



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

Carlos Eduardo da Silva Filomeno

**Inter-relação entre a esquistossomose mansoni e a síndrome metabólica no
modelo C57BL/6**

Rio de Janeiro

2017

Carlos Eduardo da Silva Filomeno

Inter-relação entre an esquistossomose mansoni e a síndrome metabólica no modelo

C57BL/6

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva

Coorientadora: Dra. Michele Costa da Silva

Rio de Janeiro

2017

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

F488 Filomeno, Carlos Eduardo da Silva.

Inter-relação entre a esquistossomose mansoni e a síndrome metabólica no modelo C57BL/6 / Carlos Eduardo da Silva Filomeno. – 2017.
79 f.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva
Coorientadora: Dra. Michele Costa da Silva

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

1. Esquistossomose Mansonica – Teses. 2. Fígado – Doenças – Teses. 3. Lipídeos. 4. Síndrome metabólica. 5. Massa corporal. I. Silva, José Roberto Machado e. II. Silva, Michele Costa da. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 616.995.122

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira – CRB7/5302

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

Assinatura

Data

Carlos Eduardo da Silva Filomeno

**Inter-relação entre a esquistossomose mansoni e a síndrome metabólica no modelo
C57BL/6**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em: 24 de março de 2017.

Coorientadora: Dra. Michele Costa da Silva

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora:

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

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr^a. Vanessa de Souza Mello

Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ

Prof. Dr. Alexandre dos Santos Pyrrho

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2017

DEDICATÓRIA

Àqueles que são preteridos pelo poder público e
pela sociedade egoísta, injusta e acrítica.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado força e ter me concedido a possibilidade de estar perto de pessoas extraordinárias que só acrescentaram em minha vida.

À minha família por ter me dado suporte e ter acreditado em mim durante todos esses anos de estudo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Roberto Machado e Silva que investiu e acreditou em mim quando eu bati em sua porta. Sua orientação e oportunidade que me proporcionastes foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

À minha co-orientadora e amiga Dra. Michele Costa da Silva que com muita atenção e paciência me auxiliou e guiou durante todo o projeto. Serei eternamente grato ao que fizestes.

À Prof. Dra. Renata Heisler Neves pelo carinho e dedicação que sempre teve comigo e para com todos os alunos e estagiários do laboratório, sempre se mostrando solícita no esclarecimento de minhas dúvidas.

À Prof. Dra. Christiane Leal pela amizade, carinho e auxílio nas análises histopatológicas.

Às alunas Thaís Ceciliano e Genilza que me auxiliaram na tabulação do teste oral de tolerância à glicose.

À técnica Aline que me ajudou na análise bioquímica e ao professor Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda que tornou isso possível.

À técnica Vanessa Saldanha Quintanilha do nosso grupo de pesquisa, que além de contribuir com o corte do material histológico proporcionou a todos ótimos momentos de convívio.

À mestre Regina Figueiredo pelo auxílio nas necropsias, pelas explicações iniciais, puxões de orelha e ótimo convívio no laboratório.

À Suellen Trindade, amiga de laboratório que com seu jeito divertido e sua desenvoltura me auxiliou no início dos meus experimentos.

À Luciana, Aline, Thainá, Sulamita, Vanessa Góes, Alba e Dayane pelas ótimas conversas que tivemos durante o café da manhã, tarde e almoço. Certamente, vocês descontraíram o meio árido que muitas vezes a pesquisa de bancada e experimental tem.

A todos os amigos da disciplina de Parasitologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, em especial Thayssa, Andreia, Júlia, Thainá, Larissa, Rafaela, Makoto e Ludmila que de certa forma contribuíram para este trabalho e principalmente para o meu equilíbrio

emocional. Aos meus alunos e amigos do CEDERJ que sempre depositaram crença e as melhores estimas em mim, especialmente Cleonice e Danielli.

Ao aluno de mestrado Bruno Vidal e Andreia pela companhia excelente e ótimos bate-papos.

À Prof. Dra. Débora de Aguiar Lage que sempre me incentivou para seguir no meio da pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana Experimental (BHEX) pela excelência e qualidade. À agência de fomento CAPES pela concessão da minha bolsa. A todos que tornaram esse sonho possível, direta ou indiretamente, muito obrigado.

“Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro de gigantes”

Isaac Newton

RESUMO

FILOMENO, Carlos Eduardo da Silva. **Inter-relação entre a esquistossomose mansoni e a síndrome metabólica no modelo C57BL/6**. 79 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

O objetivo desse trabalho foi investigar a inter-relação entre a esquistossomose mansoni e a síndrome metabólica no modelo experimental C57BL/6. Aos dois meses de idade, camundongos machos receberam uma dieta padrão (10g de lipídios/100g de dieta) ou hiperlipídica (60g de lipídios/100g de dieta). Após 90 dias do início da administração da dieta, dois grupos foram infectados por via subcutânea com aproximadamente 80 cercarias de *Schistosoma mansoni* (cepa BH): infectado dieta padrão (ISC, n=9) e infectado dieta hiperlipídica (IHFC, n=10). Os controles não infectados foram: dieta padrão (SC, n=5) e dieta hiperlipídica (HFC, n=9). Na sétima semana de infecção, os grupos infectados foram submetidos a exame parasitológico e na seguinte em todos os grupos foi realizado o teste oral de tolerância à glicose. A eutanásia ocorreu vinte e uma semanas após o início da administração da dieta e com 9 semanas de infecção. Amostras de sangue foram coletadas para análise bioquímica (colesterol total, triglicerídeos, HDL e LDL), os depósitos de gordura visceral e fígados foram removidos e pesados. Amostras de fígado foram submetidas a processamento histológico de rotina e coradas com Hematoxilina e Eosina, Picrosírius e Tricrômico de Masson. Análises estereológicas (D36; disector), morfométrica (área e perímetro), verificação da composição celular dos granulomas periovulares e quantificação dos pontos de infiltrados inflamatórios foram realizados. Os grupos foram comparados pelos testes de Kruskal Wallis, comparações múltiplas de Dunn's ou análise de variância ANOVA e pós teste de Tukey. Os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos e os dados foram apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM). Conforme esperado, a dieta hiperlipídica induziu ao aumento de peso no grupo HFC e à síndrome metabólica, entretanto, a infecção provocou menor ganho de massa corporal e peso dos camundongos do grupo IHFC. Os grupos infectados tiveram maior massa hepática em relação aos não infectados. HFC apresentou menor tolerância oral à glicose seguido de IHFC. As concentrações de colesterol total, triglicerídeos e LDL foram significativamente menores em IHFC em comparação com HFC. A estereologia mostrou que SC apresenta maior densidade de volume de hepatócitos (Vv[h]) e maior densidade volumétrica dos sinusóides (Vv[s]) comparado com ISC, HFC e IHFC, maior densidade de volume de fibrose hepática Vv[hf] em IHFC em relação à ISC ($p < 0,05$). IHFC com maior densidade volumétrica de necrose e pontos de infiltrados inflamatório no fígado Vv[n] e menor densidade de volume esteatose (Vv[st]) em relação à HFC. O grupo IHFC demonstrou ter maior densidade numérica de hepatócitos binucleados N[bh]. A morfometria dos granulomas revelou maior área e perímetro em IHFC comparados à ISC. A histopatologia confirmou os dados morfométricos e estereológicos, indicando a presença de esteatose macro e microvesicular em HFC, e redução significativa em IHFC. Os principais aspectos histológicos foram pontos de necrose, infiltrado inflamatório e hepatócitos balonizados, com singelo depósito de fibras de colágeno no grupo IHFC em comparação com ISC. Os resultados avançam no conhecimento da interrelação entre a esquistossomose e dislipidemia, ao se demonstrar a concomitância entre aspectos benéficos e deletérios decorrentes dessa comorbidade. Ainda há muito mais informações necessárias para compreender verdadeiramente as complexas relações nessa comorbidade.

Palavras chave: *Schistosoma mansoni*. Síndrome Metabólica. Comorbidades. Fígado. Granuloma.

ABSTRACT

FILOMENO, Carlos Eduardo da Silva. **Interrelation between schistosomiasis mansoni and the metabolic syndrome in the C57BL/6 model.** 79 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

The aim of this study was to investigate the relationship between schistosomiasis mansoni and metabolic syndrome in the experimental model C57BL/6. At two months of age, male mice received a standard diet (10g lipid/100g diet) or high-fat diet (60g lipid/100g diet). After 90 days of initiation of dietary administration, two groups were infected subcutaneously with approximately 80 cercariae of *Schistosoma mansoni* (BH strain): infected standard diet (ISC, n= 9) and infected hyperlipidemic diet (IHFC, n=10). Uninfected controls were: standard diet (SC, n=5) and high-fat diet (HFC, n=9). In the seventh week of infection, the infected groups were submitted to parasitological examination, and in the following groups, the oral glucose tolerance test was performed. Euthanasia occurred twenty-one weeks after the start of diet administration and with 9 weeks of infection. Blood samples were collected for biochemical analysis (total cholesterol, triglycerides, HDL and LDL), while visceral fat deposits and livers were removed and weighed. Liver samples were submitted to routine histological processing and stained with Hematoxylin and Eosin, Picrosirius and Masson's Trichrome. Stereological analyzes (D36, disector), morphometric (area and perimeter), verification of the cellular composition of periovular granulomas and quantification of inflammatory infiltrate points were performed. The groups were compared by the Kruskal Wallis tests, Dunn's multiple comparisons or analysis of variance ANOVA and Tukey's post test. The values of $p \leq 0.05$ were considered significantly different and the data were presented in mean \pm standard error of the mean (EPM). As expected, the high-fat diet induced dyslipidemia and weight gain in the HFC group, however, the infection caused lower body mass gain and weight of the IHFC group mice. The infected groups had greater hepatic mass than the uninfected ones. HFC presented lower oral tolerance to glucose followed by HFCS. Concentrations of total cholesterol, triglycerides and LDL were significantly lower in IHFC compared to HFC. Stereology showed that SC showed higher hepatocyte volume density (V_v [h]) and higher volume density of sinusoids (V_v [s]) compared to ISC, HFC and IHFC, the higher volume density of hepatic fibrosis V_v [hf] in IHFC compared to ISC ($p < 0.05$). IHFC with higher volumetric density of liver necrosis V_v [n] and lower steatosis volume density (V_v [st]) relative to HFC. The IHFC group showed with more inflammatory infiltration points and numerical density of binucleated hepatocytes N [bh]. The morphometry of granulomas revealed a larger area and perimeter in IHFC compared to ISC. Histopathology confirmed the morphometric and stereological data, indicating the presence of macro and microvesicular steatosis in HFC, and a significant reduction in HFCS. The main histological aspects were necrosis points, inflammatory infiltrate and ballooned hepatocytes, with a simple deposition of collagen fibers in the IHFC group compared to ISC. The results advance the knowledge of the relationship between schistosomiasis and dyslipidemia, when the concomitance between beneficial and deleterious aspects resulting from this comorbidity is demonstrated. There is still much more information needed to truly understand the complex relationships in this comorbidity.

Keywords: *Schistosoma mansoni*. Metabolic Syndrome. Granuloma. Liver. Co-morbidities.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ácino hepático: unidade anatômica do fígado.....	19
Figura 2 - Anatomia de um lóbulo hepático.....	20
Figura 3 - Distribuição mundial das esquistossomoses	21
Figura 4 - Caramujo do gênero <i>Biomphalaria sp.</i>	22
Figura 5 - Distribuição da esquistossomose segundo percentual de positividade no Brasil. ...	23
Figura 6 - Ciclo biológico do <i>Schistosoma mansoni</i>	24
Figura 7 - Esporocistos e cercaria de <i>Schistosoma mansoni</i> em <i>Biomphalaria sp.</i>	25
Figura 8 - Localização dos helmintos adultos (setas) de <i>Schistosoma mansoni</i> no interior dos vasos mesentéricos de camundongo albino.	26
Figura 9 - Granulomas esquistossomóticos hepáticos.....	28
Figura 10 - Granuloma esquistossomótico hepático e suas diferentes regiões.....	29
Figura 11 - Principais células hepáticas e transdiferenciação de células estreladas.....	30
Figura 12 - Análise estereológica usando o sistema de cruzes D36.	43
Figura 13 - Massa corporal dos camundongos C57BL/6 ao longo do experimento.	47
Figura 14 - Ganho de massa corporal dos camundongos ao longo do experimento.	48
Figura 15 - Biometria animal(média ± EPM).....	49
Figura 16 - Teste oral de tolerância à glicose e área sobre a curva	50
Figura 17 - Análise bioquímica dos grupos experimentais	51
Figura 18 - Presença de infiltrado inflamatório em grupos infectados submetidos à dieta padrão ou hiperlipídica	53
Figura 19 - Estereologia hepática de camundongos C57BL/6	54
Figura 20 - Fotomicrografia do tecido hepático de camundongos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica	58
Figura 21 - Fotomicrografia do tecido hepático de camundongos alimentados com hiperlipídica.	61
Figura 22 - Fotomicrografia do tecido hepático de camundongos alimentados com hiperlipídica	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição da dieta experimental.....	39
Tabela 2 - Etapas da preparação histológica	45
Tabela 3 - Técnicas de colorações histológicas empregadas.....	46
Tabela 4 - Oograma de digestão do intestino delgado	52
Tabela 5 - Estereologia hepática	53
Tabela 6 - Análise morfométrica de granulomas.....	55
Tabela 7 - Composição celular dos granulomas hepáticos.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIN	Instituto Americano de Nutrição
AOS	Antígeno Ovular Solúvel
AT	Área de teste
AUC	Área sobre a curva
CBA	Linhagem de camundongo
CECAL	Centro de Criação de Animais de Laboratório da Fundação Oswaldo Cruz
CT	Colesterol total
C3H	Linhagem isogênica de camundongo
C57BL/6	Linhagem isogênica de camundongo
DBR	Dieta Básica Regional
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
EPM	Erro padrão da média
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HSCs	Células estreladas hepáticas
IFN- γ	Interferon gama
IL	Interleucina
KOH	Hidróxido de potássio
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MC	Massa corporal
N _A ou Q _A	Densidade numérica por área
NAFLD	Doença hepática gordurosa não alcoólica
NASH	Esteato-hepatite não alcoólica
OMS	Organização Mundial da Saúde
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
P _P	Número de pontos que tocam a estrutura
P _T	Número de pontos totais
SM	Síndrome Metabólica
SEA	Antígeno Ovular Solúvel
TG	Triglicerídeos

Th1	Células T helper 1
Th2	Células T helper 2
TNF- α	Fator de necrose tumoral alpha
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
VP	Veia porta

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1	JUSTIFICATIVA	35
2	OBJETIVOS	36
2.1	Geral	36
2.2	Específicos	36
3	MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1	Desenho experimental	37
3.2	Modelo experimental	38
3.3	Dieta experimental	38
3.4	Grupos experimentais e infecção	39
3.5	Biometria Animal	40
3.6	Dados metabólicos – Teste oral de tolerância à glicose	40
3.7	Eutanásia	40
3.8	Análise Bioquímica	41
3.9	Quantificação de ovos no tecido - Oograma	41
3.10	Análise estereológica	41
3.11	Estudo morfométrico	43
3.12	Avaliação histopatológica	44
3.13	Análises estatísticas	46
4	RESULTADOS	47
4.1	Resultados metabólicos	47
4.1.1	<u>Biometria animal</u>	47
4.1.2	<u>Teste oral de tolerância à glicose</u>	49
4.1.3	<u>Análise bioquímica</u>	50
4.2	Resultados quantitativos	51
4.2.1	<u>Quantificação de ovos no intestino</u>	51
4.2.2	<u>Análise estereológica</u>	52
4.2.3	<u>Análise morfométrica</u>	54
4.3	Resultados qualitativos	55
4.3.1	<u>Composição celular dos granulomas hepáticos</u>	55

4.3.2	<u>Histopatologia hepática</u>	56
5	DISCUSSÃO	62
	CONCLUSÃO	66
	REFERÊNCIAS	67

INTRODUÇÃO

Doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) constituem a maior causa de morbidade do mundo e sua causalidade é complexa, compreendendo interseção de diversos fatores como determinantes e condicionantes socioeconômicos, culturais e ambientais (MALTA et al., 2014). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), fatores como tabagismo, consumo de álcool e outras drogas, inatividade física e alimentação rica em gorduras saturadas configuram comportamento de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (WHO, 2011).

Nas últimas décadas, temos observado mudanças nos hábitos alimentares em diversos países (PINHEIRO, 2001; MALTA et al., 2014). Essa mudança é reflexo do novo estilo de vida, onde foram incorporados hábitos alimentares rápidos e práticos, porém, com um aporte nutritivo menor (OLIVEIRA, 1997; ABREU et al., 2001; SOUZA; HARDT, 2002; LOUZADA et al., 2015).

Estudiosos da área de nutrição têm observado uma transição do estilo nutricional nas populações ocidentais. Essa transição nutricional pode ser definida como o conjunto de mudanças nos padrões nutricionais decorrentes de variações na estrutura da dieta dos indivíduos e que se correlacionam com mudanças econômicas, sociais e demográficas sofridas pelas populações nas últimas décadas (OLIVEIRA, 1997; MONTEIRO et al., 2000; GARCIA, 2003).

Além da mudança no padrão nutricional, a qualidade da alimentação tem sido bastante afetada. A variedade de alimentos consumida pelos brasileiros é menor, não havendo melhora na qualidade da dieta, que passou a ter baixo valor nutricional, com altos teores de gorduras, principalmente de origem animal, de açúcares e alimentos refinados e baixos teores de fibras e carboidratos complexos (BATISTA-FILHO; RISSIN, 2003; PINHEIRO et al., 2004;). Tais hábitos alimentares, associados ao sedentarismo refletem em prejuízos à saúde como o aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis, tais como: dislipidemias, obesidade, diabetes tipo 2, hipertensão arterial e distúrbios cardiovasculares (PERUCHI et al., 2016).

No que tange o panorama atual da alimentação, a população brasileira tem adotado hábitos criados pela indústria de alimentos e marcados pelo consumo de produtos artificiais, em detrimento de produtos regionais com tradição cultural (BLEIL, 1998; SOUZA; HARDT, 2002).

A Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), 2008-2009, que fornece informações sobre a composição dos orçamentos domésticos, a partir da investigação dos hábitos de consumo, da

alocação de gastos e da distribuição dos rendimentos, segundo as características dos domicílios, verificou também a autopercepção da qualidade de vida e as características do perfil nutricional da população brasileira. Assim, confirmando que as mudanças no padrão alimentar no país embora tenham sido favoráveis do ponto de vista dos problemas associados à subnutrição, que nos últimos anos decresceu, tem sido desfavoráveis no que se refere às doenças carenciais, como hipovitaminoses, à obesidade e às demais doenças crônicas não transmissíveis devido ao aumento da ingestão de gorduras em geral, gorduras de origem animal, açúcar e diminuição do consumo de cereais, leguminosas, frutas e legumes (POF, 2010).

O Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), no Brasil, faz o monitoramento anual de doenças crônicas não transmissíveis nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal desde 2006 (MOURA et al., 2008) e demonstrou que ao passo que a desnutrição declinou, a prevalência de sobrepeso e obesidade se elevou no cenário nacional. Segundo o Ministério da Saúde, 56,9% dos brasileiros com mais de 18 anos estão com sobrepeso e correm o risco de desenvolver doenças a elas relacionadas (BRASIL, 2015).

Doenças associadas às mudanças no padrão nutricional

Sabe-se que a maior disponibilidade de alimentos de alta densidade energética bem como hábitos de vida sedentários inseriu uma nova ameaça à sobrevivência do homem moderno: a obesidade e suas comorbidades (GRUNDY, 2008).

A obesidade é definida como adiposidade corporal excessiva acima dos níveis ideais para a saúde. Ela estabelece-se a partir de um balanço energético positivo crônico sob a influência de diversos fatores de origem social, comportamental e ambiental (SWINBURN et al., 2011).

O excessivo armazenamento de gordura na região abdominal encontra-se diretamente relacionado ao acúmulo ectópico de gordura em órgãos chave do metabolismo, tais como fígado e pâncreas. A resistência à insulina age em sinergismo com o excesso de tecido adiposo provocando a desregulação do eixo adipoinsular, predispondo ao desenvolvimento de outros distúrbios metabólicos, como a síndrome metabólica (SM), cuja prevalência é crescente em todo o mundo (ECKEL; GRUNDY; ZIMMET, 2005; DESPRES; LEMIEUX, 2006; MELLO, 2010; TAKAHASHI et al., 2012; RIZZO et al., 2013; GOLABI et al., 2016).

De acordo com a Federação Internacional de Diabetes, a síndrome metabólica (SM) pode ser definida como um grupo de anormalidades metabólicas onde incluem a obesidade, com ênfase no excesso de gordura abdominal, hipertensão arterial, dislipidemia, doença

hepática gordurosa não alcoólica e resistência à insulina ou diabetes tipo 2 (ZIMMET et al., 2007; JOVICIC et al., 2015). Os critérios para o diagnóstico da síndrome metabólica estão resumidos com base em trabalhos da Organização Mundial da Saúde, da National Cholesterol education Program Adult Treatment Panel III, European Group for the Study of Insulin Resistance e International Diabetes Foundation (HUANG, 2009)

A resistência à insulina parece ser a base fisiopatológica da SM e a hiperinsulinemia é considerada um precursor. O ganho de peso é um preditor independente para o desenvolvimento da SM, embora não seja observado em todos os indivíduos obesos (ZIMMET et al., 2007; RIZZO et al., 2013).

