



15º Congresso de Iniciação Científica

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL IMUNOLÓGICO DE PACIENTES OBESOS MÓRBIDOS PRÉ-CIRUBARIATRICA

Autor(es)

JACQUELINE DE MELLO LIBARDI

Orientador(es)

Claudia Regina Cavaglieri

Apoio Financeiro

PIBIC

1. Introdução

O estado nutricional do indivíduo pode interferir diretamente nos processos de defesa do organismo, sendo que este fato está relacionado principalmente com a influência do tecido adiposo sobre o sistema imunológico. A obesidade leva ao acúmulo de tecido adiposo, e foi comprovado que tanto em animais quanto em humanos, esta condição altera as respostas imunológicas específicas e não específicas. Resultados epidemiológicos demonstram que há maior variedade e tipos específicos de doenças infecciosas em indivíduos obesos em comparação com indivíduos magros. (MARTI; MARCOS; MARTINEZ, 2001).

O número de indivíduos obesos vem crescendo vertiginosamente em todo o mundo, porém há evidências de que em países em desenvolvimento esse crescimento aconteça mais rapidamente (WHO, 1997; POPKIN, 2002). Segundo a Organização Pan-americana de Saúde (2003) existe mais de 1 bilhão de adultos com sobrepeso e cerca de 300 milhões de pessoas obesas no mundo. Este crescimento significativo no índice de obesidade vem preocupando cada vez mais os estudiosos da área. Em decorrência deste quadro, a cirurgia para obesidade mórbida é um procedimento que vem sendo amplamente utilizado. Esta cirurgia é reconhecida pelo Sistema Único de Saúde (SUS), que desde maio de 2001 passou a credenciar hospitais para a sua realização. O procedimento traz grandes benefícios ao portador da doença, mas pode também trazer conseqüências indesejáveis. O emagrecimento promovido pela cirurgia reduz a necessidade de medicamentos, promove o controle da pressão arterial, do diabetes tipo 2 e de uma série de comorbidades associadas à doença. No entanto, trata-se de um procedimento cirúrgico no qual, para a obtenção do emagrecimento, o indivíduo se submete a retirada parcial de órgãos do aparelho digestório ou ao isolamento do mesmo diminuindo o trânsito alimentar. Porém, as vantagens do procedimento superam os efeitos deletérios ao estado nutricional e de saúde geral a curto e longo prazo. Entretanto, os estudos nessa área estão ainda começando e poucos sabem sobre as necessidades e a efetividade das medidas profiláticas

para o controle das alterações nutricionais e fisiológicas dos indivíduos que se submetem à cirurgia.

2. Objetivos

Em consequência dos estudos descritos acima, este projeto de Iniciação Científica teve por objetivo caracterizar o perfil imunológico de paciente obeso mórbidos. Quanto aos parâmetros: de concentração sérica das Interleucinas: IL-2, IL-4, IL-6, IL-15 e TNF- α ; e do hemograma: Leucometria e Leucograma diferencial.

3. Desenvolvimento

A amostra foi composta por 11 mulheres voluntárias, com idade entre 20 e 45 anos, com IMC a partir de 35 kg/m², residentes na cidade de Piracicaba. Foram excluídas do estudo, as pessoas diabéticas e portadoras de hipertensão grave ou de outra doença que altere as condições metabólicas avaliadas, que não a obesidade. Os voluntários para o estudo foram recrutados no Nutricentro. Respeitada a lista de espera, conforme foram chamados para a cirurgia, os indivíduos com as características necessárias ao estudo foram convidados a participar durante as reuniões preparatórias que precedem a cirurgia. Nessa reunião os voluntários foram informados sobre a pesquisa e, caso houvesse interesse, fariam a adesão por escrito a partir da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Na clínica de nutrição foram realizadas entrevista para levantamentos de informações sobre a saúde e hábito de vida, avaliação clínica, antropométrica e calorimétrica e coleta de sangue para os estudos hematológicos e bioquímicos. A coleta de sangue foi realizada na própria clínica, em dia agendado especificamente para esse fim, os materiais utilizados na coleta foram todos descartáveis, padronizados, etiquetados e de reconhecida qualidade. A coleta foi realizada por profissional qualificado. Os exames hematológicos foram realizados imediatamente após a coleta para posterior análise no Laboratório de Performance Humana da UNIMEP. Os pacientes obesos pré-cirurgia bariátrica que foram anteriormente selecionados, estavam em jejum na manhã que foi realizada a coleta sanguínea. O sangue foi coletado pela veia antecubital do braço, pelo método a vácuo por uma enfermeira qualificada em tubo de vidro que continha heparina - anticoagulante para hematologia. Foi realizado o hemograma: Leucometria e Leucograma diferencial: A contagem de leucócitos foi feita diluindo-se 1:20 o sangue com pipeta de Thoma e foram contados 4 retículos da Câmara de Neubauer. A contagem diferencial de leucócitos foi feita através da contagem de 100 leucócitos de esfregaço sanguíneo com corante de Giemsa. A dosagem foi feita no soro obtido de pacientes obesos mórbidos pré cirurgia bariátrica, determinada pelo método ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), seguindo as especificações correspondentes pelos Kits (R&D System) (NISHIYAMA, 2000; CAVAGLIERI, 2003). A análise estatística foi realizada com a aplicação do teste t-Student ($p^* \leq 0,05$) e os resultados serão expressos pela média \pm erro padrão da média. Para os cálculos será utilizado o software MICROCAL ORIGIN V.6 (1999) pertencente ao Laboratório de Fisiologia da UNIMEP.

