



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

ESCOLA DE NUTRIÇÃO



Proteômica aplicada ao entendimento das alterações hematológicas e do metabolismo de lipídeos no contexto da infecção experimental por *Schistosoma mansoni*

LARA GERALDA MAGELA DOS SANTOS VIEIRA

Ouro Preto, MG

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

ESCOLA DE NUTRIÇÃO



Proteômica aplicada ao entendimento das alterações hematológicas e do metabolismo de lipídeos no contexto da infecção experimental por *Schistosoma mansoni*

Lara Geralda Magela dos Santos Vieira

Trabalho apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso – TCC003, do curso de Nutrição, da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Dr. William de Castro Borges

Co-Orientador: Gustavo Gonçalves Silva

Ouro Preto, MG

2021

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

V657p Vieira, Lara Geralda Magela Dos Santos .

Proteômica aplicada ao entendimento das alterações hematológicas e do metabolismo de lipídeos no contexto da infecção experimental por *Schistosoma mansoni*. [manuscrito] / Lara Geralda Magela Dos Santos Vieira. - 2021.

86 f.: il.: color., gráf., tab., mapa.

Orientador: Prof. Dr. William de Castro Borges.

Coorientador: Me. Gustavo Gonçalves Silva.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Graduação em Nutrição .

1. Esquistossomose. 2. *Schistosoma mansoni*. 3. Lipoproteínas.. 4. Hematologia. I. Borges, William de Castro. II. Silva, Gustavo Gonçalves . III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 616.993.122

Bibliotecário(a) Responsável: Sonia Marcelino - CRB6/2247



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO



REITORIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Lara Geralda Magela dos Santos Vieira

Proteômica aplicada ao entendimento das alterações hematológicas e do metabolismo de lipídeos no contexto da infecção experimental por *Schistosoma mansoni*

Monografia apresentada ao Curso de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Nutricionista

Aprovada em 22 de janeiro de 2021

Membros da banca

Doutor - William de Castro Borges (Orientador) - Universidade Federal de Ouro Preto
Mestre - Gustavo Gonçalves Silva (Co-orientador) - Universidade Federal de Ouro Preto
Doutor - Wander de Jesus Jeremias (Avaliador) - Universidade Federal de Ouro Preto
Doutora - Nara Nunes Lage (Avaliadora) - Universidade Federal de Ouro Preto

William de Castro Borges, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 14/04/2021

Documento assinado eletronicamente por **William de Castro Borges, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 14/04/2021, às 10:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0158843** e o código CRC **AA315FC5**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº SEI nº
23109.003398/2021-66 0158843

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35400-000
Telefone: 3135591672 - www.ufop.br

AGRADECIMENTOS.

Eu sempre acreditei que estava fadada ao fracasso. Sendo a filha mais nova de uma mãe solteira com quatro filhos as possibilidades eram limitadas para mim. Todavia, eu sempre gostei de um desafio, afinal, mares calmos não fazem grandes sereias. Durante minha trajetória lidei com a ausência de muitos fatores. Com o passar do tempo, esses fatores foram substituídos. A fome de conhecimento ficou maior e eu devorava as páginas dos livros da biblioteca pública da minha cidade. Foram naquelas páginas que eu descobri que aquela garotinha de 11 anos poderia ser o que quisesse ser, mesmo que as circunstâncias em volta não fossem favoráveis.

Embora eu não tenha recebido minha carta de Hogwarts, comecei a acreditar que minha vida poderia ser mágica. Sete anos depois eu estava em uma Universidade fazendo magia: misturando reagentes, mudando soluções de coloração e descobrindo as maravilhas do Universo da pesquisa, pelo qual me apaixonei. Durante essa trajetória, tive muitas perdas, mas transformei essa paixão no meu combustível diário e não me permiti desistir. Obviamente, inúmeras pessoas contribuíram para que eu chegasse até aqui hoje, e só me resta expressar minha gratidão por todo apoio que recebi.

Te dedico esta conquista Arthur, por ser o pilar da minha vida e acreditar em mim quando nem eu mesma fui capaz de fazê-lo, por a cada queda ser a pessoa que me alçava do abismo, e nunca ter me deixado pular. Você me sustentou durante todos esses anos e eu nunca conseguirei retribuir esse cuidado!

Ao meu orientador Dr. William de Castro Borges, por ter me dado à oportunidade de trabalhar com pessoas incríveis e despertado em mim o amor pela pesquisa, todo meu respeito e admiração a você professor!

Ao meu co-orientador Gustavo Gonçalves, pela sapiência e paciência. Palavras não são suficientes para externar minha gratidão por todo apoio e auxílio ofertado durante essa caminhada.

Agradeço a banca por aceitar contribuir com esse trabalho que se tornou minha paixão.

Ao Laboratório de Enzimologia e Proteômica, em especial aos colegas de bancada: Suliana, Ana, Luís e Fred pela troca e pelos cafés.

Ao Laboratório de Epidemiologia, em especial a equipe do projeto COVID-Inconfidentes e as minhas coordenadoras: Nara e Aline, trabalhar com vocês é uma honra inestimável.

Agradeço à BioClin-Quibasa, pelo fornecimento dos kits de reagentes para análise de lipodograma e aos Laboratórios de Imunoparasitologia, Imonupatologia e ao Laboratório Piloto de Análises Clínicas, especialmente à Lúcia, Adão e Eloan, pela disponibilidade e auxílio de análise em equipamentos dos respectivos laboratórios.

Ao Centro Acadêmico Livre de Nutrição, por me permitir fazer parte de algo maior do que eu, em especial a chapa Uninutri, eu não poderia ter escolhido equipe melhor e espero ter sido uma líder a altura.

Agradeço à UFOP pelo ensino de qualidade e aos professores, em especial: Gatinha, Mama, Karininha, People, Xulia, Tia Sil, Teresinha, Camilo, Raquel e Renatinha. Vocês me desafiaram a ser uma profissional melhor e me acolheram como ninguém, logo, possuem um lugar especial em meu coração.

Agradeço à família Roberto, em especial Vovó Maria (*in memorian*) e Vovô Antônio (*in memorian*) por terem me acolhido como neta, o amor de vocês mudou minha vida e nada que eu faça chegará a altura para expressar a importância de vocês. À Luciana, Cláudia, Larissa e Gabriel pela estima e os almoços calorosos.

À Cátia por ser mais mãe que sogra e Amanda por ser uma cunhada amável, obrigada pelos momentos compartilhados e pela força durante essa jornada, sei que vocês sonharam com esse momento quase tanto quanto eu.

Agradeço aos amigos da Nutrição, em especial: Úrsula, Jéssica, João Marcos, Luiza, Letícia, Victor, Jussara, Tatiane, Renata, Camila, Isabela. Foram muitos surtos coletivos, mas vocês tornaram essa caminhada mais leve.

As amigas que se tornaram irmãs: Lorrana, Tácila, Kelly, Aline, Mari e Thaís . Vocês despertaram em mim um amor e lealdade que eu acreditava ser humanamente impossível.

Serei eternamente grata à minha amada e grandiosa República Poucas&Boas, por ser uma casa que acolhe, ama, encoraja e cuida. Em especial as boas que tive o privilégio de compartilhar a casa: Beatriz, Bárbara, Isadora, Karina, Mikha, Maria Fernanda, Mila e Geo. Nossos momentos juntas estão eternizados no meu coração.

Aos amigos Teteu, Leninha, Felipão, Fran, Rubinho, André e a todos que de alguma forma contribuíram para essa vitória.

Agradeço ao Young the Giant, Imagine Dragons, City and Color e Lagum pela trilha sonora inspiradora, principalmente nos momentos de bloqueio de escrita.

Obrigada a Nina, por ser o melhor pior cachorro de apoio emocional.

Missão cumprida, Sereia formou.

DEDICATÓRIA

A todos que levam suas vidas sob o efeito de doenças negligenciadas.

“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido. Agora é hora de compreender mais para temer menos.”

Marie Skłodowska Curie

RESUMO

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada cujos agentes etiológicos são os vermes do gênero *Schistosoma*. Constitui um grave problema de saúde pública, pois atinge aproximadamente 78 países e 200 milhões de pessoas em todo o mundo. Estudos recentes relatam associações entre infecções parasitárias e processos inflamatórios com alterações na expressão de proteínas relacionadas a várias vias metabólicas. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo a avaliação de parâmetros hematológicos e de lipidograma, bem como a análise do proteoma sérico durante a infecção experimental por *S. mansoni*. Para tanto, foram coletadas amostras de soro e sangue de camundongos infectados e não infectados (cepa C57BL / 6). Os dados hematimétricos e de lipidograma foram analisados três, cinco e sete semanas após a infecção. Os índices hematimétricos revelaram que os animais infectados, principalmente após a sétima semana de infecção, apresentavam leucocitose, eritropenia e anemia. Os parâmetros do lipidograma mostraram alterações consideráveis nos níveis de lipoproteínas circulantes associadas à infecção parasitária, principalmente 5 e 7 semanas após a infecção. A eletroforese em gel bidimensional do soro do camundongo revelou bandas únicas de animais infectados e uma expressão diferencial de proteínas em 25 e 50 kDa, provavelmente como resultado da alta síntese de imunoglobulina em resposta à infecção. A análise proteômica baseada em espectrometria de massa do soro de camundongo sete semanas após a infecção permitiu a identificação de 403 peptídeos trípticos, representando 211 proteínas contidas em 115 grupos de proteínas. Destes, 23 grupos foram encontrados apenas no soro de camundongos não infectados, 73 grupos foram compartilhados entre as amostras e 19 foram associados apenas ao grupo infectado. Coletivamente, nossos resultados revelaram que a infecção causada por *S. mansoni* leva a alterações mensuráveis nos níveis e composição dos constituintes do sangue. Uma exploração adicional do proteoma sérico deve potencialmente revelar novos biomarcadores da doença que podem ser úteis para o prognóstico e / ou diagnóstico da doença.

PALAVRAS - CHAVE

Esquistossomose, Lipídeos, Lipoproteínas, Proteômica, Hematologia, *Mus musculus*, *Schistosoma mansoni*, Apolipoproteínas.

ABSTRACT

Schistosomiasis is a neglected tropical disease whose etiological agents are flatworms of the genus *Schistosoma*. It constitutes a serious public health problem, since it affects approximately 78 countries and 200 million individuals worldwide. Recent studies report associations between parasitic infections and inflammatory processes with changes in the expression of proteins related to various metabolic pathways. In this sense, this work aimed the evaluation of hematological and lipidogram parameters as well as the analysis of the serum proteome during the experimental infection caused by *S. mansoni*. To this end, serum and blood samples were collected from infected and non infected mice (C57BL/6 strain). Hematimetric and lipidogram data were analyzed at three, five and seven weeks after infection. Hematimetric indices revealed that the infected animals, particularly after the seventh week of infection, exhibited leukocytosis, erythropenia and anemia. The lipidogram parameters showed considerable alterations in the levels of circulating lipoproteins associated with the parasitic infection, particularly at 5 and 7 weeks post-infection. The two-dimensional gel electrophoresis of the mouse serum revealed unique spots from infected animals and a differential expression of proteins at 25 and 50 kDa, likely as a result of high immunoglobulin synthesis in response to the infection. Mass spectrometry-based proteomic analysis of the mouse serum at seven weeks post infection allowed the identification of 403 tryptic peptides, representing 211 proteins contained within 115 protein groups. Among these, 23 groups were found only in the serum from non infected mice, 73 groups were shared between the samples and 19 were only associated with the infected group. Collectively, our findings revealed that the infection caused by *S. mansoni* leads to measurable alterations in the levels and composition of blood constituents. Further exploration of the serum proteome should potentially reveal novel biomarkers of the disease that could be useful for prognosis and/or diagnosis of the disease.

KEY - WORDS:

Schistosomiasis, lipids, lipoproteins, Proteomics, Hematology, *Mus musculus*, *Schistosoma mansoni*.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Revisão da literatura	3
2.1 Epidemiologia e Aspectos Históricos da Evolução da Esquistossomose no Brasil ..	3
2.2 O Agente Etiológico: <i>Schistosoma mansoni</i>.....	5
2.3 Ciclo de Vida de <i>Schistosoma mansoni</i> e Sintomatologia.....	6
2.4 Diagnóstico e Tratamento da esquistossomose	11
2.5 Proteômica.....	12
2.6 Metabolômica	16
2.7 Metabolismo Lipídico.....	17
2.7.1 Lipoproteínas	17
2.7.2 Apolipoproteínas.....	18
2.7.3 Metabolismo das lipoproteínas.....	20
3. Objetivos.....	25
3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivos específicos	25
4. Metodologia	26
4.1 Manutenção do Ciclo Biológico de <i>Schistosoma mansoni</i>	26
4.2 Delineamento experimental	26
4.3 Obtenção de amostras	28
4.4 Análise dos Parâmetros Hematológicos.....	29
4.5 Análise do Perfil Lipídico	29
4.6 Eletroforese Bidimensional (2D SDS PAGE)	30
4.6.1 Preparo da amostra	30
4.6.2 Isoeletrofocalização	30

4.6.3 Segunda dimensão	30
4.6.4 Coloração com Coomassie Blue G-250	31
4.7 Análise proteômica composicional por meio de espectrometria de massas	31
4.7.1 Digestão enzimática de amostras de soro	31
4.7.2 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas.....	32
4.7.3 Busca de Identidades	32
4.8 Análise Estatística.....	33
5. Resultados	34
5.1 Avaliação da infecção e progressão da esquistossomose mansoni no modelo murino	34
5.2 Análise de Hemograma	35
5.3 Análise do Lipidograma.....	39
5.4 Eletroforese bidimensional de amostras de soro	41
6. Discussão	52
6.1 Avaliação da progressão da esquistossomose no modelo murino	52
6.2 Análise dos parâmetros hematológicos.....	52
6.3 Perfil eletroforético bidimensional (2D SDS PAGE)	53
6.4 Avaliação do perfil lipídico associado à análise proteômica composicional	54
7. Conclusões	58
8. Referências Bibliográficas	59
9. Anexos.....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição global de parasitos do gênero <i>Schistosoma</i>.....	3
Figura 2: Distribuição da esquistossomose no Brasil segundo a faixa de positividade em 2018..	4
Figura 3: Representação da expansão da esquistossomose no Brasil.....	5
Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura de <i>Schistosoma mansoni</i>.....	6
Figura 5: Distribuição dos caramujos do gênero <i>Biomphalaria</i> no Brasil.....	7
Figura 6: Ciclo de vida do <i>S. mansoni</i>.....	9
Figura 7: Alterações celulares decorrentes da presença do ovo de <i>S. mansoni</i> em hepatócitos e enterócitos.....	10
Figura 8: Fluxograma simplificado de um espectrômetro de massas acoplado a HPLC aplicado a proteômica.....	15
Figura 9: Mobilização, digestão e transporte de lipídeos da dieta.....	21
Figura 10: Metabolismo das lipoproteínas.....	22
Figura 11: Proteínas diferencialmente expressas.....	24
Figura 12: Delineamento experimental dos períodos de coleta de amostras.....	27
Figura 13: Delineamento experimental dos camundongos da linhagem C57BL/6.....	28
Figura 14: Peso corporal, peso do baço e razão peso baço/corporal dos camundongos da linhagem C57BL/6.....	34
Figura 15: Resultados de hemoglobina, hematócrito e eritrócitos em animais controle e infectados em 3, 5 e 7 semanas.....	36
Figura 16:: Índices hematimétricos de camundongos da linhagem C57BL/6 nas condições de controle e infectado em 3, 5 e 7 semanas.....	37
Figura 17: Valores de leucócitos e plaquetas obtidos da dosagem sanguínea de camundongos controle e infectados.....	39

Figura 18: Valores de colesterol total e triglicérides em camundongos C57BL/6, controles e infectados em 3, 5 e 7 semanas..	40
Figura 19: Dosagem de lipoproteínas plasmáticas em camundongos C57BL/6 controles e infectados..	41
Figura 20: 2D SDS PAGE de amostras de soro de camundongos da linhagem C57BL/6 controle e infectado em 7 semanas.....	422
Figura 21: Distribuição dos grupos de proteínas entre as condições controle e infectado..	44
Figura 22: Natureza do soroproteoma.....	45
Figura 23: Rede de interação de proteínas.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Aspectos das lipoproteínas.....	18
Tabela 2: Principais características das apolipoproteínas.....	19
Tabela 3: Valor médio dos parâmetros hematológicos dos animais do grupo controle em 3, 5 e 7 semanas.....	38
Tabela 4: Valor médio dos parâmetros hematológicos dos animais do grupo infectado em 3, 5 e 7 semanas.....	38
Tabela 5: Amostras de soro direcionadas à plataforma UHPLC-MS/MS e subsequentes indicadores.....	43
Tabela 6: Proteínas identificadas em amostras de soro de animais controles e infectados em 7 semanas.	46

1. Introdução

A esquistossomose é uma patologia infecto parasitária, de natureza aguda e crônica, com manifestações clínicas diversas, que variam de dermatite leve a fibrose hepato-intestinal (SANTOS, 2019). Dentre as parasitoses que acometem o homem, é uma das mais disseminadas pelo globo, com milhões de indivíduos infectados (CAMPOS *et al.*, 2019). Parasitos do gênero *Schistosoma* são os agentes etiológicos responsáveis pela transmissão da doença (LIMA *et al.*, 2018). Dentre as seis espécies que infectam os seres humanos, as que possuem maior relevância epidemiológica são o *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma haematobium* e *Schistosoma mansoni* (WEERAKOON *et al.*, 2015).

A endemicidade da esquistossomose está associada à precariedade do saneamento básico, comum em comunidades em situação de vulnerabilidade social. A infecção ocorre pelo contato com água contaminada com fezes de indivíduos infectados (CAMPOS *et al.*, 2019). O *S. mansoni* é a única espécie descrita nas Américas (LOPES *et al.*, 2017) e acredita-se que sua entrada no Brasil foi durante a colonização portuguesa, entre os séculos XVI e XVII (TCHUEM TCHUENTE *et al.*, 1995). Uma vez em território brasileiro, o parasito encontrou condições ambientais oportunas para sua adaptação, caracterizando a esquistossomose como um grave problema de saúde pública no Brasil (MARCULINO *et al.*, 2017).

Por possuir caráter assintomático no início da infecção, a esquistossomose evolui para as formas mais graves, no paciente, de maneira silenciosa (MARCULINO *et al.*, 2017). Atualmente, o método de diagnóstico da esquistossomose é baseado na detecção de ovos do parasito nas fezes (OGONGO *et al.*, 2018). Todavia, segundo o Ministério da Saúde (2017), cerca de 20% a 30% das infecções ativas não são notificadas. Isto ocorre devido à baixa sensibilidade característica dos testes parasitológicos, principalmente, em regiões de baixa endemicidade, onde predominam indivíduos infectados com baixa carga parasitária (BARBOSA, 2017).

A ausência de um diagnóstico precoce colabora com a progressão do processo fibrinogênico, podendo culminar na forma mais severa da doença: hepatoesplênomegalia com hipertensão portal, varizes esofagianas e hemorragia digestiva alta, podendo levar o paciente a óbito (MEDEIROS *et al.*, 2014). Dessa forma, em virtude da baixa sensibilidade dos testes mais utilizados na prática clínica, salienta-se a urgência em estabelecer abordagens

direcionadas para a exploração de novos biomarcadores da doença que possam ser detectados precocemente.

Estudos têm demonstrado que a infecção por *S. mansoni* promove alterações no metabolismo lipídico (PIMENTA, 2013; SILVA, 2002) e alterações hematológicas (DÁLIA, 2002). Trabalhos recentes utilizando plasma de camundongos infectados com *S. mansoni* evidenciaram proteínas diferencialmente expressas, por meio de abordagens proteômicas em larga escala. Parte dessas moléculas estão envolvidas com o metabolismo de lipídeos, ao transporte de ferro e grupo heme, e a constituição de eritrócitos (SILVA, 2019).

As alterações na expressão dessas moléculas em amostras de indivíduos infectados caracterizam um passo importante para a compreensão das interações parasito-hospedeiro e configuram a oportunidade de estabelecer abordagens em proteômica e metabolômica, ferramentas cruciais para a investigação de biomarcadores relacionados ao metabolismo lipídico e hematológico. Nesse cenário, acredita-se que essas abordagens podem ser promissoras para a compreensão dos mecanismos moleculares associados às alterações observadas, culminando na possibilidade de um diagnóstico precoce e melhor prognóstico dos pacientes.

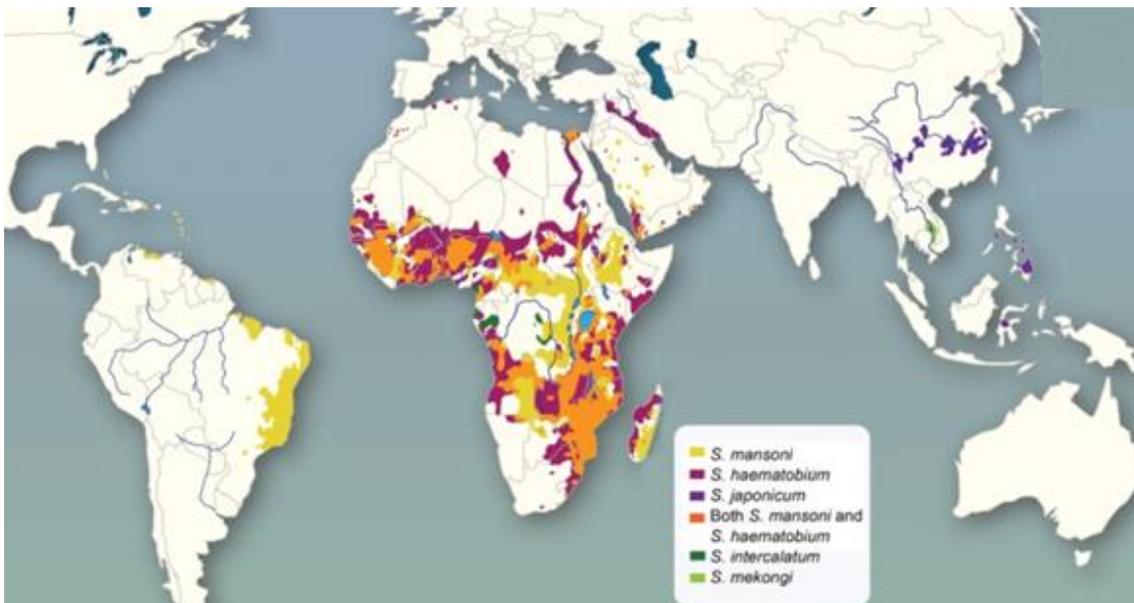
2. Revisão da literatura

2.1 Epidemiologia e Aspectos Históricos da Evolução da Esquistossomose no Brasil

A esquistossomose é uma doença negligenciada, de caráter tropical, cujos agentes etiológicos são parasitos do gênero *Schistosoma*. Constitui-se um grave problema de saúde pública, uma vez que acomete aproximadamente 200 milhões de indivíduos mundialmente (CHUAH *et al.*, 2016), refletindo em um risco de infecção para cerca de 600 milhões de pessoas (VITORINO *et al.*, 2012).

Dentre as doenças parasitárias, a esquistossomose é a segunda com maior influência socioeconômica no mundo, ficando atrás apenas da Malária (FAVERO, 2019). Possui vasta distribuição geográfica no globo, acometendo cerca de 78 países, especialmente os continentes africano e asiático (Figura 1) (CHUAH *et al.*, 2016).

