



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**



Título do Projeto:

**INTERAÇÕES IMUNOENDÓCRINAS ENTRE LEPTINA E CÉLULAS NK NA
OBESIDADE**

Discente: Arthur Gomes de Andrade

Orientadora: Profa. Dra. Tatjana Keesen de Souza Lima Clemente

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Agra Cavalcante Silva

**João Pessoa, PB
2026**

ARTHUR GOMES DE ANDRADE

Interações imunoendócrinas entre leptina e células NK na obesidade

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Tatjana Keesen de Souza Lima

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva

**João Pessoa - PB
2026**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS



Ata da Sessão de Defesa Pública de Dissertação de Mestrado do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Associada Universidade Federal da Paraíba, realizada em 25 de fevereiro de 2026.

Na data de vinte e cinco de fevereiro de dois mil e vinte e seis, às 09:00 horas (horário local), foi realizada via Plataforma Virtual Google Meet, a defesa pública da Dissertação de Mestrado do(a) ARTHUR GOMES DE ANDRADE. O trabalho tem como título “Interações imunoendócrinas entre leptina e células NK na obesidade”. A banca examinadora foi constituída pelo(a) orientador(a) Prof.^ª Dr.^ª Tatjana Keesen de Sousa Lima Clemente, na qualidade de presidente da banca, pelo 1º examinador (examinador interno) Prof.^ª Dr.^ª Sandra Rodrigues Mascarenhas (UFPB) e pelo 2º examinador (examinador externo) Prof.^ª Dr.^ª Andreza Fernanda Santiago (UFLA). Após a apresentação pública do trabalho, iniciou-se a arguição do(a) candidato(a) por cada membro da banca examinadora, tendo o(a) candidato(a) o mesmo tempo para responder a cada questionamento. Na sequência, a banca examinadora se reuniu em caráter sigiloso e considerou o(a) candidato(a) APROVADO(A). De acordo com o Artigo 98, § 1º, § 2º, da Resolução 35/2019 do CONSEPE, o(a) discente terá até 60 (sessenta) dias, a partir da presente data, para fazer as correções solicitadas pela banca examinadora e entregar as cópias corrigidas da dissertação à Biblioteca Central da UFPB e à secretaria deste programa, contendo obrigatoriamente a ficha catalográfica fornecida pela Biblioteca Central da UFPB.

Documento assinado digitalmente
TATJANA KEESEN DE SOUZA LIMA CLEMENTE
Data: 25/02/2026 10:52:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Tatjana Keesen de Sousa Lima Clemente (Orientador)

Documento assinado digitalmente
SANDRA RODRIGUES MASCARENHAS
Data: 25/02/2026 14:46:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Sandra Rodrigues Mascarenhas (1º Examinador)

Documento assinado digitalmente
ANDREZZA FERNANDA SANTIAGO
Data: 25/02/2026 12:28:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Andreza Fernanda Santiago (2ª examinador)

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A553i Andrade, Arthur Gomes de.

Interações imunoendócrinas entre leptina e células
NK na obesidade / Arthur Gomes de Andrade. - João
Pessoa, 2026.

89 f. : il.

Orientação: Tatjana Keesen de Souza Lima.

Coorientação: Luiz Henrique Agra Cavalcante Silva.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CBIOTEC.

1. Endocrinologia. 2. Citotoxicidade. 3.
Sinalização. 4. Hormônio. 5. Citometria de fluxo. I.
Lima, Tatjana Keesen de Souza. II. Silva, Luiz Henrique
Agra Cavalcante. III. Título.

UFPB/BC

CDU 612.43(043)

Elaborado por RUSTON SAMMEVILLE ALEXANDRE MARQUES DA SILVA -
CRB-15/0386

AGRADECIMENTOS

À minha família, que sempre torceu por mim, especialmente à minha mãe e ao meu irmão, pelo amor e pelo apoio em cada nova etapa dessa jornada.

À minha orientadora, Tatjana, por ter me recebido em seu laboratório ainda na graduação, pela liberdade e confiança depositadas em mim no desenvolvimento dos projetos, e por todas as orientações, dicas e conselhos que, sem dúvida, contribuíram enormemente para o meu crescimento profissional.

Ao meu coorientador, Luiz, por ter participado de praticamente toda a minha trajetória acadêmica e ter sido uma grande parte do meu amadurecimento, mas também por todos os outros inúmeros motivos, momentos e memórias, além da vida acadêmica, que não cabem nestas linhas.

A todos os integrantes do LABIDIC, que fizeram e que ainda fazem parte do laboratório, e que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha trajetória na pesquisa e para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha banca de qualificação, Profa. Dra. Sandra Mascarenhas e Profa. Dra. Andrezza Santiago, que trouxeram contribuições extremamente pertinentes.

Aos integrantes do Laboratório de Farmacologia e Imunidade da UFAL, por terem me recebido com tanto apoio para a realização dos experimentos, em especial à professora Magna Suzana, por tornar essa possibilidade viável.

À Juliana (Ju), técnica responsável pelo citômetro de fluxo no ICBS-UFAL, por todo o carinho, e pelas conversas ao longo das várias leituras no citômetro, que certamente tornaram esses momentos muito mais leves.

A todos os trabalhadores do CBIOTEC, especialmente aos funcionários da limpeza e aos técnicos, que viabilizam para que qualquer trabalho no centro seja possível.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ-PB), pelo suporte financeiro por meio de bolsas de estudo e

financiamento às pesquisas.

A todos os voluntários que se dispuseram a participar desta pesquisa e que acreditaram na importância deste trabalho.

RESUMO

A obesidade é uma doença crônica de alta prevalência mundial, afetando mais de 700 milhões no mundo e mais de 40 milhões de pessoas no Brasil. Associada ao aumento das alterações metabólicas, a adiposidade excessiva promove o desenvolvimento de um estado de inflamação crônica subclínica e de hiperleptinemia sustentada, condições que contribuem para a desregulação da homeostase imunológica. As células Natural Killer (NK) são particularmente sensíveis a sinais metabólicos, e indivíduos obesos frequentemente apresentam atividade de células NK comprometida. Neste estudo, investigamos, *in vitro*, como a leptina modula a frequência, a ativação, moléculas efectoras e a sinalização intracelular de células NK coletadas de adultos normopesos (NP) e obesos (OB). Para isso, as células foram expostas a duas concentrações de leptina, 10 nM e 50 nM, mimetizando os níveis fisiológicos e fisiopatológicos, respectivamente. Análises estratificadas por sexo também foram conduzidas, visando avaliar possíveis efeitos dependentes do dimorfismo sexual. Foi observado que a obesidade induziu à redução das frequências de células NK circulantes, especialmente em mulheres, juntamente com diminuição da expressão dos receptores ativadores CD16 e NKp46. Com a exposição à leptina, as células NK de doadores obesos apresentaram menor intensidade de granzima B e redução da produção de IFN- γ . A leptina ainda modulou essas respostas de forma dependente do perfil de adiposidade: enquanto altas concentrações de leptina (50 nM) aumentaram a produção de IFN- γ em células NK de indivíduos normopesos, em células provenientes de indivíduos obesos foi observada uma resposta inversa. Apesar disso, não foram observadas diferenças nos níveis de CD107a e TNF- α com o tratamento da leptina. Ao nível da sinalização intracelular, as células NK de indivíduos obesos apresentaram redução da fosforilação de ERK1/2 e de p38 após tratamento com leptina, correlacionada com respostas citotóxicas e de produção de IFN- γ prejudicadas, respectivamente. Em contraste, a fosforilação de mTOR estava intrinsecamente reduzida nas células NK de doadores obesos, independentemente da exposição à leptina. Quanto ao NF- κ B, não foram observadas diferenças após tratamento. Análises estratificadas por sexo revelaram maior ativação de mTOR e maior expressão de granzima B em células NK de homens normopesos em comparação às mulheres normopesos com altas concentrações de leptina, enquanto a supressão da produção de IFN- γ mediada pela leptina foi mais pronunciada em homens, independentemente do biotipo corporal. Não foram observadas modulações em outros parâmetros imunológicos das análises baseadas em sexo. Em conjunto, esses achados demonstram que a leptina exerce efeitos divergentes sobre as células NK dependendo do contexto metabólico e do sexo, contribuindo para o comprometimento funcional observado na obesidade.

Palavras-chave: citotoxicidade; sinalização; hormônio; citometria de fluxo.

ABSTRACT

Obesity is a chronic disease with a high global prevalence, affecting more than 700 million people worldwide and over 40 million in Brazil. Associated with profound metabolic alterations, excessive adiposity promotes the development of a state of chronic low-grade inflammation and sustained hyperleptinemia, conditions that contribute to the dysregulation of immune homeostasis. Natural Killer (NK) cells are particularly sensitive to metabolic signals, and obese individuals frequently exhibit impaired NK cell activity. In this study, we investigated, *in vitro*, how leptin modulates the frequency, activation, effector molecules, and intracellular signaling of NK cells from normal-weight (NP) and obese (OB) adults. To this end, cells were exposed to two concentrations of leptin, 10 nM and 50 nM, mimicking physiological and pathophysiological levels, respectively. Sex-stratified analyses were also conducted to evaluate potential effects related to sexual dimorphism. Obesity was found to reduce the frequency of circulating NK cells, particularly in women, along with decreased expression of the activating receptors CD16 and NKp46. Upon leptin exposure, NK cells from obese donors exhibited lower granzyme B intensity and reduced IFN- γ production. Leptin further modulated these responses in an adiposity-dependent manner: whereas high leptin concentrations (50 nM) increased IFN- γ production in NK cells from normal-weight individuals, an opposite response was observed in cells from obese individuals. Nevertheless, no differences were observed in CD107a and TNF- α levels following leptin treatment. At the level of intracellular signaling, NK cells from obese individuals showed reduced phosphorylation of ERK1/2 and p38 after leptin treatment, correlating with impaired cytotoxic responses and IFN- γ production, respectively. In contrast, mTOR phosphorylation was intrinsically reduced in NK cells from obese donors, regardless of leptin exposure. Regarding NF- κ B, no differences were observed after treatment. Sex-stratified analyses revealed higher mTOR activation and greater granzyme B expression in NK cells from normal-weight men compared with normal-weight women at high leptin concentrations, whereas leptin-mediated suppression of IFN- γ production was more pronounced in men, irrespective of body phenotype. No modulation was observed in other immunological parameters in the sex-based analyses. Taken together, these findings demonstrate that leptin exerts divergent effects on NK cells depending on the metabolic context and sex, contributing to the functional impairment observed in obesity.

Keywords: cytotoxicity; signaling; hormone; flow cytometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vias de atuação central da leptina e mecanismos de resistência adquirida.	14
Figura 2. Efeitos gerais da leptina sobre células imunológicas.....	22
Figura 3. Efeitos da obesidade em células NK.....	28
Figura 4. Estratégia de análise utilizada nos dados de citometria de fluxo.....	33
Figura 5. Proporção de células NK nos indivíduos normopesos e obesos.	35
Figura 6. Análise do perfil de ativação das células NK.	36
Figura 7. Comparação da capacidade citotóxica em células NK.	37
Figura 8. Análise da produção de citocinas por células NK.....	38
Figura 9. Análise de MAPKs nas células NK.	40
Figura 10. Análise de mTOR e NF- κ B nas células NK.	41
Figura 11. Características fenotípicas das células NK em homens e mulheres.....	44
Figura 12. Esquema dos efeitos observados nas células NK.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Anticorpos utilizados para a marcação dos parâmetros intracelulares e de superfície.	32
Tabela 2. Valores de Intensidade Média de Fluorescência (MFI).....	42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1	Obesidade	12
2.2	Leptina	12
2.3	Leptina e o sistema imunológico	15
2.3.1	Leptina como uma adipocina imunomoduladora.....	15
2.3.2	Leptina e imunidade inata	16
2.3.3	Leptina e imunidade adaptativa	19
2.4	Células NK na obesidade	22
2.4.1	Biologia funcional das células NK.....	22
2.4.2	Leptina e células NK na obesidade	25
3	OBJETIVOS	29
3.1.1	Objetivo Geral.....	29
3.1.2	Objetivos Específicos.....	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1	Amostras Clínicas	30
4.2	Isolamento de PBMCs	30
4.3	Marcação dos Parâmetros Intracelulares e de Superfície	31
4.4	Aquisição de Dados por Citometria de Fluxo.....	33
4.5	Análises Estatísticas.....	33
5	RESULTADOS.....	35
5.1	Avaliação quantitativa dos níveis de células NK.....	35
5.2	Avaliação do perfil de ativação e inibição de células NK	35
5.3	Avaliação da capacidade citotóxica de células NK	36
5.4	Avaliação da produção de citocinas por células NK	37
5.5	Avaliação das moléculas p38 e ERK1/2 nas células NK.....	39
5.6	Avaliação de mTOR e NF-κB em células NK.....	40
5.7	Diferenças na expressão dos marcadores entre voluntários do sexo masculino e feminino	43
6	DISCUSSÃO	45
7	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma condição de saúde complexa e multifatorial que se tornou uma epidemia global. Até 2022, 159 milhões de crianças e adolescentes e 879 milhões de adultos viviam com obesidade, somando mais de um bilhão de pessoas afetadas por essa doença (Phelps *et al.*, 2024). Em 2025, a estimativa é de que 2,3 bilhões de adultos ao redor do mundo estejam acima do peso, sendo 700 milhões de indivíduos com obesidade (ABESO, 2023). No Brasil, aproximadamente 60% dos adultos brasileiros já têm excesso de peso, o que representa cerca de 96 milhões de pessoas, e 1 em cada 4 tem obesidade, num total de mais de 41 milhões de pessoas (BRASIL, 2022). A obesidade é uma doença crônica associada a múltiplas complicações e depende não só de fatores genéticos e fisiológicos, mas também de variáveis culturais, sociais e psicológicas, associadas à quantidade e à qualidade da alimentação.

Um dos principais fatores fisiológicos envolvidos na regulação do peso corporal são os componentes hormonais (González-Muniesa *et al.*, 2017). Dentre eles, destaca-se a leptina, um hormônio produzido majoritariamente por adipócitos. A leptina desempenha um papel crucial na regulação metabólica e da ingestão alimentar, enviando sinais de saciedade aos núcleos hipotalâmicos do cérebro. No entanto, em pessoas obesas, apesar dos altos níveis de leptina, o cérebro parece perder a sensibilidade a esses sinais, um fenômeno conhecido como resistência central à leptina (Obradovic *et al.*, 2021). Apesar de indivíduos obesos tenderem a desenvolver um quadro de resistência a esse hormônio, as células do sistema imunológico continuam responsivas, e contribuem para as complicações associadas ao sobrepeso e obesidade (Souza-Almeida *et al.*, 2021). Além disso, a regulação metabólica apresenta dimorfismo sexual, e diferenças hormonais podem influenciar tanto a composição corporal, alterando os níveis de leptina, quanto a resposta imune (Montes-de-Oca-García *et al.*, 2023). Alterações em diversos componentes do sistema imunológico têm sido descritas em decorrência desses fatores metabólicos e hormonais, incluindo modificações na função das células NK (natural killer) (Bähr *et al.*, 2020; Shaikh *et al.*, 2023).

As células NK são um tipo de célula do sistema imunológico que desempenha um papel importante na defesa do corpo contra infecções e cânceres. Pesquisas recentes sugerem que a obesidade pode afetar a função efetora das células NK, embora os mecanismos exatos ainda não sejam completamente compreendidos (Bähr *et al.*, 2020). Portanto, a compreensão das interações imunoendócrinas na obesidade é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e tratamento da obesidade e de suas consequências. Diante das questões abordadas, o presente trabalho teve como objetivo principal avaliar os efeitos

imunomodulatórios da leptina sobre as células NK no contexto da obesidade.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Obesidade

Doenças crônicas não transmissíveis (DNTs), como doenças cardiovasculares, câncer e diabetes mellitus, respondem por mais de 70% das mortes precoces em todo o mundo, tornando-se assim a principal causa de mortalidade e incapacidade prematura (BRASIL, 2022). A obesidade, um dos principais fatores de risco para as DNTs, está associada a uma diminuição da expectativa de vida, estimando-se uma perda de 5 a 20 anos, dependendo da gravidade da condição e de comorbidades. A Organização Mundial da Saúde (OMS) define obesidade como acúmulo excessivo de gordura que pode prejudicar a saúde e é diagnosticada com um IMC ≥ 30 kg/m² (BRASIL, 2025).

Indivíduos obesos têm um risco aumentado de desenvolver várias complicações de saúde que contribuem para a morte prematura, incluindo síndrome metabólica, diabetes tipo 2, problemas respiratórios como apneia do sono, doenças cardiovasculares como aterosclerose e infarto, e diferentes tipos de câncer (Keramat *et al.*, 2021). Além dos impactos físicos, a obesidade também afeta negativamente a função psicológica e cognitiva dos indivíduos, contribuindo para problemas de humor e declínio cognitivo (González-Muniesa *et al.*, 2017).

Esses fatores são fortemente influenciados pelo desbalanço de diferentes hormônios regulados por nutrientes que modulam o metabolismo energético (Batty *et al.*, 2021). Vários desses hormônios têm funções pleiotrópicas, dentre eles, os de maior destaque incluem a leptina, insulina, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF1) e o peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP1) (De Candia *et al.*, 2021). Do ponto de vista metabólico, a obesidade está associada principalmente à resistência à insulina, à hipertensão e à hipercolesterolemia. O aumento da adiposidade também está associado à desregulação do metabolismo de ácidos graxos poli-insaturados (Boden, 2008). Além disso, a alta concentração de oxilipinas sintetizadas a partir da oxidação desses compostos lipídicos tem uma relação íntima com os desfechos inflamatórios sistêmicos, tornando-se um fator relevante para o desenvolvimento de doenças crônicas (Misheva; Johnson; McCullagh, 2022).

2.2 Leptina

Até a descoberta da leptina em 1994, o tecido adiposo branco (WAT) era considerado

apenas um tecido de armazenamento de energia (Zhang *et al.*, 1994). Na última década, o WAT foi reconhecido como um tecido altamente ativo e uma fonte inesperada de peptídeos bioativos, denominados adipocinas (Coelho; Oliveira; Fernandes, 2013). A leptina é produzida principalmente por adipócitos e, em condições fisiológicas, seus níveis circulantes correlacionam-se positivamente com a massa de WAT. Além disso, a leptina é considerada uma adipocina pró-inflamatória, pois parece contribuir para um estado geral pró-inflamatório de baixo grau em pessoas com sobrepeso e obesidade (Pérez-Pérez *et al.*, 2020).

A leptina é um peptídeo não glicosilado de 16 kDa codificado pelo gene LEP (o homólogo humano do gene *Lep* murino, também conhecido como *ob*) e exerce suas ações biológicas ligando-se ao seu receptor (LepR), que pertence à superfamília de receptores de citocinas da classe I. Existem várias isoformas do receptor: uma isoforma solúvel (ObRe), isoforma com domínios citoplasmáticos curtos (ObRa) e uma isoforma longa (ObRb), que é encontrada em quase todos os tecidos e parece ser a única capaz de transduzir completamente o sinal da leptina (Gorska *et al.*, 2010). Semelhante a outros receptores de citocinas de classe I, a forma longa do LepR transmite sinais intracelulares através da via de sinalização da Janus quinase (JAK) e STATs (Saxton *et al.*, 2023).

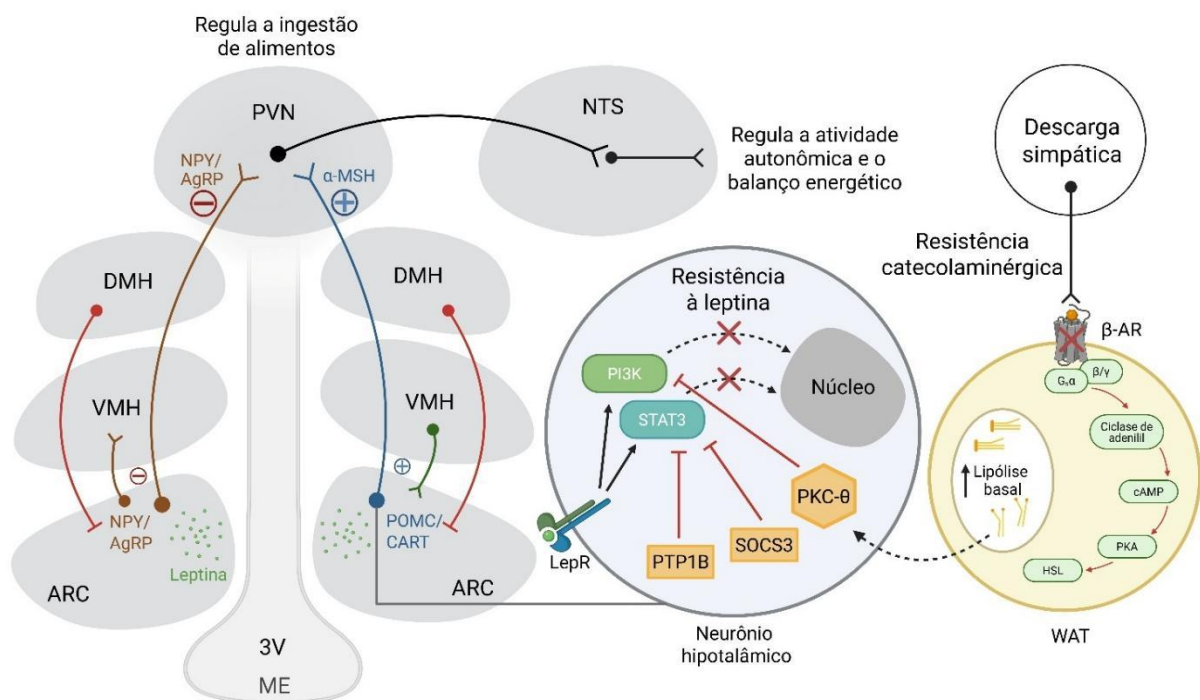
A injeção intracerebroventricular de leptina em camundongos deficientes em leptina (*Lep^{ob/ob}*) provoca uma resposta tão robusta quanto a entrega periférica do hormônio em animais selvagens, evidenciando que a leptina age principalmente através do cérebro (Hwa *et al.*, 1996). O LepRb não é expresso uniformemente em todo o cérebro, mas é encontrado principalmente em subpopulações de neurônios em áreas específicas do hipotálamo, mesencéfalo e tronco cerebral (Myers *et al.*, 2009). Camundongos deficientes no LepRb, especificamente nos neurônios hipotalâmicos que expressam NK2 homeobox 1 (*Nkx2.1*), também conhecido como fator de transcrição da tireoide 1, exibem fenótipos semelhantes aos dos camundongos geneticamente modificados *LepR^{db/db}*, revelando que a ação da leptina nos neurônios hipotalâmicos LepRb é crucial para a ação da leptina (Ring; Zeltser, 2010).

O núcleo arqueado (ARC) está localizado lateralmente à base do terceiro ventrículo cerebral no hipotálamo médio e superior à eminência mediana, tornando-o mais rapidamente acessível a fatores circulantes do que áreas encefálicas mais profundas (Fong; Zheng; Kurrasch, 2023). Embora outros tipos de neurônios do ARC contenham LepRb, duas populações proeminentes de neurônios do ARC expressam LepRb: 1) neurônios do ARC lateral que contêm pró-opiomelanocortina (POMC) e 2) neurônios do ARC medial que expressam peptídeo relacionado ao agouti (AgRP) e neuropeptídeo Y (NPY), juntamente com mediadores da

sinalização inibitória de ácido gama-aminobutírico (GABA). A leptina ativa os neurônios POMC, que produzem o hormônio estimulador de melanócitos- γ (α -MSH); o α -MSH, por sua vez, ativa o receptor melanocortina-4 (MC4R) em neurônios subsequentes, promovendo saciedade e aumentando o gasto energético. Por outro lado, a leptina inibe os neurônios AgRP, que promovem a alimentação e suprimem o uso de energia (Flak; Myers, 2016).

Na obesidade, esses mecanismos centrais de regulação do apetite são falhos, devido a um processo de resistência à leptina (Figura 1). Esta resistência é caracterizada pela diminuição da capacidade do sistema nervoso central em responder aos sinais de leptina, levando a uma ingestão contínua de alimentos e ao aumento da massa corporal (Gruzdeva *et al.*, 2019). A resistência à leptina pode ser influenciada por vários fatores, como o processo de neuroinflamação crônica, que leva a um aumento na expressão de SOCS3 (supressor da sinalização de citocinas 3), uma proteína que se liga ao LepR e inibe a via de sinalização JAK2/STAT3, inibindo a transdução do sinal (Mori *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2012). Além disso, o aumento da expressão da PTP1B (proteína tirosina fosfatase 1B) nos neurônios do hipotálamo também contribui para a dessensibilização do sinal de leptina ao desfosforilar a JAK2 (Krishnan *et al.*, 2018; White *et al.*, 2009). Esses mecanismos resultam em uma incapacidade de reduzir o apetite e aumentar o gasto energético, perpetuando o ciclo de ganho de peso (Gruzdeva *et al.*, 2019; Izquierdo *et al.*, 2019).

Figura 1. Vias de atuação central da leptina e mecanismos de resistência adquirida.



Legenda: Adaptado de Andrade et al. 2025. Regulação do apetite mediada pela leptina e resistência à leptina. A regulação neural do apetite e do gasto energético pela leptina envolve vias no hipotálamo, incluindo o núcleo arqueado (ARC), o hipotálamo dorsomedial (DMH), o núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH), o núcleo paraventricular (PVN) e o núcleo do trato solitário (NTS). A leptina inibe os neurônios orexigênicos NPY/AgRP e estimula os neurônios anorexigênicos POMC/CART, reduzindo a ingestão alimentar. Na obesidade, diferentes mecanismos podem induzir resistência à leptina, como aqueles envolvendo PTP1B e SOCS3, que interrompem a via JAK2/STAT3, e PKC- θ , que prejudica a via PI3K. A sinalização das catecolaminas no tecido adiposo branco (WAT) também é comprometida na obesidade, levando à resistência à lipólise induzida por catecolaminas, apesar do aumento da taxa basal de lipólise. NPY/AgRP — neuropeptídeo Y/peptídeo relacionado à agouti; POMC/CART — pró-opiomelanocortina/transcrito regulado por cocaína e anfetamina; α -MSH — hormônio α -estimulador de melanócitos; 3V — terceiro ventrículo; ME — eminência mediana; PI3K — fosfatidilinositol 3-quinase; STAT3 — transdutor e ativador de transcrição 3; PTP1B — proteína tirosina fosfatase 1B; SOCS3 — supressor da sinalização de citocinas 3; PKC- θ — proteína quinase C – teta; cAMP — adenosina monofosfato cíclico; PKA — proteína quinase A; HSL — lipase hormônio-sensível.

2.3 Leptina e o sistema imunológico

Devido à sua ação reguladora do metabolismo, a leptina atua não apenas sobre mecanismos neuroendócrinos, mas também sobre a dinâmica de respostas imunológicas inatas e adaptativas (Abella *et al.*, 2017). Seus efeitos imunomoduladores são exercidos por meio da ativação do receptor da leptina (LepR) expresso em diferentes populações celulares, impactando processos como sobrevivência, ativação, diferenciação e metabolismo celular. Nesta seção, são abordados os principais mecanismos pelos quais a leptina modula células do sistema imunológico, com ênfase em seu papel como adipocina fisiológica e em contextos fisiopatológicos.

