MARINA BURGOS DA SILVA

**Papel da obesidade na
rejeição de transplantes alogênicos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Area de Concentração: Imunologia

Orientador: Prof. Dr. Niels Olsen Saraiva
Câmara

Versão Original

São Paulo
2017

RESUMO

DA SILVA, M. B. **Papel da obesidade na rejeição de transplantes alogênicos.** 2017. 115 f. Tese (Doutorado em Imunologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Além de modular o metabolismo energético, o tecido adiposo constitui um regulador endócrino, produzindo fatores como a adiponectina (APN), adipocina pouco expressa na obesidade, com propriedades imunoreguladoras. Neste trabalho investigamos o papel da obesidade (induzida por dieta hiperlipídica, HF) (Ob) e APN (em animais knockout (KO) para APN) nos modelos murinos de transplante de pele e doença do enxerto-versus-hospedeiro (GvHD). Em suma, receptores Ob e APN KO apresentaram rejeição acelerada de enxerto de pele, associada a inflamação do tipo Th1 e Th17. A obesidade também levou a pior GvHD, associada à maior inflamação no fígado, pulmão e intestino, junto a dano hepático e intestinal, enquanto a manutenção de dieta HF após o transplante preveniu parcialmente este dano. Estudos in vitro corroboraram estes resultados, mostrando maior ativação dendrítica e linfocitária em meio mimetizando a obesidade. Desta forma, este estudo sugere que a obesidade e redução de APN levam a maior rejeição de transplantes sugerindo adiante um papel importante à dieta neste processo.

Palavras chave: Rejeição de Enxerto. Transplante de Pele. Transplante de Medula Óssea. Obesidade. Inflamação

ABSTRACT

DA SILVA, M. B. **Role of obesity in allogeneic transplant rejection**. 2017. 115 p. Ph. D. thesis (Immunology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

In addition to modulating energy metabolism, the adipose tissue is an endocrine regulator, producing factors such as adiponectin (APN), an adipokine little in obesity, with immunoregulatory properties. In this work we investigated the role of obesity (Induced by a high-fat diet, HF) and APN (in knockout mice (KO) for APN) in skin transplantation and graft-versus-host disease (GvHD) in HF diet-induced obesity (Ob) and knockout (KO) mice for APN. In summary, Ob and APN KO receptors showed accelerated skin graft rejection, associated with Th1 and Th17 type inflammation. Obesity also led to worse GvHD, associated with increased inflammation in liver, lung, intestines along with liver and gut damage, while maintenance of the HF diet after transplantation partially prevented this damage. In vitro studies corroborated these results, showing greater dendritic and lymphocytic activation in conditions mimicking obesity. Thus, this study suggests that obesity and reduced APN lead to greater rejection of transplants further suggesting an important role of diet in this process.

Keywords: Graft Rejection. Skin Transplant. Bone Marrow Transplant. Obesity. Inflammation.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 OBESIDADE

Estudos demonstram que o índice de obesidade mundial tem duplicado desde 1980 (World Health Organization, 2016). Este aumento epidêmico tem promovido um importante debate acerca do papel da obesidade na saúde e a sua influência em diversas comorbidades encontradas na população ^{1; 2}. De fato, a obesidade tem, há décadas, demonstrado clara correlação com diversas patologias metabólicas e cardiovasculares como obesidade abdominal, hiperglicemia, hipertriglicidemia, baixo HDL e hipertensão. A presença concomitante de pelo menos 3 destas condições é definida como síndrome metabólica e serve como índice de risco cardiovascular (I-DBSM, 2015; NIH, 2016). Contudo, estudos também demonstram que os efeitos do excesso de tecido adiposo não se limitam ao comprometimento cardiovascular ^{3; 4; 5}, mas que este também possui importante função como glândula endócrina, secretando diversos fatores com potencial parácrino e hormonal, com ação metabólica e imunológica.

1.2 INFLAMAÇÃO LIGADA À OBESIDADE E ADIPOCINAS

Diversos estudos desenvolvidos nas últimas décadas têm relacionado obesidade a um processo inflamatório crônico e sistêmico e com isso grande esforço tem sido aplicado na expectativa de elucidar esta relação. Uma teoria levantada sugere que a obesidade seja responsável por um aumento na permeabilidade intestinal, permitindo a entrada facilitada de endotoxinas no organismo, alimentando consequentemente um ciclo inflamatório^{6; 7}. Embora alguns trabalhos tenham demonstrado essa relação em camundongos poucos dados existem acerca do fenômeno em humanos. Adiante, outros estudos indicam que junto à alteração da permeabilidade intestinal também ocorra alteração da microbiota durante a obesidade^{8; 9}, que além de alterar a permeabilidade intestinal, também altere a ativação do sistema imune do hospedeiro ¹⁰ (Figura 1).

Vários trabalhos também apontam que o tecido adiposo é importante para o desenvolvimento do cenário inflamatório persistente. Existem três principais vias descritas pelas quais o tecido adiposo se comunica com o sistema imune e interfere no metabolismo sistêmico. A primeira teoria se baseia no achado de que diversos ácidos graxos encontrados em níveis elevados na corrente sanguínea durante a obesidade, como o palmitato, são capazes de ativar o sistema imune via receptores da imunidade inata como o receptor semelhante ao *toll* 4 (TLR-4) e o receptor da família NOD-like, NLRP3 (do inglês, *NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3*)^{11; 12}, embora vale ressaltar que não existe consenso sobre o potencial efeito dos mesmos, podendo ser encontrado diversos estudos relatando o efeito protetor destes receptores na inflamação e sensibilidade metabólica^{11; 13}.

A segunda via se dá pela a liberação de citocinas e quimiocinas inflamatórias. Com a obesidade, sugere-se que o tecido adiposo seja estimulado via condições de hipóxia e hipertrofia celular. Este estímulo por sua vez seria responsável pelo aumento da expressão de quimiocinas e citocinas inflamatórias como MCP-1, TNF- α e IL-6^{14; 15; 16}. Em reflexo a isto, células do sistema imune como monócitos e células T, são ativadas e migram para o tecido adiposo. Há o aumento na atividade NF- κ B, produção de espécies reativa de oxigênio e se inicia uma cascata inflamatória de alcance sistêmico e crônico^{17; 18}. Em longo prazo, este dano inflamatório passa então a refletir em doenças crônicas associadas a desordens metabólicas e do sistema imune.

