

Fabiana de Miranda Moura dos Santos

**ESTUDO DAS CITOCINAS E ADIPOCINAS DE
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO
ATENDIDOS NO SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG**

UFMG

Belo Horizonte

2015

Fabiana de Miranda Moura dos Santos

**ESTUDO DAS CITOCINAS E ADIPOCINAS DE
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO
ATENDIDOS NO SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG**

Apresentação de Tese do Programa de Pós-graduação em
Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina
da Universidade Federal Minas Gerais

Área de Concentração: Ciências Clínicas

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Costa Duarte Lanna

Co-orientadoras: Profa. Dra. Maria Isabel T. D. Correia

Profa. Dra. Rosa Weiss Telles

Belo Horizonte

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR: Prof. Jaime Arturo Ramírez

PRÓ-REITORIA DE PÓS GRADUAÇÃO

PRÓ REITOR: Prof. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

FACULDADE DE MEDICINA

DIRETOR: Prof Tarcizo Afonso Nunes

COORDENAÇÃO DO CENTRO DE PÓS GRADUAÇÃO

PROFESSORA: Sandhi Maria Barreto

**COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM
CIENCIAS APLICADAS A SAÚDE DP ADULTO**

COORDENADORA: Profa. Teresa Cristina Abreu Ferrari

Representantes Docentes

Profa. Teresa Cristina Abreu Ferrari

Profa. Valéria Maria Azevedo Passos

Profa. Gilda Aparecida Ferreira

Prof. Paulo Caramelli

Profa. Rosângela Teixeira

Prof. Marcus Vinícius de Melo Andrade

Representante Discente:

Andrea de Lima Bastos

S237e Santos, Fabiana de Miranda Moura dos.
Estudo das citocinas e adipocinas de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico atendidos no serviço de reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG [manuscrito]. / Fabiana de Miranda Moura dos Santos. - - Belo Horizonte: 2015.
134f.: il.
Orientador: Cristina Costa Duarte Lanna.
Coorientador: Maria Isabel Toulson Davisson Correia, Rosa Weiss Telles.
Área de concentração: Saúde do Adulto.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.
1. Lúpus Eritematoso Sistêmico. 2. Obesidade. 3. Adipocinas. 4. Citocinas. 5. Estudos Transversais. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Lanna, Cristina Costa Duarte. II. Correia, Maria Isabel Toulson Davisson. III. Telles, Rosa Weiss. IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. V. Título. WR 152

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG

"Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar; não apenas planejar, mas também acreditar."

Anatole France

Dedico este trabalho aos meus filhos por terem me proporcionado a maior felicidade deste mundo, ao meu amor Gustavo pela paciência e compreensão, aos meus pais por estarem presentes em todos os momentos que estive ausente e ao meu irmão pelo seu carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

À orientadora, **Profa. Dra. Cristina Costa Duarte Lanna** pelo carinho, dedicação, compreensão e pelos ensinamentos científicos e pessoais.

À co-orientadora, **Profa. Dra. Maria Isabel T. D. Correia** pela dedicação e objetividade com que participou deste trabalho.

À co-orientadora e amiga **Rosa Weiss Telles** pelo carinho, disponibilidade e grande participação na realização deste trabalho.

Aos meus filhos **Tomás e Clara** que sentiram minha falta em vários momentos, mas que da sua maneira entenderam o quanto era importante para mim a realização deste trabalho.

Ao meu amor **Gustavo**, que com a sua paciência e tranquilidade conseguiu manter a harmonia em nosso lar e permitir que eu realizasse este sonho.

Aos meus pais **Fernando e Elaine**, que se dedicaram a este trabalho como se fosse deles. Presentes na minha ausência diária, confortando meus filhos com carinho, sabedoria e alegria.

Ao meu irmão **André**, pela paciência, ajuda e compreensão.

Às minhas companheiras nutricionistas **Mariane e Juliana** que se dedicaram a este trabalho de forma brilhante.

À acadêmica **Kênia**, que participou com muita dedicação, responsabilidade e sabedoria deste trabalho.

