

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP
Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde**

**EFEITO DE UMA DIETA RICA EM AÇÚCAR SOBRE
O ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO
CARDIORRENAL NA CIRROSE HEPÁTICA**

SABRINA TRIGUEIRO MENDONÇA

Sinop, Mato Grosso
Fevereiro, 2022

SABRINA TRIGUEIRO MENDONÇA

**EFEITO DE UMA DIETA RICA EM AÇÚCAR SOBRE
O ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO
CARDIORRENAL NA CIRROSE HEPÁTICA**

Orientadora: Prof. Dra. Gisele Facholi Bomfim

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências em Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário de Sinop, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Saúde.

Sinop, Mato Grosso
Fevereiro, 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

M539e Mendonça, Sabrina Trigueiro.
Efeito de uma dieta rica em açúcar sobre o estresse oxidativo e inflamação
cardio-renal na cirrose hepática / Sabrina Trigueiro Mendonça. – 2022
64 f. ; 30 cm.

Orientador: Gisele Facholi Bomfim.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de
Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Saúde, Sinop, 2022.
Inclui bibliografia.

1. cirrose hepática; cardiomiopatia cirrótica; tioacetemida. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM SAÚDE
FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "Efeito de uma dieta rica em açúcar sobre o estresse oxidativo e inflamação cardíaco-renal na cirrose hepática"

AUTOR (A): Mestranda Sabrina Trigueiro Mendonça

Dissertação defendida e aprovada em 24/02/2022.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Presidente Banca / Orientador Doutor(a) Gisele Facholi Bomfim

Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Interno Doutor(a) Renata de Azevedo Melo Luvizotto Nascimento

Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Externo Doutor(a) Renée de Nazaré Oliveira da Silva

Instituição : Universidade de São Paulo

Examinador Suplente Doutor(a) Júlio Cezar de Oliveira

Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Suplente Doutor(a) Cinthya Echem de Souza Pereira

Instituição : Universidade de São Paulo - USP

SINOP, 24/02/2022.



Documento assinado eletronicamente por **RENATA DE AZEVEDO MELO LUVIZOTTO NASCIMENTO, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 25/02/2022, às 10:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **GISELE FACHOLI BOMFIM, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 25/02/2022, às 11:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renee de Nazare Oliveira da Silva, Usuário Externo**, em 25/02/2022, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4434096** e o código CRC **013EBDA2**.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pois ele me deu forças e me guiou até aqui, a ele devo todas as graças alcançadas em minha vida, a meu esposo que sempre me incentivou e de mãos dadas comigo me fez mais forte para alcançar o desejado

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu marido que no decorrer dessa trajetória, me apoiou nos meus dias mais difíceis principalmente naqueles que por um momento pensei em desistir, sua paciência, seu conselho e seu carinho me ajudaram a prosseguir. Agradeço também a minha família que sempre nos incentivaram a estudar e buscar através do conhecimento alcançar o que desejamos. Pai e Mãe vocês foram essenciais durante todo o processo do mestrado, assim como sempre foram para tudo na vida. Agradeço a minha irmã Bruna Trigueiro, pessoa muito especial para mim, quem conhece nossa relação sabe que sempre nos fortalecemos para o crescimento de ambas, por isso mais uma vez obrigada por sempre estar comigo em todos os momentos da minha vida. Agradeço a Universidade Federal de Mato Grosso –Câmpus Sinop (UFMT) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde (PPGCS) por me proporcionar uma formação de qualidade e exemplar, com professores admiráveis e de grande qualificação. Agradeço imensamente aos alunos de iniciação científica, Ian Gabriel e a Maiara Taffarel, que foram importantes para o andamento da nossa pesquisa fazendo parte da nossa equipe. Agradeço em especial a minha orientadora Professora Dra. Gisele Facholli Bomfim, pelo apoio, paciência e ensinamentos durante essa trajetória. Agradeço à Prof.^a Dra. Renata de Azevedo Melo Luvizotto Nascimento pelas parcerias destinadas ao projeto. Gostaria também de estender meus agradecimentos a Prof.^a Dra. Valéria Dornelles Gindri Senhorin, por todo ensinamento e pela parceria na realização das análises de estresse oxidativo. Agradeço ao Prof^o Marcos Dias pelos ensinamentos e auxílio nas análises histológicas. Agradeço ao Laboratório de Doenças Metabólicas e Cardiovasculares - NUPADS (Núcleo de Pesquisa e Apoio Didático em Saúde - UFMT - SINOP), por ceder o local para realização dessa pesquisa. Ao Laboratório Integrado de Pesquisas Químicas (LiPEQ) pela parceria na realização das análises de estresse oxidativo. Agradeço a todos que fizeram parte deste processo que me agregou muito conhecimento e amadurecimento como pessoa e profissional. Gratidão a todos!

RESUMO

A cirrose hepática é considerada a principal doença crônica do fígado, 14ª causa de morte mundial e tem alta prevalência na população brasileira. É uma doença caracterizada pela substituição da estrutura hepática por nódulos anormais circundados por fibrose. As alterações hepáticas presentes na cirrose levam a prejuízos no sistema cardiovascular e renal, podendo desenvolver Cardiomiopatia cirrótica e Síndrome hepato-renal. Além disso, trata-se de uma condição catabólica onde pacientes cirróticos possuem baixa ingestão energética e maior gasto de energia em repouso, levando a disfunções metabólicas e piora do quadro clínico. Estudos demonstraram que uma suplementação nutricional com ingestão energética suficiente, melhora significativamente a sobrevivência de pacientes cirróticos. Diante disso nosso objetivo foi avaliar o efeito de uma dieta rica em sacarose sobre o sistema redox e a inflamação no coração e rim de animais com cirrose hepática induzida por tioacetamida. Para realização do estudo utilizamos ratos *Wistar* machos, os quais dividimos em três grupos: Controle (C); Tioacetamida (TAA) e Tioacetamida+Açúcar (TAA+A). Foi realizada indução da cirrose hepática pela administração de tioacetamida, uma droga com efeito hepatotóxico, na dose de 100 mg/kg duas vezes por semana por via intraperitoneal (i.p) durante 8 semanas. O açúcar foi ofertado na água de beber na concentração de 300 g/L diariamente durante 8 semanas. Com o término do período experimental foi realizada eutanásia dos animais, e retirado o coração e rim para análises. Dentre as análises foi realizada avaliação de alguns parâmetros do estresse oxidativo cardíaco e renal e a quantificação de interleucina 10 (IL-10) e interleucina 1 beta (IL-1 β). Nossos resultados mostraram que a dieta rica em sacarose aumentou o ganho de peso e o acúmulo de gorduras corporais nos animais cirróticos, amenizando os sintomas de caquexia presente no grupo TAA. Quanto as análises moleculares, verificamos no coração e rim dos animais cirróticos um aumento do estresse oxidativo, demonstrados pelo aumento de TBARs e proteínas carboniladas no rim e aumento de proteínas carboniladas e diminuição de GST, SOD e catalase no coração. A oferta de uma dieta rica em sacarose diminuiu tanto TBARs como proteínas carboniladas no rim, e aumentou a atividade das enzimas GST e SOD no coração. Em relação as citocinas, o tratamento com TAA diminuiu as concentrações de IL-1 β e IL-10 no rim, sendo que a suplementação com açúcar aumentou essas duas citocinas dosadas. Já no coração, não observamos diferença nas concentrações de IL-10 e IL-1 β , no entanto o uso do açúcar diminuiu esses dois parâmetros. Diante disso, vimos que na cirrose hepática induzida por TAA há um menor ganho de peso e de gordura corporal, além do aumento do estresse oxidativo no coração e rim, sem alterar o estado inflamatório nesses órgãos. A suplementação com açúcar amenizou o quadro catabólico e os parâmetros oxidativos no rim e coração e causou uma imunomodulação em ambos órgãos na cirrose.

Palavras-chave: cirrose hepática; cardiomiopatia cirrótica; tioacetamida.

ABSTRACT

Liver cirrhosis is considered the main chronic liver disease, the 14th leading cause of death worldwide and has a high prevalence in the Brazilian population. It is a disease characterized by the replacement of the liver structure by abnormal nodules surrounded by fibrosis. The liver changes present in cirrhosis lead to damage to the cardiovascular and renal systems, which can lead to cirrhotic cardiomyopathy and hepatorenal syndrome. Furthermore, it is a catabolic condition where cirrhotic patients have low energy intake and higher energy expenditure at rest, leading to metabolic dysfunctions and worsening of the clinical picture. Studies have shown that nutritional supplementation with sufficient energy intake significantly improves the survival of cirrhotic patients. Therefore, our objective was to evaluate the effect of a sucrose-rich diet on oxidative stress and inflammation in the heart and kidney of animals with thioacetamide-induced liver cirrhosis. To carry out the study we used male Wistar rats, which we divided into three groups: Control (C); Thioacetamide (TAA) and Thioacetamide+Sugar (TAA+A). Induction of liver cirrhosis was performed by administering thioacetamide, a drug with hepatotoxic effect, at a dose of 100 mg/kg twice a week intraperitoneally (i.p) for 8 weeks. Sugar was offered in the drinking water at a concentration of 300 g/L daily for 8 weeks. At the end of the experimental period, the animals were euthanized, and the heart and kidney were removed for analysis. Among the analyses, evaluation of some parameters of cardiac and renal oxidative stress and quantification of interleukin 10 (IL-10) and interleukin 1 beta (IL-1 β) were performed. Our results showed that the administration of TAA modified liver histological aspects, demonstrating the success in inducing liver cirrhosis in the animal. We saw that the high sugar diet increased weight gain and the accumulation of body fat in cirrhotic animals. As for the molecular analysis, we verified an increase in oxidative stress in the heart and kidney of cirrhotic animals, demonstrated by the increase in TBARs and carbonyl proteins in the kidney and the increase in carbonyl proteins and a decrease in GST, SOD and catalase in the heart. Offering a diet rich in sucrose decreases both TBARs and carbonyl proteins in the kidney, without altering the oxidative parameters in the heart. Regarding cytokines, treatment with TAA decreased the concentrations of IL 1 β and IL-10 in the kidney, and sugar supplementation increased these two cytokines measured. In the heart, we did not observe differences in the concentrations of IL-10 and IL-1 β , however the use of sugar decreased these two parameters. Therefore, we saw that in liver cirrhosis induced by TAA there is less weight and body fat gain, in addition to increased oxidative stress in the heart and kidney, without changing the inflammatory state in these organs, and sugar supplementation ameliorated the catabolic condition of cirrhosis, oxidative parameters and IL-10 levels only in the kidney.

Keywords: liver cirrhosis; cirrhotic cardiomyopathy; thioacetamide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A progressão da doença cardíaca na cirrose hepática-----	17
Figura 2: Desequilíbrio entre espécies reativas de oxigênio antioxidantes--	18
Figura 3: A ativação do inflamassoma de NLRP3 -----	21
Figura 4: Marcadores indiretos de dano oxidativo no tecido cardíaco-----	32
Figura 5: Compostos antioxidantes do tecido cardíaco -----	32
Figura 6: Marcadores indiretos de dano oxidativo no tecido renal -----	33
Figura 7: Compostos antioxidantes do tecido renal -----	33
Figura 8: Dosagem das citocinas IL-1 β e IL-10 no tecido cardíaco -----	34
Figura 9: Dosagem das citocinas IL-1 β e IL-10 no tecido renal -----	34

LISTA DE ABREVIATURAS

ASC: Proteína do tipo speck associada á apoptose contendo um domínio de recrutamento caspase.

BSA: Albumina de Soro Bovino

C: Controle

CAT: Catalase

DCM: Doença cardiomiótica

DAMPs: Padrões moleculares associados a danos

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

GST: Glutathione -S- transferase

GSH: Glutathione Reduzida

GPx: Glutathione Peroxidase

IL-1 β : Interleucina 1 beta

IL-10: Interleucina 10

IL-8: Interleucina 8

NF- κ β : Fator nuclear kappa beta

NLRP3: Proteína da família NLR, contendo domínio pirina 3

PAMPs: Padrões moleculares associados a patógenos

PBS: Solução Salina

SOD: Superóxido Dismutase

TAA: Tioacetamida

TBARS: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TLR: Receptor tipo Toll

TNF: Fator de Necrose Tumoral

TNF- α : Fator de Necrose Tumoral - alfa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 CIRROSE HEPÁTICA	13
1.2 ALTERAÇÕES CARDÍACAS NA CIRROSE HEPÁTICA-----	14
1.3 ALTERAÇÕES RENAIIS NA SÍNDROME HEPATORRENAL -----	15
1.4 ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO NA CARDIOMIOPATIA CIRRÓTICA E NA SHR- -----	17
1.5 BALANÇO ENERGÉTICO NA CIRROSE HEPÁTICA-----	22
2 OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 ANIMAIS-----	26
3.2 MODELO EXPERIMENTAL E DIETA RICA EM SACAROSE	26
3.3 QUANTIFICAÇÃO DAS CITOCINAS PELO MÉTODO DE ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)-----	27
3.4 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO CARDÍACO-----	28
3.4.1 ANÁLISE DE MARCADORES DE DANOS OXIDATIVO-----	28
3.4.1.1 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA-----	28
3.4.1.1.1 CARBONILAÇÃO DE PROTEÍNAS-----	28
3.5 ANÁLISE DE ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS-----	28
3.5.1 SUPERÓXIDO DESMUTASE-----	29
3.5.2 GLUTATIONA -S- TRANSFERASE-----	29
3.5.3 CATALASE-----	29
3.6 ANÁLISE DE ANTIOXIDANTES NÃO ENZIMÁTICOS-----	29
3.6.1 GLUTATIONA REDUZIDA-----	29
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA-----	30
4. RESULTADOS -----	31
4.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS -----	31
4.2 ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO CARDÍACO E RENAL-----	31
4.3 DOSAGEM DAS CITOCINAS DO TECÍDO CARDÍACO E TECIDO RENAL-----	34
5. DISCUSSÃO -----	35
6. CONCLUSÃO -----	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	41
8. ARTIGO -----	50

1. INTRODUÇÃO

1.1 CIRROSE HEPÁTICA

A cirrose hepática é uma das principais doenças crônicas do fígado, sendo a 14ª causa morte mundial, se demonstra com altas taxas de morbidade e mortalidade provocando 1,03 milhão de mortes por ano (TSOCHATZIS; BOSCH; BURROUGHS,2014). Apresenta alto índice de prevalência em meio a população brasileira, sendo que dados nacionais estimam prevalência de 0,14% a 0,35%, mortalidade de 3 a 35 por 100.000 habitantes e média anual de 30.000 internações no Brasil (SILVEIRA; ISER; BIANCHINI,2016, MOCARZEL et al,2017).

A cirrose é definida pela presença de fibrose hepática progressiva, com transformação nodular e alteração da arquitetura hepática (HO; YOSHIDA, 2006). Essa fibrose hepática é caracterizada por um aumento na deposição de componentes da matriz extracelular (MEC), principalmente colágenos e proteoglicanos, que ocorre inicialmente por causa da perda de hepatócitos por apoptose ou necrose, dano oxidativo e inflamação (FURTADO et al, 2012).

Trata-se de uma doença de difícil diagnóstico pois na maioria das vezes apresenta-se na forma assintomática e quando começam as manifestações clínicas, essas são diversas pois as complicações cirróticas agridem diferentes órgãos dentre eles o coração e o rim. Estas manifestações podem variar de alterações laboratoriais isoladas até uma falência hepática rapidamente progressiva (COSTA; ASSIS; BRILHANTE; GUIMARÃES,2016).

A maioria das mortes por cirrose ocorrem devido a insuficiência hepatocelular, complicações decorrentes da hipertensão portal ou desenvolvimento de carcinoma hepatocelular. A insuficiência dos hepatócitos pode resultar em uma súbita e maciça destruição do fígado (tanto na hepatite fulminante viral ou por drogas) ou, da agressão progressiva aos hepatócitos, como ocorre na cirrose. Independente de qual seja a evolução, 80% a 90% da capacidade funcional do fígado deve estar acometida para que ocorra falência hepática, tamanha a reserva funcional desse órgão (LIDA; SILVA; SILVA;SILVA;ALVES,2005).

Os fatores associados ao desenvolvimento de cirrose são: infecção por vírus da hepatite C (HCV) e hepatite B (HBV), doença hepática alcoólica, doença do fígado gorduroso não alcoólica, hepatite autoimune e cirrose hepática induzida por drogas (SHARMA; JOHN, 2020). Dessa forma, essas lesões hepáticas agudas e fibrose / cirrose pode ser induzidas experimentalmente por algumas drogas como a tioacetamida (TAA). O aumento das espécies reativas de oxigênio parece ser o mecanismo envolvido na hepatotoxicidade no processo de

fibrogênese, e a TAA estimula a formação de radicais livres, os quais podem diminuir a glutatona (GSH) e outras defesas antioxidantes nos hepatócitos causando a peroxidação lipídica. (FURTADO et al, 2012; TÚNEZ et al, 2005).

O tratamento da cirrose é basicamente em busca da não progressão da doença e suas complicações, para isso a eliminação da causa cirrótica se faz necessária. Medicamentos antifibróticos costumam ser utilizados independente do causador da patologia (SCHUPPAN; AFDHAL, 2008).

A reversão da cirrose hepática é possível com o transplante de fígado, porém este é indicado quando há uma descompensação da cirrose e evolução para carcinoma hepatocelular (AL-HAMOUDI, 2010). A realização do transplante, induz estresse cardiovascular significativo, com o poder de agravar a disfunção cardíaca a qual contribui para mortalidade e morbidade, por estas razões o transplante não é indicado para pacientes que apresentam cardiomiopatia cirrótica. (LIU.H, et al,2017).

Além das lesões no fígado, já é bem descrito na literatura que as alterações hepáticas presentes na cirrose levam a prejuízos no sistema cardiovascular (SILVESTRE et al,2014) e sistema renal, podendo ocasionar além da cardiomiopatia cirrótica, a síndrome hepatorenal (SHR). Essa última condição clínica é caracterizada por deterioração da função renal em consequência da insuficiência hepática e hipertensão portal, complicações existentes em pacientes com doença hepática avançada (CARTAXO et al,2018).

1.2. ALTERAÇÕES CARDÍACAS NA CIRROSE HEPÁTICA.

Cerca de 50% dos pacientes com cirrose hepática desenvolvem complicações cardíacas (GREGOLIN et al,2020). Esse quadro ocorre, principalmente devido a hipertensão portal, que leva a uma vasodilatação sistêmica gerando uma sobrecarga ventricular, resultando em uma disfunção cardíaca (NASCIMENTO et al,2018). A vasodilatação sistêmica ocasionada pelo desequilíbrio hemodinâmico provocado pela cirrose, leva a um aumento do débito cardíaco em repouso e diminuição da resistência vascular periférica (MOCARZEL et al,2017).