2.3.1 Leptina como uma adipocina imunomoduladora

Inicialmente, humanos com mutações nos genes que codificam a leptina ou o seu receptor foram identificados com imunodeficiência, especialmente em células T CD4⁺, o que aumenta o risco de infecções intracelulares. No caso de deficiência de leptina, tanto o metabolismo sistêmico quanto a imunidade foram normalizados após o tratamento com leptina recombinante (Martín-Romero *et al.*, 2000; Montague *et al.*, 1997; Ozata; Ozdemir; Licinio, 1999). Esses achados em humanos foram posteriormente confirmados em modelos de camundongos. Animais nocautes para o receptor de leptina (Lep^{db/db}) desenvolveram atrofia tímica (Haynes *et al.*, 2006) e animais nocaute para a leptina (Lep^{ob/ob}) tenderam a se tornarem imunodeficientes por apresentarem respostas de células B e T comprometidas em diversos modelos, como na artrite autoimune experimental e encefalomielite autoimune experimental (Busso *et al.*, 2002; De Rosa *et al.*, 2006).

Certas adipocinas podem potencializar processos de inflamação e, nesse contexto, a

modulação da imunidade inata pela leptina tem sido amplamente estabelecida na literatura científica. A leptina pode agir em diferentes células imunes, modulando a ativação de monócitos/macrófagos e células NK, induzindo a quimiotaxia de neutrófilos e a degranulação de basófilos, entre outras funções (Naylor; Petri, 2016).

2.3.2 Leptina e imunidade inata

Os macrófagos representam o principal modelo celular para o estudo dos efeitos de diferentes adipocinas, incluindo a leptina, devido à sua ampla distribuição nos tecidos e à sua função central como integradores de sinais metabólicos, inflamatórios e ambientais. Tanto as isoformas longas quanto as curtas do LepR são expressas em macrófagos de camundongos e humanos (Tsotra *et al.*, 2000). Nesse contexto, a sinalização da leptina engaja a ativação dos complexos mTORC1 e mTORC2, modulando diretamente a reprogramação metabólica (Monteiro *et al.*, 2019). Essas vias de sinalização desempenham papéis complementares na regulação da polarização e das funções efetoras dos macrófagos (Fedor; Bryniarski; Nazimek, 2025). A ativação de mTORC1 está associada à diferenciação para o fenótipo pro-inflamatório, promovendo maior atividade glicolítica e produção de citocinas pró-inflamatórias (Haloul *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020), enquanto mTORC2 é importante para a polarização do perfil de reparo tecidual induzido por IL-4 e M-CSF, atuando sobre o eixo Akt/IRF4 e favorecendo metabolismo oxidativo e funções de reparo tecidual (Hallowell *et al.*, 2017; Huang *et al.*, 2016). No entanto, a atividade de mTORC1 também pode atuar na polarização para um perfil de reparo, regulando PPAR γ , PGC1 α e a oxidação de ácidos graxos em resposta a IL-4 e IL-13, o que reflete sua capacidade de integrar diferentes sinais metabólicos e de citocinas (Appari; Channon; McNeill, 2018; Paschoal *et al.*, 2018).

Em modelos de ativação com LPS, o tratamento com leptina induz um aumento significativo na produção de TNF- α , indicando um papel coestimulador na resposta inflamatória clássica (Shen *et al.*, 2005). Além disso, a leptina potencializa a capacidade fagocítica dos macrófagos e monócitos, sugerindo sua atuação não apenas como modulador inflamatório, mas também como regulador da função efetora dessas células (Mancuso *et al.*, 2002). Em macrófagos humanos, a leptina aumenta a expressão de ligantes de quimiocinas do tipo CC (CCLs) por meio da ativação da via canônica JAK2/STAT3, contribuindo para o recrutamento celular e exacerbando a resposta inflamatória induzida por LPS (Kiguchi *et al.*, 2009; Sánchez-Margalet *et al.*, 2010). Ainda que os mecanismos específicos pelos quais a leptina modula o metabolismo de macrófagos não estejam completamente elucidados, estudos

transcriptômicos em modelos não mamíferos demonstram que a leptina regula a expressão de enzimas glicolíticas, como PFKFB3 e GAPDH, além de induzir HIF-1 α , um fator central na resposta inflamatória e descrito em células tumorais (Calgani *et al.*, 2016; Douros *et al.*, 2018).

Em macrófagos associados a tumores (TAMs), a leptina também pode promover a polarização de macrófagos para o fenótipo de reparo/imunossupressão, facilitando a progressão tumoral através da secreção de citocinas como IL-8 e IL-18, que estimulam a migração e invasão tumoral (Cao *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016). Foi demonstrado que células de câncer de vesícula biliar secretam exossomos ricos em leptina que potencializam o fenótipo pró-tumoral dos TAMs via STAT3 (Zhao *et al.*, 2022). Mecanicamente, a sinalização da leptina ativa diferentes vias downstream, como p38 MAPK, ERK1/2 e NF- κ B, resultando em aumento da expressão de citocinas pró-metastáticas e recrutamento de monócitos via CCL2 (Cao *et al.*, 2016). O silenciamento do LepR em células tumorais reduz significativamente o recrutamento de macrófagos e modula o perfil de expressão de citocinas, diminuindo marcadores imunossupressores como PD-L1/PD-1 e arginase 1, além de aumentar a atividade fagocítica dos macrófagos (Gelsomino *et al.*, 2020).

Outra população celular de grande relevância na regulação da resposta imune, cuja função também é modulada pela leptina, é a de células dendríticas (DCs). Evidências iniciais do envolvimento da leptina na biologia dessas células surgiram a partir de estudos em modelos murinos deficientes em leptina. Embora as DCs derivadas de animais Lep^{ob/ob} apresentassem um fenótipo aparentemente preservado, essas células demonstraram menor capacidade de induzir proliferação alogênica de linfócitos T, indicando prejuízo funcional na apresentação de antígenos (Macia *et al.*, 2006). Além disso, esses animais exibiam redução significativa no número de células dendríticas epidérmicas, particularmente das células de Langerhans, efeito que foi revertido pela administração exógena de leptina, sugerindo um papel da leptina na manutenção ou homeostase dessas populações celulares (Lam *et al.*, 2006; Macia *et al.*, 2006).

A leptina, portanto, atua como um fator de ativação e sobrevivência para as células dendríticas, através de modulações metabólicas (Bai *et al.*, 2021; Mattioli *et al.*, 2005). Um estudo avaliou a medula óssea de camundongos deficientes em LepR e foi visto um baixo número de células dendríticas e uma regulação negativa da atividade das vias da PI3K, RAC serina/treonina-proteína quinase (AKT) e STAT3 nessas células (Lam *et al.*, 2006). Além disso, a leptina melhora a migração de células dendríticas imaturas e sua responsividade quimiotática, direcionando-as para uma resposta imune Th1 (Mattioli *et al.*, 2005).

Os neutrófilos representam uma das populações da imunidade inata mais estudadas

quanto à resposta à leptina. Nessas células, foi demonstrada a expressão predominante da forma curta do receptor da leptina, a qual carece do domínio necessário para a ativação da via clássica JAK–STAT, sugerindo que a sinalização leptínica em neutrófilos ocorre por mecanismos não canônicos (Zarkesh-Esfahani *et al.*, 2004). Funcionalmente, a leptina atua como um fator de sobrevivência para neutrófilos, inibindo a apoptose e prolongando sua permanência nos sítios inflamatórios (Bruno *et al.*, 2005). Além disso, a leptina exerce efeito quimiotático direto sobre neutrófilos em condições fisiológicas, promovendo sua migração em modelos *in vitro* e *in vivo* (Ubags *et al.*, 2014).

Estudos realizados com neutrófilos derivados da medula óssea de camundongos do tipo selvagem demonstraram migração direcionada em resposta à leptina, enquanto neutrófilos provenientes de animais portadores da variante do receptor da leptina Q223R apresentaram quimiotaxia significativamente reduzida, reforçando a dependência da integridade do receptor para essa resposta (Naylor *et al.*, 2014; Ubags *et al.*, 2014). Esses achados indicam que, apesar das limitações diretas na sinalização canônica, a leptina exerce efeitos funcionais relevantes sobre neutrófilos, modulando sua sobrevivência e recrutamento durante respostas inflamatórias.

No contexto da obesidade, modelos experimentais indicam que a resposta inflamatória envolvendo neutrófilos é exacerbada e prolongada (Shantaram *et al.*, 2024). Em um modelo murino de inflamação das vias aéreas, animais obesos apresentaram níveis elevados de leptina circulante, aumento do infiltrado neutrofilico pulmonar e maior expressão de citocinas inflamatórias, associadas a respostas Th1/Th17. Esses efeitos foram dependentes da sinalização do LepR, uma vez que o seu bloqueio farmacológico ou sua deficiência genética atenuou significativamente a inflamação e o recrutamento de neutrófilos. Mecanicamente, a leptina potencializou a polarização de macrófagos para o fenótipo M1 por meio da ativação das vias JNK, STAT3 e AKT, promovendo maior produção de CXCL2 e, consequentemente, o recrutamento dos neutrófilos (Wang; Wan; Hu, 2023).

Os eosinófilos e basófilos humanos também expressam as formas longa e curta do LepR na superfície celular. O tratamento com a leptina recombinante *in vitro* reduz apoptose dos eosinófilos, implicando que a leptina pode atuar como fator de ativação e sobrevivência para essas células (Conus; Bruno; Simon, 2005). Além disso, a leptina é capaz de potencializar vários processos nos eosinófilos, incluindo migração quimiotática, expressão de moléculas de adesão na superfície celular e produção de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias (Amorim *et al.*, 2020). A expressão do LepR em basófilos humanos pode ser aumentada por IL-33, e esses respondem diretamente à leptina com aumento da migração celular, maior sobrevida e

elevação de moléculas de ativação. Além disso, a leptina exerce efeito de priming sobre a degranulação mediada por FcεRI e induz a produção de citocinas associadas a respostas Th2, sugerindo que a sinalização do LepR em basófilos pode contribuir para a exacerbação da inflamação alérgica, especialmente em contextos de obesidade (Suzukawa *et al.*, 2011).

Os mastócitos também respondem à leptina e desempenham papel modulador na inflamação, particularmente no tecido adiposo. Em camundongos Lep^{ob/ob}, observa-se redução da frequência de mastócitos no tecido adiposo, sugerindo envolvimento da leptina na homeostase local dessas células (Altintas *et al.*, 2012). Além disso, a leptina influencia a comunicação entre mastócitos e macrófagos, favorecendo um perfil pró-inflamatório (M1-like), caracterizado pelo aumento da produção de IFN-γ e pela inibição de marcadores associados ao fenótipo anti-inflamatório, como arginase-1 e IL-10 (Zhou *et al.*, 2015). Esses efeitos contribuem para o estabelecimento e a manutenção do estado inflamatório do tecido adiposo na obesidade, no qual os mastócitos também participam do remodelamento tecidual por meio da secreção de mediadores inflamatórios e fatores pró-angiogênicos (Elieh Ali Komi; Shafaghat; Christian, 2020).

2.3.3 Leptina e imunidade adaptativa

As interações entre leptina e o sistema imunológico têm sido bastante exploradas no contexto da imunidade adaptativa, especialmente nos linfócitos T CD4⁺. A leptina está envolvida em diferentes etapas do desenvolvimento dessas células, e a sua deficiência é associada à atrofia tímica e à redução do número de linfócitos T circulantes (Gruver; Ventevogel; Sempowski, 2009; Orlova; Loginova; Shirshv, 2023; Saucillo *et al.*, 2013). O LepR é expresso em timócitos CD4⁻CD8⁻ (duplo-negativos), CD4⁺CD8⁺ (duplo-positivos) e CD4⁺CD8⁻ (simples-positivos), porém sua expressão não é detectada em timócitos CD8⁺ simples-positivos (Kim *et al.*, 2010). De maneira consistente, a administração de leptina em camundongos mutantes ob/ob é capaz de restaurar o desenvolvimento de linfócitos T CD4⁺, sem impactar a diferenciação de células T CD8⁺ (Kim *et al.*, 2010).

Nos linfócitos T CD4⁺, a leptina favorece respostas adaptativas pró-inflamatórias. Linfócitos T auxiliares expostos à leptina apresentam aumento na produção de citocinas associadas ao perfil Th1, como IFN-γ e IL-2, concomitante à redução de IL-4, característica de respostas Th2 (Batra *et al.*, 2010). Esses efeitos são mediados pela ativação do LepR, cuja ligação ao ligante induz sua dimerização e subsequente ativação da quinase associada JAK2, desencadeando cascatas de fosforilação que engajam vias como PI3K/Akt, mTOR e p38

(Allison; Myers, 2014).

Em estados de jejum prolongado, nos quais os níveis circulantes de leptina estão reduzidos, observa-se diminuição da frequência de células Th17 e aumento relativo de células T_{reg}, efeito que é revertido pela reposição de leptina (Liu *et al.*, 2012; Saucillo *et al.*, 2013). De forma consistente, camundongos com deleção específica do LepR em linfócitos T apresentam redução de células Th17 e expansão de T_{reg}, evidenciando que a sinalização da leptina é crítica para a geração e manutenção de respostas Th17 pró-inflamatórias (Reis *et al.*, 2015). Nesse contexto, a via do mTOR desempenha papel central, uma vez que sua ativação sustentada pela leptina inibe a diferenciação de T_{regs}; assim, a liberação excessiva de leptina leva à hiperestimulação de mTOR e ao bloqueio do programa regulatório dessas células (Procaccini *et al.*, 2010; Volta *et al.*, 2020).

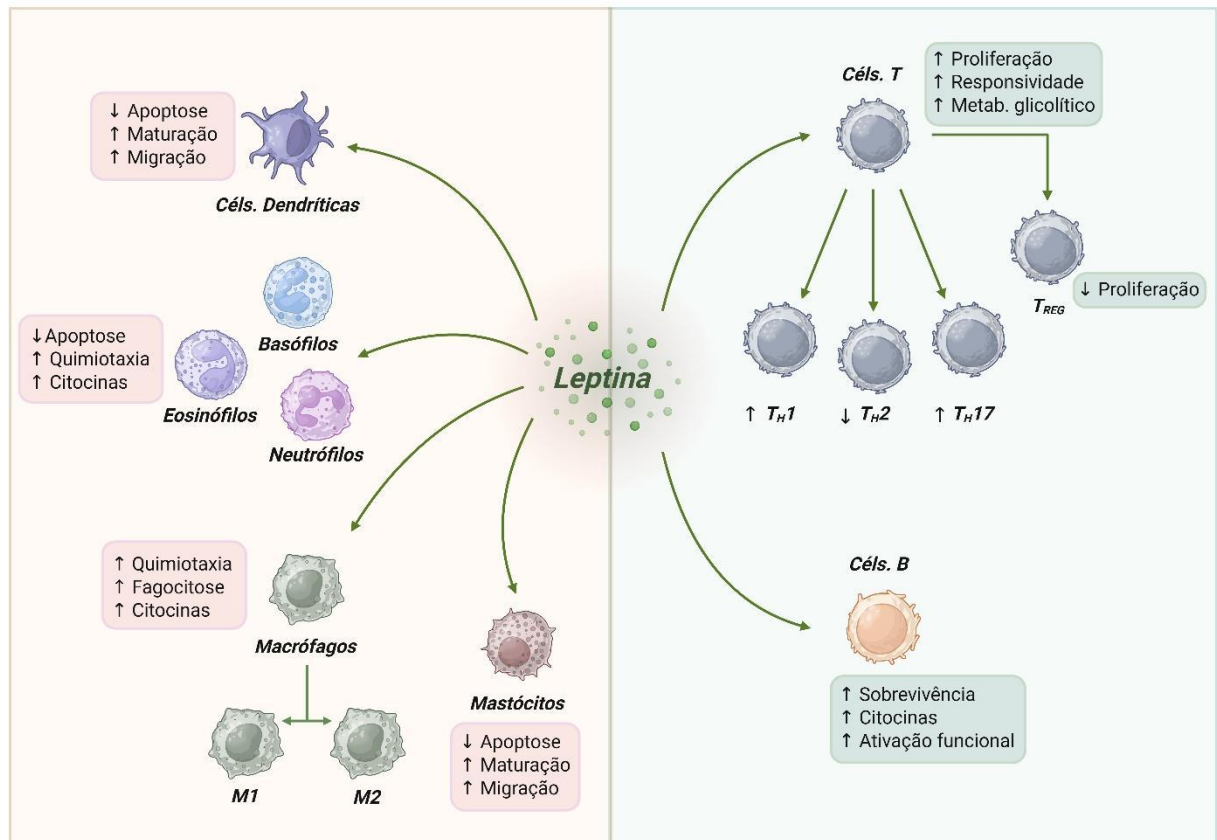
Além disso, a leptina atua na reprogramação metabólica dos linfócitos T, aumentando a captação de glicose e a atividade glicolítica em linfócitos T efetores, o que, portanto, sustenta a produção de citocinas inflamatórias. Em contraste, camundongos db/db ou submetidos ao jejum apresentam linfócitos T CD4⁺ com menor expressão do transportador de glicose GLUT1, redução da glicólise e comprometimento da respiração celular, alterações que são revertidas pela administração de leptina (Gerriets *et al.*, 2016).

No contexto patológico, a hiperleptinemia crônica contribui para o estabelecimento e a manutenção da inflamação sistêmica. Por meio da modulação das suas vias de sinalização, a leptina influencia a suscetibilidade a diversas doenças inflamatórias e metabólicas (La Cava, 2017). Na obesidade, o excesso de leptina sustenta a ativação de linfócitos T inflamatórios que participam do desenvolvimento da resistência à insulina, uma vez que a depleção de componentes da resposta imune adaptativa e inata, como linfócitos T e macrófagos, melhora a sensibilidade insulínica em modelos experimentais de obesidade (Kiernan *et al.*, 2023). Adicionalmente, a ativação crônica das vias mTOR e p38 tem sido associada a resistência apoptótica e ao aumento proliferativo em diferentes tipos celulares, incluindo neutrófilos e células epiteliais, contribuindo para a persistência do estado inflamatório (Fazolini *et al.*, 2015).

De modo semelhante, em doenças autoimunes, níveis elevados de leptina agravam a patogênese. Camundongos deficientes em leptina (ob/ob) ou tratados com anticorpos neutralizantes anti-leptina são protegidos contra a encefalomielite autoimune experimental (EAE), modelo murino de esclerose múltipla, e apresentam expansão de Treg. A administração exógena de leptina, por sua vez, é capaz de restaurar a suscetibilidade à doença (De Rosa *et al.*, 2006; Gerriets *et al.*, 2016; Matarese *et al.*, 2005).

A leptina também interfere nos linfócitos B, afetando seu desenvolvimento e função. Em camundongos, a leptina é necessária para a formação adequada de células pré-B e imaturas na medula óssea, uma vez que animais ob/ob ou submetidos ao jejum prolongado apresentam redução dessas populações, a qual é revertida pela reposição de leptina (Tanaka *et al.*, 2011). Na periferia, a leptina promove a sobrevivência dos linfócitos B ao aumentar a expressão de proteínas antiapoptóticas, como Bcl-2, e reduzir a expressão de mediadores pró-apoptóticos, como Bax e Bim, diminuindo a apoptose e favorecendo a progressão do ciclo celular. Consequentemente, camundongos db/db exibem aumento da apoptose em linfócitos B e redução da produção de IgM por plasmócitos, evidenciando o papel da leptina na manutenção da homeostase das células B e das respostas humorais efectoras (Lam *et al.*, 2010).

Funcionalmente, a leptina também polariza os linfócitos B para um perfil inflamatório. Linfócitos B humanos tratados *in vitro* com leptina produzem quantidades elevadas de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , além de IL-10, por meio da ativação das vias p38 e ERK, e apresentam aumento na expressão do receptor de reconhecimento de padrões TLR4 (Agrawal *et al.*, 2011; Frasca *et al.*, 2019). Paradoxalmente, apesar do aumento do estado inflamatório, essas células exibem redução na troca de isotipo de IgM para IgG, resultando em menor produção de IgG específica (Frasca *et al.*, 2019). Em modelos de doenças autoimunes, níveis elevados de leptina favorecem respostas autorreativas de células B. Em um modelo murino de lúpus eritematoso sistêmico (LES), por exemplo, a hipoleptinemia induzida por jejum reduz a produção de autoanticorpos e promove a expansão de Treg, efeitos revertidos pela administração de leptina (Lourenço *et al.*, 2016). Assim, embora a leptina seja essencial para a manutenção da população e da ativação de linfócitos B, seu excesso pode desviar essas células para um perfil pró-inflamatório e potencialmente autorreativo, contribuindo para a exacerbação de doenças inflamatórias crônicas.

Figura 2. Efeitos gerais da leptina sobre células imunológicas.

Legenda: Criado no Biorender. 2026. Representação esquemática dos efeitos da leptina sobre células da imunidade inata e adaptativa. Na imunidade inata (quadro esquerdo), a leptina modula a sobrevivência, migração, quimiotaxia, fagocitose, produção de citocinas e a polarização funcional de macrófagos. Na imunidade adaptativa (quadro direito), favorece a ativação e proliferação de linfócitos T efetores, com inibição da expansão de células T reguladoras, além de promover a sobrevivência e ativação funcional de linfócitos B.

2.4 Células NK na obesidade

A obesidade, uma condição que estimulou a pesquisa sobre adipocinas, tem sido considerada um fator de risco relevante para o desenvolvimento de diversas disfunções imunológicas (Shaikh *et al.*, 2023). Com o entendimento sobre a ação da leptina em diferentes células imunológicas, foi possível demonstrar que os níveis sistêmicos elevados desse hormônio na obesidade induzida pela dieta promovem diretamente uma inflamação crônica subclínica associada a um remodelamento metabólico, o que pode gerar perfis disfuncionais em componentes imunológicos, incluindo as células NK (Thomas *et al.*, 2021).

2.4.1 Biologia funcional das células NK

As células NK são componentes inatos de origem linfoide com principal atividade citotóxica, que apresentam papéis importantes nas respostas a infecções virais e tumores

(Björkström; Strunz; Ljunggren, 2021; Cózar *et al.*, 2021). Essas células exibem elevada heterogeneidade e podem ser classificadas em três principais subpopulações efetoras: NK1, que apresenta predominantemente um perfil citotóxico; NK2, caracterizadas pela produção de citocinas e elevada capacidade proliferativa; e NK3, associadas a funções adaptativas e papéis imunomoduladores (Rebuffet *et al.*, 2024). Embora essas subpopulações representem as principais fontes de atividade das células NK, fenótipos do tipo memória também têm sido descritos, sendo induzidos por citocinas como IL-12, IL-15 e IL-18 (Foltz *et al.*, 2024; Gang *et al.*, 2020; Kar; Joosten, 2020).

O microambiente local de cada tecido contribui para a definição das características fenotípicas e funcionais específicas dessas células, resultando em distribuições distintas de subpopulações de células NK residentes em tecidos (Haugstøyl *et al.*, 2023). Em humanos, as células NK são classicamente divididas em duas subpopulações principais: células NK CD56^{dim} CD16⁺, que são funcionalmente maduras, apresentam maior potencial citotóxico e representam a maior fração da população circulante; e células NK CD56^{bright} CD16⁻, predominantemente produtoras de citocinas. Em determinadas doenças crônicas, incluindo a obesidade, as respostas funcionais das células NK encontram-se frequentemente comprometidas (Bähr *et al.*, 2020). Observa-se, ainda, maior acúmulo de células NK no tecido adiposo visceral (VAT) em comparação ao tecido adiposo subcutâneo (SAT) em indivíduos obesos, sendo o VAT mais associado à presença de células imunes pró-inflamatórias e a um risco aumentado de desenvolvimento de distúrbios metabólicos (Wensveen *et al.*, 2015).

As células NK apresentam uma série de receptores de ativação e inibição que regulam sua função efetora. Entre esses receptores, destacam-se dois principais tipos de receptores inibitórios presentes que reconhecem moléculas de HLA: *Killer Immunoglobulin-Like Receptor* (KIR), que reconhecem os alelos HLA-A, HLA-B e HLA-C, e o *NK group 2 member A* (NKG2A), um heterodímero que reconhece o HLA-E (Sivori *et al.*, 2019). Tanto o NKG2A quanto os KIRs possuem caudas citoplasmáticas longas que contêm motivos inibitórios de tirosina (ITIMs) em tandem. Esses ITIMs são fosforilados quando ocorre a ligação dos receptores, o que resulta no recrutamento de tirosina fosfatases, que, por sua vez, inibem a ativação das células NK (Kumar, 2018).

Quando as NK entram em contato com células que apresentam uma redução na expressão de HLA, comumente observada como mecanismo de evasão viral ou tumoral, ocorre a interrupção do estado inibitório. Esse desequilíbrio de sinalização induz sua ativação, permitindo que exerçam suas funções citotóxicas e de produção de citocinas pró-inflamatórias

(Björkström; Strunz; Ljunggren, 2021; Sivori *et al.*, 2019).

Além dos receptores inibitórios, as células NK expressam diversos receptores de ativação que reconhecem moléculas anormais associadas ao estresse celular. Os receptores de citotoxicidade natural (NCRs), incluindo NKp30, NKp44 e NKp46, representam uma das principais famílias ativadoras, e são acoplados a motivos ativadores baseados em tirosina (ITAMs) (WANG *et al.*, 2024). Além do reconhecimento de ligantes endógenos induzidos por estresse ou transformação celular, alguns receptores de ativação também foram descritos como capazes de reconhecer diretamente componentes derivados de patógenos, além dos receptores clássicos de reconhecimento de padrões (PRRs), contribuindo assim para a ativação direta das células NK em contextos infecciosos (Esin *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2013; Ziegler *et al.*, 2017).

Outro receptor ativador amplamente caracterizado é NKG2D, que reconhece ligantes relacionados ao MHC classe I, como MICA/MICB, frequentemente expressos em células sob estresse celular (Wensveen; Jelenčić; Polić, 2018). Receptores como CD16 (FcγRIIIa) permitem a citotoxicidade dependente de anticorpo (ADCC), ligando-se à região Fc de IgG, com maior afinidade por IgG1 e IgG3, enquanto outras moléculas co-ativadoras como DNAM-1, 2B4 e NTB-A também contribuem para o aumento da resposta efetora (Coënon; Villalba, 2022). A ativação desses receptores desencadeia cascatas de sinalização downstream que convergem para a ativação de diferentes MAPKs, como p38, ERK1/2 e JNK, promovendo a ativação de múltiplos fatores de transcrição envolvidos na indução do estado efetor das células NK, incluindo AP-1, NF-κB, STATs e HIF-1α (Chen; Zhu; Jounaidi, 2024).

A via de sinalização p38 MAPK atua diretamente na regulação da produção de citocinas pró-inflamatórias pelas células NK. Estímulos imunomodulatórios, como IL-12, IL-18 e IL-33, promovem a fosforilação e ativação de p38, o que desencadeia uma série de eventos intracelulares que culminam na expressão e estabilização de transcritos de citocinas. De fato, Ochayon *et al.* (2020) mostraram que estímulos combinados de IL-33 e IL-12 em células NK humanas elevam significativamente a expressão de IFN-γ e TNF por meio da ativação de p38, enquanto a inibição específica dessa via elimina o aumento sinérgico na produção de citocinas (Ochayon *et al.*, 2020). Além disso, p38 pode fosforilar proteínas de membrana, como a metaloproteinase ADAM17, promovendo a clivagem e a liberação de TNF ativo (Ochayon *et al.*, 2020; Scott *et al.*, 2011). Em estados metabólicos alterados, como a obesidade, o acúmulo lipídico e a inflamação associada induzem a expressão de DUSP1 (Dual Specificity Phosphatase 1), que desativa p38 e leva à diminuição da secreção de citocinas pelas NK (Baumer *et al.*, 2025). Dessa forma, a cascata p38 MAPK integra sinais imunes e metabólicos

para ajustar a resposta pró-inflamatória das NK, modulando tanto a transcrição quanto a estabilidade dos mRNAs de citocinas.

