

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PARASITOLOGIA**

RUTH ELIZABETH CRUZ

**IMPACTO DA OBESIDADE NA AMEBÍASE
EXPERIMENTAL: ASPECTOS IMUNOLÓGICOS,
BIOQUÍMICOS E PATOLÓGICOS.**

**Belo Horizonte – MG
Março/2021**

RUTH ELIZABETH CRUZ

**IMPACTO DA OBESIDADE NA AMEBÍASE
EXPERIMENTAL: ASPECTOS IMUNOLÓGICOS,
BIOQUÍMICOS E PATOLÓGICOS.**

Área de Concentração: Protozoologia

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para o título de Doutor em Parasitologia.

Belo Horizonte – MG
Março/2021

043

Cruz, Ruth Elizabeth.

Impacto da obesidade na Amebíase experimental: aspectos imunológicos, bioquímicos e patológicos [manuscrito] / Ruth Elizabeth Cruz. - 2021.
150 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Dr. Maria Aparecida Gomes. Coorientadora: Dr. Dirce Ribeiro de Oliveira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Obesidade. 3. Abscesso Hepático Amebiano. 4. Imunidade. 5. Bioquímica. I. Gomes, Maria Aparecida. II. Oliveira, Dirce Ribeiro de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 576.88/.89



ATA DE DEFESA DE TESE - DOUTORADO

Ruth Elizabeth Cruz

315/2021/03

entrada

2º/2016

2016751295

Às nove horas do dia 31 de março do ano de 2021, reuniu-se, por videoconferência, sala <https://meet.google.com/hia-fgfs-zjn?hs=122&authuser=0>, a Comissão Examinadora de Tese, indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia para julgar, em exame final, o trabalho final intitulado: “Impacto da obesidade na Amebíase experimental: Aspectos imunológicos, Bioquímicos e Patológicos”, área de concentração: Protozoologia. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Dra. Maria Aparecida Gomes, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do (a) candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do (a) candidato (a) e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	Indicação
Dra. Maria Aparecida Gomes	UFMG	APROVADA
Dra. Carla de Oliveira Barbosa Rosa	UFV	APROVADA
Dr. Max Jean de Ornelas Toledo	UEM/PR	APROVADA
Dr. Joseph Fabiano Guimarães Santos	Santa Casa de Misericórdia /BH	APROVADA
Dr. Fabrício Marcus Silva Oliveira	UFMG	APROVADA
Dra. Dirce Ribeiro de Oliveira	UFJF-GV	APROVADA

Expedição do resultado final.

CONSIDERAÇÕES GERAIS – SOBRE TESE APRESENTADA PELO (A) O (A) CANDIDATO (A):

Exigências	Nenhuma
Recomendações	Nenhuma
Sugestões	Nenhuma

Pelas indicações, o (a) candidato(a) foi considerado(a): APROVADA

O resultado final foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 31 de março de 2021.

Dra. Maria Aparecida Gomes
(Orientador)

Dra. Carla de Oliveira Barbosa Rosa

Dr. Max Jean de Ornelas Toledo

Dr. Joseph Fabiano Guimarães Santos

Dr. Fabrício Marcus Silva Oliveira

Dra. Dirce Ribeiro de Oliveira
(Coorientadora)

Ata-COVID19- período isolamento social

DEDICATÓRIA

A Deus e a minha família,

ELE por me amparar todos os dias em qualquer momento ou situação.

A minha tão preciosa família por sua capacidade de acreditar em mim,
além do carinho e apoio.

O amor que nos une será sempre nosso alicerce.

AGRADECIMENTOS

Para a elaboração deste trabalho a participação de várias pessoas foi essencial e por essa razão os meus mais sinceros agradecimentos.

A minha orientadora, Maria Aparecida Gomes, pessoa que tenho carinho, amizade e respeito. Me guiou sempre acreditando que eu seria capaz. Jamais esquecerei como fui recebida e conduzida por você no laboratório. Sou eternamente grata.

A minha coorientadora Profa. Dra. Dirce Ribeiro de Oliveira pela prontidão e ensinamentos. O apoio recebido foi fundamental para minha conquista. Agradeço carinhosamente.

Ao Prof. Dr. Marcelo Calliari pela colaboração em diversas etapas do trabalho, bem como seus preciosos ensinamentos e produtivas discussões sobre trabalho e vida.

Aos membros do laboratório que estenderam as mãos, participaram deste projeto e demonstraram que o caminho se completa quando se unem forças. Sou grata e jamais esquecerei.

Aos grandes amigos que a ciência me trouxe – Cézar Augusto Vilela da Silva e Rafael Pessoa.

Ao Dr. Joseph Fabiano Guimarães Santos pelo empenho e consideração no auxílio de interpretação de vários resultados deste trabalho.

Aos ex técnicos de laboratório Joãozinho - João da Costa Viana e Edna Maria Pires pelos ensinamentos, cooperação e todos seus primorosos conhecimentos técnicos que humildemente repassaram. Que lição de vida dedicada a ciência!

Ao técnico do laboratório Orlando Carlos Magno pela presteza dos trabalhos necessários para execução deste projeto.

Ao bioterista Manoel Carlos Afonso que sempre em prontidão me atendeu com os animais. As sugestões valiosas sempre ouvi atenta pois a experiência com o manejo dos animais conduzia sempre à boa execução do projeto.

A todos os professores, técnicos e colegas de pós-graduação que foram colaboradores. Auxiliaram e apoiaram de alguma forma e por diversas vezes tarefas que somente poderiam ser cumpridas com o inestimável apoio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia ao qual tive a honra de fazer esta passagem que tanto orgulho. Aos coordenadores e vice coordenadores que sempre de forma responsável conduziram e conduzem um programa de excelência.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Não tenho palavras que mensurem toda a gratidão que tenho por Deus, minha família, orientadoras e a todos que tiveram uma parcela desta caminhada comigo.

Todos me deram afeto, confiança, força, conhecimento e coragem para lidar com os momentos de desafio. É importante acreditar que é possível.

Para sempre agradecerei e valorizarei esta etapa de minha vida!

“Meu tempo tornou-se escasso para debater rótulos,
quero a essência, minha alma tem pressa.”

Rubem Alves

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as normas ABNT 2021, adotadas pelo Programa de Pós-Graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais e em vigor no momento desta publicação.

Referência: <https://www.normasabnt.org/>

RESUMO

A amebíase é uma parasitose adquirida pela ingestão de alimentos ou de água contendo a forma de cisto da *Entamoeba histolytica*, caracterizada por uma resposta imunitária dinâmica e de grande importância na patogênese da doença. A obesidade é caracterizada pelo excessivo acúmulo de gordura corporal, acarretando alterações metabólicas que interferem no estado de saúde. O estado inflamatório metabólico descrito como metainflamação contribui para a resistência insulínica, síndrome metabólica e diabetes tipo 2. O presente trabalho teve como objetivo identificar se a obesidade é fator de agravamento ou não à infecção parasitária amebiana, sob os aspectos imunológicos, bioquímicos e patológicos em estudo experimental. Foram utilizados 64 gerbils (*Meriones unguiculatus*), machos (16 semanas) distribuídos em oito grupos de oito animais cada: Grupo I - Controle sem Laparotomia (CTSL); Grupo II - Controle com Laparotomia (CTCL); Grupo III - Controle Infectado 4 dias (CTINF4d); Grupo IV - Obeso sem Laparotomia (OBSL); Grupo V - Obeso com Laparotomia (OBCL); Grupo VI - Obeso Infectado 4 dias (OBINF4d), Grupo VII - Controle Infectado 11 dias (CTINF11d), Grupo VIII - Obeso Infectado 11 dias (OBINF11d). Os animais dos grupos CTSL, CTCL, CTINF4d e CTINF11d foram alimentados com dieta padrão composta de 64%, 20% e 16% de calorias totais provenientes de carboidratos, proteínas e lipídeos, respectivamente e densidade calórica de 3,9 kcal/g. Os animais dos grupos OBSL, OBCL, OBINF4d e OBINF11d receberam dieta hiperlipídica contendo maiores quantidades de açúcar simples e de lipídeos para induzir obesidade, composta de 36%, 16% e 48% de calorias totais provenientes de carboidratos, proteínas e lipídeos, respectivamente e densidade calórica de 4,9 kcal/g. Antes da infecção e da eutanásia foi realizado o teste de tolerância a glicose oral. No final da 10ª semana experimental, os animais dos grupos CTINF4d, CTINF11d, OBINF4d e OBINF11d foram laparatomizados e infectados no mesmo dia, os grupos CTCL e OBCL foram laparatomizados, porém não infectados, enquanto os grupos CTSL e OBSL não foram laparatomizados nem infectados. O peso corporal foi aferido semanalmente e o consumo alimentar diariamente. Após 4 dias de infecção e um total de 74 dias de experimento, os animais dos grupos CTSL, CTCL, CTINF4d, OBSL, OBCL e OBINF4d foram eutanasiados. Após 11 dias de infecção e 81 dias de experimento, os animais dos grupos CTINF11d e OBINF11d foram eutanasiados nas mesmas condições. Foram coletados sangue, fígado, tecidos adiposos e baço para análises posteriores. No soro foram avaliados níveis de colesterol total, colesterol em HDL, triglicérides, glicose, proteínas totais e albumina. Foram feitas análise histopatológica, avaliação do estresse oxidativo (TBARS e Catalase), RT-qPCR de citocinas (*Il6*, *Tgfb* e *Tnf*) e atividade de mieloproteínase (MPO) no fígado. Os animais dos grupos CTINF11d e OBINF11d foram avaliados somente sob aspecto patológico, análise de citocinas e de MPO, a fim de verificar comparativamente a evolução do abscesso hepático amebiano. Os dados foram analisados no software *GraphPad Prism* versão 7.0 (*GraphPad Software*, San Diego, CA). O modelo de obesidade foi reproduzido com sucesso e um perfil de resistência insulínica nos obesos foi estabelecido, independente da infecção. A associação entre obesidade e *E. histolytica* alterou de forma significativa o metabolismo glicídico, lipídico, mas não alterou o proteico entre os animais infectados. A infecção aumentou as concentrações hepáticas de TBARS nos animais obesos, mas não alterou a resposta nos tecidos adiposos. A infecção também aumentou a atividade da enzima antioxidante no fígado e no tecido epididimal de animais obesos, mas teve efeito oposto nos tecidos adiposos mesentérico e retroperitoneal destes animais. As análises morfométricas demonstraram que a obesidade associada 11 dias de infecção resultou em redução do abscesso hepático em relação ao seu respectivo controle Controle infectado por 11 dias (OBINF11d $3,05 \times 10^6$ $1462243 \mu\text{m}^2$; CTINF11d $1,6 \times 10^7 \pm 2793320 \mu\text{m}^2$) ($p < 0,05$). Salienta-se que o maior tempo de infecção foi significativamente associado ao maior grau de redução da área de necrose. A contagem de trofozoítos identificados por reação de imuno-histoquímica não foi afetada pela infecção associada a obesidade. Os resultados da expressão das citocinas demonstram que *Il6*

foi reduzida nos grupos obesos inclusive infectados, *Tgfb1* denotou uma redução nos níveis de expressão nos animais obesos infectados, *Tnf* apresentou-se com maior expressão nos animais obesos infectados e, no entanto, menor em relação ao grupo controle. A atividade de MPO foi significativamente maior no fígado de animais OBINF11d em relação aos animais CTINF11d. Portanto, a partir dos achados, o presente estudo conclui que a associação obesidade e abscesso hepático amebiano por um tempo maior de infecção, favoreceu o hospedeiro quando, por evidências, reduziu a gravidade da lesão causada pelo parasito *E. histolytica*.

Palavras-chave – Obesidade. Abscesso hepático amebiano. Imunidade. Bioquímica.

ABSTRACT

Amoebiasis is a parasitosis acquired by eating food or water containing the cyst form of *Entamoeba histolytica*, characterized by a dynamic immune response and great importance in the pathogenesis of the disease. Obesity is characterized by excessive accumulation of body fat, causing metabolic changes that interfere with health status. The metabolic inflammatory state described as metainflammation contributes to insulin resistance, metabolic syndrome and type 2 diabetes. The present study aimed to identify whether obesity is a factor of aggravation or not to the amoebic parasitic infection, under the immunological, biochemical and pathological aspects in an experimental study. Sixty-four (64) gerbils (*Meriones unguiculatus*) were used, males (16 weeks) distributed in eight groups of eight animals each: Group I - Control without laparotomy (CTWL); Group II - Control with laparotomy (CTWtL); Group III - Infected Control 4 days (INFCT4d); Group IV - Obese without laparotomy (OBWL); Group V - Obese with laparotomy (OBWtL); Group VI - Infected Obese 4 days (INFOB4d), Group VII - Infected Control 11 days (INFCT11d), Group VIII - Infected Obese 11 days (INFOB11d). The animals in the CTWL, CTWtL, INFCT4d and INFCT11d groups were fed a standard diet composed of 64%, 20% and 16% of total calories from carbohydrates, proteins and lipids, respectively and caloric density of 3.9 kcal/g. The animals in the OBWL, OBWtL, INFOB4d and INFOB11d groups received a high-fat diet containing greater amounts of simple sugar and lipids to induce obesity, comprising 36%, 16% and 48% of total calories from carbohydrates, proteins and lipids, respectively and caloric density of 4.9 kcal/g. Before infection and euthanasia, an oral glucose tolerance test was performed. At the end of the 10th experimental week, the animals in the INFCT4d, INFCT11d, INFOB4d and INFOB11d groups were laparatomized and infected on the same day, the CTWtL and OBWtL groups were laparatomized, but not infected, while, the CTWL and OBWL groups were neither laparatomized nor infected. Body weight was measured weekly and food consumption daily. After 4 days of infection and a total of 74 days of experiment, the animals of the groups CTWL, CTWtL, INFCT4d, OBWL, OBWtL and INFOB4d were euthanized. After 11 days of infection and 81 days of experiment, the animals of the INFCT11d and INFOB11d groups were euthanized under the same conditions. Blood, liver, adipose tissues and spleen were collected for further analysis. In serum, levels of total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, glucose, total proteins and albumin were evaluated. Histopathological analysis, assessment of oxidative stress (TBARS and Catalase), RT-qPCR of cytokines (*Il6*, *Tgfb* and *Tnf*) and myeloperoxidase activity (MPO) in the liver were performed. The animals in the INFCT11d and INFOB11d groups were evaluated only under pathological aspects, analysis of cytokines and MPO, in order to comparatively verify the evolution of the amoebic liver abscess. The data were analyzed using the *GraphPad Prism software version 7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA)*. The obesity model was successfully reproduced and an insulin resistance profile in the obese was established, regardless of the infection. The association between obesity and *E. histolytica* significantly altered the glycidic, lipidic metabolism, but did not alter the protein among the infected animals. The infection increased hepatic TBARS concentrations in obese animals, but did not alter the response in adipose tissues. The infection also increased the activity of the antioxidant enzyme in the liver and in the epididymal tissue of obese animals, but had the opposite effect on the mesenteric and retroperitoneal adipose tissues of these animals. Morphometric analyzes showed that obesity associated with 11 days of infection resulted in a reduction of liver abscess in relation to its respective control Infected control for 11 days (OBINF11d $3.05 \times 10^6 \pm 1462243 \mu\text{m}^2$; CTINF11d $1.6 \times 10^7 \pm 2793320 \mu\text{m}^2$) ($p < 0.05$). It should be noted that the longer infection time was significantly associated with a greater degree of reduction in the area of necrosis. The count of trophozoites identified by immunohistochemical reaction was not affected by the infection associated with obesity. The results of the expression of the cytokines demonstrate that *Il6* was reduced in the obese

groups even infected, *Tgfb1* showed a reduction in the levels of expression in the infected obese animals, *Tnf* presented with greater expression in the infected obese animals and, however, less in relation to the group control. MPO activity was significantly higher in the liver of INFOB11d animals compared to INFCT11d animals. Therefore, based on the findings, the present study concludes that the association of obesity and amoebic liver abscess for a longer period of infection, favored the host when, evidently, it reduced the severity of the injury caused by the parasite *E. histolytica*.

Keywords - Obesity. Amoebic liver abscess. Immunity. Biochemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Pesquisadores que apresentaram estudos pioneiros relacionados a amebíase.	25
Figura 2: A – Espécies de <i>Entamoeba</i> e morfologia.....	27
Figura 3: Ciclo de vida da <i>E. histolytica</i>	29
Figura 4: Neutrófilo e a enzima mieloproteinase (MPO) na geração de ácido hipocloroso e espécies reativas de oxigênio.	36
Figura 5: Obesidade, fatores fisiopatológicos e doenças associadas.	42
Figura 6: Composição celular do tecido adiposo branco.	44
Figura 7: Heterogeneidade das células imunitárias monócitos/ macrófagos e neutrófilos.	49
Figura 8: Estresse Oxidativo.....	54
Figura 9: Delineamento experimental.....	63
Figura 10: Evolução do peso corporal (g) do conjunto de grupos controles e obesos.....	73
Figura 11: Evolução do peso corporal (g) por grupo experimental.	74
Figura 12: Média da ingestão das dietas (g/animal) dos grupos controles e obesos no período do experimento.....	75
Figura 13: Média do consumo de energia (kcal/animal) dos grupos controle e obesos no período do experimento.....	75
Figura 14: Evolução da média do peso corporal (g) dos grupos controles infectados e obesos infectados em diferentes tempos de infecção.	76
Figura 15: Gerbils (<i>Meriones unguiculatus</i>).....	77
Figura 16: Imagem macroscópica do fígado de gerbils (<i>Meriones unguiculatus</i>) após infecção com <i>E. histolytica</i>	78
Figura 17: Macroscopia do fígado de gerbils (<i>Meriones unguiculatus</i>) após 4 e 11 dias de infecção com a cepa EGG de <i>E. histolytica</i>	79
Figura 18: (A) Quantificação de TBARS no fígado, (B) no tecido adiposo epididimal, (C) no tecido adiposo mesentérico e (D) no tecido adiposo retroperitoneal.	86
Figura 19: (A) Níveis médios de atividade de catalase no fígado, (B) no tecido adiposo epididimal, (C) no tecido adiposo mesentérico e (D) no tecido adiposo retroperitoneal.	88
Figura 20: Teste de tolerância à glicose oral antes (A) e depois (B) da infecção; área sob a curva (AUC) do teste de tolerância glicose oral antes (C) e depois (D) da infecção.	90
Figura 21: Fotomicrografia do parênquima hepático de gerbils (<i>Meriones unguiculatus</i>) sacrificados após 4 dias de infecção com <i>Entamoeba histolytica</i>	91
Figura 22: Fotomicrografia do parênquima hepático de gerbils (<i>Meriones unguiculatus</i>) eutanasiados após 11 dias de infecção com <i>Entamoeba histolytica</i>	92
Figura 23: Área de necrose hepática produzida pela <i>E. histolytica</i> - cepa EGG nos animais dos grupos controle infectado 4 dias e 11 dias (CTINF4d e CTINF11d) e obeso infectado 4 dias e 11 dias (OBINF4d e OBINF11d).....	93
Figura 24: Fotomicrografia de imuno-histoquímica para trofozoítos de <i>Entamoeba histolytica</i>	94
Figura 25: Análise quantitativa de trofozoítos por imuno-histoquímica nos animais dos grupos CTINF4d e OBINF4d.....	94
Figura 26: Expressão gênica das citocinas <i>Il6</i> , <i>Tgfb1</i> e <i>Tnf</i> no fígado de gerbils, tratados com dieta padrão e dieta hipercalórica, desafiados com <i>E. histolytica</i> no fígado e com diferentes tempos de infecção. Expressão de <i>Il6</i> (A), <i>Tgfb1</i> (B) e <i>Tnf</i> (C).	95
Figura 27: Atividade de MPO no tecido hepático.	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Prevalência de Abscesso Hepático Amebiano em diferentes localidades do mundo.	31
Tabela 2: Composição das dietas experimentais.	64
Tabela 3: Sequência dos primers gene-específico para as citocinas utilizadas na RT-qPCR para expressão relativa de mRNA.....	71
Tabela 4: Ingestão de alimentos e energia, peso corporal, peso do baço, peso de tecidos adiposos (TAE, TAM e TAR) e índice de adiposidade de animais alimentados com diferentes dietas – Grupos 10 semanas e 4 dias.	82
Tabela 5: Parâmetros metabólicos determinados após 4 dias de infecção em gerbils alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.	84

LISTA DE ABREVIATURAS

- AIN - *American Institute of Nutrition*
- AIN-93 - Fórmula purificada para nutrição de roedores experimentais
- A5-*E. histolytica* CP- Cisteína protease A5
- AHA - Abscesso Hepático Amebiano
- CCL2 – C-C *motif chemokine ligand 2* or MCP-1 -monocyte chemoattractant protein-1
- COL – Colesterol
- CTSL – Controle sem laparotomia
- CTCL – Controle com laparotomia
- CTINF4d – Controle infectado 4 dias
- CTINF11d – Controle infectado 11 dias
- CTM – Células-tronco mesenquimais
- CTDTA- Células-ronco derivadas de tecido adiposo
- DHGNA - Doença hepática gordurosa não alcoólica
- DNA - Deoxyribonucleic acid
- EROs - Espécies reativas de oxigênio
- E. coli* - *Entamoeba coli*
- EGG - Cepa de *Entamoeba histolytica*
- E. histolytica* - *Entamoeba histolytica*
- Gal/GalNAc - Galactose/N-acetilgalactosamina
- Glic – Glicemia
- GSH – Reduced Glutathione
- HDL- *High Density Lipoproteins*
- HIF1- hypoxia-inducible factor 1
- iNOS- óxido nítrico-sintase induzida
- IFN- γ - Interferon gama
- IL - Interleucina
- MEC- Matriz extracelular
- MDA – Malondialdeído
- MyD88- Myeloid differentiation primary response 88
- mTORC2 - rapamycin-insensitive protein complex
- MUC2 - Mucina-2
- NADPH - Pentose phosphate pathway
- OBSL – Obeso sem laparotomia
- OBCL – Obeso com laparotomia
- OBINF4d – Obeso infectado 4 dias
- OBINF11d – Obeso Infectado 11 dias

PCR - Polymerase chain reaction
POF - Pesquisa do Orçamento Familiar
ppp – partes por polegadas
PTN – Proteína
RI – Resistência à insulina
SOD - Superóxido dismutase
TA – Tecido adiposo
TAB – Tecido adiposo branco
TAE – Tecido adiposo epididimal
TAM – Tecido adiposo mesentérico
TAR – Tecido adiposo retroperitoneal
TBARS - Thiobarbituric acid reactive substances
TGL – Triglicerídeos
TLR-4 – Toll-like receptor 4
TNF - Fator de necrose tumoral
WHO - World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
1.1. AMEBÍASE E OBESIDADE.....	20
2. 2 . REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1. HISTÓRICO.....	22
2.2. PARASITO	26
2.2.1. <i>ENTAMOEBA HISTOLYTICA</i>	26
2.3. CICLO BIOLÓGICO	27
2.4. TRANSMISSÃO.....	29
2.5. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	29
2.6. PATOGÊNESE	32
2.7. ABCESSO HEPÁTICO AMEBIANO	33
2.8. IMUNIDADE E MECANISMOS DE EVASÃO.....	37
2.9. AMEBÍASE E ESTADO NUTRICIONAL.....	39
2.10. OBESIDADE.....	40
2.10.1. TECIDO ADIPOSEO BRANCO	42
2.10.2. OBESIDADE E INFLAMAÇÃO	44
2.10.3. INFLAMAÇÃO E RESISTÊNCIA INSULÍNICA.....	48
2.11. ESTRESSE OXIDATIVO E DEFESA ANTIOXIDANTE.....	52
2.12. TBARS - SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO	54
2.13. ENZIMA CATALASE	54
2.14. OBESIDADE E PARASITÓSES EM HUMANOS E ANIMAIS	55
3. JUSTIFICATIVA	59
4. OBJETIVO	60
4.1. OBJETIVO GERAL.....	60
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	60
5. MATERIAIS E MÉTODOS	61
5.1. MODELO EXPERIMENTAL E TRATAMENTO INICIAL	61
5.2. CONDIÇÕES DE CULTIVO DO PARASITO E PREPARO DO INÓCULO	61
5.3. INÓCULO	62
5.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E COLETA DE MATERIAL.....	62
5.5. AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL, ADIPOSIDADE E CONSUMO ALIMENTAR.....	66
5.6. ENSAIOS BIOQUÍMICOS.....	66
5.7. CONCENTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO – PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA - TBARS	66
5.8. ATIVIDADE DE CATALASE	67
5.9. TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE ORAL (TTGO).....	67
5.10. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO.....	68
5.11. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA ÁREA DE NECROSE.....	68
5.12. REAÇÃO DE IMUNO-HISTOQUÍMICA PARA DETECÇÃO DE TROFOZOÍTOS	68
5.13. PERFIL DE CITOCINAS - EXTRAÇÃO DE RNA	69
5.14. AMPLIFICAÇÃO DO CDNA	70
5.15. ANÁLISE DE REAÇÃO EM CADEIA (RT-QPCR)	70
5.16. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA MIELOPROTEINASE (MPO) NEUTROFÍLICA HEPÁTICA	71
5.17. ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
6. RESULTADOS	73
6.1. AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL, ADIPOSIDADE E CONSUMO ALIMENTAR.....	73
6.2. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO AUMENTO DE TECIDOS ADIPOSOS	76

6.3.	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO ABSCESSO HEPÁTICO AMEBIANO.....	77
6.4.	AVALIAÇÕES REALIZADAS NAS VARIÁVEIS: INGESTÃO DE ALIMENTOS, CONSUMO DE ENERGIA, PESO CORPORAL FINAL, PESOS RELATIVOS DOS TECIDOS ADIPOSOS, FÍGADO, BAÇO E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE.....	79
6.4.1.	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE ALIMENTOS, CONSUMO DE ENERGIA E PESO CORPORAL FINAL	79
6.4.2.	AVALIAÇÃO DOS PESOS RELATIVOS DO FÍGADO E BAÇO, DOS TECIDOS ADIPOSOS EPIDIDIMAL, MESENTÉRICO, RETROPERITONEAL E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE	80
6.5.	PERFIL BIOQUÍMICO	83
6.5.1.	AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO FÍGADO E TECIDOS ADIPOSOS – TBARS.....	85
6.5.2.	AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO FÍGADO E TECIDOS ADIPOSOS - CATALASE	86
6.6.	DOSAGENS SANGUÍNEAS	88
6.6.1.	AVALIAÇÃO GLICÊMICA POR TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE ORAL.....	88
6.7.	HISTOPATOLOGIA	90
6.8.	ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO ABSCESSO HEPÁTICO AMEBIANO.....	92
6.9.	ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DOS TROFOZOÍTOS IMUNOMARCADOS POR REAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA	93
6.10.	EXPRESSÃO GÊNICA DE MRNA DE CITOCINAS	94
6.11.	ATIVIDADE DE MIELOPEROXIDASE NO FÍGADO	96
7.	DISCUSSÃO	97
8.	CONCLUSÃO.....	113
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114

1.INTRODUÇÃO

1.1.AMEBÍASE E OBESIDADE

A amebíase é uma doença infecciosa causada pelo protozoário *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*) a qual afeta o intestino e o fígado dos seres humanos. Ocorre em alta incidência em grandes populações com sistemas de saneamento modernos limitados. A infecção é adquirida pela ingestão de alimentos contaminados com cistos, que no intestino liberam o trofozoíto. Estes podem viver aderidos ao epitélio intestinal ou invadí-lo produzindo ulcerações típicas na submucosa intestinal (WHO, 1997; PETRI& SINGH, 1999; WEBER *et al.*, 2016). A classificação taxonômica segundo o Comitê de Sistemática e Evolução da Sociedade de Protozoologia (1980) da espécie *Entamoeba histolytica*, integra-lhe ao Reino *Protista*, Sub-reino *Protozoa*, Filo *Sarcomastigophora*, Subfilo *Sarcodina*, Superclasse *Rhizopoda*, Classe *Lobosea*, Subclasse *Gymnamoebia*, Ordem *Amoebida*, Subordem *Tubulina*, Família *Entamoebidae* e Gênero *Entamoeba*.

Apesar de cosmopolita a *E. histolytica* é mais frequente em países em desenvolvimento. Em países desenvolvidos, imigrantes e viajantes que retornam de países pobres são os principais afetados. A prevalência da doença no mundo não é conhecida, devido à presença da *E. dispar* indistinguível morfológicamente da *E. histolytica*. No entanto, estimativas de 100.000 mortes anuais colocam a amebíase como segunda causa de morte por parasitoses e ainda responsável por aproximadamente 40 a 50 milhões de casos por ano, principalmente em países em desenvolvimento (WALSH, 1986; WHO, 1997; RAZA *et al.*, 2013). Grande parte da mortalidade é em função a complicações severas associadas a transtornos intestinais ou complicações extraintestinais de caráter invasivo (CLARK and DIAMOND, 1993).

O abscesso hepático amebiano é resultado da forma invasiva do parasito, caracterizada como virulenta, o qual invade o tecido intestinal na porção do cólon e por via hematogênica acessa o sistema porta e sinusóides. Estes últimos são as principais estruturas onde as amebas cruzam o endotélio para alcançar o parênquima e simultaneamente ocorre o início de focos inflamatórios e abscessos. O abscesso hepático amebiano típico (ALA, do inglês *amebic liver abscess*) é devido à lise necrótica do tecido hepático, que pode se apresentar como pequenos abscessos a grandes lesões. Todo o processo envolve aderência, motilidade e citotoxicidade do parasito em relação às células hospedeiras. Embora o hospedeiro instale uma resposta inflamatória maciça contra *E.*

histolytica, o parasito consegue sobreviver dentro desse ambiente hostil (KATZENSTEIN *et al.*, 1982; TSUTSUMI *et al.*, 1984; SANTI-ROCCA *et al.*, 2009; MACÍAS-PÉREZ *et al.*, 2019).

A obesidade e sobrepeso em todo o mundo estão alcançando proporções epidêmicas e é de fato, uma epidemia real e um problema de saúde pública (NCD, 2017; TGO, 2017; JASTREBOFF *et al.*, 2019). De acordo com a Organização Mundial de Saúde estima-se que mais de 1 bilhão de pessoas estejam com sobrepeso em todo o mundo, das quais 300 milhões são obesas. A prevalência de obesidade é maior em mulheres do que homens e pode elevar com a idade. Nos últimos 35 anos as taxas que correspondem ao sobrepeso e obesidade aumentaram significativamente, na medida em que mais de um terço da população mundial agora é classificada como sobrepeso ou obesidade. O crescente aumento da obesidade provavelmente é resultado de uma interação entre mudanças no ambiente alimentar, atividade física, fatores socioeconômicos, ambientais e genéticos (CHOOI *et al.*, 2019).

A adiposopatia (ou "gordura doente") é definida como distúrbios anatômicos funcionais patológicos do tecido adiposo promovidos pelo balanço calórico positivo em indivíduos geneticamente e ambientalmente suscetíveis que resultam em respostas endócrinas e imunológicas adversas que podem causar ou agravar a doença metabólica; isto descreve a base da obesidade (BAYS, 2011).

A obesidade afeta diferentes órgãos e encurta o tempo de vida; condição relacionada com alto índice da massa corporal o qual é fator de risco para um conjunto crescente de doenças crônicas, incluindo doença cardiovascular, diabetes tipo 2 (DM2), doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), doença renal crônica e diferentes tipos de câncer (ROBERTO *et al.*, 2015; BERRINGTON DE GONZALEZ, 2010; UNAMUNO *et al.*, 2018). Embora existam múltiplos mecanismos moleculares que ligam a obesidade às suas complicações, a inflamação é uma característica comum que tem sido implicada na fisiopatologia de muitos distúrbios associados à obesidade (FERRANTE Jr., 2007).

A hipertrofia de células adiposas e deposição ectópica de lipídios, produzem os sinais físicos da obesidade em função da liberação de citocinas, as quais geram um ambiente inflamatório onde vivem (HALBERG *et al.*, 2008; LEMOS *et al.*, 2013, BRAY *et al.*, 2017).

2.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. HISTÓRICO

Em 1875, Fedor Lösch, um médico russo, publicou a primeira descrição detalhada sobre amebíase intestinal ocorrida em um paciente. Lösch, muito cuidadoso em seus estudos, descreve com detalhes o parasito encontrado nas fezes do falecido camponês. Inclui estrutura, tamanho, motilidade, núcleo, vacúolos e elementos intracitoplasmáticos. Além disso, realizou em animais, ensaios clínicos que comprovaram a patogenicidade da ameba, pois, exsudatos purulentos em ulcerações presentes na mucosa intestinal e formas trofozoíticas nas fezes foram os achados mais importantes em seu estudo, os quais denominou de *Amoeba coli* (KEAN *et al.*, 1978; JACKSON, 1998; ACKERS, 2002).

Adolpho Lutz inicia seus estudos com amebas no Brasil por volta de 1888 -1889. Em 1890-91 no Brasil, as doenças intestinais eram um grande problema sanitário em diversas cidades em função do aumento populacional e degradação das condições de vida. Lutz já havia seguido uma linha de investigação nos tempos em que clinicava em Limeira sobre a etiologia das disenterias. As amebas já tinham sido descritas por Kartulis (1886), médico grego que relatou a presença de amebas em amostras fecais de 150 pacientes egípcios que apresentavam disenteria e a denominava como “disenteria tropical” e em 1887 o mesmo descreve o abscesso hepático em outros 20 pacientes. No entanto, ainda era controverso a relação de causa e efeito destes protozoários. Lutz, dando sequência a sua investigação, demonstra com clareza que duas entidades mórbidas estavam sendo confundidas, e estabeleceu os critérios para diferenciá-las. No artigo publicado em 1891, mostrou que alterações patológicas designadas por nomes tão diversos quanto catarro intestinal agudo e crônico, enterite ulcerosa, abscessos hepáticos, disenteria crônica ou tropical, entre outros, eram características no quadro mórbido causado pelas amebas e propôs nomeá-lo "enterite, com evacuações sanguinolentas" para diferir da disenteria propriamente dita; a qual mais tarde tal distinção foi comprovada (1898), quando o bacteriologista japonês Kiyoshi Shiga (1870-1957) isolou o agente da disenteria bacilar (*Shigella dysenteriae*). Lutz descreve o mecanismo de adaptação das amebas em abscessos hepáticos e a presença de hemácias em seu interior. Em um encontro em Baltimore, nos Estados Unidos, Lutz faz um comentário a respeito das investigações e seus achados, ainda inéditos, com William Osler, no Johns Hopkins Hospital. A instituição não possuía estudos concretos sobre o assunto, e só no ano seguinte o médico norte-americano descreveria um caso de abscesso hepático com a presença de amebas, seguindo-se os trabalhos de Councilman e Lafleur,

posteriores ao de Lutz (BENCHIMOL, 2003).

Lutz escreveu sobre amebíase, em 1891, onde enfatizou o resultado de sua experiência que para a época, apresentava conceitos de exímia precisão parasitológica, e noções perspcazes da clínica e patologia da doença (CORRÊA, M.O.A., 1955).

A seguir, segue trecho de suas observações no contexto da amebíase, o qual o médico Corrêa (1955) reproduz na conceituada Revista do Instituto Adolpho Lutz quando na época lançaram uma edição comemorativa do centenário do nascimento de Adolpho Lutz.

A prova de que as amebas são parasitas genuinos e não acaso meros saprófitas; capazes de existirem tanto, no exterior, como no interior do corpo, é demonstrado pela circunstância de se acharem elas adstritas a limites estreitos de variabilidade de temperatura e de que, no seu interior, não se encontram elementos provenientes das fezes, mas sim elementos intrínsecos fornecidos pelo organismo hospedador, e, com especial predileção, hemátias. A sua longa persistência no interior, de abscessos hepáticos fechados fornece nova prova de sua adaptação perfeita. Conquanto comumente não se discuta a natureza parasitária das amebas intestinais, não há unanimidade quanto às conseqüências dêste parasitismo. Desejo recapitular brevemente os pontos de vista de diversos autores tanto quanto o permita a literatura em minhas mãos (LUTZ, A., 1891 apud CORRÊA, M.O.A., 1955, p. 40).

Enfatizando, o primeiro a descrever, em 1890, a ameba em um caso de disenteria e abscesso hepático nos Estados Unidos foi o médico William Osler e no ano seguinte, os pesquisadores William Councilman e Henri La Fleur, descreveram o processo patológico da invasão da ameba no intestino e fígado e assim nomearam-na de *Entamoeba dysenterie* e passaram a utilizar, para os casos clínicos, o termo “disenteria amebiana” e “abscesso hepático amebiano” (FAUST, 1944; MARTINÉZ-BAEZ, 1989).

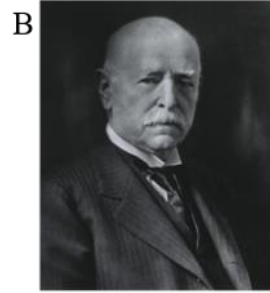
Fritz Schaudinn (1903), um zoólogo, descreveu outra espécie de ameba a *Entamoeba coli*, considerada não patogênica, e renomeou a *Entamoeba dysenterie* como *Entamoeba histolytica* devido a sua habilidade de causar lesão tecidual, portanto, caracterizada como patogênica (MARTINÉZ-BAEZ, 1989).

Émile Brumpt (1925), doutor em medicina, realizou diversos estudos experimentais que, apontaram a existência de *E. histolytica* como um complexo de espécies, sendo duas espécies morfologicamente indistinguíveis, *E. dysenteriae*, que é a causa da infecção sintomática, e *Entamoeba dispar* encontrada apenas em portadores assintomáticos. Propõe, a partir desta época, a teoria dualista. Diamond (1961) durante a década de 1960, desenvolveu um meio de cultura axênico para *E. histolytica* que permitiu estudos *in vivo* e

in vitro. Sargeant e Williams (1978) distinguiram pela primeira vez cepas de *E. histolytica* por eletroforese de isoenzima, confirmando assim que *E. histolytica* era de fato um complexo de espécies compreendendo espécies patogênicas e não patogênicas. William Petri *et al.*, (1987), demonstraram que a proteína de 170 kDa com maior antigenicidade era a lectina específica de Gal / GalNac. Braga *et al.*, (1992), identificaram componentes da membrana plasmática de trofozoítos de *E. histolytica* que intercedem a resistência ao complemento humano C5b-9 através da triagem de anticorpos monoclonais neutralizantes. Isto é, os trofozoítos são resistentes à morte por ataque à membrana do complexo C5b-9 do complemento que é conseqüentemente depositado na membrana plasmática amebiana, durante invasão de trofozoítos do cólon e disseminação hematogênica para o fígado. Diamond e Clark (1993) descreveram novamente a hipótese original de Brumpt de 1925, concluindo que havia evidências suficientes para apoiar a existência de duas espécies, morfologicamente indistinguíveis, patogênicas e não patogênicas, correspondentes a *E. histolytica* e *E. dispar*, respectivamente. A Organização Mundial da Saúde aceitou essa hipótese em 1997 (DIAMOND, 1961; SARGEANT & WILLIAMS, 1978; PETRI *et al.*, 1987; DIAMOND & CLARK, 1993; PINILLA *et al.*, 2008), considerando que o diagnóstico executado por microscopia ótica registrado ou apresentado como *E. histolytica/E. dispar* (ACKERS, 2002). Alguns importantes pesquisadores citados no texto são apresentados na Figura 1.



(1840-1903)



(1877-1951)



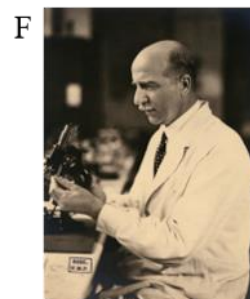
(1871 – 1906)



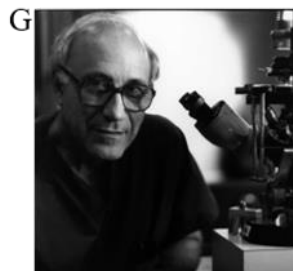
(1849 – 1919)



(1855- 1940)



(1877- 1951)



(1920 - 2009)

Figura 1: Pesquisadores que apresentaram estudos pioneiros relacionados a amebíase. (A) Fedor Lösch, (B) William Thomas Councilman, (C) Fritz Schaudinn, (D) Sir William Osler, (E) Adolpho Lutz, (F) Émile Brumpt, (G) Louis Stanley Diamond.
Fonte: Arquivos digitais¹.

2.2.PARASITO

2.2.1. ENTAMOEBA HISTOLYTICA

Entamoeba histolytica é uma ameba patogênica que pode causar doença intestinal e extra-intestinal invasiva. As manifestações mais frequentes de amebíase invasiva são colite e abscessos hepáticos (FOTEDAR *et al.*, 2007; VAN HAL *et al.*, 2007).

Em 1925, Brumpt formulou a teoria de que a diferença entre muitas infecções amebianas assintomáticas e sintomáticas podem estar correlacionadas com existência de duas espécies distintas, mas morfologicamente idênticas, ou seja, *Entamoeba histolytica*, espécie capaz de ser invasiva e *Entamoeba dispar* que não causa doença. *E. dispar* e *E. histolytica* são idênticas morfologicamente e ambas podem colonizar a mucosa intestinal; entretanto, há uma diversidade genética, isto é, tanto genotípicas como fenotípicas, responsáveis por tornar a *E. histolytica* patogênica (FOTEDAR *et al.*, 2007; XIMENEZ *et al.*, 2010). Cabe ressaltar que Ximenes *et al.* (2010) afirmam que *E. dispar* pode atingir o fígado durante um evento de amebíase invasiva e questiona se esta espécie de *Entamoeba* está desempenhando um papel ativo no dano tecidual hepático observado em abscessos hepáticos amebianos ou se é apenas um participante passivo.

Seis espécies do gênero *Entamoeba* foram descritas no lúmem do intestino humano (Figura 2-A), incluindo *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba poleki* (também chamada *Entamoeba chattoni*), *Entamoeba coli* e *Entamoeba hartmanii*. Entre estas, *E. histolytica* é a única espécie patogênica e causa um problema de saúde global (Figura 2-B) (WHO, 1997).

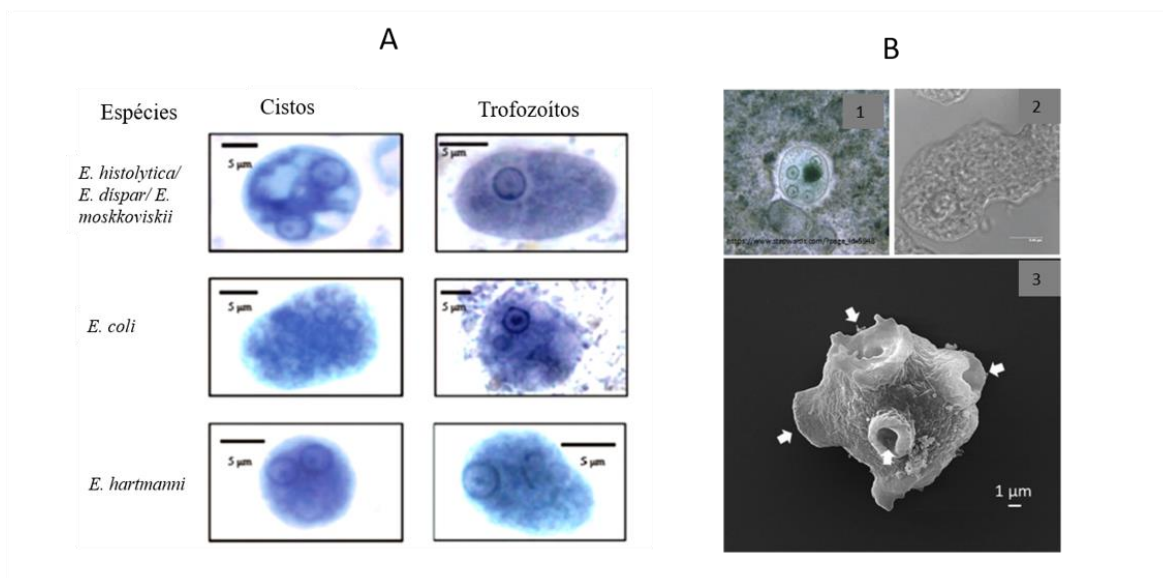


Figura 2: A – Espécies de *Entamoeba* e morfologia.

Fig. A-2 - Cistos e trofozoítos de diferentes espécies de *Entamoeba* corados com hematoxilina férrica. **B – Micrografias da *E. histolytica*** - Fig. B-2 – Micrografias da *Entamoeba histolytica*: 1) Cisto típico com 4 núcleos (disponível em: https://www.stepwards.com/?page_id=5948). 2) Forma trofozoítica apresentando o núcleo e diversos vacúolos no citoplasma; microscopia de contraste de fase. 3) Trofozoítos com bocas fagocíticas (setas); A figura da microscopia eletrônica de varredura foi cedida pela Dra. Bibiana Chavez, Cinvestav-IPN, México. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438422119303467>

Fonte: Adaptado de FOTEDAR, 2007; CARRERO *et al.*, 2020

2.3. CICLO BIOLÓGICO

O ciclo biológico da *E. histolytica* é monoxênico e pode ser dividido em biológico e patogênico (Figura 3). O ciclo celular apresenta estágios evolutivos na forma de trofozoíto, metacisto, pré-cisto e forma resistente ou cisto (SILVA & GOMES, 2005). Os trofozoítos apresentam movimentos amebóides e possuem diâmetro que varia de 20 a 40 μm , podendo atingir 60 μm em lesões teciduais. O parasito apresenta um único núcleo, medindo 4 a 7 μm , com cariossoma central, membrana nuclear delgada e cromatina uniforme. O pré-cisto é ligeiramente arredondado, sendo menor que o trofozoíto e seu citoplasma contem corpo cromatóide em forma de bastonetes. Depois da produção de uma membrana cística o pré-cisto se transforma em um cisto mononucleado, que sofre sucessivas divisões nucleares. Condições no lúmen intestinal que induzem encistamento ou estruturas semelhantes a quitina *in vivo* e *in vitro* são desconhecidas, mas podem estar envolvidas as condições de estresse celular devido a exposição a espécies reativas de oxigênio das células do sistema imunológico, presença de cátions divalentes, em especial Mn^{2+} , Mg^{2+} e Co^{2+} ou ainda da microbiota intestinal (CAMPOS-GÓNGORA, *et al.*, 2000; SAID-FERNÁNDEZ *et al.*, 2001; AGUILAR-DÍAZ *et al.*, 2010). Uma vez o

cisto formado, a eliminação pelas fezes será nesta forma de resistência. No meio ambiente externo o cisto é capaz de resistir a condições diversas e assim poderá infectar um novo indivíduo o qual se torna hospedeiro (RAVDIN, 1988; RAVDIN, 1995). O parasito possui apenas o hospedeiro definitivo.

A transmissão ocorre via oral-fecal por ingestão de água ou alimentos contendo cistos maduros. O cisto que pode ter até quatro núcleos é resistente à acidez gástrica e dessecação e pode ainda sobreviver em ambiente úmido durante várias semanas. Somente o trofozoíto é invasivo, ou seja, é capaz de lesionar os tecidos (PETRI & SINGH, 1999) como o fígado, pulmão, cérebro ou pele.

Após a ingestão dos cistos ocorrerá diferenciação para 8 formas trofozoíticas no intestino. Estes colonizam aderindo a glicoproteínas de mucinas do cólon via galactose/N-acetyl-D-galactosamina (Gal/GalNAc) (CHO *et al.*, 1998). Os trofozoítos de *E. histolytica* se nutrem de bactérias e a relação trofozoíto-bactéria sugere ser altamente específico (BRACHA, 1982; MANN, 1998).

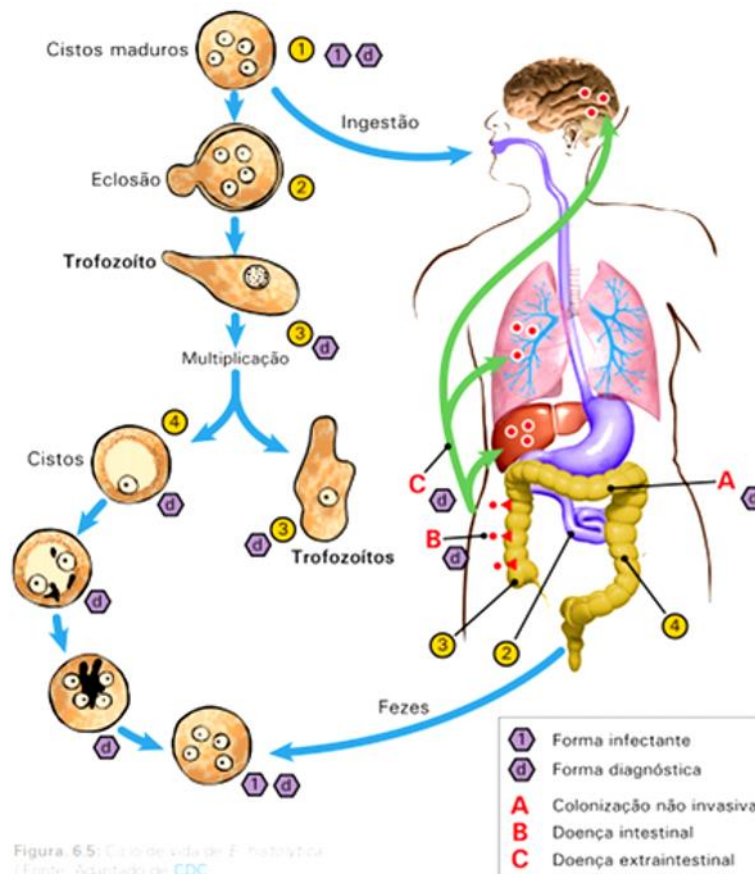


Figura 3: Ciclo de vida da *E. histolytica*.

