



*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

***REPERCUSSÃO DA INGESTÃO CRÔNICA DE DIETA TERMOLIZADA EM
PARÂMETROS MORFO-FUNCIONAIS DO TECIDO HEPÁTICO***

ELISA BATISTA OLIVEIRA E SILVA

MACEIÓ-AL

2012



Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

ISTA OLIVEIRA E SILVA

**REPERCUSSÃO DA INGESTÃO CRÔNICA DE DIETA TERMOLIZADA EM
PARÂMETROS MORFO-FUNCIONAIS DO TECIDO HEPÁTICO**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Nutrição da Universidade Federal de
Alagoas como requisito à obtenção do
título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: **Prof.^a Dra. Suzana Lima de Oliveira**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientadora: **Prof.^a Dra. Terezinha da Rocha Ataíde**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ-AL

2012



Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

S586r Silva, Elisa Batista Oliveira e.
Repercussão da ingestão crônica de dieta termolizada em parâmetros morfo-
funcionais do tecido hepático / Elisa Batista Oliveira e Silva. ó 2012.
55 f. : il., color.

Orientadora: Suzana Lima de Oliveira.
Co-orientadora: Terezinha da Rocha Ataíde.
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) ó Universidade Federal de
Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Maceió, 2012.

Bibliografia: f. 48-52
Anexos: f. 53-55.

1. Glicação. 2. Dieta termolizada. 3. Fígado. 4. Tiamina. 5. Metabolismo
hepático. I. Título.

CDU: 612.396:612.35



**MESTRADO EM NUTRIÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Campus A. C. Simões
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/fax: 81 3214-1160

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO**

**“REPERCUSSÃO DA INGESTÃO CRÔNICA DE DIETA
TERMOLIZADA EM PARÂMETROS MORFO-
FUNCIONAIS DO TECIDO HEPÁTICO”**

por

Elisa Batista Oliveira e Silva

A Banca Examinadora, reunida aos 13 dias do mês de março do
ano de 2012, considera a candidata **APROVADA**.

Profª. Dra. Suzana Lima de Oliveira
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas
(Orientadora)

Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima da Silva
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

Prof. Dr. Euclides Maurício Trindade Filho
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas/UNCISAL
(Examinador)



*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

DEDICATÓRIA

Eu dedico a Deus, pois na sua infinita misericórdia concedeu-me mais esta vitória para que eu possa aplicar o aprendizado recebido na minha vida pessoal e profissional, sempre buscando e inovando na ciência da Nutrição, difundindo o conhecimento aos que dele sentem sede.

A Deus, pela dádiva concebida de viver e saborear os frutos das vitórias alcançadas.

A meus pais, Sineide e José Oliveira, por terem me dado o alicerce necessário para eu me tornar uma pessoa e uma profissional de valores éticos que levarei sempre comigo.

À minha avó, Edília, ao meu irmão, Elisson, e ao meu namorado, Bruno, pelo carinho e apoio a mim dedicados.

À minha orientadora, Suzana, pelo exemplo de profissionalismo, pelo incentivo à pesquisa e à docência, dando o suporte necessário ao mergulho aprofundado nas águas da ciência. Sua notável presença eu quero levar comigo mesmo que, ocasionalmente, eu siga em caminhos distantes.

À minha co-orientadora, Terezinha, pelos ensinamentos adquiridos na área da docência e pelo suporte ofertado sempre que necessário fosse. Gosto de tê-la sempre como exemplo a seguir e quero que a amizade formada através da Nutrição seja duradoura.

À prof.^a Luci, pelo incentivo à pesquisa sobre a temática da glicação, dando um forte exemplo de sempre caminhar e reunir esforços pelo que se acredita. Suas sementes plantadas germinaram e agora crescem, deixando sua presença infinita.

Ao prof. Cyro, pelo apoio durante as análises estatísticas.

À Dr.^a Maria do Carmo, pelo apoio durante as análises histológicas.



*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

linne, e à equipe do projeto AGE, pelo
companheirismo presente durante toda esta caminhada.

À minha amiga, Tâmara, pelo apoio disponibilizado sempre e principalmente na
etapa de eutanásia dos animais.

À Elenita, técnica do Laboratório de Nutrição Experimental, pelo apoio dado
durante a execução do projeto AGE.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas, pelo necessário
incentivo à pesquisa na forma de bolsa.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto, o
meu muito obrigada.

