

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

MICAELLA SALES PEREIRA

INFLUÊNCIA DA ALIMENTAÇÃO COM RESTRIÇÃO DE TEMPO (*TIME-RESTRICTED-FEEDING*) NA MICROBIOTA INTESTINAL E NA EVOLUÇÃO NA ESQUISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL

ALFENAS/MG

2025

MICAELLA SALES PEREIRA

INFLUÊNCIA DA ALIMENTAÇÃO COM RESTRIÇÃO DE TEMPO (*TIME-RESTRICTED-FEEDING*) NA MICROBIOTA INTESTINAL E NA EVOLUÇÃO NA ESQUISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Patógeno hospedeiro.

Orientador: Prof. Dr. Marcos José Marques.

Coorientador: Prof. Dr. Matheus Pereira de Araújo.

ALFENAS/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas Biblioteca Central

Pereira, Micaella Salles.

Influência da Alimentação com Restrição de Tempo (Time-Restricted-Feeding) na Microbiota Intestinal e na Evolução na Esquistossomose Experimental/ Micaella Sales Pereira - Alfenas, MG, 2025.

64 f. : il. -

Orientador(a): Marcos José Marques.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Esquistossomose. 2. Schistosoma mansoni. 3. Microbiota intestinal. 4. Alimentação. 5. Restrição. I. Marques, Marcos José, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

MICAELLA SALES PEREIRA

**INFLUÊNCIA DA ALIMENTAÇÃO COM RESTRIÇÃO
DE TEMPO (*TIME-RESTRICTED-FEEDING*) NA
MICROBIOTA INTESTINAL E NA EVOLUÇÃO NA
ESQUISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL**

O (A) Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Patógeno Hospedeiro.

Aprovada em: 25 de julho de 2025.

Prof. Dr. Marcos José Marques Presidente da Banca Examinadora

Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG

Profa. Dra. Florence Mara Rosa

Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Profa. Dra. Patrícia Paiva Corsetti de Almeida

Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG



Documento assinado eletronicamente por **Marcos José Marques, Professor do Magistério Superior**, em 28/07/2025, às 08:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1571938** e o código CRC **E6CBC0D2**.

AGRADECIMENTOS

O caminho até aqui foi desafiador, intenso e cheio de aprendizados. Ao olhar para trás, percebo que nada disso seria possível sem o apoio, a orientação e a presença de pessoas fundamentais na minha vida acadêmica e pessoal.

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder forças nos momentos mais difíceis e por me guiar com fé e esperança durante toda essa trajetória.

A minha mãe, pela força, pelo amor inabalável e pelo exemplo de coragem que me inspira todos os dias. Obrigada por me ensinar a resistir.

A minha irmã, companheira de vida, de risos e de lutas, por estar sempre ao meu lado, me apoiando incondicionalmente.

Ao meu pai, em memória. Mesmo com sua ausência física, sua presença me acompanha em cada conquista. Seu amor, seus conselhos e os valores que me ensinou continuam vivos. Esta vitória também é sua, e eu espero que, de onde estiver, sinta orgulho.

Aos meus orientadores, Marcos e Matheus, pela confiança, paciência e comprometimento. Obrigada pela oportunidade, por acreditarem em mim quando eu mesma não acreditei e por me guiarem com firmeza e generosidade.

Aos colegas do laboratório e aos amigos que essa jornada me deu, por cada conversa, troca de experiência, parceria e apoio nos momentos de exaustão. Em especial, Alex, Débora e Raphaela, por dividirem comigo os altos e baixos dessa caminhada.

As minhas amigas de república, Maju e Duda, obrigada por me acolherem nos momentos difíceis e por proporcionarem momentos tão felizes dentro de casa. Que sorte a minha ter tido a oportunidade de partilhar a vida com vocês diariamente.

Ao Luis Felipe Cunha dos Reis pelo apoio essencial nas análises histológicas, sempre demonstrando paciência, dedicação e generosidade ao dividir seu conhecimento.

À Marisa Lopes, deixo meu reconhecimento pelo cuidado e carinho ao longo dessa jornada.

Aos professores e técnicos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Alfenas, por todo o conhecimento compartilhado, e à coordenação do programa, pelo suporte contínuo ao longo da pós-graduação. Obrigada a todos, que de alguma forma, contribuíram para que eu concluísse essa jornada.

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

RESUMO

A esquistossomose é uma doença parasitária negligenciada, de caráter agudo e crônico, causada por vermes trematódeos do gênero *Schistosoma*. No Brasil, *Schistosoma mansoni* encontra condições favoráveis de transmissão devido à presença do caramujo *Biomphalaria* como hospedeiro intermediário. Durante a fase aguda, a intensa resposta granulomatosa compromete o trato gastrointestinal e o fígado, favorecendo alterações na microbiota intestinal, um ecossistema dinâmico influenciado por infecção parasitária e dieta. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da alimentação com restrição de tempo (*time-restricted feeding* — TRF) na evolução da esquistossomose aguda e na composição da microbiota intestinal. A TRF consiste em limitar a ingestão alimentar a uma janela diária de 6 a 12 horas, com períodos prolongados de jejum. Evidências sugerem que esse regime pode impactar o metabolismo energético, a sensibilidade à insulina, a composição corporal e a resposta inflamatória, além de modular a microbiota. Assim, compreender seus efeitos em modelo de esquistossomose contribui para avaliar interações entre dieta e processos fisiopatológicos. Camundongos BALB/c foram distribuídos em grupos controle, infectados sem tratamento e infectados tratados com Praziquantel, submetidos ou não à TRF. Os parâmetros avaliados incluíram consumo calórico, coeficiente de eficiência energética (CEE), análises bioquímicas, histológicas e microbiológicas. Houve redução da glicemia nos animais infectados e ausência de alterações significativas nos níveis de fosfatase alcalina. O consumo calórico diminuiu nos grupos controle TRF e infectado TRF sem tratamento. O CEE variou entre grupos, com redução nos infectados ad libitum e TRF, além dos tratados ad libitum, e aumento no controle e no tratado TRF. Na análise histológica do fígado, lâminas coradas por Hematoxilina e Eosina revelaram maior área de granulomas nos infectados submetidos à TRF e aumento de hepatócitos binucleados em todos os grupos infectados. A análise quantitativa de glicogênio hepático, pela coloração PAS, mostrou redução nos grupos TRF. Na abordagem metagenômica, foi realizado o sequenciamento da região V3/V4 do gene 16S rRNA. A diversidade alfa (índices Shannon e Chao1) não indicou diferenças significativas, mas a abundância relativa de classes bacterianas foi alterada. Destacou-se o aumento de *Desulfovibrionia* em animais submetidos à TRF, além de modulações específicas relacionadas aos tratamentos farmacológicos. Os resultados sugerem que intervenções nutricionais, como a TRF, modulam parâmetros metabólicos e imunológicos, além de influenciar a microbiota intestinal durante a infecção por *S. mansoni*. Esses achados reforçam o papel da dieta na interação patógeno-hospedeiro e ressaltam a importância de abordagens integrativas no estudo de infecções parasitárias.

Palavras-chave: esquistossomose; *Schistosoma mansoni*; microbiota intestinal; alimentação; restrição.

ABSTRACT

Schistosomiasis is a neglected parasitic disease, both acute and chronic, caused by trematode worms of the genus *Schistosoma*. In Brazil, *Schistosoma mansoni* finds favorable conditions for transmission due to the presence of the snail *Biomphalaria* as an intermediate host. During the acute phase, the intense granulomatous response compromises the gastrointestinal tract and liver, favoring alterations in the intestinal microbiota, a dynamic ecosystem influenced by parasitic infection and diet. This study aimed to evaluate the effects of time-restricted feeding (TRF) on the progression of acute schistosomiasis and on the composition of the intestinal microbiota. TRF consists of limiting food intake to a daily window of 6 to 12 hours, with prolonged fasting periods. Evidence suggests that this regimen can affect energy metabolism, insulin sensitivity, body composition, and the inflammatory response, as well as modulate the microbiota. Understanding its effects in a schistosomiasis model contributes to assessing the interactions between diet and pathophysiological processes. BALB/c mice were distributed into control groups, untreated infected groups, and infected groups treated with Praziquantel, subjected or not to the TRF protocol. The evaluated parameters included caloric intake, coefficient of energy efficiency (CEE), biochemical, histological, and microbiological analyses. A reduction in blood glucose was observed in infected animals, with no significant changes in alkaline phosphatase levels. Caloric intake decreased in the TRF control group and in untreated TRF-infected animals. CEE varied among groups, with reductions in untreated infected *ad libitum* and TRF, as well as in treated infected *ad libitum*, and increases in the control and treated TRF groups. Histological analysis of the liver, with Hematoxylin and Eosin staining, revealed a larger granuloma area in untreated infected animals under TRF and an increase in binucleated hepatocytes in all infected groups. Quantitative analysis of hepatic glycogen, using PAS (Periodic Acid-Schiff) staining, showed reductions in TRF groups. For the metagenomic approach, sequencing of the V3/V4 region of the 16S rRNA gene was performed. Alpha diversity (Shannon and Chao1 indices) did not reveal statistically significant differences, but relevant changes in the relative abundance of bacterial classes were identified. Notably, an increase in *Desulfovibrionia* was observed in animals subjected to TRF, in addition to specific modulations related to pharmacological treatments. The results suggest that nutritional interventions such as TRF can modulate metabolic and immunological parameters, as well as influence the intestinal microbiota during *S. mansoni* infection. These findings reinforce the role of diet in host–pathogen interactions and highlight the importance of integrative approaches in the study of parasitic infections.

Keywords: schistosomiasis; *Schistosoma mansoni*; intestinal microbiota; food restriction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Delineamento experimental.....	23
Figura 2 –	Gráfico de Consumo Calórico.....	28
Figura 3 –	Gráfico de Coeficiente de Eficiência Energética.....	29
Figura 4 –	Glicose.....	30
Figura 5 –	Fosfatase Alcalina.....	31
Figura 6 –	Gráfico de Glicogênio Hepático	32
Figura 7 –	Hepatócitos PAS+ (Glicogênio Hepático)	32
Figura 8 –	Gráfico de Hepatócitos Binucleados	33
Figura 9 –	Corte Histopatológico de Hepatócitos Binucleados.....	34
Figura 10 –	Gráfico de Granuloma Hepático	35
Figura 11 –	Granulomas Hepáticos.....	35
Figura 12 –	Gráfico de Percentual de Granuloma.....	36
Figura 13 –	Gráfico de Carga Parasitária (ovos por campo).....	37
Figura 14 –	Ovos por Campo.....	37
Figura 15 –	Diversidade alfa em fezes de animais infectados por <i>S. mansoni</i>	39
Figura 16 –	Abundância de classes bacterianas em fezes infectadas por <i>S. mansoni</i>	39
Figura 17 –	Abundância de Desulfovibrionia em fezes infectadas por <i>S. mansoni</i>	40
Figura 18 –	<i>Saccharimonadia</i> e <i>Bacilli</i> em fezes infectadas por <i>S. mansoni</i>	41

LISTA DE SIGLAS

ALP	Alkaline Phosphatase (Fosfatase Alcalina)
ALT	Alanina Aminostranferase
AST	Aspartato Aministranferase
C-Adl	Controle <i>Ad Libitum</i>
C-TRF	Controle <i>Time-Restricted Feeding</i>
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
INF- γ	Interferon Gama
MDA	Administração de Medicamentos em Massa
PAS	Método do Ácido Periódico Schiff
PZQ	Praziquantel
T-Adl	Infectado Tratado <i>Ad Libitum</i>
T-TRF	Infectado Tratado <i>Time-Restricted Feeding</i>
TCD4 ⁺	Linfócito T Auxiliar CD4 ⁺
TGF- β	Fator de Trasnformação do Crescimento
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TRF	Time-Restricted Feeding (Alimentação com Restrição de Tempo)
WHO	World Health Organization

LISTA DE ABREVIATURAS

AD	<i>Ad Libitum</i>
CEE	Coeficiente de Eficiência Energética
I-Adl	Infectado sem Tratamento <i>Ad Libitum</i>
I-TRF	Infectado sem Tratamento <i>Time-Restricted Feeding</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA	15
3.2	RESPOSTA IMUNE NA INFECÇÃO POR <i>S. MANSONI</i>	16
3.3	TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE	17
3.4	MICROBIOTA INTESTINAL E ESQUISTOSSOMOSE.....	18
3.4.1	Influência da alimentação com restrição de tempo (<i>time-restricted-feeding</i>)	19
4	MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1	ANIMAIS.....	22
4.1.1	Infecção por <i>S. mansoni</i>	23
4.1.2	Tratamento com Praziquantel.....	23
4.1.3	Eutanásia dos animais.....	24
4.1.4	Consumo calórico e coeficiente de eficiência energética.....	24
4.2	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS.....	25
4.3	ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA.....	25
4.3.1	Análise do glicogênio hepático (PAS) e hepatócitos binucleados	25
4.3.2	Metagenômica	26
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
5	RESULTADOS	28
5.1	CONSUMO CALÓRICO	28
5.2	COEFICIENTE DE EFICIÊNCIA ENERGÉTICA (CEE)	28
5.3	MARCADORES BIOQUÍMICOS.....	29
5.3.1	Glicemia.....	29
5.3.2	Fosfatase alcalina (ALP).....	30
5.4	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	31
5.4.1	Glicogênio hepático.....	31
5.4.2	Hepatócitos binucleados	33
5.4.3	Área de granuloma hepático.....	34

5.4.4	Percentual de granuloma.....	35
5.4.5	Carga parasitária.....	36
5.5	ÍNDICES DE DIVERSIDADE MICROBIANA	38
6	DISCUSSÃO.....	43
7	CONCLUSÃO.....	53
	REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença parasitária, causada por vermes do gênero *Schistosoma* e ainda é considerada um grave problema de saúde pública, estando distribuída principalmente em regiões tropicais do mundo, estimando-se que cerca de 236,6 milhões de pessoas precisaram de tratamento preventivo no ano de 2019 (Who, 2023). Em território brasileiro, aproximadamente 1,5 milhão de pessoas vivem em áreas de risco e a doença está relacionada à pobreza, falta de saneamento básico e infraestrutura de saúde precária. As regiões mais afetadas são o Nordeste e Sudeste do país (Brasil, 2021).

O ciclo de vida do *Schistosoma* envolve dois hospedeiros: um intermediário, o caramujo do gênero *Biomphalaria*, e o hospedeiro definitivo, o homem ou outros mamíferos (Rocha *et al.*, 2016). A infecção ocorre por meio da penetração de cercárias do *Schistosoma*, que estão presentes em água doce, na pele do hospedeiro definitivo (Pousada- Martínez *et al.*, 2022).

A doença se manifesta de forma aguda e crônica. Durante a fase aguda, o indivíduo pode apresentar sintomas como febre alta, mal-estar, náuseas, vômitos, diarreia, o que pode dificultar o diagnóstico da esquistossomose, pois tais sintomas também característicos de outras doenças parasitárias e infecciosas (Lima; Teles; Castro, 2016). A fase crônica apresenta sintomas diversos, pois depende da localização do verme e da intensidade da carga parasitária. Nessa fase, o indivíduo infectado pode desenvolver as formas intestinal, hepatointestinal ou hepatoesplênica (Pordeus *et al.*, 2008).

Alguns entendimentos sobre o diagnóstico, medidas de profilaxia e controle, das possibilidades terapêuticas, sejam elas farmacológicas ou não, tornam-se de suma importância para o controle da doença (Vitorino *et al.*, 2012).

Dessa forma, para melhor compreensão da relação parasito-hospedeiro, algumas observações a respeito da microbiota intestinal e protocolos alimentares se fazem necessários para melhor entendimento sobre o curso da doença e como isso pode interferir nesse processo. A microbiota intestinal agrega um ecossistema complexo, heterogêneo e dinâmico, habitado por inúmeros microrganismos que interagem entre si e com o hospedeiro, englobando vírus, fungos e bactérias (Chen, Y.; Zhou, J.; Wang, L., 2021) e certas condições, como o uso indevido de antibióticos, variações na alimentação e outras infecções podem alterar o equilíbrio dessa microbiota intestinal (Arrieta *et al.*, 2014). Alguns estudos conduzidos utilizando o protocolo alimentar *Time-restricted-feeding* – TRF (alimentação com restrição de tempo), que consiste em uma restrição da alimentação por um período de tempo, em torno de 12 horas, tem

demonstrado efeitos benéficos à saúde, como proteção contra doenças metabólicas e a redução do risco de doenças relacionadas à idade em modelos animais e humanos (Desmet *et al.*, 2021; Yin; Klionsky, 2022).

O uso do TRF parece afetar o metabolismo do hospedeiro, de forma que a microbiota intestinal pode sofrer alterações, tornando-se menos obesogênico (Chaix; Zarrinpar, 2015). Uma vez que os vermes adultos de *Schistosoma mansoni* utilizam quantidades significativas de glicose proveniente do sangue dos hospedeiros definitivos (Bueding, 1950), o uso do protocolo TRF nos animais infectados pode exercer uma ação benéfica na progressão da doença, devido à restrição de alimentos por um período de tempo.

