

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas**

**TESE**

**Relação entre ingestão alimentar, estado nutricional e produtos de glicação avançada (AGEs)  
em pacientes com tuberculose ativa**

Livia Fontes da Silva

Porto Alegre, 2017

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas**

**Relação entre ingestão alimentar, estado nutricional e produtos de glicação avançada (AGEs)  
em pacientes com tuberculose ativa**

Lívia Fontes da Silva

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de  
Doutora em Ciências Pneumológicas, à Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Pneumológicas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Denise Rossato Silva

Porto Alegre, 2017

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

Silva, Livia Fontes da  
Relação entre ingestão alimentar, estado  
nutricional e produtos finais de glicação avançada  
(AGEs) em pacientes com tuberculose ativa / Livia  
Fontes da Silva. -- 2017.

65 f.

Orientadora: Denise Rossato Silva.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Pneumológicas, Porto Alegre, BR-  
RS, 2017.

1. Tuberculose. 2. Produtos finais de glicação  
avançada (AGEs). 3. Receptor de produtos finais de  
glicação avançada (RAGE). 4. Estado nutricional. 5.  
carboxi-metil-lisina. I. Silva, Denise Rossato,  
orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus pais, Vera e Gilvan, pelo apoio, incentivo e amor incondicional durante todos os momentos da minha vida; e ao meu filho, Davi, que é a razão pela qual tudo vale a pena.

## **AGRADECIMENTOS**

A meus pais, por me ensinarem a enxergar nos desafios que a vida apresenta, sempre uma forma de crescer pessoal e profissionalmente...

Ao meu namorado, Marcus, pela parceria, apoio e incentivo...

Aos colegas do laboratório, Michael, Fernanda e Jefferson, que com paciência, carinho e apoio, contribuíram para as análises dos dados e todo o processo antes delas...

À minha professora orientadora, Denise Rossato Silva, por ter me incentivado e apoiado na elaboração do trabalho, acreditado que seria possível e por todo o carinho ao longo desses 4 anos...

Às colegas do grupo de pesquisa, principalmente a Érika e a Tássia, pela parceria e incentivo...

A todos, muito obrigada!

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
1. REVISÃO DA LITERATURA.....	13
1.1. TUBERCULOSE.....	13
1.1.1. Definição.....	13
1.1.2. Epidemiologia.....	14
1.1.2.1. Epidemiologia no Mundo.....	14
1.1.2.2. Epidemiologia no Brasil.....	14
1.1.2.3. Epidemiologia no RS e em Porto Alegre.....	16
1.1.3. Patogênese.....	17
1.1.4. Diagnóstico.....	20
1.1.4.1. Sinais e sintomas.....	20
1.1.4.2. Diagnóstico microbiológico.....	20
1.1.4.3. Diagnóstico radiológico.....	21
1.1.5. Tratamento da Tuberculose.....	22
1.1.5.1. Esquema básico de tratamento.....	22
1.1.6. Estado nutricional na Tuberculose.....	23
1.1.7. Produtos de finais glicação avançada.....	25
1.1.8. Receptor de produtos finais de glicação avançada.....	30
1.1.9. Papel dos AGEs e seus receptores nas doenças pulmonares.....	32
1.1.10. Papel dos AGEs e seus receptores na Tuberculose.....	34

2. JUSTIFICATIVA.....	37
3. OBJETIVOS.....	39
3.1. GERAL.....	39
3.2. ESPECÍFICO.....	39
4. REFERÊNCIAS.....	40
5. ARTIGO EM INGLÊS.....	47
5.1. Advanced glycation end products (AGE) and receptor for AGE (RAGE) in patients with active tuberculosis, and their relationship between food intake and nutritional status.....	47
6. CONCLUSÃO.....	63
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGES= Produtos finais de glicação avançada

BAAR= Bacilo Álcool-Ácido Resistente

BK= Bacilo de Koch

CMB= Circunferência do músculo do braço

CML= Carboxi-metil-lisina

CRS= Coordenadorias Regionais de Saúde

DM= Diabetes Mellitus

DPE= Desnutrição proteico-energética

DPOC= Doença pulmonar obstrutiva crônica

EN= Estado nutricional

esRAGE= Forma endógena do receptor de produtos finais de glicação avançada

HIV= Vírus da imunodeficiência adquirida

HMGB1= Grupo box 1 de alta mobilidade

IL= Interleucina

IMC= Índice de Massa Corporal

INF- $\gamma$ = Interferon  $\gamma$

iNOS= Enzima óxido nítrico sintetase induzida

MG= Metilglioxal

*Mtb* = *Mycobacterium tuberculosis*

NF- $\kappa$ B= Fator nuclear  $\kappa$ B

NO= Óxido nítrico

OMS= Organização Mundial da Saúde

PPD= *Purified Protein Derivative* (derivado proteico purificado [teste de Mantoux])



RAGE= Receptor de produtos finais de glicação avançada

RNIs= Intermediários reativos de nitrogênio

sRAGE= Forma solúvel do receptor de produtos finais de glicação avançada

SR= Sintomático Respiratório

TB= Tuberculose

TDO= Tratamento Diretamente Observado

TGF  $\beta$ = Fator  $\beta$  transformador do crescimento

TNF $\alpha/\beta$ = Fator de necrose tumoral  $\alpha/\beta$

LISTA DE TABELA

**Table 1. Comparison between cases and controls.....50**

## RESUMO

**Introdução:** O receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) é expresso nos pulmões saudáveis e está aumentado durante a inflamação e infecção. A interação entre AGEs e RAGE sobre a membrana plasmática provoca o estresse oxidativo e a apoptose em células do pulmão. O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis plasmáticos de AGEs e sRAGE em pacientes com TB ativa e controles saudáveis e investigar a sua relação com a ingestão de alimentos e o estado nutricional.

**Métodos:** estudo caso-controle. AGE (carboxi-metil-lisina, CML) e sRAGE foram medidos por ELISA. A avaliação nutricional foi realizada pelo índice de massa corporal, a espessura da prega cutânea tricipital, a circunferência do braço, a circunferência muscular do braço, análise de impedância bioelétrica e questionário de frequência alimentar. **Resultados:** 35 pacientes com TB e 35 controles foram incluídos no estudo. A média dos níveis de sRAGE foram mais elevados em pacientes com TB do que em controles ( $68,5 \pm 28,1$  pg/mL vs  $57,5 \pm 24,01$  pg/mL,  $p=0.046$ ). Entre os casos que eram fumantes, níveis inferiores de sRAGE foram associados com a mortalidade (níveis de sRAGE= $58,0 \pm 36,5$  pg/mL [não sobreviventes] vs  $71,3 \pm 25,6$  1pg/mL [sobreviventes],  $p=0.006$ ), e com a perda de peso (níveis sRAGE= $65,6 \pm 27,4$  pg/mL [perda de peso] vs  $98,6 \pm 16,7$  pg/mL [sem perda de peso],  $p=0.034$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis séricos de CML e no conteúdo de CML da dieta entre casos e controles. A desnutrição foi mais frequente nos casos que nos controles, mas não houve correlação entre os parâmetros nutricionais e os níveis de CML e sRAGE. **Conclusões:** pacientes com TB tiveram maiores níveis de sRAGE que controles. sRAGE pode desempenhar um papel nas manifestações e desfechos da doença, sendo associado à perda de peso e mortalidade.

**Palavras chaves:** tuberculose, produtos finais de glicação avançada, receptor de produtos finais de glicação avançada, RAGE, AGE, carboxi-metil-lisina

## ABSTRACT

**Introduction:** The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is expressed in normal lungs and is upregulated during inflammation and infection. The interaction between AGEs and RAGE on the plasma membrane causes oxidative stress and apoptosis in lung cells. The objective of this study is to evaluate AGEs and sRAGE plasma levels in patients with active TB and healthy controls, and to investigate their relationship with food intake and nutritional status. **Methods:** Case-control study. AGE (carboxymethyl lysine, CML) and sRAGE were measured by Elisa. Nutritional assessment was performed by body mass index, triceps skin-fold thickness, mid-arm circumference, mid-arm muscle circumference, bioelectrical impedance analysis, and food frequency questionnaire. **Results:** 35 TB patients and 35 controls were included in the study. The mean sRAGE levels were higher in TB patients than in controls ( $68.5 \pm 28.1$  pg/mL vs  $57.5 \pm 24.0$  pg/mL,  $p=0.046$ ). Among cases that were current smokers, lower sRAGE levels were associated with mortality (sRAGE levels= $58.0 \pm 36.5$  pg/mL [non-survivors] vs  $71.3 \pm 25.6$  pg/mL [survivors],  $p=0.006$ ), and with weight loss (sRAGE levels= $65.6 \pm 27.4$  pg/mL [weight loss] vs  $98.6 \pm 16.7$  pg/mL [no weight loss],  $p=0.034$ ). There was no statistically significant difference in CML levels and diet CML content between cases and controls. Malnutrition was more frequent in cases than in controls, but there was no correlation between nutritional parameters and CML or sRAGE levels. **Conclusions:** TB patients had higher sRAGE levels than controls. sRAGE may play a role in disease manifestations and outcomes, being associated with weight loss and mortality.

**Keywords:** tuberculosis; advanced glycation end products; receptor for advanced glycation end products; RAGE; AGE; carboxymethyl lysine.

## 1. REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1. Tuberculose

#### 1.1.1. Definição

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Ele geralmente afeta os pulmões (TB pulmonar), mas também pode atingir outros órgãos (TB extrapulmonar) (1), como o sistema nervoso central, linfático, circulatório, genito-urinário, ossos e articulações (2). A doença é transmitida quando pessoas que estão com TB pulmonar expõem gotículas transformadas em aerossóis por tosse, espirro ou fala. Essas permanecem suspensas no ar e penetram nas vias respiratórias terminais ao serem inaladas (3). No geral, uma proporção relativamente pequena (5-15%), dos 2 a 3 bilhões de pessoas infectadas com *Mtb* irão desenvolver TB durante a sua vida (1).

Muitas pessoas infectadas com *Mtb* desenvolvem a TB latente, isso ocorre quando a infecção é contida pelo sistema imune, permanecem bem e não apresentam qualquer sinal ou sintoma clínico da doença. Em resposta a infecção, células do sistema imune formam no pulmão granulomas típicos, que aprisionam as bactérias (2).

A TB ativa ocorre quando a infecção não é mais contida pelo sistema imune, e pode acontecer a qualquer tempo após a infecção. A taxa de conversão do estado latente para a TB ativa está em torno de 5% a 10% em uma população saudável, mas este pode subir para cerca de 50% em pessoas com comprometimento grave do seu sistema imunológico, como ocorre com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (2).

São considerados fatores de risco para TB: a infecção pelo HIV, o status imunológico do paciente, suscetibilidade genética à doença, idade, neoplasias, diabetes melito (DM), insuficiência

renal crônica e outras doenças pulmonares, como a silicose (3). O curso da doença depende da influência do sistema imune do hospedeiro no combate à infecção causada pelo *Mtb* (4).