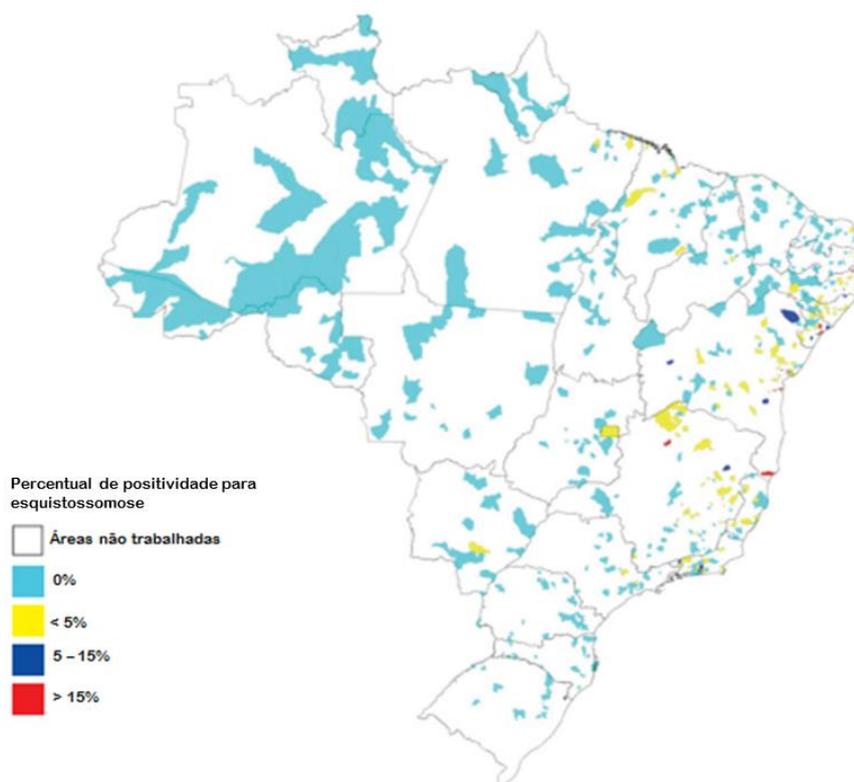
Figura 1: Distribuição global de parasitos do gênero *Schistosoma*. Observa-se convergência desses parasitos no continente africano. No Brasil, o *S. mansoni* é a única espécie presente.



FONTE: Weerakoon, 2015.

O Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses, discorre de uma abordagem mais recente sobre a epidemiologia da doença no país, demonstrando que cerca de 1% dos 197 mil indivíduos pesquisados dispersos nas 27 regiões do Brasil, apresentam infecção pelo *Schistosoma mansoni* (Figura 2) (KATZ, 2018).

Figura 2: Distribuição da esquistossomose no Brasil segundo a faixa de positividade em 2018. Evidencia-se as regiões Sudeste e Nordeste do Brasil como as áreas de maior positividade, destacadas em pontos vermelhos. Além disso, há regiões de baixa e média prevalência.



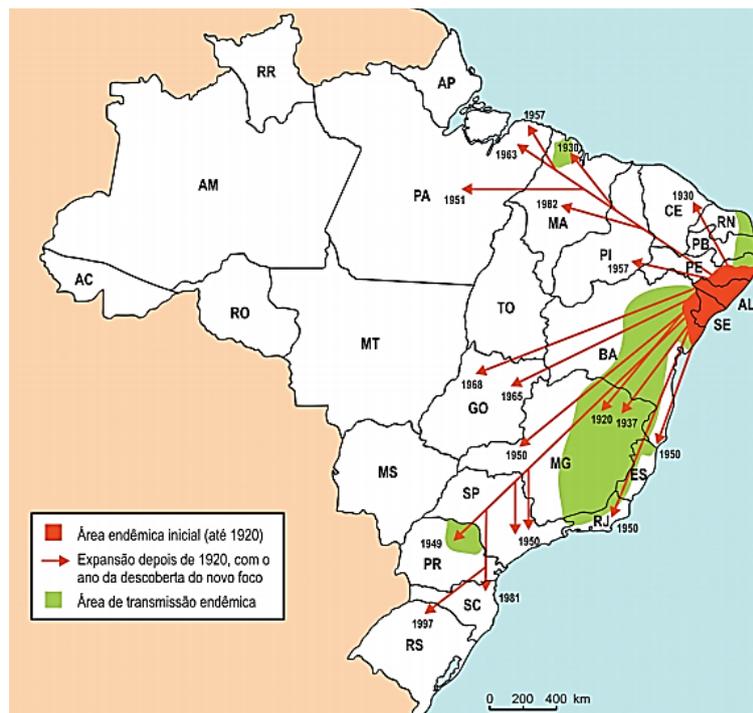
FONTE: Adaptado de Katz, 2018.

Há seis espécies na família *Schistosomatidae* passíveis de infectarem humanos, todavia, os casos mais recorrentes de infecções são pelo *S. Japonicum* (Katsurada, 1904), *S. haematobium* (Bilharz, 1851) e *S. mansoni* (Sambon, 1907) (HE; CHEN, RAMASWAMY, 2012). O *Schistosoma mansoni* possui maior relevância para a saúde pública brasileira por ser a única espécie descrita nas américas do sul e central.

A inserção da esquistossomose em território brasileiro data a época do Brasil Colônia, no qual escravos infectados advindos de regiões endêmicas da África entraram no Brasil nos portos de Recife e Salvador com o intuito de trabalhar nas plantações de cana-de-açúcar. Acredita-se que este foi um fator considerável na disseminação da esquistossomose, uma vez que as condições de saneamento básico inadequadas e a presença do caramujo transmissor do *S. mansoni*, concomitantes ao aporte hídrico nas regiões das lavouras canavieiras, configuraram um ambiente favorável para a disseminação da esquistossomose (CARMO; BARRETO, 1994).

A Figura 3 evidencia os processos migratórios e como eles influenciaram a expansão da doença, conduzindo-se do Nordeste para as demais regiões, sendo o Sudeste o principal alvo (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2014).

Figura 3: Representação da expansão da esquistossomose no Brasil. Observa-se que até 1920 a área endêmica se restringia aos estados de Sergipe, Alagoas, e uma porção da Bahia e Pernambuco, como evidenciado em vermelho. As setas vermelhas sinalizam um fluxo intenso de disseminação a partir de 1920, rumo ao Sudeste e as demais localidades do Nordeste. Uma parte do Norte e Sul do país foram alvo da expansão. As áreas em verde demonstram as áreas de transmissão endêmica.



FONTE: Ministério da Saúde, 2014.

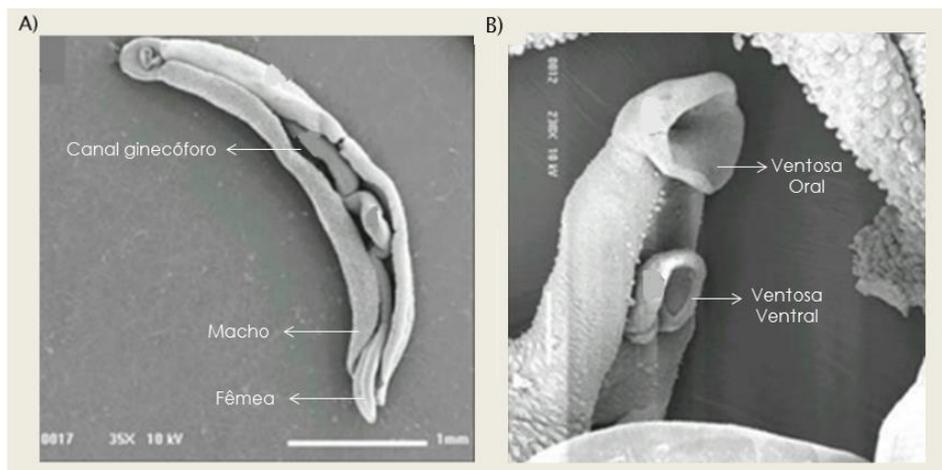
2.2 O Agente Etiológico: *Schistosoma mansoni*

O *Schistosoma mansoni* é um platelminto, digenético, da classe dos trematódeos, pertencente à família *Schistosomatidae* que se difere dos demais trematódeos pelo dimorfismo sexual. Os parasitos adultos habitam os vasos mesentéricos e o sistema porta hepático de mamíferos das ordens *Primates*, *Rodentias*, *Artiodactyla* e *Carnivora* (MACHADO, NEVES E GOMES, 2008).

O macho adulto mede aproximadamente 6,5 mm a 12 mm de comprimento, possui coloração leitosa e é achatado. É dividido na porção anterior, onde se encontram a ventosa oral e ventral (acetábulo), e porção posterior, que adquire um aspecto cilíndrico devido ao enrolamento ventral de suas bordas corporais, com o intuito de formar o canal ginecóforo para abrigar a fêmea e fecundá-la. Posterior à ventosa oral encontra-se o esôfago que converge, a

nível da ventosa ventral, formando um ceco que termina na extremidade posterior. Como o parasito não possui órgão copulador, os canais deferentes das massas testiculares que se encontram atrás do acetábulo abrem-se no poro genital, que está dentro do canal ginecóforo, onde os espermatozoides alcançam as fêmeas. Estas, por sua vez, possuem cerca de 15 mm de comprimento quando adultas, coloração escura, devido ao sangue semidigerido, com extremidades afiladas e formato integralmente cilíndrico. Na porção anterior, encontram-se a ventosa oral e o acetábulo. Posterior a este observa-se a vulva, seguida do útero e depois do ovário. A porção posterior é composta pelas glândulas vitelogênicas e o ceco (NEVES, 2005). A figura 4 representa a fêmea alojada no canal ginecóforo e as principais estruturas morfológicas externas do *S. mansoni* (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2014).

Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura de *Schistosoma mansoni*. A) Casal de vermes adultos, salienta-se a fêmea do helminto acoplada no canal ginecóforo do macho. **B)** Principais estruturas morfológicas externas do *S. mansoni*.



FONTE: Adaptado de Oliveira *et al.*, 2013.

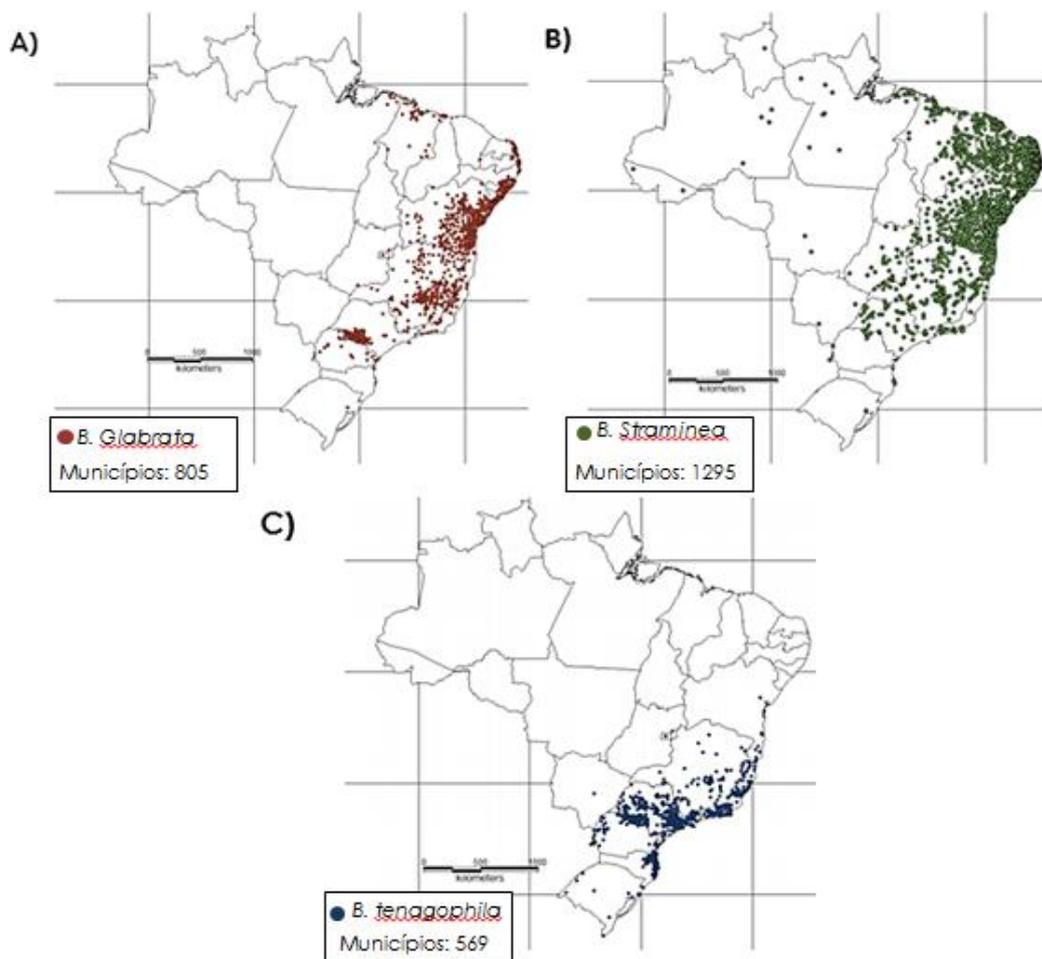
2.3 Ciclo de Vida de *Schistosoma mansoni* e Sintomatologia

A disseminação da doença depende da excreção de ovos nas fezes do hospedeiro vertebrado em um curso de água, conjuntamente a presença de caramujos susceptíveis à infecção pelo parasito, representados no Brasil por moluscos do gênero *Biomphalaria* (Figura 5). Es estágios evolutivos do *Schistosoma* (Figura 6) compreendem ovo, miracídio, esporocisto, cercária, esquistossômulo e verme adulto (KATZ e ALMEIDA, 2003).

O ciclo de vida desse parasito compreende duas fases parasitárias: a primeira é assexuada e ocorre no hospedeiro intermediário: planorbídeos do gênero *Biomphalaria*. Dentre os de relevância no contexto da esquistossomose salienta-se: *B. glabrata* (Say, 1818);

B. tenagophila (D'orbigny, 1835); *B. straminea* (Dunker, 1848) por serem naturalmente aptos à infecção pelo *S. mansoni*, responsáveis por alojar o parasito em sua fase larvária. Residem em água doce, que possuam velocidade de fluxo abaixo de 30 cm/s, e podem habitar pântanos, córregos e remansos de rios (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2014). A presença de *B. glabrata* foi notificada em 16 estados brasileiros e possui maior relevância no cenário da esquistossomose por ter níveis elevados de infecção e ter sua distribuição frequentemente associada à incidência da doença.

Figura 5: Distribuição dos caramujos do gênero *Biomphalaria* no Brasil. A) Municípios com a presença *B. Glabrata*. B) Distribuição da *B. Straminea*. C) Prevalência da *B. tenagophila*.



FONTE: Adaptado de Carvalho; Caldeira, 2004.

A segunda fase transcorre no hospedeiro definitivo vertebrado, sendo o homem o principal (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2014). Nos seres humanos, o *S.mansoni* habita as veias mesentéricas, preferencialmente a veia mesentérica inferior, do plexo hemorroidário da porção intra-hepática da veia porta (TSUJI, 2020; BRASIL, 2014). A postura de ovos ocorre

no interior das vênulas da submucosa intestinal e é iniciada quando a fêmea se insere no canal ginecóforo do macho (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2014).

Os parasitos adultos alojados nesse plexo do hospedeiro vertebrado darão início a oviposição. Os ovos irão se desenvolver e parte destes migrarão para o lúmen intestinal e serão excretados junto com as fezes. Para que este processo ocorra, é necessária uma série de interações coordenadas entre hospedeiro e o parasito. Os mecanismos moleculares envolvidos neste processo ainda não estão completamente elucidados, mas alguns pesquisadores acreditam que os esquistossomos interagem com o sistema imunológico do hospedeiro, comprometendo barreiras endoteliais, promovendo a penetração e translocação dos ovos da parede das veias aonde são postos para o lúmen intestinal (COSTAIN, MACDONALD, 2018). Quando chegam nas fezes e, posteriormente, são excretadas, em contato com a água e em condições ideais de temperatura e luminosidade, há a eclosão do miracídio, que é a forma infectante para hospedeiro vertebrado, e liberação do miracídio que necessita do hospedeiro intermediário para se desenvolver (NEVES, 2005). A Figura 6 ilustra o ciclo de vida do parasito.

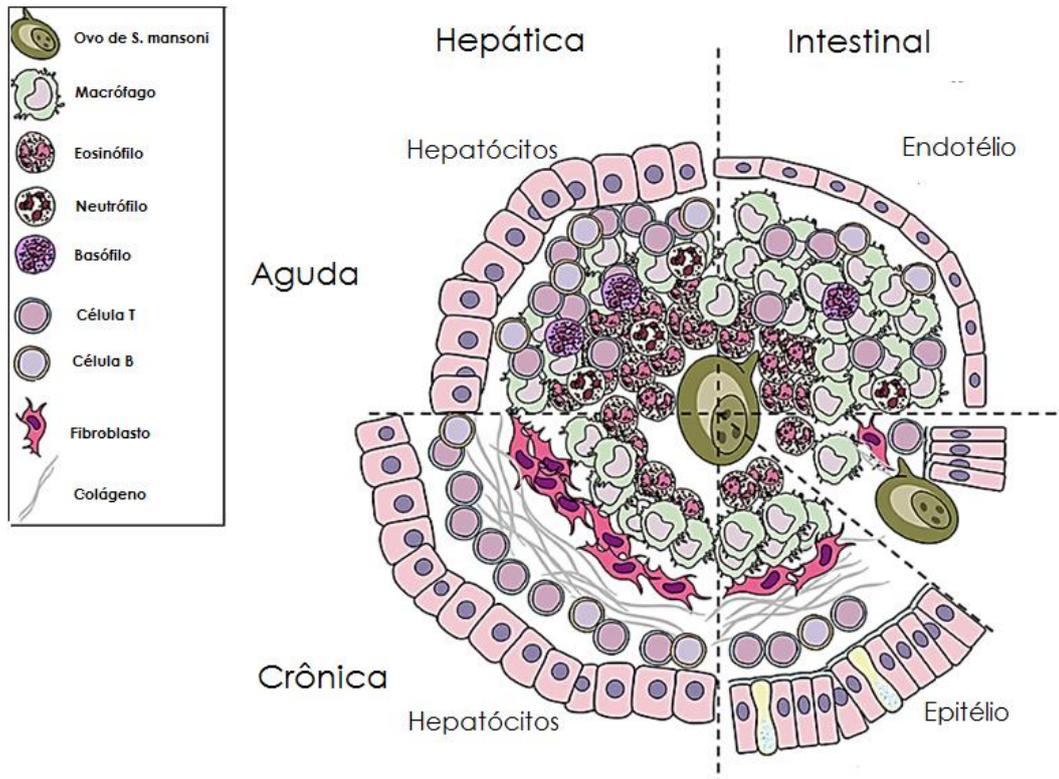
Figura 6: Ciclo de vida do *S. mansoni*. O ciclo de vida do *S. mansoni* é heteróxico, necessita da presença do hospedeiro invertebrado, planorbídeos do gênero *Biomphalaria*, e do hospedeiro vertebrado, retratado pelo homem.



FONTE: Carvalho *et al.*, 2008.

A patogenicidade da esquistossomose é influenciada pela interação parasito/hospedeiro, fase evolutiva e a carga parasitária (SOUZA, 2011). Fundamentalmente, as manifestações clínicas da esquistossomose mansoni são decorrentes da resposta inflamatória granulomatosa que ocorre ao redor dos ovos do parasito (NEVES, 2005). A Figura 7 demonstra as alterações celulares provenientes da presença dos ovos do parasito no fígado e intestino, durante a fase aguda e crônica da doença.

Figura 7: Alterações celulares decorrentes da presença do ovo de *S. mansoni* em hepatócitos e enterócitos. Na fase aguda, no granuloma hepático, há predominância de células T e eosinófilos, com alguns neutrófilos e macrófagos. Nos enterócitos, os macrófagos se apresentam em maior número. Em ambos os locais, há poucos basófilos e neutrófilos. A fase crônica é caracterizada pelo processo de fibrose, observa-se que as células hepáticas possuem maior quantidade de tecido fibroso que as intestinais. No fígado, os ovos irão ficar presos pela fibrose. Nos enterócitos podem ser liberados para o lúmen intestinal, por mecanismo não elucidados completamente, ou serem detidos pela fibrose e promoverem alterações teciduais semelhantes às observadas no tecido hepático.



FONTE: Schwartz e Fallon, 2018.

A esquistossomose mansoni pode se manifestar em duas fases. A primeira é a fase aguda, com possível manifestação da febre de Katayama, tipificada por febre, anorexia, dor abdominal e cefaleia. Essa fase é caracterizada pela dermatite cercariana, ocasionada pela penetração das cercárias na pele do hospedeiro vertebrado e posterior desenvolvimento de esquistossômulo à verme adulto (PORDEUS et al., 2008).

A outra, por sua vez denominada fase crônica, é caracterizada por hepatoesplenomegalia, varizes esofagianas e ascite. A localização e quantidade de vermes, reações do organismo e resposta ao tratamento interferem na sintomatologia denotada pelo indivíduo infectado, contudo, alguns são assintomáticos (RODRIGUES, 2019; MINISTÉRIO DA SAUDE, 2014).

2.4 Diagnóstico e Tratamento da esquistossomose

Tendo em vista a pluralidade das manifestações clínicas da esquistossomose, é crucial o emprego de exames laboratoriais para o diagnóstico. Estes, por sua vez, podem ser realizados através de métodos parasitológicos e imunológicos (VITORINO, 2012).

O Ministério da Saúde classifica os métodos de diagnóstico em diretos, que se fundamentam na detecção de ovos do parasito nas fezes, e indiretos, caracterizados por reações antígeno-anticorpo (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2014). O diagnóstico indireto apresenta extrema relevância para a detecção precoce da esquistossomose, uma vez que os testes parasitológicos possuem baixa sensibilidade e dependem da quantidade de ovos nas fezes (BARBOSA, 2017).

Atualmente, o método de diagnóstico de Kato-Katz, formulado em 1972, é o padrão ouro para o diagnóstico da esquistossomose. É fundamentado na avaliação quantitativa de ovos por gramas de fezes e apresenta baixo custo de realização (GOMES, 2019). Entretanto, devido à baixa sensibilidade do método, o número de indivíduos que apresentam infecção por *S. mansoni* pode ser subestimado, uma vez que o diagnóstico da esquistossomose ocorre por meio da visualização dos ovos nas fezes. Contudo, em regiões não endêmicas os indivíduos possuem baixa carga parasitária, o que diminui a quantidade de ovos nas fezes, mas não descarta a infecção (OLIVEIRA, 2003; LINDHOLZ, 2019).

A técnica *Helmintex*, proposta recentemente, é uma metodologia coparassitológica que faz uso de partículas paramagnéticas que propõe sensibilidade elevada para detecção de ovos do *S. mansoni* nas fezes (FAVERO, 2019). Acredita-se que o *Helmintex* poderia ser utilizado como método de referência para o diagnóstico da esquistossomose mansoni por possuir alta sensibilidade. Todavia, sua maior limitação é a aplicabilidade. Nesse cenário, Favero e colaboradores (2017), sugeriram um aperfeiçoamento, otimizando as etapas de trabalho e diminuindo o tempo de execução, o que facilitaria o processo do método (LINDHOLZ, 2019; FAVERO, 2017).

As técnicas sorológicas representam uma metodologia alternativa para os falsos negativos característicos dos testes parasitológicos, uma vez que se baseiam na detecção de moléculas específicas de indivíduos doentes, que irão ser diferencialmente expressas na presença do parasito no ser humano. Dentre elas, as mais utilizadas na prática clínica são: a técnica de ELISA, Imunofluorescência Indireta (RIFI-IgM) e ELISA-PCR (DIAS, 2019).

Apesar dos esforços globais para combater a doença, a prevalência da esquistossomose é inaceitavelmente alta. As complicações clínicas decorrentes do avanço da infecção podem se tornar condições irreversíveis (WEERAKOON, 2015). Os métodos de diagnóstico disponíveis, atualmente, em sua maioria, necessitam de uma infraestrutura laboratorial que regiões com baixo Índice de Desenvolvimento Humano carecem, como equipamentos de última geração e infraestrutura adequada (SANTANA, 2018). Por isso, são cruciais novos métodos de diagnóstico, com ênfase em uma abordagem inclinada ao auxílio na detecção da doença em indivíduos com baixa carga parasitária (WILSON *et al.*, 2006).

A terapêutica disponível, atualmente, é através da utilização dos medicamentos Praziquantel e Oxamniquina, que apresentam semelhanças no que se diz respeito a efeitos colaterais, toxicidade e capacidade terapêutica. Todavia, o Praziquantel é mais comumente empregado devido ao baixo custo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). O tratamento é realizado com dose única, de 40 mg por kg de massa corporal (FURTADO, 2018), os efeitos colaterais incluem diarreia e dor abdominal, e ele se mostra eficiente contra as principais espécies de *Schistosoma*. A Organização Mundial de Saúde (OMS), por meio de Assembleias Mundiais de Saúde, tem orientado a administração do medicamento em massa, a fim de diminuir os casos de infecção global (ANDRADE, 2017).

