corte na cauda do animal foi feito para a retirada de uma gota de sangue que foi colocada sobre uma lâmina de vidro devidamente identificada e posteriormente realizada a

distensão sanguínea que foi corada com auxílio da técnica de Romanowsky pela coloração de Panótico Rápido LB.

Para a realização da análise celular foi realizada a leitura da distensão delgada sanguínea em aumento de 100 vezes no microscópio de campo claro (Nikon Eclipse E200) em óleo de imersão (ampliação de 1000x) utilizando o padrão de contagem de Ameia Modificado que consiste em contar dois campos perto e paralelos à borda da distensão e depois, quatro campos em ângulo reto e dois campos paralelos ao bordo, e assim por diante. (Figura 15) até completar a contagem de 100 células por lâmina por animal, considerando as seguintes células sanguíneas: linfócitos, bastão, monócitos, eosinófilos, neutrófilos (BAIN, 2016).

Figura 15 – Método em Ameia modificado



Fonte: BAIN, 2016.

3.6. Perfil imunológico dos macrófagos peritoneais

3.6.1. Caracterização dos macrófagos

No dia da eutanásia, as seringas contendo 5mL com meio RPMI foram armazenadas em isopor com gelo (4°C). Posteriormente, injetamos este volume no peritônio de cada animal e realizamos a homogeneização por cerca de 30 segundos. Após este processo o lavado peritoneal foi aspirado com a mesma seringa e armazenado no gelo para ser processado na cabine de fluxo laminar. No fluxo transferimos o material coletado para tubos falcons de 15 mL devidamente identificados e recolhemos cerca de 10µL das células para contagem dos macrófagos na Câmara de Neubauer. Realizamos o cálculo para ajustar a diluição destas células em 2×10^6 /mL no meio RPMI e acrescentamos Soro Fetal Bovino (SFB). Em seguida incubamos as células em duplicatas de cada amostra de animal, utilizando as placas de cultura de células de 24 poços por cerca de 1 hora na estufa de CO₂ de 5% a 37°C para aderência. Retiramos e desprezamos o sobrenadante contendo as células não aderentes e

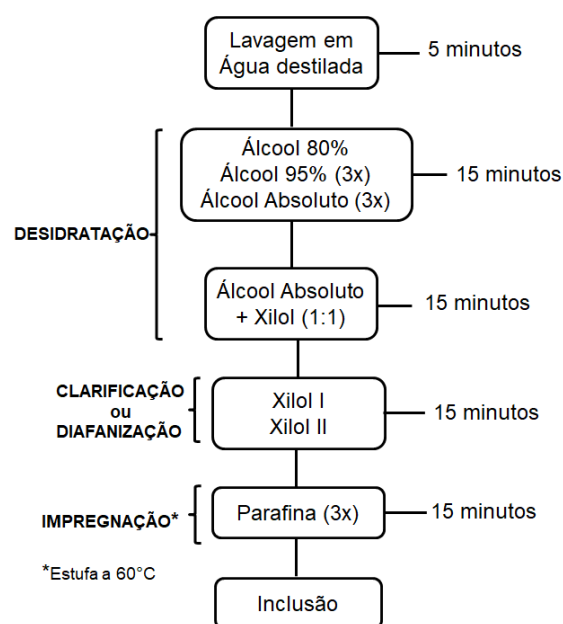
acrescentamos uma solução de lipopolissacarídeo (LPS) para estimular a ativação dos macrófagos na estufa de 5% de CO₂ a 37°C por 48 horas. Ao final do procedimento, o sobrenadante foi transferido para tubos de Eppendorf e congelado no freezer -80°C para realizar as dosagens das citocinas inflamatórias IL-6, IL-10, MCP-1, TNF e IL-12 através do método de *Citometric Bead Array* (CBA) utilizando o *kit Mouse Inflammation* (BD Bioscience, San Jose, CA, USA). A análise foi realizada utilizando o citômetro de fluxo FACS Canto II e os dados foram processados utilizando o programa FCAP Array (BD Bioscience).

3.7. Análise histopatológica do fígado

3.7.1. Qualitativa

Após 24 horas no fixador formol tamponado a 10%, o maior lobo do fígado foi clivado longitudinalmente em três fragmentos. Utilizamos o corte medial para ser processado utilizando a técnica de processamento para a inclusão em parafina (Figura 16).

Figura 16 – Esquema das etapas de processamento do fígado



Fonte: CAPUTO *et al.* 2009. Adaptado.

Após o processamento, foram obtidos cortes em micrótomo (Leica RM2125 RTS) de 3µm de espessura para a realização das seguintes colorações: Hematoxilina e Eosina (H&E), Lennert's Giemsa, Reticulina de Gomori e Picrosirius Red (Quadro 5).

Quadro 5 – Técnicas de colorações histológicas utilizadas

COLORAÇÕES	OBJETIVOS
Hematoxilina e Eosina	Estudar e caracterizar a morfologia e morfometria do tecido
Lennert's Giemsa	Estudar os diferentes tipos celulares (macrófagos, células epitelióides, células gigantes, eosinófilos, neutrófilos, linfócitos, fibroblastos) ao redor de granulomas hepáticos.
Reticulina de Gomori	Avaliar as fibras reticulares ao redor das veias hepáticas e das veias centrolobulares.
Picrosirius Red	Avaliar as fibras de colágenos tipo I e III presentes no tecido hepático.

As análises histopatológicas foram realizadas com auxílio de um microscópio (Olympus BX53) equipado com uma câmera digital (Olympus SN 4M04717, U-TV0.35XC-2, Tokyo, Japan) e as imagens foram capturadas através do software de análise de imagens Olympus cellSens Entry (versão 1.18).

Os cortes corados com HE foram utilizados para caracterizar a morfologia do tecido hepático e adiposo e também para as análises morfométricas dos adipócitos. Coloração de Lennert's Giemsa foi realizada para determinar o estágio de desenvolvimento do granuloma (LENZI *et al.* 1998) e qualificar o percentual das principais células envolvidas na resposta inflamatória (macrófagos/monócitos, células epitelióides, gigantócitos, eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e fibroblastos) onde a avaliação se procedeu em microscopia de campo claro utilizando a objetiva de imersão (o aumento total varia do tamanho da sua projeção).

Analizamos 10 granulomas por animal (totalizando 50 granulomas por grupo experimental), obedecendo aos critérios de: não ter confluência entre os processos inflamatórios e a presença de um ovo de *S. mansoni* no interior (Costa-Silva *et al.* 2002). Além disso, determinamos as células presentes no granuloma através de um sistema de score (cruzes), que significavam: (-) célula não observada e (+) célula observada. Caso o tipo celular fosse identificado na estrutura do granuloma, ela era contada baseada em escala de intensidade celular onde: (\cong 0-10) raras células, (\cong 11-20) poucas células, (\cong 21-30) muitas células e (\cong +30) abundância celular.

Para quantificar a disposição de colágeno encontrada nos diferentes estágios do granuloma nos grupos infectados submetidos à dieta padrão e dieta hiperlipídica, alguns cortes foram corados com Picrosirius Red conforme metodologia descrita por Junqueira, Cossermelli & Brentani (1978) e avaliadas em microscopia de campo claro e sob luz polarizada. A matriz conjuntiva presente nos granulomas foi quantificada automaticamente por diferença colorimétrica, ou seja, o analisador (Image-Pro Plus / versão 6.0.0.260) identifica a cor resultante da polarização, preenche a área de interesse com marcação (colágeno I: apresenta cor amarela, laranja ou vermelha; colágeno II: cor variável de acordo com o tecido; colágeno III: apresenta a cor verde) e processa a medida identificando os pontos relacionados com a tonalidade e posteriormente, transfere para o computador os resultados obtidos nas análises de quantificação.

3.7.2. Estereologia pelo método de D36

O fígado foi analisado utilizando um sistema de teste de 36 pontos denominado como D36 (MANDARIN-DE-LACERDA, 2003). Avaliamos dez campos microscópicos aleatórios em objetiva de 20x (ampliação de 200x) para quantificar a densidade de volume dos hepatócitos, sinusóides, possíveis esteatoses, células de Kupffer e infiltrados leucocitários através da seguinte fórmula:

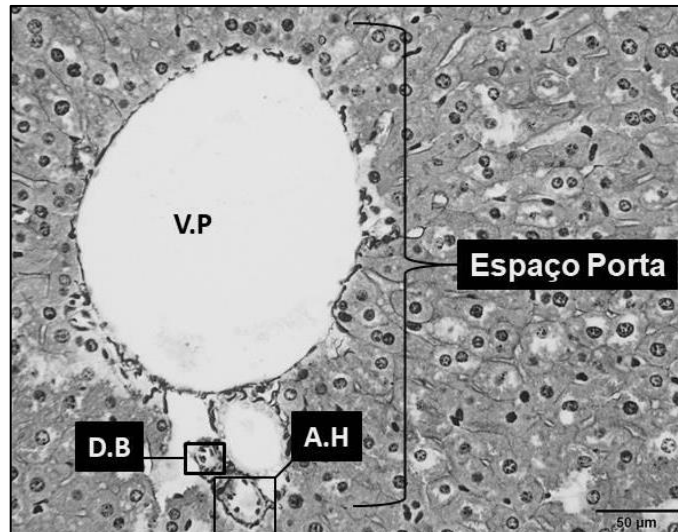
$$Vv = \frac{PP}{PT} (\%)$$

Onde, Vv representa a densidade do volume; PP retrata os pontos que atingem a estrutura do órgão; e PT descreve o sistema de 36 pontos testes.

3.7.3. Morfometria dos vasos hepáticos

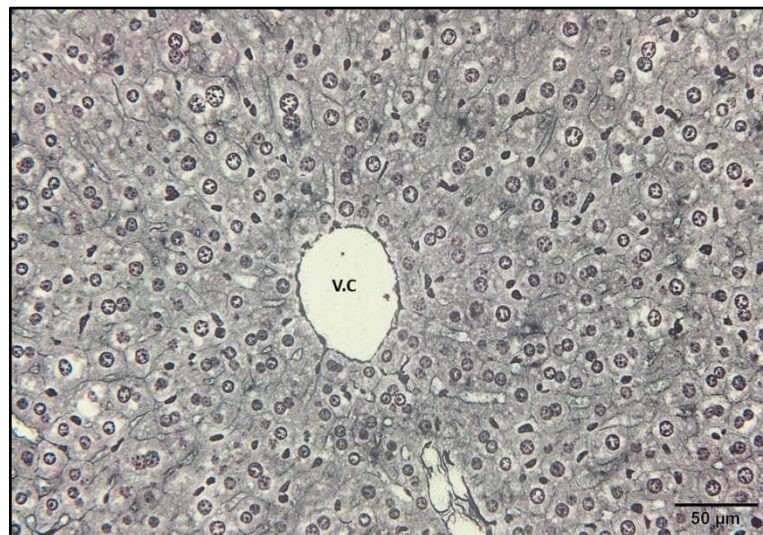
As veias hepáticas (veia porta hepática e veia centrolobular) foram identificadas com base na posição e estrutura (Figuras 17 e 18).

Figura 17 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado de camundongos não infectados destacando o espaço porta do animal, onde se destaca o critério utilizado para identificar a veia porta



Legenda: Espaço porta constituído pela **veia porta (V.P)**; **Artéria hepática (A.H)**; e **Ducto biliar (D.B)**. Cortes em espessura de 3µm corados com Reticulina de Gomori em 40x (ampliação de 400x). Barra=50µm.
Fonte: Arquivo Pessoal 2019.

Figura 18 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado de camundongos não infectados mostrando no centro a veia centrolobular do animal



Legenda: **Veia centrolobular (V.C)**. Cortes em espessura de 3µm corados com Reticulina de Gomori em 40x (ampliação de 400x). Barra=50µm.
Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

Após a identificação, realizamos as análises morfométricas (Figura 27) levando em consideração o perímetro, a área, a espessura da parede da veia, o comprimento da área

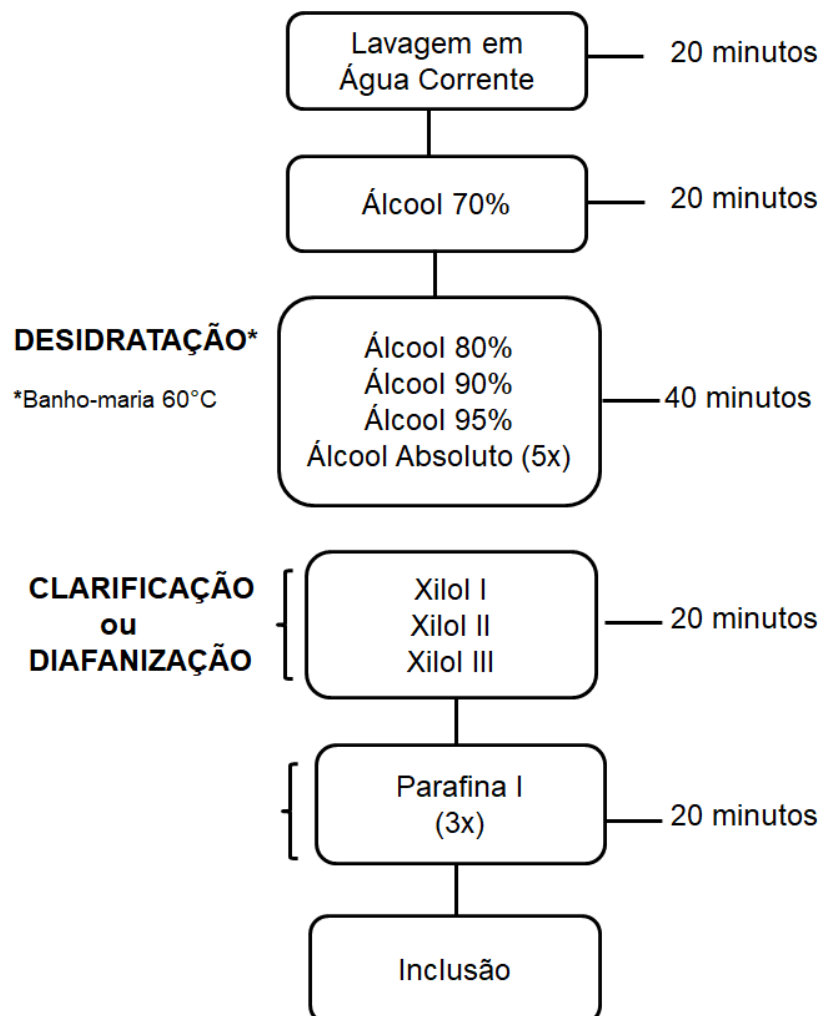
luminal e a largura da área luminal. Foram verificadas 10 áreas diferentes contendo as veias hepáticas (veia porta e centrolobular) por animal nos quatros grupos de estudo (CDP/IDP/CDH/IDH) (FIEL *et al.* 2014).

3.8. Análise histopatológica do tecido adiposo

3.8.1. Qualitativa

Após a coleta, o tecido adiposo visceral permaneceu no fixador por 24 horas até a realização do processamento histológico de inclusão em parafina (Figura 19). Em seguida, foram realizados cortes de 5 μ m de espessura em microtomo. Os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina para serem analisados.

Figura 19 – Etapas do processamento do tecido adiposo



As análises histopatológicas foram realizadas com auxílio de um microscópio (Olympus BX53) equipado com uma câmera (Olympus SN 4M04717, U-TV0.35XC-2, Tokyo, Japan) e as imagens foram capturadas através do software de análise de imagens Olympus cellSens Entry (versão 1.18).

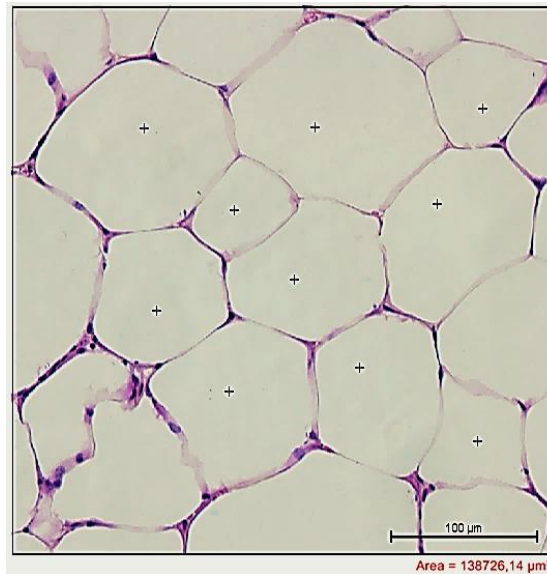
3.8.2. Avaliação morfolométrica do adipócito

As análises morfolométricas do tecido adiposo foram realizadas no programa de análise de imagens Nis-Elements (versão 3.22.00) com auxílio de um microscópio de campo claro (Nikon Eclipse 80i). No aumento de 20x (ampliação de 200x) no tamanho pré-estabelecido pela autora ($\cong 138726,14 \mu\text{m}^2$) foram medidas a área, o perímetro e o diâmetro de 10 adipócitos em 10 campos aleatórios por animal (ALEXANDRE-SANTOS *et al.*, 2018; PARLEE *et al.*, 2014).

3.8.3. Avaliação do número de adipócitos por campo

Foram selecionados 10 campos aleatórios (Figura 20) no tecido adiposo por animal para quantificar os adipócitos que se encontravam completamente inserido dentro da área ($\cong 138726,14 \mu\text{m}^2$) pré-estabelecida pela autora em aumento de 20x (ampliação de 200x) (ALEXANDRE-SANTOS *et al.*, 2018; PARLEE *et al.*, 2014).

Figura 20 – Microscopia de luz de corte histológico dos adipócitos de camundongos não infectados alimentados com dieta rica em lipídio



Legenda: (+) Adipócitos validados de acordo com o critério estabelecido pela autora. Corte do tecido adiposo corados com Hematoxilina e Eosina em 20x (ampliação de 200x). Barra=100µm.

3.9. Análise estatística

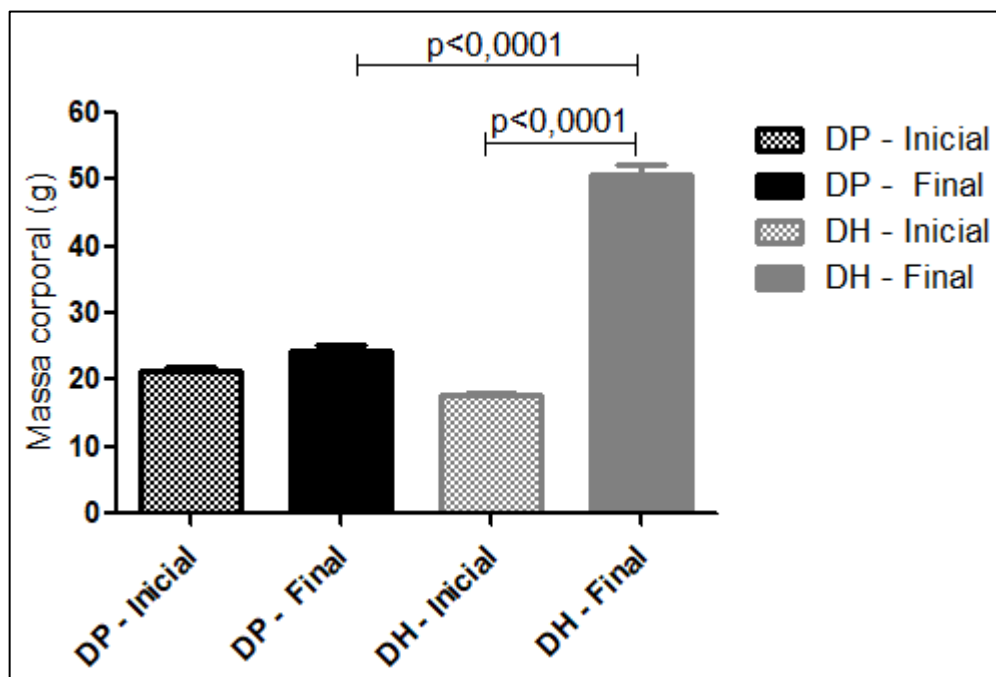
Utilizamos o software Graph Pad Prism 5 para realizar as análises comparativas. Aplicamos o teste Mann-Whitney (não-paramétrico) e as medidas com valores de $p \leq 0,05$ foram consideradas significativamente diferentes. Os dados foram apresentados em média e erro padrão.