A via MAPK/ERK1/2 é determinante para a citotoxicidade das células NK. Sinais de ativação através de receptores ativadores e integrinas, disparam a cascata Ras–MEK–ERK, polarizando o centro organizador de microtúbulos (MTOC) e direcionando os grânulos citolíticos ao alvo (Chen *et al.*, 2006, 2007). Estudos experimentais mostram que a inibição de ERK1/2 bloqueia a fosforilação de ERK e suprime drasticamente a atividade citotóxica das NK, sem alterar a formação inicial do conjugado célula NK-alvo (Zheng *et al.*, 2009). Secretomas derivados de células NK ativas são capazes de induzir a ERK1/2, promovendo uma regulação positiva de receptores de quimiocinas e moléculas associadas ao homing tumoral, o que resulta em maior infiltração tecidual e supressão de metástases em modelos experimentais (Cho *et al.*, 2025). De forma consistente, foi demonstrado que células NK anérgicas ou exaustas no microambiente tumoral apresentam disfunção na fosforilação de ERK1/2, associada à perda da citotoxicidade antitumoral, enquanto estratégias de reprogramação funcional restauram a atividade citotóxica por meio da reativação do eixo MAPK–ERK (Sabag *et al.*, 2024).

Adicionalmente, as vias de sinalização mTORC1 e mTORC2 coordenam o estado metabólico intracelular das NK com sua capacidade funcional. O mTORC1 é ativado por estímulos de crescimento e regula a glicólise e a síntese proteica necessárias às respostas efetoras. Sabe-se que a inibição de mTORC1, por rapamicina ou pela deleção da proteína Raptor, reduz consideravelmente a produção de citocinas e de moléculas citotóxicas pelas NK, além de afetar a sobrevivência e a proliferação celulares (Donnelly *et al.*, 2014; Yan *et al.*, 2022). Em contrapartida, o mTORC2 também é crucial para o desenvolvimento e maturação dessas células (Yang *et al.*, 2018; Yang; Malarkannan, 2020). Ambos os complexos são necessários para a maturação adequada das NK, por meio do controle da expressão de T-bet e de Eomes. Funcionalmente, mTORC1 promove a citotoxicidade e o metabolismo celular, sustentando a sinalização mediada por IL-15 e STAT5, enquanto mTORC2 atua como um regulador negativo da função efetora ao restringir a hiperativação de mTORC1 via o eixo STAT5–SLC7A5 (Wang *et al.*, 2018).

2.4.2 Leptina e células NK na obesidade

O papel da leptina na atividade das células NK tem sido investigado progressivamente, embora algumas informações pareçam paradoxais. Inicialmente, foi demonstrado que camundongos obesos com o LepR nocauteado, apresentam uma redução na reatividade dessas

células (Tian *et al.*, 2002). Posteriormente, foi identificada a expressão da forma longa do LepR nas células NK, o que explicaria a modulação da atividade dessas células em modelos LepR^{-/-} (Zhao *et al.*, 2003). Adicionalmente, foi demonstrado um aumento nos níveis do LepR em células NK de ratos que desenvolveram obesidade induzida por dieta, enquanto a administração da leptina resultou em um aumento da atividade dessas células (Nave *et al.*, 2008). Em camundongos que não expressam LepR, foi demonstrado uma diminuição na população de células NK na medula óssea devido ao aumento da taxa de apoptose, porém, com a administração de leptina recombinante, houve uma melhora na sobrevivência celular de células NK imaturas em camundongos selvagens (Lo *et al.*, 2009).

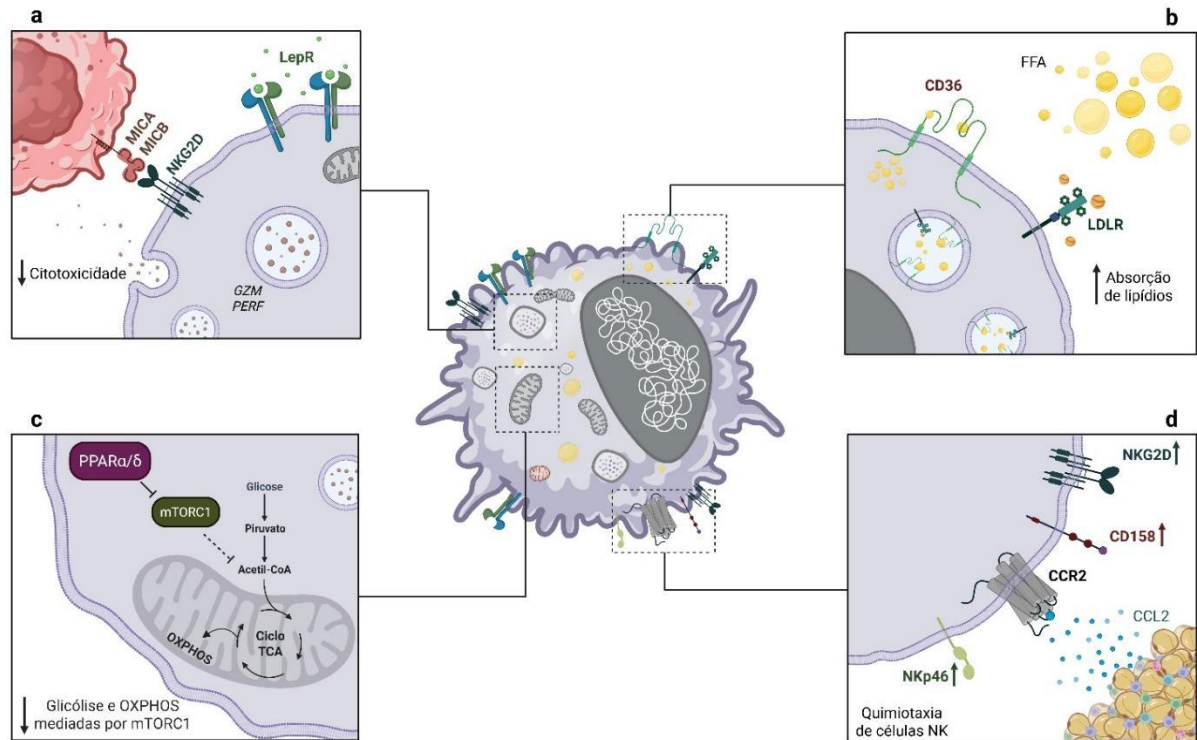
A leptina parece desempenhar um papel importante na ativação e no desenvolvimento das células NK, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Tian *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2003). Como as células NK expressam ObRb e os camundongos Lep^{db/db} (modificação no gene da leptina que leva à obesidade) apresentam déficit de células NK, é plausível que a leptina influencie tanto o desenvolvimento quanto a manutenção dessas células *in vivo*. Ainda se destaca o papel do ObRb nas células NK, promovendo sua função citotóxica por meio da ativação de STAT3 e da transcrição de IL-2 e perforinas (Tian *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2003). Apesar da leptina ter uma função estimulante nessas células, outros dados demonstram que esses efeitos podem ser negativos, dependendo do contexto fisiológico. Enquanto a exposição de curto prazo de células NK humanas à leptina pode aumentar a secreção de citocinas pró-inflamatórias e a citotoxicidade, alguns estudos mostram que o tratamento por um período mais prolongado prejudica as funções celulares e a proliferação (Jahn *et al.*, 2015; Wrann *et al.*, 2012).

No contexto da obesidade, há uma remodelação metabólica dessas células, por meio de hormônios em níveis aumentados, como a insulina e a leptina, e por altos níveis de ácidos graxos circulantes, principalmente ácido palmítico e ácido oleico (O'Shea; Hogan, 2019). Diferentes estudos mostram que em camundongos obesos, as células NK têm respostas antitumorais comprometidas e falham em controlar o crescimento tumoral (Kaur *et al.*, 2018; Lamas *et al.*, 2015). Em seres humanos com obesidade, tanto em crianças como adultos, são observadas frequências reduzidas de células NK circulantes além de apresentarem um estado disfuncional, com menor produção de IFN- γ , menor expressão de granzima B e perforina e menor citotoxicidade em relação às células-alvo tumorais (Bähr *et al.*, 2020) (Figura 3).

Além disso, investigações sobre células NK primárias humanas demonstraram que o tratamento com altas concentrações de leptina é capaz de aumentar a produção de IFN- γ em células NK isoladas de indivíduos com peso normal, mas não em indivíduos obesos (Laue *et*

al., 2015). Em contraste, a leptina em concentrações fisiológicas foi capaz de diminuir a citotoxicidade das células NK isoladas de indivíduos com peso normal, mas não de humanos obesos (O'Shea *et al.*, 2010). Esses dados indicam que as células NK de indivíduos obesos apresentam uma modulação distinta diante dos efeitos da leptina, o que pode refletir adaptações associadas ao ambiente inflamatório da obesidade. As células NK de camundongos obesos ou de humanos com obesidade apresentam taxas metabólicas substancialmente reduzidas em comparação com as células NK de camundongos magros ou de humanos. Essa disfunção metabólica tem sido associada ao acúmulo de lipídios impulsionado pelo receptor ativado por proliferadores de peroxissomas (PPAR) nas células NK, resultando em expressão gênica alterada, a supressão da sinalização de MYC e mTORC1 e taxas diminuídas de glicólise e OXPHOS (Michelet *et al.*, 2018).

Nesse contexto, ainda há muitas questões sobre como a leptina, em condições suprafisiológicas, influencia diretamente as respostas das células NK. Portanto, neste trabalho foi investigado, *in vitro*, o efeito da leptina em células NK de indivíduos obesos e normopesos, através de perfis fenotípicos e moléculas de sinalização intracelular.

Figura 3. Efeitos da obesidade em células NK.

Legenda: Adaptado de Andrade et al. 2025. Modulação das células NK na obesidade. a) A sinalização da leptina por meio do receptor de leptina (LepR) altera a citotoxicidade das células NK, prejudicando a liberação dos grânulos citotóxicos granzima (GZM) e perforina (PERF). b) O aumento da captação de lipídios pelas células NK é mediado pela elevação da expressão de transportadores de lipídios, como CD36 e LDLR, impulsionada pelos ácidos graxos livres (FFAs) circulantes. c) O reprograma-mento metabólico das células NK envolve o aumento da expressão de PPARα/δ e a inibição da glicólise e da OXPHOS mediadas por mTORC1. d) A quimiotaxia e a expressão de receptores de superfície das células NK, incluindo a regulação positiva de NKG2D, NKp46 e CD158, são moduladas em resposta a quimiocinas como CCL2, impactando a migração e a função das células NK em ambientes teciduais obesos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito imunomodulador da leptina sobre as células NK na obesidade em modelo *in vitro* de obesidade.

3.2 Objetivos Específicos

Investigar, em células NK, como a leptina altera:

- O perfil de ativação, com base na expressão dos receptores NKp46 e CD16;
- A capacidade citotóxica, avaliada pela expressão de granzima e CD107a;
- A produção de citocinas, com foco em IFN- γ e TNF- α ;
- A ativação dos componentes de sinalização p38, ERK1/2, mTOR e NF- κ B.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras Clínicas

As amostras de sangue foram coletadas de 20 voluntários com idade entre 18 e 40 anos, distribuídos igualmente em dois grupos experimentais. O grupo de indivíduos normopesos (NP) ($n = 10$) incluiu participantes com índice de massa corporal (IMC) entre 18,5 e 24,9 kg/m², sendo 6 mulheres e 4 homens. O grupo de indivíduos obesos (OB) ($n = 10$) foi composto por participantes com IMC entre 30 e 34,9 kg/m² (obesidade grau I), sendo 5 mulheres e 5 homens. Foram excluídos do estudo indivíduos que relataram qualquer processo infeccioso até um mês antes da coleta das amostras, aqueles em uso contínuo ou recente de medicamentos que afetam diretamente a função imunológica, bem como gestantes.

A composição corporal dos participantes foi avaliada por bioimpedância elétrica (modelo HBF-514C, fabricante OMRON). Foram obtidos os seguintes parâmetros: peso, IMC, percentual de gordura corporal, percentual de massa muscular e nível de gordura visceral, de acordo com as estimativas fornecidas pelo equipamento. Os valores de gordura visceral correspondem a uma escala relativa, com 30 níveis, estabelecida pelo fabricante (≤ 9 : Normal / 10 – 14: Alto / ≥ 15 : Muito alto). Todos os dados e análises sobre os parâmetros antropométricos dos voluntários estão descritos nos apêndices A e B.

Todos os indivíduos que contribuíram para este estudo participaram voluntariamente, após serem informados sobre a importância da pesquisa e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde/UFPB (Número de Aprovação: 6.723.650 e certificado CAAE: 77985223.3.0000.5188). Todos os experimentos seguiram as regulamentações aplicáveis, as diretrizes institucionais e os padrões éticos estabelecidos na Declaração de Helsinque. O consentimento informado foi obtido de todos os participantes que se inscreveram voluntariamente no estudo. Além disso, os voluntários responderam a um questionário clínico-epidemiológico contendo dados gerais, informações sobre o estado de saúde, bem como aspectos clínicos e laboratoriais relacionados à pesquisa.

4.2 Isolamento de PBMCs

Aproximadamente 10 mL de sangue periférico dos voluntários recrutados foram coletadas em tubos heparinizados para obtenção de PBMCs, mediante separação por gradiente de densidade (Ficoll PaqueTM Plus - GE Healthcare, Life Sciences, Pittsburgh, PA, EUA).

Inicialmente, uma diluição 1:1 do volume de sangue coletado com Solução Fosfato Salina (PBS) foi realizada em tubos Falcon estéreis. Em seguida, as amostras diluídas foram cuidadosamente depositadas sobre o Ficoll e, posteriormente, submetidas à centrifugação (20 min, 2700 rpm, 20 °C). Com isso, o anel de PBMC foi coletado, lavado 3 vezes com PBS e, em cada ciclo de lavagem, as amostras foram centrifugadas (10 min, 1500 rpm, 4 °C) e o sobrenadante descartado.

As células foram mantidas em RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) suplementado com antibióticos (penicilina, 200 U/mL; estreptomicina, 0,1 mg/mL), 1 mM de L-glutamina (1 mM) e 10% de Soro Bovino Fetal (Sigma-Aldrich). As culturas foram estabelecidas em uma concentração de $2,5 \times 10^5$ células/poço em placas de 96 poços em 4 condições: células não estimuladas (Controle - CTR), células estimuladas com leptina a uma concentração de 10 nM (Lep10) e células estimuladas com leptina a uma concentração de 50 nM (Lep50). As células foram incubadas por 16 horas em estufa a 5% CO₂ à 37 °C. Em seguida, foi adicionado brefeldin-A (1 mg/mL, Sigma-Aldrich), seguido de mais 4 h de incubação em estufa a 5% de CO₂ a 37 °C.

4.3 Marcação dos Parâmetros Intracelulares e de Superfície

Após a incubação com Brefeldin-A, a placa foi centrifugada por 8 minutos a 4 °C, 1300 rpm, sem aceleração ou desaceleração. O sobrenadante foi, então, removido e a placa agitada. Para a marcação extracelular, os anticorpos, diluídos em Solução de Diluição de Anticorpos (SDA), foram adicionados em concentrações previamente padronizadas de 100 µL por poço. Os anticorpos utilizados nesse procedimento estão descritos na Tabela 1. A placa foi incubada a 4 °C por 30 minutos.

Em seguida, 100 µL de PBS por poço foram adicionados, e a placa foi centrifugada por 8 minutos a 4 °C, a 1300 rpm. O sobrenadante foi removido e as células foram ressuspensas com agitação. Posteriormente, 100 µL de PBS e 100 µL de formaldeído a 4% foram adicionados a cada poço, seguidos de incubação à temperatura ambiente por 20 minutos. Posteriormente, a placa foi centrifugada a 4 °C por 8 minutos, a 1500 rpm, sem aceleração ou desaceleração. Após descartar o sobrenadante, a placa foi agitada e foram adicionados 150 µL de PBS por poço, seguida por outra centrifugação a 4 °C por 8 minutos, 1500 rpm. Após esse processo, o sobrenadante foi descartado, a placa foi agitada e 150 µL da solução de permeabilização do kit BD Cytofix/Cytoperm™ (BD Bioscience) foram adicionados a cada poço para permeabilizar a membrana celular para marcação intracelular.

A placa permaneceu em repouso por 10 minutos, seguida de centrifugação por 8 minutos a 4 °C, 1500 rpm, sem aceleração ou desaceleração. Após remover o sobrenadante e ressuspender as células com agitador, 100 µL de misturas de anticorpos intracelulares, diluídas em solução de permeabilização, foram adicionados aos poços de interesse. Os anticorpos utilizados nesse procedimento estão descritos na Tabela 1. A placa foi incubada à temperatura ambiente por 45 minutos, seguida da adição de 100 µL da solução de permeabilização por poço. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 8 minutos a 4 °C, 1500 rpm. Após esse intervalo, o sobrenadante foi removido e as células foram ressuspensas com agitação. Finalmente, 200 µL de Solução de Lavagem B (PBS/BSA) foram adicionados, e as amostras foram transferidas para tubos de citometria para leitura. Os tubos foram armazenados a 4 °C para evitar a perda de fluorescência dos fluorocromos até a leitura.

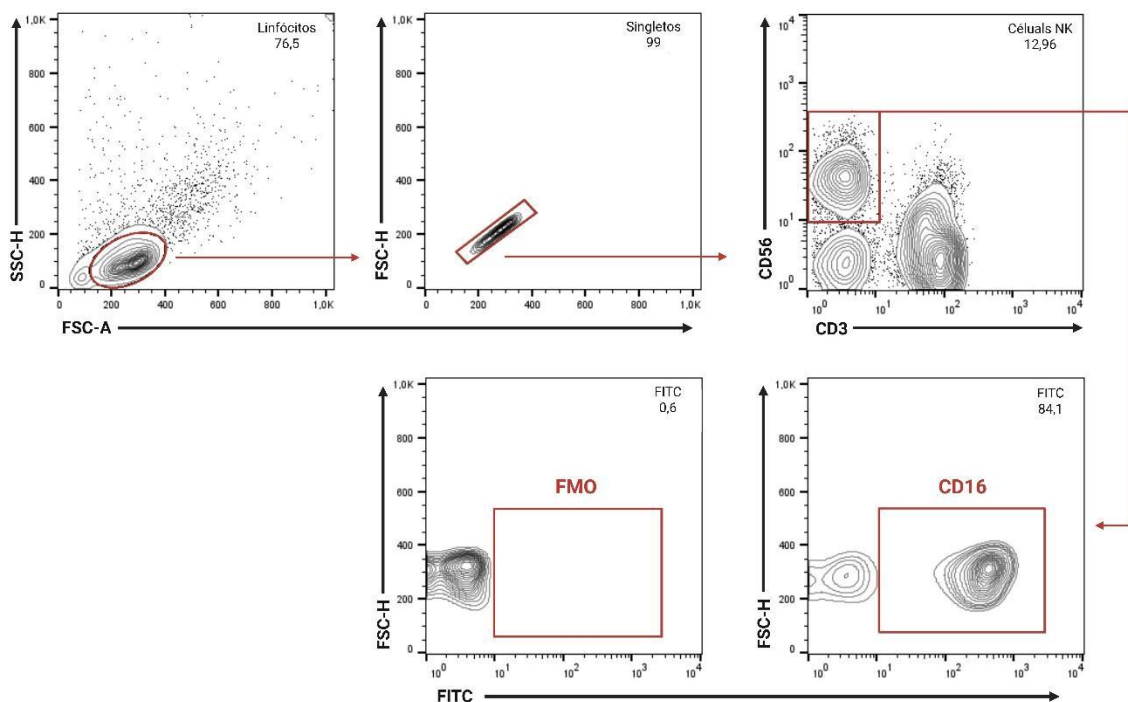
Tabela 1. Anticorpos utilizados para a marcação de parâmetros intracelulares e de superfície.

<i>Anticorpo</i>	<i>Número Cat.</i>	<i>Clone</i>	<i>Isotipo</i>	<i>Marca</i>
<i>APC Mouse Anti Human CD3</i>	<i>555335</i>	<i>UCHL1</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>PE-Cy5 Mouse Anti-Human CD56</i>	<i>555517</i>	<i>B159</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>PE-CyTM7 Mouse Anti-Human IFN-γ</i>	<i>557643</i>	<i>B27</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>PE Mouse Anti-Human TNF</i>	<i>559321</i>	<i>MAb11</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>PE Mouse Anti-Human NKp46</i>	<i>557991</i>	<i>9-E2</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BioLegend</i>
<i>FITC Mouse Anti-Human CD16</i>	<i>561308</i>	<i>B73.1</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>FITC Mouse Anti-Human Granzyme</i>	<i>560211</i>	<i>GB11</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>Alexa Fluor® 647 anti-human CD107a</i>	<i>555801</i>	<i>H4A3</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>Alexa Fluor® 647 anti-human P-mTOR</i>	<i>564242</i>	<i>O21-404</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>PE-Cy7 anti-human P-ERK1/2</i>	<i>560116</i>	<i>20A</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>Alexa Fluor® 488 anti-human P-P38</i>	<i>612594</i>	<i>36/p38 (pT180/pY182)</i>	<i>Mouse IgG1, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>
<i>PE-Cy7 anti-human P-NF- κB</i>	<i>560335</i>	<i>K10-895.12.50</i>	<i>Mouse IgG2a, κ</i>	<i>BD Biosciences</i>

4.4 Aquisição de Dados por Citometria de Fluxo

As preparações celulares marcadas com anticorpos monoclonais fluorescentes foram avaliadas em um citômetro de fluxo modelo FACSCANTO II (BD Biosciences). Durante a aquisição dos dados, pelo menos 30.000 eventos filtrados foram adquiridos e, posteriormente, analisados usando o software FlowJo v.10.9 (BD, Ashland - EUA). A figura 4 representa a estratégia de análise utilizada nos experimentos.

Figura 4. Estratégia de análise utilizada nos dados de citometria de fluxo.



Legenda: Análise de dados de citometria de fluxo. O gate de linfócitos totais foi inicialmente selecionado com base nos perfis de SSC e FSC-A, seguido pela separação de singletos utilizando os parâmetros FSC-A $\times$ FSC-H. Em seguida, a população de células NK foi definida com base nos parâmetros CD56⁺ e CD3⁻. Por fim, os marcadores de interesse foram definidos dentro da população de células NK (por exemplo, CD16). Amostras FMO foram utilizadas para garantir uma análise precisa.

4.5 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism 9.0 (San Diego, EUA). Os dados foram submetidos à análise de variância de duas vias (two-way ANOVA), seguida do teste post hoc de Tukey para comparações múltiplas entre os grupos. Quando apropriado, comparações diretas entre dois grupos foram realizadas por meio do teste *t* de

Student não pareado. Para controlar o erro decorrente da realização de múltiplos testes entre todos os marcadores e comparações, os valores de p foram ajustados pelo método de correção de Falsa Taxa de Descoberta (*False Discovery Rate* – FDR) de Benjamini–Hochberg.

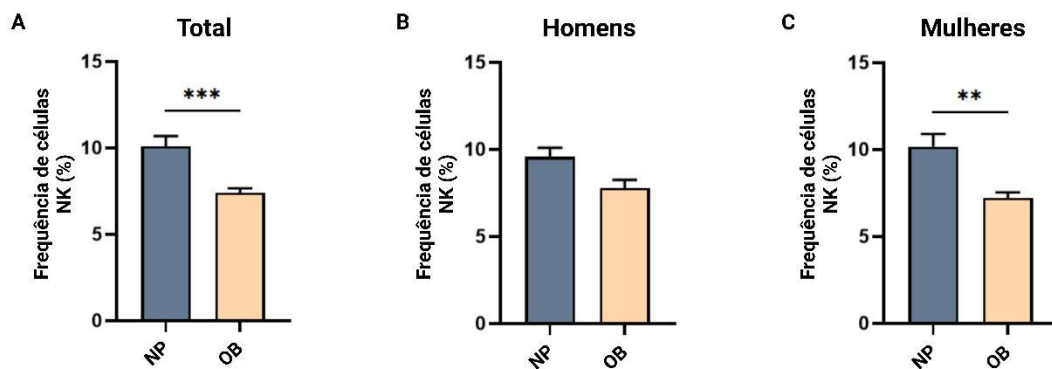
As análises de correlação foram realizadas no software R (versão 2025.09.2), utilizando o coeficiente de Spearman, e os resultados foram visualizados por meio de gráficos de dispersão gerados com o pacote ggplot2. Os resultados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. O intervalo de confiança adotado foi de 95%, e os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação quantitativa dos níveis de células NK

Para avaliar quantitativamente a frequência de células NK circulantes em indivíduos normopesos (NP) e obesos (OB), a proporção dessas células foi analisada entre os grupos estudados. O grupo OB apresentou frequência significativamente menor de células NK em comparação ao grupo NP na condição basal ($p = 0,001$) (Figura 5A). Essa redução foi particularmente observada em mulheres obesas em comparação às mulheres NP ($p = 0,006$) (Figura 5C). Não se observou significância estatística entre os homens ($p = 0,06$) (Figura 5B). Além disso, o tratamento com leptina não induziu alterações na frequência de células NK.

Figura 5. Proporção de células NK nos indivíduos normopesos e obesos.



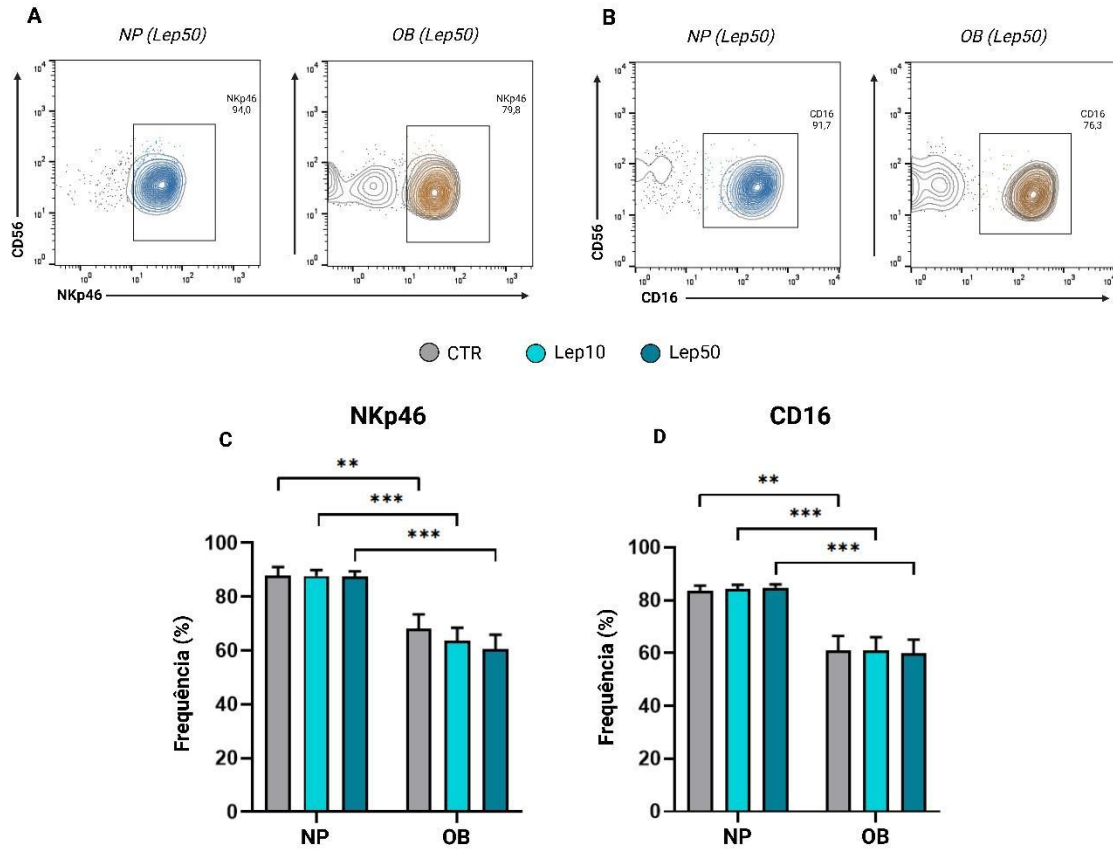
Legenda: Frequência de células NK (A) Frequência total de células NK em indivíduos normopesos (NP) e obesos (OB). (B–C) Frequência de células NK em homens (B) e mulheres. Os gráficos são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. NP = normopeso ($n = 6$ mulheres e 4 homens); OB = obeso ($n = 5$ mulheres e 5 homens).