2.5 Proteômica

Os avanços em genética e na biologia molecular foram fundamentais para o desenvolvimento da genômica (MOREIRA, 2015). A criação do “Projeto Genoma Humano” (PGH) no final do século XX, que visava o sequenciamento do genoma humano, instigou os pesquisadores e os fez crer que uma nova era na ciência se aproximava, uma vez que acreditavam que o genoma humano seria a chave para compreender os problemas acerca da existência humana (SILVA *et al.*, 2014).

A proteômica pode ser empregada como uma abordagem de contribuição para a compreensão dos processos metabólicos nos quais as moléculas expressas pelos genes estão envolvidas (SANTOS, COSTA e NETO, 2019). Ao contrário do genoma, o proteoma é uma entidade dinâmica que se altera em decorrência dos processos celulares. Nesse cenário, constitui-se como uma possibilidade para identificação e caracterização de moléculas exógenas ou endógenas inerentes a processos patológicos específicos. Por isso, a descrição detalhada das proteínas encontradas em um determinado estado patológico pode ser uma

abordagem que permita um diagnóstico mais rápido e seguro, além da escolha de um tratamento mais adequado (SANTOS, COSTA e NETO, 2019).

Uma abordagem proteômica visa analisar de uma perspectiva descritiva o proteoma. Além disso, possibilita técnicas que permitem reunir informações sobre modificações pós-traducionais, interações proteicas e abundância de proteínas (BARBOSA *et al.*, 2012).

Na contemporaneidade, há um interesse expressivo no emprego da proteômica como instrumento para detecção de marcadores proteicos, uma vez que a descrição das proteínas encontradas em um determinado estado patológico permite não apenas um diagnóstico precoce, mas a escolha de um tratamento eficaz, o que influi em melhor prognóstico para os pacientes (SILVA NETO; SANTOS; COSTA; 2019). As técnicas em proteômica permitem a detecção de patógenos, compreensão das interações parasito-hospedeiro, e identificação de possíveis alvos farmacológicos (QUERO *et al.*, 2016) através da detecção de alterações nos genes, seus transcritos e produtos proteicos envolvidos em processos celulares relevantes, que oferecem um panorama amplo da fisiologia do paciente (BARBOSA, 2012). Nesse cenário, tecidos, órgãos e determinados fluidos corporais podem ser aplicados para identificação de biomarcadores de infecção (BODZON-KULAKOWSKA *et al.*, 2007).

A urgência no estabelecimento de um diagnóstico precoce da esquistossomose pode ser justificada pelos inúmeros mecanismos de evasão que o *Schistosoma* possui do sistema imune, podendo parasitar o hospedeiro por anos, estabelecendo uma infecção crônica. Os estudos pós genômicos que permitiram o sequenciamento do genoma completo do *S. mansoni* constituíram a primeira etapa do processo de melhoria da compreensão da biologia molecular desse parasito. Dessa forma, o banco de dados de proteínas obtidos a partir do genoma do parasito consente para o avanço na identificação de proteínas a partir de dados originados por espectrometria de massas (RIBEIRO, 2012).

Segundo Pandey e Mann (2000), a identificação e a análise de proteínas podem ser realizadas por eletroforese unidimensional, bidimensional (*1D e 2D SDS PAGE*), métodos pontuais de detecção como *Western Blot*, caracterizados por metodologias que são representadas como técnicas de proteômica clássica. Além disso, é possível utilizar abordagens mais arrojadas baseadas em plataformas robustas de alta resolução, a exemplo de cromatografia acoplada à espectrometria de massas.

A eletroforese é uma técnica fundamentada na migração de moléculas carregadas eletricamente submetidas a um campo elétrico. A eletroforese unidimensional é caracterizada pela separação dessas moléculas unicamente pelas suas respectivas massas moleculares (ROCHA, 2005). Todavia, proteínas que possuem massas moleculares próximas configuram uma limitação desse método, uma vez que sofrem co-migrações em locais específicos no gel (bandas) de eletroforese (BRUNELLE; GREEN 2014).

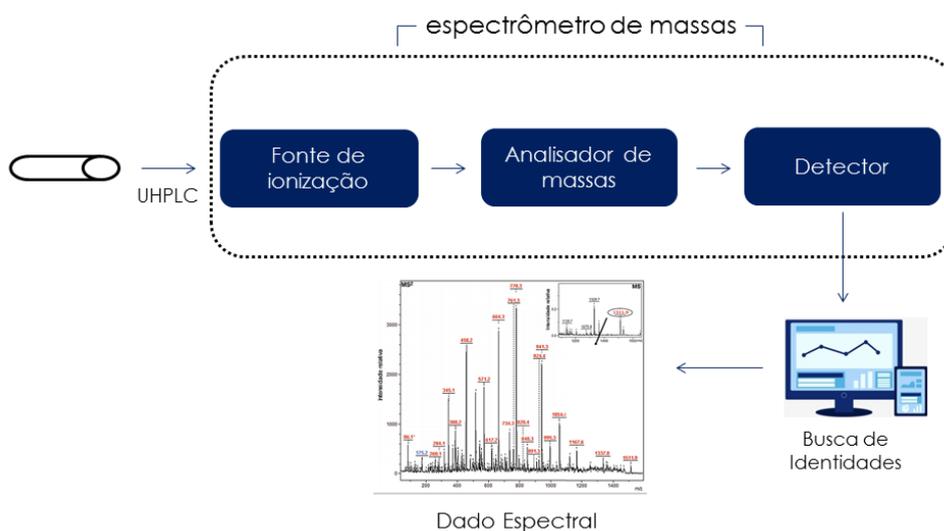
A eletroforese bidimensional se caracteriza como um método com maior resolução de separação, uma vez que é capaz de segregar as proteínas da amostra baseada, inicialmente, em seu ponto isoelétrico, que corresponde ao valor de pH no qual a carga líquida da proteína é igual a zero, e em seguida pela massa molecular (LEE, SARAYGORD-AFSHARI, LOW, 2019). Avanços nas metodologias propostas ao longo do tempo possibilitaram otimização da técnica, o que culmina em maior poder de identificação proteínas (ISSAQ; VEENSTRA, 2020).

As cromatografias se destacam como instrumento para separação de matrizes proteicas complexa, e está dentre os métodos para análise proteômica (LANÇAS, 2009). Sendo uma técnica baseada na separação dos componentes de uma mistura que ocorre em duas fases distintas: fase estacionária e fase móvel. Substancialmente, a separação é resultado de interações ocorridas entre a fase estacionária e a fase móvel. Dentre os métodos cromatográficos a cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) possui alta sensibilidade quando aliada a outros métodos, permitindo identificação e análise quantitativa de componentes de uma mistura complexa, que estejam em baixas concentrações (PERES, 2002; LANÇAS, 2009). A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tornou-se um instrumento analítico crucial para estudos de sistemas biológicos, uma vez que é uma metodologia que possui elevada sensibilidade, seletividade e robustez (BELINATO, 2019).

A espectrometria de massas é uma técnica analítica que proporciona uma caracterização molecular e que tem contribuído demasiadamente para diversas descobertas químicas, físicas e bioquímicas. Fundamentalmente, o espectrômetro de massas identifica moléculas baseado na razão massa/carga, sendo dividido em três componentes principais: a fonte de ionização, o analisador de massas e o detector (Figura 8). A preparação de uma amostra proteica a ser direcionada a uma plataforma baseada em espectrometria de massas, demanda etapas que irão modificar quimicamente as proteínas, no intuito de propiciar uma análise adequada a essa

técnica. Uma solubilização e desnaturação maior das proteínas, alcançada por meio da adição de certos reagentes, contribui significativamente para a digestão enzimática, resultando em uma maior exposição dos sítios de clivagem para a enzima de escolha, refletindo em um amplo repertório de peptídeos (URBAN, 2016).

Figura 8: Fluxograma simplificado de um espectrômetro de massas acoplado a HPLC aplicado a proteômica. Após a eluição na coluna cromatográfica, a amostra é direcionada ao espectrômetro de massas. A primeira parte do equipamento é responsável por ionizar os peptídeos contidos na amostra. Após a ionização, os peptídeos ionizados são transferidos para o analisador de massas, onde serão separados em função de suas razões m/z . Posteriormente, o detector identifica individualmente os íons e seus os valores de massa/carga, que são expressos por meio de um dado espectral.



FONTE: Adaptado de Nascimento *et al.*, 2018.

Inicialmente, em uma abordagem proteômica baseada em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, a amostra proveniente do sistema de cromatografia é direcionada para a fonte de ionização do espectrômetro, aonde os peptídeos serão conduzidos para a fase gasosa, por meio da implementação de alta voltagem, resultando em peptídeos incorporados com partículas carregadas, os íons. Posteriormente, estes são transferidos ao interior do equipamento até o analisador de massas, aonde terão resolvidos suas razões massa/carga (m/z) e separados em virtude destas. Estes íons, denominados precursores, serão identificados individualmente pelo detector, e posteriormente, são expressos por meio do espectro de massas denominado Espectro MS1. Por meio de uma câmara de colisão com um gás inerte, comumente nitrogênio, a ligação peptídica entre os resíduos de aminoácidos dos peptídeos é rompida, dando origem a íons de série y e b , com a subsequente análise destes no

detector do equipamento, pode-se obter o Espectro MS2, resultando um espectro composto das razões massa/carga do íons que representam a sequência de resíduos de aminoácido do peptídeo precursor (MOREIRA, 2015). Dessa forma, a espectrometria de massas tem sido amplamente empregada na identificação de moléculas biológicas, principalmente metabólitos (RIBEIRO, 2012).

2.6 Metabolômica

Essa abordagem, caracteriza-se pela preparação das amostras, análise das amostras, análise de dados e análise da via metabólica (CANUTO, 2018). A análise do metaboloma de um sistema biológico configura-se metabolômica. A metabolômica é uma técnica que visa analisar, sob uma perspectiva qualitativa e quantitativa, os metabólitos contidos em um organismo. Nesse cenário, visa detectar a relação entre metabólitos e fatores fisiológicos e alterações advindas de um quadro patológico.

Dentre as amostras biológicas, utiliza-se principalmente sangue, fezes e urina por serem matérias que contém moléculas de interesse, como lipídeos, aminoácidos e ácidos nucleicos (YANG, 2019). A produção dos metabólitos é uma resposta fenotípica da célula (FIEHN, 2000). Nesse contexto, modificações nos metabólitos podem ser indicativos de processos patológicos e sua identificação se propõe como uma abordagem promissora para a detecção de biomarcadores (LOYO, 2018).

As moléculas de baixo peso molecular são as de maior interesse na metabolômica, uma vez que participam das reações químicas, sendo as informações fornecidas por elas utilizadas principalmente para a compreensão das vias bioquímicas, o que permite a elucidação dos mecanismos envolvidos nos processos patológicos e possibilitam propostas de intervenções. As análises em metabolômica podem ser divididas em dois segmentos. A análise pode envolver um ou mais metabólitos pré-estabelecidos associados a uma via metabólica de interesse denominada análise alvo. Em contrapartida, a análise global constitui-se de uma abordagem no qual o intuito é identificar o maior número possível de metabólitos encontrados em um determinado sistema biológico (BELINATO, 2019).

Dessa forma, a investigação do metaboloma de um grupo sujeito a alterações ambientais, alimentares, terapêuticas ou patológicas quando comparadas a um grupo de indivíduos sem alterações, caracteriza-se como uma abordagem promissora para o entendimento do fenótipo de um organismo. Nesse sentido, esta se qualifica como uma metodologia crucial na biologia de sistemas, proporcionando maior compreensão, a nível

molecular, de diversas patologias e contribuindo para a detecção de biomarcadores (CANUTO, 2018).

Estudos utilizando as “ciências ômicas” têm sido favoráveis para a compreensão da biologia de parasitos. Nesse sentido, pesquisadores têm feito uso dessas ciências na contemporaneidade para abordar aplicações na identificação de novas drogas-alvo, estudos de mecanismo de ação e resistência de intervenções farmacêuticas e desenvolvimento de novas vacinas (CANUTO, 2018). Entretanto, não é possível a identificação molecular dos metabólitos apenas pelo genoma, sendo necessário o uso de um instrumento sofisticado concomitante a análise metabolômica para identificação e quantificação dos metabólitos (ABDELNUR, 2011). Entretanto, ainda que os métodos analíticos tenham avançado nos últimos anos, a cobertura de todos os metabólitos utilizando apenas uma técnica analítica ainda é uma limitação da metabolômica (BELINATO, 2019).

Acredita-se que dentre as abordagens disponíveis, a espectrometria de massas é um recurso complementar que pode contornar essas limitações e se consolidar como método para aprimorar estratégias de diagnóstico, tratamento de doenças parasitárias, conhecimento da interação hospedeiro-parasita e determinação de biomarcadores (KOKOVA; MAYBORODA, 2019).

Estudos em metabolômica com *S. mansoni* demonstraram que essa metodologia pode ser uma alternativa promissora para diagnóstico da esquistossomose por detectar alterações em alguns metabólitos na presença da patologia (GARCÍA-PÉREZ, 2008). O *S. mansoni* é um parasito dependente dos metabólitos do hospedeiro (SAULE *et al.*, 2005) e sua presença acarreta uma série de alterações moleculares, inclusive no perfil hematológico (DÁLIA, 2002) e no metabolismo de lipídeos (OLIVEIRA, 2017), o que torna essas moléculas promissoras para abordagens em metabolômica, uma vez que podem fornecer uma visão das alterações moleculares envolvidos no processo de infecção (KADDURAH-DAOUK *et al.*, 2008).

2.7 Metabolismo Lipídico

2.7.1 Lipoproteínas

Devido a sua hidrofobicidade, os lipídeos necessitam de auxílio para serem transportados na corrente sanguínea. As lipoproteínas, moléculas responsáveis por essa função, são partículas esféricas constituídas de lipídeos hidrofóbicos no núcleo –

principalmente ésteres de colesterol e triacilglicerol - circundadas por uma monocamada de fosfolípídeos, colesterol e proteínas (MARZZOCO, TORRES 1999).

Tradicionalmente, as lipoproteínas são categorizadas segundo sua densidade, tamanho e composição lipídica e proteica. As sete lipoproteínas descritas são: Quilomicrons, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL, *very low-density lipoprotein*), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL, *Intermediate density lipoproteins*); lipoproteínas de baixa densidade (LDL, *low density lipoprotein*), lipoproteínas de alta densidade (HDL, *high density lipoprotein*) (FEINGOLD e GRUNFELD, 2018). Além da diferença de tamanho, existem outros fatores que diferem as lipoproteínas, como densidade, mobilidade eletroforética, local de síntese e composição (Tabela 1).

Tabela 1: Aspectos das lipoproteínas.

Parâmetro	Quilomícrons	VLDL	LDL	HDL
Densidade (g/mL)	<0,95	0,95-1,006	1,019-1,063	1,063-1,21
Diâmetro (nm)	>70	30-80	18-28	5-12
Mobilidade eletroforética	Origem	Pré- β	B	A
Composição (% do peso)				
Colesterol livre	2	5-8	13	6
Colesterol esterificado	5	11-14	39	13
Fosfolípídeos	7	20-23	17	28
Triglicerídeos	84	44-60	11	3
Proteínas	2	4-11	20	50
Local de síntese	Intestino	Fígado	Intravascular	Intestino e fígado

FONTE: Motta, 2011.

2.7.2 Apolipoproteínas

A porção proteica das lipoproteínas é denominada apolipoproteínas, moléculas anfipáticas, capazes de interagir com compostos polares e apolares. São categorizadas em apo A (apoA-I, apoA-II e apoA-IV), apo B (apoB-100 e apoB-48), apo C (apoC-I, apoC-II, apoC-III) e apo E (CARVAJAL, 2020). Elas diferem entre si na composição química e tamanho. Quando associadas aos fosfolípídios, colesterol, triglicérides e éster de colesterol, as apo colaboram com a síntese das lipoproteínas (NOVAK, BYDLOWSKI, 1996).

A composição lipídica associada à porção proteica configuram as diferenças estruturais das lipoproteínas (MOTTA, 2011). Os quilomícrons são partículas ricas em triacilglicerol no centro, circundada pela porção polar composta por fosfolipídios e pela porção proteica, sendo a apoB-48 o principal constituinte proteico dos quilomícrons. As VLDL, assim como os quilomícrons, são ricas em triacilglicerol. A apoB-100 configura o principal componente proteico desta lipoproteína e nas partículas de IDL, concomitantes a apoE, formam a porção proteica da mesma. (CARVAJAL, 2020).

As LDL e HDL são ricas em colesterol. A lipoproteína de baixa densidade possui a apoB-100 como constituinte proteico. A HDL pode se apresentar em diferentes frações (pré β 1-HDL, pré β 2-HDL, α 3-HDL, α 2- HDL e α 1-HDL). A subdivisão ocorre em função da sua densidade, mobilidade eletroforética e tamanho (FEINGOLD e GRUNFELD, 2018 ; SALES, PELUZIO e COSTA, 2003).

Além de ser parte estrutural fundamental das lipoproteínas, as apolipoproteínas contribuem para a solubilização dos lipídeos no plasma e configuram sítios de reconhecimento, que possibilitam a ligação das lipoproteínas em seus receptores localizados na superfície celular. A composição dessas moléculas é dinâmica, sofrendo alterações decorrentes da troca contínua de lipídeos e apolipoproteínas. A Tabela 2 relaciona as lipoproteínas com suas respectivas apolipoproteínas e funções (MARZZOCO e TORRES 1999).

Tabela 2: Principais características das apolipoproteínas.

Apolipoproteína	Origem	Associação com lipoproteína	Função
ApoA-I	Fígado e intestino	HDL	Ativa LCAT, interage com transportador ABC
ApoA-II	Fígado	HDL	Inibe LCAT
ApoA-IV	Intestino	QM ,VLDL, HDL	Modula atividade da LCAT e LPL, inibe oxidação lipídica
ApoB-48	Intestino	QM	Principal componente estrutural dos quilomícrons

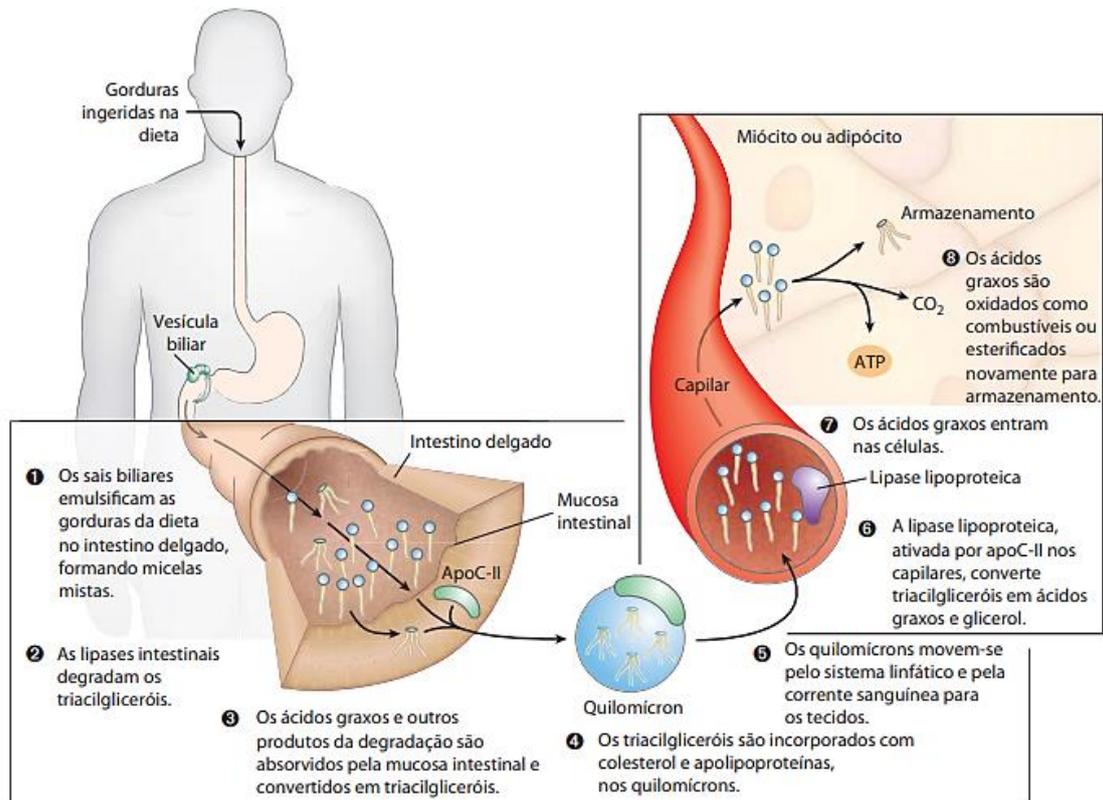
ApoB-100	Fígado	VLDL, LDL	Ligante do receptor LDL
ApoC-I	Fígado	VLDL, HDL	Ativa a LCAT
ApoC-II	Fígado	QM, VLDL, HDL	Ativa a LPL
ApoC-III	Fígado	QM, VLDL, HDL	Inibe a lipase lipoprotéica
ApoE	Fígado	QM, VLDL, HDL	Ligante para o receptor LDL

FONTE: Feingold e Grunfeld, (2018). LCAT: Lecitina Colesterol Acil-Transferase; LPL: Lipase Lipoproteica

2.7.3 Metabolismo das lipoproteínas

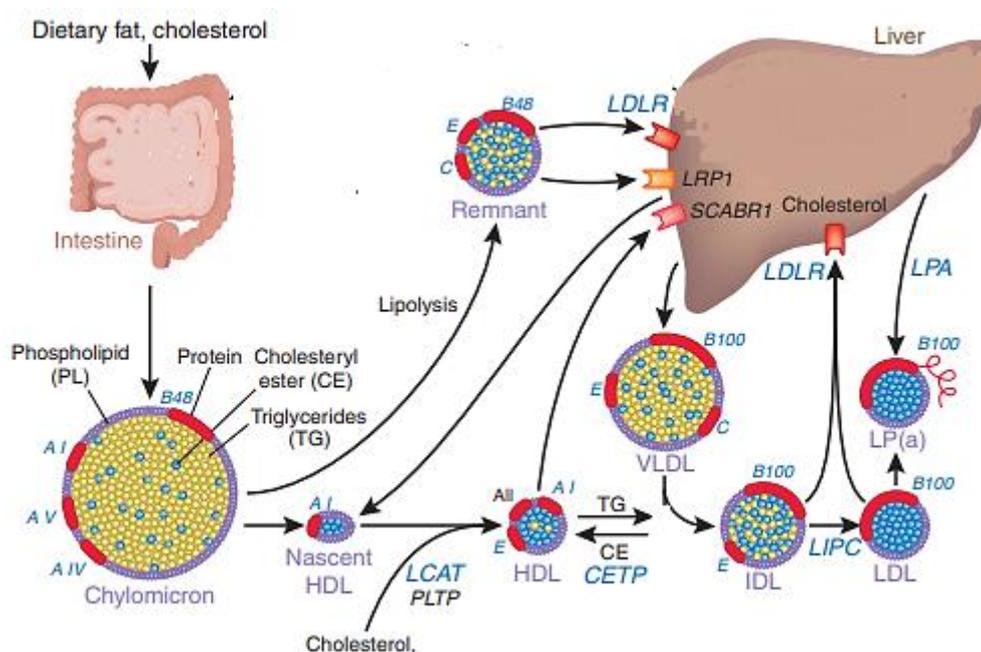
Segundo Costa (2004), o metabolismo de lipídeos possui um ciclo exógeno, no qual os lipídeos provenientes da dieta são transportados pelos quilomícrons (Figura 9), e um ciclo endógeno, caracterizado pelo transporte dos lipídeos originários do fígado por meio das VLDL e LDL e o transporte reverso de colesterol, cujo protagonista na execução são as HDL (Figura 10) (*apud* MORIGUCHI, 2001, p. 12 – 18).