Vários são os mecanismos envolvidos na disfunção cardíaca, assim, podemos considerar como principal o relacionado ao estado hiperdinâmico da circulação e a hipertensão portal. Pacientes com cirrose hepática, apresentam um aumento na produção e na atividade de vasodilatadores, como óxido nítrico, endocanabinoides e monóxido de carbono, e uma

diminuição da metabolização de outros vasodilatadores devido à insuficiência hepática e ao shunt porto sistêmico. Todos esses aspectos contribuem para redução da resistência vascular periférica, circulação hiperdinâmica e débito cardíaco insuficiente para a demanda metabólica. (JARSKE et al, 2016). As alterações vasculares presentes na cirrose, já foram descritas pelo nosso grupo de pesquisa, onde verificamos em animais com cirrose induzida por tioacetamida uma vasodilatação na artéria aorta dependente de mecanismos inflamatórios, como a ativação da enzima Ciclo-oxigenase 2. Essas alterações vasculares sistêmicas levam a sobrecarga cardíaca e podem contribuir diretamente com o desenvolvimento da Cardiomiopatia cirrótica. (NASCIMENTO, M et al, 2018).

A Cardiomiopatia cirrótica é um distúrbio cardíaco, inicialmente assintomática, sendo que essas disfunções no coração podem acometer pacientes cirróticos sem doença cardíaca prévia (BERNANDI,2013). Os aspectos relacionados à disfunção cardíaca incluem: disfunção sistólica e diastólica, alterações eletrofisiológicas, hipertrofia ventricular esquerda e aumento atrial (AL HAMOUDI,2010; CARVALHO et al,2018). Além disso existe ainda o cronotropismo, que se manifestam em situações de maior demanda metabólica e devido a menor capacidade cardíaca em aumentar seu inotropismo (BICCA et al,2016).

A disfunção diastólica, nesse caso, é caracterizada por diminuição da capacidade de relaxamento ventricular precoce passivo e tardio na fase de enchimento ventricular, com consequente aumento da pressão atrial e do tempo de relaxamento isovolumétrico. Essa condição costuma preceder a disfunção sistólica, sendo esta observada em situações em que há aumento da demanda do débito cardíaco associada à diminuição da contratilidade miocárdica, como nas situações de estresse hemodinâmico (BICCA,2016). Dessa forma a função cardíaca mostra-se comprometida na cirrose hepática, sendo inclusive um motivo de contra-indicação do transplante do fígado.

1.3. ALTERAÇÕES RENAIIS NA SÍNDROME HEPATORRENAL

Cerca de 40% dos pacientes com cirrose desenvolvem a síndrome hepatorenal (Figura1). Após o aparecimento da ascite no primeiro ano, sintoma presente na cirrose hepática, cerca de 18% dos pacientes evoluem com SHR. Esta síndrome se encontra presente em mais de 50% dos doentes com insuficiência hepática avançada (NETO,2011).

Os rins são os órgãos responsáveis pela manutenção do volume e da composição do fluido extracelular. A regulação hemodinâmica renal e sistêmica, é feita por meio de um mecanismo hipertensor e outro hipotensor (AIRES,2012). O efeito hipertensor renal se dá pelo

sistema renina-angiotensina-aldosterona, uma vez que a angiotensina II é um potente vasoconstritor e juntamente com a aldosterona, promove a reabsorção renal de sódio, estimulando, indiretamente, a reabsorção de água. A ação hipotensora se dá pelas prostaglandinas e cininas renais, as quais são substâncias vasodilatadoras (FARAH,2020).

A SHR ocorre principalmente por causa da disfunção circulatória, cardiomiopatia cirrótica e outros fatores como inflamação sistêmica que influenciam seu desenvolvimento. (YUREN et al, 2020). O comprometimento renal gerando a SHR se manifesta por ocorrer uma forte vasoconstrição renal que resulta em uma intensa redução da taxa de filtração glomerular (TFG), enquanto que na circulação extrarrenal há predomínio de vasodilatação, ocasionando a hipotensão sistêmica. Este distúrbio é de natureza funcional, uma vez que os rins são histologicamente normais e a insuficiência renal é reversível caso aconteça o transplante hepático (COSTA *et al.* 2013).

Assim como a cardiomiopatia cirrótica, a principal causa da SHR acontece por uma interação complexa entre diferentes eventos hemodinâmicos e inflamatórios. (HASAN et al, 2021). Para compensar o evento de vasodilatação, o corpo aumenta o débito cardíaco e a frequência cardíaca e ativa sistemas vasoconstritores, o sistema renina-angiotensina-aldosterona e a secreção não osmótica de vasopressina, pois causam prejuízo do fluxo renal e deterioração geral (GUPTA, et al2017).

As consequências mencionadas estão associadas à retenção de sódio e água livre com o acúmulo de ascite e edema. Essa retenção leva à vasoconstrição renal, diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) e ao desenvolvimento final da SHR. Caso a vasoconstrição renal não seja revertida a tempo, causará danos ao parênquima renal seguido por necrose tubular aguda (SUBEDI et al,2021).

A SHR pode estar relacionada com aumento de 10mmHg de pressão no sistema porta, afetando a hemodinâmica do fígado e levando à Hipertensão Portal. Isso resulta em aumento de espécies reativas de oxigênio na mucosa gástrica e aparecimento de circulação colateral devido à obstrução parcial da veia porta. (GODOY et al,2016).

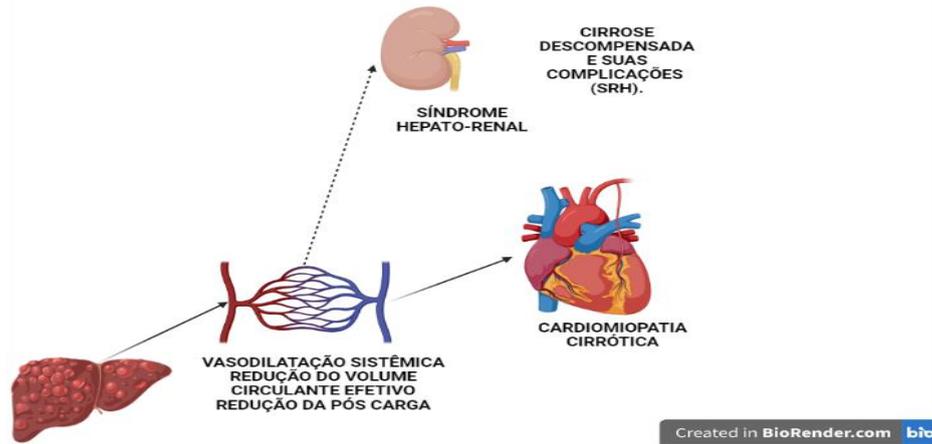


Figura 1: A cirrose hepática desencadeia complicações cardiorenais. A evolução da injúria hepática desenvolve o quadro de hipertensão portal que culmina em uma vasodilatação sistêmica. Todas essas alterações colaboram com o desenvolvimento da cardiomiopatia cirrótica e da síndrome hepato-renal. SHR: síndrome hepatorenal; DC: débito cardíaco. Fonte adaptada: MOCARZEL et al,2017.

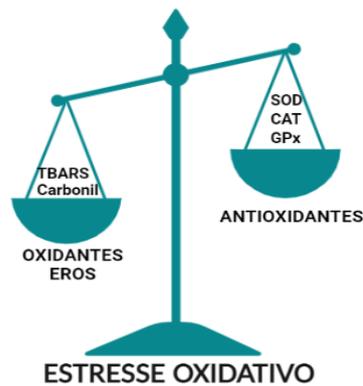
1.4. ESTRESSE OXIDATIVO E INFLAMAÇÃO NA CARDIOMIOPATIA CIRRÓTICA E NA SHR.

O estresse oxidativo decorre de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante (Figura 2). A geração de radicais livres e/ou espécies reativas não radicais é resultante do metabolismo de oxigênio (BARBOSA et al,2010). A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo celular, produzindo radicais livres de forma natural ou por uma disfunção biológica. Esses radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados de EROs (espécies reativas de oxigênio) (BARREIROS et al., 2006, MACHADO et al, 2009). As principais EROs distribuem-se em dois grupos, as radicalares: hidroxila ($\text{HO}\cdot$), superóxido ($\text{O}_2\cdot$), peroxila ($\text{ROO}\cdot$) e alcoxila ($\text{RO}\cdot$); e os não-radicalares: oxigênio (O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HClO) (KIM et al., 2015).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido pelos antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos na dieta (BARREIROS et al., 2006), e podem ser definidos como qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a sua oxidação (HALLIWELL et al., 2000).

São conhecidos três sistemas enzimáticos antioxidantes: o primeiro é composto por dois tipos de enzimas SOD (superóxido dismutase), que catalisam a desmutação do radical ânion superóxido $\text{O}_2\cdot$ convertendo-o em oxigênio e peróxido de hidrogênio (BABIOR, 1997). O segundo pela Catalase (CAT) e o terceiro pela Glutathiona Peroxidase (GPx) ambas agem com o mesmo propósito de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio (BARBOSA et al, 2010).

A glutatona reduzida (GSH) é um tripeptídeo, formado por glicina, ácido glutâmico e cisteína e constitui o tiol redutor mais abundante no meio intracelular (SIES, 1985). A manutenção de níveis adequados de GSH é por meio da atividade da GR, a qual utiliza equivalentes redutores do NADPH para manter glutatona na forma reduzida, como substrato para GPx. Assim, a atuação eficiente de Se- GP exige um sistema enzimático, que envolve a GR e as enzimas que mantêm níveis de NADPH, nos compartimentos citosólico e mitocondrial (REMACLE et al, 1992).



Created in BioRender.com bio

Figura 2: Estresse oxidativo: desequilíbrio entre espécies reativas de oxigênio e antioxidantes.

No fígado cirrótico, as células parenquimatosas são acometidas por lesões induzidas pelo estresse oxidativo, sendo as EROs produzidas por mitocôndrias, microsomas e peroxissomos através das enzimas do citocromo P450. Essas substâncias atacam lipídios, proteínas e DNA, além de alterar as vias que controlam as funções biológicas normais. As células de *Kupffer*, células estreladas hepáticas e células endoteliais são mais sensíveis às moléculas relacionadas ao estresse oxidativo e, em resposta, algumas citocinas são produzidas pelas células de *Kupffer* como o TNF- α , aumentando a inflamação e apoptose (LI et al., 2015; MUKHOPADHYAY et al., 2018). O estresse oxidativo desencadeia a peroxidação lipídica que induzirá o aumento da síntese de colágeno através das células estreladas hepáticas, além disso, a expressão do TGF- β é aumentada em resposta ao estresse. Dessa forma, a produção de EROs desempenha papel importante na cirrose hepática, aumentando a fibrose (CICHOŹ-LACH; MICHALAK, 2014; ZHANG et al, 2018).

De fato, dados publicados pelo nosso grupo de pesquisa demonstrou o aumento de peroxidação lipídica, por meio da dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), evidenciando estresse oxidativo no fígado de animais cirróticos induzida por

TAA (SILVA et al, 2021). No entanto, ainda é pouco descrito a respeito do desequilíbrio oxidativo em outros órgãos afetados pela cirrose, como o coração e rim.

A desregulação redox celular pode ser dita como um dos mais importantes fatores para a patogênese das doenças cardiovasculares e metabólicas. Aumentos intracelulares de EROs estão associados a iniciação e progressão de doenças cardiovasculares. O excesso de EROs prejudica as funções das células do músculo liso vascular e endotelial (SLEZAK, J et al, 2019). O estresse oxidativo cumulativo e a inflamação resultam em danos à função endotelial e desequilíbrio hemodinâmico, bem como insuficiência hepática e renal irreversível (NICKOVIC et al,2018).

Na cardiomiopatia cirrótica, dois mecanismos importantes para esse excesso de oxidante são a superprodução mitocondrial de peróxido de hidrogênio e íon superóxido sob condições de excesso de energia e a ativação aumentada da NADPH oxidase celular via receptores de angiotensina II. (HENRICKSEN,EJ et al, 2010). A ativação da NADPH oxidase inicia-se pela fosforilação (em serina) da subunidade citoplasmática p47phox, desencadeando sua migração para a membrana, onde, juntamente com a Rac, associa-se ao citocromo b558, iniciando a atividade catalítica da enzima (RABÊLO et al,2010). A desregulação redox e o descontrole na homeostase da inflamação surgem e resultam em aberrações celulares e condições patológicas, que levam a doenças cardiovasculares (VOLP, et al,2008).

Na síndrome hepatorenal induzida por galactosamina, uma droga hepatotóxica, há aumento na expressão renal da enzima NOX, constituinte da NADPH e aumento da produção de EROs. O estresse oxidativo nesse caso levou a ativação de um processo inflamatório, mediado pela ativação do NF- κ B e aumento de apoptose celular no rim (MAZON, et al2020)). Em pacientes com insuficiência renal crônica, observou-se que as atividades da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), e glutathiona peroxidase (GSH-Px) estavam significativamente reduzidas nos eritrócitos, e essas reduções podem propiciar o aumento da peroxidação lipídica na estrutura da membrana dos eritrócitos com conseqüente hemólise e anemia. O aumento da produção de EROs na uremia tem sido proposta como possível fator contribuinte para as complicações na insuficiência renal crônica (KIRSZTAJN,2010).

Já foi descrito também um aumento dos níveis de peroxidação lipídica e alteração na fluidez da membrana do eritrócito, redução nos níveis de Zn e inibição da atividade da SOD fator que poderiam estar contribuindo para o aumento de doenças cardiovasculares e anemia nos pacientes com insuficiência renal (MAFRA, ABDALLA, & COZZOLINO, 1999).

Além das alterações oxidativas, outro fator que também contribui para os prejuízos cardíacos e renais é o processo inflamatório. Citocina pró-inflamatórias como IL-1 β (Interleucina 1 β), demonstram-se com níveis alterados em pacientes com alterações cardíacas (JUNIOR,2009). O aumento de mediadores inflamatórios como da IL-1 β no músculo esquelético é bem caracterizado em pacientes com insuficiência cardíaca (LOPES,R,2009). Esta citocina participa do mecanismo de agressão miocárdica colaborando com a piora da função cardíaca (FELIX J. A,2012).

A IL-1 β encontra-se em níveis aumentados em pacientes com disfunções cardíacas e sua ativação acontece após sinais inflamatórios cardíacos serem gerados e o inflamassoma ser ativado (MESSIAS,et al 2012). O inflamassoma é um complexo multiproteico intracelular que atua na ativação de enzimas da família cisteína-aspartato proteases (CASPASES) como uma estrutura essencial para a regulação da imunidade em condições fisiológicas e no reconhecimento de sinais de perigo a diferentes componentes. O inflamassoma estabelece um envolvimento estreito com a inflamação patológica, pela ativação de vias intracelulares de morte por apoptose, piroptose e necrose, sendo um alvo potencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para doenças de base inflamatória, como é o caso da cirrose hepática. (PAIVA-OLIVEIRA,2012).

O inflamassoma é considerado uma molécula formada com a junção de um NLR, um adaptador ASC (proteína do tipo speck associada á apoptose contendo um domínio de recrutamento caspase.) e uma caspase-1 ativa. Para a ativação do NLRP3 (Proteína da família NLR, contendo domínio pirina 3) são necessários dois sinais, o primeiro se dá pela ativação de PRRs (Receptor de reconhecimento de padrões) e o segundo pelo acoplamento da proteína adaptadora no domínio de reconhecimento. O primeiro sinal é responsável por gerar a disposição dos componentes, e se dá pela ativação de PRRs, como os receptores do tipo Toll, por meio do reconhecimento de PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos) ou DAMPs(padrões moleculares associados a danos). Nesse processo ocorre o reconhecimento do ligante e a transcrição dos genes de IL-1 β e IL-18 para a liberação de suas pró-formas. (VANAJA, RATHINAM & FITZGERALD, 2015). E o segundo sinal que se dá após a ativação do NLR, onde ocorre o acoplamento da proteína adaptadora no domínio respectivo de reconhecimento, e em sequência a ligação via CARD da procaspase-1 e formação do inflamassoma. A procaspase-1 é ativada realiza a transformação de precursores de IL-1 β e liberação dessa citocina (Figura 3) (GUO, CALLAWAY & TING, 2015).

Existem outros mecanismos distintos que também podem levar a ativação do NLRP3 (ALVES,2018). O primeiro envolve a ativação de canais iônicos (KANLENBERG,2004), o segundo envolve a geração de EROs mitocondriais (Figura 3) (BULUA et al., 2011; e o terceiro mecanismo envolve partículas como cristais de urato ou amianto causadores de desestabilização da membrana lisossômica (OGURA,2006). A ativação do inflamassoma de NLRP3 foi associada a uma resposta inflamatória aumentada e é frequentemente observada em pacientes com cardiomiopatia dilatada. (WANG,Z et al,2020).

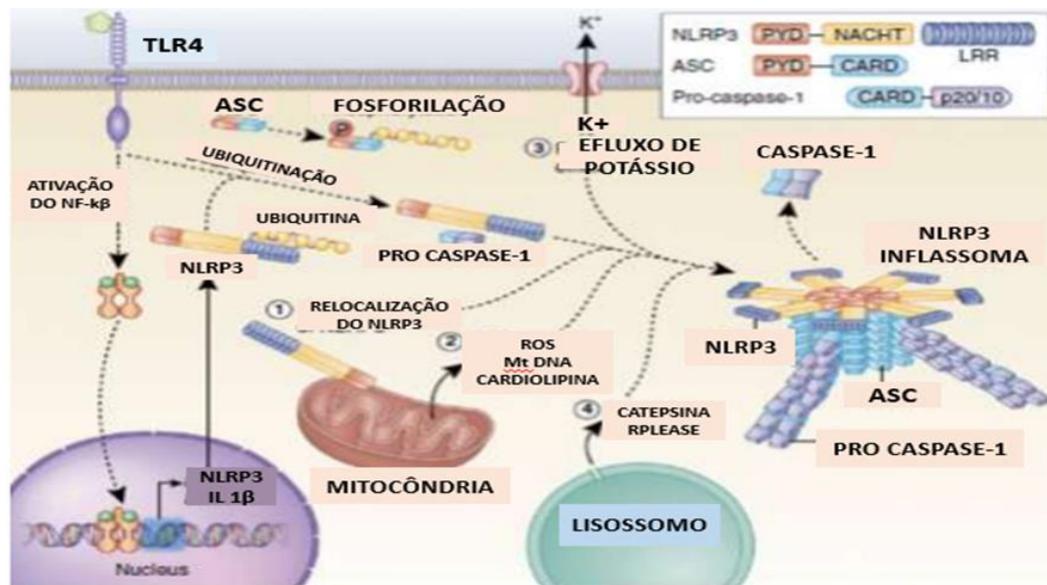


Figura 3: A ativação do inflamassoma de NLRP3 associada a uma resposta inflamatória frequentemente observada em pacientes com cardiomiopatia fonte:Haitao Guo,2015

Estudos relatam que citocinas, ao interagirem com seus receptores localizados na membrana celular, determinem modificações do comportamento das células presentes no tecido renal. Algumas citocinas pró inflamatórias têm sido associadas à fisiopatologia da doença renal onde destacam-se a interleucina-1 (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) (VIANNA et al,2011). O aumento da expressão de IL-1 foi detectado em biópsias renais de pacientes com vasculite e no tecido renal remanescente de ratos submetidos à nefrectomia subtotal. Além disso, a administração de antagonistas de IL-1 inibiu a fibrose túbulo-intersticial em modelo animal de doença renal crônica. (VIANNA et al,2011).