5.2 Avaliação do perfil de ativação e inibição de células NK

Para caracterizar o estado de ativação das células NK dos grupos NP e OB, avaliamos a expressão de Nkp46 e CD16 em resposta ao tratamento com leptina nas concentrações de 10 nM (Lep10) e 50 nM (Lep50). Nossos resultados demonstraram que a frequência de células NK Nkp46⁺ foi significativamente menor no grupo OB em comparação ao grupo NP nas condições controle (CTR; $p = 0,0068$), Lep10 ($p = 0,0005$) e Lep50 ($p = 0,0001$) (Figura 6A, C). Da mesma forma, a frequência de células NK CD16⁺ também foi reduzida no grupo OB em relação

ao grupo NP sob as mesmas condições experimentais (CTR: $p = 0,001$; Lep10: $p = 0,0006$; Lep50: $p < 0,0003$) (Figuras 6B–D).

Figura 6. Análise do perfil de ativação das células NK.



Legenda: Expressão de receptores de ativação. (A-B) Gráficos representativos de citometria de fluxo mostrando a expressão de NKp46 e CD16 em células NK de indivíduos NP e OB tratados com Lep50. Frequência de células NK NKp46⁺ (C) e CD16⁺ (D) nos grupos NP e OB sob as condições CTR, Lep10 e Lep50. Os gráficos são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. NP = normopeso ($n = 10$); OB = obeso ($n = 10$); CTR = controle; Lep10 = leptina 10 nM; Lep50 = leptina 50 nM.

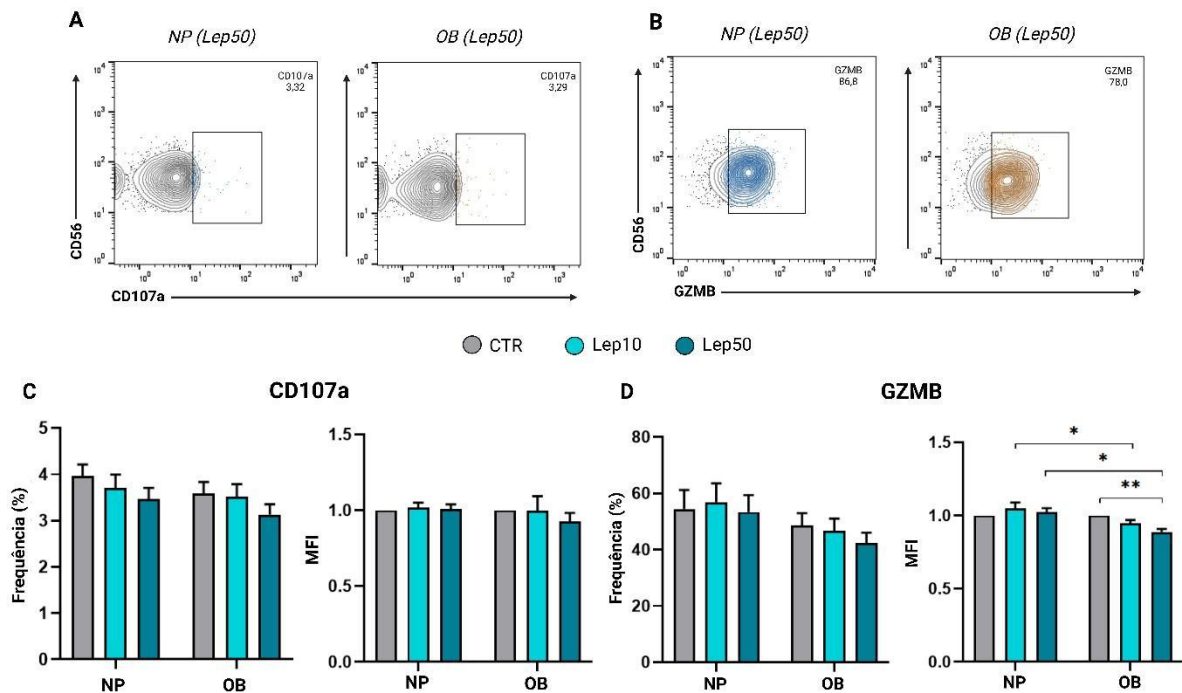
5.3 Avaliação da capacidade citotóxica de células NK

A produção de CD107a e de granzima B (GZMB) foi analisada para inferir a capacidade citotóxica das células NK. A análise da frequência de células NK CD107a⁺ e GZMB⁺ não revelou diferenças significativas entre os grupos experimentais nem entre as diferentes concentrações de leptina testadas (Figuras 7A–C). Embora as frequências não tenham se alterado, a análise da intensidade média de fluorescência (MFI) demonstrou que o tratamento com Lep50 no grupo OB resultou em redução significativa da GZMB em comparação com o

respectivo controle ($p = 0,024$) (Figura 7B-D).

Adicionalmente, as células NK do grupo OB apresentaram menor intensidade de GZMB em ambas as concentrações de leptina testadas (Lep10: $p = 0,027$; Lep50: $p = 0,002$) quando comparadas às células NK do grupo NP submetidas aos mesmos tratamentos (Figura 6C).

Figura 7. Comparação da capacidade citotóxica em células NK.



Legenda: Comparação da atividade citotóxica das células NK. (A-B) Gráficos representativos de citometria de fluxo mostrando a expressão de CD107a e granzima B (GZMB) em células NK de indivíduos normopeso (NP) e obesos (OB) tratados com Lep50. (C-D) Frequência e intensidade média de fluorescência (MFI) de células NK CD107a⁺ (C) e GZMB⁺ (D) nos grupos NP e OB sob as condições CTR, Lep10 e Lep50. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. NP = normopeso ($n = 10$); OB = obeso ($n = 10$); CTR = controle; Lep10 = leptina 10 nM; Lep50 = leptina 50 nM.

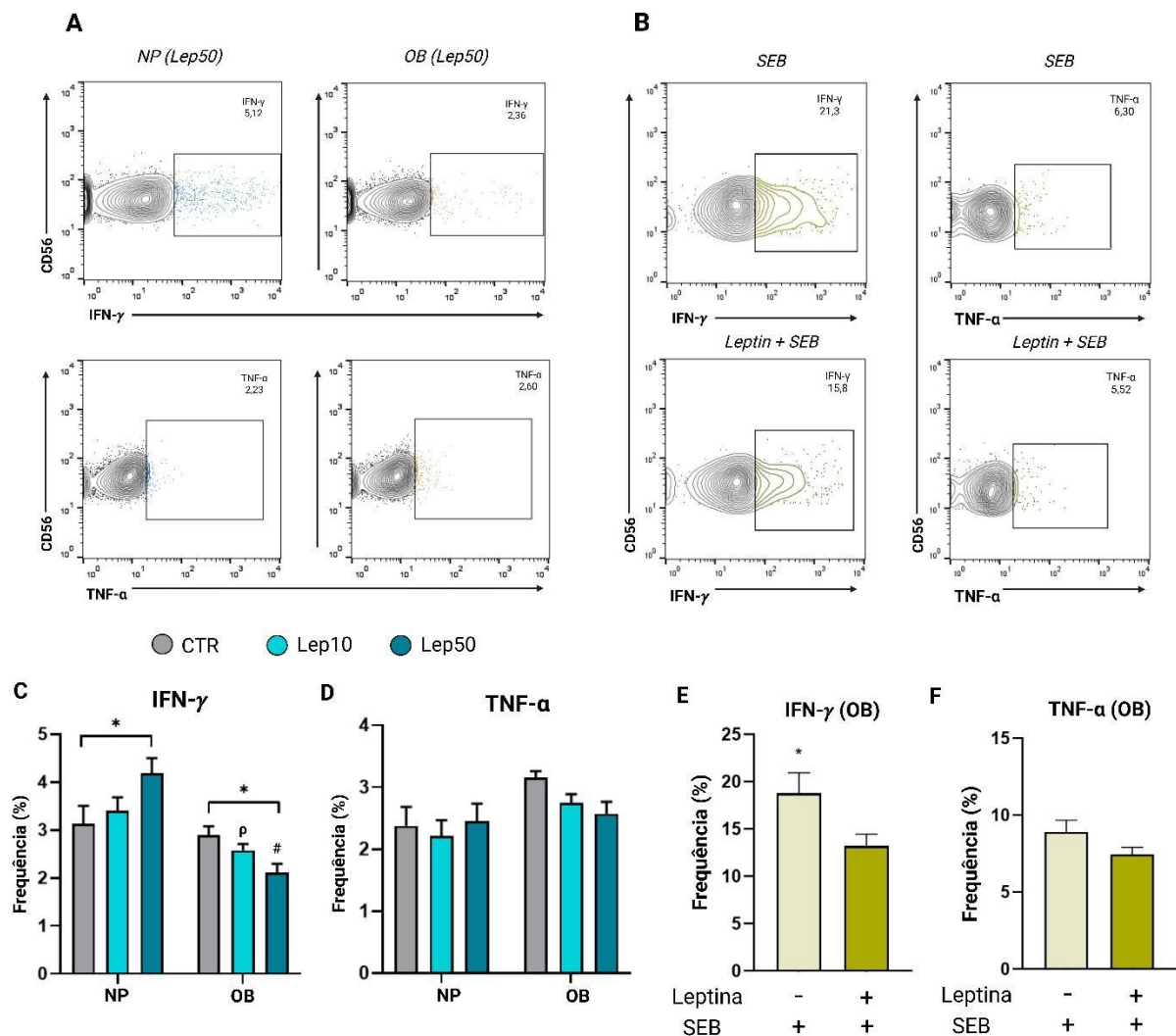
5.4 Avaliação da produção de citocinas por células NK

A produção de IFN- γ e TNF- α por células NK também foi avaliada após a estimulação com leptina. Em relação ao IFN- γ , as células NK do grupo NP apresentaram aumento significativo na frequência de células IFN- γ ⁺ após o tratamento com Lep50, em comparação com o respectivo controle ($p < 0,05$). Em contraste, não foram observadas alterações significativas após o tratamento com Lep10. No grupo OB, o tratamento com Lep50 resultou em redução significativa da frequência de células NK IFN- γ ⁺ em comparação ao controle OB ($p < 0,05$). Além disso, as células NK de indivíduos OB apresentaram respostas

consistentemente menores de IFN- γ em todas as condições avaliadas quando comparadas ao grupo NP submetido aos mesmos tratamentos (Figura 8A, C). Quanto à produção de TNF- α , não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos experimentais nem entre os tratamentos com leptina (Figuras 8A e 8D).

Para avaliar se a leptina poderia modular a produção de citocinas em resposta a uma ativação mais intensa, células NK de indivíduos OB foram tratadas com 50 nM de leptina e, posteriormente, estimuladas com SEB. Apesar da ativação induzida pelo SEB, o tratamento com leptina reduziu significativamente a frequência de células NK produtoras de IFN- γ em comparação ao controle ($p < 0,05$), enquanto a produção de TNF- α permaneceu inalterada (Figura 8B, E-F).

Figura 8. Análise da produção de citocinas por células NK.



Legenda: Produção de citocinas em células NK. (A) Gráficos representativos de citometria de fluxo mostrando a expressão de IFN- γ e TNF- α em células NK de indivíduos normopeso (NP) e obesos (OB) tratados com Lep50. (C-D) Frequência de células NK IFN- γ^+ (C) e TNF- α^+ (D) nos grupos NP e OB sob as condições CTR, Lep10 e Lep50. (B) Gráficos representativos de citometria de fluxo mostrando a expressão de IFN- γ e TNF- α em células NK de indivíduos OB tratados com leptina e SEB. (E-F) Frequência de células NK IFN- γ^+ (E) e TNF- α^+ (F) de indivíduos obesos após estimulação com SEB, na ausência ou presença de Lep50. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). * $p < 0,05$. NP = normopeso ($n = 10$); OB = obeso ($n = 10$); CTR = controle; Lep10 = leptina 10 nM; Lep50 = leptina 50 nM; SEB = enterotoxina estafilocócica B.

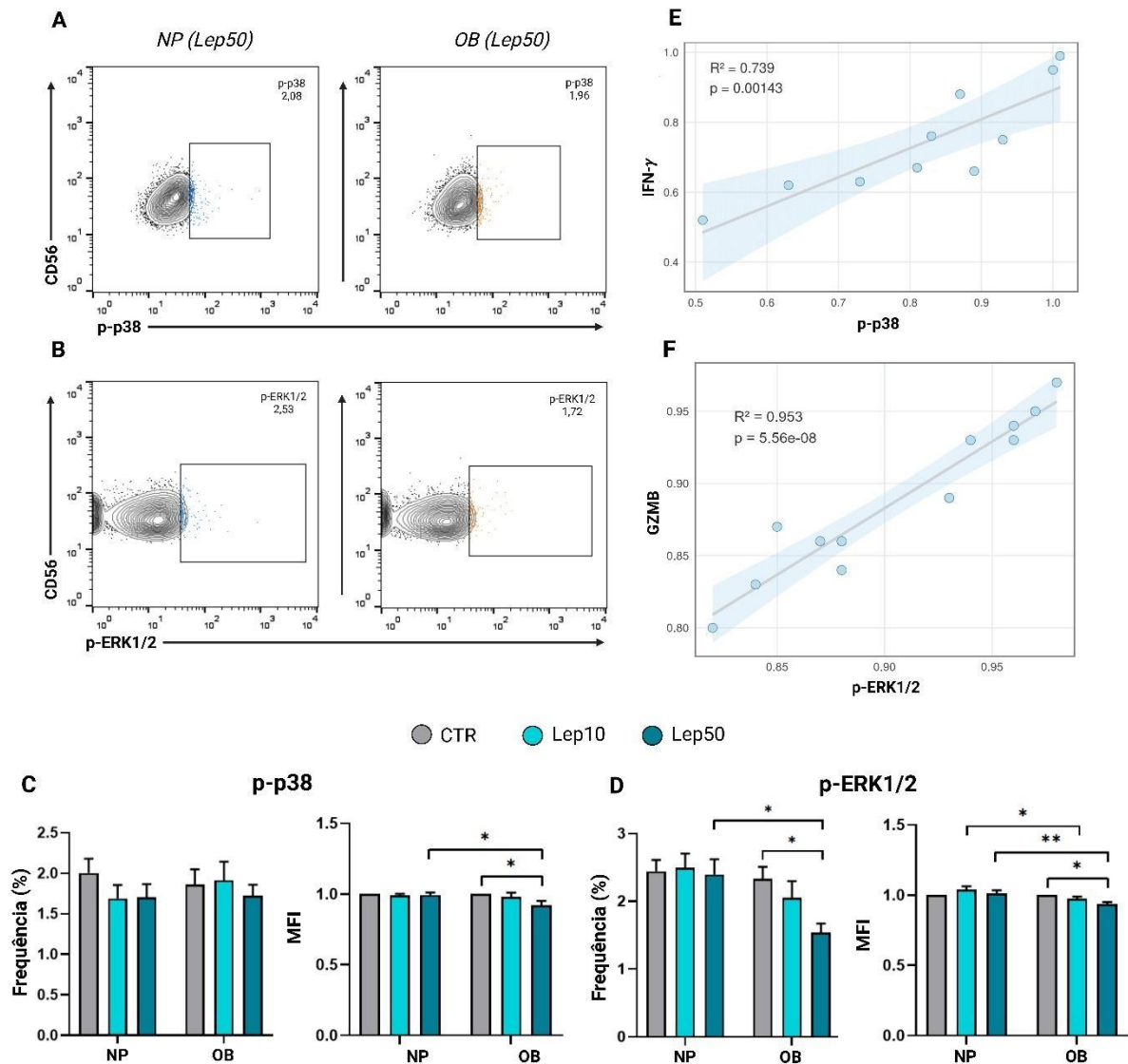
5.5 Avaliação das moléculas p38 e ERK1/2 nas células NK

Diferentes moléculas de sinalização também foram analisadas para compreender a interferência da leptina na atividade das células NK. A análise de p-ERK1/2 revelou alterações significativas tanto na frequência de células positivas quanto na intensidade de fluorescência. No grupo OB, o tratamento com Lep50 resultou em redução significativa da frequência de células NK p-ERK1/2⁺ em comparação ao respectivo controle ($p = 0,003$) e ao grupo NP submetido ao mesmo tratamento ($p = 0,005$). A análise da MFI de p-ERK1/2 apresentou um padrão semelhante, com redução no grupo OB tratado com Lep50 quando comparado tanto ao controle correspondente ($p = 0,04$) quanto ao grupo NP ($p = 0,005$). Além disso, o tratamento com Lep10 também resultou em redução significativa da MFI de p-ERK1/2 no grupo OB, em relação ao grupo NP ($p = 0,023$) (Figura 9B,D).

Para investigar se essa redução estava funcionalmente relacionada à capacidade citotóxica em indivíduos OB, foi realizada uma análise de correlação entre a expressão de p-ERK1/2 e GZMB sob tratamento com Lep50 (Figura 9F), na qual se observou uma forte correlação positiva ($R^2 = 0,953$; $p < 0,0001$).

Por outro lado, a análise de p-p38 não revelou significância estatística na frequência de células positivas. No entanto, observou-se redução da MFI no grupo OB tratado com Lep50, em comparação com o respectivo controle ($p = 0,024$) e com o grupo NP submetido ao mesmo tratamento ($p = 0,026$) (Figura 9A–C). Além disso, observou-se correlação positiva significativa entre a expressão de p-p38 e de IFN- γ em células NK tratadas com 50 nM de leptina ($R^2 = 0,739$; $p < 0,01$) (Figura 9E).

Figura 9. Análise de MAPKs nas células NK.



Legenda: Sinalização por MAPKs em células NK e correlação com a função efetora. (A-B) Gráficos representativos de citometria de fluxo mostrando a expressão de p-p38 (A) e p-ERK1/2 (B) em células NK de indivíduos normopeso (NP) e obesos (OB) tratados com Lep50. (C-D) Frequência e intensidade média de fluorescência (MFI) de células NK p-p38⁺ (C) e p-ERK1/2⁺ (D) nos grupos NP e OB sob as condições CTR, Lep10 e Lep50. (E-F) Análises de correlação entre p-p38 e IFN- γ (E) e entre p-ERK1/2 e granzima B (GZMB) (F). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). *p < 0,05; **p < 0,01. NP = normopeso (n = 10); OB = obeso (n = 10); CTR = controle; Lep10 = leptina 10 nM; Lep50 = leptina 50 nM.

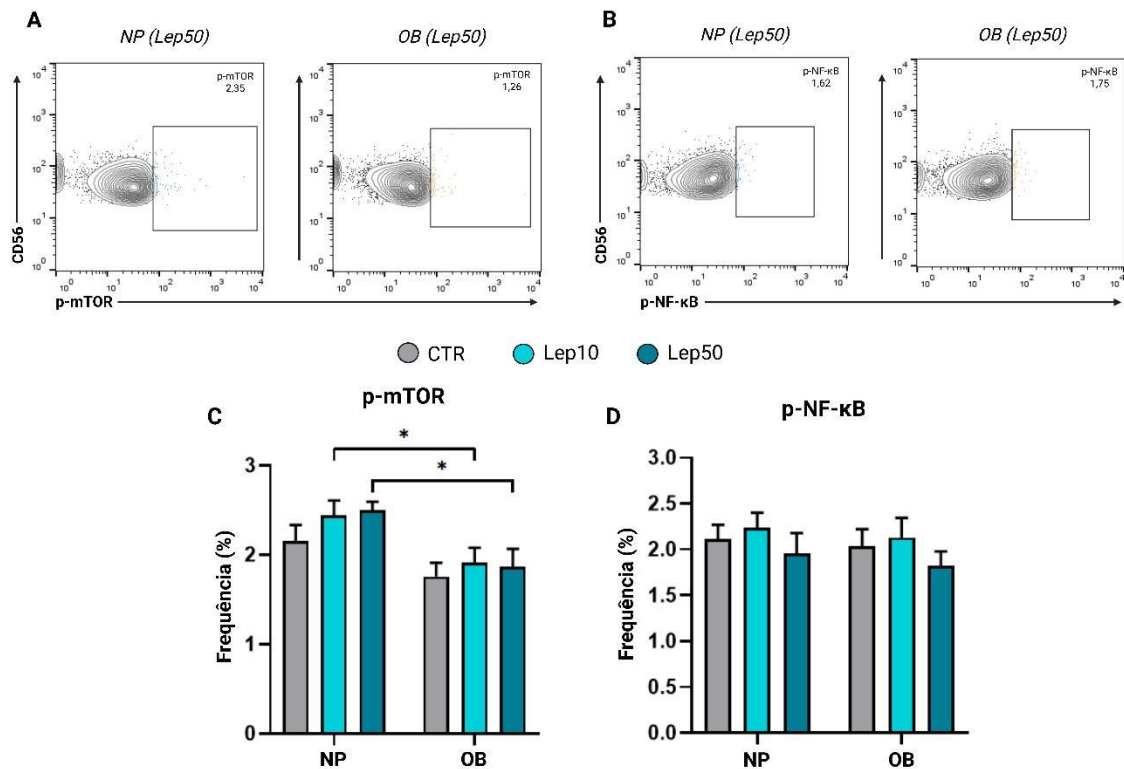
5.6 Avaliação de mTOR e NF- κ B em células NK

A avaliação de p-mTOR demonstrou diferenças específicas na análise da frequência de células NK positivas. O grupo OB apresentou menor frequência de células NK p-mTOR⁺ em

comparação ao grupo NP sob as condições de tratamento com Lep10 ($p = 0,03$) e Lep50 ($p = 0,009$) (Figura 10A e 10C). Não foram observadas alterações significativas na MFI desse marcador.

Em relação ao p-NF- κ B, não foram observadas diferenças entre as condições ou os grupos experimentais (Figuras 10B e 10D). Todos os valores de MFI estão descritos na Tabela 2.

Figura 10. Análise de mTOR e NF- κ B nas células NK.



Legenda: Sinalização por mTOR e NF- κ B em células NK tratadas com leptina. (A-B) Gráficos representativos de citometria de fluxo mostrando a expressão de p-mTOR (A) e p-NF- κ B (B) em células NK de indivíduos normopeso (NP) e obesos (OB) tratados com Lep50. (C-D) Frequência de células NK p-mTOR⁺ (C) e p-NF- κ B⁺ (D) nos grupos NP e OB sob as condições CTR, Lep10 e Lep50. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM). * $p < 0,05$. NP = normopeso ($n = 10$); OB = obeso ($n = 10$); CTR = controle; Lep10 = leptina 10 nM; Lep50 = leptina 50 nM.

Tabela 2. Valores de Intensidade Média de Fluorescência (MFI).

Normopeso (NP)			
<i>Marcadores</i>	<i>CTR</i>	<i>Lep10</i>	<i>Lep50</i>
p-p38	7.59 ± 0.45	7.48 ± 0.42	7.44 ± 0.40
Granzima B	19.53 ± 2.68	21.38 ± 2.75	19.38 ± 2.43
CD107a	3.37 ± 0.53	3.65 ± 0.59	3.46 ± 0.49
p-ERK1/2	6.42 ± 0.69	6.50 ± 0.91	5.38 ± 0.79
IFN- γ	29.7 ± 5.61	30.01 ± 6.11	35.95 ± 6.06
p-NF- κ B	8.73 ± 1.07	8.77 ± 1.02	8.65 ± 1.17
p-mTOR	3.26 ± 0.37	3.34 ± 0.49	3.34 ± 0.44
CD16	198.33 ± 24.74	194.27 ± 31.63	207.33 ± 23.25
NKp46	27.42 ± 5.96	26.28 ± 7.60	29.50 ± 7.50
TNF- α	8.62 ± 1.28	8.38 ± 1.21	8.41 ± 1.37
Obeso (OB)			
<i>Marcadores</i>	<i>CTR</i>	<i>Lep10</i>	<i>Lep50</i>
p-p38	7.48 ± 0.18	7.28 ± 0.17	6.87 ± 0.30
Granzima B	18.60 ± 2.65	18.20 ± 2.03	17.60 ± 2.80
CD107a	4.28 ± 1.54	3.77 ± 0.74	3.28 ± 0.54
p-ERK1/2	5.78 ± 1.27	5.71 ± 1.29	4.80 ± 1.17
IFN- γ	30.68 ± 2.69	30.40 ± 3.82	28.45 ± 2.19
p-NF- κ B	9.22 ± 1.88	9.14 ± 1.77	9.20 ± 1.91
p-mTOR	3.45 ± 0.64	3.55 ± 0.56	3.73 ± 0.68
CD16	189.33 ± 16.38	199.00 ± 24.03	185.33 ± 27.51
NKp46	29.53 ± 8.96	31.93 ± 10.92	30.03 ± 11.07
TNF- α	8.77 ± 1.35	8.51 ± 1.34	7.70 ± 1.40

Legenda: Valores brutos (não normalizados) da intensidade média de fluorescência (MFI) para os marcadores fenotípicos, funcionais e de sinalização medidos em células NK humanas de indivíduos normopeso (NP) e obesos (OB) sob condições controle (CTR) ou após estimulação *in vitro* com leptina (10 nM ou 50 nM). Os dados são apresentados como média ± SEM. Os valores de MFI apresentados correspondem às medições originais de citometria utilizadas para a normalização nas figuras principais.