Figura 9: Mobilização, digestão e transporte de lipídeos da dieta. As gorduras provenientes da dieta são submetidas ao processo de digestão, dependente da bile e das lipases (1 e 2). Após a degradação dos triacilgliceróis, os ácidos graxos e o glicerol são absorvidos (3) e reesterificados formando os TAG, que serão incorporados ao colesterol e apolipoproteínas, formando o quilomícrons (4). Os quilomícrons deslocam-se pelo sangue e sistema linfático (5). Nos capilares dos tecidos, a lipase lipoproteica é responsável pela degradação dos triacilgliceróis (6). Os produtos da degradação entram nas células. Nos adipócitos são reesterificados para armazenamento, nos músculos são oxidados para obtenção de energia (7 e 8).



FONTE: Nelson e Cox, 2014.

Figura 10: Metabolismo das lipoproteínas. Os lipídeos provenientes da dieta são digeridos, absorvidos e incorporados a apolipoproteínas formando os quilomícrons. Estes por sua vez sofrem lipólise e os quilomícrons remanescentes pobres em lipídeos adentram o fígado por meio de receptores da apoE e apoB-48. Os quilomícrons remanescentes podem ser oxidados para obtenção de energia ou serem precursores de corpos cetônicos. No fígado, quando os ácidos graxos estão em excesso na dieta, estes são incorporados a apoB-100 e apoE, formando as VLDL, que transportam triacilgliceróis e colesterol endógeno para os tecidos. Durante esse processo, as VLDL são hidrolisadas pela lipase lipoproteica, gerando ácidos graxos livres que retornam para o fígado por meio da albumina sérica. As VLDL remanescentes são transformadas em IDL, que adentram o fígado por meio dos receptores da apoB-100 e são hidrolisadas pela lipase hepática, originando as LDL. Os receptores da apoB-100, disposta na superfície das LDL, permitem a entrada destas nas células, no qual por ação lisossomal são hidrolisadas e liberam colesterol para as células. O efluxo desse colesterol para o fígado é um processo dependente das HDL. Sua síntese tem início com a esterificação do colesterol presente em partículas contendo apoA-I, processo mediado pela LCAT. A CETP é responsável pela transferência de ésteres de colesterol e triacilgliceróis entre as HDL e IDL. Após a maturação das HDL, estas transportam o colesterol presente nos tecidos para o fígado.



FONTE: Lujis e Pajukanta (2008).

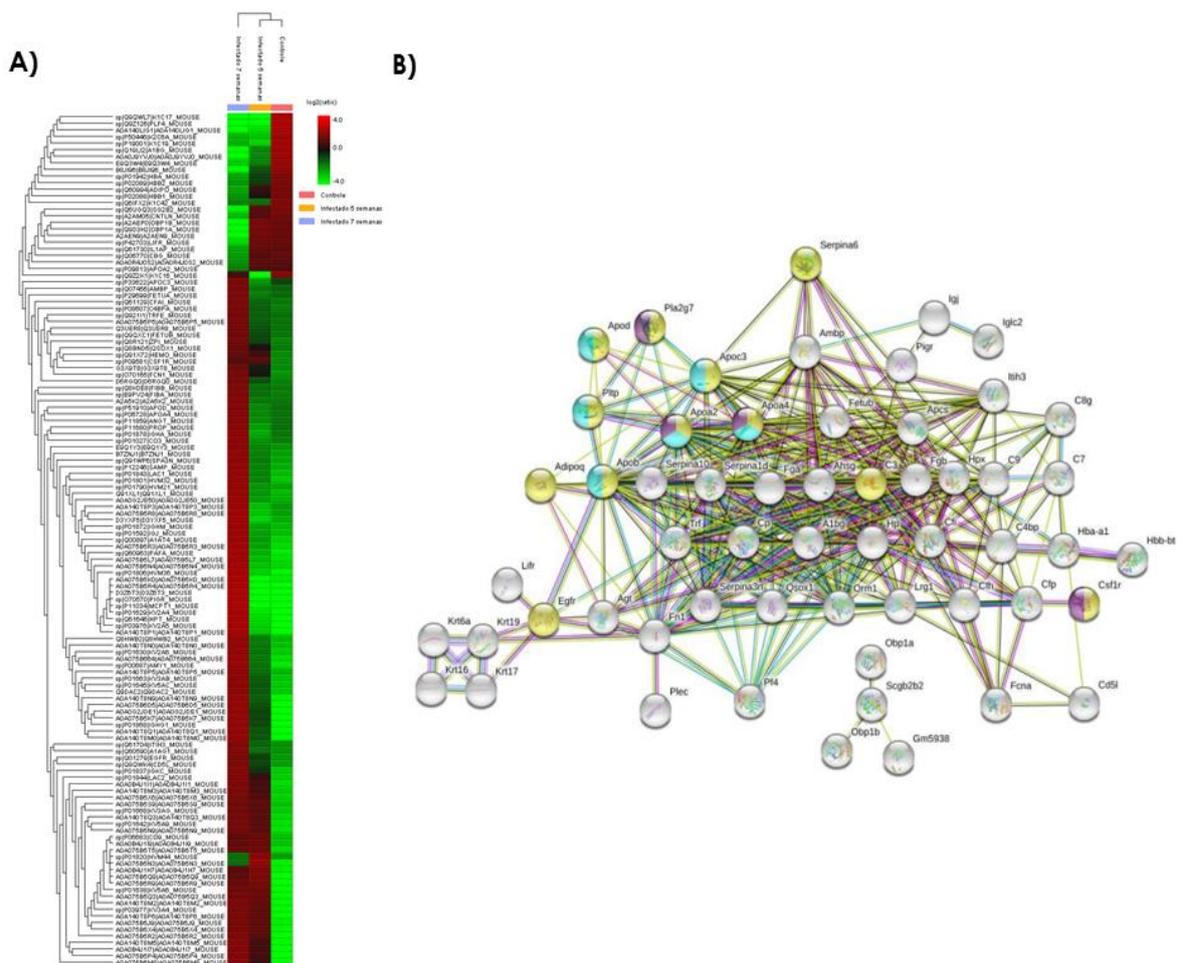
Legenda: HDL: Lipoproteína de alta densidade; IDL: Lipoproteína de densidade intermediária, LDL: Lipoproteína de baixa densidade; VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade. LCAT: Lecitina colesterol aciltransferase; CETP: Proteína de transferência de ésteres de colesterol; TG: Triacilglicerol; CE: Ésteres de colesterol.

Estudos descrevem que processos infecciosos e inflamatórios induzem uma resposta de fase aguda, processo caracterizado por alteração nos níveis de expressão de algumas proteínas. Acredita-se, que devido à possibilidade de algumas alterações acometerem algumas proteínas relacionadas ao metabolismo de lipídeos, a resposta de fase aguda é um fator associado ao aumento do risco de aterosclerose. Os macrófagos possuem um papel significativo nesse processo, uma vez que utiliza os lipídeos como fonte energética e no

processo de desenvolvimento da placa aterosclerótica se diferenciando em célula espumosa, contribuindo com a formação da placa. Além disso, a resposta de fase aguda é uma condição que está associada à diminuição dos níveis de HDL e aumento dos triglicérides (FEINGOLD.; GRUNFELD, 2010).

Recentemente, um trabalho realizando uma análise proteômica quantitativa baseada em espectrometria de massas no intuito de compreensão da relação parasito-hospedeiro, aplicado ao contexto da esquistossomose, demonstrou que a presença do agente etiológico no hospedeiro vertebrado acarreta uma série de alterações na expressão de proteínas associadas ao metabolismo lipídico (GONÇALVES-SILVA, 2019). Utilizando uma abordagem proteômica em larga escala, aplicada ao plasma de camundongos da linhagem BALB/c frente à esquistossomose, identificou-se um conjunto significativo de moléculas diferencialmente expressas (Figura 11), parte destas proteínas plasmáticas, realizam interações complexas entre si, atuando no metabolismo e transporte de lipídeos, e no metabolismo de fosfolipídeos.

Figura 11: Proteínas diferencialmente expressas. A) *Heatmap* das 129 proteínas diferencialmente expressas encontradas no proteoma plasmático de camundongos da linhagem BALB/c, em verde proteínas reguladas negativamente e em vermelho proteínas reguladas positivamente. A primeira coluna é referente ao grupo controle. A segunda a animais infectados com *S. mansoni* em 5 semanas e a terceira coluna se refere a animais infectados em 7 semanas. B) Rede de interação de proteínas diferencialmente expressas associadas ao metabolismo lipídico, em amarelo; ao transporte de lipídeos, em verde; e ao metabolismo de fosfolídeos, roxo.



3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Analisar as alterações decorrentes da infecção experimental por *S. mansoni* nos parâmetros hematológicos e lipídicos no hospedeiro vertebrado, com o intuito de propiciar a compreensão dos mecanismos moleculares associados às alterações observadas e potencial de prospecção de biomarcadores da doença.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Manutenção do ciclo biológico de *S. mansoni* em camundongos da linhagem C57BL/6;

3.2.2 Análise dos parâmetros hematológicos de camundongos controles e infectados por *S. mansoni* nos períodos de três, cinco e sete semanas;

3.2.3 Análise do perfil lipídico de animais controles e infectados por *S. mansoni* nos períodos de três, cinco e sete semanas;

3.2.4 Análise proteômica composicional por meio de espectrometria de massas do soro de camundongos controles e infectados por *S. mansoni*, para obtenção de um repertório de moléculas associadas ao metabolismo lipídico e sua regulação na infecção pelo parasito.

4. Metodologia

4.1 Manutenção do Ciclo Biológico de *Schistosoma mansoni*

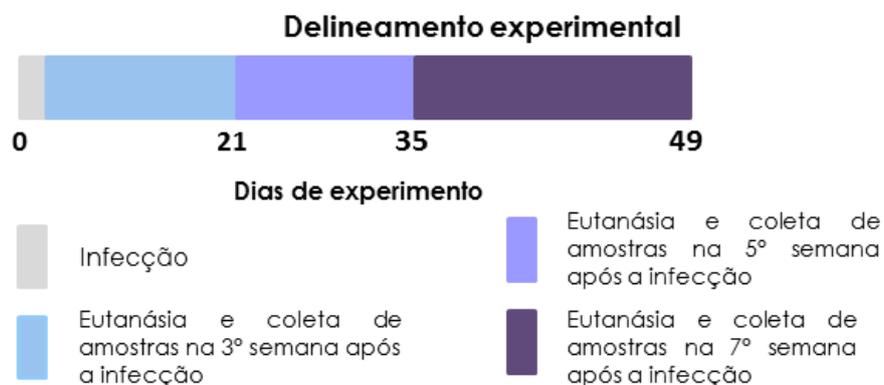
Cercárias de *S. mansoni*, da cepa/linhagem LE, foram obtidas a partir do Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica do Instituto René Rachou (Fundação Oswaldo Cruz) em Belo Horizonte - Minas Gerais. Estas foram utilizadas para infectar camundongos (*Mus musculus*) da linhagem C57BL/6.

O procedimento para a infecção deu-se, inicialmente, pela aplicação intraperitoneal de Cloridrato de Cetamina 10% (Dopalen) a 8 mg/kg e Cloridrato de Xilazina 2% (Anasedan) a 4 mg/kg. Após constatado a perda do tônus muscular e dos sentidos do animal, posicionou-se a cauda previamente molhada, para propiciar a penetração percutânea, em uma suspensão contendo 250 cercárias durante 30 minutos. Após passado o tempo estabelecido, a cauda dos animais foi retirada da suspensão e após recuperação do efeito do anestésico eles foram alocados em microisoladores. Os camundongos foram mantidos e acompanhados por até 49 dias após a infecção nas dependências do Centro de Ciência Animal (CCA) da Universidade Federal de Ouro Preto. A maravalha, ração e água foram trocadas semanalmente durante todo o período que os animais permaneceram no CCA. Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Utilização de Animais, CEUA-UFOP, sob o protocolo 2017-34.

4.2 Delineamento experimental

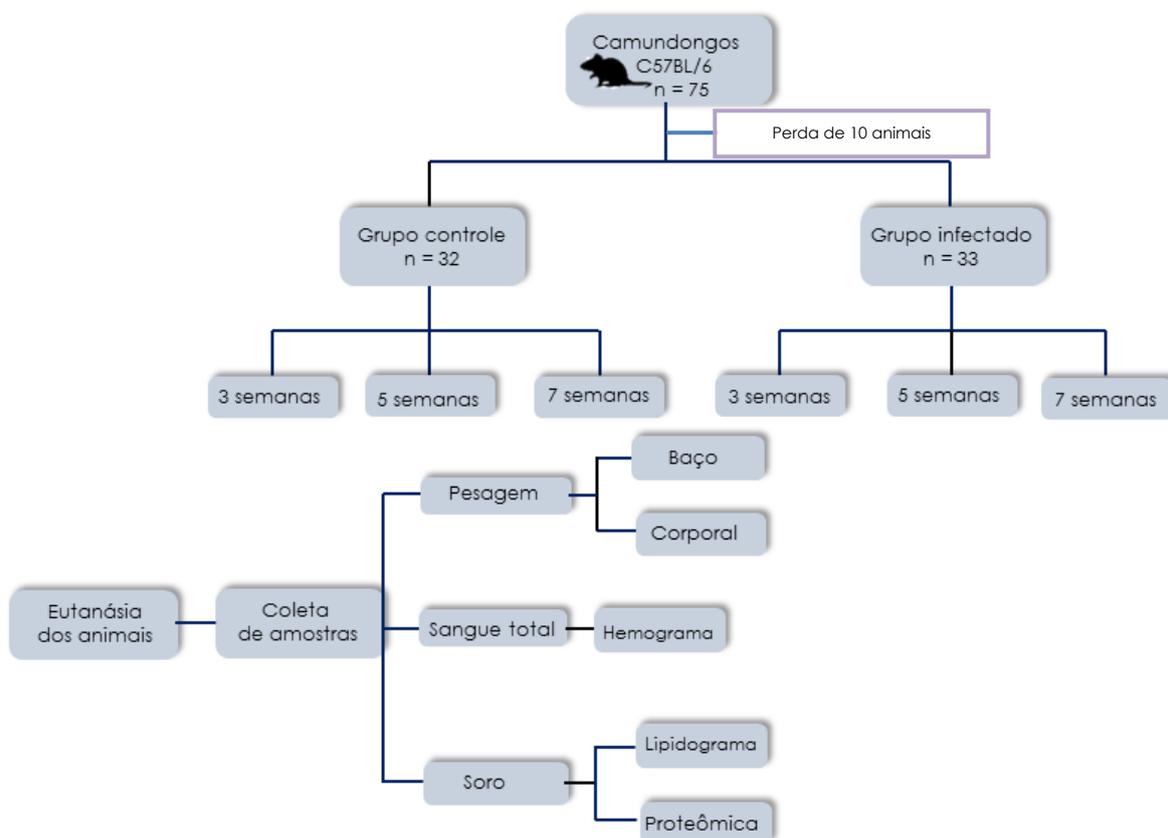
Os animais tinham 8 semanas de vida no momento da infecção. A coleta de amostra foi dividida em três períodos diferentes após a infecção dos animais, como mostra a Figura 12. Os períodos estabelecidos para coleta correspondem, as etapas iniciais da fase aguda, 3 e 5 semanas e ao ápice desta no modelo murino, 7 semanas (Pearce e Macdonald, 2002).

Figura 12: Delineamento experimental dos períodos de coleta de amostras. O momento da infecção é representado pelo tempo 0 (zero). Posteriormente a infecção, os camundongos foram divididos em grupos de 3, 5 e 7 semanas para coleta de amostras nestes três períodos diferentes.



Utilizou-se camundongos da linhagem C57BL/6, com uma população constituída de 75 animais, no qual 32 pertenciam ao grupo controle e 33 ao grupo infectado. Durante o experimento, houve a perda de 10 animais, consolidando uma amostra final de 65 camundongos. Os animais foram subdivididos em grupos de 3, 5 e 7 semanas após a infecção para a coleta de amostras nestes três períodos, como mostrado na Figura 13.

Figura 13: Delineamento experimental dos camundongos da linhagem C57BL/6. Os animais foram divididos em grupo controle e infectado. Posteriormente, foram subdivididos em grupos de 3, 5 e 7 semanas de infecção. Após a eutanásia, obteve-se o peso corporal e do baço, coletou-se sangue para a realização do hemograma. Parte do sangue total coletado foi centrifugado para obtenção do soro, no qual foi utilizado para realizar análise do lipidograma e da proteômica.



4.3 Obtenção de amostras

Inicialmente, aplicou-se na região subperitoneal do camundongo, solução contendo Cloridrato de Cetamina 10% (Dopalen) a 24 mg/kg e Cloridrato de Xilazina 2% (Anasedan) a 12 mg/kg. Após constatado a perda do tônus muscular e dos sentidos do animal, direcionou-se o mesmo para balança para obtenção de seu peso corporal. Os animais foram submetidos ao procedimento para coleta de sangue total, soro, excisão do baço para pesagem, e pesagem corporal. A cavidade abdominal e torácica do camundongo foi exposta para obter acesso à veia cava inferior. Por meio de um corte nesta, coletou-se o sangue com auxílio de pipeta. Cerca de 100 µL de sangue foram coletados adicionando-se heparina sódica (180 UI) como anticoagulante, mantendo sob homogeneização e temperatura ambiente até cerca de uma hora, em seguida analisou-se os parâmetros hematológicos. Em paralelo, aproximadamente 250 µL

de sangue foram coletados no intuito de obter amostras de soro livre de hemólise, assim após a coleta, as amostras foram submetidas à temperatura ambiente por cerca de uma hora.

O sangue obtido foi centrifugado (Eppendorf Centrifuge 5415C Brinkmann Instruments Inc) a 548 x g por 15 minutos. Posteriormente, coletou-se o sobrenadante e transferiu-se para um novo tubo. Foi realizada uma nova centrifugação de mesma velocidade, porém durante 30 minutos. Após a coleta do sobrenadante, o soro foi transferido para um novo tubo e armazenado em -80°C até análise. Após a coleta de sangue total e soro, excisou-se o baço do animal utilizando pinça e tesoura cirúrgica, pesando-o logo em seguida, para determinação da relação peso do baço e peso corporal.

4.4 Análise dos Parâmetros Hematológicos

Após a coleta de amostras de sangue total, este foi submetido ao analisador hematológico BC-2800 (Mindray), no qual o ciclo de análise pode ser dividido em três momentos: aspiração, diluição e mistura. Por meio de uma sonda no equipamento, foram coletados 13 µL de sangue total e após aproximadamente 10 minutos de análise, os seguintes parâmetros hematológicos foram obtidos: Hemoglobina, Hematócrito, Eritrócitos, Volume Corpuscular Médio, Hemoglobina Corpuscular Média, Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média, Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos (RDW), Leucócitos totais e Plaquetas.

4.5 Análise do Perfil Lipídico

O perfil lipídico foi investigado através da dosagem em amostras de soro de Triglicérides, Colesterol Total e Colesterol HDL, com kits de análise cedidos pela Bioclin-Quibasa. Os valores de VLDL foram obtidos através da divisão dos resultados obtidos de Triglicérides por 5, conforme já estabelecido na literatura (XAVIER, 2013). Os níveis de Colesterol LDL obtidos resultaram da fórmula de Friedewald, conforme preconizado pela Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (FALUDI, 2017).

$$LDL = CT - HDL - \frac{TAG}{5}$$

Onde: LDL corresponde a Lipoproteína de baixa densidade; CT: ao Colesterol total; HDL: Lipoproteína de alta densidade e TAG sendo triglicérides.

No momento da análise, as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente para descongelamento. Após o descongelamento completo, foram homogeneizadas e

transferidas para os *vials* do equipamento (Calm SBA2000, Medsystem). A determinação dos valores de colesterol e triglicerídeos se baseia no princípio do teste colorimétrico enzimático, obtendo-se valores de absorvância da amostra, e posteriormente alcançando-se seus respectivos resultados biológicos.

4.6 Eletroforese Bidimensional (2D SDS PAGE)

4.6.1 Preparo da amostra

Foram confeccionados dois géis bidimensionais de 13 cm, um para cada condição avaliada: controle e infectado em sete semanas. Inicialmente realizaram-se as dosagens das proteínas séricas (*PIERCE*TM *BCA Protein Assay Kit*, Thermo Fisher Scientific) de camundongos da linhagem C57BL/6 das condições controle e infectado com 7 semanas de infecção. Utilizou-se 175 µg de proteínas para cada gel. Adicionando 10 µL de Ditioneitol (DTT) 25% (p/v), 2 µL de *IPG Buffer Linear*, adequado para a faixa de pH 3-10, e alcançando o volume final de 250 µL com Tampão de Reidratação (Ureia 7 M; Tiourea 2 M; CHAPS 4%; Azul de Bromofenol 0,002%).

4.6.2 Isoeletrofocalização

Adicionaram-se as amostras nas *Strips* de pH 3-10, não linear, de 13 cm (*Immobiline*TM GE Healthcare) nos sarcófagos selando-as com *Cover Fluid* (GE). O isoeletrofocalizador (Ettan IPGphor 3, GE) foi programado para 13 horas de reidratação dos géis, seguida de isoeletrofocalização com três passos: 500 volts durante 1 hora, 1000 volts por 1 hora, 8.000 volts por 2:30 horas. Posteriormente, ao término da focalização isoeletrica, as *strips* foram submetidas a uma solução de 1% de DTT em solução de equilíbrio (uréia 6M; Tris-HCl pH 8.8 1.5M; glicerol 30%; SDS 2%; azul de bromofenol 1%) por 15 minutos para redução das pontes dissulfeto, e em seguida, adicionou-se iodoacetamida (IAA) a 4% em solução de equilíbrio pelo mesmo tempo, para alquilação dos resíduos de cisteína. Depois de decorrido o período necessário, procedeu-se a segunda dimensão.

4.6.3 Segunda dimensão

Para a separação das proteínas pela massa molecular as *Strips* foram posicionadas em um gel de acrilamida/bisacrilamida a 12% e revestidas com solução de agarose 1%. O padrão de massa molecular (*Unstained Protein Molecular Weight Marker*, Thermo

Scientific/ColorBurst™ Electrophoresis Marker, Sigma Aldrich) foi adicionado e a eletroforese sucedeu-se sob as seguintes condições: 200 V e 25 mA/gel, com duração de aproximadamente 8 horas.

4.6.4 Coloração com Coomassie Blue G-250

Após a eletroforese, submeteu-se o gel à coloração com Coomassie Coloidal G-250 (NEUHOFF *et al.*, 1988) adicionando o gel sob agitação constante em 100 mL de solução de ácido fosfórico (2%) e etanol (30%) overnight. Posteriormente, o gel foi imerso em 100 mL de solução de ácido fosfórico (2%) durante 10 minutos sob agitação constante, realizando este passo três vezes. Em seguida, o gel foi submetido a uma solução de ácido fosfórico (2%), etanol (18%) e sulfato de amônio (15%), por 30 minutos. Por fim, adicionou-se 1 mL de Coomassie Blue G-250 2% em novos 100 mL desta solução, o gel foi submetido a agitação constante por 48 horas.

4.7 Análise proteômica composicional por meio de espectrometria de massas

4.7.1 Digestão enzimática de amostras de soro

Utilizou-se soro de camundongos da linhagem C57BL/6, nas condições controle e infectado, ambos em 7 semanas de infecção, em triplicada biológica. Para a digestão trípica das proteínas séricas, iniciou-se o protocolo de digestão em solução utilizando 30 µg de proteínas solubilizadas em 160 µL de Bicarbonato de Amônio 25 mM. Adicionaram-se 10 µL de RapiGest™ 1% (p/v) (Waters), incubando a 80°C, em termobloco (BIO-PLUS IT-2002 Incubator), por 10 minutos. Em seguida, as amostras foram incubadas em DTT 9,2 mg/mL (Sigma Aldrich) a 60°C por 10 minutos, após, foram submetidas a alquilação com Iodoacetoamida 33 mg/mL (Sigma Aldrich), ao abrigo da luz a temperatura ambiente, durante 30 minutos. Após a alquilação dos resíduos de cisteína, adicionou-se a enzima Tripsina (*Sequencing grade modified trypsin*; Promega, Madison, EUA), na proporção de 50:1 (proteína:enzima), incubando-as a 37°C por 18 horas. Posteriormente, inativou-se o RapiGest™ pela adição de Ácido Trifluoroacético (Sigma Aldrich) a 1%. Incubaram-se novamente as amostras a 37°C, em termobloco, por 30 minutos, centrifugando após este período, à 20.000 x g, por 15 minutos, a 7°C (Hettich Zentrifugen Mikro 200R). O sobrenadante foi obtido e direcionado à plataforma de UHPLC-MS/MS.

