



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

MESTRADO ACADÊMICO

**PERFIL LIPIDÔMICO DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO *SCHISTOSOMA*
*MANSONI***

THAINÁ RODRIGUES DE SOUZA FIALHO

Salvador - BA

2022

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

INSTITUTO GONÇALO MONIZ

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

**PERFIL LIPIDÔMICO DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO *SCHISTOSOMA*
*MANSONI***

THAINÁ RODRIGUES DE SOUZA FIALHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Saúde e Medicina Investigativa do Instituto Gonçalo Moniz (IGM) para a obtenção do grau de Mestra.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Queiroz Silva

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Riccio Oliveira

Salvador - BA

2022

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz/ FIOCRUZ – Bahia - Salvador

F439p Fialho, Thainá Rodrigues de Souza

Perfil lipídômico de indivíduos infectados *pelo Schistosoma
Mansoni*. / Thainá Rodrigues de Souza Fialho. _ Salvador, 2022.

63 f.: il.: 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Adriano Queiroz Silva
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Riccio Oliveira

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina
Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz,
Salvador, 2022.

1. Schistosoma mansoni. 2. Lipidômica. 3. Esquistossomose. 4.
Perfil Lipídico. I. Título.

616.995.122

“PERFIL LIPIDÔMICO DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO SCHISTOSOMA MANSONI”.

THAINÁ RODRIGUES DE SOUZA FIALHO

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 17 de novembro de 2022.

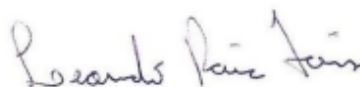
COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Theo de Araújo Santos
Professor
UFOB



Dra. Valéria de Mato Borges
Pesquisadora
IGM/FIOCRUZ



Dr. Leonardo Paiva Farias
Pesquisador
IGM/FIOCRUZ

FONTES DE FINANCIAMENTO

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001."

Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser compreensivo e tolerante e por não ter me permitido desistir.

Ao meu Orientador Dr. Adriano Queiroz pelo apoio e ao Dr. Ricardo Riccio, por todo incentivo, orientação e dedicação. Mesmo quando estive desestimulada ainda assim tinha palavras de incentivo. Obrigada pela oportunidade desde o princípio, tenho certeza de que não chegaria aqui sem seu apoio.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, que de alguma forma fizeram parte dessa caminhada. Vocês foram fundamentais para a realização desse trabalho. Sem vocês, eu não teria conseguido.

À Fiocruz pela oportunidade de realizar esse projeto.

À Dr. Carlos Sorgi, por ter aberto as portas e me fornecido suporte e conhecimento para a realização deste estudo.

Aos meus pais, deixo um agradecimento especial, por toda lição de amor, companheirismo, dedicação, compreensão que recebo todos os dias. Sou privilegiada de tê-los ao meu lado. E a meu irmão, por me motivar a escrever nos dias difíceis.

À CAPES pelo fomento, apoio financeiro e consolidação do programa de pós-graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa.

Todos aqueles que contribuíram, diretamente ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

FIALHO, Thainá Rodrigues de Souza. **Perfil lipidômico de indivíduos infectados pelo *Schistosoma Mansonii***. 2022. 63 f. il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2022.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A esquistossomose mansônica, é uma doença causada pelo parasito trematódeo digenético do gênero *Schistosoma*, que tem o homem como seu principal hospedeiro, no Brasil é causada pela espécie *Schistosoma mansoni*. A infecção por este parasito consiste em um problema de saúde pública, especialmente no Nordeste, estando associada à pobreza, às precárias condições sanitárias, falta de tratamento de água e esgoto, definido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das principais doenças tropicais negligenciadas. A parasitose apresenta duas fases, a fase aguda, no qual ocorre logo após a penetração da cercaria através da mucosa e da pele e a fase crônica, que evolui quando não tratada. O fígado é o principal órgão acometido, onde o verme adulto se reproduz e deposita os seus ovos, no qual ficam retidos nas vênulas hepáticas, acarretando uma inflamação granulomatosa local. Em decorrência das lesões hepáticas, estudos realizados em camundongos revelam alterações no metabolismo dos lipídios, porém estudos em humanos ainda são escassos, sendo necessário uma abordagem em larga escala para determinar as possíveis alterações lipídicas durante a esquistossomose. O estudo lipidômico do hospedeiro na esquistossomose ainda é escasso e, no caso específico do *S. mansoni*, totalmente ausente.

OBJETIVO: O objetivo desse estudo foi avaliar as alterações no perfil lipídico de indivíduos infectados pelo *Schistosoma mansoni* em uma área hiperendêmica em esquistossomose no estado da Bahia. **MATERIAS E MÉTODOS:** Foi realizado um estudo longitudinal e observacional, em vilarejos do Conde-Ba, no período de 2018 a 2019 e a partir desse estudo longitudinal que contém 340 participantes, realizamos um estudo de corte transversal, focado na análise lipidômica, no qual foi selecionado 45 participantes, através de um sorteio randômico. Em cada participante foram coletados uma amostra de fezes, para a execução do Kato-Katz e uma coleta de sangue para a avaliação lipidômica. Nas análises lipidômicas do soro, foram avaliadas alterações no perfil lipídico do soro de indivíduos infectados com alta e baixa carga em comparação ao grupo controle, contendo 15 indivíduos em cada grupo. **RESULTADOS:** Cerca de 340 indivíduos foram avaliados no qual 55,59% apresentavam ovos de *S. mansoni* em pelo menos uma das lâminas. Quando realizado as análises séricas desses indivíduos, foi possível observar que a carga parasitária do *S. mansoni* com a enzima GGT, demonstrou uma correlação positiva. As análises lipidômicas inicialmente mostraram fosfatidilcolina (PC), hexosilceramida (HexCer), ácidos graxos livres (FFA) como predominantes, mesmo não apresentando diferenças importantes entre os grupos de carga parasitária, entretanto quando aprofundamos as análises, as espécies das subclasses PI e TAG se destacaram em quantidade de espécies que se mostraram alterados no grupo de alta carga parasitaria comparado a baixa carga e negativo. **CONCLUSÕES:** A partir dos achados nesse estudo concluímos que a elevada a carga parasitária na esquistossomose está associada a alterações lipídicas importantes, possivelmente por conta de alteração no metabolismo lipídico decorrente da ação do verme. Estes dados podem contribuir para melhor entendimento da patologia observada durante a esquistossomose ou mesmo para identificação de um biomarcador de infecções graves.

Palavras-Chave: *Schistosoma mansoni*. Lipidômica; Esquistossomose. Perfil lipídico.

FIALHO, Thainá Rodrigues de Souza. **Lipidomic profile of individuals infected by *Schistosoma Mansonii***. 2022. 63 f. il. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2022.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Schistosomiasis is a disease caused by a digenetic trematode parasite of the *Schistosoma* genus, which has man as its main host; in Brazil, it is caused by the *Schistosoma mansoni* species. Infection by this parasite is a public health problem, especially in the Northeast, and is associated with poverty, poor sanitary conditions, and lack of water and sewage treatment, defined by the World Health Organization (WHO) as one of the main neglected tropical diseases. The parasitosis has two phases, the acute phase, which occurs soon after the penetration of cercariae through the mucosa and skin, and the chronic phase, which evolves when left untreated. The liver is the main affected organ, where the adult worm reproduces and lays its eggs, which are retained in the hepatic venules, leading to a local granulomatous inflammation. As a result of the hepatic lesions, studies in mice reveal alterations in lipid metabolism, but studies in humans are still scarce, and a large-scale approach is needed to determine possible lipid alterations during schistosomiasis. The lipidomic study of the host in schistosomiasis is still scarce and, in the specific case of *S. mansoni*, totally absent.

OBJECTIVE: The objective of this study was to evaluate changes in the lipid profile of individuals infected with *Schistosoma mansoni* in a schistosomiasis hyperendemic area in the state of Bahia. **MATERIALS AND METHODS:** A longitudinal and observational study was conducted in villages of Conde-Ba, in the period from 2018 to 2019 and from this longitudinal study that contains 340 participants, we conducted a cross-sectional study, focused on lipidomic analysis, in which 45 participants were selected, through a random draw. In each participant a stool sample was collected for the Kato-Katz test and a blood sample was collected for lipidomic analysis. In the serum lipidomic analyses, changes in the serum lipid profile of high and low load infected individuals were evaluated in comparison to the control group, containing 15 individuals in each group. **RESULTS:** About 340 individuals were evaluated, of which 55.59% had *S. mansoni* eggs on at least one slide. When the serum analyses of these individuals were performed, it was possible to observe that the parasite load of *S. mansoni* with the GGT enzyme showed a positive correlation. The lipidomic analysis initially showed phosphatidylcholine (PC), hexosylceramide (HexCer) and free fatty acids (FFA) as predominant, even though they did not show significant differences between the parasite load groups. However, when we furthered the analysis, the PI and TAG subclass species stood out in the number of species that were altered in the high parasite load group compared to the low and negative load groups. **CONCLUSIONS:** From the findings of this study, we conclude that high parasitic burden in schistosomiasis is associated with significant lipid alterations, possibly due to altered lipid metabolism resulting from the action of the worm. These data may contribute to a better understanding of the pathology observed during schistosomiasis or even to the identification of a biomarker for severe infections.

Keywords: *Schistosoma mansoni*; Lipidomics; Schistosomiasis; Lipid profile.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição geográfica da esquistossomose no mundo	16
Figura 2	Distribuição da esquistossomose segundo a média do percentual de positividade por município 2009 – 2020	17
Figura 3	Mapa do município do Conde-Ba, destacando os vilarejos estudados.	25
Figura 4	Fluxograma sobre os períodos de avaliação do projeto geral	26
Figura 5	Esquema representativo dos grupos definidos no estudo	27
Figura 6	Distribuição dos participantes de acordo com carga parasitária da infecção pelo <i>Schistosomamansoni</i>	34
Figura 7	Concentração das enzimas hepáticas TGO (A), TGP (B) e GGT (C) entre a distribuição de carga parasitaria no D0	34
Figura 8	. Correlação de <i>Spearman</i> entre a concentração das enzimas hepáticas TGO (A), TGP (B) e GGT(C) e carga parasitaria em indivíduos infectados pelo <i>S. mansoni</i> no D0	35
Figura 9	Concentração das dosagens bioquímicas COL (A), TRIG (B), HDL (C) e LDL (D) em relação a cada grupo do estudo no período D0	37
Figura 10	Abundância relativa das subclasses de lipídios, sendo eles Fosfolipídio (A, B e C), Esfingolipídios e Éster de colesterol (D, E e F) e Glicerídeos e Ácidos graxos (G.H e I)	38
Figura 11	Análise de PCA das classes de lipídios, sendo eles, Fosfolipídio (A), Esfingolipídio e colesterol éster (B) e Glicerídeos e Ácido graxo (C), mostrando a variação nos grupos do estudo	39
Figura 12	Diagrama de Venn com o número de espécies de lipídios cuja abundância variou significativamente nas análises de fold change, e entre os grupos de carga parasitaria. Os dados foram separados entre as espécies que se mostraram aumentados e diminuídos regulados	40
Figura 13	Mapa de calor das espécies de lipídios das classes fosfolipídios (A), esfingolipídios e éster de colesterol (B) e glicerídeos e ácidos graxos (C), no qual demonstraram mudanças significativas em análises do fold change quando comparadas entre os grupos de alta carga (vermelho), baixa carga (verde) e negativos (azul)	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características gerais e socioeconômica da população	32
Tabela 2	Presença de helmintos nos residentes em área endêmica em esquistossomose Conde-BA.	33
Tabela 3	Aspectos gerais dos grupos pertencentes do estudo.	36
Tabela 4	Dosagens bioquímicas nos indivíduos que foram submetidos à análise de lipidômica	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC-	Alta carga
ALT/ TGP-	Alanina aminotransferase/ transaminase glutâmico-pirúvica
AST/ TGP -	Aspartato aminotransferase/ transaminase glutâmica oxalacética
BC-	Baixa Carga
CE -	Ester de colesterol
CEP-	Comitê de ética em pesquisa
CEQUIL -	Centro de Excelência de Quantificação e Identificação de Lipídios
CER -	Ceramina
COL -	Colesterol total
DAG -	Diacilglicerol
FCFRP -	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
FFA -	Ácidos Graxos livres
GGT -	Gama-glutamyltransferase
GM1 -	Gangliosideos 1
HCV-	Vírus da hepatite C
HDL -	Lipoproteínas de alta densidade
HexCer -	Hexosilceramida
IGM -	Instituto Gonçalo Moniz
IMC-	Índice de massa corporal
LAPEX -	Laboratório de Patologia Experimental
LCAT-	Lectina colesterol aciltransferase
LC-MS/MS-	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa
LDL -	Lipoproteínas de baixa
MAG -	Monoacilgliceróis
MC-	Carga intermediária
NegE-	Negativos da área endêmica
OMS -	Organização Mundial de Saúde
opg-	Ovos por grama de fezes
PA -	Ácidos Fosfátidico
PC -	Fosfatidilcolina
PCA-	Análise de componentes principais

PE -	Fosfatidiletanolamina
PG -	Fosfatidilglicerol
PI -	Fosfatidilinositol
PKC-	Proteína quinase C
PS –	Fosfatidilserina
PZQ -	Praziquantel
SM-	Esfingomielina
TAG -	Triacilgliceróis
TALE -	Termo de assentimento livre esclarecido
TCLE -	Termo de consentimento livre e esclarecido
TRIG -	Triglicerídeos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE	16
2.2	BIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE	17
2.3	TRATAMENTO	18
2.4	CARGA PARASITARIA X GRAVIDADE	19
2.5	PATOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE	19
2.6	METABOLISMO LIPÍDICO	20
2.7	LIPIDÔMICA	22
2.8	ALTERAÇÕES LIPÍDICAS NA ESQUISTOSSOMOSE	23
3	OBJETIVOS	24
3.1	OBJETIVO GERAL	24
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4	METODOLOGIA	25
4.1	POPULAÇÃO DO ESTUDO	26
4.2	AVALIAÇÃO DAS ENZIMAS HEPÁTICAS	27
4.3	ANÁLISE LIPIDÔMICA	28
4.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	29
4.5	ASPECTOS ÉTICOS	29
5	RESULTADOS	31
6	DISCUSSÃO	42
7	CONSIDERAÇÃO FINAIS	46
	REFERÊNCIAS	47
	ANEXOS	53

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose humana atinge aproximadamente 240 milhões de pessoas, com quase 700 milhões vivendo em áreas de risco. Essa é uma infecção de ocorrência tropical, que apresentou mudanças epidemiológicas nas últimas décadas. A doença deixou de estar presente apenas nas regiões rurais e, começou a apresentar prevalência de casos nas áreas urbanas, principalmente aquelas que apresentavam deficiência no saneamento básico (PORDEUS, 2008; BRASIL, 2014; MCMANUS et al., 2018)

Algumas regiões ainda se mantem afetadas, pela presença dos moluscos transmissores, estima-se que cerca de 1,5 milhões de pessoas ainda vivem em áreas de risco no Brasil (BRASIL, 2020b; a).

O *Schistosoma mansoni* é o agente etiológico da doença, que apresenta o homem como seu principal hospedeiro e os caramujos de água doce do gênero *Biomphalaria* como seus hospedeiro intermediário. Das seis espécies que parasitam o homem, o *S. mansoni* destaca-se nas América Latina (JOSHI et al., 2010; BRASIL, 2014).

São conhecidas duas formas clínicas da doença, a forma aguda e a crônica, as quais induzem distintas manifestações clínicas. Na fase aguda pode ocorrer a formação de erupções urticariformes que são provocadas pela penetração da cercaria na pele dos indivíduos, entretanto, em áreas endêmicas, essa dermatite não é reconhecida. As manifestações clínicas podem variar de indivíduo para outro, podendo apresentar febre elevada, diarreia, náusea/vômito, edema e urticárias. As principais lesões que surgem na fase crônica são causadas pelos ovos que secretam enzimas proteolíticas que provocam reações inflamatórias e granulomatosas eosinofílicas, acometendo órgãos como o fígado, baço e pulmão, e que são progressivamente substituídas por fibrose. Na fase crônica, pode apresentar duas manifestações: a forma intestinal ou hepatointestinal e a forma hepatoesplênica (KATZ, 2003; GRYSEELS et al., 2006; BRASIL, 2014).

As lesões mais significativas estão associadas a reação inflamatória granulomatosa que se forma em torno dos ovos. O granuloma é um agregado de células transitórias, como: macrófagos e eosinófilos, junto de células do órgão afetado e elementos da matriz extracelular, que formam uma estrutura esférica para proteger o hospedeiro de toxinas liberada pelo ovo. Porém, essa reação inflamatória está associada a fibrose portal, que gera lesões destrutivas e obstrutivas do sistema da veia porta, acarretando diminuição da capacidade de síntese e secreção de proteínas pelo fígado (LENZI et al., 1991; STEINBERG, 1996).