Outra doença associada à alteração ao perfil nutricional, no que diz respeito ao alto consumo de lipídios é a doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD). A doença hepática gordurosa não alcoólica é a condição em que a gordura excessiva se acumula no paciente sem histórico de abuso de álcool (MARCHESINI et al., 2003; ABDELMALEK; DIEHL, 2007). Ela vem sendo indicada como o componente hepático da SM e de demais distúrbios lipídicos e é apontada como a principal causa de doenças hepáticas crônicas em países desenvolvidos.

A NAFLD inclui distúrbios caracterizados pelo aumento do acúmulo lipídico nos hepatócitos que podem variar de esteatose-hepatite benigna à esteato-hepatite não alcoólica (NASH), cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (HAMAGUCHI et al., 2007; COHEN et al., 2011). Ela engloba um aumento do ‘*input*’ de ácidos graxos livres concomitantemente a um decréscimo da beta-oxidação, levando a maior suscetibilidade à fibrose hepática (MARCHESINI et al., 2001; GRARUP et al., 2014; LIN et al., 2014).

Segundo Cohen et al (2011), a NAFLD é classificada em duas categorias: esteatose simples, na qual observa-se apenas esteatose hepatocelular e esteato-hepatite não alcoólica, onde reações necroinflamatórias e esteatose hepatocelular podem ocorrer (COHEN et al., 2011; FARRELL; LARTER, 2006).

A esteatose hepatocelular pode ser identificada em dois tipos: esteatose macrovesicular e esteatose microvesicular. Na esteatose macrovesicular, uma única gota grande de gordura ou pequenas gotas de gordura bem definidas ocupam o citoplasma dos hepatócitos, empurrando o núcleo para a região periférica da célula. Na esteatose microvesicular, o citoplasma dos hepatócitos é preenchido com minúsculas gotas lipídicas, e o núcleo se localiza centralmente na célula (BONDINI et al., 2007; TANDRA et al., 2011). Inflamação também está presente na esteato-hepatite não alcoólica e consiste em um infiltrado de células inflamatórias (linfócitos, neutrófilos, células de Kupffer e eosinófilos) de intensidade geralmente leve (BRUNT, 2002).

O fígado é um dos órgãos que mais sofre injúrias quando há distúrbios lipídicos (BRIAND et al., 2016). Sabe-se que ele desempenha funções distintas que contribuem para a homeostasia corporal, como por exemplo, filtração e armazenamento de sangue; metabolismo de carboidratos, gorduras, proteínas, hormônios e produtos químicos; formação de bile, armazenamento de vitaminas e ferro e formação de fatores de coagulação (GUYTON; HALL, 2006). Entretanto, está suscetível a diversos agentes agressores como infecções virais, autoimunidade, dieta, químicos e infecções parasitárias, como a esquistossomose mansoni (WALLACE et al., 2008).

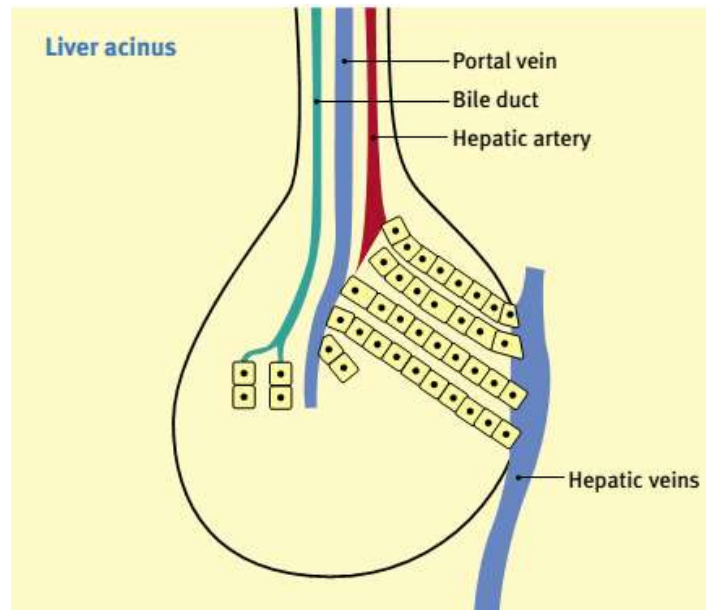
O tecido hepático é bastante suscetível a lesões em casos de cirrose, hepatite, dislipidemias, obesidade e síndrome metabólica. Entretanto, apresenta uma alta capacidade regenerativa quando as lesões são agudas. Observa-se nestas situações aumento nas taxas de binucleação dos hepatócitos, por exemplo (GERLYNG et al., 1993; ABDELHALIM; JARRAR, 2011).

O fígado

O fígado é o maior órgão do corpo, depois da pele, e desempenha mais de 300 funções importantes para a homeostasia corporal. O suprimento sanguíneo duplo que o fígado recebe, 20-25% da artéria hepática, rico em O₂ e 75-80% da veia porta, rico em nutrientes permite controlar as substâncias que são absorvidas no intestino e determinar quais substâncias entrarão na circulação sistêmica (MITRA; METCALF, 2012; GUYTON; HALL, 2006). Assim, o fígado está localizado em um sítio anatômico privilegiado para metabolizar e acumular nutrientes, neutralizar e eliminar substâncias tóxicas.

A unidade anatômica e fisiológica do fígado é o ácino hepático. Existem cerca de 100.000 ácinos, cada um composto por hepatócitos, a principal célula do fígado, células endoteliais e células de Kupffer dispostas como uvas num caule vascular contendo nos ramos terminais a tríade portal, isto é, artéria hepática, veia porta e ducto biliar (Figura 1). A veia central do lóbulo hepático está na periferia do ácino (CAMPBELL, 2006).

Figura 1 - Ácino hepático: unidade anatômica do fígado



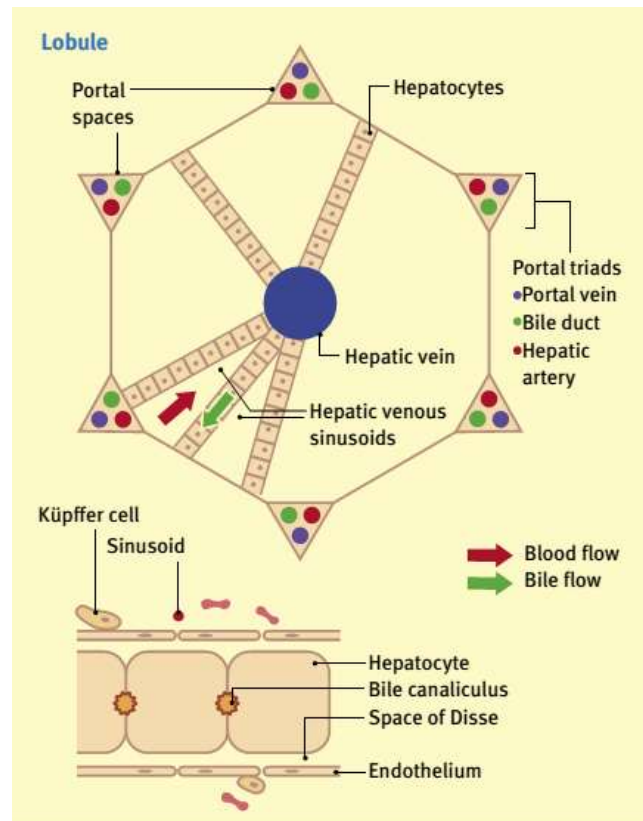
Fonte: Campbell, 2006

Os hepatócitos constituem 80% do fígado, são extremamente ativos metabolicamente e organizam-se em lóbulos de 1mm de diâmetro. Os lóbulos são hexagonais e apresentam em cada canto um espaço porta com uma tríade portal (Figura 2). Dentro do lóbulo hepático, os hepatócitos estão dispostos radialmente em cordões, entre eles, os sinusóides que drenam da veia porta e artéria hepática, na periferia do lóbulo, sangue para a veia centrolobular, que drena finalmente para as veias hepáticas e a veia cava o sangue (CAMPBELL, 2006; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os sinusóides hepáticos se distinguem dos demais sinusóides do organismo, pois entre suas células endoteliais há macrófagos residentes conhecidos por células de Kupffer (HIB, 2003). O espaço entre o endotélio e os hepatócitos chamado de Espaço de Disse contém o "fluido extracelular" do fígado, que vai formar linfa.

O fígado é um dos órgãos mais prejudicados em infecções como a esquistossomose mansoni (REY, 2001). O envolvimento hepático na infecção pelo *Schistosoma mansoni* é decorrente da deposição de ovos no parênquima, que chegam através da veia porta e ficam retidos nos vasos pré-sinusoidais, cujo diâmetro não permite maior progressão (ANDRADE, 2004; 2008). Entretanto, essa retenção desencadeia reação inflamatória que pode lesionar o tecido.

Figura 2 - Anatomia de um lóbulo hepático



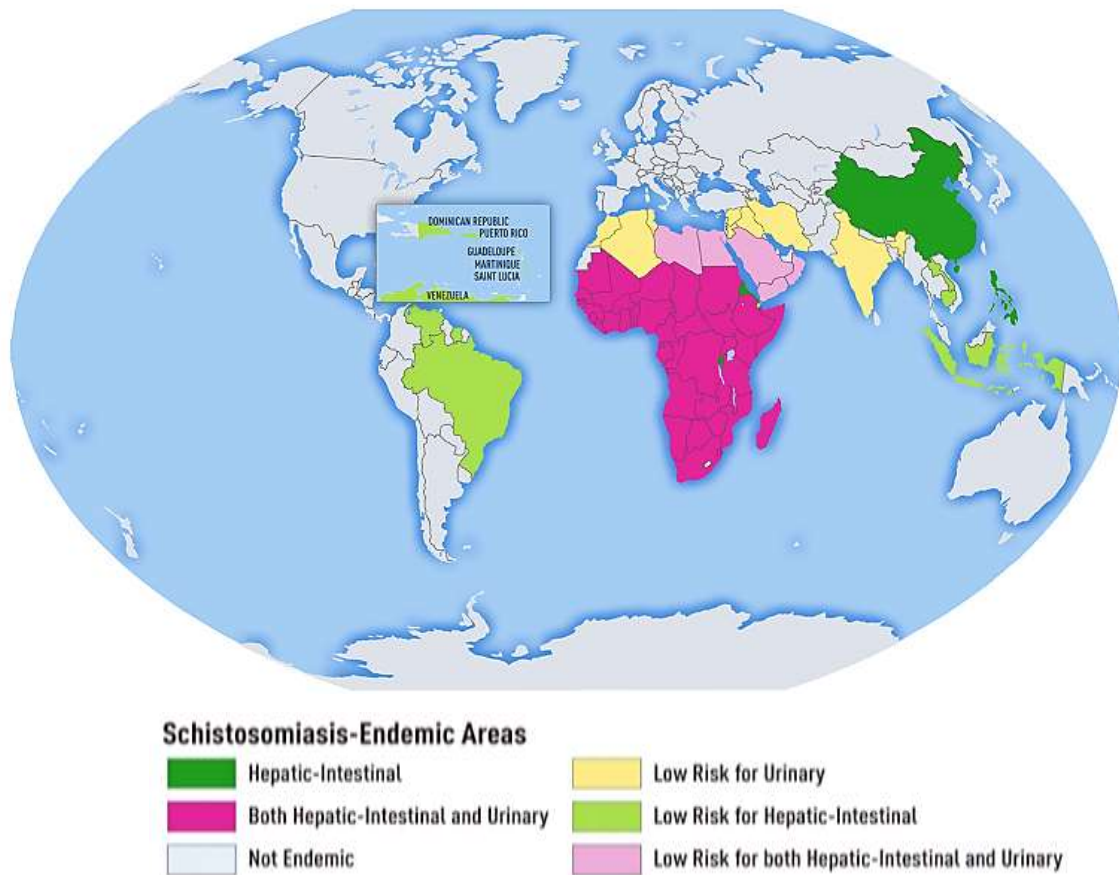
Fonte: Campbell, 2006

Esquistossomose

A esquistossomose é uma doença infecciosa parasitária causada por helmintos trematódeos do gênero *Schistosoma* que se alojam e residem nos vasos mesentéricos (no caso do *S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. malayensis*), ou da bexiga (no caso do *S. haematobium*) dos seres humanos e de outros vertebrados. Sua transmissão está condicionada a fatores como a presença de hospedeiros intermediários, isto é, moluscos gastrópodes do gênero *Biomphalaria*, *Oncomelania* e *Bullinus* de acordo com a espécie de *Schistosoma*, e com a presença de indivíduos portadores da doença eliminando ovos nas coleções de água doce (REY, 2001).

A doença está intimamente associada às condições socioeconômicas precárias em muitas regiões do mundo, principalmente em locais sem acesso a água potável e a saneamento básico eficiente (RASO et al., 2007; WHO, 2014). A esquistossomose é considerada endêmica em 78 países na África, nas Américas, no Médio Oriente e no Sudeste da Ásia e está distribuída em regiões de clima tropical e temperado de países em desenvolvimento (Figura 3) (WHO, 2013; 2014).

Figura 3 – Distribuição mundial das esquistossomoses



Fonte: <http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2016/infectious-diseases-related-to-travel/schistosomiasis>. Acessado em 18/10/2016. Adaptado.

Epidemiologia da esquistossomose

Segundo a OMS, aproximadamente 207 milhões de pessoas estão infectadas em todo mundo e mais de 700 milhões estão em áreas de risco (WHO, 2014; SCAN, 2014). Das seis espécies de *Schistosoma sp.* que parasitam o homem, apenas *S. mansoni* existe nas Américas do Sul e Central (BRASIL, 2014). Outras espécies não são encontradas aqui devido à inexistência de hospedeiros intermediários suscetíveis à infecção. A esquistossomose mansoni tem como hospedeiro intermediário espécies do gênero *Biomphalaria* (Figura 4), caramujo de água doce.

Figura 4 - Caramujo do gênero *Biomphalaria* sp.



Fonte: Duval et al., 2015

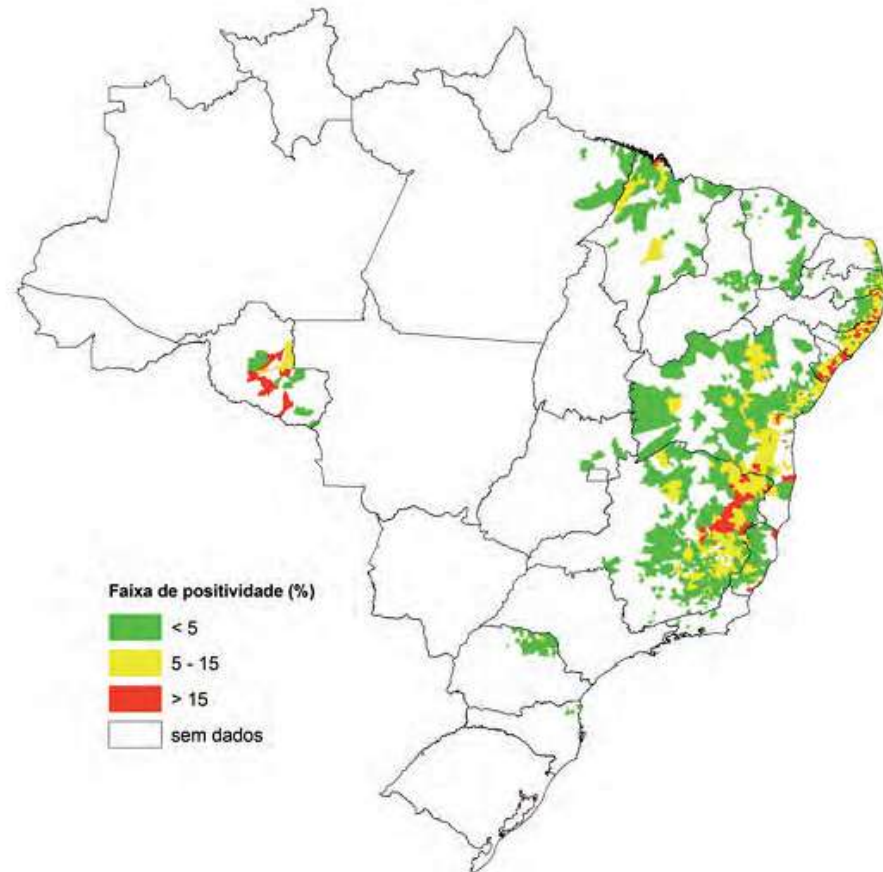
No nosso país, a esquistossomose mansoni ainda é considerada uma doença negligenciada de elevada prevalência, apresentando áreas endêmicas e focais com complicações e gravidades (STEINMANN et al., 2006; RASO et al., 2007; VITORINO et al., 2012). A doença está presente em 19 estados da federação: nos estados do Ceará, Piauí e Maranhão, no Nordeste; Pará, na região Norte; Goiás e Distrito Federal, no Centro-Oeste; Espírito Santo, São Paulo e Rio de Janeiro, no Sudeste; Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, na Região Sul (Figura 5).

Estima-se que 6 milhões de pessoas estejam infectadas e 25 milhões vivam em situações com potencial risco de contrair a parasitose, estando o maior número de casos concentrados principalmente na região Nordeste (BRASIL, 2014).

É possível observar que a distribuição da esquistossomose no Brasil é mais intensa em quase toda faixa litorânea da região Nordeste, entretanto, foi detectado um foco em Rio Grande do Sul, no município de Esteio em 1997, já extinto atualmente (GRAEFF-TEIXEIRA et al., 2004).

A morbidade da esquistossomose mansoni representa um grande dano à saúde da população, à qualidade de vida e ao desenvolvimento econômico da população.

Figura 5 - Distribuição da esquistossomose segundo percentual de positividade no Brasil(2012).



Fonte: Brasil, 2014.

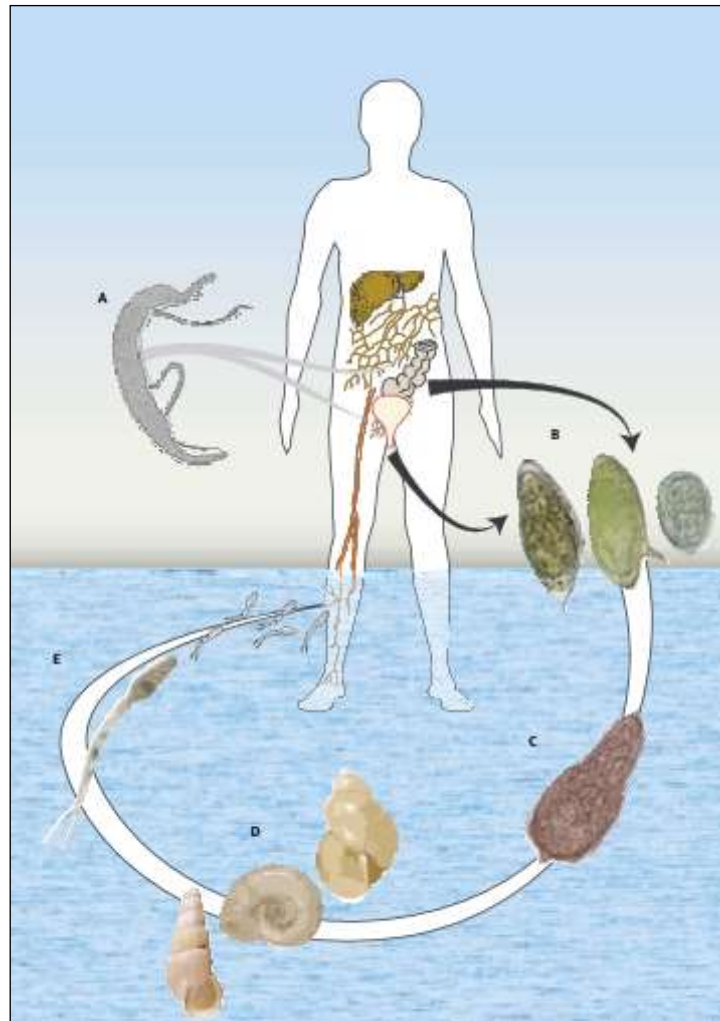
O agente etiológico e o ciclo biológico da esquistossomose mansoni

Schistosoma mansoni, Sambon 1907 agente causador da esquistossomose mansoni, é um Platelmino (verme achatado), da classe dos Trematódeos (de forma foliácea), família Schistosomatidae, que apresenta como característica a existência de sexos separados, com nítido dimorfismo sexual. A etimologia do termo *Schistosoma*, que designa o gênero, refere-se à fenda (schisto) no corpo (soma) do macho, chamada de canal ginecóforo.

O ciclo de vida do *S. mansoni* é complexo, envolvendo mamíferos (hospedeiros definitivos) e moluscos (hospedeiros intermediários) (REY, 2001) (Figura 6). O hospedeiro vertebrado infectado defeca próximo a coleções de água doce e, juntamente, com as fezes são liberados ovos do parasito, contendo uma larva ciliada denominada miracídio. Por conta de estímulos luminosos e térmicos, o miracídio eclode na água e se desloca com o auxílio de seus cílios até encontrar o molusco suscetível do gênero *Biomphalaria*. O miracídio penetra, perde

os cílios, e por um processo de multiplicação assexuada são formadas gerações de esporocistos inicialmente primários (Figura 7A), depois esporocistos secundários, que dão origem a milhares de cercarias bifurcadas, formas infectantes para o hospedeiro definitivo (Figura 7B). Em geral, o ciclo completa-se em torno de 30 dias.

