

**IDENTIFICAÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DE
CÉLULAS CALICIFORMES
NO ÍLEO DE
CAMUNDONGOS
DISLIPIDÊMICOS
TRANSGÊNICOS QUE SUPER
EXPRESSAM A
APOLIPOPROTEINA apoCIII
HUMANA**

**IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF GOBLET
CELL IN THE ISLE OF TRANSGENIC DISLIPIDEMIC
MICE THAT SUPER EXPRESSED APOLIPOPROTEIN
HUMAN apoCIII**

Cristiany Schultz

UEM - Universidade Estadual De Maringá
schultzcristiany@gmail.com

Jairo Augusto Berti

UEM - Universidade Estadual De Maringá
jairoaberti@gmail.com

Jaqueline de Carvalho Rinaldi

UEM - Universidade Estadual De Maringá
jak.rinaldi@gmail.com

Débora de Mello Gonçalves Sant' Ana

UEM - Universidade Estadual De Maringá
dmgsana@uem.br

Resumo

O trato gastrointestinal (TGI) consiste em trato alimentar que se estende da boca até o ânus e órgãos glandulares acessórios que lançam seu conteúdo na luz desse trato. Seus processos fisiológicos envolvem a motilidade, secreção, digestão, absorção de nutrientes e água que passam para a circulação sanguínea. O metabolismo lipídico é bastante complexo e dinâmico, qualquer alteração pode ocasionar acúmulo de lipídios no sangue causando as dislipidemias levando a síndrome metabólica. As lipoproteínas são partículas de proteínas e lipídeos responsáveis pelo transporte de substâncias hidrofóbicas no meio hidrofílico do plasma, tais como: colesterol, fosfolipídeos, triglicerídeos, éster de colesterol. São classificadas de acordo com seu tamanho, composição e densidade, sendo elas: QM, VLDL, LDL e HDL. A apoCIII é uma apolipoproteína sintetizada no fígado incorporada na VLDL e no intestino incorporadas nos QM. Consideradas co-fator inibitório para a lipoproteína lipase, a qual hidrolisa os TG fornecendo AGL para as células. Camundongos transgênicos para apoCIII humana possuem absorção e transporte das lipoproteínas VLDL e QM comprometidos, tornando-se portanto, hipetrigliceridêmicos. Considerando que alterações no metabolismo das lipoproteínas podem causar alterações morfológicas, processos inflamatórios e diversas patologias como aterosclerose, o objetivo deste trabalho foi realizar a identificação e quantificação de célula caliciforme presente no íleo de camundongos machos da linhagem C57BL/6 dislipidêmicos que super expressam a apoCIII humana (apoCIII-tg, n=4) e seu respectivo controle, os não transgênicos (normais), que expressam somente sua apoCIII fisiológica (ntg, n=4). Observamos por meio de quantificação da célula caliciforme no íleo destes camundongos transgênicos, que não houve alterações em relação ao número de células, quando comparados ao seu grupo controle, o que não caracteriza processo inflamatório, neste órgão.

Palavras-chave: ApoCIII. Hipertrigliceridemia. Sistema Digestório.

Abstract

The gastrointestinal tract (GIT) consists of alimentary tract that extends of the mouth until the anus and accessory glandular organs that throw their content in the light of this treatment. Its physiological processes involve the motility, secretion, digestion, absorption of nutrients and water that pass into the circulation. The lipid metabolism is quite complex and dynamic, any alteration can cause accumulation of lipids in the blood causing the dyslipidemias leading to the metabolic syndrome. Lipoproteins are particles of proteins and lipids responsible for the transport of hydrophobic substances in the hydrophilic medium of plasma, such as: cholesterol, phospholipids, triglycerides, cholesterol ester. They are classified according to their size, composition and density, being: QM, VLDL, LDL and HDL. ApoCIII is a liver synthesized apolipoprotein incorporated into the VLDL and intestine incorporated into the WM. They are considered an inhibitory cofactor for lipoprotein lipase, which hydrolyzes TG by supplying AGL to cells. Transgenic mice for human apoCIII have absorption and transport of the compromised lipoproteins, thus being hypetriglyceridemic. Considering that alterations in the metabolism of lipoproteins can cause morphological alterations, inflammatory processes and several pathologies such as atherosclerosis, the objective of this work was to perform the identification and quantification of caliciform cell present in the ileum of dyslipidemic C57BL / 6 male mice that express super apoCIII (apoCIII, n = 4) and their respective control, non-transgenic (normal), which express only their physiological apoCIII (ntg, n = 4). We observed by means of quantification of the goblet cell in the ileum of these transgenic mice, that there were no changes in the number of cells, when compared to their control group, which does not characterize inflammatory process in this organ.