Em paralelo, o terceiro mecanismo desenvolvido pelo tecido adiposo se dá via a produção de moléculas bioativas de ação parácrina e sistêmica, denominadas adipocinas. Diversas adipocinas importantes são descritas na literatura a mediar ações do tecido adiposo. Dentre elas estão a leptina, resistina, visfatina e adiponectina (APN). Leptina é a adipocina mais estudada e possui propriedades inflamatórias, mediando a ativação de monócitos, fagocitose e produção de citocinas tipo Th1^{19; 20; 21}. Já a APN demonstra papel oposto, possuindo função antidiabética, antiaterosclerótica e anti-inflamatória^{22; 23} e será descrita em mais detalhes adiante.

Figura 1 - Obesidade, síndrome metabólica e inflamação. O excesso de consumo de nutrientes leva à hipertrofia de adipócitos. Esta por sua vez está associada ao estresse celular e consequente desregulação na produção de adipocinas e citocinas, promovendo um perfil pró-inflamatório. Adiante, na obesidade também há aumento na translocação intestinal de bactérias e outras moléculas ativadoras da imunidade inata. Juntas estas levam à prorrogação de um processo inflamatório crônico que, associados à disfunção metabólica, caracterizam a síndrome metabólica presentes na obesidade. Esquema adaptado e modificado de Odegaard JI et al ²⁴.

1.3 ADIPONECTINA E INFLAMAÇÃO

1.3.1 ADIPONECTINA E RECEPTORES

A APN, também denominada *adipocyte complement-related protein* (Acrp30), *gelatin-binding protein-28* (GBP28) ou AdipoQ foi identificada pela primeira vez por quatro grupos independentes entre 1995 e 1997 ^{25; 26; 27; 28}. Seu gene se encontra no cromossomo 3q27 e constitui uma proteína de 247 aminoácidos, com um domínio globular em sua porção carboxi-terminal e um amino-terminal similar ao colágeno. Esta se encontra abundante no sangue, constituindo aproximadamente 0,01% do total de proteínas plasmáticas e é produzida principalmente por adipócitos, sendo encontrada no plasma na forma íntegra ou clivada. A forma íntegra é formada por homotrímeros denominados LMW (do inglês *low-molecular-weight*) de baixo peso molecular, hexâmeros – MMW (do inglês, *middle-molecular-weight*), de médio peso

kinase) e PPAR (do inglês, *peroxisome-proliferator-activated receptor*) que inibem a atividade de NF- κ B e reduzem a ativação de células do sistema imune³⁴ (Figura 2). Ademais, animais geneticamente deficientes (*knockout*, KO) para ambos receptores R1 e R2 desenvolvem resistência à insulina e intolerância à glicose³⁵. Estudos utilizando animais KO para adipoR1 indicam que este seja responsável pela ativação da via de AMPK e PGC-1 α ³⁵, redução de TNF- α e MCP-1 e aumento da concentração de cálcio intracelular³⁶. Estes animais demonstram resistência à insulina, maior produção de glicose, menor tolerância à glicose e disfunção mitocondrial em células musculares³⁷. Em paralelo, o adipoR2 demonstra importância no aumento de IL-1Ra, redução nos níveis de TNF- α e MCP-1, estresse oxidativo e sensibilidade à insulina³⁶.

O receptor T-caderina, por fim, consiste em uma molécula de caderina específica, expressa em tecidos como músculo liso e tecido adiposo visceral. Ela se liga à APN em forma hexamérica e multimérica e esta associada aos efeitos protetores cardíacos desempenhados pela APN³⁸.

Contudo, diante destes dados, vale ressaltar que, alguns trabalhos mostram resultados diferentes quanto à APN, demonstrando a indução de IL-17 em células T e ativação de células dendríticas^{39; 40}, por exemplo. Assim, se faz necessário maiores estudos quanto ao papel de cada receptor. Em adição, é provável que estes receptores possuam efeitos diferentes dependentes do tecido e da célula estudada.

1.3.2 ADIPONECTINA E CÉLULAS DO SISTEMA IMUNE

Em adição aos efeitos metabólicos, tem se descoberto um importante papel imunomodulador da APN, regulando esta, tanto células da imunidade inata quanto adaptativa. No contexto de imunidade inata, a literatura destaca o papel da APN em macrófagos e células dendríticas. Macrófagos são divididos classicamente, e de forma didática, em duas classes: M1 e M2. Enquanto macrófagos M1 possuem perfil pró-inflamatório, com a produção de citocinas como TNF- α e IL-6 junto a espécies reativas de oxigênio (EROs), macrófagos M2 produzem IL-10, arginase-1 e expressam receptores “scavengers” que reduzem o processo inflamatório e a presença de ROS. Em condições fisiológicas, macrófagos M2 são encontrados no tecido adiposo. Contudo, no contexto da obesidade, estes passam a expressar perfil

M1⁴¹. Como há uma relação negativa entre obesidade e os níveis de APN, pode-se sugerir que a ausência de APN medeia o processo inflamatório de forma direta. Em concordância a isto, estudos *in vitro* demonstram que a APN é capaz de induzir macrófagos a um perfil M2⁴², com menor produção de citocinas inflamatórias como TNF- α ⁴³ e maior produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10^{44; 45; 46}, sendo este aumento de macrófagos M2 associado inclusive ao aumento de tecido adiposo bege em camundongos⁴⁷.

Pouco se sabe a cerca do efeito da APN em células dendríticas (DCs, do inglês, *dendritic cells*). Um estudo tem demonstrado que esta adipocina reduz marcadores de ativação como MHCII, CD80 e CD86 e a expressão de IL1p40 em DCs⁴⁸. Em acréscimo, células expostas a APN aumentaram a expressão *in vitro* de PDL-1 (do inglês, *programmed death-1 ligand*), enquanto a co-cultura destas células com células T alogênicas, reduziu a proliferação de linfócitos junto a indução de células T reguladoras (Treg). Outros trabalhos também mostram efeito semelhante, como a redução de ativação de NF-KB e das células dendríticas em induzir respostas antígeno específicas em linfócitos⁴⁹.