Dessa forma, neste trabalho é proposto avaliar a influência da alimentação com restrição de tempo na microbiota intestinal e na evolução da esquistossomose, como uma alternativa no estudo da infecção por *S. mansoni* em modelos murinos em um ambiente envolvendo interações patógeno-hospedeiro.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do protocolo *Time-restricted-feeding* (alimentação com restrição de tempo) na microbiota intestinal e na evolução da infecção de camundongos por *S. mansoni* tratados e não tratados com Praziquantel.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) analisar a influência da alimentação com restrição de tempo (*time-restricted-feeding*) na microbiota intestinal dos animais do grupo controle, infectados sem tratamento e com tratamento;
- b) identificar os grupos bacterianos provenientes do DNA extraído das fezes dos grupos controle, infectados sem tratamento e com tratamento;
- c) analisar os parâmetros bioquímicos no sangue dos animais do grupo controle, infectados sem tratamento e com tratamento;
- d) avaliar as possíveis alterações presentes no fígado dos animais do grupo controle, infectado sem tratamento e com tratamento.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA

A esquistossomose é uma doença parasitária de caráter agudo e crônico negligenciada, causada por vermes trematódeos do gênero *Schistosoma*. É endêmica em regiões que apresentam uma infraestrutura precária de saúde e falta de acesso a saneamento básico (Posada-Martinez *et al.*, 2022). De acordo com a Organização Mundial de Saúde, no ano de 2021, cerca de 251,4 milhões de pessoas precisaram de tratamento preventivo (Who, 2023).

A doença foi introduzida no território brasileiro através do tráfico de escravos vindos da África, e a espécie *Schistosoma mansoni* estabeleceu-se devido à presença do hospedeiro intermediário susceptível, o caramujo do gênero *Biomphalaria* (Katz, 2018). Os primeiros focos da parasitose surgiram na região canavieira do Nordeste e através dos movimentos de migração no país, houve a disseminação da doença para outras regiões (Melo; Coelho, 2016).

O *S. mansoni* apresenta um ciclo de vida complexo que envolve duas fases parasitárias, uma no hospedeiro invertebrado/intermediário e a outra no hospedeiro vertebrado/definitivo (Katz; Almeida, 2003). Os vermes adultos habitam as ramificações das veias mesentéricas e as vênulas do plexo hemorroidário do hospedeiro vertebrado e posteriormente migram para a submucosa intestinal onde ocorrerá a oviposição feita pela fêmea. Os ovos são eliminados através das fezes ou podem ficar retidos nos tecidos do hospedeiro, onde vão induzir uma resposta inflamatória. Aqueles que são liberados no ambiente e atingem um reservatório de água doce vão romper e liberar miracídios que vão penetrar e infectar o hospedeiro intermediário, o caramujo *Biomphalaria* (Colley *et al.*, 2014; Lima; Teles; Castro, 2016).

No caramujo, os miracídios passam por uma série de modificações e liberam na água as larvas denominadas cercárias, que são as formas infectantes para o homem. Após a penetração das cercárias na pele do hospedeiro vertebrado, ocorre a maturação das larvas denominadas esquistossômulos, que compreende o último estágio larval do parasito e leva cerca de cinco a sete semanas para tornarem-se adultas e produzirem os ovos. Os esquistossômulos passam pelos vasos sanguíneos e linfáticos e aqueles que o sistema imunológico não consegue eliminar segue para os pulmões e outros órgãos. Grande parte chega até o fígado onde alcança a maturidade sexual no sistema venoso portal e assim, há o acasalamento do casal de vermes, que posteriormente migram para as veias mesentéricas, levando a oviposição da fêmea, dessa forma, conclui-se o ciclo do *S. mansoni* (Colley *et al.*, 2014; Lima, 2012).

A esquistossomose na perspectiva clínica, divide-se em três estágios: o primeiro, ocorre nas 24 horas após a penetração das cercárias na pele, denominada dermatite cercariana, gerando uma erupção cutânea, o segundo é a esquistossomose aguda, que surge de três a oito semanas após o contágio, e o terceiro estágio que resulta na fase crônica da doença, que ocorre após meses ou anos após a infecção, devido a formação de granulomas nos tecidos ao redor dos ovos (Carbonell *et al.*, 2021).

Fatores como o tipo de cepa, carga parasitária, idade, estado nutricional e resposta imune do hospedeiro vertebrado influenciam em como os sintomas da doença vão se manifestar. A fase aguda apresenta uma dispersão dos ovos, principalmente na parede intestinal, levando a um quadro de enterocolite aguda e no fígado resulta na formação de granulomas. O paciente pode apresentar sintomas como febre alta, mal-estar, tosse, anorexia, náuseas, vômitos, mialgia, cefaleia e diarreia. Esses sintomas são característicos de outras doenças infecciosas e parasitárias, o que dificulta o diagnóstico clínico correto. Se não houver um tratamento adequado, o quadro evolui para fase crônica da doença (Lima; Teles; Castro, 2016; Melo; Coelho, 2016).

A fase crônica ocorre em consequência da inflamação granulomatosa induzida pelo acúmulo dos ovos liberados pelo parasito em diferentes tecidos, por conta da sua capacidade de gerar inflamação e fibrose (Carbonell *et al.*, 2021). Os danos teciduais e efeitos da inflamação crônica ao longo dos anos, pode resultar em insuficiência hepática e consequentemente, morbidade clínica severa e mortalidade (Omar, 2019). A esquistossomose crônica pode apresentar as formas intestinal, hepatointestinal, hepatoesplênica e até mesmo neurológica. A sintomatologia da fase crônica varia de acordo com a localização do parasito e a carga parasitária (Pordeus *et al.*, 2008).

3.2 RESPOSTA IMUNE NA INFECÇÃO POR *S. MANSONI*

Durante a infecção por *S. mansoni*, o sistema imune do hospedeiro produz dois tipos de resposta contra o parasito. Inicialmente, há a fase aguda, que se manifesta em dois períodos: período pré e pós patente, que respectivamente corresponde a antes e depois da oviposição. O período pré patente ocorre nos primeiros 30 dias e o período pós patente entre 30 a 60 dias. No primeiro momento da infecção, observa-se o predomínio da resposta do tipo Th1, sendo substituída por uma resposta do tipo Th2 no período pós patente, o que caracteriza a fase crônica da doença. Com a mudança da resposta, há um predomínio da interleucina IL- 10, que possui um papel importante no processo inflamatório (Cheever; Hoffmann; Wynn, 2000). Durante o

período pré patente, nota-se a produção de INF- γ , com baixos níveis de IL-5 e IL-10, o que é uma característica da resposta imune do tipo Th1 (Montenegro *et al.*, 1999).

Na fase crônica, há indicadores da evolução da doença em alguns órgãos, especialmente fígado, baço e intestino, sendo capaz de atingir níveis extremos de gravidade, como a forma hepatoesplênica. A principal reação imunológica em modelos murinos ocorre em volta dos ovos do parasito, através de uma reação de hipersensibilidade, sendo mediada por linfócitos TCD4+, levando a formação dos granulomas periovulares. Durante a produção dos granulomas, algumas moléculas de adesão estão envolvidas no processo e sua produção é induzida por citocinas como IL-1 e TNF- α . Conforme o granuloma se estabelece e aumenta o seu diâmetro, há a produção das citocinas IL-4 e IL-5 que vão regular a formação desse granuloma e recrutar eosinófilos e células B (Sher *et al.*, 1990; Weinstock, 1992). Posterior à fase aguda, ocorre o processo denominado imunomodulação, que corresponde a diminuição do granuloma e consequentemente na redução da inflamação ao redor dos ovos, mediado por células TCD4+ específicas (Weinstock; Blum, 1987).

A modulação da resposta imune e a hipossensibilidade aos antígenos do ovo possivelmente ocorrem devido à modulação das células T, e a citocina IL-10 apresenta um papel importante nesse contexto. Em alguns modelos experimentais, foi percebido que a modulação da resposta das células T também pode ser desencadeada pelo TGF- β (Fator de Transformação do Crescimento) e pela IL-12 (Carvalho; Martins Filho; Oliveira, 2008). Durante a fase crônica, a resposta imune tem sido associada a resposta do tipo Th2, sendo que os parasitos helmínticos tendem a ser indutores desse tipo de resposta. Há uma expansão de células CD4+ helper, ou CTh2 e estas células produzem citocinas que vão estimular a eosinofilia, produção de IgE e a expansão de basófilos e mastócitos (Dos Reis *et al.*, 2022).

O hospedeiro apresenta a resposta Th2 como proteção ao número de parasitos, tanto para sua eliminação direta quanto pela expulsão desse parasito. Esse tipo de resposta também vai induzir reparo tecidual, que é fundamental na proteção contra os danos teciduais causados pelos helmintos (Turner *et al.*, 2008).

3.3 TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE

A OMS propôs a meta de reduzir a morbidade da esquistossomose até o ano de 2020 e eliminar a doença como problema de saúde pública até o ano de 2025. O principal meio para alcançar tais objetivos é através da quimioterapia preventiva por meio da administração de medicamentos em massa (MDA), como o anti-helmíntico praziquantel (PZQ) (Faust *et*

al.,2020).

O PZQ é um derivado de pirazino-isoquinolina e foi desenvolvido pela empresa Bayer na década de 1970, mostrando-se ativo contra platelmintos parasitas, incluindo os esquistossomos (Vale *et al.*, 2017). O PZQ foi introduzido para substituir os primeiros fármacos utilizados no tratamento da esquistossomose, como a oxamniquina, um derivado da quinolina, além de vários outros compostos menos eficazes, como o niridazol e o oltipraz, que, apesar de seu uso, apresentavam diversos efeitos colaterais (Bergquist; Utzinger; Keiser, 2017).

Uma ação desse fármaco que pode ser observada é a paralisia da musculatura do verme. Essa paralisia é acompanhada e provavelmente causada por um rápido influxo de Ca^{2+} no interior do esquistossomo. O PZQ também leva a alterações morfológicas no tegumento do parasito, provocando uma vacuolização e destruição desse tegumento. O uso do PZQ exhibe índices de cura que variam de 60% a 90%, associada a uma redução de carga parasitária e produção de ovos pelo *S. mansoni*. Alguns estudos apontam que o tratamento é eficiente na redução da morbidade de pacientes com fibrose hepática grave (Cioli; Pica-Mattoccia, 2003; Vitorino *et al.*, 2012).

Apesar das várias vantagens do uso do PZQ no tratamento da esquistossomose, ele apresenta uma inatividade contra esquistossômulos jovens. Além disso, a existência de um único fármaco eficiente para o tratamento de uma doença com importância de saúde pública mundial, pode facilitar o desenvolvimento da resistência ao medicamento. Novas intervenções se fazem necessárias para desenvolver novos compostos e entender os mecanismos de ação do PZQ que podem levar a melhorias na eficácia do medicamento (Vale *et al.*, 2020).

3.4 MICROBIOTA INTESTINAL E ESQUISTOSSOMOSE

A microbiota intestinal humana agrega um ecossistema complexo, heterogêneo e dinâmico, habitado por inúmeros microrganismos que interagem entre si e com o hospedeiro, englobando vírus, fungos e bactérias (Chen; Zhou; Wang, 2021).

A presença de tais microrganismos na microbiota intestinal pode trazer efeitos tanto benéficos quanto patogênicos na saúde do hospedeiro. O desenvolvimento e estabelecimento da composição benéfica da microbiota ocorre na infância e influencia a saúde e homeostase imunológica do hospedeiro na idade adulta. Além disso, também contribui para manter as atividades nutricionais, funções metabólicas, desintoxicação e síntese de vitaminas (Xu *et al.*, 2019).

Certas condições podem alterar o equilíbrio existente entre microrganismos e

hospedeiros, como uso indiscriminado de antibióticos, variações na alimentação e outras infecções, como helmintos disputando o mesmo ambiente. Esses fatores podem favorecer o surgimento de infecções oportunistas (Arrieta *et al.*, 2014).

Parasitas podem colonizar o mesmo ambiente, e uma vez em conjunto com as bactérias, podendo trazer desequilíbrios (Who, 2017). À medida que o parasito migra pelo organismo, juntamente à destruição de barreiras entre os tecidos devido à reação granulomatosa, ocorre a interação entre o parasito e a microbiota intestinal (Lambertucci, 2010; Schneeberger *et al.*, 2018). A modulação da microbiota, a regeneração de células imunes e a melhora de quadros de autoimunidade tem sido associado a ciclos de jejum, levando em consideração o papel da mucosa intestinal durante esses ciclos e durante a alimentação (Nagai *et al.*, 2019; Rangan *et al.*, 2019).

Entretanto, apesar dos avanços em pesquisa, mais estudos acerca da relação entre a infecção por helmintos, a microbiota e os ciclos de jejum/alimentação do hospedeiro se fazem necessários para melhor compreensão da correlação entre esses aspectos.

3.4.1 Influência da alimentação com restrição de tempo (*time-restricted-feeding*)

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, diabetes e doenças relacionadas à obesidade apresentaram um grande aumento em todos os países, quadruplicando nos últimos 35 anos (Who, 2016). Sendo assim, a ingestão calórica inadequada é um problema de saúde global e as deficiências nutricionais que são comuns em países em desenvolvimento podem levar ao aumento do risco de doenças infecciosas. Já em países industrializados, o problema mais comum está ligado ao excesso de alimentação, estando associado ao desenvolvimento de síndromes metabólicas, doenças cardiovasculares e até mesmo o câncer (Basen-Engquist; Chang, 2011).

A restrição calórica está relacionada a uma série de intervenções que compreende desde uma redução crônica da ingestão calórica até curtos períodos de jejum, como o jejum intermitente, jejum em dias alternados e o *time-restricted-feeding* (TRF), também chamado de alimentação com restrição de tempo (Longo; Panda, 2016). Dentre os protocolos de jejum descritos na literatura, cada um com sua especificidade, o TRF é caracterizado pelo consumo de alimentos usando janelas de alimentação que variam de 4 a 12 horas e por jejuns de 14 a 16 horas.

O TRF apresenta um desempenho mais variável em comparação aos outros protocolos, pois a janela de jejum pode se expandir de 12 a 21 horas/dia, sendo o foco concentrar-se em

uma janela alimentar consistente ao invés da restrição energética em si, buscando desencadear outros potenciais benefícios a saúde (Pascual *et al.*, 2022). Essas abordagens dietéticas compartilham a característica de influenciar os níveis de insulina e glicose no sangue para níveis mais baixos, aumentar a sensibilidade à insulina e a resposta do organismo à glicose, além de reduzir o risco de doenças crônicas, desde diabetes mellitus até câncer (Antoni *et al.*, 2017).

Um fator importante para a produção de metabólitos microbianos é o momento em que ocorre a ingestão de alimentos. A microbiota intestinal humana e de camundongos apresenta alterações diurnas sob a influência dos ritmos alimentares (Desmet *et al.*, 2021). Tanto animais quanto humanos seguem um padrão na alimentação, consumindo a maior parte dos alimentos durante o período de vigília natural. Devido à relação entre o metabolismo e os ritmos circadianos, esse ciclo diário de alimentação e jejum interage sinergicamente com o relógio molecular circadiano, influenciando os ritmos diários do metabolismo anabólico e catabólico, bem como a fisiologia dependente desses processos.

Todavia, o acesso *ad libitum* a uma dieta rica em gordura e alta em calorias pode desregular os ritmos de alimentação e jejum em animais, levando à ingestão de alimentos de forma errática ao longo das 24 horas do dia. Esse padrão alimentar caótico pode perturbar o ritmo circadiano normal nos órgãos metabólicos, como o fígado (Melkani; Panda, 2017). Durante a evolução da esquistossomose no hospedeiro definitivo, o parasito chega ao fígado onde ocorre a maturação sexual até a postura dos ovos, que ocorre no plexo mesentérico. Devido a destruição tecidual causada pela reação inflamatória ao redor dos ovos, ocorre comprometimento do trato gastrointestinal, sendo o fígado, um dos órgãos mais afetados (Barnhill *et al.*, 2011). Desta forma, o seu comprometimento pode não estar somente relacionado à formação de granulomas, por conta da presença do ovo do parasito, mas também pelas alterações na microbiota intestinal, sendo essas alterações possivelmente influenciadas pela mudança alimentar do hospedeiro.

Estudos acerca do protocolo TRF foram investigados em camundongos, no qual a disponibilidade de alimentos foi regulada de acordo com o ritmo circadiano de 24 horas. Os animais tiveram uma melhora no perfil de glicose no sangue, músculos mais saudáveis e melhor saúde cardiometabólica quando a acessibilidade ao alimento se restringiu a um período mais curto de tempo em comparação aos animais alimentados à vontade ao longo do dia (Soliman, 2022).

Outros estudos conduzidos em camundongos que foram submetidos a este protocolo apresentaram redução de adiposidade e na gordura do fígado e diminuição dos níveis de colesterol quando comparados aos animais que foram alimentados *ad libitum* com a mesma

dieta rica em gorduras e essas mudanças podem levar a uma melhora na homeostase de vários tecidos (Chaix *et al.*, 2014; Hatori *et al.*, 2012; Tsameret *et al.*, 2023). Os efeitos metabólicos do jejum também foram relatados com efeitos benéficos em relação ao sistema imune, sendo associado à melhora da imunidade e a efeitos anti-inflamatórios (Horne; Muhlestein; Anderson, 2015; Tsameret *et al.*, 2023).

Visto que o *Schistosoma mansoni* necessita da glicose sanguínea do hospedeiro para sobreviver (Rumjanek; Caldas; Gazzinelli, 2008), a utilização do protocolo do TRF nos animais infectados pode exercer uma ação preventiva na progressão da doença, devido ao acesso restrito de alimentos por uma janela de tempo.

