

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

DANIELA APARECIDA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DE NEUTRÓFILOS E CÉLULAS NATURAL KILLER EM
PACIENTES PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO DE CIRURGIA BARIÁTRICA**

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2024

DANIELA APARECIDA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DE NEUTRÓFILOS E CÉLULAS NATURAL KILLER EM
PACIENTES PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO DE CIRURGIA BARIÁTRICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Carla de Oliveira Barbosa Rosa

Co-orientadores: Bruna Fernandes Pinto

Leandro Licursi de Oliveira

Helen Hermana. Miranda Hermsdorff

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2024

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586c
2024
Silva, Daniela Aparecida da, 1994-
Caracterização de neutrófilos e células Natural Killer: em
pacientes do pré e pós operatório da cirurgia bariátrica / Daniela
Aparecida da Silva. – Viçosa, MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (60 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexos.

Orientador: Carla de Oliveira Barbosa Rosa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Nutrição e Saúde, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.424>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Obesidade. 2. Neutrófilos. 3. Células matadoras naturais.
I. Rosa, Carla de Oliveira Barbosa, 1971-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa
de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição. III. Título.

CDD 22. ed. 616.398

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552


DANIELA APARECIDA DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DE NEUTRÓFILOS E CÉLULAS NATURAL KILLER EM
PACIENTES PRÉ E PÓS-OPERATÓRIO DE CIRURGIA BARIÁTRICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 08 de março de 2024

Assentimento:

 Documento assinado digitalmente
DANIELA APARECIDA DA SILVA
Data: 05/08/2024 10:21:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Daniela Aparecida da Silva
Autora

 Documento assinado digitalmente
CARLA DE OLIVEIRA BARBOSA ROSA
Data: 05/08/2024 16:51:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Carla de Oliveira Barbosa Rosa
Orientadora

*A Deus,
meus familiares*

e amigos pelo apoio recebido de todos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e a coragem para buscar os meus sonhos.

Aos meus pais João Batista e Vera Lúcia, vocês são minha base, meu exemplo, meu porto seguro e apoio, sem vocês nada disso seria possível.

A minha irmã gêmea Daliane, você é minha amiga, parceira, confidente. É aquela que me escuta, me apoia, me ajuda. Sou mais feliz por que a tenho comigo em todos os capítulos desta vida!

Ao meu primo e irmão do coração Marcos Virlene, sua ajuda e confiança é muito importante para mim.

Aos meus avós Rita (*in memoriam*) e Almiro, meus tios e primos que sempre me apoiaram e torceram por mim.

Aos meus amigos que fiz em Viçosa, vocês fizeram a diferença! Em especial agradeço a Raquel e a Adriana, pelo carinho, amizade, companheirismo, parceria no dia a dia, a amizade com vocês deixou meus dias mais alegres. Não tenho como mensurar a falta de vocês em minha vida!

A minha orientadora Carla Barbosa minha eterna gratidão, por todo apoio e ajuda durante o mestrado e pela confiança de sempre!

A minha coorientadora Bruna Fernandes, que é luz. Seus conselhos e apoio foram muito importantes durante esta jornada!

Ao meu coorientador Leandro Licursi, que me ajudou e ensinou muito. Sua orientação foi essencial nesta pesquisa!

A todos os professores e funcionários da Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, pela oportunidade e ensinamentos teóricos e práticos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

***“A persistência é o menor caminho do êxito”
(Charles Chaplin)***

SILVA, Daniela Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2024. **Caracterização de neutrófilos e células natural killer em pacientes pré e pós-operatório de cirurgia bariátrica.** Orientadora: Carla de Oliveira Barbosa Rosa. Coorientadores: Bruna Fernandes Pinto, Leandro Licursi de Oliveira, Helen Hermana Miranda Hermsdorff.

RESUMO

Introdução: A obesidade pode ser definida como um acúmulo anormal ou excessivo de tecido adiposo, sendo prejudicial à saúde do indivíduo, caracterizada por uma inflamação crônica de baixo grau, na qual são evidenciados elevados níveis de marcadores inflamatórios. Neste sentido, a cirurgia bariátrica pode proporcionar uma perda de peso significativa, melhora de parâmetros de saúde e está associado a um baixo risco de complicações inerentes à patologia. No tecido adiposo de pacientes com obesidade existe um grande número de células imunes, como os neutrófilos, monócitos e células natural killer (NK). **Objetivos:** Analisar e caracterizar os neutrófilos e células natural Killer de indivíduos com obesidade grave pré e pós- cirurgia bariátrica **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, realizado com pacientes no pré e pós-operatório de cirurgia bariátrica atendidos no ambulatório da Equipe de Terapia Nutricional da Obesidade Grave (ETNO) do Instituto Alfa de Gastroenterologia (IAG), no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brasil. O estudo faz parte de um projeto maior intitulado “*Caracterização de marcadores da imunidade inata e adaptativa para monitoramento e acompanhamento da evolução clínica em obesos no pré e pós-operatório de cirurgia bariátrica*”. Foram realizadas avaliações antropométricas, avaliação de células natural killers e neutrófilos por citometria de fluxo de pacientes no pré e pós- cirurgia bariátrica e um grupo controle, com um nível de IMC adequado. Foram utilizados os testes estatísticos de acordo com a normalidade dos dados e adotado o nível de significância estatística de 5%. **Resultados:** Este estudo demonstrou que a maioria dos participantes eram do sexo feminino (80,65%) com média de idade de 43 anos (24 - 59). Os pacientes do grupo pós-operatório apresentaram, após no mínimo de 6 meses da cirurgia bariátrica, uma perda média de 41 kg (22-63kg). O percentual de perda de excesso de peso foi de 67,56% (49,53-91,67%) e o IMC reduziu 10,41kg/m³, demonstrando assim um sucesso no pós-operatório. Os resultados demonstraram menor expressão de CD282 no grupo pré-bariátrico quando comparados com os grupos controle e pós-bariátrico. Foi possível observar, no grupo pré-bariátrico, correlação significativa negativa entre a expressão de IL-10 em neutrófilos e peso ($\rho=-0,8182/p=0,0038$), IMC ($\rho=-0,8424/p=0,0022$), TMB ($\rho=-0,6485/p=0,0425$), e HDL ($\rho=-0,7538/p=0,0118$). No grupo pós-bariátrico, correlação significativa positiva entre a expressão de IL-10 em neutrófilos e massa magra ($\rho=0,6099/p=0,0269$), e negativa com massa gorda ($\rho=-0,6099/p=0,0269$) e menor frequência de células Natural Killer. **Conclusão:** Neste estudo, de modo geral, demonstramos evidências que o grupo pós-bariátrico possui a tendência de melhora na recuperação dos parâmetros imunológicos expressos pelos neutrófilos quando comparado aos indivíduos do grupo controle.

Palavras-chave: Obesidade; Inflamação; Células Natural Killer; Neutrófilos; Citocinas; Cirurgia Bariátrica; IL-10.

SILVA, Daniela Aparecida, M.Sc., University Federal of Viçosa, march of 2024.
Characterization of neutrophils and natural killer cells in pre and postoperative bariatric surgery patients associated with the inflammatory index of the diet. Advisor: Carla de Oliveira Barbosa Rosa. Co-advisers: Bruna Fernandes Pinto, Leandro Licursi de Oliveira and Helen Hermana Miranda Hermsdorff.

ABSTRACT

Introduction: Obesity can be defined as an abnormal or excessive accumulation of adipose tissue, which is harmful to the individual's health, characterized by chronic low-grade inflammation, in which high levels of inflammatory markers are evident. In this sense, bariatric surgery can provide significant weight loss, improve health parameters and is associated with a low risk of complications inherent to the pathology. In the adipose tissue of patients with obesity there are a large number of immune cells, such as neutrophils, monocytes and natural killer (NK) cells. **Objectives:** To analyze and characterize neutrophils and natural killer cells in individuals with severe obesity before and after bariatric surgery. **Methods:** This is a cross-sectional study, carried out with patients in the pre- and post-operative period of bariatric surgery treated at the outpatient clinic of the Health Team. Nutritional Therapy for Severe Obesity (ETNO) at the Alfa Institute of Gastroenterology (IAG), at the Hospital das Clínicas of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil. The study is part of a larger project entitled "Characterization of markers of innate and adaptive immunity for monitoring and monitoring the clinical evolution of obese people in the pre- and postoperative period of bariatric surgery". Anthropometric assessments were carried out, assessment of natural killer cells and neutrophils by flow cytometry of patients before and after bariatric surgery and a control group, with an adequate BMI level. Statistical tests were used according to the normality of the data and a statistical significance level of 5% was adopted. **Results:** This study demonstrated that the majority of participants were female (80.65%) with an average age of 43 years (24 - 59). Patients in the postoperative group presented, after at least 6 months of bariatric surgery, an average loss of 41 kg (22-63kg). The percentage of excess weight loss was 67.56% (49.53-91.67%) and the BMI reduced by 10.41kg/m³, thus demonstrating post-operative success. The results demonstrated lower expression of CD282 in the pre-bariatric group when compared to the control and post-bariatric groups. It was possible to observe, in the pre-bariatric group, a significant negative correlation between the expression of IL-10 in neutrophils and weight ($\rho=-0.8182/p=0.0038$), BMI ($\rho=-0.8424/p=0.0022$), BMR ($\rho=-0.6485/p=0.0425$), and HDL ($\rho=-0.7538/p=0.0118$). In the post-bariatric group, a significant positive correlation between the expression of IL-10 in neutrophils and lean mass ($\rho=0.6099/p=0.0269$), and a negative correlation with fat mass ($\rho=-0.6099/p=0.0269$) and lower frequency of Natural Killer cells. **Conclusion:** In this study, in general, we demonstrated evidence that the post-bariatric group has a tendency to improve the recovery of immunological parameters expressed by neutrophils when compared to individuals in the control group.

Keywords: Obesity; Inflammation; Natural Killer Cells; Neutrophils; cytokines; bariatric surgery; IL-10.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Recognition and activation molecules in neutrophils.....	47
Figura 2	Cytokines in neutrophils.....	48
Figura 3	IL-10 cytokine correlation in neutrophils separated by group.....	49
Figura 4	Natural killer cells.....	50
Figura 5	Representative clustering analysis and heatmap correlations associations between clinical, biochemical and immunological parameters in patients before and after bariatric surgery and control.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Clinical, anthropometric and biochemical parameters of pre and post-bariatric surgery patients and healthy individuals (control).....	46
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%PEP	Percentual de Perda de Excesso de Peso
IMC	Índice de Massa Corporal
NK	Células Natural Killer
ETNO	Equipe de Terapia Nutricional da Obesidade Grave
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
HAS	Hipertensão
IL	Interleucina
TGF- β	Fator transformante do crescimento beta
TNF- α	Fator de necrose tumoral alpha
VIGITEL	Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
PCR	Proteína C Reativa
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
IFN-g	Interferon gama
PAI-1	Inibidor do Ativador de Plasminogênio tipo 1
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Cirurgia Bariátrica	13
2.2 Obesidade e Inflamação	14
2.3 Neutrófilos e células Natural Killer (NK).....	16
2.4 Referências Bibliográficas	17
3. JUSTIFICATIVA	21
4. HIPÓTESE	22
5. OBJETIVOS.....	23
5.1 Objetivo Geral.....	23
5.2 Objetivos Específicos	23
6. METODOLOGIA.....	24
6.1 Delineamento do Estudo.....	24
6.2 Critérios de Inclusão	24
6.3 Avaliação Antropométrica e Composição Corporal.....	25
6.4 Avaliação dos Marcadores Intracitoplásmico.....	25
6.5 Avaliação de Parâmetros Bioquímicos	26
6.6. Análise Estatística.....	27
7. RESULTADO E DISCUSSÃO	28
8. CONCLUSÃO GERAL.....	52
ANEXOS	53
Anexo I – Carta de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG	53
Anexo II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	58
Anexo III – Questionário de Anamnese.....	60

1. INTRODUÇÃO

A obesidade pode ser definida como um acúmulo anormal ou excessivo de tecido adiposo, sendo prejudicial à saúde do indivíduo, associada ao desenvolvimento de comorbidades. No Brasil, dados do VIGITEL (Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico) apontaram que aproximadamente 22,5% de indivíduos apresentam obesidade, sendo maior índice entre a faixa etária de 35 a 64 anos (BRASIL, 2021; WHO, 2013).

O aumento global da obesidade é atribuído à fácil disponibilidade e consumo de 'fast foods', 'junk food', alimentos ultraprocessados e bebidas açucaradas, que são ricos em calorias e pobres em nutrientes essenciais. Esta dieta inadequada resulta em baixa ingestão de proteínas, fibras, vitaminas, zinco, potássio, magnésio e cálcio, importantes para o metabolismo (STUCKLER et al., 2012; MOHAPATRA et al., 2020). Devido às dificuldades na adesão a planos alimentares e falhas na perda de peso, a cirurgia bariátrica se torna uma opção valiosa para alcançar perda de peso significativa e melhorar a saúde (JAMMAH, 2015).

O tecido adiposo visceral é reconhecido como um órgão endócrino metabolicamente ativo que produz hormônios e citocinas. A obesidade é agora entendida como uma condição caracterizada por inflamação crônica de baixo nível, marcada por elevados e anormais níveis de indicadores inflamatórios como proteína C reativa, TNF- α e IL-6, juntamente com um estado ativado de leucócitos circulantes (ZHANG et al, 2018; MOHAPATRA et al, 2020), indivíduos com obesidade contém um grande número de células imunes, sendo elas, os neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células natural killer (NK) e linfócitos que participam da resposta inflamatória crônica (MOHAPATRA et al, 2020; ELGAZAR-CARMON, 2008).

Contudo, apesar de importantes estudos demonstrando papel das células e marcadores inflamatórios na obesidade, são escassos os registros sobre a relação de células NK e neutrófilos em pacientes com obesidade antes e após a cirurgia bariátrica. Neste sentido, o presente estudo propõe preencher

essas lacunas ao analisar e caracterizar os neutrófilos e células Natural Killer em pacientes com obesidade grave pré e pós cirurgia bariátrica, avaliando o padrão de citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias assim como sua correlação com os parâmetros clínicos e bioquímicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cirurgia Bariátrica

A cirurgia bariátrica tornou-se um método bastante promissor para o tratamento da obesidade, principalmente em pacientes que não conseguiram sustentar de modo duradouro a perda de peso com orientação médica, e quando associada com modificações na dieta e no estilo de vida do paciente é considerada um procedimento eficaz e seguro para auxiliar a perda de peso a longo prazo (LEEMAN et al., 2020; JAMMAH, 2015; Bruno; Berger, 2020).