No rim, a hiperuricemia, tanto aguda quanto crônica, causa ruptura lisossomal a qual ativa fortemente a inflamação. Cristais como o urato monossódico danificam as membranas lisossomais. A ruptura lisossomal uma das vias de ativação do inflamassoma, por sua vez, ativa o inflamassoma, que induz a secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL 1 β , levando a um aumento da inflamação, vazamento de enzimas lisossomais no citosol

provocando a morte celular apoptótica ou necrótica reduzindo a capacidade de catabolismo lisossomal (KIMURA et al,2017).

A IL-10, uma citocina conhecida como citocina anti-inflamatória age inibindo genes pró inflamatórios específicos por meio de mecanismos de repressão da transcrição e desestabilização do RNAm (DILLOW et al,2014). Após a ligação da citocina IL 10 ao seu receptor inicia-se uma cascata de sinalização responsável por acarretar a fosforilação e a ativação STAT3(sinal transdutor de ativação e transcrição) via JAK1. Ocorre então a migração do STAT 3 para o núcleo onde ocorre a transcrição de genes específicos os quais são responsáveis por atenuar a resposta inflamatória por repressão da transcrição dos genes responsáveis pela produção das citocinas pró- inflamatórias (POULAIN;MIRANDA-SAAVEDRA.2012). Pacientes com insuficiência cardíaca tem a concentração plasmática da IL 10 diminuída, principalmente, nos casos de disfunção ventricular esquerda, e correlacionada positivamente com uma piora na fração de ejeção do ventrículo esquerdo (LOPES, 2009).

Os valores de IL10 encontram-se elevados em doentes com falhas renais crônicas (ALVAREZ-LARA et al,2004). O aumento da produção de IL-10 pode representar uma resposta auto-regulatória para aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias (KAMEL et al, 2009). Diante disso, o estresse oxidativo e a inflamação em órgãos específicos, como o coração e o rim, trazem prejuízos ao paciente cirrótico, piorando sua condição clínica.

1.5. BALANÇO ENERGÉTICO NA CIRROSE HEPÁTICA.

A cirrose hepática é uma doença catabólica que acarreta ao paciente diversas implicações clínicas, dentre elas o quadro de desnutrição proteico-energética. É percebido que a severidade da doença hepática se correlaciona com o grau de desnutrição a qual está diretamente ligada ao prognóstico do paciente (CARVALHO; PARISE, 2006; FERREIRA et al., 2009; GALANT et al., 2012).

O quadro de desnutrição se estabelece quando o organismo não absorve quantidade suficiente de nutrientes, e esta não absorção adequada pode ocorrer pela diminuição do consumo dietético ou quando o aporte de nutrientes é adequado, porém, fatores interferem durante a absorção deste no intestino delgado (ALVES et al., 2011; OTERO; CORTÉS, 2008).

Algumas alterações metabólicas são bastante importantes nos pacientes com cirrose hepática, sendo a alteração no metabolismo de aminoácidos uma delas (IRIGOIN; ABILÉS,

2012). O fígado doente acarreta a perda das proteínas corporais, dois motivos são responsáveis por este débito de proteínas corporais: a diminuição da capacidade de armazenamento, e a síntese inadequada das mesmas (TSIAOUSI et al., 2008). Diante das alterações presentes ocorre também um desbalanço de aminoácidos, que existem evidências de ser mediado por alteração nos níveis de insulina e outros hormônios reguladores. Esse desbalanço gera a diminuição dos níveis plasmáticos de aminoácidos (GARCÍA; RODERO; CALAÑAS-CONTINENTE, 2012).

Além disso, alterações no metabolismo de carboidratos e redução do armazenamento de glicogênio, em particular, contribuem para o desenvolvimento da desnutrição em pacientes com doença hepática crônica (RITTER,L et al, 2016). Sendo assim, outro armazenamento energético prejudicado na cirrose hepática é o do glicogênio, onde o fígado contribui para o controle homeostático corporal por meio de suas reservas de glicogênio para glicogenólise. Para isso, é necessário a diminuição do glicogênio hepático, o que estimula a gliconeogênese (VIEIRA, 2005) AGUAYO; MARTÍN, 2012).

O corpo humano, independente do sistema, necessita de energia para que funcione corretamente e para assim manter os processos vitais do organismo. Muitas alterações metabólicas estão associadas ao gasto energético de repouso, semelhante ao observado em doenças hepáticas. As associações do hipermetabolismo com parâmetros extra-hepáticos, e inflamação sistêmica devido ao aumento na liberação de citocinas, alterações da hemodinâmica do sistema porta é uma patogênese defendida por alguns autores. (RIBEIRO, H, 2017).

É comum pacientes cirróticos apresentarem comorbidades como hipermetabolismo, digestão ineficiente e anorexia, que neutralizam os efeitos benéficos da ingestão de energia suficiente. (MAIO,R et al 2000). Estes pacientes quando hospitalizados têm alta prevalência de desnutrição, e a maioria não satisfaz suas necessidades nutricionais. A diminuição do consumo calórico é um fator de risco independente da mortalidade a curto prazo (CAMPILLO et al,2003). A desnutrição está associada ao aumento dos sintomas de descompensação, como o aumento das ascites, o desenvolvimento da encefalopatia hepática e o desenvolvimento e progressão das varizes esofágicas (VIDOT et al, 2016).

Justifica-se a importância da nutrição no paciente crítico através do conhecimento das consequências fisiológicas da desnutrição, como possíveis alterações nas funções muscular (GALANT et al., 2012), respiratória e cardíaca e na função renal (GUYTON,2006). A desnutrição na doença renal crônica, é causada pela uremia, que ocorre devido à perda da

função exócrina, provocando um estado inflamatório constante que predispõe a esta condição (SANTOS,2013).

O trabalho realizado pelo nosso grupo de pesquisa evidenciou os benefícios de uma dieta rica em sacarose na função e estrutura hepática, mostrando que a suplementação alimentar energética é uma boa alternativa para a melhora no quadro clínico da cirrose (SILVA et al, 2021). Neste estudo foi verificada que a suplementação com açúcar amenizou o estado redox, inflamatório e de fibrose no fígado e ainda melhorou a perda de peso e diminui os níveis de alanina aminotransferase. Ainda, foi visto também que essa dieta aumentou os níveis de glicose e o estoque de glicogênio no fígado e elevou os depósitos das gorduras totais dos animais cirróticos, evidenciando a melhora do quadro de caquexia e do bem-estar sistêmico desses animais.

Tendo em vista as alterações cardíacas e renais presentes na cirrose e que existe uma desregulação energética grave levando a um quadro de caquexia que pode ser amenizado com o uso de uma dieta rica em açúcar, nossa hipótese é que a suplementação com uma dieta rica em açúcar em ratos cirróticos melhore o estado redox e inflamatório no coração e rim desses animais.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de uma dieta rica em açúcar no estado redox do coração e do rim de ratos com cirrose hepática induzida por tioacetamida.

2.2. Objetivos Específicos.

Investigar no coração e nos rins de animais Controle, animais com cirrose induzida por TAA e animais com cirrose suplementados com uma dieta rica em açúcar os seguintes parâmetros:

- Processo inflamatório pela dosagem das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e anti-inflamatória IL-10.
- Estresse oxidativo pela dosagem de marcadores indiretos do dano oxidativo como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), proteínas carboniladas e enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa-s-transferase (GST), e o antioxidante não enzimático glutationa reduzida (GSH).

3. MATERIAL E MÉTODOS.

3.1 ANIMAIS

Os animais utilizados foram ratos *Wistar* machos, com peso inicial em média 300 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT) *campus* de Cuiabá, permaneceram em um período de aclimação de 15 dias no NUPADS (Núcleo de Pesquisa e Apoio Didático em Saúde), sendo mantidos em gaiolas, em ambiente com temperatura ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade controladas ($55\pm 5\%$) e ciclo claro-escuro (12-12h).

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFMT sob o número 23108.039273/2019-60, e seguiu as recomendações dos Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

3.2 MODELO EXPERIMENTAL E DIETA RICA EM SACAROSE

Os animais foram divididos de forma aleatória em três grupos, sendo que cada grupo tinha 8 animais: grupo Controle (C), Tioacetamida (TAA), Tioacetamida + Açúcar(TAA+A). Os grupos TAA e TAA+A foram tratados com TAA na dose de 100 mg/kg via intraperitoneal (Sigma-Aldrich EUA), duas vezes por semana durante 8 semanas, visto que a TAA possui propriedades hepatotóxicas e é capaz de desencadear cirrose hepática (NASCIMENTO et al., 2018; TÚNEZ et al., 2005). Os grupos controles foram tratados com veículo (salina), seguindo o mesmo protocolo usado nos tratamentos com TAA. Os grupos C e TAA foram alimentados *ad libitum* com ração normal para a espécie e água, o grupo TAA+A além de receber a mesma dieta *ad libitum*, teve água suplementada com sacarose (300 g / L). Os animais receberam ração padrão (3,77 kcal/ g) – NUVILAB CR-I (NuvitalVR, Colombo, Paraná, Brasil). O consumo calórico foi calculado somando o consumo diário de ração (g) x 3,77 kcal e o consumo diário de água com sacarose x 1,2 kcal (DENTZ et al., 2020). Após 8 semanas do período experimental, os animais foram eutanasiados com uma mistura de cetamina (113 mg/ kg) e xilazina (7,4 mg/ kg) em uma dose de 0,15 mL/ 100g intraperitoneal. Os ratos foram pesados no início e no final do período experimental. Após a eutanásia, foram pesados o fígado, coração, rim e as gorduras epididimal, mesenterica e retroperitoneal. O ganho de peso dos animais foi calculado pela subtração do peso corporal final ao peso corporal inicial.

3.3 QUANTIFICAÇÃO DAS CITOCINAS PELO MÉTODO DE ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA).

As citocinas IL-1 β e IL-10 foram dosadas a partir do sobrenadante dos homogenatos do ventrículo esquerdo do coração dos animais e dos homogenatos do rim. Os homogenatos foram realizados pesando 50 mg de cada coração e de rim, que tinham sido previamente congelados a -80°C. Foi adicionado 300 μ L de PBS aos tecidos e o mesmo foi triturado usando um homogeneizador de tecidos e colocado no gelo. Depois esse homogeneizados foram centrifugado por cinco minutos a 3000 rpm e o sobrenadante foi usado para a dosagem de citocinas cardíaca e renais.

A dosagem das citocinas foi realizada de acordo com a bula dos kits, sendo, IL-1 β e IL-10 da R&D System. A técnica utilizada nos ensaios foi ELISA sanduíche, utilizando anticorpos monoclonais, para detecção das citocinas, nas concentrações recomendadas pelo fabricante (R&D SYSTEM).

Para realizar o procedimento, placas de microtitulação de 96 poços foram sensibilizadas com anticorpo de captura diluído em salina tamponada fosfato (PBS) e mantidas a temperatura ambiente de um dia para o outro. Após esse período, as placas foram lavadas 3 vezes com PBS 1X - Tween 20 a 0,05%. Foi adicionado às placas, PBS contendo 1% de albumina de soro bovino (BSA), para promover o bloqueio de sítios livres do plástico, e estas foram mantidas por 1 hora a temperatura ambiente. As citocinas recombinantes, utilizadas para realizar a curva padrão, foram diluídas em PBS contendo 1% de BSA e incubadas nas placas por 2 horas em temperatura ambiente. Os sobrenadantes dos homogeneizados do coração e do rim dos grupos experimentais foram também incubados em poços por este mesmo período. Depois todos os poços foram lavados 3 vezes com PBS - Tween 20 a 0,05%. Foram adicionados os anticorpos de detecção conjugados a biotina, diluídos em PBS 1% de BSA e incubados por 2 horas a temperatura ambiente. Os poços foram lavados 3 vezes. As placas foram incubadas com conjugado estreptoavidina-peroxidase por 20 minutos em temperatura ambiente no escuro e logo após os poços foram lavados 3 vezes. A revelação foi realizada com a adição da solução substrato (H₂O₂ e Tetrametilbenzidina) por 20 minutos a temperatura ambiente. A parada da reação foi feita com H₂SO₄ 4N e a leitura das densidades ópticas (DO) feita em um espectrofotômetro automático leitor de microplacas, em comprimento de onda de 450nm com correção pelo comprimento de onda 540nm. As concentrações de cada citocina foram calculadas com base na equação da reta de regressão linear, da curva padrão obtida com citocinas recombinantes de rato.

3.4 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO CARDIACO

3.4.1 ANÁLISE DE MARCADORES OXIDATIVOS:

3.4.1.1 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

A peroxidação lipídica foi medida através dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e quantificado conforme os métodos descritos por BUEGE; AUST (1978). O tecido cardíaco (ventrículo esquerdo) e o tecido renal foram homogeneizados na proporção de 1:10 com tampão de fosfato de potássio 20 mM, pH 7,5 e centrifugado a 4.000 rpm, por 15 min à 4 °C. Posteriormente, foram adicionados 100 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 10%, e 500 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,67%. A mistura foi aquecida em banho maria sob água fervente por 30 min e resfriada em banho de gelo por 10 min. As amostras foram agitadas em vórtex. Após a centrifugação a 10.000 rpm, por 15 min à 4 °C, TBARS foram determinadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 535 nm, utilizando-se a curva de malondialdeído (MDA) como padrão. O resultado foi expresso como nmol MDA/mg proteína.

3.4.1.1.1 CARBONILAÇÃO DE PROTEÍNA

A quantificação da carbonilação de proteínas foi realizada pelo método descrito por COLOMBO et al. (2016). O tecido cardíaco (ventrículo esquerdo) e o tecido renal foram homogeneizados na proporção de 1:50 com Tampão fosfatosalino (PBS), e centrifugado a 3000 rpm por 10 min a 4 °C. Em microplacas, foram adicionados 100 µL de amostra de tecido e 100 µL de solução de 2,4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH). A placa foi incubada por 10 min à temperatura ambiente no escuro e, em seguida, 50 µL de NaOH 6M foram adicionados. Após, foram lidas em espectrofotômetro de microplacas e determinada no comprimento de onda de 450 nm. O resultado foi expresso como nmolcarbonil/mg proteína.

3.5 ANALISES DE ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS:

3.5.1 SUPERÓXIDO DISMUTASE

A atividade da SOD foi avaliada de acordo com Misra e Fridovich (1972) onde a enzima inibe a auto-oxidação do bitartarato de adrenalina. O tecido cardíaco (ventrículo esquerdo) e o tecido renal foram homogeneizados na proporção de 1:30 com tampão fosfato de potássio mono/ dibásico 50 mM, pH 7,8. As amostras foram então centrifugadas a 10.000 rpm à 4 °C por 20 minutos. Para leitura da atividade da SOD, foram preparados uma solução de bitartarato de adrenalina 60 mM e tampão de carbonato de sódio (Na₂CO₃), 0,057 M, mantido a 30° C durante o experimento. A atividade foi medida em um espectrofotômetro no

comprimento de onda de 480 nm. As leituras foram realizadas nos volumes de 10 μ L, 25 μ L e 50 μ L. Os valores das absorvâncias foram reduzindo conforme aumentava o volume da amostra. O resultado foi expresso como UI SOD/mg proteína.

3.5.2 GLUTATIONA S- TRANSFERASE

A atividade da GST foi determinada de acordo com HABIG; PABST; JAKOBY, (1974). O tecido cardíaco (ventrículo esquerdo) e o tecido renal foram homogeneizados na proporção 1:30 com tampão de fosfato de potássio 20 mM, pH 7,0. As amostras então foram centrifugadas à 10.000 rpm à 4 °C por 15 minutos. Para a realização da leitura foram adicionados em um tubo de ensaio 1,250 mL de tampão de fosfato de potássio 20 mM, pH 6,0, 150 μ L de GSH 10 mM, 25 μ L do homogenato e 75 μ L de CDNB 20 mM. As amostras foram lidas em espectrofotômetro e o resultado foi expresso como μ mol GS-DNB/min/mg proteína.

3.5.3 CATALASE

A atividade da catalase foi determinada de acordo com NELSON; KIESOW, (1972). O tecido cardíaco (ventrículo esquerdo) e o tecido renal foram homogeneizados na proporção 1:30 com solução resfriada com tampão fosfato 20 mM, pH 7,4, com Triton X-100 e cloreto de sódio (NaCl) utilizando-se um homogeneizador dispersor. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm à 4 °C por 15 minutos.

A leitura foi realizada no espectrofotômetro em 240 nm. Para isso foi preparado o tampão fosfato 50 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 300 mM. A leitura da atividade da catalase ocorre pela velocidade com que o H₂O₂ é reduzido pela ação da enzima. A diferença na leitura das absorvâncias a 240 nm, em determinado intervalo de tempo (15 segundos), permite estabelecer a velocidade de redução do H₂O₂ à H₂O, o que é proporcional à velocidade da reação enzimática catalisada pela catalase.

3.6 ANÁLISE DE ANTIOXIDANTES NÃO ENZIMÁTICAS:

3.6.1 GLUTATIONA REDUZIDA

A dosagem da GSH foi realizada de acordo com SEDLAK; LINDSAY (1968). O tecido cardíaco (ventrículo esquerdo) e o tecido renal foram homogeneizados na proporção de 1:60 com o tampão fosfato de potássio 20 mM, pH 8,0. Então foi adicionado 1mL de amostra homogeneizada em microtubos de 2 mL, mais 0,8 mL de água ultrapura e 0,2 mL de ácido tricloroacético 5% em solução aquosa. Posteriormente estes microtubos foram centrifugadas

a 4.000 rpm à 4 °C por 15 minutos. Após a centrifugação, foram pipetados 0,5 mL do sobrenadante da amostra e adicionado 1 mL de trizma 0,4 M pH 8,9. Para a leitura foram adicionados 25 µL de ácido 5,5 ditiobis-2- nitrobenzoico (DTNB) 0,01 M. As amostras foram lidas na onda de comprimento de 412 nm em um espectrofotômetro. O resultado foi expresso como µmol de GSH/mg de proteína.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão apresentados em média \pm desvio padrão. Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade D'Agostino-Pearson. A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste Anova de uma via, seguida pelo pós-teste de Tukey. Nos casos em que os resultados não passaram pelo teste de normalidade foi realizado o teste de Kruskal-Wallis pós teste de Dunn. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes para valores de $P < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS

O peso corporal final (PCF), o ganho de peso, o peso das gorduras epididimal, retroperitoneal e mesentérica e a ingesta calórica diária foi menor nos animais do grupo TAA quando comparado ao grupo C (Tabela 1). Os animais suplementados com açúcar (TAA+A) apresentaram aumento em todos os parâmetros citados acima comparado ao grupo TAA (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros morfológicos de animais controle e tioacetamida tratados ou não com dieta rica em açúcar.