4. RESULTADOS

4.1. Ganho de Massa

Observamos no Gráfico 1 que ao final de 5 meses com dieta hiperlipídica os animais não infectados apresentaram um aumento de 109% ($p < 0,0001$) da massa corporal em comparação aos animais não infectados, alimentados com dieta padrão (DP) e um aumento de 187% ($p < 0,0001$) em relação à massa apresentada no início do experimento após o desmame. Destacando, que a dieta hiperlipídica promoveu um ganho de peso significativamente superior nos animais em comparação aos alimentados com dieta padrão.

Gráfico 1 – Massa corporal (expressa em gramas) de camundongos Swiss Webster fêmeas após o desmame e após 5 meses de dieta padrão ou hiperlipídica

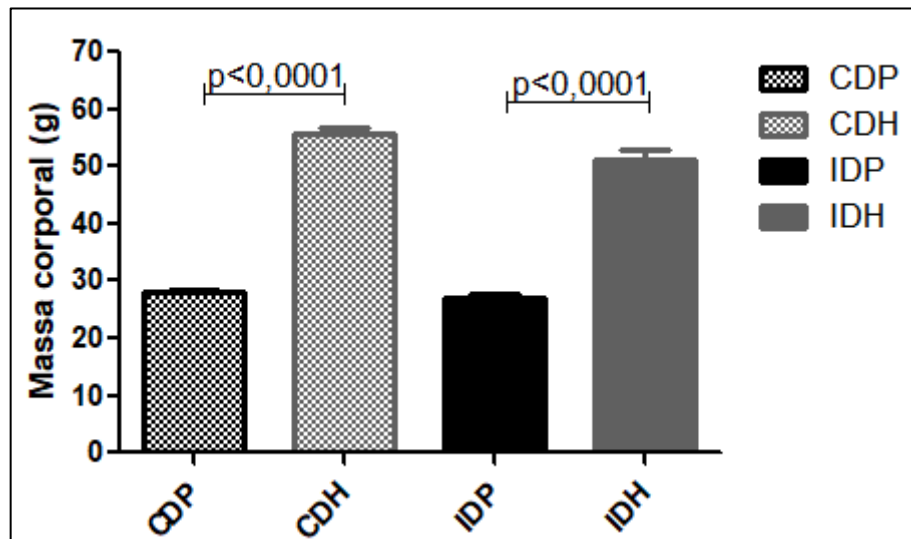


Legenda: **DP - Inicial:** massa corporal inicial dos animais alimentados com dieta padrão; **DP - Final:** massa corporal final dos animais alimentados com dieta padrão; **DH - Inicial:** massa corporal inicial dos animais alimentados com dieta hiperlipídica; **DH - Final:** massa corporal final dos animais alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – Mann-Whitney). Valores representados em média e erro padrão.

Os animais CDH apresentaram um aumento de 99% na massa corporal (Gráfico 2 e Figura 21) em relação ao grupo CDP ($p < 0,0001$). Já os animais infectados alimentados com

dieta rica em lipídios (IDH) exibiram uma diminuição de 8% na massa corporal em comparação aos camundongos pertencentes no grupo CDH, embora este não apresente diferença significativa. Observou-se um aumento significativo (+90%; $p < 0,0001$) na massa corporal dos animais IDH em relação aos animais IDP. Dessa forma, a infecção quando associada aos animais de dieta padrão não tem impacto na massa corporal, porém nos animais com dieta hiperlipídica, houve uma redução da massa corporal em 8% nos animais infectados, podendo ser atribuída esta perda de massa à infecção.

Gráfico 2 – Massa corporal (expressa em gramas) de camundongos Swiss Webster fêmeas submetidos à dieta padrão e hiperlipídica por sete meses e uma semana, infectados ou não



Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – Mann-Whitney). Valores representados em média \pm erro padrão da média.

Figura 21 – Fotografia comparando os animais alimentados com dieta padrão e dieta hiperlipídica

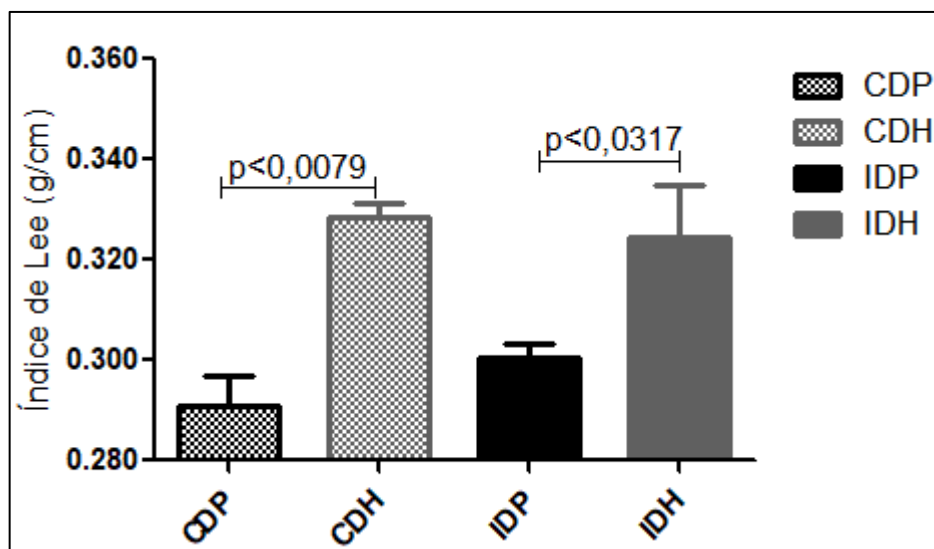


Legenda: Animais alimentados com dieta padrão (1) e Animais alimentados com dieta hiperlipídica (2).

4.2. Índice de Lee e Índice de Adiposidade

Observamos um aumento de 13% ($p < 0,0079$) no índice de Lee no grupo CDH em relação aos animais CDP. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) neste índice ao comparar o CDH com IDH. Animais alimentados com dieta hiperlipídica e infectados apresentaram um aumento de 8% ($p < 0,0317$) no índice de Lee em relação ao grupo alimentado com dieta padrão e infectado. Estes dados mostram que a dieta hiperlipídica influenciou no excesso de gordura corporal, indicado pelo índice de Lee (Gráfico 3).

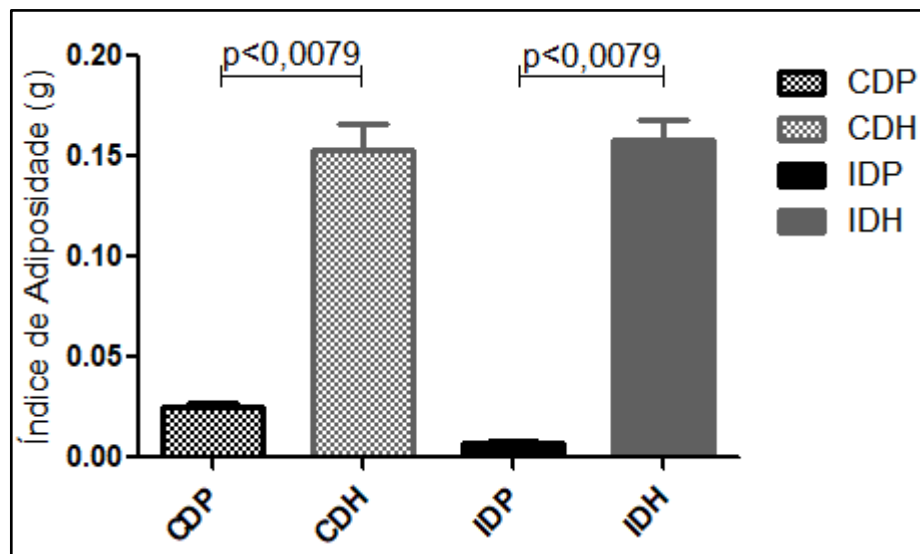
Gráfico 3 – Índice de Lee* (g/cm) dos camundongos Swiss Webster fêmeas com ou sem infecção esquistossomótica e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica



Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – Mann-Whitney). *Índice de Lee: raiz cúbica do peso corporal (g) / comprimento naso-anal. Valor acima de 0,300 g/cm é indicativo de obesidade. Valores representados em média e erro padrão

O gráfico 4 mostra que a dieta hiperlipídica causou um aumento significativo ($p < 0,0079$) nos índices de adiposidade dos animais CDH e IDH em comparação aos grupos alimentados com dieta padrão (CDP com CDH: +519% / IDP com IDH: +2221%), mas não houve influência da infecção.

Gráfico 4 – Índice de Adiposidade (g) de camundongos Swiss Webster fêmeas alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica submetidos ou não à infecção esquistossomótica



Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em média e erro padrão. *Índice de Adiposidade: gordura visceral total (g) / peso corporal final (g).

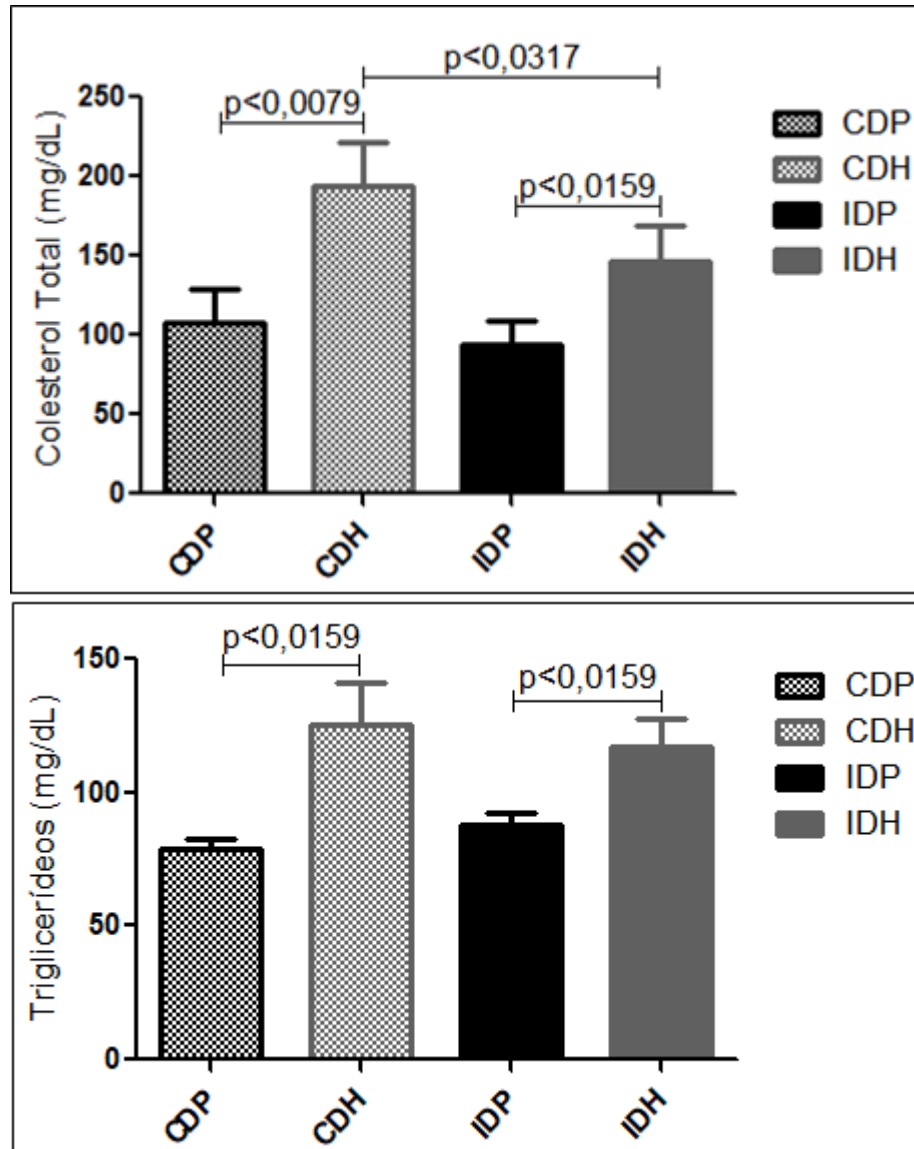
4.3. Análises bioquímicas

4.3.1. Dosagens

Os níveis plasmáticos de colesterol total, triglicerídeos, HDL, VLDL, LDL e colesterol não-HDL estão descritos nos Gráficos 5 e 6.

Os animais controles alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram alterações nas dosagens de colesterol total (+80%, $p < 0,0079$) e de triglicerídeos (+59%; $p < 0,0159$) ao serem comparados com os animais controles alimentados com dieta padrão. Como o esperado, foi observado que o IDH apresentou níveis reduzidos (-25%, $p < 0,0317$) de colesterol total em relação ao grupo CDH, porém a infecção quando associada a dieta hiperlipídica proporcionou um aumento de 56% ($p < 0,0159$) nas dosagens de colesterol total e de 34% ($p < 0,0159$) nas dosagens de triglicerídeos em relação aos animais infectados e alimentados com dieta padrão (Gráfico 5).

Gráfico 5 – Concentração de colesterol total (mg/dL) e triglicerídeos (mg/dL) plasmático de camundongos fêmeas Swiss Webster esquistossomóticos ou não e alimentados com dietas padrão ou hiperlipídica



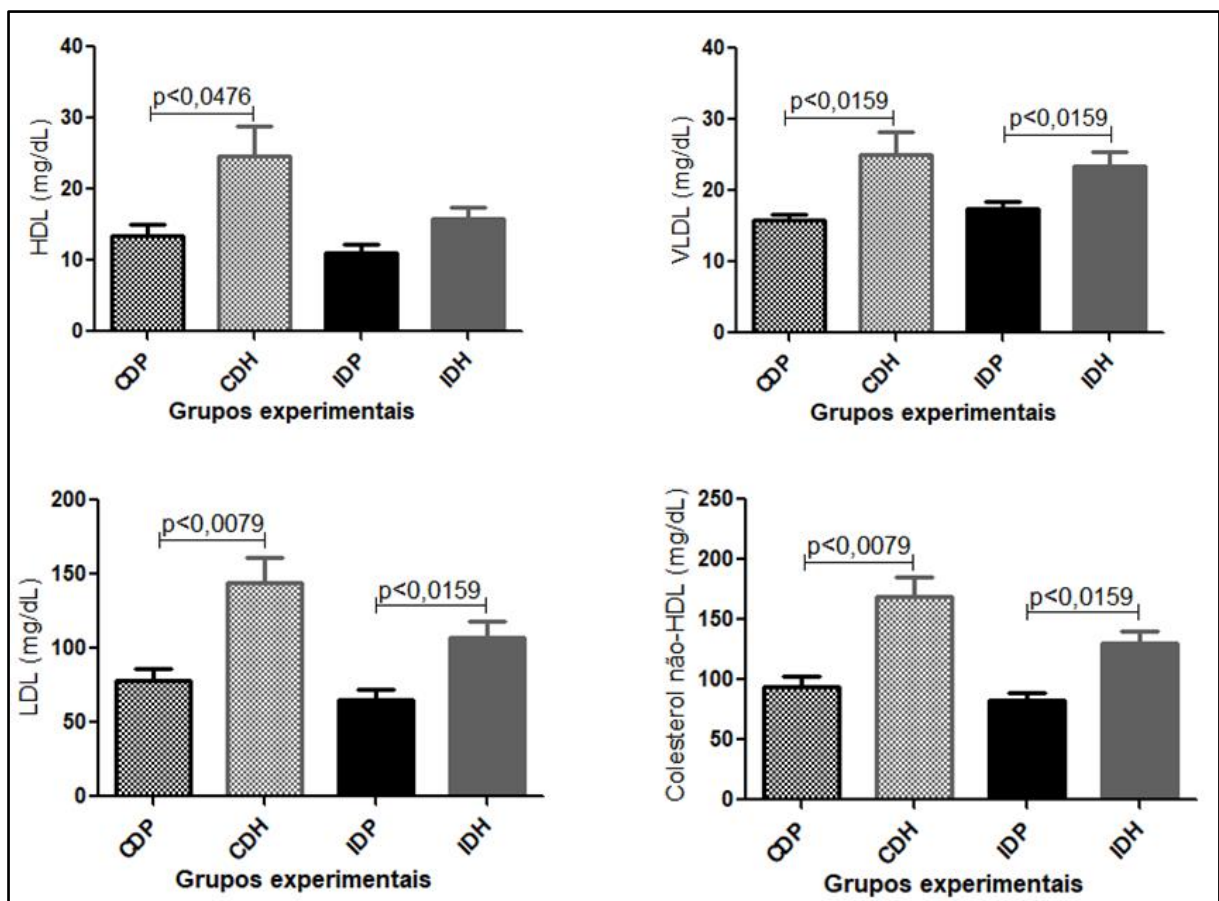
Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **mg/dL**: Miligramas por decilitro. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em média e erro padrão.

Animais controles alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram um aumento nas dosagens de HDL (+84%, $p < 0,0476$), VLDL (+59%, $p < 0,0159$), LDL (+84%, $p < 0,0079$) e de colesterol não-HDL (+80%, $p < 0,0079$) ao serem comparados com os animais controles e alimentados com dieta padrão. A infecção esquistossomótica associada a dieta hiperlipídica promoveu uma redução não significativa nas frações de HDL (-36%), VLDL (-6%), LDL (-

26%) e de colesterol não-HDL (-23%) ao serem comparados aos animais controles submetidos a mesma dieta.

Além disso, animais infectados e alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram um aumento nas frações de VLDL (+34%; $p < 0,0159$), LDL (+63%; $p < 0,0159$), colesterol não-HDL e de HDL (+44%), embora este último não tenha diferença estatísticas em relação ao grupo IDP. Baseado nestes dados, observamos que a dieta hiperlipídica induziu a dislipidemia nos animais, visto que houve um aumento das frações lipídicas. Entretanto, a infecção esquistossomótica se mostrou determinante na redução dos níveis lipídicos plasmáticos (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Perfil lipídico (mg/dL) de camundongos fêmeas Swiss Webster esquistossomóticos ou não e alimentados com dietas padrão ou hiperlipídica

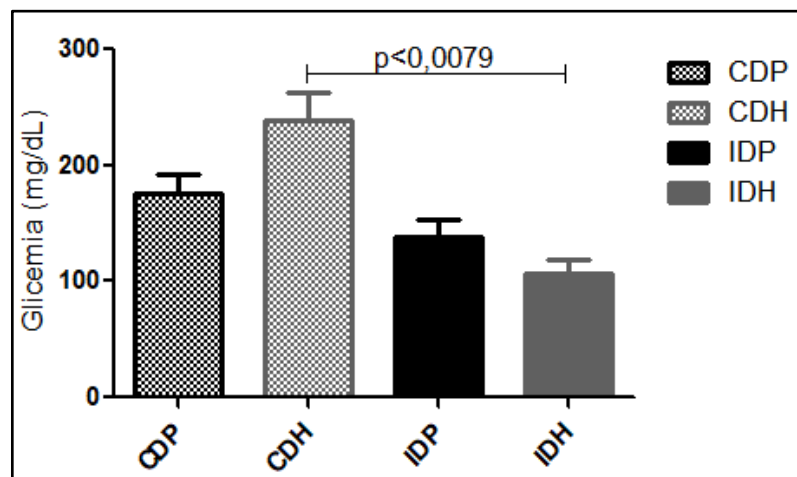


Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **HDL**: *High Density Lipoprotein*; **VLDL**: *Very Low Density Lipoprotein*; **LDL**: *Low Density Lipoprotein*; **mg/dL**: Miligramas por decilitro. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em média e erro padrão

4.3.2. Glicemia

Na avaliação deste parâmetro, identificamos alteração significativa apenas entre os animais alimentados com dieta hiperlipídica e infectado (IDH) em comparação ao grupo não infectado (CDH). A infecção influenciou e estes animais apresentaram uma redução de 55% ($p < 0,0079$) na glicemia quando comparado com o grupo não infectado (Gráfico 7).

Gráfico 7 – Glicemia de jejum (em mg/dL) de camundongos alimentados com dieta padrão e hiperlipídica submetidos ou não à infecção esquistossomótica



Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em média e erro padrão.