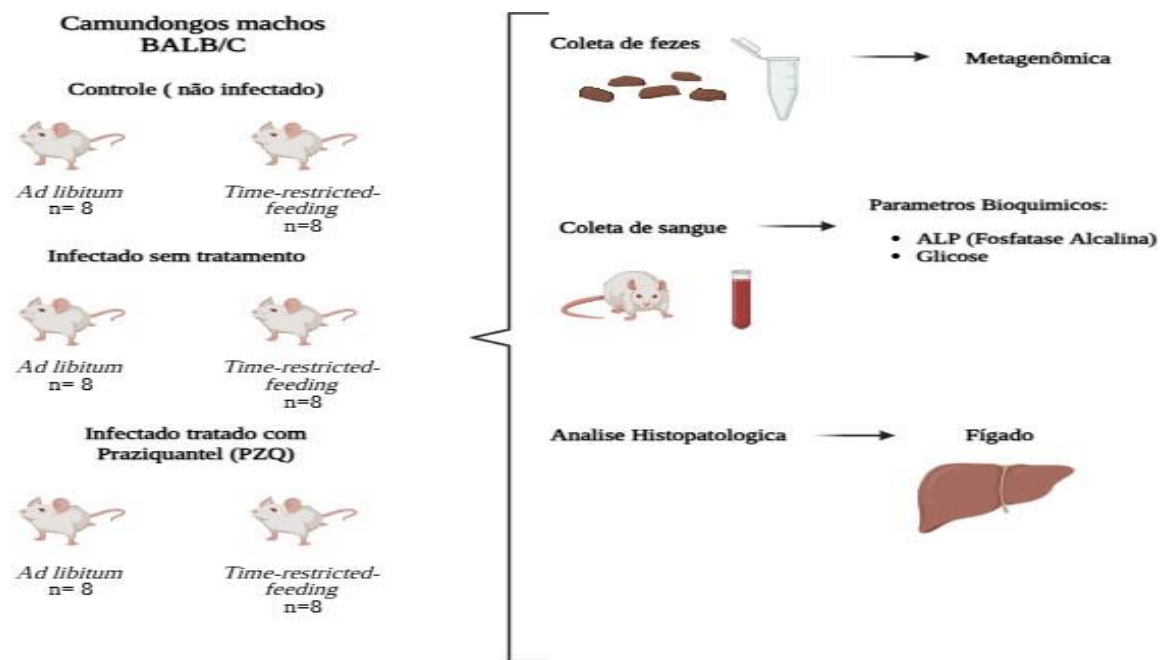
4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Camundongos machos *BALB/c* (n = 48) com aproximadamente 2 meses de idade, pesando aproximadamente 20g, foram infectados através da inoculação de 100 cercárias, por via subcutânea seguindo o protocolo do Centro de Pesquisas René Rachou/Fundação Oswaldo Cruz. Os animais foram divididos em 3 grupos, consistindo em grupo controle, grupo infectado sem tratamento e grupo infectado tratados com PZQ, sendo subdivididos em 2 subgrupos cada, seguindo os protocolos alimentares *ad libitum* e *Time-restricted-feeding* (Alimentação com restrição de tempo), como segue: (i) animais não infectados, mantidos com alimentação *ad libitum*; (ii) animais infectados sem tratamento, mantidos com alimentação *ad libitum*; (iii) animais infectados com tratamento à base de PZQ, mantidos com alimentação *ad libitum*; (iv) animais não infectados, mantidos em alimentação com restrição de tempo (*time-restricted-feeding*); (v) animais infectados sem tratamento, mantidos em alimentação com restrição de tempo (*time-restricted-feeding*); (vii) animais infectados com tratamento à base de PZQ, mantidos em alimentação com restrição de tempo (*time-restricted-feeding*).

Os animais ficaram mantidos em caixas adequadamente identificadas, em sala com temperatura controlada ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante todo o experimento. O tempo de janela alimentar foi de 12 horas (das 19h às 7h), e as 12 horas restantes, os animais permaneceram em jejum, durante os 50 dias de infecção (Desmet *et al.*, 2021; Hatori *et al.*, 2012; Tsameret *et al.*, 2023). Durante este período, também foi analisada a ingestão de ração dos grupos experimentais conforme representado na **Figura 1**.

Figura 1 – Delineamento experimental



Fonte: Elaborada pela autora (2024)

Legenda: *Ad libitum* (alimentação sem restrição)

Time-Restricted-Feeding (alimentação com restrição de tempo).

4.1.1 Infecção por *S. mansoni*

A infecção dos camundongos foi realizada através da inoculação de 100 cercárias por via subcutânea, provenientes de infecções que foram realizadas na UNIFAL-MG. Neste laboratório, os animais foram mantidos em gaiolas devidamente identificadas e alimentados com ração comercial e água, em todo experimento. Para isolamento das cercárias, os caramujos *Biomphalaria* infectados ficaram expostos à luz por 2 horas e o líquido contendo as cercárias foi transferido para um único Becker, originando um “pool” de cercárias provenientes de vários caramujos. De cada béquer retirou-se uma alíquota de aproximadamente 0,1 mL para serem contadas com auxílio de uma lupa. As alíquotas foram ajustadas a fim de se obter uma concentração equivalente a 100 ± 10 cercárias, em um volume de 0,1 mL. Os camundongos foram inoculados no dorso, individualmente, por via subcutânea, segundo a técnica descrita por Pellegrino e Katz (1968). A infecção foi feita por meio do uso de uma seringa de aço-inox com volume ajustável.

4.1.2 Tratamento com Praziquantel

O grupo dos animais infectados com tratamento a base de Praziquantel (PZQ), receberam 100 µL de uma solução aquosa de PZQ na concentração adequada para 300 mg/kg/dia pelo período de 3 dias (Protocolo FIOCRUZ), por gavagem. O tratamento teve início com 42 dias após a infecção.

4.1.3 Eutanásia dos animais

Os animais foram eutanasiados após 50 dias de infecção através de uma overdose de Quetamina (300 mg/kg de peso corporal) e Xilazina (30 mg/kg de peso corporal) com administração intraperitoneal. O sangue foi coletado por punção cardíaca e as amostras foram centrifugadas (Eppendorf®, 5427 R) a 2500 rpm por 10min para obtenção do soro. Após a eutanásia, o fígado foi retirado para posterior análise histopatológica.

4.1.4 Consumo calórico e coeficiente de eficiência energética

A massa corporal dos animais foi registrada semanalmente e o consumo de ração também foi registrado semanalmente. Os dados foram calculados a partir das informações disponibilizadas pelo fabricante da ração comercial/padrão (Nuvilab CR1, Brasil: 63% carboidratos, 26% proteínas e 11% lipídeos). Os resultados cumulativos foram obtidos através das seguintes equações (Godfrey *et al.*, 2018):

$$C = \frac{(F \times 3,4)}{M} \times 10$$

$$CEE = \frac{C}{\Delta M} \times 100$$

C: ingestão calórica (kcal/10g de massa corporal);

F: ingestão de ração;

M: massa corporal;

ΔM: variação da massa corporal;

CEE: coeficiente de eficiência energética.

4.2 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os parâmetros bioquímicos são comumente utilizados como indicadores fisiológicos dos animais em resposta a alterações endógenas e também como biomarcadores de diagnóstico. Quando os valores de referência desses parâmetros são corretamente interpretados, eles podem demonstrar as condições do animal no momento da amostragem (Oliveira *et al.*, 2021).

Os exames bioquímicos foram realizados em aparelho automático (LabMax Plenno – LabTest®) utilizando kits comerciais LabTest®. Foram mensurados os níveis séricos de Glicose e ALP (Fosfatase Alcalina). Os parâmetros bioquímicos foram determinados utilizando-se *kits* específicos (LabTest®) com metodologia cinética para determinação das atividades enzimáticas e colorimétrica para os demais testes, conforme descrição do fabricante.

4.3 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

As amostras do fígado dos animais de todos os grupos experimentais foram removidas e fixadas em solução de formaldeído 10%, processadas e incluídas em parafina. O fígado em parafina foi cortado em micrótomo rotativo a 5µm de espessura e corado pela técnica Hematoxilina/Eosina (HE) para avaliação dos granulomas esquistossomóticos. Para a captura de imagens foi utilizado o microscópio AxioCam ICc3 da marca Zeiss acoplado ao programa AxioVision, com objetivas de 20x, 40x e 100x, selecionando dez campos aleatórios para cada lâmina.

4.3.1 Análise do glicogênio hepático (PAS) e hepatócitos binucleados

As imagens dos cortes histológicos do fígado corados pelo método PAS (Apaer *et al.*, 2019) e a distribuição de glicogênio nos hepatócitos foi estimada a partir de um método computacional baseado na segmentação por cores, utilizando o software ImageJ (fotografias nas ampliações de 200x). Os resultados são reportados em percentual de hepatócitos PAS+, conforme descrito na literatura (Gonçalves *et al.*, 2019; Zapparina *et al.*, 2021). O número de hepatócitos foi relatado como hep/mm² e o percentual de hepatócitos binucleados foi calculado dividindo o total de hepatócitos pelo total de hepatócitos por campo.

4.3.2 Metagenômica

Primeiro, as leituras multiplexadas foram atribuídas em amostras biológicas. O programa DADA2 (Callahan *et al.*, 2016), um pacote de código aberto implementado na linguagem R, foi utilizado para modelagem e correção de erros de amplicons, sem a construção de OTUs. Estudos mostram que em várias comunidades simuladas, DADA2 identificou variantes mais reais e produziu menos sequências espúrias que outros métodos (Callahan *et al.*, 2016). O pacote DADA2 tem um pipeline completo implementado para transformar os arquivos fastq do sequenciador em sequências de amostras inferidas, desmembradas, e sem quimeras.

A filtragem de arquivos fastq foi realizada para cortar as sequências dos primers de PCR e filtrar as extremidades 3' das leituras devido ao decaimento da qualidade ($Q < 30$), mas mantendo a sobreposição entre as leituras, para posterior junção e remontagem do fragmento da região amplificada. O algoritmo DADA2 faz uso de um modelo de erro paramétrico e cada conjunto de dados de amplicon tem um conjunto diferente de taxas de erro.

O método learnErrors aprende esse modelo de erros a partir dos dados, alternando a estimativa das taxas de erro e a inferência da composição da amostra até que eles convirjam em uma solução consistente. Como em muitos problemas de aprendizado de máquina, o algoritmo deve começar com um palpite inicial, para o qual são usadas as taxas de erro máximas possíveis nesses dados (as taxas de erro se apenas a sequência mais abundante estiver correta e todo o restante for erros). Depois, a etapa de desreplicação (denoising) é realizada para se obter uma lista detalhada de sequências únicas e suas abundâncias, e produzir pontuação de qualidade de posição do consenso para cada sequência única, tomando a média das qualidades posicionais das leituras componentes.

DADA2 não cria OTUs (Unidades Taxonômicas Operacionais) e diferencia as variáveis de sequência relacionadas. Diferentemente de outros, esse pipeline realiza a fusão de paired-end reads após a etapa denoising. Isso ocorre porque o algoritmo de denoising do núcleo usa a relação empírica entre o índice de qualidade e as taxas de erro, atingindo maior precisão através do desmembramento antes da fusão, embora com algum custo computacional. Como a fusão ocorre após a etapa de denoising, é necessária sobreposição exata, sem mismatches, uma vez que se espera que quase todos os erros de substituição já tenham sido removidos. Em seguida, quimeras são removidas.

Após o processamento inicial dos dados de sequenciamento pelo DADA2, as taxonomias foram atribuídas a cada ASV (do inglês *Amplicon Sequencing Variants*) utilizando uma implementação do programa DADA2 do método de classificador bayesiano ingênuo para essa finalidade (Wang *et al.*, 2007). A função `assignTaxonomy` toma como entrada um conjunto de sequências (ASVs) a serem classificadas e um conjunto de treinamento de sequências de referência com taxonomia conhecida, e atribui taxonomias. O banco de dados SILVA foi utilizado como referência (Glöckner *et al.*, 2017).

As classificações taxonômicas geradas pelo DADA2, e suas quantificações, foram importadas para o programa `phyloseq` (McMurdiel; Holmes, 2013), também implementado no R. O pacote `phyloseq` é uma ferramenta para importar, armazenar, analisar e exibir graficamente dados complexos de sequenciamento filogenético que já foram agrupados em ASVs. Este pacote aproveita muitas das ferramentas disponíveis em R para ecologia e análise filogenética - como `VEGAN`, `ade4` (Dray *et al.*, 2007), `ape` (Paradis; Schliep, 2019), `Picante` (Kembel *et al.*, 2010), enquanto também usa sistemas gráficos avançados e flexíveis do `ggplot2` (Wickham, 2016) para produzir facilmente gráficos de alta qualidade.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram analisados estatisticamente utilizando-se o programa `GraphPad Prism` versão 8, Software, La Jolla, Califórnia, EUA. O teste de normalidade Shapiro-Wilk foi realizado e na sequência, foi aplicada a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey para múltiplas comparações. O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$, sendo considerado aceitável valores de $p < 0,05$ como significativos.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

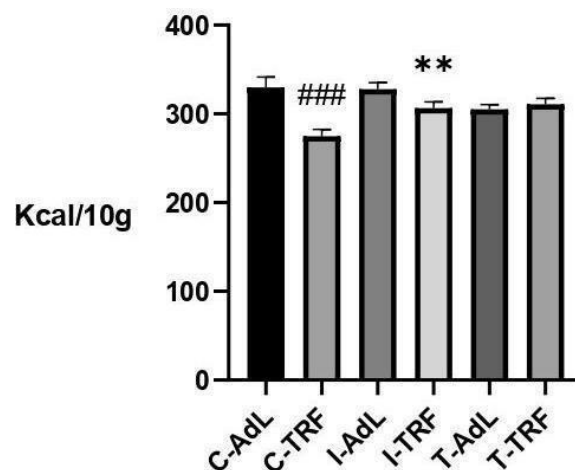
Durante o desenvolvimento do experimento, os animais de todos os grupos sobreviveram à infecção até o dia da eutanásia.

5.1 CONSUMO CALÓRICO

O consumo calórico foi calculado a partir dos dados coletados durante o período de 50 dias, no qual o consumo de ração dos grupos foi medido semanalmente conforme mostra a **Figura 2**.

O grupo controle com dieta TRF (C-TRF) teve uma redução no consumo calórico em comparação ao grupo controle *Ad libitum* (C-AdL), indicando o efeito da restrição alimentar de forma significativa ($p < 0,001$). Entre os grupos infectados sem tratamento o I-TRF reduziu em relação ao I-AdL, com efeito da infecção ($p < 0,01$).

Figura 2 – Gráfico de consumo calórico



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

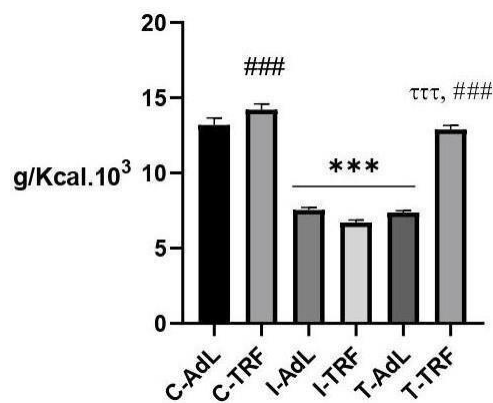
Nota: Comparação de consumo calórico entre os grupos controle *ad libitum* (CAdL), controle TRF (C-TRF) e os grupos infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF), infectados tratados com PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF). ** Nível significativo de infecção por *S. mansoni*, $p < 0,01$ ### Nível significativo de dieta TRF $p < 0,0001$.

5.2 COEFICIENTE DE EFICIÊNCIA ENERGÉTICA (CEE)

De acordo com o gráfico de coeficiente de eficiência energética (CEE) (**Figura 3**), o

grupo controle com a dieta TRF (C-TRF) apresentou maior CEE em relação ao grupo controle *Ad libitum* (C- AdL), havendo uma diferença significativa com o efeito da dieta ($p < 0,001$). Os grupos infectados sem tratamento I-TRF e I-AdL, ambos demonstraram ter impacto da infecção de forma significativa ($p < 0,001$), tendo uma redução no CEE. Nos grupos em que os animais foram tratados com Praziquantel (PZQ), o grupo T-TRF teve um aumento do CEE em relação ao grupo T-AdL (e também em relação ao ITRF), apresentando efeitos significativos tanto da dieta ($p < 0,001$) quanto do tratamento com PZQ ($p < 0,001$).

Figura 3 – Gráfico de coeficiente de eficiência energética



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Comparação do CEE cumulativo (g/kcal).10³ entre os grupos controle e infectados sem tratamento e tratados com PZQ após 8 semanas. *** Nível significativo de infecção por *S. mansoni* $p < 0,001$, ### Nível significativo de dieta TRF $p < 0,001$, τττ Nível significativo de tratamento com PZQ $p < 0,001$.

5.3 MARCADORES BIOQUÍMICOS

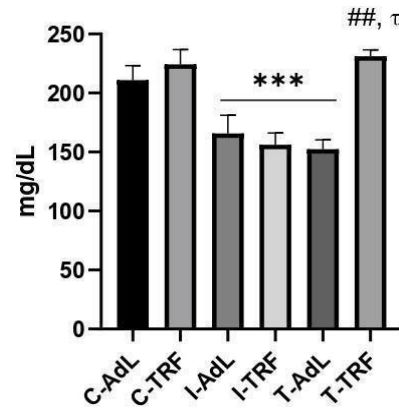
O sangue coletado dos animais dos grupos experimentais foi utilizado para avaliação de dano tecidual, especificamente dosagem de atividade Fosfatase Alcalina (ALP) e Glicose.

5.3.1 Glicemia

O gráfico apresenta os níveis de glicose (mg/dL) dos grupos experimentais (**Figura 4**). Os grupos infectados sem tratamento TRF (I-TRF) e *ad libitum* (I-AdL) demonstraram ter um efeito significativo da infecção ($p < 0,001$), apresentando uma redução em relação aos grupos dos animais não infectados (C-TRF, C-AdL). O grupo infectado tratado com PZQ com a dieta TRF (T-TRF) apresentou um aumento da glicemia em relação ao grupo tratado *ad libitum* (T-AdL), tendo efeito da dieta ($p < 0,01$) e do tratamento ($p < 0,05$).