Key-words: ApoCIII. Hypertriglyceridemia. Digestive System.

1. INTRODUÇÃO

O sistema digestório é complexo e altamente especializado, consiste em um sistema tubular longo (Trato Gastrointestinal, TGI) que compreende o esôfago, estômago, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e o intestino grosso (ceco, cólon ascendente, colo transversal, colo descendente, colo sigmoide, reto, canal anal) dispostos em série ao longo do eixo rostrocaudal cada órgão sucessivo possui características morfológicas distintas expressando tipos diferenciados de células únicas permitindo que o tubo realize funções essenciais de ingestão, digestão, absorção de nutrientes, eliminação e homeostase metabólica (HEATH, 2010).

A função primária do sistema digestório é levar os nutrientes, água e os eletrólitos do ambiente externo para o ambiente interno corporal por meio da digestão, este processo ocorre principalmente no lúmen intestinal por meio de células secretoras epiteliais e glândulas acessórias (SILVERTHORN, 2017).

A parede do TGI, da parte inferior do esôfago até o canal anal, possui o mesmo arranjo básico, é formada por camadas de tecido que da parte externa para a interna são: túnica mucosa, tela submucosa, túnica muscular e túnica serosa. Através do epitélio intestinal ocorre a captação seletiva dos nutrientes e a rejeição de agentes nocivos, essa superfície é amplificada por estruturas denominadas vilosidades as quais aumentam a superfície de contato para absorção de nutrientes (TORTORA; DERRICKSON, 2013).

Constantemente renovado, o epitélio intestinal é constituído de células especializadas como: enterócitos, células de Paneth e células caliciformes, além de linfócitos intra-epiteliais, provenientes da lâmina própria, que promovem a proteção do TGI interagindo com a microbiota intestinal, bem como com antígenos (ROSS, 2016).

As células caliciformes estão distribuídas entre as diversas células absorptivas, são menos abundantes no duodeno e aumentam em número em direção ao íleo no intestino delgado. São originalmente colunares, assumem morfologia permanente de um cálice por sua contínua produção e acúmulo de vesículas, responsáveis pela produção de glicoproteínas ácidas do tipo mucinas, formam ligações cruzadas entre si para originar o muco, protegendo e lubrificando o revestimento do intestino (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHAMSOHN, 2017).

O desenvolvimento de distúrbios metabólicos relacionados a obesidade, metabolismo lipídico hepático, processos inflamatórios e alterações na função protetora barreira intestinal está diretamente relacionada a população de células caliciformes presentes no epitélio intestinal (BENOIT et al., 2014).

O intestino desempenha um papel crucial na regulação da homeostase lipídica por absorção de gordura dietética através de secreções endócrinas de hormônios e mediadores imunológicos. É responsável também por sintetizar o quilomícron (QM), lipoproteína especializada que contém triglicerídeos, colesterol e fosfolípidos dietéticos (JATTAN et al., 2017).

As lipoproteínas plasmáticas são estruturas esféricas basicamente constituídas por um núcleo de lipídeos neutros hidrofóbicos (ésteres de colesterol e triglicerídeos), envoltos por substâncias relativamente hidrofílicas (fosfolípidos, colesterol livre e proteínas). O componente proteico das lipoproteínas é denominado apolipoproteína e são classificadas como apoA, apoB, apoC, ApoE e variam no tamanho e na composição química. As apolipoproteínas participam na formação de cinco classes de lipoproteínas: QM, HDL (lipoproteína de alta densidade), LDL (lipoproteína de baixa densidade), IDL (lipoproteína de baixa densidade) e VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) (NOVAK et al., 1996).