4.4. **Análise hematológica**

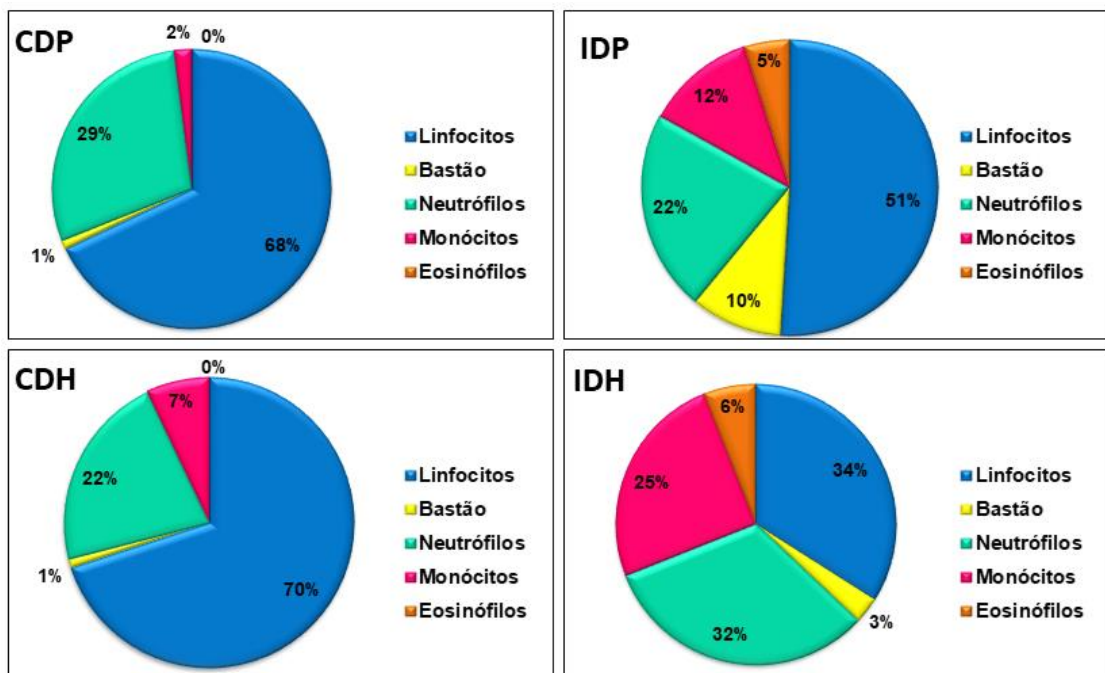
4.4.1. Leucograma

Os eosinófilos são células que marcam o hemograma de infecções provocadas por helmintos, na esquistossomose isso não é diferente. O grupo IDP apresentou 5% e o grupo IDH 6% dessas células. Os animais do grupo IDH apresentaram uma diminuição significativa no número de linfócitos (-33%, $p < 0,05$) e de bastões (-73%, $p < 0,05$) e simultaneamente um aumento no número de monócitos (+114, $p < 0,0079$) e neutrófilos (+55%), embora este último não seja considerado significativo ($p > 0,05$) ao serem comparados com o grupo IDP.

A infecção esquistossomótica proporcionou uma diminuição no número de linfócitos (-51%, $p < 0,0079$) e um aumento na contagem de monócitos (+271%, $p < 0,0079$), bastões (+180%), neutrófilos (+44%), e de eosinófilos ao comparar com os animais controles e submetidos a mesma dieta hiperlipídica (CDH com IDH) (Gráfico 8).

Assim, de acordo com os dados apresentados a dieta hiperlipídica não influenciou nas concentrações destas células no leucograma. Entretanto, no que se refere as células de linfócitos e bastões circulantes, a dieta pode impactar na resposta imune e influenciar na depleção dessas células importantes no mecanismo de regulação.

Gráfico 8 – Leucograma de camundongos esquistossomóticos ou não alimentados com dieta padrão e hiperlipídica



Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica.

4.5. Perfil imunológico dos macrófagos peritoneais

4.5.1. Citocinas dos macrófagos

Para fazer uma avaliação do perfil inflamatório da infecção esquistossomótica em associação com a dieta hiperlipídica, dosamos nos macrófagos peritoneais as citocinas IL-6, IL-12 e TNF (Fator de Necrose Tumoral) com ações pró-inflamatórias (Gráfico 9); a citocina

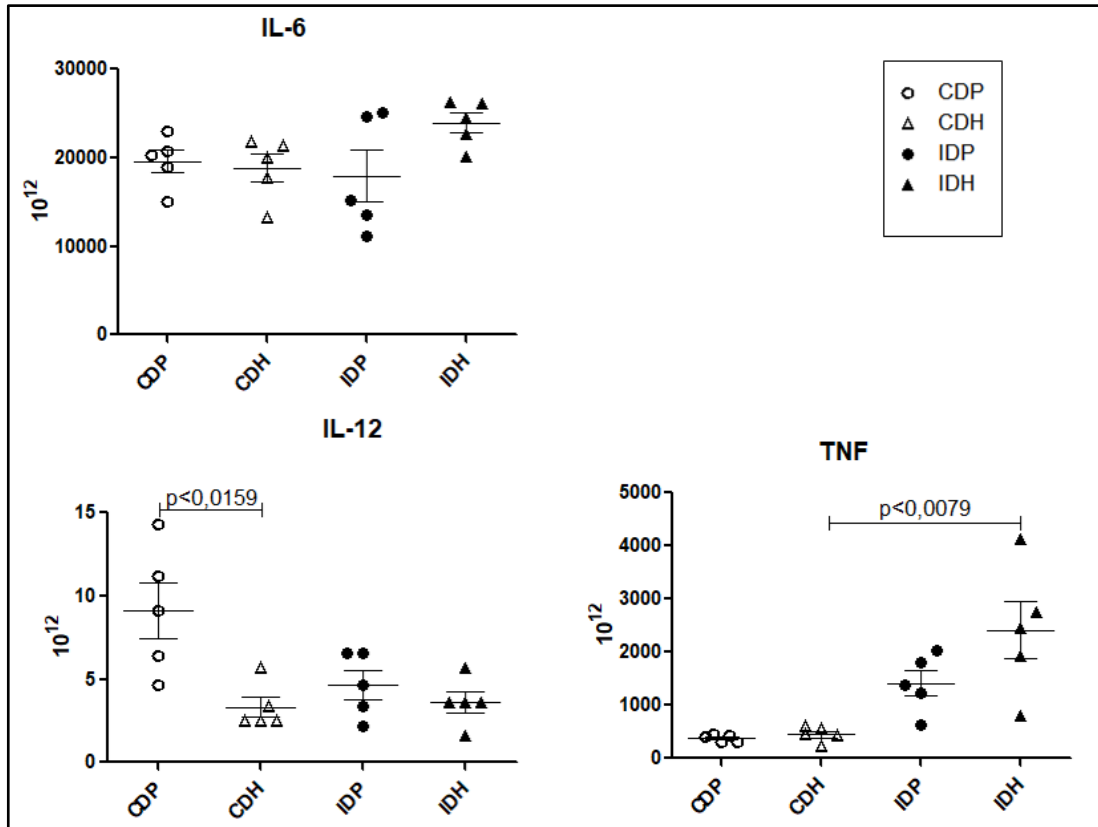
IL-10 com padrão anti-inflamatório (Gráfico 10) e a quimiocina MCP-1 (Proteína Quimiotática de Monócitos), que também está associada a um perfil inflamatório, presentes no lavado peritoneal de camundongos Swiss Webster fêmeas (Gráfico 11).

Os animais controles alimentados com dieta hiperlipídica (CDH) apresentaram uma diminuição nas concentrações da citocina IL-12 (-64%, $p < 0,0159$), entretanto não identificamos diferenças significativas ($p > 0,05$) na produção das citocinas IL-6, TNF, IL-10 e MCP-1 ao serem comparados ao grupo CDP. Mostrando que a dieta parece não ter tido um impacto direto na alteração dos perfis anti ou pró-inflamatórios das citocinas dosadas dos macrófagos peritoneais.

Quando analisamos a relação com a infecção esquistossomótica nos animais submetidos a dieta hiperlipídica (IDH), identificamos que houve um aumento nas concentrações das citocinas TNF (+436%, $p < 0,0079$), IL-6 (+27%), IL-12 (+9%), IL-10 (+56%) e simultaneamente uma diminuição da e da MCP-1 (-32%; $p < 0,0278$) em relação aos animais não infectados e submetidos a mesma dieta.

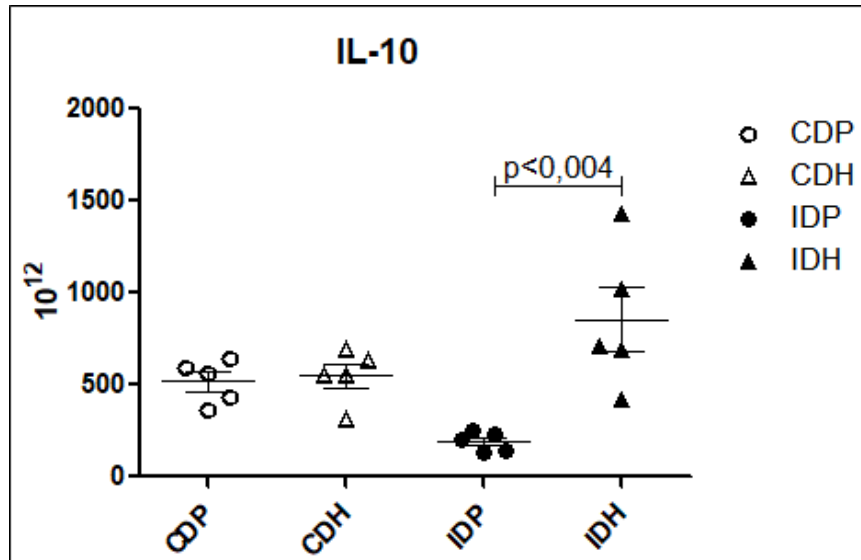
Os animais infectados alimentados com dieta hiperlipídica (IDH) apresentaram um aumento nas concentrações de IL-6 (+34%), TNF (+98%), IL-10 (+346%; $p < 0,0040$) e de MCP-1 (+681%; $p < 0,0040$) e uma diminuição nas concentrações de IL-12 (-22%), porém nem todas as dosagens apresentaram diferenças estatísticas em relação ao grupo IDP. As variações mencionadas não foram diretamente atrelada a infecção e nem somente à dieta hiperlipídica, foi um parâmetro que teve impacto quando houve a associação das duas condições experimentais avaliadas neste trabalho.

Gráfico 9 – Citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-12 e TNF produzidas por macrófagos peritoneais de camundongos esquistossomóticos ou não e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica



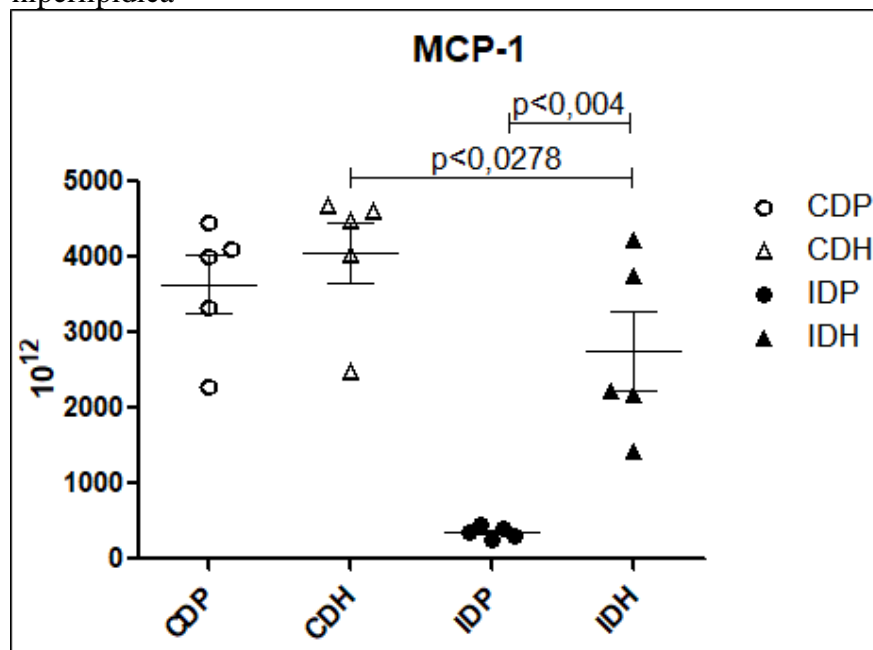
Legenda: A – **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IL-10**: Interleucina 10; **IL-12**: Interleucina 12. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – Mann-Whitney). Valores representados em média \pm erro padrão. Unidade de medida: 10^{12} (pg/mL).

Gráfico 10 – Citocinas anti-inflamatórias IL-10 produzidas por macrófagos peritoneais de camundongos esquistossomóticos ou não e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica



Legenda: A – **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IL**: Interleucina 6; **TNF**: Fator de Necrose Tumoral. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – Mann-Whitney). Valores representados em média \pm erro padrão. Unidade de medida: 10^{12} (pg/mL).

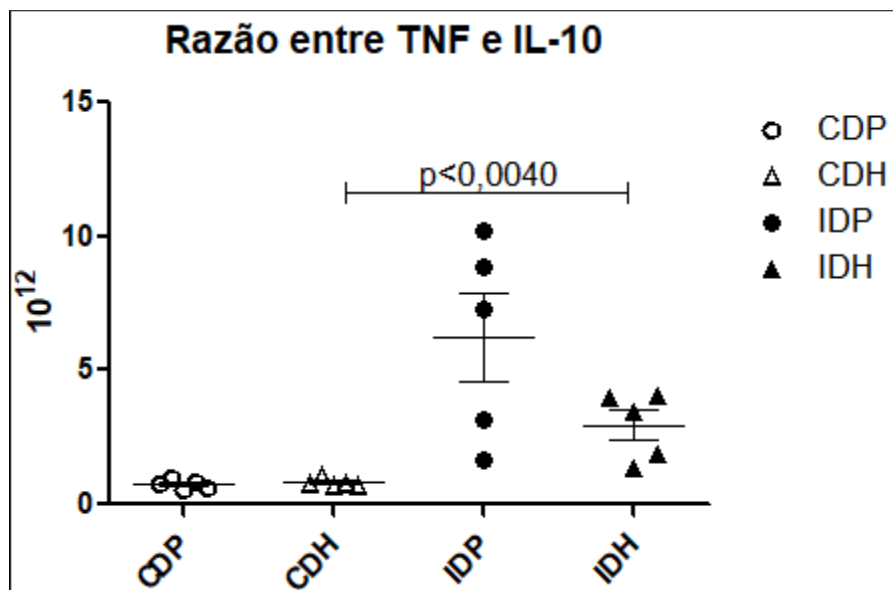
Gráfico 11 – Dosagem da Quimiocina MCP-1 produzidas por macrófagos peritoneais de camundongos esquistossomóticos ou não e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica



Legenda: A – **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **MCP-1**: Proteína Quimiotática de Monócitos. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em média \pm erro padrão. Unidade de medida: 10^{12} (pg/mL).

Para analisar o perfil inflamatório dos macrófagos presentes no lavado peritoneal dos animais, realizamos a razão entre a citocina pró-inflamatória de TNF pela anti-inflamatória de IL-10. A infecção esquistossomótica promoveu um perfil inflamatório expressos pelo aumento da liberação de TNF pelos macrófagos peritoneais nos animais alimentados com dieta hiperlipídica e infectados (+260%; $p<0,0040$) ao serem comparados com os animais controles submetidos a mesma dieta. Portanto, esses dados mostraram que a infecção esquistossomótica influenciou na resposta inflamatória e a incorporação da dieta hiperlipídica interferiu na expressão das citocinas produzidas pelos macrófagos no peritoneo dos animais (Gráfico 12).

Gráfico 12 – Razão entre as citocinas pró-inflamatória e anti-inflamatória (TNF e IL-10, respectivamente) produzidas por macrófagos peritoneais de camundongos esquistossomóticos ou não e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica

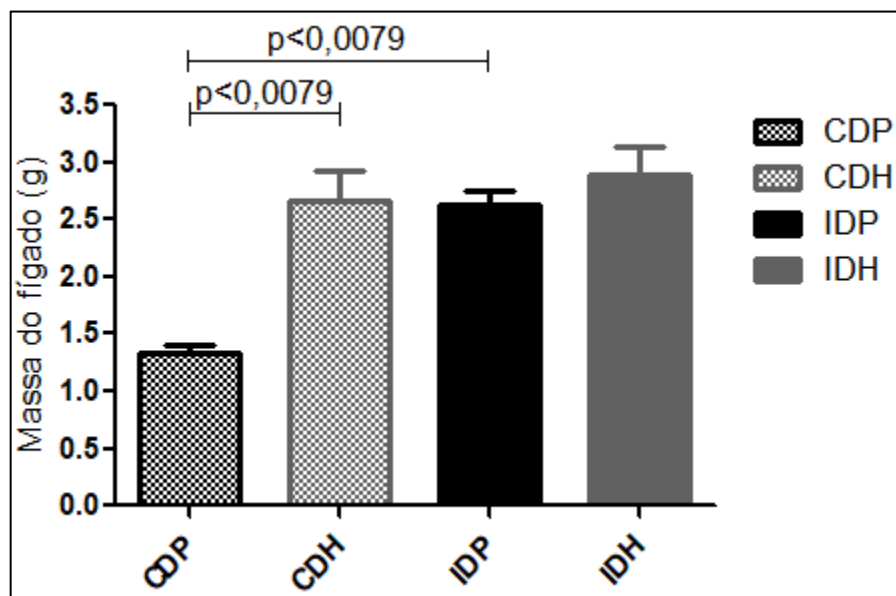


Legenda: A – **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **TNF**: Fator de Necrose Tumoral; **IL-10**: Interleucina 10. Diferença significativa (PRISM: $p\leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em média±erro padrão. Unidade de medida: 10^{12} (pg/mL).

4.6. Análises do tecido hepático

Conforme mostrado no Gráfico 13, a massa do fígado dos animais infectados alimentados com dieta padrão (IDP) aumentou 97% ($p < 0,0079$) quando comparado aos animais não infectados alimentados com a mesma dieta (CDP), demonstrando como o esperado o impacto da infecção sob a massa do fígado. Já nos animais não infectados submetidos à dieta hiperlipídica (CDH), houve um aumento de 101% na massa do fígado (em gramas) quando comparado ao grupo CDP. Ao comparar os animais infectados e submetidos a dieta hiperlipídica, não foi observado uma variação significativa. Baseado nesses dados, existe um equilíbrio metabólico que controla a sobreposição da hepatomegalia observada nas duas condições isoladas (infecção e dislipidemia).

Gráfico 13 – Massa (g) do fígado de camundongos Swiss Webster fêmeas infectados ou não por *Schistosoma mansoni* e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica



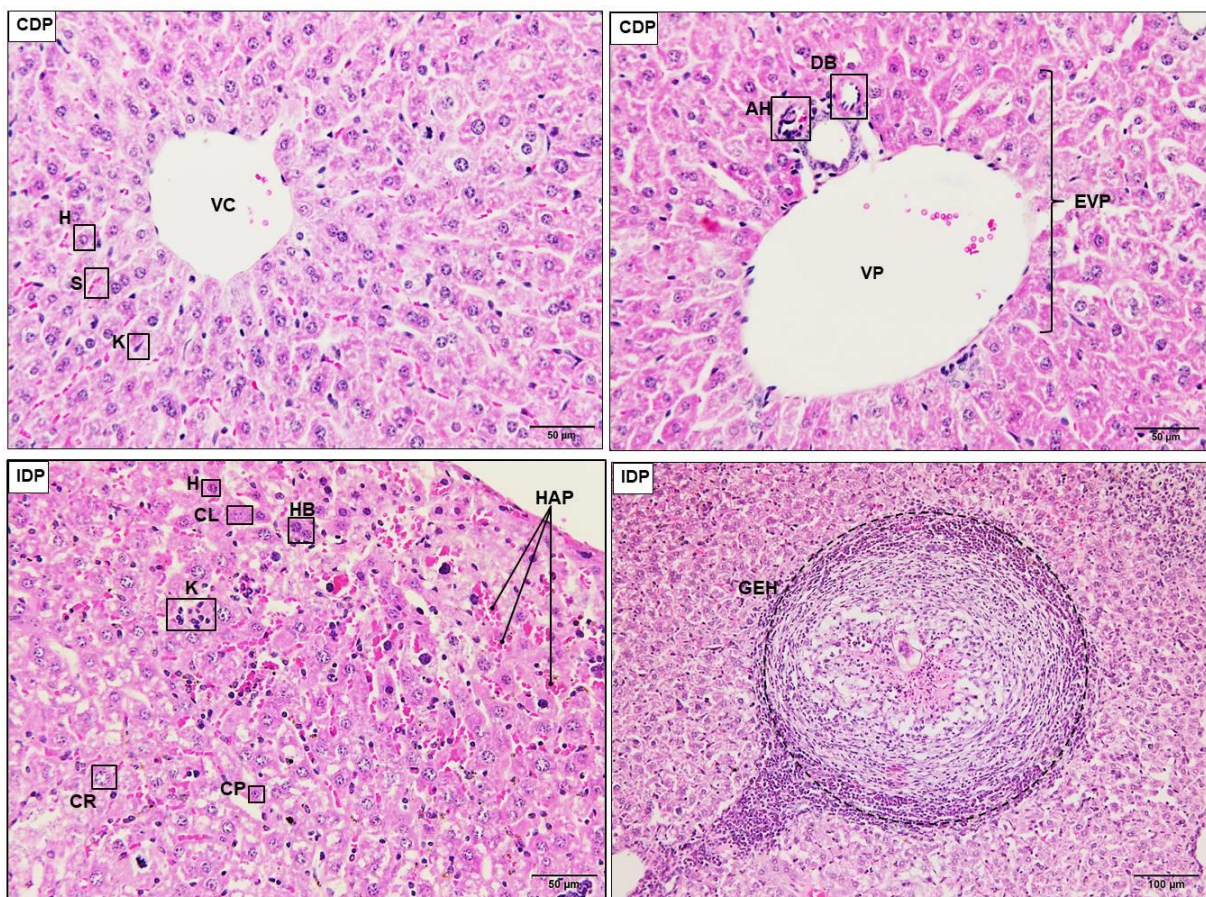
Legenda: A – **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em média \pm erro padrão.