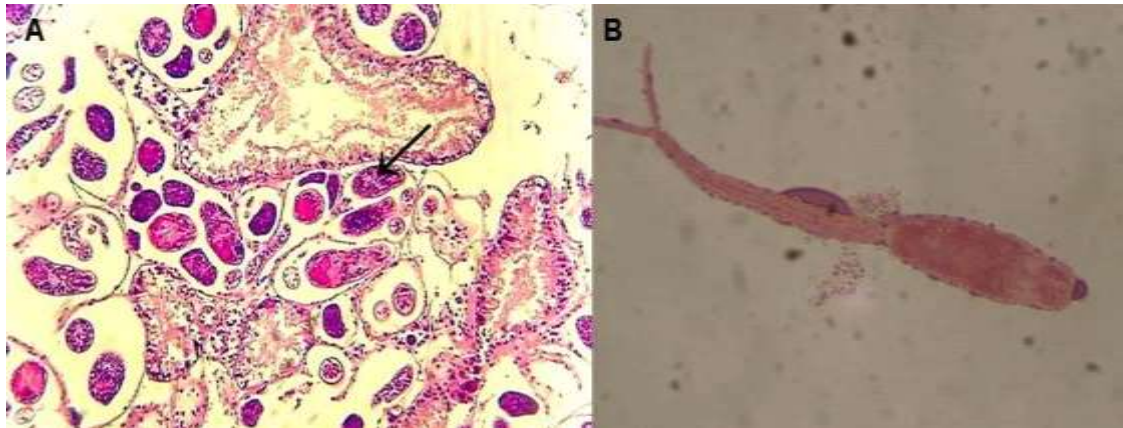
Figura 6 - Ciclo biológico do *Schistosoma mansoni*.



Legenda: A - *Schistosoma mansoni* adulto (macho robusto com a fêmea delgada dentro do seu canal ginecóforo). B - ovos (da esquerda para a direita, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum*). C - miracídio ciliado de *Schistosoma mansoni*. D - gastrópodes hospedeiros intermediários (da esquerda para a direita, *Oncomelania*, *Biomphalaria*, *Bulinus*). E - cercarias de *Schistosoma mansoni*.

Fonte: Gryseels et al., 2006.

Figura 7 - Esporocistos e cercaria de *Schistosoma mansoni* em *Biomphalaria sp.*

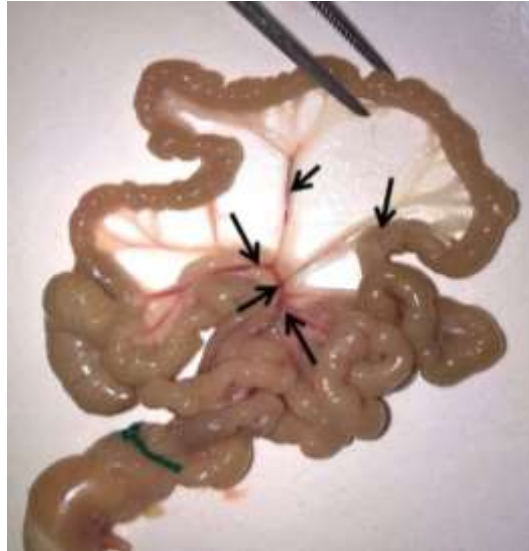


Legenda: A- Esporocisto de *Schistosoma mansoni* (seta). Coloração HE, 200x. B- Cercaria de *Schistosoma mansoni*.

Fonte: O autor, 2017.

Fatores ambientais como temperatura e luminosidade estimulam a liberação das cercarias, que no meio aquático permanecem infectantes por cerca de 24 horas. O ciclo no hospedeiro definitivo se estabelece quando as cercarias penetram de forma ativa pela pele, por meio de secreções proteolíticas. No local de penetração, as cercarias perdem a cauda bifurcada, sofrem reorganização no tegumento, para adaptação ao novo ambiente, e passam para a forma evolutiva denominada esquistossômulo. Os esquistossômulos migram na derme, passam para a corrente sanguínea e são levados ao coração e pulmões (REY, 2001; GRYSEELS et al., 2006). Em torno do 15º dia de infecção, os esquistossômulos (com sexo determinado desde a fase de miracídio) deixam os pulmões e são carregados para a circulação porta hepática. Em torno de 30 dias de infecção, as formas imaturas desenvolvem o sistema reprodutor e se tornam helmintos adultos. Após o acasalamento nos vasos intra-hepáticos os espécimes adultos migram acasalados para as veias mesentéricas onde ocorre a oviposição e eliminação de ovos nas fezes (Figura 8).

Figura 8 - Localização dos helmintos adultos (setas) de *Schistosoma mansoni* no interior dos vasos mesentéricos de camundongo albino.



Fonte: Acervo do laboratório de Helminologia Romero Lascasas Porto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Manifestações clínicas da esquistossomose mansoni

Os ovos do parasito postos nos vasos mesentéricos são eliminados nas fezes para continuidade do ciclo. Em virtude do sentido da circulação sanguínea em direção ao fígado, uma grande parte produzida retorna a esse órgão e fica retida nos vasos pré-sinusoidais. Em muitos casos a esquistossomose mansoni é assintomática. Nos casos sintomáticos, as manifestações clínicas irão depender de múltiplos fatores, como carga parasitária, número de infecções e características do hospedeiro tais como, o estado nutricional, a constituição genética, a idade e, principalmente o perfil imunitário (REY, 2001; COURA; AMARAL, 2004).

A esquistossomose mansoni é dividida em fase aguda e crônica (REY, 2001). As manifestações clínicas da fase aguda iniciam com a penetração das cercarias na pele, causando um intenso prurido local conhecido como dermatite cercariana. Importante, esse quadro só é bem caracterizado em pacientes de fora de área endêmica, por exemplo, viajantes. Um ou dois meses após a infecção, o homem pode apresentar sintomas como febre, mialgia, fadiga, dor de barriga e dor abdominal. Estes sintomas geralmente são apresentados na fase aguda da doença, porém há muitos casos assintomáticos (LAMBERTUCCI, 1993; ROCHA et al., 1995; COURA; AMARAL, 2004; BOTTIEAU et al., 2006).

A fase crônica pode ser dividida em três formas clínicas: intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica sendo esta última subdividida em compensada e descompensada (REY, 2001;

BRASIL, 2014). A forma intestinal é muito comum em áreas endêmicas e caracteriza-se por lesões hepáticas moderadas com sintomatologia como astenia, desconforto abdominal, perda de apetite, disenteria e cólicas intestinais. Estes sintomas dificultam o diagnóstico visto que são similares a outros tipos de doenças (DOMINGUES; DOMINGUES, 1994; COURA; AMARAL, 2004).

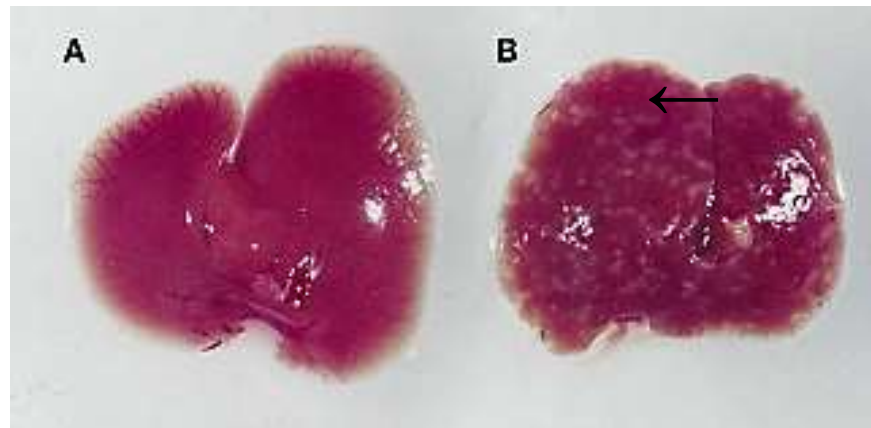
Na forma hepatointestinal, a sintomatologia é semelhante à intestinal, entretanto as lesões hepáticas são mais intensas principalmente no baço e no fígado (REY, 2001). Na forma hepatoesplênica as manifestações clínicas são mais severas tais como: circulação colateral, ascite e formação de varizes gastroesofágicas em decorrência da hipertensão portal causada pela fibrose de Symmers (DOMINGUES; DOMINGUES, 1994).

Em modelo murino a fase aguda é considerada aguda até a 6^a-9^a semana (ANDRADE, 1987; WYNN et al., 1993; COSTA- SILVA et al., 2002) e crônica a partir da 12^a (FALLON, 2000; PEARCE; MACDONALD, 2002).

Patologia geral e patogênese da esquistossomose mansoni

Os ovos do parasito que não conseguiram atravessar as camadas do intestino para eliminação pelas fezes ou ficam retidos nos tecidos intestinais ou são embolizados para o fígado, em virtude do sentido da circulação sanguínea e ficam retidos nos capilares pré-sinusodais. A principal patologia associada à infecção por *S. mansoni* é o desenvolvimento de inflamação granulomatosa em torno desses ovos retidos (Figura 9). Essas secreções provenientes do miracídio são denominadas Antígeno Ovular Solúvel (SEA) e têm como composição enzimas e complexas frações de glicoproteínas. Esses antígenos geram uma resposta inflamatória capaz de ativar o sistema imune celular do hospedeiro (STADECKER et al., 2004; ANDRADE, 2009). Sendo a reação inflamatória granulomatosa gerada em torno dos ovos depositados pelos parasitos nos tecidos, a alteração mais importante na imunopatologia da esquistossomose (HAMS et al., 2013; PEARCE; MACDONALD, 2002).

Figura 9 - Granulomas esquistossomóticos hepáticos.



Legenda: A - Imagem de fígado de animal não infectado. B - Fígado de animal infectado com *Schistosoma mansoni* com a presença de granulomas periovulares. Representações de modelos experimentais murinos.

Fonte: Hams et al., 2013. Adaptado.

Granuloma esquistossomótico

A formação do granuloma está associada principalmente à proteção do hospedeiro contra substâncias agressoras como os antígenos solúveis liberados pelo ovo (SEA), dessa forma, impedindo sua difusão para o meio vascular (WILLIAMS; WILLIAMS, 1983; LENZI et al., 1991; ANDRADE, 2009).

O granuloma esquistossomótico é uma coleção compacta, dinâmica e organizada de células migrantes, em sua maior parte componentes do sistema fagocitário mononuclear, que juntamente com as células do tecido afetado, dispõem-se em meio a componentes de matriz extracelular, formando uma estrutura com semelhança esférica que circunda o ovo (LENZI et al., 1991).

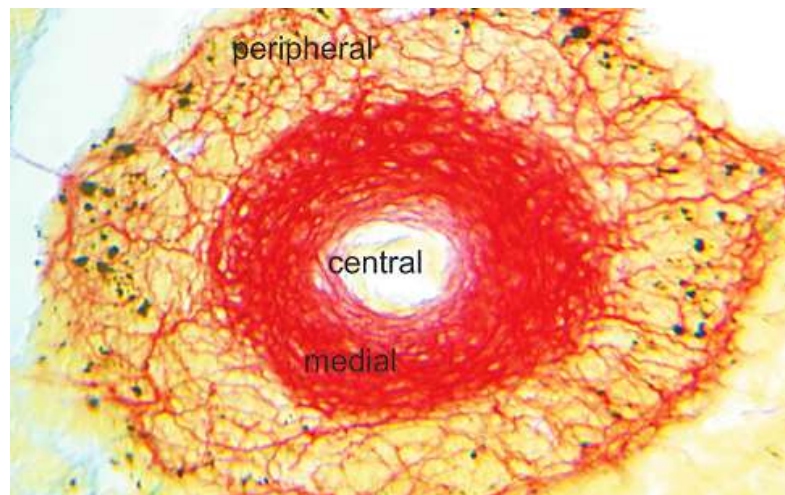
Com base na classificação de Li-Hsu et al. (1972), Lenzi e colaboradores (1998) classificaram a reação granulomatosa em dois estágios: pré-granulomatosa, (fase reativa inicial e fase exsudativa) e exsudativa (fase exsudativa-produtiva, fase produtiva e fase involutiva). A reação granulomatosa inicial caracteriza-se pelo acúmulo de células do sistema mononuclear fagocitário como macrófagos, leucócitos, neutrófilos e eosinófilos. Estes últimos, juntamente com linfócitos, se organizam ao redor do ovo levando a formação de um infiltrado celular, assim caracterizando a fase exsudativa. Nesta fase pode ocorrer presença de células gigantes ao redor do ovo, degeneração e necrose de leucócitos remanescentes.

Na fase exsudativa-produtiva, observa-se células migrantes, fibroblastos e miofibroblastos que começam a sintetizar componentes de matriz extracelular como: colágenos

intersticiais I e III, fibronectina, laminina, tenascina, vitronectina e proteoglicanos. Nesta fase é possível verificar no granuloma três zonas diferente: uma zona central com células de Kupffer, histiócitos, e células gigantes em alguns casos; uma zona medial ou paracentral, com fibroblastos e fibrócitos e uma zona periférica com plasmócitos, histiócitos e linfócitos com frequente eosinopose, neutropose e monocitopose (COSTA-SILVA et al., 2002; LENZI et al., 2006) (Figura 10).

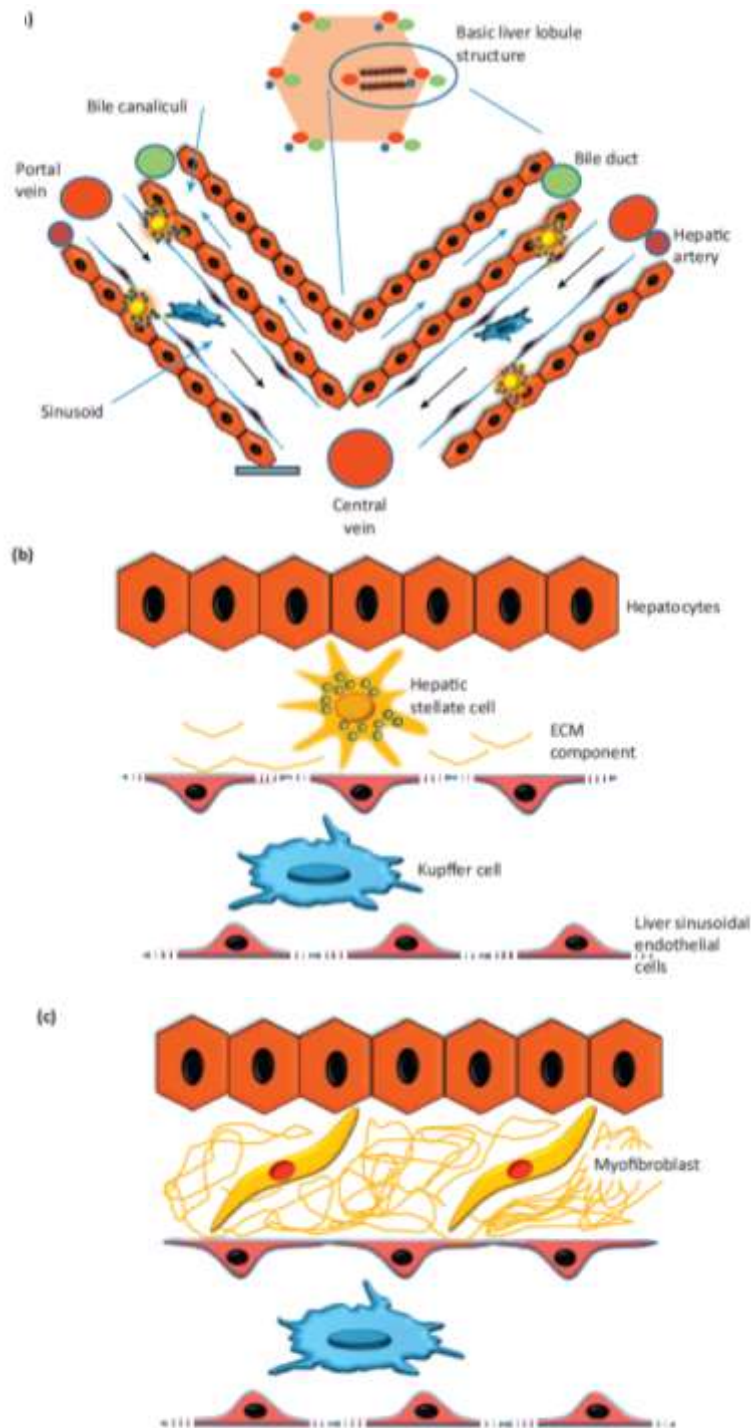
No fígado, células estreladas (HSCs), também chamadas de células de Ito, rica em gordura e vitamina A têm papel importante no estímulo de citocinas fibrogênicas (Figura 11). Elas são responsáveis pela produção de colágeno e pela fibrogênese no sítio granulomatoso (ANTHONY; RAMM; MCMANUS, 2012). Acredita-se que as HSCs sejam a principal fonte de deposição de colágeno no fígado, com um papel importante no remodelamento da matriz extracelular na esquistossomose (BOOTH et al., 2004) e na fibrose induzida pelos antígenos do ovo. Ao final desta fase, com a morte do miracídio no interior do ovo, a quimiotaxia começa a cessar. As fibras de colágeno se aproximam uma das outras conferindo um grau de compactação, assim se caracterizando a fase produtiva. Essa fase é seguida da diminuição significativa da camada interna e desintegração total do ovo, segundo Lenzi et al. (1998), essa fase é denominada fase involutiva.

Figura 10 - Granuloma esquistossomótico hepático e suas diferentes regiões.



Fonte: Lenzi et al., 2006.

Figura 11 - Principais células hepáticas e transdiferenciação de células estreladas.



Legenda: O lóbulo hepático é a unidade funcional do fígado (a). Com uma estrutura hexagonal onde o sangue é passado da veia porta hepática e da artéria hepática através dos sinusóides para a veia central. A bile também é drenada do fígado através dos canalículos biliares e dos canais biliares. No fígado normal (b) a célula estrelada hepática (HSC) está localizada entre as células endoteliais sinusoidais do fígado e os hepatócitos no espaço de Disse, onde é responsável pela armazenagem de vitamina A e pela homeostase e manutenção de uma célula de pouca densidade de matriz extracelular. No fígado lesado (c), HSC é induzida a sofrer transdiferenciação num miofibroblasto proliferativo, perdendo a sua capacidade de armazenar vitamina A e produzindo uma matriz espessa semelhante a cicatriz constituída por colágenos fibrilares. Isto impede o fluxo de solutos para os hepatócitos nesta lacuna e faz com que a fenestra se feche, reduzindo a capacidade de o fígado funcionar corretamente na área afetada.

Fonte: Anthony et al., 2012.

Adicionalmente, estudos *in vitro* revelaram que SEA induzem a proliferação de células endoteliais e regulam o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e a angiogênese (FATTAH; AHMED, 2011). A proliferação de células endoteliais também está associada à ativação de pericitos, células que apresentam actina e alta plasticidade e capacidade de se transformar em miofibroblastos, estas últimas são importantes células de matriz envolvida no remodelamento vascular (FREEDMAN; OTTESEN, 1988; LOEFFLER et al., 2002; BAPTISTA; ANDRADE, 2005).

Em lesões agudas as alterações são passageiras, pois, as células lesionadas são substituídas por células regeneradas. A pouca matriz fibrosa produzida é degradada e o fígado restaura sua composição normal (HERNANDEZ-GEA; FRIEDMAN, 2011).

O uso de modelos animais tem facilitado o avanço no entendimento da imunopatologia da esquistossomose mansoni. Sabe-se que nas primeiras semanas de infecção (3-5), o sistema imune induz a ativação de uma resposta imune tipo 1, com o aumento de células Th1, liberação de interleucina 12 (IL-12) e interferon gama (IFN- γ) (PEARCE; MACDONALD, 2002). A resposta imunológica do tipo 1 tem seus componentes diminuídos, enquanto que concomitante emerge uma potente resposta imune tipo 2 após 5-6 semanas da produção dos ovos (VELLA et al., 1992; ANDRADE, 2009). Os antígenos solúveis secretados pelo ovo estimulam uma resposta tipo 2 desencadeando uma expansão de células Th2, produção de IL-4, IL-5 e IL-13, acompanhada por uma regulação nos níveis de IgE e eosinófilos circulantes (HAMS et al., 2013).

A resposta granulomatosa aos ovos é primeiramente orquestrada por linfócitos T CD4⁺. Contudo, linfócitos T, linfócitos B e macrófagos M2 também têm demonstrado importante papel na regulação e formação do granuloma (FALLON et al., 1998; RUTITZKY; MIRKIN; STADECKER, 2003; HERBERT et al., 2004).

Muitos fatores podem influenciar na formação e modulação granulomatosa. Através de análises morfométricas, estudos confirmam que o processo de desenvolvimento do granuloma esquistossomótico hepático é influenciado pela cepa do parasito (COELHO et al., 1989), pela fase da doença (aguda ou crônica) (RASO et al., 1978, CHEEVER et al., 2002), pelo hospedeiro (COSTA-SILVA et al., 2002) e seu tipo de dieta (NEVES et al., 2007b).

O estado nutricional na esquistossomose mansoni

O estado nutricional do hospedeiro definitivo na esquistossomose foi estudado em muitas publicações (PARRAGA et al., 1996; CHEEVER et al., 2002; COUTINHO, 2004; NEVES et al., 2007 a,b; 2009; ALENCAR, 2015). Inquéritos clínicos e epidemiológicos

realizados por Coutinho et al. (1972) em populações de áreas endêmicas no nordeste brasileiro, e por outros autores em regiões endêmicas do mundo, possibilitaram relacionar a patologia ao estado nutricional do indivíduo. Desta forma foi possível observar a importância do estado nutricional à parasitose.