O grupo infectado tratado *ad libitum* (T-AdL) teve redução em comparação aos grupos controle, demonstrando efeito da infecção por *S. mansoni* ($p < 0,001$).

Figura 4 – Glicose



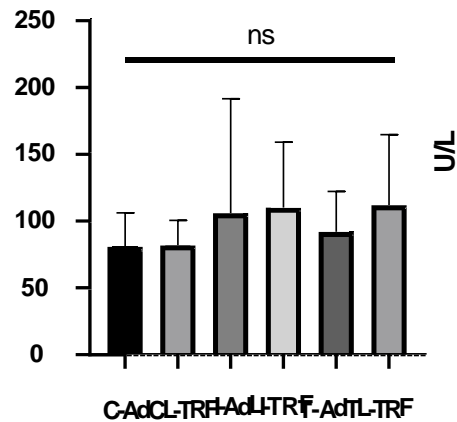
Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Nível de glicemia nos grupos controle *ad libitum* (C-AdL) e TRF (C-TRF), infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF) e infectados tratados com PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF). *** Nível significativo de infecção por *S. mansoni* ($p < 0,001$), ## Nível significativo de dieta TRF ($p < 0,01$), t Nível significativo de tratamento com PZQ ($p < 0,05$).

5.3.2 Fosfatase alcalina (ALP)

Os níveis de fosfatase alcalina não apresentaram resultados estatisticamente significativos entre os grupos experimentais (**Figura 5**).

Figura 5 – Fosfatase alcalina



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Níveis de ALP (Fosfatase Alcalina) nos grupos controle *ad libitum* (C-AdL) e TRF (C-TRF), infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF) e infectados tratados com PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF). Os resultados foram não significativos (ns).

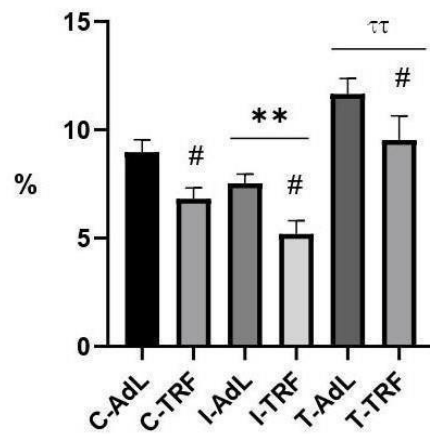
5.4 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

5.4.1 Glicogênio Hepático

O gráfico apresenta o percentual de hepatócitos PAS+, indicando reservas de glicogênio hepático (**Figura 6**). O grupo controle TRF (C-TRF) teve uma redução no percentual de hepatócitos em relação ao grupo *ad libitum* (C-AdL). O controle TRF teve o efeito da dieta de forma significativa ($p < 0,05$). Os grupos infectados sem tratamento com a dieta TRF (I-TRF) e *Ad libitum* (I-AdL) tiveram efeito significativo da infecção por *S. mansoni* ($p < 0,01$) e da dieta ($p < 0,05$) e apresentando uma redução do percentual em relação ao I-AdL.

O grupo tratado com a dieta TRF (T-TRF) e grupo *Ad libitum* (T-AdL) apresentaram efeitos significativos do tratamento com PZQ ($p < 0,01$), de forma que houve um aumento do percentual dos hepatócitos em relação aos grupos controles (C-AdL, C-TRF) e aos grupos infectados sem tratamento (I-AdL, I-TRF). No grupo infectado tratado com PZQ e com a dieta TRF (T-TRF), além do efeito do tratamento, também apresentou efeito significativo da dieta ($p < 0,05$), havendo a redução do percentual de hepatócitos em relação ao grupo que foi submetido ao *Ad libitum* (T-AdL) (**Figura 7**).

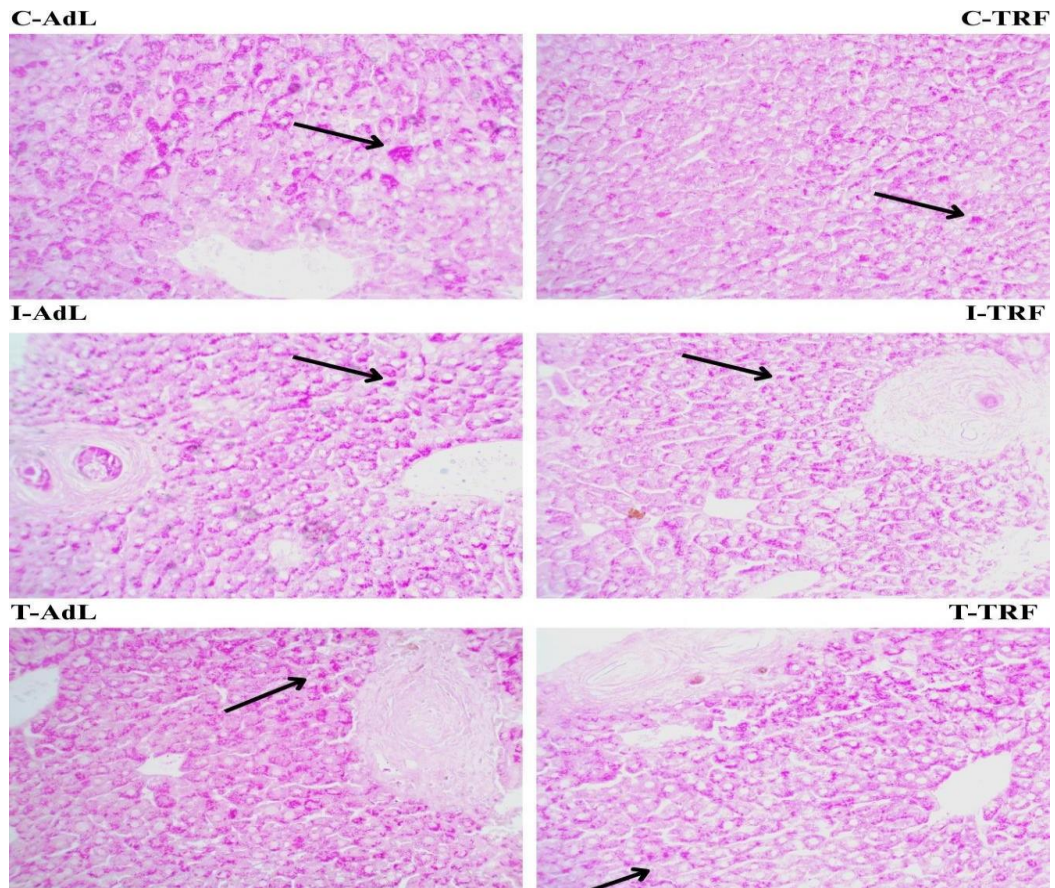
Figura 6 – Gráfico de glicogênio hepático



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Percentual de hepatócitos PAS+ nos grupos controle *ad libitum* (C-AdL) e TRF (C-TRF), infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF) e infectados tratados com PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF). ** Nível significativo de infecção por *S. mansoni* $p < 0,01$, # Nível significativo de dieta TRF $p < 0,05$, tt Nível significativo de tratamento com PZQ $p < 0,01$.

Figura 7 – Hepatócitos PAS+ (Glicogênio hepático)



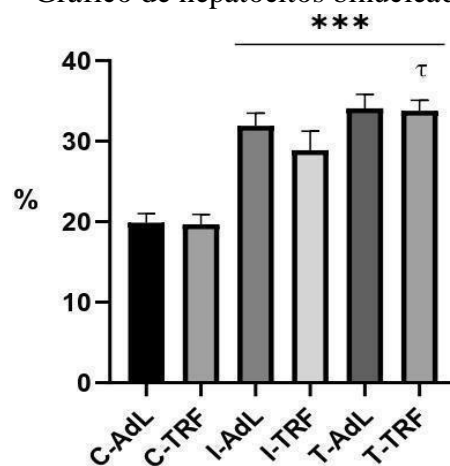
Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Cortes histológicos de glicogênio hepático dos grupos controle *ad libitum* (C-AdL) e TRF (C-TRF), glicogênio hepático dos grupos infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF) e glicogênio hepático dos grupos infectados com tratamento a base de PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF).

5.4.2 Hepatócitos binucleados

O grupo infectado sem tratamento com o protocolo TRF (I-TRF) teve uma redução do percentual de hepatócitos binucleados (**Figura 8**) quando comparado ao grupo sem restrição alimentar (I- AdL), além de um efeito significativo da infecção por *S. mansoni* ($p < 0,001$). O grupo infectado tratado com a dieta TRF (T-TRF) teve um aumento no percentual em relação aos grupos C- TRF e I-TRF, com efeito significativo da infecção e do tratamento com PZQ ($p < 0,05$). Os grupos infectados tanto sem tratamento (I-AdL, I-TRF), quanto com tratamento (T-AdL, T- TRF) apresentaram aumento de hepatócitos binucleados em relação aos grupos controles (C- AdL, C-TRF) (**Figura 9**).

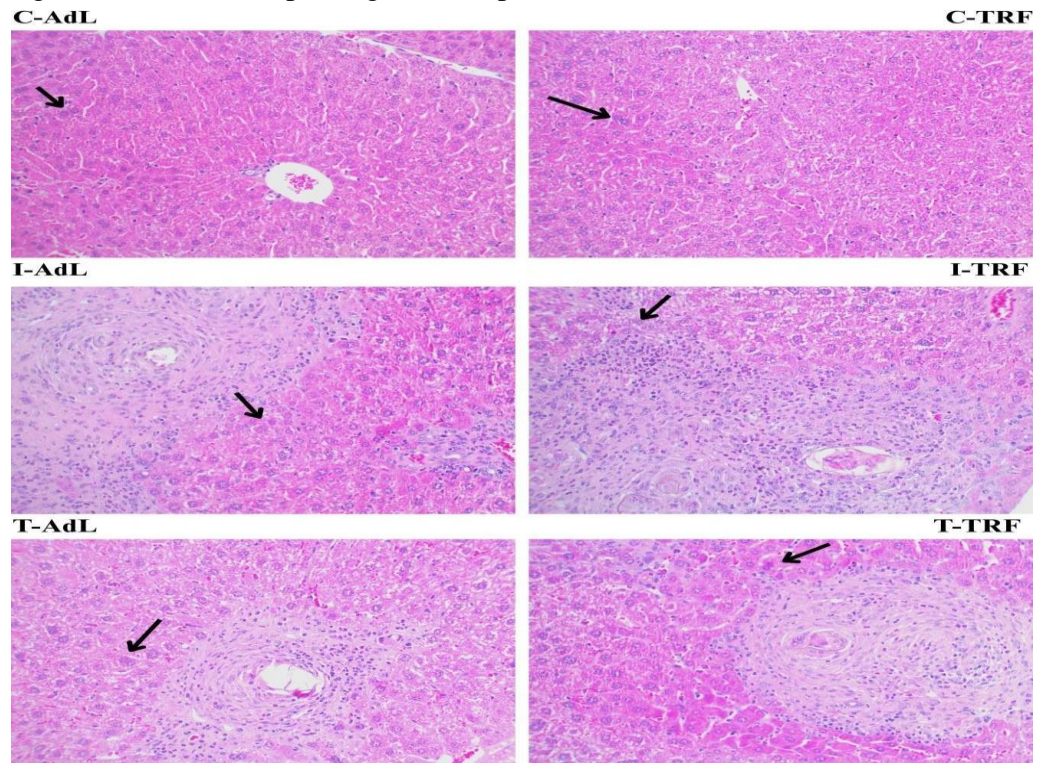
Figura 8 – Gráfico de hepatócitos binucleados



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Percentual de hepatócitos binucleados nos grupos controle *ad libitum* (C-AdL) e TRF (C- TRF), infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF) infectados tratados com PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF). *** Níveis significativo de infecção por *S. mansoni* $p < 0,001$, t Nível significativo de tratamento com PZQ $p < 0,05$.

Figura 9 – Corte histopatológico de hepatócitos binucleados



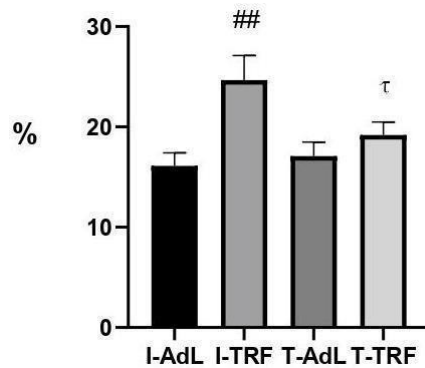
Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Cortes histológicos de hepatócitos binucleados dos grupos controle *ad libitum* (C-AdL) e TRF (C-TRF), dos grupos infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF) e dos grupos infectados com tratamento a base de PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF).

5.4.3 Área de Granuloma Hepático

O grupo infectado sem tratamento e com a dieta TRF (I-TRF) apresentou um aumento no percentual da área de granuloma hepático (**Figura 10**) em relação ao grupo *ad libitum* (I-AdL), tendo efeito significativo da dieta ($p < 0,01$). O grupo infectado com tratamento e dieta TRF (T-TRF) teve redução na área de granuloma (**Figura 11**) quando comparado ao grupo infectado sem tratamento TRF, demonstrando efeito significativo do tratamento com PZQ ($p < 0,05$).

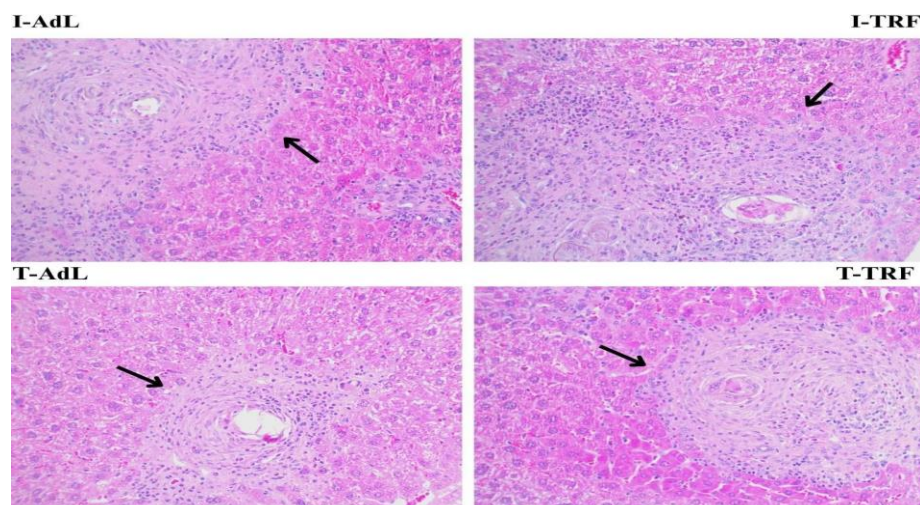
Figura 10 – Gráfico de granuloma hepático



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Área de granuloma hepático dos grupos infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) TRF (I-TRF) e infectados tratados com PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (TRF). ## Nível significativo de dieta TRF $p < 0,01$, t Nível significativo tratamento com PZQ $p < 0,05$.

Figura 11 – Granulomas hepáticos



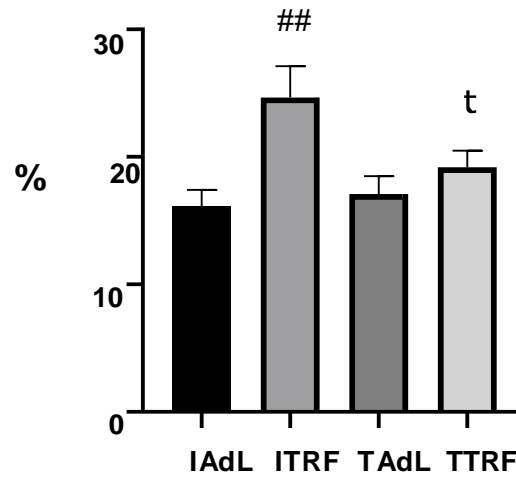
Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Cortes histológicos do fígado com granuloma hepático dos grupos infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF) e dos grupos infectados com tratamento a base de PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF).

5.4.4 Percentual de granuloma

O grupo infectado sem tratamento submetido ao TRF apresentou um aumento significativo em relação ao grupo *ad libitum*, com efeito da dieta ($p < 0,01$). O grupo infectado tratado com PZQ mantido sob o protocolo TRF também apresentou um aumento em relação ao grupo não tratado TRF, tendo efeito apenas do tratamento ($p < 0,05$) (Figura 12).

Figura 12 – Gráfico de percentual de granuloma



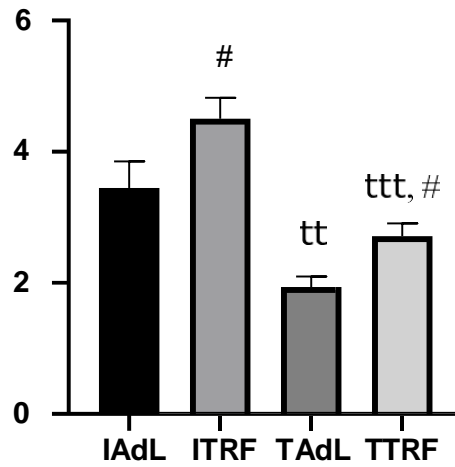
Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Comparação do Percentual de Granuloma dos grupos infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF), infectados tratados com PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF). ##Nível significativo de dieta TRF $p < 0,01$; t Nível significativo de tratamento com PZQ $p < 0,01$.