Às minhas amigas **Daniela e Cássia** que compreenderam a minha ausência e me substituíram de forma brilhante em vários momentos.

APRESENTAÇÃO

De acordo com as diretrizes do Programa Pós Graduação Ciências Aplicadas a Saúde do Adulto, a Tese será apresentada na forma de dois artigos científicos. A formatação da tese segue as orientações contidas no “Guia para redação e apresentação de monografias, dissertações e teses (1). A formatação das referências bibliográficas segue as instruções dos periódicos e foi organizada com o auxílio do programa EndNote Web.

Este volume contém:

- 1- Considerações iniciais: apresenta a fundamentação teórica, a partir de revisão da literatura, a justificativa e o objetivo geral da pesquisa;
- 2- Apresentação dos objetivos do Artigo I e do Artigo II:

O primeiro artigo, intitulado **Adipocinas, fator de necrose tumoral e seus receptores no lúpus eritematoso sistêmico**, analisa a associação entre as adipocinas, as manifestações clínicas e o tratamento, e o sistema TNF em pacientes com LES.

O segundo artigo, intitulado **Influência da obesidade no perfil inflamatório de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico**, avalia a influência da obesidade nas citocinas e adipocinas de pacientes com LES.

- 3- Considerações finais: compreendem os aspectos críticos e relevantes do estudo, recomendações e aplicações;
- 4- Apêndices;
- 5- Anexos;
- 6- Referências Bibliográficas

RESUMO

Introdução: O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é doença inflamatória autoimune, cuja etiologia é pouco conhecida. A resposta funcional dos linfócitos T é modificada pela doença, havendo aumento das respostas Th1, Th2 e Th17, redução da resposta funcional dos linfócitos reguladores e consequente modificação do perfil de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias. A obesidade pode modificar o perfil inflamatório de pacientes sem doenças autoimunes, no entanto é desconhecido se isto ocorre em pacientes com LES. O tecido adiposo dos pacientes obesos, sem doenças autoimunes, pode produzir concentrações elevadas de adipocinas (leptina e adiponectina) como também elevar os níveis séricos do fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e da IL6. A adipocina (leptina) pode estimular a produção destas citocinas e consequentemente modificar o perfil inflamatório dos indivíduos obesos. Em doenças autoimunes, como o LES, o TNF α participa da resposta inflamatória da doença, no entanto o papel das adipocinas ainda não está bem definido. **Objetivos:** Em mulheres com LES: **Artigo 1** - analisar a associação do TNF α e seus receptores com as manifestações clínicas, laboratoriais, o tratamento e com a atividade da doença; estudar a associação entre as adipocinas e as manifestações clínicas, laboratoriais, o tratamento e a atividade da doença; correlacionar as adipocinas e o sistema TNF. **Artigo 2** - estudar o perfil inflamatório das pacientes com LES e avaliar se a obesidade interfere no perfil inflamatório das pacientes com LES. **Métodos:** Foram realizados dois estudos transversais no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG em pacientes com diagnóstico de LES (ACR, 1997), do sexo feminino e maiores de 18 anos. Foram coletados dados referentes às características sócio-demográficas, manifestações clínico-laboratoriais e uso de medicamentos.