## 1.1.2 Epidemiologia

### 1.1.2.1 Epidemiologia no Mundo

A Organização Mundial da Saúde (OMS) aponta que no mundo, 10,4 milhões de pessoas tiveram TB em 2015, e mais de 1 milhão morreram por conta da doença. Esses resultados configuram a TB como um grave problema de saúde pública, salientando-se que a OMS a reconhece como a doença infecciosa de maior mortalidade no mundo, superando o HIV e a malária juntos (5).

Em 2014, durante a Assembleia Mundial de Saúde, ocorreu aprovação de uma nova estratégia global para enfrentamento da doença, com metas para acabar com a TB como um problema de saúde pública até o ano de 2035, sendo elas: reduzir o coeficiente de incidência para menos do que 10 casos/100 mil hab. e reduzir o número de óbitos por TB em 95% (6). Trata-se da Estratégia pelo Fim da TB, que tem como visão “Um mundo livre da TB” (5).

### 1.1.2.2 Epidemiologia no Brasil

No Brasil, o Ministério da Saúde criou o Plano Nacional pelo Fim da TB como problema de saúde pública no país até o ano de 2035, traçando estratégias e criando indicadores epidemiológicos e operacionais para o monitoramento do progresso das ações empregadas (5).

Fazem parte dos indicadores epidemiológicos: o coeficiente de incidência de TB (todas as formas)/100 mil hab. e o coeficiente de mortalidade por TB/100 mil hab. Dentre os indicadores operacionais, cabe destacar: a proporção de casos novos pulmonares confirmados por critério laboratorial, a proporção de realização de cultura de escarro entre os casos de retratamento de TB

pulmonar, a proporção de casos novos de TB pulmonar que realizaram o tratamento diretamente observado (TDO), a proporção de cura de casos novos de TB pulmonar com confirmação laboratorial e a proporção de abandono de tratamento de casos novos de TB pulmonar com confirmação laboratorial (5).

Em 2016, foram diagnosticados e registrados 66.796 casos novos e 12.809 casos de retratamento de TB no Brasil. No período de 2007 a 2016, o coeficiente de incidência da doença apresentou uma variação média anual de -1,7%, passando de 37,9 casos/100 mil hab. em 2007 para 32,4 casos/100 mil hab. em 2016 (5).

O país possui elevada variabilidade entre as Unidades da Federação (UF) quanto ao risco de adoecimento por TB: de 10,5 casos/100 mil hab., no Distrito Federal, a 67,2 casos/100 mil hab. no Amazonas. Do total de casos novos e de retratamentos registrados no país, 24.703 (37%) e 5.755 (45%) residiam nas capitais, respectivamente. De forma semelhante à distribuição do risco de adoecimento entre as UF, as capitais apresentam riscos heterogêneos, com coeficientes de incidência variando de 10,5 casos/100 mil hab. em Brasília a 93,2 casos/100 mil hab. em Manaus (5).

O coeficiente de mortalidade por TB no Brasil apresentou redução de 15,4% no período de 2006 a 2015, passando de 2,6 casos/100 mil hab. para 2,2 casos/100 mil hab. Apesar dessa redução, em 2015, o Brasil ainda registrou 4.543 óbitos por TB e, também nesse mesmo ano, os estados do Rio de Janeiro (5,0 casos/100 mil hab.), de Pernambuco (4,5 casos/100 mil hab.), do Amazonas (3,2 casos/100 mil hab.) e do Pará (2,6 casos/100 mil hab.) apresentaram os maiores riscos para o óbito por TB. No que se refere às capitais, os municípios que apresentaram os maiores riscos de morte por TB foram Recife/PE (7,7 casos/100 mil hab.), Rio de Janeiro/RJ (6,2 casos/100 mil hab.), Belém/PA (5,1 casos/100 mil hab.) e Salvador/BA (4,0 casos/100 mil hab.) (5).

### 1.1.2.3 Epidemiologia no Rio Grande do Sul e em Porto Alegre

O Rio Grande do Sul é dividido em 19 Coordenadorias Regionais de Saúde (CRS) e 30 regiões de Saúde. A 2ª CRS engloba as Regiões de Saúde 9 e 10, tendo como municípios de referência, Alvorada, Viamão, Gravataí e Porto Alegre (7).

Em 2016, no Rio Grande do Sul (RS), observou-se que o coeficiente de incidência de todas as formas de TB foi de 37,5 casos/100 mil hab. É o 6º maior Estado brasileiro, dentre as 26 Unidades Federativas e Distrito Federal, em coeficiente de incidência. A taxa de cura de TB pulmonar bacilífera, está entre as menores do Brasil, 63,4%; colocando o Estado como o antepenúltimo colocado em cura (5).

O coeficiente de mortalidade foi o 5º maior do país, com o valor de 2,5 casos/100 mil hab. A proporção de casos novos de TB pulmonar confirmados por critério laboratorial foi de 71,5% e a cultura de escarro entre os casos de retratamento de TB pulmonar foi de 32%, próximos aos níveis nacionais de 71,6% e 33,6% respectivamente (5).

A taxa de abandono do tratamento, de pacientes com a forma pulmonar bacilífera, foi a maior do Brasil, em 2016, 16,8% (5). Em 2014 alcançou níveis críticos nas Regiões de Saúde: 4 (Belas Praias) 27,3%; 10 (Capital/ Vale Gravataí) 22,4% e 30 (Vale da Luz) 22,2% (7). No que refere ao TDO, onde um profissional de saúde observa, pelo menos 3x/semana, a ingestão da medicação pelo paciente (7), o percentual foi de 17,2% (5).

Porto Alegre está entre os 15 municípios prioritários para o enfrentamento da TB, nos quais a carga da doença em termos de taxa de incidência é maior (7). No ano de 2016 o coeficiente de incidência foi de 80,4 casos/100 mil hab., embora tenha tido uma redução de 9,5% em relação à 2015, ainda ocupou o 4º lugar mais alto dentre as capitais. Situação similar foi observada com o coeficiente de mortalidade que foi, em 2016, de 3,9 casos/100 mil hab. apresentando uma redução de 13,3% comparada ao ano anterior. Em relação à cura de casos novos de TB pulmonar com confirmação laboratorial, passou de 58,2% em 2015 para 61,4% em 2016; apesar deste aumento,



ainda ocupa o 3º lugar em menor taxa de cura em relação às capitais. O abandono de tratamento de casos novos de TB pulmonar com confirmação laboratorial foi de 16,3%, apresentando uma redução de 41,6% quando comparado a 2015, mas ainda ocupa o 1º lugar mais alto entre as capitais (5, 6).

Em 2016, Porto Alegre ocupou o 13º lugar entre as capitais que mais fizeram a confirmação por critério laboratorial de casos novos de TB pulmonar, apresentando uma taxa de 77%; em relação à cultura de escarro entre casos de retratamento de TB pulmonar, ficou em 7º lugar, com uma taxa de 43% e ocupou o 17º lugar no que se refere a casos novos de TB pulmonar que realizaram o TDO com uma taxa de 15,3% (5).

### 1.1.3 Patogênese

O bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) acompanha a humanidade há milhares de anos (8). Foi descrito por Robert Koch, bacteriologista alemão, em 1882, sendo também chamado de bacilo de Koch (BK) (9). É um bastonete aeróbio obrigatório que cresce com sucesso em tecidos com alta concentração de O<sub>2</sub>, como os pulmões. O *Mtb* é uma bactéria intracelular facultativa que infecta células do sistema mononuclear fagocitário, macrófagos, tendo a possibilidade de parasitar com baixa atividade metabólica, persistindo viável por longos períodos (3). Apresenta em sua parede celular um alto conteúdo lipídico, responsável por importantes efeitos biológicos, como a formação do granuloma. Este é formado por células gigantes, derivadas dos macrófagos, e por linfócitos T, que tentam conter a disseminação do BK (9).

A via de infecção tuberculosa é, quase sempre, inalatória (9, 10). Na chegada aos alvéolos, o *Mtb* desencadeia uma rápida resposta inflamatória (10, 11), que resulta em depuração total da carga bacilífera. Quando isso não acontece, o bacilo começa a se multiplicar nos focos de inoculação, instalando-se uma alveolite exudativa; esta infecção é denominada primoinfecção tuberculosa (11). Em geral, de forma única e periférica, um dos implantes infecciosos desenvolve-se mais que outros,

surgindo um cancro de inoculação, em geral único e periférico, sendo chamado de foco de Ghon (3, 9, 11), localizado na maioria das vezes nos lobos médios e inferiores, de tamanho variado. Quando ocupa todo um lobo pulmonar, dá origem à pneumonia caseosa primária (11).

Do cancro de inoculação, os bacilos são drenados pelos vasos linfáticos atingindo os gânglios regionais (foco ganglionar), de onde poderá ocorrer a disseminação hematogênica para todo o organismo, perdurando por mais tempo que a lesão parenquimatosa. Essa reação é a principal característica da infecção primária. O complexo formado pelo foco pulmonar, linfangite e foco ganglionar é chamado de complexo primário (8, 11).

Geralmente na disseminação hematogênica, o processo de defesa, equilíbrio defesa/hospedeiro, é bem-sucedido. A primoinfecção pode ser comprovada pelo teste tuberculínico (PPD) positivo (viragem tuberculínica), de 2 a 3 semanas após o contágio. Se esse equilíbrio não acontece, os bacilos continuam a se multiplicar e instala-se a TB primária, que resulta da progressão do complexo pulmonar primário que se desenvolve nos primeiros 5 anos após a primoinfecção. O envolvimento dos pulmões pode assumir diferentes formas anatomopatológicas, incluindo a pneumônica, a broncopneumônica e a cavitária (11).

A cooperação entre macrófagos e linfócitos T funciona como um elemento chave na defesa contra a infecção pelo *Mtb*. Os macrófagos e as células dendríticas fagocitam o *Mtb*, e, depois de destruir e processar seus componentes, apresentam aos linfócitos seus principais antígenos, que desencadeiam nos linfócitos a ativação, a expansão clonal e a secreção de importantes citocinas, que vão ativar outros macrófagos, permitindo que eles sejam mais eficazes na eliminação do *Mtb*. Para tentar eliminar o *Mtb* de seu interior, o macrófago usa diversos mecanismos, como a fagocitose por outros macrófagos mais ativados, que aumentam a expressão de enzimas, como a óxido nítrico sintetase induzida (iNOS), que secreta o radical livre óxido nítrico (NO), altamente tóxico para o *Mtb* (8).

Os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> são fundamentais na imunidade protetora contra o *Mtb*. As células CD4<sup>+</sup> auxiliares secretam citocinas essenciais para sua eliminação, enquanto que as CD8<sup>+</sup> citotóxicas têm um efeito citolítico direto contra o bacilo. As células T CD4<sup>+</sup> são divididas de acordo com o padrão de citocinas que secretam. As Th1 secretam interleucina (IL)-2, IL-12, IL-18, fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), TNF- $\beta$  e interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). As células Th2 secretam IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13, que induzem a diferenciação de linfócitos B, responsáveis pela imunidade humoral, além de regular negativamente a resposta de Th1(8).