A via biológica do metabolismo das lipoproteínas é extremamente complexa e inclui três etapas importantes de transporte de lipídeos no plasma: o ciclo exógeno, ciclo endógeno e o transporte reverso do colesterol em que as gorduras, principalmente o colesterol dos tecidos, retorna para o fígado e as HDL nascentes captam o colesterol não esterificado dos tecidos periféricos pela ação da lectina colesterol aciltransferase, formando as HDL maduras; por meio da CETP, ocorre também a transferência de ésteres de colesterol da HDL para outras lipoproteínas, como a VLDL e LDL (FALUDI et al., 2017).

Desde a década de 80, vários modelos animais expressando genes (transgênicos) ou com ausência de genes (knockout) que alteram o perfil das lipoproteínas no sangue foram criados e são utilizados até os dias de hoje para a elucidação de questões complexas relacionando o metabolismo da glicose e dos lipídeos. Dentre tais modelos, estão os da linhagem de camundongos transgênicos que super expressam o gene da apolipoproteína apoCIII humana sendo assim classificados como transgênicos, tornando-se hipertrigliceridêmicos com altas concentrações de ácidos graxos livres (AGL) no sangue (ITO et al., 2009).

A apoCIII é componente de quilomícron e VLDL, sendo o fígado o principal local de síntese e, em menor grau no intestino, é composta por 79 aminoácidos, sendo uma das apolipoproteínas mais abundantes no sangue, importante co-fator inibitório da LPL. Níveis elevados desta apolipoproteína alteram a captação hepática e a depuração de remanescentes de lipoproteínas ricas em TG, além de suas funções extracelulares, desempenha um papel

intracelular na promoção da secreção de VLDL-TG a partir do fígado. Como resultado, níveis plasmáticos elevados de apoCIII estão associados ao aumento da produção hepática de VLDL-TG e diminuição da depuração sistêmica de lipoproteínas ricas em TG, contribuindo para o desenvolvimento de hipertrigliceridemia (CHENG et al., 2017).

Camundongos apoCIII-tgn acumulam mais tecido adiposo, aumento de citocinas e quando tratados com dieta hiperlipídica, desenvolvem esteatose hepática não alcoólica, desencadeando eventos que determinam a evolução da esteatose para inflamações e morte celular, devido aumento no conteúdo de glicerolípídeos hepáticos (PAIVA et al., 2017).

Mucinas secretadas pelas células caliciformes intestinais formam uma barreira protetora importante para o funcionamento do TGI. A redução na quantidade de células caliciformes é um indicativo de processo inflamatório e infecções agudas podendo causar danos subsequentes a mucosa intestinal (TRUTER et al., 2017).

Em estudo realizado com camundongos C57BL/6 induzidos com dieta hiperlipídica versus uma dieta com baixa quantidade de gordura, foi possível observar alterações na produção e diferenciação das células caliciformes presentes no epitélio intestinal destes animais. As alterações na função destas células epiteliais e na morfologia do epitélio intestinal destes animais tratados com ambas dietas, confirma que alterações metabólicas estão diretamente relacionadas a processos inflamatórios (ZHOU et al., 2018).

Considerando que o estudo das estruturas corporais relacionadas às dislipidemias em humanos é complexa por questões éticas, o camundongo apoCIII-tg tem sido utilizado como modelo de dislipidemia e tem demonstrado diversas alterações morfológicas em seus órgãos. Neste estudo foi realizado a identificação e quantificação de células caliciformes no íleo de camundongos dislipidêmicos que super expressam a apoCIII-tg humana.

METODOLOGIA

Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Experimentos com Animais da Universidade Estadual de Maringá com registro CEUA nº 6558180517 e Comissão Interna de Biossegurança - CTNBio nº 819/2013 (CONCEA, 2013).

Os animais foram distribuídos em grupos, utilizamos 6 camundongos machos, com 180 dias de vida, da linhagem C57BL/6, que super expressam a (apoCIII-tg) humana e seus respectivos controles não transgênicos (ntg) que expressam somente sua apoCIII fisiológica.