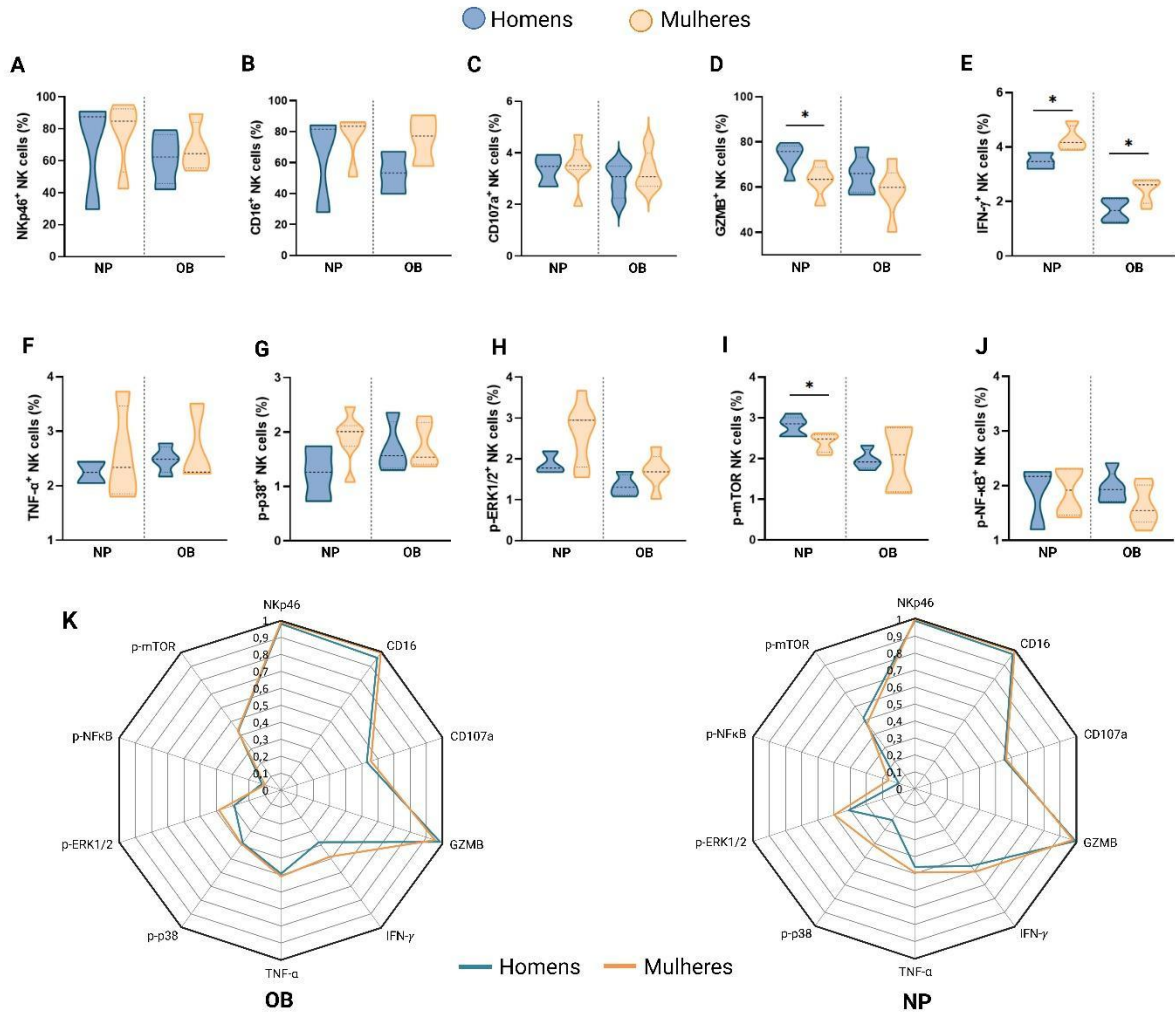
5.7 Diferenças na expressão dos marcadores entre voluntários do sexo masculino e feminino

As diferenças de sexo no fenótipo das células NK após o tratamento com Lep50 foram avaliadas nos grupos NP e OB (Figura 11). Foram observadas diferenças significativas, dependentes do sexo, em GZMB, IFN- γ e p-mTOR. No grupo NP, as células NK de mulheres apresentaram menor frequência de células GZMB⁺ em comparação com os homens após o tratamento com Lep50 ($p < 0,05$), enquanto essa diferença não foi mais observada no grupo OB (Figura 11D).

Em contraste, a produção de IFN- γ foi significativamente maior nas células NK de mulheres do que nas de homens, tanto nos grupos NP quanto OB ($p < 0,05$) (Figura 11E). Os níveis de p-mTOR foram significativamente mais elevados nas células NK de homens NP em relação às mulheres, após o tratamento com Lep50 ($p < 0,05$); entretanto, essa diferença dependente do sexo foi perdida no grupo OB (Figura 11I).

A visualização por meio de *radar plot* resume esses achados ao ilustrar um perfil mais amplo de ativação citotóxica e metabólica nas células NK de homens NP, impulsionado principalmente por maiores níveis de GZMB e p-mTOR, enquanto as células NK de mulheres apresentaram um perfil direcionado para a produção de citocinas, caracterizado pelo aumento de IFN- γ (Figura 11K)

Figura 11. Características fenotípicas das células NK em homens e mulheres.



Legenda: Diferenças sexuais no fenótipo das células NK após tratamento com Lep50. (Esquerda) Gráficos de violino mostrando a frequência de células NK e a expressão de marcadores citotóxicos (granzima B, CD107a), de citocinas (IFN- γ , TNF- α), de receptores ativadores (NKp46, CD16) e de sinalização (p-p38, p-ERK1/2, p-mTOR, p-NF- κ B) em células NK de homens e mulheres, estratificados nos grupos NP e OB, após o tratamento com Lep50. (Direita) Gráficos radar resumindo a distribuição relativa desses marcadores de células NK em homens e mulheres NP e OB. *p < 0,05. NP = normopeso; OB = obeso.

6 DISCUSSÃO

A leptina, um hormônio produzido predominantemente pelo tecido adiposo, é reconhecida como um importante modulador da resposta imune, integrando sinais nutricionais e metabólicos ao sistema imunológico (Naylor; Petri, 2016). Na obesidade, caracterizada por níveis cronicamente elevados de leptina circulante, um estado de resistência central à leptina compromete suas ações fisiológicas clássicas, incluindo seu papel na regulação das células NK (Izquierdo *et al.*, 2019; La Cava; Matarese, 2004). Essa condição metabólica complexa modifica o microambiente sistêmico e celular, afetando não apenas a proporção, mas também a funcionalidade das células NK, o que pode contribuir para o aumento da suscetibilidade a infecções e para as disfunções imunológicas observadas em indivíduos obesos (De Andrade *et al.*, 2025).

Achados anteriores indicam que a imunovigilância mediada por células NK pode estar comprometida, tanto quantitativa quanto qualitativamente, em indivíduos obesos. Nesse sentido, os dados apresentados neste estudo demonstram uma diminuição significativa na frequência de células NK em indivíduos obesos quando comparados a indivíduos com peso normal. Essa redução quantitativa associada à obesidade tem sido documentada em diversos estudos e representa um achado consistente na literatura (Bähr *et al.*, 2020; O'Shea *et al.*, 2010; O'Shea; Hogan, 2019).

A redução numérica das células NK pode ser atribuída a múltiplos fatores presentes no ambiente metabólico alterado da obesidade. O estado de inflamação crônica de baixo grau, caracterizado por níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias como IL-6, TNF- α e proteína C-reativa (PCR), pode induzir apoptose precoce dessas células ou comprometer sua maturação na medula óssea (Thomas *et al.*, 2021). Além disso, níveis aumentados de ácidos graxos livres, especialmente ácido palmítico e oleico, comuns na obesidade, podem exercer efeitos citotóxicos diretos sobre as células NK, alterando a integridade de suas membranas celulares e a função mitocondrial (Michelet *et al.*, 2018). No entanto, essas disfunções podem ser parcialmente revertidas por intervenções de perda de peso, que restauram tanto a função quanto o número de células NK. (Lamas; Martínez; Marti, 2004; O'Shea *et al.*, 2010; Scanga *et al.*, 1998).

Observou-se uma redução mais pronunciada de células NK circulantes em mulheres do grupo OB. Esse achado pode estar relacionado a um possível aumento do recrutamento dessas células para o tecido adiposo, especialmente o VAT, onde já foi descrito maior acúmulo de células NK em associação com inflamação crônica e resistência à insulina (Wouters *et al.*,

2020). Considerando que mulheres apresentam diferenças na distribuição de gordura corporal e maior proporção de tecido adiposo, a expansão adiposa na obesidade pode favorecer o sequestro de células NK da circulação periférica para o compartimento tecidual (Pluta; Lubkowska; Dudzińska, 2025; Van den Munckhof *et al.*, 2023). Apesar disso, o tratamento com leptina nas diferentes concentrações não promoveu alterações na frequência de células NK, possivelmente em função do tempo de exposição (20 horas), uma vez que a literatura indica que o tratamento crônico com leptina (7 dias) é capaz de reduzir a proliferação de NKs humanas (Wrann *et al.*, 2012).

Para caracterizar o estado de ativação dessas células, os receptores NKp46 e CD16 foram analisados após o tratamento com leptina recombinante. Ambos os receptores apresentaram frequências consistentemente reduzidas no grupo OB em todas as condições experimentais. Evidências provenientes tanto de modelos murinos quanto de estudos em humanos com câncer de mama associado à obesidade indicam redução de sua expressão em células NK circulantes (Elaraby *et al.*, 2021; Spielmann *et al.*, 2020). Além disso, há indícios de que a leptina, no contexto da obesidade, pode contribuir para essa alteração ao reduzir a expressão do mRNA de NKp46 (Bähr *et al.*, 2017). De forma consistente, estudos em humanos demonstraram que a obesidade e o sobrepeso estão associados a menores níveis de expressão de NKp46, corroborando os achados do presente estudo (Laue *et al.*, 2015; Naujoks *et al.*, 2020; Viel *et al.*, 2017).

De maneira semelhante, o CD16, um receptor FcγRIII que medeia a citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) e define a principal subpopulação citotóxica de células NK (Chen; Zhu; Jounaidi, 2024), também apresentou frequência reduzida no grupo OB. Diversos estudos documentaram a redução da expressão de CD16 em indivíduos obesos, sugerindo que essa alteração pode comprometer significativamente a capacidade das células NK de realizar ADCC (Viel *et al.*, 2017; Wrann *et al.*, 2012). A estabilidade observada na frequência das moléculas NKp46 e CD16 após o tratamento com leptina, em relação aos respectivos controles, pode sugerir que essa modulação ocorra de forma crônica (Bähr *et al.*, 2020; Shoaie-Hassani *et al.*, 2017), não sendo detectável no período padronizado dos experimentos deste estudo.

Além do perfil de ativação, a capacidade citotóxica das células NK foi avaliada por meio do CD107a, um indicador de degranulação vesicular, e da granzima B, uma protease com atividade citotóxica (Prager; Watzl, 2019). Embora a frequência de células NK positivas para essas moléculas tenha sido semelhante entre os grupos, o que provavelmente reflete sua

expressão constitutiva, o MFI da granzima apresentou redução significativa em indivíduos obesos tratados com leptina a 50 nM. Isso sugere que, apesar de a proporção de células que expressam granzima B permanecer inalterada, a quantidade produzida por célula e, consequentemente, o seu potencial citotóxico estão reduzidos em indivíduos obesos sob níveis patológicos de leptina.

Essa resposta reflete uma deficiência intrínseca das células NK na obesidade, na qual o ambiente inflamatório crônico e as alterações metabólicas impactam negativamente funções efectoras essenciais da imunidade inata, como a citotoxicidade (Andersen; Murphy; Fernandez, 2016). Diversos estudos corroboram essa perspectiva, demonstrando que a obesidade está associada à disfunção das células NK, incluindo a diminuição da produção de moléculas citotóxicas, comprometendo a capacidade dessas células de exercer suas funções antitumorais e antivirais (Michelet *et al.*, 2018; O'Shea *et al.*, 2010). Adicionalmente, a redução de granzima B em ambas as concentrações de leptina (10 nM e 50 nM), quando comparadas ao grupo NP, também indica uma deficiência basal das células NK em indivíduos obesos. Isso sugere que o ambiente metabólico alterado da obesidade, por si só, compromete a capacidade citotóxica dessas células, possivelmente por meio de alterações no metabolismo celular, aumento do estresse oxidativo ou modificações epigenéticas que afetam a expressão de genes relacionados à citotoxicidade (De Barra; O'Shea; Hogan, 2023; Michelet *et al.*, 2018; Simar *et al.*, 2014).

O tratamento com 50 nM de leptina afetou negativamente a citotoxicidade das células NK em mulheres NP, evidenciado pela redução da granzima B, enquanto as células NK de homens NP mostraram-se menos sensíveis à exposição à leptina. Essa diferença, dependente do sexo, não foi observada em indivíduos obesos, sugerindo que as alterações metabólicas associadas à obesidade sobrepõem os efeitos sexo-específicos da leptina sobre a programação citotóxica das células NK. Diferenças basais mediadas por hormônios sexuais e pela adiposidade provavelmente modulam as interações entre a leptina e as células NK.

É importante destacar que os níveis circulantes de leptina são marcadamente mais elevados em mulheres do que em homens, mesmo com níveis equivalentes de gordura corporal. Dados clínicos demonstram que a leptina sérica em mulheres é aproximadamente 2 a 3 vezes maior do que em homens (Hellström *et al.*, 2000). Esses níveis elevados de leptina provavelmente refletem maior quantidade de gordura subcutânea e os efeitos do estrogênio. Assim, as células NK de mulheres estão cronicamente expostas a níveis mais elevados de leptina e podem responder de forma distinta.

Outra perspectiva é que homens geralmente apresentam maior porcentagem de células

NK circulantes e maior atividade citotóxica dessas células, enquanto mulheres tendem a montar respostas imunes inflamatórias e mediadas por citocinas mais robustas (Cheng *et al.*, 2023; Huang *et al.*, 2021). Alguns estudos apontam que mulheres em idade fértil apresentam menor citotoxicidade de células NK, possivelmente devido ao estrogênio, em comparação aos homens (Azargoon *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2024). Essas disparidades imunológicas relacionadas ao sexo sugerem que os efeitos da leptina sobre as células NK podem ser sexo-específicos, embora estudos diretos ainda sejam escassos. A perda da diferença entre os sexos na produção de granzima B em indivíduos obesos pode refletir a predominância da disfunção metabólica e inflamatória sobre a regulação hormonal sexual. A obesidade impõe uma crise metabólica, como glicólise prejudicada, acúmulo lipídico e supressão de mTOR, que atenua de forma global, as funções efetoras das células NK, eliminando distinções com base no sexo (Michelet *et al.*, 2018).

Além da citotoxicidade, as células NK são centrais na imunidade antitumoral e antiviral precoce, por meio da rápida produção de IFN- γ (Björkström; Strunz; Ljunggren, 2021; Coënon *et al.*, 2024). Sua produção é rigidamente regulada por sinais metabólicos e pela sinalização de citocinas, particularmente por vias que integram a disponibilidade de nutrientes, respostas ao estresse e ativação mediada por receptores (Kennedy *et al.*, 2024; Mah; Cooper, 2016). Como a leptina atua como um hormônio imunomodulador, variações nos níveis de leptina e na sensibilidade à leptina podem influenciar a produção de citocinas por células NK.

No presente estudo, concentrações mais elevadas de leptina aumentaram a produção de IFN- γ em células NK de indivíduos NP, mas reduziram a produção de IFN- γ em células NK de indivíduos obesos. Resultados semelhantes já foram observados anteriormente no contexto da obesidade (Bähr *et al.*, 2020). Laue *et al.* demonstraram que o tratamento *in vitro* por 24 horas com altas doses de leptina aumentou a fração de células NK produtoras de IFN- γ em voluntários NP, enquanto doadores obesos não apresentaram o mesmo efeito (Laue *et al.*, 2015). Achados consistentes também foram observados em modelos murinos, nos quais camundongos deficientes no receptor de leptina (db/db) apresentam redução no número de células NK e ativação prejudicada. De fato, a obesidade está associada a uma mudança nos subtipos de células NK e no fenótipo basal, sendo que indivíduos obesos apresentam menor número de células NK CD56^{dim} IFN- γ ⁺, indicando uma redução do efeito imunorregulador desse subtipo celular na obesidade (Bähr *et al.*, 2018).

As diferenças sexuais nas respostas imunes são bem documentadas em humanos, sendo que mulheres frequentemente desenvolvem respostas inatas e adaptativas mais intensas do que

homens, um padrão associado tanto à influência hormonal quanto aos efeitos da dosagem de genes imunológicos localizados no cromossomo X (Klein; Flanagan, 2016). De fato, estudos que caracterizam a função das células NK entre os sexos relatam que mulheres podem apresentar respostas de citocinas mais robustas, incluindo IFN- γ , do que homens sob diferentes condições de estimulação (Al-Attar *et al.*, 2016; Cheng *et al.*, 2022; Prather *et al.*, 2009; Pujantell; Altfeld, 2022). De acordo com isso, a observação de que o tratamento com leptina a 50 nM induz maior produção de IFN- γ em células NK de mulheres, em relação a homens, possivelmente reflete mecanismos regulatórios imunes específicos do sexo.

Hormônios sexuais, como os estrogênios, têm sido associados ao aumento das respostas do tipo Th1 e a uma maior produção de citocinas em diversos subtipos linfocitários, enquanto os andrógenos frequentemente exercem efeitos supressores nessas vias, embora de forma dependente do contexto. Os estrogênios podem potencializar a imunidade do tipo 1 e a produção de IFN- γ em concentrações baixas ou moderadas, mas exercer efeitos supressores em concentrações elevadas ou em diferentes contextos celulares, o que reflete um papel regulatório bifásico. Baixos níveis de estrogênio têm sido associados à promoção de respostas pró-inflamatórias e polarizadas para Th1, enquanto níveis elevados geralmente atenuam a inflamação e a produção de IFN- γ em células da imunidade inata (Arnold *et al.*, 2022). O impacto da testosterona sobre respostas do tipo 1 é menos direto; embora frequentemente descrita como imunossupressora, dados prévios do nosso grupo demonstraram que linfócitos T de homens que se recuperaram da COVID-19 produziram mais IFN- γ do que os de mulheres quando estimulados com antígenos do SARS-CoV-2 (De Andrade *et al.*, 2025), enquanto dados clínicos sugerem que a deficiência de testosterona se correlaciona com piores desfechos na COVID-19 (Duarte-Silva *et al.*, 2023), indicando que os andrógenos também podem sustentar uma imunidade do tipo 1 eficaz em determinadas condições.

Além dos marcadores clássicos de células NK, diferentes moléculas de sinalização fosforiladas foram analisadas para compreender mecanisticamente as modulações induzidas pela leptina no contexto da obesidade. A via ERK1/2 é fundamental para múltiplos processos celulares das células NK, incluindo proliferação, sobrevivência, diferenciação e, de forma crítica, a função citotóxica (Cubitt *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2008, 2021). A ativação de ERK1/2 é necessária para a degranulação eficiente de grânulos citotóxicos contendo granzimas e perforinas, bem como para a síntese *de novo* dessas moléculas efetoras (Li *et al.*, 2008). A diminuição observada tanto na frequência quanto na MFI de p-ERK1/2 em células NK de indivíduos obesos tratados com leptina está alinhada à redução da intensidade de granzima B

nesses mesmos indivíduos. Essa redução da p-ERK1/2 pode sugerir uma deficiência na transdução de sinais de ativação, comprometendo não apenas a liberação imediata de grânulos citotóxicos, mas também a sua capacidade de reposição após a ativação (Teng *et al.*, 2020). A redução de p-ERK1/2 foi mais pronunciada com o tratamento com leptina a 50 nM em células de indivíduos obesos, o que demonstra que níveis patológicos de leptina podem prejudicar ativamente essa via de sinalização. Esse efeito inibitório pode estar, em parte, relacionado à ativação de fosfatases específicas, como a proteína PTP1B, que é conhecida por estar superexpressa em estados de estímulo excessivo ao LepR e por interferir na sinalização downstream de ERK, p38 e JNK (Dubé; Cheng; Tremblay, 2004; Nasimian *et al.*, 2013; Read; Wilson, 2024).

A análise do p-mTOR, por sua vez, demonstrou uma redução considerável em indivíduos obesos. A via do mTOR é um componente central da sinalização do receptor da leptina e, em células NK, é essencial para a biogênese mitocondrial, a síntese proteica e o metabolismo da glicose (Jones; Pearce, 2017; Yang; Malarkannan, 2020). A diminuição da frequência de células NK p-mTOR⁺ indica um estado de desregulação metabólica na obesidade. Considerando que a leptina normalmente ativa o mTOR por meio da sinalização PI3K/Akt, essa redução provavelmente reflete uma parcial dessensibilização das vias metabólicas dependentes de leptina. Tal comprometimento da sinalização via mTOR pode contribuir diretamente para a redução da capacidade de *killing* das células NK, uma vez que estudos prévios demonstraram uma forte associação entre a atividade do mTOR e a função efetora dessas células, incluindo a resposta citotóxica (Marçais *et al.*, 2017).

Em indivíduos NP, observou-se uma ativação mais robusta do mTOR em células NK de homens após estímulo com leptina, em comparação às mulheres. Essa diferença pode ser impulsionada por regulações distintas das vias de detecção de nutrientes e hormonais. A maior atividade de estradiol/ER α em mulheres está associada à redução da autofagia por meio da ativação do mTOR, o que sugere uma regulação mais refinada nessas células que pode limitar a ativação excessiva do mTOR (Tao *et al.*, 2018).

Na obesidade, entretanto, essa diferença sexual na ativação de mTOR induzida pela leptina pode ser atenuada por diversos mecanismos. A hiperleptinemia crônica e a inflamação metabólica presentes em indivíduos obesos podem desorganizar as vias canônicas de sinalização da leptina, incluindo a ativação PI3K/Akt/mTOR (Tan *et al.*, 2025). Além disso, o ambiente hormonal local pode se modificar no contexto da obesidade; por exemplo, o aumento da atividade da aromatase no tecido adiposo masculino eleva os níveis locais de estrogênio, o

que pode alterar a dinâmica de sinalização dos receptores de estrogênio e, consequentemente, modular a regulação do mTOR (Ahmed *et al.*, 2025). Em conjunto, essas perturbações metabólicas e hormonais associadas à obesidade provavelmente se sobrepõem aos mecanismos regulatórios basais dependentes do sexo, resultando na atenuação das diferenças na ativação do mTOR entre homens e mulheres. Embora as evidências diretas em células NK humanas ainda sejam limitadas, essas observações são consistentes com a literatura, que demonstra a modulação, dependente do sexo, da sinalização por citocinas e das vias metabólicas.

Em relação a p-p38, a redução observada na intensidade de fluorescência no grupo obeso após o tratamento com leptina sugere uma desorganização do eixo de sinalização de quinases de estresse em células NK, o que pode contribuir para respostas de citocinas prejudicadas (Arthur; Ley, 2013; Ochayon *et al.*, 2020). A via da p38 MAPK é um regulador bem estabelecido das respostas inflamatórias e da produção de citocinas em linfócitos inatos. Sua ativação, classicamente mediada pelas quinases MKK3/6, sustenta o controle transcricional e pós-transcricional de genes de citocinas, incluindo a estabilização de transcritos de IFNG e o aumento da secreção de IFN- γ e de outros mediadores pró-inflamatórios, especialmente sob estímulos sinérgicos, como a combinação de IL-12 e IL-33 (Ochayon *et al.*, 2020). Além disso, a sinalização via p38 tem sido implicada no aumento da responsividade das células NK a estímulos associados a patógenos e na coordenação da produção de citocinas, incluindo IFN- γ , em células linfoides inatas (Li *et al.*, 2024).

A diminuição específica da p-p38 após o tratamento com 50 nM de leptina em doadores obesos pode, portanto, refletir uma disfunção induzida pela leptina ou um feedback inflamatório crônico que atenua essa via, limitando a capacidade das células NK de sustentar respostas de produção de citocinas. Corroborando essa hipótese, células NK de indivíduos OB apresentam déficits funcionais e redução da produção de IFN- γ após estímulo com leptina, em comparação com células de indivíduos NP, indicando um comprometimento associado à obesidade na sinalização de receptores de citocinas e adipocinas (Laue *et al.*, 2015). Essa deficiência pode comprometer não apenas a função direta das células NK, mas também sua capacidade de ativar outras populações celulares e coordenar respostas imunológicas mais amplas (Jiang; Jiang, 2023; Tosello-Tramont *et al.*, 2017).

Assim, esses dados indicam que a hiperleptinemia associada à obesidade desorganiza a sinalização das células NK, afetando predominantemente vias relacionadas à citotoxicidade, à ativação metabólica e à produção de citocinas. Esse desequilíbrio também se reflete na redução da expressão de moléculas efetoras chave, incluindo granzimas B e os receptores ativadores

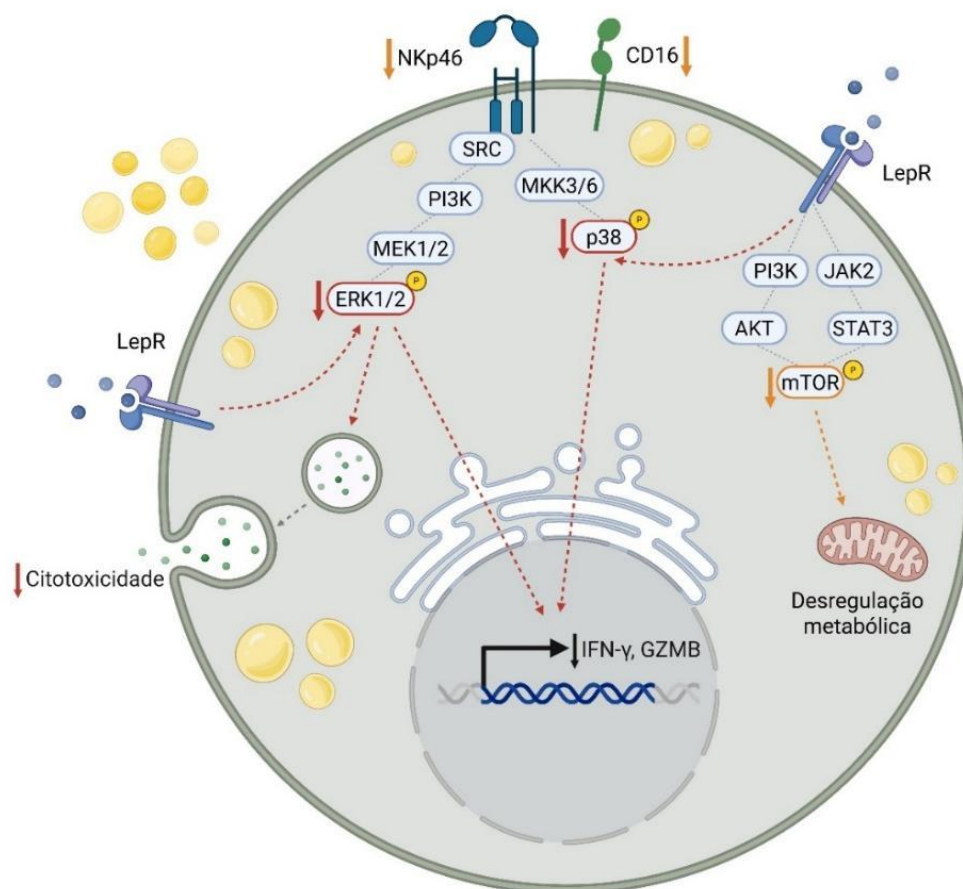
NKp46 e CD16, essenciais para o reconhecimento de células-alvo e a função citotóxica. Em conjunto, essas alterações integradas podem contribuir para a disfunção imune observada em estados de comprometimento metabólico. Embora o tamanho amostral possa limitar a detecção de efeitos mais sutis, e o presente estudo tenha abordado principalmente desfechos funcionais, a consistência desses achados sustenta sua relevância biológica e reforça a necessidade de estudos futuros para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes e explorar estratégias terapêuticas voltadas à restauração da função das células NK em indivíduos obesos.

7 CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que a obesidade está associada a comprometimentos amplos na biologia das células NK, incluindo redução do número dessas células e menor expressão de receptores envolvidos em sua ativação. Além disso, a leptina em alta concentração prejudicou seletivamente as respostas efectoras das células NK, evidenciado pela redução da citotoxicidade e da produção de IFN- γ , mesmo sob fortes estímulos com SEB, juntamente com a diminuição da ativação de importantes vias de sinalização. Esses achados sugerem que a hiperleptinemia crônica não suprime, de forma global, as células NK. Em vez disso, promove um estado de disfunção induzida pela leptina, caracterizado por sinalização defeituosa dependente de MAPKs e por programas efetores comprometidos.

De forma conjunta, nossos resultados indicam que a obesidade estabelece um estado basal de disfunção das células NK, o qual é ainda agravado pela sinalização patológica da leptina. Esses achados fornecem um elo mecanístico entre a desregulação metabólica e o comprometimento da defesa imunológica. Tais defeitos podem ajudar a explicar a maior suscetibilidade de indivíduos obesos a infecções virais e ao câncer, bem como respostas subótimas a imunoterapias e à vacinação. Nesse contexto, destaca-se a necessidade de estratégias terapêuticas voltadas à modulação do eixo metabolismo–imunidade para restaurar a função das células NK na obesidade.