Desde 2019, as técnicas cirúrgicas mais comumente realizadas são gastrectomia vertical, banda gástrica ajustável laparoscópica, derivação biliopancreática com switch duodenal (AFFINATI et al., 2019) e by-pass gástrico em Y de Roux, que é considerado o “padrão ouro” no tratamento eficaz para a obesidade (LEEMAN et al., 2020). Estes procedimentos cirúrgicos podem ser classificados como restritivos, disabsortivos ou uma combinação de ambos e, independente da sua classificação, objetivam reduzir o volume gástrico formando uma bolsa gástrica de 30 a 80 ml, proporcionando, conseqüentemente, a redução do consumo alimentar. O by-pass gástrico em Y de Roux constitui um método restritivo por mudar o formato do órgão, formando uma pequena bolsa gástrica ligada ao jejuno, causando má absorção e ajudando no controle de ingestão alimentar e na redução do peso corporal (LABRECQUE et al., 2017; DEBÉDAT et al., 2019).

Com mudança nos hábitos alimentares e as alterações induzidas no trato gastrointestinal, além da compreensão dos mecanismos que promove a perda de peso corporal pós-cirúrgica, verificou a melhora das comorbidades por efeitos pleiotrópicos na fisiologia intestinal, sinalização neuronal, secreção hormonal, regulação lipídica, alterações do microbioma e captação de energia dos alimentos (MIKA et al., 2022; AFFINATI et al., 2019).

As estratégias atuais para estratificar o peso corporal baseiam-se no índice de massa corporal (IMC), que mede o peso corporal em quilogramas e divide pela altura em metros ao quadrado. Segundo sua classificação, o IMC entre 18,5-24,9 kg/m² é considerado como peso normal, entre 25,0 kg/m² a 29,9 kg/m², como sobrepeso e IMC com valor \geq 30,0 kg/m² é considerado com obesidade, e valores acima deste entram na classificação de Obesidade grau I, grau II e grau III (FORSYTHE, 2008; GADDE, 2018; WHO, 2013).

É importante ressaltar que as deficiências nutricionais em pacientes pós-cirurgia bariátrica variam de acordo com o tipo de procedimento, por isso, as diretrizes nutricionais recomendam que os pacientes bariátricos façam a utilização diária de suplementos com vitaminas e minerais durante toda a vida e façam uma ingestão mínima de proteínas de aproximadamente 90 g/d e além da necessidade de suplementação de acordo com exames laboratoriais. Além disso, realizar acompanhamento médico periódico multidisciplinar com monitoramento do estado nutricional, psicológico e social também é recomendado (LEEMAN et al., 2020; ABESO, 2016; MOHAPATRA et al., 2019).

2.2 Obesidade e Inflamação

A obesidade é uma doença de etiologia multifatorial que resulta da complexa influência entre fatores genéticos, ambientais, sociais e comportamentais, além de alterações do microbioma intestinal (MOHAPATRA et al., 2020).

O aumento da prevalência de obesidade visceral contribui para o surgimento de vários fatores de risco cardiovascular e doenças crônicas, como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), resistência à insulina e hipertensão (HAS). O efeito destas enfermidades na morbidade e mortalidade é diretamente proporcional ao aumento do IMC dos pacientes ocasionado pelo desequilíbrio entre a alta ingestão de alimentos calóricos inadequados e redução do gasto energético, levando ao desenvolvimento da obesidade e ao risco à saúde do indivíduo (AFFINATI et al., 2019; HAJER et al., 2008; JAMMAH, 2015).

Com isto, o excesso de gordura corporal pode levar a complicações metabólicas e cardiovasculares resultantes de disfunções do tecido adiposo incluindo à formação de um infiltrado de células imunes e aumento na secreção

de mediadores inflamatórios, contribuindo para o estabelecimento de uma inflamação sistêmica de baixo grau (LABRECQUE et al., 2017; MOHAPATRA et al., 2020).

O tecido adiposo é atualmente reconhecido como um órgão de múltiplas funções, pois além de possuir um papel central no armazenamento de lipídios, possui função endócrina através da secreção de hormônios, dentre eles, leptina e adiponectina e outros fatores proteicos. Contribuindo para a síntese de diferentes adipocinas como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e fator de crescimento transformador- β (TGF- β), assim como moléculas envolvidas na resposta de fase aguda, como o plasminogênio inibidor do ativador-1 (PAI-1), levando a caracterização de um estado de inflamação crônica de baixo grau, resistência à insulina e aterosclerose, sendo estes fatores característicos da desregulação metabólica ligada à obesidade (TRAYHURN; WOOD, 2004 FAIN, 2006, KAHN, HULL, UTZSCHNEIDER, 2006). Assim sendo, o desequilíbrio energético leva ao aumento do tecido adiposo desencadeado pela hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos, o que acarreta no desenvolvimento das comorbidades associadas e para o estabelecimento da inflamação crônica (LABRECQUE et al., 2017; CALDER et al., 2011).

Quando ativados os adipócitos expressam ligantes do receptor ativador de células NK estimulando sua própria proliferação e também a produção de IFN-g, contribuindo para o desenvolvimento de complicações metabólicas que explica o fato da inflamação sistêmica crônica associada à obesidade se originar da disfunção do tecido adiposo. Além disso, o desequilíbrio da produção de adipocinas é acompanhado por alterações no ambiente pró-inflamatório, levando à migração de células NK, linfócitos T e B, macrófagos, eosinófilos, e outras células imunes para o tecido adiposo, que leva a alterações na oxidação da glicose, aumento da resistência à insulina e estresse oxidativo (ADAMI *et al.*, 2019; ZHANG et al., 2018, de HEREDIA et al., 2012).

Dentre as citocinas expressas em pacientes com obesidade, TNF- α estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos e promove a ativação de outras células do sistema imunológico. IL-6 atua na resposta imune aguda e crônica, sendo produzida também pelo fígado e influenciando a produção de proteínas de fase aguda. IL-1 β , que é produzida por células imunes

inatas, é uma citocina importante nas respostas inflamatórias e infecções (WELLEN, HOTAMISLIGIL 2005; MOGHBELI et al, 2021).

O fator de crescimento transformador Beta (TGF- β) é uma proteína multifuncional fundamental em diversos processos biológicos, desde a regulação do crescimento celular e a modulação do sistema imunológico até o processo de cicatrização de feridas, na qual sua capacidade de suprimir a atividade das células do sistema imune permite controlar e modular as respostas inflamatórias (TRAVIS, DEAN, 2014; VANDER et al, 2018). Já, IL-10 desempenha uma função essencial na modulação e regulação da resposta inflamatória. Produzida por diversos tipos celulares, incluindo monócitos ativados, macrófagos e linfócitos, é reconhecida por sua capacidade de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias, assim como reduzir a expressão de moléculas co-estimuladoras em macrófagos, levando a inibição da ativação linfocitária (LABRECQUE et al, 2017; JUGE-AUBRY et al, 2005).

2.3 Neutrófilos e células Natural Killer (NK)

Os neutrófilos constituem cerca de 50 a 70% das células imunes circulantes no sangue periférico e são as primeiras células a serem recrutadas pelo sistema imunológico durante o processo inflamatório, como observado em indivíduos com obesidade (BLASZCZAK, 2021; KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013).

O número de neutrófilos presentes na circulação sanguínea eleva-se na obesidade e síndrome metabólica, apresentando uma associação entre essas células circulantes no sangue e o aumento do IMC (CHI et al., 2012). Além disso, verificou-se que indivíduos com excesso de peso e neutrofilia apresentaram aumento das concentrações séricas de proteína C-reativa (PCR) e circunferências da cintura (URIBE-QUEROL; ROSALES, 2022).

Por outro lado, as células natural killer (NK) são leucócitos granulares volumosos de morfologia característica, sendo componente da resposta imune inata com ação antitumoral e antiviral, constituindo cerca de 10% dos linfócitos em circulação. Exercem um papel importante no tecido adiposo, apresentando como função eliminar células infectadas por meio das atividades citolíticas de perforina e granzimas e realizar a síntese de citocinas que desempenham

atividade na migração, maturação, ativação e polarização de outras células da resposta imunológica. Ainda, podem produzir IFN- γ , TNF- α , GM-CSF e outras citocinas que atuam no recrutamento e estímulo de células imunes. Nos seres humanos, as células NK são expressas como células CD3⁻, CD56⁺ e/ou podendo ser subdivididas com base na expressão de CD56 (FAURIAT et al., 2010; LEE et al., 2016; MOULIN et al., 2011).

As funções das células NK podem ser alteradas em indivíduos com obesidade, podendo comprometer a sua capacidade de produzir citocinas e eliminar células infectadas (BÄHR et al., 2018; Jahn et al., 2015; O'Brien, Finlay, 2019). Contudo, ainda são escassos os dados que correlacionem e caracterizem as células NK e neutrófilos em pacientes pós-bariátricos.

2.4 Referências Bibliográficas

Adami GF, Carbone F, Montecucco F, Camerini G, Cordera R. Adipose Tissue Composition in Obesity and After Bariatric Surgery. *Obes Surg.* 2019

Affinati AH, Esfandiari NH, Oral E A, Kraftson AT. Bariatric Surgery in the Treatment of Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep.* 2019

Brasil. Associação Brasileira Para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes brasileiras de obesidade. 4. ed. São Paulo: ABESO, 2016.

Bähr, I, Jahn, J, Zipprich, A. Impaired natural killer cell subset phenotypes in human obesity. *Immunol Res* 66 , 234–244 2018.

Blaszczak AM, Jalilvand A, Hsueh WA. Adipocytes, Innate Immunity and Obesity: A Mini-Review. *Front Immunol.* 2021

Bruno DS, Berger NA. Impact of bariatric surgery on cancer risk reduction. *Ann Transl Med.* 2020

Bulur O, Öztürk D, Ertuğrul DT, et al. Effects of sleeve gastrectomy on neutrophil-lymphocyte ratio. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2021

Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, Buetler T, Clement K, Cunningham K, Esposito K, Jönsson LS, Kolb H, Lansink M, Marcos A, Margioris A, Matusheski N, Nordmann H, O'Brien J, Pugliese G, Rizkalla S, Schalkwijk C, Tuomilehto J, Wärnberg J, Watzl B, Winklhofer-Roob BM. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *British Journal of Nutrition.* Cambridge University Press; 2011

Chi PJ, Wu KT, Chen PJ, et al. The serial changes of Neutrophile-Lymphocyte Ratio and correlation to weight loss after Laparoscopic Sleeve Gastrectomy. *Front Surg.* 2022;9:939857. Published 2022

de Heredia FP, Gómez-Martínez S, Marcos A. Obesity, inflammation and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society.* Cambridge University Press; 2012

Debédat J, Clément K, Aron-Wisniewsky J. Gut Microbiota Dysbiosis in Human Obesity: Impact of Bariatric Surgery. *Curr Obes Rep.* 2019

Elgazar-Carmon V, Rudich A, Hadad N, Levy R. Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding. *J Lipid Res.* 2008

Fauriat C, Long EO, Ljunggren HG, Bryceson YT. Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition. *Blood.* 2010

Forsythe LK, Wallace JMW, Livingstone MBE. Obesity and inflammation: the effects of weight loss. *Nutrition Research Reviews.* Cambridge University Press; 2008

Gadde KM, Martin CK, Berthoud HR, Heymsfield SB. Obesity: Pathophysiology and Management. *J Am Coll Cardiol.* 2018

Hajer, GR. Haeflén, TW. Visseren, FLJ. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases, *European Heart Journal*, Volume 29, Issue 24, December 2008, Pages 2959–2971

Jahn J, Spielau M, Brandsch C. Decreased NK cell functions in obesity can be reactivated by fat mass reduction. *Obesity (Silver Spring).* 2015

Jammah AA. Endocrine and metabolic complications after bariatric surgery. *Saudi J Gastroenterol* 2015;21:269-77

Juge-Aubry CE, Henrichot E, Meier CA. Adipose tissue: a regulator of inflammation. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism* vol. 19,4 (2005)

Vander Ark A, Cao J, Li X. TGF- β receptors: In and beyond TGF- β signaling. *Cell Signal.* 2018

Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 2006

Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2013

Labrecque J, Laforest S, Michaud A, Biertho L, Tchernof A. Impact of Bariatric Surgery on White Adipose Tissue Inflammation. *Can J Diabetes.* 2017

Lee BC, Kim MS, Pae M, Yamamoto Y, Eberlé D, Shimada T, Kamei N, Park HS, Sasorith S, Woo JR, You J, Mosher W, Brady HJ, Shoelson SE, Lee J. Adipose Natural Killer Cells Regulate Adipose Tissue Macrophages to Promote Insulin Resistance in Obesity. *Cell Metab.* 2016

Leeman M, Gadiot RPM, Wijnand JMA, Birnie E, Apers JA, Biter LU, Dunkelgrun M. Effects of standard v. very long Roux limb Roux-en-Y gastric bypass on nutrient status: a 1-year follow-up report from the Dutch Common Channel Trial (DUCATI) Study. *Br J Nutr.* 2020

Mika A, Janczy A, Waleron K, Szymanski M, Kaska L, Sledzinski T. The impact of the interplay of the intestinal microbiome and diet on the metabolomic and health outcomes of bariatric surgery. *Obes Rev.* 2022

Moghbeli M, Khedmatgozar H, Yadegari M, Avan A, Ferns GA, Ghayour Mobarhan M. Cytokines and the immune response in obesity-related disorders. *Adv Clin Chem.* 2021

Mohapatra S, Gangadharan K, Pitchumoni CS. Malnutrition in obesity before and after bariatric surgery. *Dis Mon.* 2020

Moulin CM, Marguti I, Peron JP, Halpern A, Rizzo LV. Bariatric surgery reverses natural killer (NK) cell activity and NK-related cytokine synthesis impairment induced by morbid obesity. *Obes Surg.* 2011

Stuckler D, McKee M, Ebrahim S, Basu S. Manufacturing epidemics: the role of global producers in increased consumption of unhealthy commodities including processed foods, alcohol, and tobacco. *PLoS Med.* 2012

Travis, MA, Dean, S. TGF- β activation and function in immunity. *Annual review of immunology* vol. 32 (2014): 51-82

Trayhurn P, Wood IS. Adipocinas: inflamação e o papel pleiotrópico do tecido adiposo branco. *Jornal Britânico de Nutrição.* Cambridge University Press; 2004;92(3):347–355

Uribe-Querol E, Rosales C. Neutrophils Actively Contribute to Obesity-Associated Inflammation and Pathological Complications. *Cells.* 2022

Vigitel, BRASIL. Saúde Suplementar: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Agência Nacional de Saúde Suplementar – Brasília: Ministério da Saúde, 2021. 124 p.

Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest.* 2005.

World Health Organization (WHO). Obesity and overweight. Geneva, 2013.

Yi Q, Li X, He Y, Xia W, Shao J, Ye Z, Song P. Associations of dietary inflammatory index with metabolic syndrome and its components: a systematic

review and meta-analysis. *Public Health Nutrition*. Cambridge University Press; 2021.

Zhang C, Zhang J, Liu Z, Zhou Z. More than an Anti-diabetic Bariatric Surgery, Metabolic Surgery Alleviates Systemic and Local Inflammation in Obesity. *Obes Surg*. 2018.

O'Brien KL, Finlay DK. Immunometabolism and natural killer cell responses. *Nat Rev Immunol*. 2019.

3. JUSTIFICATIVA

A obesidade é considerada uma pandemia de saúde pública, com etiologia multifatorial que resulta da influência de fatores genéticos, ambientais, sociais e comportamentais. Atualmente, a obesidade é caracterizada por uma inflamação crônica de baixo grau, manifestada por elevados e anormais níveis de marcadores inflamatórios, como proteína C reativa, TNF- α e IL-6, juntamente com um estado ativado de leucócitos circulantes.

Portanto, a proposta de investigar a relação entre marcadores da imunidade inata, como neutrófilos e células NK, e pacientes com obesidade no pré e pós-operatório de cirurgia bariátrica, apresenta-se como um passo significativo na busca por abordagens para a compreensão mais profunda e personalizada no manejo da obesidade, visando não apenas à gestão do peso, mas à promoção de uma saúde integral e duradoura.

4. HIPÓTESE

Pacientes antes e após cirurgia bariátrica manifestam diferenças significativas em seus perfis clínicos e imunológicos. Após a intervenção cirúrgica, observa-se uma tendência à redução ponderal e à diminuição dos demais indicadores clínicos vinculados à obesidade, bem como aumento na expressão de citocinas anti-inflamatórias, contribuindo para o restabelecimento da homeostase do organismo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Analisar e caracterizar os neutrófilos e células Natural Killer em pacientes no pré e pós cirurgia bariátrica.

5.2 Objetivos Específicos

- i. Verificar os dados antropométricos e composição corporal dos pacientes participantes do estudo;
- ii. Avaliar em pacientes pré e pós cirurgia bariátrica de sucesso e indivíduos eutróficos, por citometria de fluxo:
 - a expressão das moléculas CD11b, CD62L, CD282, CD284, HLA-DR, CD80 e CD86 em neutrófilos.
 - o padrão de citocinas anti-inflamatórias (IL-10 e TGF- β) e pró-inflamatórias (IL-1b, IL-6, e TNF- α) expressas pelos neutrófilos.
 - a frequência células NK e a expressão intracitoplasmática de granzima.
- i. Correlacionar a expressão de IL-10 por neutrófilos com os parâmetros clínicos e bioquímicos evidenciados em pacientes pré e pós cirurgia bariátrica e indivíduos eutróficos.
- ii. Verificar por análise de clusterização e heatmap as correlações associações entre parâmetros clínicos, bioquímicos e imunológicos nos pacientes pré e pós cirurgia bariátrica de sucesso e indivíduos eutróficos.

6. METODOLOGIA

6.1 Delineamento do Estudo

Este é um estudo transversal realizado com pacientes no pré e pós-operatório de cirurgia bariátrica atendidos no ambulatório da Equipe de Terapia Nutricional da Obesidade Grave (ETNO) do Instituto Alfa de Gastroenterologia (IAG), no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brasil.

O estudo faz parte de um projeto maior intitulado “Caracterização de marcadores da imunidade inata e adaptativa para monitoramento e acompanhamento da evolução clínica em obesos no pré e pós-operatório de cirurgia bariátrica”, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP/UFMG), nº do parecer: 1.966.953/2017 (Anexo I).

Neste estudo, a amostra foi de conveniência, sendo constituída de todos os pacientes que aceitaram aderir à pesquisa para os grupos pré e pós-bariátrico e para o grupo controle foram selecionados indivíduos eutróficos. Todos indivíduos que participaram do presente estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo II). Os questionários que foram utilizados para anamnese e conteúdo de apoio foram os padronizados pela ETNO (Anexo III).

6.2 Critérios de Inclusão

Todos pacientes envolvidos no estudo foram atendidos no ambulatório ETNO sendo classificados em três grupos: pré-bariátrico, pós-bariátrico e controle (pacientes eutróficos).

Foram incluídos indivíduos adultos de ambos os sexos, que atendiam os seguintes critérios: idade entre 18 e 60 anos; índice de massa corporal (IMC) $\geq 40\text{kg/m}^2$ ou $\geq 35\text{kg/m}^2$ associado à comorbidades clínicas no grupo pré-bariátrico (n=10); percentual de perda de excesso de peso (%PEP) $\geq 50\%$ após a cirurgia no grupo pós-bariátrico (n=13); IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m^2 no grupo controle (n=08).

Foram excluídos do estudo indivíduos que faziam uso de medicamentos anti-inflamatórios, que apresentaram doenças infecciosas e/ou autoimunes, que foram vacinados até 2 meses antes do estudo, menores de dezoito anos e mulheres na menopausa.

6.3 Avaliação Antropométrica e Composição Corporal

A avaliação antropométrica e de composição corporal foi realizada no laboratório da ETNO, na UFMG. Para medir o peso dos indivíduos foi utilizada uma balança do tipo plataforma, tendo como capacidade de medida de até 300kg (Filizola Electrónica 300 kg, São Paulo, Brasil). A altura foi mensurada por meio de um estadiometro junto à balança.

Para medir a composição corporal foi utilizado o Índice de Massa Corporal (IMC), sendo calculado através da relação peso (kg)/altura² (m) e utilizando a classificação de acordo com proposto pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2000) para determinar a classificação de baixo peso, peso normal, sobrepeso e os graus da obesidade nos três grupos.

Foi utilizada a Bioimpedância (modelo Biodynamics 310e, marca TBW, São Paulo, Brasil), que avalia a Massa Gorda (Gordura em % e Kg), Massa Livre de Gordura (Massa Magra em Kg), Água Corporal Total (Litros e %), Água na Massa Magra (%) e Taxa Metabólica Basal (TMB).

Já o percentual de perda de excesso de peso (%PEP), foi obtido através da fórmula: $(\text{Peso pré-cirúrgico} - \text{Peso atual}) \div (\text{Peso pré-cirúrgico} - \text{Peso ideal}) \times 100$ e o peso ideal foi calculado de acordo com o IMC de 25kg/m².

6.4 Avaliação dos Marcadores de Superfície e Intracitoplasmáticos

As análises dos marcadores imunológicos foram realizadas no Laboratório de Biologia das Interações Celulares no Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Após a coleta do sangue periférico dos pacientes, as amostras foram incubadas por 4h em estufa com 5% CO₂ a 37°C, na presença de 20µL de Brefeldina A (Sigma, USA), com concentração final de 1 mg/mL. Depois do período de incubação, as células foram adicionadas em tubos de poliestireno (Falcon, EUA) com combinação de anticorpos monoclonais para identificar as

moléculas de superfície e, posteriormente, incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente. Logo após, as hemácias foram lisadas e fixadas utilizando-se 2 mL de solução de lise comercial (FACS Lysing Solution - BD, E.U.A.) por 10 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente as células foram lavadas com PBS-W (PBS pH 7.4, contendo 0.5% BSA e 0.1% de azida sódica) e 2,5 mL de PBS-P (PBS, pH 7,4 contendo 0,5% de BSA, 0,1% de azida sódica e 0,5% de saponina) foram adicionados às amostras em incubação por 30 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo de luz.

Para a detecção dos marcadores intracelulares foi adicionado anticorpo anti-citocinas aos respectivos tubos por 1 hora na ausência de luz. Após a incubação, as células foram lavadas com 1mL de PBS-W e ao final, foram adicionados 200µL de solução fixadora (10g/l de paraformaldeído, 1% de cacodilato de sódio, 6,67g/L de cloreto de sódio, pH 7,2 - reagentes SIGMA, E.U.A). As amostras contendo a suspensão celular foram utilizadas para aquisição de dados no citômetro de fluxo FACSCanto II (BD, E.U.A.) no Laboratório de Biologia das Interações Celulares no Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Um total de 70.000 eventos foram analisados.

Neste estudo, os dados coletados foram analisados utilizando o Software FlowJo (versão 10.6.1). As moléculas analisadas foram: CD14, CD16, HLA-DR, CD11, CD62L, CD282, CD284, CD80, CD86, IL-1 β , TGF, TNF- α , IL-6, IL-10, CD3, CD56 e granzima conjugadas com os fluoróforos FITC, PERCP (or PE-Cy5 or PERCP-Cy5.5), APC, APCCy7, PE-Cy7 e BV421.

6.5 Avaliação de Parâmetros Bioquímicos

A avaliação bioquímica foi realizada pelo Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da UFMG, seguindo o protocolo padrão. A coleta de amostras do sangue periférico de cada indivíduo foi por punção venosa em tubos Vacutainer de 5mL contendo anticoagulante EDTA, conforme protocolo padrão.

Realizado a análise dos seguintes parâmetros: hemograma, medido em contador hematológico eletrônico de células; Proteína C Reativa ultrasensível (PCR-us) e hemoglobina glicada, mensurados pelo método de Imunoturbidimetria com utilização do aparelho Image (Beckman coulter, USA);

Foi obtido através do método colorimétrico enzimático o colesterol total, triglicérides, HDL (lipoproteína de alta densidade), LDL (lipoproteína de baixa densidade) e glicemia de jejum.

6.6. Análise Estatística

Os dados obtidos foram armazenados em um banco de dados no Microsoft Excel 2016 e foram analisados através do software GraphPad Prism (versão 8). O nível de significância estatística adotado é de 5% para todas as análises e os resultados foram exibidos na forma de gráficos e tabelas.

As variáveis quantitativas foram avaliadas pela mediana e interquartis, de acordo com distribuição não paramétrica determinada através do teste de *Shapiro-Wilk*. Para os dados paramétricos e de distribuição normal foi realizado a Análise de Variância (ANOVA) de 1 fator, acompanhado pelo teste *post hoc* de *Tukey* e os dados foram expressos em média e desvio padrão. Para dados não-paramétricos, foi empregado o teste de *Kruskal-Wallis*, sendo complementado pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*, e os dados foram exibidos em mediana e intervalo interquartil. A análise de correlação foi feita por meio do coeficiente de Spearman (ρ) obtido pelo software JMP Pro versão 16.2.0. A análise de hierarquia por clusters foi realizada através do software online Clustvis, disponível em: <https://biit.cs.ut.ee/clustvis/>.

7. RESULTADO E DISCUSSÃO

ARTIGO ORIGINAL:

Papel de IL-10 expressos por neutrófilos na restauração da homeostasia em pacientes pós cirurgia bariátrica

Daniela Aparecida da Silva¹, Bruna Fernandes Pinto^{2,3}, Nayara Ingrid de Medeiros², Helen Hermana Miranda Hermsdorff¹, Leandro Licursi de Oliveira¹, Juliana de Assis Silva Gomes², Jacqueline Isaura Alvarez Leite⁴, Carla de Oliveira Barbosa Rosa¹.

¹Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, Brasil.

²Laboratório de Biologia das Interações Celulares, Departamento de Morfologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, Brasil.

³Laboratório de Imunoquímica, Instituto Butantan – SP, Brasil.

⁴Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, Brasil.

Autor Correspondente: Carla de Oliveira Barbosa Rosa. Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, Brazil. E-mail: carla.rosa@ufv.br

*Artigo a ser submetido à revista - Classificação Qualis Nutrição: A1

Resumo

Objetivo: Avaliar e caracterizar os neutrófilos e células natural Killer em pacientes no pré e pós-cirurgia bariátrica, avaliar o padrão de citocinas anti-inflamatórias/pró-inflamatórias e moléculas expressas pelos neutrófilos e avaliar a frequência células NK.

Metodologia: Este estudo transversal incluiu 31 pacientes de ambos os sexos, divididos em três grupos, pré-bariátrico com IMC $\geq 40 \text{ kg/m}^2$, pós-bariátrico com percentual de perda de excesso de peso $\geq 50\%$ em até dois anos de cirurgia, já o grupo controle com pacientes eutróficos pelo IMC. Para análise dos marcadores imunológicos, foi utilizado um citometro de fluxo e as moléculas analisadas foram o CD14, CD16, HLA-DR, CD11, CD62L, CD282, CD284, CD80, CD86, IL-1 β , TGF, TNF- α , IL-6, IL-10, CD3, CD56 e granzima conjugadas com os fluoróforos FITC, PERCP (or PE-Cy5 or PERCP-Cy5.5), APC, APCCy7, PE-Cy7 e BV421.