Estes animais foram criados e mantidos no biotério setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas, em estantes ventiladas (isolados dos outros animais), com livre acesso à água e alimento (ração balanceada Nuvilab[®]), ciclo de claro e escuro de 12 horas e temperatura em 23±1°C.

Após o cruzamento entre os animais transgênicos e não transgênicos obtemos a prole heterozigota de machos e fêmeas, os quais foram separados aos 30 dias. Aos 60 dias de vida, coletamos o sangue caudal para genotipagem, que consiste em dosar os triglicerídeos plasmáticos, com jejum noturno de 12 horas. Foram considerados transgênicos os animais que apresentam trigliceridemia maior que 300mg/dL e não transgênicos abaixo de 100mg/dL (SALERNO et al.,2007).

Aos 180 dias, os animais foram deixados em jejum de 12 horas, pesados e realizada coleta de uma gota de sangue caudal para avaliação da glicemia (glicosímetro e tiras de dosagem Optium[®] Xceed Point of Care). Para as dosagens bioquímicas, os animais foram exanguinados via retroorbital (após anestesia), momento em que ocorreu a eutanásia. O sangue foi coletado com anticoagulante EDTA, centrifugado para obtenção do plasma. Foram dosados colesterol e triglicerídeos plasmáticos com utilização de Kits colorimétricos (Labtest[®]) de acordo com as especificações dos fabricantes.

A anestesia foi realizada individualmente em câmara com isoflurano (Isoforine[®]100%). A câmara foi preenchida com fluxo de 100% de isoflurano, foram mantidos por aproximadamente 1 minuto após a sedação do animal, garantindo assim um estado de inconsciência e a não percepção da dor pelo animal.

Após a coleta do sangue e eutanásia, realizamosa laparotomia e o íleofoi coletado, fixado em paraformaldeído tamponado e submetido à rotina histológica. Foram emblocados em parafina para obtenção de cortes transversais semi seriados de 4µm, em seguida desparafinados e corados pela técnica de Alcian-Blue (AB 2,5) pH 2,5 para detecção de sialomucinas e sulfomucinas (SANTOS et al.,2018).

Após a identificação, foram quantificadas o total de 2560 células do epitélio da túnica mucosa do íleo de cada animal, em seguida, as células caliciformes presentes foram contadas, e calculada a proporção de células caliciformes/100 células epiteliais, nas quais foram submetidas a técnica histológica e coloração Alcian-Blue (AB2,5) pH 2,5 (TREVIZAN et al.,2016).

As análises estatísticas foram definidas de acordo com a distribuição de dados, assim o teste D'Agostino-Pearson e/ou de Shapiro-Wilk verificou a distribuição dos dados. Aqueles

com distribuição normal foram apresentados pela média $\pm$ desvio padrão e comparados entre os grupos pelo teste T de Student. Realizou-se testes estatísticos definidos de acordo com a distribuição de dados pelo software *GraphPad Prism®* Version onde os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

Demonstramos na TABELA I o peso corporal, glicemia, resultado da dosagem plasmática de triglicerídeos e colesterol. Observamos o aumento significativo nas concentrações de triglicerídeos no grupo transgênico em relação ao grupo controle ($p < 0,05$), confirmando nosso modelo experimental, os demais parâmetros analisados não apresentaram diferença significativa.

TABELA I: Peso, Glicemia, Trigliceridemia, Colesterolemia de camundongos C57BL/6 não transgênicos (ntg) e transgênicos (apoCIII-tg).