Fonte: Adaptado por Munõz e Fernandes, 2013 de CDC-Centers for Disease Control and Prevention.

2.4. TRANSMISSÃO

A transmissão ocorre via oral-fecal, através da ingestão de cistos. O cisto que pode ter até quatro núcleos, é resistente à acidez gástrica e dessecação e pode ainda sobreviver em ambiente úmido durante várias semanas. Somente o trofozoíto é invasivo, ou seja, é capaz de lesionar os tecidos (PETRI& SINGH, 1999).

Após a ingestão dos cistos ocorrerá diferenciação para 8 formas trofozoíticas no intestino. Estes colonizam aderindo a glicoproteínas de mucinas do cólon via galactose/N-acetyl-D-galactosamina (Gal/GalNAc) (CHO *et al.* 1998).

2.5. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A amebíase é a segunda principal causa de morte por doenças parasitárias uma vez que morrem anualmente entre 40.000 e 100.000 pessoas (WASH, 1988).

Em países tropicais e subtropicais, a infecção é uma das principais causas de morbidade e mortalidade. Isto em função da inadequada infraestrutura dos serviços de saúde e saneamento nestas regiões. Considera-se, portanto, maior frequência em países em desenvolvimento (OJHA *et al.*, 2014; TURKELTAUB *et al.*, 2015).

Já nos Estados Unidos, a transmissão fecal-oral é incomum, sendo mais observada em imigrantes e viajantes de países em desenvolvimento. A doença se agrava nos mais jovens e idosos e nos pacientes que recebem corticosteróides. Pessoas que se deslocam para áreas endêmicas também correm risco de adquirirem a infecção: 10% de 469 indivíduos com diarreia após viagem para um país em desenvolvimento foram diagnosticados com amebíase em um estudo, e 0,3% de 2.700 viajantes alemães retornando dos trópicos foram infectados com *Entamoeba histolytica* (JELINEK *et al.*, 1996, WEINK *et al.* 1990; RASHIDUL *et al.*, 2003; FOTEDAR *et al.*, 2012). Para Giorgio, *et al.* (2009) fica evidente que a incidência de amebíase nos países europeus e considerados desenvolvidos aumentou significativamente devido à viagem e ao movimento de imigração de áreas consideradas altamente endêmicas.

Quando a doença se torna invasiva, o abscesso hepático amebiano se destaca. De acordo com Blessmann *et al.* (2000) a incidência anual de abscesso hepático amebiano (AHA) em habitantes da cidade de Hue, no Vietnã foi relatada como 21 casos por 100.000 habitantes e ainda de acordo com Pham (1996) somente nesta mesma cidade, com uma população de cerca de 1 milhão, um hospital relatou 1.500 casos de abscesso hepático amebiano em 5 anos. Nos EUA, imigrantes de áreas endêmicas, e indivíduos que vivem em estados que fazem fronteira com o México têm a maior parte das doenças. Registros do CDC (1994), no ano de 1993, mostram que 2.970 casos de amebíase foram registrados nos EUA. Destes, 33% de imigrantes do México e da América Central e do Sul, e 17% da Ásia ou de ilhas do Pacífico.

A amebíase invasiva causada por *E. histolytica* é comumente diagnosticada nos países em desenvolvimento. Em áreas endêmicas, diversas condições, incluindo baixa escolaridade e condição socio-econômica, superlotação ou alta densidade populacional, suprimento insuficiente e contaminação de água e saneamento precário, favorecem a transmissão direta fecal-oral de amebas de uma pessoa para outra (OMS, 1998; SIDDIQUI *et al.*, 2008; KANNATHASAN *et al.*, 2018).

O AHA é muito comum em países asiáticos, de acordo com levantamento sobre a prevalência desta patogênese (KUMANAN *et al.*, 2018). A incidência de AHA em outros continentes deve-se principalmente à infecção por *E. histolytica* adquirida durante a viagem. A prevalência de AHA em diferentes lugares do mundo é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1: Prevalência de Abscesso Hepático Amebiano em diferentes localidades do mundo.

Região/País	Origem dos dados	Período	Número Total de Casos	Referências
Bangladesh	Hospitais no Distrito Norte	2008-2010	90	Alam <i>et al.</i> 2014
Sri-Lanka	Hospital de Ensino-Jaffna	2012–2015	367	Kannathasan <i>et al.</i> 2018
Bordeaux- France	Centro Hospitalar da Universidade de Bordeaux	1995–1999	20 (18 HIV+)	Djossou <i>et al.</i> 2003
Tailândia	Dados de internação em todo o país	2008–2013	448	Poovorawan <i>et al.</i> 2016
Toronto - Canadá	Sete hospitais em Toronto	1980–2005	29	Wuerz <i>et al.</i> 2012
Sonora, Mexico	Quatro hospitais em Hermosillo	2000–2005	319	Valenzuela <i>et al.</i> 2007
São Francisco, EUA	Histórias Médicas	1979–1994	56	Seeto and Rockey 1999

Fonte: Adaptado de KUMANAN *et al.*, 2018.

A amebíase no Brasil apresenta-se como causa de morbidade, cujas lesões são provocadas pela *E. histolytica* (FERREIRA & MARÇAL, 1997, SANTOS *et al.*, 2005). A *E. dispar* é a mais prevalente no território brasileiro e se realaciona aos casos assintomáticos. Em Manaus, 93,2% das amostras positivas para cistos analisadas foram representadas pela *E. dispar*, enquanto apenas 6,8% foram positivas para *E. histolytica* (BENETTON *et al.*, 2005). Em Belém a prevalência pela infecção por *E. dispar* se encontra em 70,65% em relação a 29,35% por *E. histolytica* (SILVA *et al.*, 2005). Calegar *et al.* (2016) identificaram na cidade de Russas no estado do Ceará, predomínio de cistos de *E. dispar* nas amostras analisadas (57,1%), seguido pela *E. histolytica* (23,8%) e de 14,3% de infecções mistas (*E. dispar* e *E. histolytica*). Trabalho realizado em nosso laboratório tem encontrado em torno de 3% de infecções por *E. histolytica*/*E. dispar* em comunidades da grande Belo Horizonte (GIL *et al.*, 2013).

A prevalência do complexo *E. histolytica* / *E. dispar* no Brasil, difere entre as cinco

regiões, sendo nas regiões Sul e Sudeste 2,5-11%, 19% na região Norte e Amazônica e aproximadamente 10% no Nordeste e Centro-Oeste (SILVA *et al.*, 2001; BENETTON *et al.*, 2005).

2.6. PATOGÊNESE

Na amebíase o que determina o aparecimento e evolução ou não da doença é o potencial patogênico das cepas de *E. histolytica* e a resposta imune do hospedeiro (PETRI, 2002; HUSTON, 2004). Três classes de moléculas amebianas têm sido principalmente apontadas como os principais fatores de virulência da *E. histolytica*: a lectina galactose/N-acetyl-D-galactosamina (Gal/GalNac), os amebaporos e as cisteína proteases (MIRELMAN *et al.*, 2008; LEJENUNE *et al.*, 2009; FREITAS *et al.*, 2014). As lectinas (Gal/GalNAC) presentes nas formas trofozoíticas irão aderir aos receptores que se encontram nas mucinas (resíduos de galactose/ N-acetil-galactosamina) de células do epitélio intestinal humano (STAUFFER & RAVDIN 2003, MOONAH *et al.*, 2013). As lectinas encontradas são citotóxicas, apresentam resistência ao sistema complemento, induz encistamento e formação da parede celular do cisto (FREDERICK & PETRI, 2005).

Estima-se que a maioria das infecções amebianas são assintomática. No entanto, cerca de 20% dos infectados desenvolvem disenteria amebiana ou as formas extraintestinais da doença (SANTOS & SOARES, 2008). O indivíduo que apresenta a disenteria amebiana aguda em geral relata dores abdominais, apresenta diarreia com presença de muco e sangue nas fezes, podendo em alguns casos, aparecer também náuseas, vômitos, mal-estar, cefaleia e febre (FOTEDAR *et al.*, 2007).

As lesões intestinais localizam-se preferencialmente no ceco e no retossigmóide. As formas trofozoíticas quando invadem a mucosa, se multiplicam por divisão binária e causam micro ulcerações em direção à *muscularis-mucosae*. Na submucosa a invasão progride em várias direções liberando enzimas e substâncias tóxicas. As úlceras formadas variam de forma e tamanho e podem atingir grandes proporções no intestino grosso. As amebas podem atingir a corrente sanguínea e através da circulação porta, atingir o fígado, principal órgão relacionado a infecção extraintestinal (SILVA & GOMES, 2005).

2.7. ABCESSO HEPÁTICO AMEBIANO

O abscesso hepático é uma condição grave que apesar da redução considerável em sua morbimortalidade, ainda representa um quadro clínico que coloca em risco a vida do paciente. Essencialmente há 3 tipos de abscessos hepáticos: Piogênico (cerca de 80% dos casos), amebiano (10-15% dos casos), fúngico (5-10% dos casos). O abscesso hepático amebiano (AHA) é causado pela *E. histolytica*. A infecção acomete cerca de 10% da população mundial e em torno de 50% das populações tropicais. A ocorrência é na maioria das vezes em homens (9:1) e se apresenta como lesão hepática única em 78% dos acometidos (MALEK *et al.*, 2005; BLAZQUEZ *et al.*, 2007).

O acometimento do fígado se dá através de ingestão do parasito na forma cística. O AHA sempre é precedido por colonização intestinal, a qual pode ser assintomática. Ao atingir o cólon os trofozoítos penetram na mucosa intestinal causando úlceras. O processo invasivo leva à destruição do parênquima intestinal, devido às atividades líticas do parasito e pela resposta inflamatória do hospedeiro. As enzimas degradam a camada de muco, a matriz extracelular (MEC) e as junções celulares, o que facilita a entrada do parasito na corrente sanguínea. Em seguida a *E. histolytica* invade o sistema venoso portal, sendo carregada até o fígado, onde são bloqueados radículos portais, liberadas enzimas e provocadas lesões inflamatórias focais (SHERLOCK S. *et al.*, 1993; ZALEZNIK DF, 1998; WATANABE, 2015). O parasito se instala no epitélio hepático e estimula a formação de abscessos hepáticos (AGUILAR-ROJAS, 2016). A lesão é denominada como necrose liquefativa do parênquima e apresenta-se com cavidades contendo um líquido amarelado, esverdeado ou amarronzado, pelo pigmento biliar (SILVA, 1997). O parênquima hepático é substituído, então, por material necrótico circundado por uma borda delgada de tecido hepático congesto. Todos os eventos fisiopatológicos como os processos inflamatórios difuso, a degeneração celular e a necrose determinam o abscesso hepático, que se apresenta localizado na maioria das vezes no lobo direito, podendo atingir grandes proporções. O AHA pode surgir após um a três meses depois do quadro intestinal, ou concomitantemente (REY, 2002, CHAVES *et al.*, 2010).

A infiltração e translocação dependem de fatores de virulência do trofozoíto, como cisteína proteinase e amebaporos (LEIPPE, 1997; REED & BRAUDE, 1997). A invasão é seguida por um processo inflamatório agudo que estimula o recrutamento de neutrófilos, macrófagos, eosinófilos, linfócitos e plasmócitos os quais realizam liberação excessiva de

produtos tóxicos com consequente dano tecidual (HAQUE *et al.*, 1997). Além da habilidade do trofozoíto de eliminar células do hospedeiro, a resposta inflamatória causada pela ação de neutrófilos somada a ação de outras células inflamatórias também contribui para o dano tecidual. O fator de necrose tumoral α (TNF- α) é secretado principalmente por macrófagos e o seu papel na amebíase tem gerado polêmica: alguns autores acreditam que o efeito dessa citocina seja protetor pois aumenta a produção de óxido nítrico (NO) e contribuir com a eliminação dos trofozoítos. Estudos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que a ativação de neutrófilos e macrófagos por TNF- α e IFN- γ pode eliminar os trofozoítos (Haque *et al.*, 2003). Em outros trabalhos há o relato de piora das lesões na colite amebiana induzida em ratos infectados com *E. histolytica* e o fato de maior expressão de TNF- α com o aumento da lesão, bem como o aumento de recorrência da diarreia (PETERSON *et al.*, 2010).

Em modelos animais resistentes e suscetíveis, verifica-se que a atividade e os efeitos amebicidas dos neutrófilos são diferentes, resultando em uma patogênese diferente do AHA, o que demonstra que o papel dessas células no desenvolvimento do AHA ainda não está bem definido (CRUZ-BAQUERO *et al.*, 2017). Esta indefinição decorre de alguns estudos realizados com diferentes animais de experimentação que apresentaram resultados divergentes entre eles. Tsutsumi *et al.* (1984) induziram o AHA com inóculo de *E. histolytica* em hamsters e observaram um rápido infiltrado inflamatório, composto principalmente por neutrófilos que circundaram os trofozoítos e os isolaram do parênquima hepático seguido de uma lise significativa dos neutrófilos, responsável em parte pelo dano ao parênquima durante a evolução do AHA. Jarillo Luna *et al.* (2002) realizaram a inoculação intraportal com *E. histolytica* em camundongos Balb/c e verificaram que os neutrófilos chegaram com os parasitos ao fígado após 3 h da inoculação. Áreas isquêmicas foram formadas e apresentaram infiltrado inflamatório composto principalmente por neutrófilos que seguiu até o 4º dia de infecção, mas após este período os trofozoítos foram totalmente eliminados e o processo regenerativo do fígado ocorreu posteriormente. Seydel *et al.* (1997) estudaram camundongos SCID com AHA e observaram que animais que apresentaram esgotamento de neutrófilos apresentaram maiores abscessos hepáticos o que indicou que estas células tem um papel protetor na defesa contra *E. histolytica*. Olivos-Garcia *et al.* (2004) afirmam que os neutrófilos colaboram diretamente para o dano tecidual em espécies suscetíveis como gerbils e hamsters.

A infiltração de neutrófilos no fígado pode ser preditor de doença, pois estas células aumentam o estresse oxidativo intracelular durante lesão hepática. Além disso, células estreladas ou células de Kupffer localizadas no fígado também podem sintetizar mieloproteínase (MPO). A ativação dessas células leva à fibrose hepática, que se desenvolve devido à liberação local de oxidantes e citocinas (ALTAMIRANO *et al.*, 2014; JAESCHKE *et al.*, 1999; BEARD & JONES, 2006). Um mecanismo de defesa importante dos neutrófilos é a liberação de MPO, enzima presente nos grânulos azurófilos (CRAMER *et al.*, 1985). Essa enzima é liberada no fluido extracelular após o estresse oxidativo e diferentes respostas inflamatórias. Geralmente, os neutrófilos se desgranulam no local da infecção para o combate de diferentes tipos de atividade microbiana e auxilia no combate a doenças. Contudo, a liberação anormal de MPO de neutrófilos ativados exacerbará a inflamação e o dano tecidual, podendo causar outras doenças, mesmo sem infecção instalada (PANASENCO *et al.*, 2013; KHAN *et al.*, 2018). Conforme Figura 4 a MPO é o único tipo de peroxidase que usa H_2O_2 sendo, portanto, o produto inicial do sistema MPO- H_2O_2 -cloreto o ácido hipocloroso (HOCL). O ácido hipocloroso é sintetizado no interior do fagossomo. O ânion superóxido (O_2^-) produzido por oxidases é dismutado a peróxido de hidrogênio (H_2O_2), com o qual a MPO na presença de haletos, como o íon cloreto, produz o ácido hipocloroso (WITKO-SARSAT *et al.*, 2000; MALLE *et al.*, 2007). Esse agente tóxico pode ser liberado para o exterior da célula, onde pode atacar o tecido normal e, assim, contribuir para a patogênese da doença. O ácido hipocloroso, reage com proteínas, lipídios e DNA, promovendo, portanto, apoptose e necrose. A eliminação do patógeno se inicia quando ocorre a montagem do complexo gerador de superóxido NADPH (O_2^-) na membrana do fagossomo para produção de espécies reativas de oxigênio / nitrogênio (EROs /ERN) e MPO a qual catalisa a produção de ácido hipocloroso por peróxido de hidrogênio. Este processo é chamado de explosão oxidativa, e inclui este componente como um dos principais apresentados pelos neutrófilos contra patógenos (van DALEN *et al.*, 1997; CHAPMAN *et al.*, 2009; ULFIG & LARS, 2021). O nível elevado de atividade de MPO é uma das melhores ferramentas de diagnóstico de biomarcadores de estresse oxidativo e inflamatório e é utilizado como um marcador indireto da presença de neutrófilos no tecido.

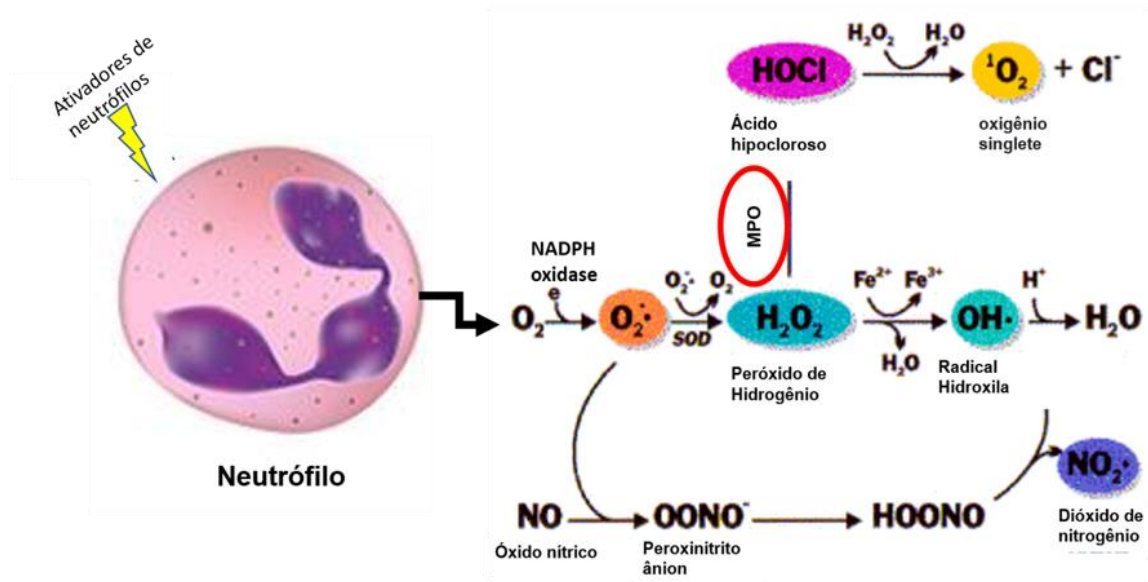


Figura 4: Neutrófilo e a enzima mieloproteínase (MPO) na geração de ácido hipocloroso e espécies reativas de oxigênio.

Fonte: <https://www.rndsystems.com/resources/technical/free-radicals-and-oxidative-stress>. Copyright 2021 R&D Systems, Inc. Adaptado pelo autor.

Os trofozoítos também têm a capacidade de induzir a apoptose em células inflamatórias. Por meio da lectina Gal/GalNAc que se liga a células inflamatórias e induz o influxo de cálcio, desfosforilação de tirosina e ativação da caspase 3, iniciando assim, o processo de apoptose. Os corpos apoptóticos são reconhecidos e assim fagocitados por trofozoítos devido a exposição da fosfatidilserina (Ralston & Petri, 2011). Estudos demonstram que as caspases são necessárias para a morte de células *in vitro* e para a formação do AHA *in vivo* (Yan & Stanley, 2001; Huston *et. al*, 2000).

Villalba-Magdaleno *et al.* (2011) e Monroy *et al.* (2015) identificaram que os trofozoítos também podem sofrer apoptose. Até o momento nenhuma caspase foi identificada no processo, mas sugere-se que proteases dependentes de cálcio presentes no seu citoplasma podem estar envolvidas neste processo de morte celular.

O AHA pode provocar dores brandas na base do pulmão e no fígado, hepatomegalia, febre, tosse, dores abdominais, mal-estar e dor no quadrante superior direito com colite não concomitante, em 60% a 70% dos pacientes (PETRI *et al.*, 2002; STANLEY, 2003, VAN- HALL *et al.*, 2007). Esta fase é caracterizada por anorexia, anemia leve, leucocitose sem eosinofilia, altas taxas de eritrócitos, entre outros (STANLEY, 2003). Os indivíduos infectados podem apresentar a doença hepática meses ou anos após a infecção, sendo que geralmente não apresentam cistos nas fezes e nem infecção intestinal. Estima-se

que apenas 10 a 25% dos indivíduos infectados com a forma de cisto de *E. histolytica* desenvolvam a doença invasiva. A infecção pode persistir com sintomas leves ou nenhum sintoma aparente (GATHIRAM E JACKSON, 1987; HAQUE *et al.*, 2003).

Hamsters e gerbils são animais de experimentação regularmente utilizados para reproduzir a lesão hepática amebiana (SEYDEL *et al.*, 1997). Estudos com hamsters e ratos demonstram o desenvolvimento do AHA, quando estes animais são infectados por inoculação intraportal. Os trofozoítos tem um espaço de tempo ou programa temporal rápido para atravessarem o endotélio dos sinusóides hepáticos, disseminarem e se adaptarem ao novo ambiente antes de iniciarem a divisão até o momento que causam danos ao órgão. Grande parte dos trofozoítos é destruída pelo sistema imunológico inato do hospedeiro. A morte de hepatócitos e de células do sistema imune durante a invasão de *E. histolytica*, resulta não só na atividade citolítica dos trofozoítos os quais secretam cisteína-protease ao nível extracelular em abscesso produzido em modelo animal, mas também em apoptose (RHIGOTIER *et al.*, 2002; STANLEY, 2001; CORDEIRO & MACEDO, 2007). A destruição do tecido hepático se caracteriza por moderada inflamação. A alteração superficial nas células apoptóticas do hospedeiro é devido a exposição à fosfatidilserina induzida pelos trofozoítos e o que justifica a limitação da inflamação e escape do parasito a resposta imunológica (HUSTON *et al.*, 2003). O dano tecidual e inflamação são necessária para a sobrevivência da ameba e para a progressão da AHA experimental em hamsters (OLIVOS-GARCÍA *et al.*, 2004).

2.8. IMUNIDADE E MECANISMOS DE EVASÃO

Os protozoários são agentes infecciosos que habitualmente infectam o hospedeiro por longo período de tempo, em virtude de possuírem mecanismos que lhes permitem escapar das agressões mediadas pelo sistema imune. A resposta adaptativa contra os protozoários ocorre após a apresentação de antígenos por macrófagos e células dendríticas, via MHC classe II para as células T. Como outras células podem ser infectadas, e os macrófagos e células dendríticas também expressam moléculas de MHC classe I, nas infecções por protozoários há também ativação das células TCD8+. Os principais mecanismos de defesa contra a *E. histolytica* são os neutrófilos e macrófagos com produção de óxido nítrico (ON) e IFN- γ (MACHADO *et al.*, 2004).

A ameba desenvolve diversas estratégias para invadir as células do hospedeiro bem

como para garantir sua sobrevivência. A resposta imunitária do hospedeiro na amebíase é dinâmica e de grande importância na patogênese da doença. Na imunidade inata, o hospedeiro utiliza o ácido do estômago como importante linha de defesa contra enteropatógenos e assim contra as formas císticas da ameba. Entretanto, os cistos são resistentes e sobrevivem a passagem pelo estômago. Outra defesa é a mucina intestinal, formada por glicoproteínas nas glândulas submucosas e células caliciformes, que inibe a adesão da Lectina Gal/GalNAc do parasito à célula alvo intestinal (MOONAH *et al.*, 2013). Trofozoítos, no entanto, podem perturbar a camada de muco da barreira intestinal e através da secreção de proteases de cisteína e glicosidases penetrarem na mucosa do cólon, sendo especificamente, a cisteína protease A5 da *E. histolytica* (*E. histolytica*CP5) que degrada proteínas da matriz extra celular (MEC) a mucina-2 (MUC2) (LIDELL *et al.*, 2006). MUC2 é a principal mucina de formação de gel secretada por células caliciformes do intestino delgado e grosso e é o principal componente estrutural do gel de muco (CARLSTEDT, 1993; HERRMMAN, 1999). Células epiteliais do intestino expostas aos trofozoítos secretam quimiocinas potentes como IL-8 que recrutam células imunitárias como neutrófilos ativados por interferon- γ (IFN- γ), fator de necrose tumoral (TNF), ou lipopolissacarídeo para realizar liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (DENIS *et al.*, 1989; GUERRANT *et al.*, 1981). Trofozoítos de *E. histolytica* são microaerofílicos sendo que respira e tolera até 5% de oxigênio na fase gasosa e são suscetíveis a espécies reativas de oxigênio exógenas, porém, a peroxiredoxina, que é uma proteína de superfície amebiana, tem propriedades antioxidantes e protege o parasito das espécies reativas de oxigênio (BAND & CIRRITO, 1979; DAVIS, 2006).

Com relação ao hospedeiro, a IgA secretora é considerada a primeira linha de defesa específica contra infecções nas superfícies das mucosas. A infecção intestinal com a *E. histolytica* induz a uma resposta imune local com IgA secretória detectável na mucosa (CARRERO *et al.*, 2007).

O sistema de complemento, componente imunológico inato, é ativado pela *E. histolytica*, mas vale ressaltar que o próprio parasito resiste à morte pelo complexo de proteínas C5b9 (BRAGA *et al.*, 1992; CAMPOS-RODRIGUES; JARILLO-LUNA, 2005) através da lectina Gal/GalNAc. Nas células sanguíneas e endotélio humano, o C5b9 é inibido, caso o complemento seja ativado em suas membranas. A glicoproteína CD59, atua para impedir a formação do complexo de ataque C5b-9 ou complexo de ataque à membrana o qual formaria poro hidrofílico que iria lisar a célula (BRAGA *et al.*, 1992).

Regularmente são produzidos anticorpos anti-ameba na amebíase sintomática e, com frequência variada na amebíase assintomática. Esta ativação da imunidade humoral não se relaciona a intensidade da infecção, pois mesmo com a infecção sendo erradicada os anticorpos persistem por anos (VINAYAK *et al.*, 1986).

Na resposta mediada por células o interferon gama (IFN- γ) parece proteger contra a infecção parasitária por *E. histolytica* uma vez que ativa neutrófilos e macrófagos contra o parasito (HAQUE, 2007).

Outra importante e crucial resposta do hospedeiro é através de leucócitos que são altamente polimórficos. Estes apresentam antígenos amebianos para célula T CD4+ para alterar a susceptibilidade da *E. histolytica* (DUGGAL *et al.*, 2004).

2.9. AMEBÍASE E ESTADO NUTRICIONAL

No que concerne o aspecto nutricional de indivíduos que padecem com infecções parasitárias, poucos trabalhos estão relacionados com obesidade e poucos com animais experimentais e infecção parasitária amebiana associada à obesidade. Em sua grande maioria abordam a má nutrição.

O comprometimento nutricional (obesidade e má nutrição) é tratado por Watson & Petro *et al.* (1982) sobre vários aspectos; inclusive, estresse nutricional, imunidade e comportamento da infecção por *E. histolytica* em humanos e animais. A contextualização dos autores aborda processo da doença amebiana iniciada quando os parasitos invadem a parede intestinal, estendendo-se ao fígado. O quadro de desnutrição, imunossupressão, deficiência de ferro, proteínas, vitaminas mesmo com elevada porcentagem de carboidratos leva a um aumento do número de indivíduos infectados que podem também apresentar lesões mais severas. Enquanto que a oferta para animais de dieta comercial e equilibrada nutricionalmente resulta em baixa taxa de infectividade. A *E. histolytica* tem grande necessidade de ferro para seu crescimento obtido por bactérias no intestino ou ainda pela hemoglobina ou ferritina quando estes são trofozoítos invasivos. Neste último caso, a condição é proporcionada quando o parasitismo ocorre no fígado, ambiente que torna o seu desenvolvimento facilitado.

De acordo com Diamond (1982) trabalhos sobre amebíase relacionados com a

condição nutricional em humanos e animais experimentais são complexos e divergentes. Isto porque alguns sugerem que a desnutrição do hospedeiro eleva a incidência de infecção e potencializa a gravidade da doença sendo que outros preconizam que a desnutrição protege o hospedeiro contra a invasão (DIAMOND *et al.*, 1978; CARRERA *et al.*, 1952). Acredita-se que condutas dietéticas possam aliviar sintomas e até mesmo erradicar o parasito, mas há grupos que duvidam de uma correlação entre dieta e taxa de infecção ou manifestações da doença. Isto porque o parasito tem influência não somente de sua própria dieta, mas como também é dependente da dieta do hospedeiro. A condição nutricional do hospedeiro influencia diretamente em sua suscetibilidade ou resistência a infecções coexistente e sua microbiota, fatores que podem estimular ou não o parasitismo.

Estudo de Petri Jr. *et al.* (2009) investigaram a associação de doença diarreica associada a protozoários entéricos com o estado nutricional e o crescimento de crianças. Entre os parasitos estudados a *E. histolytica* especificamente correlacionou-se negativamente com o número de episódios diarreicos quando avaliaram os escores médios de WAZ (weight for age) e HAZ (height for age) de nove medidas de crianças na faixa de 6 a 9 anos, que foram obtidas ao longo de três anos. Ainda demonstraram que crianças desnutridas ou raquíticas tiveram significativamente menor produção de IFN - γ e maior de IL-5.

2.10. OBESIDADE

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define sobrepeso e obesidade como acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal que apresenta risco à saúde (WHO, 2020). Dados desta organização apontam que em 2016 cerca de 1,9 bilhão de adultos estavam com sobrepeso no mundo e 13% deles já eram obesos (FRUH, 2017). Obesidade e sobrepeso são consequências de um desequilíbrio crônico entre consumo e gasto de energia, resultando no excesso de acúmulo de gordura no tecido adiposo (TA) (CHOOI *et al.*, 2019). Sobrepeso e obesidade se tornaram um grande problema de saúde pública em ambos os países desenvolvidos e em desenvolvimento à medida que são casualmente relacionados a um amplo espectro de doenças crônicas, incluindo diabetes tipo II, doenças cardiovasculares e câncer (HUXLEY *et al.*, 2010).

No Brasil, dados do Ministério da Saúde (2020), mostram que a frequência de adultos obesos foi de 20,3% dos brasileiros sendo semelhante entre homens e mulheres, mas a

frequência de obesidade diminuiu intensamente com o aumento da escolaridade em mulheres. Com relação ao sobrepeso em adultos a frequência foi de 55,4% da população apesar de sinais de mudanças de hábitos da população como aumento do consumo de frutas e hortaliças e mais adeptos a prática de atividade física. Mesmo assim, os níveis de obesidade e excesso de peso são preocupantes pois os resultados apresentaram aumento da prevalência de doenças crônicas não transmissíveis. Isto porque a oferta de alimentos altamente palatáveis tem contribuído para o aumento da população obesa (BOUCHARD, 2003).

A prevalência da obesidade tem aumentado nas últimas duas décadas. O crescimento pode ser justificado devido a mudanças de hábitos dietéticos, especialmente no aumento de consumo de açúcares e gorduras (FRANCISQUETI *et al.*, 2015). No Brasil se observa uma transição nutricional, na qual dados da Pesquisa do Orçamento Familiar (POF) de 2008-09 mostram que, em relação aos resultados referentes à POF de 2002-03, o grupo de alimentos preparados e misturas industriais teve um aumento anual domiciliar per capita de (37%), passando de 2,56 kg para 3,51 kg. Estimativas para 2025 mostram que o Brasil será o quinto país no mundo a ter problemas de obesidade em sua população (BOUCHARD, 2000; DAMASO, 2003 citados por ROMERO e ZANESCO, 2006). O consumo calórico tem derivado predominantemente de alimentos processados, de alta densidade energética, com elevados teores de lipídios e carboidratos, isto verificado nas sociedades de hábitos ocidentais (COUTINHO, 2011). Os fatores para uma maior prevalência de obesidade em crianças de nível sócio-econômico mais alto poderiam estar associados à facilidade do acesso ao consumo de alimentos ricos em calorias vazias ou por diminuição da atividade física, afetando mais gravemente também as populações de renda mais baixa nos países em desenvolvimento (LEÃO *et al.*, 2003; JACOBY, 2004).

Bray (2017) apresenta modelo que mostra a relação da obesidade como fator central e as doenças às quais está associada bem como as interligações com os fatores fisiopatológicos envolvidos principalmente no desenvolvimento da doença (Figura 5).



Figura 5: Obesidade, fatores fisiopatológicos e doenças associadas.
 Fonte: Bray, 2017.

2.10.1. TECIDO ADIPOSEO BRANCO

O tecido adiposo branco (TAB), no homem, se forma durante o segundo trimestre da gravidez e em camundongos a diferenciação para adipócitos ocorre durante a embriogênese sendo que o número de adipócitos no tecido adiposo subcutâneo (TAS) permanece estável no pós-natal diferente dos adipócitos epididimais que se diferenciam preferencialmente no pós-natal (GRANDALL *et al.*, 1997; CONTRERAS *et al.*, 2014).

O TAB é composto de duas frações celulares principais: adipócitos uniloculares maduros e fração do estroma-vascular, sendo este último, composto por células mesenquimais e endoteliais. No TAB, as células-tronco mesenquimais (CTM) originam progenitores endoteliais e pré-adipócitos, que se diferenciam em células endoteliais e adipócitos, respectivamente. Quando o TAB se expande ocorre a hipertrofia dos adipócitos existentes os quais se tornam disfuncionais e como consequência da sobrecarga lipídica, a resistência à insulina e complicações metabólicas associadas ocorrem. Essas alterações metabólicas afetam negativamente a funcionalidade do tecido adiposo e comprometem a homeostase metabólica global. As CTM adiposas podem manter ou aumentar o número de adipócitos, modulando assim a capacidade de armazenamento de lipídios no tecido adiposo, bem como sua capacidade de homeostase ou regeneração através da adipogênese (PRIMO *et al.*, 2006; GRAY *et al.*, 2007; CAROBBIO *et al.*, 2017).

As CTM, pela primeira vez descrita por Friedenstein *et al.* (1976) são células multipotentes, das quais hoje, sabemos que podem ser encontradas em vários tecidos como fígado, tecido adiposo, pulmões entre outros (GÖTHERSTRÖM *et al.*, 2003; JANG *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2017; FORONJY *et al.*, 2012). As células-tronco derivadas de tecido adiposo (CTDTA) são consideradas ferramentas para substituir, reparar e regenerar células mortas ou danificadas, promover a cicatrização de feridas de outras formas crônicas, possivelmente por redução da inflamação, estimulação da angiogênese e promoção do crescimento de fibroblastos e queratinócitos. A matriz extracelular (MEC), presente no tecido adiposo, desempenha um papel importante na cicatrização de feridas agudas e crônicas (HYLDIG *et al.*, 2017). A plasticidade das células adiposas é reservada especificamente as células estaminais mesenquimatosas que sofrerão maturação ou diferenciação para pré-adipócitos no próprio tecido adiposo; contudo, estas células *in vitro* podem sofrer diferenciação em osteoblastos ou mesmo em cardiomiócitos (BOURGEOIS *et al.*, 2019; CARVALHO *et al.*, 2012). Sob aspectos da engenharia de tecidos as CTDTA oferecem o potencial de regeneração de tecido danificado por neovascularização ou angiogênese, fator de crescimento de hepatócitos e por outro lado a hipóxia pode favorecer a proliferação destas células as quais aceleram a cicatrização de feridas como também sinaliza a diferenciação adipogênica e expansão clonal (KOCAN *et al.*, 2017; DALLY *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2009; VALORANI *et al.*, 2012; FOTIA *et al.*, 2015).

Alguns estudos sugerem a associação entre angiogênese e adipogênese, ou seja, adipócitos podem ter origens endoteliais e de fato pesquisadores elucidaram a localização *in situ* de marcadores do endotélio e caracterizaram uma população perivascular o que confirma que as células perivasculars isoladas do tecido adiposo têm a capacidade de se diferenciar em adipócitos (TRAKTUEV *et al.*, 2008; ZIMMERLIN *et al.*, 2010; GUPTA *et al.*, 2012).

O conceito de TAB modificou amplamente nas últimas décadas pois se sabe que além de armazenar reservas de energia é agora considerado um órgão endócrino que secreta fatores com funções autócrinas, parácrinas e endócrinas (RÀFOLS, 2014). Aproximadamente 10% a 20% do peso corporal total em adultos magros é tecido adiposo branco, já em indivíduos obesos, a quantidade pode chegar até 40% a 70% (HAUSMAN *et al.*, 2001).

De acordo com a Figura 6, o tecido adiposo consiste em adipócitos e uma matriz, que

inclui colágeno, vasos sanguíneos e linfáticos e a fração vascular estromal do tecido adiposo com células endoteliais, células musculares lisas, células imunes, células precursoras de adipócitos (pré-adipócitos) e células-tronco mesenquimais (FRUHBECK, 2008; CURAT *et al.*, 2004)

Os componentes celulares do tecido adiposo podem sofrer variações e é regulada por estímulos agudos e crônicos, incluindo dieta, jejum, alimentação, peso corporal (WEISBERG *et al.*, 2003; XU *et al.*, 2003; KOSTELI *et al.*, 2010, TALUKDAR *et al.*, 2012). Os efeitos locais dessas alterações de composição durante a obesidade direcionam a inflamação do tecido adiposo e influenciam a capacidade dos adipócitos de armazenar lipídios, sensibilidade à insulina adipocitária, metabolismo sistêmico da glicose e homeostase metabólica (GRANT & DIXIT, 2015).

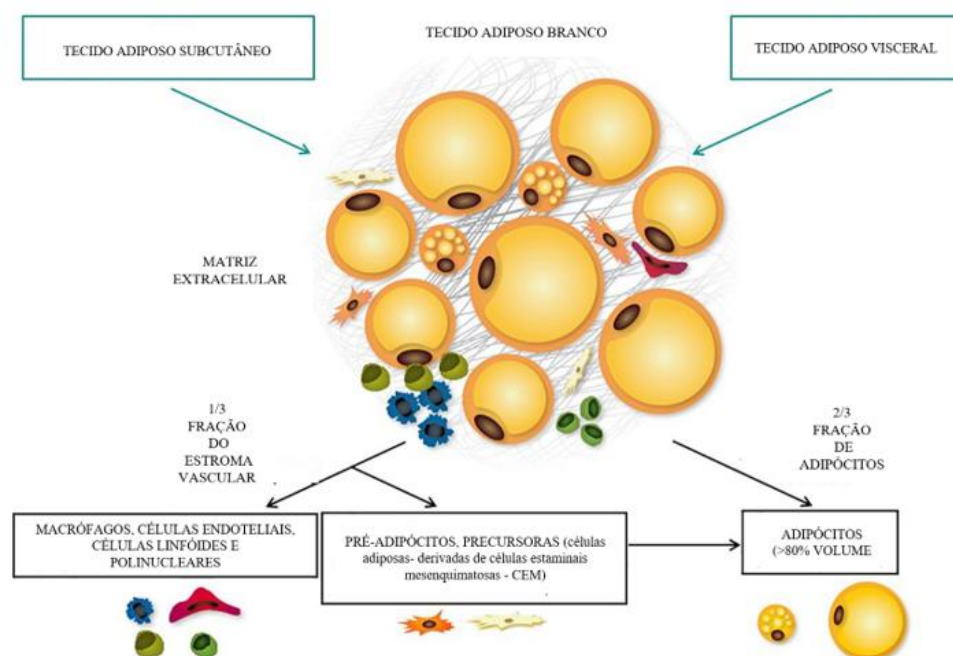


Figura 6: Composição celular do tecido adiposo branco.

O tecido adiposo tem em sua composição duas frações celulares: os adipócitos e a fração vascular estroma (SVF), sendo ambos envolvidos por matriz extracelular (MEC) que é composta por frações celulares. Os adipócitos, componentes celulares para armazenamento de energia e atividades endócrinas, constituem mais que 80% do volume do tecido, mas menos que 50% do número de células. Pré-adipócitos derivados de células estromais, células endoteliais, fibroblastos compõe o tecido. A MEC do tecido contém colágeno, laminina, fibrinogênio e células imunitárias (SHEN *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2013).

Fonte: Adaptado de BOURGEOIS *et al.*, 2019.

2.10.2. OBESIDADE E INFLAMAÇÃO

O tecido adiposo tem sido reconhecido como órgão importante de uma complexa

rede que participa da regulação de uma variedade de funções biológicas como, por exemplo, na regulação do apetite, no gasto energético, na sensibilidade periférica à insulina, na capacidade oxidativa, na absorção de lipídeos em tecidos não adiposos, como o coração, fígado, células beta pancreáticas e músculo-esquelético (COELHO, *et al.*, 2013; GRAY *et al.*, 2007).

A obesidade e a resposta inflamatória têm como origem o excesso de ingestão de nutrientes que é manifestado pelo aumento do tamanho dos adipócitos (hipertrofia) e também do seu número (hiperplasia). Todo esse processo acarreta em uma disfunção denominada inflamação metabólica de baixo grau ou metainflamação (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011; CODOÑER *et al.*, 2011). Nesta condição, diversos estudos têm demonstrado que o tecido adiposo produz uma série de substâncias, as quais são denominadas adipocinas, dentre as quais leptina, adiponectina, resistina e algumas citocinas, como interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF), e a quimiocina CCL2. (TRZECIAK-RYCZEK *et al.*, 2011). A hiperleptinemia, encontrada em pessoas obesas, é atribuída a alterações no receptor de leptina ou a uma deficiência em seu sistema de transporte na barreira hematoencefálica, fenômeno denominado resistência à leptina (ROMERO & ZANESCO, 2006). A inflamação do TA também é causada por lipotoxicidade (UNGER & SCHERER, 2010), ativação por AGL a receptores do tipo Toll, mais especificamente TLR4 e do MyD88 os quais desencadeiam uma cascata de sinalização que ativa a transcrição de genes pró-inflamatórios que irão codificar moléculas pró-inflamatórias como citocinas, quimiocinas e efetores do sistema imune inato (SHI *et al.*, 2006), estresse no retículo endoplasmático em função de alta carga lipídica que desencadeia a supressão da sinalização do receptor de insulina (OZCAN *et al.*, 2004), e hipóxia devido à diminuição da difusão do oxigênio; isto é, devido ao aumento do tamanho dos adipócitos o oxigênio se propaga por maiores distâncias antes de atingir as mitocôndrias dos adipócitos e resulta na indução do principal regulador da hipóxia, fator 1 induzido pela hipóxia (HIF1) (HALBERG *et al.*, 2009).

População de células imunes contidas no TAB participa no avanço da inflamação relacionada à obesidade (EXLEY *et al.*, 2014). É evidente que em indivíduos obesos, os níveis plasmáticos de leptina apresentam-se grandemente elevados, cerca de cinco vezes mais do que aqueles encontrados em sujeitos magros, sugerindo uma possível resistência central a esse hormônio (CONSIDINE *et al.*, 1996). No TAB coexistem células pré-adipócitas, adipócitos, macrófagos, neutrófilos, linfócitos, fibroblastos e células

endoteliais (WAKI& TONTONNOZ, 2007). De acordo com Suganami & Ogawa, (2010) o aumento da quantidade de células inflamatórias causada pela disfunção do tecido ocorre por atividade das citocinas quimiotáticas, como CCL2 e IL-8, que são liberadas pelos adipócitos. Uma vez infiltrados no tecido adiposo, nos estágios avançados da obesidade, macrófagos participam do evento inflamatório por produzirem mais citocinas.

Os adipócitos de indivíduos eutróficos, detêm a exclusividade do armazenamento de lipídios, isto sem comprometer sua integridade funcional, pois detêm mecanismos enzimáticos necessários para sintetizar ácidos graxos (processo de lipogênese) e para armazenamento de triacilgliceróis (TAG) durante períodos de grande oferta energética, suprir quando necessário e mobilizá-los via lipólise quando o déficit calórico ocorrer (AHIMA & FLIER, 2000).

O ato de iniciar o comportamento de busca e de consumo alimentar fica a cargo do sistema nervoso central que participa da regulação desses dois processos por meio de ações diretas ou indiretas. Já o sistema nervoso autônomo atua no TA por sistemas; simpático e parassimpático, sendo que um promove catabolismo (lipólise), via estimulação β -adrenérgica, que ativa a enzima lipase hormônio sensível (LHS) e o outro organiza o metabolismo anabólico que resulta no aumento de insulina, captura de glicose e AG, respectivamente (PÉNICAUD *et al.*, 2000; KREIER *et al.*, 2002).

O estado de obesidade e ingestão energética aumentada exercem efeitos prejudiciais à saúde. A ingestão deste tipo de dieta resulta num estado pós-prandial de hipertrigliceridemia, hiperglicemia e níveis elevados de ácidos graxos livres na circulação, gerando um estado de estresse oxidativo (ESPOSITO & GIULIANO, 2006). Hiperglicemia leva ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) na mitocôndria, por aumentar o gradiente de prótons na membrana interna mitocondrial. A obesidade pode produzir peroxidação lipídica por pelo menos 3 mecanismos. O primeiro refere-se à condição de obesidade que aumenta a necessidade metabólica do miocárdio, com o consequente aumento do consumo de oxigênio. Com isso, a produção de EROs como os superóxidos e os peróxidos de hidrogênio aumentam devido à maior respiração mitocondrial. Caso a produção dessas espécies de oxigênio exceda a capacidade antioxidante da célula, o estresse oxidativo pode ocorrer, resultando em peroxidação lipídica (TURRENS, 1997). O segundo mecanismo consiste na lesão celular progressiva e cumulativa devido à pressão pela grande massa corporal. O dano celular libera citocinas

como o fator de necrose tumoral que gera espécies reativas de oxigênio (LECHIEITNER, 2000). O terceiro mecanismo proposto incrimina a dieta hiperlipêmica com a alteração no metabolismo do oxigênio, pois as moléculas dos ácidos graxos com duplas ligações são vulneráveis a reações oxidativas e conseqüentemente podem levar a peroxidação lipídica (NEVES, 2010; MURDOLO *et al.*, 2013).

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é outra manifestação precoce de obesidade e síndrome metabólica e que é caracterizada pelo acúmulo de grandes gotículas de triglicérides no interior dos hepatócitos na ausência de consumo crônico de álcool (PACIFICO *et al.*, 2011; TAKAHASHI & FUKUSATO, 2010). A DHGNA é um fenótipo hepático da síndrome metabólica resultante de alterações patológicas crônicas. Fatores que afetam a morbidade desta doença envolvem antecedentes genéticos, um mecanismo de controle epigenético, e a lipotoxicidade do ácido graxo livre. É a causa mais comum de disfunção hepática em todo o mundo, e a obesidade é um fator de risco, como DM2 e dislipidemias que podem ser condições já preexistentes. Entretanto, essa condição pode estar associada ao uso de alguns medicamentos, esteróides anabolizantes, toxinas ambientais, e a outras doenças como síndrome da apneia do sono, hipotireoidismo, e síndrome do ovário policístico. Entre os pacientes com obesidade grave, submetidos à cirurgia bariátrica, a prevalência de DHGNA pode exceder 90%, e até 5% desses pacientes podem ter cirrose ainda não suspeitada (ATHAR *et al.*, 2013; SAZAKI, 2014; CHALASANI *et al.*, 2018).

Estudo realizado por Tock *et al.* (2006) demonstra que a DHGNA afetava 52% dos adolescentes obesos. A prevalência aumenta para 58% em indivíduos com excesso de peso e pode chegar a 98% em indivíduos obesos não-diabéticos (MACHADO *et al.*, 2006).

Um estudo transversal, sobre parasitoses relacionado à obesidade, foi apresentado por Zavala *et al.* (2015). Os autores determinaram diferenças na adiposidade entre as crianças infectadas e não-infectadas, com alta prevalência de infecção parasitária intestinal e obesidade. Um total de 296 crianças em idade escolar ($8,0 \pm 1,5$ anos) participou deste estudo. Antropometria e exame parasitológico de fezes foram analisados. *Entamoeba coli* foi o protozoário predominante (20%), seguido por outros parasitas *Endolimax nana*, *Balantidium coli*, *Entamoeba histolytica / dispar*, *iodamoeba butschlii* e *Giardia lamblia*. As crianças com infecção moderada por *E. coli* tiveram significativamente maior

circunferência da cintura, relação cintura-altura, corpo e gordura abdominal do que as crianças não infectadas ou com infecção de leve intensidade ($p < 0,05$). Estes resultados levantam a possibilidade de que uma infecção moderada ou pesada com *E. coli* pode contribuir para a deposição de gordura abdominal e, assim, ter consequências a longo prazo sobre a saúde humana.

Importante considerar que tecido adiposo é composto de muitos tipos celulares diferentes sendo os adipócitos as células predominantes; além do mais, os diferentes depósitos de tecido adiposo, considerados “mini órgãos”, mostram padrões de expressão gênica distintos e variam amplamente em tamanho e proximidade com órgãos vizinhos regulando uma variedade de funções fisiológicas e colocando o estudo das adipocinas, ou produtos secretórios derivados do tecido adiposo, na vanguarda da pesquisa no campo da biologia do tecido adiposo (DESRUISSEAU *et al.*, 2007).

2.10.3. INFLAMAÇÃO E RESISTÊNCIA INSULÍNICA

A inflamação que ocorre no TA durante a obesidade é o principal mecanismo para o desenvolvimento de resistência da insulina (RI) tanto local como sistêmica. O TA é o principal regulador da homeostase de lipídios e glicose bem como responde imunologicamente aos efeitos da obesidade sendo que a diabetes mellitus se refere a um grupo de condições das quais o organismo não pode usar ou estocar corretamente a glicose (WELLEN & HOTAMISLIGIL, 2003; ZATTERALE *et al.*, 2020; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018).