Pesquisas indicam que APN também possui significativo papel regulador em linfócitos. Apesar de somente 10 por cento de células T expressarem receptores na membrana para este mediador, uma pesquisa demonstrou que estes receptores são armazenados intracelularmente passando a ser expressos na superfície após estímulo⁵⁰. APN é capaz de inibir a produção *in vitro* de citocinas como TNF- α , MCP-1 e IFN- γ por linfócitos⁵¹. Em paralelo, esta adipocina também reduz a proliferação de células T e aumenta sua apoptose⁵¹. Em adição, um estudo tem demonstrado que adipoRs co-localizam com CTLA-4 e TIRC7 que regulam negativamente a ativação de células T⁵⁰. Cerca de 45% dos linfócitos B expressam adipoRs. Contudo, pouco se sabe sobre os efeitos deste mediador nestas células. Um único trabalho sugere que APN inibe indiretamente a indução de linfócitos B a partir de precursores de medula óssea, via a regulação de células estromais⁵². Desta forma, ainda se faz necessário um maior estudo desta regulação.

Em um estudo de células NK (*natural killer*), também foi observada a ação supressora da APN. Seu efeito regulador foi relacionado à menor citotoxicidade

induzida por IL-2, via a inibição de NF-kB por AMPK e a redução na produção de IFN- γ ⁵³.

Por fim, APN também parece regular a infiltração de células do sistema imune. Um grupo recentemente demonstrou que a APN é capaz de reduzir a expressão *in vitro* de moléculas de adesão como VCAM e ICAM induzida por TNF- α em células endoteliais, via a inibição da ativação de NF-kB e acúmulo de cAMP ^{22; 54}.

Juntos, estes resultados indicam que a APN possui um importante papel regulador no sistema imune. Contudo vale ressaltar que alguns trabalhos têm descrito resultados opostos. Há estudos que relatam a ativação de NF-kB em resposta à APN levando a indução de perfil inflamatório e indução de linfócitos tipo Th1 e Th17 ^{40; 55; 56; 57}. Estes relatam maior ativação de DCs e elevada produção de IFN- γ e IL-17. Outros pesquisadores também relatam níveis elevados de APN em doenças cardiovasculares, hipertensão e artrite reumatoide ^{58; 59}. Posteriormente, um estudo em particular demonstrou este efeito plástico da APN, visto seu efeito pro-inflamatório (produção de TNF- α e IL-6) em macrófagos polarizados para M1 e anti-inflamatório (produção de IL-10) em macrófagos polarizados a M2 ⁶⁰. Desta forma, maiores estudos são necessários de forma a elucidar os efeitos desta adipocina no sistema imune.

1.4 SISTEMA IMUNE E TRANSPLANTES

1.4.1 TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS SÓLIDOS

A imunologia de rejeição de transplantes ocupa um ponto central na busca ao aumento da sobrevida de transplantes. Para efeito didático, o processo de rejeição de transplantes é dividido em basicamente três tipos: rejeição hiperaguda, aguda e crônica. A rejeição humoral hiperaguda ocorre em questão de minutos a dias após a cirurgia e se deve à presença de disparidade no sistema ABO ou à presença de anticorpos pré-formados contra antígenos de histocompatibilidade – HLA do doador. Esta não é vista clinicamente devido à disponibilidade de testes de compatibilidade. Em contrapartida, a rejeição crônica, principal responsável pelos casos de perda do enxerto a longo prazo, também é mediada por processos celulares e humorais descritos adiante ⁶¹.

Rejeição aguda, a mais comum dentre as três, ocorre nas primeiras semanas após o transplante e se deve principalmente a mecanismos celulares. Considera-se atualmente que a rejeição aguda esteja relacionada principalmente à via direta de apresentação de antígenos ⁶². Esta ocorre quando moléculas do complexo de histocompatibilidade MHC de classe I e II expostas em células apresentadoras de antígeno, APC (do inglês, *antigen presenting cells*) do doador são reconhecidas diretamente por linfócitos T e B do receptor ⁶³. Com isto, ocorre ativação de linfócitos T CD4+ principalmente a um padrão Th1 ⁶⁴, que junto a outras células, passam a secretar citocinas pró-inflamatórias como IL-2, IL-4 e IFN- γ ^{65; 66; 67}. Estas citocinas por sua vez auxiliam a ativação de linfócitos CD8+ efetores que liberam moléculas citotóxicas como granzima e perforina ⁶⁸ levando as células do tecido transplantado à morte por apoptose. Ao mesmo tempo também é desencadeada a liberação, por células B, de citocinas pró-inflamatórias e anticorpos dirigidos contra aloantígenos presentes no enxerto. Paralelamente outras células também auxiliam na rejeição como células NK, que, em face de um reconhecimento subótimo de MHC I em células alogênicas, se tornam ativas, passam a secretar citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ e TNF- α e desenvolvem potencial citotóxico via liberação de perforina, granzima e a ativação de FasL e TRAIL.

Paralelamente, a rejeição crônica está diretamente relacionada à via indireta de apresentação de antígenos ⁶⁹. Nesta, APCs do receptor processam aloantígenos do doador apresentados via MHC de classe II a linfócitos T do receptor. Estes por sua vez passam então a desencadear o processo de rejeição ⁶². De forma mais detalhada, a rejeição crônica consiste de uma lesão gradual e progressiva ao enxerto cujas expressões variam de acordo com o tipo de transplante. De forma geral, essa agressão ocorre devido a um processo persistente de isquemia e fibrose local que leva a uma perda funcional do órgão, conseqüentemente culminando com a falência do mesmo ⁷⁰. Inicialmente, ocorre o que se chama de vasculopatia crônica do enxerto, onde uma inflamação contínua, mantida por elementos do sistema imune adaptativo e inato, causa um espessamento da camada muscular referente à camada íntima da vasculatura do órgão ⁷¹. Existem vários trabalhos na literatura que demonstram a influência de células do sistema imune adaptativo (linfócitos T e B) e inato (monócitos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos) em células endoteliais ^{72; 73; 74}. Estes são capazes de secretar diversas citocinas, como IFN- γ , IL-1 e TNF- α ,

EROs, óxido nítrico (ON), eicosanóides e fatores de crescimento como PDGF capazes de promover a hipertrofia muscular local ^{75; 76}. Com isso, inicia-se gradualmente uma obstrução vascular local que repercute em um processo isquêmico ao órgão levando a uma eventual perda do enxerto. Paralelamente, ocorre também um processo de fibrogênese gradual ao enxerto induzido pela própria isquemia além de fatores secretados por células do sistema imune como TGF- β ⁷⁷ que levam à transição epitélio-mesenquimal e culminam à própria fibrose.