4. Resultados

As respostas imunes são altamente dependentes da habilidade dos leucócitos em migrarem do sangue para os tecidos periféricos, em locais de inflamação. A migração, rolamento, ativação e forte adesão dos leucócitos compreendem o clássico paradigma do recrutamento inflamatório celular (CAVAGLIERI et al., 2000). A inflamação é um processo de defesa que envolve células sanguíneas e proteínas de um tecido em resposta a uma injúria, infecção, trauma ou reação imunológica (KELLEY, 2001). O recrutamento de leucócitos circulantes, para o início da resposta inflamatória, ocorre devido à influência de citocinas (KATSUHIKO et al., 2003). Os leucócitos são responsáveis pelos dois tipos de imunidade: a inata e a adquirida, que agem de maneira cooperativa. A inata (natural) possui o mesmo mecanismo de defesa contra a maioria dos agentes infecciosos, por isto é considerada um sistema de baixa especificidade. Epitélios, proteínas sanguíneas, fagócitos, como os neutrófilos e macrófagos, participam deste mecanismo de defesa. A imunidade adquirida ou específica, responde de maneira particular aos vários tipos de antígenos, sendo, portanto especializada. Este sistema é eficiente principalmente por sua memória, que lhe confere respostas

mais vigorosas aos mesmos agentes. Os linfócitos e os anticorpos por eles produzidos são responsáveis pela ativação deste mecanismo de defesa (ABBAS; LICHTMAN; PODER, 2003). Além disso, os leucócitos expressam receptores de leptina (SANCHEZ; MARGALET; MARTIN-ROMERO, 2001) e estimulam efeitos sobre ela por proliferação dos próprios leucócitos (FANTUZZI; FAGGIONI, 2005). Dessa forma, evidências in vitro e estudos animais sugerem que a leptina está também envolvida na regulação da resposta inflamatória humoral através de efeitos diretos nas células T, monócitos, neutrófilos e células endoteliais (HUKSHORN et al., 2004). Com isso, a perda de peso reduz o nível de leptina circulante (ROSENBAUM et al., 1997) e concomitantemente reduz o nível plasmático de marcadores inflamatórios associados com obesidade (ZICCARDI et al., 2002). Logo, a perda de peso atenua esse estado proinflamatório. A análise da porcentagem de eritrócitos circulantes (hematócrito) demonstra que não houve diferenças significativas entre os obesos e os valores de referência dos indivíduos eutróficos (Tabela 4). Na análise da leucometria, observamos uma diferença significativa dos obesos, onde observamos um aumento do número total de leucócitos circulantes (Tabela 4). Alguns estudos observaram que o indivíduo obeso apresenta um estado proinflamatório. Sendo assim, este estado proinflamatório poderia induzir uma leucocitose. (PERFETTO; MANUSO; TARQUINI, 2002), Em relação ao leucograma diferencial podemos observar aumento nos linfócitos de 4,62%, nos monócitos de 29,41% indicando uma monocitose e nos neutrófilos de 1,67%. Já na análise do basófilo e do eosinófilo encontram-se dentro dos valores de referências (Tabela 4). Em relação à análise das citocinas, pudemos observar (tabela 5), aumento no nível plasmático da citocina pro inflamatória TNF- α de 22,38% (DANDONA et al., 1998), proteínas de fase aguda elevadas (VISSER et al., 1999; VAN DIELEN et al., 2001), aumentou o nível de marcadores de disfunção e ativação de células endoteliais (FERRI et al., 1999). As interleucinas 6 com -3,98% e 4 com -265,54%, não foram detectadas alterações, em virtude de sua concentração plasmática e a sensibilidade do kit utilizado. A interleucina 2 apresentou de 11,86% de sua concentração nos indivíduos.