4.7.2 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

Após a digestão trípica das proteínas séricas, aplicou-se 400 ng de peptídeos na plataforma UHPLC Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha). Os peptídeos foram direcionados à coluna Acclaim PepMap100 C₁₈ NanoTrap Column (100 µm i.d. × 2 cm, 5 µm, 100 Å; Thermo Scientific). Os peptídeos retidos na pré-coluna foram eluídos durante 3 minutos em 3,8% MeCN/0,1% TFA, em um fluxo de 5 µL/min, antes de serem submetidos à separação em nano cromatografia líquida de fase reversa, ocorrendo na coluna Easy Acclaim PepMap100 C₁₈ (75 µm i.d. × 10 cm, 2 µm, 100 Å; Thermo Scientific), em gradiente de acetonitrila a partir da combinação das fases A (0,1% ácido fórmico) e B (80% MeCN/0,1% ácido fórmico), sob fluxo de 0,300 µL/min, como a seguir: 3,8% de B durante 2 minutos, para equilibrar a coluna; em seguida, 3,8% - 40% de B até completar 110 min, aumentando até 85% de B em 121 min; e condicionamento do sistema com 3,8% de B até 140 min. Os peptídeos após passarem pela plataforma de separação de UHPLC foram direcionados ao espectrômetro de massas Q Exactive (Thermo Scientific), sendo ionizados por meio da fonte de ionização *electrospray Nanospray Flex Ion Source* (Thermo Scientific), operada a 3,45kV, em modo positivo. A temperatura do capilar de entrada foi mantida a 250°C e o nível RF das *S-lens* em 50. A aquisição dependente de dados (DDA) foi realizada em Top12. Os espectros de íons precursores (MS) foram adquiridos em janela de massa/carga de 300 - 2.000, realizado com resolução de 70.000 em tempo máximo de injeção de 120 ms para 1e6 íons. Até os 12 íons mais abundantes por cada espectro MS, foram selecionados e isolados em janela de 2,0 m/z para dissociação por dissociação de colisão de alta energia (*High energy Collision Dissociation*), exibindo carga $\geq +2$ até $\leq +4$ e contagem de 5e5 íons em até 120 ms de injeção (*threshold* 1.0e5). A ativação dos íons precursores se deu com energia de colisão normalizada em 28-30V, os espectros de íons produtos (MS/MS) foram adquiridos com resolução de 35.000, com tempo de exclusão dinâmica de 40 ms.

4.7.3 Busca de Identidades

Os dados espectrais foram submetidos à busca de identidades utilizando-se o programa *PEAKS Studio* v8.5 (Bioinformatics Solutions Inc.). Os parâmetros de busca utilizados foram: digestão pela enzima Tripsina com no máximo 2 sítios de clivagem perdidos; carbamidometilação de resíduos de cisteínas (+57,02 Da) e oxidação de metioninas (+15,99 Da); tolerância de até 10 ppm para íons precursores (MS) e de até 0,1 Da para íons produtos (MS/MS).

Utilizou-se o banco de dados de proteínas referente à *Mus musculus* disponível na plataforma UNIPROT, contendo 55.398 sequências, a linhagem de camundongo usada para obtenção do proteoma desta espécie foi C57BL/6J (UNIPROT, 2016). As identificações de proteínas obtidas foram filtradas com um *False Discovery Rate* (FDR) de 1%, e um p-valor $\leq 0,05$, considerando as proteínas que possuem ao menos um peptídeo único.

4.8 Análise Estatística

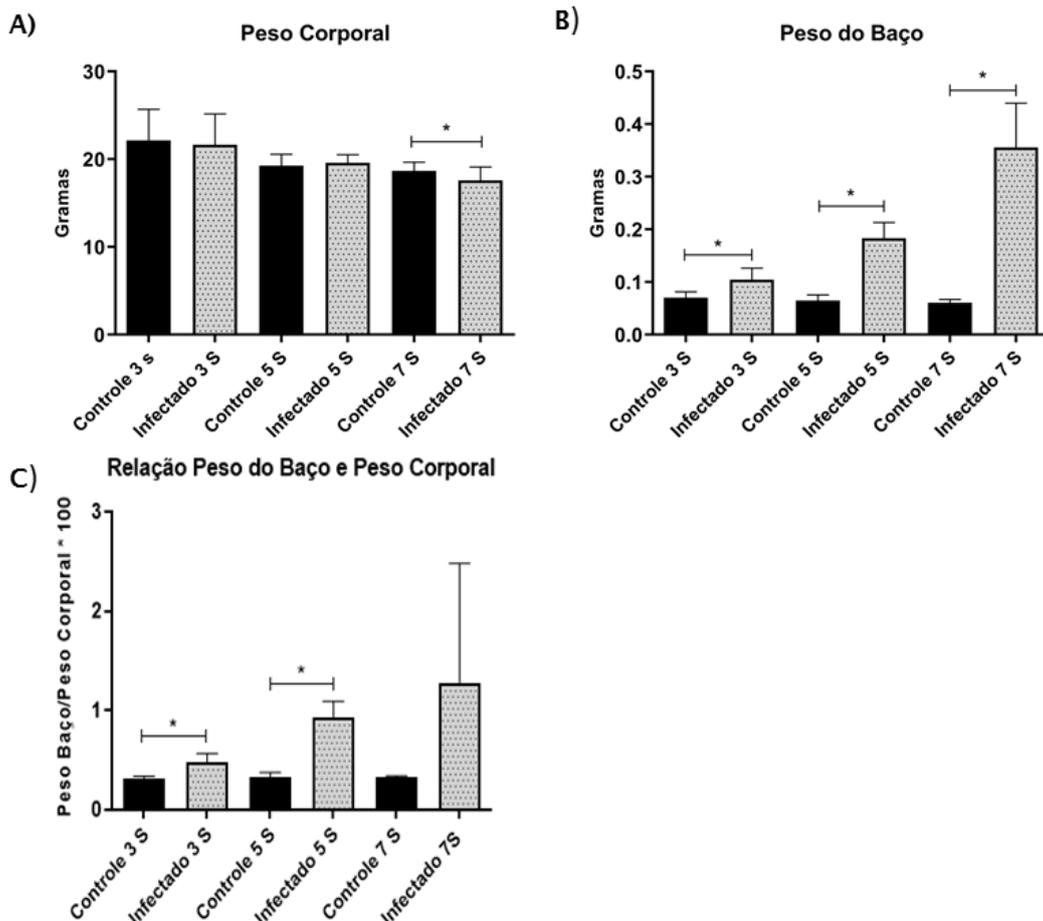
A análise estatística foi realizada por meio do programa *GraphPad Prism* v8.0 (San Diego, Califórnia, EUA). Efetuou-se a análise dos valores obtidos do peso corporal, peso do baço, dos parâmetros hematológicos, e do perfil lipídico a fim de avaliar diferenças estatísticas significativas ($p \leq 0,05$) entre as condições controle e infectado nos períodos investigados. Para tal, inicialmente foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para avaliação da distribuição dos dados. O *test t* foi aplicado nos dados com distribuição paramétrica. Para os valores que apresentaram distribuição não paramétrica utilizou-se o teste de Mann-Whitney. Os dados foram expressos com a média e o desvio padrão.

5. Resultados

5.1 Avaliação da infecção e progressão da esquistossomose mansoni no modelo murino

Foram obtidos os pesos corporais e os pesos dos baços dos camundongos controles e infectados a fim de avaliar a progressão da doença nos animais. A partir destes valores, avaliou-se a relação do peso do baço e peso corporal. A Figura 14 retrata os dados observados.

Figura 14: Peso corporal, peso do baço e razão peso baço/corporal dos camundongos da linhagem C57BL/6. A) Apresenta os valores de peso corporal de animais controle e infectados em 3, 5 e 7 semanas B) Apresenta o peso do baço de animais controle e infectados em 3, 5 e 7 semanas C) Apresenta a razão peso do baço/peso corporal de animais infectados em 3, 5 e 7 semanas. Utilizou-se o *test t* e o teste de Mann-Whitney, devido à distribuição paramétrica e não paramétrica de alguns valores, para avaliar as diferenças significativas entre as condições. Os asteriscos indicam $p \leq 0,05$. Os gráficos apresentam as médias aritméticas e os desvios padrões, onde: 3s: 3 semanas de infecção, 5s: 5 semanas e 7s: 7 semanas de infecção.



O peso corporal e o peso do baço foram avaliados em 3, 5 e 7 semanas após a infecção, em animais controles e infectados. Em 7 semanas houve redução do peso corporal, com

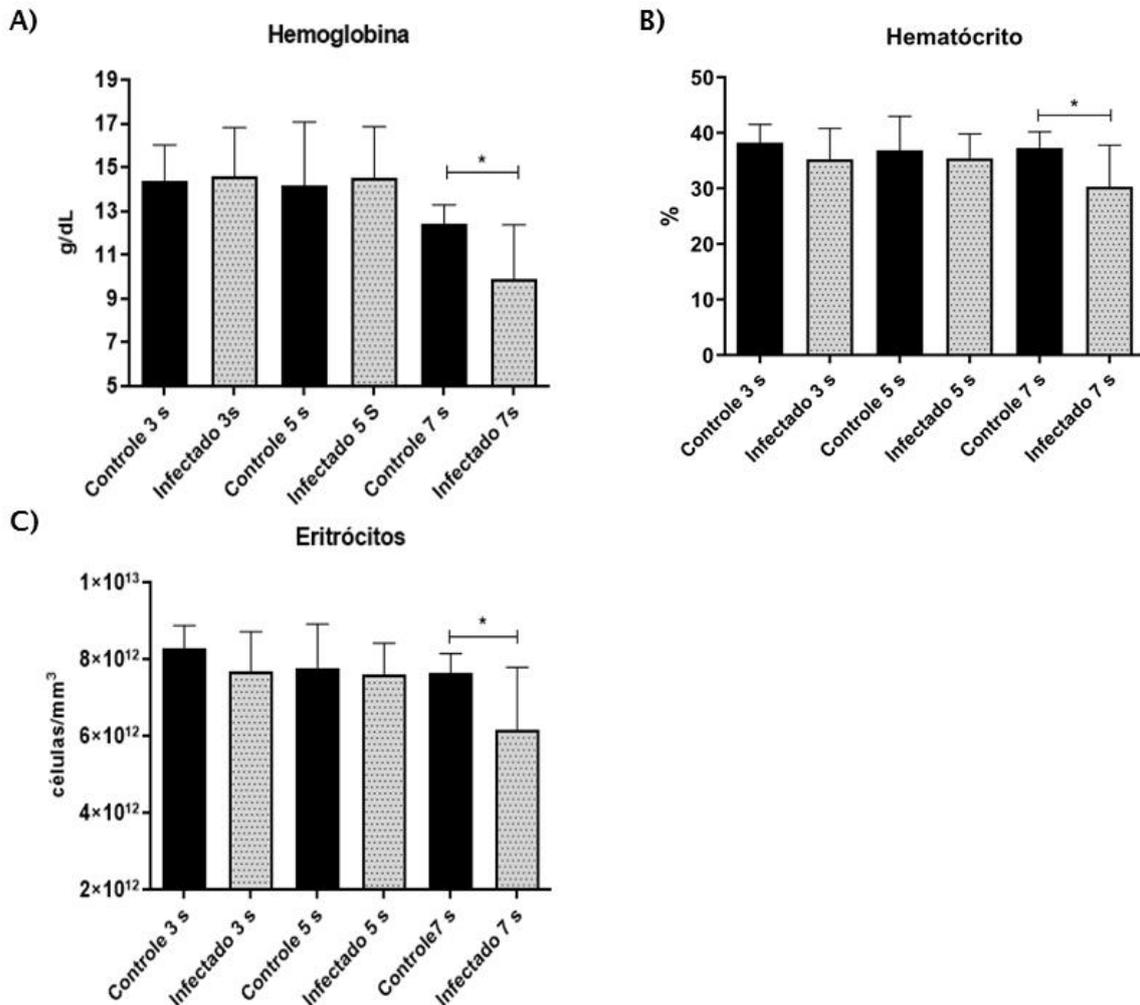
diferença significativa ($p=0,0023$). Os valores do peso do baço se apresentaram maiores nos animais infectados em comparação com os grupos controles, demonstrando diferenças significativas em todos os períodos avaliados. A razão peso do baço/peso corporal, apresentou aumento em 3 e 5 semanas nos animais infectados em comparação ao grupo controle.

Após a eutanásia dos camundongos, foi realizada uma análise qualitativa do fígado nos animais infectados em 5 e 7 semanas e foi observado granulomas, que se intensificaram na sétima semana de infecção. Não foram encontradas alterações hepáticas macroscópicas nos grupos controle. Além disso, observou-se uma diferença macroscópica do tamanho do baço dos animais controles e infectados, demonstrando esplenomegalia nos animais infectados.

5.2 Análise de Hemograma

Realizou-se o hemograma dos animais dos grupos controles e infectados. Os dados apresentados na Figura 15 demonstram os resultados de hemoglobina, hematócrito e eritrócitos, em animais controles e infectados no período de 3, 5 e 7 semanas.

Figura 15: Resultados de hemoglobina, hematócrito e eritrócitos em animais controles e infectados em 3, 5 e 7 semanas. A) Níveis de hemoglobina nos camundongos controles e infectados. B) Valores obtidos referentes à dosagem de hematócrito. C) Concentração de eritrócitos. Utilizou-se o *test t* e o teste de Mann-Whitney, devido à distribuição paramétrica e não paramétrica de alguns valores, para avaliar as diferenças significativas entre as condições. Os asteriscos indicam $p \leq 0,05$.

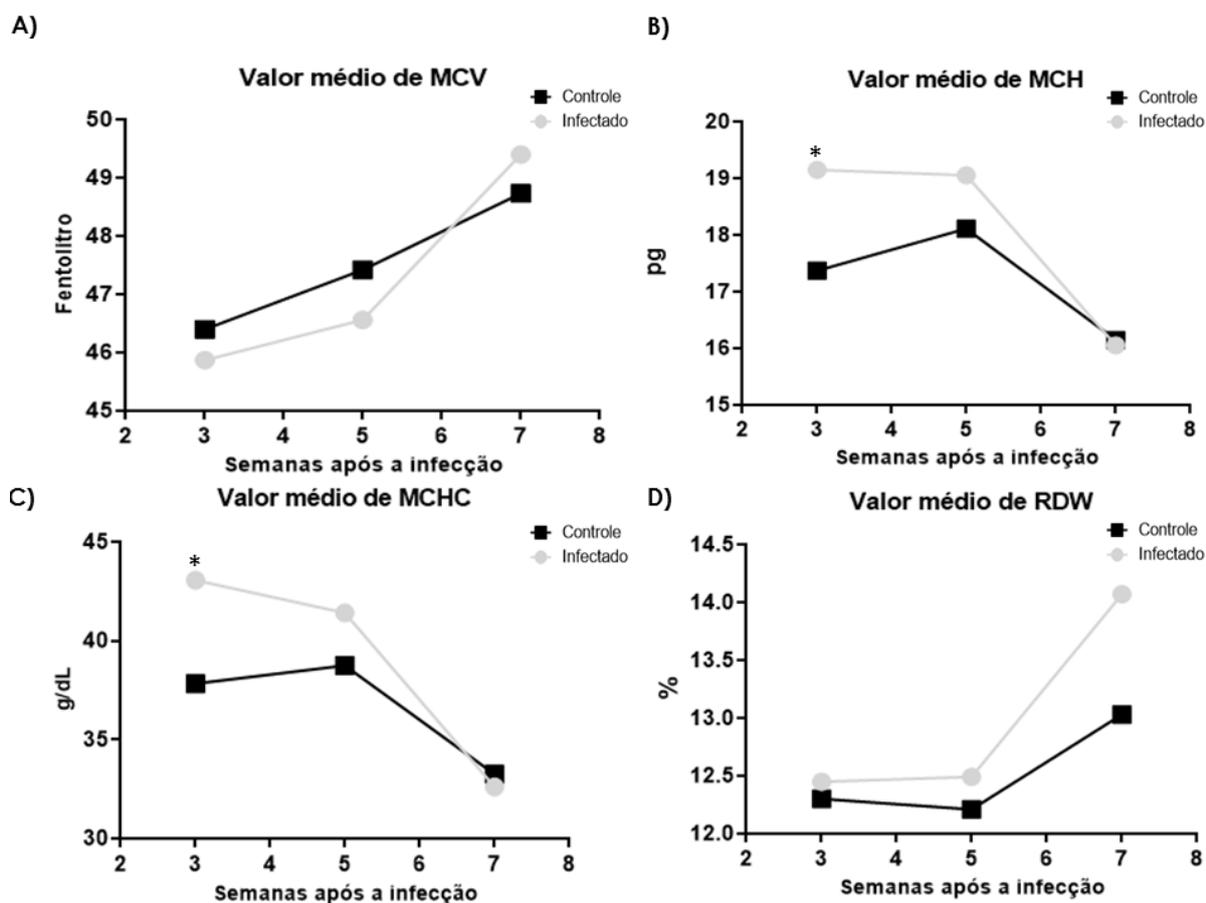


Os resultados observados indicam a presença de anemia em animais infectados na sétima semana de infecção ($p=0,0105$). A dosagem de hematócrito indicou a diminuição dos respectivos valores em animais infectados na 7^o semana, em comparação seu grupo controle, com diferença significativa ($p=0,0191$). Além disso, observou-se eritropenia, na sétima semana de infecção ($p=0,0212$).

Outros índices eritrocitários apresentaram alterações, embora não tão exacerbadas. Os níveis de Hemoglobina Corpuscular Média (MCH) e a Concentração de Hemoglobina

Corpuscular Média (MCHC) se apresentaram maiores em 3 semanas nos animais infectados em relação ao grupo controle (Figura 16).

Figura 16: Índices hematimétricos de camundongos da linhagem C57BL/6 nas condições de controle e infectado em 3, 5 e 7 semanas. A) Volume Corpuscular Médio B) Hemoglobina Corpuscular Média C) Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média D) Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos. Os asteriscos indicam $p < 0,05$.



A Tabela 3 apresenta os valores das médias aritméticas dos índices hematimétricos obtidos dos animais pertencentes ao grupo controle e a Tabela 4 apresentam os valores médios referentes aos animais do grupo infectado.

Tabela 3: Valor médio dos parâmetros hematológicos dos animais do grupo controle em 3, 5 e 7 semanas. Resultados obtidos da dosagem dos demais parâmetros hematológicos analisados. 3s: 3 semanas, 5 s: 5 semanas e 7s: 7 semanas.

Parâmetros	Resultados			Valor de Referência
	3s	5s	7s	
Volume Corpuscular Médio	46,4	47,41	48,72	43.4 – 47.8 fL (SANTOS, 2016).
Hemoglobina Corpuscular Média	17,36	18,10	16,15	14.8 – 17.6 pg (SANTOS, 2016).
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média	37,83	38,73	33,23	29.3 – 35.9 % (SANTOS, 2016).
Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos (RDW)	12,3	12,20	13,02	-

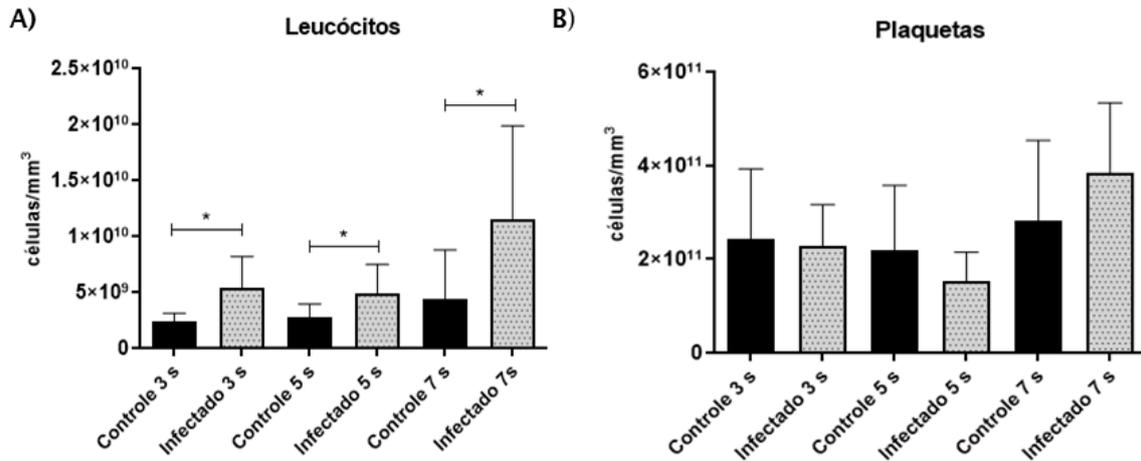
Tabela 4: Valor médio dos parâmetros hematológicos dos animais do grupo infectado em 3, 5 e 7 semanas. Resultados obtidos da dosagem dos demais parâmetros hematológicos analisados. 3s: 3 semanas, 5s: 5 semanas e 7s: 7 semanas.

Parâmetros	Resultados			Valor de Referência
	3s	5s	7s	
Volume Corpuscular Médio	45,86	46,56	49,4	43.4 – 47.8 fL (SANTOS, 2016).
Hemoglobina Corpuscular Média	19,15	19,05	16,05	14.8 – 17.6 pg (SANTOS, 2016).
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média	43,06	41,41	32,61	29.3 – 35.9 % (SANTOS, 2016).
Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos (RDW)	12,44	12,49	14,07	-

A Figura 17 denota os valores obtidos da dosagem de leucócitos globais e plaquetas. Foram observadas diferenças estatísticas nas análises de leucócitos globais com diferença significativa nos três períodos avaliados, resultando em leucocitose nos animais infectados em

comparação ao grupo controle. Não foram observadas alterações significativas referentes a dosagem de plaquetas.

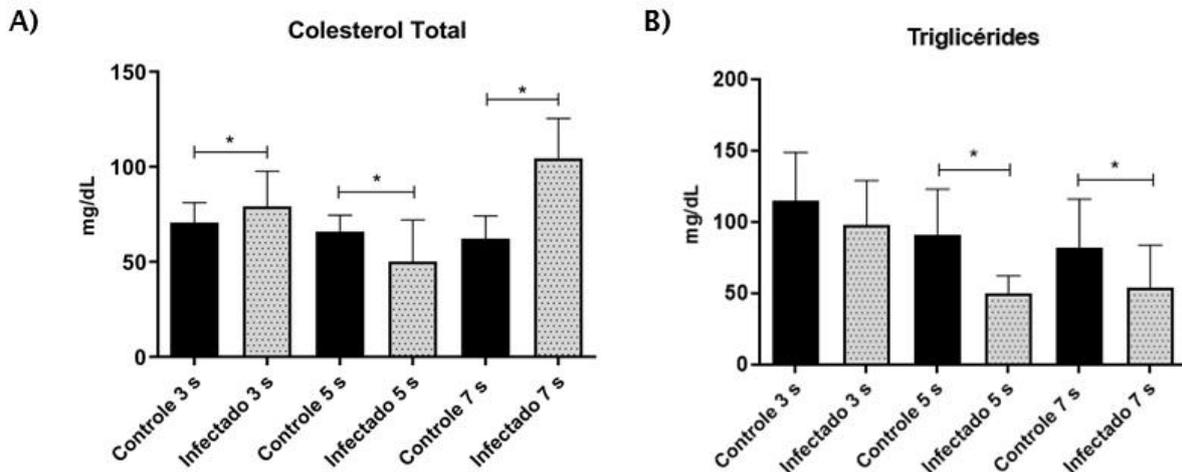
Figura 17: Valores de leucócitos e plaquetas obtidos da dosagem sanguínea de camundongos controles e infectados. A) Valores referentes à dosagem de leucócitos B) Níveis de plaqueta. Utilizou-se o *test t* e o teste de Mann-Whitney, devido à distribuição paramétrica e não paramétrica de alguns valores, para avaliar as diferenças significativas entre as condições, os asteriscos indicam $p \leq 0,05$.