A principal estratégia atualmente disponível na tentativa de impedir ou desacelerar o processo de rejeição imunológica reside no uso de compostos imunossupressores como ciclosporina, tacrolimo, rapamicina e micofenolato de mofetila. Contudo, por razões ainda mal elucidadas, observa-se que apesar de um efeito agudo protetor, a longo prazo, os índices de rejeição crônica em pacientes tratados com imunossupressores não demonstram a mesma tendência. Adiante, vale lembrar que o uso de imunossupressores também se correlaciona a diversos efeitos nefrotóxicos, à presença de infecções oportunistas como a do citomegalovírus e maior susceptibilidade a neoplasias tornando a busca por novas abordagens terapêuticas de extrema importância.

1.4.2 GVHD

Uma importante forma de rejeição associada ao transplante hematopoético consiste na doença do enxerto versus hospedeiro, conhecido como GvHD, (do inglês, *Graft-versus-Host Disease*). Esta complicação acomete cerca de 15-30% dos transplantes de medula alogênica, e é responsável por aproximadamente de 50% da morbidade total após transplante ⁷⁸. O GvHD é classicamente dividido segundo sua dinâmica temporal e fenótipo clínico em GvHD agudo (GvHDa) e crônico (GvHDc). Embora a origem tanto do GvHD agudo quanto do crônico vem do reconhecimento alogênico de epítomos do hospedeiro mediado por células T, sua patogênese imunológica difere.

Em suma, a ativação inicial de GvHDa se instaura com o regime de condicionamento, como irradiação ou quimioterapia, necessário para a ablação da medula óssea. Estes induzem lesão em especial de células intestinais que passam a liberar sinais de injúria, como componentes citossólicos, a células do sistema imune,

como células macrófagos e DCs. Estes por sua vez promovem a ativação inicial de células T via moléculas do complemento e apresentação de antígenos.^{79; 80; 81; 82; 83}. Posteriormente, células T continuam sendo estimuladas via reconhecimento alogênico, especialmente por APCs derivadas do receptor, e exposição expressiva à citocinas inflamatórias como TNF- α e IFN- γ ^{81; 84; 85}. Com esta ativação, outras células como Th17, monócitos, neutrófilos e células NK são induzidas e/ou passam ao estado ativo e em coletivo levam ao dano tecidual sistêmico^{86; 87; 88}, com a liberação de mediadores como perforina, Fas e Fas ligante, TNF- α , e outros. Entretanto, vale ressaltar que também existem outras células que regulam esta injúria como células T reguladoras e NKT^{89; 90; 91} e um estudo maior do papel destas na prevenção ao GvHD é necessário.

Já o GvHDc, não envolve uma cadeia inflamatória inicial, e sua patogênese ainda está mal elucidada. Modelos existentes sugerem que esta se origine em resposta a uma quebra progressiva à tolerância imunológica^{92; 93; 94}, ativação de células T CD4+⁹⁵ e indução de perfil de citocinas Th2 (IL-4, IL-10), citocinas inflamatórias (TNF- α) e redução de IFN- γ ^{96; 97; 98}. Estas por sua vez, levariam à fibrogênese tecidual similar ao observado na escleroderma. Em paralelo, em modelo animal, a ativação de linfócitos B pode também levar a uma alta produção de anticorpos e induzir um quadro de glomerulonefrite⁹⁹. Contudo, vale ressaltar que não existe modelo totalmente fidedigno à patologia observada em humanos e existem diversos modelos na literatura que visam a aproximação ao quadro clínico.

1.5 OBESIDADE E REJEIÇÃO ALOGÊNICA

O impacto da obesidade na rejeição de transplante acompanha pouco consenso na literatura. Diversos trabalhos relatam uma correlação direta entre BMI e rejeição aguda de transplantes renais¹⁰⁰ e função tardia de enxerto renal¹⁰¹ além de menor sobrevida de a longo prazo de transplante cardíaco^{101; 102} e pulmonar¹⁰³. Além do que, o excesso de peso tem sido associado ao aumento do tempo de internação e complicações cirúrgicas e infecção¹⁰⁴. Em contrapartida, vários estudos falham em confirmar tais dados, não encontrando correlação entre obesidade e rejeição de enxerto¹⁰⁵. Em tempo, vale ressaltar que extração de conclusões pontuais advindas de estudos envolvendo BMI são de extrema complexidade devido à dificuldade em estratificar coortes associadas a um fenômeno tão heterogêneo.

1.6 ADIPONECTINA E IMUNOLOGIA DE TRANSPLANTES

Poucos estudos têm descrito a expressão de APN no contexto de transplantes e seu papel na imunologia de rejeição. Como alguns trabalhos têm relacionado o papel desta na modulação do sistema imune e em particular de células como DCs, macrófagos e linfócitos, infere-se que a relação entre APN e a imunologia de transplantes seja altamente provável. Primeiramente, um estudo demonstrou que animais KO para APN possuem maior tendência a rejeição cardíaca ⁵¹. Em específico, os enxertos demonstraram maior infiltração por linfócitos e macrófagos, além de expressarem maiores níveis de TNF- α , IFN- γ e RANTES. Outro estudo demonstrou que a superexpressão de APN atenuou o processo de rejeição crônica de coração via a redução de citocinas inflamatórias como MCP-1 e IFN- γ , além de ser responsável por inibir a proliferação de células musculares lisas induzidas por células T *in vitro* via AMPK ¹⁰⁶. Outro trabalho importante também relaciona a indução de PPAR-g junto à inibição de IL-5 e aumento da expressão do receptor adipoR2 à prevenção a rejeição crônica, indicando um possível mecanismo ao efeito protetor de APN ¹⁰⁷.

Desta forma, visamos por meio deste trabalho evidenciar o papel da obesidade e da APN na evolução imunológica da rejeição alogênica e evidenciar seu efeito na ativação de células do sistema imune neste ambiente.