5.4.5 Carga parasitária

O grupo infectado sem tratamento que foi submetido a alimentação TRF, apresentou um aumento do número de ovos em relação ao grupo infectado sem tratamento *ad libitum*, com efeito da dieta ($p < 0,05$). O grupo infectado tratado com PZQ que foi submetido ao TRF também apontou um aumento em relação ao grupo tratado *ad libitum*, evidenciando efeitos significativos do tratamento com PZQ ($p < 0,001$) e também da dieta ($p < 0,05$) (**Figuras 13 e 14**).

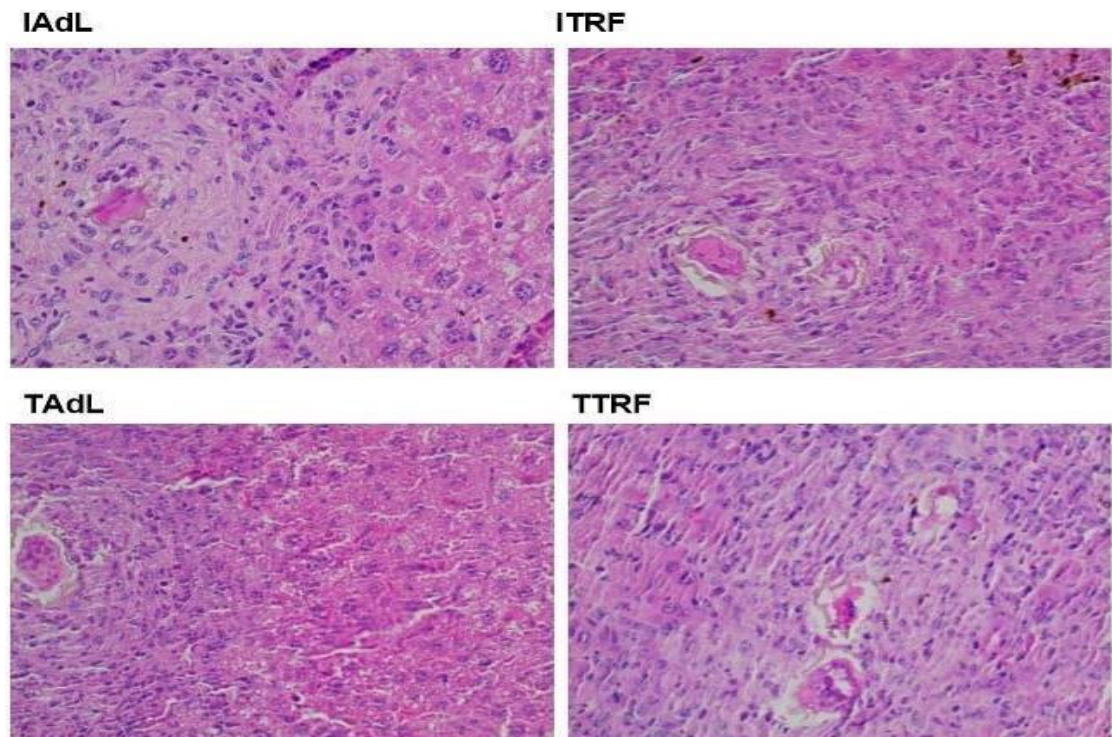
Figura 13 – Gráfico de carga parasitária (ovos por campo)



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Contagem de ovos de *S. mansoni* por campo microscópico dos grupos infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF), infectados tratados com PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF). # Nível significativo de dieta TRF $p < 0,05$; ttt Nível significativo de tratamento com PZQ $p < 0,001$.

Figura 14 – Ovos por campo



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Cortes histológicos do fígado contendo ovos de *S.mansoni* dos grupos infectados sem tratamento *ad libitum* (I-AdL) e TRF (I-TRF) e dos grupos infectados com tratamento a base de PZQ *ad libitum* (T-AdL) e TRF (T-TRF).

5.5 ÍNDICES DE DIVERSIDADE MICROBIANA

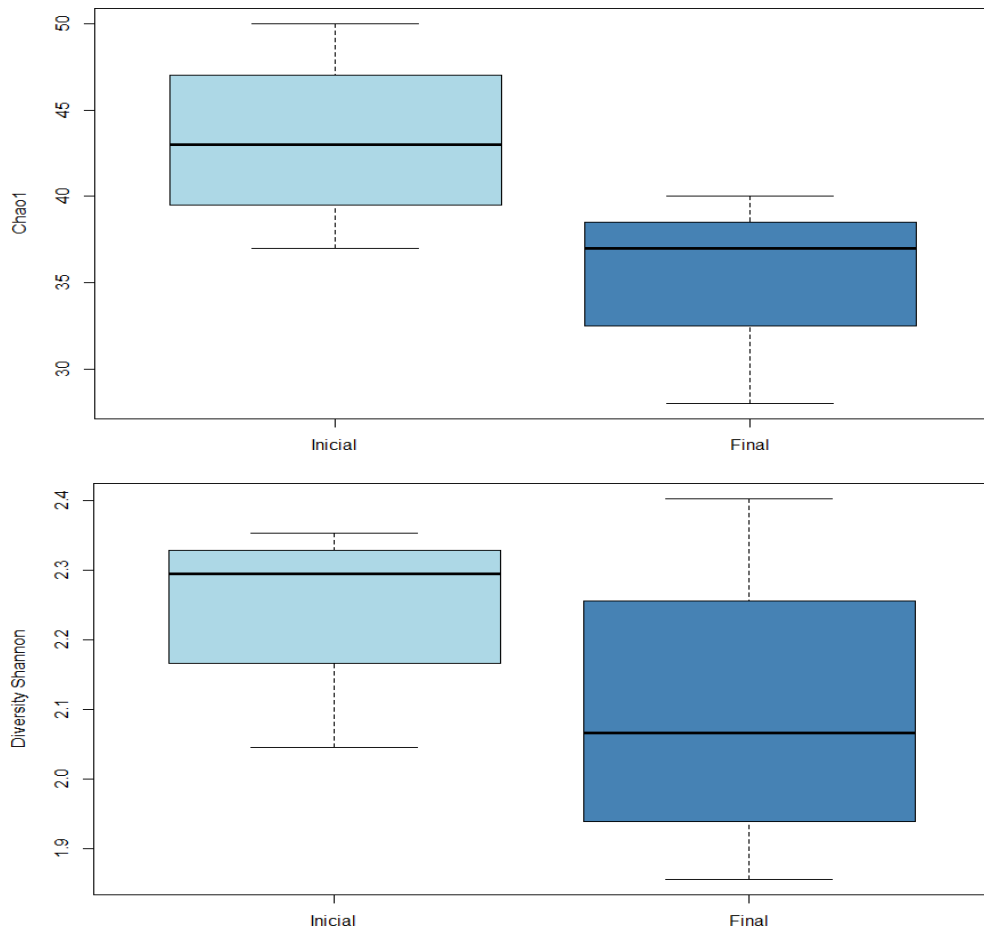
Elaborado por Anne Chao (1984), o índice de Chao, é aplicado para estimar a riqueza total de espécies em uma comunidade a partir de dados de amostragem, especialmente quando as amostras podem não capturar todas as espécies presentes. Este índice é particularmente útil em estudos de biodiversidade onde pode ser difícil amostrar completamente todas as espécies, onde esta métrica ajuda a compensar a subestimação das espécies menos abundantes (Chao, 1984; Prodan *et al.*, 2020).

Descrito por Claude Elwood Shannon, este índice é uma medida quantitativa da variedade de diferentes espécies bacterianas presentes em uma amostra de fezes, considerando tanto o número quanto a uniformidade de sua distribuição. O valor do índice de Shannon aumenta conforme aumenta o número de espécies na amostra e a distribuição equitativa Shannon é reconhecido como um indicador de diversidade. Quanto maior o valor do índice de Shannon, maior a diversidade da comunidade bacteriana analisada. Este índice também é interessante por ser sensível à espécies raras como também ser sensível a variações nas abundâncias (Justus, 2011; Kim *et al.*, 2017; Prodan *et al.*, 2020).

Quando foi realizada a análise da diversidade alfa microbiana (**Figura 15**) considerando os índices de Chao1 (riqueza estimada) e Shannon (diversidade), na comparação Inicial vs Final, observou-se uma diferença média de 7,75 no índice Chao1 ($p = 0,217$) e um p-valor de 0,195 para o índice Shannon, não evidenciando variações estatisticamente significativas. Entre os grupos de Tratamento, as médias de Chao1 foram de 39,00 e 39,75 para os grupos 1 e 2, respectivamente ($p = 0,883$), com o índice Shannon também sem diferença significativa ($p = 0,748$). Considerando os grupos de Alimentação, as médias de Chao1 foram de 38,00 e 40,75 ($p = 0,585$), enquanto o índice Shannon apresentou $p = 0,261$.

Além da diversidade alfa, também foi avaliada a abundância relativa das classes bacterianas (**Figura 16**), na qual se observaram diferenças no perfil microbiano entre os grupos avaliados. Entre essas classes, destacou-se a Desulfovibrionia (**Figura 17**), cuja abundância apresentou alterações relacionadas ao regime alimentar e aos tratamentos farmacológicos.

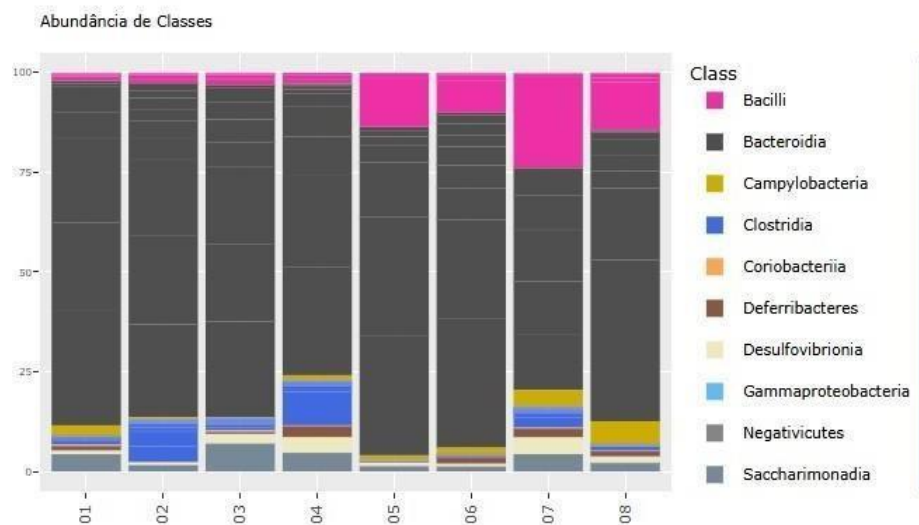
Figura 15 – Diversidade alfa em fezes de animais infectados por *S. mansoni*



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Diversidade alfa dos índices Chao1 e Shannon, ao início e final da infecção, respectivamente.

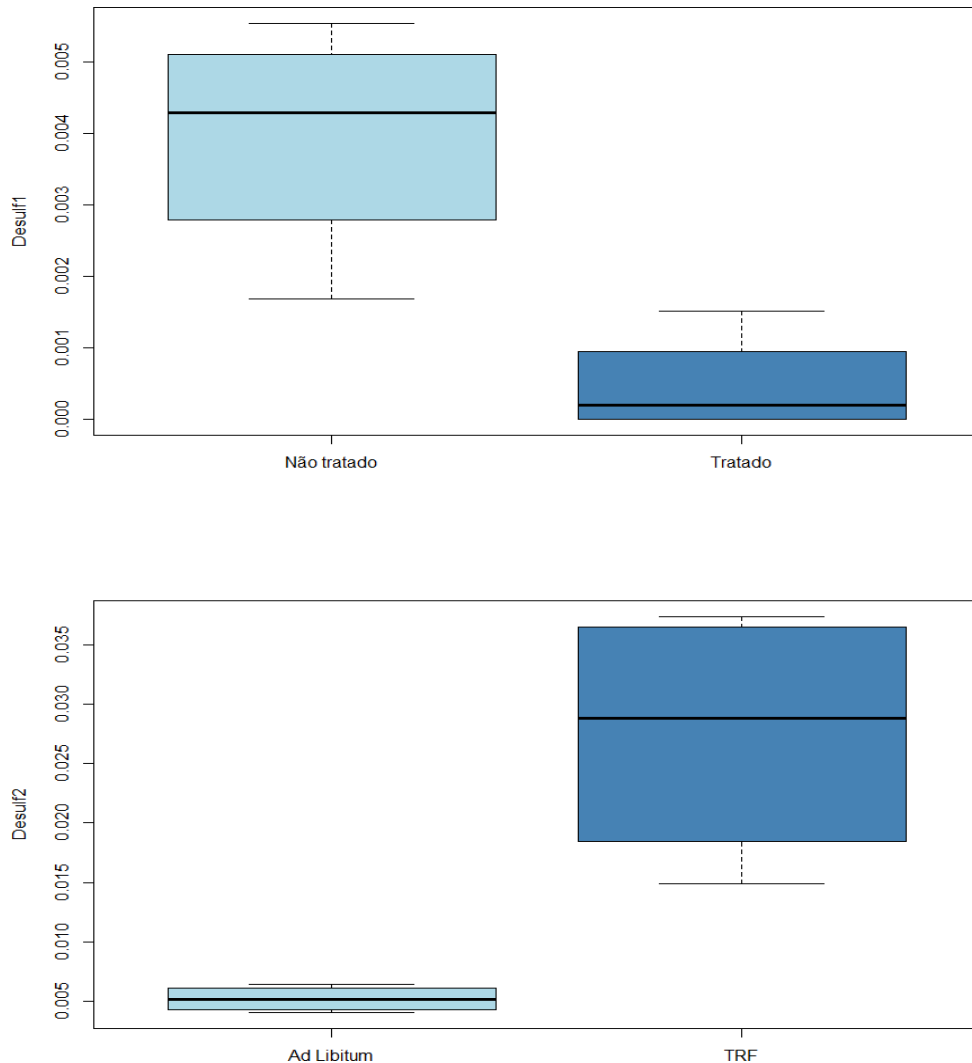
Figura 16 – Abundância de classes bacterianas em fezes infectadas por *S. mansoni*



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Classificação taxonômica das ASVs (Variantes de Sequenciamento de Amplicon) realizada com o banco de dados SILVA (versão 138), com atribuição a nível de classe.

Figura 17 – Abundância de *Desulfovibrionia* em fezes infectadas por *S. mansoni*



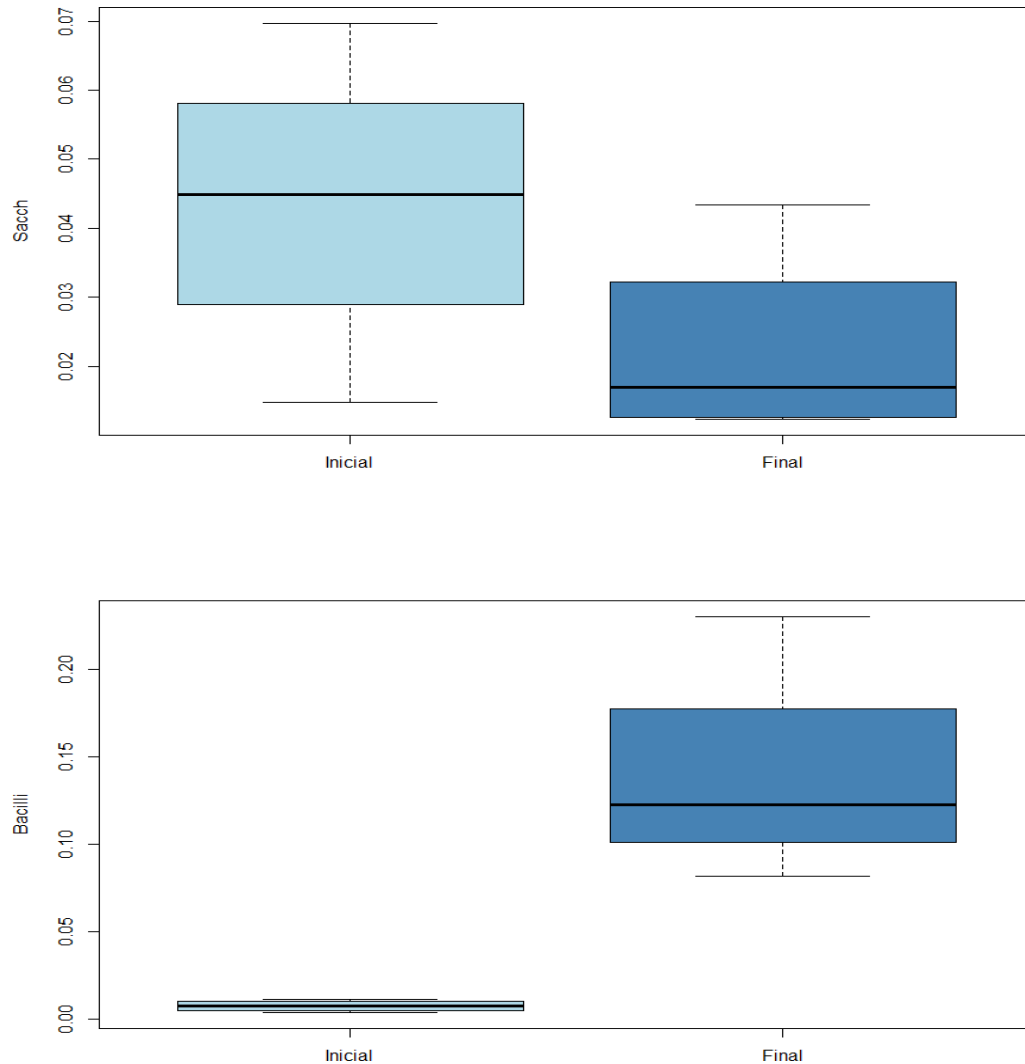
Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Diferença de abundância relativa da classe *Desulfovibrionia* de amostras de fezes de animais infectados com *S. mansoni* submetidos a tratamento e a alimentação *ad libitum* e TRF.