RESUMO

AGEs, do inglês *Advanced Glycation End Products*, são compostos heterogêneos com propriedades pró-oxidantes e pró-inflamatórias. Estes compostos são formados no organismo (especialmente em condições de hiperglicemia e estresse oxidativo) e no ambiente, sendo a dieta sua principal fonte exógena. Alimentos neutros ou alcalinos, submetidos a tratamento térmico com temperaturas superiores a 100°C com baixa umidade, por tempo prolongado, apresentam formação aumentada de AGEs, condições encontradas com frequência na dieta típica do ocidente, que constitui fonte de alto teor de AGEs. O tratamento térmico dos alimentos, além de formar AGEs, contribui para a redução da vitamina termolábil com ação antiglicante e essencial para seres humanos, tiamina. O consumo crônico de dieta rica em AGEs e deficiente em tiamina são condições que favorecem o estresse oxidativo, o estresse carbonílico e a inflamação persistentes, contribuindo para o processo de envelhecimento junto ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas. Quando absorvidos, os AGEs dietéticos somam-se aos produzidos no organismo aumentando seu *pool* corporal, passando pelos rins e pelo fígado, sofrem catabolismo e degradação para serem eliminados. Particularmente, o fígado é o principal órgão de *clearance* e catabolismo de AGEs, tornando-se um alvo fácil para os efeitos prejudiciais dos AGEs. Em situações de deficiência de tiamina, o hepatócito fica mais susceptível ao glioxal, uma carbonila altamente reativa, precursora dos AGEs, e aos próprios AGEs, com conseqüente prejuízo do metabolismo do glioxal no fígado. A suplementação de tiamina resulta em citoproteção, restauração da detoxificação do glioxal, redução da peroxidação lipídica e da formação de espécies reativas de oxigênio. Esses elementos motivaram a investigação dos efeitos do consumo crônico de dieta *termolizada*, modelo de experimental de elevada ingestão de AGEs, associado a diferentes níveis de tiamina, em aspectos morfo-funcionais do tecido hepático em ratos adultos. Para tanto, ratos machos *Wistar*, de cinco meses de idade, foram subdivididos em quatro grupos experimentais, segundo as dietas oferecidas: dieta comercial padrão, controle (C); *termolizada* (T), dieta padrão autoclavada a 121,5°C, por 30 min; *termolizada* com tiamina nível 1 (TT₁), 6 mg de tiamina/Kg de dieta; e *termolizada* com tiamina nível 2 (TT₂), 120 mg de tiamina/Kg de dieta. Após 23 semanas de tratamento, os animais foram anestesiados e se procedeu à coleta de amostras de fígado e de sangue, para análise histológica do tecido hepático e determinações bioquímicas séricas de função e lesão hepática. O consumo crônico de dieta *termolizada* não promoveu o aparecimento de alterações morfo-funcionais sanguíneas e hepáticas em ratos adultos. É possível considerar que a composição da dieta de base utilizada no experimento pode ter contribuído para os resultados obtidos. O presente estudo chama a atenção para a importância da realização de estudos que esclareçam a participação dos diferentes componentes alimentares para a formação de AGEs em alimentos, o que contribuiria para o estabelecimento de recomendações dirigidas para a promoção de uma alimentação saudável, concorrendo para a prevenção de doenças crônicas, incluindo as que acometem o tecido hepático.

Palavras-chave: Glicação. Dieta. Fígado. Tiamina.

ABSTRACT

AGEs, Advanced Glycation End Products, are heterogeneous compounds with pro-oxidant and pro-inflammatory properties. These compounds are formed in the body (particularly under conditions of hyperglycemia and oxidative stress) and in environment, being the diet their main source exogenous. Neutral or alkaline food, subjected heat-treated at temperatures above 100°C with low humidity, for prolonged periods had increased formation of AGEs, conditions frequently encountered in the typical Western diet, which is a source of high levels of AGEs. The heat treatment of food, in addition to form AGEs, contributes to reducing labile vitamin with anti-glycation action and essential for humans, thiamin. The chronic consumption of diet rich in AGEs and deficient in thiamin are conditions that promote oxidative stress, carbonyl stress and persisted inflammation, contributing to the aging process with the development of several chronic diseases. When absorbed, dietary AGEs are added to those produced in the body increasing your body pool, through the kidney and liver, undergo catabolism and degradation to be eliminated. In particular, the liver is the main organ of clearance and catabolism of AGEs, becoming an easy target for the damaging effects of AGEs. In cases of thiamin deficiency, the hepatocyte is more susceptible to glyoxal, a carbonyl highly reactive precursor of AGEs, and AGEs themselves, with consequent loss of glyoxal metabolism in the liver. Supplementation of thiamin results in cytoprotection, restoration of the glyoxal detoxification, reduction of lipid peroxidation and the formation of reactive oxygen species. These elements led to the investigation of the effects of chronic consumption of thermolyzed diet, experimental model of high intake of AGEs, associated with different levels of thiamin in morpho-functional aspects of liver tissue in adult rats. For this purpose, male Wistar rats, five months old, were divided into four experimental groups according to the offered diets: standard commercial diet, control (C); thermolyzed (T), standard diet autoclaved at 121.5°C for 30 min; thermolyzed with level 1 thiamin (TT₁), thiamin 6 mg/kg of diet; and thermolyzed with level 2 thiamin (TT₂), 120 mg thiamin/kg of diet. After 23 weeks of treatment, animals were anesthetized and proceeded to collect samples of liver and blood, to histological analysis of hepatic tissue and tests serum biochemical of hepatic function and injury. The chronic consumption of thermolyzed diet did not promote the appearance of morphological and functional alterations in adult rat blood and liver. It is possible to consider the composition of base diet used in the experiment may have contributed to the results obtained. This study draws attention to the importance of studies to clarify the involvement of different components food for the formation of AGEs in food, which contribute to the establishment of recommendations for promoting a healthy diet, contributing to the prevention chronic diseases, including those affecting the hepatic tissue.

Key words: Glycation. Diet. Liver. Thiamin.

Capítulo de revisão

Figura 1 Localização do receptor *scavenger* para AGE e do RAGE no fígado..... 23

Artigo de resultados

Figura 2 Padrão histológico representativo do fígado dos ratos dos grupos de dieta Controle (C), *Termolizada* (T), *Termolizada* suplementada com tiamina nível 1 (6mg/kg de dieta, TT₁) e *Termolizada* suplementada com tiamina nível 2 (120mg/kg de dieta, TT₂)..... 39

Artigo de resultados

Tabela 1	Peso e Coeficiente de Eficiência Alimentar dos grupos experimentais submetidos às dietas controle (C), <i>termolizada</i> (T), <i>termolizada</i> acrescida de níveis fisiológicos de tiamina (TT1) e <i>termolizada</i> acrescida de níveis suplementares de tiamina (TT2), após 23 semanas de período experimental.....	37
Tabela 2	Análises séricas de ratos submetidos à dieta controle <i>termolizada</i> , <i>termolizada</i> acrescida de níveis fisiológicos de tiamina e <i>termolizada</i> acrescida de níveis suplementares de tiamina, após 23 semanas de período experimental.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