No grupo das que potencializam as defesas do hospedeiro pode-se citar o TNF- $\alpha$ , que induz os intermediários reativos de nitrogênio (RNIs) e a necrose de caseificação, e o IFN- $\gamma$ , que torna os macrófagos mais letais para o *Mtb*. No grupo das que reduzem as defesas contra o bacilo estão citocinas que levam à formação do fator  $\beta$  transformador de crescimento (TGF- $\beta$ ), que inibe a ativação do macrófago, a proliferação de linfócitos T e regula negativamente o IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e a interleucina-10 (IL-10), que inibem a ativação macrofágica, reduzindo as defesas contra o bacilo (9).

O TNF- $\alpha$  é fundamental tanto na proteção quanto na patogenicidade da TB; é secretado por vários tipos celulares, principalmente por macrófagos ativados. Essencial na formação do granuloma, local onde as ações biológicas se produzem, e tem um efeito pró-inflamatório muito intenso, contribuindo para as alterações sistêmicas vistas na doença (8, 10). Há indícios que o IFN- $\gamma$  seja uma das principais interleucinas associadas à resposta protetora durante a infecção por micobactérias. Aparentemente a IL-4, IL-5 e IL-13 estão ligadas ao adoecimento por TB e a IL-12 e IL-18 regularizam o fenótipo da resposta imune para Th1, favorecendo o hospedeiro. Os linfócitos T CD8<sup>+</sup> têm a capacidade de lisar as células infectadas nas lesões, esterilizando os granulomas (9).

É a potência da atividade imune do indivíduo, definida tanto por codificação genética (resistência natural), como por infecções tuberculosas anteriores (resistência adquirida), ou determinadas doenças ou situações imunossupressoras ou pelo uso de medicação

imunomoduladora, que irá determinar se a infecção será interrompida ou prosseguirá, gerando doença. Se controlada, o granuloma pode calcificar, dificultando sua reativação posterior (9).

#### 1.1.4 Diagnóstico

De acordo com a III Diretrizes para TB da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, pacientes com suspeita de TB pulmonar devem ter pelo menos duas amostras de escarro coletadas para exame micobacteriológico e, quando possível, ao menos uma amostra coletada pela manhã. Indivíduo sintomático respiratório (SR) com radiografia de tórax sugestiva deve ter cultura para TB com teste de sensibilidade, solicitada em pelo menos uma amostra de escarro, além da pesquisa de bacilo álcool-ácido resistente (BAAR), sempre que possível. Pacientes com suspeita de TB na radiografia de tórax e sem expectoração espontânea devem ser submetidos à indução de escarro (12).

##### 1.1.4.1 Sinais e Sintomas

Na TB primária (primoinfecção), mais comum em crianças, o quadro é frequentemente assintomático (3), mas podem ocorrer algumas manifestações clínicas, como febre moderada e vespertina por mais de 15 dias e/ou irritabilidade; tosse; perda de peso e sudorese noturna (12).

Na TB secundária (pós-primária) o quadro clássico é tosse, inicialmente seca, após produtiva, com expectoração mucopurulenta, podendo surgir hemoptise. Além disso, é frequente a piora do estado geral, fadiga, emagrecimento, palidez, sudorese noturna intensa e febre vespertina (3).

##### 1.1.4.2 Diagnóstico Microbiológico

A baciloscopia direta foi desenvolvida há mais de 100 anos. As amostras de escarro são examinadas sob um microscópio e é observado se a bactéria está presente. Nas definições atuais

recomendadas pela OMS, apenas um resultado positivo é necessário para o diagnóstico de TB pulmonar com baciloscopia positiva (1). Ela permite a identificação de BAAR na amostra de escarro; com elevado valor preditivo positivo (97%), praticidade e rapidez. Apesar disso, detecta apenas de 50 a 60% dos casos de TB pulmonar (12, 13).

No Brasil, o padrão é a coloração por Ziehl-Neelsen. Devem ser coletadas duas amostras de escarro espontâneo, uma no momento do atendimento e outra pela manhã ao acordar (12).

O único teste rápido molecular recomendado pela OMS é o Xpert® MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale USA). Foi inicialmente recomendado, em 2010, para diagnóstico de TB pulmonar em adultos. Desde 2013, tem sido recomendado também para crianças e formas específicas de TB extrapulmonar. Este teste tem melhor acurácia que a microscopia (1).

A cultura permite a identificação do *Mtb* e a realização do teste de sensibilidade, além de aumentar o rendimento diagnóstico em 20-40%. Os meios sólidos mais recomendados são o Löwenstein-Jensen e o Ogawa-Kudoh. A cultura em meio sólido tem como limitação o tempo do resultado (2-8 semanas). Por isso, quando possível, deve ser utilizado o meio líquido através de sistemas automatizados não radiométricos (resultados em 10-40 dias) (12).

O teste de sensibilidade tem as mesmas indicações da realização da cultura. Os métodos padronizados utilizados no Brasil são: método das proporções, razão de resistência e concentração absoluta. Alguns laboratórios de referência utilizam sistemas automatizados a partir de culturas líquidas (BACTEC MGIT 960 System; Becton Dickinson, Sparks, MD, EUA) para reduzir o tempo do resultado (10 dias) (12).

#### 1.1.4.3 Diagnóstico Radiológico

A radiografia de tórax é método diagnóstico de grande importância na investigação da TB, junto com a baciloscopia, é o primeiro exame a ser pedido. Apenas 15% dos casos não apresentam

alterações. As alterações encontradas podem indicar doença ativa ou progressiva, pelo tipo de alteração e extensão do comprometimento (12).

Alguns achados radiológicos são característicos da TB primária, e alguns da TB pós-primária. As principais alterações observadas na TB primária são: opacidades parenquimatosas, frequentemente unifocais e predominantemente no pulmão direito; linfonomegalia, observada em até 40% dos adultos, geralmente unilateral, podendo ser bilateral em até 30% dos casos, sendo as regiões mais comprometidas a região hilar e a paratraqueal direita; padrão miliar, são pequenas opacidades nodulares medindo 1-3 mm de diâmetro e distribuídas de forma simétrica, podendo ser assimétrica em até 15% dos casos e o derrame pleural, considerado uma manifestação tardia, em 25% dos casos. Na TB pós-primária são observadas alterações parenquimatosas, onde o padrão clássico é a cavidade, única ou múltipla, em média 2 cm de diâmetro, localizada preferencialmente nos segmentos apicais e dorsais; e alterações das vias aéreas, em 9-40% dos casos têm envolvimento brônquico, caracterizado por estenose demonstrada por atelectasia (12).

### 1.1.5 Tratamento da TB

#### 1.1.5.1 Esquema básico de tratamento

O esquema básico de tratamento, recomendado pelo Programa Nacional de Controle da TB (PNCT), é indicado para todos os casos novos de TB pulmonar e extrapulmonar (exceto meningoencefalite), bem como para todos os casos de recidiva e retorno após abandono (12).

Ele é composto por 4 drogas, na fase intensiva, RHZE (rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol), utilizadas por 2 meses, e 2 drogas na fase de manutenção, RH (rifampicina e isoniazida), utilizadas por 4 meses (12).

A OMS estimula que todos os tratamentos sejam diretamente observados (TDO), onde o profissional treinado passa a observar a tomada da medicação do paciente desde o início do

tratamento até a sua cura. O doente pode ir ao serviço para receber a medicação ou o profissional do serviço ir ao domicílio (3).

#### 1.1.6 Estado Nutricional na TB

Em todo o mundo, a depleção do estado nutricional (EN) é mais comum em pessoas com TB ativa do que em pessoas sem TB, e a perda de peso, incluindo a perda de massa magra, é um sintoma bem reconhecido da doença (2).

Desde o século 19 e início do século 20, a TB já era associada com a “má-nutrição” e a pobreza. Sabe-se que a relação entre os dois fatores é bidirecional (14, 15): o quadro clínico da doença leva a desnutrição proteico-energética (DPE) secundária, com redução das proteínas viscerais e dos índices antropométricos, perda de massa magra e perda de reserva de gordura, além da ativação de citocinas e do metabolismo anormal de proteínas, sendo também um fator de risco para o desenvolvimento da doença (14, 15). A DPE prejudica a defesa imunológica mediada pelos linfócitos T, aumentando o risco específico para doenças infecciosas (16).

Estudos experimentais demonstraram evidências que a deficiência proteica prejudica a resposta imune relacionada ao *Mtb* pelo prejuízo da produção de TNF- $\alpha$  e NO pelo pulmão, aumenta a letalidade da infecção; interfere na eficácia da vacinação com uma cepa de *Mtb* atenuada e afeta a função dos macrófagos, na sua produção de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (15).

Mudanças na composição corporal no diagnóstico de TB estão bem documentadas pela antropometria (15). O estudo realizado por Nogueira et al. que avaliou a prevalência de DPE em mulheres com TB, apresentou uma taxa de 61% de DPE, apontando uma forte associação com a TB. Em relação à circunferência muscular do braço (CMB) apenas 9,7% apresentaram valores adequados, significando uma perda das reservas proteicas, possivelmente causada pelo aumento do catabolismo induzido pela doença (14).

A desnutrição tem sido referida como um fator de risco para progressão da infecção da TB para a ativação da doença, e quando presente no diagnóstico inicial, tem sido referido como um preditor do aumento do risco de morte e reativação da doença (17, 18). Um fator que deve ser observado é a hepatotoxicidade relacionada à desnutrição em função da diminuição dos níveis de glutathione, tornando os pacientes mais vulneráveis aos danos oxidativos, reduzindo o ritmo pelo qual o fígado metaboliza as drogas (19).

O peso normal parece ser protetor contra a TB, e o excesso de peso (Índice de massa corporal (IMC)  $> 27\text{kg/m}^2$ ) pode fornecer uma proteção ainda maior (15). No estudo que avaliou o impacto do IMC na infecção pelo *Mtb* e a progressão da doença em adultos e crianças, foi encontrado nos adultos, associação entre IMC elevado ( $\geq 35\text{kg/m}^2$ ) e diminuição do risco de desenvolver a TB. Este efeito protetor parece ser específico para TB pulmonar. Algumas hipóteses incluem que após a infecção, o aumento da adiposidade promove um estado de latência antes da progressão da doença; outros que o tecido adiposo modula a resposta imune através da produção de adipocitocinas, como a leptina que além de regular o apetite através da ação no hipotálamo, também estimula a proliferação de células T e promove a resposta das citocinas Th1, que desempenham papel importante no controle do *Mtb* após a infecção do hospedeiro. Baixos níveis de leptina têm sido mostrados em pacientes com TB comparados a controles (20).