8 CONCLUSÕES

8 CONCLUSÕES

- O modelo experimental de obesidade induzida por dieta hiperlipídica utilizada no projeto foi eficaz em reproduzir o perfil metabólico descrito em pacientes obesos com síndrome metabólica;
- Este modelo de obesidade acelerou a rejeição de enxerto em modelo experimental de transplante alogênico de pele e GvHD;
- A rejeição de pele no contexto de obesidade foi acompanhada por uma polarização inflamatória nos linfonodos drenantes aos perfis Th1-Th17;
- A ausência de APN também foi acelerou a rejeição de enxerto de pele, com a participação inflamatória dos perfis Th1 e Th17;
- A obesidade aumentou a mortalidade por GvHD e intensificou a progressão clínica da doença;
- O GvHD no contexto da obesidade correlacionou com maior ativação linfocitária de perfil Th1-Th17 no baço, pulmão e fígado e maior infiltrado linfocitário no intestino delgado e grosso;
- A implementação de dieta HF após o transplante reduziu a mortalidade por GvHD quando comparado à dieta LF pós-transplante;
- A permanência de animais obesos em dieta HF após o transplante protegeu contra a inflamação tipo Th1-Th17 no pulmão, baço e intestino por GvHD quando comparados a animais em dieta LF, mas levou a maior lesão e inflamação Th1-Th17 no fígado;
- Ensaios *in vitro* sugerem que fatores presentes no soro de animais obesos facilitam a maturação de BMDCs frente a LPS e a proliferação/polarização de linfócitos ao tipo Th1-Th17 sob estímulo alogênico;
- Ensaios *in vitro* sugerem que determinadas concentrações de APNf e APNg podem levar a menor ativação de BMDCs enquanto a ausência de APN pode levar a maior polarização linfocitária ao perfil Th1-Th17, com menor indução do tipo Treg;

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

- 1 FINKELSTEIN, E. A. et al. Obesity and severe obesity forecasts through 2030. **Am J Prev Med.**, v. 42, n. 6, p. 563-570,
- 2 GIGANTE, D. P. et al. Temporal variation in the prevalence of weight and obesity excess in adults: Brazil, 2006 to 2009. **Rev Bras Epidemiol.**, v. 14 Suppl 1, p. 157-165,
- 3 STEINBERGER, J.; DANIELS, S. R. Obesity, insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk in children: an American Heart Association scientific statement from the Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young Committee (Council on Cardiovascular Disease in the Young) and the Diabetes Committee (Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism). **Circulation**, v. 107, n. 10, p. 1448-1453, 2003.
- 4 CALLE, E. E. et al. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. **N Engl J Med.**, v. 341, n. 15, p. 1097-1105, 1999.
- 5 WILSON, P. W. et al. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. **Arch Intern Med.**, v. 162, n. 16, p. 1867-1872, 2002.
- 6 BRUN, P. et al. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.**, v. 292, n. 2, p. G518-525, 2007.
- 7 LUCK, H. et al. Regulation of Obesity-Related Insulin Resistance with Gut Anti-inflammatory Agents. **Cell Metab.**, v. 21, n. 4, p. 527-542, 2015.
- 8 CANI, P. D. et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. **Diabetes.**, v. 57, n. 6, p. 1470-1481, 2008.
- 9 SERINO, M. et al. Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota. **Gut**, v. 61, n. 4, p. 543-553, 2012.
- 10 DUCA, F. A. et al. Replication of obesity and associated signaling pathways through transfer of microbiota from obese-prone rats. **Diabetes**, v. 63, n. 5, p. 1624-1636, 2014.

*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

- 11 MCARDLE, M. A. et al. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. **Front Endocrinol. (Lausanne)**, v. 4, p. 52, 2013.
- 12 REYNOLDS, C. M. et al. Dietary saturated fatty acids prime the NLRP3 inflammasome via TLR4 in dendritic cells-implications for diet-induced insulin resistance. **Mol Nutr Food Res.**, v. 56, n. 8, p. 1212-1222, 2012.
- 13 ZEYDA, M. et al. Polyunsaturated fatty acids block dendritic cell activation and function independently of NF-kappaB activation. **J Biol Chem.**, v. 280, n. 14, p. 14293-14301, 2005.
- 14 ROCHA, V. Z.; LIBBY, P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. **Nat Rev Cardiol.**, v. 6, n. 6, p. 399-409, 2009.
- 15 DI GREGORIO, G. B. et al. Expression of CD68 and macrophage chemoattractant protein-1 genes in human adipose and muscle tissues: association with cytokine expression, insulin resistance, and reduction by pioglitazone. **Diabetes**, v. 54, n. 8, p. 2305-2313, 2005.
- 16 WEISBERG, S. P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **J Clin Invest.**, v. 112, n. 12, p. 1796-1808, 2003.
- 17 LE, K. A. et al. Subcutaneous adipose tissue macrophage infiltration is associated with hepatic and visceral fat deposition, hyperinsulinemia, and stimulation of NF-kappaB stress pathway. **Diabetes**, v. 60, n. 11, p. 2802-2809,
- 18 GHANIM, H. et al. Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. **Circulation**, v. 110, n. 12, p. 1564-1571, 2004.
- 19 LORD, G. M. et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. **Nature**, v. 394, n. 6696, p. 897-901, 1998.
- 20 MANCUSO, P. et al. Leptin-deficient mice exhibit impaired host defense in Gram-negative pneumonia. **J Immunol.**, v. 168, n. 8, p. 4018-4024, 2002.
- 21 CALDEFIE-CHEZET, F. et al. Leptin: a potential regulator of polymorphonuclear neutrophil bactericidal action? **J Leukoc Biol.**, v. 69, n. 3, p. 414-418, 2001.
- 22 OUCHI, N. et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. **Circulation**, v. 100, n. 25, p. 2473-2476, 1999.
- 23 LEU, H. B. et al. Adiponectin gene polymorphism is selectively associated with the concomitant presence of metabolic syndrome and essential hypertension. **PLoS One**, v. 6, n. 5, p. e19999,