AGE-BSA **É** Albumina sérica bovina ligada a produtos de glicação avançada

AGEs **É** Produtos de glicação avançada, do inglês *Advanced Glycation End*

Products

AIN(93)G **É** Dieta para roedores em fase de crescimento

ALT **É** Alanina aminotransferase

AST **É** Aspartato aminotransferase

C **É** Controle

CEA **É** Coeficiente de eficiência alimentar

CML **É** Carboximetil lisina

ELISA **É** Ensaio de imuno absorvância ligado à enzima

esRAGE **É** RAGE solúvel de secreção endógena

FA **É** Fosfatase alcalina

FANUT **É** Faculdade de Nutrição

HDL **É** Lipoproteína de alta densidade

HE **É** Hematoxilina-eosina

HMGB1 **É** Hemoglobina glicada

HPLC **É** Cromatografia líquida de alta eficiência

HSC . Células estreladas do fígado

LDL **É** Lipoproteína de baixa densidade

LEC . Células do endotélio sinusoidal hepático

NADPH **É** Nicotinamida adenina dinucleotídeo-P

NAFLD . Doença do fígado gorduroso não alcoólica

NASH **É** Esteatohepatite não alcoólica

RAGE Ë Receptor para AGE

RNA Ë Ácido ribonucleico

S100 Ë Proteína S100

sRAGE Ë Isoforma(s) solúvel de RAGE

T Ë Termolizada

TGO Ë Transaminase glutâmico-oxalacética

TGP Ë Transaminase glutâmico pirúvica

TT₁ Ë Termolizada com adição de tiamina nível 1

TT₂ Ë Termolizada com adição de tiamina nível 2

UFAL Ë Universidade Federal de Alagoas

VLDL Ë Lipoproteína de muito baixa densidade

-GT Ë Gama-glutamil transferase



Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 CAPÍTULO DE REVISÃO: Produtos de Glicação Avançada (AGEs) e o fígado.....	17
3 ARTIGO DE RESULTADOS: Ingestão crônica de dieta <i>termolizada</i> não promoveu alterações morfo-funcionais em fígado de ratos em envelhecimento.....	30
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
5 REFERÊNCIAS	48
6 ANEXOS	53



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

avançada ou AGEs, do inglês *advanced glycation end products*, também conhecidos como glicotoxinas, são um grupo de compostos heterogêneos formados por reações não enzimáticas, a partir de interações aminocarbonílicas entre açúcares redutores e seus produtos de oxidação ou lipídeos oxidados e proteínas, aminofosfolipídeos ou ácidos nucleicos (MONNIER, 2003; HUEBSCHMANN et al., 2006).

Os AGEs têm sido alvo de pesquisas no cenário científico mundial. Um tipo de modificação protéica pós-tradução foi descoberto em 1912, estabelecendo-se na clássica reação de Maillard e, desde então, inúmeros estudos tem sido realizados descrevendo a formação dos produtos de glicação. Em 1953, deu-se a descrição das vias químicas da glicação nos alimentos. Em 1981, descobriu-se que a reação de Maillard ocorria também *in vivo*, contribuindo para o envelhecimento biológico. Em 1992, registrou-se a descoberta do receptor para AGE (RAGE). Em 1997, descobriu-se que os AGEs dietéticos possuem propriedades tóxicas ao organismo, sendo chamados também de glicotoxinas. Na atualidade, a ciência continua ampliando seu conhecimento sobre os produtos de glicação (TESSIER, 2010).

Nesse cenário de avanços científicos, a dieta constitui, inequivocamente, a principal fonte exógena de glicotoxinas, contribuindo significativamente para o aumento do seu *pool* corporal. A ingestão freqüente de alimentos considerados fontes de alto teor de AGEs aumenta os níveis circulantes dessas substâncias, o que, associado ao estresse oxidativo, satura os receptores responsáveis pela degradação de proteínas modificadas pela glicação (KOSCHINSKY et al., 1997; BROWNLEE, 2001; HUEBSCHMANN et al., 2006).

O *pool* corporal de AGEs, portanto, é determinado pela formação endógena dessas substâncias (influenciada pela hiperglicemia e o estresse oxidativo), pelo seu consumo a partir de fontes exógenas, pela sua excreção do organismo, pela sua transmissão via placentária e pela redução da defesa anti-AGE do organismo humano, redução essa especialmente associada ao envelhecimento (MONNIER, 2003; VLASSARA; PALACE, 2003; RAMASAMY et al., 2005). O *pool* corporal de AGEs cronicamente aumentado oferece estímulos para o estresse oxidativo e para o aumento dos níveis de carbonilas reativas

devido ao aumento, por sua vez, da formação dos AGEs, em um ciclo vicioso que leva ao estímulo da interação AGE-RAGE. Através da ligação com seu receptor RAGE, os AGEs induzem a geração de espécies reativas de oxigênio e de citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para a inflamação, fenômeno sustentado pela ingestão persistente de níveis aumentados de produtos de glicação (HUEBSCHMANN et al., 2006; BASTA, 2008; SEMBA, 2010).

Nos alimentos, a formação de AGEs é diretamente proporcional à exposição do alimento ao calor seco, ao tempo dessa exposição e à faixa de pH do neutro ao alcalino. Esta formação resulta em uma variedade de produtos que participam na formação de pigmentos castanhos e compostos aromáticos voláteis, em alimentos tratados termicamente. Contudo, estes produtos de glicação reduzem o valor nutritivo da proteína dietética e, quando ingeridos, apresentam papéis tóxicos ao organismo humano, prejudicando a função das biomoléculas (NEGRE-SALVAYRE et al., 2009).