Figura 12. Esquema dos efeitos observados nas células NK.



Legenda: Criado no Biorender. A hiperlipitemia associada à obesidade promove disfunção das células NK ao prejudicar a expressão de receptores e vias de sinalização intracelular. A obesidade está associada à redução da expressão de receptores ativadores de NK (NKp46 e CD16; setas laranjas), enquanto a sinalização pela leptina atenua seletivamente as vias de MAPK, incluindo p38 e ERK1/2 (setas vermelhas), levando à diminuição da produção de IFN- γ e granzima B e ao comprometimento da função citotóxica. Alterações basais na sinalização de mTOR podem resultar em desregulação metabólica e contribuir para o prejuízo funcional das células NK na obesidade.

REFERÊNCIAS

- ABELLA, V.; SCOTECE, M.; CONDE, J.; PINO, J.; GONZALEZ-GAY, M. A.; GÓMEZ-REINO, J. J.; MERA, A.; LAGO, F.; GÓMEZ, R.; GUALILLO, O. Leptin in the interplay of inflammation, metabolism and immune system disorders. **Nature Reviews. Rheumatology**. v. 13, 2, p. 100–109. 2017
- ABESO. **ABESO – Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Mapa da Obesidade. Disponível em: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/>. Acesso em: 3 jun. 2024.** 2023
- AGRAWAL, S.; GOLLAPUDI, S.; SU, H.; GUPTA, S. Leptin Activates Human B Cells to Secrete TNF- α , IL-6, and IL-10 via JAK2/STAT3 and p38MAPK/ERK1/2 Signaling Pathway. **Journal of Clinical Immunology**. v. 31, 3, p. 472. 2011
- AHMED, F.; HETTY, S.; LATERVEER, R.; SURUCU, E. B.; MATHIOUDAKI, A.; HORNBRINCK, E.; PATSOUKAKI, V.; OLAUSSON, J.; SUNDBOM, M.; SVENSSON, M. K.; PEREIRA, M. J.; ERIKSSON, J. W. Altered Expression of Aromatase and Estrogen Receptors in Adipose Tissue From Men With Obesity or Type 2 Diabetes. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**. v. 110, 10, p. e3410–e3424. 2025
- AL-ATTAR, A.; PRESNELL, S. R.; PETERSON, C. A.; THOMAS, D. T.; LUTZ, C. T. The effect of sex on immune cells in healthy aging: Elderly women have more robust natural killer lymphocytes than do elderly men. **Mechanisms of Ageing and Development**. v. 156, p. 25–33. 2016
- ALLISON, M. B.; MYERS, M. G. 20 years of leptin: connecting leptin signaling to biological function. **The Journal of endocrinology**. v. 223, 1, p. T25–T35. 2014
- ALTINTAS, M. M.; NAYER, B.; WALFORD, E. C.; JOHNSON, K. B.; GAIDOSH, G.; REISER, J.; DE LA CRUZ-MUNOZ, N.; ORTEGA, L. M.; NAYER, A. Leptin deficiency-induced obesity affects the density of mast cells in abdominal fat depots and lymph nodes in mice. **Lipids in Health and Disease** 2012 11:1. v. 11, 1, p. 21-. 2012

AMORIM, N. R. T.; SOUZA-ALMEIDA, G.; LUNA-GOMES, T.; BOZZA, P. T.; CANETTI, C.; DIAZ, B. L.; MAYA-MONTEIRO, C. M.; BANDEIRA-MELO, C. Leptin Elicits In Vivo Eosinophil Migration and Activation: Key Role of Mast Cell-Derived PGD₂. **Frontiers in Endocrinology**. v. 11, p. 572113. 2020

ANDERSEN, C. J.; MURPHY, K. E.; FERNANDEZ, M. L. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity. **Advances in Nutrition**. v. 7, 1, p. 66. 2016

APPARI, M.; CHANNON, K. M.; MCNEILL, E. Metabolic Regulation of Adipose Tissue Macrophage Function in Obesity and Diabetes. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 29, 3, p. 297. 2018

ARNOLD, C. G.; LIBBY, A.; VEST, A.; HOPKINSON, A.; MONTE, A. A. Immune mechanisms associated with sex-based differences in severe COVID-19 clinical outcomes. **Biology of Sex Differences**. v. 13, 1, p. 7. 2022

ARTHUR, J. S. C.; LEY, S. C. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. **Nature Reviews Immunology**. v. 13, 9, p. 679–692. 2013

AZARGOON, A.; MIRRASOULI, Y.; BAROUGH, M. S.; BARATI, M.; KOKHAEI, P. The State of Peripheral Blood Natural Killer Cells and Cytotoxicity in Women with Recurrent Pregnancy Loss and Unexplained Infertility. **International Journal of Fertility & Sterility**. v. 13, 1, p. 12. 2019

BÄHR, I.; GORITZ, V.; DOBERSTEIN, H.; HILLER, G. G. R.; ROSENSTOCK, P.; JAHN, J.; PÖRTNER, O.; BERREIS, T.; MUELLER, T.; SPIELMANN, J.; KIELSTEIN, H. Diet-Induced Obesity Is Associated with an Impaired NK Cell Function and an Increased Colon Cancer Incidence. **Journal of Nutrition and Metabolism**. v. 2017. 2017

BÄHR, I.; JAHN, J.; ZIPPRICH, A.; PAHLOW, I.; SPIELMANN, J.; KIELSTEIN, H. Impaired natural killer cell subset phenotypes in human obesity. **Immunologic Research**. v. 66, 2, p. 234–244. 2018

BÄHR, I.; SPIELMANN, J.; QUANDT, D.; KIELSTEIN, H. Obesity-Associated Alterations of Natural Killer Cells and Immunosurveillance of Cancer. **Frontiers in Immunology**. v. 11, p. 507098. 2020

BAI, Z.; YE, Y.; YE, X.; YUAN, B.; TANG, Y.; WEI, J.; JIN, M.; WANG, G.; LI, X. Leptin promotes glycolytic metabolism to induce dendritic cells activation via STAT3-HK2 pathway. **Immunology Letters**. v. 239, p. 88–95. 2021

BATRA, A.; OKUR, B.; GLAUBEN, R.; ERBEN, U.; IHBE, J.; STROH, T.; FEDKE, I.; CHANG, H. D.; ZEITZ, M.; SIEGMUND, B. Leptin: A Critical Regulator of CD4⁺ T-cell Polarization in Vitro and in Vivo. **Endocrinology**. v. 151, 1, p. 56–62. 2010

BATTY, M. J.; CHABRIER, G.; SHERIDAN, A.; GAGE, M. C. Metabolic Hormones Modulate Macrophage Inflammatory Responses. **Cancers**. v. 13, 18. 2021

BAUMER, Y.; SINGH, K.; SAURABH, A.; BAEZ, A. S.; GUTIERREZ-HUERTA, C. A.; CHEN, L.; IGBOKO, M.; TURNER, B. S.; YEBOAH, J. A.; REGER, R. N.; ORTIZ-WHITTINGHAM, L. R.; JOSHI, S.; ANDREWS, M. R.; AQUINO PETERSON, E. M.; BLECK, C. K. E.; MENDELSON, L. G.; MITCHELL, V. M.; COLLINS, B. S.; REDEKAR, N. R.; KUHN, S. A.; COMBS, C. A.; PIROOZNA, M.; DAGUR, P. K.; ALLAN, D. S. J.; SCHWARTZ, D. M.; CHILDS, R. W.; POWELL-WILEY, T. M. Obesity modulates NK cell activity via LDL and DUSP1 signaling for populations with adverse social determinants. **JCI Insight**. v. 10, 2. 2025

BJÖRKSTRÖM, N. K.; STRUNZ, B.; LJUNGGREN, H. G. Natural killer cells in antiviral immunity. **Nature Reviews Immunology** 2021 22:2. v. 22, 2, p. 112–123. 2021

BJÖRKSTRÖM, N. K.; STRUNZ, B.; LJUNGGREN, H. G. Natural killer cells in antiviral immunity. **Nature Reviews Immunology** 2021 22:2. v. 22, 2, p. 112–123. 2021

BODEN, G. Obesity and Free Fatty Acids. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**. v. 37, 3, p. 635–646. 2008

BRASIL. **BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico**, volume 55, nº 07. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-07.pdf>. Acesso em: 3 jun. 2024. 2024

BRASIL. **BRASIL. Ministério da Saúde. O impacto da obesidade.** Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-brasil/eu-queroter-peso-saudavel/noticias/2022/o-impacto-da-obesidade>. Acesso em: 3 jun. 2024. 2022

BRASIL. **BRASIL. Ministério da Saúde. Fact sheet: cenário das doenças crônicas não transmissíveis - Vigil.** Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigitel/fact-sheet-cenario-das-doencas-cronicas-nao-transmissiveis>. Acesso em: 3 jun. 2024. 2022

BRUNO, A.; CONUS, S.; SCHMID, I.; SIMON, H.-U. Apoptotic pathways are inhibited by leptin receptor activation in neutrophils. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 174, 12, p. 8090–8096. 2005

BUSSO, N.; SO, A.; CHOBASZ-PÉCLAT, V.; MORARD, C.; MARTINEZ-SORIA, E.; TALABOT-AYER, D.; GABAY, C. Leptin signaling deficiency impairs humoral and cellular immune responses and attenuates experimental arthritis. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 168, 2, p. 875–882. 2002

CALDEFIE-CHEZET, F.; POULIN, A.; VASSON, M. P. Leptin regulates functional capacities of polymorphonuclear neutrophils. **Free radical research**. v. 37, 8, p. 809–814. 2003

CALGANI, A.; DELLE MONACHE, S.; CESARE, P.; VICENTINI, C.; BOLOGNA, M.; ANGELUCCI, A. Leptin contributes to long-term stabilization of HIF-1 α in cancer cells subjected to oxygen limiting conditions. **Cancer Letters**. v. 376, 1, p. 1–9. 2016

CAO, H.; HUANG, Y.; WANG, L.; WANG, H.; PANG, X.; LI, K.; DANG, W.; TANG, H.; WEI, L.; SU, M.; TANG, C.; CHEN, T. Leptin promotes migration and invasion of breast cancer cells by stimulating IL-8 production in M2 macrophages. **Oncotarget**. v. 7, 40, p.

65441–65453. 2016

CHEN, S.; ZHU, H.; JOUNAIDI, Y. Comprehensive snapshots of natural killer cells functions, signaling, molecular mechanisms and clinical utilization. **Signal Transduction and Targeted Therapy**. v. 9, 1. 2024

CHEN, X.; ALLAN, D. S. J.; KRZEWSKI, K.; GE, B.; KOPCOW, H.; STROMINGER, J. L. CD28-stimulated ERK2 phosphorylation is required for polarization of the microtubule organizing center and granules in YTS NK cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 103, 27, p. 10346. 2006

CHEN, X.; TRIVEDI, P. P.; GE, B.; KRZEWSKI, K.; STROMINGER, J. L. Many NK cell receptors activate ERK2 and JNK1 to trigger microtubule organizing center and granule polarization and cytotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 104, 15, p. 6329–6334. 2007

CHENG, M. I.; LI, J. H.; RIGGAN, L.; CHEN, B.; TAFTI, R. Y.; CHIN, S.; MA, F.; PELLEGRINI, M.; HRNCIR, H.; ARNOLD, A. P.; O’SULLIVAN, T. E.; SU, M. A. The X-linked epigenetic regulator UTX controls NK cell-intrinsic sex differences. **Nature Immunology** **2023 24:5**. v. 24, 5, p. 780–791. 2023

CHENG, M. I.; RIGGAN, L.; LI, J. H.; TAFTI, R. Y.; CHIN, S.; MA, F.; PELLEGRINI, M.; HRNCIR, H.; ARNOLD, A. P.; O’SULLIVAN, T. E.; SU, M. A. Sex differences in NK cells mediated by the X-linked epigenetic regulator UTX. **bioRxiv**. p. 2022.04.21.489076. 2022

CHO, S.; CHOI, S. H.; MAENG, E.; PARK, H.; RYU, K. S.; PARK, K. S. Boosting tumor homing of endogenous natural killer cells via therapeutic secretomes of chemically primed natural killer cells. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**. v. 13, 3. 2025

COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. **Archives of Medical Science : AMS**. v. 9, 2, p. 191. 2013

COËNON, L.; GEINDREAU, M.; GHIRINGHELLI, F.; VILLALBA, M.; BRUCHARD, M.

Natural Killer cells at the frontline in the fight against cancer. **Cell Death & Disease** **2024** **15**:8. v. 15, 8, p. 614-. 2024

CONDE, J.; SCOTECCE, M.; GÓMEZ, R.; GÓMEZ-REINO, J. J.; LAGO, F.; GUALILLO, O. At the crossroad between immunity and metabolism: focus on leptin. **Expert review of clinical immunology**. v. 6, 5, p. 801–808. 2010

CONUS, S.; BRUNO, A.; SIMON, H. U. Leptin is an eosinophil survival factor. **The Journal of allergy and clinical immunology**. v. 116, 6, p. 1228–1234. 2005

CÓZAR, B.; GREPPI, M.; CARPENTIER, S.; NARNI-MANCINELLI, E.; CHIOSSONE, L.; VIVIER, E. Tumor-Infiltrating Natural Killer Cells. **Cancer discovery**. v. 11, 1, p. 34–44. 2021

CUBITT, C. C.; WONG, P.; DORANDO, H. K.; FOLTZ, J. A.; TRAN, J.; MARSALA, L.; MARIN, N. D.; FOSTER, M.; SCHAPPE, T.; FATIMA, H.; BECKER-HAPAK, M.; ZHOU, A. Y.; HWANG, K.; JACOBS, M. T.; RUSSLER-GERMAIN, D. A.; MACE, E. M.; BERRIEN-ELLIOTT, M. M.; PAYTON, J. E.; FEHNIGER, T. A. Induced CD8 α identifies human NK cells with enhanced proliferative fitness and modulates NK cell activation. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 134, 15. 2024

DE ANDRADE, A. G.; COMBERLANG, F. C.; PEIXOTO, R. F.; PALMEIRA, P. H. de S.; AURELIANO, F. S.; GUIMARÃES CSORDAS, B.; CAVALCANTE-SILVA, L. H. A.; KEESEN, T. S. L. Natural and hybrid immunity: A comparative study of T cell response against SARS-CoV-2. **Clinical Immunology Communications**. v. 8, p. 38–53. 2025

DE ANDRADE, A. G.; VANDERLEY, S. E. R.; DE FARIAS MARQUES, L.; ALMEIDA, F. S.; CAVALCANTE-SILVA, L. H. A.; KEESEN, T. S. L. Leptin, NK cells, and the weight of immunity: Insights into obesity. **International Immunopharmacology**. v. 147, p. 113992. 2025

DE BARRA, C.; O'SHEA, D.; HOGAN, A. E. NK cells vs. obesity: A tale of dysfunction & redemption. **Clinical Immunology**. v. 255, p. 109744. 2023

DE CANDIA, P.; PRATTICHIZZO, F.; GARAVELLI, S.; ALVIGGI, C.; CAVA, A. La; MATARESE, G. The pleiotropic roles of leptin in metabolism, immunity, and cancer. **The Journal of Experimental Medicine**. v. 218, 5. 2021

DE ROSA, V.; PROCACCINI, C.; LA CAVA, A.; CHIEFFI, P.; NICOLETTI, G. F.; FONTANA, S.; ZAPPACOSTA, S.; MATARESE, G. Leptin neutralization interferes with pathogenic T cell autoreactivity in autoimmune encephalomyelitis. **Journal of Clinical Investigation**. v. 116, 2, p. 447. 2006

DE ROSA, V.; PROCACCINI, C.; LA CAVA, A.; CHIEFFI, P.; NICOLETTI, G. F.; FONTANA, S.; ZAPPACOSTA, S.; MATARESE, G. Leptin neutralization interferes with pathogenic T cell autoreactivity in autoimmune encephalomyelitis. **Journal of Clinical Investigation**. v. 116, 2, p. 447. 2006

DONNELLY, R. P.; LOFTUS, R. M.; KEATING, S. E.; LIOU, K. T.; BIRON, C. A.; GARDINER, C. M.; FINLAY, D. K. mTORC1-dependent metabolic reprogramming is a prerequisite for NK cell effector function. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 193, 9, p. 4477–4484. 2014

DOUROS, J. D.; BALTZEGAR, D. A.; READING, B. J.; SEALE, A. P.; LERNER, D. T.; GORDON GRAU, E.; BORSKI, R. J. Leptin Stimulates Cellular Glycolysis Through a STAT3 Dependent Mechanism in Tilapia. **Frontiers in endocrinology**. v. 9, AUG. 2018

DUARTE-SILVA, M.; OLIVEIRA, C. N. S.; FUZO, C.; SILVA-NETO, P. V.; TORO, D. M.; PIMENTEL, V. E.; PÉREZ, M. M.; FRAGA-SILVA, T. F. C.; CARVALHO, J. C. S.; NETO, F. M. S.; JÚNIOR, R. B. M.; ARRUDA, E.; VILAR, F. C.; DEGIOVANI, A. M.; OSTINI, F. M.; FEITOSA, M. R.; PARRA, R. S.; GASPAR, G. G.; ROCHA, J. J. R.; FERES, O.; FERNANDES, A. P. M.; MARUYAMA, S. R.; RUSSO, E. M. S.; BONATO, V. L. D.; SANTOS, I. K. F. M.; SORGI, C. A.; DIAS-BARUFFI, M.; FACCIOLI, L. H.; CARDOSO, C. R. B. Divergent androgenic modulation of SARS-CoV-2 infection cooperates with dysregulated immune response to dictate worse COVID-19 outcomes in men. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 114, p. 275–286. 2023

DUBÉ, N.; CHENG, A.; TREMBLAY, M. L. The role of protein tyrosine phosphatase 1B in Ras signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 101, 7, p. 1834–1839. 2004

ELARABY, E.; MALEK, A. I.; ABDULLAH, H. W.; ELEMAM, N. M.; SABER-AYAD, M.; TALAAT, I. M. Natural Killer Cell Dysfunction in Obese Patients with Breast Cancer: A Review of a Triad and Its Implications. **Journal of Immunology Research**. v. 2021, p. 9972927. 2021

ELIEH ALI KOMI, D.; SHAFAGHAT, F.; CHRISTIAN, M. Crosstalk Between Mast Cells and Adipocytes in Physiologic and Pathologic Conditions. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology** **2020 58:3**. v. 58, 3, p. 388–400. 2020

FAZOLINI, N. P. B.; CRUZ, A. L. S.; WERNECK, M. B. F.; VIOL, J. P. B.; MAYA-MONTEIRO, C. M.; BOZZA, P. T. Leptin activation of mTOR pathway in intestinal epithelial cell triggers lipid droplet formation, cytokine production, and increased cell proliferation. **Cell Cycle**. v. 14, 16, p. 2667. 2015

FEDOR, A.; BRYNIARSKI, K.; NAZIMEK, K. mTOR Signaling in Macrophages: All Depends on the Context. **International Journal of Molecular Sciences** **2025, Vol. 26, Page 7598**. v. 26, 15, p. 7598. 2025

FLAK, J. N.; MYERS, M. G. Minireview: CNS Mechanisms of Leptin Action. **Molecular Endocrinology**. v. 30, 1, p. 3–12. 2016

FONG, H.; ZHENG, J.; KURRASCH, D. The structural and functional complexity of the integrative hypothalamus. **Science (New York, N.Y.)**. v. 382, 6669, p. 388–394. 2023

FRASCA, D.; DIAZ, A.; ROMERO, M.; BLOMBERG, B. B. Leptin induces immunosenescence in human B cells. **Cellular immunology**. v. 348, p. 103994. 2019

GELSOMINO, L.; NAIMO, G. D.; MALIVINDI, R.; AUGIMERI, G.; PANZA, S.; GIORDANO, C.; BARONE, I.; BONOFIGLIO, D.; MAURO, L.; CATALANO, S.; ANDÒ,

S. Knockdown of Leptin Receptor Affects Macrophage Phenotype in the Tumor Microenvironment Inhibiting Breast Cancer Growth and Progression. **Cancers**. v. 12, 8, p. 1–20. 2020

GERRIETS, V. A.; DANZAKI, K.; KISHTON, R. J.; EISNER, W.; NICHOLS, A. G.; SAUCILLO, D. C.; SHINOHARA, M. L.; MACIVER, N. J. Leptin Directly Promotes T Cell Glycolytic Metabolism to Drive Effector T cell Differentiation in Autoimmunity. **European journal of immunology**. v. 46, 8, p. 1970. 2016

GONZÁLEZ-MUNIESA, P.; MÁRTINEZ-GONZÁLEZ, M. A.; HU, F. B.; DESPRÉS, J. P.; MATSUZAWA, Y.; LOOS, R. J. F.; MORENO, L. A.; BRAY, G. A.; MARTINEZ, J. A. Obesity. **Nature Reviews Disease Primers** 2017 3:1. v. 3, 1, p. 1–18. 2017

GORSKA, E.; POPKO, K.; STELMASZCZYK-EMMEL, A.; CIEPIELA, O.; KUCHARSKA, A.; WASIK, M. Leptin receptors. **European Journal of Medical Research**. v. 15, Suppl 2, p. 50. 2010

GRUEN, M. L.; HAO, M.; PISTON, D. W.; HASTY, A. H. Leptin requires canonical migratory signaling pathways for induction of monocyte and macrophage chemotaxis. **American journal of physiology. Cell physiology**. v. 293, 5. 2007

GRUZDEVA, O.; BORODKINA, D.; UCHASOVA, E.; DYLEVA, Y.; BARBARASH, O. Leptin resistance: underlying mechanisms and diagnosis. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**. v. 12, p. 191. 2019

HADAD, U.; THAULAND, T. J.; MARTINEZ, O. M.; BUTTE, M. J.; PORGADOR, A.; KRAMS, S. M. NKp46 clusters at the immune synapse and regulate NK cell polarization. **Frontiers in Immunology**. v. 6, SEP, p. 495. 2015

HALLOWELL, R. W.; COLLINS, S. L.; CRAIG, J. M.; ZHANG, Y.; OH, M.; ILLEI, P. B.; CHAN-LI, Y.; VIGELAND, C. L.; MITZNER, W.; SCOTT, A. L.; POWELL, J. D.; HORTON, M. R. MTORC2 signalling regulates M2 macrophage differentiation in response to helminth infection and adaptive thermogenesis. **Nature Communications**. v. 8, 1, p. 1–11.

2017

HALOUL, M.; OLIVEIRA, E. R. A.; KADER, M.; WELLS, J. Z.; TOMINELLO, T. R.; EL ANDALOUSSI, A.; YATES, C. C.; ISMAIL, N. mTORC1-mediated polarization of M1 macrophages and their accumulation in the liver correlate with immunopathology in fatal ehrlichiosis. **Scientific Reports**. v. 9, 1, p. 1–13. 2019

HAYNES, B. F.; SEMPOWSKI, G. D.; HICK, R. W.; GRUVER, A. L.; VENTVOGEL, M. S. Lipopolysaccharide-Induced Thymic Atrophy, Leptin Deficiency, and Leptin Selectively Augments Thymopoiesis in. **J Immunol References**. v. 177, p. 169–176. 2006

HELLSTRÖM, L.; WAHRENBERG, H.; HRUSKA, K.; REYNISDOTTIR, S.; ARNER, P. Mechanisms behind gender differences in circulating leptin levels. **Journal of internal medicine**. v. 247, 4, p. 457–462. 2000

HUANG, S. C. C.; SMITH, A. M.; EVERTS, B.; COLONNA, M.; PEARCE, E. L.; SCHILLING, J. D.; PEARCE, E. J. Metabolic Reprogramming Mediated by the mTORC2-IRF4 Signaling Axis Is Essential for Macrophage Alternative Activation. **Immunity**. v. 45, 4, p. 817–830. 2016

HUANG, Z.; CHEN, B.; LIU, X.; LI, H.; XIE, L.; GAO, Y.; DUAN, R.; LI, Z.; ZHANG, J.; ZHENG, Y.; SU, W. Effects of sex and aging on the immune cell landscape as assessed by single-cell transcriptomic analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 118, 33, p. e2023216118. 2021

HWA, J. J.; GHIBAUDI, L.; COMPTON, D.; FAWZI, A. B.; STRADER, C. D. Intracerebroventricular injection of leptin increases thermogenesis and mobilizes fat metabolism in ob/ob mice. **Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme**. v. 28, 12, p. 659–663. 1996

IZQUIERDO, A. G.; CRUJEIRAS, A. B.; CASANUEVA, F. F.; CARREIRA, M. C. Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? **Nutrients**. v. 11, 11. 2019

JAHN, J.; SPIELAU, M.; BRANDSCH, C.; STANGL, G. I.; DELANK, K. S.; BÄHR, I.; BERREIS, T.; WRANN, C. D.; KIELSTEIN, H. Decreased NK cell functions in obesity can be reactivated by fat mass reduction. **Obesity**. v. 23, 11, p. 2233–2241. 2015

JIANG, H.; JIANG, J. Balancing act: the complex role of NK cells in immune regulation. **Frontiers in Immunology**. v. 14, p. 1275028. 2023

JONES, R. G.; PEARCE, E. J. MenTORing Immunity: mTOR Signaling in the Development and Function of Tissue-Resident Immune Cells. **Immunity**. v. 46, 5, p. 730–742. 2017

KAUR, K.; CHANG, H. H.; TOPCHYAN, P.; COOK, J. M.; BARKHORDARIAN, A.; EIBL, G.; JEWETT, A. Deficiencies in natural killer cell numbers, expansion, and function at the pre-neoplastic stage of pancreatic cancer by KRAS mutation in the pancreas of obese mice. **Frontiers in Immunology**. v. 9, JUN, p. 1229. 2018

KENNEDY, P. R.; ARVINDAM, U. S.; PHUNG, S. K.; ETTESTAD, B.; FENG, X.; LI, Y.; KILE, Q. M.; HINDERLIE, P.; KHAW, M.; HUANG, R. S.; KAUFMAN, M.; PUCHALSKA, P.; RUSSELL, A.; BUTLER, J.; ABBOTT, L.; MCCLURE, P.; LUO, X.; LU, Q. T.; BLAZAR, B. R.; CRAWFORD, P. A.; LIM, J.; MILLER, J. S.; FELICES, M. Metabolic programs drive function of therapeutic NK cells in hypoxic tumor environments. **Science Advances** . v. 10, 44, p. 1849. 2024

KERAMAT, S. A.; ALAM, K.; RANA, R. H.; CHOWDHURY, R.; FARJANA, F.; HASHMI, R.; GOW, J.; BIDDLE, S. J. H. Obesity and the risk of developing chronic diseases in middle-aged and older adults: Findings from an Australian longitudinal population survey, 2009–2017. **PLoS ONE**. v. 16, 11. 2021

KIERNAN, K.; MACIVER, N. J. The Role of the Adipokine Leptin in Immune Cell Function in Health and Disease. **Frontiers in Immunology**. v. 11, p. 622468. 2021

KIERNAN, K.; NICHOLS, A. G.; ALWARAWRAH, Y.; MACIVER, N. J. Effects of T cell leptin signaling on systemic glucose tolerance and T cell responses in obesity. **PLOS ONE**. v. 18, 6, p. e0286470. 2023

KIGUCHI, N.; MAEDA, T.; KOBAYASHI, Y.; FUKAZAWA, Y.; KISHIOKA, S. Leptin enhances CC-chemokine ligand expression in cultured murine macrophage. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 384, 3, p. 311–315. 2009

KLEIN, S. L.; FLANAGAN, K. L. Sex differences in immune responses. **Nature Reviews Immunology**. v. 16, 10, p. 626–638. 2016

KRISHNAN, N.; BONHAM, C. A.; RUS, I. A.; SHRESTHA, O. K.; GAUSS, C. M.; HAQUE, A.; TOCILJ, A.; JOSHUA-TOR, L.; TONKS, N. K. Harnessing insulin- and leptin-induced oxidation of PTP1B for therapeutic development. **Nature Communications** 2018 9:1. v. 9, 1, p. 1–17. 2018

KUMAR, S. Natural killer cell cytotoxicity and its regulation by inhibitory receptors. **Immunology**. v. 154, 3, p. 383. 2018

LA CAVA, A. Leptin in inflammation and autoimmunity. **Cytokine**. v. 98, p. 51. 2017

LA CAVA, A.; MATARESE, G. The weight of leptin in immunity. **Nature Reviews Immunology**. v. 4, 5, p. 371–379. 2004

LAM, Q. L. K.; LIU, S.; CAO, X.; LU, L. Involvement of leptin signaling in the survival and maturation of bone marrow-derived dendritic cells. **European journal of immunology**. v. 36, 12, p. 3118–3130. 2006

LAM, Q. L. K.; LIU, S.; CAO, X.; LU, L. Involvement of leptin signaling in the survival and maturation of bone marrow-derived dendritic cells. **European journal of immunology**. v. 36, 12, p. 3118–3130. 2006

LAMAS, B.; NACHAT-KAPPES, R.; GONCALVES-MENDES, N.; MISHELLANY, F.; ROSSARY, A.; VASSON, M. P.; FARGES, M. C. Dietary fat without body weight gain increases in vivo MCF-7 human breast cancer cell growth and decreases natural killer cell cytotoxicity. **Molecular carcinogenesis**. v. 54, 1, p. 58–71. 2015

LAMAS, O.; MARTÍNEZ, J. A.; MARTI, A. Energy restriction restores the impaired immune response in overweight (cafeteria) rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 15, 7, p. 418–425. 2004

LAUE, T.; WRANN, C. D.; HOFFMANN-CASTENDIEK, B.; PIETSCH, D.; HÜBNER, L.; KIELSTEIN, H. Altered NK cell function in obese healthy humans. **BMC obesity**. v. 2, 1. 2015

LI, C.; GE, B.; NICOTRA, M.; STERN, J. N. H.; KOPCOW, H. D.; CHEN, X.; STROMINGER, J. L. JNK MAP kinase activation is required for MTOC and granule polarization in NKG2D-mediated NK cell cytotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 105, 8, p. 3017–3022. 2008

LI, K.; WEI, L.; HUANG, Y.; WU, Y.; SU, M.; PANG, X.; WANG, N.; JI, F.; ZHONG, C.; CHEN, T. Leptin promotes breast cancer cell migration and invasion via IL-18 expression and secretion. **International journal of oncology**. v. 48, 6, p. 2479–2487. 2016

LI, X.; HONG, L.; RU, M. H.; CAI, R.; MENG, Y.; WANG, B.; DIAO, H.; LI, L.; WU, Z. S100A8/A9-activated IFN γ + NK cells trigger β -cell necroptosis in hepatitis B virus-associated liver cirrhosis. **Cellular and Molecular Life Sciences** **2024 81:1**. v. 81, 1, p. 345-. 2024

LI, X.; ZHANG, M.; CAI, S.; WU, Y.; YOU, Y.; WANG, X.; WANG, L. Concentration-Dependent Decitabine Effects on Primary NK Cells Viability, Phenotype, and Function in the Absence of Obvious NK Cells Proliferation—Original Article. **Frontiers in Pharmacology**. v. 12. 2021

LIU, Y.; YU, Y.; MATARESE, G.; CAVA, A. La. Fasting-induced hypoleptinemia expands functional regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. **Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 188, 5, p. 2070. 2012

LO, C. K. C.; LAM, Q. L. K.; YANG, M.; KO, K. H.; SUN, L.; MA, R.; WANG, S.; XU, H.; TAM, S.; WU, C. Y.; ZHENG, B. J.; LU, L. Leptin signaling protects NK cells from apoptosis during development in mouse bone marrow. **Cellular & molecular immunology**. v. 6, 5, p.