Alguns estudos sugerem que a esquistossomose pode levar a alterações no metabolismo lipídico em humanos, já que os distúrbios na síntese de proteína e as diversas interleucinas liberadas durante a inflamação podem provocar efeitos sobre o metabolismo de lipoproteínas (KHOVIDHUNKIT et al., 2004).

O metabolismo lipídico se altera na forma grave da infecção, apresentando em alguns casos dislipidemia, aumento dos níveis de fosfolípidios e redução dos níveis de éster de colesterol. Um estudo realizado sobre a resposta metabólica da infecção por *S. japonicum*, em camundongo foram observadas alterações no perfil lipídico antes da maturação sexual. Além disso, também foi demonstrado níveis lipídicos (triacilglicerol e ésteres de colesterol) significativamente diminuídos no fígado e no íleo com a evolução da infecção pelo *S. mansoni*. Fonseca et al. em 2014, também relatou que camundongos infectados reduziram a expressão hepática de acetil coenzima A aciltransferase, que é uma enzima envolvida diretamente no metabolismo dos ácidos graxos (COUTINHO-ABATH; BARBOSA; AMARAL, 1965; MULLER et al., 2001; MARTINS DA FONSECA et al., 2014)

Adicionalmente também tem sido observado alterações na lectina-colesterol aciltransferase (LCAT), enzima que exerce papel importante no metabolismo normal das lipoproteínas e que é responsável pela formação de quase todo colesterol esterificado. Já foi demonstrado que em alguns casos, pessoas infectadas pelo *S. mansoni* apresentam diminuição da atividade da LCAT, e assim acarretando alterações lipídicas como os níveis baixos de colesterol total (GILLETT; OWEN; COUTINHO, 1976; LIMA et al., 1996; JONAS, 2000)

Dessa forma, é importante analisar possíveis alterações no metabolismo de lipídios em humanos com diferentes cargas parasitárias, que assim contribuirá para geração de conhecimento sobre esquistossomose, de forma a auxiliar na melhor compreensão da patologia da esquistossomose ou na identificação de biomarcadores de evolução para doença grave.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE

A esquistossomose mansônica é uma doença causada por um parasito trematódeo digenético do gênero *Schistosoma*, que tem o homem como seu principal hospedeiro (KATZ, 2018). É uma doença que tem maior prevalência quando se trata de doenças veiculadas a água (BRASIL, 2014; ROCHA, 2016).

A infecção por este parasito, apresenta alta endemicidade, ampla distribuição mundial, podendo ser encontrado em até 54 países, sendo que no Brasil seu estabelecimento se deu por meio do pessoas escravizadas, originários da costa oriental da África (MARTINS JR., 2003).

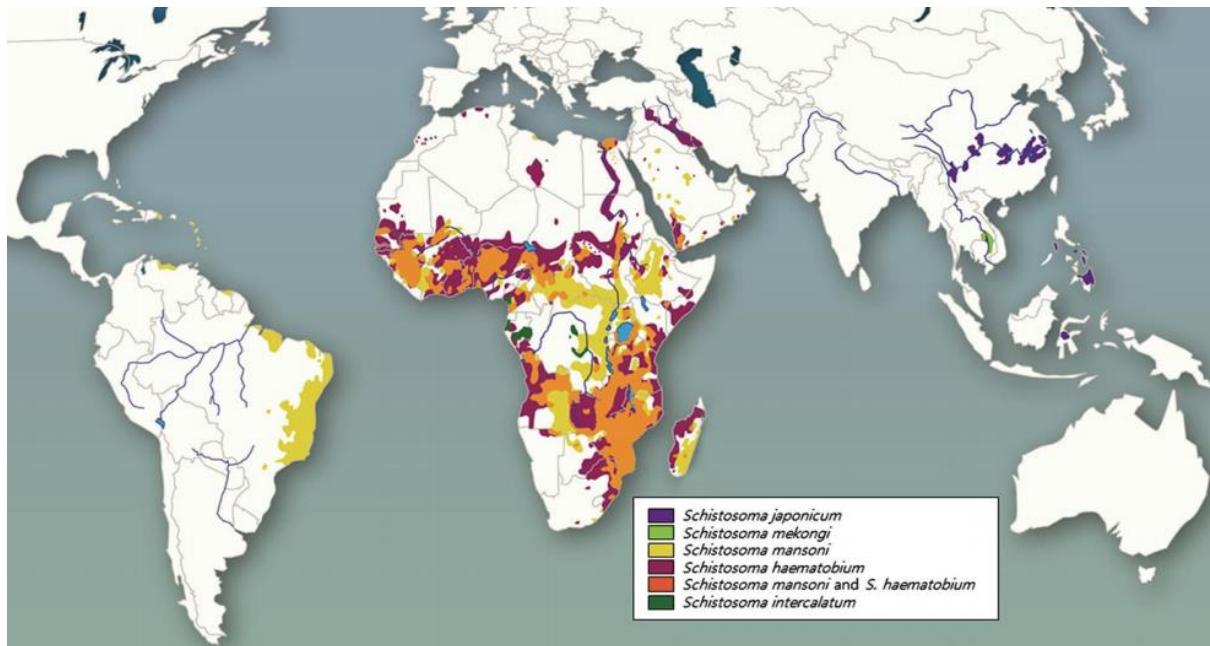


Figura 1 - Distribuição geográfica da esquistossomose no mundo.

Fonte: (WEERAKOON et al., 2015).

No Brasil, casos de esquistossomose são notificados por todo território, sendo os estados de Alagoas, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais as regiões mais endêmicas, com predominância do norte e do nordeste em especial, a Bahia. A Bahia é um território onde apresenta a esquistossomose como um problema endêmico em toda sua extensão. Dentre os 417 municípios, 167 (40%) são considerados endêmicos (MARTINS JR., 2003; KATZ, 2018; BRASIL, 2020c).

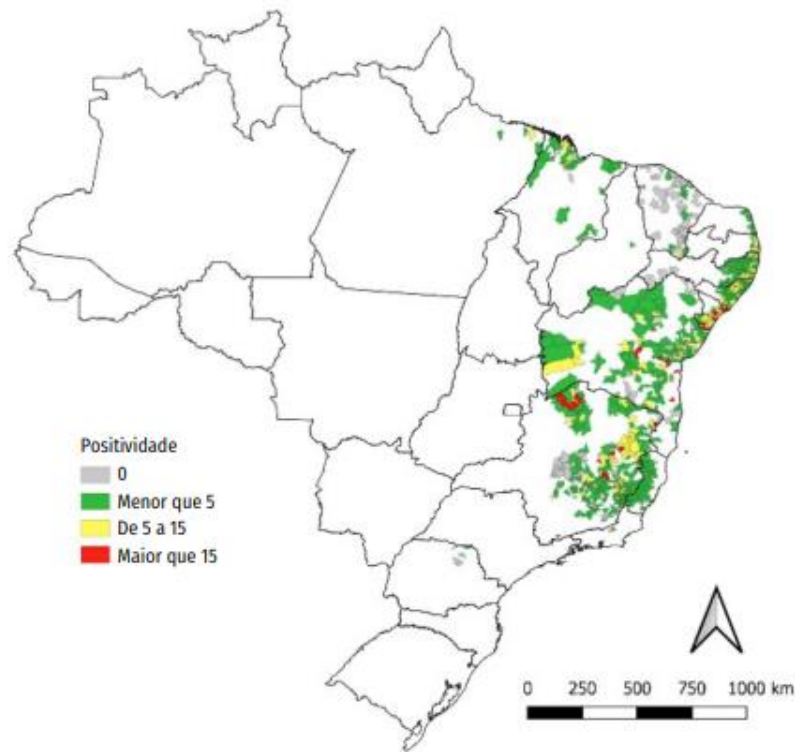


Figura 2 - Distribuição da esquistossomose segundo a média do percentual de positividade por município 2009 – 2020.

Fonte: (BRASIL, 2021)

A esquistossomose humana pode ser causada por seis diferentes espécies, sendo que na América Latina destaca-se o *Schistosoma mansoni* (MUTAPI et al., 2017). A infecção por este parasito consiste em um problema de saúde pública, associada à pobreza, às precárias condições sanitárias bem como à falta de tratamento de água e esgoto, sendo definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das principais doenças tropicais negligenciadas (ARAÚJO et al., 2012).

2.2 BIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE

A transmissão da esquistossomose depende de um hospedeiro intermediário. No caso do *Schistosoma mansoni*, três espécies de caramujo de água doce de gênero *Biomphalaria*, *Biomphalaria glabrata*; *Biomphalaria tenagophila*; *Biomphalaria straminea*, são encontradas constantemente infectados por *Schistosoma mansoni*. Entretanto, a *Biomphalaria glabrata* é a hospedeira com maior destaque nas Américas (KATZ, 2018).

O ciclo se inicia quando os seres humanos contaminados eliminam fezes contendo ovos do verme. Em contato com água, os ovos eclodem, liberando larvas denominadas como

miracídios, que se mantem livres na água até terem contato com os caramujos. Após penetrarem no caramujo, os miracídios permanecem por alguns dias, levando ao encurtamento da vida dos caramujos devido as lesões causadas nos tecidos. No caramujo, os miracídios se diferenciam em esporocistos, multiplicam-se, e amadurecem até abandonarem o caramujo em forma de cercarias livres até entrar em contato com o ser humano. O homem se contamina ao entrar em águas contaminadas com a cercaria livre, que penetram em sua pele. A cercaria perde sua cauda, permitindo que sua cabeça se transforme em um esquistossômulo e migram da pele para a circulação. Os esquistossômulos se tornam adultos sexualmente maduros ao chegarem no sistema porta-hepático, onde podem se reproduzir e finalmente seguem para as veias mesentéricas para ovoposição. Depois de algumas semanas, ovos são liberados pelas fêmeas, uma parte desses ovos atravessam a luz do intestino e são eliminados nas fezes, enquanto os outros são transportados pelo fluxo sanguíneo, podendo acarretar a formação de um granuloma. Em alguns casos, os ovos são encontrados em outras localizações como, pulmão, baço, pâncreas e bexiga (GRYSEELS et al., 2006; BRASIL, 2014; GIERA et al., 2018).

2.3 TRATAMENTO

O diagnóstico laboratorial dessa doença é executada de forma simples e rápida. O método mais eficiente é o exame parasitológico das fezes, recomendado pela OMS a técnica de Kato-Katz, onde é desempenhado com a intenção de visualizar os ovos do *S. mansoni* nas fezes do paciente, além disto, outros procedimentos são utilizados como auxiliares (KATZ, 2003).

O tratamento tem como objetivo impedir a evolução para as formas mais graves, diminuindo a carga parasitária, até ser curado, com isso, de forma específica é feito esse tratamento com o fármaco conhecido como Praziquantel, que apresentam amplo espectro anti-helmíntico. Sendo contraindicado para gestantes. Ao ser feito o tratamento corretamente o paciente passa a minimizar a produção e a eliminação dos ovos colaborando como prevenção primária da transmissão da doença. (KATZ, 2003; VITORINO, 2012).

O Praziquantel (PZQ) é o fármaco de escolha para o tratamento de esquistossomose causada por todas as espécies de Schistosoma, tendo sido recomendado pela OMS e pelo Ministério da Saúde do Brasil para tratamentos individuais e em massa de populações por ser eficaz. Sendo assim, é o medicamento utilizado pelos programas de controle da esquistossomose no mundo (BRASIL, 2014)

O medicamento age aumentando a atividade muscular desfazendo a ligação do parasito com o tecido das veias mesentéricas, provocando o rápido deslocamento dos helmintos para o

fígado, em concentrações mais elevadas o praziquantel provoca a formação de vacúolos e vesículas no tegumento dos parasitas causando a liberação do seu conteúdo e ativando mecanismos de defesa do hospedeiro (BRASIL, 2014; NOVAES, 1999).

O tratamento é empregado em larga escala, apresentando bons resultados, além de que, é apresentado em comprimidos de 600 mg e administrado por via oral, em dose única de 50 mg/kg de peso para adultos e de 60 mg/kg de peso para crianças, e é administrado após uma refeição. Até o momento, não houve relato de aparecimento de cepas resistentes a esse medicamento em áreas endêmicas no Brasil com isso, o índice de cura aproxima-se de 80% para os adultos e de 70% para as crianças. Em exceção a associação praziquantel-corticoide, ao contrário, há diminuição da eficácia terapêutica (BRASIL, 2014).

Apesar de sua eficácia o Praziquantel apresenta efeitos adversos, são leves e transitórios. Entre esses, destacam-se: gosto metálico na boca, dor abdominal, diarreia, astenia, cefaleia e tonturas. (BRASIL, 2014; MODHA, 1990).

2.4 CARGA PARASITARIA X GRAVIDADE

A carga parasitária varia de acordo com o grau de exposição ambiental e da resposta imune do hospedeiro. A condição é estabelecida através do total de ovos de *S. mansoni* por grama de fezes nas lâminas avaliadas. A classificação da carga parasitaria é definida como: carga parasitária leve (até 100 ovos/g de fezes); carga parasitária moderada (101 a 400 ovos/g de fezes); e carga parasitária elevada (mais de 400 ovos/g de fezes) (GOMES et al., 2016).

A carga parasitaria baixa é mais comum em pacientes assintomáticos ou que apresentam apenas sintomas intestinais, enquanto cargas parasitaria altas estão presentes em pacientes com hepatoesplenomegalia ou sintomas mais graves. No caso do *S. mansoni*, em casos de cargas parasitaria baixas o diagnóstico pode não ser tão sensível, do ponto de vista epidemiológico, esses indivíduos podem ser os responsáveis pela manutenção do ciclo. Com isso, o tratamento visa minimizar a produção e a eliminação dos ovos do helminto como uma forma de prevenção da transmissão da doença (VITORINO, 2012; JORDÃO, 2014).

2.5 PATOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE

São conhecidas duas formas clínicas da doença, a forma aguda e a crônica, as quais induzem diferentes respostas imunológicas e distintas manifestações clínicas. A fase aguda, ocorre logo após a penetração da cercaria. Os mediadores imunológicos não estão elucidados

completamente, porém nesta fase as células com perfil Th1 auxiliam a resposta imune na tentativa de combater o verme, no organismo. Os sintomas são caracterizados por urticárias e edemas, além de diarreia, febre elevada, náuseas, vômito e hepatoesplenomegalia dolorosa, podendo variar de cada pessoa (CHEEVER; HOFFMANN; WYNN, 2000; DE JESUS et al., 2002).

Se não tratada a fase aguda, o paciente evolui para a forma crônica da doença, que está relacionada a uma resposta do tipo Th2, induzida pelos antígenos presentes no ovo do parasito, auxiliando a resposta humoral, além de aparentemente apresentar um papel crucial na modulação da resposta inflamatória e estar presente na morbidade da doença e na fibrose hepática. Nesta fase, o indivíduo pode ser assintomático ou apresentar sintomas que caracterizam a esquistossomose intestinal, hepato-intestinal ou a forma mais grave, que é a forma hepatoesplênica (representada pelo crescimento e endurecimento do fígado e do baço (MOSMANN; MOORE, 1991; PEARCE et al., 1991; WYNN et al., 1998; CHEEVER; HOFFMANN; WYNN, 2000; LAMBERTUCCI et al., 2009; MCMANUS et al., 2018).

Na fase crônica, os ovos do parasita eventualmente podem ficar retidos nas vênulas hepáticas gerando uma inflamação granulomatosa local. Os granulomas hepáticos podem provocar uma alteração tecidual e, em alguns casos, ocorre dano tecidual. O ciclo repetitivo inflamação, fibrose e dano tecidual pode levar a complicações graves com risco de vida, como ascite, hipertensão portal, formação de varizes esofágicas, hematêmese, podendo evoluir até mesmo a óbito (LENZI et al., 1998; MENTINK-KANE et al., 2011).

A infecção pelo *S. mansoni*, quando não tratada, pode levar ao comprometimento hepático, iniciando com danos teciduais e evoluindo até mesmo para um granuloma. Com essa alteração no fígado sua função pode acabar sendo comprometida. O fígado é um órgão muito importante quando se trata do metabolismo dos lipídios. Com a resposta inflamatória, o órgão pode vir a sofrer alterações que levem a mudanças no perfil lipídico (SALES, 2003; KHOVIDHUNKIT et al., 2004; A., 2010; MENTINK-KANE et al., 2011).

2.6 METABOLISMO LIPÍDICO

O fígado é um órgão de vital importância para o bom funcionamento do organismo, dentre suas funções, ele realiza a regulação do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios, é responsável pelo armazenamento e degradação de algumas substâncias (MENTINK-KANE et al., 2011).

