

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO –
BASES EXPERIMENTAIS DA NUTRIÇÃO

DANIELLE GUEDES DANTAS LIRA

ALTERAÇÕES NO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA NO RIM DE
CAMUNDONGOS OBESOS E INFECTADOS COM *SCHISTOSOMA MANSONI*

RECIFE, 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO –
BASES EXPERIMENTAIS DA NUTRIÇÃO

DANIELLE GUEDES DANTAS LIRA

ALTERAÇÕES NO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA NO RIM DE
CAMUNDONGOS OBESOS E INFECTADOS COM *SCHISTOSOMA MANSONI*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição, área de concentração Bases Experimentais da Nutrição.

Orientação: Prof. Dr^a Célia Maria Machado Barbosa de Castro
Coorientação: Prof. Dr^a Ana Durce Oliveira da Paixão

RECIFE, 2018

Catalogação na fonte:
bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4:1895

L768a Lira, Danielle Guedes Dantas.
Alterações no sistema renina angiotensina no rim de camundongos obesos e infectados com *schistosoma mansoni* / Danielle Guedes Dantas Lira. – Recife: o autor, 2018.
60 f.; il.; 30 cm.
Orientadora: Célia Maria Machado Barbosa de Castro.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em nutrição.
Inclui referências, figuras, tabelas e anexos.
1. Obesidade. 2. *Schistosoma mansoni*. 3. Renina. 4. Angiotensina. I. Castro, Célia Maria Machado Barbosa de (orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2018 - 077)

DANIELLE GUEDES DANTAS LIRA

ALTERAÇÕES NO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA NO RIM DE
CAMUNDONGOS OBESOS E INFECTADOS COM *SCHISTOSOMA MANSONI*

Dissertação aprovada em 27 / 02 / 2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Débora Nepomuceno (Membro Titular)

Departamento de Nutrição – UFPE

Prof. Dra. Maria do Amparo Andrade (Membro Titular)

Departamento de Fisioterapia – UFPE

Prof. Dra. Lucila Maria Valente (Membro Titular)

Hospital das Clínicas - UFPE

RECIFE, 2018

Dedico este trabalho

Aos meus pais, responsáveis
por minha formação e
Alejandro por seu apoio.

Meu amor e gratidão por vocês
são eternos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, que me presenteou com mais uma vitória no âmbito acadêmico. Seu amor e misericórdia são sem limites.

Aos meus pais **José Hélio Borges Lira** e **Ida Maria Guedes Dantas**, que se dedicaram à minha formação e as minhas irmãs **Hélida Guedes Dantas Lira de Melo** e **Monyque Guedes Dantas Lira** pela torcida. A oração e o apoio de vocês foram fundamentais.

A **Eulises Alejandro Fonseca Parra** por seu apoio e incentivo, os quais foram essenciais para me encorajar a assumir esse desafio, e concluir essa etapa tão importante na minha vida. Você foi a melhor companhia durante todo o tempo.

A **Iracema Tereza dos Santos** e **Hildete Tereza dos Santos** por sua amizade, abrigo e confiança. Irmãs em Cristo, as quais levarei para sempre no coração. Vocês foram muito importantes para mim.

A minha orientadora **Célia Maria Machado Barbosa de Castro** por ter me recebido e confiado no meu trabalho, por sua tranquilidade e apoio.

A minha coorientadora **Ana Durce Oliveira da Paixão** por seus profundos conhecimentos na área de nefrologia, sua disponibilidade, apoio e incentivo foram incomensuráveis para a conclusão deste trabalho. A senhora é uma grande orientadora.

Aos meus colegas do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Renal e Fisiopatologia Renal, **Professor Leucio Duarte Vieira Filho**, **Edjair Cabral**, **Regina Aires**, **Juliane Farias**, **Linaldo Filho**, **Thayna Constantino** e **Fernanda Ribeiro**, pelas trocas de experiência, pelo aprendizado das técnicas de trabalho, pelo incentivo e apoio.

A professora **Dayane Aparecida Gomes** do Laboratório de Neuroendocrinologia e Metabolismo por seu apoio nas técnicas de laboratório.

A **FACEPE** pela concessão da bolsa de mestrado, e pelo apoio financeiro de toda a pesquisa.

A todos os meus amigos e irmãos da Igreja Adventista do Sétimo Dia - Boa Viagem, em especial aos meus “pais adotivos” **Marleide Nascimento Gondim (Leda)** e **Bartolomeu Lopes Gondim Júnior**, e **Danielle Gomes Cavalcanti de Oliveira** que oraram e torceram por mim.

O meu mais sincero OBRIGADA a todos vocês!

“Muitos transgridem as leis de saúde devido à ignorância, e necessitam instruções. (...) Mediante as devidas instruções, muito pode fazer para corrigir males que estão produzindo induzível dano”.

(Ellen Gould White)

RESUMO

Na obesidade, o sistema renina angiotensina (SRA) apresenta-se ativado no tecido adiposo. Na infecção pelo *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) pode-se encontrar componentes desse sistema no granuloma hepático. Estes componentes do SRA contribuem com a formação de fibrose em órgãos como coração, vasos e rim nas doenças cardio-renais. No presente estudo investigou-se alterações no SRA em rins de camundongos controle e obesos infectados e não infectados com *S. mansoni*. Foram utilizados 40 camundongos fêmeas da linhagem BALB/c, os quais foram randomicamente distribuídos em 4 grupos: animais mantidos com dieta controle não infectados e infectados e animais mantidos com uma dieta hiperlipídica não infectados e infectados. As dietas foram implantadas aos 22 dias de idade, a infecção foi realizada na 13^a semana (91 dias) de idade e as avaliações de todos os parâmetros foram realizadas na 18^a semana (126 dias) de idade. Ao longo do desenvolvimento foram avaliados consumo dietético e ganho ponderal. A contagem de ovos foi realizada 6 semanas após a infecção. Na 18^a semana, os animais foram eutanasiados e foi realizada análise bioquímica sérica. Nos rins, foram investigados componentes do SRA, através da técnica de Western blotting, e a produção basal de ânion superóxido, bem como a produção de ânion superóxido dependente da NADPH oxidase. Os componentes do SRA investigados foram: renina, receptor de pró-renina, enzima conversora 2 e receptores de angiotensina II, do tipo 1 e 2. A análise estatística foi realizada através de ANOVA two-way, seguida pelo teste de Bonferroni. A significância estatística foi considerada ao nível de $p < 0,05$. A ingestão dietética no grupo infectado com dieta hiperlipídica, bem como o peso corpóreo no final do estudo, deste grupo, foram menores do que no grupo mantido com dieta controle e infectado. No entanto, os dois grupos tratados com a dieta hiperlipídica evoluíram com peso corpóreo mais elevado do que os dois grupos mantidos com dieta controle. Os animais mantidos com dieta hiperlipídica apresentaram glicemia elevada. Por outro lado, a infecção diminuiu a glicemia em ambos os grupos, com dieta controle e com dieta hiperlipídica. Apenas o grupo mantido com dieta hiperlipídica e infectado apresentou colesterol sérico elevado. O grupo mantido com dieta hiperlipídica apresentou níveis elevados de HDL, enquanto ambos grupos infectados apresentaram diminuição do HDL. Entre os componentes do SRA, o receptor de pró-renina apresentou-se reduzido no grupo mantido com dieta hiperlipídica e infectado, enquanto os níveis basais de ânion superóxido apresentaram-se elevados neste grupo. A produção de ânion superóxido dependente de NADPH oxidase não se apresentou alterada em nenhum grupo. Concluindo, o efeito da superposição obesidade + infecção sobre os níveis de receptor de pró-renina precisa ainda ser investigado no que diz respeito as consequências. No entanto, os níveis basais elevados de ânion superóxido no rim, produzidos independentemente da NADPH oxidase e dos componentes do SRA, indicam que outros fatores inflamatórios do conjunto dieta hiperlipídica e infecção podem piorar o prognóstico de doenças cardio-renais.

Palavras-chave: Obesidade. *Schistosoma mansoni*. Renina. Angiotensina.

ABSTRACT

In obese individuals, RAS is activated in adipose tissue, as well as in hepatic granuloma developed to *Schistosoma mansoni* infection. Renin angiotensin system (RAS) components contribute to fibrosis in heart, vessels and kidney in cardiorenal diseases. The present study investigated RAS in the kidneys from obese mice infected with *S. mansoni*. 40 female mice (BALB/c) were randomly distributed in 4 groups: maintained with standard diet infected and non-infected and maintained with a hyperlipid diet infected and non-infected. Both diets were introduced at age of 3 weeks. The infection was carried out at age of 13 weeks and all parameters were evaluated at age of 18 weeks. Diet intake and body weight were measured during development. Parasite eggs in feces were counted after 6 weeks infection. At age of 18 weeks, animals were euthanized and biochemical analysis was performed in serum. In the kidneys, components of RAS were investigated by using Western blotting. Furthermore, basal production of superoxide anion, as well as NADPH oxidase dependent superoxide anion were evaluated. SRA components investigated were: renin, prorenin receptor, angiotensin conversing enzyme 2 and angiotensin II receptors type 1 and type 2. Statistical analysis was performed by using two-way ANOVA followed by Bonferroni test. Differences were considered at $P < 0.05$. Diet intake and body weight, at the end of study, in the infected group maintained with hyperlipid diet was reduced, compared with infected group on standard diet, although both groups maintained on hyperlipid diet evolved with higher body weight along the study. Mice on hyperlipid diet showed hyperglycemia, while infection reduced glycemia in both groups, maintained or not in hyperlipid diet. Cholesterol was elevated in mice maintained on hyperlipid diet. This group also showed elevated HDL, while both infected groups showed reduced HDL. Among RAS components studied, only the prorenin receptor was reduced in the group infected and maintained on hyperlipid diet. On the other hand, basal superoxide anion was increased in this group. Superoxide anion dependent on NADPH oxidase was not changed in any group. In summary, the effects of obesity superimposed to infection reducing prorenin receptor in the kidney needs additional investigation. Conversely, increased level of basal superoxide anion, produced independently from NADPH oxidase or from RAS components, indicate that inflammatory factors produced by infection superimposed to obesity could worsen cardiorenal diseases.

Key words: **Obesity. *Schistosoma mansoni*. Renin. Angiotensin.**

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Ciclo biológico do parasito.----- | 20 |
| Figura 2. Cascata enzimática de formação e metabolismo de peptídeos de angiotensina ----- | 23 |
| Figura 3. Ações renais dos componentes clássicos e não clássicos do sistema renina angiotensina. ----- | 24 |
| Figura 4. ERO produzidos por NOX em fatores de risco para doença cardio-renal. ----- | 27 |
| Figura 5. Distribuição dos grupos de camundongos submetidos a análises. ----- | 30 |
| Figura 6 A. Moluscos da espécie <i>B. glabrata</i> infectados, em meio aquático e sob exposição da luz artificial. ----- | 32 |
| Figura 6 B. Camundongos anestesiados e expostos à suspensão cercariana, por via percutânea, e luz artificial. ----- | 32 |
| Figura 7 A. Evolução ponderal de peso dos camundongos.----- | 36 |
| Figura 7 B. Variação de peso corporal de camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica e infectados com <i>Schistosoma mansoni</i> . ----- | 36 |
| Figura 8. Perfil bioquímico. ----- | 38 |
| Figura 9. Análise por Western Blot. Componentes do sistema renina angiotensina.----- | 39 |
| Figura 10. RLU - Relative luminescence unit (RLU/mg proteína) Basal e NADPH. ----- | 40 |
| Tabela 1. Composição da dieta.----- | 30 |
| Tabela 2. Carga parasitária. ----- | 37 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------|--|
| Ang I | Angiotensina I |
| Ang II | Angiotensina II |
| AT ₁ R | Receptor de angiotensina 1 |
| AT ₂ R | Receptor de angiotensina 2 |
| C | Grupo controle |
| CI | Grupo controle infectado |
| DC | Dieta controle |
| DH | Dieta hiperlipídica |
| DRC | Doença renal crônica |
| ECA | Enzima conversora de angiotensina |
| H | Grupo hiperlipídico |
| HI | Grupo hiperlipídico infectado |
| IMC | Índice de massa corporal |
| NADPH | Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida |
| NO | Óxido nítrico |
| PRR | Receptor de (pro)renina |
| SRA | Sistema renina angiotensina |
| S. mansoni | <i>Schistosoma mansoni</i> |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| 2.1 | Obesidade | 16 |
| 2.2 | <i>Schistosoma mansoni</i> | 18 |
| 2.3 | Sistema renina angiotensina | 22 |
| 2.4 | Estresse oxidativo | 26 |
| 2.5 | Objetivo geral | 28 |
| 2.6 | Objetivos específicos | 28 |
| 3 | MÉTODOS | 29 |
| 3.1 | Considerações éticas | 29 |
| 3.2 | Formação dos grupos de estudo | 29 |
| 3.3 | Dietas | 30 |
| 3.4 | Avaliação da evolução ponderal | 31 |
| 3.5 | Obtenção das cercárias e infecção dos camundongos | 31 |
| 3.6 | Contagem de ovos | 32 |
| 3.7 | Coleta de amostras biológicas | 32 |
| 3.8 | Métodos analíticos | 33 |
| 3.9 | Avaliação da produção basal de superóxido e dependente da NADPH oxidase | 33 |
| 3.10 | SDS-PAGE e Western blotting para investigação de renina, receptor de pró-renina, enzima conversora 2, e receptores AT ₁ e AT ₂ | 34 |
| 3.11 | Análise dos dados | 35 |
| 4 | RESULTADOS | 36 |
| 4.1 | Consumo alimentar | 36 |
| 4.2 | Peso corporal | 36 |
| 4.3 | Carga parasitária | 37 |

| | |
|---|-----------|
| 4.4 Concentrações séricas de glicose, colesterol total, HDL e triglicerídeos ----- | 37 |
| 4.5 Componentes do SRA ----- | 38 |
| 4.6 Níveis de ânion superóxido no rim ----- | 40 |
| 5 DISCUSSÃO ----- | 41 |
| 6 CONCLUSÕES ----- | 46 |
| REFERÊNCIAS ----- | 47 |
| ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa ----- | 60 |

1 INTRODUÇÃO

A obesidade tornou-se nos últimos anos um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, e associada à intolerância à glicose, resistência insulínica e dislipidemia aumentam os fatores inflamatórios e o estresse oxidativo em diversos tecidos (BASHIR et al., 2016; LUO et al., 2016). Os adipócitos secretam na circulação várias citocinas, proteínas da fase aguda e mediadores da inflamação, por isso, indivíduos obesos podem apresentar elevados níveis circulantes de citocinas e proteínas de fase aguda da inflamação (BULLO et al., 2003; TRAYHURN, 2007). O tecido adiposo tem a capacidade de sintetizar todos os componentes do sistema renina angiotensina (SRA), inclusive com produção de aldosterona. Assim, o aumento do tecido adiposo é um fator correlacionado com aumento na concentração de angiotensina II (Ang II) (PAULA et al., 2006; KOTHS et al., 2010). Somando-se a epidemia da obesidade, a infecção pelo *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) é outro grande problema de saúde pública no Brasil.