- 24 ODEGAARD, J. I.; CHAWLA, A. Pleiotropic actions of insulin resistance and inflammation in metabolic homeostasis. **Science**, v. 339, n. 6116, p. 172-177, 2013.
- 25 HU, E.; LIANG, P.; SPIEGELMAN, B. M. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. **J Biol Chem.**, v. 271, n. 18, p. 10697-10703, 1996.
- 26 SCHERER, P. E. et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. **J Biol Chem.**, v. 270, n. 45, p. 26746-26749, 1995.
- 27 MAEDA, K. et al. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 221, n. 2, p. 286-289, 1996.
- 28 NAKANO, Y. et al. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. **J Biochem.**, v. 120, n. 4, p. 803-812, 1996.
- 29 KADOWAKI, T.; YAMAUCHI, T. Adiponectin and adiponectin receptors. **Endocr Rev.**, v. 26, n. 3, p. 439-451, 2005.
- 30 MAO, X. et al. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. **Nat Cell Biol.**, v. 8, n. 5, p. 516-523, 2006.
- 31 CHENG, K. K. et al. Adiponectin-induced endothelial nitric oxide synthase activation and nitric oxide production are mediated by APPL1 in endothelial cells. **Diabetes**, v. 56, n. 5, p. 1387-1394, 2007.
- 32 YAMAUCHI, T. et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. **Nature**, v. 423, n. 6941, p. 762-769, 2003.
- 33 TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. **Nat Rev Immunol.**, v. 6, n. 10, p. 772-783, 2006.
- 34 YAMAUCHI, T. et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. **Nat Med.**, v. 8, n. 11, p. 1288-1295, 2002.
- 35 YAMAUCHI, T. et al. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. **Nat Med.**, v. 13, n. 3, p. 332-339, 2007.
- 36 TIAN, L. et al. Adiponectin-AdipoR1/2-APPL1 signaling axis suppresses human foam cell formation: differential ability of AdipoR1 and AdipoR2 to regulate inflammatory cytokine responses. **Atherosclerosis**, v. 221, n. 1, p. 66-75,

- 37 IWABU, M. et al. Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1alpha and mitochondria by Ca(2+) and AMPK/SIRT1. **Nature**, v. 464, n. 7293, p. 1313-1319,
- 38 HUG, C. et al. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 101, n. 28, p. 10308-10313, 2004.
- 39 SUN, X. et al. Adiponectin exacerbates collagen-induced arthritis via enhancing Th17 response and prompting RANKL expression. **Sci Rep.**, v. 5, p. 11296, 2015.
- 40 JUNG, M. Y. et al. Adiponectin induces dendritic cell activation via PLCgamma/JNK/NF-kappaB pathways, leading to Th1 and Th17 polarization. **J Immunol.**, v. 188, n. 6, p. 2592-2601,
- 41 LUMENG, C. N.; BODZIN, J. L.; SALTIEL, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **J Clin Invest.**, v. 117, n. 1, p. 175-184, 2007.
- 42 OHASHI, K. et al. Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype. **J Biol Chem.**, v. 285, n. 9, p. 6153-6160,
- 43 YOKOTA, T. et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. **Blood**, v. 96, n. 5, p. 1723-1732, 2000.
- 44 WOLF, A. M. et al. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 323, n. 2, p. 630-635, 2004.
- 45 WULSTER-RADCLIFFE, M. C. et al. Adiponectin differentially regulates cytokines in porcine macrophages. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 316, n. 3, p. 924-929, 2004.
- 46 KUMADA, M. et al. Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages. **Circulation**, v. 109, n. 17, p. 2046-2049, 2004.
- 47 HUI, X. et al. Adiponectin Enhances Cold-Induced Browning of Subcutaneous Adipose Tissue via Promoting M2 Macrophage Proliferation. **Cell Metab.**, v. 22, n. 2, p. 279-290, 2015.
- 48 TSANG, J. Y. et al. Novel immunomodulatory effects of adiponectin on dendritic cell functions. **Int Immunopharmacol.**, v. 11, n. 5, p. 604-609,

- 49 TAN, P. H. et al. Adiponectin receptor signaling on dendritic cells blunts antitumor immunity. **Cancer Res.**, v. 74, n. 20, p. 5711-5722, 2014.
- 50 WILK, S. et al. Adiponectin is a negative regulator of antigen-activated T cells. **Eur J Immunol.**, v. 41, n. 8, p. 2323-2332,
- 51 OKAMOTO, Y. et al. Adiponectin inhibits allograft rejection in murine cardiac transplantation. **Transplantation**, v. 88, n. 7, p. 879-883, 2009.
- 52 YOKOTA, T. et al. Adiponectin, a fat cell product, influences the earliest lymphocyte precursors in bone marrow cultures by activation of the cyclooxygenase-prostaglandin pathway in stromal cells. **J Immunol.**, v. 171, n. 10, p. 5091-5099, 2003.
- 53 KIM, K. Y. et al. Adiponectin is a negative regulator of NK cell cytotoxicity. **J Immunol.**, v. 176, n. 10, p. 5958-5964, 2006.
- 54 OUCHI, N. et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. **Circulation**, v. 102, n. 11, p. 1296-1301, 2000.
- 55 HAUGEN, F.; DREVON, C. A. Activation of nuclear factor-kappaB by high molecular weight and globular adiponectin. **Endocrinology**, v. 148, n. 11, p. 5478-5486, 2007.
- 56 ROVIN, B. H.; SONG, H. Chemokine induction by the adipocyte-derived cytokine adiponectin. **Clin Immunol.**, v. 120, n. 1, p. 99-105, 2006.
- 57 KUSUNOKI, N. et al. Adiponectin stimulates prostaglandin E(2) production in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. **Arthritis Rheum.**, v. 62, n. 6, p. 1641-1649,
- 58 CHOI, H. M. et al. Adiponectin may contribute to synovitis and joint destruction in rheumatoid arthritis by stimulating vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase-1, and matrix metalloproteinase-13 expression in fibroblast-like synoviocytes more than proinflammatory mediators. **Arthritis Res Ther.**, v. 11, n. 6, p. R161, 2009.
- 59 OTERO, M. et al. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis.**, v. 65, n. 9, p. 1198-1201, 2006.
- 60 VAN STIJN, C. M. et al. Macrophage polarization phenotype regulates adiponectin receptor expression and adiponectin anti-inflammatory response. **FASEB J**, v. 29, n. 2, p. 636-649, 2015.