Devido a suas várias funções, existem formas específicas para verificar lesões nos hepatócitos e para avaliar a função hepática. Através da mensuração de enzimas como alanina aminotransferase (ALT), também conhecida como transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e aspartato aminotransferase (AST) também conhecida como transaminase glutâmica oxalacética (TGO) é possível detectar níveis alterados, fornecendo informações de possíveis lesões nos hepatócitos. Além disso, gama-glutamilttransferase (GGT) é uma enzima que pode se mostrar elevada em lesões hepáticas. O TGP é encontrado principalmente no citoplasma do hepatócito, enquanto o TGO está presente na mitocôndria, já o GGT é encontrado no interior dos hepatócitos e nas células epiteliais biliares, além de ajudar no transporte de aminoácidos e peptídeos. GGT, é considerada marcadora de lesão hepatobiliar de alta sensibilidade, mas de pouca especificidade, já que pode ser alterada por uso de medicação, álcool e várias doenças sistêmicas. Todas estas enzimas são úteis quando se busca diagnosticar doenças crônicas do fígado, como no caso da esquistossomose, quando os ovos ficam presos nos tecidos hepáticos (TELLI; FRIGERI; MELLO, 2016; BARRETO et al., 2017; SILVA et al., 2018).

Em relação a função hepática, é possível avaliar através da mensuração de metabólitos que são produzidos e/ou excretados pelo órgão, lipídios, colesterol (COL), triglicerídeos (TRIG) e lipoproteínas de baixa (LDL) e alta densidade (HDL), no qual, desempenham um papel indispensável para os seres humanos, trazendo a homeostase para o organismo (SIMONS; IKONEN, 2000)

O colesterol, apesar de ser sintetizado pelo fígado através da metabolização do acetil-CoA, quando transportado pelo organismo precisa estar complexado com moléculas hidrofílicas, como as lipoproteínas. Com isso, lipídios como colesterol, triglicerídeos, éster de colesterol e outras substâncias, se combinam, produzindo partículas com densidades diferentes, como por exemplo as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL) para ser transportado do tecido de origem para os tecidos nos quais serão armazenados ou consumidos (SANTOS; SOCIEDADE BRASILEIRA DE, 2001)

Em um estudo realizado por Khovidhunkit em 2000, foi descrito a importância de avaliar níveis de Colesterol total (COL), Triglicerídeos (TRIG) e Lipoproteínas de baixa (LDL) e alta densidade (HDL) quando associadas a infecção e a inflamação. Alterações características durante a infecção e/ou inflamação são o aumento dos níveis de TRIG e a diminuição dos níveis de HDL e LDL. Além de concentrações plasmáticas de COL reduzidas, no caso de portadores de esquistossomose mansônica na forma hepatoesplênica (KHOVIDHUNKIT et al., 2000; RAMOS et al., 2004).

Os lipídios são os principais constituintes das membranas e com isso, estão envolvidos em muitos processos celulares vitais e danos no organismo vivo pode levar a um desequilíbrio. Desta forma, estudos trazem a importância de análises mais profundas, realizando a identificação e quantificação de lipídios principalmente para um entendimento maior sobre o comportamento das moléculas lipídicas que participam de processos fisiológicos e fisiopatológicos, essa análise é conhecida como lipidômica (ZULLIG; TROTZMULLER; KOFELER, 2020).

2.7 LIPIDÔMICA

Ciências ômicas compreendem a análise genômica, transcriptômica, proteômica, lipidômica e metabolômica, permitindo quantificar e caracterizar componentes moleculares, buscando características de um sistema biológico em resposta ao distúrbio da homeostase (MARTEL et al., 2012)

A análise lipidômica vem sendo foco de muitos estudos, realizada por tecnologias analíticas de última geração, como a espectrometria de massa e cromatografia líquida ou gasosa, que é capaz de identificar e quantificar centenas de espécies de lipídios moleculares, abrangendo uma ampla gama de classes lipídicas. Os lipídios exibem grande variedade estrutural ligados a diversos processos fisiológicos dentro das células, dessa forma, alterações nos perfis lipídicos têm sido implicadas em certas doenças humanas. Diferentes plataformas estão disponíveis para auxiliar na identificação de moléculas lipídicas em diferentes, como o LIPD MAPS que apresenta mais de 600 espécies moleculares entre as seis principais categorias de classes (ácidos graxos, glicerolipídeos, glicerofosforolipídeos, esfingofosfolipídeos, esterol lipídeos e prenol lipídeos) (NYAME et al., 2000; VAN REMOORTERE et al., 2001; DONNELLY et al., 2008; MARTEL et al., 2012; ADEYEMI et al., 2020).

Na infecção pelo Zika vírus, foi demonstrado que o perfil lipidômico difere entre os indivíduos sintomáticos com diagnóstico positivo ou negativo para Zika. Nesse estudo, foi identificado um aumento nos níveis de espécies de plasmenil-fosfatidiletanolamina, um fosfolipídio abundante em células do tecido nervoso, nos pacientes com diagnóstico positivo para Zika. (QUEIROZ et al., 2019).

2.8 ALTERAÇÕES LIPÍDICAS NA ESQUISTOSSOMOSE

Em 2013, foi realizado um estudo disponível sobre perfil lipídico na esquistossomose, no qual foi demonstrada que a virulência parasitária pode ser influenciada por mediadores lipídicos. Essas moléculas apresentam um papel fundamental na indução e resolução da inflamação (TAM, 2013)

Muitos fatores podem explicar como o metabolismo lipídico pode se alterar, com o fato de o parasita necessitar de recursos lipídicos para sua própria sobrevivência e reprodução, Além disso, os vermes adultos podem modificar lipídios pra fins biossintéticos, como no caso do desenvolvimento da membrana do miracídio (ZINSOU et al., 2020).

Giera, em 2018 realizou um estudo que investigou o conteúdo lipídico de diferentes fases do ciclo de vida do *S. mansoni*, sendo eles: cercarias, vermes e ovos. Foram identificados mais de 350 espécies de lipídios, no qual fosfatidilcolina (PC) (34:1), fosfatidilcolina (PC) (36:1) e fosfatidilcolina (PC) (36:2) são as espécies de fosfolipídios que estão presentes em todos os estágios do ciclo, além de demonstrarem que os ovos e vermes apresentam composição lipídica semelhante, outro achado foi o diacilglicerol que só foi possível ser detectado nas cercarias, enquanto os lisofosfolipídios (LPC e LPE) foram detectados principalmente em cercarias e ovos, mas dificilmente em vermes, que em contrapartida continham quantidades significativas de ácidos graxos livres. Apesar do avanço, o perfil lipídico é pouco conhecido na esquistossomose (GIERA et al., 2018).

Portanto, torna-se necessário realizar novos estudos, trabalhos que avaliem possíveis alterações no metabolismo dos lipídios em humanos desencadeada pela infecção do *Schistosoma mansoni*. Assim, esse estudo tem como objetivo identificar alterações lipídicas induzidas pelo parasita em indivíduos infectados em comparação a indivíduos sadios e que possam ser associadas à patogênese da esquistossomose.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar as alterações hepáticas e perfil lipidômico em indivíduos infectados pelo *Schistosoma mansoni* residentes em área endêmica com alta ou baixa carga parasitária.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em indivíduos residentes em uma área endêmica em esquistossomose:

- Determinar as concentrações séricas de enzimas hepáticas (TGO, TGP e GGT) e sua correlação com carga parasitária
- Avaliar alterações no perfil lipidômico no soro de indivíduos com esquistossomose
- Associar as alterações das classes de lipídios com a carga parasitária do *S. mansoni*

4 METODOLOGIA

Esse estudo é um corte transversal que faz parte de um projeto maior, de caráter longitudinal que foi realizado em três vilarejo na zona rural do município do Conde-BA, localizados a aproximadamente 170 km de Salvador – BA, no período de 2018 a 2019.



Figura 3 - Mapa do município do Conde-BA, destacando os vilarejos estudados.
Fonte: Wikimedia Commons

O projeto maior é composto por cinco períodos de avaliações conforme descrito na figura 4. Entretanto, as avaliações realizadas neste estudo contemplam apenas os 340 participantes do momento basal pré-tratamento (D0).

Todos os indivíduos que aceitaram participar assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) ou o termo de assentimento livre esclarecido (TALE), além de realizar as coletas de sangue e de fezes para o exame parasitológico.



Figura 4 - Fluxograma sobre os períodos de avaliação do projeto geral.

Fonte: Elaboração da autora

4.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Todos os residentes dos vilarejos foram convidados a participar do estudo. Um total de 340 indivíduos com idade entre 4 e 60 anos, que realizaram as etapas de coleta de sangue, fezes e urina e que efetuaram as entrevistas foram incluídos para avaliação de carga parasitária e para determinação de concentração sérica das enzimas hepáticas.

Especificamente para o estudo da lipidômica, dos 340 participantes do estudo, 45 indivíduos foram selecionados e subdivididos em três grupos de 15, conforme a carga parasitaria: 1) indivíduos com carga parasitária acima de 200 ovos por grama de fezes (opg), sendo definidos aqui neste estudo como grupo “Alta carga”; 2) aqueles com carga parasitaria entre 1 e 99 opg, sendo chamados aqui de “Baixa carga”; e 3) outros 15 indivíduos residentes da área endêmica, mas com resultado de Kato-Katz negativo para *S. mansoni* (Figura 5).

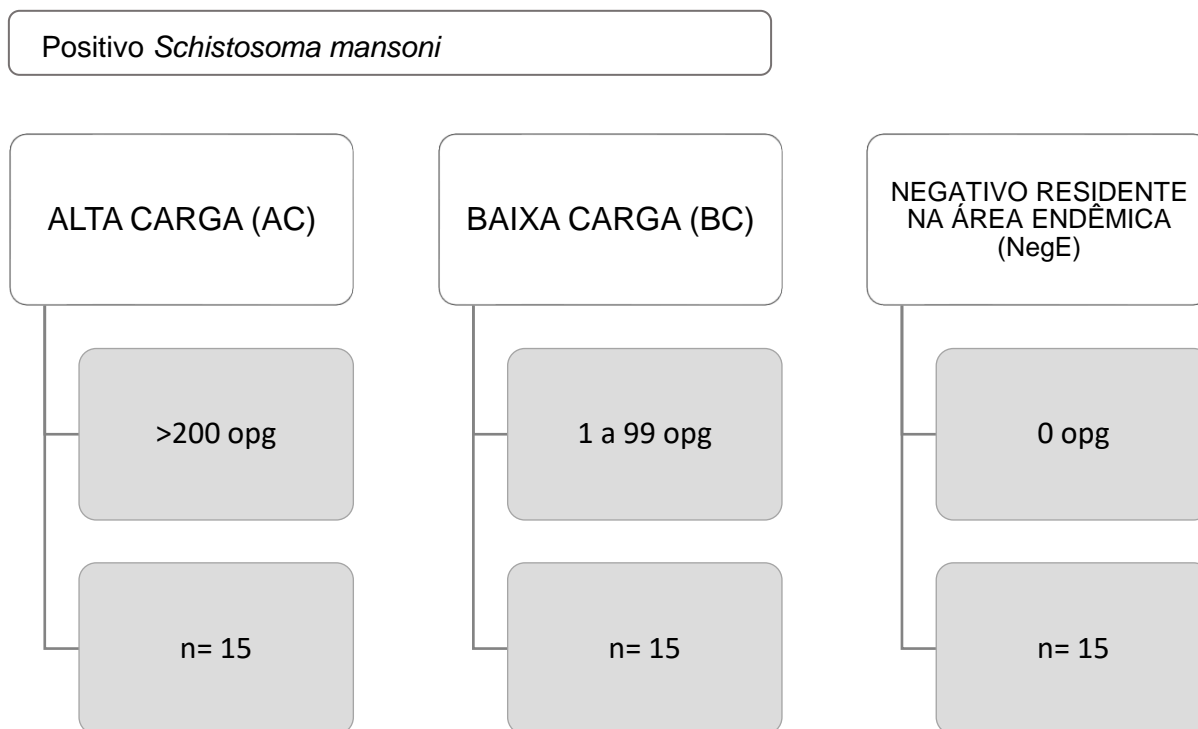


Figura 5 - Esquema representativo dos grupos definidos no estudo.

Fonte: Elaboração da autora

O diagnóstico da infecção pelo *S. mansoni* foi realizado pelo método de Kato-Katz, a partir de duas lâminas de uma única amostra. As lâminas foram confeccionadas e avaliadas no Laboratório de Patologia Experimental (LAPEX), Instituto Gonçalo Moniz (IGM)/FIOCRUZ-BA e o sangue coletado para fazer as dosagens séricas e as avaliações lipídicas. As amostras de soro foram separadas por centrifugação e foram devidamente armazenadas.

Após a coleta e o diagnóstico, todos os indivíduos infectados da área do Conde com helmintos foram tratados com Albendazol (dose única, 400mg para adultos e crianças acima de 2 anos), enquanto aqueles pacientes com esquistossomose, foram tratados com Praziquantel (50 mg/kg para adultos e 60mg/kg para crianças entre 4 a 14 anos), seguindo as orientações preconizadas pelo Ministério da Saúde.

4.2 AVALIAÇÃO DAS ENZIMAS HEPÁTICAS

As amostras de sangue foram coletadas em tubo com gel separador, centrifugadas e obtido cerca de 1 mL do soro de cada participante, os quais foram armazenados em freezer a -20 C°. O soro foi utilizado para mensurar, transaminase glutâmica oxalacética (TGO), transaminase glutâmico pirúvica (TGP), gama-glutamilttransferase (GGT), colesterol total

(COL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos (TRIG) para a realização das análises de lipidômica. Além disso, foi coletado sangue em tubo contendo EDTA para realização do hemograma.

Todas as dosagens foram realizadas em um aparelho de bioquímica semiautomático modelo BIO-200 Bio-Plus[®], disponível no LAPEX. Foram utilizados os reagentes dos Kits de Bioquímica da Bioclin[®], os quais foram fornecidos sem custos, através de um programa específico da empresa de incentivo à pesquisa.

4.3 ANÁLISE LIPIDÔMICA

A extração dos lipídios e a análise de lipidômica dos 45 indivíduos selecionados para o estudo, foram realizadas na plataforma do Centro de Excelência de Quantificação e Identificação de Lipídios (CEQIL), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP), Ribeirão Preto, SP. Para a extração, em 200 µL do soro foram adicionados 500 µL de MeOH, 10 µL de padrão interno e 250 µL de CHCl₃ (Clorofórmio). A mistura foi levada para homogeneizador de moinho de esferas por 5 min e, em seguida, foram adicionados 250 µL de CHCl₃ e 250 µL de Água Milli-Q, homogeneizado por 5 min e centrifugado por 5 min à 10.000 RPM e à 4°C para separação das fases. A fase inferior do tubo foi removida e armazenada, enquanto à fase superior foi adicionado 500 µL de CHCl₃ homogeneizada e centrifugada. Finalmente, a fase inferior do tubo foi removida e o conteúdo remanescente foi submetido a etapa de secagem por uma hora à 45°C e armazenado no -20°C.

O método de lipidômica global foi utilizado a partir de análises com o espectrofotômetro de massa de alta acurácia, acoplado ao sistema de cromatografia líquida (Nexera-TripleTOF[®] 5600+ (LC-MS/MS)). Após a extração, as amostras foram resuspensas com 200 µL de solvente (mistura de Isopropanol, MeOH, acetonitrila, água milli-Q e formiato de amônia), submetidas à agitação por 10 min, e centrifugadas por 5 min, à 10.000 RPM e à 4°C e aplicada no espectrofotômetro.

Na análise de lipidômica foram identificadas cinco classes de lipídios, sendo eles: fosfolipídios, esfingolipídios, éster de colesterol, gliceróis e ácidos graxos livres. Entre os fosfolipídios, foram avaliados ácidos fosfatídico (PA), fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidilinositol (PI) e fosfatidilserina (PS). Já no grupo de esfingolipídios, foram analisadas cinco classes, sendo elas: ceramina (CER), hexosilceramida (HexCer), esfingomiéline (SM) e gangliosídeos 1 (GM1). Por fim, no grupo de glicerídeos foram quantificados, diacilglicerol (DAG), monoacilgliceróis (MAG),

triacilgliceróis (TAG). Também foram quantificados o éster de colesterol (CE) e ácidos graxos livres (FFA).

4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os dados coletados foram armazenados no sistema REDCap®. Os dados foram analisados com auxílio dos softwares GraphPad Prism 5 e Stata 11.0, além de MetaboAnalyst 5.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>)

Foram descritos média, desvio padrão, mediana e intervalo interquartil (25-75%). Testes estatísticos foram realizados, como teste t-Student e Anova pelo software GraphPad Prism 5 nas análises das enzimas hepáticas e níveis séricos. Realizamos a correlação de *Spearman* para as análises de correlação entre as enzimas hepáticas e a carga parasitária.

Na análise lipídômica, os nomes químicos das espécies lipídicas foram identificados com base nos padrões de fragmentação individuais e com auxílio da plataforma LIPID Metabolite and Pathways Strategy (LIPID MAPS) (<http://www.lipidmaps.org/>). A quantificação dos dados foi feita comparando-se as áreas dos cromatogramas das massas precursoras das amostras e com auxílio do programa PeakView (Sciex) (<https://sciex.com/>).