Em trabalhos experimentais têm sido demonstrado que o estado nutricional pode contribuir para alterar o quadro da fibrose hepática periportal na esquistossomose (COUTINHO et al., 1997; 2003; 2007). Acredita-se que o fator desnutrição comprometa os mecanismos imunológicos do hospedeiro causando reações imunológicas deficientes, assim inibindo o desenvolvimento de fibrose em camundongos desnutridos (CHANDRA, 1991; MEIRA, 1995; COUTINHO et al., 1997; BARROS et al., 2009).

Em estudo experimental com modelo murino, onde foi administrada uma dieta pobre em proteínas, Barros et al., (2009) observaram que os vermes fêmeas apresentavam glândulas vitelínicas com poucos folículos e ovários sem oócitos maduros e nos helmintos machos os tubérculos eram menos numerosos e com poucas células germinativas, sugerindo que uma dieta pobre em proteína pode influenciar no desenvolvimento de vermes adultos e na oviposição.

Helmintos e lipídeos

Muitos parasitos que habitam vasos sanguíneos, como *S. mansoni* incorporam lipídios, entre eles o colesterol, como nutriente do hospedeiro porque não são capazes de sintetizar ácidos graxos de cadeia longa ou colesterol 'de novo' (MEYER; MEYER; BUEDING, 1970).

Em doenças causadas por helmintos em modelos experimentais, o metabolismo lipídico tem sido temática de muitos estudos (BANSAL et al., 2005; GUIGAS; MOLOFSKY, 2015).

Estudos em modelos experimentais (NEVES et al., 2007a,b) e em humanos portadores de esquistossomose mansoni na forma hepatoesplênica demonstram a ocorrência de alterações no metabolismo lipídico associadas à patologia, na qual há diminuição nas concentrações plasmáticas de colesterol total, bem como nos níveis de fosfolipídios e triglicerídeos (DIMENSTEIN et al., 1992). Lipídios são componentes fundamentais na manutenção da infecção esquistossomótica no hospedeiro vertebrado, pois atuam na defesa do parasito à resposta imunológica do hospedeiro, no estímulo à oviposição do parasito e conseqüentemente no curso da infecção e nas alterações histopatológicas (MEYER; MEYER; BUEDING, 1970; WUHRER et al., 2000; NEVES et al., 2007b; GUIGAS; MOLOFSKY, 2015)

Modelo experimental murino na esquistossomose e dislipidemias

A comunidade científica tem buscado modelos experimentais que mimetizem o fenótipo humano e sejam adequados para o conhecimento de patologias, drogas e afins (GADJA et al., 2007). Nesse sentido, uma variedade de modelos murinos tem sido usados em estudos sobre obesidade e dislipidemias. No que diz respeito ao modelo experimental, o C57BL/6 tem sido comumente apresentado como um dos que melhor desenvolve distúrbios metabólicos como dislipidemias (STEWART et al., 2002; JOVICIC et al., 2015).

Diversos autores têm analisado a interação entre lipídios e esquistossomose mansoni em modelos experimentais (LIMA et al., 1998; RAMOS et al., 2004; NEVES et al., 2007a, b; 2006; ALENCAR 2009; ALENCAR et al., 2012; ALENCAR, 2015).

Observações feitas por Doenhoff et al. (2002) indicam que os helmintos adultos de *S. mansoni* podem neutralizar efeitos de doenças como aterosclerose pela modulação do metabolismo lipídico do hospedeiro e induzir uma redução dos níveis de colesterol total sanguíneo. Reduções nos níveis séricos de colesterol em camundongos esquistossomóticos submetidos à dieta hiperlipídica também foram observadas por ALENCAR et al., (2009), (ALENCAR et al. 2012) e NEVES et al. (2006; 2007b,).

Camundongos da linhagem C57BL/6 representam um bom modelo para dislipidemias e síndrome metabólica, podendo desenvolver hiperglicemia de leve a moderada e hiperinsulinemia. Cada linhagem de camundongo desenvolve uma patologia de intensidade específica, por exemplo, no caso da esquistossomose o C57BL/6 desenvolve pouca patologia, enquanto que modelos como CBA e C3H podem desenvolver uma patologia mais intensa para a doença (RUTITZKY; MIRKIN; STADECKER, 2003). Entretanto, estes últimos não são modelos de excelência quando objetiva estudar obesidade, dislipidemias e síndrome metabólica.

Camundongos da linhagem C57BL/6 desenvolvem prontamente uma patologia cuja resposta imunológica é mediada por citocinas Th1, enquanto que modelos CBA e C3H exibem uma dupla resposta de intensidade média ou elevada mediadas por citocinas Th1 e Th2, de acordo com o tempo de infecção (VELLA et al., 1992; HERNANDEZ., et al 1998; STADECKER et al., 1998).

Infecções e inflamações hepáticas contribuem para alterações no metabolismo lipídico elevando a síntese de ácidos graxos nos hepatócitos. Em quadros infecciosos mais severos ocorre a redução do VLDL, da lipoproteína lipase e da apolipoproteína E, que regula o metabolismo e os níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos (KHOVIDHUNKIT et al., 2004).

Os adipócitos secretam várias proteínas e citocinas de fase aguda que, direta ou indiretamente, elevam a produção e circulação de fatores relacionados à inflamação como IL-6, TNF- α , leptina e adiponectina (BULLO et al., 2003; CONWAY; RENE, 2004). Sabe-se que as dislipidemias e obesidade alteram a resposta inflamatória do hospedeiro e favorecem o parasito dependendo do modelo de estudo (CHEN et al., 2013; SHEN et al., 2015). Embora não existam investigações epidemiológicas sobre essas comorbidades, modelos experimentais são importantes fontes de dados para o conhecimento e entendimento das alterações hepáticas desencadeadas pela esquistossomose e desordens metabólicas.

1 JUSTIFICATIVA

O perfil nutricional da população ocidental mudou nas últimas décadas. Sabe-se que o estado nutricional tem influência significativa na patogenia e nas manifestações clínicas de muitas morbidades, como a esquistossomose mansoni. Muitos estudos têm demonstrado como dietas hipoproteicas, como a Dieta Básica Regional (DBR), afetam o parasito e os granulomas esquistossomóticos em diferentes fases da infecção em diferentes modelos. Trabalhos com a administração de dietas hiperlipídicas em modelos experimentais associados à infecção por *S. mansoni* evidenciam uma relação direta entre o colesterol e o desenvolvimento do parasito e o aumento da oviposição. Sabe-se que uma grande disponibilidade de lipídios favorece o sistema de escape do parasito e a fertilidade dos vermes adultos.

Neste contexto, buscamos verificar a inter-relação entre a esquistossomose mansoni na fase aguda e a dislipidemia no modelo experimental de camundongo isogênico C57BL/6, de forma a assumir relevância e base para investigações sobre a patogenia, patologia, imunologia e tratamento dessas comorbidades em populações humanas afetadas para estudos posteriores.

2 OBJETIVOS

2.1- Geral

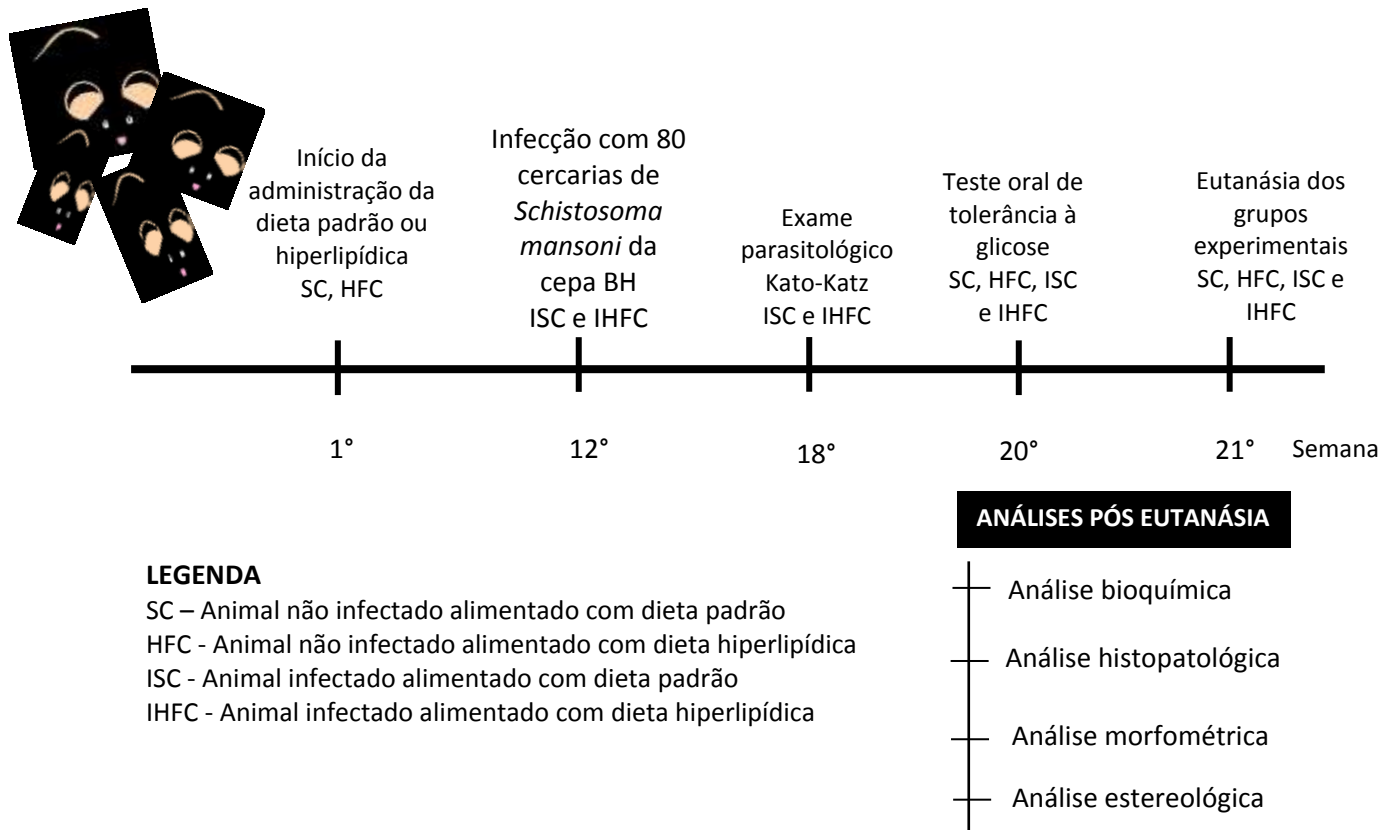
Verificar a inter-relação entre a esquistossomose mansoni na fase aguda e a síndrome metabólica no modelo experimental de camundongo isogênico C57BL/6.

2.2- Específicos

1. Comparar a massa corporal dos camundongos infectados alimentados com a dieta hiperlipídica e a padrão;
2. Comparar a massa hepática dos animais nas condições acima;
3. Realizar a análise bioquímica sanguínea.
4. Quantificar os ovos de *S. mansoni* encontrados no intestino delgado dos hospedeiros;
5. Realizar a análise morfológica e morfométrica dos granulomas;
6. Efetuar estereologia do tecido hepático;
7. Estudar a histologia hepática nesta comorbidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Desenho experimental



LEGENDA

SC – Animal não infectado alimentado com dieta padrão
 HFC - Animal não infectado alimentado com dieta hiperlipídica
 ISC - Animal infectado alimentado com dieta padrão
 IHFC - Animal infectado alimentado com dieta hiperlipídica

Fonte: O autor, 2017.

3.2- Modelo experimental

Camundongos machos, da linhagem C57BL/6, com 5 semanas de idade foram mantidos em caixas de polipropileno (40 x 33 cm) no Biotério da Disciplina de Parasitologia do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, sob condições controladas de temperatura (21 ± 2 °C), umidade ($60 \pm 10\%$), exposição a ciclos de luz artificial e escuro (12h:12h), exaustor para circulação do ar e livre acesso à comida e água. Os camundongos foram obtidos do Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. A utilização dos animais neste estudo foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UERJ) sob a licença nº CEUA/013/2013.

3.3 Dieta experimental

Com dois meses de idade, os animais receberam uma dieta padrão (SC, 10g de lipídios/100g de dieta) ou dieta hiperlipídica (HFC, 60g de lipídios/100g de dieta). O conteúdo de vitaminas e minerais de ambas as dietas seguiu as recomendações do Instituto Americano de Nutrição (AIN 93M), segundo Reeves (1993) conforme apresentado na Tabela 1. A dislipidemia foi induzida pela administração da dieta hiperlipídica com banha de porco. A dieta especial foi fornecida pela PragSoluções Biociências (www.pragsolucoes.com.br). Antes do início da administração da dieta especial, os animais foram alimentados com ração Nuvilab, dieta comercial balanceada (Quimtia S.A, Colombo, Paraná, Brazil), contendo 22% de proteína. As dietas foram administradas aos animais “*ad libitum*”, em forma de “pellets”.

Tabela 1 - Composição da dieta experimental

Conteúdo (g/kg)	Grupos	
	SC	HFC
Caseína	140,0	190,0
L-cisteína	1,8	1,8
Amido de milho	620,7	250,69
Sacarose	100,0	100,0
Fibras	50,0	50,0
Óleo de soja	40,0	40,0
Banha de porco	--	320,0
Mix de vitaminas	10,0	10,0
Mix de minerais	35,0	35,0
Colina	2,5	2,5
Antioxidante	0,008	0,008
Proteína (%)	14	14
Lipídios (%)	10	60

Legenda : SC – dieta padrão, HFC- dieta hiperlipídica.

Fonte : Adaptado de REEVES et al. (1993)

3.4 Grupos experimentais e infecção

Foram formados os seguintes grupos experimentais: Controle Dieta Padrão (SC, n=5), Controle Dieta Hiperlipídica (HFC, n=9), Infectado Dieta Padrão (ISC, n=9), Infectado Dieta Hiperlipídica (IHFC, n=10). Os camundongos dos grupos ISC e IHFC foram infectados individualmente com aproximadamente 80 cercarias de *S. mansoni* da cepa BH (Belo Horizonte), mantida no Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-Rio de Janeiro). A infecção foi realizada por via subcutânea 90 dias após o início da administração das dietas. Após 42 dias de infecção, todos os animais foram submetidos a exame parasitológico (Katz et al., 1972) para comprovar a eficácia da infecção.

3.5 Biometria animal

A massa corporal (MC) de todos os grupos foi avaliada, semanalmente, em balança de precisão (Ohaus Corporation, USA) durante todo o período de indução à dieta, no mesmo horário (quarta-feira, 16h) pelo mesmo observador, assim como o ganho de massa corporal.

3.6 Dados metabólicos - Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

Uma semana antes da eutanásia foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Amostras de sangue para dosar a glicemia de jejum foram obtidas após uma pequena incisão na ponta da cauda, após um período de 6 horas de jejum. Em seguida, uma solução de glicose (25% glicose em solução salina estéril 0,9% NaCl) numa dose de 1g/kg foi administrada por gavagem orogástrica. A concentração de glicose plasmática foi aferida antes da sobrecarga de glicose e nos seguintes tempos subsequentes a esta: 15, 30, 60 e 120 minutos usando um glicosímetro (Accu-check, Roche Diagnostic, Germany). Os valores da glicemia em jejum foram considerados no tempo zero. A área sob a curva foi calculada a partir de zero a 120 minutos e foi medida em unidades arbitrárias (a.u.) para avaliar a tolerância à glicose (GraphPad Prism v. 6.05 para Windows; GraphPad Software, La Jolla, CA, USA).

3.7 Eutanásia

Todos os animais foram mortos com 21 semanas de dieta e os infectados após 9 semanas de infecção por sobrecarga de CO₂. Após esta etapa, os seguintes procedimentos foram realizados: pesagem do animal, em seguida o tórax foi aberto por incisão mediana ventral e as amostras de sangue foram obtidas por punção cardíaca (átrio direito). O fígado e todos os depósitos de gordura visceral foram removidos e pesados em balança digital de precisão.

3.8 Análise bioquímica

Após a coleta das amostras de sangue, o plasma foi separado por centrifugação (2500 rpm por 20 min) em temperatura ambiente e estocado a -20°C até a realização das análises bioquímicas. Colesterol total (TC), triglicerídeos (TG) e HDL foram determinados por um ensaio cinético colorimétrico (Bioclin 100, Quibasa Química Básica, Belo Horizonte, MG, Brasil). A fórmula de Friedwald foi utilizada para calcular a concentração de LDL ($\text{LDL} = [\text{CT} - \text{HDL}] - [\text{TG}/5]$).

3.9 Quantificação de ovos no tecido – Oograma

O oograma foi realizado pelo método de digestão tecidual do intestino delgado em hidróxido de potássio a 56°C (CHEEVER, 1968) e centrifugado (2.000 rpm) por 5 minutos. Foram colocadas em lâmina histológica cinco alíquotas de 50 μl do tecido digerido, cobriu-se com lamínula e os ovos visualizados por microscopia de luz foram contados (MARTINEZ et al., 2003).

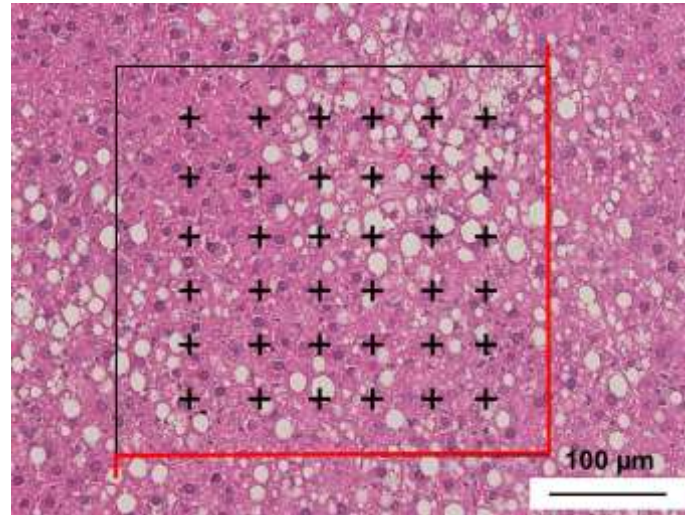
3.10 Análise estereológica

A estereologia é uma técnica quantitativa cujos princípios levam em consideração a geometria e a probabilidade estatística (WEIBEL, 1979; JENSEN, 1998). Ela é uma ferramenta numérica para responder perguntas experimentais através de uma estimativa do real. A técnica é composta de um sistema de teste normalmente composto por pontos de teste, linhas de teste sobre um quadro (ou área de teste). Esta técnica estima densidades por volume como: densidade de volume (V_v), densidade de comprimento (L_v), densidade de superfície (S_v) e densidade numérica (N_v). Densidades por área também pode ser estimada: densidade de área (A_A) e a densidade numérica por área (N_A ou Q_A) são frequentemente estimados (PEREIRA; MANDARIM-de-LACERDA, 2001).

A análise morfológica foi realizada por microscopia de campo claro pela técnica de estereologia, utilizando um sistema de vídeo-microscopia com um microscópio (Olympus BX41, USA), com um aumento de 200x e um sistema teste com 36 pontos totais (P_T) acoplados ao monitor (Figura 12). As imagens foram analisadas e capturadas usando o software de análise de imagem (Image Pro Plus Cybernetics, USA). A densidade volumétrica de hepatócitos, esteatose, sinusóides, necrose e fibrose hepática foram estimadas por contagem dos pontos que tocavam tais estruturas: cinco campos microscópicos foram analisados aleatoriamente em cortes de fígado de cada animal. $V_v[\text{estrutura}] = P_P[\text{estrutura}] / P_T$ (onde P_P é o número de pontos que tocam as estrutura avaliada e P_T é o número total de pontos na grade teste) (MANDARIM-de-LACERDA, 2003).

A densidade numérica de núcleos de hepatócitos foi estimada usando o disector óptico (STERIO, 1984) como $N_v [h] = Q/t \cdot A_T \text{ 1/mm}^3$, onde Q é o número de núcleos de hepatócitos visto em foco apenas no plano look-up, t a espessura do disector, e A_T a área de teste. O número de núcleos por hepatócitos ($N[h]$), o número de hepatócitos mononucleadas ($N[nh]$), os hepatócitos binucleados $N[bh]$ foram estimados como o produto da densidade numérica do núcleo de hepatócitos pelo volume hepático medido anteriormente (MANDARIM-de-LACERDA, 2003). O número de pontos de infiltrados inflamatórios foi verificado pelo mesmo método. Esta técnica tem sido um método bastante usada como ferramenta padronizadora e quantitativa para avaliar lesões hepáticas em estudos clínicos (FRANZEN et al., 2005; LAZZARINI et al., 2005) e os efeitos nutricionais de dietas hiperlipídica em modelos murinos na infecção por nos últimos anos (AGUILA et al., 2003; NEVES et al., 2006).

Figura 12 - Análise estereológica usando o sistema de cruces D36. Fígado de camundongo C57BL/6 com esteatose .



Fonte: O autor, 2017.

3.11 Estudo morfométrico

A morfometria determina os comprimentos, perímetros e áreas obtidos por software de análise de imagem. Para este estudo, foi utilizado um microscópio de campo claro (Olympus BX41, Olympus America, USA) para avaliar os cortes histológicos. As imagens foram capturadas por uma câmera digital (BEL Photonics do Brasil, Piracicaba, SP, BR) e transferidas para um computador contendo o software para análise de imagem (Image Pro Plus Cybernetics, USA). Utilizando-se aumento de 100x, dez campos microscópicos por animal foram obtidos randomicamente. Foram analisados cortes histológicos de fígado de animais dos grupos infectados de ambas as dietas, corados por HE para realização da morfometria dos granulomas. Os parâmetros analisados foram área e perímetro. Os granulomas foram classificados de acordo com Costa-Silva et al. (2002).