Doenças incluindo a diabetes tipo 2 entre outras é resultado de anormalidades nas vias metabólicas e inflamatórias em função da infiltração de macrófagos no tecido adiposo na obesidade. No tecido adiposo branco (TAB) os macrófagos são parte integrante das alterações inflamatórias e desempenham um papel ativo na obesidade mórbida e podem contribuir para a patogênese da RI induzida pela obesidade, caracterizada por produção anormal de citocinas (XU *et al.*, 2003; WELLEN & HOTAMISLIGIL, 2003). Durante a obesidade e desenvolvimento da diabetes duas importantes células imunológicas e mediadoras da inflamação, macrófagos e neutrófilos, traçam rotas distintas, mas com intuito de controlar a inflamação excessiva e realizar reparos teciduais; isto, quando ocorre ativação alternada de subpopulações destas células, conforme Figura 7 (RAO *et al.*, 2014). Os três principais tecidos sensíveis à insulina (músculo esquelético, fígado e tecido adiposo) durante a obesidade, tornam-se menos responsivos à ação da insulina. A RI é

caracterizada por falhas na captação de glicose, síntese de glicogênio e, em menor grau, oxidação da glicose (ORMANZABAL *et al.*, 2018).

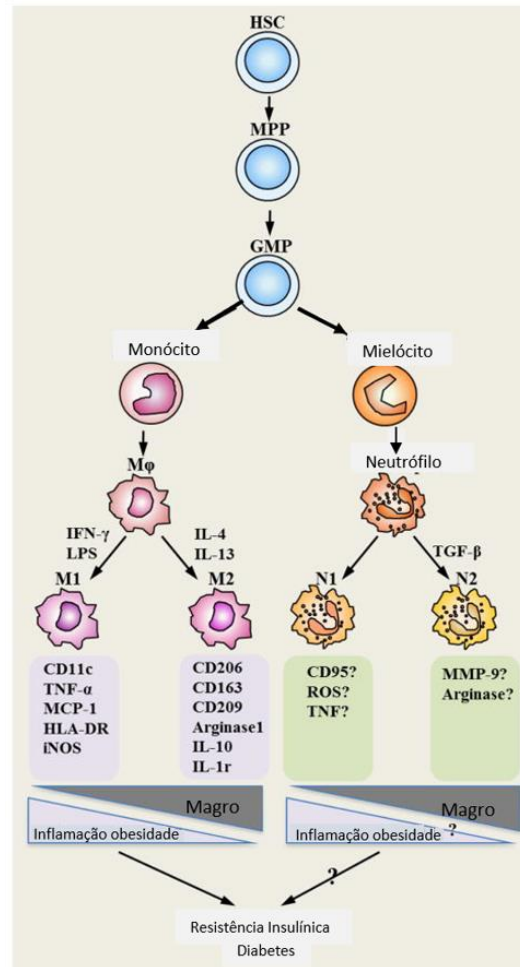


Figura 7: Heterogeneidade das células imunitárias monócitos/ macrófagos e neutrófilos.

Monócitos e neutrófilos são descendentes da mesma célula progenitora (GMP- progenitor de granulócito-monócito) que é diferenciada da célula-tronco hematopoiética (HSC). A célula progenitora é capaz de se diferenciar em monócitos e mielócitos. Quando recrutados em tecidos, os monócitos se diferenciam em macrófagos. Os macrófagos ativados clássicos (M1) expressam CD11c, antígenos leucocitários humanos ou HLD-DR (human leukocyte antigens) e iNOS, TNF- α e MCP-1. No entanto os macrófagos ativados alternativos (M2), expressam CD206, CD163, CD 209, IL-1r, arginase 1 e IL-10. Na obesidade/diabetes, “M1” estará presente e contribuirá para manter a inflamação crônica e contribuirá com a resistência à insulina em diversos tecidos. Igualmente aos macrófagos, os neutrófilos diferenciados dos mielócitos apresentam diferenciação de fenótipos em diferentes ambientes sendo, “N1” fenótipo pró-inflamatório ou anti-tumoral e “N2” ativado por mediador liberado por plaquetas; o TGF β polariza o fenótipo antiinflamatório ou pró-tumoral.

Fonte: Adaptado de Rao, *et al.*, 2014.

A alimentação hipercalórica, mas particularmente a hiperlipídica é um dos fatores ambientais mais importantes como indutores da obesidade, isto é; induz a um microambiente que modula a expressão de vários mRNAs hipotalâmicos que codificam diversas proteínas com ações relacionadas ao sistema imunitário. Um dos fatores é devido

a hipertrofia do TA que induz aumento significativo de mediadores de proteínas denominadas adipocinas e que realizam a liberação de mediadores inflamatórios como, leptina, adiponectina, fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), proteína 1 quimioatraente de monócito (MCP)-1, fator inibidor da migração de macrófagos (MIF), inibidor de ativador de plasminogênio (PAI)-1 e haptoglobina (DE SOUZA *et al.*, 2005, p. 4194, EL-HASHIMI *et al.*, 2000; MUNZBERG, *et al.*, 2004).

A interleucina 6 (IL-6) tem importantes ações fisiológicas que regulam o metabolismo, dentre elas incluem o descarte de glicose, lipólise, metabolismo oxidativo e gasto de energia. Os macrófagos e adipócitos são fontes de IL-6, atividade que se correlaciona com o volume de adipócitos (HOTAMISLIGIL, 2006; SKURK *et al.*, 2007). A IL-6 desempenha o papel de sinalização para ativar a via JAK1-STAT3 ((MAUER *et al.*, 2015; HAN *et al.*, 2020; SCHELLER *et al.*, 2011). A Janus Kinase1 – JAK1 é associada a uma família de proteínas tirosinas kinases que desempenha um papel crucial em efetuar a expressão de genes que medeiam a inflamação quando sinalizada por resposta imune e inflamatória da interleucina-6 (IL-6) / JAK1 o que gera sítios para a ligação dos fatores de transcrição STAT3 (signal transducers and activators of transcription), os quais são dissociados das subunidades do receptor até o núcleo da célula para ativar a transcrição (VAINCHENKER *et al.*, 2011; NCBI, 2021). A via de sinalização JAK/STAT é uma das várias cascatas pleotrópicas (mecanismo genético que controla várias características da expressão de um único gene) usadas para traduzir múltiplos sinais como a proliferação celular, diferenciação, migração celular e apoptose (RAWLINGS, 2004). A transdução de sinais ocorre quando há a interação da citocina ao seu receptor específico que se encontra expresso na superfície da célula-alvo, o que estimula sinais no interior da célula, a fim de provocar respostas vitais (RENAUD, 2003; SEIF *et al.*, 2017).

A obesidade é um dos prognósticos mais importantes de diabetes tipo 2 (MENKE, *et al.*, 2014). A insulina é um hormônio secretado pelas células β que atua não só no metabolismo de carboidratos, mas também na regulação anabólica de proteínas e lipídeos, crescimento e proliferação celular (FU *et al.*, 2013). Vários fatores podem contribuir para uma falha na célula β pancreática dentre os quais a lipotoxicidade, estresse reativo ao oxigênio e inflamação (DEFRONZO *et al.*, 2015). Entretanto, a observação de que alguns indivíduos obesos mórbidos mantêm uma tolerância normal à glicose, enquanto alguns indivíduos levemente acima do peso se tornam severamente responsivos sugere que não é

a quantidade absoluta de gordura que determina a RI, mas a localização que a gordura se acumula e a função do próprio adipócito. Isso sugere que os indivíduos apresentam um limite para a quantidade de tecido adiposo que se acumula e, uma vez que essa capacidade de armazenamento é alcançada, ocorre distúrbio metabólico (GRAY & VIDAL-PUIG, 2007). Interessantes estudos realizados por Foster *et al.* (2011); Hocking *et al.* (2015); Berry & Rodeheffer (2013); Pellegrinelli *et al.* (2016) demonstram que o transplante de tecido adiposo subcutâneo ou ainda a retirada do tecido adiposo visceral em camundongos obesos, resultou em melhoria da homeostase da glicose e reverteu os efeitos metabólicos prejudiciais da obesidade. No tecido adiposo visceral a hipertrofia ocorre com maior frequência, e hiperplasia no tecido adiposo subcutâneo, isto por ter maior número de células progenitoras originárias do endotélio ou mesmo de células tronco adultas.

Shimobayashi *et al.*, (2018) traçam uma investigação consistente sobre a causa da inflamação, resistência insulínica e diabetes tipo 2, usando modelo de camundongo e ainda em tecido adiposo de humanos, na condição de obesidade. Os autores afirmam que a resistência à insulina induzida pela obesidade precede o acúmulo de macrófagos do tipo M1 e a inflamação no tecido adiposo visceral; isto em função da redução da sinalização de insulina / mTORC2 (rapamycin-insensitive protein complex). Portanto, sugerem que a resistência à insulina no tecido adiposo leva à inflamação, e não vice-versa.

Por outro lado, de acordo com Rydèn *et al.* (2002); Reaven *et al.* (2012) e Guilherme *et al.* (2008), o papel da citocina pleotrópica TNF- α na resistência insulínica dos adipócitos pode ser mediado pelo aumento da lipólise no tecido adiposo, resultando em níveis elevados de ácidos graxos livres, menor esterificação de ácidos graxos, reduzindo também o transportador de glicose estimulado pela insulina, com consequente hiperlipidemia e resistência periférica à insulina. Neste mesmo contexto, Datukishvili & Mikeladze (2019) afirmam que a resistência à insulina no fígado pode ser estimulada pela citocina inflamatória TNF- α .

Outros mecanismos que disparam a inflamação no tecido adiposo são o desequilíbrio da homeostase de ácidos graxos, morte de adipócitos, hipóxia e estresse mecânico (HEILBRONN & LIU, 2014; REILLY & SALTIEL, 2017). Por causa do dano hepático, o sistema de reparo tecidual é ativado.

2.11. ESTRESSE OXIDATIVO E DEFESA ANTIOXIDANTE

No complexo sistema biológico, radicais baseados em oxigênio e radicais baseados em nitrogênio são tipos de radicais livres. Radicais livres de oxigênio, como superóxido, radicais hidroxila e radicais peroxila, com a adição de não radicais, como peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso e ozônio, são espécies reativas de oxigênio (EROs), que são geradas durante o processo de metabolismo de oxigênio. As espécies reativas de nitrogênio (ERN), incluindo radicais à base de nitrogênio e não radicais, como dióxido de nitrogênio, radicais de óxido nítrico e peroxinitrito, são derivadas de óxido nítrico e superóxido via óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e fosfato de dinucleotídeo de adenina nicotinamida (NADPH) oxidase (APPEL & HIRT, 2004, Mc COR, 2000).

Nos últimos anos as EROs não estão sendo somente consideradas prejudiciais, mas inclusive necessárias para a comunicação celular e a homeostase em diferentes organismos. Isto porque, EROs podem modular respostas fisiológicas como a regulação da sinalização do fator de crescimento, a resposta hipóxica, a inflamação e a resposta imune (GÖRLACH *et al.*, 2015). Porém, a produção excessiva pode conduzir a lesões oxidativas, as quais podem causar danos aos lipídios, proteínas e DNA celulares. (BARBOSA *et al.*, 2010; JIA *et al.*, 2020).

O estresse oxidativo ocorre a partir de um desequilíbrio entre a formação de compostos oxidantes e o desempenho dos sistemas de defesa antioxidante. A geração de radicais livres e/ou espécies reativas não radicais é resultante do metabolismo de oxigênio. A principal fonte geradora é a mitocôndria e realiza todo o processo por meio da cadeia transportadora de elétrons. As reações da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial com o oxigênio molecular geram o ânion superóxido ($O_2 \cdot^-$) considerado a ERO primária, que se dismuta para formar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que pode em seguida reagir para formar o radical hidroxila (HO). Os antioxidantes têm a função de inibir ou mesmo reduzir os danos causados pela ação nociva dos radicais livres ou mesmo de espécies reativas não radicais. O sistema é dividido em enzimático (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e não-enzimático. No último caso, é constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes, que podem ter origem endógena ou dietética como vitaminas E e C, glutathione (GSH), vários carotenóides e flavonóides. (DROGE, 2002; MURPHY, 2009; BARBOSA *et al.*, 2010; BHATTI *et al.*, 2017).

O estresse oxidativo está ligado a muitos distúrbios degenerativos metabólicos, onde a

função e a estrutura de um tecido ou órgãos se deterioram com o tempo, como na diabetes (NANDI *et al.*, 2019). Por outro lado, há estudos que demonstram o importante envolvimento do estresse oxidativo no desenvolvimento da síndrome metabólica decorrente da obesidade. Pode ocorrer prejuízo na secreção de insulina por células β pancreáticas, no transporte de glicose no músculo, no tecido adiposo e ainda está envolvido em danos vasculares desencadeando patogênese da aterosclerose, hipertensão e esteatose hepática, mas também em doenças inflamatórias crônicas, processos autoimunes e câncer (GRUNDY, *et al.*, 2004; MATSUOKA, *et al.*, 1997; RUDICH, *et al.*, 1998; MADDUX, *et al.*, 2001; CACCIAPUOTI, 2016). Estes estudos ocorreram em humanos e em camundongos; sendo que neste último em particular foi verificada superprodução de EROs em tecidos adiposos com atividades alteradas de NADPH oxidase e de enzimas antioxidantes (FURUKAWA, *et al.*, 2004). Conforme representado na Figura 8, a obesidade é caracterizada por inflamação crônica de baixo grau com elevação permanente do estresse oxidativo que se estiver superexpresso danifica as estruturas celulares junto com a baixa produção de mecanismos antioxidantes, levando ao desenvolvimento das complicações relacionadas à obesidade (MARSEGLIA *et al.*, 2015).

De acordo com Grattagliano *et al.* (2008) e Hopps *et al.* (2010) o acúmulo de gordura visceral induz um aumento na peroxidação lipídica sistêmica e danos através do excesso de ácidos graxos livres (AGL) e citocinas como o TNF- α que desencadeia dano oxidativo sistêmico. Uma vez deflagrada a síndrome metabólica, devido ao excesso de peso, pacientes mostram atividades antioxidantes mais baixas. Nos casos de dislipidemias, segundo Hopps *et al.* (2010) diversos estudos *in vitro* e *in vivo* relataram maior liberação de EROs e menor síntese de SOD e iNOS. Isto em parte, está de acordo com o trabalho de Ventura *et al.*, (2016), os quais induziram a obesidade em gerbils (*Meriones unguiculatus*) e concluíram que ocorreu depleção de SOD e CAT no fígado, bem como redução dos níveis de IL-10 e adiponectina no tecido adiposo.

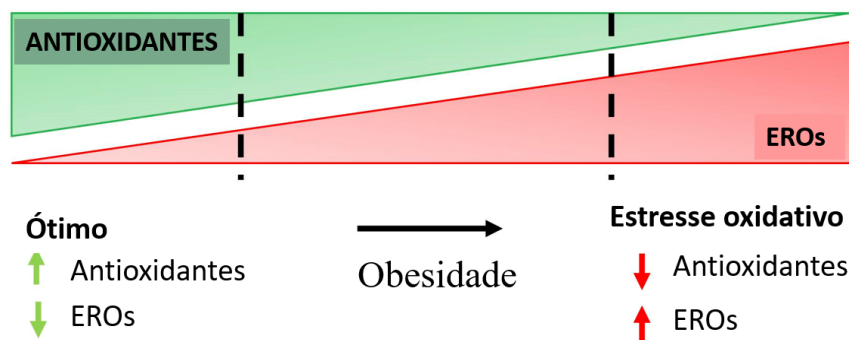


Figura 8: Estresse Oxidativo.

O estresse oxidativo é resultado do equilíbrio de antioxidantes e espécies reativas de oxigênio (EROs). A condição redox ideal para as células se configura em níveis elevados de antioxidantes para que ocorra a extinção ou manutenção de baixos níveis das EROs. A obesidade e as comorbidades elevam os níveis de EROs e reduzem os antioxidantes no tecido adiposo levando ao estresse oxidativo e complicações como resistência insulínica e diabetes.

Fonte: Adaptado de Masschelin *et al.*, 2020.

2.12. TBARS - SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO

Um importante método de avaliação do estresse oxidativo é o de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), procedimento desenvolvido por Buege e Aust (1978) o qual avalia a concentração do malondialdeído (MDA, $C_3H_4O_2$) que é produto citotóxico e um excelente biomarcador celular (PILZ *et al.*, 2000; STEGHENS *et al.*, 2001). Todos componentes celulares estão sujeitos a ações de EROs diante do estresse oxidativo. No caso da membrana celular, quando reage com EROs, desencadeia a peroxidação lipídica, processo que causa alterações de estrutura e de permeabilidade celular; alterando assim o metabolismo (FERREIRA *et al.*, 1997). Sankhla *et al.* (2012) avaliaram a relação do estresse oxidativo com obesidade associada a adiposidade abdominal e verificaram, por análise da concentração de MDA, um aumento deste biomarcador. Resultados semelhantes foram encontrados em diferentes experimentos realizados por Lasker *et al.* (2019) e Skrzep-Poloczek *et al.* (2020) os quais encontraram níveis aumentados do produto da peroxidação lipídica, malondialdeído, em ratos alimentados com dieta rica em gordura e ratos alimentados com dieta rica em gordura após cirurgia bariátrica.

2.13. ENZIMA CATALASE

A catalase (CAT) é considerada uma das mais importantes enzimas antioxidantes por promover a quebra do peróxido de hidrogênio e manter a homeostase redox celular (NANDI *et al.*, 2019).

No ano de 1937 a catalase foi isolada do fígado bovino pela primeira vez e na forma cristalina e em estado puro (SUMNER & DOUNCE, 1937).

No sistema antioxidante de natureza endógena a enzima catalase atua em conjunto com outras enzimas como: glutatona-peroxidase, metionina-redutase e superóxido dismutase, convertendo os radicais livres em elementos neutros, ou seja, combatendo os radicais livres. Esta importante enzima pode regenerar outros antioxidantes endógenos, realizar reparos a danos celulares como também está envolvida em condições de mutagênese e inflamação (BIANCHI & ANTUNES, 1999; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1984).

A catalase é uma enzima intracelular altamente ativa encontrada principalmente em peroxissomos a qual decompõe duas moléculas de peróxido de hidrogênio à duas de água e uma de oxigênio ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) (MATSCHE *et al.*, 2019). Em determinadas condições patológicas pode ocorrer a elevação de peróxido de hidrogênio ou redução da catalase, provocando assim o acúmulo de H_2O_2 o qual se difunde facilmente nas membranas celulares, nucleares e organelas causando danos ao DNA e esgotando ATP, (GSH) e NADPH (BAI & CEDERBAUM, 2001). A CAT é encontrada, principalmente, nos hepatócitos, eritrócitos e músculos e em baixas concentrações nas mitocôndrias (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989; POWERS *et al.*, 1994).

De acordo com os trabalhos de Tiedge *et al.* (1997), Murata *et al.* (1998) e Jorns *et al.* (1999) o peróxido de hidrogênio age como um oxidante e causa danos a célula β interrompendo a via de sinalização da produção de insulina. Fato que corrobora com trabalho de Msolly *et al.*, (2013) os quais constataram um aumento de quatro vezes na concentração de peróxido de hidrogênio em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 do que em controles saudáveis. Gankravist *et al.* (1981) já haviam observado a baixa concentração de catalase nas células β em camundongos hiperglicêmicos o que corrobora com os achados dos autores anteriores. A redução da catalase foi também observada por Furukawa *et al.* (2006) os quais induziram a obesidade em camundongos C57BL/6J e ratos KKAY de 7 a 13 semanas e em trabalho recente de Piao *et al.* (2019) que constataram expressões de genes peroxissomais reduzidos no tecido adiposo branco (TAB) de camundongos obesos.

2.14. OBESIDADE E PARASITOSSES EM HUMANOS E ANIMAIS

A epidemia da obesidade em populações que transitaram em comunidades de baixo poder aquisitivo para aquelas com facilidade ao acesso a alimentos e ainda conveniências

modernas é usado como prova que a obesidade resulta de uma interação de herança de genes com o meio ambiente (TSCHÖP, 2001).

A diminuição do gasto de energia associada a falta de atividade física, aumento da ingestão calórica relacionada a alto consumo de alimentos gordurosos, ou ambos, são responsáveis pela etiologia da obesidade em sociedades modernas. Assim, muitos pesquisadores usam roedores de tipo selvagem mantidos em uma dieta rica em gordura como um modelo para estudar a obesidade (TSCHÖP, 2001).

O estudo dos mecanismos pelos quais a obesidade induz as disfunções fisiológicas pode ser facilitado com a utilização de modelo animal e considerando que o modelo deve ser o mais próximo possível da gênese da obesidade em humanos, a indução dessa condição via consumo de alimentos altamente palatáveis e com alto valor energético parece ser o mais apropriado (ROSINI *et al.*, 2012).

Ventura *et al.* (2017) afirmaram que o gerbil (*Meriones unguiculatus*) pode ser amplamente adotado como um modelo eficaz para o estudo da obesidade induzida por dieta, ajudando a projetar estudos com condições rigidamente controladas e, portanto, melhorar a compreensão da obesidade e doenças relacionadas. Estes autores investigaram a obesidade induzida por dieta rica em gordura e açúcares simples e reproduziram com sucesso, a inflamação crônica de baixo grau com associação de esteatose hepática.

Alguns estudos utilizando animais obesos demonstraram que o tecido adiposo se apresenta inflamado devido a presença de macrófagos que infiltram progressivamente à medida que ocorre aumento da adiposidade corporal (WEISBERG *et al.*, 2003).

Xu *et al.* (2020) realizaram uma revisão sistemática e uma meta-análise de estudos em animais para melhor compreensão sobre como a obesidade, induzida por dieta e geneticamente, pode influenciar na sobrevivência dos animais com infecção bacteriana, dieta lipopolissacarídica ou influenza, ou seja, na infecção e sepse. Apesar de encontrar viés em alguns trabalhos como a não inclusão de dados básicos de início da indução de dieta ou mesmo de desafio infeccioso, concluíram que a obesidade em diversos trabalhos analisados tem o efeito protetor em pacientes sépticos, mas efeito nocivo durante a gripe. Contudo, autores destes trabalhos não realizaram estudos clínicos para diferenciar o impacto da obesidade sobre resultados de pacientes sépticos agudos versus aqueles que

apresentam doenças crônicas, sendo necessário, portanto, estudos clínicos e pré-clínicos que avaliem com maior precisão efeitos danosos ou protetores da obesidade sobre infecções graves. Torres *et al.* (2018) também traçaram uma investigação de alguns estudos realizados em humanos e em animais que abordam a relação entre a obesidade e infecções. Interessante contextualização sobre o tema resulta em afirmar como ainda é controversa a relação.

Estudos demonstram que a obesidade é um fator importante da interrupção da homeostase sistêmica, visto que, trabalho de Ferreira *et al.* (2011) demonstraram a persistência do *Trypanosoma cruzi* nos adipócitos caracterizando um reservatório que a partir do qual pode haver recrudescimento da infecção. De acordo com Tanowitz *et al.* (2017) o tecido adiposo pode fornecer local seguro, além de ser um reservatório energético o qual favorece o crescimento deste parasito.

Durante a infecção por *Leishmania chagasi* em animais com obesidade induzida por dieta, Segali *et al.* (2016) observaram que a obesidade promoveu suscetibilidade a infecção causando maior carga parasitária, dano tecidual hepático e esplênico além de expressar aumento de citocinas inflamatórias como TNF- α , IL-6 e IFN- γ . Sarnágliá *et al.* (2016) investigaram o efeito da obesidade no resultado da doença leishmaniose visceral causada por *Leishmania infantum chagasi* em camundongos C57BL / 6 alimentados com dieta rica em açúcar e manteiga (HSB) e mostraram que animais obesos exibiram uma carga parasitária significativamente maior no fígado e no baço comparados com o grupo de dieta controle, além de maior produção de IFN- γ , TNF- α , IL-6 e óxido nítrico e diminuição da produção de IL-10 e TGF- β .

Reeves *et al.* (2013) avaliaram a associação entre obesidade e toxoplasmose em indivíduos adultos e concluíram que a maior positividade está entre os adultos obesos em comparação com os não obesos.

Por outro lado, Carvalho *et al.*, (2015) avaliaram cérebro e baço de camundongos neonatais C57BL/6 com obesidade induzida por injeções de Glutamato monossódico (MSG - monosodium glutamate), que resulta em grave hiperleptinemia e os infectaram com *Plasmodium berghei*-ANKA a qual induz a malária cerebral. Obtiveram como resultado uma parasitemia menor nos animais obesos em relação ao grupo controle e aumento exacerbado das citocinas IL-10, IL-12, TNF- α , IFN- γ , mas o mecanismo que

leva a super produção destas citocinas ainda permanece desconhecido.

Wyss *et al.* (2017) realizaram um estudo observacional retrospectivo em adultos com diagnóstico de malária grave associada a comorbidades causada pela obesidade e concluíram que as doenças não transmissíveis devem ser consideradas no tratamento agudo e na prevenção da malária grave, pois de fato, existe associação tanto de forma independente como em combinação com um fator de risco metabólico adicional (hipertensão, dislipidemia ou diabetes).

Durante a obesidade, adipócitos secretam mediadores inflamatórios e receptores imunes são expressos para recrutar células imunes que podem traçar novos caminhos terapêuticos ou ainda novas estratégias preventivas (DARYABOR *et al.*, 2018).

3. JUSTIFICATIVA

A obesidade é vastamente estudada e considerada como um problema de saúde pública em todo mundo. Sabe-se que o excesso de peso corpóreo desencadeia respostas diversas no organismo.

As implicações decorrentes da obesidade como estado inflamatório, alterações da resposta metabólicas e histopatológicas poderão agregar condições adversas ao indivíduo parasitado.

Estudos relacionando amebíase e obesidade tanto experimentais como em humanos não são relatados na literatura. Neste contexto este trabalho é genuíno, pois reúne e avalia seus efeitos individuais e conjuntos ao nível fisiológico do organismo infectado. Nossos resultados podem fornecer importantes *insights* para o esclarecimento da patogênese tanto da amebíase quanto da obesidade.

A hipótese, neste contexto, é que a obesidade pode ser um agravante em animais experimentalmente infectados com *E. histolytica*.

4. OBJETIVO

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da obesidade induzida em gerbils (*Meriones unguiculatus*) na infecção amebiana, analisando-se aspectos imunológicos, bioquímicos e patológicos.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o impacto da obesidade em gerbils experimentalmente infectados com *E. histolytica*, analisando os seguintes parâmetros:

- Estado nutricional dos animais por peso e consumo alimentar.
- Níveis séricos de colesterol total, colesterol em HDL, triglicérides, glicemia de jejum, proteínas totais, albumina;
- Curva glicêmica por meio do teste de tolerância à glicose oral (TTGO);
- Avaliação macroscópica da quantidade de tecido adiposo, das lesões hepáticas e do abscesso hepático amebiano;
- Estresse oxidativo no fígado e nos tecidos adiposos (epididimal, mesentérico e retroperitoneal) por TBARS e catalase;
- Histopatologia do tecido hepático (morfometria e imuno-histoquímica);
- Expressão relativa do mRNA das citocinas *Il6*, *Tgfb1*, *Tnf* no fígado.
- Atividade da mieloproteinase (MPO) neutrofílica hepática.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. MODELO EXPERIMENTAL E TRATAMENTO INICIAL

Foram utilizados 64 gerbils (*Meriones unguiculatus*) do sexo masculino, de 16 semanas, obtidos no Biotério do Departamento de Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e mantidos no Biotério do Laboratório de Amebíase e Protozooses Intestinais em gaiolas coletivas de polietileno, sendo oito animais por gaiola. Inicialmente mantidos em área de adaptação por uma semana recebendo dieta comercial. Antes do início do experimento, os animais foram tratados com Albendazol 40 mg/ml solução oral, para assegurar que os mesmos estivessem livres de qualquer parasitose. Cada animal recebeu 0,1mL (10 µg) da droga por gavagem. Após o tratamento, as fezes dos animais foram examinadas pelo método de Lutz ou método de sedimentação espontânea de Hoffman, Pons e Janer descrito por De Carlli (2011) para confirmação de negatividade de entoparitoses. Durante todo o período do experimento as condições de temperatura (25° C) e ciclo claro/escuro (12 h/12 h) foram controladas. O protocolo experimental foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) da UFMG (processo n° 302020).

5.2. CONDIÇÕES DE CULTIVO DO PARASITO E PREPARO DO INÓCULO

As culturas axênicas de *E. histolytica* (cepa EGG) foram mantidas em tubos de vidro 150 mm x 10 mm com tampa rosqueável contendo 12 mL de meio axênico YI (DIAMOND, 1968) em estufa a 37° C. Para a infecção todos os frascos foram colocados em banho de gelo por 10 minutos para o desprendimento dos parasitos da parede e em seguida submetidos à centrifugação por 7 minutos à 3000 rpm. O sobrenadante foi desprezado e o pellet de trofozoítos ressuspenso com 1mL de PBS pH 7,2. Após este período, 25 µL do meio de cultura foram adicionados a um microtubo contendo 75 µL de corante vital (eosina 0,125%). Após homogeneização, a solução foi colocada na câmara de Newbauer para contagem, considerando-se apenas os quatro maiores quadrantes. A concentração obtida foi diluída em PBS pH 7,2, livre de trofozoítos, obtendo-se a concentração final de $1,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL, em um volume de 150 µL. Esta cepa foi isolada de paciente sintomático com amebíase intestinal e hepática. É considerada de alto grau de virulência para os animais de experimentação.

5.3. INÓCULO

Os animais foram anestesiados com solução de ketamina (100 mg/kg) e xilazina (12 mg/kg) via intramuscular e iniciada a laparotomia que consiste em incisão abdominal de aproximadamente 1,5 a 2 cm para visualização do fígado. Cada gerbil recebeu o inóculo de 1×10^5 trofozoítos diretamente no lobo esquerdo do órgão, conforme descrito previamente por Cieslak *et al.* (1992) e Zhang *et al.* (2004) e adaptado pelo autor.

5.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E COLETA DE MATERIAL

Após período de adaptação e vermifugação, os animais foram distribuídos de forma homogênea de acordo com peso corporal em 8 grupos de oito animais cada:

- Grupo I - Controle sem laparotomia (CTSL);
- Grupo II - Controle com laparotomia (CTCL);
- Grupo III - Controle infectado+ 4dias de infecção (grupo CTINF4d);
- Grupo IV - Obeso sem laparotomia (OBSL);
- Grupo V - Obeso com laparotomia (OBCL);
- Grupo VI - Obeso infectado + 4 dias de infecção (OBINF4d);
- GrupoVII- Controle infectado +11 dias de infecção (CTINF11d);
- Grupo VIII- Obeso infectado +11 dias de infecção (OBINF11d).

Os animais dos Grupos VII e VIII (CTINF11d e OBINF11d), foram incluídos neste trabalho, a fim de verificar a evolução da infecção e o comprometimento hepático nestes animais por um período de tempo maior (11 dias). Os resultados obtidos foram prioritariamente para efeito comparativo com os resultados das análises histopatológicas morfométricas obtidas com os Grupos III e VI (CTINF4d e OBINF4d), ambos com 4 dias de infecção.

A Figura 9: Delineamento experimental. representa o delineamento experimental realizado neste trabalho.

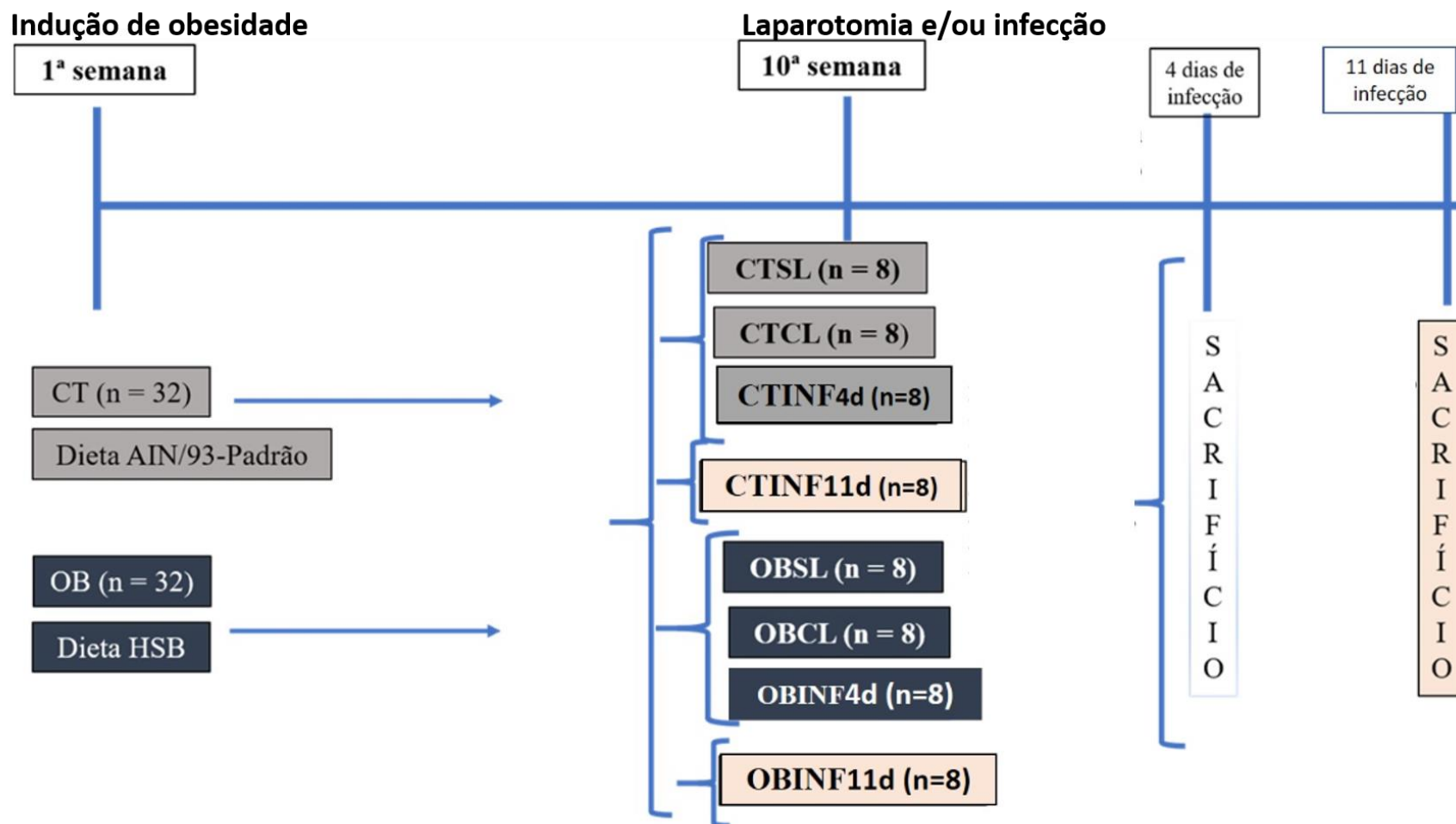


Figura 9: Delineamento experimental. CT- Grupos controles; OB- Grupos obesos; AIN/93-*American Institute of Nutrition/93*; HSB- *High sugar and butter*; CTSL- Controle sem laparotomia; CTCL- Controle com laparotomia; CTINF4d- Controle infectado+ 4dias de infecção; CTINF11d- Controle infectado +11 dias de infecção; OBSL- Obeso sem laparotomia; OBCL- Obeso com laparotomia; OBINF4d- Obeso infectado + 4 dias de infecção; OBINF11d- Obeso infectado +11 dias de infecção.

Para o desenvolvimento deste experimento os animais dos grupos CTSL, CTCL, CTINF4d e CTINF11d receberam dieta Padrão AIN-93 (REEVES *et al.*, 1993), composta de 64%, 20% e 16% de calorias totais provenientes de carboidratos, proteínas e lipídeos, respectivamente e densidade calórica de 3,9 kcal/g. Os animais dos grupos OBSL, OBCL, OBINF4d e OBINF11d receberam dieta hipercalórica (Hiper) rica em gordura e sacarose (MAIOLI *et al.*, 2016), composta de 36%, 16% e 48% de calorias totais provenientes de carboidratos, proteínas e lipídeos, respectivamente e densidade calórica de 4,9 kcal/g, para induzir obesidade. A composição das dietas experimentais está apresentada na Tabela 2. O preparo das dietas foi realizado no Laboratório de Amebíase utilizando componentes da marca Rhoster®.

Tabela 2: Composição das dietas experimentais.

<i>Ingredientes</i>	<i>Quantidade (g/Kg)</i>	
	Dieta Padrão	Dieta Hiper
Caseína	140	200
Amido de milho	465,7	208,6
Sacarose	100	232
Maltodextrina	155	0
Mistura de minerais	35	35
Mistura de vitaminas	10	10
Celulose	50	50
Metionina	1,8	3
Bitartarato de Colina	2,5	2,5
Butil-hidroxi tolueno - BHT	0,008	0,014
Óleo de soja	40	70
Manteiga sem sal comercial	-	189
Total (g)	1000	1000
Densidade calórica (Kcal/g)	3,6	4,9
g de proteína/g de peso corporal	0,05	0,04
<i>Composição centesimal (%)</i>		
Carboidrato	64,0	36
Proteína	20,0	16
Lipídeo	16	48

A indução de obesidade permaneceu por 74 dias (grupos OBSL, OBCL e OBINF4d) ou 81 dias (grupo OBINF11d).

Na 10^a semana, após jejum de 12 h, inicialmente, os animais foram pesados. Em seguida, foi realizado o teste de tolerância à glicose oral (TTGO). Após estes procedimentos e no mesmo dia, seguiu-se a infecção. Os animais foram anestesiados com solução de ketamina (100 mg/kg) e xilazina (12 mg/kg) por via intramuscular e em seguida foi realizado o procedimento cirúrgico. A laparotomia foi o procedimento cirúrgico adotado, sendo exclusivo aos animais dos grupos II e V (CTCL e OBCL), enquanto que laparotomia somada à infecção hepática com a cepa EGG da *E. histolytica* foi realizada nos animais dos grupos III, VI, VII e VIII (CTINF4d, OBINF4d, CTINF11d e OBINF11d). Os grupos I e IV (CTSL e OBSL) não sofreram cirurgia e não foram infectados.

No 4^o dia após infecção, novamente foi feita a curva glicêmica nos animais dos grupos I a VI, após jejum de 12 h e após a determinação do peso corporal. Em seguida, os animais foram eutanasiados sob anestesia com solução de Ketamina (100 mg/Kg) e Xilazina (12 mg/Kg). Foram obtidos dos animais, medida nasoanal e sangue para sorologia. O sangue foi obtido por exsanguinação via aorta abdominal com tubos capilares, centrifugado a 6000 RPM por 10 minutos para separação do plasma, e armazenado a -80°C até a utilização para dosagens bioquímicas (colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos, glicose, proteínas totais e albumina). Após deslocamento cervical, foi feita uma abertura longitudinal na cavidade abdominal para coleta dos demais tecidos (fígado e tecidos adiposos) que foram pesados em balança da marca Marte Ad 5002. O lobo esquerdo hepático foi seccionado em três porções transversais sequenciais de aproximadamente 2 mm, sempre do ápice em direção à base, que foram fixadas em solução de formol tamponado a 10% para análises histopatológicas. Outra porção do fígado foi acondicionada e armazenada a -80°C até a avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo. Os tecidos adiposos (epididimal, mesentérico e retroperitoneal) foram seccionados (\pm 1 cm) e fixados em solução de formol a 10%, para análise histológica e outra porção foi também destinada para avaliação do estresse oxidativo.

Com os animais dos Grupos VII e VIII – CTINF11d e OBINF11d a coleta de sangue e do fígado ocorreram após 11 dias de infecção.

5.5. AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL, ADIPOSIDADE E CONSUMO ALIMENTAR

O peso corporal individual foi registrado semanalmente e o consumo alimentar por gaiola registrado em dias alternados, sendo que a dieta foi pesada antes da oferta e subtraído o peso da sobra alimentar depois da oferta (oferta dieta – sobra dieta = consumo). No final do experimento foram calculados os pesos relativos do fígado e do tecido adiposo (peso do tecido/peso corporal final x 100). O tecido adiposo subcutâneo foi omitido do cálculo, pois pouco contribui para a adiposidade corporal total. O índice de adiposidade foi obtido pela soma das quantidades de gordura epididimal, mesentérica e peritoneal, dividida pelo peso corporal (TAE +TAM +TAR) *100/Peso corporal.

Ao final do experimento, o consumo energético foi calculado considerando-se o consumo dos 74 dias para os grupos I a VI e 81 dias de experimento para os grupos VII e VIII.

5.6. ENSAIOS BIOQUÍMICOS

As dosagens séricas de colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos, glicose, proteínas totais e albumina, foram realizadas por ensaio enzimático, seguindo as recomendações do fabricante (kit Labtest, Brasil) e os resultados expressos em mg/dL. Todas as análises foram realizadas com o material coletado depois da infecção.

5.7. CONCENTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO – PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA - TBARS

Fragmentos de 100 mg do tecido foram macerados em 1 mL de solução salina (PBS), pH 7,2. A solução resultante foi centrifugada por 10 min a 10000 RPM a 4° C e o sobrenadante foi recolhido para a dosagem de todos os parâmetros relativos ao estresse oxidativo.

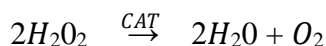
A determinação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi feita da seguinte maneira: o homogenato de fígado, tecido adiposo epididimal (TAE), tecido adiposo mesentérico (TAM) e Tecido adiposo retroperitoneal (TAR), foi colocado em tubos de vidro, ao qual foi adicionada a solução de TBARS (ácido tricloroacético a 15% + ácido tiobarbitúrico a 0,375% + HCl 0,25 N + água deionizada q.s.p.). Em seguida, os tubos foram fervidos por exatamente 15 minutos, sendo posteriormente resfriados em água corrente. Após o resfriamento foram acrescentados

750µl de álcool butílico com posterior homogeneização e centrifugação a 3000 RPM por 10 minutos. A quantidade de 200 µl do sobrenadante de cada amostra foi pipetada em microplaca de 96 poços e a absorbância foi lida em leitor de microplaca a 535 nm. A dosagem de TBARS foi expressa por: concentração de malondialdeído (MDA) por grama de proteína no tecido, dosada da mesma forma que a proteína plasmática, conforme descrito previamente.

Conforme método de Buege & Aust (1978).

5.8. ATIVIDADE DE CATALASE

A dosagem da atividade da enzima catalase (CAT) foi baseada na técnica descrita por Nelson & Kieson, 1972. A catalase tem como função proteger a célula contra a oxidação, assim irá catalisar rapidamente a decomposição do H₂O₂. O valor de 1 U de catalase equivale a hidrólise de 1µmol de H₂O₂ por minuto ($\epsilon = 39,4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) (Aebi, 1984). Uma vez que a CAT decompõe o H₂O₂ em H₂O e O₂, é permitido neste método a observação direta da decomposição do H₂O₂, ou atividade da enzima catalase, pela diminuição da absorbância a 240 nm. Portanto, 25 µL da porção sobrenadante do homogenato de tecido foram colocados em uma cubeta de quartzo, acrescentando-se o reagente (300 µl de H₂O₂ 30% + 10 mL de H₂O miliQ) e ainda, 1 mL de solução salina. A leitura foi efetuada entre 0, 15, 30, 45 e 60 segundos a 240 nm ($\Delta\text{Abs}/\text{min.}$) e os cálculos feitos pela diferença de leitura de tempo final (60 s) pelo tempo inicial (0 s), dividido pelo volume (ml) da amostra. Os resultados foram expressos como nmol de CAT por mg de proteína. A dosagem de proteína foi realizada da mesma maneira que a proteína plasmática, conforme descrito previamente.



5.9. TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE ORAL (TTGO)

O teste de tolerância a glicose à oral (TTGO) foi realizado em animais submetidos a jejum prévio de 12 horas para a determinação da curva glicêmica, após sobrecarga de glicose oral. Os animais receberam por gavagem, uma dose de glicose a 80% (75 mg/100 g de peso corporal). Utilizou-se uma cânula delvo nº 15 acoplada a uma seringa de 1 mL, conforme as recomendações do CEUA. Realizou-se a medida da glicemia capilar caudal, através de glicosímetro (*OneTouch Ultra, Johnson & Johnson's*), em diferentes tempos: 0 (basal), 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 minutos após a administração de glicose. As

dosagens foram realizadas nos grupos controle e obesos antes da infecção e após 4 ou 11 dias de infecção.

5.10. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO

No momento da necrópsia, amostras do fígado dos animais dos diferentes tratamentos, foram coletadas, divididas em três fatias e fixadas em formol tamponado 10%, pH 7,2. Após o período de fixação, as fatias do fígado foram desidratadas, diafanizadas, infiltradas e incluídas em parafina sendo obtidos cortes de 4 µm de espessura para coloração com hematoxilina e eosina (H&E) e confeccionados lâminas para análise histopatológica e morfométricas. Outros cortes histológicos de mesma espessura e não corados, foram montados em lâminas para reações de imuno-histoquímica.

5.11. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA ÁREA DE NECROSE

Os cortes histológicos obtidos para análise histopatológica foram submetidos à análise morfométrica das áreas de necrose e de focos inflamatórios, usando-se objetiva de 20X e através do programa KS300 contido no analisador de imagens Carl Zeiss (Oberkochen, Germany) (COSTA, *et al.*, 2007). Todas as áreas de necrose e focos inflamatórios foram visualizadas por intermédio da objetiva 20X do microscópio Axiolab Carl Zeiss, digitalizadas através da microcâmara QColor# - Olympus (Tokyo, Japão) e delimitadas interativamente com o auxílio do cursor para o cálculo da área em µm². Em seguida, todos os cortes histológicos foram digitalizados por intermédio do scanner Epson, na resolução de 800 ppp. Todos os pixels de cada corte histológico foram totalmente selecionados, com subsequente criação de uma imagem binária e cálculo da área total do corte. A menor área de corte histológico do fígado foi usada como padrão mínimo de parênquima hepático a ser analisado estatisticamente.

A metodologia empregada para o imageamento microscópico, segmentação de imagens, processamento digital e definição das condições de morfometria foi a descrita por Caliarì (1997).

5.12. REAÇÃO DE IMUNO-HISTOQUÍMICA PARA DETECÇÃO DE TROFOZOÍTOS

A atividade da peroxidase endógena foi eliminada incubando os cortes em solução de H₂O₂ 30v a 3,5% em 200 mL de PBS por 15 minutos e os sítios de ligação inespecífica foram bloqueados incubando os cortes com solução de bloqueio da marca Protein Block

Free por 40 minutos à 4° C. Para identificação dos trofozoítos os cortes foram incubados overnight à 4° C com o soro policlonal anti-ameba (anticorpo primário) na diluição de 1:700. No dia seguinte foram incubados por 60 min. a 4° C com soro secundário de cabra anti-rato na diluição 1:60. Em sequência foi adicionada estreptavidina conjugada com peroxidase (*Zymed Laboratories Inc.*, San Francisco, USA). A marcação foi detectada usando solução de diaminobenzidina 0,05% em H₂O₂ 30v a 0,2%. Como controle negativo, o antisoro primário foi substituído por PBS em alguns cortes. Como controles positivos, foram usados cortes de fígado ricos em trofozoítos e com porções de tecido hepático normal. Os cortes foram contracorados com hematoxilina de Harris diluída e montados em entelan.

A metodologia empregada foi conforme Costa *et al.* (2011).

5.13. PERFIL DE CITOCINAS - EXTRAÇÃO DE RNA

Para determinar o perfil de citocinas, o tecido hepático de cada animal dos oito grupos experimentais foi seccionado em fragmentos de 2 cm, imediatamente imersos em RNAlater® (Ambion, Austin, Texas, EUA) para prevenção da degeneração de RNA e armazenados a -80° C até momento da extração do RNA total.

O RNA total foi extraído utilizando o reagente RNA-STAT-60™, conforme protocolo do fabricante. Amostras de 50 - 100 mg de tecido hepático foram homogeneizadas no RNA-STAT-60™ (1 ml/50-100 mg de tecido). Após a homogeneização, o homogenato permaneceu 5 min. em temperatura ambiente para permitir a dissociação completa dos complexos de nucleoproteínas. Em seguida, foi adicionado 0,2 ml de clorofórmio por 1ml de RNA STAT-60™ e as amostras foram agitadas vigorosamente por 15 segundos e permaneceram em temperatura ambiente por 3 min. O homogenato foi cetrifugado a 12.000 g/15 min. a 4° C. Após a centrifugação, foi possível a obtenção de duas fases: uma fase de clorofórmio fenol vermelho inferior e a fase aquosa superior incolor. A fase aquosa foi transferida para um novo tubo e adicionado 0,5 ml de isopropanol por 1 mL de RNA STAT-60™ usado para homogeneização. As amostras permaneceram à temperatura ambiente por 5-10 min. e novamente centrifugadas a 12.000 g/10 min. a 4° C. O precipitado de RNA apresentou-se visível como um pellet branco no fundo do tubo. O sobrenadante foi em seguida removido e o pellet de RNA foi lavado uma vez com etanol 75%, vortexado e em seguida centrifugado a 7.500 g/5 min. a 4° C. Foi adicionado pelo menos 1 mL de etanol 75% por 1 mL do RNA STAT-60™ usado para a homogeneização

inicial.

