

## Avaliação do Papel da Imunidade Adaptativa na Obesidade: Estudo Experimental em Animais

VIVIANE ZORZANELLI ROCHA GIRALDEZ

Orientador: Prof. Dr. Raul Dias dos Santos Filho  
Programa de Cardiologia

### Resumo

**Rocha VZ.** *Avaliação do Papel da Imunidade Adaptativa na Obesidade – Estudo Experimental em Animais. (tese). São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.*

O desenvolvimento gradual e recente de uma epidemia mundial de obesidade alavancou sobremaneira o estudo dessa condição e de suas comorbidades metabólicas. No âmbito fisiopatológico, múltiplos estudos demonstraram a expressão aumentada de mediadores inflamatórios no tecido adiposo de animais e humanos obesos, o acúmulo local de macrófagos, e um papel central da inflamação no desequilíbrio da homeostase metabólica local e sistêmica na obesidade. A definição de um papel ativo dos macrófagos, e portanto da imunidade inata, na rede inflamatória do tecido adiposo, evocou a hipótese de que, similarmente a outras condições inflamatórias crônicas como a aterosclerose, a obesidade também contaria com a importante participação de elementos da imunidade adaptativa, como as células T e suas citocinas, em sua fisiopatologia. Com base nessas considerações, os objetivos principais desse estudo foram: 1) avaliar a presença das células T e o papel do interferon-gama (IFN $\gamma$ ), clássica citocina T-helper 1 (ou Th1), na inflamação do tecido adiposo; e 2) estudar mecanismos de acúmulo das células T no tecido adiposo na obesidade, particularmente a participação do receptor CXCR3 nesse processo. Experimentos de citometria de fluxo mostraram que o tecido adiposo visceral de camundongos C57BL/6 obesos após consumo de dieta rica em gorduras apresentou maior número de macrófagos e também de células T, CD4 $^{+}$  e CD8 $^{+}$ , em comparação a controles que receberam dieta pobre em gorduras. A expressão de I-Ab, marcador do complexo de

histocompatibilidade principal classe II (MHC II) murino, também foi maior no tecido adiposo dos animais obesos, sugerindo a presença local da atividade de apresentação de antígeno e ativação das células T. Quando estimuladas in vitro, células T derivadas do tecido adiposo de camundongos obesos produziram mais IFN $\gamma$  do que aquelas isoladas de controles, novamente sugerindo a ativação dessas células em um contexto de obesidade. Na análise das possíveis funções do IFN $\gamma$  no tecido adiposo, a estimulação da linhagem de células 3T3-L1 diferenciadas em adipócitos com IFN $\gamma$  recombinante resultou na produção aumentada de quimiocinas de macrófagos, como a proteína quimiotática de monócito (MCP-1), e de quimiocinas de células T, como a proteína 10 induzida por IFN $\gamma$  (IP-10) e monocina induzida por IFN $\gamma$  (MIG). A estimulação de adipócitos com o sobrenadante de células Th1 cultivadas in vitro, com abundante concentração de IFN $\gamma$ , também levou à produção aumentada de IP-10. Em análise mais ampla, através de microarray, dos possíveis efeitos do IFN $\gamma$  na expressão gênica de adipócitos, o tratamento dessas células com 100 U/ml de IFN $\gamma$  resultou na expressão aumentada de diversas quimiocinas e seus receptores em comparação ao grupo tratado com placebo. Similarmente à estimulação de células isoladas com IFN $\gamma$ , a incubação de tecido adiposo ex vivo de camundongos com essa citocina também resultou em secreção aumentada de IP-10, MIG e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ). A investigação do papel do IFN $\gamma$  na inflamação do tecido adiposo in vivo envolveu camundongos com deficiência de IFN $\gamma$  e controles, ambos os grupos submetidos a dieta rica em gorduras (obesos) ou pobre em gorduras (não-obesos). Camundongos obesos deficientes em IFN $\gamma$  apresentaram expressão reduzida de mRNA de genes inflamatórios como TNF- $\alpha$  e MCP-1 no tecido adiposo; acúmulo local reduzido de macrófagos; e maior tolerância à glicose em comparação aos controles sob mesma dieta. Animais com deficiência de apolipoproteína E (ApoE) e também do receptor de IFN $\gamma$  também apresentaram em seu tecido adiposo a expressão reduzida de mRNA de genes inflamatórios, particularmente relacionados às células T, como IP-10, MIG, e o receptor CXCR3, em comparação aos controles com deficiência única de ApoE. Resultados in vitro e in vivo sugerem conjuntamente um importante papel do IFN $\gamma$ , e portanto, das células T e da imunidade adaptativa, na rede inflamatória do tecido adiposo na obesidade,

com consequente impacto metabólico sistêmico. A presença de células T ativadas no tecido adiposo e seu acúmulo diferencial na obesidade motivaram também a pesquisa de potenciais mecanismos quimiotáticos reguladores desse processo. CXCR3, receptor das quimiocinas de células T, IP-10, MIG e quimiocina alfa de células T IFN $\gamma$ -induzida (I-TAC), é expresso preferencialmente em células T ativadas, e detém papel central na migração dessas células em outras condições inflamatórias crônicas, como a aterosclerose. Em camundongos com deficiência de CXCR3 e que receberam dieta rica em gorduras por 8 ou 16 semanas, o tecido adiposo apresentou significativamente menos células T, incluindo as células CD4 $^{+}$  e CD8 $^{+}$ , em comparação a controles submetidos a mesma dieta. Os números similares de células T e outras populações de leucócitos no baço e sangue periférico dos animais deficientes em CXCR3 e controles fortalecem o conceito de um efeito do CXCR3 sobre o acúmulo de células T no tecido adiposo, independentemente do número de células circulantes e periféricas. Os camundongos deficientes em CXCR3 apresentaram também maior tolerância à glicose e expressão reduzida de mRNA de mediadores inflamatórios em seu tecido adiposo em comparação aos controles após 8 semanas de dieta rica em gorduras. No entanto, a diferença na tolerância à glicose entre os dois grupos tornou-se não significativa após 16 semanas de dieta gordurosa, coincidindo com redução substancial na expressão de mRNA de mediadores anti-inflamatórios (como interleucina-10 [IL-10] e Arginase 1), e número reduzido de células T regulatórias no tecido adiposo de camundongos deficientes em CXCR3 em relação a controles. Esses resultados sugerem que o CXCR3 é capaz de regular o acúmulo de células T de diferentes subtipos, com perfil proinflamatório ou anti-inflamatório. Em conclusão, nossos resultados revelam um importante papel da citocina Th1 IFN $\gamma$  na rede inflamatória do tecido adiposo na obesidade em camundongos, sugerindo a participação fundamental das células T e portanto, da imunidade adaptativa nesse cenário. Além disso, o receptor CXCR3 contribui significativamente para o acúmulo das células T, incluindo as células T regulatórias, no tecido adiposo desses animais.

**Descritores:** Obesidade, tecido adiposo, inflamação, linfócitos T, células Th1, interferon gama, macrófagos, receptores CXCR3, glucose/metabolismo, experimentação animal.