Resultados: Este estudo demonstrou que a maioria dos participantes eram do sexo feminino (80,65%) com média de idade de 43 anos (24 - 59). Os pacientes do grupo pós-operatório apresentaram, após no mínimo de 6 meses da cirurgia bariátrica, uma perda média de 41 kg (22-63kg). O percentual de perda de excesso de peso foi de 67,56% (49,53-91,67%) e o IMC reduziu $10,41 \text{ kg/m}^3$, demonstrando assim um sucesso no pós-operatório. Os resultados demonstraram menor expressão de CD282 no grupo pré-bariátrico quando comparados com os grupos controle e pós-bariátrico. Foi possível observar, no grupo pré-bariátrico, correlação significativa negativa entre a expressão de IL-10 em neutrófilos e peso ($\rho = -0,8182/p = 0,0038$), IMC ($\rho = -0,8424/p = 0,0022$), TMB ($\rho = -0,6485/p = 0,0425$), e HDL ($\rho = -0,7538/p = 0,0118$). No grupo pós-bariátrico, correlação significativa positiva entre a expressão de IL-10 em neutrófilos e massa magra ($\rho = 0,6099/p = 0,0269$), e negativa com massa gorda ($\rho = -0,6099/p = 0,0269$) e menor frequência de células *Natural Killer*.

Conclusão: Neste estudo pioneiro sobre neutrófilos em pacientes bariátricos, descobrimos que a cirurgia bariátrica pode restaurar tanto os parâmetros imunológicos dos neutrófilos quanto o perfil bioquímico e antropométrico. Esses achados destacam a importância crucial da perda de peso na promoção da homeostasia eutrófica, sugerindo novas oportunidades para intervenções terapêuticas personalizadas baseadas na análise detalhada dessas células e sua associação com os aspectos clínicos e bioquímicos dos pacientes.

Palavras-chave: Obesidade; Inflamação; Células Natural Killer; Neutrófilos; Citocinas; Cirurgia Bariátrica.

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença metabólica sistêmica, crônica, de origem multifatorial caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo^{1,2}, estando associada a complicações e doenças crônicas, representando um grande risco à saúde do indivíduo^{3,4}. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), mais de 650 milhões de adultos, acima de 18 anos, apresentaram obesidade⁵. O aumento da prevalência de obesidade contribui para fatores de risco cardiovascular e doenças crônicas, como o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e hipertensão (HAS)⁶.

Diante deste cenário, é necessário promover uma mudança no estilo de vida e nos padrões alimentares dos pacientes, que após insucessos em tentativas para redução de peso⁷, buscam métodos de tratamento eficazes e de baixo risco. Desta forma a cirurgia bariátrica apresenta-se como uma boa opção por proporcionar perda de peso expressiva, além da melhora dos parâmetros de saúde, associado a um baixo risco de complicações graves^{8,9}. No entanto, dados recentes sobre cirurgia bariátrica ressaltam tanto a durabilidade dos benefícios da perda de peso e das melhorias nas comorbidades quanto os riscos significativos como reganho de peso, necessidade de reoperação e maior incidência de transtornos por uso de substâncias e suicídio. A decisão de submeter-se à bariátrica deve incluir uma análise cuidadosa dos riscos, benefícios e incertezas^{10,11}.

O método bypass gástrico em Y de Roux constitui um método restritivo por mudar o formato do intestino através da formação de uma pequena bolsa gástrica ligada ao jejuno, causando má absorção e promovendo melhora das comorbidades por efeitos pleiotrópicos na fisiologia intestinal, sinalização neuronal, secreção hormonal, regulação lipídica, alterações do microbioma, captação de energia dos alimentos e sistema imunológico^{12,13,14}, além mudanças na morfologia e funções do tecido adiposo visceral¹⁵, que se configura como um

órgão endócrino metabolicamente ativo, uma vez que desempenha a síntese de hormônios e citocinas^{16,17}.

A obesidade, por sua vez, é reconhecida como uma inflamação crônica de baixo grau, manifestando-se por meio de níveis elevados e desregulados de marcadores inflamatórios, bem como um aumento no estado ativado de leucócitos circulantes^{18,19}. Nesse contexto, o tecido adiposo do indivíduo com obesidade abriga uma considerável quantidade de células imunológicas, incluindo neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células Natural Killer (NK) e linfócitos, todos participantes ativos envolvidos no aumento da resposta inflamatória²⁰. Dessa forma, torna-se perceptível que a inflamação e as alterações na resposta imune desempenham um papel crucial no desenvolvimento de diversas complicações metabólicas, resultando em uma disfunção do tecido adiposo²¹.

Os neutrófilos destacam-se pela habilidade de eliminar patógenos por meio de diversos mecanismos, além de produção de citocinas e quimiocinas e são capazes de ativar outras células²², representando entre 50 a 70% das células imunes circulantes no sangue periférico²³. Por outro lado, as células Natural Killer (NK) exercem a função de eliminar células tumorais ou infectadas, valendo-se de atividades citolíticas envolvendo a atuação de perforina e granzimas²⁴, além de regular as células imunes mediante a secreção de citocinas pró-inflamatórias, que desempenham um importante papel na migração, maturação, ativação e polarização de outras células imunes²⁵. Entretanto, ainda são escassos estudos que caracterizem os neutrófilos e células NK em pacientes pós-bariátricos e correlacionem com parâmetros clínicos, bioquímicos e imunológicos.

Neste sentido, o presente estudo tem por objetivo analisar e caracterizar os neutrófilos e células Natural Killer em pacientes com obesidade grave pré e pós cirurgia bariátrica no intuito de avaliar como essas células imunológicas respondem às mudanças metabólicas e fisiológicas induzidas pela cirurgia, contribuindo para um melhor entendimento dos impactos da cirurgia bariátrica na saúde imunológica desses pacientes.

METODOLOGIA

População de estudo

Trata-se de um estudo transversal composto por 31 indivíduos com idade entre 18 e 60 anos pertencentes a ambos os sexos, sendo classificados nos grupos pré-bariátrico e pós-bariátrico. O grupo pré-bariátrico (n=10) foi constituído de pacientes com IMC $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ e o grupo pós-bariátrico (n=13) foi formado por pacientes que foram submetidos à cirurgia bariátrica pelo método by pass gástrico em Y de Roux, os quais exibiam um percentual de perda de excesso de peso (PEP%) maior ou igual a 50% e estavam dentro do período de até dois anos após a realização do procedimento bariátrico. Indivíduos eutróficos com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m^2 foram incluídos no grupo controle (n=8).

Os pacientes foram recrutados do ambulatório da Equipe de Terapia Nutricional da Obesidade Grave (ETNO) do Instituto Alfa de Gastroenterologia (IAG), no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil representando uma amostragem por conveniência. Não foram incluídos no presente estudo indivíduos que faziam uso de medicamentos anti-inflamatórios, apresentavam doenças infecciosas e/ou autoimunes, que se vacinaram até dois meses antes da coleta de sangue e mulheres após a menopausa.

Declaração Ética

O presente estudo faz parte do projeto intitulado “Caracterização de marcadores da imunidade inata e adaptativa para monitoramento e acompanhamento da evolução clínica em obesos no pré e pós-operatório de cirurgia bariátrica”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais - COEP/UFMG (1.966.953/2017). Todos participantes do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido afirmando sua participação na pesquisa.

Avaliação clínica e antropométrica

A avaliação antropométrica e de composição corporal foi realizada no laboratório da ETNO da UFMG. O peso e a altura dos participantes foram aferidos com balança tipo plataforma com estadiômetro acoplado (*Filizola*

Eletrônica 300kg, São Paulo). O IMC foi calculado através da relação $\text{peso (kg)}/\text{altura}^2 \text{ (m)}$ e classificados de acordo com a preconização estabelecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (2000). A composição corporal foi avaliada através de bioimpedância (modelo Biodynamics 310e, TBW, São Paulo). A perda de peso no grupo pós-bariátrico foi obtida através do cálculo $\%PEP = \frac{(\text{peso pré-operatório}) - (\text{peso atual})}{(\text{peso pré-operatório}) - (\text{peso ideal})} \times 100$, considerando IMC ideal 25kg/m².

Avaliação bioquímica

Amostras de sangue periférico dos pacientes participantes do estudo foram coletadas por punção venosa em tubos *Vacuntainer* de 5mL contendo anticoagulante EDTA, conforme protocolo padrão. O hemograma foi avaliado em contador hematológico eletrônico de células, proteína C-Reativa ultrasensível (PCR) e hemoglobina glicada foram mesurados pelo método de imunoturbidimetria utilizando o aparelho *Image* (Beckman coulter, USA). Através do método colorimétrico enzimático foram analisados os valores de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e glicose. Os níveis de insulina sanguíneos foram mensurados através do método de quimioluminescência.

Avaliação dos marcadores de superfície e intracitoplasmáticos

As análises dos marcadores imunológicos foram realizadas no Laboratório de Biologia das Interações Celulares no Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Após a coleta do sangue periférico dos pacientes, as amostras foram incubadas por 4h em estufa com 5% CO² a 37°C, na presença de 20µL de Brefeldina A (Sigma, USA), com concentração final de 1 mg/mL. Depois do período de incubação, as células foram adicionadas em tubos de poliestireno (Falcon, EUA) com combinação de anticorpos monoclonais para identificar as moléculas de superfície e, posteriormente, incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente. Logo após, as hemácias foram lisadas e fixadas utilizando-se 2 mL de solução de lise comercial (FACS Lysing Solution - BD, E.U.A.) por 10 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente as células foram lavadas com PBS-W (PBS pH 7.4, contendo 0.5% BSA e 0.1% de azida sódica)

e 2,5 mL de PBS-P (PBS, pH 7,4 contendo 0,5% de BSA, 0,1% de azida sódica e 0,5% de saponina) foram adicionados às amostras seguindo por incubação por 30 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo de luz.

Para a detecção dos marcadores intracelulares foi adicionado anticorpo anti-citocinas aos respectivos tubos por 1 hora na ausência de luz. Após a incubação, as células foram lavadas com 1mL de PBS-W e ao final, foram adicionados 200µL de solução fixadora (10g/l de paraformaldeído, 1% de cacodilato de sódio, 6,67g/L de cloreto de sódio, pH 7,2 - reagentes SIGMA, E.U.A.). As amostras contendo a suspensão celular foram utilizadas para aquisição de dados no citômetro de fluxo FACSCanto II (BD, E.U.A.) no Laboratório de Biologia das Interações Celulares no Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Um total de 70.000 eventos totais foram analisados.

Neste estudo, os dados coletados foram analisados utilizando o Software FlowJo (versão 10.6.1). As moléculas analisadas foram: CD14, CD16, HLA-DR, CD11, CD62L, CD282, CD284, CD80, CD86, IL-1 β , TGF, TNF- α , IL-6, IL-10, CD3, CD56 e granzima conjugadas com os fluoróforos FITC, PERCP (or PE-Cy5 or PERCP-Cy5.5), APC, APCCy7, PE-Cy7 e BV421.

Análise Estatística

Os dados obtidos foram armazenados em um banco de dados no Microsoft Excel 2016 e analisados pelo software GraphPad Prism 8.0 (San Diego, CA). A normalidade das variáveis quantitativas foi avaliada através do teste de *Shapiro-Wilk*. Para verificar as diferenças significativas entre os grupos avaliados foi utilizado one-way ANOVA acompanhado pelo teste *post hoc* de *Tukey* para os dados paramétricos. Para dados não-paramétricos foi empregado o teste de *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de comparações múltiplas de *Dunn*.

A análise de correlação foi feita por meio do coeficiente de Spearman (ρ) obtido pelo software JMP Pro versão 16.2.0. A análise de hierarquia por clusters foi realizada através do software online Clustvis, disponível em: <https://biit.cs.ut.ee/clustvis/>. Para todas as análises, o intervalo de confiança foi de 95% e diferenças estatísticas significativas foram consideradas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Pacientes pré e pós-cirurgia bariátrica apresentam perfis clínicos e bioquímicos distintos

As características clínicas e bioquímicas dos pacientes e indivíduos eutróficos envolvidos no estudo estão demonstradas na Tabela 1. A maioria dos participantes eram do sexo feminino (80,65%) com média de idade de 43 anos (24 - 59).

Os pacientes do grupo pós-operatório apresentaram, após 6 meses da cirurgia bariátrica, uma perda média de 41 kg (22-63 kg). O percentual de perda de excesso de peso foi de 67,56% (49,53-91,67%) e o IMC reduziu 10,41 kg/m³. O grupo pós cirurgia e controle, apresentou também menor porcentagem de massa gorda, assim como maior porcentagem de massa magra comparado ao grupo pré-bariátrico.

Em relação aos parâmetros do perfil glicêmico, os pacientes do grupo pós-bariátrico apresentaram menores valores de glicemia em jejum e insulina em comparação com o grupo pré-cirurgia bariátrica. Já em relação aos parâmetros do perfil lipídico, o grupo pós-bariátrico apresentou maior valor de HDL (lipoproteínas de alta densidade) e menor valor de LDL (lipoproteína de baixa densidade) quando comparado ao grupo pré-cirurgia bariátrica.

Em contrapartida, o grupo pré-bariátrico apresentou aumento significativo do peso (média de 160,1 kg) e IMC (média de 58,3 kg/m²), indicando obesidade grau III, os níveis de PCR (proteína C-reativa) demonstraram mais altos no grupo do pré-bariátrico quando comparado ao grupo controle e pós. Outras diferenças significativas não foram observadas entre os demais parâmetros avaliados.

Pacientes pós-cirurgia bariátrica demonstraram maior expressão de Toll-Like receptor 2

Neste estudo foram avaliadas a frequência de neutrófilos (Figura 1A) e a expressão de moléculas de adesão CD11b e CD62L, moléculas de reconhecimento CD282, CD284 e HLA-DR e moléculas co-estimulatórias CD80 e CD86 (Figura 1B) no grupo controle, pré e pós-cirurgia bariátrica, com objetivo de caracterizar os neutrófilos na obesidade severa.

Os resultados demonstraram menor expressão de CD282 no grupo pré-bariátrico quando comparados com os grupos controle e pós-bariátrico (Figura 1B). Demais diferenças significativas não foram observadas.

Expressão de IL-10 em neutrófilos induz regulação de parâmetros bioquímicos apenas em pacientes pós-cirurgia bariátrica

Nosso próximo passo foi a avaliar o padrão de citocinas expressas pelos neutrófilos (IL-1 β , TGF- β , TNF- α , IL-6 e IL-10) em indivíduos eutróficos (controle) e em pacientes pré e pós-cirurgia bariátrica. Os resultados demonstraram maior expressão de TNF- α e IL-10 apenas no grupo pós-bariátrico quando comparado ao grupo pré-bariátrico (Figura 2A).