Em contraposição à geração de AGEs, são encontrados naturalmente nos alimentos compostos protetores, denominados antiglicantes, que também têm sido alvo de pesquisas. Entre eles, a tiamina, uma vitamina termolábil essencial para os seres humanos. Quando o alimento é submetido ao calor seco, além de formar AGEs, produz-se a perda do antiglicante tiamina, podendo reduzir o seu nível endógeno, favorecendo o estresse oxidativo no tecido intestinal, por exemplo, e o aumento de produtos de glicação em fluidos corporais (SHANGARI et al., 2007).

No contexto do *pool* corporal de AGEs aumentado, órgãos como o fígado se tornam alvo dos produtos da glicação. O tecido hepático é particularmente afetado pelo fato do fígado ser o principal local de *clearance* e catabolismo de AGEs circulantes. Há relatos de que as células hepáticas são mais suscetíveis ao estresse oxidativo e ao estresse carbonílico, especialmente promovido pelos produtos de glicação, gerando níveis aumentados de AGEs e níveis reduzidos de tiamina (SHANGARI; MEHTA; O'BRIEN, 2007; HYOGO; YAMAGISHI, 2008).

As células hepáticas estão mais suscetíveis a danos, doenças hepáticas crônicas como a doença do fígado gorduroso não alcoólica (NAFLD, do inglês *non-alcoholic fatty liver disease*), por comprometerem o principal órgão de detoxificação de AGEs, prejudicam o seu metabolismo, aumentando os níveis de AGEs circulantes (GUIMARÃES et al., 2010). Estima-se que a prevalência mundial da NAFLD esteja no intervalo de 10 a 24% em várias populações, aumentando sua prevalência para 50 a 75% entre os indivíduos obesos (CARVALHEIRA; SAAD, 2006). Representa, dessa maneira, a causa de doença hepática crônica mais freqüentemente diagnosticada no mundo ocidental, incluindo um espectro de lesões hepáticas que varia de esteatose simples até esteatohepatite não alcoólica (NASH). Neste cenário, crescentes evidências indicam a NAFLD como a manifestação hepática da síndrome metabólica (YILMAZ et al., 2009), havendo associação entre o fígado gorduroso e risco cardiovascular aumentado, constituindo em indivíduos obesos um marcador de resistência à insulina e diabetes (TINIAKOS; VOS; BRUNT, 2010).

Considerando o exposto, o objetivo deste trabalho de dissertação foi investigar a repercussão metabólica da ingestão crônica de uma dieta submetida a tratamento térmico, denominada *termolizada*, como modelo experimental de indução da formação de produtos de glicação avançada, associada a diferentes níveis de tiamina, em fígado de ratos adultos.



*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

2 CAPÍTULO DE REVISÃO

Produtos de Glicação Avançada (AGEs) e o fígado.

A alimentação típica do ocidente apresenta preferências para alimentos industrializados, fritos, assados e grelhados, aumentando consideravelmente o consumo dos produtos de glicação avançada (AGEs) da dieta. Esse padrão dietético constitui a principal fonte exógena de AGEs, que se somam aos produtos de glicação produzidos no organismo, aumentando a carga corporal dessas substâncias (GOLDBERG et al., 2004; SEMBA; NICKLETT; FERRUCCI, 2010; URIBARRI et al., 2010). Os AGEs são formados através de reações não enzimáticas, a partir de interações aminocarbonílicas, entre dicarbonilas de açúcares redutores, produtos de oxidação de carboidratos, aminoácidos, lipídeos e ácido ascórbico, com aminas de aminoácidos, proteínas, aminofosfolipídeos ou ácidos nucleicos (MONNIER, 2003; HUEBSCHMANN et al., 2006). Essas reações são intensificadas nos alimentos que apresentam faixa de pH do neutro ao alcalino, durante seu processamento térmico com calor seco, sendo proporcional ao tempo de sua exposição às altas temperaturas (NEGRE-SALVAYRE et al., 2009). No que se refere aos aspectos físico-químicos, os AGEs são caracterizados por fluorescência, cor marrom e ligações cruzadas e, biologicamente, por reconhecimento específico por receptores para AGEs (MATSUMOTO et al., 2000).

Por serem um grupo de compostos heterogêneos, os AGEs dietéticos são absorvidos em graus diferentes, variando de 10 até cerca de 80% de absorção dos compostos presentes nos alimentos, na forma de adutos livres de AGEs, aminoácidos glicosados e produtos de Amadori, estes últimos intermediários precoces no processo de glicação (KOSCHINSKY et al., 1997; FÖRSTER; KÜHNE; HENLE, 2005; BARBOSA; OLIVEIRA; SEARA, 2009; NAUDÍ et al., 2010).

A ingestão cotidiana de alimentos ricos em AGEs deixa o organismo mais suscetível à glicação, por aumentar o *pool* corporal de AGEs (em síntese, este *pool* é o reflexo da produção endógena, da incorporação de AGEs do ambiente e da eliminação desses compostos do organismo) (BROWNLEE, 2001), processo que satura o sistema de eliminação dos produtos de glicação (HUEBSCHMANN et al., 2006), facilitando o processo

de doenças crônicas, como aterosclerose, diabetes e suas complicações, desordens neurodegenerativas, cânceres e amiloidose. O papel dos AGEs nas doenças hepáticas, especificamente, vem sendo alvo de pesquisas, com vistas ao esclarecimento dos mecanismos envolvidos neste processo (BARBOSA; OLIVEIRA; SEARA, 2009; HYOGO; YAMAGISHI, 2008; BASTA et al., 2011).