3.12 Avaliação histopatológica

O fígado de cada animal foi retirado, pesado, fixado em formalina tamponada e processado para análise histopatológica, seguindo a rotina do grupo de pesquisa (Tabela 2). O tecido desidratado em série alcoólica, diafanizado em xilol e incluído em parafina, foi cortado em micrótomo (Leica, modelo RM2125RTS), onde obtivemos secções de 5µm de espessura, e corados com Tricrômico de Masson, Picrosirius, hematoxilina e eosina (HE) e Giemsa. Aspectos morfológicos e histopatológicos do tecido hepático foram observados em microscópio Olympus BX41 onde foi levado em consideração possíveis alterações no parênquima hepático dos grupos envolvidos na pesquisa como necrose, processos inflamatórios, deposição de colágeno e modificações na estrutura e composição celular para a avaliação qualitativa da composição de células presentes nos granulomas esquistossomóticos (Tabela 3).

Tabela 2 - Etapas da preparação histológica (processamento histológico, fixação do órgão e montagem da lâmina).

ETAPAS	FINALIDADE	TEMPO
1. Fixação: Solução formol-Millonig tamponado	Preservar a morfologia e composição química dos tecidos.	Mínimo de 48 horas
2. Desidratação: Série alcoólica crescente – etanol 80%, 95% (3x) e absoluto (3x)	Remover água dos tecidos	15 minutos em cada série
3. Diafanização: Xilol, iniciando por uma mistura de etanol absoluto + xilol 1:1, seguidos de dois banhos de xilol puro.	Embeber o material em xilol, substância miscível com parafina. Esta etapa clarifica levemente o tecido.	15 minutos em cada série
4. Impregnação: Parafina líquida derretida em estufa a 58°C.	Possibilitar a obtenção de cortes finos visto que a parafina penetra os espaços intercelulares e depois de solidificada da rigidez ao tecido.	2 séries de 10 minutos e uma de 5 minutos
5. Inclusão: O material foi incluído em um molde contendo parafina e deixado fora da estufa para que se solidificasse.	Obter bloco de parafina com o material incluído para permitir os cortes histológicos.	Tempo necessário para que a parafina se solidificasse. Depende da temperatura ambiente.
6. Microtomia: Cortes realizados em micrótomo.	Obter cortes seriados de 5µm de espessura.	Etapa sem duração pré-determinada
7. Coloração: Realizada em 3 etapas - (i) eliminação da parafina; (ii) desidratação em álcool e (ii) coloração desejada.	Dar contraste aos componentes teciduais.	Tempo variável dependendo do tipo de coloração desejada.
8. Desidratação	Retirar água do tecido para permitir a difusão do corante e a perfeita visualização do tecido.	Tempo variável
9. Diafanização: Após a coloração	Tornar os cortes transparentes	Cerca de 5 minutos para cada série
10. Montagem.	Manter o material de estudo por muitos anos	Tempo de secagem do Bálsamo do Canadá.

Fonte: O autor, 2017.

Tabela 3 - Técnicas de colorações histológicas empregadas.

TÉCNICAS DE COLORAÇÃO	FINALIDADE	INTERPRETAÇÃO
1. Hematoxilina e Eosina (HE)	Caracterização e estudo morfológico	Cora o núcleo de roxo e o citoplasma de rosa
2. Tricrômico de Masson	Visualização de fibras, isto é, tecido conjuntivo.	Cora o núcleo de roxo e o citoplasma de vermelho, fibras azul ou verde
3. Picosírius	Visualizar e caracterizar fibras de colágeno	Cora núcleo e citoplasma de amarelo/laranja e fibras de colágeno tipo I vermelho, colágeno tipo II roxa, colágeno tipo III verde amarelado e IV amarelo vivo.
4. Giemsa	Visualização da composição celular	Cora o núcleo de azul e o citoplasma de violeta

Fonte: O autor, 2017.

3.13 Análises estatísticas

Primeiramente foi verificado se os dados se ajustavam à curva normal de Gauss. Após verificação da normalidade ou não dos dados, foram aplicados testes paramétricos ou não paramétricos. Para a análise estatística dos dados usamos o programa GraphPad Prism 5. Os grupos foram comparados usando os testes: Kruskal Wallis seguido de comparações múltiplas de Dunn's ou análise de variância ANOVA seguido do Pós-teste de Tukey. Teste-*t* de Student também foi realizado. As medidas com valores de $p \leq 0,05$ foram consideradas significativamente diferentes. Os dados serão apresentados em média \pm erro padrão da média (EPM).

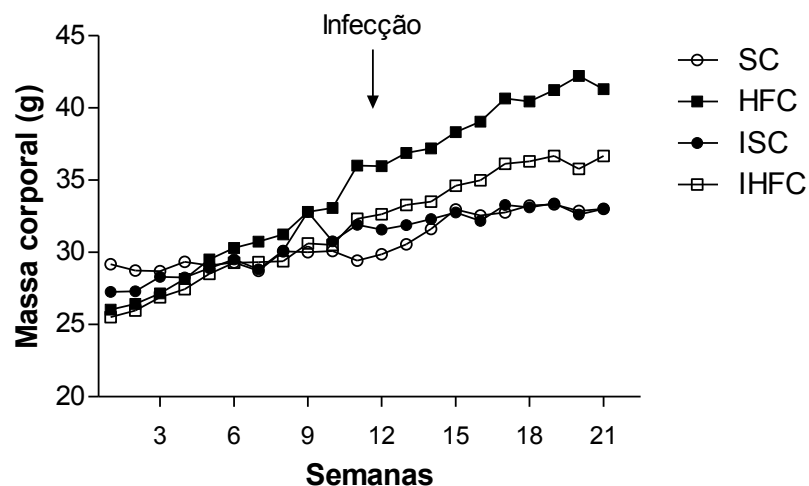
4 RESULTADOS

4.1 Resultados metabólicos

4.1.1 Biometria animal

Todos os grupos experimentais apresentaram ganho de peso ao longo do experimento (Figura 13). No que tange o ganho de massa corporal, camundongos HFC e IHFC demonstraram maior ganho de massa corporal (+20%) quando comparados aos grupos infectados e não infectados alimentados com dieta padrão apresentando diferença estatística ($p < 0,05$). Camundongos infectados submetidos à dieta hiperlipídica (IHFC) apresentaram menor ganho (-20%) de massa corporal quando comparados com o grupo não infectado alimentado com dieta hiperlipídica (HFC), entretanto, não foi verificada diferença estatística ($p > 0,05$) entre estes grupos (Figura 14).

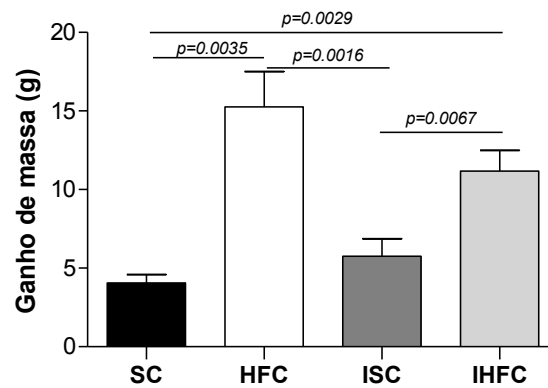
Figura 13 - Massa corporal dos camundongos C57BL/6 ao longo do experimento.



Legenda: SC - controle dieta padrão; HFC: controle dieta hiperlipídica; ISC - infectado dieta padrão; IHFC - infectado dieta hiperlipídica.

Fonte: O autor, 2017.

Figura 14 - Ganho de massa corporal dos camundongos ao longo do experimento (média \pm EPM).

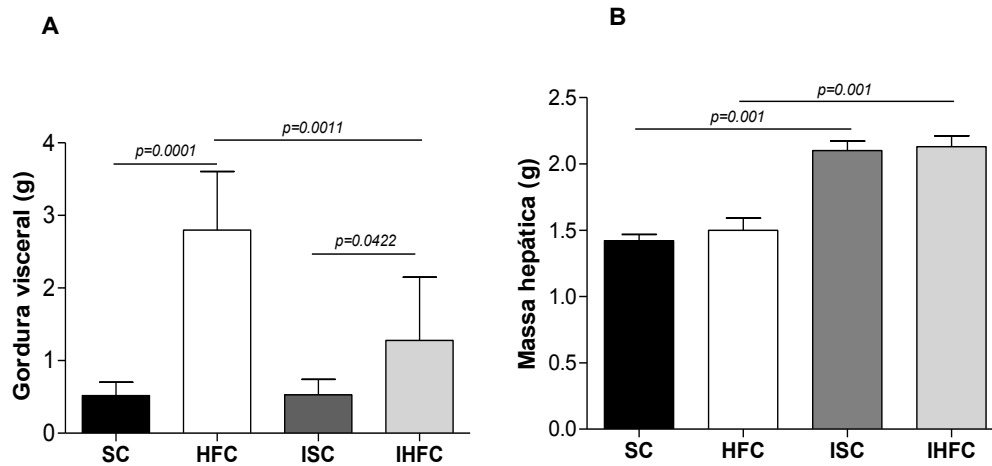


Legenda: SC - controle dieta padrão; HFC: controle dieta hiperlipídica; ISC - infectado dieta padrão; IHFC - infectado dieta hiperlipídica.

Fonte: O autor, 2017.

O peso da gordura visceral e a massa hepática dos camundongos estão representados na figura 15 (A e B). Grupos controle, isto é, não infectados, tiveram seus fígados mais leves quando comparados com grupos infectados ISC e IHFC (+25%, $p < 0,05$). Independente da dieta, os animais infectados demonstraram maior massa hepática. Camundongos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maior peso de gordura visceral em virtude do tipo de dieta administrada, no entanto, o grupo IHFC apresentou menor teor de gordura visceral (-57%) quando comparado com HFC, diferença estatística considerada significativa ($p = 0,001$).

Figura 15 - Biometria animal(média \pm EPM).



Legenda: A- Peso da gordura visceral; B- Massa hepática dos camundongos C57BL/6.

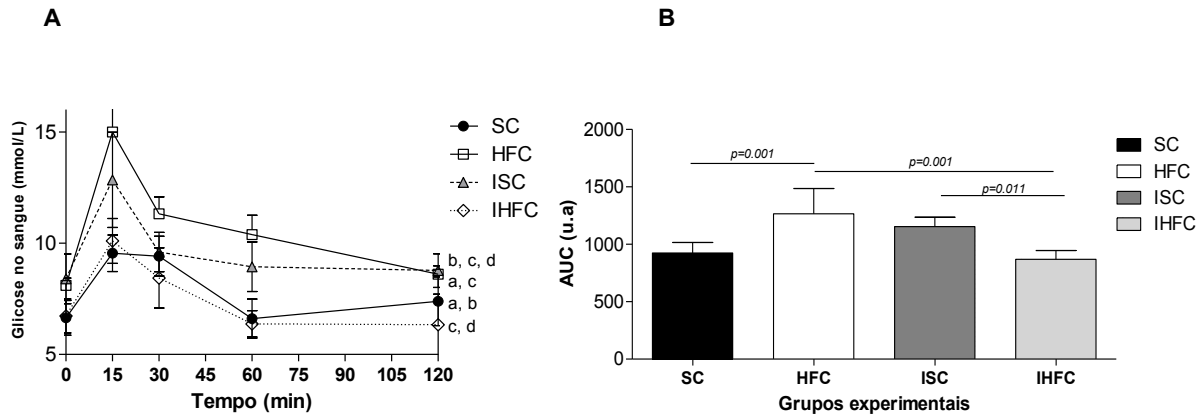
SC - controle dieta padrão; HFC: controle dieta hiperlipídica; ISC - infectado dieta padrão; IHFC - infectado dieta hiperlipídica.

Fonte: O autor, 2017.

4.1.2 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

O grupo HFC apresentou, quando comparado com o SC, menor tolerância oral à glicose com maior área após a realização do TOTG (+160,66% para AUC no TOTG, $P < 0,001$, na Figura 16 A e B) e IHFC com ISC (-15,93% para AUC no TOTG, $P < 0,001$). Também apresentou diferença estatística na AUC entre SC e ISC, +145,37% e entre HFC e IHFC, -20,86%, ambos com $p < 0,05$.

Figura 16 - Teste oral de tolerância à glicose e área sobre a curva dos camundongos C57BL/6(média ± EPM).



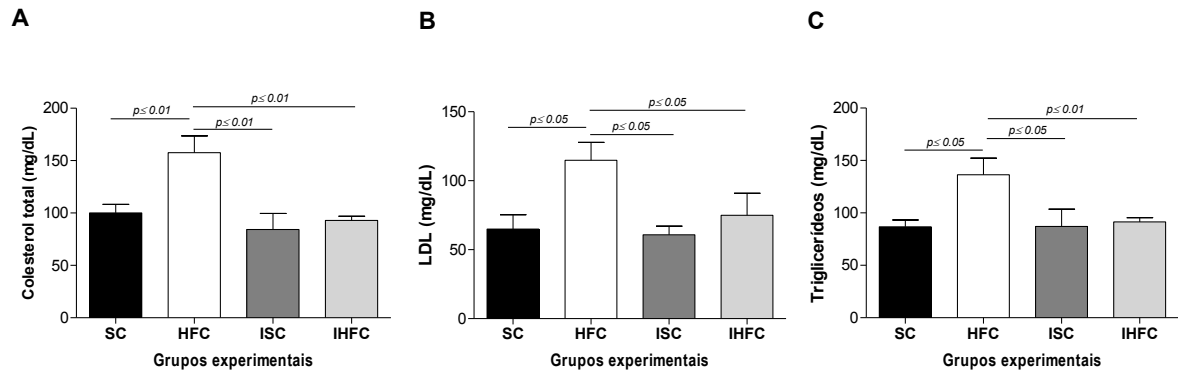
Legenda: A- Teste oral de tolerância à glicose (TOTG); B- Área sobre a curva (AUC) dos grupos experimentais. Os grupos foram analisados no teste estatístico one-way ANOVA e pós teste de Tukey. [a] SC vs. HFC, [b] SC vs. ISC, [c] HFC vs. IHFC, [d] ISC vs. IHFC.

Fonte: O autor, 2017.

4.1.3 Análise bioquímica

Os níveis de colesterol total, LDL e triglicerídeos no plasma dos camundongos não infectados alimentados com dieta hiperlipídica foram maiores (Figura 17A,B,C) quando comparados com os alimentados com dieta padrão infectados ou não. De forma bastante significativa, o grupo infectado, ainda que submetido à dieta hiperlipídica (IHFC), apresentou níveis reduzidos de colesterol total, LDL e triglicerídeos conforme a representação na Figura 17 ($p \leq 0,05$).

Figura 17 - Análise bioquímica dos grupos experimentais(média ± EPM).



Legenda: A - Colesterol total; B- LDL; Triglicerídeos. Valores expressos em mg/dL. SC - controle dieta padrão; HFC: controle dieta hiperlipídica; ISC - infectado dieta padrão; IHFC - infectado dieta hiperlipídica. Diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Fonte: O autor, 2017.

4.2- Resultados quantitativos

4.2.1 Quantificação de ovos no intestino

Conforme expresso na Tabela 4, o grupo infectado com dieta hiperlipídica apresentou maior número de ovos depositados no intestino. Verificamos diferença estatística entre ISC x IHFC ($p=0,006$).

Tabela 4 - Oograma de digestão do intestino delgado de camundongos C57BL/6 infectados por *Schistosoma mansoni* e alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica. Valores expressos em média e erro padrão da média (média \pm EPM).

Parâmetro	Grupo ISC	Grupo IHFC	Valor de <i>p</i>
Intestino			
Número de Ovos	1193 \pm 293,5	2886 \pm 447,4	0,006

Legenda: ISC - infectado dieta padrão; IHFC - infectado dieta hiperlipídica. Diferença significativa ($p=0,006$).
Fonte: O autor, 2017.

4.2.2 Análise estereológica

Os resultados da estereologia hepática estão representados na Tabela 5. Camundongos não infectados alimentados com dieta padrão (SC) apresentaram maior densidade de volume de hepatócitos ($V_v[h]$) que os grupos HFC, ISC e IHFC (+19,58%, $p<0,05$). Os camundongos infectados mostraram menor ($V_v[h]$) quando comparados com os respectivos grupos: ISC x SC ($p\leq 0,05$) e IHFC x HFC. ISC e IHFC não apresentaram diferença significativa, quando comparados, em relação a densidade de volume de hepatócitos ($V_v[h]$). A densidade volumétrica dos sinusóides ($V_v[s]$) foi maior no grupo SC em comparação aos grupos ISC, HFC e IHFC (+40,11%, +42% e +40,70%, $p\leq 0,001$). A densidade de volume de fibrose hepática $V_v[hf]$ dos grupos ISC e IHFC não apresentou diferença significativa, embora IHFC tenha tido ligeiramente mais fibrose. O grupo IHFC apresentou densidade volumétrica de necrose no fígado $V_v[n]$ maior que ISC (+58%, $p<0,0001$). Camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (HFC, $9,04 \pm 0,69$ / IHFC, $4,21 \pm 0,60$) apresentaram maior densidade de volume de esteatose ($V_v[st]$) em relação aos alimentados com dieta padrão (SC, $2,00 \pm 0,0$ / ISC, $0,02 \pm 0,02$). O grupo HFC teve mais esteatose que IHFC (+53%, HFC).

Os camundongos C57BL/6 do grupo IHFC apresentaram mais pontos de infiltrado inflamatório no fígado qu (+33,96%) quando comparados com ISC (Figura 18). Os grupos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maior densidade numérica de hepatócitos (Figura 19A), enquanto que IHFC apresentou número absoluto de hepatócitos, hepatócitos

mononucleares (normal) e hepatócitos binucleados maiores quando comparado com outros SC, HFC e ISC (Figuras 19B, C e D) com diferença significativa $p < 0,05$.

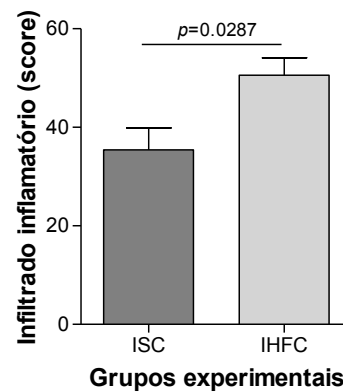
Tabela 5 - Estereologia hepática. Densidade volumétrica de hepatócitos, sinusóides, fibrose, necrose e esteatose hepática de camundongos C57BL/6 infectados e não infectados com *Schistosoma mansoni* e submetidos à dieta padrão ou hiperlipídica (média \pm EPM).

Grupos	Hepatócitos	Sinusóides	Fibrose	Necrose	Esteatose
SC	25,74 \pm 0,47 ^{a,b,c}	10,22 \pm 0,50 ^{a,b,c}	-	-	2,00 \pm 0,0 ^a
HFC	21,12 \pm 0,57 ^a	5,84 \pm 0,41 ^a	-	-	9,04 \pm 0,69 ^{a,b,c}
ISC	20,16 \pm 1,03 ^b	6,12 \pm 0,42 ^b	8,62 \pm 1,12 ^{a,c}	1,02 \pm 0,18 ^d	0,02 \pm 0,02 ^{b,d}
IHFC	20,82 \pm 0,78 ^c	6,06 \pm 0,57 ^c	9,96 \pm 1,00 ^{b,d}	2,46 \pm 0,35 ^d	4,21 \pm 0,60 ^{c,d}

Legenda: Comparações estatísticas ($P < 0,05$, teste Kruskal-Wallis): [a] SC vs HFC; [b] SC vs ISC; [c] SC vs IHFC; [d] ISC vs IHFC. Diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Fonte: O autor, 2017

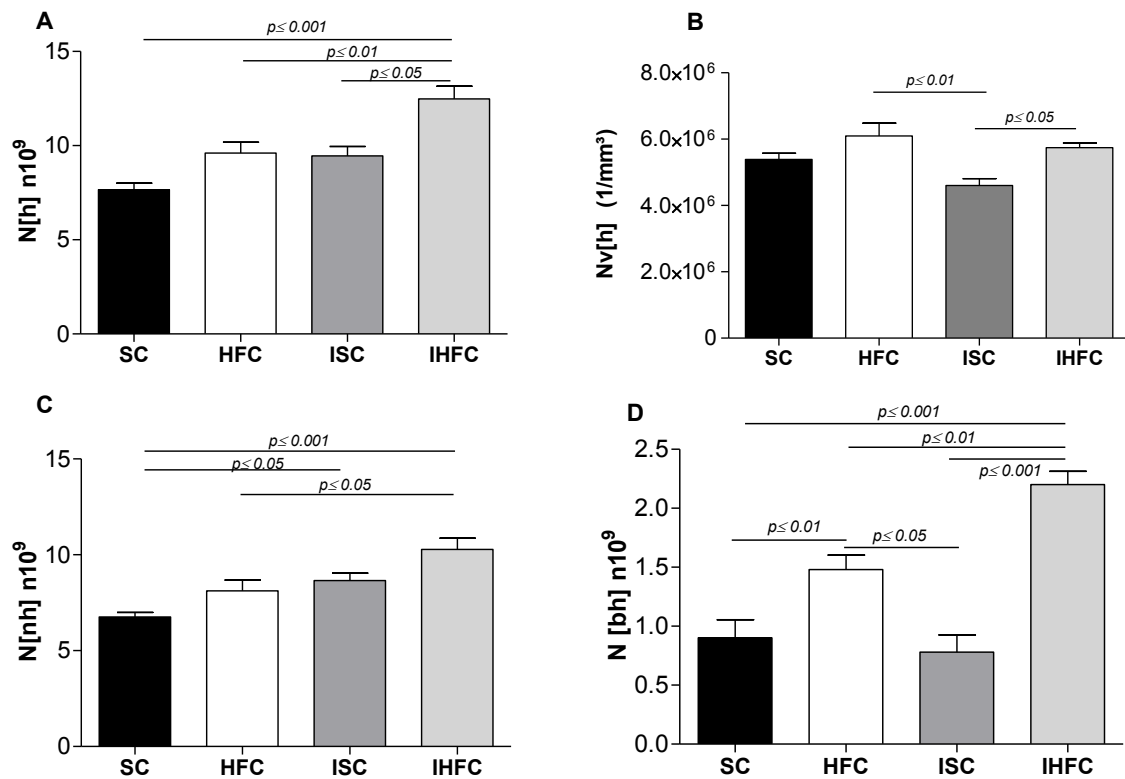
Figura 18 - Presença de infiltrado inflamatório em grupos infectados submetidos à dieta padrão ou hiperlipídica (média \pm EPM).