Posteriormente, com o objetivo de comparar a expressão entre o balanço da citocina anti-inflamatória (IL-10) e pró-inflamatória (TNF- α) expressas pelos neutrófilos, foi calculado o índice de expressão relativo através da razão entre IL-10/TNF- α nos grupos controle, pré e pós-cirurgia bariátrica. Nosso resultado demonstrou maior razão IL-10/TNF- α no grupo pós-bariátrico em comparação com o grupo pré-bariátrico (Figura 2B).

Com base no papel imunomodulador de IL-10 e seu destaque nos resultados aqui demonstrados, nosso próximo passo foi investigar a correlação entre essa molécula anti-inflamatória expressa pelos neutrófilos com os parâmetros clínicos e bioquímicos encontrados no grupo controle e em pacientes pré e pós-cirurgia bariátrica. Foi possível observar correlação significativa negativa entre a expressão de IL-10 em neutrófilos e peso ($\rho=-0,8182/p=0,0038$), IMC ($\rho=-0,8424/p=0,0022$), TMB ($\rho=-0,6485/p=0,0425$), e HDL ($\rho=-0,7538/p=0,0118$) no grupo pré-bariátrico. Curiosamente, no grupo pós-bariátrico, correlação significativa positiva entre a expressão de IL-10 em neutrófilos e massa magra ($\rho=0,6099/p=0,0269$), e negativa com massa gorda ($\rho=-0,6099/p=0,0269$) foram evidenciadas (Figura 3).

Pacientes pré cirurgia bariátrica apresentam maior frequência de células Natural Killer

Objetivando caracterizar as células NK na obesidade, avaliamos a frequência dessas células da resposta imune inata, assim como a expressão

intracitoplasmática de granzima em indivíduos eutróficos (controle) e em pacientes pré e pós-cirurgia bariátrica.

Nossos resultados demonstraram maior frequência das células NK no grupo pré-bariátrico quando comparado ao grupo controle e ao grupo pós-bariátrico (Figura 4). Outras diferenças estatísticas não foram observadas.

Pacientes pós-cirurgia bariátrica apresentam semelhanças em seus perfis clínicos, bioquímicos e imunológicos quando contrastados com indivíduos eutróficos

Finalmente, com o propósito de realizar uma análise abrangente entre todos os marcadores imunológicos expressos pelos neutrófilos e células NK, e os parâmetros clínicos e bioquímicos avaliados no presente estudo, uma análise de cluster por heatmap foi realizada considerando os valores evidenciados nos grupos controle, pré e pós-cirurgia bariátrica (Figura 5).

Os resultados evidenciaram uma suposta segregação entre o grupo pré-bariátrico dos grupos controle e pós-bariátrico. Por outro lado, os grupos controle e pós-bariátricos não apresentaram uma separação distinta, sendo agrupados em cluster análogos.

Foram observadas maiores frequências de neutrófilos e células NK, peso, altura, IMC, taxa de metabolismo basal, proteína C reativa, glicose, hemoglobina glicada, insulina e massa gorda grupo pré-bariátrico. Em contrapartida, nos grupos controle e pós cirurgia bariátrica foram evidenciadas maiores expressões dos marcadores de ativação e reconhecimento expressos pelos neutrófilos, mas também da expressão de TFG- β e IL-10, resultados não evidenciados no grupo pré-bariátrico.

DISCUSSÃO

A obesidade é uma doença multifatorial associada a distúrbios metabólicos e ao desenvolvimento de uma inflamação crônica de baixo grau com comprometimento do sistema imunológico. Considerando que a cirurgia bariátrica constitui atualmente um avanço na medicina em resposta a essa pandemia, sendo capaz de induzir uma significativa redução de peso²⁶, investigar as diferenças entre o perfil imune de pacientes antes e após cirurgia

bariátrica é de extrema relevância para compreender e caracterizar o papel das células e moléculas do sistema imunológico na transição dos pacientes após cirurgia. Além disso, avaliar essas células pode ajudar a elucidar as complexas interações entre inflamação, metabolismo e imunidade, além de revelar potenciais alvos terapêuticos ou biomarcadores de inflamação, contribuindo para abordagens mais eficazes no manejo da obesidade e suas complicações abrindo perspectivas para o tratamento personalizado e direcionado.

Nesse contexto, existem atualmente três tipos de intervenções principais que visam o controle de peso: dieta, a utilização de medicamentos e cirurgia bariátrica. No presente estudo evidenciamos que a perda de peso resultante da intervenção cirúrgica foi importante para reduzir a inflamação crônica inerente aos pacientes com obesidade, o que contribuiu para a melhoria significativa na qualidade de vida do paciente. Nesse sentido, reafirmamos que tal abordagem continua a se posicionar como uma estratégia eficaz e auxilia no controle e tratamento da obesidade e suas comorbidades^{27,28}. Com isto, as alterações promovidas no trato gastrointestinal pela cirurgia bariátrica e a perda significativa de peso, refletiram na melhora das comorbidades dos pacientes devido aos efeitos na fisiologia intestinal, na secreção hormonal do tecido adiposo e na melhora de parâmetros do sistema imunológico^{14,29}.

Em nosso estudo, os pacientes do grupo pós bariátrico obtiveram perda do excesso de peso superior a 50% em no mínimo 6 meses após cirurgia. ARTERBURN e colaboradores (2020)³⁰ após revisarem 252.000 procedimentos bariátricos demonstraram maior perda de peso do método do bypass gástrico em 1 ano após cirurgia, com melhores resultados e persistência por 3 anos. O estudo também mostrou que o método do bypass gástrico apresentou melhor eficácia quando comparado à gastrectomia vertical, porém ambas intervenções cirúrgicas possuíram efeitos semelhantes na perda de peso e melhora das comorbidades com acompanhamento do paciente de pelo menos 5 anos.

No presente trabalho observamos redução no peso, IMC, massa gorda, glicemia e insulina nos pacientes pós-cirurgia bariátrica, corroborando com RICCI e colaboradores³¹ que através de um estudo de meta análise demonstraram que a intervenção cirúrgica reduz o IMC dos pacientes, além de diminuir o risco de diabetes tipo II, hipertensão e hiperlipidemia. Adicionalmente,

o estudo evidencia uma correlação entre a diminuição de peso e os impactos positivos nos efeitos hemodinâmicos. Adicionalmente, ROBERTS e colaboradores (2018)³² observaram que os perfis lipídicos de pacientes com obesidade mostraram uma melhora após a perda de peso, corroborando com os resultados evidenciados no presente trabalho em que maiores níveis de HDL e menores de LDL foram observadas apenas em pacientes após cirurgia bariátrica.

A inflamação crônica de baixo grau causada pela obesidade é evidenciada por níveis elevados de marcadores inflamatórios, incluindo proteína C reativa, TNF- α e IL-6, que são citocinas superexpressas na obesidade³³. No nosso estudo observamos aumento nos níveis de PCR em pacientes no pré-operatório seguido por uma significativa redução no pós-operatório. Trabalhos demonstraram que a redução de peso e conseqüentemente diminuição do IMC estão associados a melhorias nos marcadores inflamatórios e endoteliais, evidenciando uma diminuição na PCR^{34,35}. Dessa forma, todos esses resultados indicam o papel protetor da perda de peso em pacientes com obesidade, auxiliando na normalização dos parâmetros antropométricos e bioquímicos.

Sabe-se que as células da resposta imune inata desempenham um papel essencial, sendo a primeira linha de defesa do organismo³⁶. Dentre estas células, os neutrófilos, que se destacam por sua predominância na corrente sanguínea, colaboram com os macrófagos na realização da fagocitose e na promoção da interação entre os sistemas imunológicos inato e adaptativo²⁶. Neste estudo, evidenciamos menor expressão da molécula de reconhecimento e ativação CD282 (TLR-2) em neutrófilos de pacientes pré-cirurgia bariátrica. TLR-2 inicia a ativação da resposta imune após o reconhecimento de ligantes específicos, como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), bem como sinais de perigo não microbianos induzidos por danos teciduais e inflamação, como padrões moleculares associados a danos (DAMPs)³⁷. Essa interação leva ao recrutamento da resposta primária de diferenciação mieloide (MyD88) e conseqüentemente da sinalização via fator nuclear kappa B (NF- κ B) que resulta na transdução de sinais e na produção de citocinas pró-inflamatórias, sendo essenciais na defesa antimicrobiana³⁹. WAN e colaboradores (2014)³⁹, mostraram que uma dieta rica em gordura leva a uma redução da expressão de TLR-2. Além disso, evidências epidemiológicas indicam que indivíduos com

obesidade apresentam maior propensão a infecções oportunistas e enfrentam taxas mais elevadas de mortalidade por sepse em ambientes hospitalares^{40,41}. Assim, nossos resultados sugerem que a resposta prejudicada de TLR-2 em pacientes com obesidade pode ser responsável pelo aumento do risco de infecção na obesidade. Entretanto, esse é um resultado inicial que requer mais estudos para sua comprovação.

Os neutrófilos são conhecidos por serem produtores de citocinas que se comunicam com outras células e desempenham diferentes funções no organismo²⁶. Os resultados demonstraram maior expressão de TNF- α e IL-10 expressos pelos neutrófilos apenas em pacientes após cirurgia bariátrica, observando assim um equilíbrio entre a produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Entretanto, observamos maior razão IL-10/TNF- α novamente no grupo pós-bariátrico em comparação ao grupo pré-bariátrico. Essa discrepância sugere uma propensão à regulação do sistema imunológico apenas em pacientes após cirurgia bariátrica, uma vez que IL-10 desempenha um papel crucial na atenuação da expressão de citocinas pró-inflamatórias, o que contribui de maneira substancial para a redução da inflamação crônica de baixo grau associada à obesidade. Além disso, observamos correlação positiva entre a expressão de IL-10 em neutrófilos e massa magra e negativa com massa gorda, apenas em pacientes pós-cirurgia bariátrica. Assim, sugerimos que os neutrófilos, ao aumentarem a expressão de IL-10, desempenham um papel na recuperação do perfil anti-inflamatório perdido em indivíduos com obesidade, e no restabelecimento da homeostasia do organismo evidenciado apenas em pacientes após cirurgia bariátrica que apresentaram uma redução de peso significativa corroborando assim com as observações de NETTO e colaboradores (2015)⁴², que evidenciaram um efeito protetor dessa citocina, sendo notável a associação com a redução de peso pós operatorio^{43,44}.

Nossos resultados demonstraram maior frequência de células NK em pacientes pré-bariátricos quando comparados aos demais grupos. Contudo, ao contrário dos resultados apresentados neste estudo, pesquisas anteriores constataram uma diminuição na contagem de células natural killer (NK) em indivíduos com obesidade^{45,46}. Por outro lado, trabalhos demonstraram que as células NK de indivíduos com obesidade apresentam uma citotoxicidade

prejudicada devido à redução da expressão de marcadores de ativação⁴⁷ e que esse fenótipo alterado em indivíduos com obesidade pode contribuir para uma maior propensão a infecções virais⁴⁸. Além disso, JANH e colaboradores (2015)⁴⁹ revelaram efeitos positivos na funcionalidade das células NK após a redução da gordura corporal em adultos com obesidade. Assim, sugerimos que pacientes com obesidade, apesar de terem maior frequência de células NK, apresentam capacidade citotóxica prejudicada, o que pode contribuir para maior susceptibilidade a infecções, sendo possível a restauração desse estado funcional das células NK após a perda de peso.

Finalmente, através da análise de heatmap observamos maiores frequências em praticamente todos pacientes pré-bariátrico de neutrófilos, células NK, assim como os mais altos níveis dos e paramétricos antropométricos e bioquímicos. Estudos demonstraram aumento na quantidade de neutrófilos circulantes no sangue de indivíduos adultos com obesidade, assim como naqueles com obesidade infantil^{36,44}, estabelecendo uma associação entre essas células circulantes e o aumento do IMC. Esses resultados são congruentes com estudos recentes^{50,51,52} que observaram uma redução nos números de neutrófilos após gastrectomia vertical laparoscópica durante acompanhamento de pelo menos 3 meses. Esta diminuição foi associada aos efeitos protetores da gastrectomia vertical contra à inflamação de baixo grau desencadeada pela obesidade.

Em contrapartida, observamos uma pequena similaridade na expressão dos marcadores de ativação e reconhecimento pelos neutrófilos, assim como da expressão de TGF- β e IL-10 em alguns indivíduos dos grupos controle e pós-cirurgia bariátrica, resultados que não foram observados no grupo pré-bariátrico. Esses resultados em associação com redução da expressão de CD282 pelos neutrófilos e a possível função prejudicada das células NK no grupo pré-bariátrico sugere que esses pacientes podem perder sua capacidade de ativação eficaz da resposta imune, o que condiciona à susceptibilidade a infecções. Por outro lado, os indivíduos submetidos à cirurgia bariátrica buscam restabelecer a função da resposta imune e regular a inflamação crônica por meio do aumento da expressão de citocinas anti-inflamatórias, visando contribuir para o equilíbrio fisiológico sistêmico.

Por fim, observamos uma possível separação entre os clusters do grupo pré-bariátrico em comparação com os grupos controle e pós-bariátrico. Por outro lado, os grupos controle e pós-bariátrico não mostraram uma separação clara, sendo agrupados em clusters semelhantes. Assim, sugerimos que após cirurgia bariátrica, os pacientes passem por uma transição no perfil imunológico, antropométrico e bioquímico, assemelhando com o grupo controle, levando ao restabelecimento da homeostasia do organismo. Por outro lado, novos estudos que abordem essas questões são de suma importância, visto que são escassos os registros sobre as células naturais Killer e neutrófilos associados à perda de peso pós-bariátrica em pacientes que alcançam sucesso pós-cirúrgico.

Neste estudo inédito sobre a relação de neutrófilos em pacientes bariátricos, sugerimos que o grupo pós-bariátrico possui a tendência de recuperação dos parâmetros imunológicos expressos pelos neutrófilos, assim como do perfil antropométrico e bioquímico, concluindo que a redução de peso, seja através da cirurgia bariátrica ou outros métodos, é crucial para a restauração da homeostasia intrínseca de um indivíduo eutrófico. Portanto, a análise da expressão de moléculas em neutrófilos e frequência de células NK e sua associação com parâmetros clínicos e bioquímicos abre perspectivas para possíveis intervenções terapêuticas personalizadas e direcionadas para o paciente.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos os participantes deste estudo e à equipe de Terapia Nutricional da Obesidade Grave (ETNO) do Hospital das Clínicas – UFMG e a Universidade Federal de Viçosa (UFV) pelo apoio a pesquisa.