Na plataforma MetaboAnalyst para a execução da análise de componentes principais (PCA) foi necessário retirar dados que se diferenciavam drasticamente de todos os outros, conhecidos como outliers. Utilizamos uma plataforma que calcula e destaca os outliers. Em relação aos dados gerados pelo diagrama de venn, foram selecionadas todas as espécies de lipídios significantes a partir da análise de *fold change* que mostra a relação dos grupos de carga parasitária entre as classes de lipídios, e assim, os dados foram interpretados pelo Stata 11.0, utilizando o diagrama de venn proporcional.

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

Este trabalho faz parte de um projeto maior, o qual está aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Gonçalo Moniz, intitulado AVALIAÇÃO DE SAÚDE DE UMA POPULAÇÃO RURAL DO ESTADO DA BAHIA (CAAE Nº 77287417.8.0000.0040), que se encontra em andamento desde janeiro/2018. Neste período foi executado o D0, que é definida pela inclusão dos participantes, após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Além disso, foram feitas coleta de amostras de fezes e de sangue, bem como as

entrevistas. A leitura das lâminas de Kato-Katz foi realizada pelos membros dos grupos de pesquisa envolvidos no projeto no LAPEX IGM/FIOCRUZ-BA.

5 RESULTADOS

A média das idades de todos os participantes incluídos no D0 foi de 28 ± 18 anos, dos quais 194 (57,06%) eram mulheres e 146 (42,94%) eram homens. Em relação às características domiciliares, 99,15% das residências possuíam água encanada e cerca de 63% usavam fossa séptica. Além disso, a renda familiar de 84,62% dos participantes do estudo foi menor que um salário-mínimo no período da entrevista (2018), conforme mostra na Tabela 1.

A Tabela 1 também apresenta, o perfil hematológico dos indivíduos, a mediana da hemoglobina foi de 12,70 (11,80 – 13,68) g/dL, a mediana da contagem de leucócitos foi 6710 (5223 – 8205) / μ L e das plaquetas 268 (224 – 320) mil/mL. A análise do perfil hepático mostrou que a mediana do TGO foi de 22,37 (18,64 – 32,63) U/L, a mediana do TGP foi 12 (9 – 18) U/L e o do GGT foi de 23,66 (17,21 – 40,63) U/L (Tabela 1)

A prevalência da infecção e a carga parasitária dos helmintos *Schistosoma mansoni*, *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* foram determinados através do método Kato-Katz. Em 55,59% (n=189) dos participantes, foram identificados ovos de *S. mansoni* em pelo menos uma das duas lâminas. No caso dos outros helmintos, a infecção pelo *Ascaris lumbricoides* foi observada em 40,29% (n=137) e a *Trichuris trichiura* em 53,82% (n=183) dos participantes, do D0. A mediana da carga parasitária do *S. mansoni* foi de 36 (12 -108) opg, para o *Ascaris lumbricoides* foi de 7.425 (1.452 – 24.810) opg e a *Trichuris trichiura* foi de 420 (120 – 1.236) opg, como demonstra a Tabela 2.

Tabela 1 - Características gerais e socioeconômica da população.

Variáveis	População geral (n=340)
Idade (média ± DP)	28 ± 18
Mulheres [% (n)]	57,06% (194)
Características domiciliares	
Número de Banheiros [% (n/n total)]	
Possui ≥ 1	75,21% (88/117)
Não Possui	24,79% (29/117)
Saneamento básico [% (n/n total)]	
Rede de Esgoto	1,71% (2/117)
Fossa	63,25% (74/117)
Céu aberto	24,78% (29 /117)
Sem resposta	10,26% (12/117)
Origem da Água [% (n/n total)]	
Encanada	99,15% (116/ 117)
Poço	0,85% (1/117)
Renda Familiar Média [% (n/n total)]	
< 1 Salário-Mínimo	84,62% (99/117)
≥ 1 Salário-Mínimo	15,38% (18/117)
Perfil hematológico [mediana (IIQ)]	
Hemoglobina (g/dL)	12,70 (11,80 – 13,68)
Leucócitos totais/ μ L	6710 (5223 – 8205)
Plaquetas (mil/mL)	268 (224 – 320)
Perfil bioquímico [mediana (IIQ)]	
TGO (U/L)	22,37 (18,64 – 32,63)
TGP (U/L)	12 (9 – 18)
GGT (U/L)	23,66 (17,21 – 40,63)

*IIQ – Intervalo Interquartil (Primeiro -Q1 e terceiro -Q3 quartil)

Fonte: Elaboração da autora

Tabela 2 - Presença de helmintos nos residentes em área endêmica em esquistossomose Conde-BA.

Presença de Helmintos intestinais	População geral (n = 340)
<i>Schistosoma mansoni</i>	
<i>Prevalência de infecção [% (n)]</i>	55,59% (189)
<i>Carga parasitária (opg) [mediana (IIQ)] *</i>	36 (12-108)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	
<i>Prevalência de infecção [% (n)]</i>	40,29% (137)
<i>Carga parasitária (opg) [mediana (IIQ)] *</i>	.425 (1.452 - 24.810)
<i>Trichuris trichiura</i>	
<i>Prevalência de infecção [% (n)]</i>	53,82% (183)
<i>Carga parasitária (opg) [mediana (IIQ)] *</i>	20 (120 - 1.236)

*IIQ – Intervalo Interquartil (Primeiro -Q1 e terceiro -Q3 quartil)

Fonte: Elaboração da autora

A população de estudo foi classificada conforme a carga parasitaria para *S. mansoni*. Indivíduos que apresentaram carga parasitária acima de 200 opg, entre 100 e 199 opg e entre 1 a 99 opg foram definidos, respectivamente como alta carga (AC), media carga (MC) e baixa carga (BC). Entre os participantes do D0, 9,4% dos indivíduos apresentaram alta carga parasitária, 40,9% apresentaram baixa carga parasitaria, enquanto 5,3% dos participantes apresentaram a carga parasitaria entre 100 e 199 opg. Por fim 44,4% do total apresentaram resultados estavam negativos para *Schistosoma mansoni* (Figura 6).

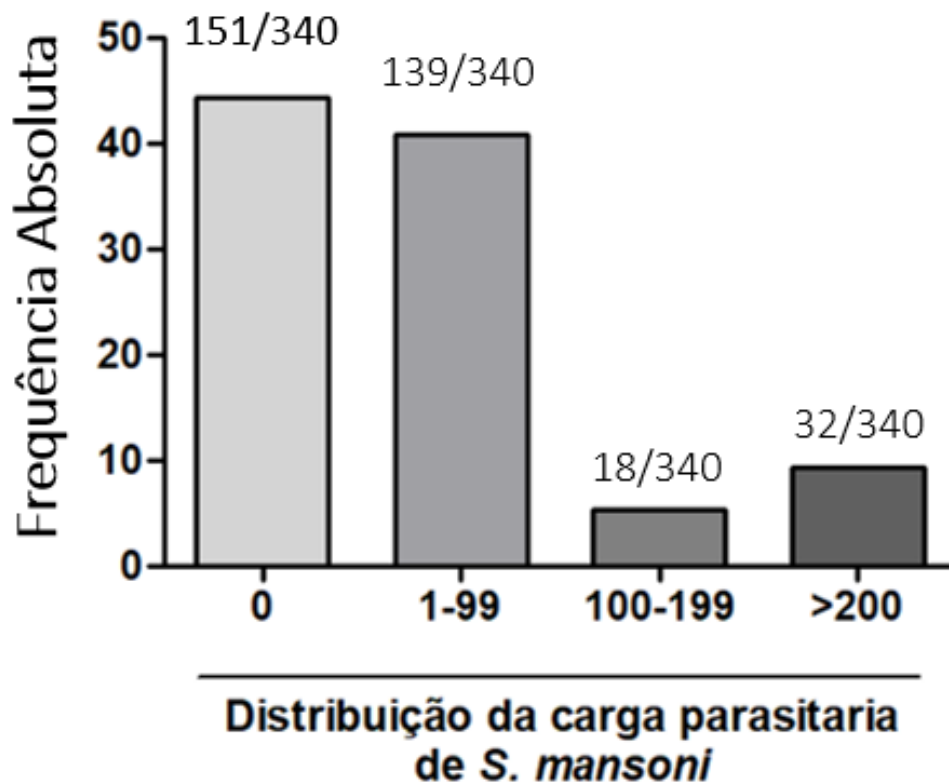


Figura 6 - Distribuição dos participantes de acordo com carga parasitária da infecção pelo *Schistosoma mansoni*. Percentual da carga parasitaria referente a cada grupo. Grupo de Alta carga (AC), Média carga (MC), Baixa carga (BC) e Negativo para *Schistosoma mansoni* residentes da área endêmica (Neg). Análise realizada com o n de 340 indivíduos.

Fonte: Elaboração da autora

De todas as enzimas avaliadas, a GGT foi a única cuja concentração variou entre os indivíduos com diferentes cargas parasitárias ($p = 0,0090$; Figura 7). Observou-se uma correlação positiva ($r = 0,3$) entre a carga parasitaria do *S. mansoni* e os níveis de GGT ($p = 0,0001$; Figura 8). Não houve correlação estatisticamente significativa entre TGO e TGP com as cargas parasitárias.

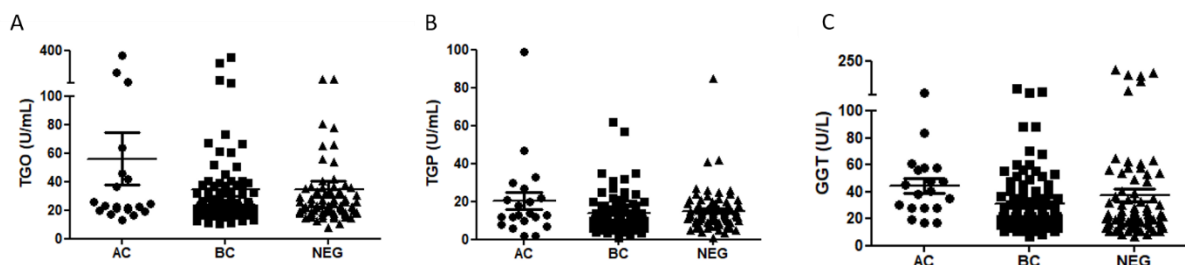


Figura 7 - Concentração das enzimas hepáticas TGO (A), TGP (B) e GGT (C) entre a distribuição de carga parasitaria no D0. As linhas pontilhadas horizontais representam os valores de referência para o TGO (36U/mL) ou TGP (32U/MI). Os valores apresentados sobre as linhas pontilhadas representam a proporção de dosagens acima do valor de referência. GGT não apresenta linha pontilhada por variar de acordo com idade e sexo. AC = alta carga; BC = baixa carga e NegE = negativos para infecção pelo *S. mansoni*.

Fonte: Elaboração da autora

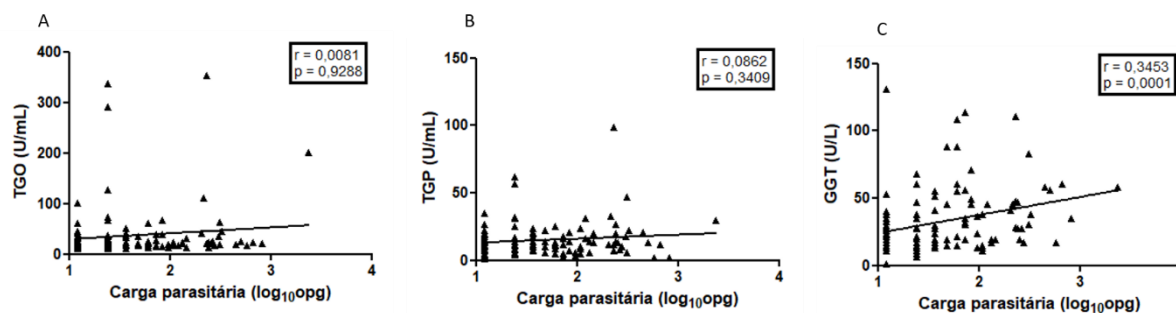


Figura 8 - Correlação de *Spearman* entre a concentração das enzimas hepáticas TGO (A), TGP (B) e GGT(C) e carga parasitária em indivíduos infectados pelo *S. mansoni* no D0. A reta diagonal foi obtida a partir de regressão linear.

Fonte: Elaboração da autora

Especificamente, para o estudo de lipidômica foram avaliados apenas 45 indivíduos classificados como alta carga (AC) e baixa carga (BC), além dos negativos para *S. mansoni* (NegE). Foram selecionados 15 indivíduos para cada um desses grupos. Entre os indivíduos que apresentaram AC, selecionamos aqueles com maior carga parasitária. Os indivíduos com baixa carga e negativos foram selecionados randomicamente.

A média das idades do grupo AC foi de $29,9 \pm 20$ anos, os de BC foi de $20,7 \pm 16,0$, enquanto o NegE foi de $18,9 \pm 14,6$. Entre os três grupos, o grupo AC (33,3%) foi o único que não apresentou em sua maioria indivíduos do sexo feminino. A mediana da carga parasitária dos grupos AC e BC eram, respectivamente, 312 (276-504) opg e 24 (12-24) opg. Um maior índice de massa corpórea (IMC) foi observado no grupo de AC, em relação aos outros grupos ($p=0,0285$) (Tabela 3).

A Tabela 3 também apresenta o perfil hepático, no qual entre os três grupos, é possível visualizar que o grupo de AC em todos os bioquímicos avaliados mostrou valores distinto do demais (Tabela 3).

Tabela 3 - Aspectos gerais dos grupos pertencentes do estudo.

Variáveis	AC	BC	NegE	p
Idade (<i>média</i> ± <i>DP</i>)	29,9 ± 20,0	20,7 ± 16,0	18,9 ± 14,6	>0,05
Mulheres [% (n/n total)]	33,3% (5/15)	60% (9/15)	46,7% (7/15)	>0,05
Schistosoma mansoni				
Carga parasitária [mediana (IIQ)]	312 (276-504)	24 (12-24)	0	<0,0001
IMC	23,3 (21,3-25,1)	20,1 (17,0-22,0)	17,2 (16,0-20,2)	0,0285
Perfil bioquímico [mediana (IIQ)]				
TGO (U/L)	19,7 (16,9-25,9)	22,0 (18,4-34,0)	22,0 (19,8-26,3)	>0,05
TGP (U/L)	16 (9-20,3)	12 (7,5-17,5)	12 (9-17)	>0,05
GGT (U/L)	27,9 (22,5-38,8)	23,6 (15,0-37,8)	21,5(17,3-27,9)	>0,05

Fonte: Elaboração da autora

Os níveis de colesterol (COL), triglicerídeos (TRIG), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL) foram determinados nos indivíduos cujos soros foram submetidos à análise de lipidômica. As medianas obtidas foram: COL = 167 (137 - 188) mg/dL, TRIG = 112 (91 - 147) mg/dL, LDL = 44,66 (33,11 - 63,14) mg/dL e HDL = 17,36 (14 - 24,64) mg/dL (Tabela 4). Os valores de COL e TRIG estavam dentro da faixa dos valores de referência. Não houve diferença nos níveis de COL, TRIG e HDL entre os grupos testados (Figura 9). Só foi possível testar os níveis de LDL em 5 indivíduos do grupo NegE.

Tabela 4 - Dosagens bioquímicas nos indivíduos que foram submetidos à análise de lipidômica

Perfil bioquímico [mediana (IIQ)] *	População geral (n = 45)
COL	167 (137 - 188)
TRIG	112 (91 - 147)
HDL	17,36 (14 - 24,64)
LDL**	44,66 (33,11 - 63,14)

*IIQ – Intervalo Interquartil (Primeiro -Q1 e terceiro -Q3 quartil)

** Dosagem realizada em 35/45 indivíduos

Fonte: Elaboração da autora

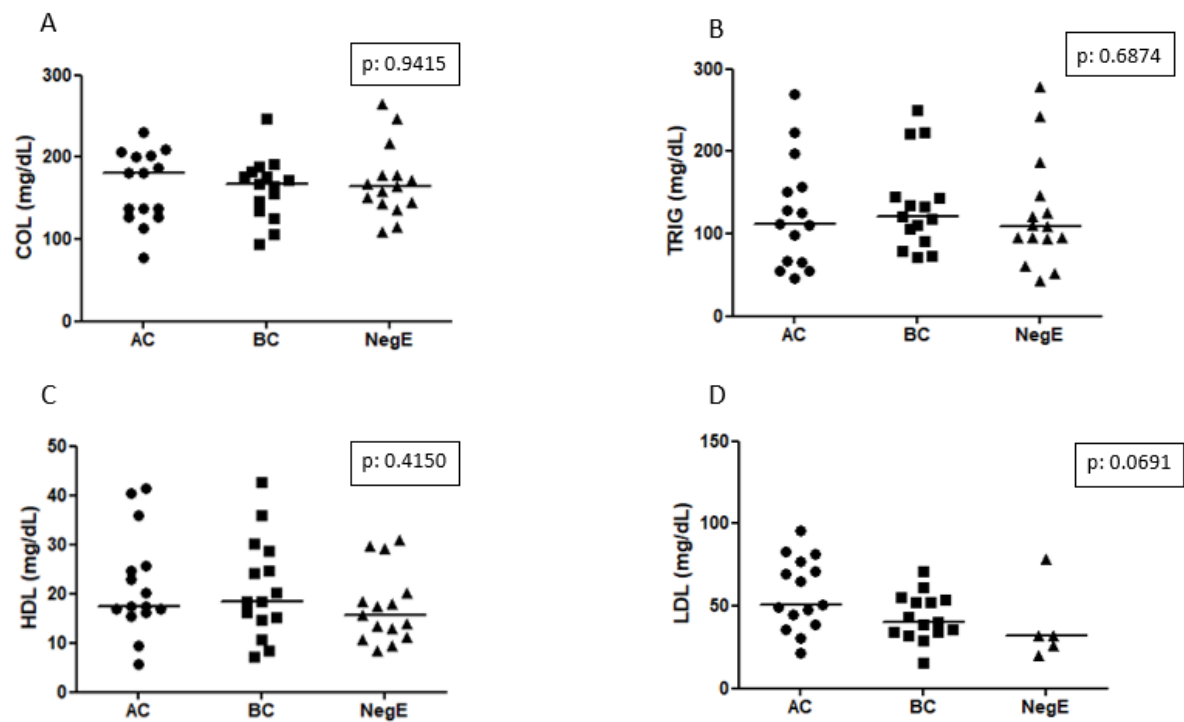


Figura 9 - Concentração das dosagens bioquímicas COL (A), TRIG (B), HDL (C) e LDL (D) em relação a cada grupo do estudo no período D0.