4.6.1. Histopatologia

Ao analisar a histopatologia do fígado de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão (IDP) observamos células hepáticas parenquimáticas

binucleadas e alguns *debris* celulares próximos à zona central do granuloma esquistossomótico hepático. O grupo da infecção esquistossomótica apresentou intensas confluências de granulomas, como esperado, caracterizado com alteração da arquitetura do parênquima hepático, presença de hiperemia ativa patológica em consequência do aumento na frequência das células de Kupffer nos sinusoides e a distribuição de infiltrados leucocitários dispersos por todo tecido (Figura 22).

Figura 22 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado de camundongos controles e infectados por *S. mansoni* submetidos à dieta padrão ou dieta hiperlipídica



Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; Parênquima hepático constituído de: **veia centrolobular (VC)**; cordões interligados de **hepatócitos (H)**; áreas claras entre as os cordões de células classificam os **sinusóides (S)**; macrófagos hepáticos denominados como **células de Kupffer (K)**; **ducto biliar (DB)**; **artéria hepática (AH)**; **veia porta (VP)**; e **espaço da veia porta (EVP)**; Marcadores de necrose: **Hepatócito com aspecto normal (H)**, **Cariólise (CL)**, **Cariorrexe (CR)**, **Cariopicnose (CP)**; **Hepatócitos Binucleados (HB)**; **Aglomerados de células de Kupffer (K)**; **Hiperemia ativa patológica (HAP)**; **Granuloma esquistossomótico hepático (GEH)**. Cortes com espessura de 3 µm corados com Hematoxilina & Eosina em 40x e 20x (ampliação de 400x e 200x). Barra=50µm e 100µm.

Os animais não infectados e alimentados com dieta hiperlipídica (CDH) apresentaram a zona 1 (região periportal) uma organização das gotículas de triglicerídeos armazenados em

macrovesículas. A zona 2 exibiu justamente uma combinação mista de micro e macro esteatose. Também observamos que na zona 3 (região próxima a veia centrolobular), os lipídios estavam armazenados principalmente em microvesículas (Figura 23). Além disso, a arquitetura tecidual apresentou essas modificações devido ao excesso de lipídio armazenado, sendo estes representados pela presença de hepatócitos binucleados, hiperemia passiva e esteatose (vesículas contendo triglicerídeos) que podem ser macrovesicular e/ou microvesicular (Figura 24).

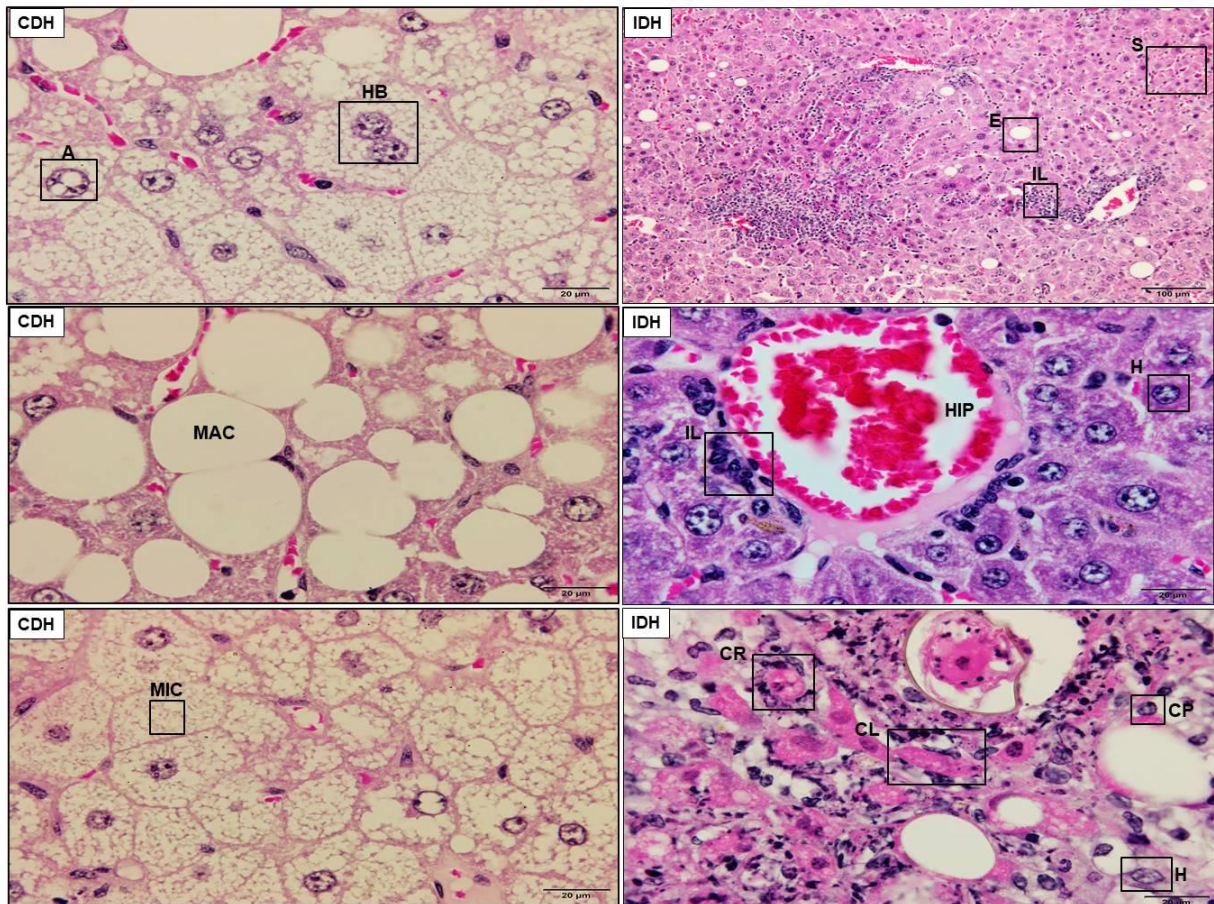
Os animais esquistossomóticos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram diminuição na esteatose. As análises histopatológicas mostrou a presença de hiperemia ativa patológica, devido ao aumento do fluxo sanguíneo para promover a migração celular em virtude a agressão ocasionada pela infecção no tecido hepático. Grande parte dos granulomas esquistossomóticos encontrados exibiu os marcadores de necrose (cariorrexe, cariólise e a cariopinose) bem distribuídos ao centro (Figura 24).

Figura 23 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado evidenciando as zonas de oxigenação de camundongos não por *S. mansoni* e alimentados com dieta hiperlipídica (Grupo CDH)



Legenda: **Veia centrolobular (VC)**; **Veia Porta (VP)**; **Zona 1** (periportal), **Zona 2** (intermediária) e **Zona 3** (centrolobular) – representações das áreas de oxigenação. Cortes com espessura de 3 µm corados com Hematoxilina & Eosina em 20x (ampliação de 200x). Barra=100µm.

Figura 24 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado de camundongos controles e infectados por *S. mansoni* submetidos à dieta hiperlipídica



Legenda: **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; Hepatócitos em **apoptose** (A); tentativa de regeneração hepática – **hepatócitos binucleados** (HB); **macroesteatose** hepática (MAC); **microesteatose** hepática (MIC); **Sinusóides** repletos de sangue (S); **Esteatose** (E); **Infiltrado leucocitário** (IL); **Hepatócito** com núcleo normal (E); **Hiperemia** (HIP); Marcadores de necrose: **Cariorrexe** (CR); **Cariopcnose** (CP); **Cariólise** (CL). Hematoxilina & Eosina em 20x e 100x (ampliação de 200x e 1000x, respectivamente). Barras=100μm e 20μm.

4.6.2. Estereologia pelo método de D36

A análise estereológica D36 permite obter resultados quantitativos das alterações morfológicas de células e de tecidos que visam auxiliar na descrição da estrutura de estudo através de um arranjo tridimensional com base em análises bidimensionais (MANDARIM-DE-LACERDA, 2003). Baseado nisso, observamos que os animais não infectados submetidos à dieta hiperlipídica (CDH) apresentaram uma diminuição na densidade de volume dos hepatócitos ($Vv[h]$: -27%, $p < 0,001$) e simultaneamente um aumento na densidade de volume dos sinusóides ($Vv[s]$: +19%) e nas células de kupffer ($Vv[k]$: +43%) em relação ao grupo

CDP. Dessa forma, a dieta hiperlipídica promoveu alterações no quantitativo das células que compõe a arquitetura tecidual do fígado e também contribuiu para o aumento do fluxo sanguíneo e da migração celular das células de Kupffer.

A infecção esquistossomótica promoveu um aumento na densidade de volume dos infiltrados leucocitários (Vv[il]: +573%, $p < 0,0004$) ao comparar com os animais controles submetidos a mesma dieta hiperlipídica. Somente os animais alimentados com a dieta hiperlipídica apresentaram esteatose no tecido hepático. Como o esperado, os animais infectados apresentaram uma diminuição na densidade de volume da esteatose (Vv[e]: -61%, $p < 0,0177$) e dos sinusóides (Vv[s]: -42%, $p < 0,001$) quando comparado aos animais controles (CDH com IDH) e infectados (IDP com IDH), respectivamente.

Infecção provocada por *S. mansoni* promoveu um aumento no quantitativo de infiltrados leucocitários (CDH com IDH: +573% e IDP com IDH: +56%, $p < 0,0223$) e uma diminuição na densidade de volume das células de kupffer (IDP com IDH: Vv[k]: -56%, $p < 0,01$) dispersos no tecido hepático nos animais alimentados com dieta hiperlipídica (Tabela 6).

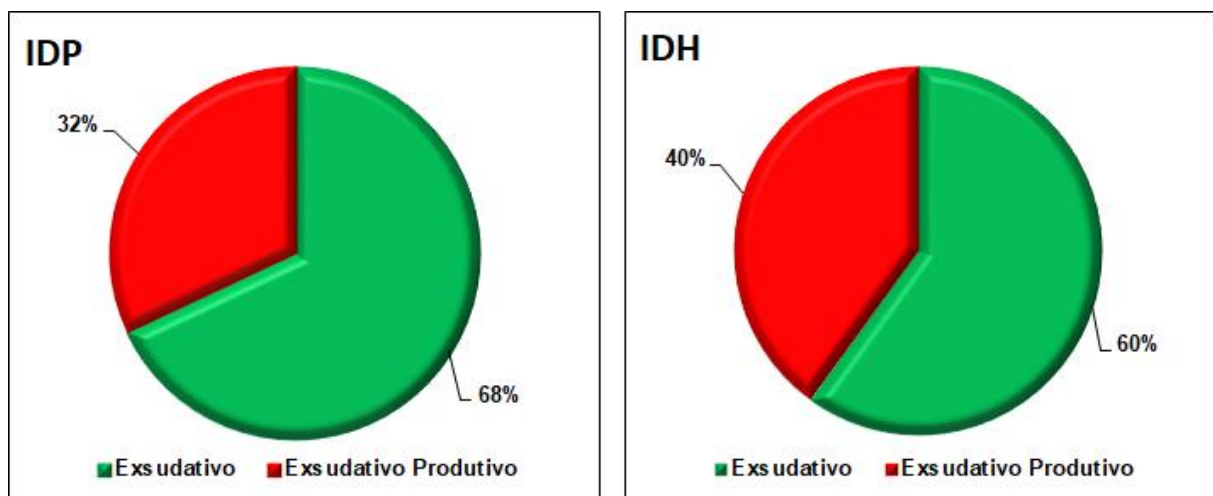
Tabela 6 – Análise estereológica pelo sistema teste D36 do fígado de camundongos Swiss Webster fêmeas submetidos ou não a infecção esquistossomótica e nutridos com a dieta padrão e dieta hiperlipídica

GRUPOS DE ESTUDO					
Parâmetros	CDP (n=5)	CDH (n=5)	IDP (n=5)	IDH (n=5)	p
Hepatócitos	84,6±1,6	51,8±3,8 ^a	61,4±2,3	54,8±1,7	0,0001
Sinusóides	9,4±0,9	11,2±1,4	17,6±1,5	10,2±0,5 ^c	0,0004
Células de Kupffer	6±1,1	8,6±1,4	11,4±0,7	5±0,3 ^c	0,0012
Infiltrado Leucocitário	-	3±1	9,4±2,6	20±2,8 ^{bc}	0,0223
Esteatose	-	25±4,9	-	10±1,8 ^b	0,0177

Legenda: **CDP:** Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP:** Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH:** Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH:** Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; (-) Parâmetro não observado. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney): CDP com CDH [a]; CDH com IDH [b]; IDP com IDH [c]. Valores representados em média±erro padrão.

Observamos apenas os estágios exsudativos e exsudativo-produtivo nos granulomas hepáticos. O grupo IDP e o IDH apresentaram respectivamente 68% e 60% de granulomas no estágio exsudativo e 32% e 40% no estágio exsudativo produtivo, porém sem diferenças significativas ($p=0,4751$) (Gráfico 14).

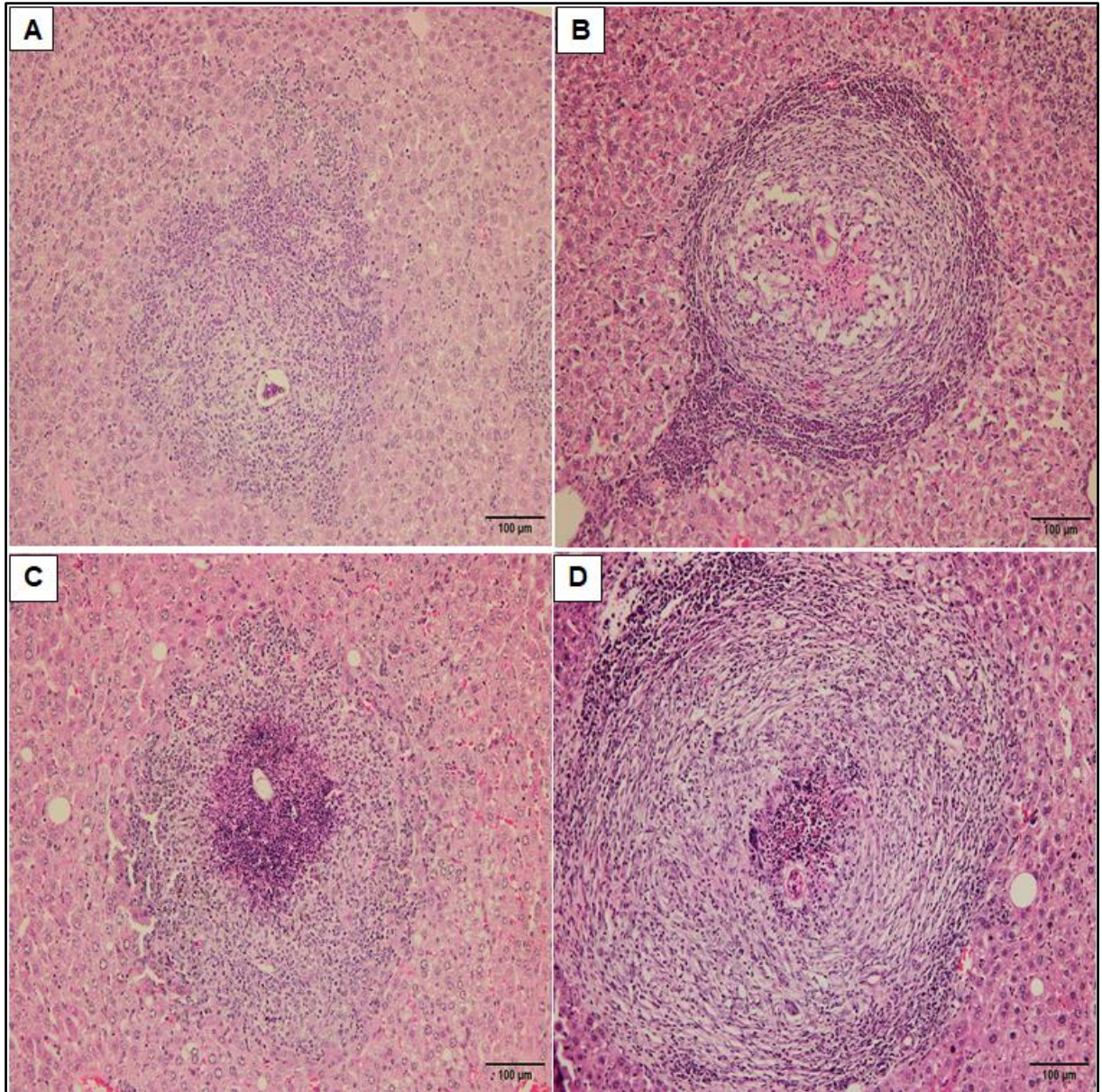
Gráfico 14 – Distribuição do percentual dos estágios de granulomas hepáticos encontrados e analisados de camundongos Swiss Webster fêmeas esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica



Legenda: **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica.

Realizamos as análises morfométricas dos granulomas hepático (área e perímetro), e observamos o aumento de 8% no estágio exsudativo e de 211% ($p=0,0079$) no estágio exsudativo-produtivo da área do granuloma nos animais infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Também no grupo submetido a dieta hiperlipídica, observamos que o perímetro apresentou uma diminuição de 8% no estágio exsudativo e um aumento de 60% no estágio exsudativo-produtivo, porém sem diferenças estatísticas (Figura 25).

Figura 25 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado evidenciando o granuloma hepático de camundongos infectados com *Schistosoma mansoni* e alimentados com dieta padrão ou dieta hiperlipídica



Legenda: (A) **Granuloma Exsudativo** de camundongos infectados alimentados com dieta padrão; (B) **Granuloma Exsudativo-Produtivo** de camundongos infectados alimentados com dieta padrão; (C) **Granuloma Exsudativo** de camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; (D) **Granuloma Exsudativo-Produtivo** de camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica (4). Cortes com espessura de 3 µm corados com Hematoxilina & Eosina em 20x (ampliação de 200x). Barra=100µm.

A coloração de Giemsa permitiu a qualificação celular presente no granuloma exsudativo e exsudativo-produtivo (Tabela 7). O grupo IDP apresentou no estágio exsudativo uma abundância celular de macrófagos; eosinófilos, neutrófilos, linfócitos, e raras células epitelióides, gigantócitos e fibroblatos. O grupo IDH apresentou a constituição celular semelhante ao identificado no grupo IDP. Ao analisar as células no estágio de granuloma exsudativo-produtivo mostramos que os grupos submetidos as duas dietas apresentam distribuídos na arquitetura do granuloma uma abundância de macrófagos, células epitelióides, presença de gigantócitos, muitos linfócitos, fibroblatos; poucos eosinófilos e neutrófilos. Não houve grande variação em relação às diferentes dietas ao avaliar este estágio do granuloma.