Artigo 1: Foram incluídas 136 pacientes com LES (ACR, 1997), a atividade da doença foi mensurada pelo SLEDAI-2K modificado e o dano cumulativo irreversível pelo SLICC-ACR/DI. As concentrações séricas do TNF α , receptor 1 solúvel do TNF α (sTNFR1) e receptor 2 solúvel do TNF α (sTNFR2) e as adipocinas (leptina, resistina e adiponectina) foram analisados por kits de ensaio imunoenzimático ELISA. **Artigo 2 :** Foram incluídas 189 pacientes e 70 indivíduos controles, a atividade da doença foi mensurada pelo SLEDAI-2K e o dano cumulativo irreversível pelo SLICC-ACR/DI. O estado nutricional foi avaliado pelo Índice de Massa Corporal (IMC) e pela bioimpedância e as citocinas, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α e seus receptores - sTNFR1 e sTNFR2 foram mensuradas por citometria de fluxo (*Cytometric Bead Array*) ultra sensível e adipocinas – leptina e adiponectina por kits de ensaio imunoenzimático ELISA. **Conclusão: Artigo 1:** O TNF α , seus receptores e as adipocinas estavam associados com artrite e nefrite. O sTNFR1 correlacionou-se com a atividade global e com a injúria orgânica do lúpus, sugerindo que este poderia ser utilizado como marcador de atividade da doença. Resistina e leptina foram associadas às maiores concentrações dos receptores de TNF α . Esta correlação entre estes dois sistemas (adipocinas e sistema TNF) permite o melhor entendimento do papel das adipocinas na resposta inflamatória de pacientes com LES. **Artigo 2 : Conclusão:** Este estudo mostrou maiores concentrações de citocinas e adipocinas em pacientes lúpicos do que em indivíduos sem LES e evidenciou que o maior IMC foi correlacionado às maiores concentrações das IL6, IL17A e leptina. Este achado sugere que o maior IMC encontrado nas pacientes, possa interferir, independentemente da atividade da doença, no perfil inflamatório das mulheres com LES.

ABSTRACT

Introduction: Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease whose etiology is poorly understood. This disease modified the functional response of lymphocytes T with increased Th1, Th2 and Th17 responses, reduced functional response of regulatory lymphocytes and subsequent modification of the profile of inflammatory and anti-inflammatory cytokines. Obesity can modify the inflammatory status of patients without autoimmune diseases. The adipose tissue of obese can produce high concentrations of adipokines (leptin and adiponectin) and also elevate serum levels of tumor necrosis factor alpha (TNF α) and IL-6. The adipokine (leptin) can stimulate the production of these cytokines and consequently modify the inflammatory profile of obese individuals, however it is unknown whether this occurs in patients with SLE. In autoimmune diseases such as SLE, TNF α participates in the inflammatory response, however the role of adipokines is not well defined.

Objectives: Article 1 - To analyze the association of TNF α and its receptors with clinical, laboratory and treatment-related manifestations of SLE; to study the association of adipokines with disease parameters in women with SLE; and to correlated the adipokines – leptin, resistin and adiponectin – and the TNF system.

Article 2 - To analyze the cytokines profile of SLE patients and evaluate whether obesity interferes with the inflammatory status of these patients. **Methods:** Two cross-sectional studies were conducted at the Rheumatology Outpatient Clinic of the State University of Minas Gerais, in SLE women with older than 18 years of age. Data related to socio-demographic characteristics, clinical and laboratory manifestations and medication use were assessed.

Article 1 – A total of 136 women were assessed. Disease activity was measured by SLEDAI-2K modified index and irreversible cumulative damage by (SLICC-ACR/DI) index. Serum concentrations of TNF α , soluble TNF α receptors 1 (sTNFR1) and 2 (sTNFR2) and adipokines were analyzed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits. **Article 2** – One hundred eighty nine patients and 70 controls were included. Disease activity was measured by SLEDAI-2K index and irreversible cumulative damage by (SLICC-ACR/DI). Nutritional status was assessed by body mass index (BMI) and by bioimpedence. Serum concentrations of IL6, IL10, IL17, TNF α , sTNFR1 and sTNFR2 were analyzed using high sensitivity cytometric bead array and adipokines (leptin and adiponectin) by enzyme-linked immunosorbent assay kits. **Conclusion: Article 1:** TNF α , its receptors and adipokines were associated with arthritis and nephritis. The sTNFR1 correlated with global activity and the organic injury of lupus, suggesting that this could be used as a marker of disease activity. The resistin and leptin were associated with higher concentrations of TNF receptors. This correlation between the two systems (adipokines and TNF system) allows a better understanding of the role of adipokines in the inflammatory response in SLE patients. **Article 2:** This study showed higher concentrations of cytokines and adipokines in SLE patients than controls and showed that higher BMI was correlated with higher concentrations of IL6, IL17A and leptin. This finding suggests that the BMI found in the patients, interfere, regardless of disease activity in inflammatory profile of women with SLE.