Variáveis	Grupos		
	C	TAA	TAA+A
PCF (g)	442,4 ± 20,11 ^a	370,8 ± 24,56 ^b	409,7 ± 11,25 ^c
Ganho (g)	136,3 ± 16,84 ^a	44,36 ± 11,77 ^b	84,85 ± 8,6 ^c
Gordura epididimal (g)	9,68 ± 0,75 ^a	5,26 ± 0,87 ^b	7,60 ± 0,79 ^c
Gordura retroperitoneal (g)	13,74 ± 1,71 ^a	7,59 ± 0,9 ^b	13,9 ± 0,51 ^a
Gordura mesentérica (g)	5,86 ± 0,5 ^a	4,8 ± 0,59 ^b	8,5 ± 0,71 ^c
Gordura total (g)	29,82 ± 3,05 ^a	17,26 ± 2,27 ^b	29,73 ± 2,34 ^a
Calorias (kcal) por dia	105,2 ± 2,6 ^a	84,3 ± 1,87 ^b	98,62 ± 3,11 ^c

Dados apresentados em média ± desvio padrão. C, controle; TAA, Tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida+açúcar; PCF, peso corporal final. Letras diferentes indicam diferença estatística de acordo com o teste de ANOVA de uma via seguido pelo pós- teste de *Tukey* (P <0,05)

4.2 ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO CARDÍACO E RENAL.

Foi realizada a dosagem de marcadores indiretos de danos oxidativos e antioxidantes a partir do tecido cardíaco e tecido renal. Verificamos que no coração dos animais do grupo TAA houve um aumento nas proteínas carboniladas (Figura 4) e uma diminuição na atividade das enzimas antioxidantes GST, SOD e Catalase (Figura 5) quando comparados ao grupo Controle. A suplementação com açúcar aumentou a atividade das enzimas GST e SOD no coração. Não houve diferença na concentração de TBARS e GSH entre os grupos (Figuras

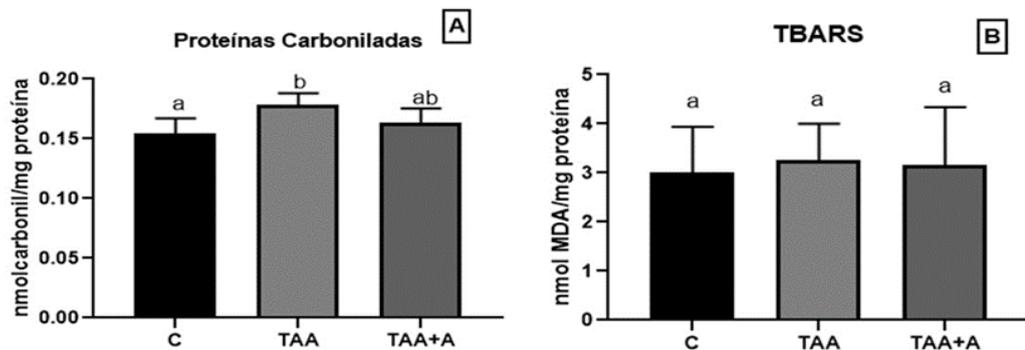


Figura 4. Marcadores indiretos de dano oxidativo no tecido cardíaco. (A) Proteínas carboniladas e (B) TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico); C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + Açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística entre os grupos pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$) entre os grupos.

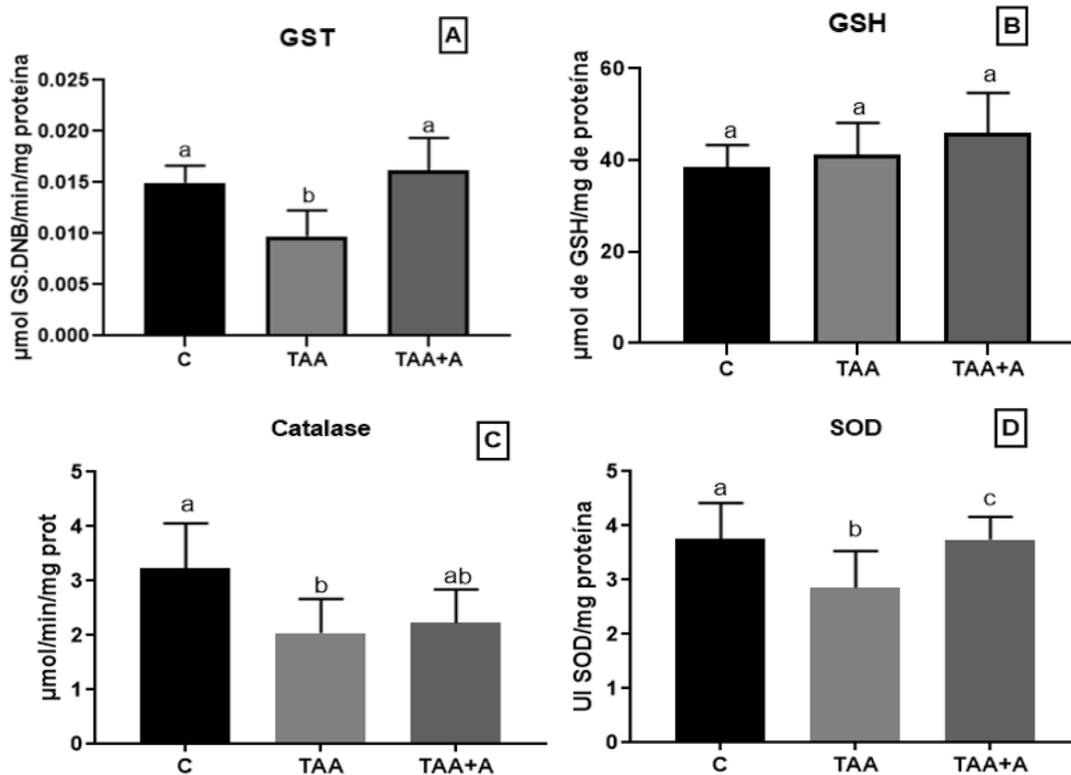


Figura 5. Compostos antioxidantes do tecido cardíaco. (A) GST, Glutathione s-transferase; (B) GSH, Glutathione reduzida; (C) CAT, catalase; (D) SOD, superóxido dismutase. C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + Açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística entre os grupos, pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$), entre os grupos.

A análise do tecido renal, permitiu verificarmos um aumento do estresse oxidativo demonstrados pelo aumento de TBARS e proteínas carboniladas no grupo TAA versus C (Figura 6). A oferta de uma dieta rica em sacarose diminuiu tanto TBARS como proteínas carboniladas no rim. Em relação a atividade das enzimas antioxidantes no rim, vimos um aumento tanto da GSH quanto da SOD nos grupos TAA e TAA+A quando comparados ao Controle. Não houve alteração renal da GST e Catalase entre os grupos estudados (Figura 7).

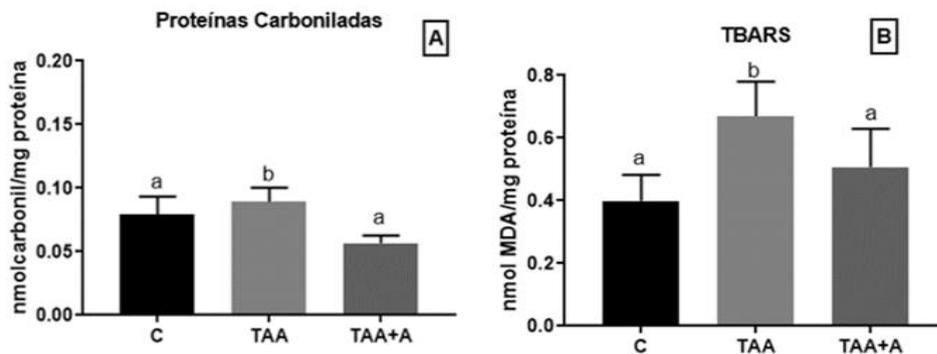


Figura 6. Marcadores indiretos de dano oxidativo no tecido renal. (A) Proteínas carboniladas e (B) TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico); C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + Açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística entre os grupos pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$) entre os grupos

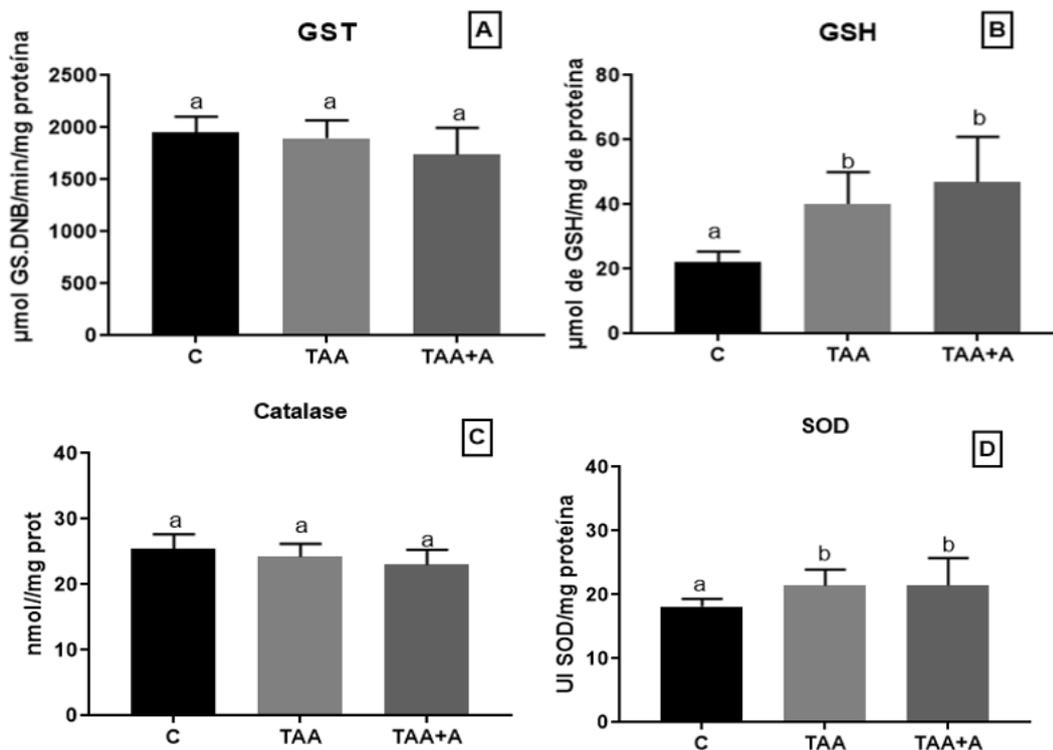


Figura 7. Compostos antioxidantes do tecido renal. (A) GST, Glutaciona s-transferase; (B) GSH, Glutaciona reduzida; (C) CAT, catalase; (D) SOD, superóxido dismutase. C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + Açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística entre os grupos, pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$), entre os grupos.

4.3 DOSAGEM DAS CITOCINAS DO TECÍDO CARDÍACO E TECIDO RENAL

Não houve diferença na dosagem de IL-1 β e IL-10 no coração dos animais TAA e C. No entanto, a suplementação com açúcar reduziu as concentrações dessas duas citocinas no coração (Figura 8).

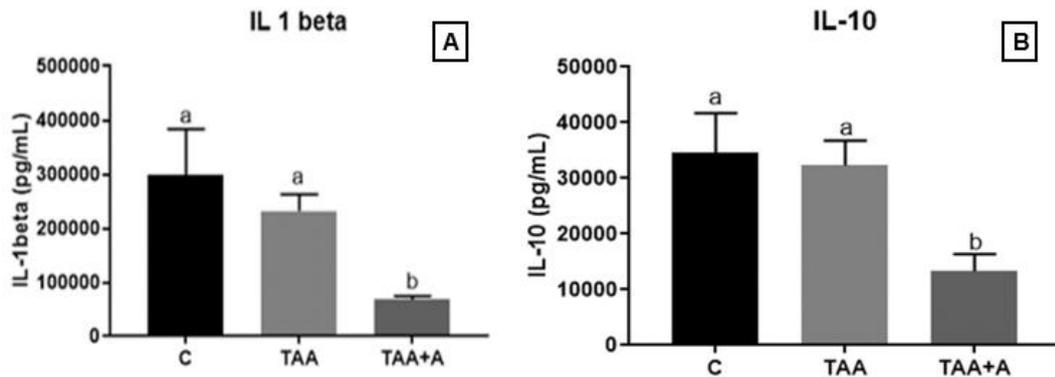


Figura 8. Dosagem das citocinas IL-1 β e IL-10 no tecido cardíaco. (A) IL-1 β ; (B) IL-10. C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida +açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística entre os grupos, pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$), entre os grupos.

Já no rim, o tratamento com TAA diminuiu as concentrações de IL 1 β e IL-10 versus Controle (Figura 9), sendo que o uso do açúcar aumentou essas duas citocinas dosadas.

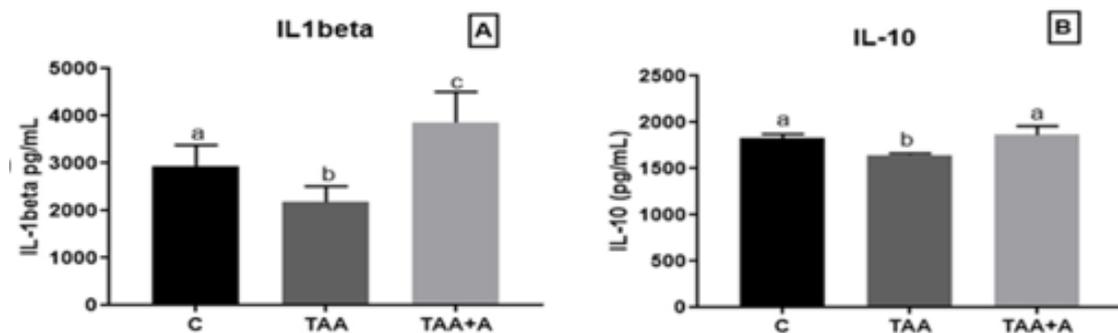


Figura 9. Dosagem das citocinas IL-1 β e IL-10 no tecido renal. (A) IL-1 β ; (B) IL-10. C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida +açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística entre os grupos, pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$), entre os grupos

5. DISCUSSÃO

A cirrose tem como característica ser uma doença catabólica, caracterizada por desnutrição secundária a anorexia, com má absorção de gorduras e degradação de biomoléculas (SILVA et al,1998). A maioria dos pacientes com essa doença, de forma não intencional, segue uma dieta de baixas calorias, devido à ascite e à hipertensão portal, a qual compromete a absorção e a digestão de nutrientes, fato que se atribui a vários efeitos colaterais observados na doença (MARTINS et al,2013). Quando há aumento de glicose sanguínea, o fígado aumenta o armazenamento de glicogênio (glicogênese) e reduz a quebra desse glicogênio e a produção de glicose a partir de compostos não glicídios (NELSON; COX, 2011). Porém, na cirrose o metabolismo e armazenamento de glicogênio é reduzido, levando o comprometimento do suprimento de glicose para outros tecidos para produção de energia. Na tentativa de suprir essa falta, ocorre a oxidação de ácidos graxos, gliconeogênese e proteólise, resultando em um estado catabólico hepático e consequentemente um estado nutricional comprometido (YAO et al., 2018). Uma ingestão insuficiente de energia de menos de 30 kcal/kg está associada com um pior prognóstico em casos de cirrose hepática. Estudos demonstraram que pacientes cirróticos possuem baixa ingestão de energia e um maior gasto desta em repouso (DIETRICH; GOTZE; GEIER,2016). Em vista disso, trabalhos concluíram que uma intervenção nutricional visando garantir uma ingestão energética suficiente melhora significativamente a sobrevida de pacientes cirróticos, no entanto os mecanismos responsáveis por essa melhora são pouco conhecidos (YAMADA et al., 2013).

Tendo em vista o estado catabólico na cirrose, nosso grupo de pesquisa hipotetizou que ofertar mais energia para animais com cirrose hepática, na forma de uma dieta rica em açúcar, melhoraria os aspectos clínicos e hepáticos dessa doença. Dessa forma, dados do nosso laboratório publicados recentemente demonstraram uma melhora significativa na quantificação das enzimas utilizadas clinicamente como marcadores de função hepática, ALT e AST, no estresse oxidativo, inflamação e fibrose no fígado de ratos com cirrose hepática submetidos a uma dieta rica em sacarose, demonstrando que uma ingestão aumentada de energia ameniza as injúrias hepáticas, melhorando assim a função do fígado (SILVA,2020). Vimos ainda que a suplementação com açúcar nos animais tratados com TAA aumentou o ganho de peso e a deposição das gorduras corporais mostrando uma significativa melhora dos efeitos catabólicos da doença (SILVA,2020). Em razão dos dados apresentados no trabalho acima citado, buscamos investigar, nesse estudo, se a melhora vista no fígado de animais com cirrose hepática se estenderia também

para o coração e rim, já que a cardiomiopatia cirrótica e a síndrome hepatorenal são doenças crônicas oriundas do desequilíbrio da homeostase vascular que ocorre na progressão da cirrose, apresentando função sistólica e diastólica comprometida e disfunção renal (ROCHA,2015).

As espécies reativas de oxigênio têm efeito sobre a função do miocárdio e sua estrutura, sendo um gatilho para apoptose de miócitos e aumento do músculo cardíaco, auxiliando no remodelamento cardíaco. O aumento das espécies reativas de oxigênio também pode alterar a contração na insuficiência cardíaca, pois interfere na entrada de cálcio nas células e na função de proteínas carreadoras dependentes de cálcio (MONTERA, 2007). A sobrecarga cardíaca observada em quadros de cardiomiopatia cirrótica torna o coração disfuncional, sendo que em parte essas disfunções acontecem por geração de EROs em descontrole e inflamação, e tudo isso contribui para diminuição da capacidade funcional cardíaca (SHAFAROODI, et al., 2016; AMIRTHARAJ, et al., 2019; DE DAVID, 2011). Outros resultados demonstraram que a alteração sistólica presente na cirrose pode ser causada devido um estresse gerado por drogas hepatotóxicas (TIMOH, et al., 2011).

Tendo em vista a importância do equilíbrio oxidativo na função cardíaca e que o tratamento rico em sacarose teve um efeito antioxidante no fígado dos animais cirróticos, fomos avaliar a presença de estresse oxidativo no coração de animais cirróticos e ainda se a dieta rica em sacarose teria efeito sobre esse parâmetro também no coração. Dentre as técnicas que utilizamos, a carbonilação de proteínas é quantificada a fim de estimar a oxidação das cadeias de aminoácidos provocadas por EROs sendo também um marcador de dano oxidativo (ROSSI; SELLES; ALBERTO, 2016). Verificamos que no coração dos animais do grupo TAA houve um aumento nas proteínas carboniladas (Figura 4) e uma diminuição na atividade das enzimas antioxidantes GST, SOD e Catalase (Figura 5) quando comparados ao grupo Controle. Já existem evidências substanciais que o estresse oxidativo, representado no trabalho em questão pelo aumento das proteínas carboniladas e diminuição das substâncias antioxidantes GST e SOD é uma das vias importantes no remodelamento cardíaco e no processo de transição de hipertrofia cardíaca compensada para insuficiência cardíaca (KLEIN, A 2004). Este dano oxidativo às proteínas tem grande importância, já que pode causar dano a receptores, enzimas, interferência na via de transdução de sinal, alteração no transporte de proteínas e enzimas que mantêm os níveis baixos de Ca^{+2} intracelular (Halliwell & Gutteridge, 1999; Gaté et al., 1999; Nordberger & Arnèr, 2001). Modificações de enzimas

e proteínas podem ter papel importante na etiologia de doenças como aterosclerose, isquemia-reperfusão (Gaté *et al.*, 1999). De forma semelhante, CREMONESE *et al.*, 2001 mostraram na avaliação da peroxidação lipídica aumento do estresse oxidativo no coração dos animais que utilizaram o tratamento com CCl₄, um modelo de cirrose hepática induzida pela administração de tetracloreto de carbono. Em adição, nossos resultados demonstraram que o tratamento com sacarose não foi capaz de melhorar o estresse oxidativo no coração dos animais cirróticos, mas aumentou a atividade das enzimas GST e SOD, diferente do trabalho de GASPARINI, *et al.* 2021 que com dieta rica em frutose não demonstrou diferença estatística nos níveis de MDA quando comparada ao grupo controle, porém, acarretou diminuição da SOD. Sendo assim, nosso resultado então mostrou que a dieta sugerida pode ter um modesto efeito antioxidante no coração assim como descrito no fígado por Silva *et al.*, 2021.