No final do procedimento, o pellet de RNA passou por secagem ao ar na capela de fluxo. A secagem não foi completa pois isso diminuiria sua solubilidade. O pellet de RNA foi então dissolvido em água livre de RNase ou em 1 mM de EDTA, pH 7,0 ou em solução de SDS a 0,5%. As amostras de RNA foram vortexadas e depois incubadas por 10-15 minutos a 55-60° C em soluções livres de RNase1 tratadas com dietilpirocarbonato (DEPC).

A quantificação do RNA foi realizada por espectrometria utilizando o equipamento NanoDrop™ 2000c (NanoDrop Thermo Fisher Scientific, spectrophotometers), determinando a razão de absorbância em 260 a 280 nm.

5.14. AMPLIFICAÇÃO DO cDNA

A quantidade de 10µg de RNA total foi usada em reações de transcrição reversa para produção de cDNA usando-se o kit Bio-Rad, seguindo recomendações do fabricante. Para isso foi utilizado iScript™ reverse transcription supermix for RT-qPCR (Bio-Rad Laboratories, Inc. Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA). Na reação de RT-qPCR foram utilizados 1,5 µL de RNA para cada reação e por amostra. O RNA total foi armazenado a -80° C e o cDNA armazenado a -20° C.

5.15. ANÁLISE DE REAÇÃO EM CADEIA (RT-qCR)

O cDNA (2 µL) obtido foi usado para a quantificação da expressão das citocinas usando-se o kit SYBR Green PCR Master Mix 2x Bio-Rad. O gene endógeno constitutivo utilizado foi o GAPDH (Gliceraldeído-3-fostato-desidrogenase). As citocinas e os respectivos iniciadores usados estão apresentados na Tabela 3.

Os pares de iniciadores (*forward e reverse*) foram utilizados na concentração de 10x cada, ou seja, 10 µL de primer + 90 µL de água livre de RNase. A seleção dos iniciadores garantiu a amplificação específica dos alvos determinados que amplificaram amplicons que variaram de 71 a 122 pares de bases por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT- qPCR), usando o sistema SYBR Green - SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante.

Tabela 3: Sequência dos primers gene-específico para as citocinas utilizadas na RT-qPCR para expressão relativa de mRNA.

Gene Alvo	Forward: 5' → 3'	Reverse: 5' → 3'	Amplicon: pares de base (pb)
<i>Gapdh</i>	CTGGCATGGCCTTCCGAG	CAGGTTTCTGCAGTCGGC	71
<i>Il6</i>	AGGATCCAGGTCAAATAGTCTTTCC	TTCCGTCTGTGACTCCAGTTTCT	92
<i>Tgfb1</i>	CTACCACGCCAACTTCTGTCT	TTGTGTTGGTTGTAGAGGGCAA	92b
<i>Tnf</i>	GCATGGAGCTCAGGGACAACCAG	GGCTGACGGTGTGCGTGAGGA	122

Fonte: Fonseca, 2019.

Os dados foram validados e confirmados por RT-qPCR e as alterações na expressão foram calculadas usando o método Ct comparativo ($\Delta\Delta Ct$), expresso como alteração de dobra em relação à razão.

5.16. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA MIELOPROTEINASE (MPO) NEUTROFÍLICA HEPÁTICA

Para a avaliação da atividade de mieloperoxidase de neutrófilos (MPO), foram necessários 100 mg de tecido hepático homogeneizado (TissueLyser LT® - Qiagen, Hilden, Alemanha) em 1.000µL de PBS tamponado com fosfato (0,4 M de NaCl e 10 mM de NaPO₄) suplementado com 0,05% de Tween 20, 0,5% de albumina de soro bovino e inibidores de proteases (0,01 mM de fluoreto de fenilmetilsulfonila - PMSF, 0,1 mM de cloreto de benzetônio, 10 mM de EDTA e 20 UI de aprotinina A). Em seguida, os homogenatos foram centrifugados a 800 G, durante 10 minutos em 4° C, o sobrenadante foi armazenado à temperatura de -80° C para outras futuras dosagens e o homogenato foi utilizado para a dosagem de MPO. Em seguida foi adicionado ao sedimento 800 µL de solução tampão 2 (Na₂HPO₄ 0,05 M, brometo de hexadeciltrimetilamônio a 0,5%), as amostras foram homogeneizadas e depois submetidas a três ciclos de congelamento e descongelamento utilizando nitrogênio líquido. O lisado foi centrifugado novamente (10.000 rpm, 10 minutos a 4° C) e o sobrenadante resultante foi utilizado para o ensaio enzimático. Para a realização do ensaio, 25 µL das amostras foram distribuídas em todos os poços de placas com 96 poços (Corning®, EUA). Posteriormente foi adicionado 25µL de substrato TMB 1,6 mM (3,3'-5,5, - tetrametilbenzina diluído em dimetilsulfóxido - DMSO) seguida pela incubação por 5 minutos à 37° C. Depois deste período foi adicionado 100 µL de H₂O₂ a 0,002% e após incubação por 5 minutos à 37° C, a reação foi interrompida pela adição de 100µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄ 1M). A absorbância das

amostras foi determinada por um leitor de microplacas VersaMax® ELISA (Molecular Devices, EUA) em um comprimento de onda de 450nm.

A metodologia foi realizada conforme descrito por Russo *et al.* 2002, Nogueira *et al.* 2016 e Oliveira *et al.* 2019.

5.17. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada no sentido de avaliar os efeitos da obesidade nos parâmetros bioquímicos, metabólicos e histopatológicos, comparando-se o grupo de obesos com os controles não obesos, bem como as diferenças da evolução dos pesos dos grupos com dieta indutora de obesidade comparada com a dieta padrão. A avaliação dos dados dos grupos CTINF4d, OBINF4d, CTINF11d e OBINF11d foi realizada somente para as análises histopatológicas/ morfometria dos grupos tendo como método empregado a análise de teste t seguido pelo pós-teste de Mann Whitney (comparação entre 2 grupos). A avaliação da normalidade foi realizada através do teste de Shapiro-Wilk. Para os dados paramétricos foram empregados teste t de Student (comparação entre 2 grupos) análise de variância (ANOVA) one-way seguida pelo pós-teste de Tukey (comparação entre 3 grupos CTSL x CTCL x CTINF4d ou OBSL x OBCL x OBINF4d) e ainda comparação entre grupos CTINF4d x OBINF4d e CTINF11d x OBINF11d ou ANOVA two-way, seguida pelo pós-teste de Tukey (evolução do peso corporal, teste de TTOG, parâmetros avaliados antes e após a infecção). Para os dados não paramétricos (determinação de HDL, catalase no fígado e no TAR) foi utilizado o teste Mann Whitney (comparação entre 2 grupos) ou Krus Kal-Wallis (comparação entre 3 grupos CTSL x CTCL x CTINF4d ou OBSL x OBCL x OBINF4d) seguido pelo pós-teste de Dunn. Diferença significativa foi considerada quando o valor de p foi $< 0,05$. Para avaliação da expressão de citocinas dos grupos CTSL, CTINF4d, CTINF11d, OBSL, OBINF4d e OBINF11d foi utilizado o teste comparação entre os 3 grupos foi feita por ANOVA one way seguida pelo teste de Tukey. A comparação entre os 2 grupos foi feita por teste t de Student seguido pelo teste de Mann Whitney. Se os dados não deram distribuição normal, foi feita a análise pelo teste de Kruskal Wallis. Para os dados de MPO foi utilizado por múltiplas comparações o teste de Krus Kal-Wallis. Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA).

6. RESULTADOS

6.1. AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL, ADIPOSIDADE E CONSUMO ALIMENTAR

Para a apresentação destes resultados, os animais foram reunidos em dois grupos de acordo com a dieta recebida. Desta forma, foi construída a curva de evolução do peso corporal do conjunto de grupos controles e obesos (Figura 10) do tempo zero até o final do experimento. A partir da 2ª semana de experimento os animais do grupo denominado “Obesos” tiveram peso corporal médio maior que os animais do grupo denominado Controles. A diferença permaneceu em todo o período experimental.

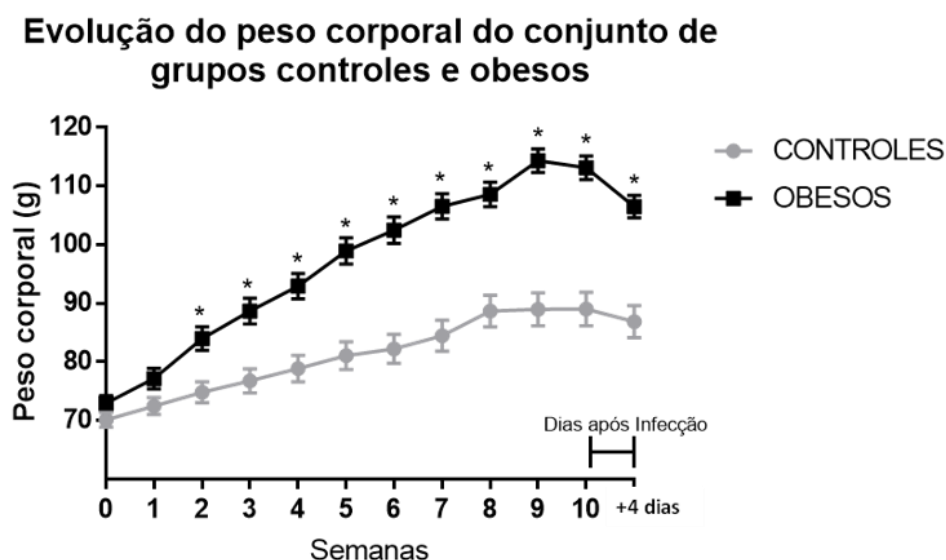


Figura 10: Evolução do peso corporal (g) do conjunto de grupos controles e obesos.

Grupos controles: todos os animais dos grupos CTSL (Controle sem laparotomia), CTCL (Controle com laparotomia) e CTINF4d (Controle infectado 4 dias); Grupos obesos: todos os animais dos grupos OBSL (Obeso sem laparotomia), OBCL (Obeso com laparotomia) e OBINF4d (Obeso Infectado 4 dias). Os valores são médias \pm SEM de 24 animais por grupo. A comparação entre os grupos controles e obesos foi realizada usando-se ANOVA two way com teste post-hoc de Tukey.

*A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Na Figura 11, os mesmos resultados sendo expressos na evolução do peso corporal, dentre os grupos que são: grupos controles CTSL, CTCL, CTINF4d e grupos obesos OBSL, OBCL, OBINF4d. As diferenças começam a surgir a partir da quarta semana de experimento até a décima semana. Após a infecção, os pesos não foram diferentes. Os animais dos grupos OBSL e OBCL tiveram peso maior comparados aos respectivos controles a partir da 5ª semana de experimento e esta diferença permaneceu até o final. Os animais dos grupos OBSL e OBCL tiveram peso maior comparados aos respectivos

controles; os animais do grupo OBINF4d tiveram a evolução de peso com diferença significativa aos animais do grupo CTINF4d até 10ª semana quando os pesos reduziram na semana de infecção e não apresentaram diferença significativa.

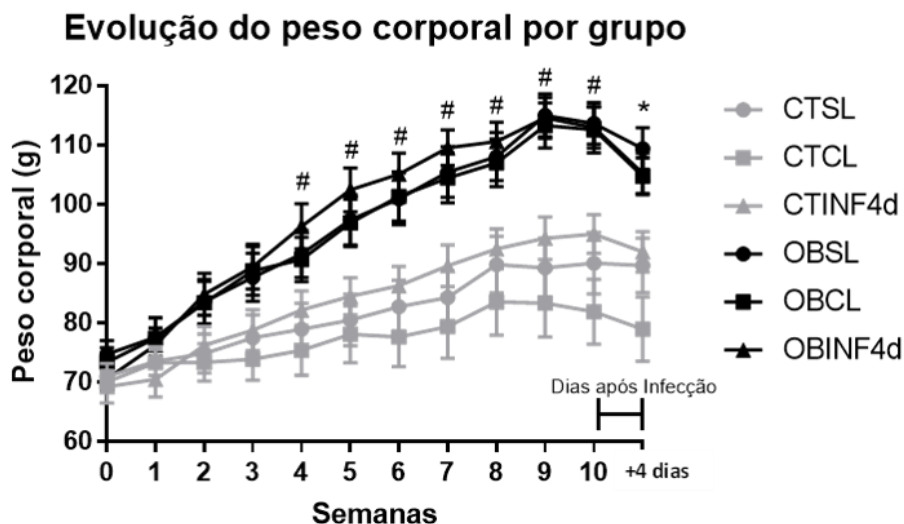


Figura 11: Evolução do peso corporal (g) por grupo experimental.

CTSL: Controle sem laparotomia; CTCL: Controle com laparotomia; CTINF4d: Controle infectado 4 dias; OBSL: Obeso sem laparotomia; OBCL: Obeso com laparotomia; OBINF4d: Obeso Infectado 4 dias. Os valores são apresentados como média \pm SEM de 8 animais por grupo. A comparação entre os grupos foi realizada usando-se ANOVA two way com teste post-hoc de Tukey. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$. # Significativamente diferente para as comparações CTSL versus OBSL, CTCL versus OBCL e CTINF4d versus OBINF4d.

*Significativamente diferente para as comparações CTSL versus OBSL e CTCL versus OBCL após 10 semanas.

Na avaliação da média do consumo alimentar (g/animal), verificou-se que os resultados não foram significativamente diferentes entre o conjunto de grupos, sendo que os animais dos grupos obesos consumiram quantidade de alimento semelhante durante o período experimental em comparação aos animais dos grupos controle (Figura 12).

Consumo alimentar (g/animal) do conjunto de grupos controles e obesos

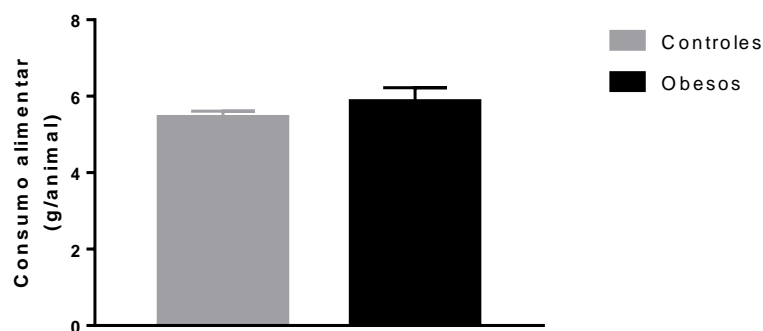


Figura 12: Média da ingestão das dietas (g/animal) dos grupos controles e obesos no período do experimento.

Os valores são médias \pm SEM de 24 animais por grupo. A comparação entre os grupos controles e obesos foi realizada usando-se teste t de Student.

*A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Com relação aos resultados da média do consumo de energia (Kcal/animal) do conjunto de grupos controles e obesos, o valor em kcal desse consumo foi maior nos grupos obesos uma vez que a densidade energética da dieta hiperlipídica é maior que a padrão (Figura 13). Isto justifica o maior ganho de peso no final de 74 dias nos animais dos grupos obesos (OBSL, OBCL E OBINF4d) e 81 dias do grupo OBINF11d.

Consumo de energia (kcal/animal) do conjunto de grupos controles e obesos

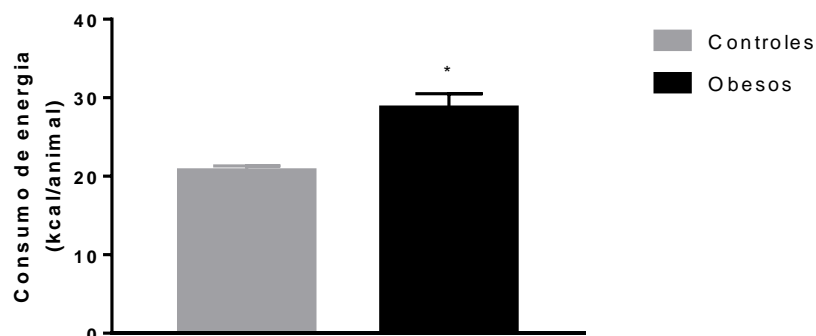


Figura 13: Média do consumo de energia (kcal/animal) dos grupos controle e obesos no período do experimento.

Os valores são médias \pm SEM de 24 animais por grupo. A comparação entre os grupos controles e obesos foi realizada usando-se teste t de Student.

*A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Para efeito de comparação sobre o tempo de infecção associado à lesão hepática (AHA), os grupos CTINF4d e OBINF4d e os grupos CTINF11d e OBINF11d foram analisados. Na Figura 14 (A e B) foram comparadas a evolução de peso destes animais

nos diferentes tempos de infecção considerando:

Figura 14 (A) – 10 semanas + 4 dias de infecção (10+4d);

Figura 14 (B) – 10 semanas + 4, 8 e 11 dias de infecção (10+11d).

Os resultados mostram que o tempo de infecção foi negativamente associado à evolução de peso corporal nos animais obesos, pois a perda de peso nestes animais após 4 dias de infecção (Figura 14A) foi tão expressiva que as curvas de crescimento tendem a se encontrar com o passar do tempo (Figura 14B), isto provavelmente causado pelo AHA.

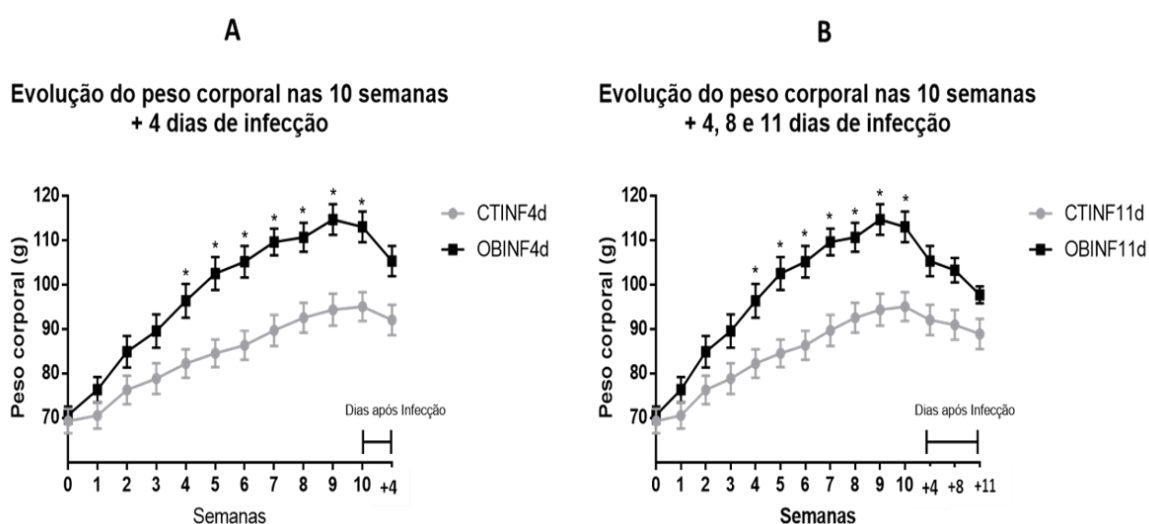


Figura 14: Evolução da média do peso corporal (g) dos grupos controles infectados e obesos infectados em diferentes tempos de infecção.

(A) Comparação de peso entre os grupos CTINF4d e OBINF4d nas 10 semanas e + 4 dias de infecção. (B) comparação de peso entre os grupos CTINF11d e OBINF11d nas 10 semanas e + 4, 8 e 11 dias de infecção. Os valores são médias \pm SEM de 8 animais por grupo. A comparação entre os grupos CTINF4d e OBINF4d; CTINF11d e OBINF11d foram realizadas usando-se ANOVA two way com teste post-hoc de Bonferroni.

*A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

6.2. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO AUMENTO DE TECIDOS ADIPOSOS

Os animais submetidos a indução de obesidade apresentaram diferenças de composição corporal em relação ao ganho de peso. A Figura 15 apresenta a visão macroscópica da quantidade de tecido adiposo entre os grupos. Pode ser verificado que o animal do grupo OBSL apresenta maior quantidade de tecidos adiposos epididimal (TAE) e mesentérico (TAM) em relação ao animal CTSL.

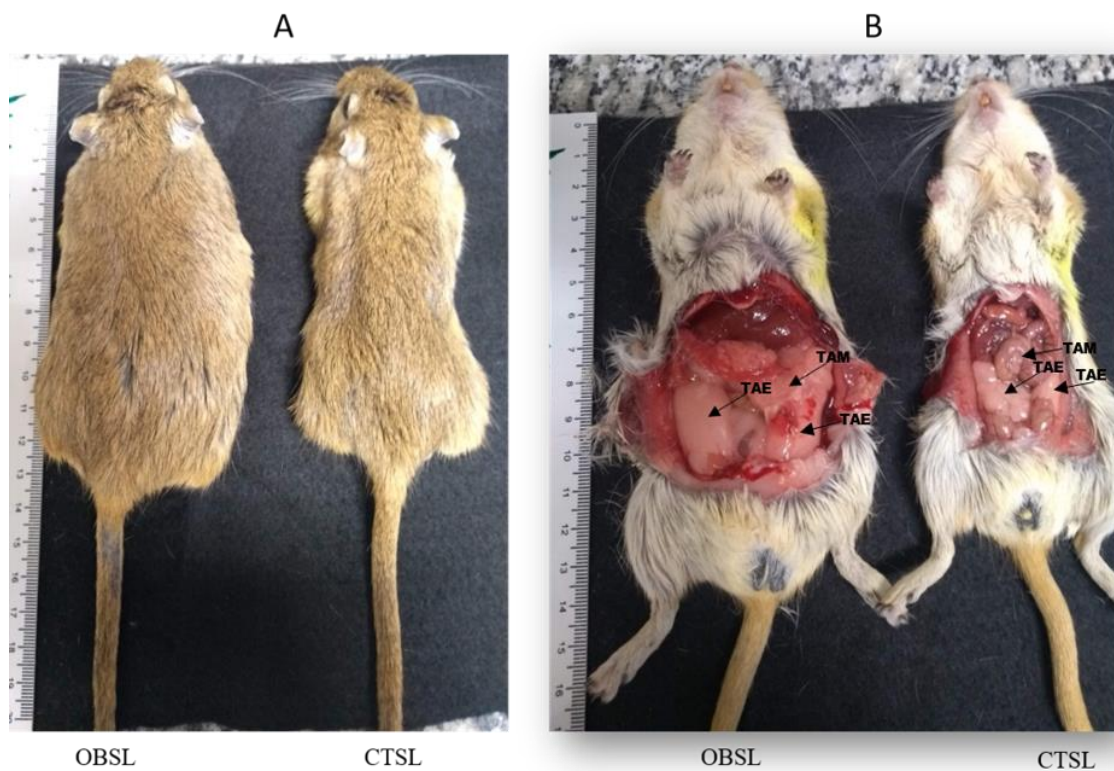


Figura 15: Gerbils (*Meriones unguiculatus*).

(A) – Animais dos grupos OBSL (esquerda) e CTSL (direita). (B) – Animais eutanasiados dos grupos OBSL (esquerda) apresentando detalhe macroscópico de maior quantidade de tecidos adiposos epididimal (TAE) e mesentérico (TAM) (pontas das setas) em relação ao animal CTSL (direita) (pontas das setas).

6.3. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO ABSCESSO HEPÁTICO AMEBIANO

Na Figura 16 estão apresentados animais dos grupos CTINF4d e OBINF4d onde foi observada extenso AHA no animal do grupo CTINF4d (Figura 16A). Nos animais em condição de obesidade e sacrificados após 4 dias de infecção foram observados fígados que não apresentaram o AHA e ainda abscessos menores (Figura 16B e C) respectivamente.

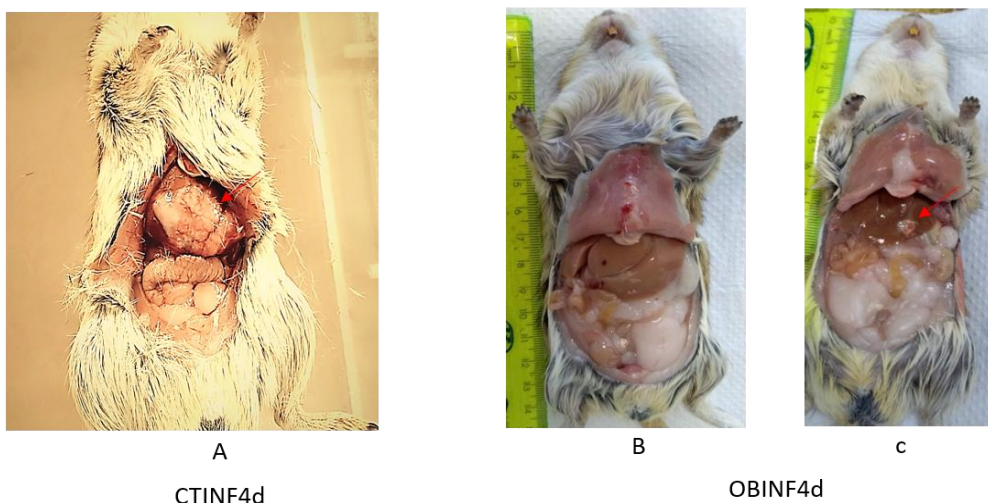


Figura 16: Imagem macroscópica do fígado de gerbils (*Meriones unguiculatus*) após infecção com *E. histolytica*.

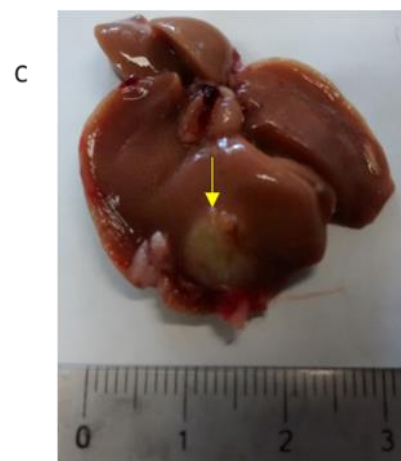
(A) – Animal do grupo CTINF4d com extenso abscesso hepático amebiano (ponta de seta). (B) – Animal do grupo OBINF4d sem abscesso hepático amebiano (C) – Animal do grupo OBINF4d com pequeno abscesso hepático amebiano (ponta de seta).

Na Figura 17 são apresentados os fígados de animais que representam os grupos CTINF4d (33A), CTINF11d (33B), OBINF4d (33C) e OBINF11d (33D). Macroscopicamente foi observada nítida diferença de tamanho dos abscessos hepáticos entre os grupos onde nota-se maior lesão nos animais controles infectados, ou seja, CTINF4d e CTINF11d.

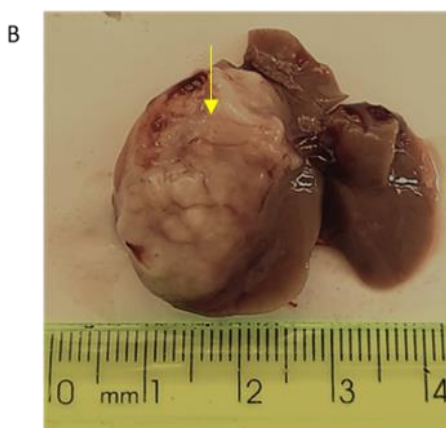
Foi possível notar que animais obesos infectados por 4 dias (OBINF4d) ou 11 dias (OBINF11d) tiveram abscessos hepáticos menores quando comparados aos respectivos controles (CTINF4d e CTINF11d).



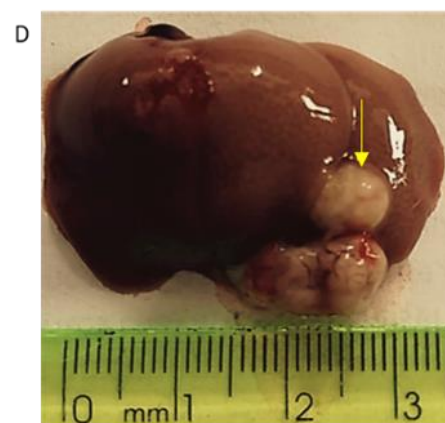
CTINF- 4 dias de infecção



OBINF- 4 dias de infecção



CTINF- 11 dias de infecção



OBINF- 11 dias de infecção

Figura 17: Macroscopia do fígado de gerbils (*Meriones unguiculatus*) após 4 e 11 dias de infecção com a cepa EGG de *E. histolytica*.

A e B – Abscesso hepático amebiano de animais do grupo controle após 4 dias (CTINF4d) e 11 dias (CTINF11d) de infecção, respectivamente. C e D – Abscesso hepático amebiano de animais obesos após 4 dias (OBINF4d) e 11 dias (OBINF11d) de infecção respectivamente. Lesões menores foram macroscopicamente visualizadas nos animais dos grupos OBINF4d e OBINF11d (pontas de seta) em relação às lesões dos grupos CTINF4d e CTINF11d (pontas de setas).

6.4. AVALIAÇÕES REALIZADAS NAS VARIÁVEIS: INGESTÃO DE ALIMENTOS, CONSUMO DE ENERGIA, PESO CORPORAL FINAL, PESOS RELATIVOS DOS TECIDOS ADIPOSOS, FÍGADO, BAÇO E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE.

6.4.1. AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE ALIMENTOS, CONSUMO DE ENERGIA E PESO CORPORAL FINAL

A Tabela 4 apresenta os resultados da ingestão de alimentos (g/animal) e foi observado o consumo menor do grupo de animais CTCL em relação aos grupos CTSL e CTINF4d. No entanto o consumo foi igual entre os grupos obesos, mas o grupo OBCL consumiu

mais alimento que o grupo CTCL. Quando comparado o consumo de energia entre os controles, foi verificado menor consumo pelos animais do grupo CTCL em relação aos grupos CTSL e CTINF4d estando de acordo com o resultado de menor consumo de alimentos. Com relação aos grupos obesos não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Porém, quando comparado o consumo de energia entre os grupos obesos e seus respectivos controles, foi constatado um maior consumo de energia pelos grupos obesos.

Os animais do grupo OBINF4d consumiram mais energia e alimentos que os animais do grupo CTINF4d, porém estes aspectos não interferiram no resultado da análise morfométrica do AHA quando comparados, conforme apresentado mais a frente.

Com relação ao peso corporal final (g) resultou em igualdade entre os grupos controles e entre os grupos obesos sendo que os grupos OBSL e OBCL apresentaram maior peso corporal que os respectivos controles e o grupo OBINF4d teve o peso final semelhante ao CTINF4d, mostrando que a infecção associada à obesidade, reduz o ganho de peso.

6.4.2. AVALIAÇÃO DOS PESOS RELATIVOS DO FÍGADO E BAÇO, DOS TECIDOS ADIPOSOS EPIDIDIMAL, MESENTÉRICO, RETROPERITONEAL E ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

Na Tabela 4 os pesos relativos do fígado (%) do baço (%) não apresentaram alterações entre os grupos.

No entanto o peso relativo do TAE (%) foi igual entre os controles, mas entre os obesos foi menor no OBINF4d. Os grupos OBSL e OBCL tiveram maior peso do TAE que seus controles. Ainda com relação ao peso deste tecido o grupo OBINF4d apresentou semelhança ao grupo CTINF4d, corroborando com o resultado do peso corporal final.

O peso relativo do TAM (%), apresentou-se igual entre os grupos controles e entre os grupos obesos, mas o grupo OBCL teve maior peso do TAM que seu controle (CTCL).

O peso relativo do TAR (%) teve diferença entre os grupos controles, pois o grupo CTCL teve o Peso relativo do TAR menor que o CTSL. Entre os grupos obesos não houve

diferença para a avaliação deste tecido, ou seja, a obesidade não influenciou. Já o grupo OBCL teve maior peso do TAR em relação ao seu controle (CTCL); isto é, equivale ao resultado encontrado para o peso relativo do TAM.

O índice de adiposidade (%) não repetiu o resultado encontrado para peso corporal final, pois foi igual entre os grupos controles e entre os grupos obesos. Os grupos OBSL e OBCL apresentaram maior adiposidade que os respectivos controles, porém o grupo OBINF4d teve adiposidade semelhante ao grupo CTINF4d, mostrando que a infecção associada à obesidade, reduz o ganho de peso, contudo não pode ser explicado pelo aumento de adiposidade.

Tabela 4: Ingestão de alimentos e energia, peso corporal, peso do baço, peso de tecidos adiposos (TAE, TAM e TAR) e índice de adiposidade de animais alimentados com diferentes dietas – Grupos 10 semanas e 4 dias.

Variáveis	CTSL	CTCL	CTINF4d	OBSL	OBCL	OBINF4d
Ingestão de alimentos (g/animal)	5.99 ± 0.28	5.03 ± 0.280*	6.17 ± 0.41	6.80 ± 0.52	6,78 ± 0.60#	7.50 ± 0.58
Consumo de energia (kcal/animal)	22.75 ± 1.07	19.12 ± 1.07*	21.61 ± 2.34	33.33 ± 2.55#	30.83 ± 3.61#	33.91 ± 3.83#
Peso corporal final (g)	73.58 ± 2.43	78.96 ± 5.42	88.76 ± 4.35	109.4 ± 3.52#	104.8 ± 3.12#	94.13 ± 6.02
Peso relativo do fígado (%)	3.18 ± 0.21	3.36 ± 0.14	3.25 ± 0.17	3.41 ± 0.14	3.25 ± 0.06	3.84 ± 0.34
Peso relativo do baço (%)	0.11 ± 0.00	0.12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0.13 ± 0.00	0.13 ± 0.02	0.18 ± 0.03
Peso relativo do TAE (%)	2.27 ± 0.28	1.81 ± 0.34	2.45 ± 0.14	3.43 ± 0.07#	3.39 ± 0.08#	2.88 ± 0.20**
Peso relativo do TAM (%)	0.87 ± 0.22	0.79 ± 0.18	1.18 ± 0.33	1.07 ± 0.18	0.91 ± 0.07#	1.09 ± 0.19
Peso relativo do TAR (%)	1.40 ± 0.10*	0.82 ± 0.13*	1.16 ± 0.16	1.42 ± 0.12	1.50 ± 0.07#	1.38 ± 0.06
Índice de adiposidade (%)	3.95 ± 0.40	3.30 ± 0.56	4.58 ± 0.61	5.76 ± 0.36#	5.66 ± 0.20#	5.36 ± 0.33

Nota:

Significativamente diferente, CTSL versus OBSL; CTCL versus OBCL e CTINF4d versus OBINF4d, pelo teste t de Student.

* Significativamente diferente, CTSL versus CTCL versus CTINF4d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey.

** Significativamente diferente, OBSL versus OBCL versus OBINF4d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey.

Peso relativo, peso do órgão/peso corporal final * 100.

Índice de adiposidade, soma das quantidades de gordura epididimal, mesentérica e peritoneal, dividida pelo peso corporal (TAE +TAM +TAR)

*100/Peso corporal;

Os valores estão expressos como média ± S.E.M de oito animais por grupo (p<0.05).

6.5. PERFIL BIOQUÍMICO

Na Tabela 5 são apresentadas as dosagens bioquímicas do colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeo, glicemia, proteínas totais, e albumina dos animais dos grupos experimentais. O momento da coleta de sangue para avaliação ocorreu na 10^a semana após 4 dias de infecção.

As dosagens de colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeo apresentaram diferenças significativas com predomínio de maiores dosagens de colesterol total e triglicerídeos nos grupos obesos e maiores dosagens de colesterol HDL aos grupos controle. As dosagens de proteínas totais e glicemia apresentaram diferenças significativas sendo maiores dosagens predominantemente nos animais dos grupos obesos.

A laparotomia e a infecção aumentaram os níveis de colesterol total tanto nos animais dos grupos controles como nos animais obesos. Além disso, os animais de todos os grupos obesos tiveram maior colesterol que os respectivos controles.

Os níveis de colesterol transportado em HDL foram iguais entre os grupos controles, porém entre os grupos obesos, a infecção levou à redução de HDL circulante (OBINF4d x OBSL). A infecção associada à obesidade levou à redução significativa deste parâmetro, demonstrado ao se comparar o grupo OBINF4d com o grupo CTINF4d. Os valores de triglicerídeos séricos e de glicemia foram iguais entre os grupos controles e entre os grupos obesos, mas todos os grupos obesos tiveram maiores níveis que os respectivos controles.

Entre os valores de proteínas totais dos grupos controles verificou-se que o grupo CTINF4d apresentou maiores níveis que o grupo CTCL. Porém a infecção associada a laparotomia dos grupos reduziu os níveis de proteínas totais. Entre os grupos obesos, o grupo OBINF4d apresentou menores níveis de proteínas totais que os grupos OBSL e OBCL. A Infecção reduziu este parâmetro nos obesos, sendo que os valores foram semelhantes aos encontrados no grupo CTSL e CTINF4D. Os níveis de albumina foram iguais entre os grupos controles. Entre os obesos, verificou-se que a laparotomia e a infecção reduziram os níveis de albumina circulante. Os grupos OBSL e OBCL apresentaram maiores níveis de albumina que os respectivos controles. Os valores não foram significativamente diferentes entre OBINF4d e CTINF4d.

Tabela 5: Parâmetros metabólicos determinados após 4 dias de infecção em gerbils alimentados com dieta padrão ou hiperlipídica.

Variáveis	CTSL	CTCL	CTINF4d	OBSL	OBCL	OBINF4d
Colesterol total (mg/dL)	76,36 ± 5,59*	102 ± 5,72	112,4 ± 4,59	103,2 ± 2,7#**	166,6 ± 11,19#	171,9 ± 16,79#
Col HDL (mg/dL)	43,91 ± 3,34	52,97 (40,09 – 100)	46,99 ± 2,05	39,58 ± 3,0#**	33,24 ± 1,42#	31,74 ± 1,18#**
Triglicérides (mg/dL)	152,1 ± 7,83	168,6 ± 11,27	185,2 ± 10,92	362,2 ± 29,21#	412,5 ± 24,63#	365,8 ± 64,6#
Glicose (mg/dL)	102,6 ± 4,54	89,89 ± 7,39	97,5 ± 3,13	137 ± 7,18#	139,4 ± 18,69#	164,7 ± 22,7#
Proteínas totais (mg/dL)	7,81 ± 0,46	6,97 ± 0,08*	8,51 ± 0,44*	11,7 ± 0,71#	10,69 ± 0,94#	7,81 ± 0,47**
Albumina (mg/dL)	3,13 ± 0,31	2,77 ± 0,13	2,98 ± 0,15	4,96 ± 0,37#**	3,45 ± 0,09#	3,47 ± 0,33

Nota:

#Significativamente diferente, CTSL versus OBSL; CTCL versus OBCL e CTINF4d versus OBINF4d, pelo teste t de Student ou Mann Whitney.

* Significativamente diferente, CTSL versus CTCL versus CTINF4d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey ou Kruskal Wallis seguido pelo teste de Dunn.

** Significativamente diferente, OBSL versus OBCL versus OBINF4d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey.

Os valores estão expressos como média ± S.E.M ou mediana de oito animais por grupo (p<0.05).

6.5.1. AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO FÍGADO E TECIDOS ADIPOSOS – TBARS

Os resultados da avaliação dos níveis de peroxidação lipídica pela dosagem de TBARS, realizada nos grupos controles e obesos, no tecido hepático e nos tecidos adiposos epididimal, mesentérico e retroperitoneal (TAE, TAM e TAR) estão apresentados na Figura 18.

No fígado não houve diferença entre os grupos controle, porém o grupo OBINF4d teve maiores níveis de TBARS quando comparado com o grupo OBSL e com o grupo CTINF4d ($p < 0,05$).

No entanto, em todas as comparações dos níveis de TBARS nos tecidos adiposos entre os grupos verificamos que houve diferenças significativas, sendo interessante relatar que todos os tecidos adiposos dos animais do grupo OBSL tiveram níveis reduzidos em relação ao respectivo grupo controle (CTSL).

No TAE verificou-se que os níveis de TBARS foram maiores nos grupos CTINF4d e OBCL quando comparados com o grupo CTCL ($p < 0,05$) e no grupo OBINF4d quando comparado com o grupo OBSL ($p < 0,05$).

No TAM não houve diferença entre os grupos controles e nem entre os obesos, porém o grupo OBCL teve menores níveis de TBARS comparado com o grupo CTCL ($p < 0,05$).

No TAR não houve diferença entre os grupos de obesos, porém verificou-se que a infecção reduziu níveis de TBARS nos animais alimentados com dieta padrão (CTINF4d x CTSL). Do mesmo modo, a obesidade também reduziu os níveis de TBARS nos animais laparotomizados, quando comparados com os respectivos controles (OBCL x CTCL).

Coletivamente os dados dos tecidos adiposos demonstram que a oxidação lípica ocorreu mais acentuadamente nos grupos controles. Com exceção da oxidação lípica no fígado que foi maior no grupo OBINF4.

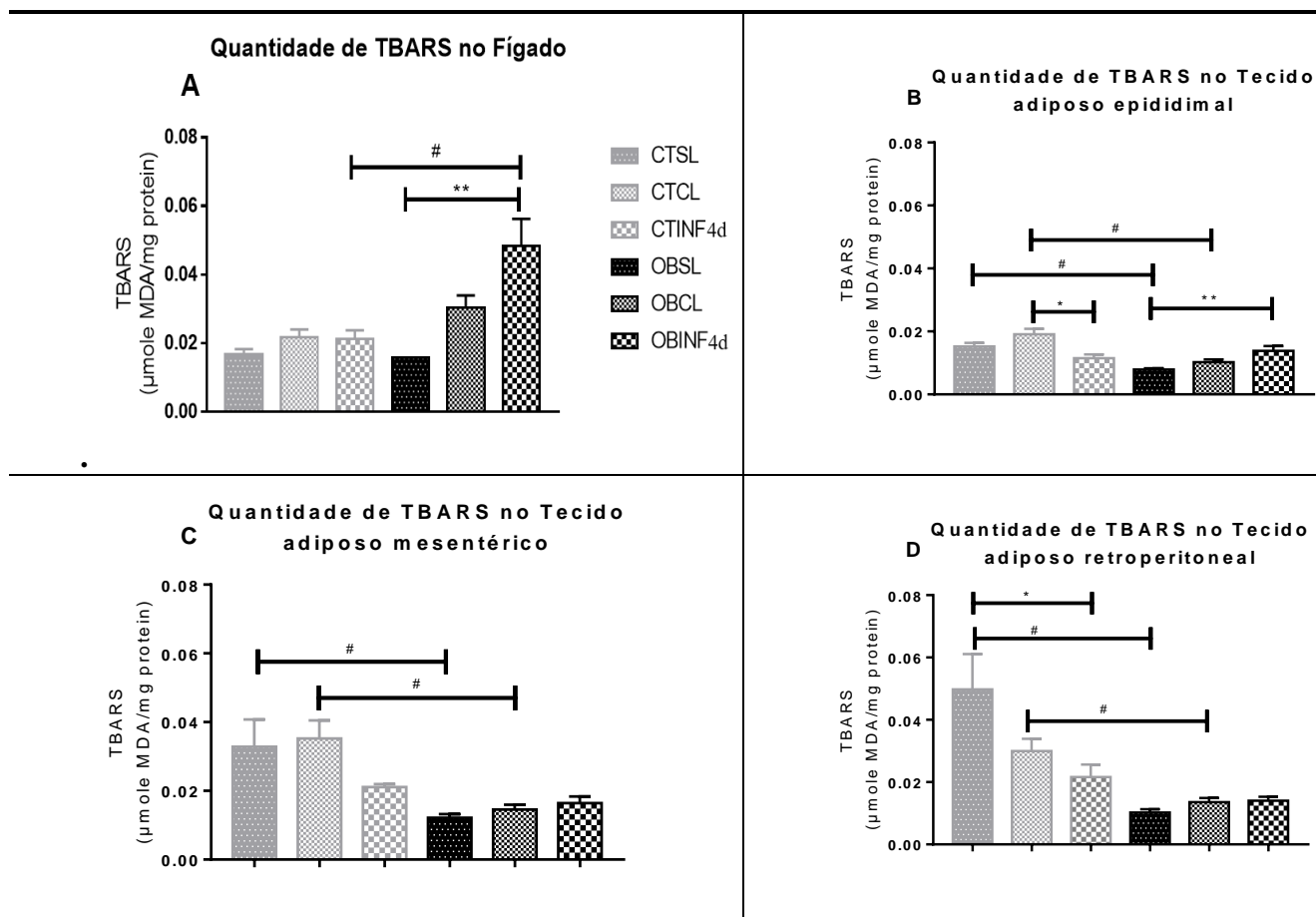


Figura 18: (A) Quantificação de TBARS no fígado, (B) no tecido adiposo epididimal, (C) no tecido adiposo mesentérico e (D) no tecido adiposo retroperitoneal.

Os valores são médias \pm SEM de 8 animais por grupo. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Significativamente diferente, CTSL versus OBSL; CTCL versus OBCL e CTINF4d versus OBINF4d, pelo teste t de Student.

* Significativamente diferente, CTSL versus CTCL versus CTINF4d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey.

** Significativamente diferente, OBSL versus OBCL versus OBINF4d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey.

6.5.2. AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO FÍGADO E TECIDOS ADIPOSOS - CATALASE

Os resultados da avaliação da atividade da enzima catalase estão apresentados na Figura 19. No fígado não houve diferença entre os grupos controles e entre os obesos, mas os grupos OBSL e OBINF4d tiveram maiores níveis de atividade de catalase ($p < 0,05$) comparados com os respectivos controles (CTSL e CTINF4d).

No TAE, entre os controles, o grupo CTINF4d teve menores níveis de atividade de catalase comparado com o grupo CTSL e com o grupo CTCL ($p < 0,05$); entre os obesos, o grupo OBCL teve maiores níveis de atividade de catalase comparado com os grupos

OBSL CTSL; corroborando os resultados encontrados no fígado, o grupo OBINF4d teve maiores níveis de atividade de catalase comparado com o grupo CTINF4d.

Nos resultados do TAM foi verificado que entre os controles, o grupo CTINF4d teve maiores níveis de atividade de catalase comparado com o grupo CTSL; não houve diferença entre os grupos obesos; os grupos OBCL e OBINF4d tiveram menores níveis de atividade de catalase comparados com os respectivos controles.

No TAR não houve diferença entre os grupos controles e entre os obesos, porém foi possível verificar que a obesidade reduziu a atividade de catalase, independente da laparotomia ou infecção, quando comparados os grupos obesos com os respectivos controles.

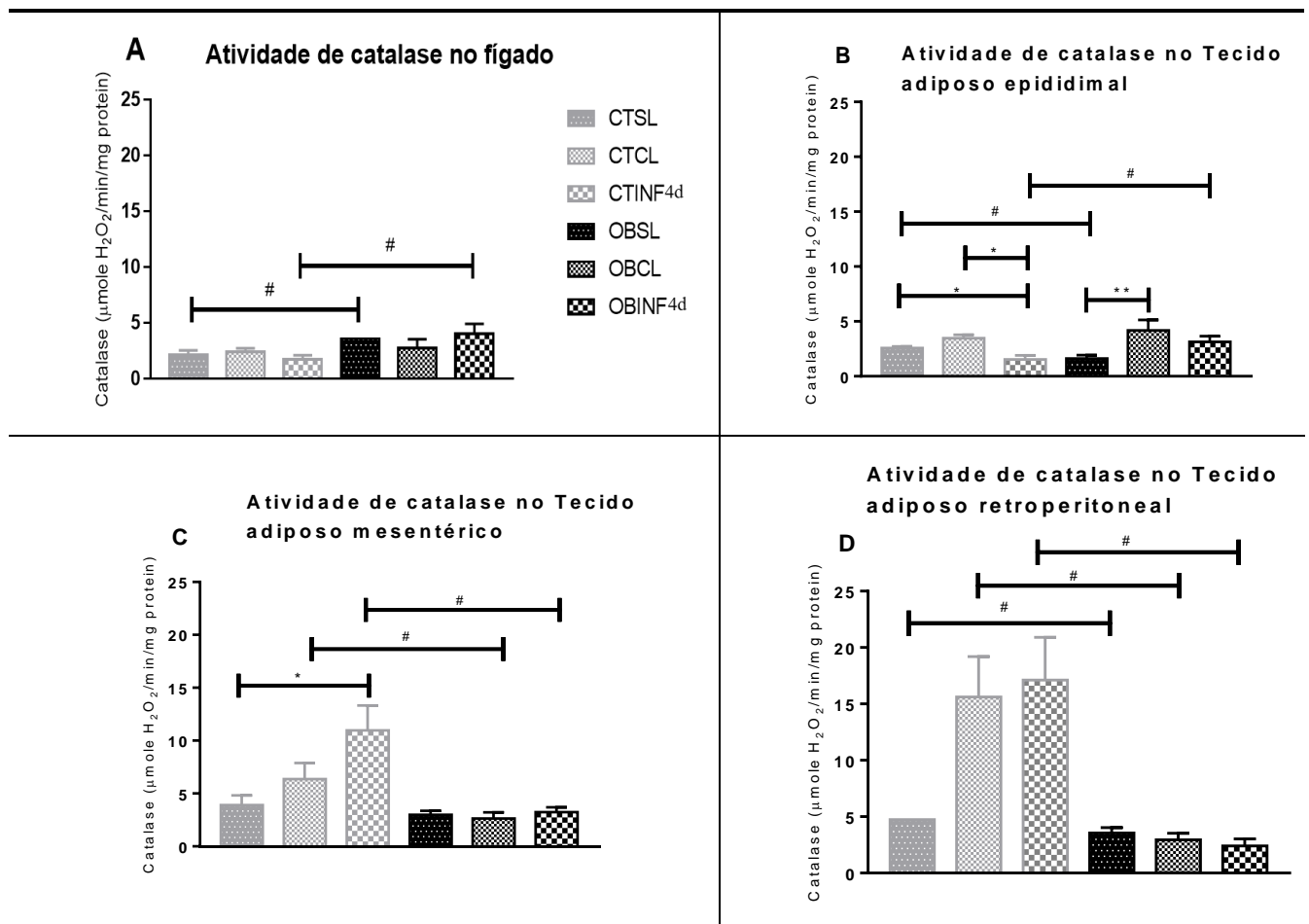


Figura 19: (A) Níveis médios de atividade de catalase no fígado, (B) no tecido adiposo epididimal, (C) no tecido adiposo mesentérico e (D) no tecido adiposo retroperitoneal.