A infecção pelo *S. mansoni* é parte de um conjunto de doenças endêmicas comuns em áreas de saneamento precário. A esquistossomose é uma doença parasitária, de evolução crônica, cuja magnitude da prevalência, severidade das formas clínicas e evolução a caracterizam como um importante problema de saúde pública. A patogênese da esquistossomose é dependente da interação entre o helminto e o hospedeiro que é o caramujo (*Bimphalaria*) e o homem (BRASIL, 2014). Antígenos esquistossomóticos, provenientes do *S. mansoni*, induzem respostas imunológicas que podem provocar várias formas de lesão hepática e glomerular, sendo esta conhecida como glomerulopatia esquistossomótica (NASRALLAH et al., 2015). Uma resposta granulomatosa se desenvolve ao redor dos ovos e alguns componentes do SRA podem ser identificados nestes granulomas sugerindo que este sistema esteja envolvido no processo inflamatório (WEINSTOCK; KASSAB, 1984).

O SRA constitui um dos sistemas hormonais mais importantes na regulação fisiológica da pressão sanguínea e na homeostase hidroeletrolítica através de mecanismos renais e não renais (CHAPPELL, 2016), e está expresso essencialmente em todos os órgãos. Este sistema é composto por diferentes

peptídeos e enzimas com diversas ações biológicas mediadas por diferentes subtipos de receptores (CHAPPELL, 2012). Alterações no SRA levam a hipertensão e perpetuação de uma cascata pró-inflamatória, pró-trombótica e aterogênica, que levam à lesão de órgãos-alvo como coração, cérebro e rins (Giestas; Palma; Ramos, 2010). Este sistema está implicado na fisiopatogênese da glomerulopatia desde suas fases mais precoces.

Não há estudos que mostrem uma relação conjunta entre obesidade e esquistossomose no desenvolvimento da doença renal. De maneira separada, a glomerulopatia causada pela obesidade é lenta e progressiva e causa prejuízo à função renal ao longo de meses ou anos (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002) e sua prevalência está aumentando em paralelo com a epidemia de obesidade em todo o mundo. Na esquistossomose, a glomerulopatia é causada por uma complexa resposta granulomatosa e componentes do SRA podem ser identificados nestes granulomas. Com isso, a presença desses componentes sugere a possibilidade de que este sistema tenha um importante papel inflamatório. Portanto, em decorrência do número de pacientes obesos encontrados em áreas endêmicas para esquistossomose, torna-se relevante o desenvolvimento de estudos que visem o entendimento de mecanismos inflamatórios gerais desencadeados durante a infecção pelo *S. mansoni* associada à obesidade. Desta forma, esta dissertação tem como pergunta condutora: Quais as alterações que a obesidade, juntamente com a infecção por *S. mansoni* podem, em termos moleculares e bioquímicos, provocar nos componentes do SRA no rim de camundongos?

Este trabalho poderá auxiliar na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos que permeiam a obesidade quando associada à esquistossomose, uma vez que o SRA é importante modulador da função renal e cardiovascular.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Obesidade

A obesidade tem se mostrado um importante problema de saúde pública. O desequilíbrio energético entre consumo de calorias e dispêndio energético são as principais causas da obesidade (XU et al., 2015). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a prevalência da obesidade quase que dobrou desde 1980. Em 2014, mais de meio bilhão de adultos em todo o mundo foram classificados como obesos (WHO, 2014).

A maior taxa de obesidade ocorre em populações com menor nível socioeconômico (WANG; BEYDOUN, 2007), e essa associação pode ser explicada pela maior palatabilidade e pelo menor custo de alimentos de alta densidade calórica, além do baixo poder de saciedade e facilidade de absorção e digestão. O estilo de vida moderno com refeições feitas fora de casa e o aumento do consumo de *fast food*, com aumento no número das porções, e sedentarismo, são características que favorecem o aumento da ingestão alimentar e, portanto, contribuem para o desequilíbrio energético (ABESO, 2016).

A obesidade resulta em várias complicações no metabolismo da glicose e lipídios, com desenvolvimento da resistência à insulina, diabetes tipo 2 e hiperlipidemia, levando à síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (CHANG et al., 2011). Existem várias técnicas para classificar a obesidade, no entanto, o índice de massa corpórea (IMC) é a medida mais comumente utilizada para classificação do estado nutricional. O IMC é simples, prático e de baixo custo. Porém tem limitações constatadas. O IMC é calculado através da razão entre peso e altura ao quadrado (Kg/m^2). Classifica-se como obesos indivíduos com $\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg}/\text{m}^2$ (WHO, 1995). Outra medida antropométrica simples é a circunferência abdominal, a qual tem sido utilizada para determinar o índice de acúmulo de gordura visceral que pode inferir a gordura corporal total (ABESO, 2009).

A obesidade é considerada um grande fator de risco para várias comorbidades. Estima-se que 20 a 25% da população mundial tenha síndrome metabólica relacionada à obesidade (CAMERON; SHAW; ZIMMET, 2004). É comum

que no quadro de obesidade ocorram distúrbios metabólicos associados com inflamação crônica e resistência insulínica. Este quadro se caracteriza por um aumento na infiltração dos macrófagos no tecido adiposo que interferem na função do adipócito (BASHIR et al., 2016). Os adipócitos secretam várias citocinas e proteínas de fase aguda da inflamação, os quais direta ou indiretamente, elevam a circulação de interleucinas (BULLO et al., 2003; TRAYHURN, 2007). O estresse oxidativo é também elevado no quadro de inflamação, fator que desempenha um papel importante no desenvolvimento de resistência à insulina e síndrome metabólica (ODEGAARD et al., 2016) e na fisiopatologia de doenças cardiovasculares (TSUTSUI; KINUGAWA; MATSUSHIMA, 2011).

O Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP, 2002) - Adult Treatment Panel III definiu a síndrome metabólica como um grupo de fatores de risco, cujo diagnóstico é baseado na presença de três ou mais fatores. Estes fatores incluem: i) obesidade abdominal com valores ≥ 102 cm em homens e ≥ 88 cm em mulheres; ii) triglicerídeos (TG) ≥ 150 mg/dL; iii) lipoproteína de alta densidade (HDL-C) < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres; iv) glicemia em jejum ≥ 110 mg/dL; pressão sanguínea sistólica ≥ 130 mmHg e diastólica ≥ 85 mmHg (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) EXPERT PANEL ON DETECTION EVALUATION AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (ADULT TREATMENT PANEL III), 2002).

As doenças cardiovasculares contribuem com mais de um terço da morbidade mundial (WANG; NAKAYAMA, 2010). Em parte, estas doenças ocorrem pelo aumento da passagem transendotelial de lipoproteínas aterogênicas ricas em colesterol. Essas lipoproteínas são retidas no espaço subendotelial, o que leva a infiltração de macrófagos e células T (WILLIAMS; TABAS, 1998, 2005).

Em indivíduos obesos os componentes do SRA apresentam-se ativados (GIACCHETTI et al., 2002), e a Ang II pode estar envolvida na patogênese da doença cardiovascular e também na doença renal crônica (DRC) associada ou não à doença cardiovascular. Um dos papéis da Ang II é produzir proliferação ou hipertrofia das células mesangiais e assim aumentar a matriz extracelular nos glomérulos (FERREIRA; ZANELLA, 2000).

A DRC tem sido correlacionada com obesidade (LIRA et al., 2016; KOVESDY; FURTH; ZOCCALI, 2017). Em indivíduos transplantados, rins obtidos de doadores de obesos são propensos a exibirem menor taxa de filtração glomerular do que rins obtidos de indivíduos eutróficos. Estes dados sugerem que a obesidade possa contribuir com o início de DRC (ESPINOZA et al., 2006). Ademais, a epidemia de obesidade tem sido acompanhada por um aumento na incidência da DRC. Resultados de estudos de longo prazo sugerem que o aumento da massa corporal aumenta 20% na incidência da doença renal (D'ELIA et al., 2009). A glomerulopatia relacionada com obesidade é lenta e progressiva e causa danos à função renal ao longo de meses ou anos (MASCALI et al., 2016). Porém, de princípio, a progressão da DRC pode se tornar mais rápida se o quadro de obesidade cursar com outros fatores de risco, como a infecção com *S. mansoni*.

2.2 *Schistosoma mansoni*

O gênero *Schistosoma* é composto por platelmintos trematódeos, dióicos – ou seja, com sexos separados – e apresenta diferentes estágios de desenvolvimento: vermes adultos, ovos, miracídios, esporocistos, cercárias e esquistossômulos. Cada um destes estágios tem características peculiares (SIQUEIRA-BATISTA et al., 1998). O *S. mansoni* é a única espécie do gênero *Schistosoma* descrita no Brasil, em virtude da inexistência de moluscos, os quais são hospedeiros intermediários, suscetíveis aos demais helmintos.

Esses platelmintos chegaram ao Brasil através dos escravos africanos trazidos pelos colonizadores portugueses. Porém, no mundo, há referências da doença muito antes da idade média. Em 1910, Ruffer encontrou ovos de *Schistosoma* em cortes histológicos de tecido renal de múmias egípcias, cuja origem remonta a 3200 a.C. (RUFFER, 1910; BRASIL, 2014).

O ciclo biológico do *S. mansoni* é complexo, pois é formado por duas fases parasitárias: uma no hospedeiro definitivo (vertebrado/homem) e outra no hospedeiro intermediário (invertebrado/caramujo). Há, ainda, duas passagens de larvas de vida livre no meio aquático, que se alternam com as fases parasitárias. As

etapas evolutivas consistem no verme adulto (macho e fêmea), ovo, miracídio, esporocisto, cercária e esquistossômulo. Em condições favoráveis, o ciclo evolutivo do parasito se completa em torno de 80 dias. No homem, o ciclo é sexuado e o período decorrido entre a penetração das cercárias e o encontro de ovos nas fezes é de cerca de 40 dias. No molusco, o ciclo é assexuado e também dura, aproximadamente, 40 dias (KATZ; ALMEIDA, 2003).

Os vermes adultos vivem nos vasos sanguíneos que ligam o intestino ao fígado (sistema porta-hepático) do hospedeiro vertebrado. Uma fêmea coloca 300 ovos por dia, que só amadurecem uma semana depois. A postura ocorre nos vasos capilares do intestino do hospedeiro, quando então passam para a luz intestinal e são eliminados juntos com as fezes. Quando maduros, os ovos do *S. mansoni* medem 150 mm de comprimento por 65 mm de largura, tamanho considerado grande. Um espinho lateral facilita a sua identificação. Ao entrar em contato com a água, os ovos maduros incham, eclodem e libertam larvas ciliadas, denominadas miracídios (KATZ; ALMEIDA, 2003).

O miracídio é o primeiro estágio de vida livre do *Schistosoma*. Consegue sobreviver até 24 horas na água, se as condições de temperatura forem adequadas, em torno de 28°C (BRASIL, 2014). É um organismo móvel, graças aos numerosos cílios que revestem sua delgada cutícula e ao seu sistema muscular. Onde não há saneamento básico e as fezes infectadas são lançadas indevidamente em rios e lagos, o miracídio movimenta-se ativamente em busca do caramujo hospedeiro intermediário, dando continuidade ao ciclo evolutivo do parasito, possibilitando a transmissão da parasitose ao homem (BRASIL, 2014).

Ao penetrar nas partes moles do molusco, o miracídio perde parte de suas estruturas. As células remanescentes se reorganizam e, em 48 horas, transformam-se em um saco alongado repleto de células germinativas. Esse saco é o esporocisto. Os esporocistos primários geram os secundários ou esporocistos filhos e as células germinativas, desse último, são transformadas em cercárias (KATZ; ALMEIDA, 2003).

A cercária representa a segunda fase de vida livre do parasito. A liberação das cercárias é sensivelmente influenciada pela luz solar e pela temperatura da

água. Ela passa pela parede do esporocisto e migra para as partes moles externas do caramujo. É uma larva com corpo e cauda, adaptada à vida aquática. Penetrando ativamente na pele do homem, por meio de ação combinada da secreção de glândulas e dos movimentos vibratórios intensos, sobretudo da cauda da larva, a cercária produz uma irritação de intensidade variável de indivíduo para indivíduo. Nesse processo, que pode durar até 15 minutos, a cercária perde sua cauda. Depois de atravessar a pele, ela passa a ser chamada de esquistossômulo (BRASIL, 1998).

Os esquistossômulos são adaptados ao meio interno isotônico do hospedeiro definitivo e penetram em seus vasos sanguíneos ou nos vasos linfáticos. Muitos deles são vencidos pelo sistema de defesa humano e os demais conseguem chegar até o coração e os pulmões e, posteriormente, migram para o fígado, onde esses pequenos vermes se alimentam e tornam-se adultos. O ciclo evolutivo se completa quando os vermes adultos migram para os vasos mesentéricos do hospedeiro e iniciam a oviposição (BRASIL, 1998). (Figura 1).