353–360. 2009

MACIA, L.; DELACRE, M.; ABBOUD, G.; OUK, T.-S.; DELANOYE, A.; VERWAERDE, C.; SAULE, P.; WOLOWCZUK, I. Impairment of dendritic cell functionality and steady-state number in obese mice. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 177, 9, p. 5997–6006. 2006

MAH, A. Y.; COOPER, M. A. Metabolic Regulation of Natural Killer Cell IFN- γ Production. **Critical reviews in immunology**. v. 36, 2, p. 131. 2016

MANCUSO, P.; GOTTSCHALK, A.; PHARE, S. M.; PETERS-GOLDEN, M.; LUKACS, N. W.; HUFFNAGLE, G. B. Leptin-Deficient Mice Exhibit Impaired Host Defense in Gram-Negative Pneumonia. **The Journal of Immunology**. v. 168, 8, p. 4018–4024. 2002

MARÇAIS, A.; MAROTEL, M.; DEGOUVE, S.; KOENIG, A.; FAUTEUX-DANIEL, S.; DROUILLARD, A.; SCHLUMS, H.; VIEL, S.; BESSON, L.; ALLATIF, O.; BLÉRY, M.; VIVIER, E.; BRYCESON, Y.; THAUNAT, O.; WALZER, T. High mTOR activity is a hallmark of reactive natural killer cells and amplifies early signaling through activating receptors. **eLife**. v. 6, p. e26423. 2017

MARTÍN-ROMERO, C.; SANTOS-ALVAREZ, J.; GOBERNA, R.; SÁNCHEZ-MARGALET, V. Human leptin enhances activation and proliferation of human circulating T lymphocytes. **Cellular Immunology**. v. 199, 1, p. 15–24. 2000

MATARESE, G.; CARRIERI, P. B.; LA CAVA, A.; PERNA, F.; SANNA, V.; DE ROSA, V.; AUFIERO, D.; FONTANA, S.; ZAPPACOSTA, S. Leptin increase in multiple sclerosis associates with reduced number of CD4+CD25+ regulatory T cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 102, 14, p. 5150–5155. 2005

MATTIOLI, B.; STRAFACE, E.; QUARANTA, M. G.; GIORDANI, L.; VIORA, M. Leptin promotes differentiation and survival of human dendritic cells and licenses them for Th1 priming. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 174, 11, p. 6820–6828. 2005

MICHELET, X.; DYCK, L.; HOGAN, A.; LOFTUS, R. M.; DUQUETTE, D.; WEI, K.; BEYAZ, S.; TAVAKKOLI, A.; FOLEY, C.; DONNELLY, R.; O'FARRELLY, C.; RAVERDEAU, M.; VERNON, A.; PETTEE, W.; O'SHEA, D.; NIKOLAJCZYK, B. S.; MILLS, K. H. G.; BRENNER, M. B.; FINLAY, D.; LYNCH, L. Metabolic reprogramming of natural killer cells in obesity limits antitumor responses. **Nature Immunology** **2018** **19:12**. v. 19, 12, p. 1330–1340. 2018

MISHEVA, M.; JOHNSON, J.; MCCULLAGH, J. Role of Oxylipins in the Inflammatory-Related Diseases NAFLD, Obesity, and Type 2 Diabetes. **Metabolites**. v. 12, 12. 2022

MONTAGUE, C. T.; FAROOQI, I. S.; WHITEHEAD, J. P.; SOOS, M. A.; RAU, H.; WAREHAM, N. J.; SEWTER, C. P.; DIGBY, J. E.; MOHAMMED, S. N.; HURST, J. A.; CHEETHAM, C. H.; EARLEY, A. R.; BARNETT, A. H.; PRINS, J. B.; O'RAHILLY, S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. **Nature**. v. 387, 6636, p. 903–908. 1997

MONTEIRO, L.; PEREIRA, J. A. da S.; PALHINHA, L.; MORAES-VIEIRA, P. M. M. Leptin in the regulation of the immunometabolism of adipose tissue-macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**. v. 106, 3, p. 703–716. 2019

MORI, H.; HANADA, R.; HANADA, T.; AKI, D.; MASHIMA, R.; NISHINAKAMURA, H.; TORISU, T.; CHIEN, K. R.; YASUKAWA, H.; YOSHIMURA, A. Socs3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity. **Nature Medicine** **2004** **10:7**. v. 10, 7, p. 739–743. 2004

MYERS, M. G.; MÜNZBERG, H.; LEINNINGER, G. M.; LESHAN, R. L. The Geometry of Leptin Action in the Brain: More Complicated Than a Simple ARC. **Cell Metabolism**. v. 9, 2, p. 117–123. 2009

NASIMIAN, A.; TAHERIPAK, G.; GORGANI-FIRUZJAEI, S.; SADEGHI, A.; MESHKANI, R. Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) modulates palmitate-induced cytokine production in macrophage cells. **Inflammation Research**. v. 62, 2, p. 239–246. 2013

NAUJOKS, W.; QUANDT, D.; HAUFFE, A.; KIELSTEIN, H.; BÄHR, I.; SPIELMANN, J. Characterization of Surface Receptor Expression and Cytotoxicity of Human NK Cells and NK Cell Subsets in Overweight and Obese Humans. **Frontiers in Immunology**. v. 11, p. 573200. 2020

NAVE, H.; MUELLER, G.; SIEGMUND, B.; JACOBS, R.; STROH, T.; SCHUELER, U.; HOPFE, M.; BEHRENDT, P.; BUCHENAUER, T.; PABST, R.; BRABANT, G. Resistance of Janus kinase-2 dependent leptin signaling in natural killer (NK) cells: a novel mechanism of NK cell dysfunction in diet-induced obesity. **Endocrinology**. v. 149, 7, p. 3370–3378. 2008

NAYLOR, C.; BURGESS, S.; MADAN, R.; BUONOMO, E.; RAZZAQ, K.; RALSTON, K.; PETRI, W. A. Leptin receptor mutation results in defective neutrophil recruitment to the colon during *Entamoeba histolytica* infection. **mBio**. v. 5, 6. 2014

NAYLOR, C.; PETRI, W. A. Leptin Regulation of Immune Responses. **Trends in molecular medicine**. v. 22, 2, p. 88–98. 2016

OBRADOVIC, M.; SUDAR-MILOVANOVIC, E.; SOSKIC, S.; ESSACK, M.; ARYA, S.; STEWART, A. J.; GOJOBORI, T.; ISENOVIC, E. R. Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. **Frontiers in Endocrinology**. v. 12. 2021

OCHAYON, D. E.; ALI, A.; ALARCON, P. C.; KRISHNAMURTHY, D.; KOTTYAN, L. C.; BORCHERS, M. T.; WAGGONER, S. N. IL-33 promotes type 1 cytokine expression via p38 MAPK in human NK cells. **Journal of Leukocyte Biology**. v. 107, 4, p. 663–671. 2020

O'SHEA, D.; CAWOOD, T. J.; O'FARRELLY, C.; LYNCH, L. Natural killer cells in obesity: impaired function and increased susceptibility to the effects of cigarette smoke. **PloS one**. v. 5, 1. 2010

O'SHEA, D.; HOGAN, A. E. Dysregulation of Natural Killer Cells in Obesity. **Cancers**. v. 11, 4. 2019

OZATA, M.; OZDEMIR, I. C.; LICINIO, J. Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**. v. 84, 10, p. 3686–3695. 1999

PASCHOAL, V. A.; BELCHIOR, T.; AMANO, M. T.; BURGOS-SILVA, M.; PEIXOTO, A. S.; MAGDALON, J.; VIEIRA, T. S.; ANDRADE, M. L.; MORENO, M. F.; CHIMIN, P.; CÂMARA, N. O.; FESTUCCIA, W. T. Constitutive Activation of the Nutrient Sensor mTORC1 in Myeloid Cells Induced by Tsc1 Deletion Protects Mice from Diet-Induced Obesity. **Molecular nutrition & food research**. v. 62, 17. 2018

PÉREZ-PÉREZ, A.; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, F.; VILARIÑO-GARCÍA, T.; SÁNCHEZ-MARGALET, V. Role of Leptin in Inflammation and Vice Versa. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 21, 16, p. 1–24. 2020

PHELPS, N. H.; SINGLETON, R. K.; ZHOU, B.; et al. Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. **The Lancet**. v. 403, 10431, p. 1027–1050. 2024

PINI, M.; FANTUZZI, G. Enhanced production of IL-17A during zymosan-induced peritonitis in obese mice. **Journal of leukocyte biology**. v. 87, 1, p. 51–58. 2010

PINI, M.; GOVE, M. E.; SENNELLO, J. A.; VAN BAAL, J. W. P. M.; CHAN, L.; FANTUZZI, G. Role and regulation of adipokines during zymosan-induced peritoneal inflammation in mice. **Endocrinology**. v. 149, 8, p. 4080–4085. 2008

PRAGER, I.; WATZL, C. Mechanisms of natural killer cell-mediated cellular cytotoxicity. **Journal of Leukocyte Biology**. v. 105, 6, p. 1319–1329. 2019

PRATHER, A. A.; CARROLL, J. E.; FURY, J. M.; MCDADE, K. K.; ROSS, D.; MARSLAND, A. L. Gender differences in stimulated cytokine production following acute psychological stress. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 23, 5, p. 622–628. 2009

PROCACCINI, C.; DE ROSA, V.; GALGANI, M.; ABANNI, L.; CALÌ, G.; PORCELLINI, A.; CARBONE, F.; FONTANA, S.; HORVATH, T. L.; LA CAVA, A.; MATARESE, G. An oscillatory switch in mTOR kinase activity sets regulatory T cell responsiveness. **Immunity**. v. 33, 6, p. 929–941. 2010

PUJANTELL, M.; ALTFELD, M. Consequences of sex differences in Type I IFN responses for the regulation of antiviral immunity. **Frontiers in Immunology**. v. 13, p. 986840. 2022

READ, N. E.; WILSON, H. M. Recent Developments in the Role of Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) as a Regulator of Immune Cell Signalling in Health and Disease. **International Journal of Molecular Sciences** 2024, Vol. 25, Page 7207. v. 25, 13, p. 7207. 2024

REIS, B. S.; LEE, K.; FANOK, M. H.; MASCARAQUE, C.; AMOURY, M.; COHN, L. B.; ROGOZ, A.; DALLNER, O. S.; MORAES-VIEIRA, P. M.; DOMINGOS, A. I.; MUCIDA, D. Leptin receptor signaling in T cells is required for Th17 differentiation. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 194, 11, p. 5253. 2015

RING, L. E.; ZELTSER, L. M. Disruption of hypothalamic leptin signaling in mice leads to early-onset obesity, but physiological adaptations in mature animals stabilize adiposity levels. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 120, 8, p. 2931. 2010

SABAG, B.; PUTHENVEETIL, A.; LEVY, M.; JOSEPH, N.; DONIGER, T.; YARON, O.; KARAKO-LAMPERT, S.; LAZAR, I.; AWWAD, F.; ASHKENAZI, S.; BARDA-SAAD, M. Dysfunctional natural killer cells can be reprogrammed to regain anti-tumor activity. **The EMBO Journal**. v. 43, 13, p. 2552. 2024

SÁNCHEZ-MARGALET, V.; FERNÁNDEZ-RIEJOS, P.; NAJIB, S.; SANTOS-ALVAREZ, J.; MARTÍN-ROMERO, C.; PÉREZ-PÉREZ, A.; GONZÁLEZ-YANES, C. Role of leptin in the activation of immune cells. **Mediators of inflammation**. v. 2010. 2010

SAUCILLO, D. C.; GERRIETS, V. A.; SHENG, J.; RATHMELL, J. C.; MACIVER, N. J.

Leptin Metabolically Licenses T Cells for Activation to Link Nutrition and Immunity. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 192, 1, p. 10.4049/jimmunol.1301158. 2013

SAXTON, R. A.; CAVENEY, N. A.; MOYA-GARZON, M. D.; HOUSEHOLDER, K. D.; RODRIGUEZ, G. E.; BURDSALL, K. A.; LONG, J. Z.; GARCIA, K. C. Structural insights into the mechanism of leptin receptor activation. **Nature Communications** **2023 14:1**. v. 14, 1, p. 1–10. 2023

SCANGA, C. B.; VERDE, T. J.; PAOLONE, A. M.; ANDERSEN, R. E.; WADDEN, T. A. Effects of weight loss and exercise training on natural killer cell activity in obese women. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 30, 12, p. 1666–1671. 1998

SCOTT, A. J.; O'DEA, K. P.; O'CALLAGHAN, D.; WILLIAMS, L.; DOKPESI, J. O.; TATTON, L.; HANDY, J. M.; HOGG, P. J.; TAKATA, M. Reactive Oxygen Species and p38 Mitogen-activated Protein Kinase Mediate Tumor Necrosis Factor α -Converting Enzyme (TACE/ADAM-17) Activation in Primary Human Monocytes. **Journal of Biological Chemistry**. v. 286, 41, p. 35466–35476. 2011

SHAIKH, S. R.; BECK, M. A.; ALWARAWRAH, Y.; MACIVER, N. J. Emerging mechanisms of obesity-associated immune dysfunction. **Nature Reviews Endocrinology** **2023 20:3**. v. 20, 3, p. 136–148. 2023

SHEN, J.; SAKAIDA, I.; UCHIDA, K.; TERA, S.; OKITA, K. Leptin enhances TNF- α production via p38 and JNK MAPK in LPS-stimulated Kupffer cells. **Life Sciences**. v. 77, 13, p. 1502–1515. 2005

SHOAE-HASSANI, A.; BEHFAR, M.; MORTAZAVI-TABATABAEI, S. A.; AI, J.; MOHSENI, R.; HAMIDIEH, A. A. Natural killer cells from the subcutaneous adipose tissue underexpress the NKp30 and NKp44 in obese persons and are less active against major histocompatibility complex class I non-expressing neoplastic cells. **Frontiers in Immunology**. v. 8, NOV, p. 289999. 2017

SIMAR, D.; VERSTEYHE, S.; DONKIN, I.; LIU, J.; HESSON, L.; NYLANDER, V.;

FOSSUM, A.; BARRÈS, R. DNA methylation is altered in B and NK lymphocytes in obese and type 2 diabetic humans. **Metabolism: Clinical and Experimental**. v. 63, 9, p. 1188–1197. 2014

SIVORI, S.; VACCA, P.; DEL ZOTTO, G.; MUNARI, E.; MINGARI, M. C.; MORETTA, L. Human NK cells: surface receptors, inhibitory checkpoints, and translational applications. **Cellular & Molecular Immunology** 2019 16:5. v. 16, 5, p. 430–441. 2019

SOUZA-ALMEIDA, G.; D'AVILA, H.; ALMEIDA, P. E.; LUNA-GOMES, T.; LIECHOCKI, S.; WALZOG, B.; HEPPER, I.; CASTRO-FARIA-NETO, H. C.; BOZZA, P. T.; BANDEIRA-MELO, C.; MAYA-MONTEIRO, C. M. Leptin mediates in vivo neutrophil migration: Involvement of tumor necrosis factor-alpha and CXCL1. **Frontiers in Immunology**. v. 9, FEB, p. 317383. 2018

SOUZA-ALMEIDA, G.; PALHINHA, L.; LIECHOCKI, S.; DA SILVA PEREIRA, J. A.; REIS, P. A.; DIB, P. R. B.; HOTTZ, E. D.; GAMEIRO, J.; VALLOCHI, A. L.; DE ALMEIDA, C. J.; CASTRO-FARIA-NETO, H.; BOZZA, P. T.; MAYA-MONTEIRO, C. M. Peripheral leptin signaling persists in innate immune cells during diet-induced obesity. **Journal of Leukocyte Biology**. v. 109, 6, p. 1131–1138. 2021

SPIELMANN, J.; MATTHEIS, L.; JUNG, J. S.; RAUSSE, H.; GLASS, M.; BÄHR, I.; QUANDT, D.; OSWALD, J.; KIELSTEIN, H. Effects of obesity on NK cells in a mouse model of postmenopausal breast cancer. **Scientific Reports** 2020 10:1. v. 10, 1, p. 1–14. 2020

TAN, B.; HEDBACKER, K.; KELLY, L.; ZHANG, Z.; MOURA-ASSIS, A.; LUO, J. D.; RABINOWITZ, J. D.; FRIEDMAN, J. M. A cellular and molecular basis of leptin resistance. **Cell Metabolism**. v. 37, 3, p. 723-741.e6. 2025

TAO, Z.; ZHENG, L. D.; SMITH, C.; LUO, J.; ROBINSON, A.; ALMEIDA, F. A.; WANG, Z.; OLUMI, A. F.; LIU, D.; CHENG, Z. Estradiol signaling mediates gender difference in visceral adiposity via autophagy. **Cell death & disease**. v. 9, 3. 2018

TENG, R.; WANG, Y.; LV, N.; ZHANG, D.; WILLIAMSON, R. A.; LEI, L.; CHEN, P.; LEI,

L.; WANG, B.; FU, J.; LIU, X.; HE, A.; O'DWYER, M.; HU, J. Hypoxia Impairs NK Cell Cytotoxicity through SHP-1-Mediated Attenuation of STAT3 and ERK Signaling Pathways. **Journal of Immunology Research**. v. 2020, 1, p. 4598476. 2020

THOMAS, A. L.; ALARCON, P. C.; DIVANOVIC, S.; CHOUGNET, C. A.; HILDEMAN, D. A.; MORENO-FERNANDEZ, M. E. Implications of Inflammatory States on Dysfunctional Immune Responses in Aging and Obesity. **Frontiers in Aging**. v. 2, p. 732414. 2021

TIAN, Z.; SUN, R.; WEI, H.; GAO, B. Impaired natural killer (NK) cell activity in leptin receptor deficient mice: Leptin as a critical regulator in NK cell development and activation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 298, 3, p. 297–302. 2002

TOSELLO-TRAMPONT, A.; SURETTE, F. A.; EWALD, S. E.; HAHN, Y. S. Immunoregulatory Role of NK Cells in Tissue Inflammation and Regeneration. **Frontiers in Immunology**. v. 8, MAR, p. 301. 2017

TSIOTRA, P. C.; PAPPA, V.; RAPTIS, S. A.; TSIGOS, C. Expression of the long and short leptin receptor isoforms in peripheral blood mononuclear cells: implications for leptin's actions. **Metabolism: clinical and experimental**. v. 49, 12, p. 1537–1541. 2000

UBAGS, N. D.; VERNOOY, J. H.; BURG, E.; HAYES, C.; BEMENT, J.; DILLI, E.; ZABEAU, L.; ABRAHAM, E.; POCH, K. R.; NICK, J. A.; DIENZ, O.; ZUÑIGA, J.; WARGO, M. J.; MIZGERD, J. P.; TAVERNIER, J.; RINCÓN, M.; POYNTER, M. E.; WOUTERS, E. F. M.; SURATT, B. T. The role of leptin in the development of pulmonary neutrophilia in infection and Acute Lung Injury. **Critical care medicine**. v. 42, 2, p. e143. 2014

VIEL, S.; BESSON, L.; CHARRIER, E.; MARÇAIS, A.; DISSE, E.; BIENVENU, J.; WALZER, T.; DUMONTET, C. Alteration of Natural Killer cell phenotype and function in obese individuals. **Clinical Immunology**. v. 177, p. 12–17. 2017

VOLTA, V.; ERNLUND, A.; GADI, A.; VALETA-MAGARA, A.; DE LA PARRA, C.; PATEL, P.; SCHNEIDER, R. J. Abstract A26: mTOR inhibition promotes differentiation of human regulatory T cells via privileged mRNA translation. **Molecular Cancer Research**. v.

18, 10_Supplement, p. A26–A26. 2020

WANG, C.; MA, J.; XU, M.; GAO, J.; ZHAO, W.; YAO, Y.; SHANG, Q. mTORC1 signaling pathway regulates macrophages in choroidal neovascularization. **Molecular Immunology**. v. 121, p. 72–80. 2020

WANG, F.; MENG, M.; MO, B.; YANG, Y.; JI, Y.; HUANG, P.; LAI, W.; PAN, X.; YOU, T.; LUO, H.; GUAN, X.; DENG, Y.; YUAN, S.; CHU, J.; NAMAKA, M.; HUGHES, T.; YE, L.; YU, J.; LI, X.; DENG, Y. Crosstalks between mTORC1 and mTORC2 variagate cytokine signaling to control NK maturation and effector function. **Nature Communications**. v. 9, 1. 2018

WHITE, C. L.; WHITTINGTON, A.; BARNES, M. J.; WANG, Z.; BRAY, G. A.; MORRISON, C. D. HF diets increase hypothalamic PTP1B and induce leptin resistance through both leptin-dependent and -independent mechanisms. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**. v. 296, 2, p. E291. 2009

WRANN, C. D.; LAUE, T.; HÜBNER, L.; KUHLMANN, S.; JACOBS, R.; GOUDEVA, L.; NAVE, H. Short-term and long-term leptin exposure differentially affect human natural killer cell immune functions. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**. v. 302, 1, p. 108–116. 2012

YAN, S.; DONG, J.; QIAN, C.; CHEN, S.; XU, Q.; LEI, H.; WANG, X. The mTORC1 Signaling Support Cellular Metabolism to Dictate Decidual NK Cells Function in Early Pregnancy. **Frontiers in Immunology**. v. 13, p. 771732. 2022

YANG, C.; MALARKANNAN, S. Transcriptional Regulation of NK Cell Development by mTOR Complexes. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**. v. 8, p. 566090. 2020

YANG, C.; TSAIH, S. W.; LEMKE, A.; FLISTER, M. J.; THAKAR, M. S.; MALARKANNAN, S. mTORC1 and mTORC2 differentially promote natural killer cell development. **eLife**. v. 7. 2018

YANG, S.; WANG, H.; LI, D.; LI, M.; YANG, S.; WANG, H.; LI, D.; LI, M. An Estrogen–NK Cells Regulatory Axis in Endometriosis, Related Infertility, and Miscarriage. **International Journal of Molecular Sciences** **2024**, Vol. **25**,. v. 25, 6. 2024

YANG, Z.; HULVER, M.; MCMILLAN, R. P.; CAI, L.; KERSHAW, E. E.; YU, L.; XUE, B.; SHI, H. Regulation of Insulin and Leptin Signaling by Muscle Suppressor of Cytokine Signaling 3 (SOCS3). **PLOS ONE**. v. 7, 10, p. e47493. 2012

ZARKESH-ESFAHANI, H.; POCKLEY, A. G.; WU, Z.; HELLEWELL, P. G.; WEETMAN, A. P.; ROSS, R. J. M. Leptin indirectly activates human neutrophils via induction of TNF- α . **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**. v. 172, 3, p. 1809–1814. 2004

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature** **1994** **372:6505**. v. 372, 6505, p. 425–432. 1994

ZHAO, S.; LIU, Y.; HE, L.; LI, Y.; LIN, K.; KANG, Q.; LIU, L.; ZOU, H. Gallbladder Cancer Cell-Derived Exosome-Mediated Transfer of Leptin Promotes Cell Invasion and Migration by Modulating STAT3-Mediated M2 Macrophage Polarization. **Analytical cellular pathology (Amsterdam)**. v. 2022. 2022

ZHAO, Y.; SUN, R.; YOU, L.; GAO, C.; TIAN, Z. Expression of leptin receptors and response to leptin stimulation of human natural killer cell lines. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 300, 2, p. 247–252. 2003

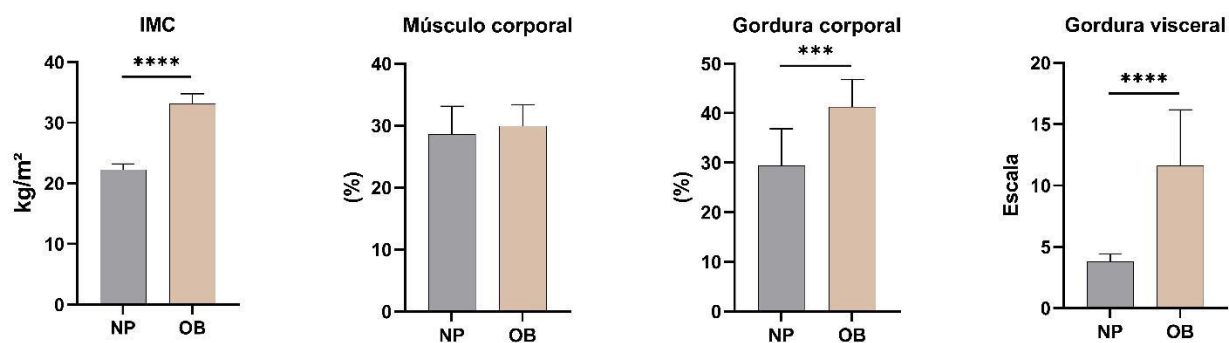
ZHENG, X.; WANG, Y.; WEI, H.; SUN, R.; TIAN, Z. LFA-1 and CD2 synergize for the Erk1/2 activation in the natural killer (NK) cell immunological synapse. **Journal of Biological Chemistry**. v. 284, 32, p. 21280–21287. 2009

ZHOU, Y.; YU, X.; CHEN, H.; SJÖBERG, S.; ROUX, J.; ZHANG, L.; IVOULSOU, A. H.; BENSaid, F.; LIU, C. L.; LIU, J.; TORDJMAN, J.; CLEMENT, K.; LEE, C. H.; HOTAMISLIGIL, G. S.; LIBBY, P.; SHI, G. P. Leptin Deficiency Shifts Mast Cells toward Anti-Inflammatory Actions and Protects Mice from Obesity and Diabetes by Polarizing M2

Macrophages. **Cell Metabolism**. v. 22, 6, p. 1045–1058. 2015

APÊNDICE A – Gráfico

- Comparação da composição corporal entre os voluntários dos grupos NP e OB.