5.3 Análise do Lipidograma

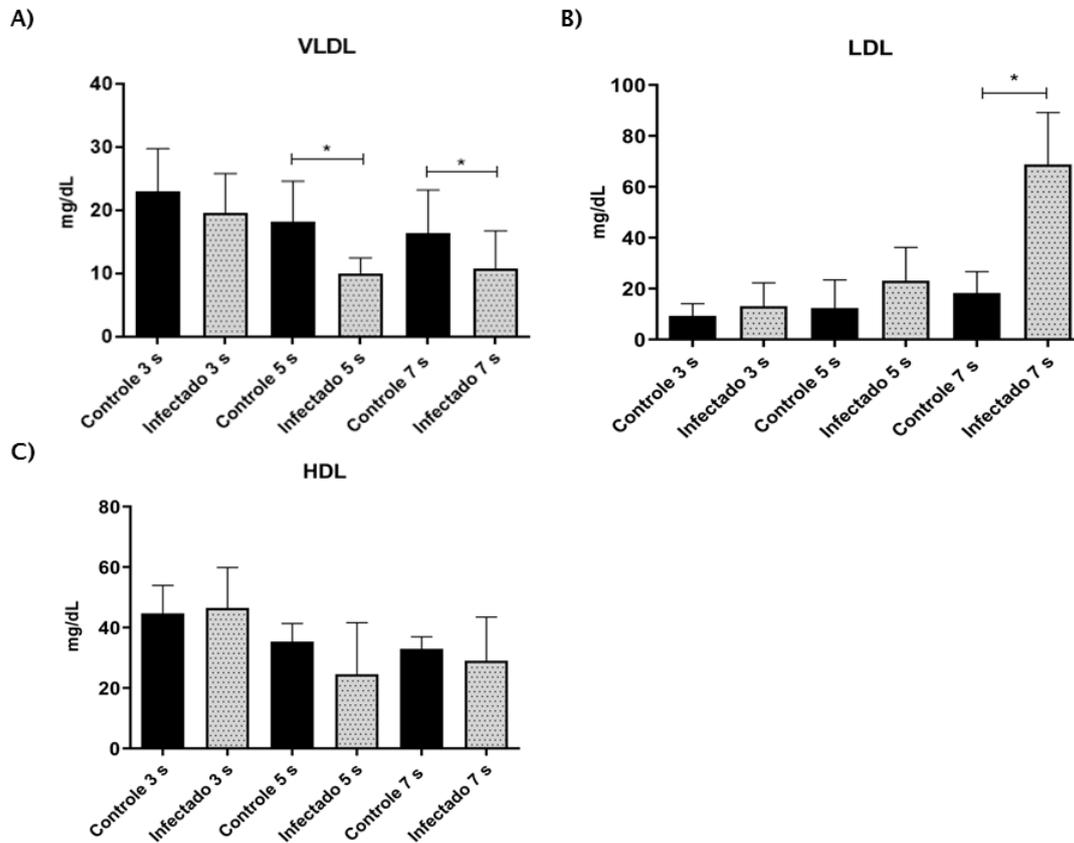
A realização do lipidograma ocorreu em animais controles e infectados em 3, 5 e 7 semanas. As Figuras 18 e 19 apresentam os resultados obtidos da dosagem dos lipídeos do soro de camundongos.

Figura 18: Valores de colesterol total e triglicérides em camundongos C57BL/6, controles e infectados em 3, 5 e 7 semanas. A) Níveis de colesterol total nos grupos controles e infectados em 3, 5 e 7 semanas. B) Valores obtidos de triglicérides nos períodos avaliados. Utilizou-se o *test t* e o teste de Mann-Whitney, devido à distribuição paramétrica e não paramétrica de alguns valores, para avaliar as diferenças significativas entre as condições, os asteriscos indicam $p \leq 0,05$.



Observou-se aumento dos níveis de colesterol total em 3 e 7 semanas nos animais infectados em relação ao grupo controle. Todavia, na quinta semana os animais infectados apresentaram uma diminuição desses níveis, em comparação ao grupo controle. Por outro lado, os níveis de triglicérides diminuíram nos animais infectados em 5 semanas ($p= 0,0027$) e 7 semanas ($p=0,0196$).

Figura 19: Dosagem de lipoproteínas plasmáticas em camundongos C57BL/6 controles e infectados. A) Níveis da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). **B)** Valores obtidos da dosagem da lipoproteína de baixa densidade (LDL). **C)** Níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL). Os asteriscos indicam $p \leq 0,05$.

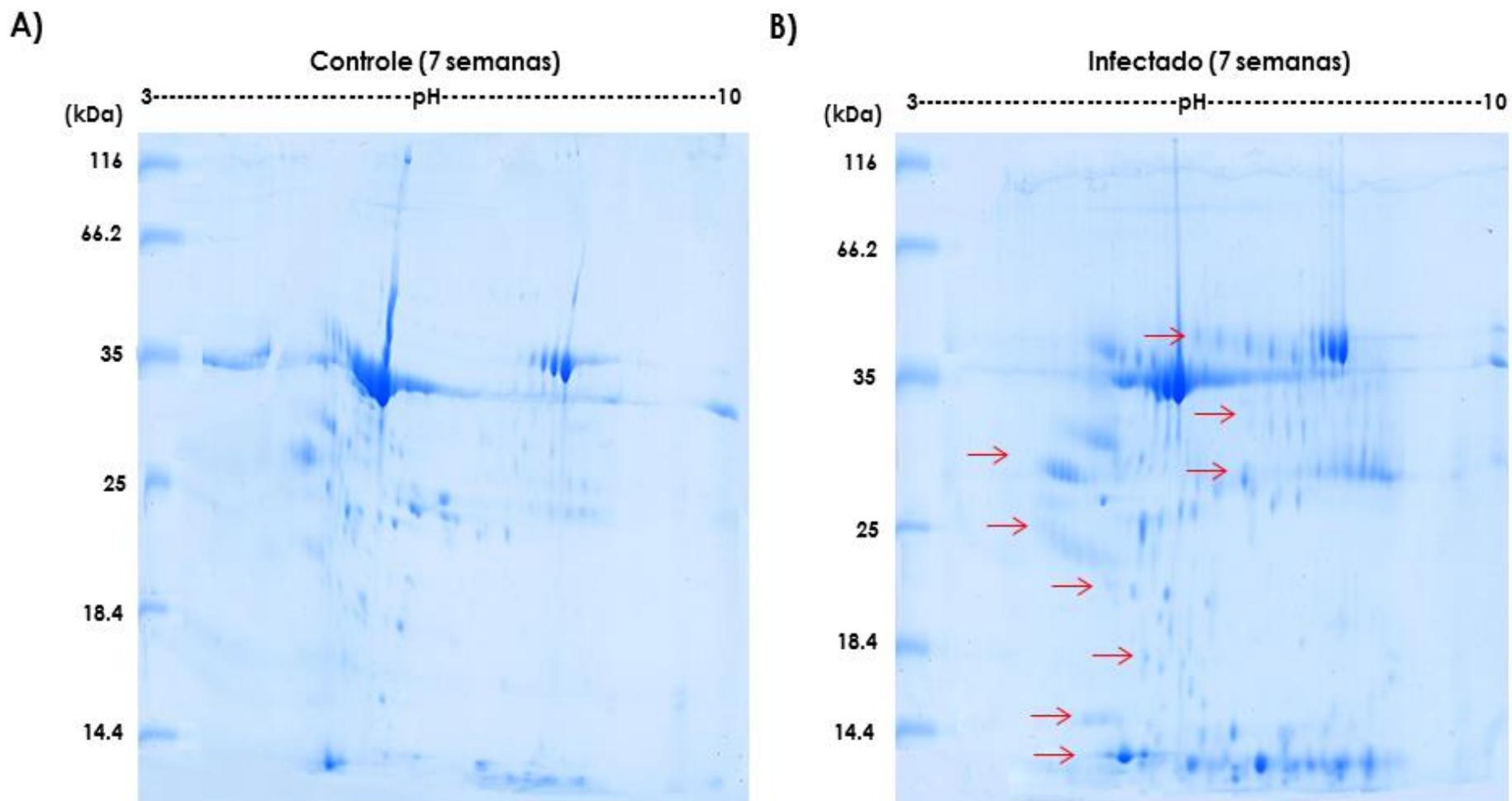


A dosagem de VLDL demonstra uma diminuição desta lipoproteína nos animais infectados, em relação ao grupo controle, em 5 e 7 semanas, com diferença estatística significativa. Os níveis de LDL foram maiores nos animais infectados em 7 semanas ($p = 0,0025$). Não foram observadas diferenças estatísticas significativas nos valores de HDL.

5.4 Eletroforese bidimensional de amostras de soro

Avaliou-se o perfil eletroforético de amostras de soro de camundongos da linhagem C57BL/6, nas condições controle e infectado em 7 semanas. Para tal, foram confeccionados dois géis bidimensionais de 13 cm, corados com Coomassie G-250 (Figura 20).

Figura 20: 2D SDS PAGE de amostras de soro de camundongos da linhagem C57BL/6 controle e infectado em 7 semanas. Géis de poliacrilamida 12%, pH 3-10 não linear, 13 cm, corados com Coomassie G-250. **A)** Gel bidimensional na condição controle em 7 semanas. **B)** Gel bidimensional na condição infectado em 7 semanas. As setas evidenciam as principais alterações nas amostras de indivíduos infectados.



Os perfis eletroforéticos bidimensionais das amostras de soro apresentaram diferenças entre as condições avaliadas. Observaram-se nítidas alterações no perfil composicional, demonstradas por *spots* unicamente presentes no gel referente ao grupo infectado. Nesse sentido, por meio de eletroforese já é possível observar que a doença promove alterações na composição do soroproteoma do hospedeiro vertebrado.

5.5 Análise proteômica baseada em espectrometria de massa

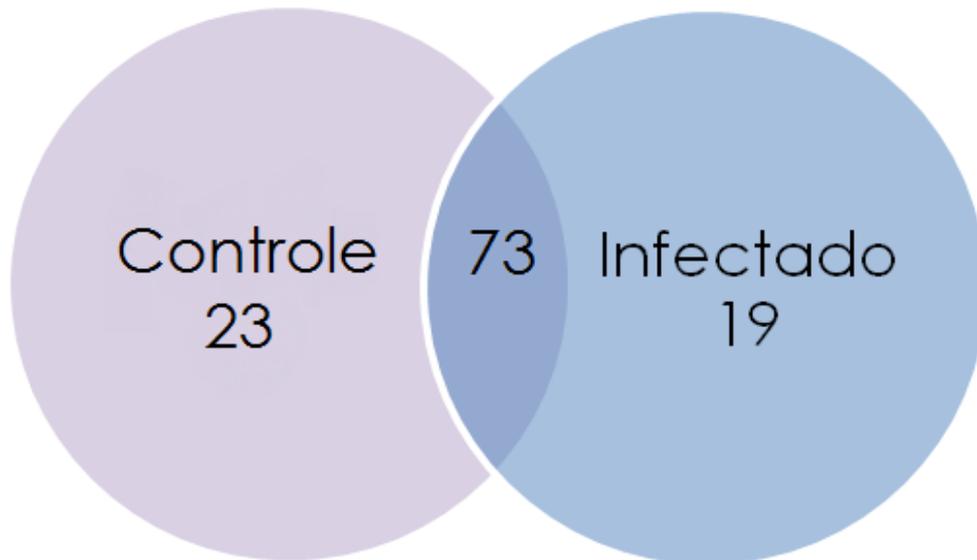
Soros de camundongos da linhagem C57BL/6, de grupos controles e infectados em 7 semanas, analisados em triplicata biológica, foram utilizados para a avaliação proteômica baseada em espectrometria de massas. A tabela 5 demonstra os indicadores obtidos pela plataforma UHPLC-MS/MS. Observou-se o número dos grupos de proteínas identificadas e indicadores correspondentes, demonstrando que 10,46 % (4202 *Peptide-Spectrum Matches*) dos espectros MS² obtidos, foram utilizados na busca de identidades.

Tabela 5: Amostras de soro direcionadas à plataforma UHPLC-MS/MS e subsequentes indicadores.

Indicadores	Resultados
# Espectros MS¹	158989
# Espectros MS²	40171
Peptide-Spectrum Matches (PSM)	4202
Sequências de peptídeos	403
Proteínas	211
Grupos de proteínas	115
Proteínas com peptídeos únicos	36 (>2); 35 (=2); 140 (=1)

As amostras de soro provenientes de animais controles e infectados, submetidas à plataforma de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, resultaram na identificação de 403 peptídeos trípticos, distribuídos em 211 proteínas. Estas estão contidas em 115 grupos de proteínas. A análise proteômica culminou na identificação de 23 grupos de proteínas unicamente presentes em amostras do grupo controle, 73 grupos são compartilhados entre as amostras e 19 foram identificados somente no grupo infectado (Figura 21).

Figura 21: Distribuição dos grupos de proteínas entre as condições controle e infectado. A maior parte das identidades foram compartilhadas entre os grupos, contudo, a análise proteômica demonstrou proteínas unicamente presentes em cada condição.



A Figura 22, demonstra a natureza complexa do soroproteoma, caracterizado por uma diversidade baseada em uma grande concentração de proteínas, intrinsicamente refletidas em uma grande variação dinâmica. Nos 115 grupos de proteínas identificadas (Tabela 6), observou-se que somente poucas identidades são responsáveis pela maior parte da abundância das moléculas distribuídas no soro, particularmente exemplificada pela albumina sérica. Contudo, a plataforma de espectrometria de massas demonstrou-se capaz de revelar espectros de moléculas correspondentes às proteínas de alta, média e baixa abundância, mesmo que esta última se encontre em menor número.

Figura 22: Natureza do soroproteoma. **A)** Abundância das proteínas determinada pela área sobre a curva. **B)** A variação dinâmica em escala logarítmica demonstra uma cobertura de cinco ordens de magnitude pela plataforma de espectrometria de massas. **C)** A abundância acumulativa revelou que de fato, poucas proteínas contribuem com a grande distribuição do conteúdo proteico no soroproteoma identificado. **D)** Histograma de frequência, após conversão dos valores de área para Log2, observou-se que a distribuição dos valores não assume uma distribuição gaussiana.

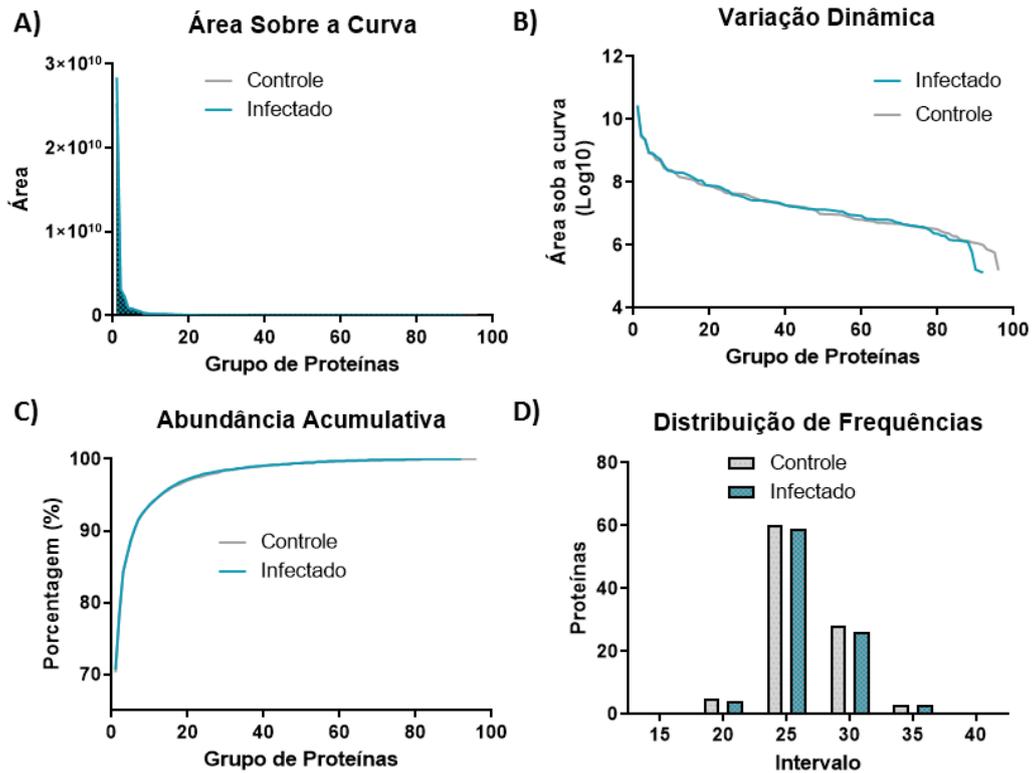


Tabela 6: Proteínas identificadas em amostras de soro de animais controles e infectados em 7 semanas.

Número de Acesso	Descrição	Peptídeos Únicos	Massa (Da)	Área Controle	Área Infectado
P07724	<i>Serum albumin</i>	35	68693	2,53E+10	2,84E+10
A0A075B5P6	<i>Immunoglobulin heavy constant mu</i>	12	50063	2,81E+09	3,13E+09
Q921I1	<i>Serotransferrin</i>	29	76724	2,21E+09	2,30E+09
A0A075B5P4	<i>Ig gamma-1 chain C region secreted form</i>	5	35752	8,54E+08	8,97E+08
Q00623	<i>Apolipoprotein A-I</i>	10	30616	7,81E+08	8,37E+08
Q61838	<i>Pregnancy zone protein</i>	21	165852	5,23E+08	6,53E+08
Q91X72	<i>Hemopexin</i>	8	51318	4,79E+08	5,46E+08
A0A5H1ZRK8	<i>Immunoglobulin kappa constant</i>	2	11897	2,82E+08	2,05E+08
P03976	<i>Ig kappa chain V-II region 17S29.1</i>	1	12390	2,52E+08	2,34E+08
P01027	<i>Complement C3</i>	17	186483	2,43E+08	3,38E+08
A0A075B5R5	<i>Immunoglobulin heavy variable 4-1</i>	2	12874	1,96E+08	2,24E+08
A0A075B5P3	<i>Immunoglobulin heavy constant gamma 2B</i>	5	36687	1,49E+08	1,77E+08
Q61646	<i>Haptoglobin</i>	6	38752	1,42E+08	2,03E+08
O35452	<i>Tenascin X</i>	1	435481	1,32E+08	1,13E+08
D3YTY9	<i>Kininogen-1</i>	8	53205	1,25E+08	1,57E+08
A0A0R4J0I1	<i>Serine protease inhibitor A3K</i>	9	46673	1,16E+08	1,33E+08
A0A338P703	<i>Alpha-2-HS-glycoprotein</i>	3	28463	9,14E+07	1,13E+08
Q8K0D9	<i>Zinc finger protein 60</i>	1	81800	8,32E+07	2,02E+08
Q00898	<i>Alpha-1-antitrypsin 1-5</i>	2	45891	7,99E+07	7,63E+07
A0A0A6YY53	<i>Immunoglobulin heavy constant gamma 2C</i>	4	36527	7,74E+07	8,10E+07
Q91YZ2	<i>C-terminal-binding protein 2</i>	1	45971	7,05E+07	3,95E+07
A0A1L1STC6	<i>Nesprin-1</i>	2	1009943	6,29E+07	7,52E+07
P01806	<i>Ig heavy chain V region 441</i>	1	12911	5,81E+07	7,85E+07

Q9Z1R9	<i>Protease serine 1 (trypsin 1)</i>	1	26135	4,73E+07	6,84E+07
P01592	<i>Immunoglobulin J chain</i>	2	18014	4,46E+07	5,31E+07
P01631	<i>Ig kappa chain V-II region 26-10</i>	2	12273	4,44E+07	5,80E+07
Q811L6	<i>Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 4</i>	2	284003	4,34E+07	1,64E+07
Q91XX1	<i>Protocadherin gamma C3 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	101048	4,27E+07	
F6RSH1	<i>Golgi apparatus protein 1 (Fragment)</i>	1	68054	4,23E+07	1,66E+07
P23953	<i>Carboxylesterase 1C</i>	6	61056	3,93E+07	2,43E+07
G3X9T8	<i>Ceruloplasmin</i>	6	121080	3,42E+07	3,68E+07
P01843	<i>Ig lambda-1 chain C region</i>	1	11575	3,08E+07	2,32E+07
A0A0B4J1J2	<i>Immunoglobulin kappa chain variable 5-43 (Fragment)</i>	1	12600	2,80E+07	2,65E+07
Q922U2	<i>Keratin type II cytoskeletal 5</i>	1	61767	2,54E+07	4,00E+07
D3Z420	<i>Family with sequence similarity 186 member B (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	107852	2,37E+07	
A0A338P6N4	<i>Beta/gamma crystallin domain-containing protein 3 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	325523	2,37E+07	
P03987	<i>Ig gamma-3 chain C region</i>	2	43929	2,30E+07	2,97E+07
Q9CPN9	<i>RIKEN cDNA 2210010C04 gene (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	26422	2,15E+07	
V9GXQ9	<i>Phosphoinositide phospholipase C</i>	1	116062	1,98E+07	1,54E+07
A0A075B5V6	<i>Immunoglobulin heavy variable V1-42</i>	1	10776	1,84E+07	1,36E+07
E9Q3W4	<i>Plectin (Identificado só no Grupo Controle)</i>	2	499110	1,82E+07	
A2A513	<i>Keratin type I cytoskeletal 10</i>	2	57041	1,77E+07	2,06E+07
A0A0A0MQA3	<i>Alpha-1-antitrypsin 1-1</i>	1	48796	1,72E+07	2,69E+07
E9Q0F0	<i>Keratin 78</i>	1	112265	1,65E+07	2,66E+07
P01664	<i>Ig kappa chain V-III region CBPC 101</i>	1	11964	1,62E+07	1,73E+07
P18531	<i>Ig heavy chain V region 3-6</i>	1	13095	1,44E+07	1,33E+07
Q6A025	<i>Protein phosphatase 1 regulatory subunit 26 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	124934	1,37E+07	
B9EIX2	<i>AW555464 protein</i>	1	166865	1,27E+07	1,44E+07
A2AWT6	<i>Nucleolar transcription factor 1 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	85010	9,86E+06	
Q8R056	<i>Prom1 protein (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	94478	9,82E+06	
Q91XL1	<i>Leucine-rich HEV glycoprotein</i>	2	37431	9,63E+06	2,29E+07