SUMÁRIO

1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
2- OBJETIVOS	27
2.1 Objetivos do artigo I	27
2.2 Objetivos do artigo II	27
3 - ARTIGOS	28
3.1 ARTIGO I: Adipocinas, fator de necrose tumoral e seus receptores no lúpus eritematoso sistêmico	28
3.1.1: Resumo	28
3.1.2: Abstract	30
3.1.3.: Introdução	33
3.1.4: Pacientes e métodos	34
3.1.5: Resultados	37
3.1.6: Discussão	44
3.1.7: Conclusão	49
3.1.8: Referências bibliográficas	50
3.2 ARTIGO II: Influência da obesidade no perfil inflamatório de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico	55
3.2.1: Resumo	55
3.2.2: Abstract	58
3.2.3.: Introdução	61
3.2.4: Pacientes e métodos	62
3.2.5: Resultados	66
3.2.6: Discussão	71

3.2.7: Conclusão	76
3.2.8: Referências bibliográficas	77
4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
APÊNDICES	
APÊNDICE A - ARTIGO I : Carta de Esclarecimento	86
APÊNDICE B - ARTIGO I : Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	88
APÊNDICE C - ARTIGO II : Carta de Esclarecimento	89
APÊNDICE D - ARTIGO II : Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos pacientes e controles	91
APÊNDICE E - ARTIGO I : Protocolo da Pesquisa	93
APÊNDICE F - ARTIGO II : Protocolo da Pesquisa	98
APÊNDICE G - Avaliação Nutricional	103
ANEXOS	
ANEXO A - Avaliação do estado nutricional e da atividade física em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico	105
ANEXO B - Nutritional status and food intake in patients with systemic lupus erythematosus	106
ANEXO C - Excess weight and associated risk factors in patients with systemic lupus erythematosus	107
ANEXO D - Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?	108
ANEXO E - ARTIGO I – Carta do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos/UFMG	109
ANEXO F - ARTIGO I - Carta da Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas/UFMG	110

ANEXO G - ARTIGO II - Carta do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos/UFMG	111
ANEXO H - ARTIGO II - Carta da Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas/UFMG	112
ANEXO I - Critério de Classificação para lúpus eritematoso sistêmico do Colégio Americano de Reumatologia	113
ANEXO J - Formulário para cálculo do índice de atividade do lúpus eritematoso sistêmico – SLEDAI-2k	115
ANEXO K - Questionário para cálculo do índice de dano segundo proposto pelo <i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics / American College of Rheumatology</i> (SLICC/ACR)	118
ANEXO L - Tabela da associação entre o sTNFR1 e as manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES	121
ANEXO M - Tabela da associação entre o sTNFR2 e as manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES	122
ANEXO N - Tabela da associação entre o TNF α e as manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES	123
ANEXO O - Tabela da associação entre a adiponectina e as manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES	124
ANEXO P - Tabela da associação entre a resistina e as manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES	125
ANEXO Q - Tabela da associação entre a leptina e as manifestações clínicas e uso de medicamentos em 136 com LES	126
ANEXO R - Tabela de Classificação do estado nutricional segundo o índice de massa corporal (IMC)	127

ANEXO S - Locais de colocação eletrodos para realização da bioimpedância	128
ANEXO T - Tabela de classificação do percentual de gordura corporal	129
ANEXO U - Curva ROC da concordância entre o índice de massa corporal e a bioimpedância	130
ANEXO V - Características sócio demográficas e composição corporal de 189 pacientes e 70 indivíduos controles	131
ANEXO X - Submissão do artigo : Adipokines, tumor necrosis factor and its receptors in systemic lupus erythematosus	132
ANEXO Z - Cópia da ata da defesa	154
ANEXO W- Folha de aprovação da defesa da tese	155