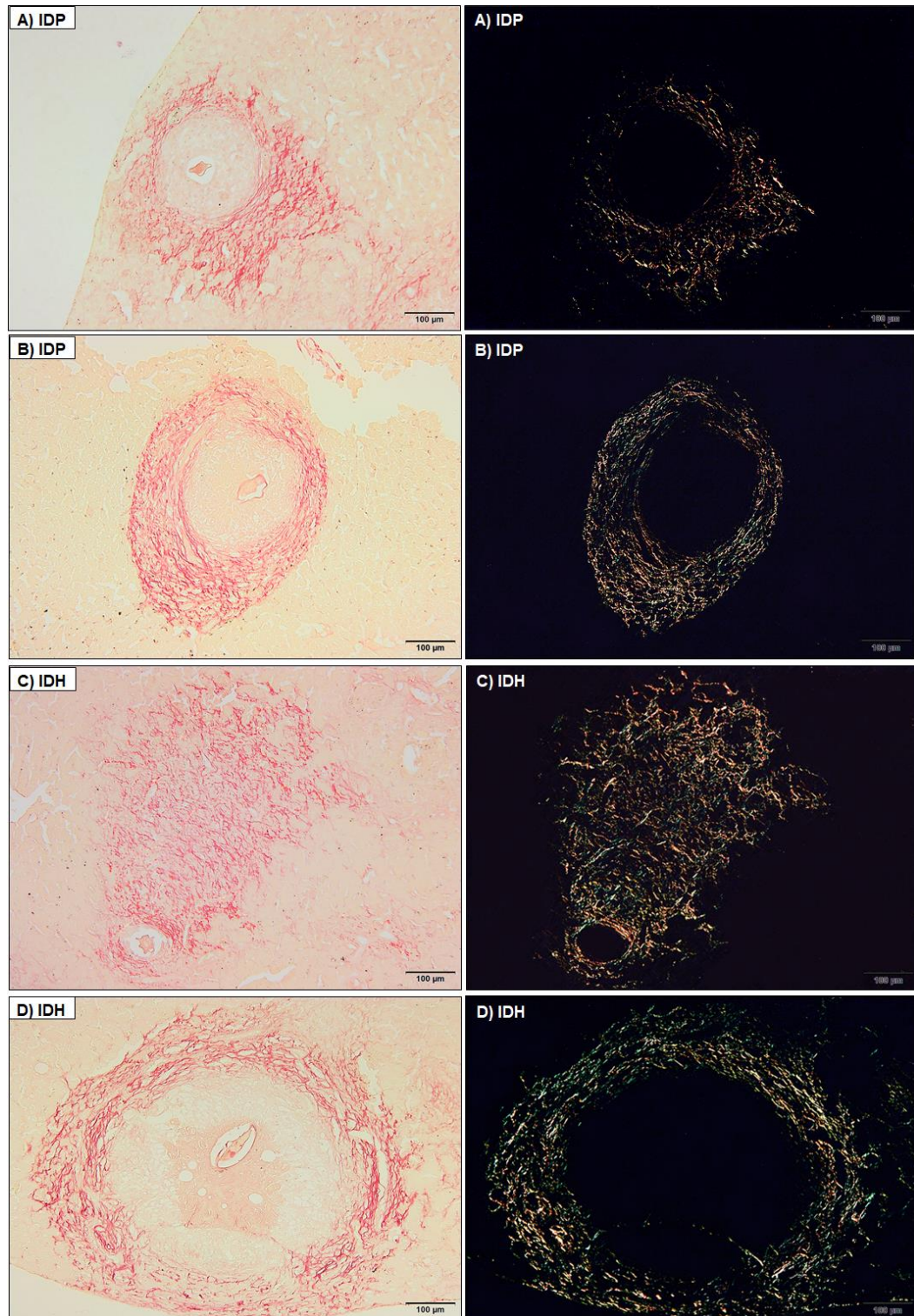
A quantificação de colágeno presente na matriz conjuntiva do granuloma esquistosomótico foi realizada utilizando a coloração de Picrosirius (Figura 26). Baseado nestes resultados, foi possível observar que os animais esquistosomóticos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram uma redução de 30% do colágeno, em comparação com os animais com dieta padrão, porém sem diferenças significativas ($p < 0,2222$) (Tabela 6).

Tabela 7 – Análise morfométrica, quantificação celular e concentração do colágeno dos granulomas hepáticos de camundongos Swiss Webster fêmeas esquistossomóticos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica

GRUPOS DE ESTUDO				
Estágio do Granuloma	Variável	IDP (n=5)	IDH (n=5)	p
	Área	143320±18580	154354±53481	0,8413
	Perímetro	1503±117	1383±296	0,9999
Exsudativo (E)	Composição celular			
	Macrófagos	++++	+++	NA
	Células epitelióides	+	+	NA
	Gigantócitos	+	+	NA
	Eosinófilos	+++	+++	NA
	Neutrófilos	+++	+++	NA
	Linfócitos	+++	+++	NA
	Fibroblastos	+	+	NA
	Área	145599±8610	452411±107804*	0,0079
	Perímetro	1485±34	2375±299	0,1508
Exsudativo Produtivo (EP)	Composição celular			
	Macrófagos	++++	++++	NA
	Células epitelióides	++++	++++	NA
	Gigantócitos	+	+	NA
	Eosinófilos	++	++	NA
	Neutrófilos	++	+++	NA
	Linfócitos	+++	+++	NA
	Fibroblastos	+++	++++	NA
E/EP	Colágeno (%)	3±0,9	2±0,2	0,2222

Legenda: **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; (NA) – Não aplicável. Parâmetros considerados no grau de intensidade celular: (-) célula não observada; (+) raras células; (++) poucas células; (+++) muitas células; e (++++) abundância celular. *Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em erro padrão.

Figura 26 – Microscopia de luz de corte histológico do fígado destacando a presença de colágeno em granulomas esquistossomóticos hepáticos de camundongos Swiss Webster fêmeas submetidos a dieta padrão e hiperlipídica

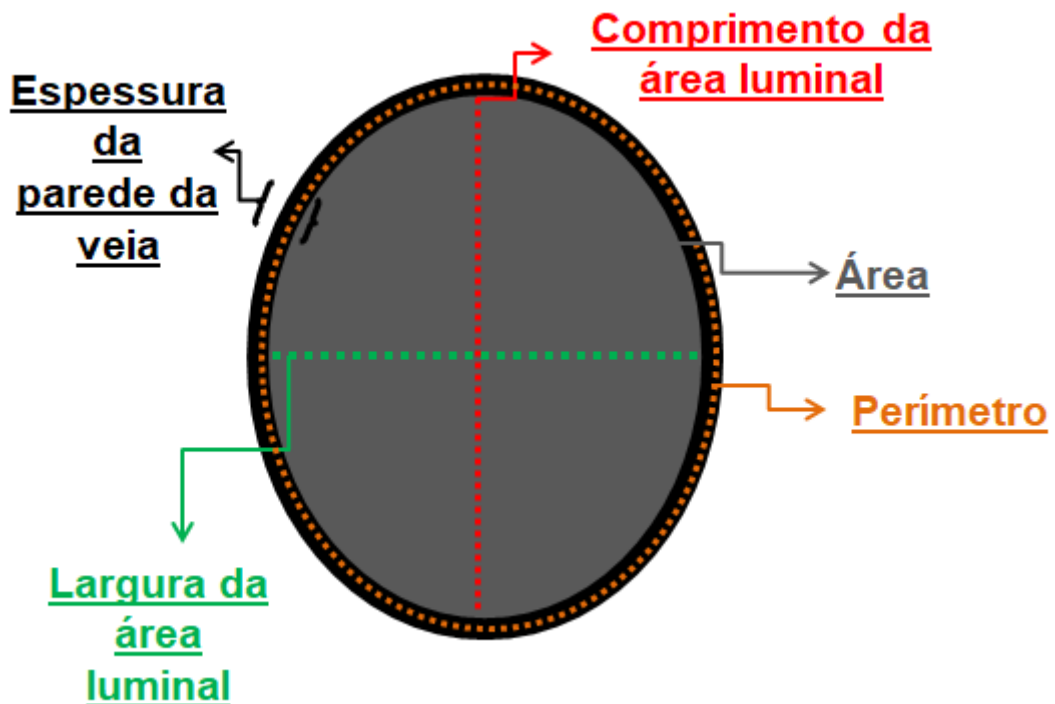


Legenda: **(A e B): IDP:** Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **(C e D): IDH:** Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; Camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta padrão (A e B); Camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta hiperlipídica (C e D); Depósitos de colágeno em torno do granuloma esquistossomótico evidenciado na coloração de Picrosirius sem polarização (imagens claras) ou com polarização (imagens com fundo preto). Cortes com espessura de 5µm corados com Picrosirius em 20x (ampliação de 200x). Barras=100µm.

4.6.3. Morfometria dos vasos hepáticos

O tecido hepático foi analisado por microscopia de campo claro e após realizarmos a identificação das veias centrolobulares e hepáticas, estabelecemos os seguintes parâmetros morfométricos de análises: comprimento e largura da área luminal, espessura da parede da veia, área e perímetro (Figura 27).

Figura 27 – Esquema mostrando o local aonde realizamos a morfometria nas veias porta e centrolobular dos camundongos submetidos às quatro condições experimentais



4.6.3.1. Veias Centrolobulares

Animais não infectados e alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram um aumento significativo $p < 0,0079$ no tamanho do comprimento (+63%) e largura (+48%) da área luminal, na espessura da parede da veia (+85%), no perímetro (+52%) e na área (+111%) das veias centrolobulares em relação ao seu grupo controle (CDP).

A infecção esquistossomótica em animais submetidos à dieta promoveu uma diminuição significativa $p < 0,0079$ do comprimento (-21%), largura (-18%), espessura da

parede da veia (-35%), perímetro (-20%) e área (-40%) das veias centrolobulares em comparação aos não infectados, mas submetidos a mesma dieta dieta hiperlipídica (CDH com IDH).

Não foram observados diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos infectados (IDP com IDH), destacando que o metabolismo hepático, de alguma forma, equilibra estas alterações quando há comorbidade.

A dieta hiperlipídica promoveu a vasodilatação do endotélio, entretanto a associação da infecção esquistossomótica e dieta, sugere que o parasito pode estar modulando estas variações morfométricas das veias centrolobulares (Tabela 8).

Tabela 8 – Parâmetro morfométrico (em micrômetros) das veias centrolobulares de camundongos Swiss Webster alimentados com diferentes dietas e submetidos ou não a infecção pelo *Schistosoma mansoni*.

GRUPOS DE ESTUDO				
Variável	CDP (n=5)	CDH (n=5)	IDP (n=5)	IDH (n=5)
Comprimento da área luminal	93±6,3	152±2,5 ^a	112±4,66	120±1,8 ^b
Largura da área luminal	63±5,5	94±4 ^a	73±3	77±4 ^b
Espessura da parede veia	3±0,2	6±0,1 ^a	4±0,2	4±0,3 ^b
Perímetro (µm)	297±23,3	452±7 ^a	326±12,2	362±11,5 ^b
Área (µm ²)	6.644±1066	14.042±782 ^a	6.761±536	8.425±492 ^b

Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p\leq 0,05$ – teste Mann-Whitney): CDP com CDH [a]; CDH com IDH [b]; IDP com IDH [c]. Valores representados em média±erro padrão. Foram realizadas 50 medições para cada grupo.

4.6.3.2. Veia hepática

O grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem infecção, apresentou aumento no comprimento (+66%; $p<0,0079$), largura (+38%; $p>0,05$), espessura da parede (+117%,

$p < 0,0079$), perímetro (+58%, $p < 0,0079$) e área (+114, $p < 0,0317$) da veia hepática em comparação ao grupo CDP.

A infecção proporcionou uma diminuição significativa no comprimento (-22%, $p < 0,0079$) e perímetro (-15%, $p < 0,0159$) da veia hepática em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica comparando com os animais não infectados (CDH).

Os animais alimentados com dieta hiperlipídica e infectados apresentaram uma diminuição significativa no comprimento (-17%), largura (-18%), perímetro (-17%) e na área (-18%) em relação aos animais alimentados com dieta padrão e submetidos à infecção esquistossomótica. Observamos que tanto a dieta hiperlipídica quanto a infecção esquistossomótica, quando isoladas ou concomitantemente, modulam alguns parâmetros morfométricos das veias hepáticas (Tabela 9).

Tabela 9 – Parâmetros morfométricos das veias hepáticas (em micrômetros) de camundongos Swiss Webster alimentados com diferentes dietas e submetidos ou não a infecção pelo *Schistosoma mansoni*

GRUPOS DE ESTUDO				
Variável	CDP (n=5)	CDH (n=5)	IDP (n=5)	IDH (n=5)
Comprimento da área luminal	144±10	239±13 ^a	226±8	186±3 ^{bc}
Largura da área luminal	93±10	128±8	146±5	119±1 ^c
Espessura da parede luminal	3±0,2	6±0,2 ^a	6±0,2	7±0,9
Perímetro (µm)	420±36	663±38 ^a	679±21	561±9 ^{bc}
Área (µm ²)	14.352±3.154	30.713±4.931 ^a	27.416±1.045	22.435±274 ^c

Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney): CDP com CDH [a]; CDH com IDH [b]; IDP com IDH [c]. Valores representados em média±erro padrão. Foram realizadas 50 medições para cada grupo.

4.7. Análise do tecido adiposo visceral

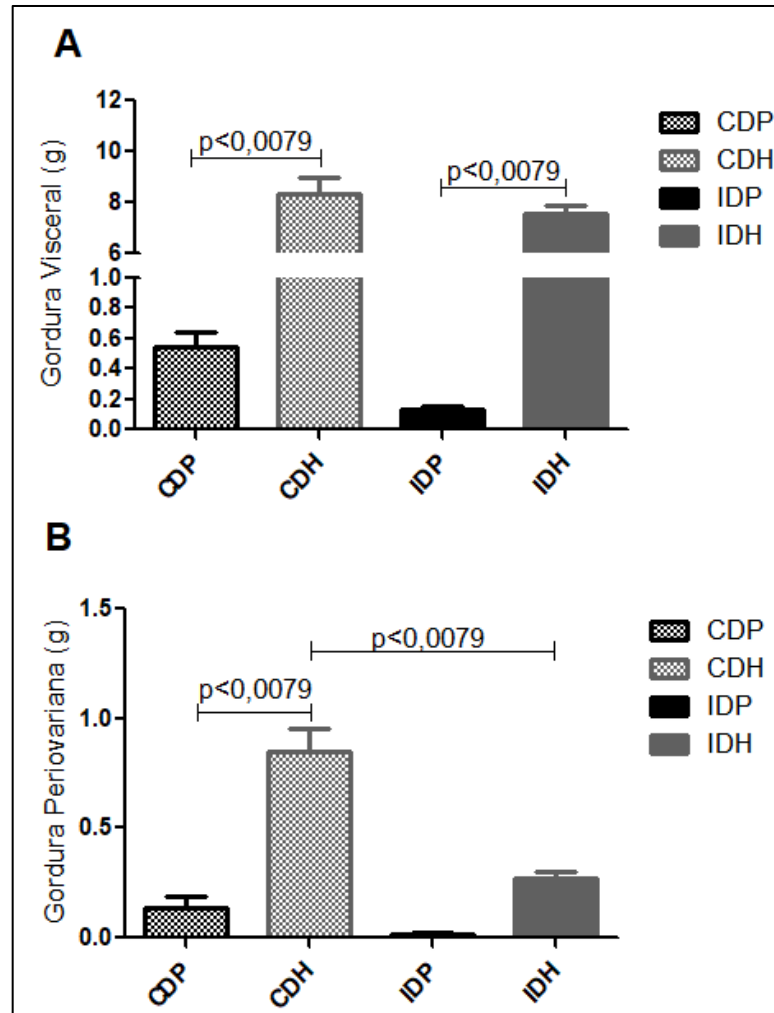
Como esperado os animais alimentados submetidos a dieta hiperlipídica, não infectados, apresentaram maior massa do tecido adiposo visceral (+1437%; $p < 0,0079$) e de gordura periovariana (+531%; $p < 0,0079$) quando comparados com os animais alimentados com dieta padrão não infectado (CDP com CDH).

A infecção proporcionou uma diminuição na massa de gordura periovariana ($p < 0,0079$; -68%) e visceral (-9%), embora este último não apresente diferença significativa nos animais alimentados com dieta hiperlipídica e infectados ao serem comparados aos animais controles e submetidos a mesma dieta.

Os animais alimentados com dieta hiperlipídica e infectados apresentaram um aumento na massa de gordura visceral (+5769%, $p < 0,0079$) e periovariana (+1400%) ao serem comparados com os animais alimentados com dieta padrão e infectados.

A dieta hiperlipídica induziu o aumento de tecido adiposo visceral e periovariana nos animais, como esperado, entretanto, o parasitismo promoveu o grande consumo de lipídios influenciando na diminuição do acúmulo de tecido adiposo visceral (Gráfico 15).

Gráfico 15 – Massa (em gramas) da gordura visceral e periovariana de camundongos fêmeas da linhagem Swiss Webster submetidos ou não a infecção esquistossomótica e alimentados com dieta padrão e hiperlipídica



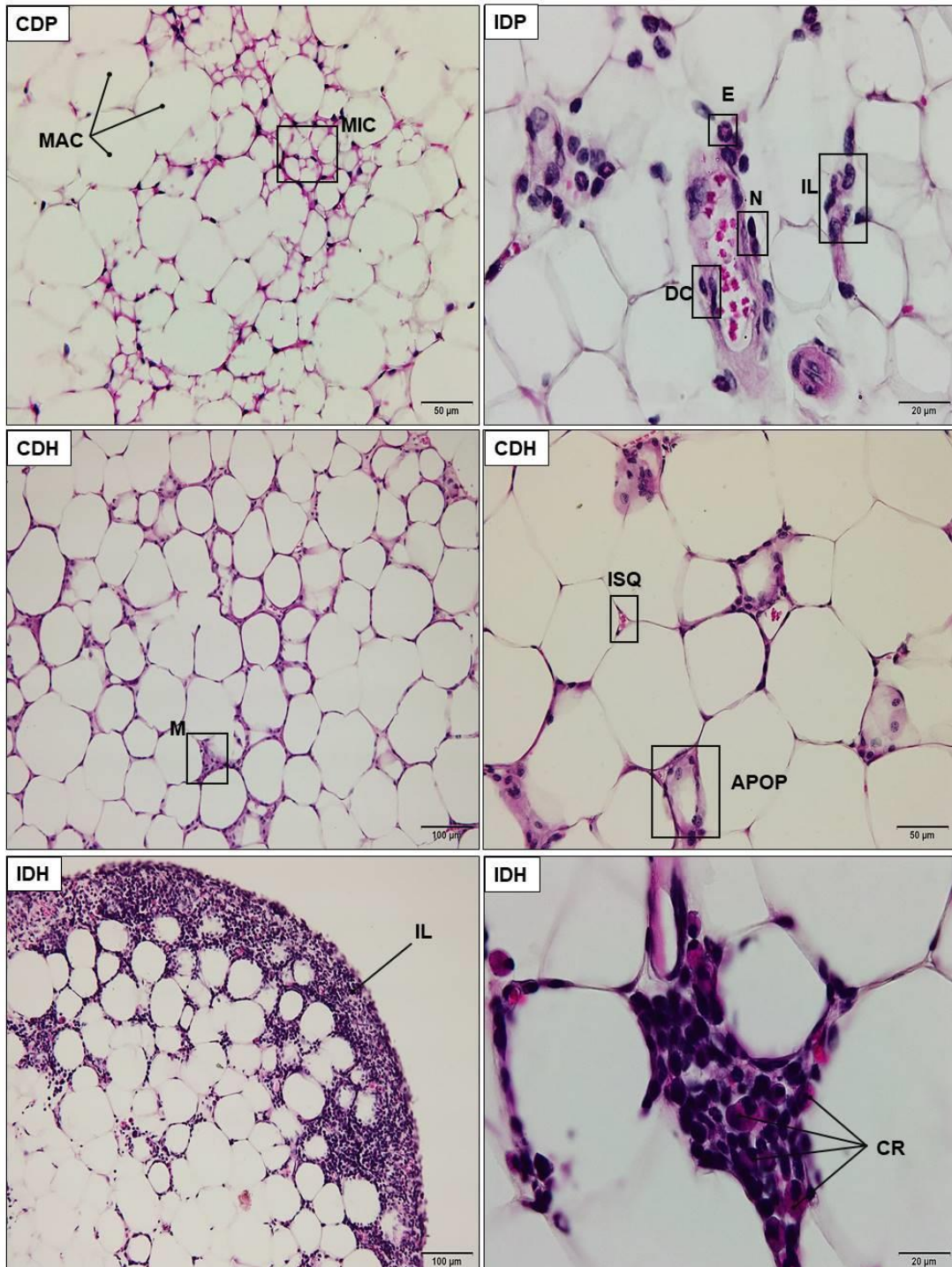
Legenda: A – Gordura visceral; e B – Gordura Periovariana. **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney). Valores representados em média \pm erro padrão.