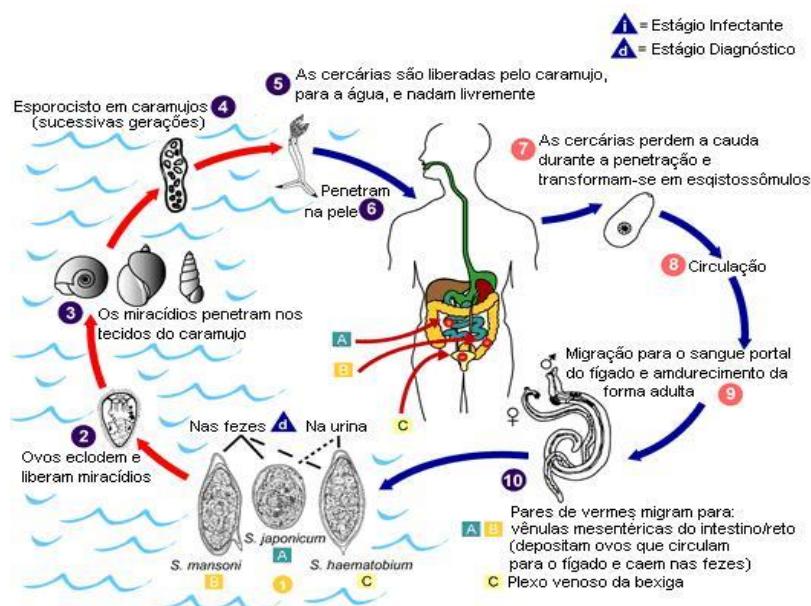


Figura 1. Ciclo biológico do parasito. Fonte: <http://www.ufjf.br/labproteinas/files/2014/04/ciclo.jpg>

A esquistossomose é uma parasitose muito frequente em nossa região e de acordo com a WHO, cerca de 260 milhões de pessoas necessitaram de tratamento para esquistossomose no ano de 2013 (WHO, 2014). Atualmente, no Brasil, estima-se que cerca de 1,5 milhão de indivíduos estejam infectados com *S. mansoni*. Sua transmissão ocorre em regiões do Norte, Centro-Oeste, do Nordeste, onde atinge a

faixa contínua ao longo do litoral, alcançando o seu interior, e em regiões do interior do Sudeste, e Sul. Atualmente, os percentuais de positividade mais elevados são encontrados nos Estados de Alagoas, Pernambuco, Sergipe, Minas Gerais, Bahia, Paraíba e Espírito Santo (BRASIL, 2016).

Na década de 80 foi mostrado que na esquistossomose, uma complexa resposta granulomatosa se desenvolve ao redor dos ovos de schistosoma. Entre numerosos fatores, o angiotensinogênio foi identificado nestes granulomas. Granulomas com macrófagos apresentam angiotensina I, II e III, assim como ECA 1. Com isso, a presença do SRA no granuloma sugere a possibilidade de que este sistema tenha um importante papel inflamatório (WEINSTOCK; KASSAB, 1984). Os ovos de schistosoma causam inflamação, obstrução vascular e fibrose periportal (PEARCE, 2005), e esta patologia se caracteriza pela acumulação de depósitos de matriz extracelular acompanhada da perda de função renal, o que conduz à falência renal e a morte.

A esquistossomose hepática é considerada uma das formas mais prevalentes de doença hepática crônica no mundo, resultando em morbidade devido às complicações de fibrose hepática. A resposta imunológica à oviposição no tecido do hospedeiro, especialmente no fígado, é considerada uma consequência direta da patologia esquistossomótica (CHEEVER; HOFFMANN; WYNN, 2000). O processo inflamatório na esquistosomose hepática é uma reação precoce aos ovos presos nos espaços perisinusais periportais do fígado. A fibrose periportal é considerada uma consequência séria de *S. mansoni* que envolve a remodelação de matriz extracelular e deposição excessiva de colágeno, principalmente por células estreladas hepáticas ao longo dos ramos portais (MOHAMED-ALI et al., 1999).

Além disso, os抗ígenos que são produzidos pelas formas circulantes do Schistosoma induzem respostas imunológicas que levam a formação de depósitos de matriz extracelular, os quais podem provocar danos glomerulares em cerca de 10 a 15% dos indivíduos infectados. Assim, a fibrose renal pode ocorrer como consequência da resposta imunológica e estes indivíduos podem evoluir com DRC (NASRALLAH et al., 2015). O envolvimento renal na esquistossomose é descrito principalmente pelo seu comprometimento glomerular (BARSOUM, 2004), e de

acordo com estudos realizados em alguns países da África e América Latina, pacientes com esquistossomose hepatoesplênica, desenvolviam histologicamente lesões glomerulares (BARSOUM, 2013).

2.3 Sistema renina angiotensina

O SRA corresponde a uma complexa rede hormonal, cujas ações consistem na regulação de numerosos eventos fisiológicos que influenciam as funções renal, neuronal, cardíaca, pancreática, vascular, adrenal, hipofisária, cognitiva, inflamatória e reprodutiva (PAUL, 2006). A descoberta desse sistema ocorreu em 1898, no Instituto Karolinska, na Suécia, onde o estudo demonstrou que injeções intravenosas de extratos do córtex de rins de coelhos aumentavam significativamente a pressão arterial desses animais. Estes resultados os levaram a assumir a existência de um componente pressórico nos extratos renais, que foi por eles denominado renina (AIRES; BARRETO-CHAVES, 2012).

O SRA compreende uma série de vias enzimáticas e componentes bioativos subjacentes a ações funcionais. O precursor de todos os peptídeos de angiotensina é o angiotensinogênio, que além de ser sintetizado no fígado, outros tecidos também podem sintetizar e secretar essa proteína. O SRA apresenta duas vias, a clássica e a alternativa. O sistema clássico tem início com a ação da enzima renina que é produzida no rim e secretada na corrente circulatória e que atua sobre o angiotensinogênio, para gerar a angiotensina (Ang) I, a qual é convertida em angiotensina II (Ang II) através da enzima conversora da angiotensina (ECA) (PAUL, 2006; CHAPPELL, 2016).

A ação da Ang II se faz, em parte, por meio do receptor do tipo 1 da angiotensina (AT₁R). Através do AT₁R, a Ang II promove vasoconstrição, ativa o mecanismo da sede e produz retenção de sódio, o que associado a outros mecanismos pode elevar a pressão arterial sanguínea. Também através do AT₁R, a Ang II produz aumento do estresse oxidativo (em órgãos, fibrose tecidual, crescimento celular e inflamação (CHAPPELL, 2016). (Figura 2 e Figura 3).

Em contraste, o SRA alternativo tem a enzima conversora da angiotensina 2 (ECA 2), com papel chave, que produz Ang (1-7), a qual atua em receptores do tipo Mas e produz ações que se contrapõem às ações mediadas pelo AT₁R. Parte das ações mediadas pelo receptor Mas se faz através do óxido nítrico e prostaglandinas que são agentes vasodilatadores e tem efeito anti-fibrótico e anti-inflamatório (BRADFORD; ELY; RAIZADA, 2010; CHAPPELL, 2016). (Figura 2 e Figura 3).

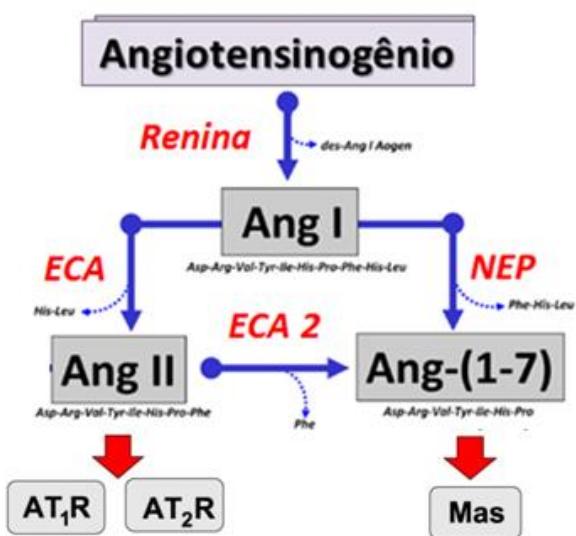


Figura 2. Cascata enzimática de formação e metabolismo de peptídeos do SRA. ECA (Enzima conversora de angiotensina); ECA2 (Enzima conversora de angiotensina 2); NEP (Neprilisina).
Fonte: Adaptada de (CHAPPELL, 2016).

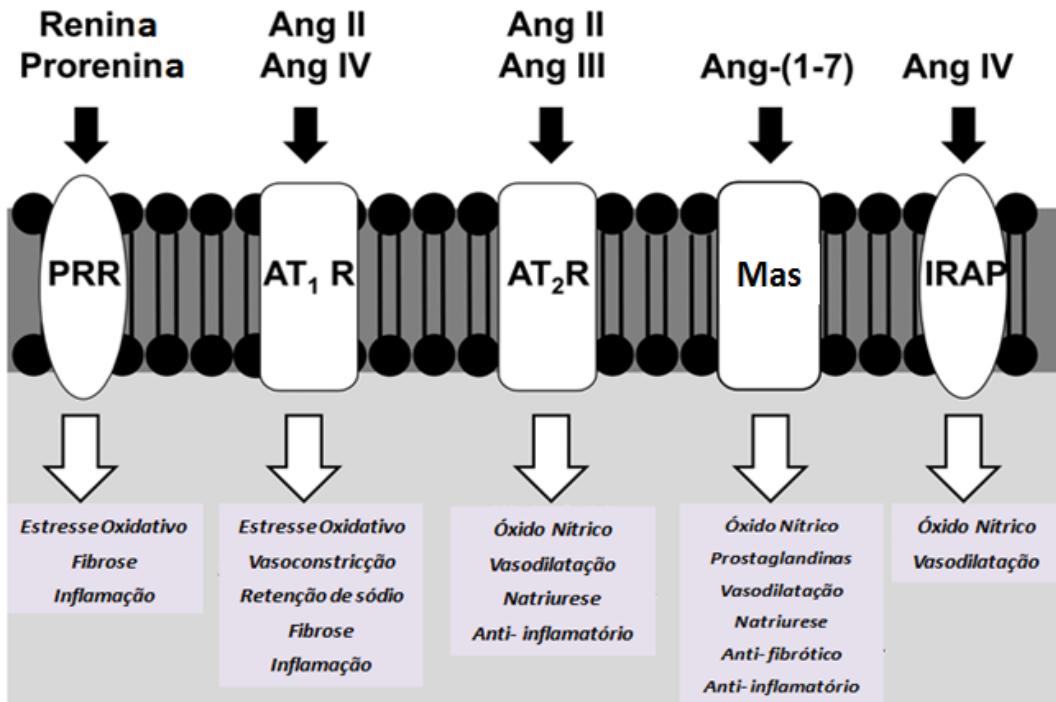


Figura 3. Ações renais dos componentes clássicos e não clássicos do sistema renina angiotensina.
Fonte: Adaptada de (CHAPPELL, 2012).

A renina é secretada para a circulação sistêmica em resposta a estímulos como queda da pressão de perfusão da arteriola aferente renal, a ativação simpática ou, ainda, a redução da concentração de NaCl nas células da mácula densa. O angiotensinogênio, sintetizado predominantemente pelo fígado e secretado na corrente circulatória, sofre ação da renina, formando a Ang I. Esta, por sua vez, sofre a ação da ECA, presente na face luminal das células endoteliais de vários órgãos, formando a Ang II (AIRES; BARRETO-CHAVES, 2012). A renina é uma aspartil protease sintetizada como um zimogênio, também chamado de pró-enzima, denominada pró-renina. As células justaglomerulares renais são os únicos lugares conhecidos de produção da renina. O rim produz tanto renina como pró-renina, enquanto tecidos extrarrenais, incluindo adrenal, ovários, testículos, placenta, e retina produzem a pró-renina (DANSER et al., 1989; HSUEH; BAXTER, 1991).

Um receptor para pró-renina e renina foi identificado e denominado receptor de (pro)renina (PRR) (NGUYEN et al., 2002; CAMPBELL, 2008). A ligação de pró-renina e renina ao PRR não apenas facilita a geração de angiotensina, mas também

leva a ativação de vias de transdução intracelular que leva a ativação de quinases mitogênicas, como a ERK1/2 e a p38. Com isso, o PRR medeia a hipertrofia e fibrose em vários tecidos, como miocárdio, células mesangiais, podócitos e endotélio (NGUYEN, 2006; SCHEFE et al., 2006; MONTEZANO et al., 2014). No rim, a expressão de RNAm de PRR encontra-se em glomérulos, túbulos e vasos (ICHIHARA et al., 2006; KREBS et al., 2007). Além do rim, a expressão de RNAm para o PRR se apresenta elevada no cérebro, coração, placenta, e em menor grau no fígado e pâncreas (NGUYEN et al., 2002). Pelo menos um papel fisiológico já foi estabelecido para o PRR: baixos níveis de PRR no tecido adiposo estão correlacionados com elevação da pressão sistólica, o que foi associado com a elevação sérica e urinária de uma forma solúvel de PRR (sPRR), a qual é gerada pela clivagem do PRR através da furina (WU et al., 2016).

Em células embrionárias renais, a ativação do PRR resulta em aumento da expressão de NOX4, uma isoforma da NADPH oxidase que predomina no rim, e por conseguinte elevação dos níveis de ânion superóxido (CLAVREUL et al., 2011). Até recentemente, esta ação pró-oxidativa era atribuída à Ang II e também à aldosterona. As ações da Ang II mediadas pela via do AT₁R no músculo liso vascular induz vasoconstrição e proliferação celular, estimulando localmente a geração de endotelina, noradrenalina e ativação do NADPH oxidase. Com isso, ocorre aumento da produção do ânion superóxido, o qual pode provocar danos a estruturas celulares (SOUZA et al., 2009; BANAKOU; DAILIANIS, 2010). Como em humanos e animais obesos os níveis plasmáticos de Ang II podem se apresentar elevados, a hipertensão que cursa com obesidade pode ser parcialmente devida ao SRA (JEUNEMAITRE et al., 1992; NIELSEN et al., 2004; ZHANG et al., 2005). Ademais, no tecido adiposo de indivíduos obesos, o aumento de mediadores da inflamação, tais como interleucina 6 (IL-6), interleucina 1b (IL-1b), proteína quimiotática 1 (MCP-1) e fator de necrose tumoral α (TNF- α), contribuem para exacerbação da hipertensão e hipertrofia de órgãos vitais (FLACHS et al., 2009; OUCHI et al., 2011; KALUPAHANA; MOUSTAID-MOUSSA, 2012). Basicamente, o coração, os rins e os vasos são profundamente afetados.