O primeiro gráfico mostra a abundância relativa (diversidade beta) da classe bacteriana *Desulfovibrionia* (bactérias gram negativas) dos grupos sem tratamento e com tratamento. Os grupos que foram tratados com PZQ exibiram uma redução da abundância dessa classe, indicando possível efeito positivo do tratamento. Já o segundo gráfico apresenta os protocolos alimentares *ad libitum* e TRF.

Observa-se que os animais submetidos a dieta TRF exibiram uma abundância consideravelmente maior de *Desulfovibrionia* em comparação aos animais mantidos sob alimentação *ad libitum*. O grupo TRF apresentou uma mediana elevada, com valores distribuídos entre aproximadamente 0,015 e 0,035. Já a abundância de *Desulfovibrionia* nos grupos *ad libitum* manteve-se reduzida, com uma mediana inferior a 0,005.

Figura 18 – *Saccharimonadia* e *Bacilli* em fezes infectadas por *S. mansoni*



Fonte: Elaborada pela autora (2025)

Nota: Abundância relativa das classes *Saccharimonadia* e *Bacilli* de amostras de fezes de camundongos infectados com *S. mansoni*, em fase inicial e final da infecção.

Os gráficos apresentados comparam a abundância relativa (diversidade beta) das classes bacterianas *Saccharimonadia* e *Bacilli* correspondentes ao início e ao final da infecção. Observa-se que a classe *Saccharimonadia* apresentou uma redução significativa em sua abundância ao fim da infecção, com a mediana caindo de aproximadamente 0,045 para cerca de 0,01, além de uma menor dispersão dos valores.

Por outro lado, a classe *Bacilli* (**Figura 18**) mostrou um aumento expressivo na abundância relativa, saindo de níveis praticamente nulos no início da infecção para uma mediana em torno de 0,12 no final, com valores chegando até 0,20. Esses resultados indicam que a infecção por *S. mansoni* foi capaz de promover alterações na composição da microbiota,

reduzindo a presença de determinados grupos bacterianos enquanto favoreceu o crescimento de outros.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, a comparação entre os grupos submetidos a diferentes protocolos alimentares (por exemplo, o grupo I-TRF versus o I-AdL) revelou diferenças significativas no consumo calórico. Esses achados sugerem que, além da resposta inflamatória e hepática induzida pela infecção, o estado nutricional e o padrão alimentar do hospedeiro podem modular os mecanismos metabólicos – possivelmente através de uma interação com os mecanismos indutores dos parasitos. Em outras palavras, a infecção por *Schistosoma mansoni* pode exercer um efeito duplo, afetando tanto a função hepática (como demonstrado pelos marcadores em estudos crônicos) quanto os mecanismos metabólicos relacionados à disponibilidade de energia e ao consumo calórico (Silva; Filomeno *et al.*, 2020).

A influência da infecção por *S. mansoni* foi investigada em uma abordagem que envolveu a dieta com restrição de tempo (*time-restricted feeding*, TRF) e o tratamento com praziquantel (PZQ) em camundongos machos BALB/c, analisando seus efeitos sobre parâmetros metabólicos e bioquímicos. A TRF, caracterizada pela restrição da ingestão alimentar a uma janela de tempo específica do dia (geralmente dentro de 12 horas), tem sido associada a diversos benefícios à saúde (Melkani; Panda, 2017). O estudo de Hatori *et al.* (2012) demonstrou que camundongos submetidos a uma dieta de restrição de tempo na alimentação, apresentaram melhora na sensibilidade à insulina, menor incidência de esteatose hepática e menor acúmulo de tecido adiposo, quando comparados a animais que se alimentaram sem restrição de tempo.

Esses benefícios ocorreram independentemente da ingestão calórica total, sugerindo que a regulação circadiana do metabolismo desempenha um papel crucial na manutenção da saúde metabólica. Além dos impactos sobre o metabolismo energético, a TRF também está associada à modulação da autofagia, um processo fundamental para a renovação celular e a longevidade. Yin e Klionsky (2022) destacam que a TRF intermitente promove a longevidade por meio da ativação da autofagia de maneira dependente do ritmo circadiano. A ativação noturna da autofagia mostrou-se necessária e suficiente para os benefícios da TRF na extensão da vida e melhora da saúde dos organismos estudados.

Considerando o impacto da infecção por *S. mansoni* no metabolismo do hospedeiro, que pode incluir inflamação hepática, alterações na homeostase glicídica e aumento do estresse oxidativo, a introdução da TRF pode representar uma estratégia benéfica para mitigar esses

efeitos. Adicionalmente, o tratamento com PZQ, que leva à eliminação do parasita, pode ter seus efeitos potencializados em um contexto de metabolismo regulado pela TRF, promovendo uma melhor recuperação do estado fisiológico do hospedeiro. Dessa forma, os achados do presente estudo podem contribuir para a compreensão dos impactos da TRF na resposta metabólica e inflamatória associada à infecção por *S. mansoni*, bem como para a avaliação do potencial sinérgico entre a TRF e o tratamento farmacológico com PZQ. Pesquisas futuras poderão aprofundar a análise da interação entre esses fatores, considerando diferentes períodos de restrição alimentar e seus efeitos sobre a progressão da infecção e recuperação do organismo.

A sobrevivência dos grupos experimentais não foi comprometida pela infecção, pelo regime dietético ou pelo tratamento com PZQ, o que indica que essas intervenções, isoladamente, não geraram efeitos letais. Entretanto, a análise dos parâmetros metabólicos revelou diferenças interessantes entre os grupos. Inicialmente, observou-se que a restrição alimentar (TRF) reduziu significativamente o consumo calórico tanto do grupo controle quanto do grupo infectado quando comparados aos grupos alimentados *ad libitum*. Esse achado corrobora a literatura, que destaca a importância do relógio circadiano na regulação da ingestão alimentar. O relógio circadiano, responsivo a estímulos externos como a luz e a disponibilidade de alimentos, organiza processos fisiológicos internos de forma a otimizar o desempenho metabólico ao longo do dia (Barclay, 2013).

Alterações nesse mecanismo estão associadas a problemas de saúde, incluindo distúrbios do sono, transtornos de humor, câncer e disfunções metabólicas (Delezie, 2011). No estudo de Hatori *et al.* (2012), foi demonstrado que a alimentação restrita em tempo promoveu aumento da atividade física e do gasto energético, independentemente da ingestão calórica total. Nossos dados indicam que os grupos controle e tratados com PZQ apresentaram um coeficiente de eficiência energética superior. Essa melhora no desempenho metabólico sugere que a sincronização do período de alimentação com os ritmos circadianos pode otimizar a utilização de energia, contribuindo para um metabolismo mais eficiente (Roth *et al.*, 2023).

Por outro lado, nos grupos infectados (I-AdL e I-TRF), esses benefícios metabólicos não foram observados. Estudos recentes apontam que a infecção por *S. mansoni* pode induzir alterações fisiológicas significativas no hospedeiro, influenciando a tolerância à glicose, os mecanismos de armazenamento energético e a gliconeogênese (Amer, 2023; Tang, 2018). Desta forma, a presença do parasito possivelmente influenciou no consumo calórico (I-TRF) e no coeficiente de consumo energético (I-TRF e I-AdL), corroborando o que está descrito na literatura.

Em síntese, nossos resultados sugerem que, embora a TRF possa promover uma melhora na eficiência energética e no gasto calórico em indivíduos não infectados ou em tratamento com PZQ, a infecção por *S. mansoni* impõe desafios adicionais ao equilíbrio metabólico (Li *et al.*, 2009). Essa interferência pode comprometer a plena implementação da sincronização circadiana proporcionada pela TRF, reforçando a necessidade de se considerar as interações entre infecção, metabolismo e ritmos circadianos no desenvolvimento de estratégias terapêuticas.

A redução dos níveis glicêmicos observada nos animais infectados por *S. mansoni*, I-AdL e I-TRF, aponta para uma interação direta entre o parasito e o metabolismo do hospedeiro. Essa interação pode ser explicada pelo fato de que os esquistossomos utilizam a glicose como principal fonte de energia, essencial para a maturação sexual e produção de ovos, processos que exigem altos custos energéticos (Bueding, 1950; Melkani; Panda, 2017). Segundo Pearce e Huang (2015), a glicose é crucial para os esquistossomos, especialmente durante a fase de reprodução. Os ovos, que são os principais responsáveis pela transmissão e pela patogênese da doença, dependem de uma disponibilidade contínua de glicose para serem produzidos em grande número. Assim, a captação intensiva de glicose pelo parasito pode contribuir para a redução dos níveis glicêmicos sistêmicos observados nos hospedeiros infectados.

Os esquistossomos adultos expressam receptores de insulina (IRs) na membrana basal do tegumento e nos músculos, conforme evidenciado por You *et al.* (2014). Estes IRs não apenas facilitam a absorção da glicose, mas também participam de processos relacionados ao crescimento e à manutenção metabólica do parasito. Dessa forma, os esquistossomos se aproveitam das vias de sinalização insulínica do hospedeiro para garantir a entrada do nutriente essencial, sustentando seu desenvolvimento e fecundidade.

A observação de níveis glicêmicos reduzidos em animais infectados pode ser interpretada como reflexo da intensa captação de glicose pelo parasito direcionada para sustentar processos metabólicos vitais, como a produção de ovos. Essa dependência metabólica coloca os IRs e as vias de sinalização associadas como alvos promissores para o desenvolvimento de novas intervenções terapêuticas. Ao inibir essas vias, seria possível não apenas reduzir o fornecimento de energia para o parasito, mas também interferir diretamente em sua capacidade de reprodução e crescimento.

Além disso, essa interação ressalta a importância de se considerar o impacto que a infecção por *S. mansoni* pode ter no metabolismo do hospedeiro. A redução dos níveis glicêmicos pode contribuir para um estado de hipoglicemia relativa, que, por sua vez, pode influenciar o quadro clínico do paciente e sugerir novos parâmetros para o monitoramento da

eficácia dos tratamentos (Dos Reis *et al.*, 2022). Dessa forma, os dados apontam que o *S. mansoni* explora de forma estratégica os recursos metabólicos do hospedeiro para favorecer sua sobrevivência e reprodução.

A redução dos níveis glicêmicos nos animais infectados reflete essa intensa captação de glicose, e são essenciais para o funcionamento e desenvolvimento do parasito. Dessa forma, a interrupção de mecanismos metabólicos, como por exemplo a inibição direta dos receptores e das vias de sinalização, poderia representar uma abordagem promissora no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra a esquistossomose.

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima amplamente distribuída no organismo, com fontes de síntese que incluem o fígado, os osteoblastos, o epitélio intestinal, os rins e a placenta. Esta enzima é liberada no soro em resposta à obstrução dos canalículos biliares intra e extra-hepáticos, servindo como marcador indireto da colestase. O aumento da FA nesses casos pode estar associado a alterações metabólicas, como a hipoglicemia, reforçando a relação entre disfunção hepática e desequilíbrios glicêmicos (Thrall *et al.*, 2015).

Nos estudos que analisam a esquistossomose, observa-se que os níveis séricos de FA tendem a se alterar mais significativamente na fase crônica da infecção. Trabalhos como os de Dos Reis *et al.* (2022) e Silva *et al.* (2018) demonstraram que, em indivíduos e modelos experimentais infectados por *S. mansoni*, o processo inflamatório prolongado e a formação de granulomas – consequência da deposição de ovos nos tecidos hepáticos – podem levar a um aumento dos marcadores hepáticos de lesão, incluindo a FA.

Esses achados reforçam que, diferente do que é observado em fase crônica, com evidência de danos hepáticos e alterações na função biliar, na fase aguda, como observamos em nosso trabalho, os mecanismos ainda não se consolidaram a ponto de gerar alterações estatisticamente significativas nos níveis de FA. A ausência de alteração significativa nos níveis de FA na fase aguda, ressalta a importância de se considerar a evolução temporal da doença. Enquanto a fase crônica apresenta alterações enzimáticas mais acentuadas devido ao acúmulo de danos e processos fibrosos, a fase aguda pode estar mais intimamente associada a mecanismos compensatórios, como a glicogenólise, que mantém a homeostase metabólica do hospedeiro.

Outro aspecto relevante é a adaptação metabólica do fígado durante períodos de jejum ou insuficiência alimentar. Conforme descrito por Cahill (2006), nas primeiras horas de ausência de ingestão alimentar, a glicogenólise nos hepatócitos torna-se o mecanismo predominante para manter a glicemia, até que o glicogênio hepático se esgote. Essa adaptação é crucial para a manutenção do metabolismo dos tecidos e pode influenciar a resposta

global do organismo a situações de estresse metabólico, como ocorre durante uma infecção aguda.

Esses achados abrem caminho para estudos longitudinais que acompanhem a transição da fase aguda para a crônica da esquistossomose, permitindo uma melhor compreensão de como as alterações enzimáticas e metabólicas se desenvolvem ao longo do tempo. Ademais, a influência dos protocolos alimentares – evidenciada pelas diferenças no consumo calórico entre os grupos estudados – sugere que intervenções nutricionais podem ter um papel modulador no curso da infecção, oferecendo possíveis estratégias terapêuticas complementares ao tratamento antiparasitário. Dessa forma, a integração dos achados dos estudos de Dos Reis *et al.* (2022) e Silva *et al.* (2018) com os resultados de nosso trabalho destaca a complexidade da resposta hepática e metabólica na esquistossomose, enfatizando a necessidade de abordagens que considerem tanto os aspectos inflamatórios quanto os metabólicos para um manejo mais eficaz da doença.

Durante as primeiras horas de falta de alimentos até o momento que o glicogênio do fígado se esgote, a glicogenólise nos hepatócitos gera glicose para os outros tecidos (Cahill, 2006). Desta forma, o que foi observado em nosso trabalho pode estar relacionado a este mecanismo, pois em relação ao consumo calórico, foi observado que o grupo I-TRF apresentou diferenças significativas quando comparados ao I-AdL, podendo os parasitos, através de seus mecanismos indutores, terem contribuído para este resultado.

O experimento mostrando na figura 7 em capítulos anteriores mostra o percentual de hepatócitos PAS+ de forma que os grupos infectados com *S. mansoni* apresentaram menor porcentagem quando comparados ao grupo controle, sendo que os grupos C-TRF e I-TRF foram o que apresentaram menor porcentagem de reservas de glicogênio. Bulow *et al.* (2023), observaram que através da coloração PAS visualizaram uma privação de glicogênio intracelular em células parenquimais, enquanto os ovos eram fortemente coloridos e, possivelmente, ricos em glicogênio.

Os antígenos solúveis de ovos *S. mansoni* induzem a reprogramação metabólica hepatocelular de forma que estimulam, incorporam e armazenam carboidratos e lipídios hospedeiros. Desta forma, provoca a reprogramação parenquimal e causa exaustão metabólica no fígado levando ao desarranjo metabólico, e como resultado, levam a danos ao DNA das células do hospedeiro (Bulow *et al.*, 2023; You, 2014). Uma vez que o grupo infectado I-TRF e T-TRF quando comparados aos grupos correspondentes (I-AdL e T-TRF) mostraram menor porcentagem de glicogênio, sugere que a esquistossomose pode ter influenciado neste resultado. Estudos que relacionam a regeneração do fígado pela presença de esquistossomose já foram

descritos na literatura (Correa, 2011; Costa, 1999; Neves, 2006), e a observação de hepatócitos binucleados foi relatada por Gerlyng *et al.* (1993), relacionado por uma resposta perda de tecido parenquimatoso. A literatura mostra também trabalhos com *S. mansoni* em dieta normal e comida rica em gordura (Doenhoff *et al.*, 1981; Neves, 2007). Em nossa análise, foi demonstrado que os grupos I-AdL, I-TRF, T-AdL e T-TRF apresentaram maior número de hepatócitos binucleados, como observado em Dos Reis *et al.* (2024). O I-TRF foi o que apresentou menor porcentagem deste tipo celular, sendo possivelmente relacionado com o tipo de alimentação proposto, podendo ser uma vantagem para se ter menos comprometimento do fígado no desenvolvimento da doença.

Trabalhos mostram que o granuloma em fase aguda é do tipo exsudativo-produtivo, portanto, maior quando comparado com o granuloma de fase crônica, pois com o decorrer do tempo, a deposição de fibras colágenas o torna mais compacto (Lenzi *et al.*, 1998). Reis *et al.* (2024), que utilizou de jejum em dias alternados, mostrou que a inflamação granulomatosa apresentou maior número e tamanho de granulomas, e também, danos microestruturais hepáticos, com menor número de hepatócitos, aumento na relação núcleo- citoplasma, expansão do estroma conjuntivo e fibrose aumentou em animais tratados com este tipo de jejum. Em nosso trabalho, foi observado que o grupo I-TRF apresentou maior área de granulomas quando comparados aos grupos I-AdL e até mesmo T-AdL e T-TRF. Desta forma, sugere-se que a restrição alimentar proposta em TRF resulta em maior comprometimento hepático, sugerindo que há um maior carga parasitária (Dos Reis *et al.*, 2022 e 2024).

De acordo com o que foi apresentado nos gráficos de percentual de granuloma e ovos por campo, o aumento do percentual observado no grupo não tratado à dieta com restrição de tempo (TRF), assim como o aumento da carga de ovos, pode ser compreendido à luz de evidências recentes da literatura que investigam o impacto de estratégias alimentares restritivas na resposta imune e inflamatória do hospedeiro. A TRF é uma forma de jejum intermitente que, embora traga benefícios metabólicos em diversos contextos, pode agravar a resposta inflamatória em infecções parasitárias como a esquistossomose. Esse quadro pode ser revertido com o auxílio do tratamento, como foi apontado no gráfico, que o grupo apesar de estar mantido na dieta TRF, quando tratado, reduziu esse percentual.