A inflamação é o processo básico de defesa no qual os tecidos do organismo respondem a uma injúria, leva ao reparo da estrutura do tecido e de sua função, porém mesmo sendo um mecanismo de defesa, o próprio mecanismo de inflamação pode contribuir para a injúria tecidual, o que já é observado em doenças crônicas, sendo que já é conhecido que pacientes com cirrose apresentam um quadro de inflamação em alguns órgãos alvo (FISCHER, 2016).

Verificamos que o tecido cardíaco de animais com cirrose induzida por TAA não apresentou alterações na concentração de IL-1 β e IL-10. Em relação a suplementação dos animais cirróticos com açúcar observamos uma diminuição significativa em todas as citocinas dosadas, tanto pró-inflamatória quanto anti-inflamatória quando comparada ao grupo Controle e TAA. Dados publicados por Bolger *et al.* 2002 em ratos com infarto do miocárdio mostrou que a IL-10 é capaz de alterar os níveis de citocinas pró-inflamatória, melhorando a função do ventrículo esquerdo, no entanto não verificamos esse mecanismo em nosso estudo. A baixa concentração de citocinas em um tecido indica não ativação da resposta imune nesse local, o que nos leva a sugerir que a suplementação com açúcar causou uma imunomodulação inibindo a resposta imune e a liberação de citocinas no coração.

Além das alterações no fígado e coração, a cirrose hepática causa problemas em outros órgãos como rim, por gerar hipertensão portal, estado hiperdinâmico, vasodilatação sistêmica e resposta inflamatória sistêmica. A Lesão Renal Aguda (LRA) é uma das complicações altamente mórbidas no espectro de suscetibilidade da cirrose hepática (HASAN *et al.*, 2021). Segundo Oliveira *et al.* 2010, a desnutrição protéico-calórica é um dos principais

fatores que afetam adversamente o prognóstico do paciente renal crônico e tem sido associada ao aumento da morbidade e mortalidade nessa população de pacientes. A depleção do estado nutricional é frequentemente observada à medida que a perda da função renal evolui. A etiologia da desnutrição associada à doença renal crônica é multifatorial, sendo quase sempre associada à ingestão alimentar insuficiente e, principalmente, ao hipercatabolismo. A desnutrição possui um impacto negativo na evolução desses pacientes pois está associada a um maior número de complicações, como maior risco de infecções, além de maior frequência e duração nas internações hospitalares (Santos, et al,2019). O uso de terapias derivadas de evidências estrategicamente aplicadas para tratamento específico e reversão de SHR projetou uma melhora geral da sobrevida do paciente, no entanto o tratamento definitivo para SHR é o transplante de fígado ou transplante de fígado-rim simultâneo, conforme indicado (YUREN, A et al,2021). Visto que os tratamentos descritos onde foram observado melhora, são considerados invasivos, buscamos com nosso trabalho avaliar se o tratamento rico em sacarose seria capaz de melhorar, a desnutrição vista na maioria dos pacientes com SHR responsável pelo agravo do quadro, e também melhorar o aspecto renal acompanhando a melhora do aspecto hepático já descrito no trabalho de (SILVA,2020).

Nos parâmetros oxidativos no rim, vimos aumento tanto de proteínas carboniladas quanto do TBARs, GSH e SOD nos animais cirróticos, sugerindo estresse oxidativo no tecido renal desses animais. Silveira et al, 2015, descreveram resultados semelhantes aos nossos usando um modelo de cirrose hepática induzida por ligação do ducto biliar, onde os autores mostram aumento de TBARs e da atividade das enzimas antioxidantes catalase, SOD e glutathiona peroxidase. O aumento da atividade das enzimas anti-oxidantes pode indicar que o sistema de defesa esta sendo ativado na tentativa de minimizar os danos oxidativos. De forma interessante, vimos que a suplementação com sacarose diminuiu os marcadores indiretos do dano oxidativo, TBARs e proteínas carboniladas mostrando que além do efeito antioxidante no fígado também encontramos esse efeito no rim. Diante desse resultado podemos sugerir que as células renais podem estar em uma situação de estresse pela menor quantidade de energia, e dessa forma, o aumento da disponibilidade de glicose pela dieta amenizou esse aspecto, diminuindo o estresse oxidativo no rim.

Não obstante, em relação a resposta imune no rim, verificamos que o tratamento com TAA diminuiu as concentrações de IL 1 β e IL-10, sendo que o uso do açúcar aumentou essas duas citocinas dosadas. A diminuição de IL-1 β no rim dos animais cirróticos foi intrigante e não esta relacionado com o estresse oxidativo que se mostrou aumentado. A menor concentração de IL-1 β veio acompanhada da diminuição de IL-10, sugerindo uma modulação

da resposta imune no rim.

Nos últimos anos, evidências indicaram que a cirrose descompensada está associada a inflamação sistêmica, que pode desempenhar um papel importante na progressão da doença e no desenvolvimento de complicações, incluindo SHR. A cirrose está associada ao aumento dos níveis séricos de proteína C reativa e aumento da contagem de leucócitos, que aumentam em paralelo com a gravidade da doença, independentemente da presença de infecções (Cazzaniga, M. et al,2009; Cervoni, J. P. et al,2014). Além disso, pacientes com cirrose avançada mostram níveis séricos aumentados de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-8 e tumor fator de necrose (TNF) e marcadores de estresse oxidativo (Albillos, A., Lario, M. & Álvarez-Mon, M,2014). Apesar de já ser descrito um processo inflamatório sistêmico e hepático na cirrose, nos nossos resultados não verificamos alteração em alguns marcadores inflamatórios em tecidos específicos como o coração e o rim. No entanto é importante destacarmos que neste trabalho investigamos apenas dois marcadores da resposta imune, incluindo uma importante citocina da via do inflamassoma a IL-1 β , dessa forma, pode ser que outros marcadores da ativação da resposta imune possam estar atuando localmente ou ainda pode ser que a resposta imune não esteja sendo ativada nesses órgãos específicos.

O uso de uma dieta rica em sacarose nos animais tratados com TAA alterou as concentrações de IL-1 β e IL-10 no rim, aumentando ambos, mostrando que o açúcar pode estar ativando a resposta imune nesse órgão, e que pelo menos a IL-10 pode estar contribuindo com o menor estresse oxidativo observado, já que essa citocina tem um efeito anti-inflamatório importante.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, vimos que os animais tratados com TAA apresentaram menor ganho de peso e de gorduras epididimal, retroperitoneal e mesentérica comparados ao controle e que a suplementação com açúcar aumentou todos esses parâmetros, amenizando a condição de caquexia da cirrose. Verificamos também um aumento dos marcadores indiretos de danos oxidativos e diminuição da atividade das enzimas antioxidantes GST, SOD e catalase no coração dos animais cirróticos, sendo que a suplementação com açúcar aumentou a ação da GST e SOD. Quanto a inflamação, não verificamos aumento das citocinas IL-1 β e IL-10 no coração do grupo TAA, no entanto a suplementação com açúcar modulou negativamente ambas citocinas dosadas. Já no rim, vimos que houve um aumento tanto de proteínas carboniladas quanto do TBARs, GSH e SOD nos animais cirróticos, sugerindo estresse oxidativo no tecido renal, e o tratamento com açúcar teve um efeito antioxidante reduzindo a quantificação dos marcadores TBARs e proteínas carboniladas. Quanto ao aspecto inflamatório o tratamento com TAA diminuiu as concentrações de IL 1 β e IL-10 no rim, sendo que o uso do açúcar modulou o aumento dessas duas citocinas dosadas.

Em vista disso, sugerimos que a suplementação com açúcar em animais com cirrose induzida por TAA é uma boa alternativa para amenizar os danos oxidativos presentes no coração e rim desses animais, no entanto a ação nos mecanismos inflamatórios precisam ser melhor investigados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUAYO, M. P. S.; MARTÍN, J. M. S. Soporte nutricional en la hepatopatía crónica y trasplante hepático. In: ROMAN, D. A. L.; GUERRERO, D. B.; LUNA, P. P. G. Dietoterapia, nutrición clínica y metabolismo. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, 2012. p. 231-234.

AIRES, Margarida. Fisiologia Sistema Renal. In: AIRES, Margarida. Fisiologia. [S. l.: s. n.], 2012.

Albillos, A., Lario, M. & Álvarez-Mon, M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *J. Hepatol.* 61, 1385–1396 (2014).

Al-Hamoudi WK. Alterações cardiovasculares na cirrose: Patogênese e implicações clínicas. *Saudi J Gastroenterol*[online de série] 2010 [citado em 12 de setembro de 2021]; 16: 145-53.

Alvarez-Lara M, Carracedo J, Ramírez R, Martín-Malo A, Rodríguez M, Madueño J and Aljama P, "The imbalance in the ratio of Th1 and Th2 helper lymphocytes in uraemia is mediated by an increased apoptosis of Th1 subset", *Nephrology dialysis transplantation*, 19:3084-30-90, 2004.

ALVES, F. R. et al. Binômio desnutrição e pobreza: uma meta a ser vencida pelos países em desenvolvimento. *Revista Baiana de Saúde Pública*, Salvador, v. 35, n. 3, p. 744-757, jul./set. 2011.

ALVES, Juliano Vilela. Ativação do Complexo NLRP3 Inflassoma como potencial mecanismo envolvido na disfunção vascular em resposta a níveis suprafisiológicos de testosterona. *Biblioteca digital USP*, [S. l.], p. 1-90, 17 set. 2019.

AMIRTHARAJ, G. J. et al. Role of Oxygen Free Radicals, Nitric Oxide and Mitochondria in Mediating Cardiac Alterations During Liver Cirrhosis Induced by Thioacetamide. *Cardiovascular Toxicology*, v. 17, n. 2, p. 175–184, 2017.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. de C. G.; PAULA, S. O. de; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição*, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARBOSA, Kiriaque. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição*, [S. l.], p. 629-643, 24 ago. 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BERNARDI, Mauro *et al.* Cirrhotic Cardiomyopathy. *Clinical Liver Disease*, Vol. 2, [s. l.], 3 jun. 2013.

BICCA, J. et al., Cardiomiopatia Cirrótica. *International Journal of Cardiovascular Sciences*. v.29, n.2, p.139-148, 2016.

BOLGER, A.P. et al. Effect of interleukin-10 on the production of tumor necrosis factor alpha by peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol.*, v.90, n. 4, p. 384-9, 2002.

BONA, S. et al. Proteção antioxidante da quercetina em fígados de ratos cirróticos. 2010. Tese (Mestre em ciências médicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BULUA , Ariel C *et al.* As espécies reativas de oxigênio mitocondriais promovem a produção de citocinas pró-inflamatórias e estão elevadas na síndrome periódica associada ao TNFR1 (TRAPS). *Journal Experimental Medicine*, [S. l.], p. 519-533, 14 mar. 2011.

Campillo B, Richardet JP, Scherman E, Bories PN. Evaluation of nutritional practice in hospitalized cirrhotic patients: Results of a prospective study. *Nutrition* 2003; 19: 515–521.

CARTAXO, Yéron de Araujo. Diagnóstico e tratamento da Síndrome Hepatorrenal: Uma Revisão Integrativa. *Revista Interdisciplinar em Saúde*, [S. l.], p. 724-742, 10 set. 2018.

CARVALHO, L.; PARISE, E. R. Evaluation of nutritional status of nonhospitalized patients with liver cirrhosis. *Arquivos de Gastroenterologia*, São Paulo, v. 43, n. 4, p.269-274, out./dez. 2006.

CARVALHO, M.V.H. *et al.* Cirrhotic cardiomyopathy: the liver affects the heart. *Cirrhotic cardiomyopathy: the liver affects the heart*, [S. l.], p. 1-9, 4 dez. 2018.

Cazzaniga, M. et al. The systemic inflammatory response syndrome in cirrhotic patients: relationship with their in-hospital outcome. *J. Hepatol.* 51, 475–482 (2009). 54.

Cervoni, J. P. et al. C-reactive protein predicts shortterm mortality in patients with cirrhosis. *J. Hepatol.* 56, 1299–1304 (2012).

CICHÓZ-LACH, Halina; MICHALAK , Ágata. Estresse oxidativo como fator crucial nas doenças do fígado. *Mundial J Gastroenterol .*, [S. l.], p. 8082-8091, 7 jul. 2014.

COSTA, J .K. L. et al. Epidemiological profile of cirrhosis of liver patients treated at the Outpatient of Hepatology Of Medical Specialties CESUPA Center (CEMEC) in Belem - PA. *GED - Gastreenterologia Endoscopia Digestiva*, v. 35, n. 1, p. 1–8, 2016.

CREMONESE, Ricardo Viégas. Experimental cirrhosis induced by carbon tetrachloride inhalation: technical modifications and lipoperoxidation effects. *Arq Gastroenterol*, [S. l.], p. 40-47, 8 mar. 2001.

DIETRICH CG, Gotze, Geier A. Molecular changes in hepatic metabolism and transport in cirrhosis and their functional importance. *World Journal of Gastroenterology* 2016; 22: 72-88.

DILLOW, A.F et al. Temporal transcription regulation of IL-10-induced anti-inflammatory genes in LPS-triggered macrophages, *Open journal of immunology*, v.4.n.3, pp.96-116, 2014.

Farah BQ, Ritti-Dias RM, Montgomery P, Cucato GG, Gardner A. Exercise intensity during 6-minute walk test in patients with peripheral artery disease. *Arq Bras Cardiol*. 2020;114(3):486-92.

FELIX, J. Hartmann. The Cytokine GM-CSF Drives the Inflammatory Signature of CCR2+ Monocytes and Licenses Autoimmunity. *CellPress*, [S. l.], p. 502-514, 15 set. 2015.

FERREIRA, L. G. et al. Desnutrição e inadequação alimentar de pacientes aguardando transplante hepático. *Revista da Associação Médica Brasileira*, São Paulo, v. 55, n. 4, p. 389-393, jul./ago. 2009.

FISCHER, J. Níveis circulantes de interleucinas 6, 10 e 17 como marcadores prognósticos na cirrose hepática. *F lorianópolis*, SC, 2016.

FURTADO KS. Prado MG. Silva MAAE. et al. Coffee and Caffeine Protect against Liver Injury Induced by Thioacetamide in Male Wistar Rats. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* 2012; 111: 339-347.

GALANT, L. H. et al. Condição funcional, força muscular respiratória e qualidade de vida em pacientes cirróticos. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, São Carlos, v. 16, n. 1, p. 30-34, jan./fev. 2012.

GASPARINI, Patricia. Influência de diferentes dietas hipercalóricas sobre o estresse oxidativo cardíaco. *Brazilian Journal of Development*, [S. l.], p. 21526-31547, 28 mar. 2021.

GARCÍA, J. J.; RODERO, G. C.; CALAÑASCONTINENTE, A. Importancia de la nutrición en enfermos con encefalopatía hepática. *Nutrición Hospitalaria*, Madrid, v. 27, n. 2, p. 372-381, mar./abr. 2012.

GODOY, Aldiny Paula de. Avaliação da síndrome hepatorenal em modelo experimental de ligadura parcial da veia porta e suplementação com glutamina. *ANAIS DO XI EVINCI*, [S. l.], p. 1-4, 1 ago. 2016.

- GREGOLIN, Cristina Schmitt. Myocardial Dysfunction in Cirrhotic Cardiomyopathy is Associated with Alterations of Phospholamban Phosphorylation and IL-6 Levels. Elsevier, [S. l.], p. 1-10, 2 jun. 2020.
- GUO, Chuansheng *et al.* Cholesterol Homeostatic Regulator SCAP-SREBP2 Integrates NLRP3 Inflammasome Activation and Cholesterol Biosynthetic Signaling in Macrophages. *Immunity*, [S. l.], p. 842-856, 20 nov. 2018.
- GUPTA R, et al. Comparison of Features of Fatal Versus Nonfatal Cardiac Arrest in Patients With Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy. *Am J Cardiol.*, 2017; 120(1): 111-117.
- GUYTON, A. C. & HALL, J. E. Tratado de Fisiologia Médica. 11 ed. São Paulo: Elsevier Ltda., 2006.
- HASAN, IRTIZA *et al.* Hepatorenal syndrome: pathophysiology and evidence-based management update. *Sciendo*, [S. l.], p. 227-261, 3 mar. 2021.
- HENRIKSEN, Erik J. *et al.* Estresse oxidativo e a etiologia da resistência à insulina ediabete tipo 2. *Biologia e Medicina Radicais Livres*, [S. l.], p. 993-999, 1 set. 2011.
- HO, J. K.; YOSHIDA, E. The extrahepatic consequences of cirrhosis. *Med GenMed: Medscape general medicine*, v. 8, n. 1, p. 59, 2006.
- JARSKE, Luiza Porto *et al.* Cardiomiopatia Cirrótica. *International Journal of Cardiovascular Sciences*, [S. l.], p. 139-148, 29 fev. 2016.
- KAHLENBERG,J.;DUBYAK,G.R Mechanisms of caspases-1 activation by P2X 7 receptor-mediated K⁺ release. *American Journal of Physiology- Cell Physiology*, v.286, n.5p.C1100-C1108,2004. OGURA, Y.; SUTERWALA.F.S; FLAVELL,R.A. The inflamassome: first line of the imune response to cell stress. *Cell*, v.126,n. 4,p.659-662, Aug, 2006.
- Kamel L, Morsy A and Shamaa A, “T-cell cytokine production and endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients with nephropathy”, *Eastern Mediterranean Health Journal*, 15 (4):807-816, 2009.
- KIMURA, Tomonori *et al.* Autophagy and kidney inflammation Tomonori Kimura,. *Autophagy*, [S. l.], p. 997-1003, 27 abr. 2017.
- KIRSZTAJN, G., BASTOS, M., & BREGMAN, R. (2010). Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. *Revista Associação Médica Brasileira* 2010; 56(2): 248-53, 56(2), 248-253.

LI, R.; YANG, G.; YANG, R.; PENG, X.; LI, J. Interleukin-33 and receptor ST2 as indicators in patients with asthma: a meta-analysis. *International journal of clinical and experimental medicine*, v. 8, n. 9, p. 14935, sep,2015.

LIDA, Vivian Helena *et al.* Cirrose hepática: aspectos morfológicos relacionados às suas possíveis complicações. Um estudo centrado em necropsias. *J Bras patol med lab*, [S. l.], p. 29-36, 1 mar. 2005.