	NTG (n=4)	ApoCIII (n=4)
Peso (g)	23,0 $\pm$ 1,5	22,7 $\pm$ 2,7
Glicose (mg/dL)	127,8 $\pm$ 33,4	122,0 $\pm$ 23,4
Triglicerídeo (mg/dL)	91,0 $\pm$ 66,3	595,5 $\pm$ 218,3*
Colesterol (mg/dL)	70,8 $\pm$ 31,8	99,30 $\pm$ 33,4

*= $p < 0,05$, ntg: NãoTransgênico, apoCIII-tg: Transgênico

Foram quantificadas as células presentes em 64 criptas por animal. Os dados obtidos foram submetidos ao teste T com auxílio do software *GraphPadPrism®* Version 5.01 e valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Após a análise quantitativa, os resultados identificaram que não houve alterações significativas em relação ao número de célula caliciforme no íleo dos camundongos que super expressam a apoCIII Humana (7,9 $\pm$ 1,7 células/cripta) em relação ao mesmo segmento em animais não transgênicos (6 $\pm$ 1 células/cripta) como mostra o gráfico representado na figura 01.

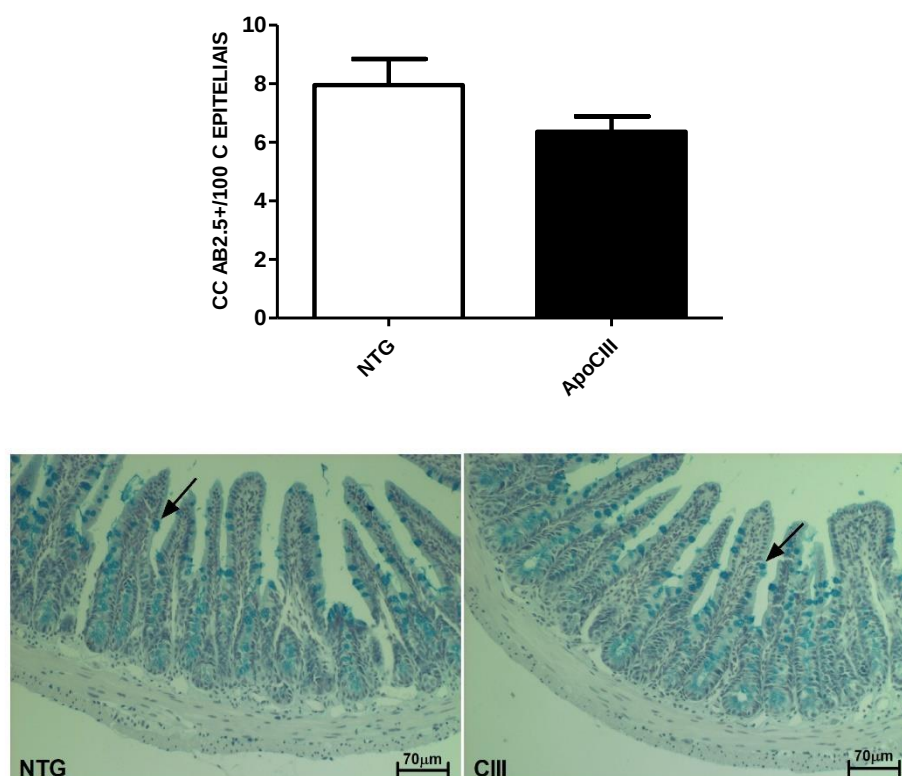


FIGURA 01: Número de CCs presentes em 100 células epiteliais e micrografia da coloração Alcian Blue 2,5 de íleo de camundongos C57BL/6 que super expressam a apoCIII humana e seus controles, os não transgênicos. A seta indica as células caliciformes.

3.1 DISCUSSÃO

A hipertrigliceridemia considerada um tipo comum de dislipidemia, relacionadas principalmente com o metabolismo das lipoproteínas plasmáticas, podem afetar significativamente o processo de acúmulo de gordura corporal. Estudo realizado com camundongos transgenicos indicam que a super expressão da apoCIII leva a obesidade quando induzida por dieta a partir de lipoproteínas ricas em TG, fator de risco para aterosclerose e doenças cardiovasculares (RAPOSO et al., 2015).

O TGI é essencial não apenas para ingestão e absorção de nutrientes, mas também para a imunidade, realizando função de barreira evitando que bactérias e endotoxinas no lúmen do TGI entrem na circulação sanguínea. A diminuição da proliferação de células caliciformes e secreção do muco leva ao mau funcionamento da barreira intestinal e induz infecção enterogênica, que pode levar a graves infecções sistêmicas (ISHII et al., 2009).