O fígado é o principal órgão de *clearance* de AGEs circulantes, tornando-se um alvo fácil para o acúmulo dos AGEs e seus efeitos deletérios (HYOGO; YAMAGISHI, 2008). Em contraposição à formação de AGEs, compostos antioxidantes e antiglicantes, naturalmente encontrados em alimentos, representam um reforço promissor no sentido de reduzir os efeitos deletérios dos AGEs sobre o tecido hepático. Por exemplo, em condições de deficiência de tiamina, uma vitamina de propriedade antioxidante, os hepatócitos ficam mais susceptíveis aos danos causados pelo aumento de carbonilas reativas, de espécies reativas de oxigênio e de formação aumentada de AGEs (SHANGARI; MEHT; O'BRIEN, 2007; GUIMARÃES et al., 2010). Nesse embate de efeitos, anti e pró-oxidantes, enfermidades de reconhecida importância para a saúde pública mundial, como as doenças hepáticas, podem se estabelecer.

Neste contexto, o objetivo deste capítulo de revisão consistiu em investigar, na literatura científica, a repercussão dos AGEs dietéticos sobre o tecido hepático.

2 AGEs dietéticos: absorção, catabolismo hepático e excreção

A absorção de AGEs da dieta têm sido alvo de investigação na última década, embora permaneçam incertezas quanto ao processo de captação dos AGEs ao nível da barreira intestinal. Koschinsky et al. (1997) trataram deste assunto através de um estudo em humanos, relatando que aproximadamente 10% dos AGEs ingeridos resistiam ao processo digestivo, sendo transportados para a corrente sanguínea como adutos de glicação, junto a peptídeos pequenos e aminoácidos presentes na digestão; 2/3 destes AGEs absorvidos eram retidos no organismo. O epitélio intestinal absorve os produtos de Amadori, os adutos de AGEs livres e os aminoácidos glicosados, entretanto as proteínas altamente glicosadas não

OSKINSKY et al., 1997; BARBOSA et al., 2009; NAUDÍ et al., 2010; THORNALLEY, 2008). Alguns AGEs dietéticos, tais como a pirralina, podem ser absorvidos em até 80% (FÖRSTER; KÜHNE; HENLE, 2005), diferindo dos resultados encontrados por Koschinsky et al. (1997), para o total de AGEs.

Há evidências de que o AGE carboximetilisina (CML) pode ser absorvido no intestino através de fluxo transepitelial, provavelmente por difusão simples. Depois do processo digestivo, produtos da degradação da CML, e, principalmente, produtos de Amadori são degradados pela microbiota colônica humana e, assim, alguns dos derivados são reabsorvidos no intestino e outros sofrem excreção fecal. O produto de glicação CML absorvido no intestino segue para a corrente sanguínea, podendo agir sobre órgãos alvo como o fígado, os músculos e os rins, ou sofrerem catabolismo no fígado e/ou rins para serem excretados na urina ou via fecal (DELGADO-ANDRADE et al., 2011). As proteínas modificadas por AGEs são degradadas por proteólise celular e os adutos de glicação (frutosil lisina e adutos livres de AGEs) são removidos pelos rins. A extração hepática dessas proteínas modificadas por AGEs é a principal rota de detoxificação dos produtos de glicação avançada (AHMED et al., 2004). Os peptídeos AGEs circulantes, não detoxificados e não excretados do organismo, geram novos produtos de AGEs que reagem com componentes do plasma e outros tecidos, pois permanecem biologicamente ativos, exercendo seus efeitos deletérios aos tecidos, situação presente, por exemplo, em pacientes com disfunção renal (VLASSARA; PALACE, 2003; ANSARI; RASHEED, 2009).

Os níveis séricos de AGEs refletem o equilíbrio entre a ingestão oral, a formação endógena e a taxa de catabolismo. Este catabolismo depende da degradação tecidual dos produtos de glicação, ocorrida principalmente no fígado, e da excreção de AGEs do organismo. O aumento dos níveis de AGEs circulantes exerce efeito prejudicial para o organismo, particularmente para o fígado (HORIUCHI, 2002; GUIMARÃES et al., 2010; BASTA et al., 2011). Em um estudo experimental, mais que 90% de AGE-BSA (albumina sérica bovina ligada a produtos de glicação avançada) foi detoxificado por células do

utos após sua injeção intravenosa (MATSUMOTO et al., 2000). Neste contexto, há relatos que sugerem os níveis de AGEs circulantes como um biomarcador útil para avaliar a função hepática residual e para distinguir esteatohepatite não alcoólica de esteatose simples (PEPPA; URIBARRI; VLASSARA, 2002; HYOGO; YAMAGISHI, 2008).

Compostos precursores de AGEs, como glioxal e metilglioxal, são detoxificados pelo sistema de glioxalase celular, consistindo de glioxalase-I e II, as quais convertem compostos precursores de AGEs em lactato e finalmente piruvato. A capacidade de endocitose de AGEs é reduzida no fígado envelhecido, resultando em repercussões negativas sobre a circulação sistêmica e deposição extra-hepática destes resíduos de macromoléculas (KUHILA; TRIEGLAFF; VOLLMAR, 2011).

O fígado, um órgão alvo para AGEs, por ser um local de *clearance* e de catabolismo desses compostos, pode sofrer glicação de seus componentes estruturais e redução da capacidade funcional dos receptores *scavenger* prejudicando, por sua vez, o metabolismo dos próprios AGEs, estabelecendo-se, portanto, um ciclo vicioso. O *clearance* destes produtos de glicação é realizado por vários tipos de células hepáticas, tais como células de Kupffer e células do endotélio sinusoidal hepático. Além destas, os hepatócitos também atuam na detoxificação dos AGEs (HANSEN et al., 2002; HYOGO; YAMAGISHI, 2008; BASTA, 2011). A função catabólica do fígado é possível devido à presença de receptores *scavenger* nas células supra citadas, realizando endocitose, desintoxicação e catabolismo de AGEs. Pelo fato do fígado ser o principal órgão de catabolismo de AGEs, qualquer receptor *scavenger* pode atuar no processo de endocitose que envolve esses compostos. No entanto, há relatos de que os receptores *scavenger* envolvidos na endocitose de AGEs são distintos dos receptores *scavenger* classe A e parecem reconhecer AGEs e LDL oxidada como ligantes (HANSEN et al., 2002; BASTA, 2011).