Legenda: ISC - infestado dieta padrão; IHFC - infestado dieta hiperlipídica. Diferença significativa ($p=0,028$).

Fonte: O autor, 2017.

Figura 19 - Estereologia hepática de camundongos C57BL/6 (média ± EPM)



Legenda: A – Número absoluto do total de hepatócitos, N[h]. B – Densidade numérica de hepatócitos, Nv[h]. C – Hepatócitos mononucleares (normais), N[nh]. D – Hepatócitos binucleados, N[bh]. Nos casos sinalizados, foram evidenciados diferenças estatísticas ($p < 0.05$). SC - controle dieta padrão; HFC: controle dieta hiperlipídica; ISC - infectado dieta padrão; IHFC - infectado dieta hiperlipídica.

Fonte: O autor, 2017.

4.2.3 Análise morfométrica

A morfometria dos granulomas hepáticos revelou que os camundongos do grupo IHFC apresenta maior área e perímetro que os do grupo ISC: $110400 \pm 8777 \mu\text{m}^2$ vs. $80880 \pm 4209 \mu\text{m}^2$, (+36.49%), $p = 0.0031$ e $1365 \pm 71.65 \mu\text{m}$ vs. $1148 \pm 42.44 \mu\text{m}$, (+18.90%), $p = 0.0104$, área e perímetro respectivamente. Para ambos os parâmetros houve diferença significativa com $p < 0.05$. Os valores são expressos na Tabela 6.

Tabela 6 - Análise morfométrica de granulomas esquitossomóticos hepáticos corados com HE (média \pm EPM).

Caracteres	ISC	IHFC	valor <i>p</i>
Morfométricos			
	n=9	n=10	
Área (μm^2)	80880 \pm 4209	110400 \pm 8777	0,0031
Perímetro (μm)	1148 \pm 42.44	1365 \pm 71.65	0,0104

Legenda: ISC - infectado dieta padrão; IHFC - infectado dieta hiperlipídica. Diferença significativa ($p \leq 0,05$)
 Fonte: O autor, 2017.

4.3- Resultados qualitativos

4.3.1 Composição celular dos granulomas hepáticos

A análise da composição celular dos granulomas demonstrou não haver muita diferença quanto aos polimorfonucleares nos granulomas nos estágios exsudativo (E) e exsudativo-produtivo (EP) dos grupos ISC e IHFC. Porém, o grupo IHFC na fase exsudativa apresentou maior número de macrófagos e eosinófilos comparado com ISC (Tabela 7). Não houve grande variação em relação à composição celular entre os estágios e entre os grupos de diferentes dietas.

Tabela 7 - Composição celular dos granulomas hepáticos em camundongos C57BL/6 alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.

Células	ISC		IHFC	
	E	EP	E	EP
Macrófagos	++	++	+++	++
Células epitelióides	-	-	-	±
Células gigantes	+	+	+	+
Eosinófilos	++	+++	+++	++
Neutrófilos	++	+	+	+
Linfócitos	+	+	+	+
Fibroblastos	-	++	+	++
Plasmócitos	+	-	+	+
Mastócitos	±	+	±	±

Legenda: E, exudativo; EP, exudativo-produtivo. (-), negativo; (±), raro; (+), pouco; (++) muito; (+++), abundante.
 ISC - infectado dieta padrão; IHFC - infectado dieta hiperlipídica.
 Fonte: O autor, 2017.

4.3.2 Histopatologia hepática

O fígado do grupo controle (SC) demonstrou arquitetura hepática normal com cordões de hepatócitos dispostos regularmente e sinusóides entre hepatócitos (Figura 20A). Já a histologia hepática do grupo HFC revelou presença de esteatose macrovesicular, na qual uma grande gota de gordura produziu deslocamento lateral do núcleo do hepatócito e esteatose microvesicular, com pequenas gotículas de gordura dentro dos hepatócitos e o núcleo localizado centralmente na célula (Figura 20B). Camundongos infectados e alimentados com dieta padrão (grupo ISC) apresentaram necrose em alguns hepatócitos, células de Kupffer associadas a infiltrado inflamatório, hiperemia e hepatócitos binucleados (Figura 20C). A composição do infiltrado inflamatório foi semelhante entre ISC e IHFC com predomínio de eosinófilos. O grupo IHFC também exibiu células de Kupffer, um número de hepatócitos binucleados relevante, além de apresentar pigmento esquistossomótico (Figura 20D) e expansão do leito dos sinusóides (Figura 20F), enquanto que o grupo ISC manifestou sinusóides com seu leito normal (Figura 20E). É importante acrescentar que o grupo ISC apresentou células inflamatórias de natureza mononuclear, enquanto que camundongos IHFC apresentaram infiltrados

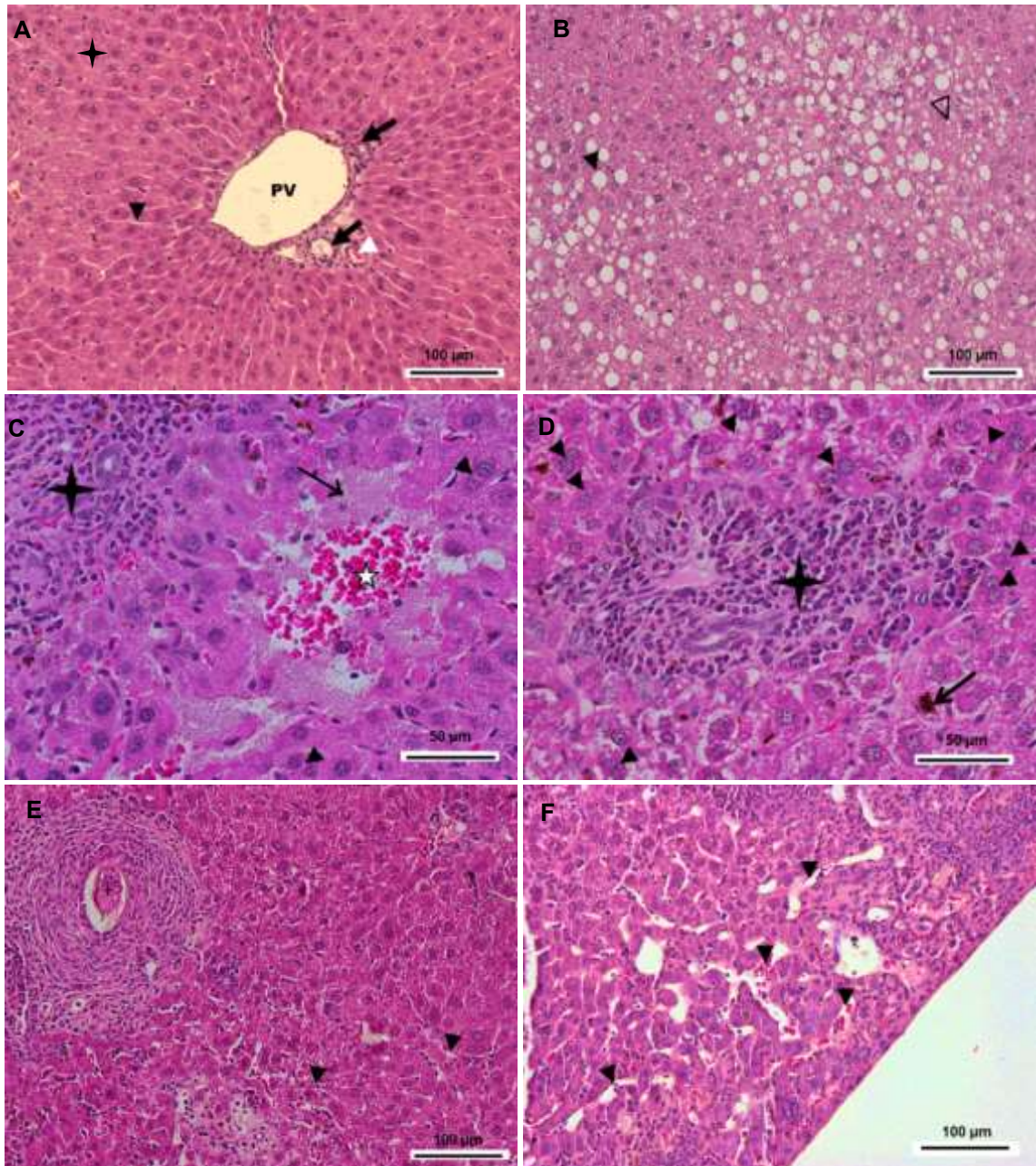
inflamatórios em um padrão panlobular e presença de necrose focal na região central do parênquima.

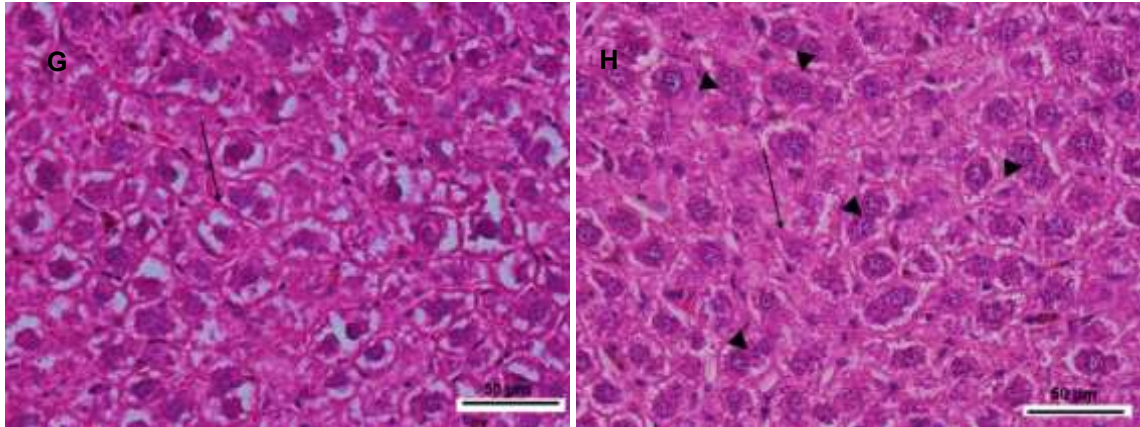
O grupo ISC manifestou hepatócitos balonizados com espessamento de membrana plasmática (Figura 20G). Diferente do grupo ISC, o grupo infectado alimentado com dieta hiperlipídica (IHFC) demonstrou ter hepatócitos com membrana plasmática normal, entretanto com balonismo hepatocelular, assim como em ISC (Figura 20H).

A coloração de Picrosirius revelou no grupo ISC depósito de colágeno nos granulomas esquistossomóticos mostrando no centro um ovo visível (Figura 21A) enquanto que em IHFC foi verificada uma distribuição de depósito de colágeno em uma vasta área do parênquima hepático (Figura 21B). O depósito de colágeno em sinusóides foi uma característica histológica comum para ISC (Figura 21C) ou IHFC (Figura 21D). No entanto, camundongos IHFC desenvolveram uma disposição mais elevada de colágeno no tecido em comparação com ISC. A coloração tricrômico de Masson possibilitou verificar essas seções histológicas.

Em suma, a histopatologia do grupo IHFC revelou danos notáveis no parênquima hepático caracterizado por infiltração em uma distribuição panlobular (Figura 22A). Formação de pseudolóbulo (Figura 22B) em áreas de abscesso, bem como proliferação de ductos biliares (Figura 22C) e largas áreas de infiltrado inflamatório com abscesso e hepatócitos binucleados (Figura 22D).

Figura 20 - Fotomicrografia do tecido hepático de camundongos alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.

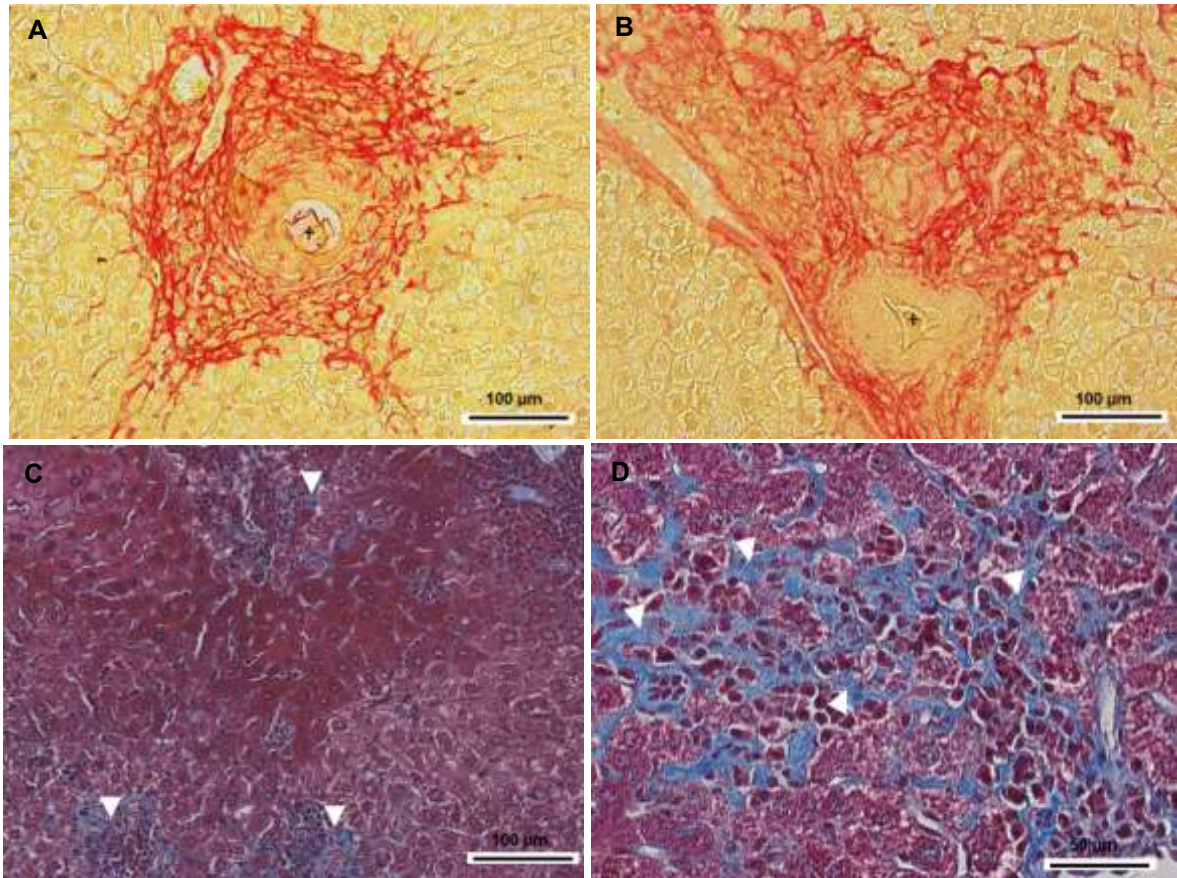




Legenda: Camundongos alimentados com dieta padrão (A, C, E e G) ou hiperlipídica (B, D, F, e H) corados com HE. A - Parênquima preservado, hepatócitos, sinusóides (cabeças de seta pretas), veia porta, ducto biliar (setas pretas) e artéria hepática (cabeça de seta branca) no grupo SC. B – Parênquima hepático do com esteatose macrovesicular e microvesicular no grupo HFC. C – Rico infiltrado eosinofílico, células de Kupffer (✦), hepatócitos em processo de necrose (seta preta), hiperemia (★) e hepatócitos binucleados (cabeça de seta preta) no grupo ISC. D – Infiltrado inflamatório composto predominantemente por eosinófilos, células de Kupffer (✦), hepatócitos binucleados (cabeça de seta preta) e pigmento esquistossomótico (seta branca) no grupo IHFC. E: Granuloma esquistossomótico com ovo ao centro (†) e sinusóides (cabeças de seta preta) no grupo ISC. F: Expansão do leito dos sinusoides (grupo IHFC). G: Espessamento da membrana plasmática dos hepatócitos (seta preta) e hepatócitos balonizados no grupo ISC. H: Hepatócitos balonizados (seta preta) e hepatócitos binucleados (cabeças de seta preta).

Fonte: O autor, 2017.

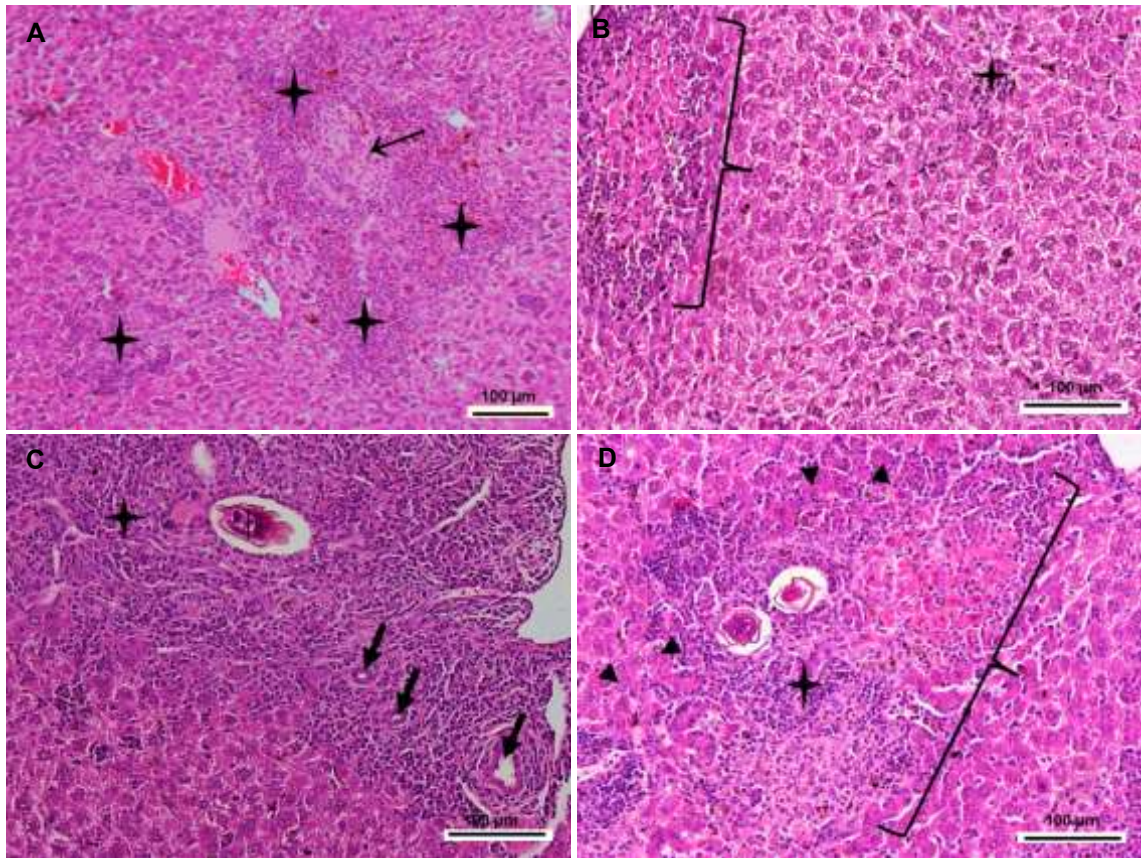
Figura 21 - Fotomicrografia do tecido hepático de camundongos alimentados com dieta padrão (A e C) ou hiperlipídica (B e D).



Legenda: Camundongos alimentados com dieta padrão (A e C) ou hiperlipídica (B e D). A e B corados com Picrosirius e C e D corados Tricrômico de Masson. A: Depósito de colágeno em torno do granuloma esquistossomótico com o ovo ao centro (+) (grupos ISC). B: Fibras de colágeno distribuída no parênquima hepático (cabeça de seta preta) e granuloma esquistossomótico. C: Fibras de colágeno isoladas (cabeça de seta branca) em ISC. D: Presença de depósito de colágeno nos sinuisoides e no parênquima com e infiltração por células mononucleares (cabeça de seta branca) IHFC.

Fonte: O autor, 2017.

Figura 22 - Fotomicrografia do tecido hepático de camundongos alimentados com hiperlipídica.



Legenda: A: Infiltrado panlobular () com necrose focal no centro do parênquima (seta preta). B: Processo inicial de formação de pseudolóbulo e ponto de infiltração inflamatória (). C: Proliferação ductual (seta preta). D: Grande área de infiltrado inflamatório com abscesso, hepatócitos binucleados (cabeça de seta preta) e dois ovos de *Schistosoma mansoni*.