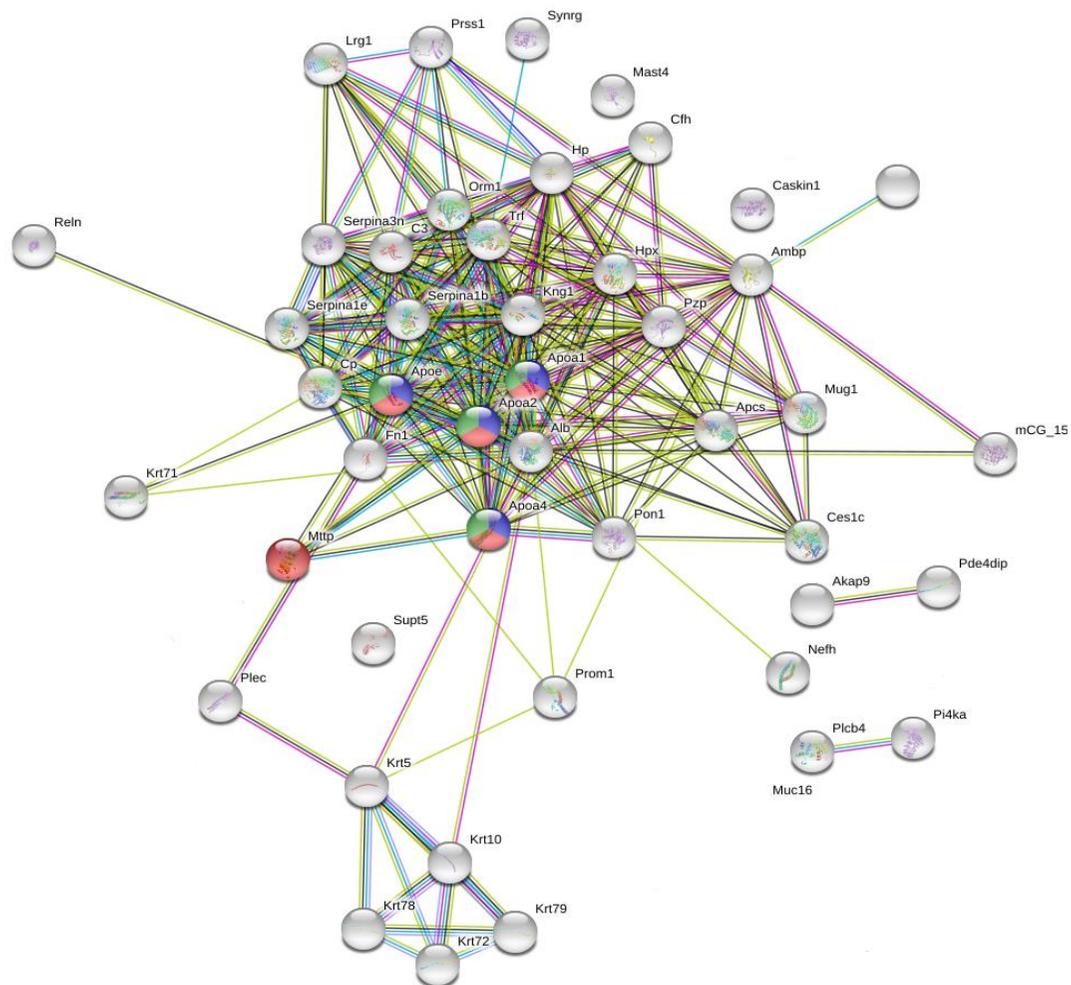
P18528	<i>Ig heavy chain V region 6.96</i>	1	11007	9,55E+06	6,50E+06
A0A0B4J1I1	<i>Immunoglobulin kappa variable 16-104 (Fragment)</i>	1	12875	9,47E+06	9,20E+06
Q9D0R9	<i>WD repeat-containing protein 89</i>	1	42470	9,41E+06	1,20E+07
Q07456	<i>Protein AMBP</i>	2	39029	9,03E+06	1,47E+07
Q6P9K8	<i>Caskin-1 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	150495	8,28E+06	
A0A0R4J072	<i>SLAM family member 9 (Identificado só no Grupo Controle)</i> <i>Microsomal triglyceride transfer protein large subunit (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	31765	7,69E+06	
O08601		1	99099	6,83E+06	
A0A0B4J1I9	<i>Immunoglobulin kappa variable 4-55 (Fragment)</i>	2	12736	6,58E+06	9,03E+06
A0A075B5K0	<i>Immunoglobulin kappa variable 14-126 (Fragment)</i>	1	13058	6,53E+06	6,15E+06
P06728	<i>Apolipoprotein A-IV</i>	2	45029	6,03E+06	6,41E+06
Q8R2Q3	<i>Zinc finger protein 940 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	64569	5,93E+06	
Q9WUF3	<i>CASP8-associated protein 2 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	219089	5,78E+06	
P52431	<i>DNA polymerase delta catalytic subunit</i>	1	123790	5,19E+06	6,79E+06
A0A0A6YXQ0	<i>Immunoglobulin heavy variable 8-8 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	13185	5,19E+06	5,40E+06
A0A0R4J1C3	<i>Predicted gene 43951</i>	1	108781	5,10E+06	
Q6IME9	<i>Keratin type II cytoskeletal 72</i>	1	56750	4,90E+06	1,01E+07
P28665	<i>Murinoglobulin-1</i>	3	165297	4,89E+06	4,36E+06
D6RGQ0	<i>Complement factor H</i>	5	125049	4,84E+06	1,25E+07
G3X8T9	<i>Serine protease inhibitor A3N</i>	3	46766	4,77E+06	4,13E+06
Q9R0H5	<i>Keratin type II cytoskeletal 71</i>	2	57383	4,71E+06	1,85E+07
Q60841	<i>Reelin</i>	2	387497	4,61E+06	3,39E+07
A0A075B684	<i>Immunoglobulin heavy variable 1-62-1</i>	1	3155	4,00E+06	1,66E+05
A0A2I3BRQ3	<i>Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3</i>	1	78017	3,94E+06	6,56E+06
P12246	<i>Serum amyloid P-component</i>	1	26247	3,75E+06	1,25E+06
A0A075B5T2	<i>Immunoglobulin heavy variable 6-3 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	13259	3,60E+06	
A0A0R4J1N3	<i>Apolipoprotein C-III</i>	1	10922	3,56E+06	4,23E+06
P03977	<i>Ig kappa chain V-III region 50S10.1</i>	1	12042	3,43E+06	3,48E+06
Q8C6E0	<i>Cilia- and flagella-associated protein 36 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	39600	3,32E+06	

E9Q6B6	<i>C-Jun-amino-terminal kinase-interacting protein 3</i>	1	143445	3,21E+06	4,55E+06
O55201	<i>Transcription elongation factor SPT5(Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	120664	2,72E+06	
A0A0A6YXN4	<i>Immunoglobulin heavy variable V1-18 (Fragment)</i>	1	12913	2,49E+06	2,31E+06
E9Q3L2	<i>Phosphatidylinositol 4-kinase alpha (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	237040	2,34E+06	
A0A0G2JDN5	<i>Immunoglobulin kappa variable 17-127 (Fragment)</i>	1	12759	1,95E+06	1,51E+06
P01667	<i>Ig kappa chain V-III region PC 6308</i>	1	12071	1,88E+06	2,02E+06
P54729	<i>NEDD8 ultimate buster 1 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	70307	1,50E+06	
H3BK03	<i>Serum paraoxonase/arylesterase 1 (Fragment)</i>	2	28760	1,39E+06	1,44E+06
Q60590	<i>Alpha-1-acid glycoprotein 1 (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	23895	1,36E+06	
Q4LDD4	<i>Arf-GAP with Rho-GAP domain ANK repeat and PH domain-containing protein 1 OS</i>	1	162275	1,23E+06	1,32E+06
B7ZJ1	<i>Fibronectin</i>	2	239720	1,17E+06	6,55E+06
Q9EQG3	<i>Sciellin</i>	1	72972	1,11E+06	2,39E+06
A0A0G2JDE1	<i>Immunoglobulin heavy variable V8-12 (Fragment) (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	13263	1,00E+06	
A0A140T8N3	<i>Immunoglobulin kappa chain variable 13-84 (Fragment) (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	12617	7,32E+05	
P22599	<i>Alpha-1-antitrypsin 1-2</i>	1	45975	6,64E+05	8,46E+06
A0A0A6YXA5	<i>Immunoglobulin heavy variable 1-15 (Fragment)</i>	1	12953	5,83E+05	1,34E+05
Q8CDI7	<i>Coiled-coil domain-containing protein (Identificado só no Grupo Controle)</i>	1	128502	1,57E+05	
P09813	<i>Apolipoprotein A-II (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	11309		2,66E+07
G3X9L9	<i>Myomegalin (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	277505		2,60E+07
P19246	<i>Neurofilament heavy polypeptide (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	116994		1,41E+07
Q5DU00	<i>Doublecortin domain-containing protein 2 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	51953		1,38E+07
Q8CGK3	<i>Lon protease homolog mitochondrial (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	105843		1,37E+07
Q80SU7	<i>Interferon-induced very large GTPase 1 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	280813		1,29E+07
A0A140T8N9	<i>Immunoglobulin kappa variable 6-32 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	12656		1,18E+07
A2AG51	<i>MAP7 domain-containing protein 2 (Fragment) (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	45397		8,83E+06
G3UZM8	<i>Apolipoprotein E (Fragment) (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	17188		7,13E+06

P01642	<i>Ig kappa chain V-V region (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	12615	6,81E+06
Q8VED5	<i>Keratin type II cytoskeletal (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	57552	5,09E+06
A0A140LJ72	<i>Mucin 16 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	908759	3,89E+06
A2AEP2	<i>Cyclin B3 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	158940	3,84E+06
E9QQ10	<i>A-kinase anchor protein 9 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	434142	3,01E+06
Q8BZN7	<i>Thyroid hormone receptor-associated protein 3 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	80111	1,94E+06
A2ADE0	<i>Pleckstrin homology domain-containing family M member 2 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	112151	1,44E+06
P01747	<i>Ig heavy chain V region 36-65 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	13307	1,39E+06
Q5SV85	<i>Synergin gamma (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	139616	6,13E+05
P06330	<i>Ig heavy chain V region AC38 (Identificado só no Grupo Infectado)</i>	1	12934	1,48E+05

A Figura 23 demonstra a rede de interação de proteínas relacionadas ao metabolismo de lipídeos identificadas no soro de animais infectados em 7 semanas, em vermelho são proteínas relacionadas a montagem de lipoproteínas do plasma, em verde são proteínas relacionadas ao remodelamento de lipoproteínas ricas em triglicérides e em azul são proteínas relacionadas a montagem da partícula de HDL.

Figura 23: Rede de interação de proteínas. Proteínas identificadas no soroproteoma de camundongos relacionadas ao metabolismo de lipídeos. Na imagem constam as proteínas: ApoE; ApoA-I; ApoA-II, ApoA-IV e MTTP (*Microsomal Trygliceride Transfer Protein*).



6. Discussão

6.1 Avaliação da progressão da esquistossomose no modelo murino

A hepatoesplenomegalia é uma das manifestações clínicas clássicas recorrentes no contexto da esquistossomose (MARTINS, 2010). Ao longo das semanas avaliadas, foi observado em animais infectados, a ocorrência de alterações de caráter morfológico associadas ao aumento de tamanho do fígado e baço, em conjunto à progressão da doença. A análise da evolução da esquistossomose nos animais foi realizada com as amostras obtidas em 3, 5 e 7 semanas, que correspondem ao início e ao pico da fase aguda da doença no modelo experimental murino (PORDEUS, 2008).

O aumento expressivo na relação peso do baço/peso corporal nos animais infectados, concomitante ao aumento do peso do baço, corrobora com resultados prévios descritos na literatura referentes à manutenção do ciclo biológico de *S. mansoni* (TEIXEIRA, 2019; SOUZA 2011), além de demonstrar que os procedimentos de infecção realizados nos animais se mostraram eficazes, corroborando para que amostras de indivíduos infectados sejam tratadas como tal. As alterações observadas em indivíduos infectados ocorrem devido à presença de ovos maduros do parasito, que se depositam nos tecidos do hospedeiro vertebrado, induzem a resposta imunológica humoral através da secreção de antígenos, culminando na formação da reação granulomatosa e alteração do tamanho do órgão (NEVES, 2005).

6.2 Análise dos parâmetros hematológicos

A avaliação dos índices hematimétricos demonstraram que indivíduos infectados, particularmente em 7 semanas, apresentaram anemia, eritropenia e leucocitose. A anemia é uma das complicações mais frequentes de algumas infecções parasitárias (OMS, 2011), sendo identificada pela diminuição nos valores médios de hemoglobina circulante. Santos e colaboradores (2016) realizaram um estudo a fim de estabelecer valores de referência dos parâmetros hematológicos para linhagens de camundongos C57BL/6 saudáveis. A comparação dos valores obtidos com os achados na literatura corrobora com um quadro de anemia e eritropenia.

Essas alterações podem ser justificadas em parte pela hematofagia do *S. mansoni* associada à alta carga parasitária em que os camundongos foram submetidos (infecção com

250 cercárias/animal). Cada fêmea do parasito ingere cerca de 330.000 eritrócitos por hora, uma vez que necessita de um aporte de nutrientes presentes no sangue, para a postura de ovos (DON; BETHONY; LOUKAS, 2008). Além disso, a hipertensão portal ocasionada pela presença do parasito, resulta em esplenomegalia devido à congestão do baço. Nesse sentido, propicia a eritropenia, por aumento do sequestro esplênico e destruição das células sanguíneas (DÁLIA MALIA, 2002).

Os níveis de Hemoglobina Corpuscular Média fornecem uma previsão da quantidade média de hemoglobina de cada hemácia. A Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (MCHC), estima a concentração média de hemoglobina por número de eritrócito. O Volume Corpuscular Médio, por sua vez, norteia o diagnóstico das anemias (SANTOS, 2012). Embora, a maioria dos achados na literatura descrevam a ocorrência de anemia normocítica ou microcítica no contexto da esquistossomose mansoni, a anemia observada nos animais infectados em 7 semanas pode ser resultado de hemorragias a nível intestinal (LARA, 2014) pela ruptura de varizes esofagianas (DÁLIA MAIA, 2002) e a hepatopatias (HOFFBRAND, 2013), ocasionadas pela presença do parasito. As perdas de sangue derivadas desses focos hemorrágicos podem culminar em deficiência de ferro, o que justificaria uma anemia hipocrômica. Os níveis aumentados de plaquetas em 7 semanas, embora não expressem diferença estatística significativa, reforçam essa hipótese, uma vez que em anemias desencadeadas por hemorragias ou hemólise, quase sempre há ocorrência de plaquetose (HOFFBRAND, 2013).

A avaliação global de leucócitos evidenciou leucocitose nos animais infectados nos três períodos avaliados. Esses achados corroboram com os descritos anteriormente (ALKAZZAZ, 2018; ALLAN, 2014; ANTUNES, 2019). Acredita-se que essa alteração é proveniente da ativação do sistema imune, desencadeada pela secreção de antígenos pelos esquistossômulos, ovos e os vermes adultos (ALLAN, 2014; GAZZINELLI *et al.*, 1985). Modelos murinos evidenciaram que, no contexto da esquistossomose, no período pré-patente (antes da oviposição) há um aumento do fator de necrose tumoral (TNF) e de IL-2 e IL-6. Na fase pós-patente (após a oviposição) há mobilização de macrófagos, eosinófilos, linfócitos e plasmócitos induzidos por antígenos secretados pelos ovos (SOUZA, 2011).

6.3 Perfil eletroforético bidimensional (2D SDS PAGE)

Embora os estudos iniciais em genômica possam ter contribuindo muito para a compreensão da biologia dos parasitos, outros campos científicos podem contribuir de

forma expressiva com o estudo do *S. mansoni*. Nesse cenário, dentre as abordagens pós-genômicas, a proteômica tem se demonstrado com uma ferramenta para a compreensão das interações parasito-hospedeiro no contexto na esquistossomose, promovendo a possibilidade de avaliação do conteúdo proteico, potencialmente alterado de seus estados saudáveis no hospedeiro vertebrado, em decorrência da presença do parasito (ROFATTO, 2011).

Foram confeccionados dois géis bidimensionais, um para avaliação do soro de camundongos controles e outro para animais infectados, ambos em sete semanas e da linhagem C57BL/6. A investigação do perfil proteico do soro dos camundongos revelou *spots* unicamente presentes em amostras de animais infectados. Além disso, devido às características do corante empregado, Coomassie G-250, que possui uma natureza quantitativa, foi possível identificar uma maior expressão de proteínas no soro de animais infectados, uma vez que uma maior intensidade de cor no *spot* é respectiva a uma maior quantidade de proteína, considerando que foram utilizadas as mesmas concentrações de proteínas séricas (175µg/gel) com o intuito de comparar as duas condições analisadas. Embora os resultados obtidos de eletroforese corroborem com a literatura (GONÇALVES-SILVA, 2019), este trabalho traz uma contribuição de caráter exploratório, pois até então não tem sido mostrado a utilização de géis de 13 cm frente à avaliação do soro na esquistossomose, resultando em observações mais pontuais em determinados pontos isoeletrônicos do gel, e um aprofundamento na separação das proteínas pelas suas massas moleculares a partir de um tecido tão complexo como o soro.

6.4 Avaliação do perfil lipídico associado à análise proteômica composicional

Processos infecciosos e inflamatórios frequentemente ocorrem concomitantes a modificações, no metabolismo lipídico e lipoproteico (KHOVIDHUNKIT; KIM; MEMON, 2004). Estudos experimentais com primatas (*Callithrix jacchus*) (RAMOS, 2004) e camundongos (RODRIGUES, 1988; SEGUNDO, 2008) demonstraram que a infecção por *S. mansoni* promove alterações no metabolismo de lipídeos.

O lipidograma realizado neste trabalho demonstrou um desarranjo considerável do perfil lipídico promovido pela infecção e subsequente doença causada pelo parasito. As alterações observadas se deram em quase todos os parâmetros avaliados, dentro do período de 5 a 7 semanas.

A diminuição de colesterol total no cenário da infecção por *S. mansoni*, foi relatada em humanos (MACIEL, 2009), isto se confirmou no presente trabalho em camundongos, contudo, somente na quinta semana de infecção, período no qual há o início da oviposição e presença de parte destes ovos nos tecidos em conjunto a mudança do perfil de inflamação mediado por células *T Helper*. Contudo, essas observações podem, em partes, ser decorrente da incapacidade do *S. mansoni* de sintetizar colesterol *de novo*, adquirindo-o do hospedeiro, por meio de endocitose das partículas de LDL (KHOVIDHUNKIT; KIM; MEMON, 2004). Embora tenha sido demonstrado a diminuição de colesterol total em cinco semanas, também se observou aumento, tanto em 3 semanas quanto em 7, mas somente em animais infectados.

Acredita-se que alterações nas enzimas envolvidas no metabolismo lipídico também podem estar relacionadas com as alterações observadas. Silva e colaboradores (2002) demonstraram que indivíduos infectados com *S. mansoni* apresentaram diminuição da atividade enzimática da Lecitina Colesterol Acil Transferase (LCAT), enzima chave no metabolismo lipídico. A disfunção hepática ocasionada pela infecção também pode estar associada à diminuição da LCAT e do colesterol total, uma vez que ambos são sintetizados no fígado (MACIEL, 2009).

Os níveis de triacilgliceróis diminuíram nos camundongos infectados nos três períodos avaliados. Essa alteração foi relatada anteriormente em estudos experimentais em primatas (RAMOS, 2002) e em humanos (SILVA, 2002). Alterações de enzimas hepáticas relacionadas ao metabolismo lipídico podem contribuir para a redução dos valores de triglicérides (FONSECA, 2015). Um trabalho recente do nosso grupo de pesquisa, através da análise do proteoma plasmático de camundongos infectados com *S. mansoni*, identificou diversas proteínas diferencialmente expressas relacionadas ao metabolismo lipídico (GONÇALVES-SILVA, 2019), dentre elas, observou-se um aumento de expressão da CD5L. Esta proteína é expressa, em especial, por macrófagos em tecidos linfoides, e está presente, principalmente, em células Th17, atuando também como um regulador chave da síntese de lipídeos. Acredita-se que esta proteína iniba a atividade da Ácido Graxo Sintase, promovendo a lipólise de triacilgliceróis (WANG *et al.*, 2015). A alteração em sua expressão, no contexto da infecção por *S. mansoni*, pode ser um dos fatores que contribuíram para a diminuição dos níveis de triacilglicerol.

Os níveis de VLDL também se mostraram reduzidos nos animais infectados nos três períodos avaliados. A diminuição nos níveis de triglicérides parecem ser a primeira

justificativa para este achado, uma vez que 44-60% do peso dessas partículas são provenientes de triacilgliceróis, pois são as responsáveis por transportá-los para os tecidos extra-hepáticos (MOTTA, 2011; COSTA, 2004). Além disso, estudos anteriores demonstraram que a infecção por *S. mansoni* interfere no metabolismo de apolipoproteínas, em especial ApoB48 (KHOVIDHUNKIT et al., 2004; GONÇALVES-SILVA, 2019), sendo esta o principal constituinte proteico das partículas de VLDL. Embora esse resultado aparenta uma característica paradoxal, acredita-se que pode haver algum mecanismo de *feedback* negativo sinalizado pela ApoB48 neste caso. Nesse sentido, acredita-se que alterações em sua concentração podem contribuir para modificações dos níveis de VLDL. A apoC-III, é responsável por inibir a lipase lipoproteica e foi identificada neste trabalho somente no soro de camundongos infectados. Acredita-se que a inibição acentuada desta enzima resulta em baixos níveis de ácidos graxos circulantes, que culmina na diminuição da síntese hepática de triglicérides e de VLDL (FEINGOLD; GRUNFELD, 2018).

Embora estudos anteriores tenham retratado diminuição de LDL no contexto da infecção por *S. mansoni* (PIMENTA, 2009; MACIL, 2009), neste trabalho observou-se aumento da concentração de LDL nos animais infectados nos três períodos avaliados. Trabalhos anteriores demonstram que processos infecciosos induzem alterações químicas e morfológicas na partícula de LDL, tornando-a mais susceptível a oxidação. Nesse sentido, Pimenta (2013) detectou um aumento de LDL oxidada em indivíduos infectados por *S. mansoni*. Essas partículas modificadas possuem alta afinidade pelo endotélio vascular e, acredita-se, que o aumento de sua concentração pode culminar em lesão aterosclerótica (KHOVIDHUNKIT; KIM; MEMON, 2004).

Os níveis de HDL foram menores na quinta e sétima semana após a infecção nos camundongos. Acredita-se que a diminuição dessa partícula com o progresso da infecção é devido à resposta de fase aguda (APR). Sabe-se que APR é um fenômeno que ocorre em resposta a infecção e inflamação (CRAY; ZAIAS; ALTMAN, 2009). Este processo tem como consequência a inibição da ApoA-I (principal constituinte proteico da partícula de HDL) e do transporte reverso de colesterol. Além disso, a APR promove alterações nas partículas de HDL, como: diminuição nos ésteres de colesterol e fosfolípidios; aumento de triglicérides; colesterol não esterilizado, ceramidas e glicosilceramidas. Acredita-se que essas alterações resultam em uma HDL pró-aterogênica, uma vez que a capacidade da HDL para inibir a oxidação da LDL e para facilitar a reversão do transporte de colesterol

são pensados para serem os principais mecanismos responsáveis pelas propriedades anti-aterogênicas da HDL (FEINGOLD; GRUNFELD, 2010).

Dentre os achados proteômicos neste trabalho, destaca-se a proteína “*Microsomal triglycerides transfer protein large subunit*” (MTTP), uma molécula que tem sua função intrinsecamente relacionada ao metabolismo de lipídeos. Esta proteína, já foi descrita com múltiplas funções, salientando: a catálise do transporte de triglicerídeo, éster de colesterol e fosfolipídeo entre superfícies de fosfolipídeo; necessária para a montagem e secreção de lipoproteínas plasmáticas que contêm apolipoproteína B e envolvimento na regulação da biossíntese de éster de colesterol em células que produzem lipoproteínas (KHATUN, WALSH, HUSSAIN; 2013), (MILLER *et. al*, 2014), (RAVA *et. al*, 2006) . No presente trabalho, essa molécula foi identificada somente no soro de camundongos controle. Acredita-se que sua ausência poderia ocasionar diversas alterações no metabolismo de lipídeos, como: não agregação não covalente e desarranjo de proteínas e lipídios para formar uma partícula de lipoproteína plasmática e desarranjos no transporte de triacilgliceróis e fosfolipídios.

Outro achado significativo nesse contexto é a Apo-AII, identificada apenas no soro de camundongos infectados. Essa apolipoproteína possui a função de inativar a LCAT, enzima responsável pelo remodelamento da partícula de HDL, atuando principalmente no processo de troca de ésteres de colesterol. Acredita-se que uma inibição acentuada dessa enzima poderia acarretar em distúrbios no processo de síntese de HDL, e consequente desarranjo no metabolismo de lipídeos, principalmente no contexto do transporte reverso de colesterol (POWNALL; GILLARD; GOTTO, 2013).

7. Conclusões

A infecção experimental por *S. mansoni* no modelo murino promoveu alterações hematológicas evidenciadas pela presença de leucocitose, anemia e eritropenia observadas. Acredita-se que essas condições se dão pelo caráter hematófago do helminto e pela resposta imunológica ocasionada pela presença do parasito no hospedeiro vertebrado. As alterações nos perfis lipídicos, refletidas a partir da 5^o semana, nos animais infectados, as alterações demonstraram que a doença promove uma desregulação dos níveis séricos de triglicérides, colesterol total e frações no modelo murino. A eletroforese bidimensional e espectrometria de massas demonstraram alterações composicionais no soroproteoma de animais infectados.