4.7.1. Histopatologia

O tecido adiposo com aspecto normal está amplamente constituído de adipócitos com perfil esférico, bordas delgadas que contornam uma única gotícula lipídica em forma de triglicerídeos que podem estar armazenadas em micro e macrovesículas. Este perfil foi observado nos animais não infectados e com dieta padrão e a infecção esquistossomótica alterou a arquitetura celular do tecido adiposo visceral nos camundongos alimentados com dieta padrão, pois neste grupo identificamos células polimorfonucleares (neutrófilos,

eosinófilos e macrófagos), sugerindo que houve infiltrado leucocitários disperso em várias áreas do tecido. Também observamos a presença de hiperemia ativa do tipo patológica em decorrência do processo inflamatório ocasionado pela infecção. A dieta hiperlipídica proporcionou uma hipertrofia dos adipócitos e conseqüentemente uma remodelação dos capilares em consequência da isquemia instalada neste tecido. A dificuldade do fluxo sanguíneo em percorrer o tecido, ocasionou uma degeneração por apoptose de alguns adipócitos e por isso, nota-se a presença de aglomerados de macrófagos dispersos no tecido. Nos animais esquistossomóticos alimentados com dieta hiperlipídica observamos a hipertrofia dos adipócitos, característica já observada nos animais controle com esta dieta, porém a arquitetura celular apresentou um perfil altamente inflamado e constituída por abundantes infiltrados leucocitários dispersos em todo tecido adiposo visceral. A avaliação histopatológica mostrou a presença de plasmócitos apresentando degeneração hialina (Corpúsculo de Russel), ou seja, as células exibem uma estrutura arredondada com aspecto homogêneo rosáceo (Figura 28).

Figura 28 – Microscopia de luz de corte histológico do tecido adiposo visceral de camundongos fêmeas da linhagem Swiss Webster submetidos a dieta padrão ou dieta hiperlipídica e infectados pelo *Schistosoma mansoni* ou não



Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **Macrovesículas de triglicerídeos (MIC)**; **Microvesículas de triglicerídeos (MAC)**; **Eosinófilos (E)**; **Infiltrados leucocitários (IL)**; **Neutrófilos (N)**; **Diapedese celular (DC)**; **Aglomerados de macrófagos (M)**; **Isquemia (ISQ)**; **Adipócitos em apoptose (APOP)**; **Corpúsculo de Russel no citoplasma de plasmócitos (CR)**. Cortes com espessura de 5μm corados com Hematoxilina & Eosina em 20x, 40x e 100x (ampliação de 200x, 400x e 1000x). Barra=100 μm, 50μm e 20μm.

4.7.2. Avaliação quantitativa e qualitativa dos adipócitos

Animais controles alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram uma diminuição da quantidade de adipócitos presentes por campo (-58%; $p < 0,0079$) devido a hipertrofia promovida pelo excesso de lipídio, consequentemente os dados morfométricos mostram um aumento no diâmetro (+12%), perímetro (+16%; $p < 0,0079$) e na área (+31%; $p < 0,05$) dos adipócitos ao comparar com os animais controles submetidos a dieta padrão

Os animais alimentados com dieta hiperlipídica e infectados apresentaram um aumento (+16%) na quantidade de adipócitos por campo, embora este não seja significativo em relação aos animais controles e submetidos a mesma dieta. Os dados morfométricos desta comparação (CDH com IDH) mostraram uma diminuição no diâmetro (-6%), perímetro (-5%) e na área (-12%; $p < 0,05$) dos adipócitos.

A infecção proporcionou uma diminuição (-82%; $p < 0,0079$) na quantidade de adipócitos nos animais alimentados com dieta hiperlipídica ao serem comparados com os alimentados com dieta padrão (IDP com IDH). Consequentemente, os animais deste grupo (IDH) apresentaram um aumento na morfometria dos adipócitos em relação ao diâmetro (+46%; $p < 0,0079$), perímetro (+52%; $p < 0,0079$) e área (+133%; $p < 0,0079$).

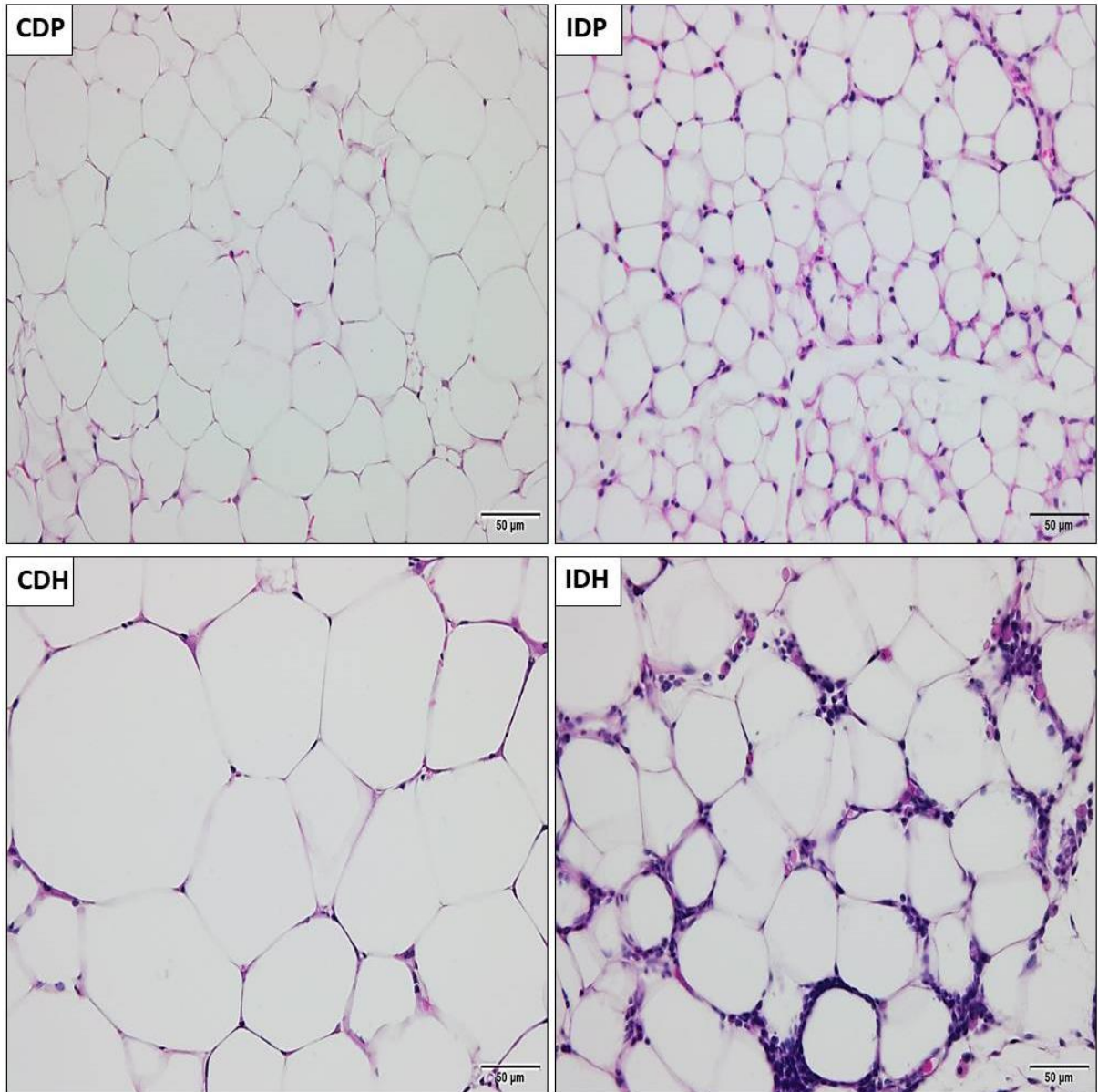
Dessa forma, os dados morfométricos do tecido adiposo indicam como a dieta e o parasitismo podem promover o remodelamento do tecido, pois a quantidade dos adipócitos refletem diretamente na proporção de hipertrofia e hiperplasia do tecido (Tabela 10 e Figura 29).

Tabela 10 – Parâmetros morfométricos e da quantificação dos adipócitos por campo de camundongos fêmeas da linhagem Swiss Webster alimentados dieta padrão e dieta hiperlipídica e submetidos ou não a infecção pelo *Schistosoma mansoni*.

GRUPOS DE ESTUDO					
Variável	CDP (n=5)	CDH (n=5)	IDP (n=5)	IDH (n=5)	p
Quantidade de adipócitos por campo	39±1,5	16±0,5 ^a	108±3,4	19±0,5 ^c	0,0079
Diâmetro	61±0,8	68±1,1	44±0,3	64±1 ^c	0,0079
Perímetro (µm)	206±3	239±4 ^a	149±1	227±4 ^c	0,0079
Área (µm ²)	3.242±68	4.258±129 ^a	1.600±24	3.728±115 ^c	0,0079

Legenda: **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Diferença significativa (PRISM: $p \leq 0,05$ – teste Mann-Whitney): CDP com CDH [a]; CDH com IDH [b]; IDP com IDH [c]. Valores representados em média±erro padrão. Foram realizadas 500 medições para cada grupo (10 campos por animal).

Figura 29 – Microscopia de luz de corte histológico do tecido adiposo visceral de animais alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica submetidos ou não a infecção esquistossomótica



Legenda: (A) **CDP**: Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão; (B) **IDP**: Camundongos infectados alimentados com dieta padrão; (C) **CDH**: Camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica; (D) **IDH**: Camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica. Cortes com espessura de 5µm corados com Hematoxilina & Eosina em 40x (400x). Barras= 50µm.

5. DISCUSSÃO

Em nossos resultados iniciamos destacando as alterações macroscópicas e, como o esperado, mostramos que a dieta hiperlipídica induziu o aumento na massa corporal dos animais, no entanto, quando estes camundongos estavam infectados com *S. mansoni* houve perda de massa a partir oitava semana após a infecção. Hussaarts e colaboradores (2015) e Neves e colaboradores (2007), mostraram resultados semelhantes, que animais esquistossomóticos alimentados com dieta hiperlipídica tinham um ganho de peso menor quando comparado com animais controles submetidos a mesma dieta. Estes resultados podem estar associados com a utilização dos lipídios (colesterol) capturados do hospedeiro para reprodução e elaborar moléculas associadas aos mecanismos de escape do sistema imune do hospedeiro (FAN *et al.* 2003; GIERA *et al.* 2018).

Outro parâmetro avaliado e alterado com a dieta foi índice de Lee, que teve um aumento nos animais submetidos a dieta hiperlipídica em consequência da indução da dislipidemia. Estudos anteriores de Bernardis & Patterson (1968) determinaram que os valores abaixo de 0,300g/cm são considerados normais. De acordo com os nossos resultados os animais alimentados com dieta hiperlipídica independente de estarem infectados ou não, apresentaram valores acima de 0,300g/cm, sendo considerados obesos.

A dieta hiperlipídica independente da infecção esquistossomótica promoveu o aumento da adiposidade nos animais. White e colaboradores (2013) ao induzirem a dieta hiperlipídica por 10 semanas também identificaram um aumento no índice de adiposidade quando comparado com animais alimentados com dieta padrão. O aumento da massa de tecido adiposo pode estar associada com o tamanho (hipertrofia) das células, mas também com a quantidade de adipócitos (hiperplasia) presentes no tecido (QUEIROZ *et al.* 2009). Com o objetivo de complementar estes dados, iniciamos investigações bioquímicas, imunológicas, celulares e histopatológicas.

Os modelos experimentais são ferramentas que contribuem na descrição de alterações promovidas pelos subprodutos metabólicos que podem ocorrer com a presença do *S. mansoni* no hospedeiro definitivo (CHEEVER *et al.* 2002). Neste trabalho, os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram níveis mais elevados nas concentrações de colesterol total, de triglicérides e das lipoproteínas (LDL, VLDL e Colesterol não-HDL), confirmando um quadro de dislipidemia. Os animais esquistossomóticos, independente da dieta imposta, apresentaram redução dos níveis de colesterol e do colesterol-não HDL. Esses resultados

corroboram com a literatura, visto que a esquistossomose altera a composição lipídica do hospedeiro, pois os vermes adultos captam estes lipídios da corrente sanguínea para realizar a manutenção do tegumento, a produção de ovos e auxilia nos mecanismos de evasão do sistema imune, ou seja, as concentrações plasmáticas das lipoproteínas reduzem a medida que a infecção e a carga parasitária progride (DIMENSTEIN *et al.* 1991; NEVES *et al.* 2007; TALLIMA, HAMADA & EL RIDI, 2007). Alencar e colaboradores (2009) ao estudarem a associação da dieta hiperlipídica com a esquistossomose de fase crônica também encontraram resultados similares ao do nosso experimento, e assim, constatamos que a dieta rica em lipídios induz a dislipidemia e independente da fase da infecção esquistossomótica ocorre a redução dos níveis lipídicos.

É importante mencionar que o perfil conhecido das lipoproteínas na esquistossomose sobre a redução do colesterol total e de LDL e o aumento na fração do colesterol HDL são considerados como cardioprotetores, pois, diminuem o risco da progressão da aterosclerose (FONSECA *et al.* 2014). Estudos realizados em humanos demonstraram que os pacientes que apresentavam esquistossomose mansônica atenuavam o desenvolvimento de aterosclerose (OLIVEIRA *et al.* 2016). O efeito sobre os níveis plasmáticos de lipídios pode ser explicado também devido aos fatores liberados pelos ovos do parasito, visto que os macrófagos expostos aos ovos captam o colesterol LDL e conseqüentemente reduzem o risco para o desenvolvimento da aterosclerose nos indivíduos esquistossomóticos (BRANDT *et al.* 2013).

Embora o aumento das frações de colesterol HDL seja conhecido no perfil lipídico da esquistossomose, em nossos resultados mostramos valores mais reduzidos desta lipoproteína no plasma de camundongos infectados com *S. mansoni*, em comparação com a literatura. Em trabalhos com *Callithrix jacchus* (saguís) experimentalmente infectados com esquistossomose mansônica, também foi mostrado resultados semelhantes aos nossos, destacando a diferença entre os hospedeiros (LIMA *et al.* 1998). Os autores sugeriram que a diminuição da lipoproteína de HDL pode estar relacionada à redução da atividade da enzima lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT), pois esta enzima atua no transporte reverso do colesterol dos tecidos para serem metabolizados no fígado (SILVA *et al.* 2002).

A sobrevivência do parasito está submetida as condições oferecidas pelo hospedeiro, nesta linha de reflexão, em relação ao metabolismo de carboidratos nossos resultados mostraram que os animais esquistossomóticos independente da dieta imposta, apresentaram redução dos níveis de glicose no sangue em decorrência do uso dessas moléculas pelo verme adulto da esquistossomose. Estudos demonstram que apesar dos helmintos adultos possuírem um tubo digestivo simples, que auxilia na entrada de pequenas substâncias, a absorção da

glicose se dá através de transportadores (Schistosome glucose transporter 4 – SGT4) que ficam localizados na membrana plasmática das células que formam o tegumento do parasito. Estes transportadores promovem a importação da glicose do sangue do hospedeiro para dentro dos tecidos do parasito, por meio da difusão facilitada (RUMJANEK, CALDAS & GAZZINELLI, 2008).

Estes platelmintos captam a glicose do hospedeiro para auxiliar no seu crescimento, desenvolvimento e reprodução (MCKENZIE, KIRK & WALKER, 2018). You e colaboradores (2014) demonstraram a importância de alguns fármacos anti-esquistossomóticos com propriedades direcionadas à captação de glicose, visto que a interrupção do consumo desta importante molécula contribui para ausência do suprimento energético e mata o parasito.

A análise do leucograma nos possibilitou fortalecer os dados de que a infecção esquistossomótica estimula diferentes linhagens hematopoiéticas devido à diversas substâncias antigênicas liberados pelos ovos (LENZI *et al.* 1997). Além disso, os próprios helmintos vivem em contato com as células sanguíneas e vale lembrar que a superfície do parasito é coberta por membranas que apresentam a capacidade de aderir neutrófilos, eosinófilos, macrófagos e hemácias (RODRIGUES & GALLE, 1990). Borojevic e colaboradores (1989), também mostraram um aumento na contagem de monócitos circulantes em modelo murino, estes dados corroboram com os nossos, e complementamos mostrando que os eosinófilos só aparecem nos grupos infectados e não sofrem influência da dieta. Os eosinófilos são estimulados pela ação de diversas citocinas pró-inflamatórias e atuam na destruição dos miracídios presente no interior dos ovos nos granulomas (LINS *et al.* 2008; TWEYONGYERE *et al.* 2016). Estes resultados são importantes pois mostram que uma das células mais ativas no processo de defesa contra os helmintos, permanece ativa e em concentrações semelhantes nos grupos estudados.

O perfil da resposta inflamatória na esquistossomose tem sido bastante estudado por diversos grupos no mundo, porém em condições de dieta padrão (TANG *et al.* 2018). Em nossos resultados apontamos que a dieta hiperlipídica (29% de lipídios) desencadeia uma inflamação identificada em nossas análises histopatológicas no tecido adiposo visceral, entretanto este processo inflamatório não foi refletido no perfil das citocinas dosadas dos macrófagos presentes no lavado peritoneal dos animais. Nesta análise nós identificamos um moderado aumento na concentração de MCP-1, que é uma quimiocina encontrada em maior concentração em indivíduos que se alimentam com dieta rica em lipídio, favorecendo a infiltração de macrófagos e monócitos no tecido adiposo (LEITE, ROCHA & BRANDÃO-

NETO, 2009). Isto é, o infiltrado celular de macrófagos no tecido adiposo promoveu uma inflamação, de baixo grau, nos hospedeiros obesos, condição induzida pela dieta (TENG *et al.* 2014).

Nós também avaliamos outros parâmetros inflamatórios secretados pelos macrófagos peritoneais. Baseado nestas análises, identificamos um perfil majoritariamente pró-inflamatório. Anthony e colaboradores (2007), mostraram que a IL-10 é uma das principais citocina que atua como moduladora na resposta inflamatória, equilibrando a balança no perfil estabelecido pelas células T (Th1 e Th2) na esquistossomose. A IL-10, é responsável por desenvolver função de proteção granulomatosa. Em nossos resultados mostramos que os animais infectados e alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram um aumento de IL-6 e TNF, sustentando este perfil majoritariamente pró-inflamatório descrito. Castro (2016) mostrou que ocorre um aumento de IL-6 no sangue periférico de indivíduos infectados, mesmo com carga parasitária extremamente baixa de *S. mansoni*, mostrando que mesmo em baixa concentração, a antigenicidade promovida pelo parasito desencadeia um processo inflamatório ativo. Fatores de Necrose Tumoral estão intimamente envolvidos na formação do granuloma e os indivíduos que expressam seus níveis elevados, tendem a ser protegidos da esquistossomose hepatoesplênica grave, devido ao recrutamento e estimulação de fibroblastos na formação de fibrose do granuloma (MUTENGO *et al.* 2018).

Os dados apresentados por Queiroz e colaboradores (2009) corroboram com os nossos, visto que a dieta hiperlipídica, por si só, já desencadeia um processo inflamatório no tecido adiposo e isso, induz à infiltração de macrófagos no tecido, em decorrência do aumento na produção de MCP-1. Entretanto, a medida em que a infecção esquistossomótica se torna concomitante ao ambiente rico em lipídios, observamos uma diminuição na concentração de MCP-1 devido a utilização do colesterol pelos vermes adultos, pois a redução do lipídio circulante melhora o metabolismo do hospedeiro e conseqüentemente reduz o dano celular ocasionado pela lipotoxicidade e lipoapoptose no tecido. Hussaarts e colaboradores (2015) descreveram que a infecção crônica provocada pelo *S. mansoni* contribui para o equilíbrio metabólico em hospedeiros hiperlipidêmicos, pois o efeito secundário da infecção é a perda de peso corporal, o sequestro de glicose e da sensibilidade à insulina. Portanto, a infecção parasitária e os produtos provenientes dos parasitos (antígeno solúvel do ovo) são importantes para melhora das desordens inflamatórias (TANG *et al.* 2018).