Fonte: Elaboração da autora

O perfil lipidômico da população de estudo foi determinado a partir da análise de seis subclasses de fosfolipídios, cinco de esfingolipídios e quatro de glicerídeos (que inclui os gliceróis e os ácidos graxos livres (FFA)) (Figura 9). Os fosfolipídios que apresentaram maior abundância relativa, foram fosfatilcolina (PC) e o fosfatidiletanolamina (PE), porém não apresentaram diferenças importantes entre os grupos de alta carga (AC), baixa carga (BC) e o grupo controle (NegE). Entre os esfingolipídios, a subclasse Hexosilceramida (HexCer) foi o que mais se destacou, mas também sem diferença aparente. O FFA foi a subclasse mais abundante que os TAGs e DAGs (Figura 10).

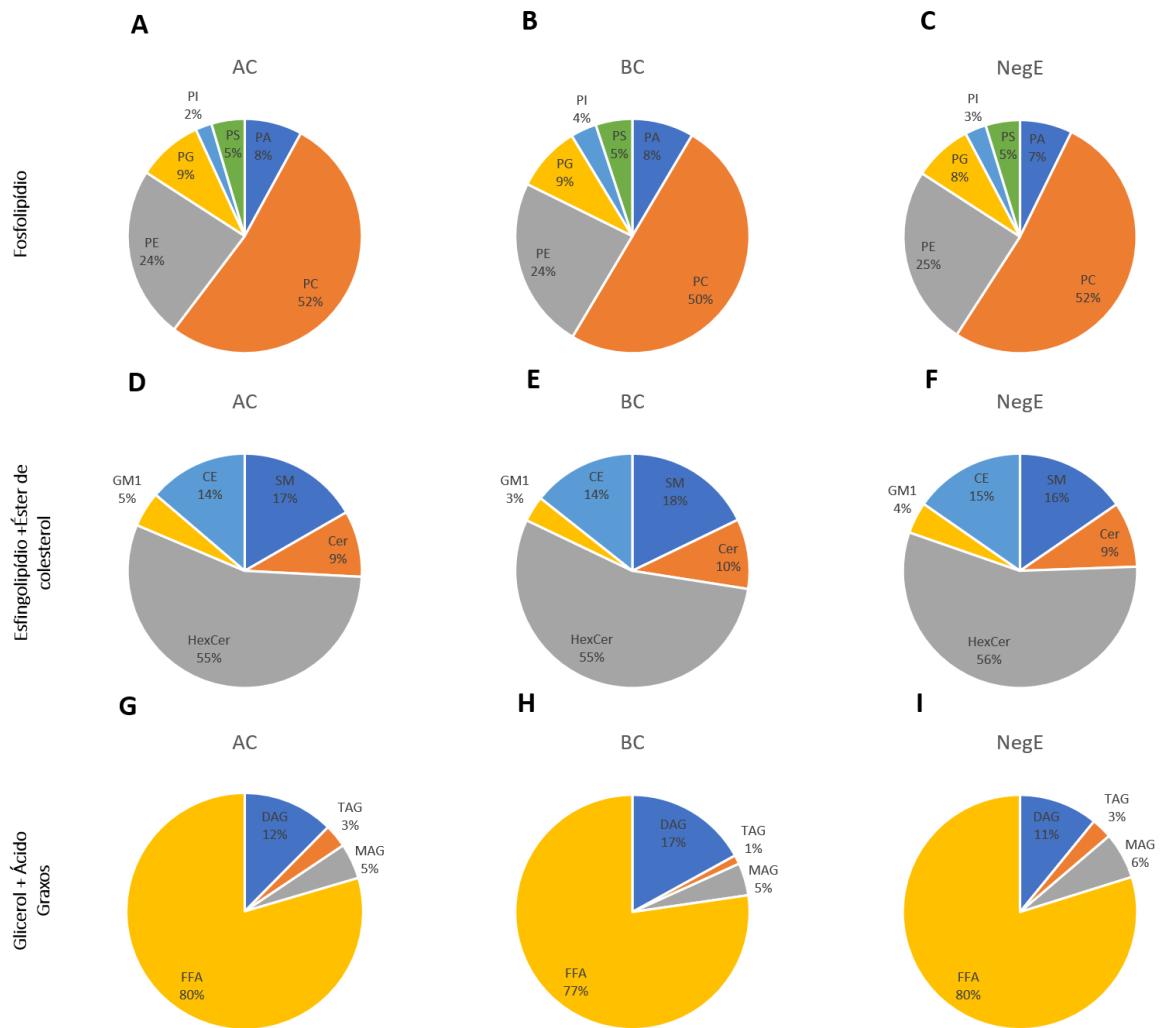


Figura 10 - Abundância relativa das subclasses de lipídios, sendo eles Fosfolipídio (A, B e C), Esfingolipídios e Éster de colesterol (D, E e F) e Glicerídeos e Ácidos graxos (G,H e I). Demonstrado separadamente para cada grupo do estudo, Alta carga (AC), Baixa Carga (BC) e negativos (NegE).

Fonte: Elaboração da autora

Análises de componentes principais (PCA) foram realizadas para cada uma das famílias lipídicas estudadas e mostrou clara sobreposição dos diferentes grupos de indivíduos, sugerindo que alterações nos níveis de lipídios dessas famílias não foi suficiente para distinguir indivíduos com diferentes cargas parasitárias e não infectados (Figura 11).

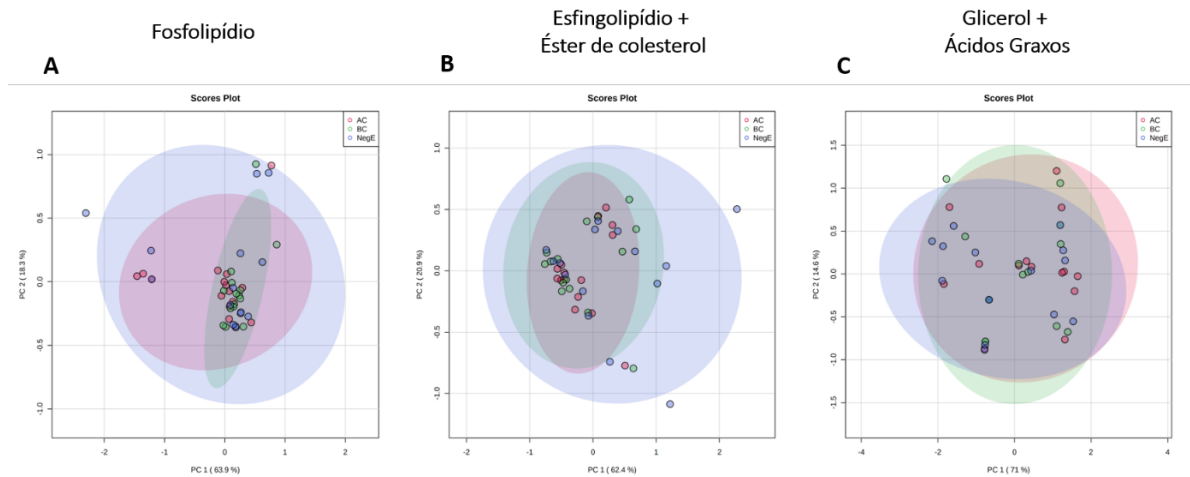


Figura 11 - Análise de PCA das classes de lipídios, sendo eles, Fosfolipídio (A), Esfingolipídio e colesterol éster (B) e Glicerídeos e Ácido graxo (C), mostrando a variação nos grupos do estudo.

Fonte: Elaboração da autora

Em seguida, realizamos uma análise de *fold change* para identificar as espécies de lipídios cuja abundância variaram entre pares: BC \rightarrow AC, NegE \rightarrow AC e NegE \rightarrow BC. Este tipo de análise permite identificar os lipídios que estão aumentados (Up) ou diminuídos (down) entre os grupos. O número de lipídios cuja abundância variou entre os grupos avaliados estão representados nos diagramas de venn figura 12.

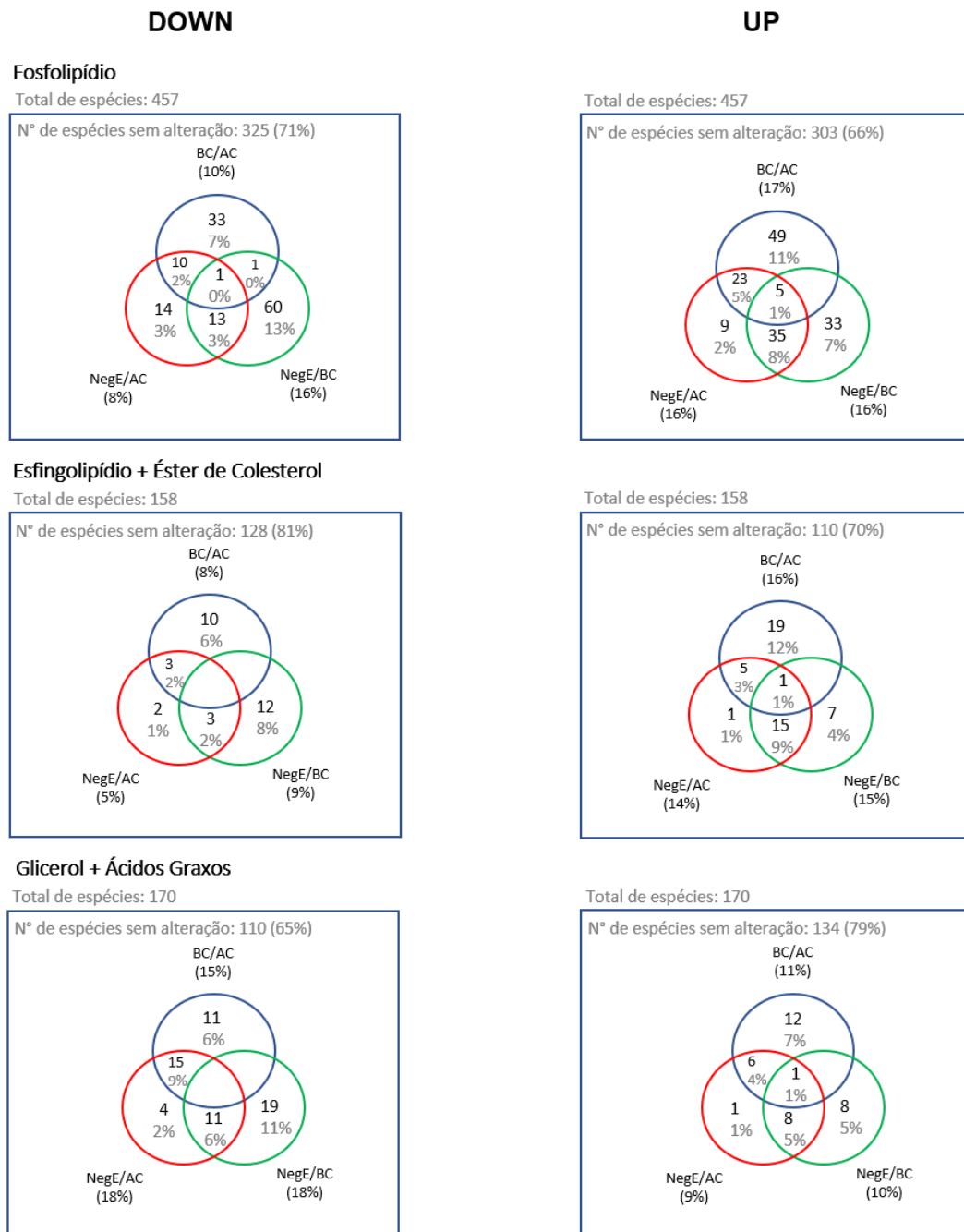


Figura 12 - Diagrama de Venn com o número de espécies de lipídios cuja abundância variou significativamente nas análises de fold change, e entre os grupos de carga parasitária. Os dados foram separados entre as espécies que se mostraram down e up regulados.

Fonte: Elaboração da autora

A partir dos diagramas de venn, elaboramos heatmaps com as espécies de lipídios que se encontravam na intercessão entre $BC \rightarrow AC$, $NegE \rightarrow AC$, levando em consideração que a patologia da esquistossomose está diretamente associada a carga parasitária (VITORINO, 2012). Assim, esta análise representa os lipídios que, sistematicamente, estão alterados no grupo de participantes com alta carga parasitária, em comparação aos indivíduos sem

esquistossomose, ou com baixa carga parasitária, buscando verificar uma relação entre as vias metabólicas associadas à patologia da esquistossomose.

Com base nos diagramas de venn, 39 espécies de fosfolipídios, 9 de esfingolipídios e 22 de glicerídeos tiveram seus níveis de expressão sistematicamente alterados no grupo AC. O agrupamento dessas espécies lipídicas está representado nos hetmaps da figura 13. Na figura 13 é possível identificar 21 fosfolipídios cujas concentrações inferiores em indivíduos com AC, quando comparado aos grupos de BC e aos NegE. Observou-se também que 12 (57%) dessas espécies fazem parte da subclasse PI. Em relação aos esfingolipídios e ao éster de colesterol, não foram observado nenhum padrão de variação nas concentrações de espécie de lipídios que diferenciasse significativamente os grupos (Figura 13.B). Na Figura 13 C, 14 espécies de lipídios exibiram concentrações altas no grupo de AC quando equiparado aos demais, desses, 9 (64%) pertencem a subclasse TAG.

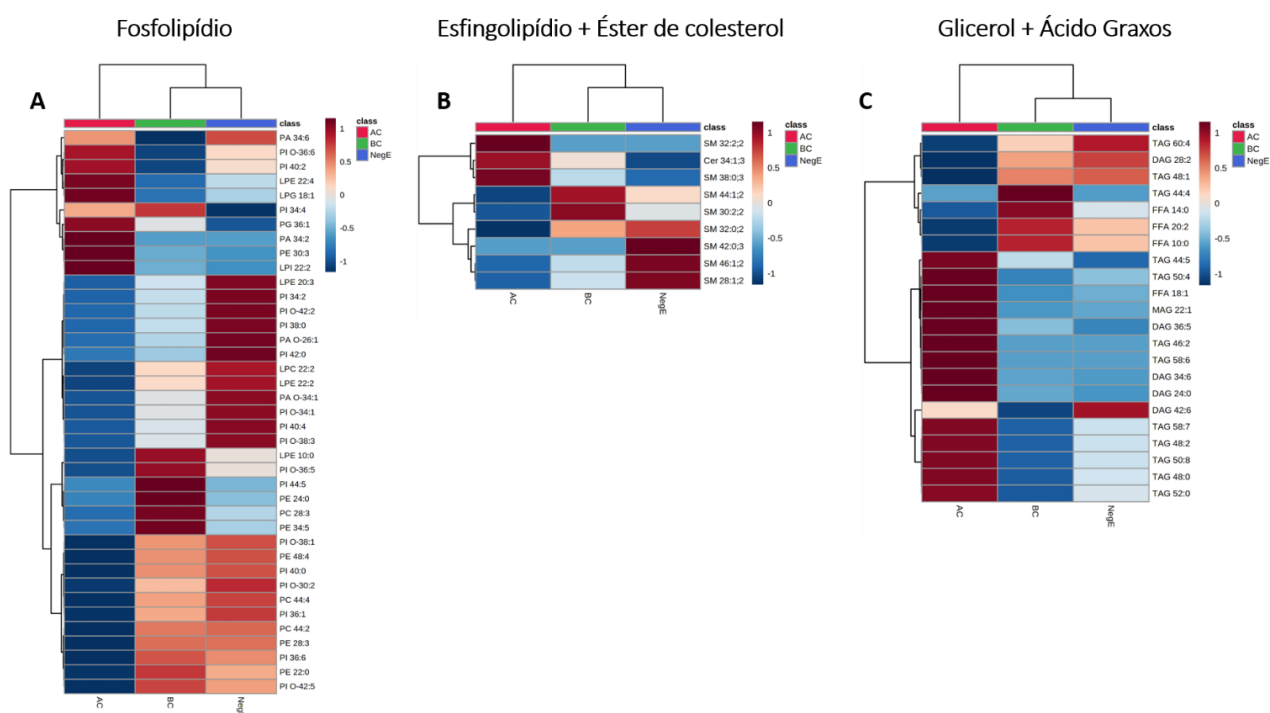


Figura 13 - Mapa de calor das espécies de lipídios das classes fosfolipídios (A), esfingolipídios e éster de colesterol (B) e Glicerídeos e ácidos graxos (C), no qual demonstraram mudanças significativas em análises do fold change quando comparadas entre os grupos de alta carga (vermelho), baixa carga (verde) e negativos (azul). A expressão é demonstrada com azul escuro (baixa expressão) e com vermelho escuro (alta expressão).