O SRA, além de afetar estruturalmente os órgãos supramencionados, ainda produz aldosterona e aumenta a secreção de vasopressina. Em conjunto, a Ang II

mais aldosterona, produzem retenção renal de sódio, enquanto a vasopressina faz retenção de água. Todos estes efeitos contribuem com elevação da pressão arterial sanguínea e podem a longo prazo comprometer a função renal (CAT; TOUYZ, 2011; HALL; GUYTON, 2011).

Um segundo receptor para Ang II, o AT₂R, nos vasos tem ação vasodilatadora e anti-proliferativa, mediada pela formação de óxido nítrico endotelial. De maneira geral, a ativação do AT₂R induz ações antagônicas àquelas mediadas pelo AT₁R. A Ang (1-7) é também um componente do SRA que atua no receptor Mas e promove ações natriurética, vasodilatadora e antiproliferativa. Também é um componente com efeitos cardioprotetores a angiotensina III (CHAPPELL, 2016).

Em resumo, o SRA desempenha funções fisiológicas na homeostase hidroeletrolítica e da pressão arterial, mas também exerce um papel central na etiologia de doenças cardio-renais (FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008). Alterações no SRA levam a hipertensão e perpetuação de uma cascata pró-inflamatória, pró-trombótica e aterogênica, que levam à lesão de órgãos-alvo como coração, cérebro e rins (GIESTAS; PALMA; RAMOS, 2010). Tendo em vista que está presente no tecido adiposo, na obesidade o SRA pode se apresentar ativado (GIACCHETTI et al., 2002).

2.4 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é uma condição biológica em que ocorre o desequilíbrio entre a produção e a degradação de espécies reativas de oxigênio (ERO). O ânion superóxido (O₂⁻) e o radical hidroxila (·OH) representam apenas dois exemplos entre vários outros ERO. Uma característica comum das ERO é que são moléculas que contêm um ou mais elétrons não pareados no seu orbital. Estes elétrons desencadeiam uma corrente de reações pelo sequestro de elétrons de outras moléculas para completarem seu orbital e tornarem-se estáveis. No entanto, entre as ERO existem moléculas que são reativas, mas que não possuem elétrons não pareados, tais como peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o peroxidonitrito (Figura 4). O estresse oxidativo aumenta quando ocorre um aumento significativo do potencial de

redução celular aliado a uma diminuição significativa da capacidade redutora de pares redox celulares, como a glutationa (SCHAFER, F, BUETTNER, G, 2001). Existem várias enzimas intracelulares que produzem ERO, inclusive NADPH oxidase, xantina oxidase e citocromo P450. Outras fontes são mitocôndrias, peroxissomos e lisossomos (ALDOSARI et al, 2018). O estresse oxidativo aumentado, a inflamação e a disfunção endotelial são componentes inter-relacionados de uma rede etiológica ligada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (LAHERA et al., 2007) e de várias outras doenças (ALDOSARI et al, 2018).

A NADPH oxidase é um complexo enzimático que gera superóxido através da transferência de elétrons acoplando ao oxigênio molecular formando um ânion superóxido (Figura 4). Embora todas as isoformas da NADPH oxidase sejam potencialmente presentes em células de rim, a isoforma NOX4 é predominantemente expressa, especialmente em células mesangiais epiteliais e tem sido associada com condições patológicas, tais como nefropatia diabética e progressão da DRC (DUNI et al, 2017). A regulação ascendente da NADPH oxidase pela Ang II é uma das vias de elevação de ERO que estão envolvidas na etiologia da hipertensão (LOPERENA; HARRISON, 2017).

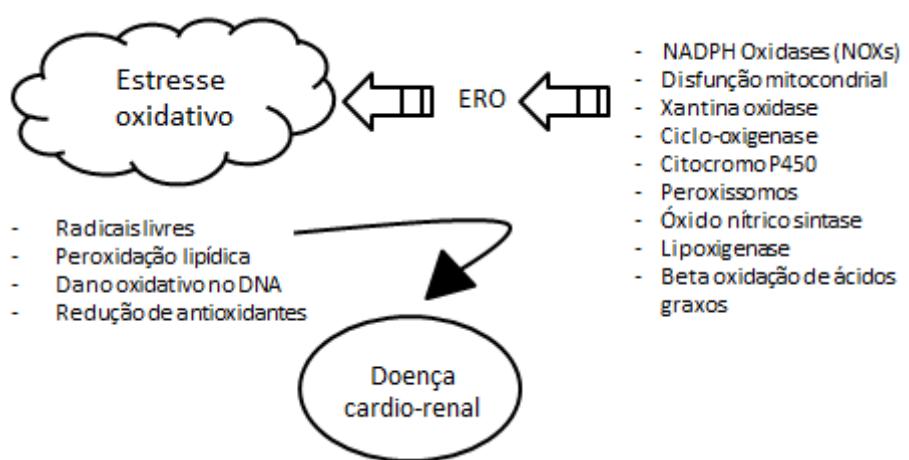


Figura 4. ERO produzidos por NOX em fatores de risco para doença cardio-renal. As setas abertas indicam a indução de estresse oxidativo por enzimas produtoras de ROS. A seta preenchida indica

que o estresse oxidativo afeta os fatores de risco para doença cardio-renal. ERO: espécies reativas de oxigênio; NOX: fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida (NADPH) oxidase.

Investigar possíveis alterações no SRA em indivíduos com obesidade e infectados com *S. mansoni* representa uma forma de compreender a fisiopatologia da DRC nestes indivíduos e, sobretudo de nortear a eficácia do retardo da progressão desta doença.

Nossa hipótese é que a obesidade ou a infecção com *S. mansoni* ou ainda a superposição dos dois induzam alterações nos componentes do SRA no tecido renal de camundongos.

Para testar essa hipótese, camundongos fêmeas foram mantidas com uma dieta hiperlipídica e, posteriormente, foram infectadas com cercárias, obtidas de caramujos infectados com *S. mansoni*.

2.5 Objetivo geral

Avaliar alterações no SRA em rins de camundongos controle e obesos infectados e não infectados com *S. mansoni*.

2.6 Objetivos específicos

Avaliar em camundongos tratados e não tratados com dieta hiperlipidêmica e infectados com *S. mansoni*, os seguintes parâmetros:

- Evolução ponderal;
- Níveis plasmáticos de glicose e níveis séricos de triglicerídeos, colesterol total e frações;
- Carga parasitária (quantificação do número de ovos eliminados nas fezes e contagem de vermes recuperados após a perfusão);
- Expressão proteica de renina, de receptores de pró-renina, o PRR, da ECA2 e dos receptores da Ang II, AT₁ e AT₂;
- Níveis basais de ânion superóxido;
- Níveis de ânion superóxido dependentes da NADPH oxidase.

3 MÉTODOS

3.1 Considerações éticas

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Pesquisas Ageu Magalhães, Recife-PE, sob protocolo nº 65/2014, e foi financiado pela Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco com número de aprovação APQ-0458-4.05/15. Todos os procedimentos descritos para utilização dos animais foram realizados de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e pelas normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals.

3.2 Formação dos grupos de estudo

Foram utilizados camundongos fêmeas, por apresentarem maior intensidade de infecção, da linhagem BALB/c, saudáveis, recém-desmamadas, cedidos pelo Biotério do Centro de Pesquisas Ageu Magalhães – CpqAM/Fiocruz. Os animais foram mantidos em uma mesma sala e em condições ambientais similares, alojados em gaiolas de propileno, com tampas de arame zinkado, em camas de maravalha (anteriormente autoclavada), a uma temperatura de $23\pm1^{\circ}\text{C}$, em ciclo claro/escuro, com livre acesso à ração e água estéril *ad libitum*. Após o desmame (21 dias de vida), os animais foram divididos em dois grupos: Grupo controle (C) - Constituído por 20 animais mantidos com dieta controle e grupo dieta hiperlipídica (H) – Constituído por 22 animais mantidos com uma dieta rica em lipídios.

Após 10 semanas de administração das rações, 10 animais do grupo C e 11 animais do grupo H foram infectados com cercárias de *S. mansoni*, constituindo assim os seguintes grupos: CI – Dieta controle infectado e HI – Dieta hiperlipídica infectado. No decorrer da pesquisa houve perda de dois animais, sendo 1 do grupo hiperlipídico não- infectado e 1 do grupo hiperlipídico infectado.

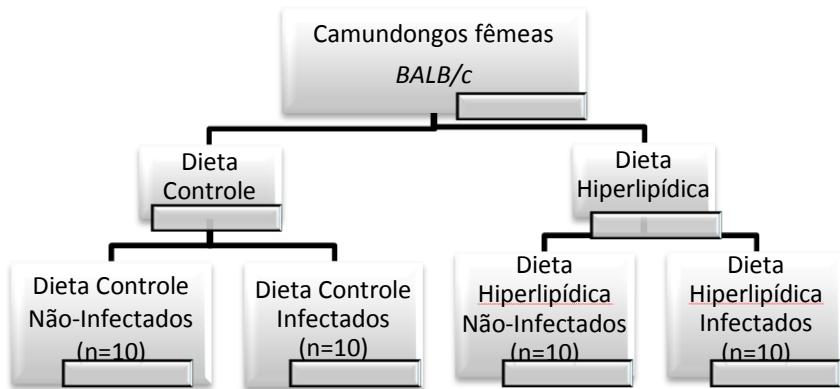


Figura 5. Distribuição dos grupos de camundongos submetidos a análises.

3.3 Dietas

Foram utilizadas uma dieta controle (DC) e uma dieta hiperlipídica (DH) produzidas pela PragSoluções (Jaú – SP, Brasil). Conforme a composição, na Tabela 1, a DH oferece maior aporte lipídico e calórico. Esta dieta foi previamente validada como modelo de obesidade induzida (WHITE et al., 2013).

Tabela 1. Composição das dietas.

| Ingredientes | DC | | DH | |
|----------------------|--------|-------|--------|-------|
| | g/kg | kcal | g/kg | kcal |
| Amido de milho | 415,0 | 1.660 | 14,3 | 57,2 |
| Farelo de soja | 305,0 | 1.281 | 410,0 | 1.722 |
| Sacarose | 80,0 | 320 | 80,0 | 320 |
| Maltodextrina | 70,0 | 280 | 70,0 | 280 |
| Banha | 0,0 | 0 | 302,0 | 2.718 |
| Óleo de soja | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 |
| Ác. graxo soja | 50,0 | 350 | 50,0 | 350 |
| Celulose microcrista | 31,7 | 0 | 25,4 | 0 |
| L-cistina | 1,8 | 7,2 | 1,8 | 7,2 |
| Cloreto colina | 1,5 | 0 | 1,5 | 0 |
| Butil-hidroxitolueno | 0,014 | 0 | 0,028 | 0 |
| Mix min. mod 50 gps | 35,0 | 0 | 35,0 | 0 |
| Mix vitamina | 10,0 | 40 | 10,0 | 40 |
| Total | 1000,0 | 3.938 | 1000,0 | 5.494 |

Dieta controle (DC): 73,9% de carboidratos, 14,8% de proteínas e 9,8% de lipídios. Dieta hiperlipídica (DH): 26,13% de carboidratos, 14,4% de proteínas e 57,6% de lipídios. (WHITE et al., 2013).

3.4 Avaliação da evolução ponderal

A partir do desmame, aos 21 dias, foram realizadas avaliações semanais do consumo de ração e peso corporal dos animais, com auxílio de balança eletrônica.

3.5 Obtenção das cercárias e infecção dos camundongos

Após 10 semanas de manutenção com DC e DH, 10 camundongos do grupo C e 11 camundongos do grupo H, foram submetidos à infecção. Para tal, cercárias da cepa São Lourenço da Mata (SLM) foram obtidas de caramujos, *Biomphalaria glabrata* (*B. glabrata*) infectados e mantidos no Moluscário do Departamento de Parasitologia (UFPE) pela equipe do Setor do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA/UFPE).

Para infecção, os caramujos foram postos em contato com miracídios, segundo STANDEN (1951), permanecendo expostos à luz e ao calor por aproximadamente duas horas. Após infecção, os moluscos foram postos em aquários com água descolorada e livres de exposição luminosa (STANDEN, 1951). De acordo com Olivier e Stirewalt, após 30 dias de infecção os moluscos da espécie *B. glabrata* em meio aquático e sob exposição à luz artificial, apresentam a capacidade de eliminar cercárias através de seus tecidos moles (OLIVIER; STIREWALT, 1952) (Figura 6A).

Foi obtida uma suspensão cercariana e cada camundongo, anestesiado com quetamina e xilazina, (dose 100-200 mg/kg + 5-16 mg/kg) por via intramuscular, foi submetido à infecção por via percutânea. Os animais anestesiados foram postos em decúbito dorsal, com as patas levemente presas por uma tira de fita esparadrapo, e a infecção foi obtida através da adição de uma gota contendo uma fração da suspensão cercariana na sua porção abdominal contendo 30 cercárias por camundongo (Figura 6B). A suspensão permaneceu em contato com o animal durante 30 minutos, sendo então removida e os animais dispostos novamente em suas gaiolas. Os camundongos infectados foram mantidos em gaiolas separadas daqueles não infectados por *S. mansoni*.

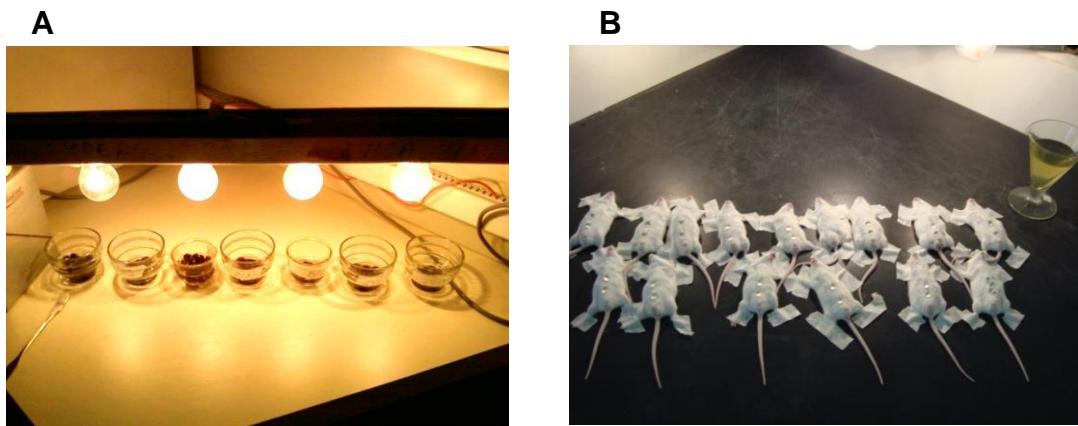


Figura 6. A. Moluscos da espécie *B. glabrata* infectados, em meio aquático e sob exposição da luz artificial. B. - Camundongos anestesiados e expostos à suspensão cercariana, por via percutânea, e luz artificial.