Cada vez mais evidências sugerem que a obesidade pode diminuir o risco de TB, Cegielski et al analisaram dados de um estudo populacional para determinar o risco de TB associado ao estado nutricional e identificar os nutrientes envolvidos. Entre os desnutridos (IMC  $< 18,5\text{kg/m}^2$ ), a incidência de TB foi 11,7x maior que os eutróficos (IMC  $\geq 18,5\text{kg/m}^2 \leq 24,9\text{kg/m}^2$ ), em contraste, nos participantes com sobrepeso (IMC  $\geq 25\text{kg/m}^2 \leq 30\text{kg/m}^2$ ) foi 2,8x menor e 4,8x menor entre os obesos (IMC  $> 30\text{kg/m}^2$ ). Utilizando as dobras cutâneas e a circunferência muscular do braço (CMB), observou-se relação similar. Esta diminuição da incidência de TB associada com aumento



do IMC, especialmente com aumento do tecido adiposo, pode estar relacionado ao desenvolvimento de um fenótipo não replicante do *Mtb* num ambiente rico em lipídeos (16).

Dessa forma, a avaliação e manejo do estado nutricional, pode melhorar a resposta ao tratamento da TB, devendo estar dentro dos padrões de cuidado para pacientes com TB (17, 18).

#### 1.1.7 Produtos finais de glicação avançada

Os produtos finais de glicação avançada (AGEs) constituem uma grande variedade de moléculas formadas a partir de interações aminocarbonilo, de natureza não enzimática, entre açúcares redutores ou lipídeos oxidados e proteínas, aminofosfolipídeos ou ácidos nucleicos (21, 22, 23). Possuem propriedades pró-oxidantes e pró-inflamatórias (22, 23, 24).

Os AGEs podem ser formados a partir de uma variedade de precursores da reação de Maillard, tanto nos alimentos, fonte de maior exposição ao homem, como endogenamente *in vivo*, chamado de glicação (25, 26).

A via clássica da Reação de Maillard inicia-se com a formação de uma base de Schiff instável, gerada pela condensação de um grupamento carbonila de um açúcar redutor, como a glicose, com um grupamento amina, oriundo, por exemplo, do aminoácido lisina, composto especialmente susceptível à reação. Na sequência, a base de Schiff sofre rearranjos, tornando essa estrutura mais estável, o produto de Amadori, modernamente conhecido como *early Maillard reaction products* (early MRPs) ou produtos iniciais da reação de Maillard. A hemoglobina glicada e a frutossamina são conhecidos exemplos de produtos de Amadori. *In vivo*, a formação dos produtos de Amadori pode ocorrer em um período de dias e, uma vez formado, é praticamente irreversível. Os produtos de Amadori gerados ainda possuem grupos carbonilas reativas, que se condensam com grupos aminas primários acessíveis, dando origem aos produtos avançados da reação de Maillard (AGEs) (21).

A formação dos AGEs faz parte do metabolismo normal, mas em níveis excessivamente altos nos tecidos e na circulação, podem se tornar patogênicos. Os efeitos patológicos estão relacionados à habilidade em promover estresse oxidativo e inflamação pela ligação com receptores de membrana ou ligação cruzada com proteínas corporais, alterando sua estrutura e função (22, 23).

Sob condições fisiológicas, os AGEs são formados em uma taxa muito lenta, mas contínua e acumulados com o envelhecimento. Entretanto, condições inflamatórias, como a hiperglicemia e o estresse oxidativo, aceleram a sua produção. Proteínas com baixa rotação, como o colágeno e a elastina, são particularmente propensas às modificações dos AGEs (27).

Fatores chaves cruciais na formação dos AGEs incluem: a quantidade de proteínas, o grau de hiperglicemia, e o grau de estresse oxidativo no ambiente. Se uma ou mais dessas condições estão presentes, ambas as proteínas intracelulares e extracelulares podem ser glicadas e oxidadas (28).

Mecanismos alternativos de formação de AGEs incluem a chamada via do estresse carbonílico, na qual a oxidação de lipídeos ou de açúcares gera compostos dicarbonílicos intermediários altamente reativos. A glicólise e a autooxidação de glicose, por exemplo, produzem metilglioxal (MG) e glioxal, os quais interagem com aminoácidos para formar AGEs. Estes compostos dicarbonílicos chegam a ser 20 mil vezes mais reativos do que a glicose e são os principais intermediários durante a formação de AGEs *in vivo* e nos alimentos (21, 26). A formação de AGEs *in vivo* pode envolver neutrófilos, monócitos e macrófagos, os quais, após estímulo inflamatório, produzem mieloperoxidase e a enzima NADPH oxidase, que induzem a formação de AGEs pela oxidação de aminoácidos (21).

A carboxi-metil-lisina (CML), a pirralina e a pentosidina são exemplos de AGEs bem caracterizados e amplamente estudados (21, 29), incluindo também o composto carbonílico reativo, MG (19). A CML é o AGE mais prevalente *in vivo* (28, 29).

Os AGEs são implicados no envelhecimento e perda de funcionalidade de tecidos que não são dependentes de insulina, estando expostos a altas concentrações de glicose. A catarata e a aterosclerose, em alguma extensão, são patologias resultantes da glicação de proteínas de longa duração presentes nesses tecidos (26).

São três os mecanismos de dano celular: modificação de estruturas intracelulares, incluindo os envolvidos na transcrição gênica; interação de AGEs com proteínas de matriz extracelular, modificando a sinalização entre as moléculas da matriz e da célula, gerando uma disfunção e por fim, modificando proteínas ou lipídeos sanguíneos que ao se ligar a receptores específicos, promovem a produção de citocinas inflamatórias e fatores de crescimento (21).

A dieta constitui-se na principal fonte exógena de AGEs que representam componentes patogênicos e têm sido relacionados com a indução e progressão de muitas doenças crônicas (21, 22), como diabetes, doença renal crônica, aterosclerose, artrite reumatoide, processo de envelhecimento, neurodegeneração, resposta inflamatória, estresse oxidativo e no desenvolvimento do estado da síndrome metabólica (23). O epitélio intestinal é capaz de absorver os produtos iniciais da reação de Maillard, produtos de Amadori, bem como os produtos intermediários (21). Estudos recentes demonstram que os AGEs dietéticos são absorvidos e contribuem significativamente para o *pool* corporal de AGEs (22, 23). Aproximadamente 10% dos AGEs ingeridos com a dieta são absorvidos. Da fração absorvida, cerca de 2/3 são retidos no organismo e apenas 1/3 é excretado pela urina, dentro de 48 horas, por indivíduos com função renal normal (21).

Eles estão naturalmente presentes nos alimentos e a cocção resulta na formação de novos AGEs. Grelhar, tostar; fritar, assar no forno e na brasa, propaga e acelera a sua formação (22, 23). Fatores que catalisam a reação: temperaturas elevadas (acima de 40°C), atividade de água entre 0,4 a 0,7, pH na faixa 6 a 8 (preferencialmente alcalino), umidade de 30 a 70% e a presença de íons metálicos de transição, como  $\text{Cu}^2$  e  $\text{Fe}^2$  (26). Além desses, a composição dos alimentos também influencia na velocidade da reação. O tipo de açúcar redutor mais reativo é a xilose, seguida da

arabinose, maltose e frutose. Em relação aos aminoácidos a lisina é 2 a 3 vezes mais reativa quando comparada aos outros aminoácidos, devido à presença de grupamentos  $\alpha$  e  $\epsilon$ -amino em sua estrutura; seguido dos aminoácidos básicos e não polares (arginina, fenilalanina, leucina, isoleucina e valina), após os aminoácidos ácidos (ácido glutâmico e ácido aspártico) e por último, menos reativo, o aminoácido sulfurado cisteína (26).

Dietas ricas em AGEs estão associadas à elevados níveis de AGEs circulantes e teciduais, assim como situações clínicas com disfunção vascular e renal. Em indivíduos saudáveis os AGEs dietéticos estão diretamente relacionados à concentração de AGEs circulantes (CML e MG) e marcadores de estresse oxidativo e inflamação (22, 23). A restrição dietética de AGEs, em indivíduos saudáveis, leva a uma diminuição de 30 a 40% dos níveis séricos de AGEs (28).

Num estudo feito na cidade de Nova York, observou-se uma média de ingestão diária de 15000 kU AGE/dia, sendo que naqueles em que o alto consumo de carnes grelhadas e tostadas, gorduras e alimentos processados, a quantidade chegou a 20000 kU/dia. Em pessoas que tinham regularmente baixa ingestão de carne e uma ingestão rica em vegetais, o total do consumo diário de AGEs foi de 7500 kU/dia (22).

Ainda não se tem dados de ingestão segura de AGEs, entretanto num estudo experimental a redução de 50% da ingestão usual é associada com a redução dos níveis de estresse oxidativo, diminuição da deterioração da sensibilidade da insulina e da função renal com a idade e aumento da expectativa de vida (22).

Dados atuais demonstram que o aumento da ingestão de peixes, legumes, produtos lácteos desnatados, verduras, frutas e grãos integrais, reduzem significativamente a ingestão de AGEs. O uso de suco de limão e vinagre, antes do cozimento, pode limitar a geração dos AGEs dietéticos. Dessa forma observa-se que além da composição nutricional dos alimentos, a forma de preparo é igualmente importante neste processo. O uso de marinados, com suco de limão e vinagre, antes da cocção, podem contribuir para a limitação da geração de AGEs no preparo dos alimentos (22).

A forma natural da vitamina B6, Piridoxamina, é efetiva em inibir a formação dos AGEs. Ela previne a degradação dos intermediários de Amadori derivados de proteínas a produtos de AGEs derivados de proteína. Em ratos diabéticos a piridoxamina reduz a hiperlipidemia e previne a formação de AGEs e por último, sequestra o carbonil dos produtos da degradação da glicose e dos lipídeos (28).

Em relação à composição corporal e níveis séricos de AGEs (CML), Semba et al, investigaram a relação entre CML sérica e composição corporal em idosos, e mostraram uma associação inversa entre massa gorda e níveis séricos de CML. Este achado fornece novas evidências epidemiológicas que a massa gorda pode desempenhar um papel no metabolismo dos AGEs (30).

Um estudo experimental, realizado em camundongos, investigou os níveis pulmonares de HMGB1, um fator ligador não histona do DNA que tem o papel de modular a atividade de transcrição no núcleo da célula, e demonstrou que os AGEs dietéticos aumentam os níveis dessa proteína, propondo um papel potencial dos componentes dos AGEs dietéticos em modificar a transcrição das células eucarióticas (31).

No estudo feito por Guo et al. que avaliou o efeito da dieta rica em AGEs na resposta inflamatória e função pulmonar por pneumonia aspirativa, os pesquisadores demonstraram a associação entre altos níveis plasmáticos de AGEs e um aumento na resposta inflamatória pulmonar e um prejuízo na permeabilidade capilar pulmonar, resultado dos efeitos pró-inflamatórios dos AGEs (23).