A remodelação do tecido hepático se deu de forma diretamente ligada a dieta em associação com o parasito. Os camundongos apresentaram um aumento exacerbado na massa do fígado quando infectados e também quando submetidos a dieta hiperlipídica. Entretanto,

quando associados (dieta + infecção), não houve variação na massa do fígado, ou seja, sugerimos que de alguma forma existe um equilíbrio metabólico que controla a sobreposição da hepatomegalia observada nas duas condições isoladas (infecção e dislipitemia). Resultados similares já foram publicados e o aumento do fígado pode ser determinado tanto pela grande absorção de lipídios adquiridos pela dieta quanto pela infecção esquistossomótica, visto que essa infecção parasitária é caracterizada na forma mais grave pelo endurecimento e aumento do fígado devido a deposição de ovos e a vigorosa resposta inflamatória do granuloma (ALENCAR *et al.* 2009; CHIEFFI *et al.* 2010; KATZ & ALMEIDA, 2003; NEVES *et al.* 2006a).

Em nossos experimentos, a histopatologia do fígado revelou que a infecção esquistossomótica, independente da dieta, promoveu o desenvolvimento de hiperemia ativa patológica e os camundongos não infectados, mas alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram congestão do fluxo sanguíneo resultando em hiperemia passiva. De acordo com Mosier (2017), a hiperemia e a congestão são caracterizados pelo aumento do fluxo sanguíneo na microvasculatura de um tecido ou órgão. Isto é, o aumento do fluxo sanguíneo no tecido hepático apresenta como finalidade aumentar a migração celular em virtude da agressão ocasionada pela infecção parasitária. Diferentemente da hiperemia ativa patológica, a hiperemia passiva em camundongos não infectados, alimentados com dieta hiperlipídica, é marcada pelo congestionamento do fluxo sanguíneo devido ao intenso acúmulo de triglicérides armazenados em vesículas nos hepatócitos, conseqüentemente contribuindo para uma compressão nos sinusóides. A alteração no fluxo vascular colabora para diminuição: da troca de oxigênio entre o sangue e o tecido, impede a chegada de células sanguíneas, como os leucócitos, além da glicose e metabólitos. Vale ainda ressaltar, que estas alterações também interferem na ação de reparo, impedindo o funcionamento regular dos mecanismos de remoção de resíduos celulares.

Estamos sugerindo que tanto a infecção esquistossomótica quanto a dieta hiperlipídica contribuem para a redução da densidade volumétrica dos hepatócitos, visto que foi observado no parênquima tecidual a presença de hepatócitos sofrendo apoptose, possibilitando assim maior fragilidade do órgão. O excesso de lipídios no tecido hepático contribui para ocorrência de um colapso na estrutura e na funcionalidade dos hepatócitos. Estudos mostraram que com objetivo de degradar o excesso de lipídios no tecido, as células induzem o processo de “morte programada” (apoptose), aumentando os impactos teciduais e conseqüentemente o funcionamento normal do órgão (PAROLIN & REASON, 2001).

Em nossas análises histopatológicas e estereológicas mostramos que os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentam esteatose hepática. Entretanto, houve uma diminuição da esteatose nos camundongos infectados por *S. mansoni* e submetidos à mesma dieta. Neves e colaboradores (2007) relataram que a infecção por *S. mansoni* promove uma diminuição da esteatose hepática em camundongos esquistossomóticos, devido a utilização dos lipídios por parte do parasito. Os hepatócitos desempenham um papel fundamental na regulação dos lipídios, visto que são capazes de armazenarem o colesterol do sangue via lipoproteínas e metabolizá-los em ácidos biliares, estabelecendo o equilíbrio lipídico no organismo (CARON *et al.* 2019). A sobrecarga de lipídios no fígado, em animais não infectados, pode ser justificada devido à incapacidade do tecido adiposo em lidar com a energia excessiva adquirida pela dieta, contribuindo assim, para o acúmulo tóxico de gordura no organismo. Kakimoto & Kowaltowski (2016) demonstraram que a disfunção mitocondrial em gerar energia levam a progressão da esteatose, pois contribuem para o desequilíbrio oxidativo, isto é, ocorre um aumento de peróxido de hidrogênio mitocondrial (marcador de danos oxidativos) e a diminuição das defesas antioxidantes, levando a indução de citocinas pró-inflamatórias.

A infecção esquistossomótica contribui para o aumento das células fagocitárias nos capilares dos sinusóides, e a dieta hiperlipídica potencializou os danos hepáticos, pois dificultou a vascularização do tecido e, conseqüentemente, a chegada de células fagocitárias. Os macrófagos residentes no fígado (células de Kupffer) compõe a primeira linha de defesa contra antígenos que são levados via circulação portal. A medida que a esquistossomose progride, e os ovos são depositados neste órgão, é esperado um aumento das células de Kupffer, pois os antígenos solúveis dos ovos as estimula e sensibiliza este recrutamento (ARAÚJO, 2015; DIXON *et al.* 2013; LENZI *et al.* 2008b). Os granulomas são aglomerados de células inflamatórias que protegem o tecido do hospedeiro definitivo contra toxinas secretadas pelos miracídios presentes nos ovos do parasito (AMARAL *et al.* 2017). Seguindo a classificação sugerida por Lenzi e colaboradores (1998), em nossas análises histopatológicas do fígado revelamos apenas a presença de granulomas no estágio exsudativo e exsudativo-productivo, presente nos dois grupos de infectados. As células inflamatórias envolvidas na formação dos granulomas são os linfócitos, macrófagos, eosinófilos, neutrófilos e os fibroblastos (HAMS, AVIELLO & FALLON, 2013). Nossos dados corroboram com os trabalhos anteriores, onde a dieta hiperlipídica promove maior recrutamento de células inflamatórias para o granuloma provenientes da fase aguda da infecção esquistossomótica (NEVES *et al.* 2007).

As análises morfométricas das veias centrolobulares e hepáticas revelaram que tanto na dieta hiperlipídica quanto na infecção esquistossomótica, ocorre alteração nestes parâmetros morfométricos. A dieta hiperlipídica promoveu um aumento nos parâmetros morfométricos das veias centrolobulares e hepáticas. A literatura aborda que a ingesta excessiva de gordura promove uma inflamação e a remodelação vascular, comprometendo a vasodilatação do endotélio (MUNDY *et al.* 2007). Observamos com as análises histopatológicas, que o intenso acúmulo de lipídios no interior dos hepatócitos, contribuiu para o aumento da congestão sanguínea. Nossos resultados corroboram com Bosch, Groszmann e Shah (2016), estes autores mostraram que o aumento do fluxo portal induz uma dilatação passiva do vaso, e conseqüentemente contribui para uma diminuição na resistência da veia porta. Por outro lado, Sachidanandam e colaboradores (2009), ao estudar a regulação da função vascular correlacionando a hiperglicemia com a dislipidemia induzida por dieta, constataram apenas o remodelamento das propriedades mecânicas (aumento na deposição de colágeno) na hiperglicemia e não identificaram as alterações morfométricas das veias hepáticas na dislipidemia, dado observado em nossos experimentos.

Nossos resultados mostraram que a infecção esquistossomótica contribuiu para a diminuição de alguns parâmetros morfométricos das veias centrolobulares e hepáticas dos animais submetidos à dieta hiperlipídica, isto é, a presença do parasito modulou as variações morfométricas encontradas nos grupos não infectados e alimentados com a mesma dieta. A esquistossomose é caracterizada por parasitos intravasculares que liberam os ovos que induzem um remodelamento vascular nos vasos sanguíneos, especialmente no fígado (ANDRADE & SANTANA, 2010; SHARIATI *et al.* 2011). Os ovos são liberados e transportados através da corrente sanguínea até aos ramos menores, ou seja, o endotélio é o primeiro alvo das secreções miracidiais líticas e antigênicas que são liberados pelos ovos do helminto (ANDRADE & SANTANA, 2010). A casca do ovo é formada por proteínas e glicoproteínas que formam uma estrutura endurecida e devido a sua inflexibilidade as próprias células endoteliais realizam uma ancoragem destes com o endotélio, facilitando então o extravasamento e passagem (DEWALICK, TIELENS & VAN HELLEMOND, 2012). O processo de angiogênese está intimamente relacionada com a esquistossomose, visto que as substâncias secretadas pelos ovos são os grandes responsáveis pela formação de novos vasos sanguíneos (COSTAIN, MACDONALD & SMITHS, 2018). Trabalhos de Shariati e colaboradores (2011) demonstraram que os pacientes diagnosticados com a esquistossomose apresentavam níveis elevados dos fatores de crescimento endotelial vascular. Quando a infecção esquistossomótica foi associada à um inibidor específico da angiogênese

(endostatina), houve uma redução significativa do número de granulomas no tecido hepático. Portanto, a alta concentração de ovos promove o aprimoramento da vascularização e à medida que a angiogênese é inibida, há uma redução na carga parasitária pois a neovascularização sustenta o ciclo biológico do *S. mansoni* (LOEFFLER *et al.* 2002). Sendo assim, o remodelamento vascular pode facilitar o transporte dos ovos para novos locais e permitir o recrutamento de células, como os leucócitos e as endoteliais, para o desenvolvimento do granuloma, garantindo o suprimento de oxigenação e de nutrientes nesses locais (COSTAIN, MACDONALD & SMITHS, 2018; LOEFFLER *et al.* 2002).

A remodelação do tecido adiposo visceral foi caracterizada com os experimentos de histopatologia associado a morfometria. Em nossos dados mostramos que o tecido adiposo visceral sofre de um processo inflamatório induzido pela infecção do *S. mansoni* independente da dieta. Especificamente em relação ao aumento do consumo de gordura, ocorreu uma hipertrofia dos adipócitos associada a diminuição da hiperplasia destas células. Quando associamos a infecção com a dieta hiperlipídica, identificamos um processo inflamatório com hipertrofia dos adipócitos, que aumentaram em diâmetro, perímetro e área. Ham e colaboradores (2012) demonstraram que a dieta hiperlipídica diminui a hiperplasia dos adipócitos devido a redução da eficiência da adipogênese, ou seja, grande parte dos lipídios são oxidados pelo fígado e isso, contribui para a diminuição da disponibilidade de substrato para a síntese de tecido adiposo. O tecido adiposo secreta diversas adipocinas que funcionam como mediadoras da comunicação intracelular das células imunes com as células ou proteínas alvo. Este processo está relacionado com a regulação energética do metabolismo lipídico (PRADO *et al.* 2009). Desta forma, diante do excesso da ingestão de lipídios no organismo, diversas adipocinas podem ser liberadas pelo tecido adiposo e estimular o infiltrado leucocitário que tem alta concentração de macrófagos. Este processo também pode liberar outras citocinas pró-inflamatórias como: TNF, IL-6, MCP-1, dentre outras, que são responsáveis por manterem a inflamação tecidual local (QUEIROZ *et al.* 2009).

Em nossos resultados mostramos que os animais esquistossomóticos alimentados com dieta padrão (IDP) apresentam uma acentuada hiperplasia adipocitária, que pode estar associada com os níveis plasmáticos do hormônio leptina que é produzida pelo tecido adiposo (PRADO *et al.* 2009). As concentrações plasmáticas de leptina estão relacionadas com o tamanho da massa de tecido adiposo encontrado no organismo, e esta secreção também está associada ao aumento no número de novos adipócitos, ou seja, um processo de *feedback* positivo, pois a hiperleptinemia vai promover o aumento do número de células adiposas devido a uma maior quantidade de RNAm (Ácido Ribonucleico mensageiro) encontrado nos

adipócitos (ROMERO & ZANESCO, 2006). A esquistossomose provoca alterações metabólicas importantes no tecido adiposo, isto é, a resposta inflamatória induzida pela infecção parasitária estimula a atuação do TNF no metabolismo dos lipídios, aumentando a lipólise, contribuindo para diminuição no número e volume dos adipócitos (PRADO *et al.* 2009; TANG *et al.* 2018; VOLP *et al.* 2008). Como mencionado anteriormente, o *S. mansoni* não sintetiza lipídios, por isso adquirem estas moléculas (colesterol e triglicerídeos) absorvendo de seus hospedeiros mamíferos (MEYER, MEYER & BUEDING, 1970; VAN HELLEMOND *et al.* 2006). Usufruir dos lipídios de seus hospedeiros é fundamental para o avanço da infecção esquistossomótica, uma vez que esse metabólito promove o aumento da capacidade reprodutiva, proporcionando maior quantidade de granulomas hepáticos e de ovos liberados nas fezes (LIRA *et al.* 2019). Hussaarts e colaboradores (2015) relataram que a infecção em fase crônica de *S. mansoni* pode promover um equilíbrio metabólico em hospedeiros hiperlipidêmicos, pois reduzem o tecido adiposo e atenuam a hipetrofia dos adipócitos.

CONCLUSÃO

Conclui-se neste trabalho que a associação da dieta hiperlipídica e a infecção esquistossomótica promoveram:

- a) O remodelamento do perfil imunológico das citocinas produzidas pelos macrófagos peritoneais;
- b) O equilíbrio metabólico da sobreposição da hepatomegalia observada nas duas condições isoladas (infecção e dislipidemia);
- c) Desestruturação organizacional do tecido hepático e adiposo, tornando-os muito mais inflamados; e
- d) A modulação dos parâmetros morfométricos das veias centrolobulares e hepáticas, visto que a dieta hiperlipídica promoveu a vasodilatação do endotélio e a infecção sugere que o parasito pode estar reduzindo as variações morfométricas.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, S.L.; et al.; **Importância da utilização de métodos quantitativos para o diagnóstico parasitológico.** Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management, v. 12, n. 4, p.19-27, 2016.
- ALENCAR, A.C.M.B.; et al. **Changes in the small intestine of *Schistosoma mansoni* infected mice fed a high-fat diet.** Journal of Parasitology, v. 139, n. 6, p. 716-725, 2012.
- ALENCAR, A.C.M.B.; et al. **High fat diet has a prominent effect upon the course of chronic schistosomiasis mansoni in mice.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 104, n. 4, p. 608-613, 2009.
- ALEXANDRE-SANTOS, B.; et al. **The use of quantitative and qualitative approach to evaluate fat distribution and morphology in white adipose tissue.** Acta Scientiae Anatomica, v. 1, n.1, p. 69-76, 2018.
- AMARAL, K.B.; et al. **Histological assessment of granulomas in natural and experimental *Schistosoma mansoni* infections using whole slide imaging.** PLoS One, v. 12, n. 9, p. 1-20, 2017.
- ANDRADE, Z.A.; **A patologia da Esquistossomose Humana.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 547-568.
- ANDRADE, Z.A.; SANTANA, T.S.; **Angiogenesis and schistosomiasis.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 105, n. 4, p. 436-439, 2010.
- ANTHONY, R.M.; et al. **Protective immune mechanisms in helminth infection.** Nature Reviews Immunology, v. 7, n. 12, p. 975-987, 2007.
- ARAÚJO, G.M.; **Efeitos da dieta hiperlipídica sobre o tecido hepático na esquistossomose mansônica experimental.** 2015. 75 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
- BAIN, B. J. **Células sanguíneas: um guia prático.** 5º Ed. Porto Alegre: Artmed. 2016.
- BALLESTRERI, E.; MARCON, I.F.; TAVRES, R.G.; **Comparação de modelos de indução da síndrome metabólica: dieta com excesso de frutose e dieta hiperlipidêmica.** Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, v. 9, n. 51, p. 96-104, 2015.
- BERNARDIS, L.L.; PATTERSON, B.D.; **Correlation between “Lee Index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions.** Journal of Endocrinology, v. 40, n. 4, p. 527-528, 1968.
- BONFANTE, I.L.P.; et al. **Novos achados relacionados ao tecido adiposo: uma revisão de literatura sobre o *browning* e *irisina*.** Revista Arquivos de Ciências da Saúde, v. 22, n. 2, p. 9-15, 2015.

BOROJEVIC, R.; et al. **Experimental murine schistosomiasis mansoni: hyperplasia of the mono-macrophage cell lineage and stimulation of myeloid proliferation by peripheral macrophages.** *Braziliam Journal of Medical and Biological Research*, v. 22, n. 5, p. 579-586, 1989.

BORGES, C.C.; et al.; **Vitamin D restriction enhances periovarian adipose tissue inflammation in a modelo of menopause.** *Climacteric Journal International Menopause Society*, p. 1-6, 2019. DOI: 10.1080/13697137.2019.1597841.

BORTOLIN, R.C.; et al. **A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption.** *International Journal Of Obesity*, v. 42, n. 3, p. 525-534, 2017.

BOSCH, J.; GROSZMANN, R.J.; SHAH, V.H.; **Evolution in the understanding of the pathophysiological basis of portal hypertension: How changes in paradigma are leading to successful new treatments.** *Journal of Hepatology*, v. 62, n. 10, p. S121-S130, 2016.

BRANDT, C.T.; GODOI, E.T.A.M.; et al. **Atherogenesis: Diseases that may affect the natural history “Schistosomiasis and HIV Infection”.** In MCGILLION, A.; BRANDT, C.T.; OREKHOV, A.; orgs. *Current Trends in Atherogenesis* [online]. Editora: RITA REZZANI, 2013, pp. 81-96.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Vigilância da Esquistossomose Mansoni: diretrizes técnicas** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 4. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014. 144 p.: il.

BROETTO, F.N.; **Tecido adiposo marrom e obesidade em humanos.** *Revista de Saúde e Pesquisa*, v. 5, n.1, p. 121-135, 2012.

CALASANS, T.A.S; et al. **Socioenvironmental factors associated with *Schistosoma mansoni* infection and intermediate hosts in an urban area of northeastern Brazil.** *PLoS ONE*. v. 13, n. 5, p. 1-14, 2018.

CALDAS, I.R.; et al. **Human schistosomiasis mansoni: Immune responses during acute and chronic phases of the infection.** *Acta Tropica*, v. 108, n. 2-3, p. 109–117, 2008

CAPUTO, L. F. G.; GITIRANA, L.B.; MANSO, P. P.A. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais e laboratório de saúde. Técnicas histológicas.** Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro v.2. Cap. 3, 290p, 2009.

CARON, J.; et al. **Low-density lipoprotein receptor-deficient hepatocytes differentiated from induced pluripotent stem cells allow familial hypercholesterolemia modeling, CRISPR/Cas-mediated genetic correction, and productive hepatitis C virus infection.** *Stem Cell Research & Therapy*, v. 10, n. 221, p. 1-17, 2019.

CARVALHO, A.D.V.; ALVARENGA, R.J.; MELO, A.L.; **Histopatologia da esquistossomose mansoni em fígado de *Mus musculus* infectados por amostras humanas**

de fase aguda e crônica da periferia de Belo Horizonte, Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 19, n. 2, p. 89-94, 1986.

CARVALHO, A.T.; FILHO, O.A.M.; OLIVEIRA, R.C.O.; **A resposta imune na forma crônica da Esquistossomose Mansonii.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 701-716.

CASTRO, V. N. DE.; **Perfil de citocinas e quimiocinas no sangue periférico de indivíduos com carga parasitaria baixa na infecção pelo Schistosoma mansoni.** 2016. 95f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CHEEVER, A.W.; et al. **Experimental models of Schistosoma mansoni infection.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.97, n.7, p. 917-940, 2002.

CHIEFFI, P.P.; et al. **Esquistossomose mansoni experimental: efeito do tratamento com praziquantel sobre a hipertensão porta e varizes do esôfago.** Arquivos Médicos dos hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, v. 55, n. 2, p. 43-47, 2010.

CINTI, S.; VETTOR, R.; **The adipose Organ.** In: AWAD, A.B.; BRADFORD, P.G.; orgs. *Adipose tissue and inflammation.* London/New York: CRC Press, 2010. pp. 1-22.

COELHO, P.M.Z.; et al. **Evolução de Schistosoma mansoni no hospedeiro intermediário.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 149-160.

CORRÊA, C.L. **Estudo parasitológico e histopatológico da infecção esquistossomótica em animais adultos cujas mães foram desnutridas na lactação.** 2009. 77 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

COSTA, C.S. et al. **Programa de controle da esquistossomose: avaliação da implantação em três municípios da Zona da Mata de Pernambuco, Brasil.** Saúde Debate, v.41, n. especial, p. 229-241, 2017a.

COSTA, A.B. et al. **Esquistossomose Urbana no Norte Pioneiro do Estado do Paraná, Brasil.** Journal Health Science, v. 19, n. 4, p. 251-255, 2017b.

COSTA, J.V.; DUARTE, J.S.; **Tecido adiposo e adipocina.** Acta Médica Portuguesa, v.19, p. 251-256, 2006.

COSTAIN, A.H.; MACDONALD, A. S.; SMITS, H.H.; **Schistosome egg migration: mechanisms, pathogenesis and immune host responses.** Frontiers in Immunology, v. 9, n. 3042, p. 1-16, 2018.