Os valores são médias \pm SEM ou medianas de 8 animais por grupo. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Significativamente diferente, CTSL versus OBSL; CTCL versus OBCL e CTINF versus OBINF, pelo teste t de Student ou Mann Whitney.

* Significativamente diferente, CTSL versus CTCL versus CTINF, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey ou teste Kruskal Wallis seguido pelo teste post hoc de Dunn.

** Significativamente diferente, OBSL versus OBCL versus OBINF, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey ou teste Kruskal Wallis seguido pelo teste post hoc de Dunn.

6.6. DOSAGENS SANGUÍNEAS

6.6.1. AVALIAÇÃO GLICÊMICA POR TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE ORAL

A Figura 20 apresenta os resultados do Teste de tolerância à glicose (TTGO) nos tempos zero (0), 15, 30, 60, 90 e 120 min. nos momentos antes e depois da infecção dos grupos controles e obesos. Foi verificado que há diferenças significativas em todos os tempos analisados entre os grupos e, portanto, maior taxa glicêmica nos grupos obesos em relação aos controles tanto antes quanto depois da infecção, isto é, todos os animais dos

grupos obesos apresentam maior resistência insulínica.

Nos resultados obtidos do TTGO antes da infecção demonstra que entre os grupos controles, o grupo CTCL teve menor glicemia do que os outros 2 grupos somente no tempo 15 min. Entre os grupos obesos os resultados foram semelhantes. Durante todo o teste, o grupo OBCL ($p < 0,05$) teve maior glicemia que o grupo CTCL; A partir do tempo de 30 min., todos os grupos obesos tiveram maiores glicemias que os respectivos grupos controles.

Foi verificado que nos resultados obtidos do TTGO depois da infecção que entre os grupos controles, o grupo CTCL ($p < 0,05$) teve menor glicemia do que os outros 2 grupos somente no tempo 15 min. Entre os grupos obesos, o grupo OBINF4d ($p < 0,05$) teve maior glicemia do que OBSL no tempo 120 min. Durante todo o tempo, o grupo OBINF4d ($p < 0,05$) apresentou maior glicemia que o grupo CTINF4d; a partir de 15 minutos, o grupo OBCL ($p < 0,05$) apresentou maior glicemia que o grupo CTCL; nos tempos 30 a 90 min., o grupo OBSL ($p < 0,05$) apresentou maior glicemia que o grupo CTSL, mas esta diferença não foi encontrada no tempo 120 min.

Estas análises verificadas em área sob a curva mostraram que não houve diferença entre os controles e nem entre os obesos, porém, todos os grupos obesos tiveram maiores glicemias que seus respectivos controles.

Com os resultados pode ser afirmado que a obesidade induziu aumento da resistência insulínica. De fato, a obesidade aumentou resistência insulínica, mas a infecção amebiana não teve a mesma inferência.

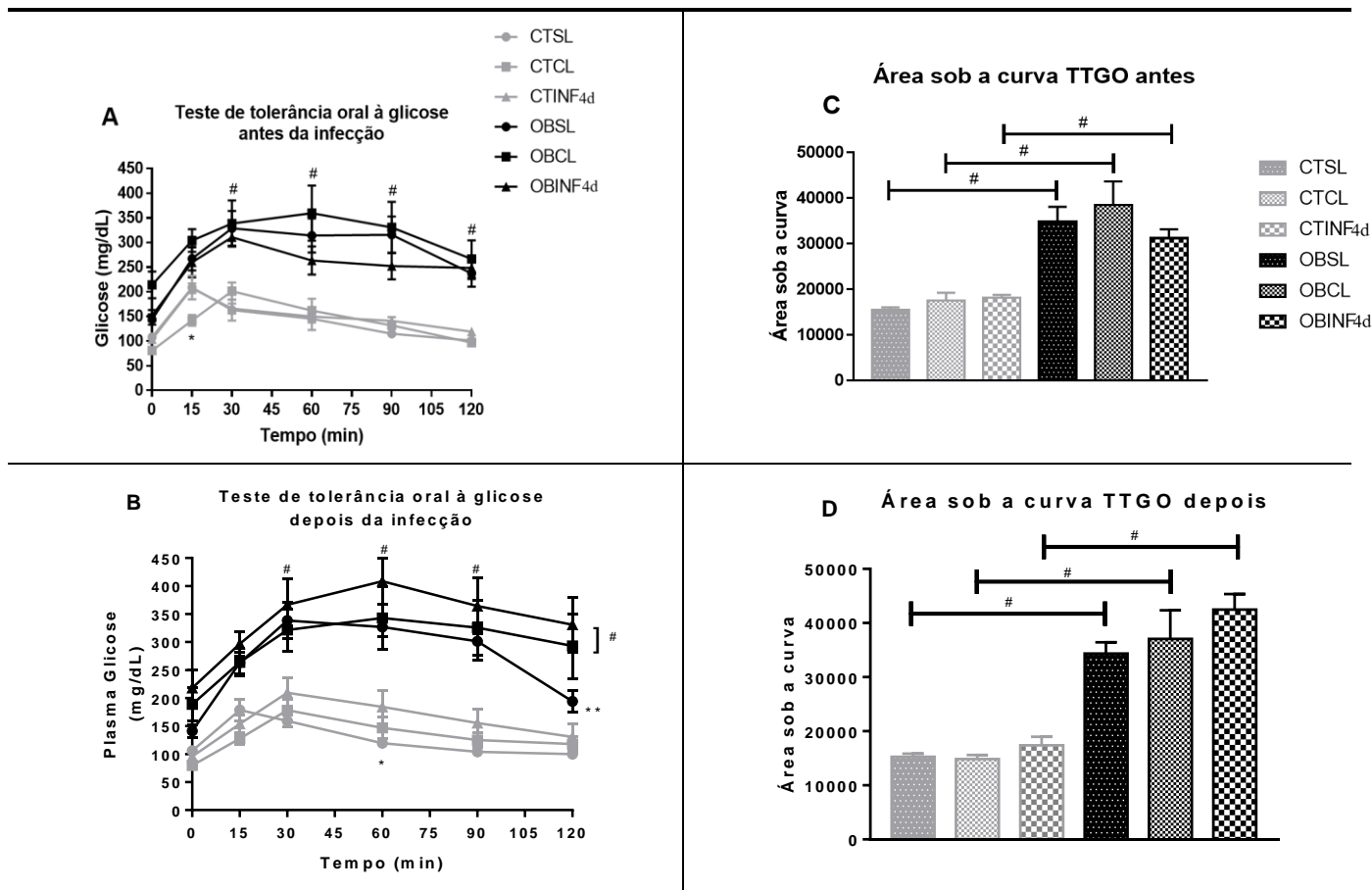


Figura 20: Teste de tolerância à glicose oral antes (A) e depois (B) da infecção; área sob a curva (AUC) do teste de tolerância glicose oral antes (C) e depois (D) da infecção.

Os valores são médias \pm SEM de 8 animais por grupo. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Significativamente diferente, CTSL versus OBSL; CTCL versus OBCL e CTINF4d versus OBINF4d, pelo teste t de Student.

* Significativamente diferente, CTSL versus CTCL versus CTINF4d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey. Antes da infecção, no tempo 15 minutos, o grupo CTCL teve menor glicose que os grupos CTSL e CTINF4d. Depois da infecção, no tempo 60 minutos, houve o grupo CTINF4d teve maior nível de glicose comparado ao grupo CTSL.

** Significativamente diferente, OBSL versus OBCL versus OBINF4d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey.

6.7. HISTOPATOLOGIA

Após 4 (quatro) dias de infecção foi realizado a eutanásia, posteriormente foi coletado o fígado dos gerbils dos grupos CTINF4d e OBINF4d e realizado análise macroscópica. Dos 8 (oito) gerbils do grupo CTINF4d, 5 (cinco) apresentaram AHA e, dos 8 (oito) do grupo OBINF4d, 4 (quatro) apresentaram o AHA. A lesão encontrada no lobo direito do fígado, apresentava-se de coloração esbranquiçada e de aspecto granuloso, apresentando também aderências com tecidos adjacentes, como o peritônio. O desenvolvimento de maiores áreas de necrose foi confirmado pela análise microscópica, nos animais do grupo CTINF4d quando comparados respectivamente com os animais do grupo OBINF4d.

Além das áreas de necrose liquefativa hepática, o infiltrado inflamatório também foi mais intenso no grupo CTINF4d quando comparado com o grupo OBINF4d, enquanto o parênquima hepático degenerado foi mais intenso no grupo OBINF4d (Figura 21).

Após 11 (onze) dias de infecção o fígado dos gerbils dos grupos CTINF11d e OBINF11d foram coletados e avaliados macroscopicamente. Todos os 8 (oito) gerbils infectados do grupo CTINF11d apresentaram AHA e todos os 8 (oito) gerbils do grupo OBINF11d também apresentaram o AHA. Todas as observações histopatológicas foram semelhantes às dos grupos de animais com 4 dias de infecção e confirmando que mesmo com maior tempo de infecção os animais do grupo CTINF11d apresentaram maiores áreas de necrose bem como infiltrado inflamatório mais intenso comparado com o grupo OBINF11d e parênquima hepático degenerado foi mais intenso no grupo OBINF4d (Figura 22).

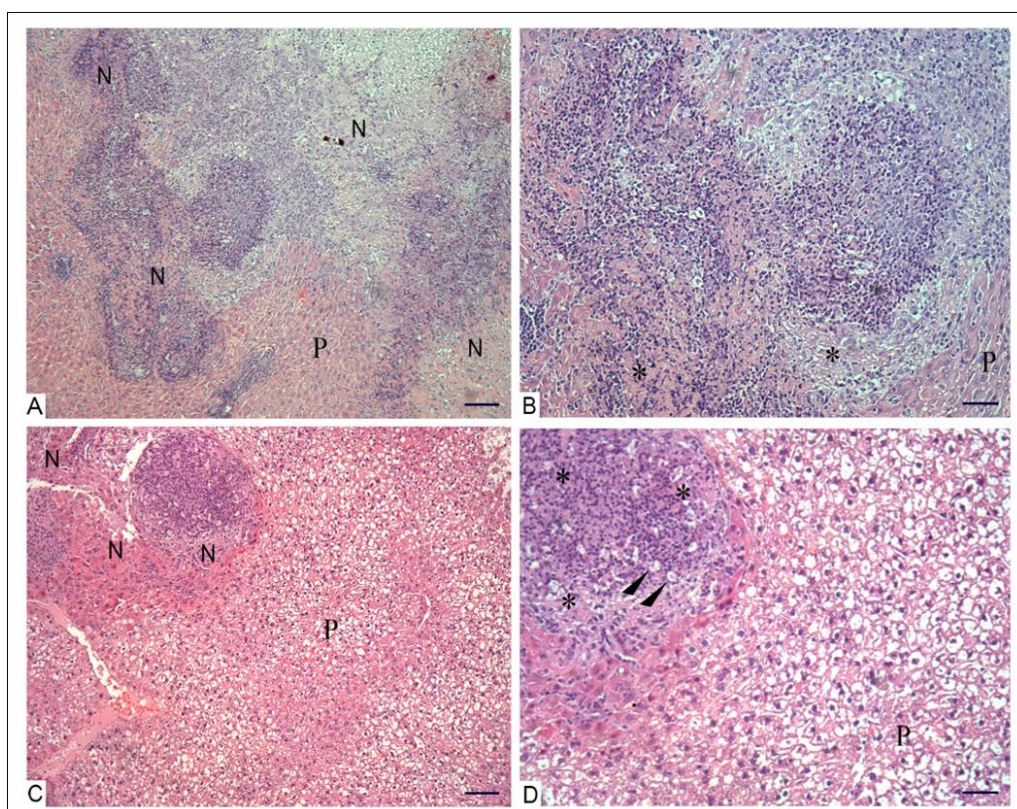


Figura 21: Fotomicrografia do parênquima hepático de gerbils (*Meriones unguiculatus*) sacrificados após 4 dias de infecção com *Entamoeba histolytica*.

(A) Controle infectado 4 dias (CTINF4d) – Amplas zonas de necrose liquefativa (N); parênquima hepático não necrosado (P), barra = 100 μ m. (B) Detalhe da imagem anterior mostrando a presença de grande quantidade de debris celulares (*); parênquima hepático não necrosado (P), barra = 50 μ m. (C) Obeso infectado 4 dias (OBINF4d) - Pequenas zonas de necrose (N); parênquima hepático degenerado (P), barra = 100 μ m. (D) Detalhe da imagem anterior mostrando zona de necrose constituída de debris celulares (*) e trofozoítos (cabeças de seta); parênquima hepático degenerado (P), barra = 50 μ m. Coloração Hematoxilina & Eosina.

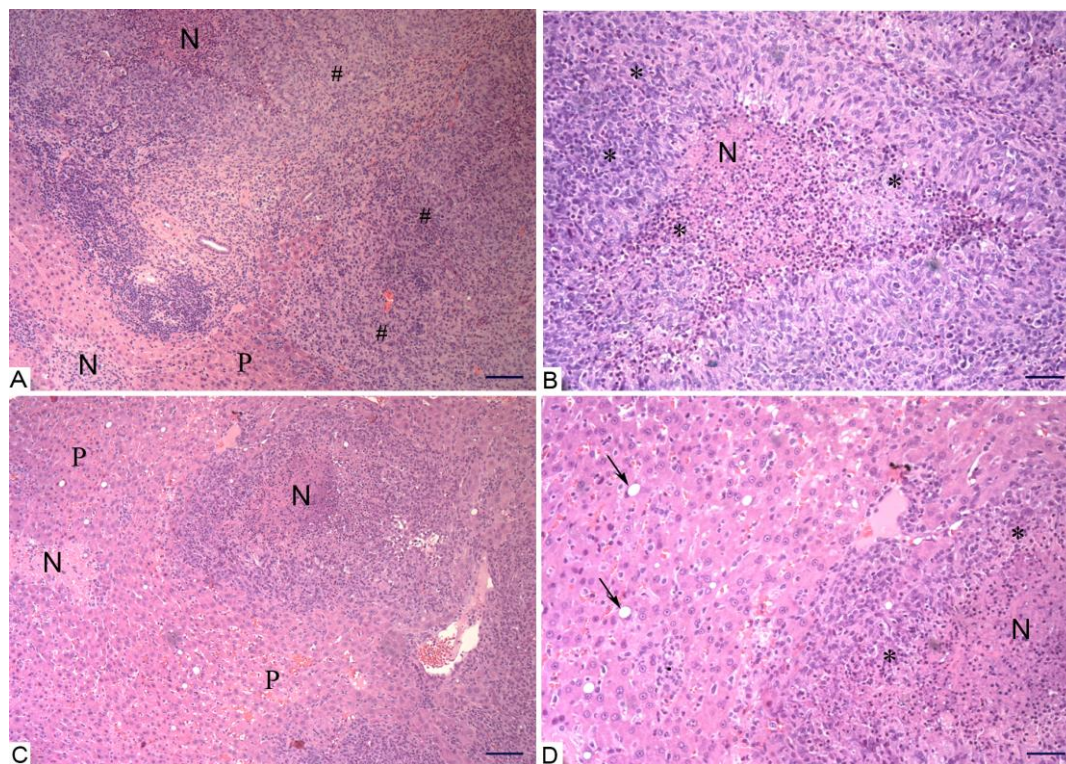


Figura 22: Fotomicrografia do parênquima hepático de gerbils (*Meriones unguiculatus*) eutanasiados após 11 dias de infecção com *Entamoeba histolytica*.

(A) Controle infectado 11dias (CTINF11d): zonas de necrose liquefativa (N) e amplas áreas de perda de parênquima hepático (#); parênquima hepático não necrosado (P), barra = 100 μ m. (B) Detalhe da imagem anterior mostrando debris celulares permeada por infiltrado inflamatório (*), barra = 50 μ m. (C) Obeso infectado 11dias (OBINF11d): pequenas zonas de necrose liquefativa (N); parênquima hepático degenerado (P), barra = 100 μ m. (D) Detalhe da imagem anterior mostrando zona de necrose (N) e debris celulares permeada por infiltrado inflamatório (*); esteatose hepática (setas), barra = 50 μ m. Hematoxilina & Eosina.

6.8. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO ABSCESSO HEPÁTICO AMEBIANO

Os resultados morfométricos do AHA apresentados na Figura 23 demonstram que houve diferença estatística entre os grupos OBINF11d e CTINF11d. As lesões foram menores nos animais dos grupos OBINF11d em relação aos animais dos grupos CTINF11d. Isto demonstra que os animais OBINF11d apresentaram menores lesões com maior tempo de infecção. Contudo, quando avaliado o grupo CTINF4d em relação ao OBINF4d, não houve diferença estatística morfométrica das lesões.

Portanto, as análises morfométricas demonstraram que o abscesso hepático foi menor nos gerbils do grupo OBINF11d ($3,05 \times 10^6 \pm 1462243\mu\text{m}^2$) em relação aos animais do grupo CTINF11d ($1,6 \times 10^7 \pm 2793320\mu\text{m}^2$) considerando, $p < 0,05$. Os grupos com menor tempo de infecção, não apresentaram diferenças significativas, sendo OBINF4d ($3,77 \times 10^6 \pm 1933139\mu\text{m}^2$) e CTINF4d ($1,48 \times 10^7 \pm 5293006\mu\text{m}^2$) considerando, $p < 0,05$.

As lesões foram encontradas com maior frequência nos animais CTINF4d (100%) e CTINF11d (100%) em relação aos animais dos grupos obesos OBINF4d (62,5%) e em relação ao grupo OBINF11d (100%) apresentou a mesma frequência.

Visivelmente os animais dos grupos obesos com 4 e 11 dias de infecção (OBINF4d e OBINF11d) apresentaram menores áreas de necrose, no entanto tecnicamente somente os animais do grupo OBINF11d apresentaram menores lesões em relação ao grupo CTINF11d.

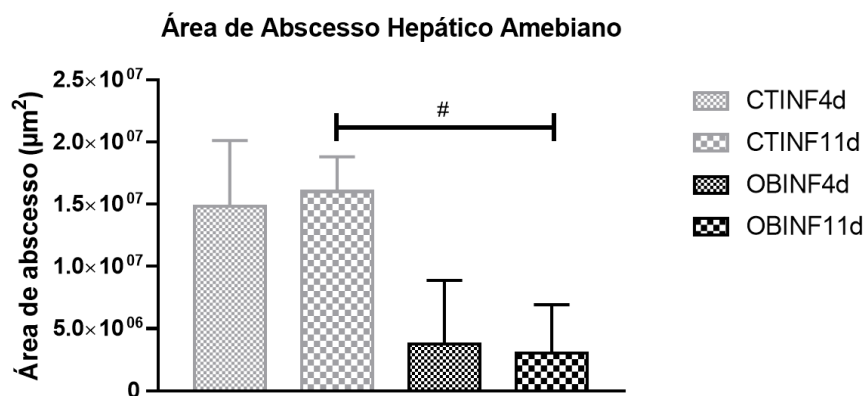


Figura 23: Área de necrose hepática produzida pela *E. histolytica* - cepa EGG nos animais dos grupos controle infectado 4 dias e 11 dias (CTINF4d e CTINF11d) e obeso infectado 4 dias e 11 dias (OBINF4d e OBINF11d).

Os valores são médias ou medianas de 8 animais por grupo. As comparações entre os grupos foram feitas usando-se o teste t de Student ou Mann-Whitney.

#A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

6.9. ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA DOS TROFOZOÍTOS IMUNOMARCADOS POR REAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

A reação imuno-histoquímica anti-trofozoítos foi realizada nos cortes histológicos do fígado dos gerbils dos grupos CTINF4d e OBINF4d que desenvolveram o AHA (Figura 24).

Trofozoítos imunomarcados foram encontrados em 5 (cinco) gerbils do grupo CTINF4d (n=8) e em 2 (dois) dos 4 (quatro) gerbils do grupo OBINF4d (n=8). Por observação microscópica, os trofozoítos marcados por reação de imuno-histoquímica estavam em maior número nos animais do grupo controle infectado (Figura 24A) em relação aos animais do grupo obeso infectado (Figura 24B). Nos cortes histológicos onde o anticorpo primário foi substituído por PBS não observamos reação positiva nos trofozoítos de *E. histolytica* (dado não mostrado).

A avaliação por teste t de student de trofozoítos marcados pela imuno-histoquímica entre os animais dos grupos CTINF4d e OBINF4d, revelou que não ocorreu diferença significativa entre os grupos (Figura 25).

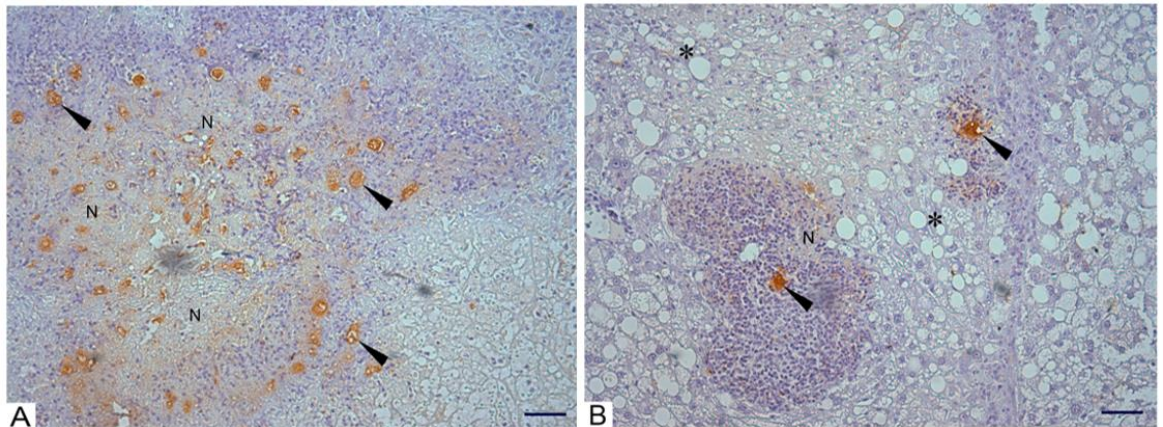


Figura 24: Fotomicrografia de imuno-histoquímica para trofozoítos de *Entamoeba histolytica*.

(A) Controle infectado 4 dias (CTINF4d) – Grande número de trofozoítos imunomarcados (cabeças de seta) em meio a ampla zona de necrose (N). (B) Obeso infectado 4 dias (OBINF4d) – Trofozoítos imunomarcados (cabeças de seta) junto a pequenas zonas de necrose (N). Parênquima hepático com esteatose (*). Contra-coloração com Hematoxilina de Harris. Barra = 50 μ m.

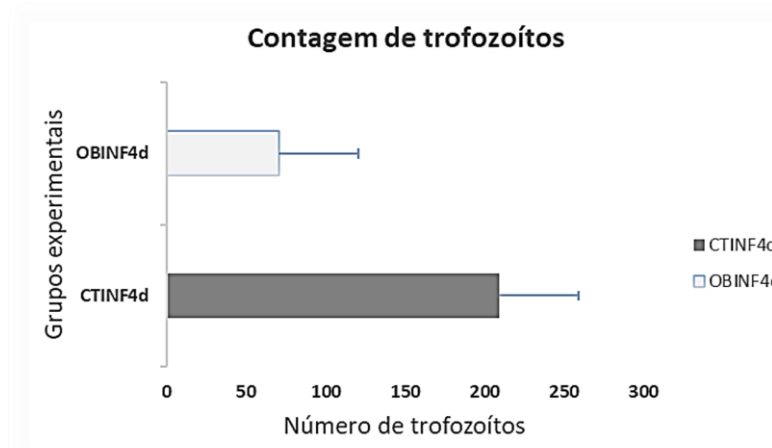


Figura 25: Análise quantitativa de trofozoítos por imuno-histoquímica nos animais dos grupos CTINF4d e OBINF4d.

Os valores são médias \pm SEM de 8 animais no grupo CTINF4d e 8 animais no grupo OBINF4d. A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste t de Student. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

6.10. EXPRESSÃO GÊNICA DE mRNA DE CITOCINAS

Os resultados da expressão de *Il6*, *Tgfb β 1* e *Tnf* no fígado dos animais dos grupos CTSL, CTINF4d, CTINF11D, OBSL, OBINF4d, e OBIN11d estão apresentados na Figura 26. A expressão de *Il6* no fígado dos animais dos grupos CTINF4d e 11d foram menores do que seu controle sem laparotomia e o mesmos resultados nos grupos obesos

infectados 4d e 11d em relação ao grupo de animais obeso sem laparotomia. No entanto, a expressão de *Il6* nos animais do grupo OBINF4d, foi significativamente maior em relação ao grupo CTINF4d (Figura 26-A). Quando analisada a expressão da citocina *Tgfb1* foram observadas ínfimas e/ou menores expressões dos animais do grupo obesos infectados 4d e 11d em relação aos animais obesos sem laparotomia. Os mesmos resultados foram observados nos animais OBINF4d em relação aos animais CTINF4d e também entre o grupo de animais OBINF11d em relação aos animais do grupo CTINF11d (Figura 26-B). Com relação a expressão de *Tnf* foi observado que os animais do grupo CTINF4d apresentaram menor expressão em relação ao seu controle sem laparotomia, sendo o mesmo resultado quando comparado com os animais controle com laparotomia. Contudo, a expressão desta citocina nos animais OBINF11d apresentou-se significativamente maior em relação aos animais do grupo CTINF11d (Figura 26-C).

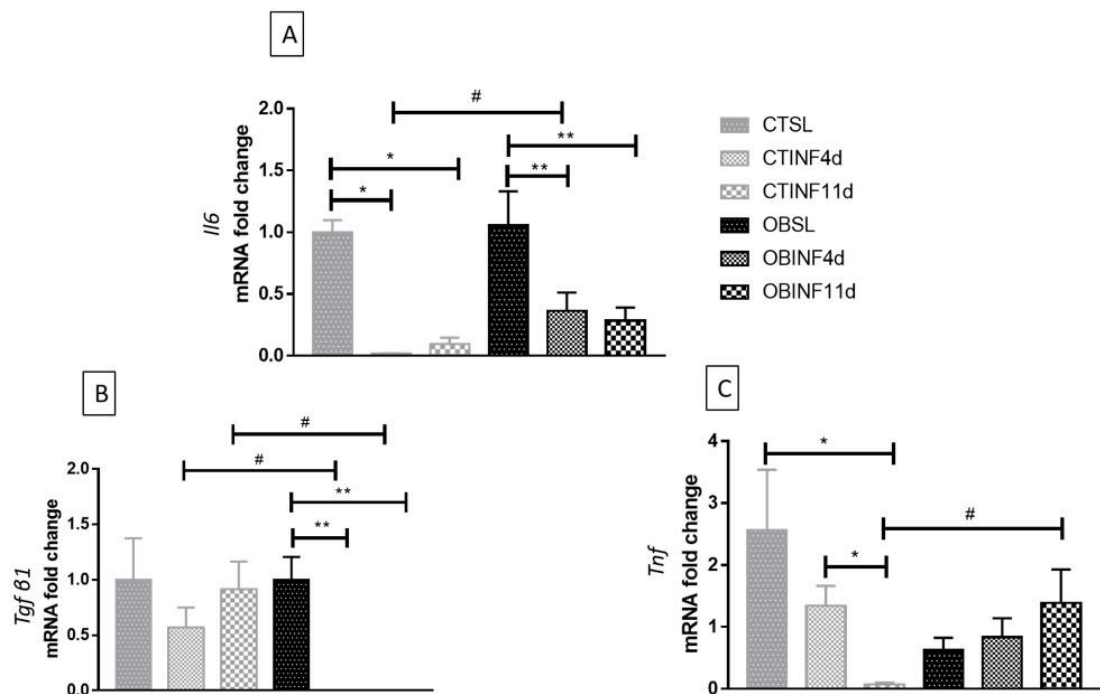


Figura 26: Expressão gênica das citocinas *Il6*, *Tgfb1* e *Tnf* no fígado de gerbils, tratados com dieta padrão e dieta hipercalórica, desafiados com *E. histolytica* no fígado e com diferentes tempos de infecção. Expressão de *Il6* (A), *Tgfb1* (B) e *Tnf* (C).

Os valores são médias \pm SEM de 8 animais por grupo.

A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Significativamente diferente, CTSL versus OBSL; CTINF4d versus OBINF4d e CTINF11d versus OBINF11d, pelo teste t de Student pelo teste de Mann Whitney.

* Significativamente diferente, CTSL versus CTINF4d versus CTINF11d, teste de Kruskal Wallis seguido pelo teste post hoc de Dunn.

** Significativamente diferente, OBSL versus OBINF4d versus OBINF11d, pelo teste one-way ANOVA seguido pelo teste post hoc de Tukey ou pelo teste de Kruskal Wallis seguido pelo teste post hoc de Dunn.

6.11. ATIVIDADE DE MIELOPEROXIDASE NO FÍGADO

A atividade de mieloperoxidase (MPO) é utilizada como um marcador de infiltração de neutrófilos nos tecidos e é crucial para compreender seus efeitos em inflamação pois são as células centrais do estresse oxidativo uma vez que, liberam espécies reativas de oxigênio (EROs) (HAQQANI *et al.* 1999; PULLI *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2020).

A Figura 27 apresenta os resultados de múltiplas comparações da atividade de MPO no tecido hepático nos diferentes tratamentos entre os grupos de animais. Dos 6 (seis) grupos analisados; CTSL, CTINF4d, CTINF11d, OBSL, OBINF4d e OBINF11d foram observadas diferenças significativas da atividade de MPO entre os grupos CTSL versus CTINF11d sendo que atividade de MPO foi menor no grupo CTINF11d ($p < 0,05$) e ainda entre os grupos CTINF11d versus OBINF11d sendo que o grupo OBINF11d apresentou maior atividade de MPO em relação ao CTINF11d ($p < 0,05$). Os grupos CTSL e OBSL, bem como CTINF4d e OBINF4d não apresentaram diferenças significativas nas comparações.

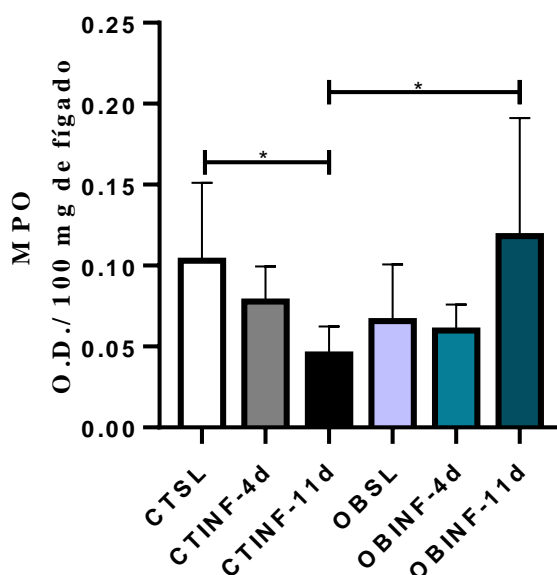


Figura 27: Atividade de MPO no tecido hepático.

Os valores são médias \pm SEM de 8 animais no grupo. As múltiplas comparações entre os grupos CTSL, OBSL, CTINF-4d, OBINF-4d, CTINF-11d e OBINF-11d foram realizadas usando-se teste de kruskal-Wallis. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

* Significativamente diferente, CTSL versus CTINF11d, OBINF11D versus CTINF11d, teste one-way ANOVA seguido pelo teste de kruskal-Wallis.

7. DISCUSSÃO

A primeira pergunta no presente estudo procurou determinar as condições fisiológicas e bioquímicas provocadas pela obesidade para que em um segundo momento a associação da obesidade com AHA esclarecesse a evolução da infecção pelo parasito.

Dietas indutoras de obesidade em animais de experimentação que são compostas de alto teor de lipídeos ou mesmo de elevado teor calórico, são encontradas na literatura (VON DIEMEN *et al.*, 2006, SMITH *et al.*, 2007, AKAGIRI *et al.*, 2008, SMITH *et al.*, 2009, KARLSSON *et al.*, 2010, LANG *et al.*, 2019, GABUZA *et al.*, 2020), entretanto o emprego do gerbil da espécie *Meriones unguiculatus* como modelo experimental de obesidade associada à giardíase foi experimento de sucesso e pioneiro realizado por Ventura *et al.* (2016).

No presente estudo, o efeito da dieta hipercalórica (MAIOLI *et al.*, 2016), na indução do ganho de peso de roedores, foi reproduzida com sucesso, como pode-se notar nos resultados de maior ingestão calórica (Figura 13) e maior peso corporal (Figura 11) dos animais obesos em relação aos animais que consumiram dieta padrão. Os pesos corporais dos obesos tiveram aumento gradativo com a dieta proposta. Na análise de evolução de peso foi verificado que a diferença entre grupos obesos e controles ocorreu a partir da quarta semana de consumo alimentar, isto considerando a combinação de ingestão calórica excessiva e oferta de dieta *ad libitum* com alto teor de energia, sendo este o principal colaborador para a obesidade nos animais, o que está de acordo com os trabalhos de Wisse *et al.*, (2007) e Lang *et al.*, (2019). A interpretação neste caso refere-se ao estabelecimento, com sucesso, da condição de obesidade nos grupos OBSL, OBCL, OBINF4d e OBINF11d para que fossem iniciados os desafios da laparotomia ou mesmo a infecção hepática amebiana associada à esta condição. Este dado foi confirmado por consumo alimentar (g/animal) e consumo de energia (Kcal/animal) do conjunto de grupos controle e obesos os quais corroboram com os resultados observados por Maiolli *et al.*, (2016). A ingestão alimentar e consumo de energia do grupo CTCL foi menor em relação aos grupos CTSL e CTINF4d. No entanto, a ingestão de alimentos dos grupos obesos não apresentaram diferença durante todo o período de oferta, mas foi observado que o consumo de energia foi significativamente maior em todos os grupos obesos em relação aos grupos controles. A dieta Hiper usada no presente trabalho, é rica em açúcares simples e acrescida de manteiga, possuindo maior densidade calórica (4,9 Kcal/g) em relação a

dieta Padrão (3,6 Kcal/g). O diagnóstico de obesidade foi estabelecido utilizando-se como referência apenas o peso corporal, uma vez que os roedores, diferente dos humanos, são classificados como obesos quando de fato são constatados aumentos no peso corporal ou no teor de gordura corporal, e não são avaliados por medidas como o índice de massa corporal (HARIRI *et al.*, 2010).

A evolução do peso corporal pós-cirúrgico também foi comparada entre os grupos, sendo observado que houve declínio até o final do experimento. Isto pode estar relacionado à possível redução de consumo das dietas em função da fisiopatologia da intervenção cirúrgica e/ ou mesmo o efeito residual do anestésico que pode durar até 24h após a administração, alterando o comportamento dos animais (MARTIN *et al.*, 2004) bem como o enfrentamento dos animais diante do AHA, isto é, em humanos os sintomas comuns são febre, dor no quadrante superior direito ou dor abdominal epigástrica, os quais supostamente os animais apresentaram durante os dias de infecção. Inicialmente, observou-se que um dia após a cirurgia e administrada a terapia analgésica, os animais pouco deambulavam e quase não consumiam a dieta. A partir do segundo dia apresentaram-se mais ativos e ainda assim apresentaram baixo consumo alimentar. Embora não tenha sido medido, no presente estudo há indicação de que o AHA contribuiu para que os animais evoluíssem para aumento do gasto energético. A diferença estatisticamente significativa na mudança de comportamento e na redução de consumo alimentar entre os grupos ocorrida nos dias após a cirurgia foi verificada em todos os grupos que sofreram a laparotomia (CTINF4d e OBINF4d, CTINF11d e OBINF11d, CTCL e OBCL). Interessantemente, avaliando o índice de adiposidade, verificou-se que os resultados confirmaram os dados do peso corporal final, visto que todos os grupos obesos tiveram maior adiposidade que seus respectivos controles (Tabela 4). Os dados mostraram que a infecção associada à obesidade, reduziu o peso e a adiposidade corporal, similares aos resultados do grupo controle infectado, estando de acordo com os resultados encontrados por Ventura, (2016). Contudo, é interessante aqui também abordar os aspectos perda de peso associado aos desafios propostos neste trabalho, ou seja, a laparotomia e laparotomia associada a infecção parasitária. Isto porque tanto a doença crônica como infecções agudas podem desencadear respostas ao estresse orgânico o qual irá produzir alterações no metabolismo que fortalecerá o hospedeiro no combate ao agressor, visto que ao contrário do que ocorre no jejum e na desnutrição, os danos causados por infecções desencadeiam um estado hipercatabólico protéico característico com alto gasto energético de repouso (CHAMPE & HARVEY, 1996; KEMP *et al.*, 2019).

Em infecções graves níveis elevados de hormônios do estresse, como catecolamina, cortisol e glucagon, hiperglicemia, resistência insulínica induzem estados hipermetabólico e catabólico em doenças críticas o que leva a um balanço de nitrogênio fortemente negativo, com desvio de aminoácidos do músculo esquelético para os órgãos viscerais que são caracterizadas por estímulos catabólicos com metabolismo protéico prejudicado e, conseqüentemente, perda muscular e diminuição da energia (MICHIER, 1996; FERRANDO *et al.* 2001; PASINI *et al.*, 2008; KANG, 2020).

Na avaliação dos pesos relativos do fígado e baço, os grupos obesos e grupos controles não apresentaram diferença. Mesmo diante deste resultado foi observado nos cortes histológicos do parênquima hepático de animais obesos o desenvolvimento da esteatose. A ingestão de alimentos superior ao necessário e sedentarismo levam à RI e ao acúmulo de gordura no tecido adiposo, fígado e músculo (JAMES *et al.*, 2012), mais especificamente acúmulo de gordura ectópica no fígado (WHITE *et al.*, 2014). A inflamação relacionada à obesidade instalada no fígado pode ser disparada por padrões moleculares associados a patógenos, isto porque neutrófilos e macrófagos no fígado gorduroso encapsulam hepatócitos esteatóticos formando estruturas que se assemelham ao encapsulamento das células adiposas em forma de coroa. A morte de hepatócitos contribui para o recrutamento local de leucócitos durante a obesidade, seja genética ou induzida o que traduz um conjunto de eventos que culmina em morte celular e endotexemia metabólica (RENSEN *et al.*, 2009; BIGORGNE *et al.*, 2008; WHITE *et al.*, 2014, KAKIMOTO *et al.*, 2016; THALER *et al.*, 2012). No caso dos animais do grupo controle infectado (CTINF4d), é interessante relatar que apesar destes animais apresentarem AHA em maior tamanho não apresentaram diferença de peso corporal em relação aos animais do grupo obeso infectado (OBINF4d) que apresentaram lesões menores, mas associadas com esteatose hepática.

Antes da infecção o aumento do peso corporal dos animais dos grupos obesos foi relacionado principalmente ao acúmulo de tecido adiposo branco. Isto corresponde ao acúmulo de gordura visceral, importante mediador de comorbidades (POIRIER *et al.*, 2006; GHIGLIOTTI *et al.*, 2014). No entanto, no presente trabalho, a investigação dos pesos dos depósitos de gordura corporal (TAE, TAM, TAR) mostram resultados interessantes. Os resultados de peso relativo do TAE foram semelhantes aos encontrados para peso final e índice de adiposidade, aumentados para os grupos obesos em comparação aos controles, porém a obesidade associada à infecção, levou à redução significativa destes valores nos obesos, assemelhando-se aos resultados encontrados no

grupo controle infectado. Este dado está parcialmente de acordo com resultados do trabalho de Teixeira (2012) o qual induziu obesidade, por 8 semanas em dois grupos de camundongos C57/BL6 por oferta de dieta hipercalórica. No entanto, um dos grupos foi desafiado com a indução de colite crônica somada à obesidade. A autora verificou que os animais do grupo colite + dieta indutora de obesidade apresentaram também a redução de adiposidade devido a redução do peso do tecido adiposo epididimal (TAE) isto em relação ao grupo de animais que receberam somente a dieta hipercalórica. No presente trabalho, verificou-se que a laparotomia reduziu o peso relativo do TAM em animais obesos e o peso relativo do TAR nos animais controles, porém levou a aumento do peso relativo do TAR nos animais obesos.

Embora não sejam encontrados trabalhos associando obesidade e infecção por ameba e redução percentual de depósito da gordura epididimal, acredita-se que ocorreu devido ao estresse metabólico com predomínio do catabolismo que ocasionou importante mobilização de proteínas e gorduras para transformação em energia como também a produção hepática de glicose, elevando a glicemia. Assim, o conjunto de eventos metabólicos, favoreceu a perda de adiposidade e redução de peso relativo do TAE nos grupos de animais controle e obeso infectados.

A dieta hipercalórica predispõe à obesidade sendo os marcadores bioquímicos úteis para validar a síndrome metabólica. A teoria que os ácidos graxos livres (AGL) são os responsáveis pelo aumento da RI pode ser considerada como um dos mecanismos que contribuem para o desenvolvimento da DMT2 (CARVALHO *et al.*, 2006; LOBATO *et al.*, 2012). No presente estudo foi confirmada a presença de síndrome metabólica nos animais obesos devido ao aumento de colesterol total, triglicérides e glicose de jejum. As concentrações plasmáticas de AGL estão aumentadas na obesidade como resultado do estresse no tecido adiposo provenientes da sinalização do aumento de TNF (MARCORAMELL *et al.*, 2018; CLEMENTE-POSTIGO *et al.*, 2011) e isto causa maior entrada de AGL no fígado que levará maior produção de triglicérides (KLOP *et al.*, 2013). O aumento da adiposidade visceral está ligado à diminuição do HDL e hipertrigliceridemia (BARROSO *et al.*, 2002), o que também se encontra de acordo com os resultados deste trabalho, uma vez que, animais dos grupos obesos apresentaram redução de colesterol transportado em HDL.

Em particular, o aumento de colesterol dos animais dos grupos CTCL e CTINF4d em

relação aos animais do grupo controle sem laparotomia pode demonstrar uma aparente contradição uma vez que o aumento esteja normalmente associado com dietas ricas em gorduras ou não somente por esta razão pois, estudos mostraram elevação dos níveis de colesterol total em pacientes que sofrem de infecção parasitária (FAUCHER *et al.*, 2002). É importante ressaltar que no presente trabalho o aumento do colesterol relacionado com os animais controles laparatomizados ou laparatomizados e infectados pode demonstrar a possibilidade de alterações nos parâmetros lipídicos associadas a infecções agudas ou ainda em infecções parasitárias o que difere dos resultados do trabalho apresentado por Flores *et al.* (2014) os quais afirmaram que em pacientes com AHA e inclusive os casos mais graves de doença hepática amebiana apresentaram hipocolesterolemia; isto porque as amebas consomem o colesterol do hospedeiro para obter e metabolizar lipídeos. Neste caso os resultados aqui apresentados merecem investigação abrangente afim de compreender qual o impacto dos lipídeos séricos no AHA e a relação da hipercolesterolemia nos animais controle desafiados.

Os dados sobre proteínas totais e albumina circulantes mostram um comportamento diferente. Ambos aumentaram com a obesidade. A albumina é um constituinte principal das proteínas séricas e aumento de sua produção ocorre no fígado em condições de resistência à insulina (PEAVY *et al.*, 1995; KIM & KANG, 2013), sendo esta uma das características apresentadas na obesidade e associada a síndrome metabólica (CHO *et al.*, 2012). Resultados semelhantes foram verificados no trabalho de Gabuza *et al.*, (2020) que utilizaram ratos alimentados com diferentes composições de dietas indutora de obesidade e obtiveram como resultado o aumento sérico de proteínas nos animais obesos em relação aos animais controle.

Já a obesidade associada à infecção por 4 dias levou à redução dos valores a níveis semelhantes ao grupo controle infectado. Entre os controles, os níveis de albumina sérica foram semelhantes, porém animais laparatomizados tiveram menores níveis de proteínas totais que o grupo infectado. Curiosamente, entre os animais obesos a comparação deste marcador bioquímico entre os grupos infectados CTINF4d e OBINF4d não mostrou diferença significativa. Sánches-Aguilar *et al.* (2012) avaliaram os níveis de albumina sérica no período de tratamento em humanos que apresentam AHA e o resultado é o encontro de baixos níveis séricos de albumina e grande volume ou diâmetro de abscesso. A condição de obesidade grau I, II ou grau III podem ser consideradas preditores independentes de hipoalbuminemia, apesar da albumina ser um biomarcador para

desnutrição protéica grave (NICHONSON *et al.*, 2000). Através de dados cirúrgicos descobriram que a hipoalbuminemia estava associada a resultados adversos, especificamente cicatrização tardia de feridas, resultado cirúrgico ruim (VICENT *et al.*, 2003). Os resultados do presente trabalho estão parcialmente de acordo com a literatura diante dos resultados de albumina nos animais do grupo CTCL em relação ao grupo OBCL, mas divergente com grupos obesos infectados. Provavelmente, pelo curto tempo imposto para o desafio, a infecção.

O aumento da peroxidação lipídica que induz ao dano oxidativo provocado pelo aumento de radicais peróxi e radicais hidroxila, pode ser observado no quadro de diabetes crônica e descontrolada (BAYANNES & THROPE, 1999; LEVY *et al.*, 1999; VIJAYAKUMAR *et al.*, 2006, NAKHAE *et al.*, 2009). Resultado semelhante foi observado no presente trabalho. A obesidade associada à infecção aumentou os níveis de TBARS no fígado (produto oxidativo do lipídeo) comparado com os grupos obeso sem laparotomia e controle infectado. Níveis elevados de TBARS nos hepatócitos causam danos à cadeia respiratória por meio do dano oxidativo ao genoma mitocondrial que pode chegar a apoptose ou necrose resultando em fibrose (FROMENTHY, *et al.*, 2004). A análise do estresse oxidativo no fígado tem sido estudada em diferentes doenças parasitárias e por diferentes animais de experimentação e linhagens celulares (KOLODZIEJCZYK *et al.*, 2006; SALEH, 2008; HEIDARPHOUR *et al.*, 2012; STUMBO *et al.*, 2012; HEIDARPHOUR *et al.*, 2013; SAMADIEH *et al.*, 2017, KAIN *et al.*, 2020), porém os animais nos trabalhos citados não apresentaram a condição de obesidade para comparação deste parâmetro. A elevada produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) no tecido hepático de animais obesos e infectados por *E. histolytica* por 4 dias, pode ter um papel crítico na proteção do fígado com relação a replicação do parasito. Por outro lado, verificou-se que as concentrações de TBARS nos tecidos adiposos (TAE, TAM e TAR) reduziram com a obesidade, associada ou não ao procedimento de laparotomia, em relação aos respectivos grupos controles, o que pode ser visto na Figura 18 (B, C e D). Estudos que realizaram a medição de estresse oxidativo de tecidos adiposos em roedores obesos associaram e constataram que excesso de tecido adiposo se torna fonte de citocinas inflamatórias (RUDICH, *et al.*, 1998; TALIOR *et al.*, 2003; ILLESCA *et al.*, 2017). A produção de EROs difere nos diferentes órgãos e tecidos, devido às diferenças na atividade metabólica, consumo de oxigênio e níveis de antioxidantes (FURUKAWA *et al.*, 2004; LIMÓN-PACHECO & GOSENBATT, 2009), o que é verificado com relação aos resultados do fígado e tecidos adiposos aqui

investigados. Em ratos com obesidade induzida por dieta ou ainda por alteração genética, verifica-se estresse oxidativo com aumento da peroxidação lipídica no plasma e em tecido adiposo branco, razão do aumento da produção de EROs a partir da gordura acumulada (FURUKAWA *et al.*, 2004). Pode ser intrigante quando se afirma que restrição calórica e perda de peso em obesos demonstra tendência de queda na redução de peroxidação lipídica da inflamação e queda dos níveis de citocinas inflamatórias (HERDER *et al.*, 2009). O fato é quanto tempo leva para que obesos que adotam restrição dietética com adequada perda de peso apresentem melhoras dos aspectos referentes à síndrome metabólica? O efeito das intervenções dietéticas por vezes associada à atividade física, em pacientes, foi verificada por diversos autores os quais relataram tempos diferentes como 12 semanas, 8 semanas, 3 meses, 9 meses ou até dois anos para que marcadores inflamatórios fossem reduzidos significativamente (RYAN *et al.*, 2003; KLIMCAKOVA *et al.*, 2006; SHEU *et al.*, 2008; LANG *et al.*, 2011; CHOO *et al.*, 2014; ABD *et al.*, 2016; PELLEGRINI, *et al.*, 2020). Isto sugere que em animais fato semelhante possa ocorrer, ou seja, os animais obesos no presente estudo que apresentaram perda de peso pós-cirúrgico, provavelmente não normalizaram os indicadores anti-inflamatórios nos períodos de 4 e 11 dias seguidos de infecção.