Fonte: O autor, 2017.

5 DISCUSSÃO

Novos estilos e hábitos de vida das populações humanas, como a mudança no estado nutricional, nos levam a investigar e elucidar mecanismos patológicos e fisiopatológicos em situações diversas. Uma dessas situações é a esquistossomose mansoni e sua interação com doenças crônicas não transmissíveis, como as dislipidemias. Para tal, requerer um modelo experimental que mimetize as características fisiopatológicas humanas para o entendimento da interação entre essas comorbidades é fundamental. Nesse contexto, animais de laboratório, em especial camundongos, têm sido bastante usados para esclarecer tais questões. O modelo de camundongo isogênico C57BL/6 têm se destacado quando se objetiva investigar questões como diabetes, síndrome metabólica e obesidade.

A associação entre a NAFLD e a esquistossomose mansoni tem sido destacada recentemente em seres humanos (CHEN et al., 2013; SHEN et al., 2015). Este estudo tentou explorar esta associação baseada no modelo de camundongos C57BL/6. Assim, camundongos não infectados alimentados com dieta rica em gordura apresentaram maior concentração lipídica no sangue, lipídios nos hepatócitos (esteatose), maior massa corporal, maior tecido adiposo visceral e tolerância à glicose diminuída, em comparação com a dieta padrão de controle. Com base nesses achados, o modelo de NAFLD foi induzido com sucesso de acordo com estudos provenientes de outros pesquisadores (FRAULOB et al., 2010; PODRINI et al., 2013; JOVICIC et al., 2015).

O papel dos lipídios e seus metabólitos na interação hospedeiro-parasita tornou-se um foco de interesse neste trabalho. Neste cenário, os vermes adultos captam lipídios da corrente sanguínea de seus mamíferos (KURZCHALIA; WARD, 2003, SKELLY et al., 2014, GUIGAS; MOLOFSKY, 2015), que tem efeitos benéficos na aptidão do parasito (NEVES et al., 2007a, PEARCE; HUANG, 2015). Além disso, camundongos alimentados com dieta hiperlipídica exibem redução do ganho de massa corporal e gordura visceral. Portanto, parece razoável sugerir que os esquistossomos podem estabelecer efeitos benéficos não só pela aquisição de lipídios da corrente sanguínea do hospedeiro, mas por produtos derivados de helmintos, que podem atuar para limitar a massa do tecido adiposo e a inflamação, promovendo benefícios metabólicos (MCKAY, 2006; GUIGAS; MOLOFSKY, 2015).

Como já era esperado, camundongos submetidos à dieta hiperlipídica e infectados tiveram menor massa corporal final, ganho de massa e massa de gordura visceral comparado com o não infectado de mesma dieta. A infecção dos camundongos com *S. mansoni* promoveu

aumento do fígado, provavelmente em decorrência do acúmulo de ovos no tecido e consequentemente reação granulomatosa em torno destes (Neves et al., 2007b; WU et al., 2011; Da Silva et al., 2012; YANG et al., 2013;).

No presente trabalho, os animais infectados ainda que submetidos à dieta hiperlipídica apresentaram níveis de colesterol total, triglicerídeos e LDL reduzidos quando comparados com os não infectados da mesma dieta. Sabe-se que uma grande disponibilidade de lipídios favorece o parasito, de modo a possibilitar estratégias de escape contra o sistema imunológico do hospedeiro, além de estimular o aparelho reprodutor, e consequentemente a maior liberação de ovos nos tecidos, como foi verificado no fígado e no intestino pelo oograma de digestão (HUANG et al., 2012).

Acreditamos que com o processo inflamatório ocorreu aumento na produção de TNF- α que age inibindo os receptores de insulina das células, reduzindo a captação de glicose nas células e aumentando a presença no sangue. Visto que o modelo C57BL/6 já é sensível à síndrome metabólica, esta pode ser uma explicação para este resultado. O TNF- α pode ser produzido pela gordura visceral e age contra os receptores de insulina. Porém, também é a principal citocina produzida pelo processo inflamatório agudo, juntamente com a IL-1, o que explica os resultados verificados no TOTG de HFC e ISC (TAKAHASHI et al., 2012; JOVICIC et al., 2015).

As análises morfométricas dos granulomas hepáticos revelaram que estes apresentam maiores área e perímetro em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica quando comparados com os alimentados com dieta padrão. Acreditamos que a diferença possa estar relacionada com as características e funções celulares do tecido adiposo. As adipocinas secretadas pelo tecido adiposo são altamente diversificadas em termos de estrutura proteica e função fisiológica. Elas incluem citocinas clássicas, fatores de crescimento e proteínas sistêmicas complementares; incluem-se também proteínas envolvidas na regulação da pressão arterial e homeostase vascular (PRADO, 2009). Os adipócitos secretam várias citocinas e proteínas de fase aguda que, direta ou indiretamente, elevam a produção e circulação de fatores relacionados com a inflamação. Existem evidências demonstrando que o estado inflamatório pode ser devido à resistência à ação da insulina e outras desordens associadas à obesidade, como síndrome metabólica e hiperlipidemia, como a estudada no presente trabalho. Isto sugere que a submissão à uma dieta hiperlipídica intensifica a reação granulomatosa, tendo em vista o fato do tecido adiposo branco estimular a produção de marcadores inflamatórios principalmente pelo fígado (Rodríguez et al., 2015).

As análises estereológicas por meio da técnica D36 revelaram que embora não seja observado diferença significativa entre a densidade volumétrica de hepatócitos e sinusóides entre os grupos infectados alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica, houve entre o grupo não infectado alimentado com dieta padrão quando comparados com todos os outros (HFC, ISC e IHFC) sugerindo que uma dieta hiperlipídica ou padrão, associadas à infecção por *S. mansoni*, pode levar a redução da densidade volumétrica de hepatócitos e sinusóides, possibilitando maior injúria no fígado. A densidade volumétrica de fibrose e necrose, não foi observada nos grupos não infectados por esta técnica. Nos grupos infectados, houve maior densidade volumétrica de fibrose e necrose de forma ligeira, embora tenha sido verificada, não identificamos diferença estatística entre eles. Este resultado pode estar relacionado à fase aguda estudada neste experimento, onde não são verificados processos fibróticos, que são característicos de fase crônica. Sabe-se que NAFLD, uma das manifestações da síndrome metabólica, pode ocasionar fibrose no parênquima hepático como observado por Takahashi et al (2014) e depósito de triglicerídeos no fígado, quadro conhecido por esteatose como observado nos grupos submetidos à dieta hiperlipídica. A densidade volumétrica de esteatose do grupo infectado foi significativamente menor quando comparada com o grupo não infectado de mesma dieta. Estes dados estão coerentes com os achados na literatura e corroboram a possibilidade do parasito estar utilizando a fonte lipídica para seu metabolismo e para regulação da resposta inflamatória granulomatosa.

A estereologia revelou que o maior número de pontos de infiltrado inflamatório verificado no grupo alimentado com dieta hiperlipídica e infectado é decorrente da dupla lesão que o tecido está sofrendo.

Numa tentativa de responder às lesões teciduais, o fígado inicia um processo de regeneração. Ainda através da estereologia, entretanto, utilizando o disector, e por meio de análises histopatológicas verificamos alta densidade numérica de hepatócitos e maior número absoluto de hepatócitos, hepatócitos mononucleares (normal) e hepatócitos binucleados em camundongos infectados alimentados com dieta hiperlipídica quando comparado com outros com diferença significativa ($p < 0,05$).

A regeneração hepática é um mecanismo de proteção orgânica contra perda de tecido hepático por injúrias de diversas origens. Embora seja largamente utilizado o termo regeneração, o termo biologicamente correto do fenômeno observado é hiperplasia compensatória, uma vez que é uma resposta induzida pelo dano tecidual hepático (JESUS; WAITZBERG; CAMPOS, 2000; FAUSTO; CAMPBELL; RIEHLE, 2006). As lesões do parênquima hepático, induzidas pela esquistossomose aguda e pela NAFLD/NASH

desencadearam um processo regenerativo visando a restauração do tecido. A restauração ocorre por hiperplasia celular compensatória do parênquima remanescente, de forma regulada e precisa (LI; HUA, 2016).

As análises histopatológicas revelaram que uma dieta hiperlipídica associadas à esquistossomose mansoni pode levar a danos no tecido hepático contribuindo com quadros de inflamação, degeneração balonada e necrose focais, talvez seja em resposta às citocinas liberadas por ambas as patologias, esquistossomose e síndrome metabólica.

CONCLUSÃO

- A dieta hiperlipídica utilizada neste estudo, possibilitou o desenvolvimento da síndrome metabólica no modelo C57BL/6 em virtude de sua suscetibilidade, ao sobrepeso dos grupos em função da alta densidade energética encontrada nesta fonte de alimento e à baixa tolerância à glicose verificada no grupo dislipidêmico não infectado.
- Embora a associação entre dislipidemia induzida por dieta hiperlipídica e esquistossomose permita redução dos níveis de colesterol, triglicérides e LDL do hospedeiro e da esteatose no fígado, as lesões decorrentes dos granulomas periovulares e da síndrome metabólica como depósito de fibras de colágeno nos vasos sinusoidais e processos inflamatórios, sugerem que as alterações no tecido hepático de hospedeiros com SM são mais intensas.
- Assim, sugerimos que a administração de uma dieta rica em gordura pode ocasionar alterações no parênquima hepático na infecção por *S. mansoni*, sobrecarregando a lesão do tecido devido à inflamação resultante de tais comorbidades.

REFERÊNCIAS

- ABDELHALIM, M. A. K.; JARRAR, B. M. Gold nanoparticles induced cloudy swelling to hydropic degeneration, cytoplasmic hyaline vacuolation, polymorphism, binucleation, karyopyknosis, karyolysis, karyorrhexis and necrosis in the liver. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, n. 1, p. 160-166. 2011.
- ABDELMALEK, M. F.; DIEHL, A. M. Nonalcoholic fatty liver disease as a complication of insulin resistance. **Medical Clinics of North America**, v. 9, p.1125-1149. 2007.
- ABREU, E. S.; VIANA, I. C.; MORENO, R. B.; VIANA, I. C.; MORENO, R. B.; TORRES, E. A. F. S. Alimentação mundial - uma reflexão sobre a história. **Saúde e Sociedade**, v. 10, n. 2, p. 3-14. 2001.
- AGUILA, M. B.; PARENTE, L. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Dietary effect of different high-fat diet on rat liver stereology. **Liver International**, v. 23, p. 363-370. 2003.
- ALENCAR, A.C.M.B. Análise parasitológica e morfológica dos efeitos do artesunato e sinvastatina em camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos. Rio de Janeiro. **Programa de Pós-Graduação em Microbiologia**. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016, p. 113. Tese de doutorado.
- ALENCAR, A.C.M.B, NEVES, R.H.; ÁGUILA, M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A.; GOMES, D.C.; MACHADO-SILVA, J.R. High-fat diet has a prominent effect upon the course of chronic schistosomiasis mansoni in mice. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 4, p. 608-613. 2009.
- ALENCAR, A.C.M.B.; NEVES, R.H.; OLIVEIRA, A.V, MACHADO-SILVA, J.R. Changes in the small intestine of *Schistosoma mansoni*-infected mice fed a high-fat diet. **Parasitology**, v. 139, p. 716-725. 2012.
- ANDRADE, Z. A. Pathogenesis of pipe-stem fibrosis of the liver (experimental observation on murine schistosomiasis). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, n. 3, P; 325-334, 1987.
- ANDRADE, Z. A. Schistosomal hepatopathy. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 5, p. 51-57, 2004.
- ANDRADE, Z. A. Schistosomiasis and hepatic fibrosis regression. **Acta Tropica**, v. 108, n. 2-3, p. 79-82, 2008.
- ANDRADE, Z. A. Schistosomiasis and liver fibrosis. **Parasite Immunology**, v. 31, p. 656-663. 2009.
- ANTHONY, B. J.; RAMM, G. A.; MCMANUS, D. P. Role of resident liver cells in the pathogenesis of schistosomiasis. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 12, p. 572-579. 2012.
- BANSAL, D.; BHATTI, H. S.; SEHGAL, R. Lipids in Health and Disease. Role of cholesterol in parasitic infections. **Lipids in Health and Disease**, v.4, n.10. 2005.

- BAPTISTA, A. P.; ANDRADE, Z. A. Angiogenesis and schistosomal granuloma formation. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 183-185. 2005.
- BARROS, L. A.; NEVES, R. H.; MOURA E. G.; MACHADO-SILVA, J. R. Effects of low-protein diet on *Schistosoma mansoni* morphology visualized by morphometry and confocal laser scanning microscopy. **Journal of Helminthology**, v. 83, n. 1, p. 13. 2009.
- BATISTA-FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19. 2003.
- BLEIL, S. I. O Padrão Alimentar Ocidental: Considerações Sobre a Mudança de Hábitos no Brasil. **Cadernos de Debate**, v. 6, p. 1-25. 1998.
- BONDINI, S, KLEINER, D. E.; GOODMAN, Z. D.; GRAMLICH, T.; YOUNOSSI, Z. M. Pathologic assessment of non-alcoholic fatty liver disease. **Clinical Liver Disease**, v. 11, p. 17-23. 2007.
- BOOTH, M.; JOSEPH, S.; JONES, F. M.; KADZO, H.; IRERI, E.; KAZIBWE, F.; KEMIJUMBI, J.; KARIUKI, C.; KIMANI, G.; OUMA, JH.; KABATEREINE, N. B.; VENNERVALD, B. J.; DUNNE, D. W. Periportal fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection is associated with low IL-10, low IFN-gamma, high TNF-alpha, or low RANTES depending on age and gender. **The Journal of Immunology**, v. 172, p. 1295–1303. 2004.
- BOTTIEAU, E.; CLERINX, J.; DE VEGA, M. R.; VAN DEN ENDEN, E.; COLEBUNDERS, R.; VAN ESBROECK, M.; VERVOORT, T.; VAN GOMPEL, A.; VAN DEN ENDE, J. Imported Katayama fever: clinical and biological features at presentation and during treatment. **Journal of Infection**, v. 52, p. 339–45. 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância da Esquistossomose Mansoni: diretrizes técnicas**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Vigitel Brasil 2014 Saúde Suplementar: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico/Ministério da Saúde, **Agência Nacional de Saúde Suplementar**. – Brasília: Ministério da Saúde. 2015.
- BRIAND, O.; TOUCHE, V.; COLIN, S.; BRUFAU, G.; DAVALOS, A.; SCHONEWILLE, M.; BOVENGA, F.; CARRIÈRE, V.; DE BOER, J. F.; DUGARDIN, C.; RIVEAU, B.; CLAVEY, V.; TAILLEUX, A.; MOSCHETTA, A.; LASUNCIÓN, M.A.; GROEN, A.K.; STAEELS, B.; LESTAVEL, S. Liver X Receptor Regulates Triglyceride Absorption Through Intestinal Down-regulation of Scavenger Receptor Class B, Type 1. **Gastroenterology**, v. 150, n. 8, p. 650–658. 2016.
- BRUNT, E. M. Alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. **Clinical Liver Disease**, v. 6, p. 399-420. 2002.
- BULLO, M.; GARCIA-LORDA P.; MEGIAS I.; SALAS-SALVADO, J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. **Obesity Research & Clinical Practice**, v. 11, p. 525-531. 2003.

- CAMPBELL, I. Liver: functional anatomy and blood supply. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 7, n. 2, p. 49–51. 2006.
- CHANDRA, R. K. Immunocompetence is a sensitive and functional barometer of nutritional status. **Acta Paediatrica Scandinavica**, Stockholm, v. 80, n. 374, p. 129 – 132. 1991.
- CHEEVER, A. W.; POWER, K. G. Counting of *Schistosoma mansoni* eggs in feces. Comparison of a filtration technique and a dilution technique. **Journal of Parasitology**, v. 54, n. 3, p. 632- 633. 1968
- CHEEVER, A. W.; LENZI, J. A.; LENZI, H. L.; ANDRADE, Z. A. Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 917-940. 2002.
- CHEN, Y.; LU, J.; HUANG, Y.; WANG, T.; XU, Y.; XU, M.; LI, M.; WANG, W.; LI, D.; BI, Y.; NING, G. Association of previous schistosome infection with diabetes and metabolic syndrome: A cross-sectional study in rural China. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism** v. 98, p. 283–287. 2013.
- COELHO, P. M.; RASO, P.; MELLO, R. T.; TOPPA, N. H. Size of hepatic granuloma produced by eggs of 2 geographic strains of *Schistosoma mansoni*, in mice. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, n.2, p.213-7. 1989.
- COHEN, J. C.; HORTON, J. D.; HOBBS, H. H. Human fatty liver disease: old questions and new insights. **Science**, v. 24, n. 332, p.1519–1523. 2011.
- CONWAY, B.; RENE, A. Obesity as a disease: no lightweight matter. **Obesity Reviews**, v. 5, p.145-51. 2004
- COSTA-SILVA, M.; RODRIGUES-SILVA, R.; HULSTIJN, M.; NEVES, R. H.; PANASCO, M. S.; LENZI, H. L.; MACHADO-SILVA, J. R. Natural *Schistosoma mansoni* infection in *Nectomys squamipes*: histopathological and morphometric analysis in comparison to experimentally infected *N. squamipes* and C3H/He mice. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 129-142. 2002.
- COURA, J. R.; AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, supl. 1, p. 13-19. 2004.
- COUTINHO, E.; BARBOSA, F.S.; BARBOSA, J.M.; PESSOA, P.; PINTO, R.F.; OLIVEIRA, P.A.; RODRIGUES, B.A. Inquérito clínico-nutricional e antropométrico preliminar, em áreas endêmicas de esquistossomose mansônica, no Nordeste do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 6, p. 211-236. 1972.
- COUTINHO, E. M.; ABATH, F. G. C.; BARBOSA, C. S.; DOMINGUES, A. L. C.; MELO, M. C. V.; MONTENEGRO, S. M. L.; LUCENA M. A. F.; ROMANI, S. AM.; SOUZA, W. V.; COUTINHO, A. D. Factors involved in *Schistosoma mansoni* infection in rural areas of Northeast Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, p.707-715. 1997.

COUTINHO, E. M.; BARROS, A. F.; BARBOSA, JR. A.; OLIVEIRA, A. S.; SILVA, L. M.; ARAÚJO, R. E.; ANDRADE, Z. A. Host nutritional status as a contributory factor to the remodeling of schistosomal hepatic fibrosis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 919-925. 2003.

COUTINHO, E. M. Malnutrition and hepatic fibrosis in murine schistosomiasis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99 (Suppl. I), p. 85-92. 2004.

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

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

DESPRES, J. P.; LEMIEUX, I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. **Nature**, v. 444, p. 881-887. 2006.

DIMENSTEIN, R.; CARVALHO, V. C. O.; OLIVEIRA, D. N. G.; GILLET, M. P. T. Alterations in the levels and composition of plasma lipoproteins (VLDL, LDL AND HDL) in brazilian patients with hepatosplenic schistosomiasis mansoni. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 25, p. 1091-1102. 1992.

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

DOMINGUES, A. L. C.; DOMINGUES, L. A. W. Forma intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica. In: MALTA, J. **Esquistossomose mansônica**. Recife: Ed. UFPE, cap. 5, p. 91-105. 1994.

DUVAL, D.; GALINIER, R.; MOUAHID, G.; TOULZA, E.; ALLIENNE, J. F.; PORTELA, J. ET AL. A NOVEL Bacterial Pathogen of Biomphalaria glabrata : A Potential Weapon for Schistosomiasis Control? **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 2, p. 1-20, 2015.

ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. **Lancet**, v. 365, p.1415-1428. 2005.

FALLON, P. G. Immunopathology of schistosomiasis: a cautionary tale of mice and men. **Immunology Today**, v. 21, n. 1, p. 29-35. 2000.

FALLON, P. G.; SMITH, P.; DUNNE, D.W. Type 1 and type 2 cytokine producing mouse CD4⁺ and CD8⁺ T cells in acute *Schistosoma mansoni* infection. **European Journal of Immunology**. v. 28, p. 1408-1416. 1998.

FARRELL, G. C.; LARTER, C. Z. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. **Hepatology**, v. 43, p. 99-112. 2006.