3.6 Contagem de ovos

Para caracterizar a infecção, 45 dias após a indução, foram obtidas amostras de fezes individuais de cada camundongo. Para cada amostra, foram confeccionadas duas lâminas parasitológicas pelo método de Kato-Katz (KATZ; CHAVES; PELLEGRINO, 1972), visando a quantificação do número de ovos e estimativa por cada grama de fezes.

3.7 Coleta de amostras biológicas

Na fase aguda, após 60 dias da infecção, os animais foram anestesiados com quetamina e xilazina (100-200 mg/Kg + 5-16 mg/Kg, via intramuscular) para coleta de sangue, através de punção cardíaca. As amostras foram utilizadas para dosagens de glicose, triglicerídeos, colesterol total e HDL. A punção cardíaca foi realizada com o animal deitado em decúbito dorsal sobre a mesa e com uma seringa de 3 ml. Foi inserida a agulha perpendicularmente à parede da caixa torácica, traçando uma linha imaginária que passa pelo cotovelo do animal, chegando a aproximadamente 0,5 cm abaixo do esterno. Penetrou-se 5 a 10 mm com a agulha e o sangue foi então coletado. Os rins foram coletados e imediatamente transferidos

para freezer - 80°C. A morte do animal anestesiado ocorreu por exsanguinação, e em casos contrários foi realizada a eutanásia rapidamente por dose excessiva de anestésico.

Após eutanásia, os camundongos foram submetidos à perfusão porta-hepática. Esta técnica foi utilizada para avaliação do parasitismo através do número de vermes adultos. A coleta dos vermes foi feita durante a coleta das amostras e perfusão por observação direta dos vasos mesentéricos. Os vermes foram contados e classificados segundo o sexo.

3.8 Métodos analíticos

As análises bioquímicas foram realizadas através de Kits Labtest (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). A glicose foi mensurada pelo método GOD - Trinder (Glicose Liquiform – Ref. 133). O colesterol foi mensurado pelo método enzimático - Trinder (Colesterol Liquiform – Ref. 76). O colesterol HDL foi avaliado através de medida colorimétrica (Colesterol HDL – Ref. 13). Os triglicerídeos foram mensurados pelo método enzimático – Trinder (Triglicérides Liquiform – Ref. 87).

3.9 Avaliação da produção basal de superóxido e dependente da NADPH oxidase

Alíquotas de homogenato renal, preparadas conforme mencionado abaixo, foram utilizadas para avaliação da produção de ânion superóxido, em condição basal e estimulada pela NADPH, ou seja, dependente da NADPH oxidase. Os níveis de ânion superóxido foram detectados pela quimioluminescência derivada da lucigenina (PAIXAO et al., 2013). O homogenato foi centrifugado a 12000 × g por 12 min a 4°C. x μ l do sobrenadante foi adicionado a um meio de reação contendo lucigenina ,10 μ M, e PBS 0,02 M, com pH 7,4. Parte dos ensaios foi realizado também com a presença de NADPH, 100 μ M. A luminescência foi mensurada através de luminômetro (Varioskan Flash, Thermo Scientific). O resultado foi

expresso em unidade relativa de luz (RLU) corrigido pela quantidade de proteína na reação.

3.10 SDS-PAGE e Western blotting para investigação de renina, receptor de pró-renina, enzima conversora 2, e receptores AT₁ e AT₂

Os rins mantidos no ultrafreezer foram descongelados e imediatamente homogeneizados (7 mL por grama de tecido) em solução RIPA (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, Triton X-100 1%, deoxicolato de sódio 1%, dodecilsulfato de sódio 0,1%) suplementados com coquetel inibidor de protease (AEBSF 2 mM, EDTA 1 mM, Bestatin 130 µM, E-64 14 µM, Leupeptin 1 µM, Aprotinin 0,3 µM) em banho-de-gelo. Em seguida, o homogenato foi centrifugado à 12.000 × g por 12 min a 4°C, e o sobrenadante foi utilizado nas etapas seguintes. As proteínas presentes no homogenato de rim total (80 µg) da amostra foram separadas utilizando-se eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) contendo dodecil sulfato de sódio (SDS), e transferidas a uma membrana de fluoreto de polivinilideno (PVDF) ou de nitrocelulose. Após o bloqueio de sítios de ligação não-específica, através de incubação em solução de albumina sérica bovina (5%), as membranas de PVDF e de nitrocelulose foram incubadas *overnight* com o anticorpo primário desejado. Em seguida, as membranas foram lavadas 3 vezes com solução salina tamponada com Tris + Tween 20 0,1% (TBS-T) e incubadas com o anticorpo secundário conjugado a peroxidase adequado. Após uma hora, as membranas foram novamente lavadas 3 vezes com TBS-T. As imagens dos *blots* foram captadas com o auxílio de sistema comercial de reagente quimioluminescente (ECL Prime, GE Healthcare) e um fotodocumentador (ChemiDoc MP, BioRad). A densitometria óptica dos blots foi avaliada através de um software (ImageLab, BioRad). Os anticorpos primários utilizados foram os seguintes: anticorpo anti-ECA2 (Ref. ab108252, abcam), diluição 1:1000; anti-PRR (ab40790, abcam), diluição 1:1000; anti-renin (sc-133145, Santa Cruz Biotechnologies), diluição 1:500; anti-AT₁R (sc-1173-G, Santa Cruz Biotechnologies), diluição 1:1000; anti-AT₂R (sc-9040, Santa Cruz Biotechnologies), diluição 1:500; anti-β-actina (sc-47778, Santa-Cruz Biotechnologies), diluição 1:10000. A proteína controle do padrão de carreamento foi a β-actina. Tendo em vista que o PRR apresenta peso molecular similar ao da β-actina, sua expressão foi

normatizada pela banda de proteínas totais na respectiva faixa de peso molecular revelada pelo corante Ponceau S (Sigma-Aldrich).

3.11 Análise dos dados

Para análise comparativa entre os grupos foi aplicada ANOVA two-way seguida pelo teste de Bonferroni. Os resultados são expressos como média \pm EPM. A significância estatística foi considerada ao nível de $p < 0,05$. Para o processamento dos dados, foi utilizado o software GraphPad Prism 6.0.

4 RESULTADOS

4.1 Consumo alimentar

A ingestão dietética média individual durante todo período apresentada pelos grupos C, CI, H e HI foi 292 g, 309 g, 259 g, 241 g, respectivamente. É importante mencionar que os animais se apresentavam juntos na gaiola. Portanto, na pesagem alimentar realizada a cada sete dias foi avaliado o consumo total do período e estimado o consumo individual.

4.2 Peso corporal

Na Figura 7 estão apresentados os dados de evolução de peso, a partir da primeira semana após dado início ao tratamento com as dietas (Figura 7 A) e variação de peso durante todo período (Figura 7 B). Na Figura 7A constata-se que os dois grupos tratados com a DH evoluíram com peso corpóreo mais elevado do que os dois grupos mantidos com DC. Na Figura 7B constata-se que a infecção e a dieta produziram uma drástica perda de peso no grupo HI, que não foi observada no grupo CI.

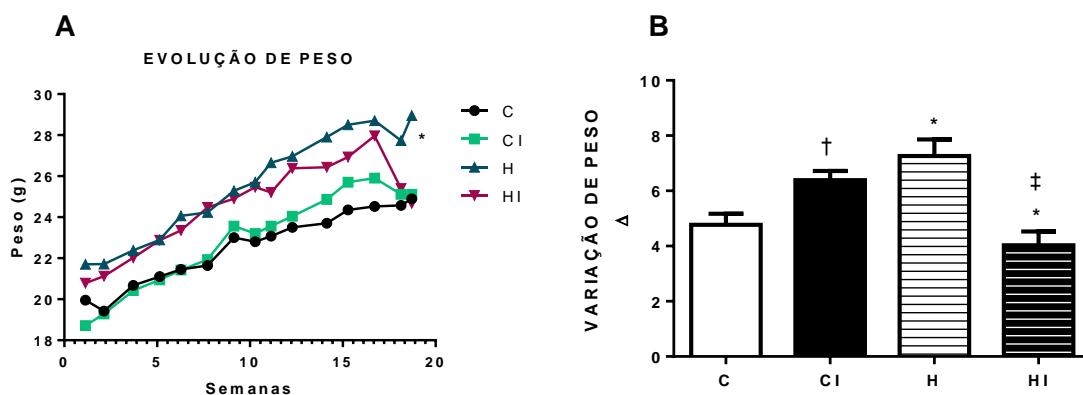


Figura 7. Peso corporal em camundongos submetidos a uma dieta controle e hiperlipídica e infectados com *Schistosoma mansoni*. Em (A) evolução de peso corporal ao longo do tratamento. Em (B) variação de peso ao longo do tratamento. C, grupo controle; CI, grupo mantido com dieta controle e infectado; H, grupo mantido com dieta hiperlipídica; HI, grupo mantido com dieta hiperlipídica e infectado. N = 10 animais em cada grupo. Os resultados estão expressos como média \pm EPM. P < 0,05: * efeito da dieta; † efeito da infecção; ‡ efeito da superposição dieta + infecção (ANOVA two-way seguida do teste de Bonferroni).

4.3 Carga parasitária

Na Tabela 2 observa-se que o grupo HI apresentou-se maior na quantidade do número de ovos, no número de vermes e no número de vermes totais quando comparado ao grupo CI ($P < 0,05$).

Tabela 2. Dados de carga parasitária

| | CI | HI |
|---------------------|------------------|--------------------|
| Nº de ovos | $7,00 \pm 3,77$ | $13,09 \pm 7,22^*$ |
| Nº de vermes fêmeas | $9,30 \pm 2,58$ | $12,20 \pm 1,62^*$ |
| Nº de vermes totais | $16,60 \pm 4,50$ | $26,40 \pm 1,35^*$ |

Os resultados estão expressos como média \pm EPM. CI e HI, são grupos controle e hiperlipídico infectados. * $P < 0,05$. (Teste “t” não-pareado).

4.4 Concentrações séricas de glicose, colesterol total, HDL e triglicerídeos

Na figura 8A observa-se que DH elevou ($P < 0,05$) a glicemia (C vs. H) e que a infecção diminui a glicemia em ambos grupos (CI vs. C e HI vs. H). Na Figura 8B, observa-se que o colesterol sérico se apresentou elevado ($P < 0,05$) apenas no grupo HI. Na Figura 8C observa-se que a DH elevou ($P < 0,05$) os níveis de HDL (C vs. H) e que a infecção reduziu ($P < 0,05$) os níveis de HDL em ambos grupos (C vs. CI e H vs. HI). Na Figura 8D observa-se que a DH reduziu ($P < 0,05$) os triglicerídeos (C vs. H) e que a infecção também teve o mesmo efeito no grupo controle (C vs. CI), mas não no grupo mantido com DH (H vs. HI, $P > 0,05$).

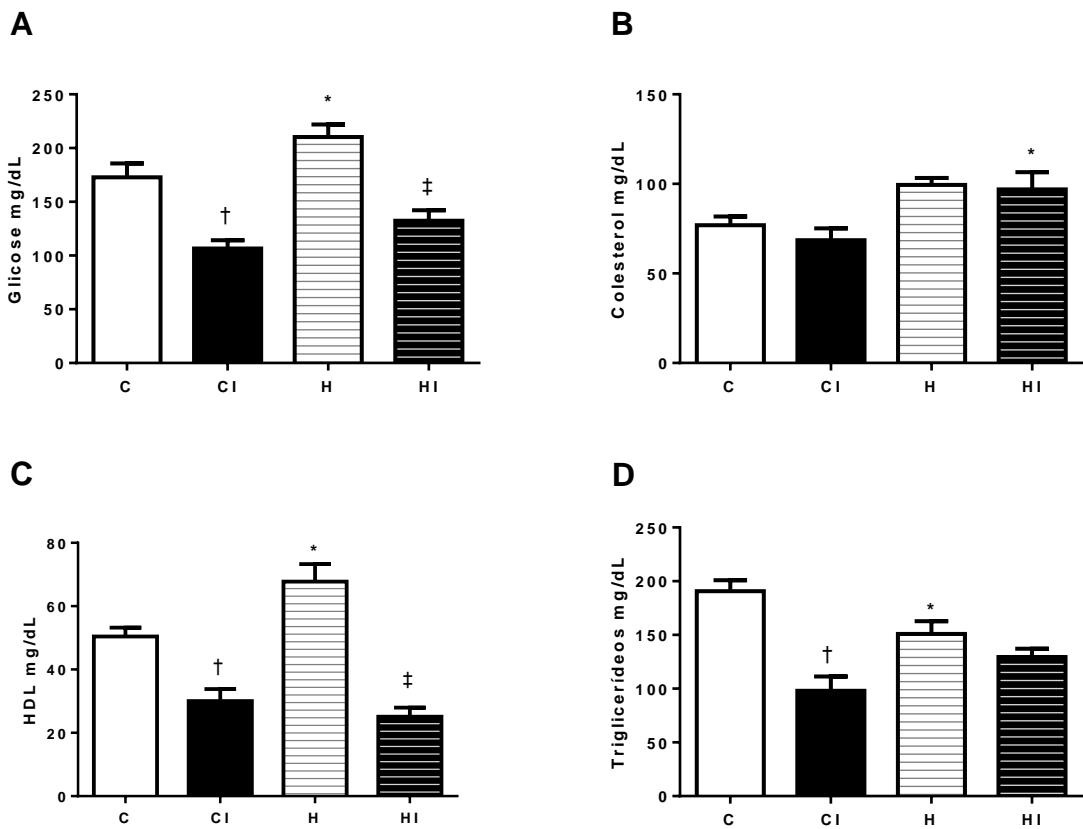


Figura 8. Perfil bioquímico. Concentrações séricas de glicose, colesterol total, HDL e triglicerídeos em camundongos submetidos a uma dieta controle e hiperlipídica e infectados com *Schistosoma mansoni*. Descrição dos grupos na Figura 5. N = 9 animais em cada grupo. P < 0,05: * efeito da dieta; † efeito da infecção; ‡ efeito da superposição dieta + infecção (ANOVA two-way seguida do teste de Bonferroni).