Acompanhando o aumento de TBARS hepático, a atividade da enzima catalase (CAT) também foi aumentada no fígado e no TAE quando a obesidade foi associada a infecção em relação aos animais controles infectados, com resultados opostos no TAM e TAR. De acordo com Okuno *et al.*, (2008), no tecido adiposo de camundongos obesos, a atividade de CAT, diminui consideravelmente, o que pode causar eliminação insuficiente de peróxido de hidrogênio, mas não no fígado ou no músculo esquelético. Todas as formas de vida desenvolveram sistemas enzimáticos competentes para sobreviver ao dano oxidativo gerado pelas EROs e para manter o equilíbrio redox intracelular (ARIAS *et al.*, 2007). Aqui se discute sobre níveis de CAT no fígado de animais experimentais, mas vale ressaltar que a *E. histolytica* carece de vários componentes dos sistemas de defesa do estresse oxidativo eucariótico, incluindo catalase (MELOTHRA, 1996). A maior atividade da CAT no fígado dos animais OBINF4d pode ter reduzido a inflamação, contribuindo assim para reduzir o AHA nos animais obesos.

A atividade de catalase é alterada pelo estágio do fígado gorduroso, ao aumento dos peróxidos produzidos nos peroxissomos devido ao aumento de oxidação dos ácidos graxos (BONKOVISK *et al.*, 1999). Animais com dieta rica em gordura e que desenvolveram a

esteatose não alcoólica, foram beneficiados com maior atividade de catalase endógena. Isto porque houve proteção de lesões hepáticas (incluindo acúmulo de lipídios e inflamação) por meio da manutenção do equilíbrio redox do fígado desde o estágio inicial do estresse metabólico induzido pela dieta (PIAO *et al.*, 2017). A catalase participa do mecanismo de defesa antioxidante celular, suprimindo o acúmulo de H_2O_2 , bem como desenvolvendo diferentes graus de atividade antioxidante dependendo do tecido. No fígado a atividade é altamente expressiva e retarda lesão hepática induzida por dieta rica em gordura em camundongos (HO *et al.*, 2004; COHEN *et al.*, 1970; PIAO *et al.*, 2017) o que corrobora com os resultados deste trabalho.

De acordo com Furukawa *et al.* (2004); Ye, (2013) e Park *et al.* (2016) uma vez que o fígado e tecido adiposo exercem funções importantes no metabolismo lipídico e na resistência insulínica, as funções destes órgãos são afetadas em camundongos C57BL/6j nocaute de catalase. Quanto à maior atividade de catalase no TAE no grupo OBINF4d, resultado semelhante foi encontrado por Park *et al.* (2016) que estudaram a expressão da catalase endógena no tecido adiposo e a polarização de macrófagos em camundongos obesos e especificamente verificaram aumento da CAT no tecido adiposo epididimal destes animais. Os autores afirmaram que a deficiência da catalase acelera o estresse oxidativo e suprime a infiltração de macrófagos M2 na fração estromal do tecido adiposo epididimal. Seguindo esta ótica, podemos explicar o maior número de animais com AHA e também a maior expansão das lesões nos animais do grupo CTINF4d os quais apresentaram menor atividade da CAT no TAE em relação aos animais OBINF4d. Desta forma é sugerido, que a ação antioxidante da catalase no tecido adiposo epididimal contribuiu para suprimir a infecção amebiana hepática nos animais obesos infectados (OBINF4d).

No entanto, a atividade reduzida da CAT nos tecidos adiposos mesentérico e retroperitoneal de animais do grupo OBINF4d foi evidente neste trabalho. Como já mencionado, o peroxissomo é uma organela importante para oxidação de ácidos graxos e metabolismo de EROs, pois armazena enzimas como a catalase que degrada o H_2O_2 . Reforçando nossos resultados, PIAO *et al.*, (2019) demonstraram que a expressão de genes peroxissomais, de forma geral, está reduzida no tecido adiposo branco de camundongos obesos em comparação com camundongos alimentados com dieta controle. Kahraman *et al.* (2018) realizaram um experimento para avaliar a atividade da catalase em ratos alimentados com dieta controle e indutora de obesidade. Constataram que dietas

ricas em gordura aumentaram o estresse oxidativo devido a redução da atividade de catalase nos ratos cujo TAR foi desnervado. Dados preliminares do estudo sugerem que a deficiência de enzima também acelera a resistência à insulina induzida por dieta rica em gordura no tecido adiposo branco e no fígado.

É importante reportar estudos sobre níveis de catalase em animais obesos com infecção parasitária. O estudo de Ayyappan *et al.* (2017) trata sobre este aspecto, uma vez que investigaram os níveis de catalase dos tecidos adiposos branco e marrom de camundongos obesos em fase aguda da doença de Chagas. Os autores concluíram que os animais infectados com *T. cruzi* e tratados com dieta rica em gordura reduziram significativamente o nível de mRNA da CAT em ambos os tecidos envolvidos e sugeriram que dietas ricas em gordura reduzem ainda mais os níveis de catalase durante a infecção, ampliando a condição patológica destes tecidos devido ao aumento da carga parasitária. O achado do presente trabalho surpreende pelo fato de haver uma diferença da atividade de CAT nos tecidos adiposos em estudo. A baixa atividade nos tecidos TAM e TAR dos animais obesos deverá ser melhor investigada para esclarecer qual a associação da infecção e obesidade nos tecidos adiposos destes animais.

Os resultados de TTGO neste trabalho foram intrigantes, uma vez que, mesmo com a perda de peso dos animais obesos, após a infecção, a resistência insulínica aumentou em relação aos grupos controle, mas a infecção no grupo OBINF11d não teve a mesma inferência pois foi menor em relação ao grupo CTINF11d. A hiperglicemia, ácidos graxos livres elevados, a hipertrigliceridemia, são fatores indutores da inflamação no tecido adiposo de obesos por aumentar o estresse oxidativo, sendo isto um reflexo da condição da RI (SHOELSON *et al.*, 2007; SCHÖNFELD & WOJTCZAK, 2008; ECKEL *et al.*, 2005). É de conhecimento que indivíduos obesos apresentam elevação de leptina sérica; o que reflete a quantidade de tecido adiposo corporal, ou seja, apesar de adequadas as reservas de energia corporal, os indivíduos são insensíveis a própria produção endógena de leptina. Isto ocorre por defeito na sinalização intracelular associada ao receptor de leptina ou ainda pela diminuição do transporte de leptina através da barreira hematoencefálica (MURAKAMI & SHIMA *et al.*, 1995; CONSIDINE *et al.*, 2011; BANKS, 2012). A redução da sensibilidade dos tecidos as concentrações de leptina levam ao desenvolvimento da obesidade e distúrbios metabólicos como RI e dislipidemia (GRUZDEVA *et al.*, 2019). Neste trabalho, não foi avaliado o nível de leptina sérica pois consideramos os resultados já aqui citados de Ventura *et al.* (2017) realizado em nosso

laboratório que confirmaram a diminuição das adipocinas que regulam inflamação e a obesidade instalada no mesmo modelo animal. Contudo as alterações de glicose em estado de jejum e tomadas pelo TTGO confirmaram a obesidade e diabetes tipo 2 nos animais ensaiados. Os maiores níveis glicêmicos foram observados em animais dos grupos obesos e com destaque no grupo obeso infectado por 4d. Estes resultados estão de acordo com estudo de Maioli *et al.*, (2016) que utilizaram camundongos machos C57BL/6 Foxp3 GFP *knock-in* e dieta HSB que os próprios autores desenvolveram com intuito de induzir obesidade experimental, sendo esta baseada na dieta AIN-93G. Os dados também estão de acordo com os parâmetros apresentados nas Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020, (2019) e da *American Diabetes Association* (ADA), (2019), onde os critérios de diagnósticos para DM são o de glicemia de jejum (mg/dL) – normal <100, pré-diabetes 100 a 125, diabetes ≥ 126 e glicemia 2 horas após TTGO com 75 g de glicose (mg/dL) – normal <140, pré-diabético 140 a 199 e diabetes ≥ 200 .

O AHA apresenta alta morbidade e mortalidade devido a suas complicações. É uma doença iminente grave. Os pacientes geralmente apresentam febre, mal-estar geral, distensão abdominal, hepatomegalia e dor abdominal no quadrante superior direito, pois são comuns no lobo direito do fígado e apresentam na maioria das vezes como únicos (VALENZUELA *et al.*, 2007).

Os resultados da reprodução do AHA em gerbils obesos e não obesos neste trabalho, corroboram parcialmente com o modelo utilizado por Chadee e Meerovitch (1984). O uso do gerbil como excelente modelo para reprodução da AHA foi realizado por trabalho pioneiro destes pesquisadores que avaliaram a evolução de 1 a 5 dias do AHA em gerbils e demonstraram que a resposta inflamatória e granulomatosa na infecção hepática amebiana ocorrem simultaneamente, mas que a inflamatória aguda precede a resposta granulomatosa. No presente trabalho foi utilizado o mesmo modelo animal, mas com idades e condutas dietéticas diferentes.

O estudo patológico foi focado no desenvolvimento do AHA e demonstra que gerbils alimentados com dieta padrão e infectados com maior tempo (11 dias) com a *E. histolytica* cepa EGG apresentaram, surpreendentemente, o AHA mais extenso, macro e microscopicamente, que aqueles animais que receberam dieta indutora de obesidade, em particular animais do grupo OBINF11d o que caracteriza hipótese inicial nula ou mesmo contra intuitiva. Aqui podemos novamente esclarecer que dos 8 animais do grupo

CTINF4d 5 (cinco) apresentaram AHA. Entre os animais do grupo obeso infectado por 4 dias, 4 (quatro) de 8 animais apresentaram o AHA. Considerando este resultado, decidimos esclarecer se o tempo favoreceria ou não o estabelecimento da lesão nos animais controles e obesos infectados com *E. histolytica*. Todos os animais dos grupos CTINF11d e OBINF11d apresentaram o AHA 100%. Já com relação aos aspectos morfométricos, os resultados dos grupos controles infectados por 4 dias não apresentaram diferenças em relação aos animais do grupo obeso infectado por 4 dias. No entanto, constatou-se que o maior tempo de infecção o AHA teve maior gravidade patológica em animais que receberam a dieta controle em relação aos animais que receberam dieta indutora de obesidade. Neste momento do experimento surge a indagação: - o que há na resposta a infecção hepática amebiana em animais obesos? O curso temporal histológico do AHA foi estudado por Cortes *et al.*, (2019) os quais analisaram os mecanismos de resistência de roedores como o hamster e camundongos BALB/c. Estes autores relatam que diferente do modelo animal hamster que reproduz com eficiência o AHA a eliminação da *E. histolytica* no fígado de camundongos BALB/c relaciona-se a uma baixa atividade quimiotática do complemento o que resulta em uma resposta inflamatória pobre, incapacitando, desta forma, o parasita de causar dano sendo este um mecanismo de resistência natural. Importante ressaltar que no fígado de hamster, a isquemia gerada pela resposta inflamatória abundante contribui para a sobrevivência do parasita, reduzindo o acesso de moléculas nocivas do sangue como oxigênio, complemento e anticorpos (OLIVOS- GARCÍA *et al.*, 2004). A condição de obesidade não foi incluída nestes trabalhos e nem mesmo utilizaram o gerbil como animal de experimentação, mas a partir destas evidências somadas aos resultados aqui apresentados poderá ser traçado um caminho de investigação sobre os resultados morfométricos do AHA de animais obesos.

Ventura *et al.*, (2016) utilizaram gerbils (*Meriones unguiculatus*) como animais modelo para o estudo de obesidade e constataram maiores níveis de gordura total, colesterol e triglicérides no fígado, contribuindo para maior intensidade da esteatose hepática. De acordo com Oddegard *et al.* (2008) e Kang *et al.*, (2008) no fígado de camundongos magros a células de Kupffer as quais são capazes de fagocitar partículas nocivas estão mantidas em estado menos inflamatório como macrófagos M2. No entanto, em estado de obesidade ocorre a ativação de processos inflamatórios no fígado o que causa inflamação hepática crônica patológica caracterizada pelo avanço do fígado gorduroso para esteatohepatite (ROBINSON, *et al.*, 2016; BUZZETTI *et al.*, 2015). O acúmulo de lipídeos hepáticos e a ocorrência da peroxidação ocasionam a produção de EROs e

ativação dos receptores do tipo Toll que por sua vez convertem as células de Kupffer a um fenótipo M1 produtoras de citocinas pró-inflamatórias (JAGER *et al.*, 2016; DIXON *et al.*, 2013). Isto demonstra que no estudo presente os animais OBINF 4d e 11d mesmo antes da infecção com as amebas se encontravam com esteatose hepática e provavelmente com células de Kupffer convertidas a um fenótipo M1 caracterizado por inflamação.

A análise de citocinas inflamatórias por RT-qPCR se fez necessária e para esclarecer o retardo de desenvolvimento do AHA em animais obesos infectados em relação aos animais controle infectados. Desta forma 2 citocinas inflamatórias e uma anti-inflamatória foram analisadas, *Il6*, *Tnf* e *Tgfb1* respectivamente.

A IL6 é uma citocina com diferentes ações fisiológicas que regulam o metabolismo e é secretada por diversos tecidos, mas o papel dos tipos de células individuais ainda não está claro (MAUER *et al.*, 2015; HAN *et al.*, 2020). Neste trabalho foi observado que a infecção por *E. histolytica* reduziu a níveis insignificantes a expressão de *Il6* nos grupos controle infectados comparados a expressão observada no basal (CTSL). Sendo a *Il6* uma citocina considerada inflamatória, podemos inferir que, em nosso modelo, a *E. histolytica* suprimiu a produção de *Il6*. Contudo a *E. histolytica*, não produziu o mesmo efeito nos animais obesos, onde foi observado um aumento da citocina comparado ao controle infectado.

Estrada-Villaseñor *et al.*, (2007) realizaram a indução experimental de AHA em camundongos C57BL/6 e C57BL *Il6*- KO/- e avaliaram presença de eosinófilos bem como, por imunohistoquímica, a presença de *Il6* em cortes do fígado e concluíram que animais com deficiência de *Il6* desenvolveram o AHA, em contraste com os camundongos C57BL/6. O que sugere que a *Il6* desempenhe um papel protetor ou de resistência ao AHA. Ventura *et al.* (2016) avaliaram tecido adiposo em gerbils obesos e observaram que não houve mudança significativa na quantidade de *Il6* em comparação com o controle. Trabalhos aqui relatados não apresentam equivalência de resultados com o presente trabalho, uma vez que há diferença de animais utilizados, diferença de desafios ou diferença de tecidos analisados. Contudo, é importante ressaltar que o que difere os resultados do presente trabalho corresponde a redução da expressão de *Il6* após a infecção, tanto nos grupos controle infectados como nos obesos infectados somada a redução de peso corporal dos animais. Isto pode sugerir que a condição da lesão hepática em animais obesos somada a perda de peso corporal progressiva possa ter causado diversas mudanças

de sinalização da *I16* pela condição metabólica dos animais o que resultou na diminuição da injúria tecidual observada nos animais obesos por 11 dias. É necessário aprofundar a investigação para esclarecer qual ou quais fatores estariam presentes para justificar tal quadro.

A expressão de *Tgfb1* no fígado dos animais que representam os grupos obesos infectados, foi muito fraca ou quase sem expressão, causando provavelmente regulação negativa da inflamação. O *Tgfb1* é uma citocina que desempenha um importante papel nos processos regenerativos hepáticos bem como considerada citocina pró-fibrótica (PROELL *et al.*, 2007; KITAMOTO *et al.*, 2009; DROPMANN *et al.*, 2016). Kortem *et al.* (2011) relataram baixa expressão de TGF- β avaliada por imuno-histoquímica em tecidos de humanos com oncocercose hiperreativa em pele e nódulos linfáticos. Os autores sugerem que a resposta inicial de TGF- β a inflamação é muito fraca e precisa de mais sinais para se desenvolver ou ainda existe o fator genético predisponente, pois a liberação de TGF- β na circulação é geneticamente controlada e se correlaciona com a ocorrência e gravidade de certas doenças (GRAINGER *et al.*, 1999). Modificações na sequência de resíduos de nucleotídeos dos genes de citocinas ou ainda de seus receptores têm sido relatada em indivíduos saudáveis, sendo tais polimorfismos associados a diferenças entre indivíduos no que se refere ao perfil de citocinas secretadas e a mudanças da expressão desta citocina que pode atuar como pró-inflamatório em baixas concentrações, anti-inflamatório em altas concentrações e ainda associados a diferentes níveis de produção tendo o fenótipo previsto de alto, intermediário ou baixo produtor, isto dependente das interações com outras citocinas (BIDWELL *et al.*, 1999, BROWN *et al.*, 2002; WARLÉ *et al.*, 2003; BUDI *et al.*, 2017). No presente trabalho imunossupressão ou fraca expressão de citocina no fígado de animais dos grupos obesos infectados no período de 4 e 11 dias é sugestiva de sua importância na geração da lesão hepática amebiana controlada. No entanto foi verificado maior expressão no grupo CTINF11d onde as lesões se apresentaram maiores em relação aos animais OBINF11d. Neste contexto, estudos investigando sua participação neste fenômeno devem ser conduzidos.

Na expressão de *Tnf* dos animais obesos infectados por 4 e 11 dias foi observado aumento gradativo ou mesmo discreto desta citocina sem diferença significativa entre eles. Contudo houve aumento e diferenças importantes entre as expressões dos animais OBINF11d em relação aos animais do grupo CTINF11d. É interessante notar um discreto aumento à medida que o tempo de infecção aumenta. Na fase precoce da infecção, o TNF-

α se expressa com tendência crescente e o aumento do TNF- α durante o dano ao tecido por ameba resulta na ativação de macrófagos para liberar NO e, assim, exercer um efeito anti-inflamatório (GUAN *et al.*, 2018). Isto implica na sinalização de macrófagos M2 que atuam no encapsulamento e morte de parasitos e têm funções imunorreguladoras e anti-inflamatórias (KATAKURA *et al.*, 2004). Acredita-se que essa população de macrófagos também desempenhe um papel crítico na regulação negativa da imunidade protetora do hospedeiro contra infecções microbianas modulando assim a expressão de citocinas anti-inflamatórias, causando a supressão da inflamação do tecido e aumento do reparo do tecido (PELLICORO *et al.*, 2014). Portanto, é proposto neste trabalho que a expressão da citocina *Tnf* possa estimular macrófagos e neutrófilos que se tornam aptos a destruir trofozoítos de *E. histolytica*, isto porque, o resultado de atividade de MPO no presente trabalho, confirma maior atividade nos animais do grupo obeso infectado por 11 dias associado ao encontro de menores AHA nos animais. Nossos resultados reforçam a importância do *Tnf* no controle da lesão amebiana hepática.

O papel de neutrófilos como células inflamatórias é de fundamental importância na avaliação do desenvolvimento da lesão, uma vez que, estes fornecem informações importantes sobre moléculas e mecanismos de interação hospedeiro / parasito e parecem ser fundamentais na resposta de resistência ou progressão da doença (AHA) que pode ocorrer de 3 a 7 dias após a infecção (CAMPOS-RODRIGUES *et al.*, 2016).

No modelo gerbil a inflamação aguda é ineficiente para destruição dos trofozoítos permitindo o desenvolvimento do AHA que se agrava pelos produtos líticos secretados pelas amebas como por células inflamatórias como neutrófilos, que se encontram em maior número e são as primeiras células do infiltrado inflamatório, e de áreas necróticas (CHADEE *et al.*, 1984; CAMPOS-RODRIGUES *et al.*, 2016). Shibayama *et al.*, (2008) injetaram substâncias inflamatórias (óleo mineral e adjuvante incompleto de Freud) no peritônio de hamsters e desafiaram os animais com *E. histolytica* no fígado, demonstrando proteção contra AHA devido principalmente à ação de neutrófilos e macrófagos que impediram a invasão dos trofozoítos no fígado. Diante destes estudos é interessante contextualizar que por um lado a infecção hepática por amebas estimula resposta inflamatória aguda robusta, mas ineficiente na eliminação dos parasitos. Por outro lado, quando animais se encontram previamente inflamados, o que a condição de obesidade pode causar, e são infectados em momento posterior, a resposta e estímulos inflamatórios já estão ativados previamente apesar de existir e ser necessário o reconhecimento do

patógeno por receptores específicos e que regulem a sua multiplicação e sobrevivência.

Neutrófilos ativados aumentam a produção de EROs, ativam macrófagos que por sua vez liberam citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF (JARINOLUNA *et al.*, 2002). Neutrófilos são também descritos como geradores de mediadores antiinflamatórios e pró-resolução incluindo EROs. Estes podem conferir um fenótipo reparador em macrófagos no fígado sendo que a mudança ocorre em monócitos Ly6C hi (Lymphocyte antigen 6 complex, Locus C1 High - monócitos imaturos altos) para macrófagos Ly6C lo (Lymphocyte antigen 6 complex, Locus C1 Low - monócitos maduros baixos) no fígado inflamado de camundongos receptores. Neste contexto, é proposto que EROs desempenhe importantes funções na modulação da inflamação hepática (DALLI & SERHAN *et al.*, 2012; SERHAN, 2014; YANG *et al.*, 2019).

A análise de atividade de neutrófilos (MPO) é utilizada como um marcador de infiltração de neutrófilos nos tecidos e é crucial para compreender seus efeitos em inflamação pois são as células centrais do estresse oxidativo uma vez que, liberam EROs (HAQQANI *et al.* 1999; PULLI *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2020). A inoculação de *E. histolytica* em camundongos SCID deficientes de neutrófilos produziu abscessos amebianos maiores do que os observados em camundongos normais (SEYDEL, 2000). No entanto, em lesões hepáticas amebianas, a secreção de lectina Gal / GalNac, amebaporos e cisteína proteinases, ações mediadas pelos trofozoítos, também resulta na destruição de neutrófilos e liberação de seus produtos tóxicos, que podem desempenhar um papel importante no aumento das lesões de abscesso hepático (MONAH *et al.*, 2003; HELK *et al.*, 2013).

No presente trabalho, a análise de atividade de MPO no tecido hepático, apresentou resultados que até o momento não foram encontrados na literatura; isto é, condição de obesidade associada a AHA. Com os resultados apresentados pode ser observado que o aumento da atividade de neutrófilos foi gradativo em função do tempo de infecção hepática, sendo, portanto, maior nos animais do grupo obeso com 11 dias de infecção em relação a atividade avaliada nos animais controle infectados 11d. É importante, neste momento, associar os resultados de morfometria que evidenciaram menores AHA nos animais do grupo obeso infectado por 11 dias em relação ao grupo controle infectado por 11 dias. Os animais do grupo CTINF11d apresentaram AHA maiores, e menor atividade neutrofílica em relação ao seu controle, grupo CTSL. Contudo, os animais OBINF11d

apresentaram maior atividade de MPO em relação aos animais do grupo CTINF11d. É provável que a alta atividade neutrofílica em detrimento da obesidade, em nosso modelo de amebíase, tenha colaborado para redução do AHA nos animais OBINF11d em relação aos animais CTINF11d. A associação obesidade e parasitose amebiana por maior tempo revelou ser favorável para o controle da infecção.

Nossos resultados nos desafiam a prosseguir investigando as moléculas envolvidas na associação obesidade e abscesso hepático amebiano, que favoreceu o hospedeiro e que por evidências, se beneficiou com uma menor gravidade da amebíase considerando maior tempo de infecção e ainda teve seu peso diminuído.

8. CONCLUSÃO

A obesidade alterou o curso do abscesso hepático amebiano em gerbil (*Meriones unguiculatus*) demonstrado por alterações associadas aos aspectos bioquímicos, imunológicos e patológicos que podem revelar mecanismos relacionados a redução da lesão amebiana quando considerado maior tempo de infecção. Há necessidade de maior investigação de diversos aspectos fisiopatológicos desta relação para que sejam claramente determinadas novas características clínicas, o curso e também o prognóstico da doença.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. São Paulo: Elsevier, Cap.12, p. 270-273, 2005.
- ABD ALLA, M.D.; WOLF, R.; BRANCO, G.L.; KOSANKE, S.D.; CARY, D.; VERWEIJ, J.J.; ZHANG, M.J.; RAVIDIN, J.I.; **Efficacy of a Gal-lectin subunit vaccine against experimental Entamoeba histolytica infection and colitis in baboons (Papio sp.)**. Vaccine, vol. 30, n. 20, p. 3068–3075, 2012.
- ABD EL-KADER, S. M., & SAIEM AL-DAHR, M. H. **Impact of weight loss on oxidative stress and inflammatory cytokines in obese type 2 diabetic patients**. African health sciences, vol. 16, n. 3, p. 725–733, 2016.
- ACKERS, J.P. **The diagnostic implications of the separation of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar**. J. Biosci., vol. 27, n. 6, suppl 3, p. 573-578, 2002.
- ADAMS, E.B.; MACLEOD, I.N. **Invasive amebiasis. II. Amebic liver abscess and its complications**. Medicine (Baltimore), vol. 56, n. 4, p. 325-34, 1997.
- AEBI, H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105, 121-6. 1984.
- AGUILAR-DÍAZ H, DÍAZ-GALLARDO M, LACLETTE JP, CARRERO JC. **In vitro Induction of Entamoeba histolytica Cyst-like Structures from Trophozoites**. PLoS Negl Trop Dis., vol. 4, n. 2, e607, 2010.
- AGUILAR-ROJAS, A.; OLIVO-MARIN O.M.; GUILLEN N. **The motility of Entamoeba histolytica: finding ways to understand intestinal amoebiasis**. Current Opinion in Microbiology, vol. 34, p. 24–30, 2016.
- AHIMA, R.S.; FLIER, J.S. **Adipose tissue as an endocrine organ**. Trends Endocrinol Metab., vol.11, p. 327-332, 2000.
- AIKAT, B.K.; BHUSNURMATH, S.R.; PAL, A.K.; CHHUTTANI, P.N. AND DATTA, D.V. **The pathology and pathogenesis of fatal hepatic amoebiasis-a study based on 79 autopsy cases**. Trans R Soc Trop Med Hyg., vol. 73, n. 2, p.188-192, 1979.
- AKAGIRI, S.; NAITO, Y.; ICHIKAWA, H.; MIZUSHIMA, K.; TAKAGI, T.; HANDA, O.; KOKURA, S.; YOSHIKAWA, T. **A mouse model of metabolic syndrome; increase in visceral adipose tissue precedes the development of fatty liver and insulin resistance in high-fat diet-fed male KK/Ta mice**. J Clin Biochem Nutr, vol. 42, p.150–57, 2008.
- ALAM F.; SALAM M.; HASSAN P.; MAHMOOD I.; KABIR M.; HAQUE R. **Amebic liver abscess in northern region of Bangladesh: sociodemographic determinants and clinical outcomes**. BMC Research Notes, vol. 7, n. 1, p. 625, 2014.
- ALJADA, A.; MOHANTY, P.; H. GHANIM, H.; TOUFIC, A.; TRIPATHY, D.; CHAUDHURI, A.; DANDONA, P. **Increase in intranuclear nuclear factor κ B and decrease in inhibitor κ B in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect**. American Journal of Clinical Nutrition, vol. 79, n. 4, p. 682–690, 2004.

ALTAMIRANO J., MIQUEL R., KATOONIZADEH A., ABRALDES J.G., DUARTE-ROJO A., LOUVET A., AUGUSTIN S., MOOKERJEE R.P., MICHELENA J., SMYRK T.C., Buob D, Leteurtre E, Rincón D, Ruiz P, García-Pagán JC, Guerrero-Marquez C, Jones PD, Barritt AS 4th, Arroyo V, Bruguera M, Bañares R, Ginès P, Caballería J, Roskams T, Nevens F, Jalan R, Mathurin P, Shah VH, Bataller R. **A histologic scoring system for prognosis of patients with alcoholic hepatitis.** *Gastroenterology*, vol. 146, n. 5, :1231–1239, 2014.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 2: **Classification and diagnosis of diabetes.** *Diabetes Care*, vol. 42, (Suppl 1), p. S13-28, 2019.

AMORIM, R.M.R.; SILVA, D.A.O.; TAKETOMI, E.A.; MORATO, M.G.V.A.; MUNDIM, M.J.S.; RIBEIRO, D.P.; OLIVEIRA, T.C.; VIANA, J.C.; GOMES, M.A.; CURY, M.C. ***Giardia duodenalis*: Kinetics of cyst elimination and the systemic humoral and intestinal secretory immune responses in gerbils (*Meriones unguiculatus*) experimentally infected** *Experimental Parasitology*, vol. 125, p. 297–303, 2010.

APEL, K.; HIRT, H. **Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction.** *Annu Rev Plant Biol.* vol. 55, p. 373-99, 2004.

ARAÚJO, N.S.; MUNDIM, M.J.S.; GOMES, M.A.; AMORIM, M.R.R.; VIANA, J.C.; QUEIROZ, R.P.; ROSSIMA, C.M.C. ***Giardia duodenales*: pathological alterations in gerbils, *Meriones unguiculatus*, infected with diferente dosages of trophozoites.** *Experimental Parasitology*, vol. 118, n. 4, p. 449-457, 2008.

ARIA, D.G.; GUTIERRES, C.E.; IGLESIAS, A.A.; GUERRERO, S.A. **Thioredoxin-liked metabolismo in *Entamoeba histolytica*.** *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 42, n.10, p. 1496-1505, 2007.

ARISTIZABAL, H.; ACEVEDO, J.E.; BOTERO, M. **Fulminant amebic colites.** *Mundo J Surg.*, vol. 15, p. 216–221, 1991.

ARQUIVOS DIGITAIS¹. Disponível em:

< <https://www.mcgill.ca/library/branches/osler/oslerbio>>

< <http://entamoeba.lshtm.ac.uk/buddyim.htm>>

<<https://collections.nlm.nih.gov/catalog/nlm:nlmuid-101412760-img>>

< <https://www.spektrum.de/lexikon/biologie/schaudinn-fritz-richard/59017>>

Acesso em: 01/03/2020.

ATTAR, B.M.; VAN THIEL, D.H. **Current Concepts and Management Approaches in Nonalcoholic Fatty Liver Disease.** Review Article. *The Scientific World Journal*, vol. 2013, 10 pages, 2013.

AKAGIRI, S.; NAITO, Y.; ICHIKAWA, H.; MIZUSHIMA, K.; TAKAGI, T.; HANDA, O.; KOKURA S.; YOSHIKAWA, T. A. **Mouse Model of Metabolic Syndrome.** *J Clin Biochem Nutr.*, vol. 42, n. 2, p. 150-157, 2008.

AYYAPPAN, J.P.; NAGAJYOTHI, J.F. **Diet Modulates Adipose Tissue Oxidative Stress in a Murine Acute Chagas Model.** *JSM Atheroscler.*, vol. 2, n. 3, p. 1030, 2017.

BAI, J.; CEDERBAUM, A.I. **Mitochondrial catalase and oxidative injury.** Biol Signals Recept, vol. 10, p. 189–199, 2001.

BAND, R.N.; CIRRITO, H. **Growth response of axenic Entamoeba histolytica to hydrogen, carbon dioxide, and oxygen.** J. Protozool., vol. 26, p. 282–6, 1979.

BANKS, W.A. **Role of the blood-brain barrier in the evolution of feeding and cognition.** Ann N Y Acad Sci., vol. 1264, n. 1, p. 13–19, 2012.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. **Oxidative stress: concept, implications and modulating factors.** Rev. Nutri., vol. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BAKIRCI, S.; BILGIÇ, H.B.; KÖSE O.; AKSULU, A.; HACILARLIOĞLU, S.; KARAGENÇ, T.; ÇAVUŞ, I.; ÖZBILGIN, A. **Gerbils, as experimental animals (Meriones unguiculatos): is a good role model for Leishmania major?** Turkish Journal of Parasitology., vol. 39, n. 3, p. 212-217, 2015.

BAYS, H.E. **Adiposopathy is “sick fat” a cardiovascular disease?** J Am Coll Cardiol., vol. 57, n. 25, p. 2461-73, 2011.

BAYANES, J.W.; THROPE, S.R. **Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm.** Diabetes, vol. 48, p. 1-9, 1999.

BEARD, M.R.; JONES, B.E. **Hepatitis C virus and oxidative stress: A dangerous liaison.** Future Virol., vol.1, p.223–232, 2006.

BENCHIMOL, J.L. **Adolpho Lutz: a biographical sketch.** História, Ciências, Saúde Manguinhos, vol. 10, n. 1, p. 13-83, 2003.

BEN AYED L.E.; SABBABI S. **Entamoeba histolytica.** In: JB Rose e B. Jiménez-Cisneros, (eds) **Projeto Global de Patógenos da Água. R. Fayer e W. Jakubowski, (eds) Parte 3 Protistas**, 2017.

Disponível em: www.waterpathogens.org/book/entamoeba-histolytica. Acesso: 07/03/2019.

BENNETTON. M.L.; GONÇALVES. A.V.; MENEGHINI. M.E. **Fatores de risco para infecção por Entamoeba histolytica / E. complexo díspar: um estudo epidemiológico realizado em ambulatórios da cidade de Manaus, região amazônica, Brasil.** Trans R Soc Trop Med Hyg., vol. 99, n. 7, p. 532-40, 2005.

BERRINGTON DE GONZALEZ, A.; HARTGE, P.; CERHAN, J.R.; FLINT, A.J.; HANNAN, L.; MACINNIS, R.J.; MOORE, S.C.; TOBIA, S G.S.; ANTON-CULVER, H.; FREEMAN, L.B.; BEESON, W.L.; CLIPP, S.L.; ENGLISH, D.R.; FOLSOM, A.R.; FREEDMAN, D.M.; GILES, G.; HAKANSSON, N.; HENDERSON, K.D.; HOFFMAN-BOLTON, J.; HOPPIN, J.A.; KOENIG, K.L.; LEE, I.M.; LINET, M.S.; PARK Y.; POCOBELLI G.; SCHATZKIN A.; SESSO H.D.; WEIDERPASS E.; WILLCOX, B.J.; WOLK, A.; ZELENIUCH-JACQUOTTE, A.; WILLETT, W.C.; THUN, M.J. **Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults.** N. Engl. J. Med., vol. 363, p.2211-2219, 2010.

BERRY, R.; RODEHEFFER, M.S.; **Characterization of adipocyte cellular lineage in vivo.** Nat Cell Biol., vol 15, p. 302-308, 2013.

BONKOVSKY, H.L.; JAWAID, Q.; TORTORELLI, K.; LE CLAIR, P.; COBB, J.; LAMBRECHT, R.W.; BANNER, B.F. **Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increase prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis.** J Hepatol., vol. 31, n.3, p. 421-429, 1999.

BHATTI, J.S.; BHATTI, G.K.; REDDY, P.H. **Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A step towards mitochondria based therapeutic strategies.** Biochimica et Biophysica acta. Molecular Basis of Disease, vol. 1863, n. 5, p. 1066-1077, 2017.

BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. **Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta.** Revista de Nutrição, vol. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BIDWELL J, KEEN L, GALLAGHER G, KIMBERLY R, HUIZINGA T, MCDERMOTT MF, OKSENBERG J, MCNICHOLL J, POCIOT F, HARDT C, D'ALFONSO S. **Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases.** Genes and Immunity, vol. 1, p. 3-19, 1999.

BIGORGNE, A.E.; BOUCHET-DELBOS, L.; NAVEAU, S.; DAGHER, I.; PREVOT, S.; DURAND-GASSELIN, I.; COUDERC, J.; VALET, P.; EMILIE, D. and PERLEMUTER, G. **Obesity-Induced Lymphocyte Hyperresponsiveness to Chemokines: A New Mechanism of Fatty Liver Inflammation in Obese Mice.** GASTROENTEROLOGY, vol.134, n. 5, p.1459-1469, 2008.

BLAZQUEZ, S.; RIGOTHIER, M.C.; HUERRE, M.; GUILLÉN, N. **Initiation of inflammation and cell death during liver abscess formation by *Entamoeba histolytica* depends on activity of the galactose/N-acetyl_D_galactosamine_lectin.** International Journal of Parasitology., vol. 37, n. 3-4, p. 425-433, 2007.

BLESSMANN, J.; VAN, LP., NU, PAT., THI, HD., MULLER-MYHSOK, B., BUSS, H., TANNICH, E. **Epidemiology of amebiasis in a region of high incidence of amebic liver abscess in central Vietnam.** Am J Trop Med Hyg., vol. 66, n. 5, p.578-583, 2002.

BOURGEOIS, C.; GORWOOD, J.; BARRAIL-TRAN, A.; LAGATHU, C.; CAPEAU, J.; DESJARDINS, D.; LE GRAND, R.; DAMOUCHE, A.; BÉREZIAT, V. and LAMBOTTE, O. **Specific Biological Features of Adipose Tissue, and Their Impact on HIV Persistence.** Rev. Art. Front. Microbio., vol. 10, p.1-25, 2019.

BOUCHARD, C.A. **Epidemia da obesidade: Introdução.** In: Bouchard C. **Atividade física e obesidade.** Tradução: Dulce Marino. São Paulo: Manole. p. 3-22, 2003.

BRACHA, R.; MIRELMAN, D. **Adherence and ingestion of *Escherichia coli* serotype 055 by trophozoites of *Entamoeba histolytica*.** Infect Immun, vol. 40, n. 3, p. 882-887. 1983.

BRACHA, R.; NUCHAMOWITZ, Y.; LEIPPE, M.; MIRELMAN, D. **Antisense inhibition of amoebapore expression in *Entamoeba histolytica* causes a decrease in amoebic virulence.** Mol. Microbiol., vol. 34, n. 3, p. 463-472, 1999.

BRAGA, L.L.; NINOMIYA, H.; MCCOY, J.J.; EACKER, S.; WIEDMER, T.; PHAM, C.; SHEILA WOOD, S.; SIMS, P.J. AND PETRI Jr., W.A. **Inhibition of the complement membrane attack complex by the galactose-specific adhesion of *Entamoeba histolytica*.** J Clin Invest., vol. 90, n. 3, p. 1131-1137, 1992.

- BRAY, G.A.; KIM, K.K.; WILDING, J.P.H. **Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation.** *Obesity Rev.*, vol.18, n. 7, p.715–723, 2017.
- BROWN, R.A.; SETHI, K.K.; GWANMESIA I.; RAEMDONCK, D.; EASTWOOD, M.; MUDERA, V. **Enhanced Fibroblast Contraction of 3D Collagen Lattices and Integrin Expression by TGF- β 1 and β 3: Mechanoregulatory Growth Factors?** *Exp Cell Res.*, vol. 274, p. 310-322, 2002.
- BUDI, E.H; DUAN, D.; DERYNCK, R. **Transforming growth factor-beta receptors and smads: regulatory complexity and functional versatility.** *Trends Cell Biol.*, vol. 27, p. 658-672, 2017.
- BUEGE, J.A.; AUST, S.D. **Microsomal lipid peroxidation.** *Methods Enzymol.* vol. 52, p. 302- 10. 1978.
- BUZZETTI, E.; PINZANI, M.; TSOCHATZIS, E.A. **The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).** *Metabolism.*, vol. 65, n. 8, p. 1038–48, 2016.
- CACCIAPUOTI, F. **Oxidative stress as “mother” of many human diseases at strong clinical impact.** *J Cardiovasc Med Cardiol.*, vol. 3, p. 001–006, 2016.
- CAMPOS-GONGÓRA, E.; VIADER-SALVADÓ, J.M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, H.G.; ZUÑIGACHARLES, M.A.; GALINDO, J.M.; SAID-FERNÁNDEZ, S. **Mg, Mn, and Co ions enhance the formation of Entamoeba histolytica cyst-like structures resistant to sodium dodecyl sulfate.** *Arch Med Res.* Vol. 31, p. 162–8, 2000.
- CAMPOS-RODRIGUEZ, R.; JARILLO-LUNA, A. **The pathogenicity of Entamoeba histolytica is related to the capacity of evading innate immunity.** *Parasite Immunol.*, Oxford, v.27, p. 1-8, 2005.
- CAMPOS-RODRÍGUEZ, R.; GUTIÉRREZ-MEZA, M.; JARILLO-LUNA, R.A.; DRAGO-SERRANO, M.E.; ABARCA-ROJANO, E.; VENTURA-JUÁREZ, J.; CÁRDENAS-JARAMILLO, L.M.; PACHECO-YEPEZ, J. **A review of the proposed role of neutrophils in rodent amebic liver abscess models.** *Parasite*, vol.23, n.6, p. 1-14, 2016.
- CANTELLANO, M.E. & PALOMO, A.M. **Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease.** *Clinical Microbiology Rew.*, vol.13, n. 2, p. 318–331, 2000.
- CAROBIO S.; PELLEGRINELLI V.; VIDAL-PUIG A. **Adipose Tissue Function and Expandability as Determinants of Lipotoxicity and the Metabolic Syndrome.** *Adv Exp Med Biol.*, vol. 960, p.161-196, 2017.
- CARRERA, G. M., SADUN, E. H., FAUST, E. C. **The effect of protein deficient diets on the susceptibility of guinea pigs to infection with Entamoeba histolytica.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 1, p. 966-969, 1952.
- CARRERO, J.C.; CERVANTES-REBOLLEDO, C.; AGUILAR-DIAZ, H.; DIAZGALLARDO, M.Y.; LACLETTE, J.P.; MORALES-MONTOR, J. **The role of the secretory immune response in the infection by Entamoeba histolytica.** *Parasite Immunology*, vol.29, n. 7, p. 331-338, 2007.

CARRERO, J.C.; REYES-LOPEZ, M.; SERRANO-LUNA, J.; SHIBAYAMA, M.; UNZUETA, J.; LEÓN-SICAIROS, N.; GARZA, M. **Intestinal amoebiasis: 160 years of its first detection and still remain as a health problem in developing countries.** International Journal of Medical Microbiology, vol. 310, issue 1, 2020.

CARLSTEDT I.; HERRMANN A.; KARLSSON, H.; SHEEHAM, J.K.; FRANSSON L. AND HANSSON G.C. **Identification of Reduction-insensitive muc2 oligomers and c-terminal cleavage.** J. Biol.Chem., vol. 268, p. 18771 – 18781, 1993.

CARVALHO, P.H.; DAIBERT, A.P.F.; MONTEIRO, B.S.; OKANO, B.S.; CARVALHO, J.L.; CUNHA, D.N.Q.; FAVARATO, L.S.C.; PEREIRA, V.G.; AUGUSTO, L.E.F.; DEL CARLO, R.J. **Differentiation of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Into Cardiomyocytes.** Arq Bras Cardiol, 2012.

Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/abc/2012nahead/aop11412>

Acesso: 27 maio 2020.

CARVALHO, R.V.H.; SOARES, S.M.A.; GUALBERTO, A.C.M.; EVANGELISTA, G.C.M.; DUQUE, J.A.M.; FERREIRA, A.P.; MACEDO, J.C.; GAMEIRO, J. **Plasmodium berghei ANKA infection results in exacerbated immune responses from C57BL/6 mice displaying hypothalamic obesity.** Cytokine, vol. 76, p. 545-548, 2015.

CARVALHO, M.H.C.; COLAÇO, A.L.; FORTES, Z.B. **Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina.** Arq Bras Endocrinol. Metab. vol. 50, n. 2, p. 304-312, 2006.

CDC. **Centers for disease Control and prevention.**

Disponível em: <https://www.cdc.gov/DiseasesConditions/> Acesso: 10 março 2019.

CHADEE, K. and MEEROVITCH, E. **The pathogenesis of experimentally induced amebic liver abscess in the gerbil (*Meriones unguiculatus*).** The American Journal Phatology, vol. 117, n. 1, p. 71-80, 1984.

CHALASANI, N.; YOUNOSSI, Z.; LAVINE, J.E.; CHARLTON, M.; CUSI, K.; RINELLA, M.; HARRISON, S.A.; BRUNT, E.M.; SANYAL, A.J. **The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases.** Hepatology, vol.67, n. 1, p. 328-357, 2018.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. **Metabolismo no jejum, diabetes melito e trauma.** In: _____. *Bioquímica ilustrada.* 2ed. Porto Alegre: Artes Médicas, p. 297-308, 1996.

CHANG, DC, XU, X., FERRANTE, AW.; KRAKOFF, J. **Reduced plasma albumin predicts type 2 diabetes and is associated with greater adipose tissue macrophage content and activation.** *Diabetol Metab Syndr.*, vol. 11, n. 14, 2019.

CHAVES, A.C.P; SEIXAS FILHO, J.T.; DANTAS, M.M.L. **Revisão do mecanismo fisiopatológico da amebíase.** Revista Augustus, vol. 14, n. 29, p. 74-87, 2010.

Disponível em:

http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/artigos_teses/2011/ciencias/09revisao_mecanismo_fisiopatologico_amebiase.pdf

Acesso em: 20/01/2021.

CHO, J.; EICHINGER, D. **Crithidia fasciculata induces encystation of Entamoeba invadens in a galactose-dependent manner.** J Parasitol., vol. 84, n. 4, p.705–10, 1998.

CHO HM, KIM HC, LEE JM, OH SM, CHOI DP, SUH I. **The association between serum albumin levels and metabolic syndrome in a rural population of Korea.** J Prev Med Public Health., vol. 45, p. 98–104, 2012.

CHOO J, LEE J, CHO JH, BURKE LE, SEKIKAWA A, JAE SY. **Effects of weight management by exercise modes on markers of subclinical atherosclerosis and cardiometabolic profile among women with abdominal obesity: a randomized controlled trial.**BMC Cardiovasc Disord., vol. 14, n.82, 2014.

CHOOI, Y. C.; DING, C.; AND MAGKOS, F. **The epidemiology of obesity.** Metab., vol. 92, p. 6–10, 2019.

CIESLAK, P. R., H. W. VIRGIN, IV, AND S. L. STANLEY, JR. 1992. **A severe combined immunodeficient (SCID) mouse model for infection with Entamoeba histolytica.** J. Exp. Med., vol. 176, p.1605-1609, 1992.

CLARK, C.G.; AND L.S. DIAMOND. **Entamoeba histolytica: a method for isolate identification.** Exp. Parasitol., vol.77, n. 4, p. 450–455, 1993.

CLEMENTE-POSTIGO M, QUEIPO-ORTUNO MI, FERNANDEZ-GARCIA D, GOMEZ-HUELGAS R, TINAHONES FJ, CARDONA F. **Adipose tissue gene expression of factors related to lipid processing in obesity.** PLoS One, vol. 6, n. 9, e24783, 2011.

CODOÑER-FRANCH, P.; VALLS-BELLÉS, V.; ARILLA-CODOÑER, A.; ALONSO-IGLESIAS, E. **Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress.** Transl Res. vol.158, n. 6, p.369-84, 2011.

COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. **Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ.** Arch Med Sci., vol. 9, n. 2, p.191-200, 2013.

COHEN, G.; DEMBIEC, D.; MARCUS, J. **Measurement of Catalase Activity in Tissue Extracts.** Anal Biochem. Vol. 34, p. 30-38, 1970.

CONSIDINE, R.V.; SINHA, M.K.; HEIMAN, M.L.; KRIAUCIUNAS, A.; STEPHENS, T.W.; NYCE M.R.; OHANNESIAN, J.P.; MARCO, C.C.; McKEE, L.J.; BAUER, T.L.; CARO, J.F. **Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans.** N Engl J Med.; vol.334, n. 5, p. 292-5, 1996.

CONSIDINE, R.V. **Human leptin:** an adipocyte hormone with weightregulatory and endocrine functions. Semin Vasc Med., vol.5, p. 15-24, 2005.

CONSIDINE, R.V.; **Increased Serum Leptin Indicates Leptin Resistance in Obesity.** Clinical Chemistry, vol. 57, n. 10, p. 1461–1462, 2011.

CONTREGAS, G.A.; LEE, Y.H.; MOTTILLO, E.P.; GRANNEMAN, J.G. **Inducible brown adipocytes in subcutaneous inguinal White fat: the role of continuous sympathetic stimulation.** Am J. Physiol. Endocrinol. Metab., vol 307, n. 9, E 793- E-799, 2014

CORDEIRO, T.G.P. & MACEDO, H.W. **Amebíase**. Revista De Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology, vol.36, n. 2, p. 119-128, 2007.

CORDEIRO, T.G.P. **Modelo experimental para o estudo da virulência de cepas de *Entamoeba histolytica/Entamoeba díspar***. Dissertação de Mestrado (Patologia Investigativa – Programa de Pós-graduação em Patologia) – Universidade Federal Fluminense. Orientadoras: Heloisa Werneck de Macedo e Maria Angélica Guzmán-Silva Bibliografia: f. 95 - 104, 2008.

CORRÊA, M. O. A. **Adolpho Lutz, Protozoologista**. Revista do Instituto Adolpho Lutz – Número Comemorativo do Centenário de Adolpho Lutz, vol. 15, p. 7-235, 1955. Disponível em:

http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/50/rial-151-2_1955/rial151-2_completa.pdf. Acesso: 16 junho 2020.

COSTA, C. A. X.; FONSECA, T. H. S.; OLIVEIRA, F. M. S.; SANTOS, J. F. G.; GOMES, M. A.; CALIARI, M. V. **Influence of inflammation on parasitism and area of experimental amoebic liver abscess: An immunohistochemical and morphometric study**. Parasites & Vectors, vol. 4, n. 27, p. 1-7, 2011.

COUNCILMAN, W.T. & LA FLEUR, H.A.: **Amoebic dysentery**, 1891. Bull. Johns HopKins Hosp. Rep.; vol.2, n. 79, p. 395-548, pls 1-7. Bulletin, ed. 39, partes 1-5.

COUTINHO W. **Etiologia da obesidade: revisão**. São Paulo: ABESO, 2011. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/18/552fea46a6bb6.pdf>. Acesso: 26 fevereiro 2019.

CROWE, J.; LUMB, F. E.; HARNETT, M. M. & HARNETT, W. **Parasite excretory-secretory products and their effects on metabolic syndrome**. Parasite Immunology, vol.39, n. 5, e12410, 2017.