- FATTAH, N. S. A.; AHMED, N. S. Evidence of intra-hepatic vascular proliferation remodeling early after cure in experimental schistosomiasis mansoni: An immunohistochemical descriptive study. **Experimental Parasitology**, v. 130, p. 58-62. 2011.
- FAUSTO, N.; CAMPBELL, J. S.; RIEHLE, K. J. Liver regeneration. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 43, n. 2 Suppl 1, p. S45–S53, 2006.
- FRANZEN, LE.; EKSTEDT, M.; KECHAGIAS, S.; BODIN, L. Semi-quantitative evaluation overestimates the degree of steatosis in liver biopsies: a comparison to stereological point counting. **Modern Pathology**, v. 18, p. 912-916. 2005.
- FRAULOB, J. C., OGG-DIAMANTINO, R., FERNANDES-SANTOS, C., AGUILA, M. B. AND MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. A Mouse Model of Metabolic Syndrome: Insulin Resistance, Fatty Liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 Mice Fed a High Fat Diet. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 46, p. 212–223, 2010.
- FREEDMAN, D. O.; OTTESEN, E. A. Eggs of *Schistosoma mansoni* stimulate endothelial cell proliferation in vitro. **The Journal Infectious Disease**, v. 158, p. 556–562. 1988.
- GADJA, A. M; PELLIZON, M. A; RICCI, M. R; ULMAN, E. A. Diet-induced metabolic syndrome in rodent model. **Animal Lab News**. 2007.
- GARCIA, R. W. D. Reflexos da globalização na cultura alimentar: considerações sobre as mudanças na alimentação urbana. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 4, p. 483-492. 2003.
- GERLYNG, P.; ABYHOLM, A. et al. Binucleation and polyploidization patterns in developmental and regenerative rat liver growth. **Cell Proliferation**, v. 26, n. 6, p. 557–65. 1993.
- GOLABI, P.; OTGONSUREN, M.; CABLE, R.; FELIX, S.; KOENIG, A.; SAYINER, M.; AND YOUNOSSI, Z. M. Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is associated with impairment of Health Related Quality of Life (HRQOL). **Health and Quality of Life Outcomes**, v. 14, n. 1, p. 18, 2016.
- GRAEFF-TEIXEIRA, C.; VALAR, C.; MORAES, C. K.; SALVANY, A. M.; BRUM, C. O.; MAURER, R. L.; BEM, R.; MARDINI, L. B. L. F.; JOBIM, M. B.; AMARAL, R. S. The Initial Epidemiological Studies in the Low Endemicity Schistosomiasis Area in Esteio, Rio Grande do Sul, the Southernmost Brazilian State, 1997 to 2000. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 73-78, 2004.
- GRARUP, N.; SANDHOLT, C. H.; HANSEN, T.; PEDERSEN, O. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: From genome-wide association studies to rare variants and beyond. **Diabetologia**, v. 57, p. 1528–1541. 2014.
- GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Human schistosomiasis. **Lancet**. v. 368, p. 1106–18. 2006.
- GRUNDY, S.M. Metabolic syndrome pandemic. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 28, p. 629- 636. 2008.

- GUIGAS, B.; MOLOFSKY, A. B. A worm of one's own: how helminths modulate host adipose tissue function and metabolism. **Trends in Parasitology**, v. 31, n. p. 9, p. 435-441. 2015.
- GUYTON, A. C; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier. 2006.
- HAMAGUCHI, M.; KOJIMA, T.; TAKEDA, N.; NAGATA, C.; TAKEDA, J.; SARUI, H.; et al. Nonalcoholic fatty liver disease is a novel predictor of cardiovascular disease. **World Journal Gastroenterology**, v. 13, p. 1579–1584. 2007.
- HAMS, E.; AVIELLO, G.; FALLON, P. The *Schistosoma* granuloma: friend or foe? **Frontiers Immunology**, v. 89, p.1-8. 2013.
- HERBERT, D. R.; HOLSCHER, C. ; MOHRS, M. ; ARENDSE, B.; SCHWEGMANN, A.; RADWANSKA, M.; LEETO, M.; KIRSCH, R.; HALL, P.; MOSSMANN, H.; CLAUSSEN, B.; FÖRSTER, I.; BROMBACHER, F. Alternative macrophage activation is essential for survival during schistosomiasis and down modulates T helper 1 responses and immunopathology. **Immunity**, v. 20, p. 623-635. 2004.
- HERNANDEZ-GEA, V.; FRIEDMAN S. L. Pathogenesis of liver fibrosis. **Annual Review of Pathology Mechanisms of Disease**. v. 6, p.425-56. 2011.
- HERNANDEZ, H. J. ; EDSON, D. A. et al. *Schistosoma mansoni*: genetic restriction and cytokine profile of the CD4⁺ T helper cell response to dominant epitope peptide of major egg antigen Sm-p40. **Experimental Parasitol.** v. 90, n 1, p. 122-130. 1998.
- HIB, J. **Di Fiore Histologia**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, p. 513. 2003.
- HUANG, P. L. A comprehensive definition for metabolic syndrome. **Disease Models & Mechanisms**. v. 2, n.6, p. 231-237. 2009.
- HUANG, S.C.; FREITAS, T. C.; AMIEL, E.; EVERTS, B.; PEARCE, E. L.; LOK, J. B.; PEARCE, E. J. Fatty acid oxidation is essential for egg production by the parasitic flatworm *Schistosoma mansoni*. **PLoS Pathogen** v. 8, p. e100299678, 2012.
- JENSEN, E. B. V. Local stereology. Singapore New Jersey London Hong Kong: **World Scientific**, p. 247. 1998.
- JESUS, R. P. DE; WAITZBERG, D. L.; CAMPOS, F. G. Regeneração hepática: papel dos fatores de crescimento e nutrientes. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 242–254, 2000.
- JOVICIC, N.; JEFTIC, I.; JOVANOVIC, I.; RADOSAVLJEVIC, G.; ARSENIJEVIC, N.; LUKIC, M. L.; PEJNOVIC, N. Differential Immunometabolic Phenotype in Th1 and Th2 Dominant Mouse Strains in Response to High-Fat Feeding. **PLoS ONE**, v. 10, n.7. 2015.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 318-329. 2013.

- KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina. tropical de. São. Paulo.** v. 14, p. 397-400. 1972.
- KHOVIDHUNKIT, W.; KIM, M. S.; MEMEON, R. A.; SHIGENAGA, J. K.; MOSER, A. H.; FEINGOLD, K. R.; GRUNFELD, C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. **The Journal of Lipid Research**, v. 45, n. 7, p. 1169-1196. 2004.
- KURZCHALIA, T. V.; WARD, S. Why do worms need cholesterol? **Nature Cell Biology**, v. 5, p. 684–688, 2003.
- LAMBERTUCCI, J. R. Acute schistosomiasis: clinical, diagnostic and therapeutic features. **Revista do Instituto de Medicina. tropical de. São. Paulo.**, v. 35, p. 399–404, 1993.
- LAZZARINI, A.L.; LEVINE, R. A.; PLOUTZ-SNYDER, R. J.; SANDERSON, S. O. Advances in digital quantification technique enhance discrimination between mild and advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C. **Liver International**, v. 25, p. 1142-1149. 2005.
- LENZI, H. L.; LENZI, J. A.; KERR, I. B.; ANTUNES, S. L.; MOTA, E. M.; OLIVEIRA, D. N. Extracellular matrix in parasitic and infectious diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.** v. 86, n.3, p. 77-90. 1991.
- LENZI, H. L.; KIMMEL, E.; SCHECHTMAN, H.; PELAJO-MACHADO, M. et al. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93 (Suppl. 1) p. 141-151. 1998.
- LENZI, H. L.; ROMANHA, W DE S.; ZORZENON DOS SANTOS, R. M. et al. Four whole-istic aspects of schistosome granuloma biology: fractal arrangement, internal regulation, autopoietic component and closure, **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101 (Suppl. I): p. 219-231. 2006.
- LI, N.; HUA, J. Immune cells in liver regeneration. **Oncotarget**, v. 8, n. 2, p. 3628–3639, 2016.
- LI-HSU, H. F.; DAVIS, J. R.; LUST, G. L. Comparative studies on the lesions caused by eggs of *Schistosoma mansoni* in livers of albino mice and rhesus monkeys. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 66, p. 89-97. 1972.
- LIMA, V. L. M.; SENA, V. L. M.; STEWART, B.; OWEN, J. S.; DOLPHIN, P. J. An evaluation of the marmoset *Callitix jacchus* (sagui) as an experimental model for dyslipoproteinemia of human Schistosomiasis mansoni. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1393, p. 235-243. 1998.
- LIN, Y. C.; CHANG, P. F.; CHANG, M. H.; NI, Y. H. Genetic variants in GCKR and PNPLA3 confer susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in obese individuals. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, p. 869–874. 2014.

- LOUZADA, M. L. C.; MARTINS, A. P. B.; CANELLA, D. S.; BARALDI, L. G.; LEVY, R. B.; CLARO, R. M.; MOUBARAC, J. C.; CANNON, J.; MONTEIRO, C. A. Ultra-processed foods and the nutritional dietary profile in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 49, n. 38, p.1-11. 2015.
- LOEFFLER, D. A.; LUNDY, S. K.; SINGH, K. P.; GERARD, H. C.; HUDSON, A. P.; BOROS, D. I. Soluble egg antigens from *Schistosoma mansoni* induce angiogenesis-related processes by up-regulating vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. **Journal of Infectious Diseases**, v. 185, p. 1650–1656. 2002.
- MALTA, D. C.; MOURA, L.; PRADO, R. R.; ESCALANTO, J. C.; SCHMIDT, M. T. DUNCAN, B. B. Mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil e suas regiões, 2000 a 2011. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 599-608, 2014.
- MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Stereological tools in biomedical research. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, p. 469-486. 2003.
- MARCHESINI, G.; BRIZI, M.; BIANCHI, G.; TOMASSETTI, S.; BUGIANESI, E.; LENZI, M.; MCCULLOUGH, A. J. et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. **Diabetes**, v. 50, p. 1844-1850. 2001.
- MARCHESINI, G.; BUGIANESI, E.; FORLANI, G.; CERRELLI, F.; LENZI, M.; MANINI, R.; NATALE, S.; VANNI, E.; VILLANOVA, N.; MELCHIONDA, N.; RIZZETTO, M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. **Hepatology**, v. 37, p. 917-923. 2003.
- MARTINEZ, E. M.; NEVES, R. H.; OLIVEIRA, R. M. F.; MACHADO-SILVA, J. R.; REY, L. Parasitological and morphological characteristics of Brazilian strains of *Schistosoma mansoni* in *Mus musculus*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 557-564. 2003.
- MCKAY, D. M. The beneficial helminth parasite? **Parasitology**, v. 132, p. 1–12, 2006.
- MEIRA, D. A. Interactions of infection, nutrition, and immunity. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 28, n. 4, p. 315-319. 1995.
- MELLO, V. S. Remodelamento do fígado, pâncreas e tecido adiposo em modelo experimental de 'síndrome metabólica' tratado com telmisartana, sitagliptina e metformina. Rio de Janeiro. **Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana Experimental**. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2010, p. 130. Tese de doutorado.
- MEYER, F.; MEYER, H.; BUEDING, E. Lipid metabolism in the parasitic and free-living flat worms *Schistosoma mansoni* and *Dugesia dorotocephala*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 21, p. 257-266. 1970.
- MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; COSTA R. B. L. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta alimentar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 3, p.251-258. 2000.

- MOURA, E. C; NETO, O. L; MALTA, D. C; MOURA, L; SILVA, N. N; BERNAL, R; CLARO, R. F; MONTEIRO, C. A. Vigilância de Fatores de Risco para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal (2006). **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11(Supl.1), p. 20-37. 2008.
- MITRA, V.; METCALF, J. Functional anatomy and blood supply of the liver. **Anaesthesia and Intensive Care Medicine**, v. 13, n. 2, p. 52–53. 2012.
- NEVES, R.H.; ALENCAR, A.C.M.B.; ÁGUILA, M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A.; MACHADO-SILVA, J.R.; GOMES, D.C. Hepatic stereology of schistosomiasis mansoni infected-mice fed a high-fat chow. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, p. 253–260. 2006.
- NEVES, R. H. ALENCAR, A. C. M.B. et al. Light and confocal microscopic observations of adult *Schistosoma mansoni* from mice fed on a high-fat diet. **Journal of Helminthology**, v. 81, n. 4, p. 361–368, 2007 a.
- NEVES, R. H.; ALENCAR, A. C. M. B.; COSTA-SILVA, M.; ÁGUILA, M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; MACHADO-SILVA, J. R.; GOMES, D. C. Long-term feeding a high fat diet causes histological and parasitological effects on murine schistosomiasis mansoni outcome. **Experimental Parasitology**, v. 115, p. 324-332. 2007b.
- OLIVEIRA, S. P. Changes in food consumption in Brazil. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 47, n. 2 (supl.1), p.22-24. 1997.
- PARRAGA, I. M.; ASSIS, A. M. A.; PRADO, M. S. et al. Gender differences in growth of school aged children with schistosomiasis and geohelminth infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, n. 2, p. 150 – 156. 1996.
- PEARCE, E. J.; HUANG, S. C. C. The metabolic control of schistosome egg production. **Cellular Microbiology**, v. 17, p.796–801, 2015.
- PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The Immunobiology of Schistosomiasis. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, p. 499 – 511. 2002.
- PEREIRA, L. M; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Glomerular profile numerical density per area and mean glomerular volume in rats submitted to nitric oxide synthase blockade. **Histology and Histopathology**, v. 16, p. 15-20. 2001.
- PERUCHI, T.R; POLI-FREDERICO, R.C; CARDELLI, A.A.M; FRACASSO, M.L.C; BISPO, C.G.C; NEVES-SOUZA et al. Association between oral health status and central obesity among Brazilian independent-living elderly. **Brazilian Oral Research**, v. 30, n.1, p. 1-9. 2016.
- PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES (POF) 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. In: **Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, editor. Rio de Janeiro (Brasil); Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. 2010.**
- PINHEIRO, K. História da Alimentação. **Universitas Ciências da saúde**, v. 3, p.173-190. 2001.

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.

PODRINI, C., CAMBRIDGE, E. L., LELLIOTT, C. J., CARRAGHER, D. M., ESTABEL, J., GERDIN, A. K., KARP, N. A., SCUDAMORE, C. L., RAMIREZ-SOLIS, R. AND WHITE, J. K. High-fat feeding rapidly induces obesity and lipid derangements in C57BL/6N mice. **Mammalian Genome**, 24, 240–251, 2013.

PRADO, W. L.; LOFRANO, M. C.; OYAMA, L. M.; DÂMASO, A. R. 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.

RAMOS, T. M. B.; VASCONCELOS, A. S.; CARVALHO, V. C. O.; LIMA, V. L. M. Alterações nos níveis de colesterol, triglicerídeos e fosfolípídeo total em plasma de *Callithrix jacchus* (sagui) reinfectado por *Schistosoma mansoni*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, p. 37- 40. 2004.

RASO, G; VOUNATSOU, P; MCMANUS, D. P; N'GORAN, E. K; UTZINGER, J. A. Bayesian approach to estimate the age-specific prevalence of *Schistosoma mansoni* and implications for schistosomiasis control. **International Journal for Parasitology**, v. 37, p. 1491-1500. 2007.

RASO, P.; BERNARDES, R. C.; TAFURI, W. L.; BOGLIOLO, L.; NEVES, J. As dimensões do granuloma causado pelos ovos do *Schistosoma mansoni* no fígado humano. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.12, n. 6. 1978.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951. 1993.

REY, L. Epidemiologia e Controle da Esquistossomose nas Américas. In: **Parasitologia**, 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 455 – 479. 2001.

RIZZO, A. C. B.; GOLDBERG, T. B. L.; SILVA, C.C.; KUROKAWA, C. S.; NUNES, H. R. C.; CORRENTE, J. E Metabolic syndrome risk factors in overweight, obese, and extremely obese Brazilian adolescents. **Nutrition Journal**, v. 12, n. 19, p. 1-7. 2013.

ROCHA, M. O.; ROCHA, R. L.; PEDROSO, E. R. et al. Pulmonary manifestations in the initial phase of schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 37, p. 311–18. 1995.

RODRÍGUEZ, A.; EZQUERRO, S.; MÉNDEZ-GIMÉNEZ, L.; BECERRIL, S.; FRÜHBECK, G. Novel Aspects of Adipocyte Biology Revisiting the adipocyte : a model for integration of cytokine signaling in the regulation of energy metabolism. **American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism**. v. 309, n. 300, p.691–714, 2015.

RUTITZKY, L. I.; MIRKIN, G. A.; STADECKER, M. J. Apoptosis by Neglect of CD4 + Th Cells in Granulomas: A Novel Effector Mechanism Involved in the Control of Egg-Induced Immunopathology in Murine Schistosomiasis, **The Journal of Immunology**, v. 171, n. 4, p.1859-1867. 2003.

SCAN (Schistosomiasis collection at the natural Health Museum), March²¹. Revision of schistosomiasis from Tue. March, 2014. Disponível em: <
<http://www.scan.myspecies.info/node/36130>>. Acessado em 28 de set. 2016.

SHEN, S.W.; LU, Y.; LI, F.; SHEN, Z.H.; XU, M.; YAO, W.F.; FENG, Y.B.; YUN, J.T., WANG, Y.P., LING, W., QI, H.J.; TONG, D. X. The potential long-term effect of previous schistosome infection reduces the risk of metabolic syndrome among Chinese men. **Parasite Immunology** v. 37, p. 333–339. 2015.

SKELLY, P. J., DA'DARA, A. A., LI, X. H., CASTRO-BORGES, W. AND WILSON, R. A. Schistosome Feeding and Regurgitation. **PLoS Pathogens**, v. 10, 2014.

SOUZA, M. D. C. A.; HARDT, P. P. Evolução dos hábitos alimentares no Brasil. **Brasil alimentos**, n. 15, p. 32-39. 2002.

STADECKER, M. J.; AND H. J. HERNANDEZ. The immune response and immunopathology in infection with *Schistosoma mansoni*: a key role of major egg antigen Sm-p40. **Parasite Immunology**. v. 20, p. 217. 1998.

STADECKER, M. J.; ASAHI, H.; FINGER, E.; HERNANDEZ, H. J.; RUTITZKY, L. I.; SUN, J. The immunobiology of Th1 polarization in high-pathology schistosomiasis. **Immunological Reviews**, Copenhagen, v. 201, p. 168-169. 2004.

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

STERIO, D. C. The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. **Journal of Microscopy**, v. 134, p. 127–136. 1984.

STEWART, D.; FULTON, W. B.; WILSON, C.; MONITTO, C. L.; PAIDAS, C. N.; REEVES, R. H.; DE MAIO, A. Genetic contribution to the septic response in a mouse model. **Shock**. v. 18, n. 4, p. 342–347. 2002.

SWINBURN, B. A; SACKS, G; HALL, K. D.; MCPHERSON, K.; FINEGOOD, D. T; MOODIE, M. L; et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. **Lancet**, v. 378, p. 804-814. 2011.

TAKAHASHI, Y.; SOEJIMA, Y.; FUKUSATO, T. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 19, p. 2300–2308, 2012.

TAKAHASHI, Y.; FUKUSATO, T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 42, p. 15539–15548, 2014.

TANDRA, S.; YEH, M. M.; BRUNT, E. M.; VUPPALANCHI, R.; CUMMINGS, O. W.; UNALP-ARIDA, A.; WILSON, L. A.; Chalasani, N. Presence and significance of microvesicular steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. **The Journal of Hepatology**, v. 55, p. 654-659. 2011.

- VELLA, A. T.; HULSEBOSCH, M. D.; PEARCE, E. J. *Schistosoma mansoni* eggs induce antigen- responsive CD44-hi T helper 2 cells and IL-4-secreting CD44-lo cells. Potential for T helper 2 sub- set differentiation is evident at the precursor level. **The Journal of Immunology**, v.149, p.1714–1722. 1992.
- VITORINO, R. R.; SOUZA, F. P. C; COSTA, A. P; FARIA JÚNIOR, F. C; SANTANA, L. A; GOMES, A. P. Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. **Revista da Sociedade Brasileira Clínica Médica**, São Paulo, v. 10, p. 39-45. 2012.
- WALLACE, K.; BURT, A. D.; WRIGHT, M. C. Liver fibrosis. **Biochemical Journal** v. 411, p. 1-18. 2008.
- WEIBEL, E R. Stereological Methods. Practical methods for biological morphometry. **Academic Press**, p. 415. 1979.
- WILLIAMS, G. T; WILLIAMS, W. J. Granulomatous inflamations: a review. **Journal of Clinical Pathology**, v. 36, n. 7, p. 723-33, 1983.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: **World Health Organization**, Geneva. 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Second WHO report on neglected tropical diseases. World Health Organization, Geneva. 2013. Disponível em: <
http://www.who.int/neglected_diseases/9789241564540/en/>. Acessado em 22 de out. de 2016.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Schistosomiasis. Fact sheet 115. World Health Organization, Geneva, 2014. Disponível em: <
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>> Acessado em 17 de abr. de 2016. (2016).
- WU, D.; MOLOFSKY, A. B.; LIANG, H. E.; RICARDO-GONZALEZ, R. R.; JOUIHAN, H. A.; BANDO, J. K.; CHAWLA, A.; LOCKSLEY, R. M. Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. **Science**, v. 332, p. 243–247, 2011.
- WUHRER, M.; DENNIS, R. D.; DOENHOFF, M. J.; GEYER, R. Stage-associated expression of ceramide structures in glycosphingolipids from the human trematode parasite *Schistosoma mansoni*. **Biochimica et Biophysica Acta**; 1524: 155-61, 2000.
- WYNN, T. A.; ELTOUM, I.; CHEEVER, A. W.; LEWIS, F. A.; GAUSE, W. C.; SHER, A. Analysis of cytokine mRNA expression during primary granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni*. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 151, p. 1430-1440, 1993.
- YANG, Z.; GRINCHUK, V.; SMITH, A.; QIN, B.; BOHL, J. A.; SUN, R.; NOTARI, L.; ZHANG, Z.; SESAKI, H.; URBAN, J. F JR.; SHEA-DONOHUE, T.; ZHAO, A. Parasitic nematode-induced modulation of body weight and associated metabolic dysfunction in mouse models of obesity. **Infection and Immunity**, v. 81, p. 1905–1914, 2013.

ZIMMET, P.; ALBERTI, K. G. M. M.; KAUFMAN, F.; TAJIMA, N.; SILINK, M.; ARSLANIAN, S.; WONG, G.; BENNETT, P.; SHAW, J.; CAPRIO, S.; IDF Consensus Group: The metabolic syndrome in children and adolescents – an IDF consensus report. **Pediatric Diabetes**, v. 8, p. 299–306. 2007.