O *pool* endógeno de AGEs reflete basicamente o balanço cinético de dois processos opostos: a taxa de formação/ingestão e a taxa de degradação/eliminação destes produtos por sistemas especializados, como a partir da proteólise extracelular ou por células *scavenger*, como os macrófagos teciduais, que endocitam AGEs pelos receptores específicos ou não, e os liberam como AGE-peptídeos pequenos e solúveis para serem excretados pelos rins (21).

### 1.1.8 Receptor dos produtos finais de glicação avançada

O receptor de produtos de glicação avançada (RAGE) pertence a uma superfamília de imunoglobulinas (28, 32) e, constitui-se de 3 domínios extracelulares (33). É um receptor multiligante capaz de se ligar a várias classes de moléculas (32, 34). Seus maiores ligantes incluem: AGEs, principalmente a carboxi-metil-lisina (CML) e mediadores inflamatórios como citocinas da família S100. Esta ligação tem sido relacionada com uma série de condições inflamatórias associadas ao diabetes (35), aterosclerose (36, 37, 38), doença renal crônica (38), doenças reumatológicas (33, 39, 40).

O RAGE é expresso em níveis baixos nos tecidos normais e vasos sanguíneos, mas aumenta a sua expressão em locais onde seus ligantes se acumulam (27). A ativação do RAGE pelos AGEs promove a atividade do fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) e resulta no aumento da expressão das citocinas, moléculas de adesão e indução do estresse oxidativo (23, 34).

Existem duas formas solúveis de RAGE (41). O *pool* das formas solúveis do RAGE (sRAGE) incluem a forma truncada, formada pela clivagem proteolítica por ação das metaloproteinases e a secreção endógena, formada pelo *splicing* alternativo do RNAm, que é também chamado de RAGE endógeno (esRAGE), consistindo no domínio de ligação extracelular (32, 34, 41, 42). A produção e o clearance são regulados por múltiplos fatores, como gênero e níveis hormonais (41).

Nos indivíduos, o sRAGE é a forma prevalente expressa intracelularmente nos tecidos saudáveis, podendo ter outros papéis além da ligação aos AGEs (39). Essas formas solúveis podem agir como um inibidor natural da sinalização induzida pela interação dos AGEs com seu receptor celular (32, 34).

Existe a hipótese que o sRAGE pode ser um dos determinante dos níveis de AGEs circulantes, positivamente associado com os AGEs séricos, refletindo a expressão tecidual de RAGE (44). Pode ser ateroprotetor (34, 44), pela ação de atrair AGEs plasmáticos, limitando assim

a cascata inflamatória desencadeada pela ligação dos AGEs ao receptor de celular (34), inibindo a ativação do NF- $\kappa$ B (28).

Basta et al. sugerem que os níveis de hemoglobina glicada e proteína C reativa (PCR) são determinantes dos níveis plasmáticos de sRAGE, em não diabéticos (45). Em indivíduos saudáveis, antes de qualquer complicação clínica, os níveis de sRAGE podem refletir alterações no estado metabólico, que poderiam contribuir para futuras alterações vasculares e diabetes (34). Em outro estudo, os autores sugerem que o sRAGE é um bom marcador de estresse inflamatório, precedendo a elevação da PCR (24).

Em estudos que investigaram a correlação de níveis plasmáticos de sRAGE com parâmetros metabólicos em indivíduos saudáveis (24, 34, 44) e obesos (32), foi demonstrado que o sRAGE é inversamente correlacionado com o IMC (24, 32, 34, 44), circunferência cintura/quadril e glicemia de jejum, e que os dois primeiros são preditores independentes de sRAGE, particularmente em mulheres. Sugere-se ainda que os níveis plasmáticos de sRAGE podem refletir um distúrbio no estado metabólico, podendo posteriormente levar a complicações vasculares e diabetes (34, 38). Além disso, os níveis de sRAGE podem refletir a expressão tecidual de RAGE (44).

Num estudo que investigou a relação de sRAGE e perda de peso em obesos, com dieta de muito baixa caloria, após 24 semanas, os indivíduos que apresentavam menor nível sérico basal de sRAGE, tiveram uma maior perda de peso, quando comparados com os que apresentavam níveis séricos mais altos (32).

Prakash et al. ao examinarem a associação dos níveis de sRAGE, de uma população geral europeia com determinantes genéticos, envelhecimento e a composição corporal, observaram que os níveis de sRAGE diminuía significativamente com a idade, em homens e mulheres; e encontraram uma correlação altamente significativa entre níveis de sRAGE, IMC e massa magra (38).

### 1.1.9 Papel dos AGEs e seus receptores nas doenças pulmonares

Os pulmões são locais de intensa atividade oxidativa, através dos intermediários reativos de oxigênio tanto nas vias aéreas, como consequência do tabagismo e da exposição a poluentes, como resultado do estresse inflamatório (43).

Os efeitos patológicos dos AGEs estão relacionados à capacidade destes compostos de modificar as propriedades químicas e funcionais das mais diversas estruturas biológicas. A partir da geração de radicais livres, da formação de ligações cruzadas com proteínas ou de interações com receptores celulares, eles promovem, respectivamente, estresse oxidativo, alterações morfofuncionais e aumento da expressão de mediadores inflamatórios, tais como TNF- $\alpha$ , IL-6, e IL-1 $\alpha$  (21, 28).

O RAGE foi inicialmente extraído e sequenciado do pulmão bovino. Estudos subsequentes confirmaram sua expressão em bovinos, ratos e humano. Recentemente sua expressão foi identificada em pneumócitos alveolares tipo II, endotélio pulmonar e macrófagos alveolares, e seu aumento foi evidenciado durante a inflamação pulmonar (43).

O pulmão é o órgão onde a concentração de RAGE está mais alta no corpo, assim mais vulnerável às consequências adversas da ligação e ativação AGE/RAGE (23). É um local de intensa atividade oxidativa, tanto nas vias aéreas, em consequência da exposição ao fumo e poluição ambiental, como no parênquima periférico, como resultado do estresse inflamatório (43).

O envelhecimento e o tabagismo são os dois maiores fatores de risco para a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), e ambos contribuem para acelerar a formação de AGEs. Desta forma, eles podem desempenhar um papel no desenvolvimento da DPOC, possivelmente através da inflamação (27).

Ao investigar a presença de RAGE e seus AGEs ligantes no tecido pulmonar de controles e pacientes não diabéticos com DPOC, Wu et al. observaram níveis de AGEs e RAGE significativamente maiores no grupo com DPOC quando comparados aos controles. Esta interação



pode contribuir para o desenvolvimento da DPOC de várias maneiras, incluindo a destruição alveolar e de vias aéreas, produção de citocinas e inflamação (27).

Num estudo que investigou o papel do RAGE e de seus ligantes como uma nova rota inflamatória na doença pulmonar, foi observado que baixos níveis de RAGE são expressos em condições normais no epitélio brônquico, nos pneumócitos tipo II, endotélio e macrófagos, e que o aumento desses níveis ocorrem em todas as condições patológicas associadas à inflamação e dano pulmonar (43). Particularmente, o RAGE foi expresso em altíssimas taxas nos pneumócitos e epitélio das vias aéreas associados com infiltrado inflamatório. Foi observada também a expressão do RAGE nas células inflamatórias, em particular nos granulomas. No pulmão sadio, RAGE e CML foram expressos nos brônquios ciliados e epitélio bronquiolar (43). O aumento da expressão de RAGE está relacionado com o acúmulo dos seus ligantes (27).

O sRAGE está presente no plasma e no exsudato alveolar. Sua administração endógena tem demonstrado um papel negativo na ação pró-inflamatória mediada por RAGE (43).

Num modelo experimental de pneumonia aspirativa, que avaliou o efeito de uma dieta rica em AGEs na resposta inflamatória e função pulmonar, observou-se que os níveis de AGEs no sangue induzidos pela dieta, estão associados com uma intensa atividade inflamatória pulmonar e que este aumento está associado com uma injúria pulmonar mais grave, envolvendo o prejuízo da integridade alvéolo-capilar e piora da mecânica pulmonar. Neste caso, a administração de sRAGE, possibilitaria uma redução da concentração de AGEs, atenuando a inflamação desencadeada pela pneumonia aspirativa, além da restrição dietética dos AGEs e o uso de anticorpos anti-RAGE (23).

No tecido pulmonar, os RAGEs tem sua expressão em níveis altos (23, 31, 38) sem estar associado à disfunção do órgão (31). Níveis de sRAGE podem servir de marcador da gravidade e estágio da DPOC, e marcador de função pulmonar, pois estão associados com vários parâmetros de função pulmonar, como volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1), VEF1/CV (capacidade vital) e capacidade de difusão pulmonar do CO<sub>2</sub> (38).

Na fibrose pulmonar idiopática os baixos níveis de sRAGE podem estar relacionados à gravidade da doença (46), e têm sido associados com inflamação excessiva nas doenças respiratórias (47).

#### 1.1.10 Papel dos AGEs e seus receptores na TB

O desenvolvimento da TB ativa após infecção com o *Mtb* está sempre associado com um estado persistente ou transitório de imunodeficiência relativa (4).

Rachman et al. observaram que na infecção pelo *Mtb*, nos macrófagos e nas lesões pulmonares granulomatosas de pacientes com TB, havia grandes quantidades de AGEs e metilglioxal (MG), sugerindo que os macrófagos são uma das principais fontes de AGEs na TB ativa, tendo seus níveis significativamente aumentados durante a infecção pelo *Mtb*. Macrófagos alveolares desempenham um papel principal na resposta imune inata inicial contra a infecção do bacilo tuberculoso na via do trato respiratório, e são uma das fontes principais de AGEs na TB ativa. O MG é um produto fisiológico de várias rotas metabólicas, incluindo a glicólise anaeróbica, e sua produção é induzida na presença do aumento dos níveis de glicose ou pela falta de fosfato no citoplasma. A elevação do MG pode modificar irreversivelmente resíduos de lisina e arginina, através da formação de AGEs, que podem aumentar a formação de radicais de oxigênio com subsequente ativação do fator nuclear K $\beta$  (NF-K $\beta$ ), liberar citocinas pró-inflamatórias e induzir a produção de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que tem um papel importante na formação do granuloma (48).

Na hiperglicemia, níveis aumentados de MG estão acompanhados pela elevada produção de AGEs (48). Estudos demonstraram que pacientes diabéticos com níveis de hemoglobina glicada acima de 7% têm maior risco de desenvolver TB do que diabéticos com controle glicêmico adequado (49, 50). A relação entre hiperglicemia não diabética e suscetibilidade ao *Mtb* ainda não tem sido adequadamente investigada (51).

Um estudo feito por Podell et al. investigou o impacto que a hiperglicemia induzida pela dieta tinha na gravidade da infecção por *Mtb* e o acúmulo de AGEs em porcos guinea não-diabéticos, onde as consequências da hiperglicemia e TB compartilham uma patogênese comum, envolvendo a inflamação crônica e a formação de AGEs que combinados exacerbam as duas condições. Seus achados demonstraram que os porcos não-diabéticos alimentados com pequenas quantidades de sacarose, tiveram hiperglicemias aumentadas associadas à infecção pelo *Mtb*, aumentando a gravidade da TB. O mais importante não foi o aumento da lesão pulmonar e da carga bacteriana, mas a disseminação sistêmica da micobactéria nestes animais, o que resultou numa TB extrapulmonar mais precoce e mais grave, quando comparados aos porcos alimentados com água. Além disto, os alimentados com sacarose tiveram maior duração e gravidade da hiperglicemia, evidenciado pela formação e acúmulo tecidual e sérico de AGEs (52).