CRUZ-BAQUERO, A.; CÁRDENAS JARAMILLO, L.M.; GUTIÉRREZ-MEZA, M.; JARILLO-LUNA, R.A.; CAMPOSRODRÍGUEZ, R.; RIVERA-AGUILAR, V.; MILIAR-GARCIA, A.; YEPEZ, J.P. **Different behavior of myeloperoxidase in two rodent amoebic liver abscess models**. PLoS ONE; vol.12, n. 8. e0182480, 2017.

CURAT, C.A.; MIRANVILLE, A.; SENGES, C.; DIEHL, M.; TONUS, C.; BUSSE, R.; BOULOUMIÉ, A. **From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes**. Diabetes; vol.53, n. 5, p.1285-1292, 2004.

DALLY J, KHAN J.S.; VOISEY A.; CHARALAMBOUS C.; JOHN H.L.; WOODS E.L.; STEADMAN, R.; MOSELEY R.; MIDGLEY A.C. **Hepatocyte growth factor mediates enhanced wound healing responses and resistance to transforming growth factor- β 1 - driven myofibroblast differentiation in oral mucosal fibroblasts**. Int J Mol Sci; vol.18, n. 9, p. 1843, 2017.

DALLI, J. & SERHAN, C. N. **Specific lipid mediator signatures of human phagocytes: microparticles stimulate macrophage efferocytosis and pro-resolving mediators**. Blood, vol.120, e60–e72, 2012.

DARYABOR, G.; KABELITZ, D.; KALANTAR, K. **UN Update on Immune Dysregulation in Obesity-related Insulin Resistance**. Immunology, vol. 89, E12747, 2018.

DAVIS P.H.; ZHANG X.; GUO J.; TOWNSEND R.R.; STANLEY S.L. JR. **Comparative proteomic analysis of two *Entamoeba histolytica* strains with different virulence phenotypes identifies peroxiredoxin as an important component of amoebic virulence**. Mol Microbio; vol. 61, n. 6, p. 1523–1532. 2006.

DE CARLI, G.A. **Parasitologia Clínica**. 2ª ed., São Paulo: Editora Atheneu, 2011.

DEFRONZO, R.A.; FERRANNINI, E.; GROOP, L.; HENRY, R.R.; HERMAN, W.H.; HOLST, J.J.; HU, B.H.; KAHN, C.R.; RAZ, I.; SHULMAN, G.I.; SIMONSON, D.C.; TESTA, M.A.; WEISS, R. **Type 2 Diabetes Mellitus**. Nat Ver Dis Primers; vol.23, n. 1, p. 15019, 2015.

DENIS M.; CHADEE K. **Human neutrophils activated by interferon-gamma and tumour necrosis factor-alpha kill *Entamoeba histolytica* trophozoites in vitro**. J Leukoc. Biol.; vol.46, n. 3, p. 270–274, 1989.

DIAMOND, L.S. **Axenic Cultivation of *Entamoeba histolytica***. Science, vol.134, n. 3475, p. 336-367, 1961.

DIAMOND, L.S. **Improved method for the monoxenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 and *E. histolytica*-like amoebae with trypanosomatids**. Journal of Parasitology, vol.54, n. 4, p.715-719, 1968.

DIAMOND, L.S.; HARLOW, D.R.; PHILLIPS, B.P.; KEISTER, D.B. ***Entamoeba histolytica*: iron and nutritional immunity**. Arch. Invest. Med. (Mex.), vol. 9, n. 1, p. 329-338, 1978.

DIAMOND, L.S. **Amebiasis: Nutritional Implications**. Rev. Infec. Dis.; vol.4, n. 4, p. 843-50, 1982.

DIAMOND, L.S. & CLARK, C.G. **A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925**. J Eukaryot Microbiol.; vol. 40, n. 3, p.340-4, 1993.

DIAMOND protozoan. PINILLA, A. E.; LÓPEZ, M.C.; VIASUS, D.F. **Historia del protozoo *Entamoeba histolytica***. Revista Medica de Chile, vol. 136, n. 1, p. 118-24, 2008.

DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES 2019-2020. **Sociedade Brasileira de Diabetes**. Clanad - Ed. Científica, p. 011-485, 2019. Disponível: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/DIRETRIZES-COMPLETA-2019-2020.pdf> Acesso: 02 dez. 2020.

DIXON, L.J.; BARNES, M.; TANG, H.; PRITCHARD, M.T.; NAGY, L.E. **Kupffer cells in the liver**. Compr Physiol., vol. 3, n. 2, p. 785–97, 2013.

DJOSSOU, F.; MALVY, D.; TAMBOURA, M.; BEYLOT, J.; LAMOULIATTE, H.; LONGY-BOURSIE, M.; LE BRAS, M. **Amoebic liver abscess. Study of 20 cases with literature review**. La Revue de Médecine Interne.; vol.24, n. 2, p.97–106, 2003.

DOBNER, J.; KASER, K. **Body mass index and the risk of infection - from underweight to obesity.** European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 24, p. 24-28, 2018.

DROGE, W. **Radicais livres no controle fisiológico da função celular.** Revisões fisiológicas, vol. 82, p. 47–95, 2002.

DROPMANN, A.; DEDIULIA, T.; BREITKOPF-HEINLEIN, K.; KORHONEN, H.; JANICOT, M.; WEBER, S.N.; THOMAS, M.; PIIPER, A.; BERTRAN, E.; FABREGAT, I.; ABSHAGEN, K.; HESS, J.; ANGEL, P.; COULOUARN, C.; DOOLEY, S.; & MEINDL-BEINKER, N.M. **TGF- β 1 and TGF- β 2 abundance in liver diseases of mice and men.** *Oncotarget*, vol. 7, n. 15, p. 19499–19518, 2016.

DUGGAL, P.; HAQUE, R.; ROY, S.; MONDAL, D.; SACK, R.B.; FARR, B.M.; BEATY, T.H.; PETRI Jr, W.A. **Influence of human leukocyte antigen class II alleles on susceptibility to *Entamoeba histolytica* infection in Bangladeshi children.** *J Infect Dis*; vol.189, n. 3, p.520–526, 2004.

ECKEL, R.H.; GRUNDY, S.M.; ZIMMET, P.Z. **The metabolic syndrome.** *Lancet*, vol. 365, n. 9468, p. 1415-28, 2005.

EL-HASCHIMI, K.; PIERROZ, D.D.; HILEMAN, S.M.; BJORBAEK, C.; FLIER, J.S. **Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity.** *J Clin Invest*; vol.105, n. 12, p.1827–1832, 2000.

ESPOSITO, K.; GIUGLIANO, D. **Diet and inflammation: a link to metabolic and cardiovascular diseases.** *Eur Heart J.*, vol. 27, n. 1, p.15-20, 2006.

EKNOYAN, G. A. **History of Obesity, or How What Was Good Became Ugly and Then Bad.** *Advances in Chronic Kidney Disease*, vol. 13, n. 4, p.421-427, 2006.

EXLEY, M.A.; HAND, L.; O'SHEA, D. AND LYNCH, L. **Interplay Between the Immune System and Adipose Tissue in Obesity.** *Rev. J. Endocr.*, vol. 223, n. 2, p. 41-48, 2014.

FAUCHER, J.F.; MILAMA, E.N.; MISSINOU, M.A.; KOMBILA, R.N.M.; KREMSNER, P.G. **The impact of malaria on common lipid parameters.** *Parasitol Res.*, vol. 88, p. 1040–1043. 2002.

FAUST, EC. **Some Modern Conceptions of Amebiasis.** *Science*; vol.99, p.45-51, 1994.

FERRANDO, A.A.; SHEFFIELD-MOORE, M.; WOLF, S.E.; HERNDON, D.N.; WOLFE, R.R. **Testosterone administration in severe burns ameliorates muscle catabolism.** *Crit Care Med.*, vol. 29, p. 1936-42, 2001.

FERRANTE JR, A.W. **Obesity – induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation.** *Journal of Internal Medicine* vol: 262, n. 4, p.408-14, 2007.

FERREIRA, A.V.M., SEGATTO, M., MENEZES, Z., MACEDO, A.M., GELAPE, C., ANDRADE, L.O., NAGAJYOTHI, F., SCHERER, P.E., TEIXEIRA, M.M. AND

TANOWITZ, H. **Evidence for trypanosoma cruzi in adipose tissue in human chronic chagas disease.** *Microbes infect.*, vol. 13, p. 1002-1005, 2011.

FERREIRA, C.B. & MARÇAL-JÚNIOR, O. **Intestinal parasitic infections among schoolchildren Martinésia district, Uberlândia-MG: A pilot study.** *Rev Soc Bras Med Trop.*, vol. 30, p. 373-7, 1997.

FERREIRA, A.L.A., MATSUBARA, L.S. **Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo.** *Assoc. Med. Bras.*, vol. 43, n.1, p. 61-68, 1997.

FLYNN, T. **The Body in Three Dimensions.** New York, NY, Abrams, 1998.

FONSECA, J.F. **Efeito Probiótico de Weissella paramesenteroides WpK4 na Infecção Experimental com Giardia lamblia em Gerbils (Meriones unguiculatus).** Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. Programa de Pós-graduação do Departamento de Parasitologia. Orientadora-Dra. Maria Aparecida Gomes. 2019.

FORONJY, R.F.; MAJKA, S.M. **The potential for resident lung mesenchymal stem cells to promote functional tissue regeneration: understanding microenvironmental cues.** *Cells.* vol.1, n. 4, p.874, 2012.

FOSTER, M.T.; SHI, H.; SEELEY, R.J.; WOODS, S.C. **Removal of Intra-abdominal Visceral Adipose Tissue Improves Glucose Tolerance in Rats: Role of Hepatic Triglyceride Storage.** *Physiol Behav.*, vol.104, n. 5, p.845–854, 2011.

FOTEDAR, R.; STARK, D.; MARRIOTT, D.; ELLIS, J AND HARKNESS, J. **Entamoeba moshkovskii infections in Sydney, Australia.** *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, vol.27, p.133–137, 2008.

FOTEDAR, R.; STARK, D.; BEEBE, N.; MARRIOT, D.; ELLIS, J.; HARKNESS, J. **Laboratory Diagnostic Techniques for Entamoeba Species.** *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 20, n. 3, p. 511-532, 2007.

FOTIA, C.; MASSA, A.; BORIANI, F.; BALDINI, N., & GRANCHI, D. **Hypoxia enhances proliferation and stemness of human adipose-derived mesenchymal stem cells.** *Cytotechnology*, vol.67, n. 6, 2015.

FRANCISQUETI, F.V.; NASCIMENTO, A.F.; CORRÊA, C.R.; **Obesidade, inflamação e complicações metabólicas.** *Nutrire*, vol.40, n. 1, p.81-89, 2015.

FLORES, M.S.; CÁRDENAS, A.O.; TAMEZ, E.†; RODRÍGUEZ, E.†; ARÉVALO, K.; QUINTERO, I.; TIJERINA, R.†; BOSQUES, F.† AND GALÁN, L. **Hypocholesterolemia in Patients with an Amebic Liver Abscess.** *Gut and Liver*, vol. 8, n. 4, p. 415-420, 2014.

FRANCISQUETI, F.V.; NASCIMENTO, A.F.; CORRÊA, C.R. **Obesidade, inflamação e complicações metabólicas.** *Nutrire*, vol. 40, n. 1, p. 81-89, 2015.

FRIEDENSTEIN, A.J.; GORSKAJA, J.F.; KULAGINA, N.N. **Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs.** *Exp Hematol.*, vol.4, n. 5, p.267-274, 1976.

FRIJHOFF J., WINYARD P.G., ZARKOVIC N., DAVIES S.S., STOCKER R., CHENG D., KNIGHT A.R., TAYLOR E.L., OETTRICH J., RUSKOVSKA T., GASPAROVIC A.C., CUADRADO A., WEBER D., POULSEN H.E., GRUNE T., SCHMIDT H.H., GHEZZI P. **Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress**. *Antioxid. Redox Signal*, vol. 23, n. 14, p.1144–1170, 2015.

FROMENTY, B.; ROBIN, M.A.; IGOUDJIL, A.; MANSOURI, A., PASSAYRE, D. **The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH**. *Diabetes Metab.*, vol. 30, n. 2, p. 121-38, 2004.

FRUHBECK, G. **Overview of adipose tissue and its role in obesity and metabolic disorders**. *Methods Mol Biol.*, vol. 456, p.1-22, 2008.

FRUH, S. **Obesity**: Risk factors, complications, and strategies for sustainable long-term weight management. *J Am Assoc Nurse Pract.*, S3–S14, 2017.

FU, Z.; GILBERT, E. R.; AND LIU, D. **Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes**. *Curr. Diabetes Rev.* 9, 25–53, 2013.

FURUKAWA, S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. **Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome**. *J Clin Invest.*, vol. 114, n. 12, p. 1752-1761, 2004.

GABUZA, K.B., SIBUYI, N.R.S., MOBO, M.P.; MADIEHE, A.M. **Differentially expressed serum proteins from obese Wistar rats as a risk factor for obesity-induced diseases**. *Sci Rep*, vol. 10, n. 12415, 2020.

GATHIRAM, V. and JACKSON, T.F.H.G. **A longitudinal study of asymptomatic carriers of pathogenic zymodemes of *Entamoeba histolytica***. *South African Med. J.*, vol.72, p.669–672, 1987.

GHIGLIOTTI, G.; BARISIONE, C.; GARIBALDI, S.; FABBI, P.; BRUNELLI, C.; SPALLAROSSA, P.; ALTIERE, P.; ROSA, G.; SPINELLA, G.; PALOMBO, D.; ARSENECO, R.; ARSENECO, V. **Adipose tissue immune response: novel triggers and consequences for chronic inflammatory conditions**. *Inflammation*. Vol. 37, n. 4, p. 1337–53, 2014.

GIL, F.F.; BUSATTI, H.G.; CRUZ, V.L.; SANTOS, J.F.; GOMES, M.A. **High prevalence of enteroparasitosis in urban slums of Belo Horizonte-Brazil. Presence of enteroparasites as a risk factor in the family group**. *Pathog Glob Health*, vol.107, p. 320-4, 2013.

GIL, F.F. **Perfil Bioquímico, Hematológico e Imunológico de gerbils (*Meriones unguiculatus*) experimentalmente infectados por *Giardia lamblia***. Tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 115 págs., 2016.

Disponível:

<https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD->

[AHRPUL/1/241116__corre__es_portugu_s_vers_o_final_para_impres_o_tese__fred_gil.pdf](https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD-AHRPUL/1/241116__corre__es_portugu_s_vers_o_final_para_impres_o_tese__fred_gil.pdf)

Acesso: 20/nov./2019.

GIORGIO, A.; ESPOSITO, V.; FARELLA, N.; DI SARNO A., LIORRE, G.; DE STEFANO, M.; GIORGIO, V. and DE STEFANO, G. **Amebic Liver Abscesses: A New Epidemiological Trend in a Non-endemic Area?** In Vivo. Inter J Exper Clin Pathophy and Drug Resear, vol 23, n. 6, p.1027-1030, 2009.

GUAN, Y., FENG, M., MIN, X., ZHOU, H., FU, Y., TACHIBANA, H., & CHENG, X. **Characteristics of inflammatory reactions during development of liver abscess in hamsters inoculated with *Entamoeba nuttalli*.** PLoS neglected tropical diseases, vol. 12, n. 2, e0006216, 2018.

GOMES, M. A.; PESQUERO, J. B.; FURST, C.; VALLE, P. R., J. L.; PESQUERO, J. L.; AND SILVA, E. F. **An improved method to distinguish *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*.** Parasitology, vol. 119, n. 4, p.359–362, 1999.

GÖTHERSTRÖM, C.; RINGDÉN, O.; WESTGREN, M.; TAMMIK, C.; LE BLANC, K. **Immunomodulatory effects of human foetal liver-derived mesenchymal stem cells** [published correction appears in Bone Marrow Transplant. 2004 3(11):1167]. Bone Marrow Transplant., vol. 32, n. 3 p. 265-272, 2003.

GRAINGER D. J., HEATHCOTE K., CHIANO M., SNIEDER H., KEMP P. R., METCALFE J. C., CARTER N. D., SPECTOR T. D. **Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta1.** Human Molecular Genetics, vol. 8, p. 93–97, 1999.

GRANDALL, D.L.; HAUSMAN, G.J.; KRAL, J.G. U. **A Review of the Microcirculation of Adipose Tissue: Anatomic, metabolic and angiogenic perspectives.** Microcirculation, vol. 4, n.2, p. 211- 32, 1997.

GRANT, R.W.; DIXIT, V.D. **Adipose tissue as an immunological organ.** Obesity (Silver Spring), vol. 23, n. 3, p. 512-518, 2015.

GRAY, S.L.; VIDAL-PUIG, A.J. **Adipose tissue expandability in the maintenance of metabolic homeostasis.** Nutr Rev., vol. 65(6 Pt 2), p. S7-12, 2007.

GREGOR, M.F.; HOTAMISLIGIL, G.S. **Inflammatory mechanisms in obesity.** Annu Rev Immunol., vol. 29, n. 1, p. 415-45, 2011.

GRUZDEVA, O.; BORODKINA, D.; UCHASOVA, E.; DYLEVA. Y.; BARBARASH, O. **Leptin resistance: underlying mechanisms and diagnosis.** Diabetes Metab Syndr Obes., vol. 12, p.191-198, 2019.

GUERRANT, R.L.; BRUSH, J.; RAVDIN, J.I.; SULLIVAN, J.A.; MANDELL, G.L.; Interaction between *Entamoeba histolytica* and human polymorphonuclear neutrophils. J Infect., vol.143, n. 1, p. 83–93, 1981.

GUILHERME, A., SIUS, J.V.V.; PURI, V. AND CZECH, M.P. **Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes.** Nat Rev Mol Cell Bio., vol. 9, n. 5, p. 367-377, 2008.

GUPTA, R.K.; MEPANI, R.J.; KLEINER, S.; LO, J.C.; KHANDEKAR, M.J.; COHEN, P.; FRONTINI, A.; BHOWMICK, D.C.; YE, L.; CINTI, S. and SPIEGELMAN, B.M. (2012).

Zfp423 **Expression Identifies Committed Preadipocytes and Localizes to Adipose Endothelial and Perivascular Cells.** Cell Metabolism, vol. 15, n. 2, p. 230–239, 2012.

HALBERG, N.; WERNSTEDT-ASTERHOLM, I.; SCHERER, P.E. **The adipocyte as an endocrine cell.** Endocrinol Metab Clin North Am, vol. 37, n. 3, p. 753–768, 2008.

HALBERG, N.; KHAN, T.; TRUJILLO, M.E.; WERNSTEDT-ASTERHOLM, I.; ATTIE, A.D.; SHERWANI, S.; WANG, Z.V.; LANDSKRONER-EIGER, S.; DINEEN, S.; MAGALANG, U.J.; BREKKEN, R.A. AND SCHERER, P.E. **Hypoxia-Inducible Factor 1 Induces Fibrosis and Insulin Resistance in White Adipose Tissue.** Biologia Molecular e Celular, VOL. 29, n. 16, p.4467-4483, 2009.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in Biology & Medicine.** Oxford: Clarendon Press, fifth ed., p. 543, 1989.

HAM, V.L.; DUONG, M.H.; PHAM, N.H. **Amebic abscess of the liver: ultrasound-guided puncture.** Ann Chir, vol. 50, n. 4, p. 340-343, 1996.

HAN, M.S.; WHITE, A.; PERRY, R.J.; CAMPOREZ, J.P.; HIDALGO, J.; SHULMAN, G.I. AND DAVIS, R.J. **Regulation of adipose tissue inflammation by interleukin 6.** PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 117, n. 6, p. 2751-2760, 2020.

HAQQANI, A.S.; SANDAHU, J.K.; BIRNBOIM, H.C. **A myeloperoxidase-specific assay based on bromide-dependent chemiluminescence of luminol.** Anal Biochem., vol. 273, p. 126-132, 1999.

HAQUE, R.; MONDAL, D.; SHU, J.; ROY, S.; KABIR, M.; ALAM, K.; DAVIS, A.N.; DUGGAL, P.; PETRI JR, W. **Correlation of interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells with childhood malnutrition and susceptibility to amebiasis.** Am J Trop Med Hyg, vol.76, n. 2, p. 340-344, 2007.

HAQUE, R.; HUSTON, C.D.; HUGHES, M.; HOUP, E.; AND PETRI JR W.A. **Amebiasis.** North England J. Med., vol. 348(16), p. 1565–1573, 2003.

HAQUE, R.; MOLLAH, N.U.; ALI, I.K.M.; ALAM, K.; EUBANKS, A.; LYERLY, D.; PETRI, W.A. **Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II antigen detection and antibody tests.** J Clin Microbiol, vol.38, n. 9, p. 3235-3239, 2000.

HARIRI, N.; THIBAUT, L. **Obesidade induzida por dieta rica em gordura em modelos animais.** Nutr. Res. Rev., vol. 23, p. 270-299, 2010.

HARFORD, K.A.; REYNOLDS, C.M.; MCGILLICUDDY, F.C. AND ROCHE, H.M. **Fats, inflammation and insulin resistance: insights to the role of macrophage and T-cell accumulation in adipose tissue.** Irish Section Postgraduate Symposium. Proceedings of the Nutrition Society, vol. 70, p. 408–417, 2011.

HAUSMAN, D.B.; DIGIROLAMO, M.; BARTNESS, T.J.; HAUSMAN, G.J.; MARTIN, R.J. **The biology of white adipocyte proliferation.** Obes Rev., vol. 2, n. 4, p. 239-254, 2001.

HEATLEY, J.J; RUSSELL, K.E. **Exotic Animal Laboratory Diagnosis**. Hamsters and Gerbils, ed. Wiley Blackwell, 2020 by Mc KEON, G.P.; NOGAMINE, C.M. & FELT, S.A. cap. 7, p. 113-127.

Disponível:

<https://books.google.com.br/books?id=liXMDwAAQBAJ&pg=PA121&lpg=PA121&dq=valores+normais+de+proteina+total+em+gerbils&source=bl&ots=LWumnzHeEQ&sig=ACfU3U3C9z8QHy9wJMO3gHSigIREEOlr6g&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwjrmqi1PvtAhVQI7kGHdXNB7s4ChDoATAOegQIBhAC#v=onepage&q=valores%20normais%20de%20proteina%20total%20em%20gerbils&f=false>
Acesso em: 02/01/2020.

HEIDARPOUR M, SOLTANI S, MOHRI M, KHOSHNEGAH J. **Canine visceral leishmaniasis: relationships between oxidative stress, liver and kidney variables, trace elements, and clinical status**. Parasitol Res., vol. 111, n. 4, p. 1491-6, 2012.

HEIDARPOUR M, MOHRI M, BORJI H, MOGHDASS E. **Oxidant/antioxidant balance and trace elements status in sheep with liver cystic echinococcosis**. Comp Clin Pathol., vol. 22, n. 6, p. 1043–9, 2013.

HEILBRONN, L. K., AND LIU, B. **Do ATMs promote IR or AT remodelling in humans?** Horm. Mol. Biol. Clin. Investig. 20, 3–13, 2014.

HELK E, BERNIN H, ERNST T, ITTRICH H, JACOBS T, HEEREN J, TACKE F, TANNICH E, LOTTER H. **TNF α -mediated liver destruction by Kupffer cells and Ly6Chi monocytes during *Entamoeba histolytica* infection**. PLoS Pathog., vol. 9, n. 1 :e1003096, 2013.

HERRMANN, A.; DAVIES, J. R.; LINDELL, G.; MARTENSSON, S.; PACKER, N. H.; SWALLOW, D. M.; CARLSTEDT, I. Studies on the “**Insoluble**” **Glycoprotein Complex from Human Colon**. J. Biol. Chem., vol. 274, n. 22, p. 15828 – 15836, 1999.

HERDER C, PELTONEN M, KOENIG W, SÜTFELS K, LINDSTRÖM J, MARTIN S, ILANNE-PARIKKA P, ERIKSSON JG, AUNOLA S, KEINÄNEN-KIUKAANNIEMI S, VALLE TT, UUSITUPA M, KOLB H, TUOMILEHTO J, FINNISH. **Anti-inflammatory effect of lifestyle changes in the Finnish Diabetes Prevention Study**. Diabetes Prevention Study Group. Diabetologia., vol. 52, n. 3, p. 433-42, 2009.

HO, Y.S.; XIONG, Y.; MA, W.; SPECTOR, A.; HO, D.S. **Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury**. J Biol Chem., vol. 279, n. 31, p. 32804- 32812, 2004.

HOCKING, S. L., STEWART, R. L., BRANDON, A.E. et al. **Subcutaneous Fat Transplantation Alleviates diet-induced glucose intolerance and inflammation in mice**. Diabetologia, vol 58, p. 1587-1600. 2015.

HYLDIG, K.; RIIS, S.; PENNISI, C.P.; ZACHAR, V.; FINK, T. **Implications of Extracellular Matrix Production by Adipose Tissue-Derived Stem Cells for Development of Wound Healing Therapies**. Int J Mol Sci., vol.18, n. 6, p.1167, 2017.

HOTAMISLIGIL, GS. **Inflammation and Metabolic disorders**. Nature Med., vol. 444, p. 860 – 867, 2006.

HOUPT, E. E.; BARROSO, L.; LOCKHART, L.; WRIGHT, P.; CRAMER, C.; LYERLY, D.; PETRI, W.A. **Prevention of intestinal amebiasis by vaccination with the *Entamoeba histolytica* Gal/GalNac lectin.** *Vaccine*, vol. 22, n. (5-6), p. 611–617, 2004.

HUSTON, C.D.; BOETTNER, D.R.; MILLER-SIMS, V.; PETRI Jr, W.A. **Apoptotic killing and phagocytosis of host cells by the Parasite *Entamoeba histolytica*.** *Infect. Immun.*, Washington, vol. 71, n. 2, p. 964-972, 2003.

HUSTON, C.D. **Parasite and host contributions to the pathogenesis of amebic colitis.** *Trends in Parasitology*, vol. 20, n. 1, p. 23-26, 2004.

HUGHES, M. A.; PETRI, W. A. **Amebic liver abscess.** *Infect Dis Clin North Am*, vol. 14, n. 3, p. 565-82, 2000.

HUXLEY, R.; MENDIS, S.; ZHELEZNYAKOV, E.; REDDY, S.; CHAN, J. **Body mass index, waist circumference and waist: hip ratio as predictors of cardiovascular risk--a review of the literature.** *Eur J Clin Nutr.*, vol.64, n. 1, p.16-22, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008- 2009** [Internet]. Brasília; 2009 [Citado 2019 Mar 9]. Disponível em: https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009/default.sh tm. Acesso: 9 março 2019.

ILLESCA, P.G.; ÁLVAREZ, S.M.; SELENSCIG, D.A.; FERREIRA, M.D.R.; GIMÉNEZ, M.S.; LOMBARDO, Y.B. **Dietary soy protein improves adipose tissue dysfunction by modulating parameters related with oxidative stress in dyslipidemic insulin-resistant rats.** *Biomed Pharmacother*, vol.88, p.1008–1015, 2017.

IMPERATO, P.J. **A historical overview of amebiasis.** *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, vol. 57, n. 3, p. 175-187, 1981.

JACOBY, E.R. **PAHO regional consultation of the Americas on diet, physical activity and health.** *Food Nutr Bull*, vol. 25, n. 2, p. 172-4, 2004.

JACKSON, T. F. ***Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* are distinct species; clinical, epidemiological and serological evidence.** *International Journal for Parasitology*, Oxford, vol.28, n. 1, p.181-186, 1998.

JAESCHKE, H.; HO Y.S.; FISHER, M.A.; LAWSON, J.A.; FARHOOD, A. **Glutathione peroxidase-deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia: importance of an intracellular oxidant stress.** *Hepatology*, vol. 29, n. 2, p. 443-50, 1999.

JAGER J, APARICIO-VERGARA M, AOUADI M. **Liver innate immune cells and insulin resistance: the multiple facets of Kupffer cells.** *J Intern Med.*, vol. 280, n. 2, p. 209–20, 2016.

JAMES, A.M.; COLLINS, I.; LOGAN, A.; MURPHY, M.P. **Mitochondrial oxidative stress and the metabolic syndrome.** *Trends in Endocrinology&Metabolism*, vol.23, n.9, p. 429-434, 2012.

JANG. Y.; KOH. Y.G.; CHOI, Y.J.; KIM, S.H.; YOON, D.S.; LEE, M.; LEE, J.W. **Characterization of adipose tissue-derived stromal vascular fraction for clinical application to cartilage regeneration.** In *Vitro Cell Dev Biol Anim.*, vol.51, n. 2, p.142-150, 2015.

JARILLO-LUNA RA, CAMPOS-RODRÍGUEZ R, TSUTSUMI V. ***Entamoeba histolytica*: immunohistochemical study of hepatic amoebiasis in mouse. Neutrophils and nitric oxide as possible factors of resistance.** *Exp Parasitol.*, vol. 101, n.1, p.:40-56, 2002.

JASTREBOFF, A.M.; KOTZ, C.M.; KAHAN, S.; KELLY, A.S; HEYMSFIELD, S.B.; **Obesity as a disease: the obesity society 2018 position statement.** *Obesity (Silver Spring)*, vol. 27, n. 1, p. 7-9, 2019.

JELINEK, T.; PEYERL, G.; LÖSCHER, T.; NOTHDURFT, H.D. **Evaluation of an antigen-capture enzyme immunoassay for detection of *Entamoeba histolytica* in stool samples.** *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 15, n. 9, p. 752-755, 1996.

JÚNIOR, M.F.; BATISTA, S.A.; BARBUTO, R.C.; GOMES, A.D.; QUEIROZ, D.M.; ARAÚJO, I.D.; CALIARI, M.V. **CagA-positive *Leliobacter pylori* strain containing three EPIYA C phosphorylation sites produces increase of G cell and decrease of G cell in experimentally infected gerbils (*Meriones unguiculatus*).** *Advances in Medical Sciences*, vol. 61, n. 2, p. 231-236, 2016.

KAHRAMAN, C.; ALVER, A.; AKÇA, I.I.; RENDI, T.A.; SAĞLAM, N. **The Effects of High-Fat Diets on The Oxidative Stress in Adipose Tissue in Rats, Whose Retroperitoneal Adipose Tissues are Denervated.** *Sdü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, vol. 9, n.2, p. 85-89, 2018. Disponível: <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/541189> Acesso: 22/11/2020.

KAIN, H.S.; GLENNON, E.K.K.; VIJAYAN, K.; ARANG, N.; DOUGLASS, A.N.; FORTIN, C.L.; ZUCK, M.; LEWIS, A.J.; WHITESIDE, S.L.; DUDGEON, D.R.; JOHNSON, J.S.; ADEREM, A.; STEVENS, K.R.; KAUSHANSKY, A. **Liver stage malaria infection is controlled by host regulators of lipid peroxidation.** *Cell Death & Differentiation*, vol. 27, p. 44–54, 2020.

KAKIMOTO, P.A.; KOWALTOWSKI, A.J. **Effects of high fat diets on rodent liver bioenergetics and oxidative imbalance.** *Redox Biology*, vol.8, p. 216-225, 2016.

KANNATHASAN, S.; MURUGANANTHAN, A.; KUMANAN, T.; DE SILVA, NR.; RAJESHKANNAN, N.; HAQUE, R.; IDDAWELA, D. **Epidemiology and factors associated with amoebic liver abscess in northern Sri Lanka.** *BMC Public Health.*, n. 118, 2018.

KANG K, REILLY SM, KARABACAK V, GANGL MR, FITZGERALD K, HATANO B, LEE, C.H. **Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPARdelta regulate macrophage polarization and insulin sensitivity.** *Cell Metab.*, VOL. 7, n. 6, p. 485–95, 2008.

KANNATHASAN, S., MURUGANANTHAN, A., KUMANAN, T., DE SILVA, N. R., RAJESHKANNAN, N., HAQUE, R., & IDDAWELA, D. **Epidemiology and factors**

associated with amoebic liver abscess in northern Sri Lanka. BMC public health, vol. 18, n. 1, p. 118. 2018.

KARLSSON, E.A.; SHERIDAN, P.A.; BECK, M.A. **Diet-induced obesity impairs the T cell memory response to influenza virus infection.** J Immunol, vol. 184, p. 3127–3133, 2010.

KARTULIS, S. **Zur Aetiologie der Dysenterie in Aegypten.** Arch. f. Path. Anat. /05:521-31, 1886.

KATZENSTEIN, D.; RICKERSON, V.; BRAUDE, A. **New Concepts amebiac liver abscesso derived from hepatic imaging, serodiagnosis and hepatic enzymes in 67 consecutive cases in San Diego.** Medicine (Baltimore), vol. 61, n. 4, p. 237-246, 1982.

KATAKURA T, MIYAZAKI M, KOBAYASHI M, HERNDON DN, SUZUKI F. **CCL17 and IL-10 as effectors that enable alternatively activated macrophages to inhibit the generation of classically activated macrophages.** J Immunol., vol. 172, n. 3, p. 1407-13, 2004.

KEAN, B. H.; MOTT, K. E. AND RUSSELL, A. J. Löscher, F. A. **Massive development of amoebae in the large intestine (Massenhafte Entwicklung von Amöben im Dickdarm) (Translation);** in tropical medicine and parasitology, classic investigations (New York: Cornell University Press), vol. 1, p. 71–79, 1978.

KEMP, P.R.; GRIFFITHS, M.; POLKEY, M.I. **Muscle wasting in the presence of disease, why is it so variable?** Biol. Rev. Camb. Philos. Soc., vol. 94, p. 1038-1055, 2019.

KHAN, A.A.; ALSAHLI, M.A.; RAHMANI, A.H.; Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. Med Sci (Basel). Vol. 6, n. 2, p. 33, 2018.

KIM, S. & KANG, S. **Serum Albumin Levels: A Simple Answer to a Complex Problem? Are We on the Right Track of Assessing Metabolic Syndrome?** Endocrinol Metab., vol.28, p.17-19, 2013.

KITAMOTO, K.; MACHIDA, Y; UCHIDA, J; IZUMI, Y.; SHIOTA, M.N. et al. **Effects of liposome clodronate on renal leukocyte populations and renal fibrosis in murine obstructive nephropathy.** Journal Pharmacology Science, vol.111, p.285– 292, 2009.

KLIMCAKOVA, E.; POLAK. J.; MORO. C.; HEJNOVA. J.; MAJERCIK, M.; VIGUERIE, N.; BERLAN, M.; LANGIN, D.; STICH, V. **Dynamic strength training improves insulin sensitivity without altering plasma levels and gene expression of adipokines in subcutaneous adipose tissue in obese men.** J Clin Endocrinol Metab., vol. 91, n. 12, p. 5107-12, 2006.

KLOP, B.; ELTE, J.W.; CABEZAS, M.C. **Dyslipidemia in obesity: Mechanisms and potential targets.** Nutrients, vol. 5, n. 4, p. 1218–1240, 2013.

KOCAN. B.; MAZIARZ. A.; TABARKIEWICZ. J.; OCHIYA. T.; BANAŚ-ZĄBCZYK, A. **Trophic activity and phenotype of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a**

background of their regenerative potential. Review article, Stem Cells Int., vol. 2017, ID: 632902, 2017.

KODAMA, M.; MURAKAMI, K.; FUJIOKA, T. **Animal model for the study of Heliobacter-induced gastric carcinoma.** Journal of Infection and Chemotherapy, vol. 10, n. 6, p.316-325, 2004.

KOŁODZIEJCZYK, L.; SIEMIENIUK, E.; SKRZYDLEWSKA, E. **Fasciola hepatica: effects on the antioxidative properties and lipid peroxidation of rat serum.** Exp Parasitol., vol. 113, n. 1, p. 43– 8, 2006.

KORTEN, S., HOERAUF, A., KAIFI, J. T., & BÜTTNER, D. W. **Low levels of transforming growth factor-beta (TGF-beta) and reduced suppression of Th2-mediated inflammation in hyperreactive human onchocerciasis.** Parasitology, 138(1), 35–45, 2011

KOSTELI, A.; SUGARU, E.; HAEMMERLE, G.; MARTIN, J.F.; LEI, J.; ZECHNER, R.; FERRANTE, A.W. Jr. **Weight loss and lipolysis promote a dynamic immune response in murine adipose tissue.** J Clin Invest., vol. 120, n. 10, p. 3466-79, 2010.

KOŁODZIEJCZYK, L.; SIEMIENIUK, E.; SKRZYDLEWSKA, E. **Fasciola hepatica: effects on the antioxidative properties and lipid peroxidation of rat serum.** Exp Parasitol., vol. 113, n. 1, p. 43– 8, 2006.

KREIER, F.; FLIERS, E.; VOSHOL, P.J.; EDEN, C.G.; HAVEKES, L.M.; KALSBECK, A., et al. **Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat – functional implications.** J Clin Invest., vol.110, n. 9, p. 1243-50, 2002.

KUMANAN, T.; SUJANITHA, V.; BALAKUMAR, S.; SREEHARAN, N. **Amoebic Liver Abscess and Indigenous Alcoholic Beverages in the Tropics.** J Trop Med., vol. 2018, ID:6901751, 2018.

LANG, P.; HASSELWANDER, S.; LI, H. & XIA, N. **Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice.** Scientific Reports, vol. 9, 19556, 2019. Disponível: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-55987-x> Acesso em: 23/10/2020.

LANG, H.F.; CHOU, C.Y.; SHEU, W.H.; LIN, J.Y. **Weight loss increased serum adiponectin but decreased lipid levels in obese subjects whose body mass index was lower than 30 kg/m².** Nutr Res., vol. 31, n. 5, p. 378-86, 2011.

LEÃO, L.S.C.S.; ARAÚJO, L.M.B.; MORAES, L.T.L.P.; ASSIS, A.M. **Prevalência de Obesidade em escolares de Salvador, Bahia.** Arq Bras Endocrinol Metab, vol. 47, n. 2, p. 151-157, 2003.

LECHIEITNER, M.; KOCH, T.; HAROLD, M.; DZIEN, A.; HOPPIAHLER, F. **Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors.** J Intern Med, vol. 248, n. 1, p. 67–76, 2000.

LEE, E.Y.; XIA, Y.; KIM, W.S.; KIM, M.H.; KIM, T.H.; KIM, K.J.; PARK, B.S.; SUNG, J.H. **Hypoxiaenhanced wound-healing function of adipose-derived stem cells: increase in**

stem cell proliferation and up-regulation of VEGF and bFGF. *Wound Repair Regen.*, vol. 17, n. 4, p.540–7, 2009.

LEE, M.J.; WU, Y.; FRIED, S.K. **Adipose tissue heterogeneity: Implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications.** *Molec Aspec Med.*, vol. 34, n. 1, p. 1-11, 2013.

LEEIPE, M. **Amoebaporos.** *Parasitol Today.*, vol. 13, p. 178-83, 1997.

LEJEUNE, M.; RYBICKA, J.M.; CHADEE, K. **Recent discoveries in the pathogenesis and immune response toward *Entamoeba histolytica*.** *Future Microbiol.*, vol.4, n. 1, p.105-118, 2009.

LESH, F.A. **Massive development of amebas in the large intestine.** Fedor Aleksandrovich Lesh (Losch). *Am J Trop Med Hyg*, vol 24, n. 3, p. 383-392, 1975.

LEVY, U.; ZALTZBER, H.; BEN-AMOTZ, A.; KANTER, Y.; AVIRAM, M. **β -carotene affects antioxidant status in noninsulin-dependent diabetes mellitus.** *Pathophysiol*, vol.6, p. 157-61, 1999.

LIDELL, M.E.; MONCADA, D.M.; CHADEE, K.; HANSSON, G.C. ***Entamoeba histolytica* cysteine proteases cleave the MUC2 mucin in its C-terminal domain and dissolve the protective colonic mucus gel.** *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 103, n. 24, p. 9298–9303, 2006.

LIMÓN-PACHECO, J.; GONSEBATT, M.E. **The role of antioxidants and antioxidantrelated enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress.** *Mutation Research*. vol.674, p. 137-147, 2009.

LOBATO, N.S.; FILGUEIRA, F.P.; AKAMINE, E.H.; TOSTES, R.C.; CARVALHO, M.H.; FORTES, Z.B. **Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity-associated hypertension.** *Braz J Med Biol Res.*, vol. 45, n. 5, p. 392-400, 2012.

LUMENG, C.N.; BODZIN, J.L.; SALTIEL, A.R. **Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization.** *J. Clin. Invest.*, vol. 117, p. 175-184, 2007.

MACHADO, PRL.; ARAUJO, M.I.A.S.; CARVALHO, L. and CARVALHO, E.M. **Immune response mechanisms to infections.** *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, vol. 79, n. 6, p. 647-662, 2004.

MACHADO, M.; MARQUES-VIDAL, P.; CORTEZ-PINTO, H.; **Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery.** *J Hepatol*, vol. 45, n. 4, p. 600–606, 2006.

MACÍAS-PÉRES, J.; ALDABA-MURUATO, L.R.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, S.L.; MUÑOZ-ORTEGA, M.H.; PULIDO-ORTEGA, J.; VENTURA-JUAREZ, J. **Curcumin provides hepatoprotection against liver abscess induced by *Entamoeba histolytica* in hamster: involvement of nrf2/ho-1 and nf- κ b/il-1B signaling pathways.** *Journal of Immunology Research.*, vol. 2019, ID: 7431652, 10 pages. 2019.

MAHMUD, M. A., SPIGT, M., MULUGETA BEZABIH, A., LÓPEZ PAVON, I., DINANT, G. J., & BLANCO VELASCO, R. **Risk factors for intestinal parasitosis, anaemia, and**

malnutrition among school children in Ethiopia. Pathogens and global health, vol. 107, n. 2, p. 58–65, 2013.

MAIOLI, T.U.; ALVES, J.L.G.; MIRANDA, M.C.G.; MARTINS, V.D.; HORTA, L.S.; MOREIRA, T.G.; GODARD, A.L.B.; SANTIAGO, A.F.; CAETANO FARIA, A.M. **High sugar and butter (HSB) diet induces obesity and metabolic syndrome with decrease in regulatory T cells in adipose tissue of mice.** Inflammation Research, vol. 65, n. 2, p.169–178, 2016.

MALEK, S.K.A.; RIZK-ALLAH, M.A.; BOULOS F.I. et al. **Abscesso hepático.** In: Coelho JCU. Aparelho digestivo - clínica e cirurgia. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; p.1470-81, 2005.

MALLE, E.; FURTMÜLLER, P.G.; SATTLER, W.; OBINGER, C. **Myeloperoxidase: a target for new drug development?** Br J Pharmacol., vol.152, n. 6, p. 838-854, 2007.

MANN, B.J.; LOCKHART, L.A. **Molecular analysis of the Gal/GalNac adhesin of *Entamoeba histolytica*.** J Euk Microbiol, vol. 45, n. 2, p. 13S-16S, 1998.

MANTZOROS, C.S.; MAGKOS, F.; BRINKOETTER, M.; SIENKIEWICZ, E.; DARDENO, T.A.; KIM, S.Y.; KIM, S.Y.; HAMNVIK, O.P.; KONIARIS, A. **Leptin in human physiology and pathophysiology.** Am J Physiol Endocrinol Metab., vol. 301, n. 4, E567-84, 2011.

MARCO-RAMELL, A.; TULIPANI, S.; PALAU-RODRIGUEZ, M.; GONZALEZ-DOMINGUEZ, R.; MIÑARRO, A.; JAUREGUI, O.; SANCHEZ-PLA, A.; MACIAS-GONZALEZ, M.; CARDONA, F.; TINAHONES, F.J.; ANDRES-LACUEVA, C. **Untargeted Profiling of Concordant/Discordant Phenotypes of High Insulin Resistance and Obesity To Predict the Risk of Developing Diabetes.** J Proteome Res., vol. 17, n. 7, p. 2307-2317, 2018.

MARIE, C.S.; VERKERKE, H.P.; PAUL, S.N.; MACKAY, A.J. AND PETRI JR., W.A.B. **Leptin Protects Host Cells from *Entamoeba histolytica* Cytotoxicity by a STAT3-Dependent Mechanism.** Infection and Immunity, Vol. 80, n.05, p. 1934-43, 2012.

MARTIN, T.J.; BUECHLER, B.S.; KHAN, W. B.S.; CREWS, J.C.M.D.; EISENACH, J.C.M.D. **Effects of Laparotomy on Spontaneous Exploratory Activity and Conditioned Operant Responding in the Rat: A Model for Postoperative Pain.** Anesthesiology, vol. 101, n. 1, p.191–203, 2004.

MARTINS, V.D.; SILVA, F.C.; CAIXETA, F.; CARNEIRO, M.B.; GOES, G.R.; TORRES, L.; BARBOSA, S.C.; VAZ, L.; PAIVA, N.C.; CARNEIRO, C.M.; VIEIRA, L.Q.; FARIA, A.M.C.; MAIOLI, T.U. **Obesity Impairs Resistance to *Leishmania major* infection in C57BL/6 mice.** Plos Negl trop dis, vol. 14, n. 1, e0006596, 2020. Disponível em: 96. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006596>. Acesso: 22 junho 2020.

MASSCHELIN, P.M.; COX, A.R.; CHERNIS, N. AND HARTIG, S.M. **The Impacto of Oxidative Stress on Adipose Tissue Energy Balance.** Frontiers in Physiology, vol. 10, article 1638, p. 1-8, 2020.

MATSUZAMA, Y.; FUNAHASHI, T.; KIHARA, S.; SHIMOMURA, I. **Adiponectina and Metabolic Syndrome. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology,** vol. 24, n. 1, p. 29-33, 2004.

MAUER, J.; DENSON, J.L.; BRÜNING, J.C. **Versatilis functions for IL-6 in metabolism and cancer.** Trends Immunol., vol. 36, n. 2, p. 92-101. 2015.

MEHLOTRA, R.K. Antioxidant **Defense Mechanisms in Parasitic Protozoa, Critical Reviews in Microbiology**, vol. 22, n. 4, p. 295-314, 1996.

MENKE, A.; RUST, KF.; FRADKIN, J.; CHENG, YJ.; COWIE, C.C. **Associations between trends in race/ethnicity, aging, and body mass index with diabetes prevalence in the United States: a series of cross-sectional studies increase in diabetes prevalence over time.** Ann Int Med, vol.161, ID 328335. 2014.

MEYER, M.; FEHLING, H.; MATTHIESEN, J.; LORENZEN, S.; SCHULDT, K.; BERNIN, H.; ZARUBA, M.; LENDER, C.; ERNST, T.; ITTRICH, H.; ROEDER, T.; TANNICH, E.; LOTTER, H.; BRUCHHAUS, I. **Overexpression of Differentially Expressed Genes Identified in Non-pathogenic and Pathogenic Entamoeba histolytica Clones Allow Identification of New Pathogenicity Factors Involved in Amoebic Liver Abscess Formation.** PLoS Pathog, vol. 12, n. 8, ppat: 1005853, 2016.

MICHIE HR. **Metabolism of sepsis and multiple organ failure.** World J. Surg., vol. 20, p. 460-4, 1996.

MIRELMAN, D.; ANBAR, M.; BRACHA, R. **Trophozoites of Entamoeba histolytica epigenetically silenced in several genes are virulence-attenuated.** Parasite, vol. 15, n. 3, p. 266-74, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Obesidade e sobrepeso terão primeiro protocolo clínico para tratamento**, 2018a. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/44310-obesidade-e-sobrepeso-terao-primeiro-protocolo-clinico-para-tratamento>. Acesso 25 fevereiro 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis, 2020b – Brasília; 137, 2020.

MOONAH, S.N.; JIANG, N.M.; PETRI, W.A. JR. **Host Immune Response to Intestinal Amebiasis.** 2013. PLoS Pathog, vol. 9, n. 8, ID:1003489, 2013.

MOYAT, M.; COAKLEY, G.; HARRIS, N. **The interplay of type 2 immunity, helminth infection and the microbiota in regulating metabolism.** Clinical & Translational Immunology, vol. 8, e 1089, 2019.

MUÑOZ, S.S.; FERNANDES, A.P.M. **Principais doenças infecciosas e parasitárias e seus condicionantes em populações humanas.** Principais doenças causadas por protozoários. Licenciatura em Ciências USP, módulo 5, cap.6, p. 138, 2013. Disponível em: https://midia.atp.usp.br/plc/plc0501/impressos/plc0501_06.pdf Acesso: 10 março 2019.

MUNZBERG, H.; FLIER, J.S.; BJORBAEK, C. **Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced-obese mice.** Endocrinology, vol. 145, n. 11, p. 4880–4889. 2004.

MURAKAMI, T.; SHIMA, K. **Cloning of rat obese cDNA and its expression in obese rats.** Biochem Biophys Res Commun., vol. 209, n. 3, p. 944 – 952, 1995.

NAGAJYOTHI, FNU, DESRUISSEAU, MAHALIA S, WEISS, LOUIS M, CHUA, STREAMSON, ALBANESE, CHRIS, MACHADO, FABIANA S, ESPER, LISIA, LISANTI, MICHAEL P, TEIXEIRA, MAURO M, SCHERER, PHILIPP E, & TANOWITZ, HERBERT B. **Chagas disease, adipose tissue and the metabolic syndrome**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 104, n. 1, p. 219-225, 2009.

NAKHAEE, A.; BOKAEIAN, M.; SARAVANI, M.; FARHANGI, A. AND AKBARZADEH, A. **Attenuation of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats by eucalyptus globulus**. Indian J. of Clinical Biochemistry, vol. 24, n. 4, p. 419-425, 2009.

NEELAND, I.J.; AYERS, C.R.; ROHATGI, A.K.; TURER, A.T.; BERRY, J.D.; DAS, S.R.; VEGA, G.L.; KHERA, A.; MCGUIRE, D.K.; GRUNDY, S.M. AND LEMOS, J.A. **Associations of visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue with markers of cardiac and metabolic risk in obese adults**. Obesity (Silver Spring), vol. 21, n. 9, E439–E447, 2013.