Investigações experimentais realizadas por Dos Reis *et al.* (2022) mostraram que camundongos infectados por *S. mansoni* e mantidos sob jejum em dias alternados (ADF – alternate- day -fasting), mesmo sem tratamento, apresentaram aumento significativo no número e no tamanho dos granulomas hepáticos, com maior deposição de estroma fibroso e dano tecidual hepático. O estudo sugere que intervenções como jejum intensifica a inflamação

hepática frente aos ovos do parasita, potencializando a formação dos granulomas.

Adicionalmente, a condição nutricional tem sido apontada como um modulador da resposta imune e da formação de granulomas. Segundo Maciel *et al.* (2021), dietas com baixo teor de proteína, por exemplo, estão associadas à formação de granulomas menores e com menor fibrose, devido à redução na produção de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ e IL-4. Já foi relatado níveis mais baixos de imunoglobulina em camundongos desnutridos, enquanto a resposta imune celular foi alterada pela desnutrição, assim como o acúmulo de ovos e perda de peso devido diminuição proteica (Coutinho *et al.*, 2010; Peters-Golden *et al.*, 2005).

Esses dados reforçam que variações na dieta influenciam diretamente a intensidade da resposta imune e o perfil inflamatório hepático durante a infecção por *S. mansoni*. Já quando é empregado o tratamento com o PZQ, é demonstrado que há uma redução na carga parasitária. Um estudo realizado com camundongos infectados com *S. mansoni* e que foram mantidos sob tratamento com PZQ, utilizando dosagens diferentes por quantidade de dias diferentes, resultou numa redução significativa da carga de vermes e contagens de ovos no intestino e fígado, assim como do número e volume dos granulomas hepáticos (Femoe *et al.*, 2022).

Os achados da metagenômica indicam que, embora intervenções farmacológicas e nutricionais tenham impactado a abundância de classes bacterianas específicas, não se observou efeito significativo sobre a diversidade alfa global das comunidades bacterianas analisadas. Tais resultados reforçam a importância de monitorar não apenas alterações de grupos taxonômicos pontuais, mas também a estabilidade e a resiliência global da microbiota frente a tratamentos combinados. De modo geral, a diminuição na diversidade alfa pode indicar disbiose e alterações na homeostase intestinal. Essas reduções foram relatadas em associação com infecções por helmintos gastrointestinais em vários sistemas experimentais, refletindo esse estado de disbiose microbiana intestinal após o início da inflamação intestinal causada pela infecção (Cattadori *et al.*, 2016; Holm *et al.*, 2015; Houlden *et al.*, 2015).

Estudos com modelos murinos infectados por *Schistosoma japonicum* e *Schistosoma mansoni* relataram uma redução significativa dos índices de diversidade alfa (Chao1 e Shannon) durante a fase patente da infecção, principalmente após início da postura de ovos (HU *et al.*, 2020; Jenkins *et al.*, 2018; Stark *et al.*, 2024). Dessa forma, os resultados encontrados neste trabalho se alinha a cenários em que a redução dessa diversidade não atinge significância estatística, principalmente em estágios pré-patentes ou em cargas parasitárias moderadas.

Por outro lado, quando se fez a análise da abundância relativa das classes bacterianas evidenciou alterações importantes associadas aos diferentes tratamentos, regimes alimentares e ao comparativo entre condições experimentais. Na comparação entre os grupos Inicial vs Final,

referente ao início e ao fim da infecção, observou-se uma redução na abundância relativa da classe *Saccharimonadia* após a intervenção, enquanto para a classe *Bacilli* houve um aumento expressivo no grupo Final. A classe *Saccharimonadia* é pertencente ao filo *Saccharibacteria*, anteriormente conhecido como TM7. São bactérias encontradas como constituintes do microbioma humano, sendo detectadas em vários locais, como trato gastrointestinal, trato genital feminino e pele, possuindo potenciais associações patogênicas (Bor *et al.*, 2019; He *et al.*, 2014).

A associação com doenças inflamatórias da mucosa, como doença inflamatória intestinal, foi sugerida a partir de estudos que encontraram sequências TM7 diferencialmente abundantes no estado da doença (Brinig *et al.*, 2003; Kuehbacher *et al.*, 2008). Um estudo feito com pacientes saudáveis e infectados com *S. Japonicum* demonstrou que os indivíduos infectados exibiram um aumento na abundância relativa do filo TM7 (*Saccharibacteria*) (Jiang *et al.*, 2021). Esses achados sugerem que a infecção tanto por *S. Japonicum* quanto por *S. mansoni* tem um efeito significativo na composição do microbioma, já que há um comprometimento do trato gastrointestinal durante a evolução da doença. Em contrapartida, os resultados encontrados neste trabalho diferem do que é encontrado na literatura, sugerindo que, devido ao tratamento que alguns grupos foram submetidos ao fim da infecção, isso pode ter influenciado na redução da classe *Saccharimonadia*.

A classe *Bacilli* pertence ao filo *Firmicutes*, que engloba uma série de gêneros com relevância na área de saúde e em sua maioria são gram positivos. Entre os gêneros de interesse clínico em humanos e animais pode-se citar *Lactobacillus* (Lanza *et al.*, 2015). Essas bactérias constituem boa parte da microbiota bacteriana humana normal, principalmente o trato gastrointestinal. As funções dos *Lactobacillus* incluem processos como digestão de alimentos, absorção nutricional, defesa contra agentes patogênicos, gerenciamento da microbiota intestinal e modulação inflamatória (Shah *et al.*, 2024).

Foi observado em um estudo feito com camundongos BALB/c infectados com *S. japonicum*, uma abundância do filo *Firmicutes* e a nível de gênero, uma prevalência considerável de *Lactobacillus* (HU *et al.*, 2020). De acordo com o estudo de Jenkins *et al.* (2018), por meio de análises bioinformáticas do gene 16S rRNA bacteriano, observou-se uma redução geral na diversidade alfa microbiana intestinal, juntamente com um aumento significativo na diversidade beta microbiana caracterizada por populações de lactobacilos na microbiota intestinal de camundongos infectados por *S. mansoni* quando comparados a animais controle não infectados.

Estes trabalhos demonstram afinidade com os resultados encontrados, indicando um

possível efeito do tratamento ou mudança de condição sobre a composição microbiana intestinal. O papel dos lactobacilos na regulação da infecção por *S. mansoni* permanece, no entanto, desconhecido, e estudos adicionais são necessários.

Para a classe *Desulfovibrionia*, foram avaliados dois cenários distintos: o primeiro considerando diferentes tratamentos (Desulf1) e o segundo em função de diferentes regimes alimentares (Desulf2). Os resultados mostraram que o grupo não tratado apresentou maior abundância relativa de *Desulfovibrionia* em comparação ao grupo tratado, sugerindo uma possível modulação da microbiota por efeito do protocolo terapêutico aplicado. O uso de PZQ consiste no tratamento primário para esquistossomose, é eficaz, mas pode causar vários efeitos colaterais e impactar o microbioma intestinal.

Durante o tratamento, é comum observar efeitos colaterais como tontura, dor de cabeça, náusea, dor abdominal e fadiga. Em alguns casos, também podem ocorrer reações alérgicas, febre, vômito, diarreia e dores musculares. Esses efeitos, associados à ação do medicamento, podem acabar interferindo na diversidade microbiana da microbiota intestinal, podendo reduzir populações bacterianas benéficas e aumentar as que são potencialmente patogênicas, assim como alterar a resposta imunológica e processos metabólicos do hospedeiro. (Afful *et al.*, 2024; Sousa *et al.*, 2010). Nos resultados apresentados, o tratamento demonstrou ser eficaz na redução das bactérias *Desulfovibrio*, sugerindo que a ação medicamentosa possa ter impactado no equilíbrio da microbiota intestinal.

Já na avaliação considerando o fator alimentação, identificou-se um aumento marcante na abundância de *Desulfovibrionia* no grupo TRF, evidenciando a influência da dieta na estruturação da comunidade bacteriana. As bactérias *Desulfovibrio* (DSV) são bactérias gram negativas, em forma de bastonete e que produzem gás sulfídrico (H₂S) como subproduto terminal de sua atividade metabólica. Atuam como bactérias comensais residentes no trato gastrointestinal humano, mas embora sejam residentes menores do intestino saudável, as DSV são patobiontes oportunistas que podem crescer excessivamente no contexto de várias doenças intestinais e extraintestinais (Singh; Carroll-Portillo; Lin, 2023). Essas bactérias também foram associadas à Doença de Parkinson (DP), sendo relacionadas à disfunção intestinal e às alterações na microbiota, sintomas frequentemente observados na DP. Observou-se um aumento de *Desulfovibrio* em um estudo realizado em pacientes portadores de DP (Murros *et al.*, 2021).

Estudos feitos com camundongos C57BL6J, para melhor compreensão da doença hepática gordurosa associada à disfunção metabólica (MAFLD), esses animais foram submetidos a uma dieta normal e a uma dieta rica em gordura e frutose (HFHFD), apontaram

que, o grupo mantido sob HFHFD por mais semanas, tiveram um aumento na população de bactérias *Desulfovibrio* (Zheng *et al.*, 2024).

Essas observações sugerem que a microbiota intestinal é sensível a alterações no padrão e na duração da alimentação, além de ser influenciada pela presença de patologias. De forma geral, os dados apontam que intervenções de natureza farmacológica, terapêutica ou nutricional podem impactar significativamente a composição microbiota, modulando populações bacterianas específicas. Esses resultados destacam a importância de compreender melhor a interação entre microbiota, tratamento e dieta na resposta do organismo frente a condições infecciosas ou inflamatórias, corroborando com achados previamente descritos na literatura.

7 CONCLUSÃO

A partir do presente estudo, os resultados revelaram a complexa interação entre infecção, microbiota intestinal e intervenções terapêuticas e nutricionais no contexto da esquistossomose. A dieta com restrição de tempo (TRF), embora amplamente reconhecida por seus efeitos benéficos metabólicos em modelos saudáveis, demonstrou efeitos ambíguos quando aplicada em camundongos infectados por *S. mansoni*. Em animais não infectados ou tratados com Praziquantel (PZQ), a TRF foi associada à melhora na eficiência energética, redução do consumo calórico e maior sincronização metabólica com o ritmo circadiano. No entanto, esses benefícios foram parcialmente ou totalmente suprimidos nos grupos infectados, indicando que a infecção interfere significativamente nos processos metabólicos mediados pelo padrão alimentar.

A infecção por *S. mansoni* se mostrou capaz de promover alterações importantes na homeostase glicêmica, nos estoques hepáticos de glicogênio e nos marcadores de regeneração e dano hepático, como a presença de hepatócitos binucleados e o aumento da área dos granulomas. Esses efeitos parecem estar associados à alta demanda energética dos parasitos, à reprogramação metabólica hepática induzida pelos ovos, e à manipulação das vias de sinalização insulínica do hospedeiro.

O tratamento com PZQ apresentou resultados positivos, como a redução na carga parasitária e na abundância relativa de bactérias potencialmente patogênicas como *Desulfovibrio*. Apesar disso, observou-se que o regime alimentar TRF, no contexto de infecção não tratada, pode intensificar a resposta inflamatória hepática, possivelmente agravando a carga parasitária e os danos teciduais.

A análise metagenômica indicou que embora a diversidade alfa não tenha sofrido alterações estatisticamente significativas, a abundância relativa de algumas classes bacterianas foi modulada pelas intervenções. A redução da classe *Saccharimonadia* e o aumento de *Bacilli* no final da infecção indicam uma resposta dinâmica da microbiota frente à infecção e ao tratamento. A presença aumentada de *Desulfovibrio* em animais submetidos à TRF, por outro lado, levanta questionamentos sobre o possível papel pró-inflamatório desse tipo de alimentação em contextos infecciosos.

Em conjunto, os dados obtidos indicam que intervenções nutricionais como a TRF, quando não acompanhadas de controle parasitário eficaz, podem exercer efeitos nocivos no contexto da esquistossomose, intensificando alterações metabólicas e inflamatórias no

hospedeiro. Observou-se, no entanto, que a combinação da TRF com o tratamento farmacológico, torna-se uma possibilidade de estudo promissora. Esses resultados reforçam a importância de considerar o estado infeccioso do hospedeiro ao propor estratégias nutricionais e sugerem que estratégias conjuntas, que envolvam dieta, tratamento e modulação da microbiota, possam representar caminhos mais eficazes para o manejo da esquistossomose e suas consequências metabólicas.

Pesquisas futuras são necessárias afim de investigar essa interação ao longo do tempo, avaliando os efeitos de diferentes janelas alimentares, fases da infecção e estratégias terapêuticas combinadas, com o objetivo de compreender melhor os mecanismos metabólicos e imunológicos frente à infecção por *S. mansoni*.

REFERÊNCIAS

- AFFUL, P.; ABOTSI, G. K.; ADU-GYAMFI, C. O.; et al. Schistosomiasis-microbiota interactions: a systematic review and meta-analysis. **Pathogens**, Basel, v. 13, n. 10, p. 906, 16 Oct. 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens13100906>.
- AMER, A. S.; et al. The interaction of *Schistosoma mansoni* infection with diabetes mellitus and obesity in mice. **Scientific Reports**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 9417, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36112-5>.
- ANTONI, Rona et al. Effects of intermittent fasting on glucose and lipid metabolism. **Proceedings of the Nutrition Society**, [S.l.], v. 76, n. 3, p. 361-368, 2017.
- APAER, S.; et al. Subcutaneous inoculation of *Echinococcus multilocularis* induces delayed regeneration after partial hepatectomy. **Scientific Reports**, [S.l.], v. 9, n. 1, p. 1-11, 2019.
- ARRIETA, M. C. et al. The intestinal microbiome in early life: health and disease. **Frontiers Immunology**, [S.l.], v. 5, p. 427, 2014.
- BARCLAY, J. L.; et al. High-fat diet-induced hyperinsulinemia and tissue-specific insulin resistance in Cry-deficient mice. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, [S.l.], v. 304, n. 10, p. E1053-E1063, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00512.2012>.
- BARNHILL, A. E.; et al. Schistosoma-associated *Salmonella* resist antibiotics via specific fimbrial attachments to the flatworm. **Parasites & Vectors**, [S.l.], v. 4, p. 123, 2011.
- BASEN-ENGQUIST, K.; CHANG, M. Obesity and cancer risk: recent review and evidence. **Current Oncology Reports**, [S.l.], v. 13, p. 71-76, 2011.
- BERGQUIST, R.; UTZINGER, J.; KEISER, J. Controlling schistosomiasis with praziquantel: how much longer without a viable alternative? **Infectious Diseases of Poverty**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 74, 28 Mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40249-017-0286-2>.
- BOR, B.; BEDREE, J. K.; SHI, W.; MCLEAN, J. S.; HE, X. Saccharibacteria (TM7) in the human oral microbiome. **Journal of Dental Research**, [S.l.], v. 98, n. 5, p. 500-509, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034519831671>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Esquistossomose**. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/e/esquistossomose-1>. Acesso em: 10 out. 2023.
- BRINIG, M. M.; LEPP, P. W.; OUVENEY, C. C.; ARMITAGE, G. C.; RELMAN, D. A. Prevalence of bacteria of division TM7 in human subgingival plaque and their association with disease. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 69, n. 3, p. 1687-1694, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.69.3.1687-1694.2003>.
- BUEDING, E. Carbohydrate metabolism of *Schistosoma mansoni*. **The Journal of General Physiology**, [S.l.], v. 33, n. 5, p. 475-495, 1950.

- CAHILL, G. F. Jr. Fuel metabolism in starvation. **Annual Review of Nutrition**, [S.l.], v. 26, p. 1-22, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.26.061505.111258>.
- CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; ROSEN, M. J.; HAN, A. W.; JOHNSON, A. J. A.; HOLMES, S. P. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, [S.l.], v. 13, p. 581-583, 2016.
- CARBONELL, C.; et al. Clinical spectrum of schistosomiasis: an update. **Journal of Clinical Medicine**, [S.l.], v. 10, n. 23, p. 5521, 25 Nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm10235521>.
- CARVALHO, A. T.; MARTINS FILHO, A. O.; OLIVEIRA, R. C. A resposta imune na forma crônica da esquistossomose mansoni. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (org.). **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008. p. 701-716.
- CATTADORI, I. M.; SEBASTIAN, A.; HAO, H.; KATANI, R.; ALBERT, I.; EILERTSON, K. E.; KAPUR, V.; PATHAK, A.; MITCHELL, S. Impact of helminth infections and nutritional constraints on the small intestine microbiota. **PLOS ONE**, [S.l.], v. 11, n. 7, e0159770, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159770>.
- CHAIX, A.; ZARRINPAR, A.; MIL, P.; PANDA, S. Time-restricted feeding is a preventative and therapeutic intervention against diverse nutritional challenges. **Cell Metabolism**, [S.l.], v. 20, n. 6, p. 991-1005, 2 Dec. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.11.001>.
- CHAIX, A.; ZARRINPAR, A. The effects of time-restricted feeding on lipid metabolism and adiposity. **Adipocyte**, [S.l.], v. 4, n. 4, p. 319-324, 20 Apr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/21623945.2015.1025184>.
- CHEEVER, A. W.; HOFFMANN, K. F.; WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunology Today**, [letter], [S.l.], v. 21, p. 465-466, 2000.
- CHEN, Y.; ZHOU, J.; WANG, L. Role and mechanism of gut microbiota in human disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S.l.], v. 11, p. 625913, 17 Mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.625913>.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel. **Parasitology Research**, [S.l.], v. 90, suppl. 1, p. S3-S9, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0751-z>.
- COLLEY, D. G.; et al. Human schistosomiasis. **The Lancet**, London, v. 383, n. 9936, p. 2253-2264, 2014.
- COUTINHO, E. M.; OLIVEIRA, S. A.; BARROS, A. F.; SILVA, F. L.; RAMOS, R. P. Manson's schistosomiasis in the undernourished mouse: some recent findings. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 105, n. 4, p. 359-366, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0074-02762010000400002>.
- DELEZIE, J.; CHALLET, E. Interactions between metabolism and circadian clocks: reciprocal disturbances. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [S.l.], v. 1243, p.