FINANCIAMENTO

D A SILVA recebeu auxílio financeiro para realização do mestrado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Para realização deste estudo contou com apoio financeiro da FAPEMIG (Estado de Minas Gerais, Brasil) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil).

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declararam que não há conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS:

1. Swinburn BA, Kraak VI, Allender S, et al. The Global Syndemic of Obesity, Undernutrition, and Climate Change: The Lancet Commission report [published correction appears in *Lancet*. 2019 Feb 23;393(10173):746]. *Lancet*. 2019;
2. González-Muniesa P, Martínez-González MA, Hu FB, et al. Obesity. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17034. Published 2017 Jun 15.
3. Bray GA, Frühbeck G, Ryan DH, Wilding JP. Management of obesity. *Lancet*. 2016;
4. Castoldi A, Naffah de Souza C, Câmara NO, Moraes-Vieira PM. The Macrophage Switch in Obesity Development. *Front Immunol*. 2016
5. WHO. World Health Organization. Obesity and Overweight, 2018.
6. Hajer, Gideon R. Haefen, Timon W. van. Visseren, Frank L.J. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases, *European Heart Journal*, Volume 29, Issue 24, December 2008, Pages 2959–2971.
7. Gadde KM, Martin CK, Berthoud HR, Heymsfield SB. Obesity: Pathophysiology and Management. *J Am Coll Cardiol*. 2018
8. Jammah AA. Endocrine and metabolic complications after bariatric surgery. *Saudi J Gastroenterol* 2015;21:269-77
9. Leeman M, Gadiot RPM, Wijnand JMA, Birnie E, Apers JA, Biter LU, Dunkelgrun M. Effects of standard v. very long Roux limb Roux-en-Y gastric bypass on nutrient status: a 1-year follow-up report from the Dutch Common Channel Trial (DUCATI) Study. *Br J Nutr*. 2020
10. Tabesh MR, Eghtesadi M, Abolhasani M, Maleklou F, Ejtehadi F, Alizadeh Z. Nutrition, Physical Activity, and Prescription of Supplements in Pre- and Post-bariatric Surgery Patients: An Updated Comprehensive Practical Guideline. *Obes Surg*. 2023
11. Noria SF, Shelby RD, Atkins KD, Nguyen NT, Gadde KM. Weight Regain After Bariatric Surgery: Scope of the Problem, Causes, Prevention, and Treatment. *Curr Diab Rep*. 2023
12. Mika A, Janczy A, Waleron K, Szymanski M, Kaska L, Sledzinski T. The impact of the interplay of the intestinal microbiome and diet on the metabolomic and health outcomes of bariatric surgery. *Obes Rev*. 2022
13. Perdomo CM, Cohen RV, Sumithran P, Clément K, Frühbeck G. Contemporary medical, device, and surgical therapies for obesity in adults. *Lancet*. 2023;401(10382):1116-1130. doi:10.1016/S0140-6736(22)02403-5
14. Nuzzo A, Czernichow S, Hertig A, Ledoux S, Poghosyan T, Quilliot D, Le Gall M, Bado A, Joly F. Prevention and treatment of nutritional complications after bariatric surgery. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2021 Mar;6(3):238-251. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30331-9. PMID: 33581762.
15. Adami GF, Carbone F, Montecucco F, Camerini G, Cordera R. Adipose Tissue Composition in Obesity and After Bariatric Surgery. *Obes Surg*. 2019;29(9):3030-3038. doi:10.1007/s11695-019-04030-z
16. Unamuno X, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Becerril S, Frühbeck G, Catalán V. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. *Eur J Clin Invest*. 2018;48(9):e12997. doi:10.1111/eci.12997
17. Mohapatra S, Gangadharan K, Pitchumoni CS. Malnutrition in obesity before and after bariatric surgery. *Dis Mon*. 2020

18. Elgazar-Carmon V, Rudich A, Hadad N, Levy R. Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding. *J Lipid Res.* 2008
19. Rogero MM, Calder PC. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. *Nutrients.* 2018
20. Zhang C, Zhang J, Liu Z, Zhou Z. More than an Anti-diabetic Bariatric Surgery, Metabolic Surgery Alleviates Systemic and Local Inflammation in Obesity. *Obes Surg.* 2018
21. de Heredia FP, Gómez-Martínez S, Marcos A. Obesity, inflammation and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society.* Cambridge University Press; 2012
22. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2013
23. Blaszczak AM, Jalilvand A, Hsueh WA. Adipocytes, Innate Immunity and Obesity: A Mini-Review. *Front Immunol.* 2021
24. Fauriat C, Long EO, Ljunggren HG, Bryceson YT. Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition. *Blood.* 2010;115(11):2167-2176. doi:10.1182/blood-2009-08-238469
25. Lee BC, Kim MS, Pae M, Yamamoto Y, Eberlé D, Shimada T, Kamei N, Park HS, Sasorith S, Woo JR, You J, Mosher W, Brady HJ, Shoelson SE, Lee J. Adipose Natural Killer Cells Regulate Adipose Tissue Macrophages to Promote Insulin Resistance in Obesity. *Cell Metab.* 2016
26. Kheniser K, Saxon DR, Kashyap SR. Long-Term Weight Loss Strategies for Obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021.
27. Sandoval DA, Patti ME. Glucose metabolism after bariatric surgery: implications for T2DM remission and hypoglycaemia. *Nat Rev Endocrinol.* 2023;19(3):164-176. doi:10.1038/s41574-022-00757-5.
28. Kao YK, Lin HY, Chen CI, Su YC, Chen JH. The Bariatric Surgery Is Associated with a Lower Incidence of Malignancy: Real World Data from Taiwan. *Obes Surg.* 2021
29. Affinati A H, Esfandiari N H, Oral E A, Kraftson A T. Bariatric Surgery in the Treatment of Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep.* 2019
30. Arterburn DE, Telem DA, Kushner RF, Courcoulas AP. Benefits and Risks of Bariatric Surgery in Adults: A Review. *JAMA.* 2020
31. Ricci C, Gaeta M, Rausa E, Asti E, Bandera F, Bonavina L. Long-term effects of bariatric surgery on type II diabetes, hypertension and hyperlipidemia: a meta-analysis and meta-regression study with 5-year follow-up. *Obes Surg.* 2015.
32. Roberts HM, Grant MM, Hubber N, Super P, Singhal R, Chapple ILC. Impact of Bariatric Surgical Intervention on Peripheral Blood Neutrophil (PBN) Function in Obesity. *Obes Surg.* 2018;
33. Abulmeaty MMA, Ghneim HK, Alkhathaami A, Alnumair K, Al Zaben M, Razak S, Al-Sheikh YA. Inflammatory Cytokines, Redox Status, and Cardiovascular Diseases Risk after Weight Loss via Bariatric Surgery and Lifestyle Intervention. *Medicina (Kaunas)* 2023.
34. Cobeta P, Pariente R, Osorio A, Marchan M, Blázquez L, Pestaña D, Galindo J, Botella-Carretero JI. The Beneficial Changes on Inflammator and Endothelial Biomarkers Induced by Metabolic Surgery Decreases the Carotid Intima-Media Thickness in Men. *Biomolecules.* 2022

35. Randell EW, Twells LK, Gregory DM, Lester KK, Daneshtalab N, Dillon C, Pace D, Smith C, Boone D. Pre-operative and post-operative changes in CRP and other biomarkers sensitive to inflammatory status in patients with severe obesity undergoing laparoscopic sleeve gastrectomy. *Clin Biochem*. 2018.
36. Uribe-Querol E, Rosales C. Neutrophils Actively Contribute to Obesity-Associated Inflammation and Pathological Complications. *Cells*. 2022.
37. Jialal I, Kaur H, Devaraj S. Toll-like receptor status in obesity and metabolic syndrome: a translational perspective. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014
38. Ahmad R, Al-Mass A, Atizado V, et al. Elevated expression of the toll like receptors 2 and 4 in obese individuals: its significance for obesity-induced inflammation. *J Inflamm (Lond)*. 2012.
39. Wan Z, Durrer C, Mah D, Simtchouk S, Little JP. One-week high-fat diet leads to reduced toll-like receptor 2 expression and function in young healthy men. *Nutr Res*. 2014;
40. Bochicchio GV, Joshi M, Bochicchio K, Nehman S, Tracy JK, Scalea TM. Impact of obesity in the critically ill trauma patient: a prospective study. *J Am Coll Surg*. 2006;
41. Kuduvalli M, Grayson AD, Oo AY, Fabri BM, Rashid A. Risk of morbidity and in-hospital mortality in obese patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2002
42. Netto BD, Bettini SC, Clemente AP, et al. Roux-en-Y gastric bypass decreases pro-inflammatory and thrombotic biomarkers in individuals with extreme obesity. *Obes Surg*. 2015;
43. Dandona P, Weinstock R, Thusu K, Abdel-Rahman E, Aljada A, Wadden T. Tumor necrosis factor-alpha in sera of obese patients: fall with weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;
44. Medeiros NI, Mattos RT, Menezes CA, et al. IL-10 and TGF- β unbalanced levels in neutrophils contribute to increase inflammatory cytokine expression in childhood obesity. *Eur J Nutr*. 2018.
45. Palano MT, Cucchiara M, Gallazzi M, et al. When a Friend Becomes Your Enemy: Natural Killer Cells in Atherosclerosis and Atherosclerosis-Associated Risk Factors. *Front Immunol*. 2022.
46. Lynch LA, O'Connell JM, Kwasnik AK, Cawood TJ, O'Farrelly C, O'Shea DB. Are natural killer cells protecting the metabolically healthy obese patient?. *Obesity (Silver Spring)*. 2009
47. Moulin CM, Marguti I, Peron JP, Halpern A, Rizzo LV. Bariatric surgery reverses natural killer (NK) cell activity and NK-related cytokine synthesis impairment induced by morbid obesity. *Obes Surg*. 2011
48. Bähr, I., Jahn, J., Zipprich, A. et al. Impaired natural killer cell subset phenotypes in human obesity. *Immunol Res* 66 , 234–244 2018.
49. Jahn J, Spielau M, Brandsch C, et al. Decreased NK cell functions in obesity can be reactivated by fat mass reduction. *Obesity (Silver Spring)*. 2015
50. Chi PJ, Wu KT, Chen PJ, Chen CY, Su YC, Yang CY, Chen JH. The serial changes of Neutrophile-Lymphocyte Ratio and correlation to weight loss after Laparoscopic Sleeve Gastrectomy. *Front Surg*. 2022
51. Bulur O, Öztürk D, Ertuğrul DT, Sayın S, Asiltürk Z, Dal K, Şahin M, Buluş H, Uzman M. Effects of sleeve gastrectomy on neutrophil lymphocyte ratio. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2021.
52. Roberts CF, Sheu EG. Low density, high impact? Neutrophil changes in obesity and bariatric surgery. *EBioMedicine*. 2022.

Table 1. Clinical, anthropometric and biochemical parameters of pre and post-bariatric surgery patients and healthy individuals (control).

	Control	Pre-bariatric	Post-bariatric	P valor
Total N	8	10	13	
Male	2 (25%)	3 (30%)	1 (8%)	
Female	6 (75%)	7 (70%)	12 (92%)	
Parameters				
Age (years)	39 (24 - 56)	39 (27- 59)	45,3 (34-59)	P=0,2612
Weight (kg)	69,2 (59,4 - 92)	160,09(109,9-189,4)*	95,0 (64,6-166,0)	P<0,0001
Height (m)	1,68 (1,57- 1,92)	1,70 (1,55- 1,75)	1,61(1,45- 1,74)	P=0,1594
BMI (kg/m ²)	24,4 (22,9- 24,9)	58,3 (39,7- 70,8)*	36,0 (27,0-54,8)	P<0,0001
BMR (kcal)	2091 (1326-3301)	2476,7 (1165-3338)	1867 (1161- 2889)	P=0,0546
LM (%)	71,3 (52,4- 84,1)^a	52,0 (45,9- 61,2) ^a	64,3 (55,7-77,6)	P<0,0001
FM (%)	28,7 (15,8-47,5)	47,9 (38,7- 54,1)*	35,67 (22,3-44,2)	P<0,0001
Glucose (mg/dl)	88 (76- 109)	137 (91-300)*	90,3 (82-129)	P=0,0037
Glycated hemoglobina (%)	5,3 (4,6-6)	6,3 (4,7- 9,4)	5,1 (4,5-5,5)	P=0,0588
CRP (mg/dl)	5,1 (5,0 - 5,5)	14,0 (6,9- 40,9)*	8,0 (5-22,2)	P=0,0022
Insulin (mU/L)	9 (4- 11)	19,7 (8,0- 37,0)*	8,77 (2-20)	P=0,0022
Total cholesterol (mg/dl)	201 (143- 263)	170 (132-218)	186 (135-249)	P=0,1281
HDL (mg/dl)	50 (36- 75)	50,6 (38-64) ^b	61,8 (38-74)^b	P=0,0228
VLDL (mg/dl)	30 (12- 67)	23 (12-33)	20 (7-56)	P=0,0950
LDL(mg/dl)	116 (28,2-284,7)	84 (41,9-133,2)^b	69 (11-228) ^b	P=0,0318
Triglycerides (mg/dl)	150 (60- 334)	116 (62-166)	98,9 (36-281)	P=0,0788

BMI, Body Mass Index; BMR, Basal Metabolic Rate; LM, Lean Mass; FM, Fat Mass; CRP, C-reactive protein; HDL, High-density Lipoprotein; VLDL, Very-low Density Lipoprotein; LDL, Low-density Lipoprotein. Unless otherwise noted, data are presented as median (min–max). A significant difference ($p < 0.05$). Significant differences between the prebariatric group and the control group and post are highlighted by bold and asterisk (*), and between the control group and pre and post are highlighted by bold and the letter **a**, and between the post and pre groups are highlighted in bold and the letter **b**. Kruskal-Wallis test, being complemented by the Dunn multiple comparisons test.