Fonte: Elaboração da autora

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, realizamos uma análise abrangente sobre as enzimas hepáticas e o perfil lipidômico em indivíduos moradores de área endêmica para *Schistosoma mansoni*.

Algumas enzimas hepáticas são utilizadas para auxiliar no diagnóstico de doenças com comprometimento hepático, como as transaminases TGO e TGP. Estas enzimas são encontradas em grande quantidade nas células do fígado, sendo as alterações das concentrações plasmáticas possíveis indicadores de lesão hepática. Na infecção acarretada pelo *S. mansoni*, em alguns casos, alterações das transaminases podem ser identificadas durante o processo inflamatório e auxiliar para determinar grau de evolução da doença (LEROY, 2008). Além das enzimas citadas acima, os níveis séricos de gama glutamil transferase (GGT) se mostra alterado em indivíduos portadores da esquistossomose, principalmente quando existe a presença de granuloma (LEITE et al., 2015).

As alterações clínicas da esquistossomose, estão associadas à localização do parasita, do mecanismo utilizado pelo sistema imune do hospedeiro para combater a infecção e pela carga parasitária. A principal imunopatologia é a formação do granuloma em volta dos ovos do parasita, no qual induz uma intensa resposta imune, que resulta nas manifestações clínicas (DUNNE; PEARCE, 1999; BRASIL, 2014).

Essas complicações trazem consigo alterações dos níveis séricos hepáticos, e neste estudo não identificamos associação importante entre concentrações séricas de transaminases e carga parasitária da esquistossomose. Entretanto, ao correlacionar a carga parasitária do *S. mansoni* com a enzima GGT, foi possível observar uma correlação positiva. Alguns estudos têm demonstrado níveis elevados de GGT em pacientes com a forma hepatoesplênica da doença (OLIVEIRA; PAULO; E., 2000; AMARAL et al., 2002; MORAIS et al., 2010). Apesar dos dados de saúde dos participantes totais ser bom, é importante ficar atento à possível evolução da esquistossomose naqueles com níveis de GGT mais elevados.

Outros fatores interferem nos níveis séricos de GGT, como o álcool. Em um estudo realizado em pacientes com forma hepatointestinal da esquistossomose e grupo controle sadio, os níveis de GGT não demonstram mudanças significativas após o consumo de álcool, sugerindo que o mecanismo pelo aumento de GGT seja diferente em pacientes com *S. mansoni* e aqueles que fazem ingestão crônica de álcool (MARTINS; BORGES, 1993). Além do álcool, a fibrose também pode provocar alterações nos níveis de GGT, devido a compressão biliar provocada pela formação de granuloma ao redor do ovo (LEITE et al., 2015). Com isso, são necessários estudos mais aprofundados para entender o mecanismo responsável pelo aumento de GGT.

A gravidade da esquistossomose varia de acordo com a carga parasitaria, podendo promover graves manifestações, principalmente em longos períodos de infecção e reinfecção (FERREIRA, 2012). O fígado que é o órgão responsável pela síntese de proteínas, carboidratos e lipídios é o mais acometido, quando inicialmente ocorre um dano hepático as células se regeneram e aquelas que sofreram apoptose ou necrose são substituídas, porem quando o dano é constante, o mecanismo de recuperação do tecido falha e eventualmente, na tentativa de reparar o dano, o organismo entra em um quadro caracterizado como fibrose (ANDRADE, 2005). Desta forma, o comprometimento hepático durante a infecção gera um distúrbio na homeostase, principalmente nas suas funções vitais, como o metabolismo lipídico no organismo (FACUNDO et al., 2004).

Estudos realizados em modelos experimentais e em humanos infectados pelo *Schistosoma* tem mostrado níveis séricos de colesterol (COL) e lipoproteína de baixa densidade (LDL) diminuídos e níveis de triglicerídeos (TRIG) em indivíduos em estágios mais avançado da doença, na forma hepatointestinal e hepatoesplênica (LEVY et al., 2000; BLANCHARD, 2004; LA FLAMME et al., 2007). Estes dados corroboram com a ideia de que o comprometimento hepático observado na esquistossomose, especialmente nas formas mais graves com elevada carga parasitaria, interferem no metabolismo lipídico de um modo geral. Entretanto, no presente estudo, não identificamos alterações significativas nos níveis séricos de COL, LDL e TRIG entre indivíduos negativos ou com baixa e alta carga parasitária do *S. mansoni*. Uma possível explicação para este comportamento, poderia ser o fato desta ser uma população que reside em uma área hiperendêmica, em contato constante com o parasita presente nas coleções hídricas contaminadas, repetindo ciclos de infecção-reinfecção. Considerando este cenário, decidimos avançar no estudo do metabolismo de lipídios de indivíduos com esquistossomose, realizando desta vez uma avaliação mais robusta e completa do estudo de lipidômica.

A análise de lipidômica realizada permitiu categorizar as espécies de lipídios em três grandes famílias: fosfolipídios, esfingolipídios mais éster de colesterol e glicerois e ácidos graxos livres. Cada uma destas famílias pôde ser classificada em subclasses, sendo 6 subclasses para fosfolipídios, 5 subclasses para esfingolipídios e éster de colesterol e 4 subclasses para glicerois e ácidos graxos livres. O método utilizado permitiu identificar a contribuição percentual de cada espécie de lipídio dentro de cada subclasse e esta abordagem foi realizada para comparar o perfil lipidômico de indivíduos com alta carga parasitária, mais propensos a apresentar maior comprometimento hepático, com o perfil de indivíduos com baixa carga ou negativos.

Inicialmente, identificamos uma distribuição proporcional de subclasses semelhantes entre os indivíduos com alta carga e aqueles negativos ou com baixa carga. Considerando a abundância relativa das subclasses de fosfolipídios, observamos uma predominância de fostatidilcolina (PC) em todos os grupos, achado semelhante a estudo realizado em onze pacientes do sexo feminino que estavam infectadas pelo *S. mansoni*, no qual foram submetidas a esplenectomia para verificar alterações do perfil lipídico (COELHO; GILLETT, 1979). Além disso, a hexosilceramida (HexCer) também se destacou dentre as subclasses dos esfingolipídios e éster de colesterol em todos os grupos avaliados. Estudo realizado em pacientes infectados pelo vírus da hepatite C (HCV), que apresentava fibrose grave (KRAUTBAUER et al., 2017), também demonstraram um predomínio da subclasse HexCer. Em relação à família de gliceróis e ácidos graxos livres, nosso estudo demonstrou um predomínio relativo de ácidos graxos livres (FFA), lipídio que se mostra importante para produção dos ovos de *S. mansoni* (BEXKENS et al., 2019).

Apesar das subclasses PC, HexCer e FFA terem demonstrado predominância quando avaliamos a distribuição proporcional das subclasses de uma maneira geral, quando aprofundamos, a subclasse de fosfolipídio, fosfatidilinositol (PI) e a subclasse de gliceróis e ácidos graxos livres, triacilglicerol (TAG) se destacaram. PI e TAG quando comparadas as demais subclasses, estavam em último lugar de importância quando identificamos a distribuição proporcional das subclasses, sendo PI (3%) e TAG (2%), porém quando avaliamos as espécies de cada subclasse, PI (57%) e TAG (64%) se sobressaíram em quantidade de espécies que se mostraram alterados quando comparado o grupo de alta carga em relação a baixa carga e negativo.

Em relação às subclasses de fosfolipídios, observamos que as espécies de PI estão diminuídas no grupo de indivíduos que apresentam alta carga parasitária quando comparada aos demais grupos. Estes dados sugerem que PI esteja sendo mais consumido em indivíduos com alta carga parasitária. Tem sido demonstrado que após a hidrólise da PI, os seus fragmentos são capazes de ativar a proteína quinase C (PKC), na qual regula muitas funções celulares do verme, principalmente na cercaria e no verme adulto, sendo uma delas, a manutenção da integridade do tegumento e consequente persistência da infecção (KAIBUCHI et al., 1986; WIEST; KUNZ; MILLER, 1994; WERA; BERGSMA; THEVELEIN, 2001; FERREIRA et al., 2014).

Outra subclasse que tem importância para a sobrevivência dos vermes são os triacilgliceróis (TAG) da família de gliceróis e ácidos graxos livres. Os ácidos graxos são um requisito para a produção de ovos. As fêmeas adultas necessitam de energia e uma quantidade

de ácidos graxos, realizando assim, uma absorção diária maior quando comparada ao macho. O *S. mansoni* não é capaz de sintetizar os ácidos graxos, dessa forma são retirados do meio ambiente e são armazenados como TAG (MEYER; MEYER; BUEDING, 1970; SAZ, 1970; RUMJANEK; SIMPSON, 1980; NEWPORT; WELLER, 1982; FRAYHA; SMYTH, 1983; MACGREGOR; KUSEL, 1989; CHEEVER et al., 1994; BROUWERS et al., 1997; BEXKENS et al., 2019). Corroborando com o achado do presente estudo, onde foi observado aumento nas concentrações de algumas espécies de TAG em indivíduos que apresentam alta carga quando comparado aos outros grupos.

No geral, as análises sugerem que o consumo de PI e o aumento da produção de TAG, podem estar associadas a persistência da infecção e com estudos mais profundos seja possível assim definir talvez um biomarcador de infecções graves. Com isso, torna-se necessário realizar novos estudos que investiguem melhor o perfil lipidômico em humanos.

7 CONSIDERAÇÃO FINAIS

A elevada carga parasitária da infecção pelo *S. mansoni* causa alterações séricas de várias espécies de fosfatidilinositol e de ácidos graxos livres, sugerindo uma perturbação do metabolismo lipídico, provavelmente causada pelas exigências para a produção dos ovos de *S. mansoni* e possivelmente pelos danos hepáticos durante a infecção. Este conhecimento pode ser utilizado para o desenvolvimento de novos biomarcadores para a progressão da doença, ou mesmo para ajudar a uma melhor compreensão da patogênese e vias metabólicas alteradas durante a esquistossomose. Com isso, se faz necessário realizar novas análises, com outros períodos para realizar uma comparação de dados, pós tratamento e depois de um ano com outros parâmetro e assim, trazer informações cada vez mais precisa.

REFERÊNCIAS

- A., M. Metabolismo hepatocelular dos lipídeos: Uma abordagem clínica e histopatológica do acúmulo intracelular de lipídeos (esteatose) do parênquima hepático induzida pelo álcool. **Ciênc. Biol. Saúde**. 12: 55-59 p. 2010.
- ADEYEMI, J. A. et al. Phospholipids modifications in human hepatoma cell lines (hepg2) exposed to silver and iron oxide nanoparticles. **Arch Toxicol**, v. 94, n. 8, p. 2625-2636, 2020.
- AMARAL, A. C. et al. [serum gamma-glutamyltransferase alteration in hepatic schistosomiasis doesn't correlate with parasitic load and precedes ultrasound alterations]. **Arq Gastroenterol**, v. 39, n. 1, p. 27-31, 2002.
- ANDRADE, Z. A. [regression of hepatic fibrosis]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 38, n. 6, p. 514-520, 2005.
- ARAUJO, M. S. et al. Population ecology of the blue crab *Callinectes danae* (Crustacea: Portunidae) in a Brazilian tropical estuary. **An Acad Bras Cienc**, v. 84, n. 1, p. 129-138, 2012.
- BARRETO, A. V. et al. New index for the diagnosis of liver fibrosis in schistosomiasis mansoni. **Arq Gastroenterol**, v. 54, n. 1, p. 51-56, 2017.
- BEXKENS, M. L. et al. *Schistosoma mansoni* does not and cannot oxidise fatty acids, but these are used for biosynthetic purposes instead. **Int J Parasitol**, v. 49, n. 8, p. 647-656, 2019.
- BLANCHARD, T. J. Schistosomiasis. **Travel Med Infect Dis**, v. 2, n. 1, p. 5-11, 2004.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Esquistossomose Disponível em: <[https://www.Ministério da saúde.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/e/esquistossomose](https://www.Ministério_da_saúde.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/e/esquistossomose)>. Acesso em: Date Accessed
- _____. Núcleo regional de saúde sudoeste. Ministério da saúde. **Boletim Epidemiológico**, 2020.
- _____. Vigilância da esquistossomose mansoni: Diretrizes técnicas. Brasília: Ministério da Saúde: 144 p. 2014.
- _____. Doenças tropicais negligenciadas:> 30 de janeiro – Dia mundial de combate às Doenças tropicais negligenciadas. **Boletim Epidemiológico**, Número Especial, mar. 2021 disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2021/boletim_especial_doencas_negligenciadas.pdf/view>.
- BROUWERS, J. F. et al. The incorporation, modification and turnover of fatty acids in adult *Schistosoma mansoni*. **Mol Biochem Parasitol**, v. 88, n. 1-2, p. 175-185, 1997.
- CHEEVER, A. W.; HOFFMANN, K. F.; WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunol Today**, v. 21, n. 9, p. 465-466, 2000.

CHEEVER, A. W. et al. Kinetics of egg production and egg excretion by schistosoma mansoni and s. Japonicum in mice infected with a single pair of worms. **Am J Trop Med Hyg**, v. 50, n. 3, p. 281-295, 1994.

COELHO, L. C.; GILLET, M. P. The effect of splenectomy on plasma phosphatidylcholine-cholesterol acyltransferase activity and blood lipids in human schistosomiasis mansoni [proceedings]. **Biochem Soc Trans**, v. 7, n. 5, p. 988-990, 1979.

COUTINHO-ABATH, E.; BARBOSA, J. M.; AMARAL, J. A. [biochemical changes in human mansonic schistosomiasis, with special reference to lipid metabolism]. **Rev Bras Malariol Doencas Trop**, v. 17, n. 2, p. 293-307, 1965.

DE JESUS, A. R. et al. Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni. **J Infect Dis**, v. 185, n. 1, p. 98-105, 2002.

DONNELLY, S. et al. Helminth 2-cys peroxiredoxin drives th2 responses through a mechanism involving alternatively activated macrophages. **FASEB J**, v. 22, n. 11, p. 4022-4032, 2008.

DUNNE, D. W.; PEARCE, E. J. Immunology of hepatosplenic schistosomiasis mansoni: A human perspective. **Microbes Infect**, v. 1, n. 7, p. 553-560, 1999.

FACUNDO, H. T. et al. Elevated levels of erythrocyte-conjugated dienes indicate increased lipid peroxidation in schistosomiasis mansoni patients. **Braz J Med Biol Res**, v. 37, n. 7, p. 957-962, 2004.

FERREIRA, M. S. et al. Screening the life cycle of schistosoma mansoni using high-resolution mass spectrometry. **Anal Chim Acta**, v. 845, n., p. 62-69, 2014.

FERREIRA, M. U. [contemporary parasitology]. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012

FRAYHA, G. J.; SMYTH, J. D. Lipid metabolism in parasitic helminths. **Adv Parasitol**, v. 22, n., p. 309-387, 1983.

GIERA, M. et al. The schistosoma mansoni lipidome: Leads for immunomodulation. **Anal Chim Acta**, v. 1037, n., p. 107-118, 2018.

GILLET, M. P.; OWEN, J. S.; COUTINHO, A. Plasma free and esterified cholesterol in schistosomiasis mansoni. **Lancet**, v. 2, n. 7992, p. 971, 1976.

GOMES, A. C. et al. [prevalence and worm burden of schistosomiasis mansoni before and after collective treatment in jaboatao dos guararapes, pernambuco, brazil]. **Epidemiol Serv Saude**, v. 25, n. 2, p. 243-250, 2016.

GRYSEELS, B. et al. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106-1118, 2006.

JONAS, A. Lecithin cholesterol acyltransferase. **Biochim Biophys Acta**, v. 1529, n. 1-3, p. 245-256, 2000.

JORDÃO, M. C. et al.. characterization of the epidemiological profile of schistosomiasis in the state of alagoas. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 2, n., p. 175-188, 2014.