LIU, Hongqun *et al.* Cirrhotic Cardiomyopathy: Implications for Liver Transplantation. *Liver Transplantation*, [S. l.], p. 826-835, 23 mar. 2017.

LOPES, Renato Delacio. Alterações na produção de IL-10 e TNF- α no músculo esquelético em ratos com insuficiência cardíaca secundária ao infarto do miocárdio. *Sociedade brasileira de cardiologia*, [S. l.], p. 313-320, 12 ago. 2009.

MACHADO, L. P.; KOHAYAGAWA, A.; SAITO, M. E.; SILVEIRA, V.F. da; YONEZAWA, L. A. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 8, n. 1, p. 84-94, 2009.

MAFRA, D., ABDALLA, D., & COZZOLINO, S. (1999). Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. *Revista de. Nutrição*, 12(3), 205-212.

Maio R, Dichi JB, Burini RC. Conseqüências nutricionais das alterações metabólicas dos macronutrientes na doença hepática crônica. *Arquivos de Gastroenterologia* 2000; 37: 52–57.

MARTINS, Francislene Juliana *et al.* Nutrição em paciente cirrótico. *HU Revista*, [S. l.], p. 45-54, 16 dez. 2013.

Mason, S. A., Trewin A. J., Parker, L., & Wadley, G. D. (2020). Antioxidant supplements and endurance exercise: Current evidence and mechanistic insights. *Redox Biology* 35 (2020) 101471.

MESSIAS, Leandro Rocha *et al.* Interleucina 1 Correlaciona-se com MIBG e Parâmetros do Exercício, na Insuficiência Cardíaca *Sociedade brasileira de cardiologia*, [S. l.], p. 395-403, 27 nov. 2012.

MILLER, André W; Horiguchi, Norio; JEONG, Won -Il; Radaeva, Svetlana; GAO, Bin. Mecanismos moleculares da doença hepática alcoólica: imunidade inata e citocinas. *Alcoholism Clinical & Experimental Research*, [S. l.], p. 787-793, 1 fev. 2011.

MOCARZEL, L. O. C. *et al.*, Cirrhotic Cardiomyopathy: A New Phenotype. *Arq.Bras.Cardiol*, v. 108, n.6, 564-568, 2017.

MONTERA, Vanessa dos Santos Pereira. Benefícios dos Nutrientes Antioxidantes e seus Cofatores no Controle do Estresse Oxidativo e Inflamação na Insuficiência Cardíaca. *Revista da SOCERJ*, [S. l.], p. 20-27, 23 jan. 2007. WANG, Zheng *et al.* NLRP3 Inflammasome and

Inflammatory Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, [S. l.], p. 1-11, 18 fev. 2020.

MUKHOPADHYAY, Partha. Interação de estresse oxidativo, inflamação e autofagia: seu papel na lesão tecidual do coração, fígado e rim. *Hindawi*, [S. l.], p. 1-3, 22 mar. 2018.

NASCIMENTO M, Piran R, Costa RM da. et al. Hepatic injury induced by thioacetamide causes aortic endothelial dysfunction by a cyclooxygenase-dependent mechanism. *Life Sciences* 2018; 212:168-175. BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 30, p. 141-155, 1997.

NATARAJAN, S. K. et al., Oxidative stress in the development of liver cirrhosis: A comparison of two different experiental models. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, v. 21, p. 947–957, 2006. 46.

NELSON DP, Kiesow LA. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25° C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV) *Analytical Biochemistry* 1972; 49: 474-478.

NETO, Rodrigo Antonio Brandão *et al.* Síndrome Hepato- Renal. *MedicinaNET*, [S. l.], p. 1-5, 13 ago. 2019.

NICKOVIC, Vanja P. *et al.* Oxidative stress, NOx/l-arginine ratio and glutathione/glutathione S-transferase ratio as predictors of sterile inflammation in patients with alcoholic cirrhosis and hepatorenal syndrome type II. *Renal Failure* ISSN:, [S. l.], p. 340-349, 16 abr. 2018.

Oliveira, et al. Desnutrição na insuficiência renal crônica: qual o melhor método diagnóstico na prática clínica. *J Bras Nefrol*, [S. l.], p. 57-70, 2 dez. 2009.

OTERO, R.M.; CORTÉS, J.R. Nutrición y alcoholismo crónico. *Nutrición Hospitalaria*, Madrid, v. 23, suppl. 2, p. 3-7, mayo 2008.

PAIVA-OLIVEIRA, Eustáquio Luiz. Inflamassoma e sua repercussão clínica: revisão da literatura. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, [s. l.], p. 96-102, 13 mar. 2012.

PAUL HUTCHINS, Andrew; POULAIN , Stephane; MIRANDA-SAAVEDRA, Diego. Genome-wide analysis of STAT3 binding in vivo predicts effectors of the anti-inflammatory response in macrophages. *Blood*, [S. l.], p. 110-119, 29 mar. 2012.

RABÊLO, Luiza A *et al.* Desbalanço Redox: NADPH Oxidase como um Alvo Terapêutico no Manejo Cardiovascular. *Sociedade brasileira de cardiologia*, [S. l.], p. 683-694, 8 jun. 2009.

Remacle J, Michial C & Raes M (1992) In Free Radicals and Aging eds Emeritt I, and Chanc B Basel: Birkauser.

RIBEIRO, Jeniffer Araújo *et al.* Avaliação de Pacientes Portadores de Cirrose Candidatos a Transplante Hepático pela Ressonância Magnética Cardíaca. Sociedade brasileira de cardiologia, [S. l.], p. 119-125, 4 jul. 2017.

Ritter L, Gazzola J. Avaliação nutricional no paciente cirrótico: uma abordagem objetiva, subjetiva, ou multicomportamental? Arq Gastroenterol. 2016;43(1):66-70.

ROCHA, Filipa Isabel. Miocardiopatia Cirrótica. 2015. Tese Mestrado (Pós graduação Medicina Lisboa) - Aluna de mestrado, [S. l.], 2015.

ROSSI, M.; SELLÉS, N.; ALBERTO, J. Redalyc. Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, Antofagasta, v. 4, n. 2, p. 62-83, mar abr. 2016.

SANTOS, Ana Carolina Bonelá dos. Associação entre qualidade de vida e estado nutricional em pacientes renais crônicos em hemodiálise. J Bras Nefrol, [S. l.], p. 279-288, 30 jul. 2013.

SANTOS, Kelb Bousquet *et al.* Estado nutricional de portadores de doença renal crônica em hemodiálise no Sistema Único de Saúde. Ciência & Saúde Coletiva, [S. l.], p. 1189-1199, 30 jun. 2017.

SCHUPPAN, Detlef; AFDHAL, Nezam H. Cirrose Hepática. The Lancet, [S. l.], v. 371, n. 9615, p. 838-851, 8 mar. 2018.

SHAFAROODI, H. *et al.* The Possible Role of Nitric Oxide and Oxidative Stress in the Enhanced Apoptosis of Cardiac Cells in Cirrhotic Rats, Acta medica Iranica, v. 55, n. 1, p. 29– 34, 2016.

SHARMA, Bashir *et al.* Cirrose Hepática. National Institutes of Health, [S. l.], p. 1-13, 12 set. 2020.

SILVA, B. S. *et al.* High sucrose diet attenuates oxidative stress, inflammation and liver injury in thioacetamide-induced liver cirrhosis. Life Sciences, v. 267, 2021.

SILVA, Mário R. Álvares-da *et al.* Aspectos fisiopatológicos da desnutrição no paciente portador de hepatopatia crônica. Revista HCPA, [S. l.], p. 322-367, 10 maio 1998.

SILVEIRA, Laise Rodrigues; ISER, Betine Pinto Moelecke; BIANCHINI, Flavio. Fatores prognósticos de pacientes internados por cirrose hepática no Sul do Brasil / Prognostic factors in patients hospitalized for liver cirrhosis in South of Brazil. Biblioteca Virtual em Saúde, GED gastroenterol, p. 41-51, 6 jun. 2016.

SILVESTRE, Odilson Marcos *et al.* Interações Cárdio-Hepáticas da Hipótese dos Humores ao Transplante de Órgãos. Sociedade brasileira de cardiologia, [S. l.], p. 65-67, 18 fev. 2014.

Slezak J., Kura B., Frimmel K., Zálešák M., Ravingerová T., Viczenczová C., et al. 2016. Aplicação preventiva e terapêutica do hidrogênio molecular em situações de produção excessiva de radicais livres. *Fisiol. Res.* **65** : S11-S28.

SUBEDI, Abinash. Uma revisão da síndrome hepatorenal. *Cureus*, [S. l.], p. 1-9, 1 jul. 2021.

SZUCS, Gergo *et al.* O pré-diabetes induzido pela dieta enriquecida com frutose influencia o lipídio e o proteoma cardíaco e leva à deterioração da função cardíaca antes do desenvolvimento de estresse oxidativo excessivo e danos celulares. *Medicina Oxidativa e Longevidade Celular*, [S. l.], p. 1-22, 9 dez. 2019.

TIMOH, T. et al., A perspective on Cirrhotic Cardiomyopathy. *Transplantation Proceedings*, v. 43, p. 1649-1953, 2011.

TSIAOUSHI, E.T. et al. Malnutrition in end stage liver disease: recommendations and nutritional support. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, Melbourne, v. 23, no. 4, p. 527-533, Apr. 2008.

TSOCHATZIS, E. A; BOSCH, J.; BURROUGHS, A. K., Liver cirrhosis, *The Lancet*, v. 383, n. 9930, p. 1749–1761, 2014.

TUNEZ I, Munoz MC, Villavicencio MA. et al. Hepato- and neurotoxicity induced by thioacetamide: Protective effects of melatonin and dimethylsulfoxide. *Pharmacological Research* 2005; 52: 223-228.

V. POZNYAK, Anastasia *et al.* NLPR3 Inflammasomes and Their Significance for Atherosclerosis. *Biomedicines*, [S. l.], p. 1-11, 8 jul. 2020.

VANAJA, Sivapriya K; RATHINAM , Vijay AK; FITZGERALD, Katherine A. Mechanisms of inflammasome activation: recent advances and novel insights. *CellPress*, [S. l.], p. 308-315, 4 maio 2015.

VIANNA, Heloisa R. Inflamação na doença renal crônica: papel de citocinas. *J Bras Nefrol*, [S. l.], p. 351-364, 14 nov. 2011.

VIEIRA, P. M. Avaliação do estado nutricional de pacientes portadores de cirrose hepática em atendimento ambulatorial: Parâmetros clínicos, antropométricos, bioquímico e hematológico. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

VOLP, Ana Carolina Pinheiro *et al.* Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab*, [S. l.], p. 537-549, 22 jan. 2008.

YAMADA K, Suda T, Komoro YS. et al. Low fat intake is associated with pathological manifestations and poor recovery in patients with 2013.

YAO CK, Fung J, Chu NHS, Tan VPY. Dietary interventions in liver cirrhosis. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2018; 52: 663-673.

YUREN, Alicia S. Ojeda *et al.* Uma Revisão Integrada da Síndrome Hepatorrenal. *HEPATOLOGY*, [S. l.], p. 1-6, 1 jun. 2021.

ZHANG, C, Wang N, Xu Y, Tan HY, Li S, Feng Y. Molecular mechanisms involved in oxidative stress-associated liver injury induced by chinese herbal medicine: An experimental evidence-based literature review and network pharmacology study. *International Journal of Molecular Sciences* 2018; 19.

8. ARTIGO

Efeito de uma dieta rica em açúcar sobre o estresse oxidativo e inflamação cardiorrenal na cirrose hepática.

Autores: Sabrina Trigueiro Mendonça^a Ian Gabriel Borba^a Maiara Taffarel^a, Angélica Macedo Borgês Paulino^a Bianca Sulzbacher da Silva^a, Luciana Ortega Telles^a, Morena Alana Giordani^a, Valéria Dornelles Gindri Sinhori^b, Renata de Azevedo Melo Luvizotto^a, Gisele Facholi Bomfim^{a*}

RESUMO

A cirrose hepática é considerada a principal doença crônica do fígado, 14^a causa de morte mundial e tem alta prevalência na população brasileira. Alterações cirróticas acarretam prejuízos no sistema cardiovascular e renal, podendo desenvolver Cardiomiopatia cirrótica e Síndrome hepato-renal.

Objetivo do estudo: foi avaliar o efeito de uma dieta rica em sacarose sobre o estresse oxidativo e a inflamação no coração e rim de animais com cirrose hepática induzida por tioacetamida.

Métodos: Foi realizada indução da cirrose hepática pela administração de tioacetamida, uma droga com efeito hepatotóxico, na dose de 100 mg/kg duas vezes por semana por via intraperitoneal (i.p) durante 8 semanas em ratos wistar machos divididos em 3 grupos: Controle (C), Tioacetamida (TAA) e Tioacetamida + açúcar (TAA+A). O açúcar foi ofertado na água de beber na concentração de 300 g/L diariamente durante 8 semanas. Foi realizada avaliação de alguns parâmetros do estresse oxidativo cardíaco e renal e a quantificação de interleucina 10 (IL-10) e interleucina 1 beta (IL-1 β).

Resultados: Nossos resultados mostraram que a dieta rica em açúcar aumentou o ganho de peso e o acúmulo de gorduras corporais nos animais cirróticos, amenizando os sintomas de caquexia presente no grupo TAA. Quanto as análises de marcadores indiretos de danos oxidativos, verificamos que no coração dos animais do grupo TAA houve um aumento nas proteínas carboniladas e uma diminuição na atividade das enzimas antioxidantes GST, SOD e Catalase quando comparados ao grupo Controle. A suplementação com açúcar aumentou a atividade das enzimas GST e SOD no coração. Não houve diferença na concentração de TBARS e GSH entre os grupos. No rim, verificamos um aumento do estresse oxidativo demonstrados pelo aumento de TBARS e proteínas carboniladas no grupo TAA versus Controle. A oferta de uma dieta rica em sacarose diminuiu tanto TBARS como proteínas carboniladas. Em relação a atividade das enzimas antioxidantes, vimos um aumento tanto da GSH quanto da SOD nos grupos TAA e TAA+A quando comparados ao Controle. Não houve alteração renal da GST e Catalase entre os grupos. Em relação as citocinas, o tratamento com TAA diminuiu as concentrações de IL-1 β e IL-10 no rim, sendo que a suplementação com açúcar aumentou essas duas citocinas dosadas. Já no coração, não observamos diferença nas concentrações de IL-10 e IL-1 β , no entanto o uso do açúcar diminuiu esses dois parâmetros.

Conclusão: Vimos que na cirrose hepática induzida por TAA há um menor ganho de peso e de gordura corporal, além do aumento do estresse oxidativo no coração e rim, sem alterar o estado inflamatório nesses órgãos, e a suplementação com açúcar amenizou o quadro catabólico da cirrose, os parâmetros oxidativos e os níveis de IL-10 apenas no rim.

Palavras-chave: cirrose hepática; cardiomiopatia cirrótica; tioacetamida.

1. INTRODUÇÃO

A cirrose hepática é uma das principais doenças crônicas do fígado, sendo a 14ª causa morte mundial, se demonstra com altas taxas de morbidade e mortalidade provocando 1,03 milhão de mortes por ano (TSOCHATZIS; BOSCH; BURROUGHS,2014). Apresenta alto índice de prevalência em meio a população brasileira, sendo que dados nacionais estimam prevalência de 0,14% a 0,35%, mortalidade de 3 a 35 por 100.000 habitantes e média anual de 30.000 internações no Brasil (SILVEIRA; ISER; BIANCHINI,2016, MOCARZEL et al,2017).

Além das lesões no fígado, já é bem descrito na literatura que as alterações hepáticas presentes na cirrose levam a prejuízos no sistema cardiovascular (SILVESTRE et al,2014) e sistema renal, podendo ocasionar além da cardiomiopatia cirrótica, a síndrome hepatorenal (SHR). Essa última condição clínica é caracterizada por deterioração da função renal em consequência da insuficiência hepática e hipertensão portal, complicações existentes em pacientes com doença hepática avançada (CARTAXO et al,2018).

Cerca de 50% dos pacientes com cirrose hepática desenvolvem complicações cardíacas (GREGOLIN et al,2020). Esse quadro ocorre, principalmente devido a hipertensão portal, que leva a uma vasodilatação sistêmica gerando uma sobrecarga ventricular, resultando em uma disfunção cardíaca (NASCIMENTO et al,2018). A vasodilatação sistêmica ocasionada pelo desequilíbrio hemodinâmico provocado pela cirrose, leva a um aumento do débito cardíaco em repouso e diminuição da resistência vascular periférica (MOCARZEL et al,2017).

O estresse oxidativo decorre de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante. A geração de radicais livres e/ou espécies reativas não radicais é resultante do metabolismo de oxigênio (BARBOSA et al,2010) e contribuí para o desenvolvimento de doenças como a cardiomiopatia cirrótica e a síndrome hepatorenal. Além disso, a cirrose hepática é uma doença catabólica que acarreta ao paciente diversas implicações clínicas, dentre elas o quadro de desnutrição proteico-energética. É percebido que a severidade da doença hepática se correlaciona com o grau de desnutrição a qual está diretamente ligada ao prognóstico do paciente (CARVALHO; PARISE, 2006; FERREIRA et al., 2009; GALANT et al., 2012). O trabalho realizado pelo nosso grupo de pesquisa evidenciou os benefícios de uma dieta rica em sacarose na função e estrutura hepática, mostrando que a suplementação alimentar energética é uma boa alternativa para a melhora no quadro clínico da cirrose (SILVA et al, 2021). Neste estudo foi verificada que a suplementação com açúcar amenizou o estado redox, inflamatório e de fibrose no fígado e ainda melhorou a perda de peso e diminuí os níveis de alanina aminotransferase. Ainda, foi visto também que essa dieta aumentou os níveis de glicose e o estoque de glicogênio no fígado e elevou os depósitos das gorduras totais dos animais cirróticos, evidenciando a melhora do quadro de caquexia e do bem-estar sistêmico desses animais.

Tendo em vista as alterações cardíacas e renais presentes na cirrose e que existe uma desregulação energética grave levando a um quadro de caquexia que pode ser amenizado com o uso de uma dieta rica em açúcar, nossa hipótese é que a suplementação com uma dieta rica em açúcar em ratos cirróticos melhore o estado redox e inflamatório no coração e rim desses animais.

2. MATERIAL E MÉTODOS.

2.1- ANIMAIS E MODELO EXPERIMENTAL

Os animais utilizados foram ratos *Wistar* machos, com peso inicial em média 300 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT) *campus* de

Cuiabá, permaneceram em um período de aclimação de 15 dias no NUPADS (Núcleo de Pesquisa e Apoio Didático em Saúde), sendo mantidos em gaiolas, em ambiente com temperatura ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade controladas ($55\pm 5\%$) e ciclo claro-escuro (12-12h).