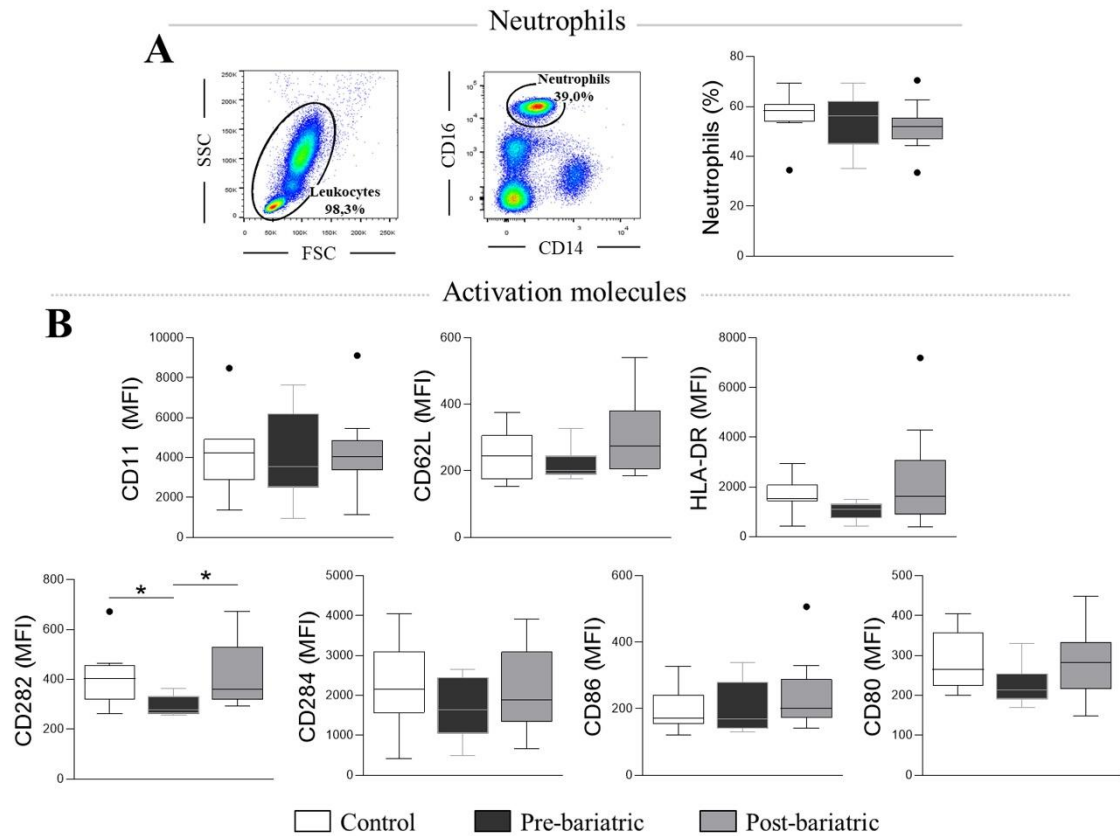


FIGURE 1: Recognition and activation molecules in neutrophils. a Representative gates and histograms of flow cytometry analyzes. b Frequency of neutrophils in all groups evaluated. c Expression of activation and recognition molecules was determined by mean fluorescence intensity. Significant differences ($p < 0.05$) are represented by asterisks and according to the Kruskal-Wallis test, being complemented by the Dunn multiple comparisons test. Representative histograms for each molecule are shown.

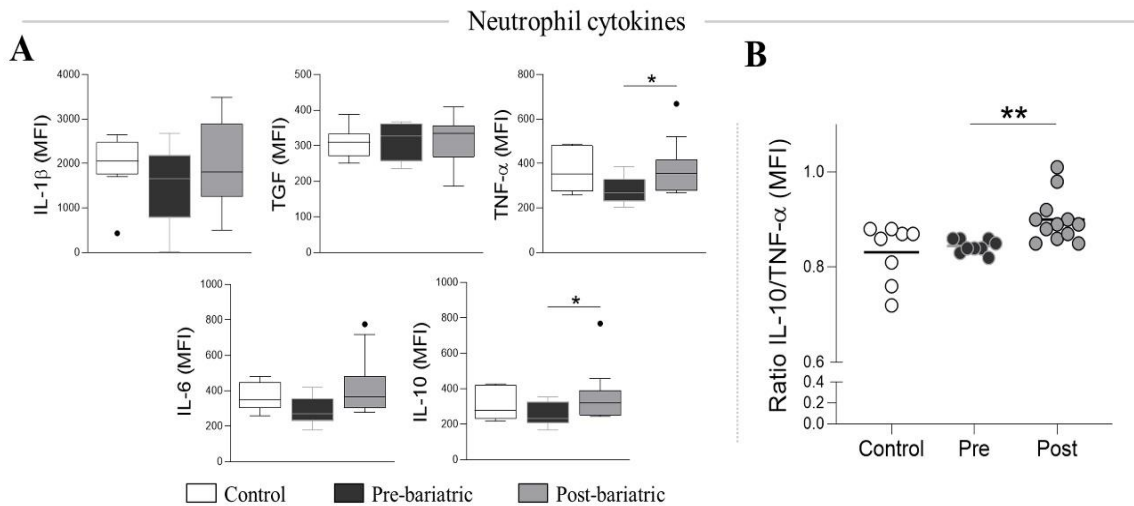


FIGURE 2: Cytokines in neutrophils. Evaluation of cytokine expression by neutrophils. a Dispersion graphs indicate percentage of neutrophils expressing each cytokine. b Ratio between IL-10 and TNF in healthy individuals and pre- and post-bariatric patients. Significant differences ($p < 0.05$) are identified by asterisks and connecting lines according to Kruskal-Wallis test, being complemented by the Dunn multiple comparisons test.

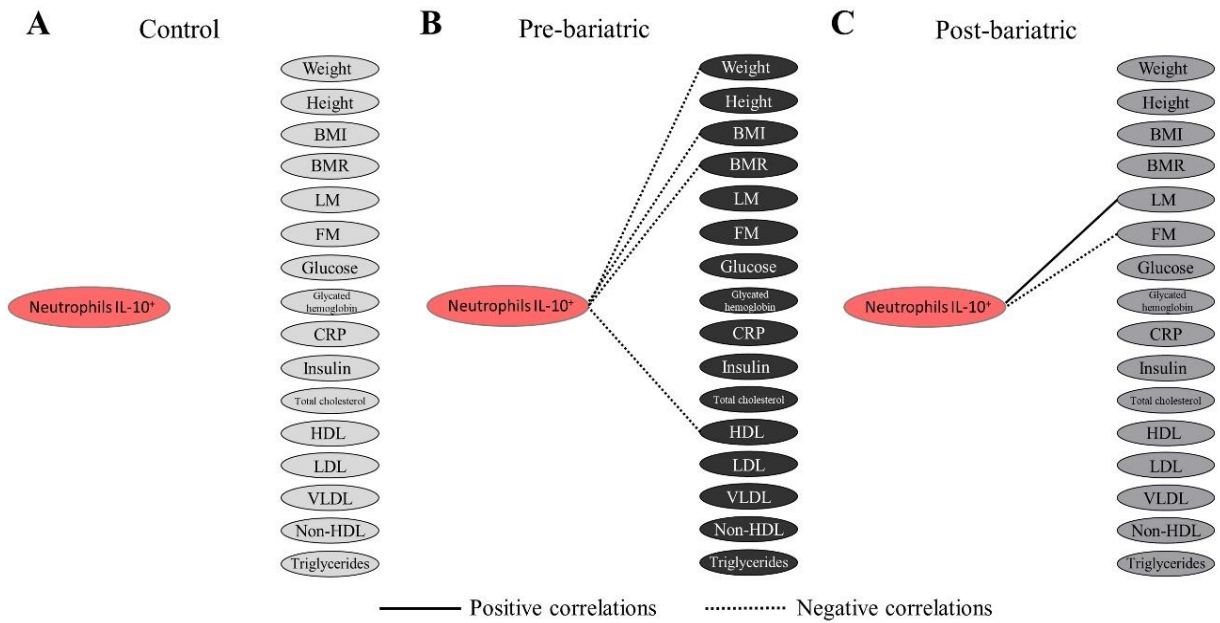


FIGURE 3: IL-10 cytokine correlation in neutrophils separated by group. Cytokine correlation networks. Solid lines represent positive correlations and dashed lines represent negative correlations. Statistical significance was defined as $p < 0.05$ according to Spearman's correlation coefficient.

Natural killer

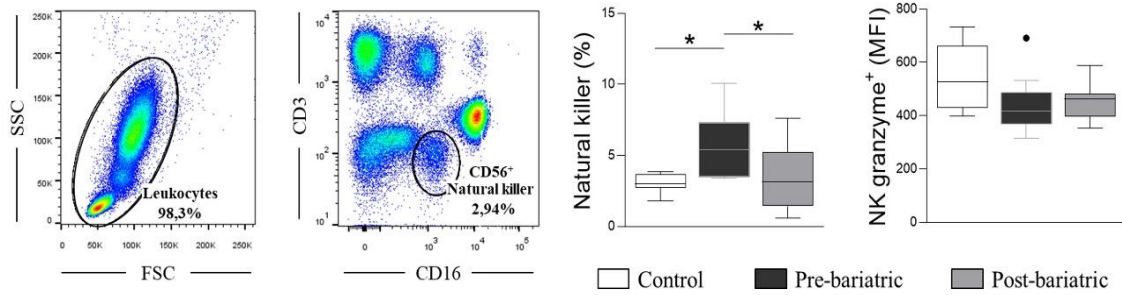


FIGURE 4: Natural killer cells. Representative gates and histograms of flow cytometry analyzes e Frequency of natural killer in all groups evaluated. Significant differences ($p < 0.05$) are represented by asterisks and according to the Kruskal-Wallis test, being complemented by the Dunn multiple comparisons test. Representative histograms for each molecule are shown.

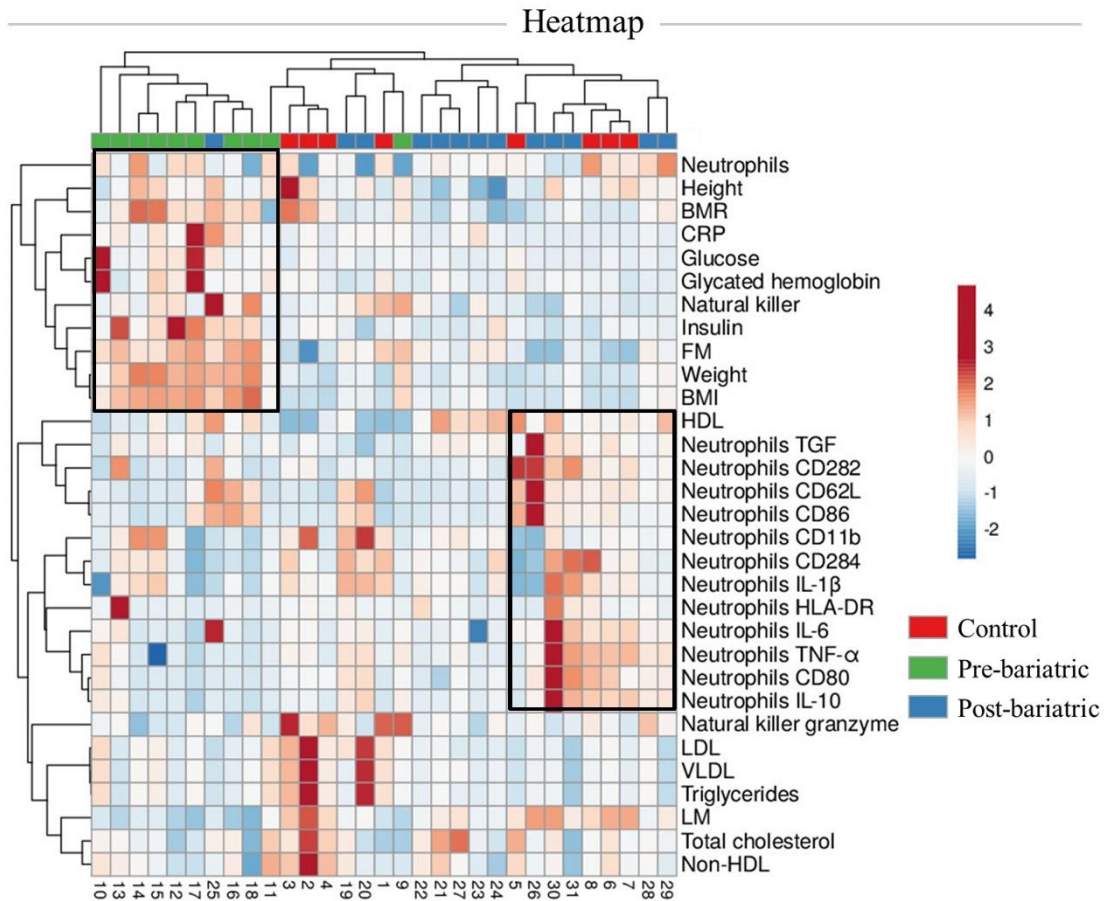


FIGURE 5: Representative clustering analysis and heatmap correlations associations between clinical, biochemical and immunological parameters in patients before and after bariatric surgery and control. In the color gradient bar, blue indicates lower levels, while red indicates higher levels. Vertical lines represent each individual evaluated, and horizontal lines represent each parameter evaluated in the study.

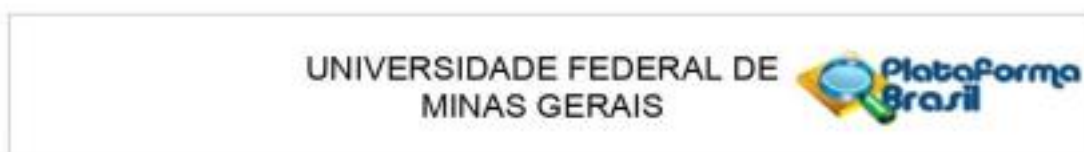
8. CONCLUSÃO GERAL

Nosso estudo demonstra os impactos da intervenção bariátrica, enfatizando o papel crucial da perda de peso no controle de comorbidades, bem como na promoção de melhorias no perfil inflamatório. Apresentamos evidências que indicam que o grupo pós-bariátrico manifesta uma propensão à recuperação dos parâmetros imunológicos, conforme expresso pelos neutrófilos e pelas células Natural Killer, assim como pela restauração do perfil antropométrico e bioquímico.