JOSHI, T. N. et al. Spinal schistosomiasis: Differential diagnosis for acute paraparesis in a u.S. Resident. **J Spinal Cord Med**, v. 33, n. 3, p. 256-260, 2010.

KAIBUCHI, K. et al. Possible involvement of ras-encoded proteins in glucose-induced inositolphospholipid turnover in *saccharomyces cerevisiae*. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 83, n. 21, p. 8172-8176, 1986.

KATZ, N. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Cienc. Cult.** 55: 38-43 p. 2003.

_____. Inquerito nacional de prevalencia da esquistossomose mansoni e geo-helmintoses **CPqRR** 2018.

KHOVIDHUNKIT, W. et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: Mechanisms and consequences to the host. **J Lipid Res**, v. 45, n. 7, p. 1169-1196, 2004.

KHOVIDHUNKIT, W. et al. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. **J Infect Dis**, v. 181 Suppl 3, n., p. S462-472, 2000.

KRAUTBAUER, S. et al. Associations of systemic sphingolipids with measures of hepatic function in liver cirrhosis are related to cholesterol. **Prostaglandins Other Lipid Mediat**, v. 131, n., p. 25-32, 2017.

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

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Genital schistosomiasis mansoni: Tubal tumor and parietal peritoneum involvement diagnosed during laparoscopy. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 42, n. 5, p. 583-586, 2009.

LEITE, L. A. et al. Splenectomy improves hemostatic and liver functions in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0135370, 2015.

LENZI, H. L. et al. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: Morphogenetic and biomechanical approaches. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 93 Suppl 1, n., p. 141-151, 1998.

LENZI, H. L. et al. Extracellular matrix in parasitic and infectious diseases. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 86 Suppl 3, n., p. 77-90, 1991.

LEROY, V. Other non-invasive markers of liver fibrosis. **Gastroenterol Clin Biol**, v. 32, n. 6 Suppl 1, p. 52-57, 2008.

LEVY, E. et al. Altered lipid profile, lipoprotein composition, and oxidant and antioxidant status in pediatric crohn disease. **Am J Clin Nutr**, v. 71, n. 3, p. 807-815, 2000.

- LIMA, V. L. et al. Characterization and potential uses of rabbit polyclonal antibodies against human plasma lecithin-cholesterol acyltransferase. **Braz J Med Biol Res**, v. 29, n. 8, p. 957-968, 1996.
- MACGREGOR, A. N.; KUSEL, J. R. Isolation and characterisation of a surface membrane glycoprotein from adult schistosoma mansoni. **Mol Biochem Parasitol**, v. 34, n. 3, p. 237-244, 1989.
- MARTEL, C. et al. Non-alcoholic steatohepatitis: New insights from omics studies. **Curr Pharm Biotechnol**, v. 13, n. 5, p. 726-735, 2012.
- MARTINS DA FONSECA, C. S. et al. Human plasma lipid modulation in schistosomiasis mansoni depends on apolipoprotein e polymorphism. **PLoS One**, v. 9, n. 7, p. e101964, 2014.
- MARTINS JR., D. F., BARRETO, MAURÍCIO L. Aspectos macro-epidemiológicos da esquistossomose mansônica: Análise da relação da irrigação no perfil espacial da endemia no estado da bahia, brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. 19 2003.
- MARTINS, R. D.; BORGES, D. R. Ethanol challenge in non-alcoholic patients with schistosomiasis. **J Clin Pathol**, v. 46, n. 3, p. 250-253, 1993.
- MCMANUS, D. P. et al. Schistosomiasis. **Nat Rev Dis Primers**, v. 4, n. 1, p. 13, 2018.
- MENTINK-KANE, M. M. et al. Accelerated and progressive and lethal liver fibrosis in mice that lack interleukin (il)-10, il-12p40, and il-13alpha2. **Gastroenterology**, v. 141, n. 6, p. 2200-2209, 2011.
- MEYER, F.; MEYER, H.; BUEDING, E. Lipid metabolism in the parasitic and free-living flatworms, schistosoma mansoni and dugesia dorotocephala. **Biochim Biophys Acta**, v. 210, n. 2, p. 257-266, 1970.
- MORAIS, C. N. et al. Correlation of biological serum markers with the degree of hepatic fibrosis and necroinflammatory activity in hepatitis c and schistosomiasis patients. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 460-466, 2010.
- MOSMANN, T. R.; MOORE, K. W. The role of il-10 in crossregulation of th1 and th2 responses. **Immunol Today**, v. 12, n. 3, p. A49-53, 1991.
- MULLER, E. et al. Effects on the neutral lipid contents of the liver, ileum and serum during experimental schistosomiasis. **Int J Parasitol**, v. 31, n. 3, p. 285-287, 2001.
- MUTAPI, F. et al. Human schistosomiasis in the post mass drug administration era. **Lancet Infect Dis**, v. 17, n. 2, p. e42-e48, 2017.
- NEWPORT, G. R.; WELLER, T. H. Miracidia infective for snails derived from eggs laid by adult schistosoma mansoni in vitro. **Parasitology**, v. 84, n. Pt 3, p. 481-490, 1982.
- NYAME, A. K. et al. Antibody responses to the fucosylated lacdinac glycan antigen in schistosoma mansoni-infected mice and expression of the glycan among schistosomes. **Exp Parasitol**, v. 96, n. 4, p. 202-212, 2000.

- OLIVEIRA, I. M. V.; PAULO, R. H. Y.; E., F. [effect of energy restriction on hepatic gamma-glutamyl transpeptidase activity and glutathione levels]. **Revista Nutri.**, v. 13, n. 1, p. 51-56, 2000.
- PEARCE, E. J. et al. Downregulation of th1 cytokine production accompanies induction of th2 responses by a parasitic helminth, schistosoma mansoni. **J Exp Med**, v. 173, n. 1, p. 159-166, 1991.
- PORDEUS, L. C. A., L. R; QUININO, L. R. M; BARBOSA, C. S. . A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no brasil no período de 1997 a 2006: Uma revisão de literatura. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. 17 2008.
- QUEIROZ, A. et al. Lipidomic analysis reveals serum alteration of plasmalogens in patients infected with zika virus. **Front Microbiol**, v. 10, n., p. 753, 2019.
- RAMOS, T. M. et al. [alterations in cholesterol, triglyceride and total phospholipid levels in plasma of callithrix jacchus (sagui) reinfected by schistosoma mansoni]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 37, n. 1, p. 37-40, 2004.
- ROCHA, T. J. M. S. M. C. S. L., M. V. M.; CALHEIROS, C. M. L.; WANDERLEY F. S. . Aspectos epidemiológicos e distribuição dos casos de infecção pelo schistosoma mansoni em municípios do estado de alagoas. **Brasil. Rev Pan-Amaz Saude**. 7: 27-32 p. 2016.
- RUMJANEK, F. D.; SIMPSON, A. J. The incorporation and utilization of radiolabelled lipids by adult schistosoma mansoni in vitro. **Mol Biochem Parasitol**, v. 1, n. 1, p. 31-44, 1980.
- SALES, R. L. P., M.C.G.; COST A, N.M.B. Lipoproteínas: Uma revisão do seu metabolismo e envolvimento com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. **Soc. Bras. Alim. Nutr . = J. Brazilian Soc. Food Nut**. 25: 71-86 p. 2003.
- SANTOS, R. D.; SOCIEDADE BRASILEIRA DE, C. [iii brazilian guidelines on dyslipidemias and guideline of atherosclerosis prevention from atherosclerosis department of sociedade brasileira de cardiologia]. **Arq Bras Cardiol**, v. 77 Suppl 3, n., p. 1-48, 2001.
- SAZ, H. J. Comparative energy metabolisms of some parasitic helminths. **J Parasitol**, v. 56, n. 4, p. 634-642, 1970.
- SILVA, F. L. D. et al. Alterations in the lipid profiles and circulating liver enzymes in individuals infected by schistosoma mansoni. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 51, n. 6, p. 795-801, 2018.
- SIMONS, K.; IKONEN, E. How cells handle cholesterol. **Science**, v. 290, n. 5497, p. 1721-1726, 2000.
- STEINBERG, M. S. Adhesion in development: An historical overview. **Dev Biol**, v. 180, n. 2, p. 377-388, 1996.
- TAM, V. C. Lipidomic profiling of bioactive lipids by mass spectrometry during

microbial infections. **Seminars in Immunology**. 25: 240-248 p. 2013.

TELLI, E. M. R. P.; FRIGERI, M.; MELLO, S. R. [evaluation of hepatic enzyme activity in dependent, ex-dependent and non-users of ethanol]. **Rev. Brasileira de Analises Clinicas**, v. 48, n. 3, p. 245-252, 2016.

VAN REMOORTERE, A. et al. Profiles of immunoglobulin m (igm) and igg antibodies against defined carbohydrate epitopes in sera of schistosoma-infected individuals determined by surface plasmon resonance. **Infect Immun**, v. 69, n. 4, p. 2396-2401, 2001.

VITORINO, R. R. S., F. P. C.; COSTA, A. P.; FARIA JÚNIOR, F. C.; SANTANA, L. A.; GOMES, A. P. Esquistossomose mansônica: Diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. . **Rev Bras Clin Med**. 10: 39-45 p. 2012.

WERA, S.; BERGSMA, J. C.; THEVELEIN, J. M. Phosphoinositides in yeast: Genetically tractable signalling. **FEMS Yeast Res**, v. 1, n. 1, p. 9-13, 2001.

WIEST, P. M.; KUNZ, S. S.; MILLER, K. R. Activation of protein kinase c by phorbol esters disrupts the tegument of schistosoma mansoni. **Parasitology**, v. 109 (Pt 4), n., p. 461-468, 1994.

WYNN, T. A. et al. Il-10 regulates liver pathology in acute murine schistosomiasis mansoni but is not required for immune down-modulation of chronic disease. **J Immunol**, v. 160, n. 9, p. 4473-4480, 1998.

ZINSOU, J. F. et al. Schistosoma haematobium infection is associated with lower serum cholesterol levels and improved lipid profile in overweight/obese individuals. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 14, n. 7, p. e0008464, 2020.

ZULLIG, T.; TROTZMULLER, M.; KOFELER, H. C. Lipidomics from sample preparation to data analysis: A primer. **Anal Bioanal Chem**, v. 412, n. 10, p. 2191-2209, 2020.

Anexo A - Termo de Consentimento Livro e Esclarecido (Adulto)

INSTITUTO GONÇALO MONIZ – FIOCRUZ-BA
LABORATÓRIO DE PATOLOGIA EXPERIMENTAL
 Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal CEP: 40296-710 – Salvador - BA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: Avaliação de saúde de uma população rural do estado da Bahia.

Nome do Participante:

Número de identificação do Participante:

Convite e Objetivo: Você está sendo convidado(a) a participar de um estudo chamado “Avaliação de saúde de uma população rural do estado da Bahia”. Outros estudos feitos antes nesta mesma região mostraram que verminoses, incluindo a esquistossomose, mais conhecida como *Xistose*, além de problemas relacionados a alimentação são alguns dos problemas de saúde observados nos moradores desta região. Além disso, nos últimos anos muitas pessoas de grandes cidades do nordeste do Brasil adoeceram com dengue, chikungunya e zika, doenças que são transmitidas por mosquitos, mas não se sabe ainda se estas mesmas doenças chegaram em áreas rurais, como esta onde você mora. Sendo assim, o objetivo deste estudo é avaliar a presença de verminoses e estas doenças transmitidas por mosquitos, além de aspectos nutricionais e de qualidade de vida antes e após o tratamento para esquistossomose, além de testar um novo tipo de diagnóstico da *Xistose*, usando urina em vez de fezes.

Quantas pessoas vão participar deste estudo: Todas as 600 pessoas que moram nas regiões de Buri, Camarões e Jenipapo serão convidados a participar deste estudo, por serem estas as áreas identificadas com maior número de pessoas com *Xistose* no passado. Caso concorde em participar do estudo, você receberá os frascos coletores de fezes e de urina, que deverão ser devolvidos, para que possamos realizar os exames de fezes e de urina. Além disso, será coletado cerca de 15 ml de sangue (aproximadamente 1 colher de sopa) por profissional treinado e preparado para fazer coleta de sangue, com o auxílio agulhas descartáveis. Além disso, uma nutricionista treinada vai avaliar como está seu peso e sua alimentação e vai fazer algumas perguntas para avaliar outras características relacionadas à sua saúde. Depois disso, todos os moradores da região que aceitarem participar do estudo receberão remédio para verminoses. Caso concorde, faremos estas mesmas avaliações 30 dias, 6 meses e 1 ano após este tratamento da verminose.

Duração do Estudo: Sua participação neste estudo será de mais ou menos 1 ano. Neste período você será convocado em cinco diferentes momentos: o primeiro deles para fazer todos os exames e avaliações necessárias; o segundo será apenas para fazer o tratamento das verminoses; o terceiro encontro será 30 dias após o tratamento da *Xistose*, para avaliar se o tratamento foi capaz de matar a *Xistose*, através de exames de fezes e de sangue; o quarto momento será 6 meses após o tratamento, onde, além de avaliar a presença de verminoses, será realizada nova avaliação do seu peso, sua alimentação e da qualidade de vida; a quinta visita será feita 1 ano após o tratamento, e serão repetidas estas mesmas avaliações.

Riscos envolvidos no estudo:

Sua participação neste estudo trará possibilidade de poucos riscos. A coleta de sangue, por exemplo, é um procedimento médico de rotina e, em casos raros pode provocar dor leve, sangramento após a retirada da agulha ou formação de leve hematoma. Caso isso aconteça, todos os cuidados serão tomados por profissionais devidamente habilitados. Os tubos de sangue já estarão identificados com o seu código para evitar que seu nome seja visto por outras pessoas e trocas de amostras. Após a coleta do sangue venoso será aplicado um curativo no local da punção e serão fornecidas as devidas orientações para evitar sangramento ou manchas roxas. Além disso, será aplicado um questionário curto para avaliar a sua qualidade de vida. Para evitar possibilidade de constrangimento, as perguntas serão realizadas de forma profissional, apenas por integrante da equipe devidamente treinado e em local reservado. Em relação ao tratamento da *Xistose*, o remédio utilizado, apesar de normalmente não causar nenhum mal, pode, em alguns casos, causar tontura, enjoo, fraqueza, cansaço, dor na barriga ou coceira no corpo. Mas não se preocupe, estas reações normalmente são resolvidas em poucas horas. Mesmo assim, a médica responsável pelo seu tratamento, estará à disposição para te avaliar após o tratamento ou para esclarecer qualquer dúvida que tenha.

Retorno dos Benefícios para o Sujeito e para a Sociedade: Estudos que contribuem para o esclarecimento das condições de saúde de moradores de áreas rurais da Bahia ajudarão a entender quais os principais problemas de saúde e podem contribuir para a melhoria da saúde destas populações. Você não receberá benefícios diretos em participar deste estudo, entretanto, o conhecimento gerado a partir desta pesquisa poderá ajudar outras pessoas no futuro. Os participantes do estudo que estejam com vermes serão tratados gratuitamente. Todos os resultados dos exames realizados serão entregues a você. Além disso, você será orientado não apenas sobre os problemas de saúde que você possa ter, como também sobre problemas de saúde que você possa vir a ter no futuro, como por exemplo, as doenças causadas por mosquito, como a dengue, chikungunya e zika. Além disso, vamos procurar caramujos que transmitem a xistose em toda região, e vamos informar a você e a todos os moradores os locais onde encontramos os caramujos, para que você possa evitar, caso seja possível, contato com a água destes locais, para que não venha a ter xistose.


Confidencialidade: Todas as informações pessoais e dados médicos serão mantidos em confidencialidade, ou seja, em segredo. As informações médicas dos participantes deste estudo serão armazenadas de acordo com exigências legais. Qualquer informação obtida neste estudo será compartilhada apenas com outros membros da equipe ou com representantes do Comitê de Ética em Pesquisa da FIOCRUZ-BA. Os resultados serão divulgados na forma de comunicação científica, não permitindo a identificação individual dos participantes. Para proteger contra violação de informação ou falsificação as informações que forem cadastradas em computadores sofrerão seguintes precauções: todas as informações do banco de dados terão um código ao invés do seu nome, e as informações deste código serão mantidas em local seguro. O banco de dados será protegido por senha e apenas os membros da equipe de pesquisa têm esta senha.

Participação Voluntária e seus diretos: A sua participação no estudo é voluntária e você estará contribuindo para o melhor entendimento da xistose. Você é livre para recusar a participar do estudo, ou se retirar em qualquer época após o seu início sem afetar ou prejudicar a qualidade e a disponibilidade da assistência médica que lhe será prestada. Você poderá também se recusar a responder qualquer pergunta ou a fazer qualquer procedimento envolvido com a pesquisa. Você receberá assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário, em caso de danos decorrentes desta pesquisa. Você não terá custos com a

participação no estudo e nem receberá pagamento por sua participação. Você tem o direito a indenização frente a eventuais danos decorrentes de sua participação. Caso seja identificado em você qualquer problema de saúde, durante ou após o encerramento ou interrupção desta pesquisa, você será encaminhado para a devida assistência à saúde. Além disso, mesmo que você não queira participar deste estudo, você também terá acesso ao tratamento e ao acompanhamento de saúde que será oferecido aos moradores da região.