Todavia, os mecanismos moleculares envolvidos nessas alterações ainda não estão completamente elucidados. Acredita-se que alterações nos níveis de expressão de proteínas e apolipoproteínas responsáveis pela regulação do metabolismo de lipídeos pode ser um fator condicionante das alterações observadas, contudo, é necessário novos estudos para tentar compreender os mecanismos moleculares envolvidos nesse processo. A proteômica demonstrou-se como uma abordagem interessante e efetiva para analisar as diferenças no perfil proteico de animais controles e infectados. Nesse contexto, novas abordagens proteômicas quantitativas devem ser empregadas para compreender os mecanismos moleculares das alterações metabólicas ocasionadas pelo parasito.

8. Referências Bibliográficas

ABDELNUR, Patrícia Verardi. Metabolômica e espectrometria de massas. Embrapa Agroenergia-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2011.

ALKAZZAZ, Mohammad Aziz *et al.* Hematological Profile in *Schistosoma mansoni* Infected Mice Treated with Commiphora molmol Extract Compared with Praziquantel. PSM Biological Research, v. 3, n. 3, p. 77-84, 2018.

ALLAN, Lynda A. *et al.* The Efficacy of a Herbal Drug, Schitozim over Praziquantel in the Management of *Schistosoma mansoni* Infection in BALB/c mice. J Biol Agric Health Care, v. 4, p. 77-87, 2014.

ANDRADE, Gisele Nepomuceno de. O tratamento para a esquistossomose e seu efeito nas morbidades: revisão sistemática e metanálise. 2017.

ATTA, Ajax Mercês *et al.* Esquistossomose mansônica. I-evolução do quadro patológico: análise parasitológica, hematológica e histopatológica. Revista de Saúde Pública, v. 15, n. 1, p. 72-92, 1981. HEMATOLOGIA

ANTUNES, Rafael Souza. Correlação de alterações hematológicas em doenças parasitárias. RBAC, v. 51, n. 3, p. 191-5, 2019.

BARBOSA, Constança S. *et al.* Quality control of the slides by Kato-Katz method for the parasitological diagnosis of schistosomiasis infection by *Schistosoma mansoni*. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 53, n. 2, p. 110-114, 2017.

BARBOSA, Eduardo Buzolin *et al.* Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas. Revista da Associação Médica Brasileira, v. 58, n. 3, p. 366-375, 2019.

BELINATO, João Raul *et al.* METABOLÔMICA MICROBIANA: INOVAÇÕES E APLICAÇÕES. Química Nova, v. 42, n. 5, p. 546-559, 2019.

BODZON-KULAKOWSKA, A., BIERCZYNSKA-KRZYSIK, A., DYLAG, T., DRABIK, A., SUDER, P., NOGA, M., JARZEBINSKA, J. & SILBERRING, J. 2007. Methods for samples preparation in proteomic research. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 849, 1-31.

BONIFÁCIO, Silvia L.; NOVARETTI, Marcia CZ. Funções biológicas dos antígenos eritrocitários. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 31, n. 2, p. 104-111, 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância Sanitária. *Vigilância da Esquistossomose Mansonii: diretrizes técnicas*. Brasília, 2014.

BRUNELLE, J. L.; GREEN, R. One-dimensional SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (1D SDS-PAGE). In: (Ed.). *Methods in enzymology*: Elsevier, v.541, 2014. p.151-159

BRUNZELL, J. D. FAILOR, R. A. Diagnosis and treatment of dyslipidemia. *ACP Medicine*. 2010;1-23.

CAMPOS, Suellem da Silva *et al.* Medidas de prevenção da esquistossomose: um estudo teórico. SEMOC-Semana de Mobilização Científica-Alteridade, Direitos Fundamentais e Educação, 2019.

CANUTO, Gisele André Baptista *et al.* Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. *Química Nova*, v. 41, n. 1, p. 75-91, 2018.

CAPANEMA, F. D.*et al.* Anemia Ferropriva na Infância: Novas Estratégias de Prevenção, Intervenção e Tratamento, *Revista Medica Minas Gerais*, v. 13, n. 4, 2003.

CARVAJAL CARVAJAL, Carlos. *Lípidos, proteínas y aterogénesis*. 2020.

CARVALHO, O. D. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. *Schistosoma mansoni & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar*. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2008. ISBN 8575413708.

CHUAH, C. *et al.* Characterising granuloma regression and liver recovery in a murine model of schistosomiasis japonica. *International journal for parasitology*, v. 46, n. 4, p. 239-252, 2016.

COLLEY, Daniel G. et al. Human schistosomiasis. *The Lancet*, v. 383, n. 9936, p. 2253-2264, 2014.

COSTA, Patrícia de Moraes *et al.* Polimorfismo da apolipoproteína E e perfil de distribuição de subfrações de lipoproteínas. 2005.

COSTAIN, Alice H.; MACDONALD, Andrew S.; SMITS, Hermelijn H. Schistosome egg migration: mechanisms, pathogenesis and host immune responses. *Frontiers in immunology*, v. 9, 2018.

CRAY, Carolyn; ZAIAS, Julia; ALTMAN, Norman H. Acute phase response in animals: a review. *Comparative medicine*, v. 59, n. 6, p. 517-526, 2009.

DÁLIA, Murilo Maia. Hiperesplenismo na esquistossomose mansônica: o baço e as células sanguíneas antes e depois de esplenectomia. 2002. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

DALPAI; Débora. BARSCHAK, Alethéa Gatto Bioquímica médica para iniciantes [recurso eletrônico / Débora Dalpai, Alethéa Gatto Barschak ; ilustrações de Raphael Sales Cerqueira. – Porto Alegre: Ed. da UFCSPA, 2018.

DIAS, Anderson Silva. Avanços no imunodiagnóstico sorológico de helmintoses. *Ci. Anim.*, p. 80-92, 2019.

DIAS, André S. Efeito dos nutrientes sobre a fisiologia cardiovascular. Tese de Doutorado. P. 49 – 53. 2019

DON, Tegan A.; BETHONY, Jeffrey M.; LOUKAS, Alex. Saposin-like proteins are expressed in the gastrodermis of *Schistosoma mansoni* and are immunogenic in natural infections. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 12, n. 6, p. e39-e47, 2008.

FALUDI, André Arpad *et al.* Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose–2017. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, v. 109, n. 2, p. 1-76, 2017.

FAVERO, Vivian *et al.* (2017). Optimization of the Helmintex method for schistosomiasis diagnosis. *Experimental Parasitology*, 177, 28–34 doi.org/10.1016/j.exppara.2017.04.001 PMID: 28431921.

FAVERO, Vivian *et al.* Aprimoramento do método Helmintex® para diagnóstico da infecção por *Schistosoma mansoni* baseado na detecção de ovos. 2019.

FEINGOLD, Kenneth R.; GRUNFELD, Carl. The acute phase response inhibits reverse cholesterol transport. *Journal of lipid research*, v. 51, n. 4, p. 682-684, 2010.

FEINGOLD, Kenneth R.; GRUNFELD, Carl. Introduction to lipids and lipoproteins. In: Endotext [Internet]. MDText. com, Inc., 2018.

FIEHN, O.; KOPKA, J.; DÖRMANN, P.; ALTMANN, T.; TRETHERWEY, R. N.; WILLMITZER, L. Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature biotechnology*, Nature Publishing Group, v. 18, n. 11, p. 1157–1161, 2000.

FONSECA, Caique Silveira Martins *et al.* Human plasma lipid modulation in schistosomiasis mansoni depends on apolipoprotein E polymorphism. *PloS one*, v. 9, n. 7, 2014.

FONSECA, Caíque Silveira Martins da. Repercussões metabólicas em doenças hepáticas crônicas. 2015.

FURTADO, Daniel Pimenta *et al.* Controle e tratamento da esquistossomose no Brasil. Estudo de caso-praziquantel. 2018.

GOMES, Gustavo Mendonça Ataíde *et al.* Avaliação dos diversos métodos diagnósticos para esquistossomose em regiões endêmicas desassistidas brasileiras: um olhar para Alagoas/Evaluation of the various diagnostic methods for schistosomiasis in Brazilian unassisted endemic regions: a look at Alagoas. *Brazilian Applied Science Review*, v. 3, n. 5, p. 2005-2019, 2019.

GONÇALVES-SILVA, G. Análise composicional e quantitativa do soroproteoma na infecção experimental por *Schistosoma mansoni*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFOP, Ouro Preto, 2019.

HE, Yi-Xun; CHEN, Lin; RAMASWAMY, K. *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, and *S. japonicum*: early events associated with penetration and migration of schistosomula through human skin. *Experimental parasitology*, v. 102, n. 2, p. 99-108, 2002.

ISSAQ, Haleem J.; VEENSTRA, Timothy D. Two-dimensional difference in gel electrophoresis for biomarker discovery. In: Proteomic and Metabolomic Approaches to Biomarker Discovery. Academic Press, 2020. p. 209-214.

KADDURAH-DAOUK, R., Kristal, B.S., Weinshilboum, R.M. 2008. Metabolomics: a global biochemical approach to drug response and disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 48: 653-683.

KATZ, Naftale; ALMEIDA, Karina. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. *Ciência e Cultura*, v. 55, n. 1, p. 38-43, 2003.

KATZ, Naftale *et al.* Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helminthoses. 2018.

KHATUN, Irani; WALSH, Meghan T.; HUSSAIN, M. Mahmood. Loss of both phospholipid and triglyceride transfer activities of microsomal triglyceride transfer protein in abetalipoproteinemia. *Journal of Lipid Research*, v. 54, n. 6, p. 1541-1549, 2013.

KHOVIDHUNKIT, W.; KIM, M-S.; MEMON, R. A. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanism and consequences to the host. *Journal of Lipid Research*, v. 45, p. 1169-1196. 2004.

KLACK, Karin; CARVALHO, Jozélio Freire de. Vitamina K: metabolismo, fontes e interação com o anticoagulante varfarina. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 46, n. 6, p. 398-406, 2006.

KOKOVA, Daria; MAYBORODA, Oleg A. Twenty Years on: Metabolomics in Helminth Research. *Trends in parasitology*, 2019.

LANÇAS, Fernando M. *et al.* A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”. *Scientia chromatographica*, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009.

LARA, Flávia Vanessa. Esquistossomose, uma doença no contexto da saúde pública brasileira. Nova: Revista Científica, v. 2, n. 2, p. 1-15, 2014.

LE GOVIC, Yohann *et al.* *Schistosoma haematobium* – *Schistosoma mansoni* hybrid parasite in migrant boy, France, 2017. Emerging infectious diseases, v. 25, n. 2, p. 365, 2019.

LEE, Pey Yee; SARAYGORD-AFSHARI, Neda; LOW, Teck Yew. The evolution of two-dimensional gel electrophoresis-from proteomics to emerging alternative applications. Journal of Chromatography A, p. 460763, 2019.

LIMA, Emerson Silva; COUTO, Ricardo David. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 42, n. 3, p. 169-178, 2006.

LIMA, Victor Fernando Santana, *et al.* Caracterização da esquistossomose mansônica e seus vetores em áreas de foco no estado de Sergipe, nordeste do Brasil. Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde, 2 mar. 2018. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/hygeia/article/view/38149>>. Acesso em: 01 jun. 2020.

LINDHOLZ, Catieli Gobetti *et al.* Avaliação e descrição comparativa de métodos diagnósticos da esquistossomose e estudos de variabilidade genética de *Schistosoma mansoni*. Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas) Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução da Biodiversidade, PUCRS, 2019.

LOYO, Rodrigo Moraes. Avaliação do Perfil Metabolômico da Esquistossomose Mansônica em Modelo Animal. 2018. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2018.

MACHADO-SILVA, J. R.; NEVES, R. H.; GOMES, D. C. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Filogenia, co-evolução, aspectos

morfológicos e biológicos das diferentes fases de desenvolvimento do *Schistosoma mansoni*. 1st edn. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 45-84, 2008.

MAHMOUD, A. A. F. *et al.* The contribution of adult worms to the development of anaemia in schistosomiasis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 67, n. 2, p. 171-3, 1973.

MARCULINO, Herta Hellen Sousa *et al.* ESQUISTOSSOMOSE: UMA QUESTÃO DE SAÚDE PÚBLICA. Mostra Interdisciplinar do curso de Enfermagem, [S.l.], v. 2, n. 1, mar. 2017. ISSN 2448-1203. Disponível em: <<http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/mice/article/view/1113/893>>. Acesso em: 01 Jun. 2020.

MARTINS, Rubens Nascimento *et al.* Correlação entre esplenomegalia e plaquetopenia na forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica. ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo), v. 23, n. 4, p. 254-258, 2010.

MARZZOCO, Anita; TORRES, Bayardo Baptista. Bioquímica básica. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. 392 p. ISBN 9788527727730. ed Ac.1037330

MEDEIROS, T. B. *et al.* Correlation between platelet count and both liver fibrosis and spleen diameter in patients with schistosomiasis mansoni. Arquivos de Gastroenterologia, São Paulo, v. 51, n. 1, p.34-8, Jan-Mar. 2014.

MILLER, Sharon A. *et al.* Novel missense MTTP gene mutations causing abetalipoproteinemia. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, v. 1841, n. 10, p. 1548-1554, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia de vigilância em saúde: Ministério da Saúde, Brasília. 2017.

MOREIRA, L. Ciências genômicas: fundamentos e aplicações. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2015.

MOTTA, VALTER T. Bioquímica básica. Medbook: Rio de Janeiro, Brasil, 2011.

NASCIMENTO, Ronaldo & Clecius, Ari & Barbosa, Pablo & Silva, Vítor. Cromatografia gasosa Aspectos teóricos e práticos, 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. 6. ed Porto Alegre: Artmed, p. 1298. 2014

NEUHOFF, V. *et al.* Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250. *Electrophoresis*, v. 9, n. 6, p. 255-262, 1988.

NEVES, DP. *Parasitologia Humana*, 11^a ed, São Paulo, Atheneu, p. 196, 2005.

NOVAK, E.M.; BYDLOWSKI, S. P. *Biologia molecular das dislipidemias. Variação genética das apolipoproteínas.* *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 67, p. 6, 1996.

OGONGO, P.; KARIUKI, T. M.; WILSON, R. A. Diagnosis of schistosomiasis mansoni: an evaluation of existing methods and research towards single worm pair detection. *Parasitology*, p. 1-12, 2018. ISSN 0031-1820.

OLIVEIRA, Claudineide Nascimento Fernandes de *et al.* Tegument of *Schistosoma mansoni* as a therapeutic target. *Parasitic Diseases–Schistosomiasis*, ed R. El Ridi (Rijeka: InTech), p. 151-177, 2013.

OLIVEIRA, Danielly Cantarelli de. Infecção pelo *Schistosoma mansoni* associada à dieta hiperlipídica: resposta imune, patologia hepática e microbiota intestinal em camundongos. Dissertação (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. UFPE, Pernambuco, 2017.

OLIVEIRA, Edward José de *et al.* ELISA-IgM para diagnóstico da esquistossomose mansoni em área de baixa endemicidade. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 19, p. 255-261, 2003.

PANDEY, A.; MANN, M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature*, Massachusetts, v. 405, n. 6788, p.837-846, 2000.

PEARCE, E. J.; MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews Immunology*, v. 2, n. 7, p. 499, 2002. ISSN 1474-1741.

PERES, Terezinha Bonanho. Noções básicas de cromatografia. *Biológico*, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.

PIMENTA, Adenor Almeida Filho. Fatores de risco para doenças crônica degenerativas não transmissíveis em pacientes com esquistossomose crônica. *Dissertação (Doutorado)*. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, UFPE, Pernambuco, 2013.

PIMENTA, Adenor Almeida Filho. Impacto da esquistossomose mansônica no perfil lipídico e nas concentrações plasmáticas das apolipoproteínas AI e B. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Pernambuco. 2009.

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

POWELL, Henry J; GILLARD, Baiba K.; GOTTO JR, Antonio M. Setting the course for apoAII: a port in sight?. *Clinical lipidology*, v. 8, n. 5, p. 551-560, 2013.

QUERO, Sara *et al.* Proteômica en enfermedades infecciosas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v. 34, n. 4, p. 253-260, 2016.

Rabelo Maciel, Giselle; Lúcia de Menezes Lima, Vera. Perfil lipídico e correlação entre concentração e atividade De Lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) em plasma De pacientes com esquistossomose mansônica Hepatointestinal e hepatoesplênica. 2009.

Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

RAMOS, Thadzia Maria de Brito *et al.* Alterações nos níveis de colesterol, triglicerídeo e fosfolípídeo total em plasma de *Callithrix jacchus* (sagüi) reinfestado por *Schistosoma mansoni*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 37, n. 1, p. 37-40, 2004.

RAVA, Paul *et al.* Phospholipid transfer activity of microsomal triacylglycerol transfer protein is sufficient for the assembly and secretion of apolipoprotein B lipoproteins. Journal of Biological Chemistry, v. 281, n. 16, p. 11019-11027, 2006.

ROCHA, Thales Lima *et al.* Eletroforese bidimensional e análise de proteomas. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2005.

RODRIGUES, Luiz Erlon Araújo. Bioquímica da esquistossomose mansônica: VII. Alterações lipídicas das membranas lisossômicas durante a fase inicial da agressão hepática. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 83, n. 1, p. 47-52, 1988.

ROFATTO, Henrique Krambeck *et al.* Antígenos vacinais contra esquistossomose mansônica: passado e presente. Revista da Biologia, 2011.

SALES, Regiane Lopes de; PELUZIO, Maria do Carmo Gouveia; COSTA, Neuza Maria Brunoro. Lipoproteínas: uma revisão do seu metabolismo e envolvimento com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr, p. 71-86, 2003.

SANTANA, Márcia Cristina Araújo *et al.* Lipídeos: classificação e principais funções fisiológicas. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, v. 18, n. 8, p. 1-14, 2017.

SILVA, Jéssica Nayara Basilio *et al.* Revolução Genômica: proposta para o ensino da Genética. p. 1, 2014

SANTANA, Otacílio Antunes *et al.* Pré-diagnóstico da esquistossomose no Semiárido: régua antropométrica e aplicativo colaborativo. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SANTOS, Ed Wilson *et al.* Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 53, n. 2, p. 138-145, 2016.

SANTOS, Joice Paula Nascimento *et al.* Caracterização epidemiológica da esquistossomose no nordeste brasileiro. In: Congresso Nacional de Enfermagem-CONENF. 2019.

SANTOS, T. Teste toxicológico pré-clínico para o desenvolvimento da vacina anti-helmíntica baseada no antígeno r-Sm14 de *Schistosoma mansoni*. 2012. 143 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária)– Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

SAULE P, *et al.* Host glucose metabolism mediates T4 and IL-7 action on *Schistosoma mansoni* development. *J Parasitol* 91: 737-744. 2005

SEGUNDO, Apolinário Olivá, José; Lúcia de Menezes lima, Vera. Efeito do tratamento com novos derivados imidazolidínicos e praziquantel sobre os lipídios de camudongos infectados por *Schistosoma mansoni*. 2008. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

SILVA, Benedito Rodrigues Neto da; SANTOS, Bhruna Kamilla dos; COSTA, Amanda Fernandes. A Tecnologia proteômica como estratégia aplicada ao diagnóstico laboratorial. *científica - Multidisciplinary Journal*, v. 6, n. 1, p. 04-15, 2019.

SILVA, Cesar Augusto *et al.* Efeito de tratamento cirúrgico sobre a atividade da enzima hepática lecitina: colesterol aciltransferase (LCAT) na esquistossomose mansônica. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 17, p. 28-30, 2002.

SILVA *et al.*, Kamilla Dias Paes. Uso da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) na detecção de proteínas de fase aguda na Medicina Veterinária. *ANAIS SIMPAC*, v. 8, n. 1, 2018.

SCHWARTZ, Christian; FALLON, Padraic G. *Schistosoma* “eggs-iting” the host: granuloma formation and egg excretion. *Frontiers in immunology*, v. 9, p. 2492, 2018.

SOUZA, Felipe Pereira Carlos de *et al.* Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. *Rev Bras Clin Med*, v. 9, n. 4, p. 302, 2011.

SPINELLI, M. O. *et al.* Comparação dos parâmetros bioquímicos de camundongos criados em diferentes condições sanitárias. *Scientia Plena*, v. 8, n. 2, 2012.

SPRONG, Hein *et al.* Aberrant receptor-mediated endocytosis of *Schistosoma mansoni* glycoproteins on host lipoproteins. *PLoS medicine*, v. 3, n. 8, 2006.

TAYLOR, M. G. Hybridisation experiments on five species of African schistosomes. *Journal of Helminthology*, v. 44, n. 3-4, p. 253-314, 1970.

TCHUEM TCHUENTE, L. A.; *et. al Schistosoma mansoni*: lack of prezygotic reproductive isolation between African and South American strains. *Exp. Parasitol.* 80, 323-327, 1995.

TEIXEIRA, Danúbia Pinheiro *et al.* Avaliação dos efeitos de fármaco anti-hipertensivo nas alterações hepáticas associadas à esquistossomose murina. Dissertação (Doutorado). Universidade Federal de Alfenas, 2019.

TSUJI, Naotoshi *et al.* Schistosomiasis and hookworm infection in humans: Disease burden, pathobiology and anthelmintic vaccines. *Parasitology International*, p. 102051, 2020.

UNIPROT CONSORTIUM. UniProt: the universal protein knowledgebase. *Nucleic acids research*, v. 45, n. D1, p. D158-D169, 2016.

URBAN, Pawel L. Quantitative mass spectrometry: an overview. 2016.

VANDERGREEF, J. Field desorption mass spectrometry in bioanalysis. *Trends in Analytical Chemistry*, Amsterdam, v. 5, p. 241, 1986.

VITORINO, Rodrigo Roger et al. Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. *Rev Soc Bras Clin Med*, v. 10, n. 1, p. 39-45, 2012.

WANG, Chao *et al.* CD5L/AIM regulates lipid biosynthesis and restrains Th17 cell pathogenicity. *Cell*, v. 163, n. 6, p. 1413-1427, 2015.

WANG, Jipeng *et al.* Intake of erythrocytes required for reproductive development of female *Schistosoma japonicum*. *PloS one*, v. 10, n. 5, 2015.

WEERAKOON, K. G. A. D. *et al.* Advances in the Diagnosis of Human Schistosomiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 28, n. 4, p. 939–967, 29 out. 2015.

WILKINS, M. R. *et al.* From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Nature Biotechnology*, v.14, p. 61-65, 1996.

WILSON, Alan R. *et al.* The detection limits for estimates of infection intensity in schistosomiasis mansoni established by a study in non-human primates. *Int J Parasitol*, 36, 1241-4. 2006.

WITTMANN-LIEBOLD, Brigitte; GRAACK, Hanns-Rüdiger; POHL, Thomas. Two-dimensional gel electrophoresis as tool for proteomics studies in combination with protein identification by mass spectrometry. *Proteomics*, v. 6, n. 17, p. 4688-4703, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO/NHD/01.3: Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Geneva, 114p. 2001.

XAVIER, Hermes T. *et al.* V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.

YANG, Qiang *et al.* Metabolomics biotechnology, applications, and future trends: a systematic review. *RSC Advances*, v. 9, n. 64, p. 37245-37257, 2019.

9. Anexos



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro – ICEB-II, Sala 29
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Fone (31) 3559-1368 Fax: (31) 3559-1370
E-mail: ceua@oropp.ufop.br



OFÍCIO CEUA Nº. 20/2019, de 20 de Dezembro de 2019

Ilustríssimo(a) Senhor(a)

Professor(a) Doutor(a) William de Castro Borges

DECBI/UFOP

Senhor(a) Pesquisador(a).

Após apreciação, a Comissão de Ética no Uso de Animais da UFOP – CEUA/UFOP, ao analisar o adendo relativo ao protocolo para uso de animais em pesquisa nº. **2017/34**, intitulado "**Análise proteômica para entendimento da relação parasito-hospedeiro no *Mus musculus* frente à infecção por *Schistosoma mansoni***", de sua autoria, considerou aprovada a solicitação de permissão para utilização da linhagem C57BL/6 (machos e fêmeas) de camundongos disponíveis no Centro de Ciência Animal da UFOP, além da linhagem BALB/c previamente aprovada. Aprova também a solicitação para coleta de intestino e soro, além de baço e fígado (já anteriormente previsto no protocolo) após eutanásia dos animais.

Atenciosamente,

Prof.ª Dr.ª Paula Melo de Abreu Vieira
Coordenadora da CEUA/UFOP.