Ressaltamos ainda que o epitélio intestinal composto por células especializadas, forma uma barreira física e bioquímica e a desregulação da função dessa barreira, pode gerar o aumento da permeabilidade por meio da mucosa intestinal contribuindo para a ativação imunológica local e sistêmica. Quando há permeabilidade intestinal e ativação do sistema imune, podem ocorrer disfunções e processos inflamatórios intestinais (ANDRADE et al., 2015).

Em estudo realizado com foco nos parâmetros metabólicos e intestinais, foram analisadas amostras do plasma, fígado, tecido adiposo branco, duodeno, jejuno e cólon de ratos durante dieta rica em gorduras, especificamente creme lácteo, foi possível observar alterações de duas populações de células envolvidas na função protetora do epitélio intestinal (células caliciformes e células de Paneth) implicando diretamente na composição da microbiota intestinal (BENOIT et al., 2014).

Poucos estudos relacionam o TGI a super expressão apoCIII, entretanto é digno de nota que o intestino é o principal fornecedor de nutrientes do organismo e que existe uma quantidade considerável de evidências que demonstram o controle metabólico direto e antecipatório iniciado pelo intestino (FANDRIKS, 2016).

Em nosso estudo observamos que não houve alteração significativa nas células caliciformes destes camundongos, porém, em estudo onde foi investigado as alterações do intestino de ratos no qual foram submetidos a ingestão de dieta hiperlipídica, foi possível evidenciar alterações na função e diminuição no número de células caliciformes, alterando também a permeabilidade intestinal, sugerindo que essa disfunção experimental pode ser um fator predisponente para o desenvolvimento de doenças inflamatórias intestinais (LEE et al., 2017).

CONCLUSÃO

Assim conclui-se em nosso estudo, através de análise histológica, que a dislipidemia causada por alterações genética da apoCIII humana não alterou a quantidade de número das células caliciformes no intestino destes animais.

Atribuímos este fato, ao intestino ter mecanismos de controle metabólico e adaptação, porém, este é apenas um parâmetro avaliado, novos estudos estão sendo realizados para elucidar se a super expressão da apoCIII humana pode levar a alterações em outros componentes intestinais.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. E.; ARAÚJO, R. S.; DE BARROS, P. A.; SOARES, A. D.; ABRANTES, F. A.; GENEROSO, S. de V.; FERNANDES, S. O.; CARDOSO, V. N. The role of imunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models. Elsevier Ltd and European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. v. 34, n. 6, p. 1080-1087, 2015.
- BENOIT, B.; PLAISANCIÉ, P.; GÉLOËN, A.; ESTIENNE, M.; DEBARD, C.; MEUGNIER, E.; LOIZON, E.; DAIRA, P.; COUSIN, O.; VIDAL, H.; LAUGERETTE, F.; MICHALSKI, M.C. Pasture v. standard dairy cream in high-fat diet-fed mice: improved metabolic outcomes and stronger intestinal barrier. British Journal of Nutrition, v.112, p.520-535, 2014.
- CONCEA- Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Diretrizes da prática de eutanásia do CONCEA. Resolução normativa nº 13 de 2013.
- CHENG, X. Y.; J. Lee S, Zhang T, Gong Z, Muzumdar R, Qu S, Dong H H. ApoC3 proteins is not a predisposing fator for fat induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. JBiolChem. 2017; 292 (9): 3692-3705
- FALUDI, A.A; IZAR, M.C.O; SARAIVA, J.F.K; CHACRA, A.P.M; BIANCO, H.T; AFIUNE, N. A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Sociedade Brasileira de Cardiologia, v.109, p. 31, 2017.
- FANDRIKS, L. Roles of the gut in the metabolic syndrome: an overview. Journal os Internal Medicine, v.281, p. 319-336, 2017.
- HEATH, J.K. Transcriptional Networks and Signaling Pathways that Govern Vertebrate Intestinal Development. Elsevier, 2010. p.159-192.
- ISHII, K.; KONO, H.; NAOHIRO, H.; MASATO, T.;MASAHITO,O.; NOBUYUKI, T.; FUJII, H. Medium- chain triglycerides enhance mucous secretion and cell proliferation in the rat. Journal of Gastroenterology, v.44, p.204-211, 2009.