4.5 Componentes do SRA

Na figura 9 estão apresentados os dados dos componentes do SRA, analisados através da técnica de Western blotting. Os componentes avaliados foram: renina (Figura 9A), receptor de pró-renina PRR (Figura 9B), enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2, Figura 9C), receptor de Ang II do tipo 2 (AT₂R, Figura 9D), receptor de Ang II do tipo 1 (AT₁R, Figura 9E). Apenas o PRR apresentou-se reduzido (P < 0,05) no grupo HI. Os demais parâmetros apresentaram-se inalterados.

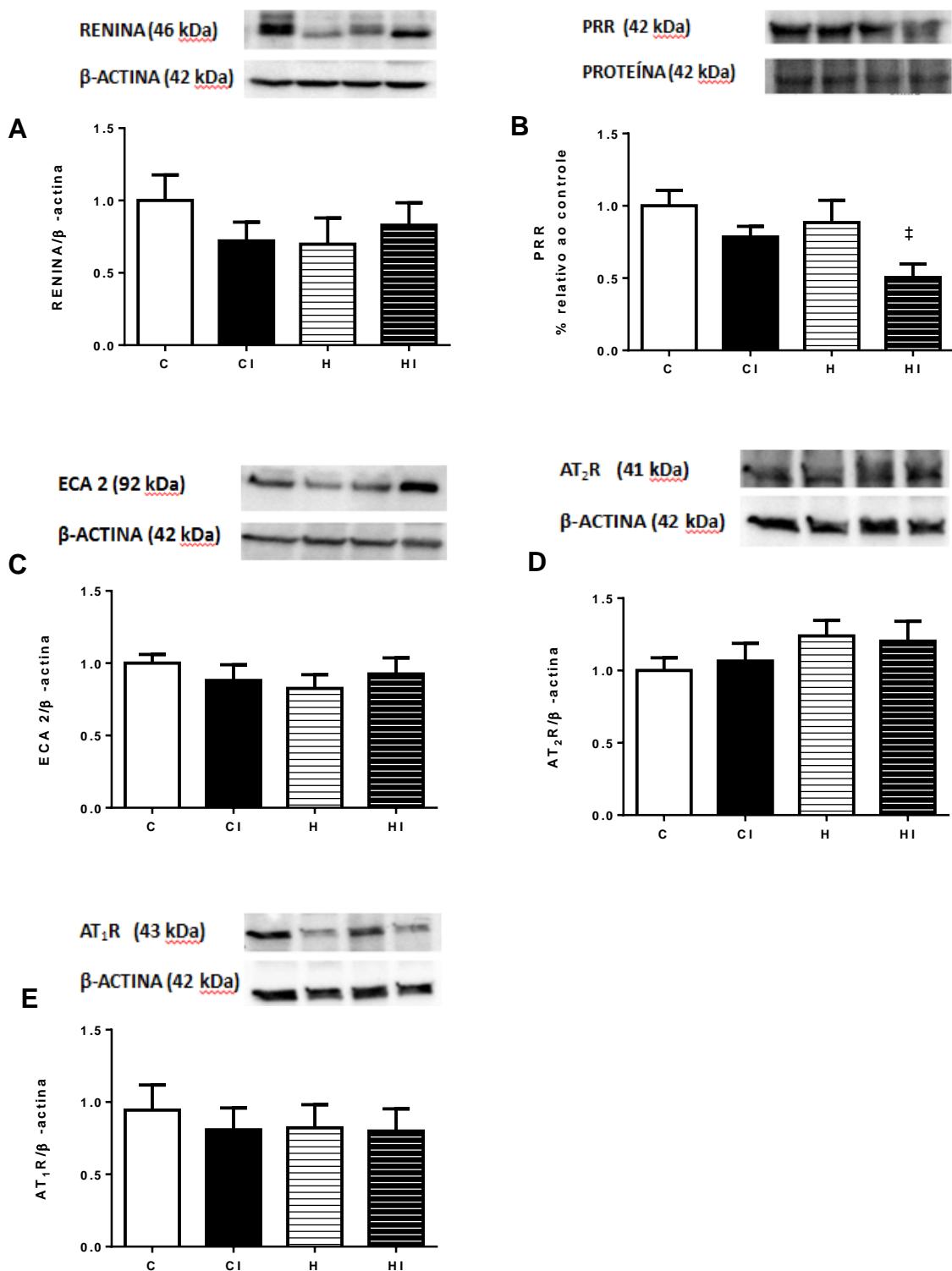


Figura 9. Componentes do SRA em rins de camundongos submetidos à dieta hiperlipídica e infectados com *Schistosoma mansoni*. (A) Renina; (B) Receptor de pró-renina (PRR); (C) Enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2); (D) Receptor de Ang II do tipo 2 (AT₂R). (E) Receptor de Ang II do tipo 1 (AT₁R). Os grupos são descritos na Figura 5. Para cada proteína foram realizados 8 – 10 ensaios em cada grupo. Os resultados estão expressos como média \pm EPM. P < 0,05: ‡ efeito da

superposição dieta + infecção (ANOVA one-way seguida do teste de Bonferroni). Acima de cada gráfico de barra é apresentado uma imagem representativa do respectivo imunoblotting.

4.6 Níveis de ânion superóxido no rim

Os níveis basais de ânion superóxido apresentaram-se aumentados ($P < 0,05$) no grupo HI quando comparados ao grupo C (Figura 10A). No entanto, a produção de ânion superóxido dependente da NADPH oxidase (Figura 10B), no rim, não se apresentou alterada em nenhum dos grupos ($P > 0,05$).

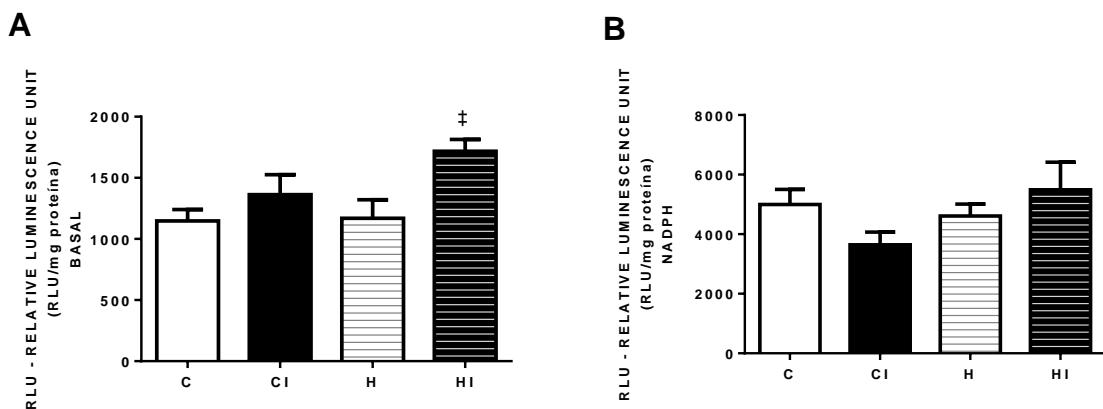


Figura 10. RLU - Relative luminescence unit (RLU/mg proteína) Basal e NADPH. Produção, basal (A) e dependente (B) da NADPH oxidase, de ânion superóxido em rins de camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica e infectados com *Schistosoma mansoni*. RLU = relative luminescence unit. Os grupos são descritos na Figura 5. N = 8 -10 ensaios para cada grupo. Os resultados estão expressos como média \pm EPM. $P < 0,05$: ‡ efeito da superposição dieta + infecção (ANOVA two-way seguida do teste de Bonferroni).

5 DISCUSSÃO

Do nosso conhecimento não há estudos investigativos se a obesidade acentua o processo inflamatório produzido pelo *S. mansoni* no rim de camundongos, especialmente no que diz respeito aos componentes do SRA. Neste trabalho, camundongos foram tratados com DH para indução de obesidade e em seguida foram infectados com cercárias de *S. mansoni*. A investigação do estresse oxidativo, um dos parâmetros do processo inflamatório, e da presença de componentes do SRA foram realizadas na fase aguda da infecção esquistossômica, ou seja, com 60 dias.

O alto peso corpóreo ao longo da avaliação é um claro determinante do efeito da dieta hiperlipídica (Fig.7A). O excesso de peso induzido pela dieta causa diminuição do gasto de energia associado a uma baixa sensibilidade à leptina o que poderia explicar os presentes resultados de ganho de massa corporal (DUAN et al., 2013). Este é um modelo experimental de obesidade exógena que se assemelha à obesidade humana, pois foi oferecido ao animal um maior aporte calórico, através de uma sobrecarga de gordura (CESARETTI; KOHLMANN JUNIOR, 2006). Por outro lado, a presença de ovos nas fezes, aliada a presença de vermes adultos no leito mesentérico (Tabela 2) são determinantes da efetividade da infecção. O maior número de ovos no grupo HI corrobora com os estudos de Neves (2007) e Alencar (2009), onde ratos alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram aumento significativo da produção de ovos durante a fase aguda (NEVES et al, 2007a) e crônica da infecção com esquistossomose, quando comparados a ratos com dieta controle (ALENCAR et al, 2009). No conjunto, o alto peso corpóreo e a presença de vermes validam o modelo experimental proposto.

O aumento de peso no grupo CI (Fig.7B) pode ser devido às prováveis hepatomegalia e esplenomegalia que se desenvolveu em resposta à infecção, pois é sabido que camundongos CBA/J infectados com 45 cercárias aumentaram em até 2 vezes o fígado e em aproximadamente 3 vezes o baço, após 20 semanas de infecção (MANIVANNAN et al., 2012). Em contrapartida, os animais que receberam dieta hiperlipídica e foram infectados com *S. mansoni* apresentaram diminuição do ganho de peso, e isso pode ser devido ao aumento da taxa metabólica no

hospedeiro para suprir as suas necessidades. Corroborando com o presente estudo, dados prévios mostraram que a infecção provocou uma severa perda de peso no hospedeiro (JUNAID et al., 2017).

A glicemia reduzida nos grupos CI e HI (Fig.8A) reproduz dados de outro estudo no qual se investigou o impacto da infecção do *S. mansoni* por 12 semanas (HUSSAARTS et al., 2015). Estas evidências de diminuição da glicemia indicam, conforme Bueding (1950), que os esquistossomos dependem da utilização dos carboidratos como fonte de energia (BUEDING, 1950). Segundo este autor os vermes utilizam, por hora, uma quantidade de glicose equivalente a 1/5 do seu peso. A captação de glicose dos parasitas se dá através de transportadores de glicose dos tipos Glut 1 e Glut 4, SGTP1 e SGTP4, os quais se assemelham aos transportadores do hospedeiro (CABEZAS-CRUZ et al., 2015).

As fêmeas maduras produzem cerca de 300 ovos por dia e requerem um alto aporte de glicose (RUMJANEK; CALDAS; GAZZINELLI, 2008). Além do mais, a glicose e outros nutrientes do hospedeiro podem desempenhar papéis fundamentais na formação da dupla camada lipídica da superfície do tegumento do verme após a transformação das cercárias (SKELLY; SHOEMAKER, 2000). Assim, a glicemia no hospedeiro é diminuída. Apesar dos vermes adultos possuírem um tubo digestivo, a entrada de pequenas moléculas, como monossacarídeos e aminoácidos, se dá por via transtegumentar. Não há, entretanto, um transporte ativo de glicose pelos esquistossomos. O transporte da glicose através da dupla camada lipídica dos vermes adultos ocorre por difusão facilitada mediado por transportadores de glicose (CORNFORD et al., 1988).

Um estudo recente sugere que os transportadores de glicose da classe I do *S. mansoni* perderam sua capacidade de transportar esse monossacarídeo e que esta função evoluiu independente no transportador de glicose específico de Platelmintos, concluindo que esses transportadores podem ser alvo para elaboração de drogas contra a esquistossomose (CABEZAS-CRUZ et al., 2015). Noutro estudo, há a sugestão de que o bloqueio da absorção da glicose pode representar uma estratégia atraente para desenvolver drogas capazes de produzir fome, deficiência de suprimento de energia e mortalidade em vermes parasitas (YOU et al., 2014).

Há evidências de que os esquistossomas estão intimamente associados à modulação do metabolismo lipídico (DE BARROS ALENCAR et al., 2009; TALLIMA; EL RIDI, 2005). Estes estudos indicam que o colesterol da corrente sanguínea do hospedeiro é usado para funções biológicas (NEVES et al., 2006; STANLEY et al., 2009), e que a gordura favorece o desenvolvimento de vermes adultos (NEVES et al., 2007a). Os esquistossomas não sintetizam colesterol (MEYER; MEYER; BUEDING, 1970), mas requerem colesterol para o crescimento e para a produção de grandes números de ovos (TEMPONE; BIANCONI; RUMJANEK, 1997). A infecção por esquistossomas é contrária aos efeitos de uma dieta aterogênica e modulam o metabolismo lipídico do hospedeiro induzindo redução no colesterol total no sangue (DOENHOFF et al., 2002). No entanto, no presente estudo, o grupo HI apresentou níveis de colesterol mais elevados do que o grupo CI (Fig. 8B), o que indica que aparentemente os vermes não utilizaram o colesterol do hospedeiro. Pode-se cogitar que seja pelo fato de tratar-se ainda da fase aguda da infecção. Por outro lado, embora apresentando tendência a estar elevado o colesterol no grupo H não foi mais elevado do que no grupo C, no entanto há estudos demonstrando que uma dieta rica em gordura provocou níveis mais altos de colesterol no plasma, quando comparados com animais alimentados com dieta controle (GALLOWAY et al., 2008; STANLEY et al., 2009; DE BARROS ALENCAR et al., 2012).