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFMT sob o número 23108.039273/2019-60, e seguiu as recomendações dos Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

2.2 MODELO EXPERIMENTAL E DIETA RICA EM SACAROSE

Os animais foram divididos de forma aleatória em três grupos, sendo que cada grupo tinha 8 animais: grupo Controle (C), Tioacetamida (TAA), Tioacetamida + Açúcar (TAA+A). Os grupos TAA e TAA+A foram tratados com TAA na dose de 100 mg/kg via intraperitoneal (Sigma-Aldrich EUA), duas vezes por semana durante 8 semanas, visto que a TAA possui propriedades hepatotóxicas e é capaz de desencadear cirrose hepática (NASCIMENTO et al., 2018; TÚNEZ et al., 2005). Os grupos controles foram tratados com veículo (salina), seguindo o mesmo protocolo usado nos tratamentos com TAA. Os grupos C e TAA foram alimentados *ad libitum* com ração normal para a espécie e água, o grupo TAA+A além de receber a mesma dieta *ad libitum*, teve água suplementada com sacarose (300 g / L). Os animais receberam ração padrão (3,77 kcal/ g) – NUVILAB CR-I (NuvitalVR, Colombo, Paraná, Brasil). O consumo calórico foi calculado somando o consumo diário de ração (g) x 3,77 kcal e o consumo diário de água com sacarose x 1,2 kcal (DENTZ et al., 2020). Após 8 semanas do período experimental, os animais foram eutanasiados com uma mistura de cetamina (113 mg/ kg) e xilazina (7,4 mg/ kg) em uma dose de 0,15 mL/ 100g intraperitoneal. Os ratos foram pesados no início e no final do período experimental. Após a eutanásia, foram pesados o fígado e as gorduras epididimal, mesenterica e retroperitoneal. O ganho de peso dos animais foi calculado pela subtração do peso corporal final ao peso corporal inicial.

2.3 QUANTIFICAÇÃO DAS CITOCINAS PELO MÉTODO DE ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA).

As citocinas IL-1 β e IL-10 foram dosada de acordo com o manual do fabricante (R&D SYSTEM) a partir do sobrenadante dos homogenatos do rim e coração dos grupos estudados. As concentrações de cada citocina foram calculadas com base na equação da reta de regressão linear, da curva padrão obtida com citocinas recombinantes de rato.

2.4 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO CARDIACO E RENAL

2.4.1 ANÁLISE DE MARCADORES OXIDATIVOS:

Os níveis de peroxidação lipídica foram avaliados de acordo com Buege e Aust, através da determinação dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A concentração de TBARS foi expressa em nmol MDA mg protein⁻¹ seguindo a curva de calibração para MDA. A proteína carbonil foi determinada de acordo com Colombo et al, por um ensaio de dinitrofenilhidrazina modificado (DNPH). O conteúdo total de carbonil foi expresso como nmol carbonil mg de proteína⁻¹. A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi avaliada pela inibição da oxidação da adrenalina de acordo com Misra e Fridovich e

expressa como UI SOD mg de proteína⁻¹. A atividade da glutathiona-S-transferase (GST) foi determinada de acordo com Habig et al, a atividade enzimática foi medida com base na formação do aduto GS-DNB, e o resultado foi expresso em $\mu\text{mol GS-DNB min}^{-1}$ mg de proteína⁻¹. A atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com Nelson e Kiesow . O princípio é baseado na decomposição de H₂O₂ que é expressa em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1}$ mg de proteína⁻¹. A glutathiona reduzida (GSH) foi medida pelo método colorimétrico que consiste em uma reação de grupos sulfidril desenhovida por Sedlak e Lindsay. O resultado foi expresso em $\mu\text{mol GSH mg protein}^{-1}$ e comparado com uma curva GSH padrão.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão apresentados em média \pm desvio padrão. Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade D'Agostino-Pearson. A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste Anova de uma via, seguida pelo pós-teste de Tukey. Nos casos em que os resultados não passaram pelo teste de normalidade foi realizado o teste de Kruskal-Wallis pós teste de Dunn. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes para valores de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS

O peso corporal final (PCF), o ganho de peso, o peso das gorduras epididimal, retroperitoneal e mesentérica e a ingesta calórica diária foi menor nos animais do grupo TAA quando comparado ao grupo C (Tabela 1). Os animais suplementados com açúcar (TAA+A) apresentaram aumento em todos os parâmetros citados acima comparado ao grupo TAA (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros morfológicos de animais controle e tioacetamida tratados ou não com dieta rica em açúcar.

Grupos			
Variáveis	C	TAA	TAA+A
PCF (g)	442,4 \pm 20,11 ^a	370,8 \pm 24,56 ^b	409,7 \pm 11,25 ^c
Ganho (g)	136,3 \pm 16,84 ^a	44,36 \pm 11,77 ^b	84,85 \pm 8,6 ^c
Gordura epididimal (g)	9,68 \pm 0,75 ^a	5,26 \pm 0,87 ^b	7,60 \pm 0,79 ^c
Gordura retroperitoneal (g)	13,74 \pm 1,71 ^a	7,59 \pm 0,9 ^b	13,9 \pm 0,51 ^a
Gordura mesentérica (g)	5,86 \pm 0,5 ^a	4,8 \pm 0,59 ^b	8,5 \pm 0,71 ^c
Gordura total (g)	29,82 \pm 3,05 ^a	17,26 \pm 2,27 ^b	29,73 \pm 2,34 ^a
Calorias (kcal) por dia	105,2 \pm 2,6 ^a	84,3 \pm 1,87 ^b	98,62 \pm 3,11 ^c

Dados apresentados em média \pm desvio padrão. C, controle; TAA, Tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida+açúcar; PCF, peso corporal final. Letras diferentes indicam diferença estatística de acordo com o teste de ANOVA de uma via seguido pelo pós- teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.2 ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO CARDÍACO E RENAL.

Foi realizada a dosagem de marcadores indiretos de danos oxidativos e antioxidantes a partir do tecido cardíaco e tecido renal. Verificamos que no coração dos animais do grupo TAA houve um aumento significativo nas proteínas carboniladas (Figura 4) e uma diminuição na atividade das enzimas antioxidantes SOD e Catalase (Figura 5) quando comparados ao grupo Controle. A suplementação com açúcar não modificou os parâmetros oxidativos no coração. Não houve diferença na concentração de TBARS, GST e GSH entre os grupos (Figuras 4 e 5). Já no tecido renal, verificamos um aumento do estresse oxidativo, demonstrados pelo aumento de TBARS e proteínas carboniladas no grupo TAA versus C (Figura 6). A oferta de uma dieta rica em sacarose diminuiu tanto TBARS como proteínas carboniladas no rim. Não foi observado alteração no parâmetros antioxidante GST e Catalase no rim e um aumento da GSH e SOD entre os grupos estudados (Figura 7).

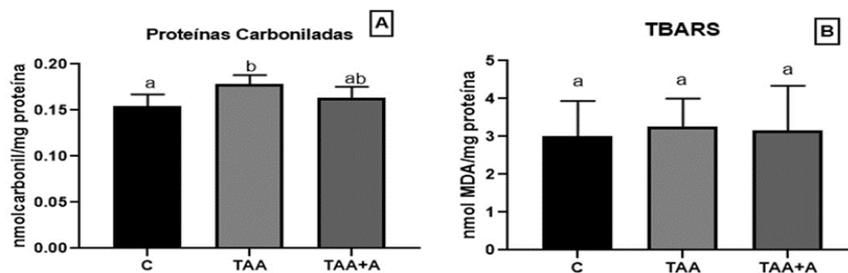
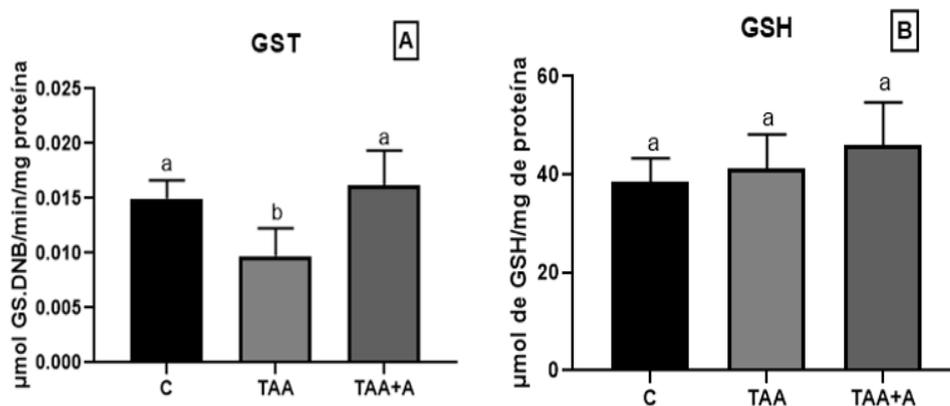


Figura 4. Marcadores indiretos de dano oxidativo no tecido cardíaco. (A) Proteínas carboniladas e (B) TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico); C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + Açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$) entre os grupos.



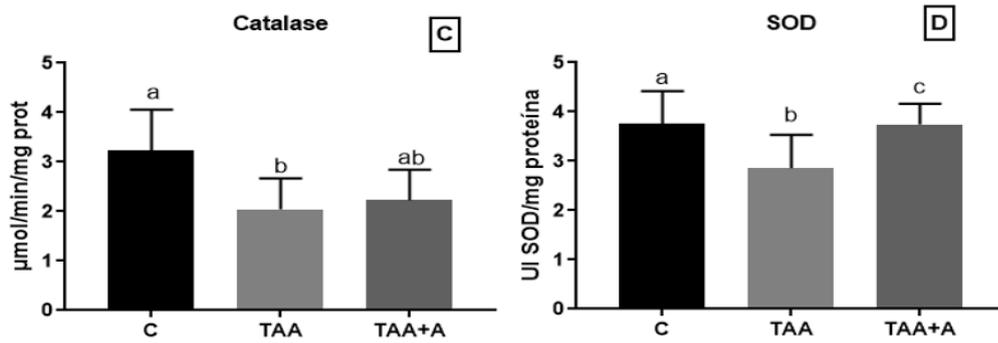


Figura 5. Compostos antioxidantes do tecido cardíaco. (A) GST, Glutaciona s-transferase; (B) GSH, Glutaciona reduzida; (C) CAT, catalase; (D) SOD, superóxido dismutase. C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + Açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística, pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$), entre os grupos.

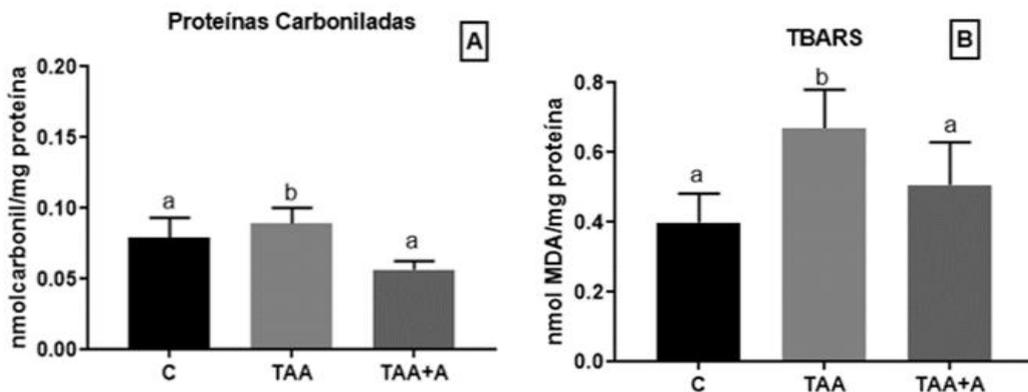
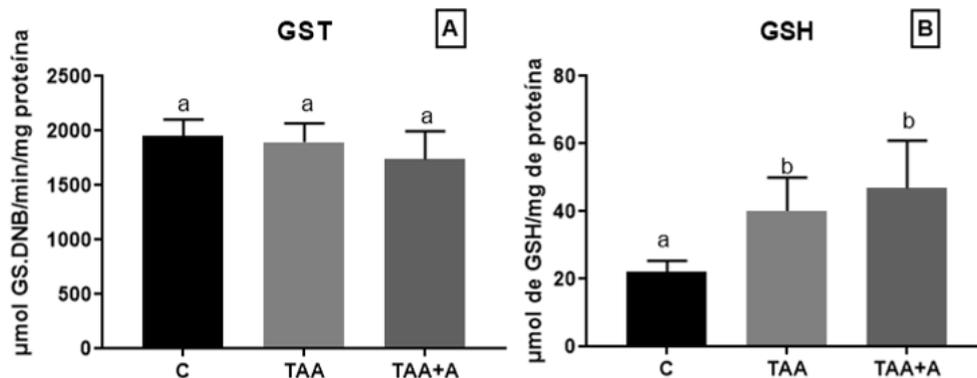


Figura 6. Marcadores indiretos de dano oxidativo no tecido renal. (A) Proteínas carboniladas e (B) TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico); C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + Açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$) entre os grupos.



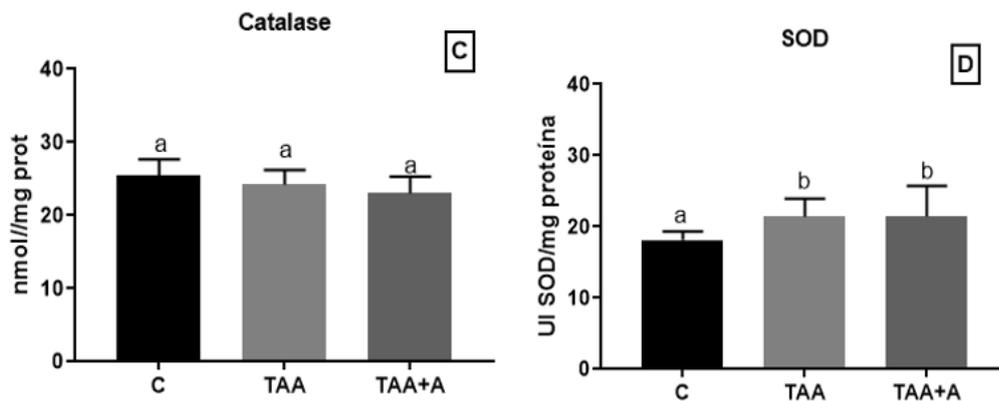


Figura 7. Compostos antioxidantes do tecido renal. (A) GST, Glutaciona s-transferase; (B) GSH, Glutaciona reduzida; (C) CAT, catalase; (D) SOD, superóxido dismutase. C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + Açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística, pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$), entre os grupos.

3.3 DOSAGEM DAS CITOCINAS DO TECÍDO CARDÍACO E TECIDO RENAL

Não houve diferença na dosagem de IL-1 β e IL-10 no coração dos animais TAA e C. No entanto, a suplementação com açúcar reduziu as concentrações dessas duas citocinas no coração (Figura 8). Já no rim, o tratamento com TAA diminuiu as concentrações de IL 1 β e IL-10 (Figura 9), sendo que o uso do açúcar aumentou essas duas citocinas dosadas.

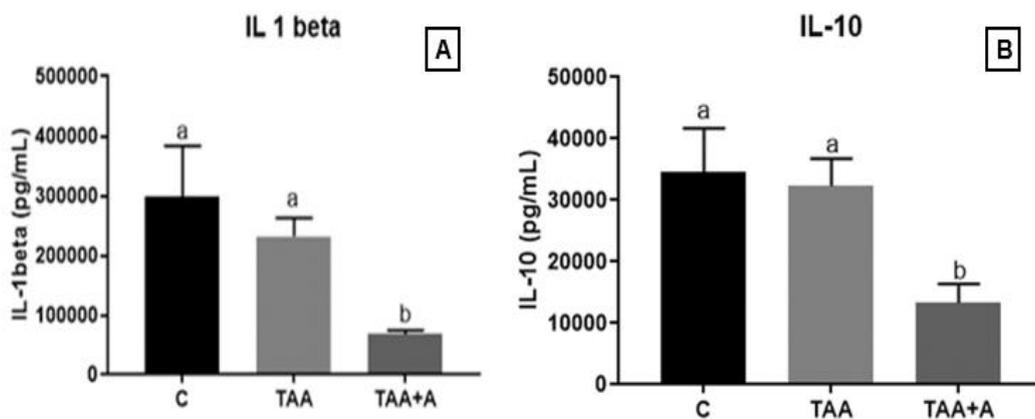


Figura 8. Dosagem das citocinas IL-1 β e IL-10 no tecido cardíaco. (A) IL-1 β ; (B) IL-10. C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida + açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística, pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$), entre os grupos.

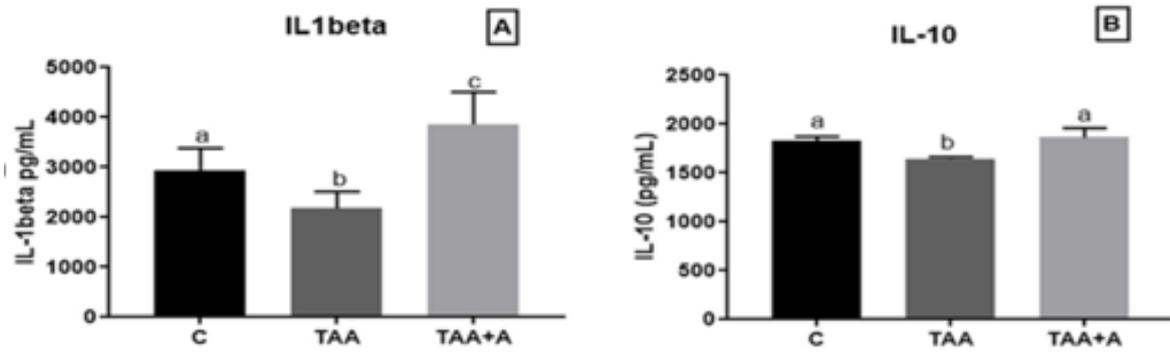


Figura 9. Dosagem das citocinas IL-1 β e IL-10 no tecido renal. (A) IL-1 β ; (B) IL-10. C, Controle; TAA, tioacetamida; TAA+A, Tioacetamida +açúcar. Dados apresentados como média \pm desvio padrão. Letras minúsculas diferentes nas barras indicam diferença estatística, pelo teste ANOVA de uma via, complementada pelo teste de comparação múltipla de Tukey ($P < 0,05$), entre os grupos.

4. DISCUSSÃO

A cirrose tem como característica ser uma doença catabólica, caracterizada por desnutrição secundária a anorexia, com má absorção de gorduras e degradação de biomoléculas (SILVA et al,1998). A maioria dos pacientes com essa doença, de forma não intencional, segue uma dieta de baixas calorias, devido à ascite e à hipertensão portal, a qual compromete a absorção e a digestão de nutrientes, fato que se atribui a vários efeitos colaterais observados na doença (MARTINS et al,2013). Quando há aumento de glicose sanguínea, o fígado aumenta o armazenamento de glicogênio (glicogênese) e reduz a quebra desse glicogênio e a produção de glicose a partir de compostos não glicídios (NELSON; COX, 2011). Porém, na cirrose o metabolismo e armazenamento de glicogênio é reduzido, levando o comprometimento do suprimento de glicose para outros tecidos para produção de energia. Na tentativa de suprir essa falta, ocorre a oxidação de ácidos graxos, gliconeogênese e proteólise, resultando em um estado catabólico hepático e conseqüentemente um estado nutricional comprometido (YAO et al., 2018). Uma ingestão insuficiente de energia de menos de 30 kcal/kg está associada com um pior prognóstico em casos de cirrose hepática. Estudos demonstraram que pacientes cirróticos possuem baixa ingestão de energia e um maior gasto desta em repouso (DIETRICH; GOTZE; GEIER, 2016). Em vista disso, trabalhos concluíram que uma intervenção nutricional visando garantir uma ingestão energética suficiente melhora significativamente a sobrevida de pacientes cirróticos, no entanto os mecanismos responsáveis por essa melhora são pouco conhecidos (YAMADA et al., 2013).