Após a endocitose, a degradação de AGEs ocorre de maneira mais lenta, quando comparada à degradação de outros ligantes dos receptores *scavenger*, reduzindo a

por estes receptores, prejudicando provavelmente o mecanismo normal de dissociação entre ligante e receptor, no compartimento endossômico inicial. Há também o prejuízo do transporte intracelular de seus ligantes, havendo degradação do compartimento endossômico-lisossomal, o que leva à redução da capacidade funcional deste receptor, sendo necessária nova síntese protéica para o reaparecimento da capacidade de detoxificação pelo receptor *scavenger* na superfície celular (HANSEN et al., 2002).

Os AGEs remanescentes do processo de catabolismo, então, permanecem no tecido, podendo exercer seus efeitos deletérios por meio de diversos mecanismos, desde a interação com diversas proteínas, comprometendo suas características estruturais e funcionais, até a associação com receptores que acionam uma cadeia de eventos específicos que podem comprometer a função celular.

3 AGEs e fígado:

Ao contrário dos receptores *scavenger*, que fazem a detoxificação dos AGEs do meio circulante, degradando-os, existe outro tipo de receptor, membro multiligante da superfamília das imunoglobulinas de moléculas de superfície celular, que está associado à inflamação e ao estresse oxidativo, o RAGE (receptor para AGE). O RAGE possui a característica de polimorfismo, possuindo isoformas solúveis (sRAGE e esRAGE), além da estrutura transmembrana. A função exata de cada isoforma de RAGE precisa ser mais bem esclarecida, pois o uso de métodos generalistas para a identificação de RAGE e suas isoformas, por não distinguí-las fidedignamente, fornece dados controversos. A localização do RAGE e do receptor *scavenger* no fígado é demonstrada na figura 1 (BASTA, 2008; BASTA et al., 2011). Entre as várias vias capazes de ativar a sinalização intracelular envolvida nas doenças hepáticas, os AGEs e seu receptor RAGE estão envolvidos na patogênese e progressão da doença do fígado gorduroso não alcoólica. Em particular, a interação entre AGEs e RAGE provoca geração de estresse oxidativo e, posteriormente,

vários tipos de células, incluindo hepatócitos e células estreladas do fígado (DADAMO et al., 2011).

O RAGE possui uma região extracelular formada de um domínio de imunoglobulina do tipo V e dois domínios de imunoglobulina do tipo C, seguidos por um único e curto domínio transmembrânico e curto domínio citoplasmático, que é essencial para a transdução do sinal mediado por essa proteína (NEEPER et al., 1992; SCHMIDT et al., 2000; BASTA et al., 2011). Isoformas solúveis (tais como sRAGE) são detectáveis no soro humano, sendo capazes de se ligar ao AGE e concorrer com o RAGE para esta ligação, apresentando efeitos citoprotetores, uma vez que parecem não mediar a transdução de sinal intracelular (YONEKURA et al., 2003; SCHLUETER et al., 2003; BASTA, 2008; BASTA et al., 2011).

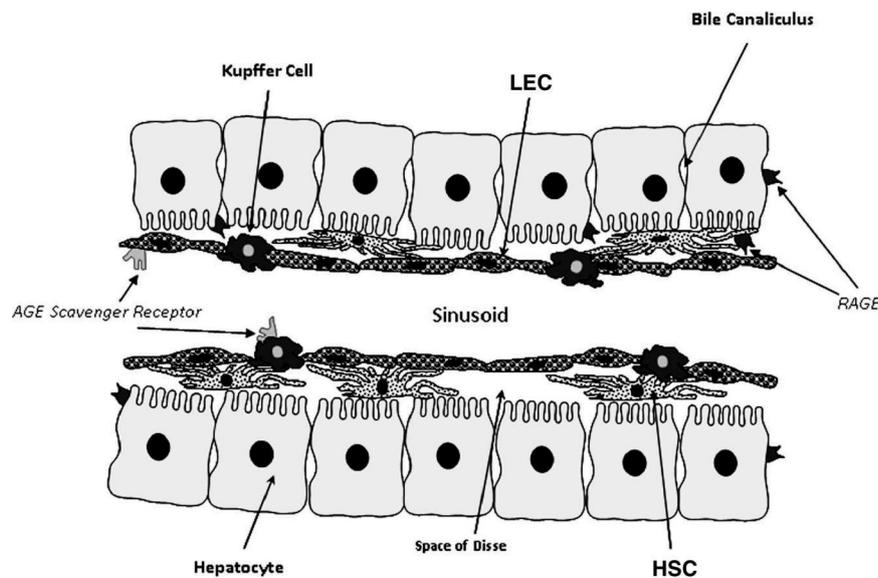


Figura 1 Localização do receptor *scavenger* para AGE e do RAGE no fígado. Receptores *scavenger* para AGE estão presentes em células de Kupffer e células endoteliais do sinusóide hepático, enquanto RAGE está localizado nos hepatócitos e nas células estreladas do fígado. AGE: produto de glicação avançada. RAGE: receptor para AGE. LEC: células do endotélio sinusoidal hepático. HSC: células estreladas do fígado. Adaptada de Basta et al., 2011.

O AGE é um ligante ocasional de RAGE, que recebeu este nome pelos AGEs terem sido os primeiros ligantes a serem descobertos para este receptor. Outros ligantes de RAGE consistem em citocinas pró-inflamatórias S100/calgranulinas, HMGB1, peptídeo amilóide, fibrilas de folhas, entre outros (BASTA et al., 2011). Os AGEs representam o foco da atual

da dieta. Semelhantemente ao que ocorre no endotélio

vascular, níveis aumentados de AGEs favorecem a interação AGE-RAGE no fígado, que leva a sinais de estresse oxidativo intracelular e aumento da expressão de genes pró-inflamatórios, incluindo os genes do próprio RAGE (BASTA, 2008; BASTA et al., 2011).