ITO,Y.; AZROLAN, N.; O' CONNELL, U.; WLASH, A.; BRESLOW, J.L. Hypertriglyceridemia as a result of human apo CIII gene expression in transgenic mice. Science, v. 249,790-793, 1990.

JATTAN J.; RODIA C.; LI D.; DIAKHATE A.; DONG H.; BATAILLE A.; SHROYER N.F.; KOHAN A.B. Using primary murine intestinal enteroids to study dietary TAG absorption, lipoprotein synthesis, and the role of apoC-III in the intestine. Journal of Lipid Research, v. 58: p. 853-865, 2017.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO J.A.; ABRAHAMSOHN P. Histologia Básica. 13ed. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, 2017.

LEE, J.C.; LEE, H.Y.; KIM, K. T.;KIM, M. S.; PARK, Y. M.; KIM,J.; PARK, K.; KWEON, N. M.; KIM, H. S.; BAE, W. J.; HUR, Y. K.; LEE, S. M. Obesogenic diet-induced gut barrier dysfunction and pathobiont expansion aggravate experimental colitis. Plos One, v.12. p.1 -12, 2017.

NOVAK M.E; BYDLOWSKI P.S.; Biologia Molecular das Dislipidemias: Variação Genética das Apolipoproteínas. Arquivos Brasileiro de Cardiologia. v.67: n.6, 1996.

PAIVA, A. A.; RAPOSO, H.F.; WANSCHER, A.B.C.A.; NARDELLI, R.T.; OLIVEIRA, F.C.H. Apolipoprotein CIII overexpression induced hypertriglyceridemia increases nonalcoholic fatty liver disease in association with inflammation and cell death oxidative. Medicine and Cellular Longevity. p.18. 2017.

ROSS, M.H.; PAWLINA, W. Histologia: 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

SALERNO, A.G; SILVA, T.R; AMARAL, M.E.C; ALBERICI, L. C; BONFLEUR, M.L; PRATÍCIO, P.R; FRANCESCONI, E.P.M.S; GRASSI-KASSISSE, D.M; VERCESI, A.E; BOSCHERO, A.C; OLIVEIRA H.C.F. Overexpression of apolipoprotein CIII increases and CETP reverses diet-induced obesity in transgenic mice. International Journal of Obesity. 2007.

SANTOS, A.G.A; LIMA, L.L; MOTA, A.C; GÓIS, B.M; FERNANDES, S.B.C.A; SILVEIRA, V.G.T; SANT' ANA, G.M.D; MELO N.A.G. Insights of Leishmania (Viannia)

braziliensis infection in golden hamster (*Mesocricetus auratus*) intestine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. v.06, p.1624-1632, 2018.

SILVERTHORN, U.D. *Fisiologia Humana: Uma abordagem integrada*. 7 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 930 p.

TORTORA, G.J; DERRICKSON, B. *Princípios de Anatomia e Fisiologia*. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 95 p.

TREVIZAN, R.A; VIEIRA, V.L.S; WATANABE, S.P; GÓIS, B.M; MELO, N.A.G; GARCIA, L.J; ARAÚJO, A.J.E; SANT'ANA, G.M.D. Kinetics of acute infection with *Toxoplasma gondii* and histopathological changes in the duodenum of rats. *Experimental Parasitology*. v.165, p. 22-29.2016.

TRUTER, D; STRIJDOM, H; EVERSON F; KOTZÉ H.S. Mucin secreting cells in the stomach and colon are altered by combination antiretroviral treatment in an obese rat model. *Acta Histochemica*. v. 119, p. 122-128.2017.

ZHOU, W.; DAVIS, A.E.; MEGAN J.D. Obesity, independent of diet, drives lasting effects on intestinal epithelial stem cell proliferation in mice. *Experimental Biology and Medicine*.2018.