COSTA-SILVA, M.; et al. **Natural Schistosoma mansoni infection in Nectomys squamipes: Histopathological and morphometric analysis in comparison to**

experimentally infected *N. squamipes* and C3H/He mice. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. v. 97 (Suppl.1), p. 129-142, 2002.

COUTINHO, E.M.; **Patologia da esquistossomíase na má-nutrição: uma visão abrangente.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 655-685.

COUTINHO, J.G.; GENTIL, P.C.; TORAL, N.; **A desnutrição e obesidade no Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição.** Cadernos de Saúde Pública, v. 24, Suppl.2, p. S332-S340, 2008.

COUTO, J.L.; et al. **Esquistossomose murina associada à desnutrição: alterações histopatológicas no fígado, baço e jejuno.** Revista de Patologia Tropical, v. 36, n.1, p. 54-66, 2007.

DEWALICK, S.; TIELENS, A.G.M.; VAN HELLEMOND, J.J.; ***Schistosoma mansoni*: the egg, biosynthesis of the shell and interation with the host.** Experimental Parasitology, v. 132, n. 1, p. 7-13, 2012.

DIAS, P.C.; et al. **Obesidade e políticas públicas: concepções e estratégias adotadas pelo governo brasileiro.** Cadernos de Saúde Pública, v. 33, n. 7, p.1-12, 2017.

DIMENSTEIN, R.; et al. **Alterations in the levels and lipid composition of plasma lipoproteins (VLDL, LDL and HDL) in Brazilian patients with hepatosplenic schistosomiasis mansoni.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 25, n. 11, p. 1091-1102, p. 1991.

DIXON, L.J.; et al. **Kupffer Cells in the liver.** Comprehensive Physiology, v. 3, n. 2, p. 785-797, 2013.

FALUDI, AA.; et al. **Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose – 2017.** Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 109, 2 Supl.1, p. 1-76, 2017.

FAN, J.; et al. **A *Schistosoma japonicum* very low-density lipoprotein-binding protein.** The International of Biochemistry & Cell Biology, v. 35, n. 10, p. 1436-1451, 2003.

FERREIRA, L.F.; **O fenômeno parasitismo.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 7, n. 4, p. 261-277, 1973.

FIEL, M.I.; et al. **A morphometric study of the hepatic arterioles in end-stage primary sclerosing cholangitis.** European Journal of Pathology – Virchows Archiv, v.466, n. 2, p. 143-149, 2014.

FILHO, F.F.R.; et al. **Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 50, n. 2, p. 230-238, 2006.

FONSECA-ALANIZ, M.; et al. **O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 50, n. 2, p. 216-229, 2006.

FONSECA, C.S.M.; et al. **Human plasma lipid modulation in Schistosomiasis Mansoni depends on apolipoprotein e polymorphism.** Public Library of Science, v. 9, n. 7, p. 1-7, 2014.

FRANCISCHI, R.P.P.; et al. **Obesidade: atualizações sobre sua etiologia, morbidade e tratamento.** Revista de Nutrição, v. 13, n. 1, p. 17-28, 2000.

FRANCO, L.D.P.; CAMPOS, J.A.D.B.; DEMONTE, A.; **Teor lipídico da dieta, lipídios séricos e peso corporal em ratos exercitados.** Revista de Nutrição, v. 22, n. 3, p. 359-366, 2009.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.L.; FREDRICKSON, D.S.; **Estimation of de concentration of Low-Density Lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.** Journal Clinical Chemistry, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GARCEZ, M.R.; et al. **Prevalência de dislipidemia segundo o estado nutricional em amostra representativa de São Paulo.** Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 103, n. 6, p. 476-484, 2014.

GIERA, M.; et al. **The *Schistosoma mansoni* lipidome: leads for immunomodulation.** Analytica Chimica Acta, v. 1037, n. 11, p. 107-118, 2018.

GRIJALVA-ETERNOD, C.S.; et al. **The double burden of obesity and malnutrition in a protracted emergency setting: a cross-sectional study of western sahara refugees.** PLoS Medicine, v. 9, n. 10, p. 1-12, 2012.

HAM, J.; et al. **Medium-chain oil reduces fat mass and down-regulates expression of adipogenic genes in rats.** Obesity Research, v. 11, n. 6, p. 734-744, 2012.

HAMS, E.; AVIELLO, G.; FALLON, P.G.; **The *Schistosoma* granuloma: friend or foe?** Frontiers in Immunology, v. 4, n. 89, p. 1-8, 2013.

HULSTIJN, M.; et al. **Parasitological and morphological study of *Schistosoma mansoni* and diabetes mellitus on mice.** Experimental Parasitology, v. 129, n. 1, p. 42-47, 2011.

HUSSAARTS, L.; et al. **Chronic helminth infection and helminth-derived egg antigens promote adipose tissue M2 macrophages and improve insulin sensitivity in obese mice.** The FASEB Journal, v. 29, n. 7, p. 3027–3039, 2015.

JUNQUEIRA, L.C.U.; COSSERMELLI, W.; BRETANI, R.; **Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and Polarization microscopy.** Archives of histology and cytology, v. 41, n. 3, p. 267-274, 1978.

KAKIMOTO, P.A.; KOWALTOWSKI, A.J.; **Effects of high fat diets on rodent liver bioenergetics and oxidative imbalance.** Redox Biology, v. 8, p. 216-225, 2016.

KATZ, N. **Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintos.** 22 ed. Minas Gerais (Belo Horizonte): CPqRR, 2018. 76 p.

KATZ, N.; ALMEIDA, K.; **Esquistossomose, Xistosa, Barriga D'água.** Ciência e Cultura, v. 55, n. 1, p. 38-41, 2003.

KHAMMO, N.; BARTLETT, A.; CLOTHIER, R.H.; et al. **The attachment of *Schistosoma mansoni* cercariae to human skin cells.** Parasitology, v. 124, n. 1, p. 25-30, 2002.

HUSSAARTS, L.; et al. **Chronic helminth infection and helminth-derived egg antigens promote adipose tissue M2 macrophages and improve insulin sensitivity in obese mice.** The FASEB Journal, v. 29, n. 7, p. 3027-3039, 2015.

LACERDA, D.S.; BOCK, P.M.; FUNCHAL, C.; **Consumo exacerbado de lipídios provoca dano celular em algumas doenças metabólicas e cardiovasculares.** Journal Nutrire, v. 40, n. 2, p. 200-213, 2015.

LACERDA, M.S.; MALHEIROS, G.C.; ABREU, A.O.W.; **Tecido adiposo, uma nova visão: as adipocinas e seu papel endócrino.** Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos, v. 11, n. 2, p. 25-31, 2016.

LEITE, L.D.; ROCHA, E.D.M.; BRANDÃO-NETO, J.; **Obesidade: uma doença inflamatória.** Revista de Ciência & Saúde, v.2, n. 2, p. 85-95, 2009.

LENZI, H.L.; et al. **Immunological system and *Schistosoma mansoni*: Co-evolutionary immunobiology. What is the eosinophil role in parasite-host relationship?** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 92, Suppl. II, p. 19-32, 1997.

LENZI, H.L.; et al. **Histoarchitecture of Schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 93, (Suppl. 1), p. 141-151, 1998.

LENZI, H.L.; JURBERG, A.D.; COELHO, P.M.Z.; et al. **Migração e desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro definitivo.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008a, pp. 85-145.

LENZI, H.L.; ROMANHA, W.S.; MACHADO, M.P.; et al. **Patologia experimental com enfoque no granuloma esquistossomótico.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008b, pp. 569-654.

LIMA, V. L. M.; et al. **An evaluation of the marmoset *Callithrix jacchus* (sagüi) as an experimental model for the dyslipoproteinemia of human *Schistosomiasis mansoni*.** Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism, v. 1393, n. 2-3, p. 235-243, 1998.

LINS, R.A.B.; et al. **A distribuição dos eosinófilos nas diferentes fases de evolução do granuloma hepático em camundongos infectados pelo *Schistosoma mansoni*.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 4, n. 2, p. 173-178, 2008.

LIRA, D.G.D.; et al. **Superimposing a high-fat diet on *Schistosoma mansoni* infection affects renin-angiotensin system components in the mouse kidney.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 52, n. 0, p. 1-8, 2019.

LOEFFLER, D.A.; et al. **Soluble egg antigens from *Schistosoma mansoni* induce angiogenesis – related processes by up-regulating vascular endothelial growth factor in human endothelial cells.** The Journal of Infectious Diseases, v. 185, ed. 11, p. 1650-1656, 2002.

LUDKE, M.C.M.M.; LÓPEZ, J.; **Colesterol e composição dos ácidos graxos nas dietas para humanos e na carcaça suína.** Revista de Ciência Rural, v. 29, n. 1, p. 181-187, 1999.

MACHADO, P.R.L.; et al. **Mecanismos de resposta imune às infecções.** Anais (revista) Brasileiros de Dermatologia, v. 79, n. 6, p. 647-664, 2004.

MACHADO-SILVA, J.R.; NEVES, R.H.; GOMES, D.C.; **Filogenia, Co-Evolução, Aspectos Morfológicos e Biológicos das diferentes fases de desenvolvimento do *Schistosoma mansoni*.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. *Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar.* Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 43-81.

MAGALHÃES, L.A.; et al. **Influência da dieta hiperglicêmica e do diabetes aloxânico sobre a vitalidade do *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, em camundongos experimentalmente infectados.** Revista de Saúde Pública, v. 12, n. 3, p. 267-276, 1978.

MALTA, D.C.; et al. **Prevalência de colesterol total e frações alterados na população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde.** Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 22, suppl. 2, p. 1-13, 2019.

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

MARQUES, D.V.B.; et al. **Could diet composition in schistosomiasis mansoni? A systematic review of in vivo preclinical evidence.** Journal of Parasitology, v. 145, n. 9, p. 1127-1136, 2018.

MARTINS, A.P.B.; **É preciso tratar a obesidade como um problema de saúde pública.** Revista de Administração de Empresas, v. 58, n. 3, p. 337-341, 2018.

MARTIN, S.S.; et al. **Friedewald-estimated versus Directly measured Low-Density Lipoprotein Cholesterol and treatment implications.** Journal of the American College of Cardiology, v. 62, n. 8, p. 732-739, 2013.

MEYER, F.; MEYER, H.; BUEDING, E.; **Lipid metabolism in the parasitic and free-living flatworms, *Schistosoma mansoni* and *Dugesia dorotocephala*.** Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Lipids and lipid Metabolism, v. 210, n. 2, p. 257-266, 1970.

MCKENZIE, M.; KIRK, R.S.; WALKER, A.; **Glucose uptake in the human pathogen *Schistosoma mansoni* is regulated through AKT/Protein kinase B signaling.** The Journal of Infectious Diseases, v. 218, n. 1, p. 152-164, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota informativa nº 11, de 2017/CGHDE/DEVIT/SVS/MS.** Brasília, 2017.

MOSIER, D.A. **Vascular disorders and thrombosis.** In: ZACHARY, J.F.; Pathologic Basis of Veterinary Disease Expert Consult, 6e [online]. China: Editora Elsevier, 2017, pp. 44-72.

MUNDY, A.L.; et al. **Fat intake modifies vascular responsiveness and receptor expression of vasoconstrictors: Implications for diet-induced obesity.** Cardiovascular Research, v. 73, n. 2, p. 368-375, 2007.

MUTENGO, M.M.; et al. **Low IL-6, IL-10, and TNF-alfa and High IL-13 Cytokine Levels Are Associated with Severe Hepatic Fibrosis in Schistosoma mansoni Chronically Exposed Individuals.** Journal of Parasitology Research, v. 2018, p. 1-8, 2018.

NEGRÃO, A.B.; LICINIO, J.; **Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 44, n. 3, p. 203-214, 2000.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**, 11^a ed, São Paulo, Atheneu, 2005.

NEVES, R.H.; et al. **Morphological aspects of Schistosoma mansoni adult worms isolated from nourished and undernourished mice: a comparative analysis by confocal laser scanning microscopy.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 96, n. 7, p. 1013-1016, 2001.

NEVES, R.H.; et al. **Hepatic stereology of schistosomiasis mansoni infected-mice fed a high-fat diet.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 101, suppl.1, p. 253-260, 2006a.

NEVES, R.H.; et al. **Long-term feeding a high-fat diet causes histological and parasitological effects on murine schistosomiasis mansoni outcome.** Experimental Parasitology, v. 115, n. 4, p.324–332, 2007.

OLIVEIRA, D.D.; et al. **Interleukin 17^a, hepatosplenic mansonic schistosomiasis and atherosclerosis.** Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica, v. 14, n. 2, p. 75-78, 2016.

OLIVEIRA, S.A.; et al. **Morphometric study of Schistosoma mansoni adult worms recovered from undernourished infected mice.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 98, n. 5, p. 623-627, 2003.

OLVEDA, D.U; et al. **The chronic enteropathogenic disease schistosomiasis.** International Journal of Infectious Diseases. v. 28, n. 1, p. 193-203, 2014.

PARLEE, S.D.; et al. **Quantifying size and number of adipocytes in adipose tissue.** Methods in Enzymology, v. 537, p. 93-122, 2014.

PAROLIN, M.B.; REASON, I.J.M.; **Apoptose como mecanismo de lesão nas doenças hepatobiliares.** Arquivos de Gastroenterologia, v. 38, n. 2, p. 138-144, 2001.

PEREIRA-LANCHA, L.O.; CAMPOS-FERRAZ, P.L.; JUNIOR, A.H.L.; **Obesity: considerations about etiology, metabolismo, and the use of experimental models.** Diabetes Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy, v. 5, p. 75-87, 2012.

PEREIRA, J.L.; et al. **Ganho de peso e alterações metabólicas em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica.** Revista Ciência & Saúde, v. 11, n. 1, p. 51-57, 2018.

PINHEIRO, A.R.O.; FREITAS, S.F.T.; CORSO, A.C.T.; **Uma abordagem epidemiológica da obesidade.** Revista de nutrição, v. 17, n. 4, p. 523-533, 2004.

PINTO, W.J.; **A função endócrina do tecido adiposo.** Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba, v. 16, n. 3, p. 111-120, 2014.

PORDEUS, L.C.; et al. **A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura.** Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 17, n. 3, p. 163-175, 2008.

PRADO, W.L.; et al. **Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 15, n. 5, p. 378-383, 2009.

QUEIROZ, J.C.F.; et al. **Controle da adipogênese por ácidos graxos.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, v. 53, n. 5, p. 582-594, 2009.

RASO, P.; et al. **As dimensões do granuloma causado pelos ovos do *Schistosoma mansoni* no fígado humano.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 12, n. 1-6, p. 45-49, 1978.

RECINE, E.; RADAELLI, P.; **Obesidade e desnutrição.** NUT/FS/UnB:ATAN/DAB/SPS: Brasília, 60p. 2003. Disponível em: <
http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/obesidade_desnutricao.pdf> Acesso em: 03 ago. 2019.

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

RODRIGUES, L.E.A.; GALLE, P.; **Bioquímica da esquistossomose mansônica: envolvimento dos siderossomos nos processos inflamatórios hepáticos.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 23, n. 2, p. 77-82, 1990.

ROMERO, C.E.M.; ZANESCO, A.; **O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade.** Revista de Nutrição, v. 19, n. 1, p. 85-91, 2006.

ROSINI, T.C.; SILVA, A.S.R.; MORAES, C.; **Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade.** Revista da Associação Médica Brasileira, v. 58, n. 3, p. 383-387, 2012.

RUMJANEK, F.D.; CALDAS, I.R.; GAZZINELLI, G. **Bioquímica de *Schistosoma mansoni*.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 157-201.

SACHIDANANDAM, K.; et al. **Differential effects of diet-induced dyslipidemia and hyperglycemia on mesenteric resistance artery structure and function in type 2 diabetes.** The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 328, n.1, p. 123-130, 2008.

SAMPAIO, L.N.N. et al. **O enfrentamento do paciente e a esquistossomose.** Cadernos de graduação. v. 4, n. 2, p. 337-348, 2017.

SAULE, P.; et al. **Host glucose metabolism mediates T4 and IL-7 action on *Schistosoma mansoni* development.** Journal of Parasitology, v. 91, n. 4, p. 737-744, 2005.

SCHWARTZ, C.; FALLON, P.G.; **Schistosoma “Eggs-Iting” the host: granuloma formation and egg excretion.** Frontiers in Immunology, v. 9, n. 2492, p. 1-16, 2018.

SHARIATI, F.; et al. **Evaluation of the role of angiogenic factors in the pathogenesis of schistosomiasis.** Experimental Parasitology, v. 128, n. 1, p. 44-49, 2011.

SILVA, A.; SANTANA, L.B.; JESUS, A.R.; **A resposta imune na forma aguda da Esquistossomose Mansoni.** In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L.; orgs. Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, pp. 687-700.

SILVA, C.A.; et al. **Efeito de tratamento cirúrgico sobre a atividade da enzima hepática lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) na esquistossomose mansônica.** Acta Cirurgica Brasileira, v. 17, suppl. 1, p. 2002.

SILVA, J.P.; RAMOS, S.B; ANDRADE, M. **Análise multivariada da esquistossomose no estado de Minas Gerais: análise de componentes principais.** Journal Health Sciences. v. 43, n. 2, p. 84-90, 2018.

SILVA, M.C; et al. **Epidemiologia da esquistossomose mansônica e parasitoses intestinais em um distrito de Caratinga, Minas Gerais.** Revista de Ciências. v. 7, n. 1, p. 145-156, 2016.

SMITH, T.M.; BROOKS, T.J.; **Lipid fractions in adult *Schistosoma mansoni*.** Parasitology, v. 59, n. 2, p. 293-298, 1969.

SOUZA, F.P.C.; et al. **Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural.** Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica, v. 9, n. 4, p. 300-307, 2011.

TALLIMA, H.; HAMADA, H.; 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. 1775-1783, 2007.

TANG, C.L.; et al. ***Schistosoma* infection and *Schistosoma*-derived products modulate the immune responses associated with protection against type 2 diabetes.** Frontiers in Immunology, v. 8, n. 1990, p. 1-8, 2018.

TENG, K.T.; et al. **Modulation of obesity-induced inflammation by dietary fats: mechanisms and clinical evidence.** Nutrition Journal, v. 13, n. 12, p. 1-15, 2014.

TERRA, M.R.; SILVA, R.S.; GONÇALVES, C.S.F.; et al. **Levantamento epidemiológico de esquistossomose mansoni em Londrina-PR.** Revista UNINGÁ, v. 55, n. 3, p. 208-217, 2018. Disponível em: < <http://revista.uninga.br/index.php/uninga/article/view/2551> >. Acesso em 18 jul. 2019.

TWEYONGYERE, R.; et al. **Human eosinophils modulate peripheral blood mononuclear cell response to *Schistosoma mansoni* adult worm antigen in vitro.** Parasite Immunology, v. 38, n. 8, p. 516-522, 2016.

VAN HELLEMOND, J.J.; et al. **Functions of the tegument of schistosomes: Clues from the proteome and lipidome.** International Journal for Parasitology, v. 36, n. 6, p. 691-699, 2006.

VAZ, J.S.; et al. **Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras.** Revista de Nutrição, v. 19, n. 4, p. 489-500, 2006.

VOLP, A.C.P.; et al. **Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer a síndrome metabólica.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 52, n. 3, p. 537-549, 2008.

XAVIER, H.T.; et al. **V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose.** Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 101, Supl. 1, p. 1-20, 2013.

YOU, H.; et al. **Revisiting glucose uptake and metabolism in schistosomes: new molecular insights for improved schistosomiasis therapies.** Frontiers in Genetics, v. 5, n. 176, p. 1-8, 2014.

WAJCHENBERG, B.L.; **Tecido adiposo como glândula endócrina.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 44, n. 1, p. 13-20, 2000.

WARNICK, G.R.; et al. **Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol by the Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of nationally recommended cut points.** Journal Clinical Chemistry, v. 36, n. 1, p. 15-19, 1990.

WHITE, P.A.S.; et al. **Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 57, n. 5, p. 339-345, 2013.

World Health Organization. **Double burden of malnutrition.** WHO, 2020 [acesso em 2 de abril de 2020]. Disponível em: < <https://www.who.int/nutrition/double-burden-malnutrition/en/> >.

World Health Organization. **Obesity and overweight.** WHO; 2018 [acesso em 3 ago. 2019]. Disponível em: < <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> >.

World Health Organization. **Schistosomiasis.** WHO; 2019 [acesso em 10 jul. 2019]. Disponível em: < <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis> >.

WU, G.Y.; HALIM, M.H.; **Schistosomiasis: progress and problems.** World Journal of Gastroenterology, v. 6, n. 1, p. 12-19, 2000.