No fígado e no sangue, particularmente, marcadores oxidativos e inflamatórios podem ser indicativos das características pró-oxidativas e pró-inflamatórias dos AGEs (dietéticos e produzidos no organismo), estabelecendo possível correlação com o estresse oxidativo e com a inflamação, respectivamente, sugerindo relação direta entre AGEs dietéticos, *pool* corporal de AGEs e lesão hepática associada à doença hepática crônica (VLASSARA et al., 2002; HYOGO; YAMMAGISHI, 2008). Em um estudo *in vitro*, observou-se que os AGEs aumentam a ativação e a proliferação das células estreladas do fígado, fenômeno associado à geração intracelular de espécies reativas de oxigênio e à produção de citocinas pró inflamatórias nessas células. Isto sugere um mecanismo molecular pelo qual os AGEs contribuem para a fibrose e inflamação hepáticas relacionadas a uma doença hepática em particular, a esteato hepatite não alcoólica (IWAMOTO et al., 2008).

Em certas doenças crônicas, tais como doença hepática crônica, doença renal crônica, diabetes, síndrome metabólica, no envelhecimento e por ocasião da ingestão aumentada de AGEs, ocorre a formação acelerada de produtos de glicação pelo aumento de substratos contendo grupos amina e carbonila reativos, e pelo metabolismo prejudicado dos próprios AGEs no fígado e/ou no rim, órgãos que contribuem para o *clearance* e a excreção desses produtos do organismo. Além dos níveis aumentados de AGEs, tais condições estão relacionadas ao estado oxidativo e inflamatório no tecido hepático (HYOGO; YAMAGISHI, 2008; GUIMARÃES et al., 2010).

Considerando-se o processo de estresse oxidativo, os AGEs podem aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio através da interação com o RAGE e, independente de RAGE, através da redução de antioxidantes ou pela formação intracelular de derivados glicoxidantes (HUEBSCHMANN et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2010). Contribuindo para o processo inflamatório crônico, por outro lado, operam mecanismos

há a ativação de cascata inflamatória (MONNIER, 2003;

HUEBSCHMANN et al., 2006). Por isso, o aumento da carga corporal de AGEs pode contribuir para o estabelecimento do estresse oxidativo e da inflamação, condições com provável relação direta ao metabolismo diminuído de AGEs, aumentando seus níveis circulantes e a susceptibilidade de células hepáticas e intestinais à toxicidade desses compostos (SHANGARI et al., 2007; SHANGARI; MEHTA; O'BRIEN, 2007).

A alanina aminotransferase (ALT), uma enzima transaminase, com meia vida biológica de cerca de três dias, pode ser glicada *in vitro* por vários açúcares, sugerindo também a possibilidade de sua glicação intracelular, uma vez que possui de 15 a 20 aminoácidos lisina (aminoácido com grupo amina disponível para reação). A ALT está presente em tecidos glicolíticos e parece estar envolvida no metabolismo de aminoácidos e carboidratos. Desta forma, a glicação da molécula da enzima pode influenciar, portanto, o metabolismo intermediário e sua regulação (BERÁNEK et al., 2001).

Para investigar o papel dos produtos de glicação na fisiopatologia hepática, estudos pré clínicos demonstraram que os AGEs prejudicam a função *scavenger* de células do endotélio sinusoidal do fígado de ratos, perturbando o sistema de transporte intracelular dos produtos de glicação, com conseqüente aumento de seus próprios níveis circulantes, perpetuando o eixo AGE-RAGE no organismo (HANSEN et al., 2002). A ativação de RAGE pode contribuir para processos pró-inflamatórios destrutivos do tecido hepático. Há relatos de que RAGE medeia a resposta ao estresse durante ressecção hepática e inicia eventos que reduzem a regeneração deste órgão, enquanto que o bloqueio de RAGE parece ser uma estratégia promissora para promover regeneração em massa do fígado lesionado. Embora RAGE tenha uma função protetora na prevenção da fibrose pulmonar, este receptor parece estar envolvido nos mecanismos de liderança para a fibrose renal e hepática (BASTA et al., 2011).

No âmbito dos estudos clínicos, Butscheid et al. (2007) não encontraram diferença nos níveis séricos de CML em pacientes com hepatite C (com ou sem esteatose), doença de fígado gorduroso não alcoólico ou esteatoepatite não alcoólica (BUTSCHEID et al., 2007).

ose hepática, níveis aumentados de CML circulante (o AGE mais importante biologicamente) tiveram correlação positiva com a gravidade da doença e foram inversamente associados com a função hepática residual dos pacientes, estimada por níveis de albumina sérica e bilirrubina plasmática. Adicionalmente, três meses após o transplante hepático, esses pacientes tiveram os níveis plasmáticos de CML diminuídos pela metade daqueles anteriores ao tratamento (SEBEKOVA et al., 2002; HYOGO; YAMAGISHI, 2008; BASTA et al., 2011). Esse fato associado ao ciclo vicioso, no qual a doença hepática crônica prejudica o catabolismo hepático de AGEs, aumentando seus níveis circulantes, o estresse oxidativo e o estresse carbonílico, prejudicando adicionalmente a função fisiológica do fígado, fazem dos níveis de AGEs circulantes potenciais biomarcadores úteis para avaliar a função hepática residual (HYOGO; YAMAGISHI, 2008).