5. Considerações Finais

A obesidade emergiu como epidemia em todo o mundo, e os problemas de saúde relacionados com a síndrome metabólica tem acompanhado essa epidemia. Em virtude do aumento consciente de indivíduos obesos, estilo de vida, sedentário, entre outros fatos, a epidemia mundial esta sujeita a transformar-se em uma pandemia nos anos subseqüentes, mundial e nos grandes centros. O crescimento rápido da prevalência de obesidade, juntamente com o envelhecimento da população e o aumento da proporção de grupos étnicos de alto risco aumentam a importância de estratégia efetivas para a prevenção primária da síndrome metabólica. Obesidade esta associada com vários riscos para a saúde que podem ter impacto na estrutura e função de todo o sistema orgânico. Obesidade é uma condição heterogênea modulada por uma variedade de fatores genéticos, ambientais e relacionados ao desenvolvimento. A literatura indica que o sistema nervoso simpático esta ativado em um subgrupo substancial de indivíduos e parece ter papel importante na resistência à insulina, hipertensão, taquicardia, complicações em órgãos-alvo e morte súbita, que ocorre precocemente e com mais freqüência nos pacientes obesos. De modo especulativo, elevação de citocinas pode ativar e gerar aparecimento da ativação simpática na obesidade. Pudemos observar que indivíduos obesos apresentaram um estado proinflamatório devido a vários fatores, como por exemplo, leucocitose, neutrofilia e aumento concentração sérica de citocinas pró-inflamatórias TNF- α ; em relação a indivíduos eutróficos. Com este projeto de iniciação científica pudemos caracterizar o perfil imunológico de pacientes obesos pré-cirurgia bariátrica para colaborar com possível intervenção clínica nesta população especial.

Referências Bibliográficas

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PODER, J.S. Citocinas. In: _____. **Imunologia celular e molecular**. 4 ed. Rio de Janeiro: Revinter, cap.11, p.235-240, 2003.
- CAVAGLIERI, C.R.; MARTINS, E.F.; COLLEONE, V.V.; RODRIGUES, C.; VECCHIA, M.G.; CURI, R. **Fiber-rich diets alter rat intestinal leukocytes metabolism.** *J Nutrition Biochem.*,11:555-561, 2000.
- CAVAGLIERI, C.R.; NISHIYAMA, A.; FERNANDES, L.C.; CURI, R.; MILES, E.; CALDER, P.C.; Diferencial

effects of short-chain fatty acids on proliferation and production of pro- and anti-inflammatory cytokines by cultured lymphocytes. **Life Sciences**, 73:1683-90, 2003.

DANDONA, P.; WEINSTOCK, R.; THUSU, K.; ABDEL-RAHMAN, E.; ALJADA, A.; WADDEN, T. Tumor necrosis factor-7a in sera of obese patients: fall with weight loss. **J Clin Metab.**, 83: 2907-2910, 1998.

fantuzzi g. adipose tissue, adipokines, and inflammation. **J Allergy Clin Immunol.** 115(5): 911-9, 2005.

FERRI, C.; DESIDERI, G.; VALENTI, M.; BELLINI, C.; PASIN, M.; SANTUCCI, A.; De MATTIA, G. Early upregulation of endothelial adhesion molecules in obese hypertensive men. **Hypertension**, 34:568-573, 1999.

HUKSHORN, C.J.; LINDEMAN, J.H.N.; TOET, K.H.; SARIS, W.H.M.; EILERS, P.H.C.; WESTERTERP-PLANTENGA, M.S.; KOOISTRA, T. Leptin and the proinflammatory state associated with human obesity. **J Clin Endocrinol Metab.**, 89(4):1773-1778, 2004.

KATSUHIKO, S.; SHIGEYUKI, N.; MUTSUO, Y.; QIANG, L.; SHYGEYOSHI, K.; NORIYOSHI, O.; TAKASHI, K.; TAKASHI, U.; KAZUO, S. Impact of a Competitive Marathon Race on Systemic Cytokine and Neutrophil Responses. **Med Sci Sports Exerc.**, 35(2): 348-355, 2003.

KELLEY, D.S. Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. Nutrition., 17(7-8): 669-73, 2001.

MARTI A.; MARCOS A.; MARTINEZ JA: Obesity and immune function relationships. **Obes. Rev.** 2001, 131-140.