Observa-se um aumento na expressão do RAGE durante a inflamação pulmonar. RAGE está expresso nos pulmões saudáveis e podem estar aumentadas em pacientes com TB. Previamente, a expressão do RAGE foi visualizada nos pulmões de dois pacientes com TB, particularmente nas células gigantes e epiteliais, assim como em pneumócitos reativos (43).

van Zoelen et al. investigaram o papel do RAGE na inflamação crônica que acompanha a TB pulmonar, em camundongos infectados pelo *Mtb*, deficientes em RAGE e selvagens. Os pulmões dos camundongos selvagens infectados mostraram um aumento na expressão mais extensa do RAGE nos mesmos locais dos camundongos saudáveis. Além disso, os camundongos deficientes em RAGE tiveram os níveis de citocinas pró-inflamatórias aumentados, assim como o interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), a interleucina 6 (IL-6) e o TNF- $\alpha$ , sendo que essas desempenham um papel importante na regulação da resposta imune à TB. Ainda, esses camundongos deficientes em RAGE apresentaram maior emagrecimento e aumento de mortalidade, comparado com os animais também infectados, mas sem deficiência de RAGE. Ao final do estudo, observou-se que a deficiência do RAGE resultou num aumento ao invés de uma redução na inflamação pulmonar. Este achado sugere que o

RAGE desempenha um papel benéfico na resposta do hospedeiro e é importante para o equilíbrio das reações inflamatórias na TB pulmonar (4).

No estudo que avaliou e comparou os níveis de sRAGE séricos e pleurais em pacientes com câncer de pulmão, TB e pneumonia, foi observado que pacientes com TB tinham níveis aumentados quando comparados com os que tinham pneumonia e câncer de pulmão (53), sugerindo que os níveis de sRAGE podem estar relacionados ao processo crônico de dano e inflamação pulmonar (53, 54). Já no estudo conduzido por Berrocal-Almanza et al. que investigou, em pacientes com TB pulmonar, a significância clínica dos níveis da proteína S100A12 e sRAGE para predizer a extensão do envolvimento do pulmão, foi evidenciado que pacientes com TB apresentaram níveis bem reduzidos em comparação aos controles saudáveis (54). Esta diminuição pode estar relacionada ao aumento do clearance do complexo S100A12/RAGE (45).

## 2 JUSTIFICATIVA

Dados atuais da OMS apontam a TB como um grave problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento, reconhecendo como a doença infecciosa com maior mortalidade no mundo, superando o HIV e malária juntos.

A associação entre TB e desnutrição tem sido amplamente reconhecida. Existe uma forte relação entre EN e TB, onde o quadro clínico da doença leva a desnutrição proteico-energética secundária, com redução dos índices antropométricos, perda de massa magra e reservas de gordura, além da ativação de citocinas e alteração no metabolismo de proteínas, sendo também um fator de risco para o desenvolvimento da doença, pelo prejuízo da função imune, aumentando a susceptibilidade e a morbidade.

AGEs são formados a partir de reações aminocarbonilo, de natureza não enzimática entre açúcares redutores ou lipídeos oxidados e proteínas, aminofosfolipídeos e ácidos nucleicos, possuindo propriedades pró-oxidantes e pró-inflamatórias. Podem ser formados por vários precursores da reação de Maillard, tanto nos alimentos, fonte de maior exposição ao homem, como endogenamente *in vivo*, chamado de glicação. Sob condições inflamatórias, aceleram sua produção. Quando ligados ao RAGE, promove a atividade do NF- $\kappa$ B, resultando num aumento das citocinas, moléculas de adesão e indução do estresse oxidativo. O pulmão é um local de intensa atividade oxidativa. A interação AGE/RAGE leva ao aumento da inflamação, do estresse oxidativo e apoptose dos pneumócitos.

Na TB ativa, um estudo identificou AGEs nos macrófagos e nas lesões granulomatosas, tendo seus níveis aumentados durante a infecção pelo *Mtb*. Outro, identificou que uma dieta rica em sacarose, aumentou a formação de AGEs e a gravidade da TB. Em relação ao RAGE, um estudo sugere que ele desempenha um papel benéfico na resposta do hospedeiro e é importante para o equilíbrio das reações inflamatórias na TB pulmonar.

Com base nesses achados, identificamos que os estudos envolvendo a relação entre ingestão alimentar, produção de AGEs e expressão do RAGE, estado nutricional e TB são, na sua maioria, em modelos experimentais. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre a ingestão alimentar e do estado nutricional com a formação de AGEs e a expressão de seus receptores em pacientes com TB ativa, comparando com controles saudáveis.

Nossa hipótese é que a ingestão de alimentos ricos em AGEs, acarretará o aumento dos seus níveis séricos e na expressão dos receptores, além de contribuir para um prejuízo no estado nutricional, impactando na mortalidade.

### 3 OBJETIVOS

3.1 GERAL: Avaliar a relação entre a ingestão alimentar de carboxi-metil-lisina (CML), o estado nutricional com níveis séricos de AGEs (CML) e sRAGE em pacientes com TB ativa, comparando com controles saudáveis.

#### 3.2 ESPECÍFICOS:

3.2.2 Avaliar os níveis séricos de CML, sRAGE em pacientes com TB ativa e controles, com e sem desnutrição.

3.2.3 Estimar a ingestão de CML dietética em pacientes com TB ativa e controles.

3.2.4 Avaliar a relação dos níveis séricos de CML e sRAGE na mortalidade dos pacientes com TB ativa.

#### 4 REFERÊNCIAS

- (1) WHO. World Health Organization. Global Tuberculosis Report. 2016
- (2) Grobler L, Nagpal S, SudarsanamTD, Sinclair D. Nutritional supplements for people being treated for active tuberculosis. Cochrane Database of Systematic Reviews 2016, Issue 6.
- (3) Dalcin PTR, Silva DR. Tuberculose. In: Fochesatto Filho L, Barros E, editors. Medicina Interna na Prática Clínica. 1 ed. 2013. p. 519-25
- (4) van Zoelen MAD, Wieland CW, van der Windt GJW, Florquin S, Nawroth PP, Bierhaus A, van der Poll T. Receptor for advanced glycation end products is protective during murine tuberculosis. *Molecular Immunology*. 2012. (52): 183-189
- (5) Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico 2017. Indicadores prioritários para o monitoramento do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública no Brasil. 2017
- (6) Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico 2016. Perspectivas brasileiras para o fim da tuberculose como problema de saúde pública. 2016
- (7) Rodrigues MV, De Castro RMA. Tuberculose no Rio Grande do Sul: Relatório Técnico 2014 - 2015. Dados Epidemiológicos. Porto Alegre, 2016
- (8) Lapa e Silva JR. Novos Aspectos da Patogenia da Tuberculose. *Pulmão RJ*. 2012. 21(1): 10-14
- (9) Campos HS. Etiopatogenia da tuberculose e formas clínicas. *Pulmão RJ*. 2006. 15(1): 29-35
- (10) Russell DG. Who puts the tubercle in tuberculosis? *Nature Reviews/Microbiology*. 2007 Jan: 5(1):39-47
- (11) Lopes, AJ, Jansen JM, Capone D. A Tuberculose Nos Primeiros Anos do Século: Patogenia e Imunologia. *Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ*. 2006. Jul/Dez



- (12) SBPT. Comissão de TB da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia, Grupo de trabalho das Diretrizes para TB da SBPT. III Diretrizes para TB da SBPT. J Bras Pneumol. 2009. 35(10), 1018-1048
- (13) Guerra RL, Rego L, Conde MB. Diagnóstico da tuberculose pulmonar com baciloscopia negativa, Pulmão RJ 2008. 17 (2-4): 87-90
- (14) Nogueira CR, Chaves GV, Teixeira MT, Franca CAS, Ramalho A. Aspectos Antropométricos, Bioquímicos e Sintomatológicos em Mulheres com Tuberculose Pulmonar. Rev. Ciênc. Méd., Campinas. 2006. 15(4): 281-288
- (15) Schwenk A, Macallan DC. Tuberculosis, malnutrition and wasting. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2000 Jul; 3(4): 285-91
- (16) Cegielski JP, Arab L, Cornoni-Huntley J. Nutritional Risk Factors for Tuberculosis Among Adults in the United States, 1971-1992. Am J Epidemiol. 2012; 176(5): 409-422
- (17) Choi R, Jeong BH, Koh WJ, Lee SY. Recommendations for Optimizing Tuberculosis Treatment: Therapeutic Drug Monitoring, Pharmacogenetics, and Nutritional Status Considerations. Ann Lab Med 2017; 37:97-107
- (18) Hatsuda K, Takeuchi M, Ogata K, Sasaki Y, Kagawa T, Nakatsuji H, Ibaraki M, Sakaguchi M, Kurata M, Hayashi S. The impact of nutritional state on the duration of sputum positivity of *Mycobacterium tuberculosis*. Int J Tuberc Lung Dis. 2015; 19(11):1369-1375
- (19) Naik AL, Rajan MG, Manjrekar PA, Shenoy MT, Shreelata S, Srikantiah RM, Hegde A. Effect of DOTS Treatment on Vitamin D Levels in Pulmonary Tuberculosis. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2017 Apr, vol-11(4): BC18-BC22
- (20) Aibana O, Acharya X, Huang CC, Becerra MC, Galea JT, Chiang SS, Contreras C, Calderon R, Yataco R, Velásquez GE, Tintaya K, Jimenez J, Lecca L, Murray MB. Nutritional Status and Tuberculosis Risk in Adult and Pediatric Household Contacts. PLoS One. 2016 Nov 11;11(11):e0166333. doi: 10.1371/journal.pone.0166333. eCollection 2016.