Tendo em vista o estado catabólico na cirrose, nosso grupo de pesquisa hipotetizou que ofertar mais energia para animais com cirrose hepática, na forma de uma dieta rica em açúcar, melhoraria os aspectos clínicos e hepáticos dessa doença. Dessa forma, dados do nosso laboratório publicados recentemente demonstraram uma melhora significativa na quantificação das enzimas utilizadas clinicamente como marcadores de função hepática, ALT e AST, no estresse oxidativo, inflamação e fibrose no fígado de ratos com cirrose hepática submetidos a uma dieta rica em sacarose, demonstrando que uma ingestão aumentada de energia ameniza as injúrias hepáticas, melhorando assim a função do fígado (SILVA,2020). Vimos ainda que a suplementação com açúcar nos animais tratados com TAA aumentou o ganho de peso e a deposição das gorduras corporais mostrando uma significativa melhora dos efeitos catabólicos da doença (SILVA,2020). Em razão dos dados apresentados no trabalho acima citado, buscamos investigar, nesse estudo, se a melhora vista no fígado de animais com cirrose hepática se estenderia também para o coração e rim, já que a cardiomiopatia cirrótica e a síndrome hepatorenal são doenças crônicas oriunda do desequilíbrio da homeostase vascular que ocorre na progressão da cirrose, apresentando função sistólica e diastólica comprometida e disfunção renal (ROCHA,2015).

As espécies reativas de oxigênio tem efeito sobre função do miocárdio e sua estrutura, sendo um gatilho para apoptose de miócitos e aumento do músculo cardíaco, auxiliando no remodelamento cardíaco. O aumento das espécies reativas de oxigênio também pode alterar a contração na insuficiência cardíaca, pois interfere na entrada de cálcio nas células e na função de proteínas carreadoras dependentes de cálcio (MONTERA, 2007). A sobrecarga cardíaca observada em quadros de cardiomiopatia cirrótica torna o coração disfuncional, essas disfunções acontecem por geração de EROs em descontrole e inflamação, e tudo isso contribui para diminuição da capacidade funcional cardíaca (SHAFAROODI, et al., 2016; AMIRTHARAJ, et al., 2019; DE DAVID, 2011). Outros resultados demonstraram que a alteração sistólica presente na cirrose pode ser causada devido um estresse gerado por drogas hepatotóxicas (TIMOH, et al., 2011). Dados publicados por (SZUCS et al,2019) demonstraram que a superóxido dismutase mitocondrial diminuiu em ratos alimentados com uma ração

suplementada em 60% com frutose, porém não havia estresse oxidativo considerável no coração desses animais.

Tendo em vista a importância do equilíbrio oxidativo na função cardíaca e que o tratamento rico em sacarose teve um efeito antioxidante no fígado dos animais cirróticos, fomos avaliar a presença de estresse oxidativo no coração de animais cirróticos e ainda se a dieta rica em sacarose teria efeito sobre esse parâmetro também no coração. o coração também

Dentre as técnicas que utilizamos, a carbonilação de proteínas é quantificada a fim de estimar a oxidação das cadeias de aminoácidos provocadas por EROs sendo também um marcador de dano oxidativo (ROSSI; SELLES; ALBERTO, 2016). Verificamos que houve um aumento das espécies reativas de oxigênio (proteínas carboniladas) e não alteração dos parâmetros antioxidantes no coração dos animais tratados com TAA. De forma semelhante CREMONESE, R et al, 2001 mostraram na avaliação da peroxidação lipídica aumento do estresse oxidativo no coração dos animais que utilizaram o tratamento com CCl₄, um modelo de cirrose hepática induzida pela administração de tetracloreto de carbono. Porém nossos resultados demonstraram que o tratamento com sacarose não foi capaz de melhorar o estresse oxidativo no coração dos animais cirróticos, mostrando que a dieta sugerida melhorou os parâmetros oxidativos apenas no fígado, conforme mostrado por Silva et al, 2021, mas não atenuou no coração.

A inflamação é o processo básico de defesa no qual os tecidos do organismo respondem a uma injúria, leva ao reparo da estrutura do tecido e de sua função, porém mesmo sendo um mecanismo de defesa, o próprio mecanismo de inflamação pode contribuir para a injúria tecidual, o que já é observado em doenças crônicas, sendo que já é conhecido que pacientes com cirrose apresentam um quadro de inflamação em alguns órgãos alvo (FISCHER, 2016).

Verificamos que o tecido cardíaco de animais com cirrose induzida por TAA não apresentou alterações na concentração de IL-1 β . Dados publicados por Bolger et al. (2002) em ratos com infarto do miocárdio mostrou que a IL-10 é capaz de alterar os níveis de citocinas pró-inflamatória, melhorando a função do ventrículo esquerdo. Nossos resultados não apresentaram alterações na concentração da IL-10 quando comparado o grupo controle com o grupo TAA. Em relação a suplementação dos animais cirróticos com açúcar observamos uma diminuição significativa em todas as citocinas dosadas, tanto pró-inflamatória quanto anti-inflamatória quando comparada ao grupo Controle e TAA. A baixa concentração de citocinas em um tecido indica não ativação da resposta imune nesse local, o que nos leva a sugerir que a suplementação com açúcar causou uma imunomodulação inibindo a resposta imune e a liberação de citocinas no coração.

Além das alterações no fígado e coração, a cirrose hepática causa problemas em outros órgãos como rim, por gerar hipertensão portal, estado hiperdinâmico, vasodilatação sistêmica e resposta inflamatória sistêmica. A Lesão Renal Aguda (LRA) é uma das complicações altamente mórbidas no espectro de suscetibilidade da cirrose hepática segundo (HASAN et al, 2021). Segundo Oliveira et al 2010, a desnutrição protéico-calórica é um dos principais fatores que afetam adversamente o prognóstico do paciente renal crônico e tem sido associada ao aumento da morbidade e mortalidade nessa população de pacientes. A depleção do estado nutricional é frequentemente observada à medida que a perda da função renal evolui. A etiologia da desnutrição associada à DRC é multifatorial, sendo quase sempre associada à ingestão alimentar insuficiente e, principalmente, ao hipermetabolismo. A desnutrição possui um impacto negativo na evolução desses pacientes pois está associada a um maior número de complicações, como maior risco de infecções, além de maior frequência e duração nas internações hospitalares (Santos, et al, 2019). O diagnóstico adequado da SHR é realizado por meio do uso de critérios de diagnóstico modificados, uso de terapias derivadas de evidências estrategicamente aplicadas

para tratamento específico e reversão de SHR, projetou uma melhora geral da sobrevivência. O tratamento definitivo para SHR, é o transplante de fígado ou transplante de fígado-rim simultâneo, conforme indicado (YUREN, A et al,2021). Visto que os tratamentos descritos onde foram observado melhora, são considerados invasivos, buscamos com nosso trabalho avaliar se o tratamento rico em sacarose seria capaz de melhorar, a desnutrição vista na maioria dos pacientes com SHR responsável pelo agravamento do quadro, e também melhorar o aspecto renal acompanhando a melhora do aspecto hepático já descrito no trabalho de (SILVA,2020).

Nos parâmetros oxidativos no rim, vimos aumento tanto de proteínas carboniladas quanto do TBARs, GSH e SOD nos animais cirróticos, sugerindo estresse oxidativo no tecido renal desses animais. Silveira et al, 2015, descreveram resultados semelhantes aos nossos usando um modelo de cirrose hepática induzida por ligação do ducto biliar, onde os autores mostram aumento de TBARs e das atividades das enzimas antioxidantes catalase, SOD e glutathione peroxidase. O aumento da atividade das enzimas anti-oxidantes pode indicar que o sistema de defesa está sendo ativado na tentativa de minimizar os danos oxidativos. De forma interessante, vimos que a suplementação com sacarose diminuiu os marcadores indiretos do dano oxidativo, TBARs e proteínas carboniladas mostrando que além do efeito antioxidante no fígado também encontramos esse efeito no rim, diferente do coração. Diante desse resultado podemos sugerir que as células renais podem estar em uma situação de estresse pela menor quantidade de energia, e dessa forma, o aumento da disponibilidade de glicose pela dieta amenizou esse aspecto, diminuindo o estresse oxidativo no rim.

Não obstante, em relação a resposta imune no rim, verificamos que o tratamento com TAA diminuiu as concentrações de IL-1 β e IL-10, sendo que o uso do açúcar aumentou essas duas citocinas dosadas. A diminuição de IL-1 β no rim dos animais cirróticos foi intrigante e não está relacionado com o aumento do estresse oxidativo que se mostrou aumentado. A menor concentração de IL-1 β veio acompanhada da diminuição de IL-10, sugerindo uma modulação da resposta imune no rim.

Nos últimos anos, evidências indicaram que a cirrose descompensada está associada a inflamação sistêmica, que pode desempenhar um papel importante na progressão da doença e no desenvolvimento de complicações, incluindo SHR. A cirrose está associada ao aumento dos níveis séricos de proteína C reativa e aumento da contagem de leucócitos, que aumentam em paralelo com a gravidade da doença, independentemente da presença de infecções (Cazzaniga, M. et al,2009; Cervoni, J. P. et al,2014). Além disso, pacientes com cirrose avançada mostram níveis séricos aumentados de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-8 e tumor fator de necrose (TNF), entre outros, e marcadores de estresse oxidativo (Albillos, A., Lario, M. & Álvarez-Mon, M,2014). Apesar de já ser descrito um processo inflamatório sistêmico e hepático na cirrose, nos nossos resultados não verificamos alteração em alguns marcadores inflamatórios em tecidos específicos como o coração e o rim. No entanto é importante destacarmos que neste trabalho investigamos apenas dois marcadores da resposta imune, incluindo uma importante citocina da via do inflamassoma a IL-1 β , dessa forma, pode ser que outros marcadores da ativação da resposta imune possam estar atuando localmente ou ainda pode ser que a resposta imune não esteja sendo ativada nesses órgãos específicos.

O uso de uma dieta rica em sacarose nos animais tratados com TAA alterou as concentrações de IL-1 β e IL-10 no rim, aumentando ambos, mostrando que o açúcar pode estar ativando a resposta imune nesse órgão, e que pelo menos a IL-10 pode estar contribuindo com o menor estresse oxidativo observado, já que essa citocina tem um efeito anti-inflamatório importante.

5. CONCLUSÃO

Concluimos que os animais suplementados com açúcar (TAA+A) apresentaram aumento de peso corporal final (PCF), aumento no peso das gorduras epididimal, retroperitoneal e mesentérica e aumento da ingesta calórica diária quando comparados aos animais do grupo (TAA). Verificamos também um aumento dos marcadores indiretos de danos oxidativos no coração e não alteração dos compostos antioxidantes no mesmo, indicando que o tratamento com açúcar não foi capaz de alterar os marcadores indiretos de danos oxidativos no coração. Quanto a inflamação, com os resultados obtidos onde avaliamos a via inflamassoma e observamos que esta não encontrou-se ativada, concluimos que na cirrose não temos parâmetros inflamatórios no coração desses animais que tiveram a cirrose hepática induzida por TAA, logo o tratamento com açúcar não foi capaz de alterar estatisticamente o aspecto inflamatório no coração.

Já no rim, concluimos que houve um aumento tanto de proteínas carboniladas quanto do TBARs, GSH e SOD nos animais cirróticos, sugerindo estresse oxidativo no tecido renal, e o tratamento com açúcar foi capaz de reduzir a quantificação dos marcadores TBARs e proteínas carboniladas. Quanto ao aspecto inflamatório o tratamento com TAA diminuiu as concentrações de IL 1 β e IL-10 sendo que o uso do açúcar modulou o aumento dessas duas citocinas dosadas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Prolonging survival in patients with cirrhosis: old drugs with new indications. *Gastroenterology*. 2010;139(6):1813-5.e1.

Silveira LR, Iser BPM, Bianchini F. Prognostic factors in patients hospitalized for liver cirrhosis in South of Brazil. *GED - Gastroenterologia Endoscopia Digestiva*. 2016;35:41-51.

Mocarzel LOC, Rossi MM, Miliosse BM, Lanzieri PG, Gismondi RA. Cirrhotic Cardiomyopathy: A New Clinical Phenotype. *Arq Bras Cardiol*. 2017;108(6):564-8.

Odilson Marcos Silvestre ea. Interações Córdio-Hepáticas - da Hipótese dos Humores ao Transplante de Órgãos. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. 2014;102.

al YdACe. DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA SÍNDROME HEPATORRENAL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA. *Revista Interdisciplinar em Saúde*. 2018:724.

Gregolin CS, do Nascimento M, Borges de Souza SL, Ferreira Mota GA, Bomfim GF, de Azevedo Melo Luvizotto R, et al. Myocardial Dysfunction in Cirrhotic Cardiomyopathy is Associated with Alterations of Phospholamban Phosphorylation and IL-6 Levels. *Arch Med Res*. 2021;52(3):284-93.

Nascimento M, Piran R, Da Costa RM, Giordani MA, Carneiro FS, Aguiar DH, et al. Hepatic injury induced by thioacetamide causes aortic endothelial dysfunction by a cyclooxygenase-dependent mechanism. *Life Sci*. 2018;212:168-75.

Livia Garcia Ferreira ea. Desnutrição e equacionamento alimentar de pacientes transplantados hepáticos. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2009;4:389.

Galant LHea. Condição funcional, força muscular respiratória e qualidade de vida em pacientes cirróticos. *Brazilian Journal of Physical Therapy*. 2012;16:30.

.da Silva BS, Paulino AMB, Taffarel M, Borba IG, Telles LO, Lima VV, et al. High sucrose diet attenuates oxidative stress, inflammation and liver injury in thioacetamide-induced liver cirrhosis. *Life Sci*. 2021;267:118944.

Túnez I, Muñoz MC, Villavicencio MA, Medina FJ, de Prado EP, Espejo I, et al. Hepato- and neurotoxicity induced by thioacetamide: protective effects of melatonin and dimethylsulfoxide. *Pharmacol Res*. 2005;52(3):223-8.

Vanda Santana Queiroz Dini ea. Ação anti-inflamatória do óleo de copaíba em artrite induzida em modelo animal: Uma Revisão Sistemática *Scientia Amazonia*. 2019;8.

Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302-10.

Colombo G, Clerici M, Garavaglia ME, Giustarini D, Rossi R, Milzani A, et al. A step-by-step protocol for assaying protein carbonylation in biological samples. *Journal of Chromatography B*. 2016;1019:178-90.

Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972;247(10):3170-5.

Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 1974;249(22):7130-9.

Nelson DP, Kiesow LA. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). *Anal Biochem.* 1972;49(2):474-8.

Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry.* 1968;25:192-205.

MAIO R, DICHI, Jane Bandeira e BURINI, Roberto Carlos. Consequências nutricionais das alterações metabólicas dos macronutrientes na doença hepática crônica. *Arquivos de Gastroenterologia.* 2000;37:52.

FJ M. Nutrição em paciente cirrótico. *HU REVISTA.* 2013;39:45.

Nelson DP, Kiesow LA. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25° C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). *Analytical Biochemistry.* 1972;49(2):474-8.

Yao CK, Fung J, Chu NHS, Tan VPY. Dietary Interventions in Liver Cirrhosis. *J Clin Gastroenterol.* 2018;52(8):663-73.

Dietrich CG, Götze O, Geier A. Molecular changes in hepatic metabolism and transport in cirrhosis and their functional importance. *World J Gastroenterol.* 2016;22(1):72-88.

K, Suda T, Komoro YS, Kanefuji T, Kubota T, Murayama T, et al. Low fat intake is associated with pathological manifestations and poor recovery in patients with hepatocellular carcinoma. *Nutr J.* 2013;12:79.

Rocha FIR. Miocardiopatia cirrótica : caso clínico. Sistema integrado de biblioteca repositório. 2015.

Montera VdSP. Benefícios dos nutrientes antioxidantes e seus cofatores no controle do estresse oxidativo e inflamação na insuficiência cardíaca. *Revista SOCERJ.* 2007;20:20.

Shafaroodi H, Hashemi M, Sharif ZN, Moezi L, Janahmadi Z, Dehpour AR. The Possible Role of Nitric Oxide and Oxidative Stress in the Enhanced Apoptosis of Cardiac Cells in Cirrhotic Rats. *Acta Med Iran.* 2017;55(1):29-34.

Amirtharaj GJ, Natarajan SK, Pulimood A, Balasubramanian KA, Venkatraman A, Ramachandran A. Role of Oxygen Free Radicals, Nitric Oxide and Mitochondria in Mediating Cardiac Alterations During Liver Cirrhosis Induced by Thioacetamide. *Cardiovascular Toxicology.* 2017;17(2):175-84.

Timoh T, Protano MA, Wagman G, Bloom M, Vittorio TJ. A Perspective on Cirrhotic Cardiomyopathy. *Transplantation Proceedings*. 2011;43(5):1649-53.

Cremonese R, Pereira Filho A, Magalhães R, Mattos A, Marroni C, Zettler C, et al. Experimental cirrhosis induced by carbon tetrachloride inhalation: Technical modifications and lipoperoxidation effects. *Arquivos de Gastroenterologia*. 2001;38:40-

Bolger AP, Sharma R, von Haehling S, Doehner W, Oliver B, Rauchhaus M, et al. Effect of interleukin-10 on the production of tumor necrosis factor-alpha by peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic heart failure. *American Journal of Cardiology*. 2002;90(4):384-9.

Oliveira CMCdea. Desnutrição na insuficiência renal crônica: qual o melhor método diagnóstico na prática clínica? *Brazilian Journal of Nephrology* 2010;32.

Ojeda-Yuren AS, Cerda-Reyes E, Herrero-Maceda MR, Castro-Narro G, Piano S. An Integrated Review of the Hepatorenal Syndrome. *Ann Hepatol*. 2021;22:100236.

Chen J, Guo Q, Chen Q, Chen Y, Chen D, Chen Z, et al. Interleukin 10 inhibits oxidative stress-induced autophagosome formation in hepatic stellate cells by activating the mTOR-STAT3 pathway. *Exp Cell Res*. 2022;411(2):113001.

Cazzaniga M, Dionigi E, Gobbo G, Fioretti A, Monti V, Salerno F. The systemic inflammatory response syndrome in cirrhotic patients: Relationship with their in-hospital outcome. *Journal of Hepatology*. 2009;51(3):475-82.

Cervoni JP, Thévenot T, Weil D, Muel E, Barbot O, Sheppard F, et al. C-reactive protein predicts short-term mortality in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 2012;56(6):1299-304.

Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: Distinctive features and clinical relevance. *Journal of Hepatology*. 2014;61(6):1385-96.

Alvarez-Lara MA, Carracedo J, Ramírez R, Martín-Malo A, Rodríguez M, Madueño JA, et al. The imbalance in the ratio of Th1 and Th2 helper lymphocytes in uraemia is mediated by an increased apoptosis of Th1 subset. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(12):3084-90.