NISHIYAMA, A.; CAVAGLIERI, C.R.; CURI, R. CALDER, P.C. Arachidonic acid-containing phosphatidylcholine inhibits lymphocyte proliferation and decreases interleukin-2 and interferon-g production from ConA-stimulated rat lymphocytes. **Biochimica et Biophysica Acta** 1487:50-60, 2000.

PERFETTO, F.; MANUSO, F.; TARQUINI, R. Leukocytosis and hyperleptinemia in obesity: is there a link. **Haematologica.**, 87: ELT25, 2002.

POPKIN, B.M. The shift in stages of the nutrition transition in the developing world differs from past experiences. **Public Health Nutrition**, 5: 205-214, 2002.

ROSENBAUM, M.; NICOLSON, M.; HIRSCH, J.; MURPHY, E.; CHU, F.; LEIBEL, R.L. Effect of weight change on plasma leptin concentrations and energy expenditure. **J Clin Endocrinol Metab.**, 82:3647-3654, 1997.

SANCHEZ-MARGALET, V.; MARTIN-ROMERO, C. Human leptin signaling in human peripheral blood mononuclear cells: activation of the JAK-STAT pathway. **Cell Immunol.**, 211:30-36, 2001.

VISSER, M.; BOUTER, L.M.; McQUILLAN, G.M.; WENER, M.H.; HARRIS, T.B. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. **JAMA**, 282:2131-2135, 1999.

VAN DIELEN, F.M.H.; VAN'T VEER, C.; SCHOLS, A.M.; SOETERS, P.B.; BUURMAN, W.A.; GREVE, J.W.M. Increased leptin concentrations correlate with increased concentrations of inflammatory markers in morbidly obese individuals. **Int J Obes Relat Metab Disord.**, 25:1759-1766, 2001.

WHO "Obesity – prevention and management of the global epidemic". **The WHO consultation on obesity, Geneve.** 3-5 June, 1997.

ZICCARDI, P.; NAPPO, F.; GIUGLIANO, G.; ESPOSITO, K.; MARFELLA, R.; CIOFFI, M.; D'ANDREA, F.; MOLINARI, A.M.; GIUGLIANO, D. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. **Circulation**, 105:804-809, 2002.

Anexos

O volume sanguíneo total das voluntárias não apresentou alteração. Ao analisar os leucócitos observou-se uma alteração apresentando leucócitos circulante de 35,06%. Em relação ao leucograma diferencial podemos observar um aumento nos linfócitos de 4,62%, nos monócitos de 29,41% e nos neutrófilos de 1,67%. Já na análise do basófilo e do eosinófilo encontram-se dentro dos valores de referências (Tabela 4).

PARÂMETROS	MÉDIA	ERRO PADRÃO	VALORES DE REFERÊNCIA
HEMATÓCRITO (%)	36,25	± 1, 771	35 a 47
LEUCÓCITOS (cel/mm ³)	15400	± 1236, 564	5000 a 12000
LINFÓCITOS (cel/mm ³)	5242, 314	± 3,31	1000 a 4000
MONÓCITOS (cel/mm ³)	1700, 314	± 1, 320	80 a 700
NEUTRÓFILOS (cel/mm ³)	8136, 282	± 2, 913	1800 a 6800
BASÓFILOS (cel/mm ³)	109, 032	± 0, 189	0 a 300
EOSINÓFILOS (cel/mm ³)	320, 782	± 0, 421	0 a 500

Tabela 4: Referente aos resultados de hematócrito, leucometria e leucograma diferencial

Ao analisar as citocinas pudemos observar que a IL-2 responsável pela proliferação e ativação dos linfócitos T demonstrou um resultado de 112,47%. Já a IL-4 responsável pela ativação de linfócitos B obteve um resultado de 119,26%, e não foi detectada pelo kit, a IL-6, sendo pró-inflamatória e a ela que reduz a sensibilidade a insulina, não foi detectada pelo kit, demonstrando um resultado de -3,98%. Já houve um aumento no nível plasmático da citocina pro-inflamatória TNF- α de 22,38%, proteína C reativa aguda elevada, aumentou o nível de marcadores de disfunção e ativação de células endoteliais (Tabela 5).

PARÂMETROS	MÉDIA	ERRO PADRÃO	VALOR REFERENCIAL
IL-2 pg/mL	13,35	$\pm 58,66$	112,47 $\pm 31,66$
IL-4 pg/mL	- 316,68	$\pm 14,98$	119 $\pm 31,66$
IL-6 pg/mL	- 4,59	$\pm 10,59$	115,14 $\pm 31,66$
TNF- α pg/mL	39,63	$\pm 39,28$	177 $\pm 31,66$