Esclarecimentos: Esta pesquisa será desenvolvida de acordo com a Resolução CNS nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Qualquer dúvida que você tenha sobre o que está escrito neste consentimento ou sobre os procedimentos que constam nesse projeto de pesquisa, poderá entrar em contato com Dr. Ricardo Riccio Oliveira, coordenador do projeto, com Dra. Isadora Cristina de Siqueira, vice coordenadora do projeto e médica responsável pelo tratamento dos participantes, ambos pesquisadores do Instituto Gonçalo Moniz – FIOCRUZ-BA, Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA CEP: 40296-710, tel.: (71) 3176-2200, ramais: 347 ou 466, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da FIOCRUZ-BA, Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA CEP: 40296-710, tel.:(071) 3176-2285, e-mail: cep@bahia.fiocruz.br.

Consentimento: Se você leu o consentimento informado ou este lhe foi explicado e você aceita a participação do estudo, favor assinar o nome abaixo. A você será entregue uma cópia deste formulário para guardar.

Assinatura do Participante	Data	Hora
 <i>Impressão digital do participante, caso necessário</i>		

Assinatura do Investigador	Data	Hora

Assinatura da Testemunha	Data	Hora

Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Responsáveis)

INSTITUTO GONÇALO MONIZ – FIOCRUZ-BA
LABORATÓRIO DE PATOLOGIA EXPERIMENTAL
 Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal CEP: 40296-710 – Salvador-BA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (responsáveis legais)

Título do Projeto: Avaliação de saúde de uma população rural do estado da Bahia.

Nome do Participante:

Número de identificação do Participante:

Convite e Objetivo: O(a) menor de idade pelo(a) qual você é responsável está sendo convidado(a) a participar de um estudo chamado “Avaliação de saúde de uma população rural do estado da Bahia”. Outros estudos feitos antes nesta mesma região mostraram que verminoses, incluindo a esquistossomose, mais conhecida como *Xistose*, além de problemas relacionados a alimentação são alguns dos problemas de saúde observados nos moradores desta região. Além disso, nos últimos anos muitas pessoas de grandes cidades do nordeste do Brasil adoeceram com dengue, chikungunya e zika, doenças que são transmitidas por mosquitos, mas não se sabe ainda se estas mesmas doenças chegaram em áreas rurais, como esta onde vocês moram. Sendo assim, o objetivo deste estudo é avaliar a presença de verminoses e arboviroses, além de aspectos nutricionais antes e após o tratamento para esquistossomose, além de testar um novo tipo de diagnóstico da *Xistose*, usando urina em vez de fezes.

Quantas pessoas vão participar deste estudo: Todas as 600 pessoas que moram nas regiões de Buri, Camarões e Jenipapo serão convidados a participar deste estudo, por serem estas as áreas identificadas com maior número de pessoas com *Xistose* no passado. Caso concorde que o(a) menor de idade pelo(a) qual você é responsável participe do estudo, ele(a) receberá os frascos coletores de fezes e de urina, que deverão ser devolvidos, para que possamos realizar os exames de fezes e de urina. Além disso, será coletado cerca de 15 ml de sangue (aproximadamente 1 colher de sopa) por profissional treinado e preparado para fazer coleta de sangue, com o auxílio agulhas descartáveis. Além disso, uma nutricionista treinada vai avaliar como está o peso e a alimentação e vai fazer algumas perguntas para avaliar outras características relacionadas à sua saúde. Depois disso, todos os moradores da região que aceitarem participar do estudo receberão remédio para verminoses. Caso concorde, faremos estas mesmas avaliações 30 dias, 6 meses e 1 ano após este tratamento da verminose.

Duração do Estudo: A participação dele(a) neste estudo será de mais ou menos 1 ano. Neste período ele(a) será convocado em cinco diferentes momentos: o primeiro deles para fazer todos os exames e avaliações necessárias; o segundo será apenas para fazer o tratamento das verminoses; o terceiro encontro será 30 dias após o tratamento da *Xistose*, para avaliar se o tratamento foi capaz de matar a *Xistose*, através de exames de fezes e de sangue; o quarto momento será 6 meses após o tratamento, onde, além de avaliar a presença de verminoses, será realizada nova avaliação do peso e alimentação; a quinta visita será feita 1 ano após o tratamento, e serão repetidas estas mesmas avaliações.

Riscos envolvidos no estudo: A participação dele(a) neste estudo trará possibilidade de poucos riscos. A coleta de sangue, por exemplo, é um procedimento médico de rotina e, em casos raros pode provocar dor leve, sangramento após a retirada da agulha ou formação de leve hematoma. Caso isso aconteça, todos os cuidados serão tomados por profissionais devidamente habilitados. Os tubos de sangue já estarão identificados com o código dele(a) para evitar que seu nome seja visto por outras pessoas e trocas de amostras. Após a coleta do sangue venoso será aplicado um curativo no local da punção e serão fornecidas as devidas orientações para evitar sangramento ou manchas roxas. Além disso, será aplicado um questionário curto. Para evitar possibilidade de constrangimento, as perguntas serão realizadas de forma profissional, apenas por integrante da equipe devidamente treinado e em local reservado. Em relação ao tratamento da *Xistose*, o remédio utilizado, apesar de normalmente não causar nenhum mal, pode, em alguns casos, causar tontura, enjoo, fraqueza, cansaço, dor na barriga ou coceira no corpo. Mas não se preocupe, estas reações normalmente são resolvidas em poucas horas. Mesmo assim, a médica responsável pelo seu tratamento, estará à disposição para fazer uma avaliação após o tratamento ou para esclarecer qualquer dúvida que tenha.

Retorno dos Benefícios para o Sujeito e para a Sociedade: Estudos que contribuem para o esclarecimento das condições de saúde de moradores de áreas rurais da Bahia ajudarão a entender quais os principais problemas de saúde e podem contribuir para a melhoria da saúde destas populações. O(a) menor de idade pelo(a) qual você é responsável não receberá benefícios diretos em participar deste estudo, entretanto, o conhecimento gerado a partir desta pesquisa poderá ajudar outras pessoas no futuro. Os participantes do estudo que estejam com vermes serão tratados gratuitamente. Todos os resultados dos exames realizados serão entregues a você. Além disso, você será orientado não apenas sobre os problemas de saúde que ele(a) possa ter, como também sobre problemas de saúde que ele(a) possa vir a ter no futuro, como por exemplo, as doenças causadas por mosquito, como a dengue, chikungunya e zika. Além disso, vamos procurar caramujos que transmitem a xistose em toda região, e vamos informar a você e a ele(a), e a todos os moradores, os locais onde encontramos os caramujos, para que ele(a) possa evitar, caso seja possível, contato com a água destes locais, para que não venha a ter xistose.

Confidencialidade: Todas as informações pessoais e dados médicos serão mantidos em confidencialidade, ou seja, em segredo. As informações médicas dos participantes deste estudo serão armazenadas de acordo com exigências legais. Qualquer informação obtida neste estudo será compartilhada apenas com outros membros da equipe ou com representantes do Comitê de Ética em Pesquisa da FIOCRUZ-BA. Os resultados serão divulgados na forma de comunicação científica, não permitindo a identificação individual dos participantes. Para proteger contra violação de informação ou falsificação as informações que forem cadastradas em computadores sofrerão seguintes precauções: todas as informações do banco de dados terão um código ao invés do seu nome, e as informações deste código serão mantidas em local seguro. O banco de dados será protegido por senha e apenas os membros da equipe de pesquisa têm esta senha.

Participação Voluntária e seus direitos: A participação no estudo é voluntária e você estará contribuindo para o melhor entendimento da xistose. Você é livre para recusar a participação do(a) menor de idade pelo(a) qual você é responsável do estudo, ou retirá-lo(a) em qualquer época após o seu início sem afetar ou prejudicar a qualidade e a disponibilidade da assistência médica que lhe será prestada. Você poderá também recusar responder qualquer pergunta ou fazer qualquer procedimento envolvido com a pesquisa. O menor de idade pelo(a) qual você é responsável receberá assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário, em caso de danos decorrentes desta pesquisa. Você não terá custos com a participação no estudo e nem receberá pagamento por isso. Você tem o direito a indenização frente a eventuais danos decorrentes de sua participação do(a) menor de idade pelo(a) qual você é responsável. Caso seja identificado no menor de idade pelo(a) qual você é responsável

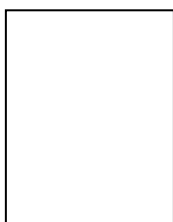
qualquer problema de saúde, durante ou após o encerramento ou interrupção desta pesquisa, ele(a) será encaminhado para a devida assistência à saúde. Além disso, mesmo que você não queira participar deste estudo, você também terá acesso ao tratamento e ao acompanhamento de saúde que será oferecido aos moradores da região.

Esclarecimentos: Esta pesquisa será desenvolvida de acordo com a Resolução CNS nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Qualquer dúvida que você tenha sobre o que está escrito neste consentimento ou sobre os procedimentos que constam nesse projeto de pesquisa, poderá entrar em contato com Dr. Ricardo Riccio Oliveira, coordenador do projeto, com Dra. Isadora Cristina de Siqueira, vice coordenadora do projeto e médica responsável pelo tratamento dos participantes, ambos pesquisadores do Instituto Gonçalo Moniz – FIOCRUZ-BA, Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA CEP: 40296-710, tel.: (71) 3176-2200, ramal: 347 ou 466, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da FIOCRUZ-BA, Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA CEP: 40296-710, tel.:(071) 3176-2285, e-mail: cep@bahia.fiocruz.br.

Consentimento: Se você leu o consentimento informado ou este lhe foi explicado e você aceita a participação do(a) menor de idade pelo(a) qual você é responsável no estudo, favor assinar o nome abaixo. A você será entregue uma cópia deste formulário para guardar.

	Data	Hora
--	------	------

Assinatura do Responsável Legal



*Impressão digital do
participante, caso necessário*

	Data	Hora
--	------	------

Assinatura do Investigador

	Data	Hora
--	------	------

Assinatura da Testemunha

Anexo C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (12 a 17 anos)

INSTITUTO GONÇALO MONIZ – FIOCRUZ-BA
LABORATÓRIO DE PATOLOGIA EXPERIMENTAL
Rua Waldemar Falcão, 121, Candéal CEP: 40296-710 – Salvador-BA

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (12 a 17 anos)

Título do Projeto: Avaliação de saúde de uma população rural do estado da Bahia.

Nome do Participante:

Número de identificação do Participante:

Convite e Objetivo: Você está sendo convidado(a) a participar de um estudo que tenta entender quais são os problemas de saúde de uma população que mora em área rural do Conde. Nos últimos anos muitas pessoas da região onde você mora apresentaram verminoses e outros problemas de saúde. Além disso, no Brasil muitas pessoas de grandes cidades têm apresentado viroses, mas não sabemos ainda se estas viroses também são encontradas na região onde você mora.

Ao participar deste estudo, você será acompanhado por profissionais de saúde do nosso grupo de pesquisa por cerca de 1 ano. Durante este período de um ano você fará exames de fezes, urina e de sangue 5 vezes diferentes. A quantidade de sangue que será coletada é o mesmo que cabe em uma colher de sopa e isto não trará nenhum tipo de prejuízo à sua saúde. A coleta de sangue pode causar um pouco de dor no local onde o sangue for coletado e às vezes pode aparecer uma mancha roxa no local, porém este risco será muito pequeno porque um profissional treinado vai fazer a coleta. Além disso, uma nutricionista também irá fazer uma avaliação para saber como está sua alimentação e seu crescimento durante o período do estudo.

Todas as informações coletadas serão guardadas em lugar seguro e, além dos pesquisadores deste estudo e de órgãos de fiscalização, ninguém terá acesso aos resultados dos seus exames. Todos os resultados de exames serão devolvidos a você.

Esta pesquisa só será feita se você e seus pais estiverem de acordo. Mesmo que aceite participar, você pode desistir e recusar continuar no estudo em qualquer momento.

Esclarecimentos: Caso tenha qualquer dúvida sobre o estudo ou sobre o que está escrito aqui poderá entrar em contato com Dr. Ricardo Riccio Oliveira, coordenador do projeto, com Dra. Isadora Cristina de Siqueira, vice coordenadora do projeto e médica responsável pelo tratamento dos participantes, ambos pesquisadores do Instituto Gonçalo Moniz – FIOCRUZ-BA, Rua Waldemar Falcão, 121, Candéal - Salvador/BA CEP: 40296-710, tel.: (71) 3176-2200, ramal: 347 ou 466, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da FIOCRUZ-BA, Rua Waldemar Falcão, 121, Candéal - Salvador/BA CEP: 40296-710, tel.:(071) 3176-2285, e-mail: cep@bahia.fiocruz.br.

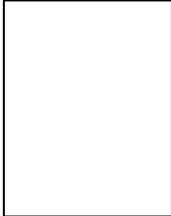
Consentimento: Caso tenha entendido o termo de assentimento que lhe foi explicado, se você aceita participar do estudo, favor assinar o nome abaixo. Lembramos que se você não

quiser participar do estudo você não é obrigado, mesmo que seus pais deem o seu consentimento.

Assinatura do Participante

Data

Hora

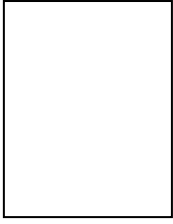


*Impressão digital do
participante, caso necessário*

Assinatura do Investigador

Data

Hora



*Impressão digital do
participante, caso necessário*

Assinatura do Investigador

Data

Hora

Anexo E - Tabela da análise de *fold change* das espécies de lipídios

FOLD CHANGE							
LIPÍDIOS AUMENTADOS (UP)				LIPÍDIOS DIMINUIDOS (DOWN)			
Espécie	BC--			Espécie	BC--		
	NEG-->AC	NEG-->BC	>AC		NEG-->AC	NEG-->BC	>AC
PA O-26:1	3,452	1,25	2,202	PA 34:2	-2,536		-2,536
PA O-34:1	3,333		2,679	PA 34:6	-1,064	1,064	-1,018
LPC 22:2	2,553	1,237	1,316	LPE 22:4	-1,834		-2,36
PC 28:3	2,632	-2,409	5,042	PE 30:3	-1,769		-1,901
PC 44:2	1,746		1,062	LPG 18:1	-1,378		-1,72
PC 44:4	2,591		1,872	PG 36:1	-2,336	-1,16	-1,176
PE 48:4	2,547	1,287	1,26	PI O-36:6	-1,516		-2,252
PE 28:3	1,295		1,358	LPI 22:2	-1,728		-1,489
LPE 22:2	1,133		1,539	PI 34:4	-1,641		-1,223
LPE 10:0	1,064		1,551	PI 44:5	-1,402		-1,113
PE 22:0	1,022		1,806	PI 40:2	-1,687		-1,037
LPE 20:3	1,906	-2,284	2,376	DAG 36:5	-5,172		-4,831
PE 34:5	1,089	-1,51	2,599	DAG 42:6	-1,102		-2,031
PE 24:0	3		2,76	DAG 34:6	-1,653		-1,667
PI O-42:2	1,214		1,198	DAG 24:0	-1,711		-1,01
PI O-34:1	1,033		1,409	FFA 18:1	-1,545		-1,55
PI 34:2	1,691		1,493	MAG 22:1	-1,152		-1,231
PI 38:0	3,674	2,171	1,503	TAG 46:2	-4,897		-4,897
PI 40:4	1,485		1,646	TAG 50:4	-3,359		-3,7
PI 36:1	1,623		1,778	TAG 44:5	-2,981		-2,64
PI O-38:1	1,816		1,788	TAG 48:2	-1,99		-2,331
PI O-38:3	2,675		1,821	TAG 50:8	-1,99		-2,331
PI 40:0	2,585		2,241	TAG 58:7	-1,99		-2,331
PI 42:0	4,491	1,673	2,818	TAG 48:0	-1,804		-2,145
PI O-30:2	3,811		2,887	TAG 52:0	-1,578		-1,92
PI 36:6	1,734	-1,184	2,918	TAG 58:6	-1,221		-1,221
PI O-36:5	3,66	-1,088	4,749	Cer 34:1;3	-1,978		-1,118
PI O-42:5	3,349	-3,033	6,381	SM 32:2;2	-3,196		-3,196
DAG 28:2	4,867		5,049	SM 38:0;3	-2,331		-1,802
FFA 20:2	4,003	2,264	1,739				
FFA 14:0	2,209	-1,118	3,326				
FFA 10:0	6,939		7,723				
TAG 60:4	1,186		1,006				
TAG 44:4	1,863	-1,241	3,104				
TAG 48:1	2,588		3,56				
SM 46:1;2	1,575		1,169				
SM 42:0;3	4,937	4,867	1,24				
SM 28:1;2	2,049		1,403				
SM 44:1;2	1,428		2,011				
SM 30:2;2	1,384		2,177				
SM 32:0;2	1,926		2,468				