Concluimos, portanto, que a perda de peso por meio da cirurgia bariátrica desempenha um papel crucial na restauração da homeostase intrínseca de um indivíduo eutrófico. Nesse sentido, a análise da expressão de moléculas em neutrófilos e da frequência de células NK, bem como sua associação com parâmetros clínicos, poderá ser explorada no futuro como uma nova estratégia para monitorar os efeitos dos marcadores da imunidade inata na obesidade. Assim, salientamos a importância de novos estudos que abordem essas questões, uma vez que os registros sobre as células Natural Killer e neutrófilos associados à perda de peso pós-bariátrica em pacientes que alcançam sucesso pós-cirúrgico são escassos.

ANEXOS

Anexo I – Carta de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Caracterização de marcadores da imunidade inata e adaptativa para monitoramento e acompanhamento da evolução clínica em obesos no pre e pos operatorio de cirurgia bariátrica.

Pesquisador: JACQUELINE ISAURA ALVAREZ LEITE

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 45251215.3.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.966.953

Apresentação do Projeto:

"Caracterização de marcadores da imunidade inata e adaptativa para monitoramento e acompanhamento da evolução clínica em obesos no pre e pos operatorio de cirurgia bariátrica."

O projeto de pesquisa tem como foco de investigação a caracterização de marcadores da resposta imune inata e adaptativa em pacientes obesos pré e pós-operatório para cirurgia bariátrica, atendidos no ambulatório da Equipe de Terapia Nutricional da Obesidade Grave (ETNO) do Instituto Alfa de Gastroenterologia (IAG). A presente proposta tem por objetivo estudar o perfil lipídico, glicídico e hepático, presença de adipocinas, citocinas e quimiocinas plasmáticas, resistência à insulina, expressão de moléculas de sinalização intracelular e fatores de transcrição, bem como do perfil fenotípico e funcional de células do sangue periférico de indivíduos obesos pré cirúrgicos e acompanhar a evolução (possíveis alterações) desses parâmetros no pós operatório (3, 6, 9, 12, 24, 36, 48 e 60 meses). Assim será possível testar a associação entre o perfil imunológico e os parâmetros clínicos, nutricionais e laboratoriais em indivíduos obesos no pré e pós-cirúrgicos. As metodologias a serem utilizadas serão: 1) atendimento nutricional dos indivíduos no ambulatório para caracterização do estado nutricional e avaliação dietética; 2) dosagens sanguíneas de marcadores bioquímicos, hormonais e cardiovasculares; 3) dosagens celulares e moleculares de

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2ª Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coop@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 1.986.953

marcadores imunológicos; 4) análise estatística dos dados.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Caracterizar os marcadores solúveis e celulares da resposta imune inata e adaptativa em indivíduos obesos pré e pós-cirúrgicos para cirurgia bariátrica, atendidos no ambulatório da Equipe de Terapia Nutricional da Obesidade Grave (ETNO) do Instituto Alfa de Gastroenterologia (IAG).

Objetivos Secundários:

- Realizar a avaliação antropométrica dos participantes do estudo;
- Aplicar o Recordatório Quantitativo de Frequência Alimentar (QQFA);
- Verificar o perfil lipídico, glicídico e hepático, através das dosagens de colesterol total, LDL, HDL e triglicerídios, glicemia de jejum, TGO, TGP, gama GT, hemograma completo e ácido úrico;-Realizar as dosagens de TSH, T4 livre, Cortisol, Insulina, IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina -1);
- Avaliar os marcadores de inflamação crônica da obesidade com risco aterosclerótico: proteína C reativa ultra-sensível, homocisteína, leptina e adiponectina;
- Determinar a resistência insulínica através do cálculo do HOMA (Homeostasis model assesment of insulin resistance);
- Avaliar o perfil fenotípico de monócitos e neutrófilos do sangue periférico dos participantes através da expressão dos receptores do Tipo Toll (TLR-2, 4), CD36, HLA-DR, CD80, CD86, CD16, CD56, CD40, CCR2, CXCR4, CCR5, das citocinas IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TNF- e TGF- e das metaloproteinases (MMP-2, MMP9, MMP-14)

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequadamente avaliados de acordo com o parecer Nº 1.160.903 datado em 28/07/2015

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2ª And. SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 1.968.953

Riscos: Quanto aos riscos do estudo, a extração de sangue pode ser dolorosa e causar hematomas (roxo) no local da punção (picada), como qualquer outra coleta de sangue que você já possa ter feito no passado. Para minimizar, contamos com um profissional especializado e treinado neste procedimento, que tomará todas as precauções possíveis para que você não sinta nada. Além disso, toda a coleta de sangue será realizada com materiais descartáveis para que não haja risco de contaminação.

Benefícios: Ao final desse projeto esperamos contribuir para:

- entender o papel das células da imunidade inata e adaptativa, seus receptores e mediadores no monitoramento e acompanhamento da evolução clínica de indivíduos obesos pré e pós cirúrgicos;
- compreender a importância das moléculas de sinalização intracelular e fatores de transcrição associados aos inflamassomos de indivíduos obesos pré e pós cirúrgicos;
- correlacionar os marcadores estudados com o monitoramento e acompanhamento da evolução clínica de indivíduos obesos pré e pós cirúrgicos.

O cumprimento das metas deste projeto proporcionará uma maior possibilidade de estratégias de possíveis intervenções terapêuticas, com potencial benefício para os pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores vem por meio deste informar que: "No decorrer do andamento inicial do estudo sentiu-se necessidade de ter um grupo controle de indivíduos saudáveis para comparação de resultados bioquímicos e também de realizar um estudo dos prontuários dos indivíduos atendidos no ambulatório, para coleta de dados anterior ao atendimento."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequadamente listados de acordo com o parecer Nº 1.160.903 datado em 28/07/2015

- Projeto de pesquisa em anexo
- Folha de rosto assinada pelo Diretor do Instituto de Ciências Biológicas
- Parecer pela Câmara do Departamento de Bioquímica e Imunologia
- Registro na Diretoria de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFMG.
- TCLE em forma de convite e em linguagem acessível

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2ª Ad. Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 1.906.953

- carta de anuência da Unidade Funcional Instituto Alfa de Gastroenterologia (IAG)

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos favoráveis pela aprovação da emenda ao projeto de pesquisa intitulado: "Caracterização de marcadores da imunidade inata e adaptativa para monitoramento e acompanhamento da evolução clínica em obesos no pré e pós operatório de cirurgia bariátrica.", sob a responsabilidade da pesquisadora JACQUELINE ISAURA ALVAREZ LEITE.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o COEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_864541 E1.pdf	16/02/2017 16:03:38		Aceito
Outros	CONTROLE.pdf	16/02/2017 15:54:15	Carla de Oliveira Barbosa Rosa	Aceito
Outros	Emenda.pdf	16/02/2017 15:45:31	Carla de Oliveira Barbosa Rosa	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Novo.pdf	16/02/2017 15:43:46	Carla de Oliveira Barbosa Rosa	Aceito
Folha de Rosto	Diretor.pdf	16/02/2017 15:37:24	Carla de Oliveira Barbosa Rosa	Aceito
Outros	Documento Instituto Alfa.pdf	04/07/2015 16:37:33		Aceito
Parecer Anterior	Parecer consubstancia camara departamental ICB.pdf	05/05/2015 11:20:51		Aceito
Declaração de Pesquisadores	carla III.pdf	29/04/2015 14:47:36		Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad. Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 1.966.953

Declaração de Pesquisadores	carta II.pdf	29/04/2015 14:47:12		Aceito
Declaração de Pesquisadores	TERMO DE COMPROMISSO II.pdf	28/04/2015 19:04:33		Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo de compromisso I.pdf	28/04/2015 19:03:51		Aceito
Parecer Anterior	documento III.jpg	28/04/2015 18:59:34		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto COEP.pdf	28/04/2015 18:57:40		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO CORRETO (1).pdf	28/04/2015 18:57:15		Aceito
Outros	45251215parece.pdf	15/03/2017 19:00:38	Vivian Resende	Aceito
Outros	45251215aprovacao.pdf	15/03/2017 19:02:05	Vivian Resende	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 15 de Março de 2017

Assinado por:
Vivian Resende
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2ª Ad. Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos você a participar do estudo “Caracterização de marcadores da imunidade inata e adaptativa para monitoramento e acompanhamento da evolução clínica em obesos no pré e pós-operatório de cirurgia bariátrica”, onde avaliaremos moléculas que as células do sistema imunológico expressam e secretam quando o indivíduo está obeso e como o organismo reage após a cirurgia de redução de estômago. Para, tal, você deverá comparecer as consultas de rotina no ambulatório da Equipe de Terapia Nutricional da Obesidade Grave (ETNO), do Instituto Alfa de Gastroenterologia (IAG), no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, e autorizar a coleta para o exame de sangue, a realização de avaliação nutricional, além de responder questionários específicos sobre sua alimentação e estado de saúde. Essas análises serão realizadas uma vez antes da cirurgia e nos 3º, 6º, 9º, 12º, 24º, 36º, 48º e 60º meses após a realização da cirurgia. Quanto aos riscos do estudo, a extração de sangue pode ser dolorosa e causar hematomas (roxo) no local da punção (picada), como qualquer outra coleta de sangue que você já possa ter feito no passado. Para minimizar, contaremos com um profissional especializado e treinado neste procedimento, que tomará todas as precauções possíveis para que você não sinta nada. Além disso, toda a coleta de sangue será realizada com materiais descartáveis para que não haja risco de contaminação.

Os questionários serão aplicados no consultório do Hospital das Clínicas, de modo individual. Caso você se sinta constrangido com alguma pergunta, você pode optar por não respondê-la e passar para a seguinte. As outras medidas não causem risco em potencial, pois são técnicas não invasivas. Para minimizar qualquer risco e/ou desconforto, todos os procedimentos serão realizados por profissionais treinados, em ambiente tranquilo e adequado, utilizando-se técnicas padronizadas na literatura científica.

Você receberá os resultados de avaliação nutricional e dos exames de sangue realizados com as devidas orientações nutricionais e/ou encaminhamento para o seu médico, caso necessário.

As amostras de sangue e questionários coletados no presente estudo serão guardadas até 5 anos e utilizados em projetos de doutorado, de mestrado e pós-doutorado que abordarão o tema sobre o comportamento da resposta imune inata e adaptativa no período pré e pós-operatório de cirurgia de redução do estômago. Os resultados desse estudo serão apresentados, comunicados e/ou publicados no meio científico, mas sempre preservando a sua confidencialidade e privacidade.

Você não terá nenhum gasto por sua participação nesse estudo, ao mesmo tempo em que não receberá nenhum tipo de remuneração. Você poderá se recusar a participar ou sair do estudo a qualquer momento depois de dar o seu consentimento e esta atitude não lhe trará penalização nem prejuízos ao tratamento a que está sendo submetido nessa instituição. Em qualquer momento você poderá fazer perguntas sobre o estudo e esclarecer dúvidas. Você poderá entrar em contato com as pesquisadoras Carla de Oliveira Barbosa Rosa ou Izabella Bianca Magalhães Costa e/ou a coordenadora do projeto, profa Dra Jacqueline Isaura Alvarez Leite, para essa finalidade pelos telefones: (31) 25261134, (31) 992744550 ou (31) 34092652, e pelos e-mails: carla.rosa@ufv.br; izabellabmcosta@gmail.com; jalvarezleite@gmail.com, ou ainda pelos telefones dos outros membros da equipe listados no final deste termo. Ao assinar esse documento, confirmo que me foi explicado o objetivo, os procedimentos aos quais serei submetido, os riscos e benefícios potenciais que eu posso experimentar, e os possíveis destinos dos resultados que serão obtidos neste estudo. Declaro que li ou foi lido para mim o presente termo e que entendi as informações acima. Tive oportunidade de fazer perguntas e esclarecer minhas dúvidas, ficando em meu poder uma cópia do termo assinado por mim. Ainda, em caso de dúvidas não esclarecidas de maneira adequada pelo pesquisador responsável, fui esclarecido (a) que posso buscar auxílio junto ao Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais, localizado à Avenida Antônio Carlos 667, Unidade Administrativa

II, 2º andar, campus Pampulha ou pelo telefone (31) 34094502 ou ainda pelo e-mail coep@prpq.ufmg.br. Este termo está de acordo com a resolução 466 do Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012 e foi redigido em duas vias.

Portanto assino e dou meu consentimento para participar voluntariamente deste estudo.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

Identificação do voluntário da pesquisa:

Nome:

Telefone:

Celular:

E-mail:

Endereço:

**Carla de Oliveira Barbosa Rosa
Pesquisadora (31) 99818502**

**Izabella Bianca Magalhães Costa
Pesquisadora (31) 992744550**

**Profª Drª Jacqueline Isaura Alvarez Leite
Coordenadora do projeto/UFMG/ (31) 34092652
Profª ICB/UFMG**

Voluntário

Anexo III – Questionário de Anamnese

RETORNO: Pré-Op [] Pós-Op []

Nome: _____

Data atual: ___/___/___ **Data da Cirurgia:** ___/___/___ **Retorno de:**

1. Queixas:

2. Medicação atual (medicamentos e posologia):

3. Exames alterados? Quais?

Atividade Física: [] Sim [] Não

4. Exame: PA: ___/___

Edema [] Mucosa corada? [] Cicatriz cirúrgica? [] Dermatites [] Varizes []

5. Bioimpedância: Altura ___ Peso cirurgia ___ IMC cirurgia ___ Peso atual: ___ Peso ideal: ___ IMC atual ___

Excesso de peso	%PEP	M Gorda (%)	M Gorda (kg)
TMB	Resistência	Reatância	M Magra (kg)
Água total	Água extracelular	Água intracelular	M Magra (%)

6. Conduta Nutricional:

--

7. Recordatório 24 horas

Café da Manhã	Colação
Almoço	Jantar
Lanche	Ceia

8. Orientações Nutricionais:

--