O HDL apresenta propriedades antioxidantes, antitrombótica e anti-inflamatória. Sua natureza anti-inflamatória pode diminuir a expressão de moléculas de adesão no endotélio vascular, aumentando a produção da síntese de óxido nítrico endotelial e reduzindo a expressão de monócitos (MURPHY et al., 2012; DE NARDO et al., 2014). Os níveis séricos de HDL foram significativamente mais elevados no grupo H do que no grupo C (Fig.8C). Este é um perfil já relatado em outro estudo (NEVES et al., 2007b). A infecção com *S. mansoni* diminuiu significativamente os níveis séricos de HDL nos grupos CI e HI (Fig.8C). Os efeitos da infecção e inflamação do metabolismo no hospedeiro são diversos. Embora a resposta de fase aguda diminua o HDL (KHOVIDHUNKIT et al., 2004; HAAS; MOORADIAN, 2010), as mudanças mais profundas são na estrutura e composição, que transformam o HDL de partículas anti-inflamatórias para pró-inflamatórias (NATARAJAN; RAY; CANNON, 2010; BINDU G; RAO; KAKKAR, 2011; SPEER et al., 2013). Tais

alterações patológicas ainda não foram estudadas em esquistossomose hepatoesplênica, embora a inflamação crônica seja conhecida por prejudicar o transporte reverso do colesterol e enfraquecer a capacidade antioxidante do HDL, diminuindo a capacidade de inibição da oxidação do LDL (SÄEMANN et al., 2010; DA FONSECA et al., 2014).

Quanto aos triglicerídeos, no presente estudo, sua concentração no grupo CI foi significativamente menor do que no grupo C, o que indica que a infecção teve influência na redução desse parâmetro (Fig. 8D). Em outros estudos já foi relatado que a infecção com *S. mansoni* reduz os níveis de triglicerídeos em roedores (LA FLAMME et al., 2007; STANLEY et al., 2009). Como também foi relatado em humanos 30% de redução nos triglicerídeos plasmáticos em pacientes com esquistossomose (DA FONSECA et al., 2014). Ratos infectados com *S. mansoni* apresentam redução na expressão hepática de acetilcoenzima A aciltransferase, uma enzima envolvida no metabolismo de ácidos graxos (HARVIE; JORDAN; LA FLAMME, 2007). No entanto, os mecanismos que levam a redução dos triglicerídeos plasmáticos no hospedeiro ainda são incertos.

No que diz respeito ao SRA, a expressão de PRR diminuída no rim dos animais obesos infectados ainda não parece claro (Fig. 9B). Enquanto existem determinações de que a ligação de pró-renina e renina ao PRR medeiam vias intracelulares mitogênicas que induzem hipertrofia celular e fibrose renal (MOILANEN et al., 2012; ROSENDALH et al., 2014), há também determinações em contrário. Na fibrose da nefropatia IgA, a densidade de PRR nos túbulos circunvizinhos apresenta-se diminuída, o que sugere aos autores do estudo se tratar de uma diminuição compensatória (MIYAZAKI et al., 2014). No presente estudo não podemos descartar a possibilidade de que a expressão de PRR esteja diminuída pelo fato de haver agentes inflamatórios aumentados no rim. Os demais componentes do SRA não se apresentaram alterados, possivelmente devido ao papel cardioprotetor peculiar do estradiol que tem ação antioxidante (MELAMED et al., 2011). Um estudo com crianças escolares, com idade entre 8 e 12 anos, para observar possível lesão renal, mostrou que a atividade da renina não foi maior em crianças infectadas com schistosoma quando comparadas as crianças não infectadas (BELL et al., 1973).

A produção basal de ânion superóxido no rim (Fig.10A) apresentou-se mais elevada no grupo HI do que no grupo C. No entanto a produção de ânion superóxido dependente de NADPH oxidase não se apresentou alterada entre os grupos. A produção basal de ânion superóxido é um indicador do estresse oxidativo produzido por diferentes vias (CLAVREUL et al., 2011). Quando na presença de NADPH, é um indicador da atividade da NADPH oxidase (PAGANO et al., 1995). Embora a produção de ânion superóxido dependente da NADPH oxidase (Fig.10B), tenha se apresentado mais do que o dobro da produção basal deste elemento, os quatro grupos estudos apresentaram o mesmo perfil de produção. O estresse oxidativo aumentado nos vasos e em tecidos promove disfunção vascular que exerce importante papel na fisiopatologia de doenças cardiovasculares (SIMPLICIO et al., 2016). Portanto, o grupo HI, em condição basal apresentou estresse oxidativo elevado. Transpondo para humanos, o acumulativo entre infecção e obesidade exógena podem evoluir para doenças cardiovasculares.

O êxito do parasitismo resulta das adaptações produzidas no metabolismo do parasita para que ele possa utilizar os nutrientes oferecidos pelo hospedeiro. O que nos faz acreditar que as consequências do consumo de uma dieta hiperlipídica são mais prejudiciais quando associada com infecção de *S. mansoni*.

De modo geral, essas observações sugerem que a infecção pela esquistossomose em camundongos alimentados com dietas com alto teor de gordura pode ser uma ferramenta útil para estimar as consequências para as populações humanas que vivem em áreas onde existem ambas as morbidades.

6 CONCLUSÕES

A dieta hiperlipídica em conjunto com a infecção por *S. mansoni*, na fase aguda, levaram a uma redução renal dos receptores de pró-renina. Estudos posteriores são necessários para conhecer as consequências desta redução. Os níveis basais elevados de ânion superóxido no rim, produzidos independentemente da NADPH oxidase e dos componentes do SRA, indicam que outros fatores inflamatórios do conjunto dieta hiperlipídica e infecção podem piorar o prognóstico de doenças cardio-renais.

REFERÊNCIAS

- ABESO. Diretrizes brasileiras de obesidade 2016/ABESO. **Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica.** 4.ed. - São Paulo, SP., p. 1–188, 2016.
- ABESO. Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009-2010. **Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica.** 3^a ed. 2009
- AIRES, M. DE M.; BARRETO-CHAVES, M. L. M. **Fisiologia.** 4^a ed. Rio de Janeiro, 2012.
- ALDOSARI, S.; AWAD, M.; HARRINGTON, E.O.; SELLKE, F.W.; ABID, M.R. Review Subcellular Reactive Oxygen Species (ROS) in Cardiovascular Pathophysiology. **Antioxidants**, v. 7, n.1, p. 14, 2018.
- ALENCAR, A.C.M.B. et al. High fat diet has a prominent effect upon the course of chronic schistosomiasis mansoni in mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 608–613, 2009.
- BANAKOU, E.; DAILIANIS, S. Involvement of Na⁺/H⁺ exchanger and respiratory burst enzymes NADPH oxidase and NO synthase, in Cd-induced lipid peroxidation and DNA damage in haemocytes of mussels. **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 152, n. 3, p. 346–352, 2010.
- BARSOUM, R. The changing face of schistosomal glomerulopathy. **Kidney International**, v. 66, n. 6, p. 2472–2484, 2004.
- BARSOUM, R. S. Urinary Schistosomiasis: Review. **Journal of Advanced Research**, v. 4, p. 453–459, 2013.
- BASHIR, S. et al. Amelioration of obesity-associated inflammation and insulin resistance in c57bl/6 mice via macrophage polarization by fish oil supplementation. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 33, p. 82–90, 2016.
- BELL, R. M. S. et al. The effects of endemic schistosomiasis and of hycanthone on the mental ability of african school children. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, n. 5, p. 694–701, 1973.

BINDU G, H.; RAO, V. S.; KAKKAR, V. V. Friend turns foe: Transformation of anti-inflammatory hdl to proinflammatory HDL during acute-phase response. v. 2011, p.7, **Cholesterol**, 2011.

BRADFORD, C. N.; ELY, D. R.; RAIZADA, M. K. Targeting the vasoprotective axis of the renin-angiotensin system: A novel strategic approach to pulmonary hypertensive therapy. **Current Hypertension Reports**, v. 12, n. 4, 2010.

BRASIL. Controle da esquistossomose: diretrizes técnicas. **Fundação Nacional de Saúde**, 2^a ed. p.70, 1998.

BRASIL. Vigilancia da Esquistossomose Manson - Diretrizes técnicas. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 4. ed. – Brasília : **Ministério da Saúde**, p. 144, 2014.

BRASIL. Guia prático para operacionalização da Campanha Nacional de Hanseníase, Verminoses, Tracoma e Esquistossomose 2016. **Ministério da Saúde**, p. 50, 2016.

BUEDING, E. Carbohydrate metabolism of schistosoma mansoni. **The Journal of General Physiology**, v. 33, n. 5, p. 475–95, 1950.

BULLO, M. et al. Systemic Inflammation , Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor , and Leptin Expression. **Obesity Research.**, v. 11, n. 4, p. 525–531, 2003.

CABEZAS-CRUZ, A. et al. Fast evolutionary rates associated with functional loss in class I glucose transporters of Schistosoma mansoni. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 980, 2015.

CAMERON, A. J.; SHAW, J. E.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome: Prevalence in worldwide populations. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 33, n. 2, p. 351-75, 2004.

CAMPBELL, D. J. Critical review of prorenin and (pro)renin receptor research. **Hypertension**, v. 51, p. 1259-1264, 2008.

CAT, A. N. D.; TOUYZ, R. M. Cell signaling of angiotensin II on vascular tone: Novel

- mechanisms. **Current Hypertension Reports**, v. 13, n. 2, p. 122-128, 2011.
- CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN JUNIOR, O. [Experimental models of insulin resistance and obesity: lessons learned]. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 190–7, 2006.
- CHANG, H. P. et al. Antiobesity activities of indole-3-carbinol in high-fat-diet-induced obese mice. **Nutrition**, v. 27, n. 4, p. 463–470, 2011.
- CHAPPELL, M. C. Nonclassical Renin-Angiotensin System and Renal Function. In: **Comprehensive Physiology**. v. 2, n. 4, p. 2733–2752, 2012.
- CHAPPELL, M. C. Biochemical evaluation of the renin-angiotensin system: the good, bad, and absolute? **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 310, n. 2, p. H137–H152, 2016.
- CHEEVER, A. W.; HOFFMANN, K. F.; WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunology Today**, v. 21, n. 9, p. 465-6, 2000.
- CLAVREUL, N. et al. (Pro)renin promotes fibrosis gene expression in HEK cells through a Nox4-dependent mechanism. **American Journal Physiology-Renal Physiology**, v. 300, n. 6, p. F1310-8, 2011.
- CORNFORD, E. M. et al. Tegumental glucose permeability in male and female *Schistosoma mansoni*. **The Journal of Parasitology**, v. 74, n. 1, p. 116–128, 1988.
- D'ELIA, J. A. et al. Manifestation of renal disease in obesity: Pathophysiology of obesity-related dysfunction of the kidney. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, v. 2, p.39- 49, 2009.
- DA FONSECA, C. S. M. et al. Human plasma lipid modulation in schistosomiasis mansoni depends on apolipoprotein E polymorphism. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 7, 2014.
- DANSER, A. H. J. et al. Renin, prorenin, and immunoreactive renin in vitreous fluid from eyes with and without diabetic retinopathy. **Journal of Clinical Endocrinology**

and Metabolism, v. 68, n. 1, p. 160–167, 1989.

DE BARROS ALENCAR, A. C. M. et al. High fat diet has a prominent effect upon the course of chronic schistosomiasis mansoni in mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 4, p. 608–613, 2009.

DE BARROS ALENCAR, A. C. M. et al. Changes in the small intestine of *Schistosoma mansoni*-infected mice fed a high-fat diet. **Parasitology**, v. 139, n. 6, p. 716–725, 2012.

DE NARDO, D. et al. High density lipoprotein mediates anti-inflammatory transcriptional reprogramming of macrophages via the transcriptional repressor ATF3. **Nature immunology**, v. 15, n. 2, p. 152–160, 2014.

DIKALOV, S. I.; DIKALOVA, A. E. Contribution of mitochondrial oxidative stress to hypertension. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 25, n. 2, p. 73–80, 2016.

DOENHOFF, M. J. et al. An anti-atherogenic effect of *Schistosoma mansoni* infections in mice associated with a parasite-induced lowering of blood total cholesterol. **Parasitology**, v. 125, n. Pt 5, p. 415–421, 2002.

DUAN, X. F. et al. Obesity, adipokines and hepatocellular carcinoma. **International Journal of Cancer**, v. 133, n. 8, p. 1776–83, 2013.

DUNI, A.; LIAKOPOULOS, V.; RAPSOMANIKIS, K.P.; DOUNOUSI, E. Chronic Kidney Disease and Disproportionally Increased Cardiovascular Damage: Does Oxidative Stress Explain the Burden? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 15, 2017.

ESPINOZA, R. et al. Effect of Obese Living Donors on the Outcome and Metabolic Features in Recipients of Kidney Transplantation. **Transplantation Proceedings**, v. 38, n. 3, p. 888–889, 2006.

FERREIRA, S. R. G.; ZANELLA, M. T. Sistema renina-angiotensina-aldosterona e nefropatia diabética. **Revista Brasileira de Hipertensão**. v. 7, n. 3, 2000.

FLACHS, P. et al. Cellular and molecular effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on adipose tissue biology and metabolism. **Clinical Science**, v. 116, n. 1, p. 1–16, 2009.

FYHRQUIST, F.; SAIJONMAA, O. Renin-angiotensin system revisited. **Journal of Internal Medicine**, v. 264, n. 3, p. 224–36, 2008.

GALLOWAY, S. et al. Synergistic effects of high fat feeding and apolipoprotein E deletion on enterocytic amyloid-beta abundance. **Lipids in Health and Disease**, v. 7, p. 15, 2008.

GIACCHETTI, G. et al. Overexpression of the renin-angiotensin system in human visceral adipose tissue in normal and overweight subjects. **American Journal of Hypertension**, v. 15, n. 5, p. 381–388, 2002.

GIESTAS, A.; PALMA, I.; RAMOS, M. H. Sistema renina-angiotensina-aldosterona: E sua modulação farmacológica. **Acta Medica Portuguesa**, v. 23, n 4, p. 677-688, 2010.

HAAS, M. J.; MOORADIAN, A. D. Regulation of high-density lipoprotein by inflammatory cytokines: Establishing links between immune dysfunction and cardiovascular disease. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 26, n. 2, p. 90-99, 2010.

HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Guyton & Hall Tratado de Fisiologia Médica**. 12^a ed. p. 1128, 2011.

HAMADA, K. et al. Serum level of soluble (pro)renin receptor is modulated in chronic kidney disease. **Clinical and Experimental Nephrology**, v. 17, n. 6, p. 848–856, 2013.

HARVIE, M.; JORDAN, T. W.; LA FLAMME, A. C. Differential liver protein expression during schistosomiasis. **Infection and Immunity**, v. 75, n. 2, p. 736–744, 2007.

HSUEH, W. A; BAXTER, J. D. Human prorenin. **Hypertension**, v. 17, n. 4, p. 469–77, 1991.

- HUSSAARTS, L. et al. Chronic helminth infection and helminth-derived egg antigens promote adipose tissue M2 macrophages and improve insulin sensitivity in obese mice. **FASEB Journal**, v. 29, n. 7, p. 3027–3039, 2015.
- ICHIHARA, A. et al. Contribution of nonproteolytically activated prorenin in glomeruli to hypertensive renal damage. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 17, n. 9, p. 2495–503, 2006.
- JEUNEMAITRE, X. et al. Molecular basis of human hypertension: Role of angiotensinogen. **Cell**, v. 71, n. 1, p. 169–180, 1992.
- JUNAID, Q. O. et al. Pathogenesis of *Plasmodium berghei* ANKA infection in the gerbil (*Meriones unguiculatus*) as an experimental model for severe malaria. **Parasite (Paris, France)**, v. 24, p. 38, 2017.
- KALUPAHANA, N. S.; MOUSTAID-MOUSSA, N. The renin-angiotensin system: a link between obesity, inflammation and insulin resistance. **Obesity Reviews**, v. 13, n. 2, p. 136–149, 2012.
- KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, Xistosa, Barriga D’Água. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 1, p. 38–41, 2003.
- KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 14, n. 6, p. 397–400, 1972.
- KHOVIDHUNKIT, W. et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. **Journal of Lipid Research**, v. 45, n. 7, p. 1169–1196, 2004.
- KOTSIDIS, V. et al. Mechanisms of obesity-induced hypertension. **Hypertension Research**, v. 33, n. 5, p. 386–393, 2010.
- KOVESDY, C. P.; FURTH, S.; ZOCCALI, C. Obesity and kidney disease: Hidden consequences of the epidemic. **Brunei International Medical Journal**, v. 13, n. 1, p. 1–11, 2017.

KREBS, C. et al. Antihypertensive therapy upregulates renin and (pro)renin receptor in the clipped kidney of Goldblatt hypertensive rats. **Kidney international**, v. 72, n. 6, p. 725–30, 2007.

LA FLAMME, A. C. et al. Chronic exposure to schistosome eggs reduces serum cholesterol but has no effect on atherosclerotic lesion development. **Parasite Immunology**, v. 29, n. 5, p. 259–266, 2007.

LAHERA, V. et al. Endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation in atherosclerosis: beneficial effects of statins. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 2, p. 243–248, 2007.

LIRA, D. G. D. et al. Factors associated with glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes mellitus treated in university hospital, northeastern Brazil. **Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria**, v. 36, n. 2, p. 111–123, 2016.

LOPERENA, R.; HARRISON, D. G. Oxidative Stress and Hypertensive Diseases. **Medical Clinics of North America**, v. 101, n. 1, p. 169-193, 2017.

LUO, M. et al. Zinc delays the progression of obesity-related glomerulopathy in mice via down-regulating P38 MAPK-mediated inflammation. **Obesity**, v. 24, n. 6, p. 1244–1256, 2016.

MANIVANNAN, B. et al. Proteomic changes at 8 weeks after infection are associated with chronic liver pathology in experimental schistosomiasis. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 6, p. 1838–1848, 2012.

MASCALI, A. et al. Obesity and kidney disease: Beyond the hyperfiltration. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 29, n. 3, p. 354-63, 2016.

MELAMED, M. L. et al. Raloxifene, a selective estrogen receptor modulator, is renoprotective: A post-hoc analysis. **Kidney International**, v. 79, n. 2, p. 241–249, 2011.

MEYER, F.; MEYER, H.; BUEDING, E. Lipid metabolism in the parasitic and free-living flatworms, *Schistosoma mansoni* and *Dugesia dorotocephala*. **Biochimica et**

Biophysica Acta (BBA)/Lipids and Lipid Metabolism, v. 210, n. 2, p. 257–266, 1970.

MIYAZAKI, N. et al. Expression of prorenin receptor in renal biopsies from patients with IgA nephropathy. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 7, n. 11, 2014.

MOHAMED-ALI, Q. et al. Susceptibility to Periportal (Symmers) Fibrosis in Human *Schistosoma mansoni* Infections: Evidence That Intensity and Duration of Infection, Gender, and Inherited Factors Are Critical in Disease Progression. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 180, n. 4, p. 1298–1306, 1999.

MOILANEN, A. M. et al. (Pro)renin receptor triggers distinct angiotensin ii-independent extracellular matrix remodeling and deterioration of cardiac function. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, 2012.

MONTEZANO, A. C. et al. Angiotensin II and vascular injury. **Current Hypertension Reports**, v. 16, n. 6, p. 431, 2014.

MURPHY, A. J. et al. Anti-atherogenic mechanisms of high density lipoprotein: effects on myeloid cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1821, n. 3, p. 513–21, 2012.

NASRALLAH, M. M. et al. Cryoglobulinaemic vasculitis and glomerulonephritis associated with schistosomiasis: A case study. **Eastern Mediterranean Health Journal**, v. 21, n. 5, p. 354–358, 2015.

NATARAJAN, P.; RAY, K. K.; CANNON, C. P. High-Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. **Current and Future TherapiesJournal of the American College of Cardiology**, v. 55, n 13, p. 1283-99, 2010.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) EXPERT PANEL ON DETECTION EVALUATION AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (ADULT TREATMENT PANEL III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report.

Circulation, v. 106, n. 25, p. 3143–3421, 2002.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 39, n. 2 Suppl 1, p. S1–S266, 2002.

NEVES, R. H. et al. Hepatic stereology of schistosomiasis mansoni infected-mice fed a high-fat diet. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**. 101 Suppl 1:253-60, 2006

NEVES, R. H. et al. Light and confocal microscopic observations of adult *Schistosoma mansoni* from mice fed on a high-fat diet. **Journal of Helminthology**, v. 81, n. 4, p. 361–368, 2007a.

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

NGUYEN, G. et al. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. **Journal of Clinical Investigation**, v. 109, n. 11, p. 1417–1427, 2002.

NGUYEN, G. Renin/prorenin receptors. **Kidney international**, v. 69, n. 9, p. 1503–6, 2006.

NIELSEN, S. et al. Vascular Response to Angiotensin II in Upper Body Obesity. **Hypertension**, v. 44, n. 4, p. 435–441, 2004.

ODEGAARD, A. O. et al. Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes. **Cardiovascular Diabetology**, v. 15, n. 1, p. 51, 2016.

OLIVIER, L.; STIREWALT, M. A. An efficient method for exposure of mice to cercariae of *Schistosoma mansoni*. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 19–23, 1952.

OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 2, p. 85–97, 2011.

PAGANO, P. J. et al. An NADPH oxidase superoxide-generating system in the rabbit aorta. **The American Journal of Physiology**, v. 268, n. 6 Pt 2, p. H2274–H2280, 1995.

PAIXAO, A. D. et al. Age-dependent hypertension and renal sodium handling in the female intrauterine growth restricted rat. **The FASEB Journal**, v. 27, 2013.

PAUL, M. Physiology of Local Renin-Angiotensin Systems. **Physiological Reviews**, v. 86, n. 3, p. 747–803, 2006.

PAULA, R. B. et al. Obesidade e Doença Renal Crônica. **Jornal Brasileiro De Nefrologia**, v. 28, p. 158–164, 2006.

PEARCE, E. J. Priming of the immune response by schistosome eggs. **Parasite Immunology**, v. 27, n. 7-8, p. 265-70, 2005.

ROSENDALH, A. et al. Increased expression of (pro)renin receptor does not cause hypertension or cardiac and renal fibrosis in mice. **Laboratory Investigation**, 94, n. 8, p. 863–72, 2014.

RUFFER, M. A. Note on the Presence of “Bilharzia Haematobia” in Egyptian Mummies of the Twentieth Dynasty [1250-1000 B.C.]. **British Medical Journal**, v. 1, n. 2557, p. 16, 1910.

RUMJANEK, F.; CALDAS, I.; GAZZINELLI, G. Bioquímica de Schistosoma mansoni. **FIOCRUZ**, p. 161 - 205, 2008.

SÄEMANN, M. D. et al. The versatility of HDL: A crucial anti-inflammatory regulator. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 40, n. 12, p. 1131-43, 2010.

SCHAFER, F.Q; BUETTNER, G.R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology & Medicine**. Jun 1;30(11):1191-212, 2001.

SCHEFE, J. H. et al. A novel signal transduction cascade involving direct physical interaction of the renin/prorenin receptor with the transcription factor promyelocytic

zinc finger protein. **Circulation Research**, v. 99, n. 12, p. 1355–1366, 2006.

SIMPLICIO, J. A. et al. Acute Ethanol Intake Induces NAD(P)H Oxidase Activation and Rhoa Translocation in Resistance Arteries. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 5, p. 427–436, 2016.

SIQUEIRA-BATISTA, R. et al. **Esquistosomose mansoni.**, 1998.

SKELLY, P. J.; SHOEMAKER, C. B. Induction cues for tegument formation during the transformation of *Schistosoma mansoni* cercariae. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 5, p. 625–631, 2000.

SOUZA, V. et al. NADPH oxidase and ERK1/2 are involved in cadmium induced-STAT3 activation in HepG2 cells. **Toxicology Letters**, v. 187, n. 3, p. 180–186, 2009.

SPEER, T. et al. Abnormal high-density lipoprotein induces endothelial dysfunction via activation of toll-like receptor-2. **Immunity**, v. 38, n. 4, p. 754–768, 2013.

STANDEN, O. D. The effects of temperature, light and salinity upon the hatching of the ova of *schistosoma mansoni*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 45, n. 2, p. 225–241, 1951.

STANLEY, R. G. et al. Effects of *Schistosoma mansoni* worms and eggs on circulating cholesterol and liver lipids in mice. **Atherosclerosis**, v. 207, n. 1, p. 131–138, 2009.

TALLIMA, H.; EL RIDI, R. Methyl-beta-cyclodextrin treatment and filipin staining reveal the role of cholesterol in surface membrane antigen sequestration of *Schistosoma mansoni* and *S-haematobium* lung-stage larvae. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 3, p. 720–725, 2005.

TEMPONE, A. J.; BIANCONI, M. L.; RUMJANEK, F. D. The interaction of human LDL with the tegument of adult *Schistosoma mansoni*. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 177, n. 1–2, p. 139–144, 1997.

TRAYHURN, P. Adipocyte biology. **Obesity Review**, v. 8, p. 41–44, 2007.

TSUTSUI, H.; KINUGAWA, S.; MATSUSHIMA, S. Oxidative stress and heart failure. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 301, n. 6, p. H2181-90, 2011.

WANG, Y.; BEYDOUN, M. A. The obesity epidemic in the United States - Gender, age, socioeconomic, racial/ethnic, and geographic characteristics: A systematic review and meta-regression analysis. **Epidemiologic Reviews**, v. 29, p. 6-28, 2007.

WANG, Z.; NAKAYAMA, T. Inflammation, a link between obesity and cardiovascular disease. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, p. 17, 2010.

WATANABE, N. et al. Soluble (pro)renin receptor and blood pressure during pregnancy: A prospective cohort study. **Hypertension**, v. 60, n. 5, p. 1250–1256, 2012.

WEINSTOCK, J. V.; KASSAB, J. T. Angiotensin II stimulation of granuloma macrophage phagocytosis and actin polymerization in murine schistosomiasis mansoni. **Cellular Immunology**, v. 89, n. 1, p. 46–54, 1984.

WHITE, P. et al. Model of high-fat diet-induced obesity associated to insulin resistance and glucose intolerance. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 57, n. 5, p. 339–45, 2013.

WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. **World Health Organization Technical Report Series**, 1995.

WHO. Global status report on noncommunicable diseases 2014. **World Health**, p. 176, 2014.

WILLIAMS, K. J.; TABAS, I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced. **Current Opinion in Lipidology**, v. 9, n. 5, p. 471–474, 1998.

WILLIAMS, K. J.; TABAS, I. Lipoprotein retention- and clues for atheroma regression. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 2005, n. 25, p. 1536-1540, 2005.

WU, C. H. et al. Adipocyte (Pro)Renin-Receptor Deficiency Induces Lipodystrophy,

Liver Steatosis and Increases Blood Pressure in Male Mice. **Hypertension**, v. 68, n. 1, p. 213–219, 2016.

XU, Y. et al. The anti-obesity effect of green tea polysaccharides, polyphenols and caffeine in rats fed with a high-fat diet. **Food & Function**, v. 6, n. 1, p. 296–303, 2015.

YOU, H. et al. Revisiting glucose uptake and metabolism in schistosomes: New molecular insights for improved schistosomiasis therapies. **Frontiers in Genetics**, v. 5, Article 176, 2014.

ZHANG, C. et al. Coronary arteriolar vasoconstriction to angiotensin II is augmented in prediabetic metabolic syndrome via activation of AT₁ receptors. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 5, p. H2154-62, 2005.

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Recife, 07 de abril de 2015

Carta – Resposta

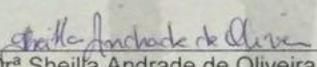
Projeto nº 65/2014

Ao pesquisador (a): Fábio André Brayner dos Santos

Informo que o projeto, *Infecção crônica pelo Schistosoma mansoni associada à obesidade: Resposta Imune e patologia hepática em camundongos BALB/c*, proposto por V.S. teve as suas respostas às pendências avaliadas pelos pareceristas e foi aprovado pela CEUA/CPqAM em 30/03/2015.

Dessa forma, segue, anexo o respectivo Certificado de Aprovação expedido pela Secretaria da CEUA/CPqAM..

Cordialmente


Drª Sheilla Andrade de Oliveira
Coordenadora CEUA/CPqAM