- 61 STAFFAS, A.; BURGOS DA SILVA, M.; VAN DEN BRINK, M. R. The intestinal microbiota in allogeneic hematopoietic cell transplant and graft-versus-host disease. **Blood**, v. 129, n. 8, p. 927-933, 2017.
- 62 GAME, D. S.; LECHLER, R. I. Pathways of allorecognition: implications for transplantation tolerance. **Transpl Immunol.**, v. 10, n. 2-3, p. 101-108, 2002.
- 63 CABALLERO, A. et al. Tolerogenic response: allorecognition pathways. **Transpl Immunol.**, v. 17, n. 1, p. 3-6, 2006.
- 64 TRIVEDI, H. L. Immunobiology of rejection and adaptation. **Transplant Proc.**, v. 39, n. 3, p. 647-652, 2007.
- 65 ATALAR, K. et al. Relative roles of Th1 and Th17 effector cells in allograft rejection. **Curr Opin Organ Transplant.**, v. 14, n. 1, p. 23-29, 2009.
- 66 CSENCITS, K. L.; BISHOP, D. K. Contrasting alloreactive CD4+ and CD8+ T cells: there's more to it than MHC restriction. **Am J Transplant.**, v. 3, n. 2, p. 107-115, 2003.
- 67 WALSH, P. T.; STROM, T. B.; TURKA, L. A. Routes to transplant tolerance versus rejection; the role of cytokines. **Immunity**, v. 20, n. 2, p. 121-131, 2004.
- 68 CLAYBERGER, C. Cytolytic molecules in rejection. **Curr Opin Organ Transplant.**, v. 14, n. 1, p. 30-33, 2009.
- 69 BENICHO, G.; THOMSON, A. W. Direct versus indirect allorecognition pathways: on the right track. **Am J Transplant.**, v. 9, n. 4, p. 655-656, 2009.
- 70 HOERBELT, R. et al. New strategies for the treatment of chronic rejection. **Curr Opin Investig Drugs.**, v. 5, n. 5, p. 489-498, 2004.
- 71 LI, C.; YANG, C. W. The pathogenesis and treatment of chronic allograft nephropathy. **Nat Rev Nephrol.**, v. 5, n. 9, p. 513-519, 2009.
- 72 BELPERIO, J. A.; ARDEHALI, A. Chemokines and transplant vasculopathy. **Circ Res.**, v. 103, n. 5, p. 454-466, 2008.
- 73 SIRAK, J. et al. Alloreactive delayed-type hypersensitivity in graft recipients: complexity of responses and divergence from acute rejection. **Transplantation**, v. 63, n. 9, p. 1300-1307, 1997.
- 74 YUN, J. J. et al. Combined blockade of the chemokine receptors CCR1 and CCR5 attenuates chronic rejection. **Circulation**, v. 109, n. 7, p. 932-937, 2004.

- 75 LIBBY, P.; POBER, J. S. Chronic rejection. **Immunity**, v. 14, n. 4, p. 387-397, 2001.
- 76 MITCHELL, R. N. Graft vascular disease: immune response meets the vessel wall. **Annu Rev Pathol.**, v. 4, p. 19-47, 2009.
- 77 MANNON, R. B. Therapeutic targets in the treatment of allograft fibrosis. **Am J Transplant.**, v. 6, n. 5 Pt 1, p. 867-875, 2006.
- 78 FERRARA, J. L. et al. Graft-versus-host disease. **Lancet**, v. 373, n. 9674, p. 1550-1561, 2009.
- 79 CHOI, J. H. et al. Effects of Pre-conditioning Dose on the Immune Kinetics and Cytokine Production in the Leukocytes Infiltrating GVHD Tissues after MHC-matched Transplantation. **Immune Netw.**, v. 11, n. 1, p. 68-78,
- 80 KWAN, W. H. et al. Antigen-presenting cell-derived complement modulates graft-versus-host disease. **J Clin Invest.**, v. 122, n. 6, p. 2234-2238,
- 81 ZHANG, Y. et al. Preterminal host dendritic cells in irradiated mice prime CD8+ T cell-mediated acute graft-versus-host disease. **J Clin Invest.**, v. 109, n. 10, p. 1335-1344, 2002.
- 82 KOYAMA, M. et al. Plasmacytoid dendritic cells prime alloreactive T cells to mediate graft-versus-host disease as antigen-presenting cells. **Blood**, v. 113, n. 9, p. 2088-2095, 2009.
- 83 WILHELM, K. et al. Graft-versus-host disease is enhanced by extracellular ATP activating P2X7R. **Nat Med.**, v. 16, n. 12, p. 1434-1438,
- 84 ZHANG, Y. et al. APCs in the liver and spleen recruit activated allogeneic CD8+ T cells to elicit hepatic graft-versus-host disease. **J Immunol.**, v. 169, n. 12, p. 7111-7118, 2002.
- 85 ALI, S. et al. Tumor necrosis factor is critical for cytolytic T cell activity against allospecific hepatocytes and splenic targets in major histocompatibility complex class I disparate graft versus host disease. **J Interferon Cytokine Res.**, v. 31, n. 5, p. 423-431,
- 86 MA, Q. et al. Reduced GVHD in C3-deficient mice is associated with the decrease of donor Th1/Th17 differentiation. **Biol Blood Marrow Transplant.**,
- 87 CHENG, H. et al. TH17 Cells Are Critical for Skin-Specific Pathological Injury in Acute Graft-Versus-Host Disease. **Transplant Proc.**, v. 44, n. 5, p. 1412-1418,