Ao comparar indivíduos saudáveis com indivíduos com doença hepática crônica, estes últimos apresentaram significativamente maiores níveis séricos de CML, associados com perda da capacidade funcional hepática (YAGMUR et al., 2006; BASTA et al., 2011). Ainda há muito a se esclarecer sobre o assunto, mas os resultados de estudos prévios sugerem que um prejuízo moderado na função hepática não afeta o nível circulante de CML, o qual se eleva em pacientes com cirrose grave, resultante do catabolismo reduzido de AGEs. Nesses casos relatados por Basta et al., (2011), a CML não causou a cirrose hepática (BASTA et al., 2011).

Ainda em estudos clínicos, AGEs foram detectados em hepatócitos de pacientes com NASH (esteato hepatite não alcoólica, do inglês *non-alcoholic steatohepatitis*), mas não em indivíduos com esteatose simples. Em material de biopsia hepática de indivíduos saudáveis ou com esteato hepatite, hepatite relacionada a vírus, colestase ou cirrose, foram detectados CML e RAGE nos hepatócitos de todos os pacientes, inclusive os saudáveis (BUTSCHEID et al., 2007; BASTA et al., 2011). Em condição diferente, em células do hepatoma humano expostas a AGEs, a interação AGE-RAGE estimulou a proteína C reativa hepática através de duas vias: 1) via dependente de espécies reativas de oxigênio, mediada

Rac-1; 2) sinal induzido por transdutor Rac-1 e ativador da transcrição 3- e uma dependente de NF- B, que não é diretamente mediada por espécies reativas de oxigênio. A expressão de RNA mensageiro de RAGE é menor no fígado normal que no fígado com hepatite e maior no carcinoma hepatocelular, indicando que a interação AGE-RAGE também acontece nessas doenças (HYOGO; YAMAGISHI, 2008).

Estes achados associam-se ao fato de que a doença do fígado gorduroso não alcoólica tem sido a causa mais freqüentemente diagnosticada de doença hepática crônica e que a população ocidental ingere cada vez mais alimentos com alto teor de AGEs, proporcionando ao organismo um ambiente favorável ao estresse oxidativo e à inflamação, condições estas presentes no desenvolvimento da doença hepática crônica (YILMAZ et al., 2009; SEMBA, 2010; BASTA et al., 2011). Com vistas a prevenção de estados oxidativos e inflamatórios crônicos associados aos produtos de glicação, particularmente relacionados ao tecido hepático, estratégias terapêuticas têm sido alvo de pesquisas a considerar a terapia nutricional como forte aliada da prevenção e tratamento de doenças hepáticas crônicas.

4 Perspectivas terapêuticas

Ainda há muito a ser esclarecido sobre as estratégias terapêuticas anti-AGE para o tecido hepático normal (prevenção) e para a doença hepática crônica já instalada. No entanto, em outras doenças como no diabetes já existem fármacos sendo utilizados na prevenção e no tratamento das complicações diabéticas em seres humanos, a exemplo da benfotiamina que possui papel inibidor da formação de AGEs (HUEBSCHMANN et al., 2006). No âmbito do tecido hepático, a tiamina, uma vitamina termolábil, está sendo investigada, do ponto de vista de seu papel antiglicante, sendo testada atualmente em estudos experimentais para posteriormente ser aplicada em humanos; se os estudos pré clínicos indicarem que a tiamina protege os organismos vivos contra os efeitos deletérios dos AGEs, poderá se constituir um importante adjuvante no controle desse fenômeno (SHANGARI; MEHTA; O'BRIEN, 2007).

na regeneração da glutatona oxidada para sua forma reduzida, através da manutenção dos níveis celulares de NADPH, aumentando a defesa antioxidante celular em células intestinais (SHANGARI et al., 2007). Em células hepáticas, a ingestão de dieta suplementada com tiamina ajuda a manter a detoxificação de glioxal e metilglioxal, contribuindo para a redução do estresse carbonílico e a formação de AGEs, protegendo o fígado do efeito prejudicial exercido pelo estresse oxidativo e carbonílico (SHANGARI; MEHT; O'BRIEN, 2007).

Outro modo de prevenir o estresse oxidativo, o estresse carbonílico e a inflamação estimulada pelos AGEs é a inibição do receptor RAGE. A administração da isoforma solúvel sRAGE é um modo de inibição do receptor de superfície celular RAGE, uma vez que sRAGE compete com RAGE e não medeia a transdução de sinal intracelular (BASTA, 2008; YILMAZ et al., 2009).

No contexto científico, existem também expectativas sobre o estabelecimento do nível seguro de ingestão dos produtos de glicação da dieta, ou seja, um valor que corresponderia à quantidade limite de AGEs que o organismo poderia absorver, detoxificar e não sofrer os efeitos prejudiciais relacionados à glicação, ao estresse oxidativo e à inflamação crônica, correlacionados com o aumento do *pool* endógeno de AGEs. A partir da identificação dos limites de ingestão de AGEs, pode-se avaliar a alimentação consumida pelas populações e orientar mais precisamente dietas com teores reduzidos de AGEs.

5 Conclusão

Está estabelecido que a quantidade aumentada de AGEs dietéticos consumida cotidianamente aumenta o *pool* corporal pós-prandial de AGEs circulantes e, como consequência, no tecido hepático. Existem controvérsias acerca do papel dos AGEs na doença hepática crônica, demonstrando a necessidade de estudos adicionais que esclareçam os mecanismos bioquímicos envolvidos neste processo, proporcionando, assim, a identificação de vias desencadeadas pelos produtos de glicação, que possam ser alvos promissores de intervenção terapêutica. Do mesmo modo, ao considerar a associação dos



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

rio e oxidativo, compostos antiglicantes encontrados naturalmente nos alimentos ou suplementados na dieta, tais como a vitamina tiamina, parecem constituir estratégias promissoras que, adicionadas à redução do consumo de AGEs dietéticos possibilitem a otimização de intervenções relacionadas à manutenção do período de vida saudável e à terapêutica da doença hepática crônica.