NELSON, D.L.; KIESOW, L.A. **Enthalpy of the composition of hydrogen peroxide by catalase at 25° C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV)**. Anal Biochem, vol. 49, n. 2, p.474-478, 1972.

NCBI **The national center for biotechnology information**. Jak1 Janus Kinase 1 [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 3716, updated on 14-Feb-2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3716> Acesso em: 02/03/2021.

NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). **Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults**. Lancet, vol. 390, n. 10113, p. 2627-2642, 2017.

NEVES, J. **Diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1978.

NEVES, C.F. **Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e estado inflamatório em pacientes no pré e pós-operatório de cirurgia da obesidade**. Dissertação de mestrado. Orientador Prof^ª. Dr^ª. Sandra Fernandes Arruda. Universidade de Brasília, Brasília, 94 págs., 2010. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/7808/1/2010_Cibele%20F.%20Neves.pdf. Acesso: 22 dezembro 2019.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016.

NICHOLSON JP, WOLMARANS MR, PARK GR. **The role of albumin in critical illness**. Br J Anaesth., vol. 85, n. 4, p. 599–610, 2000.

NOGUEIRA, D. S.; GAZZINELLI-GUIMARÃES, P. H.; BARBOSA, F. S.; RESENDE, N. M.; SILVA, C. C.; DE OLIVEIRA, L.M., et al. **Multiple Exposures to Ascaris suum Induce Tissue Injury and Mixed Th2/Th17 Immune Response in Mice**. PLoS Negl Trop Dis., vol. 10, n. 1, e0004382, 2016.

OCA, A.C.M.; BAQUERO, AC.; RODRÍGUEZ†, R.C.; JARAMILLO, L.M.C.; FLORES, JEA.; HERNÁNDEZ, S.R.; GARCÍA, A.O.; YEPEZ, J.P. **Neutrophil extracellular traps**

and MPO in models of susceptibility and resistance against *Entamoeba histolytica*. Parasite Immunology, vol. 42, n. 6, e12714, 2020.

ODEGAARD, J.I.; RICARDO-GONZALEZ, R.R.; RED EAGLE, A.; VATS, D.; MOREL, C.R.; GOFORTH, M.H.; SUBRAMANIAN, V.; MUNKUNDAN, L.; FERRANTE, A.W.; CHAWLA, A. **Alternative M2 Activation of Kupffer cells by PPARdelta ameliorates obesity-induced insulin resistance.** Cell Metab., vol. 7, n. 6, p. 496–507, 2008.

OJHA, S.C.; JAIDE, C.; JINAWATH, N.; ROTJANAPAN, P.; BARAL, P. **Geohelminths: Public Health Significance.** J Infect Dev Ctries, vol. 8, n. 1, p. 5-16, 2014.

OLEFSKY, J. M. & GLASS, C. K. **Macrophages, inflammation, and insulin resistance.** Annu. Rev. Physiol., vol. 72, p. 219–246, 2010.

OLIVEIRA, F.; MATIAS, P.H.P.; KRAEMER, L.; GAZZINELLI-GUIMARÃES, A.C.; SANTOS, F.V.; AMORIM, C.; NOGUEIRA, D.S.; FREITAS, C.S.; CALIARI, M.V.; BARTHOLOMEU, D.C.; BUENO, L.L.; RUSSO, R.C. & FUJIWARA, R.T. **Comorbidity associated to *Ascaris suum* infection during pulmonary fibrosis exacerbates chronic lung and liver inflammation and dysfunction but not affect the parasite cycle in mice.** PLoS neglected tropical diseases, vol. 13, n. 11, e0007896, 2019.

OLIVOS-GARCIA, A.; NEQUIZ-AVENDANO, M.; TELLO, E.; MARTINEZ, R.D.; GONZALEZ-CANTO, A.; LOPEZ-VANCELL, R.; GARCIA DE LEON, M.C.; MONTFORT, I.; PEREZ-TAMAYO, R. **Inflammation, complement, ischemia and amoebic survival in acute experimental amoebic liver abscesses in hamsters.** Experimental and Molecular Pathology, vol. 77, n. 1, p. 66–71, 2004.

OLUSI, S.O. **Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte enzymes in humans.** Int J Obes Relat Metab Disord, vol. 26, n. 9, p. 1159–1164, 2002.

ORDEN, A.B.; APEZTEGUÍA, M.C.; CIARMELA, M.L.; MOLINA, N.B.; PEZZANI, B.C.; ROSA, D.; MINVIELLE, M.C. **Nutritional status in parasitized and nonparasitized children from two districts of Buenos Aires, Argentina.** Am J Hum Biol., vol.26, n. 1, p.73-9, 2014.

OKUNO, Y.; MATSUDA, M.; KOBAYASHI, H.; MORITA, K.; SUZUKI, E.; FUKUHARA, A.; KOMURO, R.; SHIMABUKURO, M.; SHIMOMURA, I. **Adipose expression of catalase is regulated via a novel remote PPARgamma-responsive region.** Biochem Biophys Res Commun., vol. 366, n. 3, p. 698-704, 2008.

OMS. **Organização Mundial da Saúde.** Relatório Mundial da Saúde. Vida no século XXI: uma visão para todos. Organização Mundial da Saúde Genebra, Suíça, 1998. Disponível em: <https://www.who.int/whr/1998/en/>. Acesso: 25 fevereiro 2019.

OMS. **Organização Mundial da Saúde. 10 fatos sobre obesidade,** 2016. Disponível em: <https://www.who.int/topics/obesity/en/>. Acesso: 25 fevereiro 2019.

ORMAZABAL, V.; NAIR, S.; ELFEKY, O.; AGUAYO, C.; SALOMON, C. E ZUÑIGA, F.A. **Association between IR and the development of cardiovascular disease.** Cardiovasc. Diabetol., vol. 17, n. 1, 122. 14 págs. 2018.

OSLER, W. **On the *Amoeba coli* in dysentery and in dysenteric liver abscess.** 1890. Bull. Johns Hopkins Hosp., vol 1, p. 53-54.

Oxford English dictionary, CD version 2.01, New York, NY, Oxford University Press, 2001.

OZCAN, L.; CAO, Q.; YILMAZ, E.; LEE, A.H.; IWAKOSHI, N.N.; OZDELEN, E.; TUNCMAN, L.; GÖRGÜN, C.; GLIMCHER, L.H. & HOTAMISLIGIL, G.S. **Retículo endoplasmático ligações de stress a obesidade, a acção da insulina, e diabetes tipo 2.** Science, vol.30, p. 6457-461, 2004.

PACÍFICO, L.; NOBILI, V.; ANANIA, C.; VERDECCHIA, P.; CHIESA, C. **Pediatric nonalcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and cardiovascular risk.** World J Gastroenterol., vol. 17, n. 26, p.3082-91, 2011.

PANASENKO, O.M.; GORUDKO, I.V.; SOKOLOV, A.V. **Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems.** Biochemistry (Mosc), vol. 78, n. 13, p. 1466-89, 2013.

PASINI, E., AQUILANI, R., DIOGUARDI, F. S., D'ANTONA, G., GHEORGHIADÉ, M., & TAEGTMEYER, H. **Hypercatabolic Syndrome: Molecular Basis and Effects of Nutritional Supplements with Amino Acids.** The American Journal of Cardiology, vol. 101, n. 11, S11–S15, 2008.

PEAVY, D.E.; TAYLOR, J.M.; JEFFERSON, L.S. **Time course of changes in albumin synthesis and mRNA in diabetic and insulintreated diabetic rats.** Am J Physiol., vol.248(6 Pt 1):E656- 63, 1985.

PELLICORO, A.; RAMACHANDRAN, P.; IREDALE, J.P.; FALLOWFIELD, J.Á. **Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ.** Nat Rev Immunol., vol. 14, n. 3, p. 181-94, 2014

PÉNICAUD, L.; COUSIN, B.; LELOUP, C.; LORSIGNOL, A.; CASTEILLA, L. **The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance.** Nutrition., vol. 16, p. 903-8, 2000.

PARK, Y.S.; UDDIN, M.J.; PIAO, L.; HWANG, I.; LEE, J.H. AND HÁ, H. **Novel Role of Endogenous Catalase in Macrophage Polarization in Adipose Tissue.** Mediators of Inflammation. Hindawi Publishing Corporation. p. 1-14, 2016. Disponível: <http://downloads.hindawi.com/journals/mi/2016/8675905.pdf> Acesso: 23/11/2020.

PELLEGRINELLI, V.; CAROBBIO, S. & VIDAL-PUIG, A. **Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues.** Rev., Diabetologia, vol. 59, n. 6, p.1075–1088. 2016.

PELLEGRINI, M.; CIOFFI, I.; EVANGELISTA, A. *et al.* **Effects of time-restricted feeding on body weight and metabolism.** A systematic review and meta-analysis. Rev Endocr Metab Disord., vol. 21, p. 17-33, 2020.

PETERS, R.S.; GITLIN, N.; LIBKE, R.D. Rev. **Amebic liver abscess.** Annu Rev Med., vol. 32, p.161-74, 1981.

PETERSON KM, SHU J, DUGGAL P, HAQUE R, MONDAL D. **Association between TNF-alpha and Entamoeba histolytica diarrhea.** Am J Trop Med Hyg., vol. 82, p. 620–625, 2010.

PETRI Jr, W.A. & RAVDIN, J.I. **Protection of gerbils from Amebic Liver Abscess by Immunization with the Galactose-Specific Adherence Lectin of *Entamoeba histolytica*.** Infection and Immunity, vol.59, n. 1, p. 97-101, 1991.

PETRI Jr, W.A.; JOYCE M.P.; BROMAN, J.; SMITH, R.D.; MURPHY, C.F.; RAVDIN, J.I. **Recognition of the galacto-se- or N-acetylgalactosamine-binding lectin of *Entamoeba histolytica* by human immune sera.** Infect Immun., vol. 55, p. 2327-31, 1987.

PETRI, Jr, W.A. & SINGH, U. **Diagnosis and management of amebiasis.** Clinical Infectious Diseases, vol. 29, p. 1117–1125, 1999.

PETRI Jr W.A. **Pathogenesis of amebiasis.** Curr. Opin. Microbiol., vol. 5, n. 4, p. 443-447, 2002.

PETRI Jr. W.A.; MONDAL, D.; PETERSONK., M.; DUGGAL, P. AND HAQUE, R. **Association of malnutrition with amebiasis.** Nutrition Reviews, vol. 67, n. 2, p. S207–S215, 2009.

PHUNG, D.T.; WANG, Z.; RUTHERFORD, S.; HUANG, C.; CHU, C. **Body mass index and risk of pneumonia: a systematic review and meta-analysis.** Obes Rev., vol. 14, n. 10, p. 839-57, 2013.

PIAO, L.; CHOI, J.; KWON, G.; & HA, H. **Endogenous catalase delays high-fat diet-induced liver injury in mice.** The Korean journal of physiology & pharmacology: official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology, 21(3), 317–325, 2017.

PIAO, L.; DOROTEA, D.; JIANG, S.; KOH, E.H.; OH, G.T. and Há, H. **Impaired peroxisomal fitness in obese mice, a vicious cycle exacerbating adipocyte dysfunction via oxidative stress.** Antioxidants and Redox Signaling, vol.31, n. 18, p. 1-40, 2019. Disponível: <https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/ars.2018.7614> Acesso em: 21/11/2020.

PINILLA, A.E.; LOPEZ, M.C.; VIASUS, D. **History of the *Entamoeba histolytica* protozoan.** Revista Medica de Chile, vol. 136, n. 1, p. 118-24, 2008.

POIRIER, P.; GILES, T.D.; BRAY, G.A.; HONG, Y.; STERN, J.S.; PI-SUNYER, F.X. and ECKEL, R.H. **Obesity and cardiovascular disease – Pathophysiology, Evaluation and effect of weight loss.** Arterioscler Thromb Vasc Biol., Vol. 26, n. 5, p. 968–76, 2006.

POOVORAWAN, K.; PAN-NGUM, W.; SOONTHORNWORASIRI, N.; KULRAT, C.; KITTITRAKUL, C.; WILAIRATANA, P.; TREEPASERTSUK, S.; KITSAHAWONG, B.; PHAOSAWASDI, K. **Burden of Liver Abscess and Survival Risk Score in Thailand: A Population-Based Study.** The American journal of tropical medicine and hygiene, vol. 95, n.3, p. 683–688, 2016.

PRIMO, B.; CASPAR-BAUGUIL, S.; PLANAT-BÉNARD, V.; LAHARRAGUE, P.; PÉNICAUD, L.; CASTEILLA, L. **Adipose tissue: a subtle and complex cell system.** J Soc Biol., vol. 200, n.1, p. 51–57, 2006.

PROELL, V.; CARMONA-CUENCA, I.; MURILLO, M.M.; HUBER, H.; FABREGAT, I.; MIKULITS, W. **TGF- β dependent regulation of oxygen radicals during transdifferentiation of activated hepatic stellate cells to myofibroblastoid cells.** Comp Hepatol., vol. 6, n. 1, 2007.

PULLI, B.; ALI, M.; FORGHANI, R.; SCHOB, S.; HSIEH, K.L.; WOJTKIEWICZ, G.; LINNOILA, J.J., & CHEN, J.W. **Measuring myeloperoxidase activity in biological samples.** PloS one, vol. 8, n. 7, e67976, 2013.

RÀFOLS, M.E. **Adipose tissue: Cell heterogeneity and functional diversity.** Endocrinol Nutr.; vol. 61, n. 2, p.100-112, 2014.

RAO, X., ZHONG, J. & SUN, Q. **The heterogenic properties of monocytes/macrophages and neutrophils in inflammatory response in diabetes.** Life Sci., vol.116, n. 2, p. 59–66, 2014.

RASHIDUL HAQUE, M.B.; CHRISTOPHER, D.H.; MOLLY, H.; HOUP, E.; PETRI JR., W. A. **Amebiasis.** Review Article. N Engl J Med., vol. 348, n.16, n. 1565-1573, 2003.

RAVDIN, J.I. **Amebiasis human infection by *Entamoeba histolytica*.** Churchill Livingstone, New York, p. 126-149, 1988.

RAVDIN, J.I. **Amebiasis.** Clinical and Infectious Diseases, 20: 1453-1466, 1995.

RAWLINGS, S.; ROSLER, K.; HARRISON, D. **The JAK/STAT signaling pathway.** J. of Cell Science., New York, vol. 117, p. 4-20, 2004.

REAVEN, G. **Insulin resistance and coronary heart disease in nondiabetic individuals.** Arterioscler Thromb Vasc Biol., vol.32, n. 8, p.1754–9, 2012.

REED, S.L.; BRAUDE, A. **Extraintestinal disease:** Clinical syndrome diagnostic profile and therapy. In: Ravdin II, editor. Amebiasis: Human infection by entamoeba histolytica. New York: Churchill Livingstone; p. 511–532, 1988.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. **AIN-93 purified diets for laboratory rodents:** final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing Committee on their formulation of the AIN-76A Rodent diet. Journal of Nutrition, Bethesda, vol. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

REEVES, G.M.; MAZAHARI, S.; SNITKER, S.; LANGENBERG, P.; GIEGLING, I.; HARTMANN, A.M.; KONTE, B.; FRIEDL, M.; OKUSAGA, O.; GROER, M.W.; MANGGE, H.; WEGHUBER, D., ALLISON, D.B.; RUJESCU, D.† AND POSTOLACHE, T.T. **A positive association between *T. gondii* seropositivity and obesity.** Frontiers in Public Health, vol. 1, article 73, p. 1-6, 2013.

REILLY, S. M., AND SALTIEL, A. R. **Adapting to obesity with AT inflammation.** Nat. Rev. Endocrinol. 13, 633–643, 2017.

RENAULD, J. C. **Receptores de citocinas de classe II e seus ligantes: principais moduladores antivirais e inflamatórios.** Nat Rev Immunol., vol. 3, p. 667–76, 2003.

RENSEN, S.S; SLAATS, Y.; NIJHUIS, J.; JANS, A.; BIEGHS, V.; DRIESSEN, A. **Increase hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis.** Am j pathol, vol. 175, n. 4, p. 1473-82, 2009.

REY, L. **Bases da parasitologia médica.** Guanabara Koogam Editora, Rio de Janeiro. 2ª ed., 2002.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica,** 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, págs. 379, 2010.

RIGOTHIER, MC.; KHUN, H.; TAVARES, P.†; CARDONA, A.; HUERRE, M. AND GUILLÉN, N. **Fate of *Entamoeba histolytica* during Establishment of Amoebic Liver Abscess Analyzed by Quantitative Radioimaging and Histology.** Infection and Immunity, vol.70, n. 6, p. 3208–3215, 2002.

ROMERO, C.E.M.; ZANESCO, A. **O papel dos hormônios leptina e grealina na gênese da obesidade.** Revista de Nutrição. Campinas, vol.19, n. 1, p. 85-91, 2006.

ROBERTO, C.A.; SWINBURN, B.; HAWKES, C.; HUANG, T.T.; COSTA, S.A.; ASHE, M.; ZWICKER, L.; CAWLEY, J. H.; BROWNELL, K.D. **Ptchy progress on obesity prevention: emerging examples, entrenched barriers, and new thinking.** The Lancet, vol. 385, n. 9985, p. 2400-2409, 2015.

ROBERT, V., BOURGOUIN, C., DEPOIX, D.; THOUVENOT, C.; LOMBARD, M.N. & GRELLIER, P. **Malaria and obesity: obese mice are resistant to cerebral malaria.** Malar J., vol. 7, n. 81, 2008.

ROBINSON, M.W.; HARMON, C.; O'FARRELLY, C. **Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis.** Cell Mol Immunol., vol. 13, n. 3, p. 267–76, 2016.

RONCOLATO, EC.; TEIXEIRA, J.; BARBOSA, E.; ZAMBELLI RAMALHO, LN.; HUSTONC, C.D. **Immunization with the *Entamoeba histolytica* Surface Metalloprotease EhMSP-1 Protects Hamsters from Amebic Liver Abscess.** Infect Immun., vol.83, n. 2, p.713–720, 2015.

ROSINI, T.C.; SILVA, A.S.R.; MORAES, C. **Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade.** Artigo de revisão. Elsevier Editora Ltda. Rev Assoc Med Bras, vol. 58, n. 3, p.383-387, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v58n3/v58n3a21.pdf> Acesso em: 02 setembro 2016.

RUDICH, A.; TIROSH, A.; POTASHNIK, R.; HEMI, R.; KANETY, H.; BASHAN, N. **Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3-L1 adipocytes.** Diabetes, vol. 47, n. 10, p. 1562-9,1998.

RUSSO, R. C.; ALESSANDRI, A.L.; GARCIA, C. C.; CORDEIRO, B. F.; PINHO, V.; Cassali, G. D.; Proudfoot, A. E.; Teixeira, M. M. **Therapeutic effects of evasin-1, a chemokine binding protein, in bleomycin-induced pulmonary fibrosis.** Am J Respir Cell Mol Biol., vol. 45, n. 1, p. 72–80, 2011.

RYAN AS, NICKLAS BJ, BERMAN DM, ELAHI D. **Adiponectin levels do not change with moderate dietary induced weight loss and exercise in obese postmenopausal women.** Int J Obes Relat Metab Disord., vol, 27, n. 9, p.1066-71, 2003.

SAID-FERNÁNDEZ S, CAMPOS-GOÑGORA E, GONZÁLEZ-SALAZAR F, MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ HG, VARGAS-VILLARREAL J, *et al.* **Mg²⁺, Mn²⁺, and Co²⁺ stimulate Entamoeba histolytica to produce chitin-like material.** J Parasitol., vol. 87, p. 919–923, 2001.

SALEH, M.A. **Circulating oxidative stress status in desert sheep naturally infected with Fasciola hepatica.** Vet Parasitol., vol.154, n. (3-4), p. 262-9, 2008.

SAMADIEH, h.; MOHAMMADI, g.r.; MALEKI, m.; BORJI, H.; AZIZZADEH, M.; HEIDARPOUR, M. **Relationships between Oxidative Stress, Liver, and Erythrocyte Injury, Trace Elements and Parasite Burden in Sheep Naturally Infected with Dicrocoelium dendriticum.** Iran J Parasitol, vol. 12, n. 1, p. 46-55, 2017.

SANTOS, F.L.; CERQUEIRA, E.J.; SOARES, N.M. **Comparison of the thick smear and Kato-Katz techniques for diagnosis of intestinal helminth infections.** Rev Soc Bras Med Trop., vol. 38, p.196-8, 2005.

SANTOS, F. L. N.; SOARES, N. M. **Mecanismos fisiopatogênicos e diagnóstico laboratorial da infecção causada pela Entamoeba histolytica.** J. Bras. Patol. Med. Lab., vol. 44, n. 4, 2008.

SANTI-ROCCA, J.; RIGOTHIER, M.C. AND GUILLE´N, N. **Host-Microbe Interactions and Defense Mechanisms in the Development of Amoebic Liver Abscesses.** Clin. Microbiol. Rev., vol. 22, n.1, p. 65–75, 2009.

SANKHLA, M.; SHARMA, T.K.; MATHUR, K.; RATHOR, J.S.; BUTOLIA, V.; GADHOK, A.K.; VARDEY, S.K.; SINHA, M.; KAUSHIK, G.G. **Relationship of oxidative stress with obesity and its role in obesity induced metabolic syndrome.** Clin Lab., vol.58, n. 5-6, p. 385-92, 2012.

SARGEAUNT, P.G. AND WILLIAMS, J.E. **Electrophoretic isoenzyme patterns of Entamoeba histolytica and Entamoeba coli.** P. G. Dep. of Med. Protoz., London School of Hygiene and Tropical Medicine, Keppel Street, London WC1E 7HT. Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, vol. 72, n. 2, p. 164–166, 1978.

SARNÁGLIA, G.D.; COVRE, L.P.; PEREIRA, F.E.L.; GUEDES, H.L.M.; FARIA, A.M.C.; DIETZE, R.; RODRIGUES, R.R.; MAIOLI, T.U. and GOMES, D.C.O. **Diet-induced obesity promotes systemic inflammation and increased susceptibility to murine visceral leishmaniasis.** Parasitology, vol. 143, p. 1647–1655, 2016.

SASAKI, A.; NITTA, H.; OTSUKA, K.; UMEMURA, A.; BABA, S.; OBUCHI, T.; WAKABAYASHI, G. **Bariatric surgery and non-alcoholic fatty liver disease: current and potential future treatments.** Frontriers in endocrinology, vol. 5, n. 164, p. 1-6, 2014.

SATO, A.; KAWANO, H.; NOTSU, T.; OHTA, M.; NAKAKUKI, M.; MIZUGUCHI, K.; ITOH, M.; SUGANAMI, T.; OGAWA, Y. **Antiobesity effect of eicosapentaenoic acid in**

high-fat/high-sucrose diet-induced obesity: importance of hepatic lipogenesis. *Diabetes*, vol. 59, n. 10, p. 2495-504, 2010.

SEETO, R.K. & ROCKEY, D.C. **Amebic liver abscess: epidemiology, clinical features, and outcome.** *Western Journal of Medicine*, vol. 170, n. 2, p. 104-109, 1999.

SEIF, F.; KHOSHMIRSAFA, M.; AAZAMI, H. et al. **The role of JAK-STAT signaling pathway and its regulators in the fate of T helper cells.** *Cell Commun Signal*, vol. 15, n. 23, 2017.

SEYDEL, K.B.; ZHANG, T.; STANLEY Jr, S.L. **Neutrophils play a critical role in early resistance to amebic liver abscesses in severe combined immunodeficient mice.** *Infection and immunity* vol. 65, n. 9, p. 3951–3, 1997.

SCHELLER, J.; CHALARIS, A.; SCHMIDT-ARRAS, D.; ROSE-JOHN, S. **The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6.** *BBA*. 1813; 878-888, 2011.

SCHÖNFELD, P.; WOJTCZACK, L. **Fatty acids as modulators of the cellular production of reactive oxygen species.** *Free Radic. Biol. Med.* vol. 45, p. 231-241, 2008.

SHEN, W.; WANG, Z.; PUNYANITA, M.; LEI, J.; SINAV, A.; KRAL, J. G., et al. **Adipose tissue quantification by imaging methods: a proposed classification.** *Obes. Res.*, vol. 11, n. 1, p. 5–16, 2003.

SHERLOCK, S. & DOOLEY, J. **The Liver in Infections.** In: Sherlock S., Dooley J. *Diseases of the Liver in Biliary System*. 9th edition. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1993.

SHEU W.H.; CHANG TM, LEE WJ, OU HC, WU CM, TSENG LN, LANG HF, WU CS, WAN CJ, LEE IT. **Effect of weight loss on proinflammatory state of mononuclear cells in obese women.** *Obesity (Silver Spring)*. Vol. 16, n. 5, p. 1033-8, 2008.

SHI; H.; KOKOEVA; M.V.; INOUE; K.; TZAMELI; I.; YIN; H. AND FLIER; J.S. **TLR4 Links Innate Immunity and Fatty Acid-induced Insulin Resistance.** *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 116, n. 11, p. 3015 – 25, 2006.

SHIBAYAMA, M.; CAMPOS-RODRIGUEZ, R.; RAMIREZ-ROSALES, A.; FLORES-ROMO, L.; ESPINOSA-CANTELLANO, M.; MARTINEZ-PALOMO, A.; TSUTSUMI, V. ***Entamoeba histolytica*: liver invasion and abscess production by intraperitoneal inoculation of trophozoites in hamsters, *Mesocricetus auratus*.** *Experimental Parasitology*, vol. 88, n. 1, p. 20–27, 1998.

SHIBAYAMA, M.; RIVERA-AGUILAR, V.; BARBOSA-CABRERA, E.; ROJAS-HERNÁNDEZ, S.; JARILLO-LUNA, A.; TSUTSUMI, V.; PACHECO-YEPEZ, J.; CAMPOS-RODRÍGUEZ, R. **Innate immunity prevents tissue invasion by *Entamoeba histolytica*.** *Can J Microbiol.*, vol. 54, n. 12, p. 1032-42, 2008.

SHIMOBAYASHI, M.; ALBERT, V.; WOELNERHANSEN, B.; FREI, I.C.; WEISSENBERGER, D.; MEYER-GERSPACH, A.C.; CLEMENT, N.; MOES, S.; COLOMBI, M.; MEIER, J.A.; SWIERCZYNSKA, M.M.; JENÖ, P.; BEGLINGER, C.; PETERLI, R.; AND HALL, M.N. **Insulin resistance causes inflammation in adipose tissue.** *J Clin Invest.*, vol. 128, n. 4, p. 1538-1550. 2018.

SHOELSON, S.E.; HERRERO, L.; NAAZ, A. **Obesity, inflammation, and insuline resistance.** *Gastroenterology*. vol. 132, p. 2169-2180, 2007.

SIDDIQUI MA, AHAD MA, EKRAM AS, ISLAM QT, HOQUE MA, MASUM QAAI. **Clinico-pathological profile of liver abscess in a teaching hospital.** TAJ: J Teachers Assoc., vol. 21, n. 1, p. 44–49, 2008.

SILVA, E. F.; GOMES, M. A. **Parasitologia humana.** Atheneu Editora, São Paulo. 11ª ed. 2005.

SILVA E. F. *Entamoeba histolytica*: isolamento, axenização e caracterização de diferentes cepas através de parâmetros morfológicos, bioquímicos, biológicos e de patogenicidade in vivo e in vitro. Belo Horizonte [Tese de doutorado em Parasitologia – IC B/UFMG], 1997.

SILVA, E.F. **Entamoeba moshkovskii TSHALAIÁ, 1941:** Novos focos na América do Sul; aspectos da morfologia e biologia em comparação com a *Entamoeba histolytica* SCHAUDINN, 1903 e *Entamoeba ranarum* GRASSI, 1879, Belo Horizonte. 141p. Departamento de Parasitologia, 1972.

SILVA, E.F.; GOMES, M.A. **Amebíase: *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar*.** Parasitologia Humana. São Paulo, ed. Atheneu Press, p. 127-138, 2001.

SILVA, M.C.; MONTEIRO, C.S.; ARAÚJO, B.A.; SILVA, J.V.; PÓVOA, M.M. **Determination of Entamoebahistolytica infection in patients from Greater Metropolitan Belém, Pará, Brazil, by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antigen detection.** Cad Saúde Pública, vol. 21, p. 969-73, 2005.

SINGH, A.; BANERJEE, T.; KUMAR, R.; SHUKLA, S.K. **Prevalence of cases of amebic liver abscess in a tertiary care centre in India:** A study on risk factors, associated microflora and strain variation of *Entamoeba histolytica*. PLoS ONE, vol. 14, n. 4, e0214880, 2019.

SKRZEP-POLOCZEK, B.; POLOCZEK, J.; CHEŁMECKA, E.; DULSKA, A.; ROMUK, E.; IDZIK, M.; KAZURA, W.; NABRDALIK, K.; GUMPRECHT, J.; JOCHEM, J. AND STYGAR, D.M. **The Oxidative Stress Markers in the Erythrocytes and Heart Muscle of Obese Rats: Relate to a High-Fat Diet but Not to DJOS Bariatric Surgery.** Antioxidants, vol. 9, n. 183, p. 2-24, 2020.

SKURK, T.; ALBERTI-HUBER, C.; HERDER, C.; HAUNER, H. **Relationship between adipocyte size and adipokine expression. and secretion.** J. Clin. Endocrinol. Metab., vol. 92, n. 3, p. 1023 – 1033. 2007.

SMITH, A.G.; SHERIDAN, P.A.; TSENG, R.J.; SHERIDAN, J.F.; BECK, M.A. **Selective impairment in dendritic cell function and altered antigen-specific CD8+ T-cell responses in diet-induced obese mice infected with influenza virus.** Immunol, vol. 126, p. 268–79, 2009.

SPEAKMAN, J.; HAMBLY, C.; MITCHELL, S. & KRÓL, E. **“The contribution of animal models to the study of obesity,”** Laboratory Animals, vol. 42, no. 4, p. 413–432, 2008.

SQUEFF, F. A. **Abcesso Hepático por *Entamoeba histolytica*.** Sociedad Iberoamericana de Información Científica. 2002.

Disponível em: <http://www.siicsalud.com/des/expertoimpreso.php/20203>. Acesso: 27 fev. 2019.

STANLEY, S. L. **Pathophysiology of amebiasis**. Trends Parasitol., vol. 17, n. 6, p.280– 285, 2001.

STAUFFER, W.; RAVDIN, J. **Entamoeba histolytica**: an update. Curr Opin Infect Dis., vol. 16, n. 5, p.479-85, 2003.

STEGHENS, J.P.; KAPPEL, A.L.V.; DENIS, I.; COLLOMBEL, C. **Diaminonaphtalene, a new highly specific reagent for HPLC-UV measurement of total and free malondialdehyde in human plasma or serum**. Free Radical. Biol. Med., vol.31, n.2, p.242-249, 2001.

STUMBO, A.D.; GOATER, C.P. and HONTELA, A. **Parasite-induced oxidative stress in liver tissue of fathead minnows exposed to trematode cercariae**. Parasitology, vol. 139, n. 12, p. 1666–1671, 2012.

SUGANAMI, T. & OGAWA, Y. **Adipose tissue macrophages**: their role in adipose tissue remodeling. J Leukoc Biol., vol. 88, n. 1, p. 33-9, 2010.

SUMNER, J.B. & DOUNCE, A.L. **“Crystalline catalase,”** Journal of Biochemistry, vol. 121, p. 417–424, 1937.

TAKAHASHI, Y. & FUKUSATO, T. **Pediatric nonalcoholic fatty liver disease**: overview with emphasis on histology. World J Gastroenterol, vol.16, n. 42, p. 5280—5, 2010.

GBD 2015 (Global Burden of Disease Study) Obesity Collaborators. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. N Engl J Med., vol. 377, n. 1, p.13-27, 2017. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1614362>. Acesso: 19 junho 2020.

TALIOR, I.; YARKONI, M.; BASHAN, N. AND ELDAR-FINKELMAN, H. **Increased glucose uptake promotes oxidative stress and PKC-gama activation in adipocytes of obese, insulin-resistant mice**. Am J Physiol Endocrinol Metab vol. 285, p. E295–E302, 2003.

TALUKDAR, S.; OH, D.Y.; BANDYOPADHYAY, G.; LI, D.; XU, J.; MCNELIS, J.; LU M, L, I. P.; YAN, Q.; ZHU, Y.; OFRECIO, J.; LIN, M.; BRENNER, M.B.; OLEFSKY, J.M. **Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase**. Nat Med., vol. 18, n. 9, p.1407-12, 2012.

TEIXEIRA, L. G. **Interação entre obesidade induzida por dieta hiperlipídica e colite crônica aumenta reciprocamente a inflamação no tecido adiposo e no cólon**. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

Orientadora: Jacqueline I. Alvarez-Leite. 168f., 2012. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-962JPU/1/tese_lilian_teixeira.pdf Acesso em: 01/03/2021.

THALER, J.P.; YI, C.X.; SCHUR, E.A.; GUYENET, S.J.; HWANG, B.H.; DIETRICH, M.O.; ZHAO, X.; SARRUF, D.A.; IZGUR, V.; MARAVILLA, K.R.; NGUYEN, H.T.; FISCHER, J.D.; MATSEN, M.E.; WISSE, B.E.; MORTON, G.J.; HORVATH, T.L.;

BASKIN, D.G.; TSCHÖP, M.H.; SCHWARTZ, M.W. **Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans.** J Clin Invest., vol.122, n. 1, p.153-62, 2012.

TIEDGE, M.; LORTZ, S.; DRINKGERN, S. AND LENZEN, S. **Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells.** Diabetes, vol. 46, n. 11, p. 1733–1742, 1997.

TOCK, L.; PRADO, W.L.; CARANTI, D.A.; CRISTOFALO, D.M.; LEDERMAN, H.; FISBERG, M.; SIQUEIRA, K.O.; STELLA, S.G.; ANTUNES, H.K.; CINTRA, I.P.; TUFIK, S.; MELLO, M.T.; DÂMASO, A.R. **Nonalcoholic fatty liver disease decrease in obese adolescents after multidisciplinary therapy.** Eur J Gastroenterol Hepatol. VOL. 18, n. 12, p.1241-5, 2006.

TORRES, L., MARTINS, V.D., FARIA, A.M.C., MAIOLI, T.U. **The Intriguing Relationship Between Obesity and Infection.** J Infectiology, vol. 1, n. 1, p. 6-10, 2018.

TRAKTUEV, D.O.; MERFELD-CLAUSS, S.; LI, J., KOLONIN, M.; ARAP, W.; PASQUALINI, R.; JOHNSTONE, B.H.; AND MARCH, K.L. **A population of multipotent CD34- positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks.** Circ. Res., vol. 4, n. 102, p. 77–85, 2008.

TRZECIAK-RYCZEK, A.; TOKARZ-DEPTUŁA, B.; NIEDŹWIEDZKA- RYSTWEJ, P.; DEPTUŁA, W. **Adipose tissue – component of the immune system.** Centr Eur J Immunol., vol. 36, n. 2, p.95-9, 2011.

TSCHÖP, M.; HEIMAN, M.L. **Rodent obesity models: an overview.** Exp Clin Endocrinol Diabetes, vol.109, n. 6, p. 307-19, 2001.

TSUTSUMI, V.; MENA-LOPEZ, R.; ANAYA-VELAZQUEZ, F.; MARTINEZPALOMO, A. **Cellular bases of experimental amebic liver abscess formation.** American Journal of Pathology, vol. 117, n. 1, p. 81–91, 1984.

TURRENS, F. **Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain.** Biosci Rep, vol. 17, n. 1, p. 3–8, 1997.

TURK HM, SEVINC A, CAMCI C, CIGLI A, BUYUKBERBER S, SAVLI H, BAYRAKTAR N. **Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus.** Acta Diabetol, vol. 39, p. 117-22, 2002.

TURKELTAUB. J.A.; MCCARTY, T.R.; HOTEZ, P.J. **The intestinal protozoa: emerging impact on global health and development.** Curr Opin Gastroenterol, vol. 31, n. 1, p. 38-44, 2015.

ULFIG, A.; LEICHERT, L.I.; **The effects of neutrophil-generated hypochlorous acid and other hypohalous acids on host and pathogens.** Cell. Mol. Life Sci., vol. 78, p. 385-414, 2021.

UNGER; R.H. & SCHERER; P.E. **Gluttony, sloth and the metabolic syndrome: a roadmap to lipotoxicity.** Trends in Endocrinology and Metabolism, vol. 21, p. 345-352, 2010.

VALENZUELA, O.; MORAN, P.; GOMEZ, A.; CORDOVA, K.; CORRALES, N.; CARDOZA, J.; GÓMEZ, N.; CANO, M. & XIMÉNES, C. **Epidemiology of amoebic liver abscess in Mexico: the case of Sonora.** Annals of Tropical Medicine Parasitology., vol.101, n. 6, p.533–538, 2007.

VALORANI, M.G.; MONTELATICI, E.; GERMANI, A.; BIDDLE, A.; D’ALESSANDRO, D.; STROLLO, R.; PATRIZI, MP.; LAZZARI, L.; NYE, E.; OTTO, W.R.; POZZILLI, P. AND ALISON, M.R. **Pre-culturing human adipose tissue mesenchymal stem cells under hypoxia increases their adipogenic and osteogenic differentiation potentials.** Cell Prolif., vol. 45, n. 3, p. 225–238, 2012.

VAN HAL, S.J.; STARK, D.J.; FOTEDAR, R.; MARRIOTT, D.; ELLIS, J.T.; HARKNESS, J.L. **Amoebiasis: current status in Australia.** Medical Journal of Australia, vol. 186, n. 8, p. 412 – 6, 2007.

VENTURA, L.L.A.; OLIVEIRA, D.R.; VIANA, J.C.; SANTOS, J.F.G.; CALIARI, M.V.; GOMES, M.A. **Impact of protein malnutrition on histological parameters of experimentally infected animals with *Giardia lamblia*.** Experimental Parasitology, vol. 133, n. 4, p.391-395, 2013.

VENTURA, L.L.A. **Giardiase e Obesidade: aspectos metabólicos, histopatológicos e imunológicos da doença em Gerbils (*Meriones unguiculatus*) experimentalmente obesos e infectados com *Giardia lamblia*.** Tese de doutorado. Orientadora: Maria Aparecida Gomes
Coorientação: Marcelo Vidigal Caliari, Universidade Federal de Minas Gerais. 2016.

VENTURA, L.L.A.; FORTES, N.C.L.; SANTIAGO, H.C.; CALIAR, M.V.; GOMES, M.A.; OLIVEIRA, D.R. **Obesity-induced diet leads to weight gain, systemic metabolic alterations, adipose tissue inflammation, hepatic steatosis, and oxidative stress in gerbils (*Meriones unguiculatus*).** PEERJ, vol. 2, n. 5, e2967, 2017.

VIJAYAKUMAR, M.; GOVINDARAJAN, R.; RAO, G.M.M.; RAO, Ch.V.; SHIRWAIKAR, S.; MEHROTRA, S.; PUSHPANGADAN, P. **Action of *Higrophila auriculata* against Streptozotocin- induce oxidative stress.** J. of Ethnopharmacology, vol. 104, n. 3, p. 353-61, 2. 2006.

VINCENT, J.L.; DUBOIS, M.J.; NAVICKIS, R.J.; WILKES, M.M. **Hypoalbuminemia in acute illness: is there a rationale for intervention? A meta-analysis of cohort studies and controlled trials.** Ann Surg., vol. 237, n. 3, p. 319–334, 2003.

VINAYAK, V.K.; PURNIMA, K.S.; VENKATWSWARLU, K.; NAIN, C.K.; METHA, S.K. **Specific Circulating Immune Complexes in Amebic Liver Abscess.** Journal of Clinical Microbiology, vol. 23, n. 6, p. 1088-1090, 1986.

VON DIEMEN, V.; TRINDADE E.N.; TRINDADE, M.R. **Experimental model to induce obesity in rats.** Acta Cir Bras, vol. 21, n. 6, p. 425-29, 2006.

WANG, Q.; ZHAO, Y.; ZANG, B. **Anti-inflammation and anti-apoptosis effects of growth arrest-specific protein 6 in acute liver injury induced by lps/d-galn in mice.** Acta cir. bras. vol. 35, N. 2, E202000204, 2020.

WANYING XU, W., PEPPER, D., SUN, J., WELSH, J., CUI, X. AND EICHACKER, P.Q. **The Effects of Obesity on Outcome in Preclinical Animal Models of Infection and Sepsis:**

A Systematic Review and Meta-Analysis. Journal of Obesity, vol. 2020, article ID 1508764, 13 pages, 2020.

WAKI, H. & TONTONOZ, P. **Endocrine Functions of Adipose Tissue**. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis., vol. 2, p. 31-56, 2007.

WALSH, J.A. **Problems in recognition and diagnosis of amebiasis**: Estimation of the global magnitude of morbidity and mortality, Rev. Infect. Dis., vol. 8, n. 2, p. 228–238. 1986.

WALSH, J. **Prevalence of *Entamoeba histolytica* infection**. In: Ravdin JJ: Amebiasis: Human Infection by *Entamoeba histolytica*. New York: John Wiley and Sons, pp. 93-105, 1988.

WANG, P.; MARIMAN, E.; RENES, J.; KEIJER, J. **The secretory function of adipocytes in the physiology of white adipose tissue**. J. Cell Physiol., vol. 216, n. 1, p. 3–13, 2008.

WANYING XU, W., PEPPER, D., SUN, J., WELSH, J., CUI, X. AND EICHACKER, P.Q. **The Effects of Obesity on Outcome in Preclinical Animal Models of Infection and Sepsis**: A Systematic Review and Meta-Analysis. Journal of Obesity, vol. 2020, article ID 1508764, 13 pages, 2020

WATANABE, K.; PETRI, W.A. **Molecular Biology Research Benefit Patients with *Entamoeba histolytica* infection**. Mol Microbiol., vol. 98, n. 2, p. 208 – 217, 2015.

WATT, M. J.; HEVENER, A.; LANCASTER, G.I. AND FEBBRAIO, M. A. **Ciliary neurotrophic factor prevents acute lipid-induced insulin resistance by attenuating ceramide accumulation and phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase in peripheral tissues**. Endocrinology, vol. 147, n. 5, p. 2077–2085, 2006.

WATT, M. J.; HEVENER, A.; LANCASTER, G.I. AND FEBBRAIO, M. A. **Ciliary neurotrophic factor prevents acute lipid-induced insulin resistance by attenuating ceramide accumulation and phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase in peripheral tissues**. Endocrinology, vol. 147, n. 5, p. 2077–2085, 2006.

WATSON, R.R. & PETRO, T.M. **Resistance to Bacterial and Parasitic Infections in the Nutritionally Compromised Host**. CRC Critical Reviews in Microbiology, vol. 10, n. 4, p. 297-315, 1982.

WEBER, C.; KOUTERO, M.; DILLIES, M.A.; VARET, H.; CAMARILLO, C.L.; COPPÉE, J.Y.; HON, C.C.†; GUILLÉN, N. **Extensive transcriptome analysis correlates the plasticity of *Entamoeba histolytica* pathogenesis to rapid phenotype changes depending on the environment**. Scientific Reports, vol. 6, srep:35852, 2016.

WEINKE, T.; FRIEDRICH - JAENICKE, B.; HOPP P., JANITSCHKE K. **Prevalence and clinical importance of *Entamoeba histolytica* in two high-risk groups: travelers returning from the tropics and male homosexuals**. J Infect Dis., vol. 161, n. 5, p. 1029-1031, 1990.

WEISBERG, S.P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R.L. and FERRANTE, A.W. **Associated with Macrophage Accumulation in Adipose Tissue**. J Clin Invest., vol. 112, n. 12, p.1796-808, 2003.

WELLEN, K.E. & HOTAMISLIGIL, G.S. **Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue.** J Clin Invest., vol. 112, n. 12, p. 1785-1788, 2003.

WHITE, P.J.; MARETTE, A. **Potential role of omega-3-derived resolution mediators in metabolic inflammation.** Immunol. Cell Biol., vol. 92, p. 324-330, 2014.

WHO/PAHO/UNESCO. **A consultation with experts on amoebiasis.** Epidemiol. Bull., vol. 18, n. 1, p. 13-4, 1997.

WHO - World Health Organization. **Obesity and overweight** [Internet]. Geneva; 2011 [cited 2013 Apr 9]. Atualizado em junho de 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> Acesso: 23 agosto 2016.

WHO- World Health Organization, 1997, **Amoebiasis.** Weekly Epidemiol. Rec., vol. 72: 97–100. Disponível em: <https://www.who.int/docstore/wer/pdf/1997/wer7214.pdf>. Acesso: 23 agosto 2016.

WHO - World Health Organization. **Obesity and overweight**, 2020.
Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
Acesso: 13 abril 2021.

WISSE, B.E.; KIM, F.; SCHWARTZ, M.W. **Integrative View of Obesity.** Science, vol. 318, n. 5852, p. 928-929, 2007.

WITKO-SARSAT, V.; RIEU, P.; DESCAMPS-LATSCHA, B.; LESAVRE, P.; HALBWACHS-MECARELLI, L. **Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects.** Lab Invest., vol.80, n. 5, p. 617-53, 2000.

WYSS, K.; WÅNGDAHL, A.; VESTERLUND, M.; HAMMAR, U.; DASHTI, S.; NAUCLER, P.; FÄRNET, A. **Obesity and Diabetes as Risk Factors for Severe *Plasmodium falciparum* Malaria: Results from a Swedish Nationwide Study.** Clin Infect Dis., vol. 65, n. 6, p. 949–958, 2017.

WUERZ, T.; KANE, J.B.; BOGGILD, A.K.; KRAJDEN, S.; KEYSTONE, J.S.; FUKSA, M.; KAIN, K.C.; WARREN, R.; KEMPSTON, J.; ANDERSON, J. **A review of amoebic liver abscess for clinicians in a nonendemic setting.** Can J Gastroenterol., vol.26, n. 10, p.729-33, 2012.

XIMÉNEZ, C.; CERRITOS, R.; ROJAS L.; DOLABELLA, S.; MORÁN, P.; SHIBAYAMA, M.; GONZÁLEZ, E.; VALADEZ, A.; HERNÁNDEZ, E.; VALENZUELA, O.; LIMÓN, A.; PARTIDA, O.; SILVA, F. **Human Amebiasis: Breaking the Paradigm?** International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 7, n. 3, p. 1105-20, 2010.

XU, H.; BARNES, G.T.; YANG, Q.; TAN, G.; YANG, D.; CHOU, C.J.; SOLE, J.; NICHOLS, A.; ROSS, J.S.; TARTAGLIA, L.A.; CHEN H. **Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance.** Clin Invest., vo. 112, n. 12, p. 1821-30, 2003.

YANG, W.; TAO, Y.; WU, Y.; ZHAO, X.; YE, W.; ZHAO, D.; FU, L.; TIAN, C.; YANG, J.; HE, F. & TANG, L. **Neutrophils promote the development of reparative macrophages mediated by ROS to orchestrate liver repair.** Nat Commun 10, P. P. 1-14, 1076, 2019.

Disponível: <https://www.nature.com/articles/s41467-019-09046-8#citeas> Acesso em: 26/12/2020.

YE, J. **Mechanisms of insulin resistance in obesity**. *Frontiers of Medicine in China*, vol. 7, n. 1, pp. 14–24, 2013.

ZALEZNIK, D.F.; KASPER, D.L. In: **Infecções e Abscessos Intra abdominais**. Fauci AS, Braunwdd E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. Harrison. *Medicina Interna* vol.1, 14^a ed., Rio de Janeiro, McGraw-Hill Interamericana do Brasil Ltda, 1998.

ZAVALA, G.A.; GARCÍA, O.P.; CAMPOS-PONCE, M.; RONQUILLO, D.; CAAMAÑO, M.C.; DOAK, C.M.; ROSADO, J.L. **Children with moderate-high infection with *Entamoeba coli* have higher percentage of body and abdominal fat than non-infected children**. *Pediatr Obes.*, vol. 11, N. 6, p. 443-449, 2016.

ZATTERALE, F.; LONGO, M., NADERI, J., RACITI, GA., DESIDERIO, A., MIELE, C., AND BEGUINOT, F. **Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes**. *Front. Physiol.*, vol. 10, article 1607, 2020.

ZHANG, X.; ZHANG, Z.; ALEXANDER, D.; BRACHA, R.; MIRELMAN, D. AND STANLEY Jr., S.L. **Expression of Amoebapores Is Required for Full Expression of *Entamoeba histolytica* Virulence in Amebic Liver Abscess but Is Not Necessary for the Induction of Inflammation or Tissue Damage in Amebic Colitis**. *Infection and Immunity*, vol. 72, n. 2, p. 678- 683, 2004.

ZHANG, J.; DU, C.; GUO W, GUO, W.; LI, P.; LIU, S.; YUAN, Z.; YANG, J.; SUN, X.; YIAN, H.; GUO, Q.; ZHOU, C. **Adipose Tissue-Derived Pericytes for Cartilage Tissue Engineering**. *Curr Stem Cell Res Ther.*, vol. 12, n. 6, p. 513-521, 2017.

ZIMMERLIN, L.; DONNENBERG, V.S.; PFEIFER, M.E.; MEYER, E.M.; PE´ AULT, B.; RUBIN, J.P.; AND DONNENBERG, A.D. **Stromal vascular progenitors in adult human adipose tissue**. *Cytometry A.*, vol. 77, n.1, p. 22–30, 2010.