APÊNDICE B – Tabela

- Dados antropométricos e de composição corporal individuais dos participantes dos grupos NP e OB.

Normopeso (NP)						
<i>Código</i>	<i>Sexo</i>	<i>Idade</i>	<i>IMC</i>	<i>Músculo (%)</i>	<i>Gordura (%)</i>	<i>Gordura visceral</i>
P02	Feminino	33	21,9	28,4	31,5	4
P03	Masculino	36	20,1	36,6	18,9	3
P05	Feminino	22	22,1	25,3	35,5	4
P09	Feminino	19	23,5	25,7	36,9	5
P10	Feminino	25	22,6	26,4	32,2	4
P12	Masculino	21	22,3	37,2	17,8	3
P14	Feminino	25	21,8	27,1	33,8	4
P15	Masculino	28	23,1	25,4	20,2	3
P16	Masculino	27	22,4	26,9	34,6	4
P18	Feminino	30	23,1	27,6	33,1	4
<i>Média (F)</i>	6	25,7 ± 5,1	22,40 ± 0,72	27,15 ± 1,17	33,83 ± 2,12	4,17 ± 0,41
<i>Média (M)</i>	4	28,0 ± 6,3	21,98 ± 1,27	34,03 ± 4,87	22,88 ± 7,60	3,25 ± 0,50
<i>Média (total)</i>	10	26,6 ± 5,4	22,28 ± 0,94	29,66 ± 4,75	29,45 ± 7,42	3,80 ± 0,63

Obeso grau I (OB)						
<i>Código</i>	<i>Sexo</i>	<i>Idade</i>	<i>IMC</i>	<i>Músculo (%)</i>	<i>Gordura (%)</i>	<i>Gordura visceral</i>
P01	Masculino	36	30,8	36,9	30,5	8
P04	Feminino	37	33,6	33,6	48,6	10
P06	Masculino	40	35	26,3	41,5	23
P07	Feminino	21	30,9	26	43,4	7
P08	Masculino	19	35	30,5	37,1	14
P11	Masculino	34	34,8	29,8	38,3	11
P13	Feminino	22	32,4	29,1	44,2	9
P17	Masculino	28	33,1	31,7	36,5	13
P19	Feminino	24	31,5	27,4	46,1	9
P20	Feminino	27	34,2	28,2	46,3	12
<i>Média (F)</i>	5	26,2 ± 6,5	32,52 ± 1,49	28,86 ± 2,88	46,00 ± 1,94	9,40 ± 1,82
<i>Média (M)</i>	5	31,4 ± 8,7	33,94 ± 1,42	30,56 ± 3,00	36,84 ± 3,93	13,80 ± 5,63
<i>Média (total)</i>	10	28,8 ± 7,4	33,23 ± 1,63	29,71 ± 3,09	41,42 ± 5,80	11,60 ± 4,86

APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR E
MOLECULAR



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

TÍTULO DO PROJETO: INTERAÇÕES IMUNOENDÓCRINAS ENTRE LEPTINA E CÉLULAS NK NA OBESIDADE

PESQUISADORA: Tatjana Keesen De Souza Lima

Estamos convidando você para participar como voluntário de uma pesquisa sobre o impacto da obesidade na função de células de defesa do corpo. Durante a obesidade, o corpo pode estar mais inflamado e estressado, o que altera a resposta imune. Isso acontece porque pessoas com excesso de peso, muitas vezes, têm outros problemas de saúde relacionados à obesidade, como doenças cardiovasculares, problemas nos pulmões e diabetes. Nosso objetivo com essa pesquisa é avaliar a ideia de que a obesidade e alterações associadas a essa condição podem alterar as defesas naturais do corpo. Para isto, vamos realizar um estudo do seu sistema de defesa (imunológico), no qual serão analisadas células “natural killer” (NK), que são um tipo de célula de defesa capazes de defender o organismo contra células tumorais e células infectadas com vírus. Caso aceite participar do estudo, você deverá permitir a realização da coleta do seu sangue. Além disto, você deverá autorizar a avaliação de bioimpedância, para que possamos coletar dados que confirmem e possam ser correlacionados com os dados obtidos posteriormente. Você também deverá responder um questionário a respeito da sua saúde. Quando você estiver respondendo esse questionário se alguma pergunta lhe causar constrangimento você poderá deixar de respondê-la.

Vamos a seguir, explicar a você para que utilizaremos o material coletado e os riscos e desconforto que poderão existir.

Avaliação de bioimpedância - O Índice de Massa Corporal (IMC) será calculado a partir da relação peso (kg)/altura² (m) e classificado de acordo com proposto. A avaliação da composição corporal será realizada pelo método de Bioimpedância. Os pacientes serão selecionados segundo os critérios de inclusão: ter IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m² para indivíduos não obesos, entre 25 e 29,9 kg/m² para indivíduos com sobrepeso, entre 30 e 34,9 kg/m² para indivíduos com obesidade grau 1, e, valores entre 35 e 39,9 kg/m² para indivíduos com obesidade grau 2.

Coleta de sangue - Serão coletados, por uma pessoa devidamente treinada, aproximadamente 10 mL do seu sangue; utilizando material estéril e descartável. Os riscos e desconfortos que você correrá nessa coleta são mínimos e poderão ser desmaio, sangramentos, manchas arroxeadas ou infecção no local da coleta. Entretanto minimizaremos estes riscos com cuidados na realização deste procedimento, que são a limpeza no local da coleta através da utilização de álcool e pressionando a região do braço onde foi feita a coleta com algodão por alguns minutos, após a retirada da agulha. Com o sangue coletado iremos realizar um exame laboratorial das células do seu sangue (hemograma e medidas de marcadores de doença), para determinar o seu estado atual. Destas células do sangue iremos realizar o estudo determinando características específicas

importantes da doença, para estudar seu sistema de defesa (sistema imunológico). Todos os procedimentos estarão de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS - 441/11, Art. 1º, itens 2.II e 6; Portaria MS 2.201/11, Capítulo II, Artigos 5º e Capítulo III, Artigo 8º).

O material biológico utilizado neste trabalho (sangue periférico) será utilizado somente para pesquisa e em seguida devidamente descartado.

Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade.

Os benefícios da sua participação nesta pesquisa é que você será informado do resultado que iremos realizar com a amostra do sangue coletado.

Você também irá contribuir com a busca pela melhoria dos estudos na pesquisa dessa doença com informações que poderão beneficiar o tratamento da doença e/ou da cura.

Garantimos que todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será identificado em nenhum momento. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários. Objetivando o caráter confidencial, todos os voluntários dessa pesquisa serão identificados por códigos, que serão inseridos no questionário. Assim, o(a) Sr.(a) não será identificado em qualquer publicação que este estudo poderá resultar. Caso você tenha interesse nos resultados da pesquisa basta solicitar ao pesquisador responsável.

Apesar de existir o risco de vazamento de dados presentes nos prontuários dos pacientes para fora da equipe de pesquisa, os dados dos prontuários e questionários aplicados serão guardados em local seguro, conhecido apenas pela equipe envolvida na pesquisa, no tempo de execução deste projeto. Garantimos que seus dados e suas amostras serão utilizados apenas para este estudo e, em seguida, descartados.

Sua participação nesta pesquisa é voluntária, você não será pago por participar do estudo. No entanto, caso você tenha algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, você será ressarcido, e se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito à indenização.

O(a) Sr.(a) ficará com uma cópia deste documento e em caso de interesse na obtenção dos resultados (exames) referentes a sua amostra sanguínea ou de dúvidas a respeito deste estudo basta contatar a pesquisadora responsável, Dr^a Tatjana Keesen de Souza Lima, no Centro de Biotecnologia, Departamento de Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária- João Pessoa - PB - Brasil - CEP: 58051-900 Fone: (83) 3216-7173 ou outro membro da equipe cujo contato será fornecido no local da coleta.

Para esclarecimentos referentes a questões éticas desta pesquisa o (a) voluntário(a) poderá entrar em contato com a Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) localizada no Centro de Ciências da Saúde (1º andar / Campus I / Cidade Universitária CEP: 58.051-900 - João Pessoa-PB Tel. (83) 3216 7791 email: comitedeetica@ccs.ufpb.br e/ou Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), endereçada na Esplanada dos Ministérios, em Brasília – DF (CEP: 70058-900; Tel: (61) 33155877; e-mail: conep@saude.gov.br) responsável por elaborar e atualizar normas acerca dos aspectos éticos das pesquisas que envolvem seres humanos no Brasil além de coordenar os CEPs das instituições.

Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro que compreendi os objetivos desta pesquisa, como ela será desenvolvida, os riscos e benefícios envolvidos, bem como os meus direitos, e concordo em participar voluntariamente do estudo “**INTERAÇÕES IMUNOENDÓCRINAS ENTRE LEPTINA E CÉLULAS NK NA OBESIDADE**” autorizando o uso do meu sangue para a realização deste estudo.

Voluntário: _____

Data: ____/____/____

ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DE BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS PROGNÓSTICOS E POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DE FITOCANABINOIDES EM INDIVÍDUOS COM OBESIDADE

Pesquisador: Tatjana Keesen de Souza Lima Clemente

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 77985223.3.0000.5188

Instituição Proponente: Centro de Biotecnologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.723.650

Apresentação do Projeto:

O projeto trata de Avaliar biomarcadores prognósticos na sub população de linfócitos T regulatórios, monócitos e células natural killers T invariáveis, bem como do potencial anti-inflamatório de fitocanabinoides em pessoas com obesidade e comorbidades associadas

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Gerar conhecimento sobre as conexões entre obesidade e comorbidades associadas e seus aspectos imunológicos. Para tal, serão avaliados os mecanismos celulares e moleculares de subtipos de linfócitos T, células natural killers T invariáveis e monócitos característicos da obesidade, correlacionando com achados clínicos e laboratoriais. Além disso, serão investigados os potenciais mecanismos desencadeados nestas células frente ao tratamento com Cannabis sativa.

ANEXO B – Publicações (artigos e capítulos de livro)

- Leptin, NK cells, and the weight of immunity: Insights into obesity

International Immunopharmacology 147 (2025) 113992



Contents lists available at ScienceDirect

International Immunopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/intimp

Leptin, NK cells, and the weight of immunity: Insights into obesity

Arthur Gomes de Andrade^a, Shayenne Eduarda Ramos Vanderley^a, Lorrane de Farias Marques^a,
Fernanda Silva Almeida^a, Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva^b, Tatjana Souza Lima Keesen^{a,*}^a Immunology Laboratory of Infectious Diseases, Department of Cellular and Molecular Biology, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba 58051-900, Brazil^b Medical Sciences and Nursing Complex, Federal University of Alagoas, Arapiraca 57309-005, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Hormones
Immunoendocrine
Metabolism
Innate immunity

ABSTRACT

Obesity is a chronic inflammatory disease that affects more than 1 billion people worldwide and is associated with various metabolic and physiological dysfunctions, directly impacting the dynamics of the immune response, partly due to elevated leptin levels. Leptin is an important peptide hormone that regulates neuroendocrine function and energy homeostasis, with its blood levels reflecting energy reserves, fat mass, or energy deprivation. This hormone also plays a fundamental role in regulating immune function, including the activity of NK cells, which are essential components in antiviral and antitumor activity. In obese individuals, leptin resistance is commonly established, however, NK cells and other immune components remain responsive to this hormone. So far, leptin has demonstrated paradoxical activities of these cells, often associated with a dysfunctional profile when associated with obesity. The excessive fat is usually related to metabolic remodeling in NK cells, resulting in compromised antitumor responses due to reduced cytotoxic capacity and decreased expression of cytokines important for these defense mechanisms, such as IFN- γ . Therefore, this review approaches a better understanding of the immunoendocrine interactions between leptin and NK cells in the context of obesity.

1. Introduction

Natural killer (NK) cells are type I innate lymphoid cells (ILC1), well known for their ability to kill virus-infected and cancerous cells through cytotoxic mechanisms [1–4]. The activation of NK cells depends on the action of activating (e.g., NKp30, NKp44, and NKp46) and inhibitory (KIR) receptors that play crucial roles in immunosurveillance and cytotoxicity, including mechanisms that prevent the elimination of

healthy cells [5]. They also play an important role by producing these cytokines and chemokines, interacting with other immune and non-immune cells, and either stimulating or inhibiting them, depending on the context [3,4,6–9].

These cells exhibit a high heterogeneity and can be classified into three main effector subsets: NK1, which primarily has a cytotoxic profile; NK2, known for cytokine production and high proliferative capacity; and NK3, characterized by adaptive functions and

Abbreviations: 25HC, 25-hydroxycholesterol; 27HC, 27-hydroxycholesterol; ARC, Arcuate Nucleus; BAT, Brown Adipose Tissue; BMI, Body Mass Index; CAR, Chimeric Antigen Receptor; CART, Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript; (CCL2), C–C motif ligand 2; COVID, Coronavirus Disease; DLD, DLD-1 (colon adenocarcinoma cell line); DMH, Dorsomedial Hypothalamus; EGFR, Epidermal Growth Factor Receptor; ER, Endoplasmic Reticulum; FBP1, Fructose Biphosphatase 1; GABA, Gamma-Aminobutyric Acid; GZM, Granzyme; HSL, Hormone-Sensitive Lipase; IFN, Interferon; IGF, Insulin-Like Growth Factor; IL, Interleukin; ILC, Innate Lymphoid Cells; ILC1, Innate Lymphoid Cells Type 1; iNKT, Invariant Natural Killer T cells; IRS, Insulin Receptor Substrate; JAK, Janus Kinase; JNK, c-Jun N-terminal Kinase; KIR, Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor; LDLR, Low-Density Lipoprotein Receptor; LEP, Leptin; LepR, Leptin Receptor; LH, Luteinizing Hormone; MC4R, Melanocortin-4 Receptor; MCP, Monocyte Chemoattractant Protein; MCP-1, Monocyte Chemoattractant Protein-1; ME, Median Eminence; MPO, Median Preoptic Nucleus; MSH, Melanocyte-Stimulating Hormone; mTOR, Mammalian Target of Rapamycin; MYC, Myc Proto-Oncogene; NA, Noradrenaline; NAFLD, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; NEFAs, Non-Esterified Fatty Acids; NK, Natural Killer; NKG2D, Natural Killer Group 2, Member D; NPY, Neuropeptide Y; NTS, Nucleus of the Solitary Tract; OXPHOS, Oxidative Phosphorylation; PD, Programmed Death; PKA, Protein Kinase A; PKC, Protein Kinase C; POMC, Pro-opiomelanocortin; PPAR, Peroxisome Proliferator-Activated Receptors; PTP1B, Protein Tyrosine Phosphatase 1B; PVN, Paraventricular Nucleus; SAT, Subcutaneous Adipose Tissue; SOCS3, Suppressor of Cytokine Signaling 3; SREBP, Sterol Regulatory Element-Binding Protein; STAT, Signal Transducer and Activator of Transcription; TGF, Transforming Growth Factor; Th, T Helper Cell; TIL, Tumor-Infiltrating Lymphocytes; TNF, Tumor Necrosis Factor; UCP, Uncoupling Protein; VAT, Visceral Adipose Tissue; VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor; VMH, Ventromedial Hypothalamus; WAT, White Adipose Tissue.

* Corresponding author.

E-mail address: tat.keesen@cbiotec.ufpb.br (T.S.L. Keesen).<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.113992>

Received 21 October 2024; Received in revised form 28 December 2024; Accepted 29 December 2024

1567-5769/© 2024 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

• From hormonal immunomodulation to glioblastoma therapy: the emerging role of Ouabain

frontiers | Frontiers in Immunology

TYPE Mini Review
PUBLISHED 07 November 2025
DOI 10.3389/fimmu.2025.1657671

OPEN ACCESS

EDITED BY
Kaige Chen,
Wake Forest University, United StatesREVIEWED BY
Zhi Li,
University of Arizona, United States*CORRESPONDENCE
Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva
✉ luiz.agra@arapiraca.ufal.brRECEIVED 01 July 2025
ACCEPTED 23 October 2025
PUBLISHED 07 November 2025CITATION
Andrade AGd, Carvalho DCM,
Magalhaes DWA, de Queiroz AC,
Alexandre-Moreira MS, Rodrigues-
Mascarenas S and Cavalcante-Silva LHA
(2025) From hormonal immunomodulation
to glioblastoma therapy: the emerging
role of Ouabain.
Front. Immunol. 16:1657671.
doi: 10.3389/fimmu.2025.1657671COPYRIGHT
© 2025 Andrade, Carvalho, Magalhaes, de
Queiroz, Alexandre-Moreira, Rodrigues-
Mascarenas and Cavalcante-Silva. This is an
open-access article distributed under the terms
of the [Creative Commons Attribution License
\(CC BY\)](#). The use, distribution or reproduction
in other forums is permitted, provided the
original author(s) and the copyright owner(s)
are credited and that the original publication
in this journal is cited, in accordance with
accepted academic practice. No use,
distribution or reproduction is permitted
which does not comply with these terms.

From hormonal immunomodulation to glioblastoma therapy: the emerging role of Ouabain

Arthur Gomes de Andrade¹, Deyse Cristina Madruga Carvalho¹,
Daniel Wilson Arruda Magalhaes¹, Aline Cavalcanti de Queiroz²,
Magna Suzana Alexandre-Moreira²,
Sandra Rodrigues-Mascarenas¹ and
Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva^{2,3*}¹Biotechnology Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil, ²Laboratory of Pharmacology and Immunity, Institute of Biological Sciences and Health, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil, ³Medical Sciences and Nursing Complex, Federal University of Alagoas, Arapiraca, Alagoas, Brazil

Glioblastoma (GBM) is the most aggressive primary brain tumor in adults, characterized by rapid proliferation, diffuse infiltration, and resistance to conventional therapies. Despite advances in surgery, radiotherapy, and chemotherapy, the prognosis remains dismal, with median survival rarely exceeding 15 months. The immunosuppressive and heterogeneous tumor microenvironment (TME), along with profound tumor-intrinsic resistance mechanisms, contributes significantly to treatment failure. Cardiotonic steroids (CTS), such as ouabain, have recently gained attention for their pleiotropic effects beyond Na^+/K^+ -ATPase inhibition, including modulation of intracellular signaling, induction of cell death, and immune regulation. In GBM, ouabain has been shown to reduce tumor cell viability, impair migration, disrupt angiogenesis, and alter different signaling pathways. Although direct evidence of ouabain's effects on the GBM immune microenvironment is limited, findings from other models suggest that it can modulate both innate and adaptive immune responses, affecting T cells, regulatory T cells, dendritic cells, monocytes, and NK cells. While previous reviews have explored the anticancer and pharmacological aspects of cardiotonic steroids, the immunological dimension of ouabain's activity remains underrepresented. This review integrates current evidence on ouabain's dual actions in tumor biology and immune regulation, emphasizing its emerging therapeutic potential and the need for deeper investigation within high-grade glioma models.

KEYWORDS

cancer, cardiotonic steroid, tumor microenvironment, GBM, cytotoxicity

• Natural and hybrid immunity: A comparative study of T cell response against SARS-CoV-2

Clinical Immunology Communications 8 (2025) 38–53



Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Immunology Communications

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clicom

Full Length Article

Natural and hybrid immunity: A comparative study of T cell response against SARS-CoV-2

Arthur Gomes de Andrade^a, Fernando César Comberlang^a, Rephany Fonseca Peixoto^a,
Pedro Henrique de Sousa Palmeira^a, Francisco Sandro Aureliano^a,
Bárbara Guimarães Csordas^a, Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva^b,
Tatjana S.L. Keesen^{a,*}

^a Immunology Laboratory of Infectious Diseases, Department of Cellular and Molecular Biology, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Paraíba 58051-900, Brazil^b Medical Sciences and Nursing Complex, Federal University of Alagoas, Arapiraca, AL, 57309-005, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Antiviral immunity
Spike protein
COVID-19
Cytokines
Vaccines

ABSTRACT

Following SARS-CoV-2 infection, COVID-19 vaccination remains prudent as a form of combined protection. This strategy fosters the development of a hybrid immune response in individuals, surpassing the protective efficacy of natural infection or just vaccination. However, many questions remain unsolved, and more studies are needed to understand this type of immunity. Considering this, this study aimed to compare the T-cell immune profile of unvaccinated and vaccinated patients who had previously recovered from mild COVID-19. In a quiescent state characterized, CD8⁺ T cells derived from individuals who had experienced mild COVID-19 and remained unvaccinated exhibited elevated expression of CD69 and IFN- γ compared to the group that received the vaccination. Conversely, within the CD4⁺ T cell population, greater levels of IFN- γ , TNF- α , CD107a, and perforin are observed in the unvaccinated group compared to those vaccinated. Furthermore, a distinct functional profile emerges in T cells obtained from COVID-19-vaccinated patients who experienced mild COVID-19. Upon exposure to spike antigens, CD4⁺ T cells demonstrate heightened activity and functionality. This is evidenced by the augmented expression of CD137, CD69, and IL-10 compared to similarly affected yet unvaccinated patients. Moreover, the CD8⁺ T cell subset within the vaccinated cohort displays heightened levels of perforin, TNF- α , and IL-10 when juxtaposed with the unvaccinated group. These findings collectively imply the ability of unvaccinated individuals to develop an effector-oriented profile in their immune responses. Conversely, individuals who have encountered mild COVID-19 and subsequently received vaccination can orchestrate a proficient antiviral immune response, coupled with a major immunoregulatory capacity.

1. Introduction

The emergence of the COVID-19 outbreak has presented the scientific community with the imperative to devise strategies to limit the dissemination of the SARS-CoV-2 virus. These strategies encompass a spectrum of non-pharmacological interventions, therapeutic modalities, and the pursuit of vaccine development [1–4]. Paramount among these strategies is the advent of vaccines, which played a pivotal role in mitigating the pandemic's impact [5–7]. Diverse technological approaches, encompassing novel and established methodologies, were harnessed to yield safe and efficacious vaccines [8,9]. Foremost among the approved vaccines was an mRNA-based formulation, marking a

significant milestone [10]. Subsequently, many other vaccine types were supported, spanning viral vector constructs, inactivated whole virus formulations, and peptide-based candidates [8,11].

The inquiry into the immune response elicited by vaccination and that arising from natural infection continues to be a subject of investigation. While the innate immune response, mediated by cellular components and cytokines, such as interferons (IFN) α/β and λ , is deemed crucial for curbing the initial infection [12,13], a robust T cell response is required for achieving viral clearance in mild COVID-19 patients [14, 15]. It is essential to underscore that CD4⁺ and CD8⁺ T cells exhibit responsiveness to various antigens, spanning structural and nonstructural proteins [16–18] investigations have highlighted a predominant

* Corresponding author.

E-mail address: tat.keesen@cbiotec.ufpb.br (T.S.L. Keesen).<https://doi.org/10.1016/j.clicom.2025.07.001>

Received 19 May 2025; Received in revised form 12 July 2025; Accepted 18 July 2025

Available online 19 July 2025

2772-6134/© 2025 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

- **Abordagens terapêuticas com células natural killers contra o glioblastoma**

ABORDAGENS TERAPÊUTICAS COM CÉLULAS NATURAL KILLER CONTRA O GLIOBLASTOMA

Arthur Gomes de Andrade
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Luiz Henrique Agra Cavalcante-Silva
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

Tatjana S. L. Keesen
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

RESUMO

O glioblastoma (GBM) é o tumor maligno primário mais comum e agressivo do sistema nervoso central, com prognóstico reservado e resistência significativa às abordagens terapêuticas convencionais. A baixa imunogenicidade do GBM, somada à presença de células regulatórias e à produção de citocinas imunossupressoras, compromete a eficácia das terapias. Nesse cenário, as células Natural Killer (NK) surgem como uma alternativa estratégica, por apresentarem atividade citotóxica independente de antígenos tumorais apresentados por MHC. No entanto, sua atuação no GBM é limitada por múltiplos mecanismos de evasão presentes no microambiente tumoral, como a supressão por citocinas anti-inflamatórias, a baixa expressão de ligantes ativadores e a inibição via checkpoints imunológicos. Este capítulo revisa criticamente as principais abordagens para potencializar a resposta de células NK contra o GBM, com ênfase em terapias baseadas em células geneticamente modificadas, bloqueio de receptores inibitórios, uso racional de citocinas e quimiocinas para aumentar a viabilidade e o tráfego celular, e desenvolvimento de engajadores biespecíficos e triespecíficos capazes de recrutar e ativar células NK de forma direcionada. A integração dessas estratégias reflete uma mudança de paradigma na tentativa de ampliar o repertório terapêutico disponível para o tratamento de gliomas de alto grau, particularmente aqueles refratários às abordagens atuais.

Palavras-chave: imunoterapia; engenharia celular; microambiente imunossupressor; receptores de checkpoint.

ANEXO C – Patente depositada



06/08/2024 18:33 870240066719
29409162322791241

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2024 016099 1

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24098477000110

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Cidade Universitária

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58059-900

País: Brasil

Telefone: (83) 32167558

Fax:

Email: inova@reitoria.ufpb.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): DESENVOLVIMENTO DE POLIPEPTÍDEO IMUNOGÊNICO DO SARS- COV-2 E SUA APLICABILIDADE

Resumo: Desenvolvimento de polipeptídeo imunogênico do SARS-CoV-2 e sua aplicabilidade. A invenção se refere ao processamento caracterizado por peptídeos imunogênicos do coronavírus e sua aplicação. A invenção refere-se a um polipeptídeo resultante do vírus SARS-CoV-2 (SEQ ID NO: 1) almejando a aplicação deste na projeção de uma potencial vacina contra a enfermidade COVID-19 ademais de outras doenças infecciosas associadas, além da preparação de insumo para diagnóstico por detecção de SARS-CoV-2, ou preparação de terapias monoclonais como antígeno de ligação a anticorpo neutralizante tanto na medicina humana quanto veterinária.

Figura a publicar: 1