- 88 LIU, W. et al. Innate NK cells and macrophages recognize and reject allogeneic nonself in vivo via different mechanisms. **J Immunol.**, v. 188, n. 6, p. 2703-2711,
- 89 PILLAI, A. B. et al. Host natural killer T cells induce an interleukin-4-dependent expansion of donor CD4+CD25+Foxp3+ T regulatory cells that protects against graft-versus-host disease. **Blood**, v. 113, n. 18, p. 4458-4467, 2009.
- 90 LEVESON-GOWER, D. B. et al. Low doses of natural killer T cells provide protection from acute graft-versus-host disease via an IL-4-dependent mechanism. **Blood**, v. 117, n. 11, p. 3220-3229,
- 91 SHIN, H. J. et al. Rapamycin and IL-2 reduce lethal acute graft-versus-host disease associated with increased expansion of donor type CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. **Blood**, v. 118, n. 8, p. 2342-2350,
- 92 RANGARAJAN, H. et al. Emergence of T cells that recognize nonpolymorphic antigens during graft versus host disease. **Blood**,
- 93 KAWANO, Y. et al. Low telomerase activity in CD4+ regulatory T cells in patients with severe chronic GVHD after hematopoietic stem cell transplantation. **Blood**, v. 118, n. 18, p. 5021-5030,
- 94 ZORN, E. et al. Reduced frequency of FOXP3+ CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease. **Blood**, v. 106, n. 8, p. 2903-2911, 2005.
- 95 YOUNG, J. S. et al. Donor B Cells in Transplants Augment Clonal Expansion and Survival of Pathogenic CD4+ T Cells That Mediate Autoimmune-like Chronic Graft-versus-Host Disease. **J Immunol.**,
- 96 SKERT, C. et al. Kinetics of Th1/Th2 cytokines and lymphocyte subsets to predict chronic GVHD after allo-SCT: results of a prospective study. **Bone Marrow Transplant.**, v. 44, n. 11, p. 729-737, 2009.
- 97 XIAO, Z. Y. et al. Roquinimex-mediated protection effect on the development of chronic graft-versus-host disease in mice is associated with induction of Th1 cytokine production and inhibition of proinflammatory cytokine production. **Life Sci.**, v. 81, n. 19-20, p. 1403-1410, 2007.
- 98 XIAO, Z. Y. et al. H1521, a novel derivative of 4-hydroxyquinoline-3-carboxamide, suppresses the development of lupus in mice by inducing Th1 cytokine profile in T cells. **Int Immunopharmacol.**, v. 11, n. 4, p. 435-443,
- 99 KIM, J. et al. Breaking of CD8+ T cell tolerance through in vivo ligation of CD40 results in inhibition of chronic graft-versus-host disease and complete donor cell engraftment. **J Immunol.**, v. 181, n. 10, p. 7380-7389, 2008.

- 100 GORE, J. L. et al. Obesity and outcome following renal transplantation. **Am J Transplant.**, v. 6, n. 2, p. 357-363, 2006.
- 101 MEIER-KRIESCHE, H. U.; ARNDORFER, J. A.; KAPLAN, B. The impact of body mass index on renal transplant outcomes: a significant independent risk factor for graft failure and patient death. **Transplantation**, v. 73, n. 1, p. 70-74, 2002.
- 102 RUSSO, M. J. et al. The effect of body mass index on survival following heart transplantation: do outcomes support consensus guidelines? **Ann Surg.**, v. 251, n. 1, p. 144-152, 2010.
- 103 LEDERER, D. J. et al. Obesity and underweight are associated with an increased risk of death after lung transplantation. **Am J Respir Crit Care Med.**, v. 180, n. 9, p. 887-895, 2009.
- 104 SCHAEFFER, D. F. et al. Surgical morbidity in severely obese liver transplant recipients - a single Canadian Centre Experience. **Ann Hepatol.**, v. 8, n. 1, p. 38-40, 2009.
- 105 DRAFTS, H. H. et al. The impact of pre-transplant obesity on renal transplant outcomes. **Clin Transplant.**, v. 11, n. 5 Pt 2, p. 493-496, 1997.
- 106 ISHIHARA, T. et al. Effect of adiponectin on cardiac allograft vasculopathy. **Circ J.**, v. 75, n. 8, p. 2005-2012,
- 107 CHEN, Y. et al. PPAR-gamma signaling and IL-5 inhibition together prevent chronic rejection of MHC Class II-mismatched cardiac grafts. **J Heart Lung Transplant.**, v. 30, n. 6, p. 698-706,
- 108 BONORA, E. et al. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 68, n. 2, p. 374-378, 1989.
- 109 COOKE, K. R. et al. An experimental model of idiopathic pneumonia syndrome after bone marrow transplantation: I. The roles of minor H antigens and endotoxin. **Blood**, v. 88, n. 8, p. 3230-3239, 1996.
- 110 THUPARI, J. N. et al. Chronic C75 treatment of diet-induced obese mice increases fat oxidation and reduces food intake to reduce adipose mass. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 287, n. 1, p. E97-E104, 2004.
- 111 BUTLER, A. A.; KOZAK, L. P. A recurring problem with the analysis of energy expenditure in genetic models expressing lean and obese phenotypes. **Diabetes**, v. 59, n. 2, p. 323-329, 2010.

- 112 RATH, M. et al. Metabolism via Arginase or Nitric Oxide Synthase: Two Competing Arginine Pathways in Macrophages. **Front Immunol.**, v. 5, p. 532, 2014.
- 113 KIM, K. A. et al. High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. **PLoS One**, v. 7, n. 10, p. e47713, 2012.
- 114 WINER, S. et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. **Nat Med.**, v. 15, n. 8, p. 921-929, 2009.
- 115 JHUN, J. Y. et al. Obesity aggravates the joint inflammation in a collagen-induced arthritis model through deviation to Th17 differentiation. **Exp Mol Med.**, v. 44, n. 7, p. 424-431, 2012.
- 116 PINI, M.; FANTUZZI, G. Enhanced production of IL-17A during zymosan-induced peritonitis in obese mice. **J Leukoc Biol.**, v. 87, n. 1, p. 51-58, 2010.
- 117 BERTOLA, A. et al. Identification of adipose tissue dendritic cells correlated with obesity-associated insulin-resistance and inducing Th17 responses in mice and patients. **Diabetes**, v. 61, n. 9, p. 2238-2247, 2012.
- 118 MOLINERO, L. L. et al. High-Fat Diet-Induced Obesity Enhances Allograft Rejection. **Transplantation**, v. 100, n. 5, p. 1015-1021, 2016.
- 119 BYERSDORFER, C. A. et al. Effector T cells require fatty acid metabolism during murine graft-versus-host disease. **Blood**, v. 122, n. 18, p. 3230-3237, 2013.
- 120 MORAES-VIEIRA, P. M. et al. Leptin deficiency modulates allograft survival by favoring a Th2 and a regulatory immune profile. [corrected]. **Am J Transplant.**, v. 13, n. 1, p. 36-44, 2013.
- 121 NAKASONE, H. et al. Association between serum high-molecular-weight adiponectin level and the severity of chronic graft-versus-host disease in allogeneic stem cell transplantation recipients. **Blood**, v. 117, n. 12, p. 3469-3472, 2011.