30-46, Dec. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06246.x>.

DESMET, L.; et al. Time-restricted feeding in mice prevents the disruption of the peripheral circadian clocks and its metabolic impact during chronic jetlag. **Nutrients**, [S.l.], v. 13, n. 11, p. 3846, 28 Oct. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13113846>.

DOENHOFF, M. J.; et al. Immunological control of hepatotoxicity and parasite egg excretion in *Schistosoma mansoni* infections: stage specificity of the reactivity of the immune serum in T-cell deprived mice. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 75, p. 41-53, 1981.

DOS REIS, L. F. C.; et al. Alternate-day fasting, a high-sucrose/caloric diet and praziquantel treatment influence biochemical and behavioral parameters during *Schistosoma mansoni* infection in male BALB/c mice. **Experimental Parasitology**, [S.l.], v. 240, p. 108316, 2022.

DOS REIS, L. F. C.; et al. Dietary glycemic and energy load differentially modulates *Schistosoma mansoni*-induced granulomatous inflammation and response to antiparasitic chemotherapy. **Acta Tropica**, [S.l.], v. 252, p. 107141, Apr. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107141>.

DRAY, S.; DUFOUR, A.-B.; et al. The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. **Journal of Statistical Software**, [S.l.], v. 22, p. 1-20, 2007.

FAUST, C.; et al. Schistosomiasis control: leave no age group behind. **Trends in Parasitology**, [S.l.], v. 36, n. 7, p. 582-591, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.012>.

GERLYNG, P.; et al. Binucleation and polyploidization patterns in developmental and regenerative rat liver growth. **Cell Proliferation**, [S.l.], v. 26, n. 6, p. 557-565, 1993.

GLÖCKNER, F. O.; YILMAZ, P.; QUAST, C.; GERKEN, J.; BECCATI, A.; CIUPRINA, A.; et al. 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools. **Journal of Biotechnology**, [S.l.], v. 261, p. 169-176, 2017.

GODFREY, J. R.; et al. Diet matters: glucocorticoid-related neuroadaptations associated with calorie intake in female rhesus monkeys. **Psychoneuroendocrinology**, [S.l.], v. 91, p. 169-178, 2018.

GONÇALVES, R. V.; et al. Trans-fatty acids aggravate anabolic steroid-induced metabolic disturbances and differential gene expression in muscle, pancreas and adipose tissue. **Life Sciences**, [S.l.], v. 232, p. 116603, 2019.

HATORI, M.; et al. Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. **Cell Metabolism**, [S.l.], v. 15, n. 6, p. 848-860, Jun. 2012.

HE, X.; MCLEAN, J. S.; EDLUND, A.; et al. Cultivation of a human-associated TM7 phylotype reveals a reduced genome and epibiotic parasitic lifestyle. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, EUA, v. 112, n. 1, p. 244-249, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1419038112>.

HOLM, J. B.; SOROBETEA, D.; KIILERICH, P.; et al. Chronic *Trichuris muris* infection decreases diversity of the intestinal microbiota and concomitantly increases the abundance of lactobacilli. **PLOS ONE**, [S.l.], v. 10, n. 5, e0125495, 5 May 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125495>.

HORNE, B. D.; MUHLESTEIN, J. B.; ANDERSON, J. L. Health effects of intermittent fasting: hormesis or harm? **American Journal of Clinical Nutrition**, EUA, v. 102, n. 4, p. 464-470, 2015.

HOULDEN, A.; HAYES, K. S.; BANCROFT, A. J.; et al. Chronic *Trichuris muris* infection in C57BL/6 mice causes significant changes in host microbiota and metabolome: effects reversed by pathogen clearance. **PLOS ONE**, [S.l.], v. 10, n. 5, e0125945, 4 May 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125945>.

HU, Y.; et al. Alterations of gut microbiome and metabolite profiling in mice infected by *Schistosoma japonicum*. **Frontiers in Immunology**, [S.l.], v. 11, p. 569727, 7 Oct. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.569727>.

JENKINS, T. P.; PEACHEY, L. E.; AJAMI, N. J.; et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with quantitative and qualitative modifications of the mammalian intestinal microbiota. **Scientific Reports**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 12072, 13 Aug. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30412-x>.

JIANG, Y.; YUAN, Z.; SHEN, Y.; et al. Alteration of the fecal microbiota in Chinese patients with *Schistosoma japonicum* infection. **Parasite**, [S.l.], v. 28, p. 1, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1051/parasite/2020074>.

KATZ, N. **Inquérito nacional de prevalência da esquistossomose mansoni e geohelmintos**. Belo Horizonte: CPqRR, 2018. 76 p. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/25662>. Acesso em: 12 jan. 2021.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 1, p. 38-43, jan. 2003. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252003000100024&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 11 mar. 2024.

KEMBEL, S. W.; COWAN, P. D.; HELMUS, M. R.; CORNWELL, W. K.; MORLON, H.; ACKERLY, D. D.; et al. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. **Bioinformatics**, [S.l.], v. 26, p. 1463-1464, 2010.

KUEHBACHER, T.; REHMAN, A.; LEPAGE, P.; et al. Intestinal TM7 bacterial phylogenies in active inflammatory bowel disease. **Journal of Medical Microbiology**, [S.l.], v. 57, pt. 12, p. 1569-1576, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47719-0>.

LAMBERTUCCI, J. R. Acute schistosomiasis mansoni: revisited and reconsidered. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105, n. 4, p. 422-435, Jul. 2010.

LANZA, V. F.; et al. The plasmidome of firmicutes: impact on the emergence and the spread of resistance to antimicrobials. **Microbiology Spectrum**, [S.l.], v. 3, n. 2, Apr. 2015.

- LENZI, H. L.; et al. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.l.], v. 93, p. 141-151, 1998.
- LI, J. V.; HOLMES, E.; SARIC, J.; KEISER, J.; DIRNHOFER, S.; UTZINGER, J.; WANG, Y. Metabolic profiling of a *Schistosoma mansoni* infection in mouse tissues using magic angle spinning-nuclear magnetic resonance spectroscopy. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 39, n. 5, p. 547-558, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.10.010>.
- LIMA, K. M. Associação entre esquistossomose mansônica e infecções microbianas: estudo da translocação microbiana em camundongos na fase crônica, submetidos a esplenectomia. 2012. 180 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.
- LIMA, K. M.; TELES, R. B. A.; CASTRO, C. M. M. B. Esquistossomose mansônica e translocação bacteriana: existe associação? **RBAC – Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S.l.], v. 48, n. 2, p. 110-117, 2016.
- LIMA, S. N. P.; et al. Tempol modulates the leukocyte response to inflammatory stimuli and attenuates endotoxin-induced sickness behaviour in mice. **Archives of Physiology and Biochemistry**, [S.l.], v. 126, p. 341-347, 2018.
- LONGO, V. D.; PANDA, S. Fasting, circadian rhythms, and time-restricted feeding in healthy lifespan. **Cell Metabolism**, [S.l.], v. 23, n. 6, p. 1048-1059, 2016.
- MACIEL, P. S.; GONÇALVES, R.; ANTONELLI, L. R. D. V.; FONSECA, C. T. *Schistosoma mansoni* infection is impacted by malnutrition. **Frontiers in Microbiology**, [S.l.], v. 12, p. 635843, 19 Mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.635843>.
- MCKENZIE, M.; KIRK, R. S.; WALKER, A. J. Glucose uptake in the human pathogen *Schistosoma mansoni* is regulated through Akt/protein kinase B signaling. **Journal of Infectious Diseases**, [S.l.], v. 218, n. 1, p. 152-164, 5 Jun. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jix654>.
- MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLOS ONE**, [S.l.], v. 8, e61217, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.
- MELKANI, G. C.; PANDA, S. Time-restricted feeding for prevention and treatment of cardiometabolic disorders. **The Journal of Physiology**, [S.l.], v. 595, n. 12, p. 3691-3700, 15 Jun. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1113/JP273094>.
- MELO, A. L.; COELHO, P. M. Z. *Schistosoma mansoni* e a esquistossomose. In: NEVES, D. P. (org.). **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu, 2016. cap. 22, p. 225-256.
- MONTENEGRO, S. M. L.; et al. Cytokine production in acute versus chronic human *schistosomiasis mansoni*: the cross-regulatory role of interferon- γ and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. **Journal**

of **Infectious Diseases**, [S.l.], v. 179, p. 1502-1514, 1999.

MURROS, K. E.; HUYNH, V. A.; TAKALA, T. M.; SARIS, P. E. J. Desulfovibrio bacteria are associated with Parkinson's disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S.l.], v. 11, p. 652617, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.652617>.

NAGAI, M.; et al. Fasting-refeeding impacts immune cell dynamics and mucosal immune responses. **Cell**, [S.l.], v. 178, n. 5, p. 1072-1087.e14, 2019.

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

OLIVEIRA, F. A. S.; et al. Valores de referência de parâmetros bioquímicos e hematológicos de *Rattus norvegicus* (Wistar) da Unidade de Produção Animal do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba. **Scientia Plena**, Paraíba, v. 17, n. 3, 2021. DOI: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2021.034901>.

OMAR, H. H. Impact of chronic schistosomiasis and HBV/HCV co-infection on the liver: current perspectives. **Hepatic Medicine: Evidence and Research**, [S.l.], v. 11, p. 131-136, 3 Sep. 2019. DOI: <https://doi.org/10.2147/HMER.S155962>.

PARADIS, E.; SCHLIEP, K. APE 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. **Bioinformatics**, [S.l.], v. 35, p. 526-528, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633>.

PASCUAL, A.; et al. A meta-analysis comparing the effectiveness of alternate day fasting, the 5:2 diet, and time-restricted eating for weight loss. **Obesity (Silver Spring)**, [S.l.], v. 31, suppl. 1, p. 9-21, Feb. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/oby.23568>.

PEARCE, E. J.; HUANG, S. C.-C. The metabolic control of schistosome egg production. **Cellular Microbiology**, [S.l.], v. 17, n. 6, p. 796-801, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/cmi.12441>.

PETERS-GOLDEN, M.; CANETTI, C.; MANCUSO, P.; COFFEY, M. J. Leucotrienos: mediadores subestimados de respostas imunes inatas. **The Journal of Immunology**, [S.l.], v. 174, n. 2, p. 589-594, jan. 2005. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.2.589>.

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

POUSADA-MARTÍNEZ, M.; et al. Schistosomiasis and the heart: in the name of neglected tropical diseases and other infectious diseases affecting the heart (Project NET-Heart). **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S.l.], v. 118, n. 5, p. 885-893, jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.36660/abc.20201384>.

RANGAN, P.; et al. Fasting-mimicking diet modulates microbiota and promotes intestinal regeneration to reduce inflammatory bowel disease pathology. **Cell Reports**, [S.l.], v. 26, n.

10, p. 2704-2719.e6, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.02.019>.

ROCHA, T. J. M.; et al. Aspectos epidemiológicos e distribuição dos casos de infecção pelo *Schistosoma mansoni* em municípios do Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 7, n. 2, p. 27-32, jun. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232016000200003>.

ROTH, J. R.; VARSHNEY, S.; MORAES, R. C. M.; MELKANI, G. C. Circadian-mediated regulation of cardiometabolic disorders and aging with time-restricted feeding. **Obesity**, [S.l.], v. 31, suppl. 1, p. 40-49, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/oby.23664>.

RUMJANEK, F. D.; CALDAS, I. R.; GAZZINELLI, G. Bioquímica de *Schistosoma mansoni*. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. (orgs.). **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar** [online]. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2008. p. 161-205.

SCHNEEBERGER, P. H. H.; et al. Investigations on the interplays between *Schistosoma mansoni*, praziquantel and the gut microbiome. **Parasites & Vectors**, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 168, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2752-9>.

SHER, A.; et al. Interleukin 5 is required for the blood and tissue eosinophilia but not granuloma formation induced by infection with *Schistosoma mansoni*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, EUA, v. 87, p. 61-65, 1990. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.87.1.61>.

SILVA FILOMENO, C. E.; COSTA-SILVA, M.; CORRÊA, C. L.; NEVES, R. H.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; MACHADO-SILVA, J. R. The acute *schistosomiasis mansoni* ameliorates metabolic syndrome in the C57BL/6 mouse model. **Experimental Parasitology**, [S.l.], v. 212, p. 107889, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107889>.

SILVA, F. L.; et al. Alterations in the lipid profiles and circulating liver enzymes in individuals infected by *Schistosoma mansoni*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasil, v. 51, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0124-2018>.

SINGH, S. B.; CARROLL-PORTILLO, A.; LIN, H. C. Desulfovibrio in the gut: the enemy within? **Microorganisms**, [S.l.], v. 11, n. 7, p. 1772, 7 Jul. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071772>.

SOLIMAN, G. A. Intermittent fasting and time-restricted eating role in dietary interventions and precision nutrition. **Frontiers in Public Health**, [S.l.], v. 10, p. 1017254, 28 Oct. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1017254>.

SOUSA-FIGUEIREDO, J. C.; PLEASANT, J.; DAY, M.; BETSON, M.; ROLLINSON, D.; MONTRESOR, A.; KAZIBWE, F.; KABATEREINE, N. B.; STOTHARD, J. R. Treatment of intestinal schistosomiasis in Ugandan preschool children: best diagnosis, treatment efficacy and side-effects, and an extended praziquantel dosing pole. **International Health**, [S.l.], v. 2, p. 103-113, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.inhe.2010.02.003>.

STARK, K. A.; RINALDI, G.; COSTAIN, A.; et al. Gut microbiota and immune profiling of microbiota-humanised versus wildtype mouse models of hepatointestinal schistosomiasis. **Animal Microbiome**, [S.l.], v. 6, p. 36, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s42523-024-00318-3>.

TANG, C.-L.; et al. *Schistosoma* infection and *Schistosoma*-derived products modulate the immune responses associated with protection against type 2 diabetes. **Frontiers in Immunology**, [S.l.], v. 8, p. 1990, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01990>.

THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2015. 688 p.

TSAMERET, S.; CHAPNIK, N.; FROY, O. Effect of early vs. late time-restricted high-fat feeding on circadian metabolism and weight loss in obese mice. **Cellular and Molecular Life Sciences**, [S.l.], v. 80, n. 7, p. 180, 17 Jun. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04834-4>.

TURNER, J. D.; et al. Intensity of intestinal infection with multiple worm species is related to regulatory cytokine output and immune hyporesponsiveness. **The Journal of Infectious Diseases**, [S.l.], v. 197, n. 8, p. 1204-1212, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1086/586717>.

VALE, N.; et al. Praziquantel for schistosomiasis: single-drug metabolism revisited, mode of action, and resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S.l.], v. 61, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.02582-16>.

VANDERSTRAETE, M.; et al. Dual targeting of insulin and Venus kinase receptors of *Schistosoma mansoni* for novel anti-schistosome therapy. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.l.], v. 7, n. 5, e2226, 16 May 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002226>.

VITORINO, R. R.; et al. Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 39-45, 2012.

VON BÜLOW, V.; et al. Metabolic reprogramming of hepatocytes by *Schistosoma mansoni* eggs. **JHEP Reports**, [S.l.], v. 2, p. 100625, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100625>.

WANG, Q.; GARRITY, G. M.; TIEDJE, J. M.; COLE, J. R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 73, p. 5261-5267, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-07>.

WEINSTOCK, J. V. Neuropeptides and the regulation of granulomatous inflammation. **Clinical Immunology and Immunopathology**, [S.l.], v. 64, p. 17-22, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0090-1229\(92\)90161-L](https://doi.org/10.1016/0090-1229(92)90161-L).

WICKHAM, H. **ggplot2: elegant graphics for data analysis**. New York: Springer-Verlag, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-98141-3>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Schistosomiasis. 8 Jan. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>. Acesso em: 25 out. 2023.

XU, H.; et al. The dynamic interaction between gut microbiota and autoimmune diseases. **Journal of Immunology Research**, [S.l.], v. 2019, p. 7546047, 27 Oct. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/7546047>.

YIN, Z.; KLIONSKY, D. J. Intermittent time-restricted feeding promotes longevity through circadian autophagy. **Autophagy**, [S.l.], v. 18, n. 3, p. 471-472, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/15548627.2022.2039524>.

YOU, H.; et al. Revisiting glucose uptake and metabolism in schistosomes: new molecular insights for improved schistosomiasis therapies. **Frontiers in Genetics**, [S.l.], v. 5, p. 176, 11 Jun. 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00176>.

ZAPARINA, O.; et al. Antioxidants resveratrol and SkQ1 attenuate praziquantel adverse effects on the liver in *Opisthorchis felineus*-infected hamsters. **Acta Tropica**, [S.l.], v. 220, p. 105954, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105954>.

ZHENG, R.; XIANG, X.; SHI, Y.; et al. Gut microbiota and mycobiota change with feeding duration in mice on a high-fat and high-fructose diet. **BMC Microbiology**, [S.l.], v. 24, p. 504, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03663-0>.