- (21) Barbosa JHP, Oliveira SL, Seara LT. Produtos de glicação avançada dietéticos e as complicações crônicas do diabetes. *Rev.Nutr.Campinas*. 2009 jan/fev 22(1): 113-124
- (22) Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, Yong A, Striker G, Vlassara H. Advanced Glycation End Products in Foods and a Practical Guide to Their Reduction in the Diet. *J Am Diet Assoc*. 2010 (110): 911-916
- (23) Guo WA, Davidson BA, Ottosen J, Ohtake PJ, Raghavendran K, Mullan BA, Dayton MT, Knight III PR. Effect of high advanced glycation end-product diet on pulmonary inflammatory response and pulmonary function following gastric aspiration. *Shock*. 2012 (38) 6: 677-684
- (24) Davis KE, Prasad C, Vijayagopal P, Juma S, Imrha V. Serum soluble receptor for advanced glycation end products correlates inversely with measures of adiposity in young adults. *Nutr Res*. 2014 Jun; 34(6): 478-485
- (25) Poulsen MW, Hedegaard RV, Andersen JM, de Courten B, Bügel S, Nielsen J, Skibsted LH, Dragsted LO. Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. *Food Chem Toxicol*. 2013 Oct (60):10-37
- (26) Shibao J, Bastos DHM. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. *Rev. Nutr., Campinas*, 2011 nov./dez. 24(6): 895-904
- (27) Wu L, Ma L, Nicholson LF, Black PN. Advanced glycation end products and its receptor (RAGE) are increased in patients with COPD. *Respir Med*. 2011 Mar;105(3): 329-36
- (28) Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*. 2006 Aug 8;114(6): 597-605
- (29) Chao PC, Huang CN, Hsu CC, Yin MC, Guo YR. Association of dietary AGEs with circulating AGEs, glycated LDL, IL-1 $\alpha$  and MCP-1 levels in type 2 diabetic patients. *Eur J Nutr*. 2010 Oct;49(7):429-34

- (30) Semba RD, Arab L, Sun K, Nicklett EJ, Ferrucci L. Fat Mass Is Inversely Associated with Serum Carboxymethyl-Lysine, An Advanced Glycation End Product, in Adults. *J Nutr*. 2011 Sep;141(9):1726-30
- (31) Bartling B, Fuchs C, Somoza V, Niemann B, Silber RE, Simm A. Lung level of HMBG1 is elevated in response to advanced glycation end product-enriched food in vivo. *Mol Nutr Food Res*. 2007 Apr; 51(4): 479-487
- (32) Hagen I, Schulte DM, Müller N, Martinsen J, Türk K, Hedderich J, Schreiber S, Laudes M. Soluble receptor for advanced glycation end products as a potential biomarker to predict weight loss and improvement of insulin sensitivity by a very low calorie diet of obese human subjects. *Cytokine*. 2015 Jun; 73(2): 265-269
- (33) Sárkány Z, Ikonen TP, Ferreira da Silva F, Saraiva MJ, Svergun D, Damas AM. Solution structure of the soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE). *J Biol Chem*. 2011 Oct 28;286(43): 37525-34
- (34) Norata GD, Garlaschelli K, Grigore L, Tibolla G, Raselli S, Redaelli L, Buccianti G, Catapano AL. Circulating soluble receptor for advanced glycation end products is inversely associated with body mass index and waist/hip ratio in the general population. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2009 Feb;19(2):129-34
- (35) Yan SF, Ramasamy R, Naka Y, Schmidt AM. Glycation, inflammation, and RAGE: a scaffold for the macrovascular complications of diabetes and beyond. *Circ Res* 2003;93:1159–1169
- (36) Ritthaler U, Deng Y, Zhang Y, Greten J, Abel M, et al. Expression of receptors for advanced glycation end products in peripheral occlusive vascular disease. *Am J Pathol* 1995 (146): 688-694
- (37) Cipollone F, Iezzi A, Fazia, Zucchelli M, Pini B, et al. The receptor RAGE as a progression factor amplifying arachidonate-dependent inflammatory and proteolytic response in human atherosclerotic plaques: role of glycemic control. *Circulation* 2003 (108): 1070–1077

- (38) Prakash J, Pichchadze G, Trofimov S, Livshits G. Age and genetic determinants of variation of circulating levels of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) in the general human population. *Mech Ageing Dev.* 2015 Jan;145:18-25
- (39) Hofmann MA, Drury S, Fu C, Qu W, Taguchi A, et al. RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *Cell* 1999; 97:889–901.
- (40) Hofmann MA, Drury S, Hudson BI, Gleason MR, Qu W, et al. RAGE and arthritis: the G82S polymorphism amplifies the inflammatory response. *Genes Immun* 2002;3:123–135
- (41) Schmidt AM. Soluble RAGEs – Prospects for treating e tracking metabolic and inflammatory disease. *Vascul Pharmacol.* 2015 (72): 1-8
- (42) Thomas MC, Söderlund J, Lehto M, Mäkinen VP, Moran JL, Cooper ME, Forsblom C, Groop PH; FinnDiane Study Group. Soluble receptor for AGE (RAGE) is a novel independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2011 Oct;54(10):2669-77
- (43) Morbini P, Villa C, Campo I, Zorzetto M, Inghilleri S, Luisetti M. The receptor for advanced glycation end products and its ligands: a new inflammatory pathway in lung disease? *Mod Pathol.* 2006 Nov;19(11):1437-45
- (44) Yamagishi S, Adachi H, Nakamura K, Matsui T, Jinnouchi Y, Takenaka K, Takeuchi M, Enomoto M, Furuki K, Hino A, Shigeto Y, Imaizumi T. Positive association between serum levels of advanced glycation end products and the soluble form of receptor for advanced glycation end products in nondiabetic subjects. *Metabolism.* 2006 Sep;55(9):1227-31
- (45) Basta G, Sironi AM, Lazzerini G, Del Turco S, Buzzigoli E, Casolaro A, Natali A, Ferrannini E, Gastaldelli A. Circulating soluble receptor for advanced glycation end products is inversely associated with glycemic control and S100A12 protein. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Nov; 91(11):4628-34

- (46) Manichaikul A, Sun L, Borczuk AC, Onengut-Gumuscu S, Farber EA, Mathai SK, Zhang W, Raghu G, Kaufman JD, Hinckley-Stukovsky KD, Kawut SM, Jelic S, Liu W, Fingerlin TE, Schwartz DA, Sell JL, Rich SS, Barr RG, Lederer DJ. Plasma Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Ann Am Thorac Soc*. 2017 May;14(5):628-635
- (47) Lui G, Wong CK, Ip M, Chu YJ, Yung IMH, Cheung CSK, Zheng L, Lam JSY, Wong KT, Sin WWY, Choi KW, Lee N. HMGB1/RAGE Signaling and Pro-Inflammatory Cytokine Responses in Non-HIV Adults with Active Pulmonary Tuberculosis. *PLoS One*. 2016; 11(7): e0159132
- (48) Rachman H, Kim N, Ulrichs T, Baumann S, Pradl L, Eddine AN, Bild M, Rother M, Kuban RJ, Lee JS, Hurwitz R, Brinkmann V, Kosmiadi GA, Kaufmann SHE. Critical Role of Methylglyoxal and AGE in Mycobacteria-Induced Macrophage Apoptosis and Activation. *PLoS ONE*. 2006. 1(1): e29
- (49) Leung CC, Lam TH, Chan WM, Yew WW, Ho KS, et al. Diabetic Control and Risk of Tuberculosis: A Cohort Study. *Am J Epidemiol*. 2008 (167):1486–1494
- (50) Pablos-Mendez A, Blustein J, Knirsch CA. The role of diabetes mellitus in the higher prevalence of tuberculosis among Hispanics. *Am J Public Health*. 1997 (87): 574–579.
- (51) Harries AD, Murray MB, Jeon CY, Ottmani SE, Lonnroth K, et al. Defining the research agenda to reduce the joint burden of disease from diabetes mellitus and tuberculosis. *Trop Med Int Health*. 2010 (15): 659–663
- (52) Podell BK, Ackart DF, Kirk NM, Eck SP, Bell C, Bell C, Barasaba RJ. Non-diabetic hyperglycemia exacerbates disease severity in Mycobacterium tuberculosis infected guinea pigs. *PLoS One*. 2012; 7(10): e46824

- (53) Sim YS, Kim DG, Shin TR. The diagnostic utility and tendency of the soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in exudative pleural effusion. *J Thorac Dis.* 2016 Jul; 8(7): 1731–1737
- (54) Berrocal-Almanza LC, Goyal S, Hussain A, Klassert TE, Driesch D, Grozdanovic Z, Sumanlatha G, Ahmed N, Valluri V, Conrad ML, Dittrich N, Schumann RR, Lala B, Slevogt H. S100A12 is up-regulated in pulmonary tuberculosis and predicts the extent of alveolar infiltration on chest radiography: an observational study. *Sci Rep.* 2016; 6: 31798

## 5 ARTIGO EM INGLÊS

5.1. **Title:** Advanced glycation end products (AGE) and receptor for AGE (RAGE) in patients with active tuberculosis, and their relationship with food intake and nutritional status.

**Authors:** Lívia Fontes da Silva<sup>1</sup>, Erika Cavalheiro Skupien<sup>1</sup>, Tássia Kirchmann Lazzari<sup>1</sup>, Sizuane Rieger Holler<sup>2</sup>, Luísa Rebechi Zampieri<sup>3</sup>, Sandra Eugênia Coutinho<sup>1</sup>, Michael Andrades<sup>4</sup>, Denise Rossato Silva<sup>1,2</sup>.

### **Affiliations:**

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

<sup>2</sup>Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

<sup>3</sup>Faculdade de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

<sup>4</sup>Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

### **Corresponding author:**

Denise Rossato Silva.

2350 Ramiro Barcelos Street, 2º floor, Room 2050

Porto Alegre, RS – Postal code: 90.035-003

Phone: +55 51 33598241 Fax: +55 51 33598000

Email: denise.rossato@terra.com.br

## ABSTRACT

**Introduction:** The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is expressed in normal lungs and is upregulated during inflammation and infection. The interaction between AGEs and RAGE on the plasma membrane causes oxidative stress and apoptosis in lung cells. The objective of this study is to evaluate AGEs and sRAGE plasma levels in patients with active tuberculosis (TB) and healthy controls, and to investigate their relationship with food intake and nutritional status. **Methods:** Case-control study. AGE (carboxymethyl lysine, CML) and RAGE were measured by Elisa. Nutritional assessment was performed by body mass index, triceps skin-fold thickness, mid-arm circumference, mid-arm muscle circumference, bioelectrical impedance analysis, and food frequency questionnaire. **Results:** 35 TB patients and 35 controls were included in the study. The mean S-RAGE levels were higher in TB patients than in controls ( $68.5 \pm 28.1$  pg/mL vs  $57.5 \pm 24.0$  pg/mL,  $p=0.046$ ). Among cases that were current smokers, lower sRAGE levels were associated with mortality (sRAGE levels= $58.0 \pm 36.5$  pg/mL [non-survivors] vs  $71.3 \pm 25.6$  pg/mL [survivors],  $p=0.006$ ), and with weight loss (sRAGE levels= $65.6 \pm 27.4$  pg/mL [weight loss] vs  $98.6 \pm 16.7$  pg/mL [no weight loss],  $p=0.034$ ). There was no statistically significant difference in CML levels and diet CML content between cases and controls. Malnutrition was more frequent in cases than in controls, but there was no correlation between nutritional parameters and CML or sRAGE levels. **Conclusions:** TB patients had higher sRAGE levels than controls. sRAGE may play a role in disease manifestations and outcomes, being associated with weight loss and mortality.

**Keywords:** tuberculosis; advanced glycation end products; receptor for advanced glycation end products; RAGE; AGE; carboxymethyl lysine.



## INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) is a major public health problem worldwide, especially in low- and middle-income countries. It is estimated that one-third of the world's population is infected with *Mycobacterium tuberculosis*, and 8 million develop the active form of the disease each year, resulting in 2 million deaths per year (1). Brazil is in 18th place among the 22 countries responsible for 80% of TB cases globally, with an incidence of 32.4 cases / 100,000 inhabitants in 2016 (2).

The pathogenesis of the consumptive syndrome, which is long recognized as a characteristic of TB, is largely unknown. The proinflammatory cytokines are the initial candidates as agents causing the metabolic alterations that eventually result in the consumptive TB syndrome (3). In addition to the pro-inflammatory cytokines, cell-mediated immunity and innate immune responses play an important role in the host response to mycobacterial infection, contributing to disease severity and complications in active TB (4;5).

The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is expressed in normal lungs and is upregulated during inflammation and infection (6-9). AGEs are a heterogeneous group of irreversible products resulting from nonenzymatic glycation and oxidation of protein, nucleic acids, and lipids (10;11). The interaction between AGEs and RAGE on the plasma membrane causes inflammation, oxidative stress, and apoptosis in lung cells (12). One study demonstrated that RAGE deficient mice displayed more body weight loss and enhanced mortality (13). However, studies investigating the relationship between food intake, nutritional status, AGE and RAGE levels and TB, are mostly with animal models (13;14). Thus, the objective of this study is to evaluate AGEs and RAGE levels in patients with active TB and healthy controls, and to investigate the relationship between food intake and nutritional status with AGEs and RAGE levels.

## METHODS

### STUDY DESIGN AND LOCATION

We conducted a prospective case-control study in a general, tertiary care, university-affiliated hospital (Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA). TB patients and controls were matched for sex and age in a 1:1 matching ratio. Patients were recruited at HCPA inpatient's units. The control group consisted of volunteers recruited in the same hospital. The study was approved by the Ethics Committee at HCPA (number 14-0044), and all subjects gave written informed consent to participate.

### PATIENTS AND DATA COLLECTION

Patients with a confirmed diagnosis of TB, older than 18 years, who agreed to participate, were included in the study. We excluded patients with extrapulmonary TB, and those who had been on pulmonary TB treatment for more than 3 days, and patients and controls who were not able to perform the study procedures, diabetics, pregnant women and those with a history of previous TB.

After signing informed written consent enrolled subjects were interviewed using a standardized questionnaire. The following data were recorded: demographic data (sex, age, race, years of schooling), presence of cough, fever, night sweating, hemoptysis, sputum production, weight loss, dyspnea, chest pain, smoking status, alcohol consumption, drug use, presence of comorbidities. A current smoker was defined as reporting smoking at least 100 cigarettes in their lifetime, and at the time of the survey was smoking at least one day a week. A former smoker was defined as reporting smoking at least 100 cigarettes in their lifetime but who, at the time of the survey, did not smoke at all. Never smoked reported having smoked < 100 cigarettes in their lifetime. Alcohol abuse was defined as daily consumption of at least 30 grams (equivalent to a pint and a half of 4% beer) for men and 24 grams (equivalent to a 175 ml glass of wine) for women. We

also recorded the results of the main diagnostic tests performed, as well as the outcome of hospitalization (discharge or death). An independent physician analyzed the chest X-rays and classified them as typical or compatible with active TB, according to previously described guidelines (15). The diagnosis of pulmonary TB was based on consensus criteria (16).

## NUTRITIONAL ASSESSMENT

Nutritional assessment was performed by body mass index (BMI), triceps skin-fold thickness (TSF), mid-arm circumference (MUAC), mid-arm muscle circumference (MAMC), bioelectrical impedance analysis (BIA), and food frequency questionnaire (FFQ).

**Body Mass Index (BMI):** BMI (in  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) was calculated and the patients were classified into categories based on the BMI cutoffs for weight categories as recommended by the WHO. Malnutrition was defined as a BMI  $<18.5 \text{ kg}/\text{m}^2$  (17).

**Triceps skin-fold (TSF):** The triceps skin-fold thickness was measured with a skin caliper on the posterior upper arm midway between the acromion and olecranon processes (18). The obtained values were compared with the reference values (19).

**Mid-upper arm circumference (MUAC):** The midupper arm circumference was measured using a non-stretch plastic tape midway between the acromion and olecranon of the non-dominant arm (20). The obtained values were compared with the reference values (21).

**Mid-arm muscle circumference (MAMC):** MAMC was calculated by using MUAC and TSF measurement [ $\text{MUAC (cm)} - 3.142 \times \text{TSF (cm)}$ ]. The obtained values were compared with the reference values (22).

**Bioelectrical impedance analysis (BIA):** BIA, is a simple, non-invasive technique, that has been recommended for clinical investigation of body composition analysis. A Single-frequency BIA was performed at 50 kHz and 800 mA with standard tetrapolar lead placement to measure fat and lean

tissue mass. All BIA measurements were performed by one trained observer using the same equipment and recommended standard conditions (23). Fat mass and fat-free mass (FFM) were estimated from the values of resistance and reactance obtained through BIA, using sex-specific equations validated by Kotler et al. (24) in a sample of white, black, and Hispanic patients that included HIV-infected individuals.

**Food frequency questionnaire (FFQ):** To assess daily food intake we used a food frequency questionnaire that is reproducible and validated (25). The study's nutritionists reviewed the diet records and resolved any questions with the participant. We calculated the mean daily intake of CML (kU/day) based on AGE content of foods previously published (26).

#### LABORATORY TESTS

Blood sample was collected after an overnight fast. After collection, the blood was centrifuged and frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ . The common AGEs in foods and human plasma include pentosidine, carboxymethyl lysine (CML) and furosine (27). CML has been considered the predominant AGE in human plasma, and for that reason we have chosen to measure it. AGE (CML) and RAGE were measured by Elisa, according to the manufacturer's instructions (CML: OxiSelect™ N-epsilon-(Carboxymethyl) Lysine [Cell Biolabs Inc, San Diego, CA]; RAGE: Human RAGE Quantikine [R&D Systems Inc., Minneapolis, MN]).

#### STATISTICAL ANALYSIS

Data analysis was performed using IBM SPSS Statistics for Windows, version 22.0 (Armonk, NY, IBM Corp). Data were presented as number of cases, mean  $\pm$  standard deviation (SD), or median with interquartile range (IQR). Categorical comparisons were carried out by chi-square test using Yates's correction if indicated or by Fisher's exact test. Continuous variables were compared using the *t*-test or Wilcoxon test. Pearson's (or Spearman's when indicated) correlations

was performed to evaluate for potential relationships. A two-sided p value  $< 0.05$  was considered significant for all analyses. The sample size calculation was based on a previous study (13) that identified mortality rates of 58% and 12% in mice with and without RAGE deficiency, respectively. Considering a confidence level of 95% and a power of 80%, we estimated a sample of 26 individuals per group. Also, to find a correlation of 0.50 between AGE levels and BMI, we estimated a sample of 29 individuals per group.

## RESULTS

During the study period, 35 TB patients and 35 controls met the inclusion criteria and were included in the analysis. Among TB cases, the most frequent symptoms were: weight loss (94.3%,  $n=33$ ), cough (88.6%,  $n=31$ ), night sweats (65.7%,  $n=23$ ), and fever (62.9%,  $n=22$ ). Fourteen patients (40.0%) were HIV positive, 28 (80.0%) were smear positive, and 28 (80.0%) had a positive culture. Twenty-six patients (74.3%) had a typical chest X-ray, and 9 (25.7%) had a compatible chest X-ray.

Table 1 shows the comparison between cases and controls. The mean sRAGE levels were higher in TB patients than in controls [ $68.5 \pm 28.1$  pg/mL vs  $57.5 \pm 24.0$  pg/mL,  $p=0.046$ ]. There was no statistically significant difference in CML levels and diet CML content between cases and controls. BMI was significantly lower in cases than in controls ( $p<0.0001$ ). Also, malnutrition by MUAC, MAMC, and TSF were more frequent in cases than in controls.

There was no statistically significant correlation between serum CML levels and diet CML content ( $r= -0.13$ ;  $p=0.33$ ). Also, there was no significant correlation between BMI and CML levels ( $r= -0.15$ ;  $p=0.24$ ), and between BMI and sRAGE levels ( $r= -0.11$ ;  $p=0.39$ ). TSF, MUAC, and MAMC were also not correlated with CML or sRAGE levels. Diet CML content was not different between cases and controls ( $p=0.496$ ).

There was no statistical difference in serum CML levels, diet CML content and sRAGE levels between survivors and non-survivors ( $p=0.771$ ,  $p=0.191$  and  $p=0.163$ , respectively). However, among cases that were current smokers, lower sRAGE levels were associated with mortality (sRAGE levels=  $58.0 \pm 36.5$  pg/mL [non-survivors] vs  $71.3 \pm 25.6$  pg/mL [survivors],  $p=0.006$ ). In addition, among cases, lower sRAGE levels were associated with weight loss (sRAGE levels= $65.6 \pm 27.4$  pg/mL [weight loss] vs  $98.6 \pm 16.7$  pg/mL [no weight loss],  $p=0.034$ ).

**Table 1. Comparison between cases and controls.**

Variables	Cases n=35	Controls n=35	p value
Male sex, n (%)	24 (68.6)	24 (68.6)	-
Age (years), mean $\pm$ SD	37.5 $\pm$ 16.7	38.6 $\pm$ 16.4	0.768
White race, n (%)	19 (54.3)	29 (82.9)	0.02
Current smoking, n (%)	22 (62.9)	16 (45.7)	0.23
Alcohol abuse, n (%)	13 (37.1)	7 (20.0)	0.186
Drug use, n (%)	15 (34.3)	7 (20.0)	0.282
BMI (kg/m <sup>2</sup> ), mean $\pm$ SD	19.5 $\pm$ 3.6	26.9 $\pm$ 4.9	<0.0001
Body fat (%), BIA, mean $\pm$ SD	23.1 $\pm$ 10.2	24.3 $\pm$ 8.9	0.60
Reduced body fat (BIA), n (%)	5 (14.3)	3 (8.6)	0.71
Malnutrition by MUAC, n (%)	16 (45.7)	4 (11.4)	0.001
Malnutrition by MAMC, n (%)	17 (48.6)	9 (25.7)	0.04
Malnutrition by TSF, n (%)	13 (37.1)	3 (8.6)	0.004
Diet CML content (kUx10 <sup>4</sup> /day), mean $\pm$ SD	1.42 $\pm$ 1.14	1.74 $\pm$ 1.34	0.496
Serum CML ( $\mu$ g/ $\mu$ L), mean $\pm$ SD	0.07 $\pm$ 0.05	0.09 $\pm$ 0.07	0.415
sRAGE (pg/mL), mean $\pm$ SD	68.5 $\pm$ 28.1	57.5 $\pm$ 24.0	0.046

SD: standard deviation. BMI: body mass index. BIA: bioelectrical impedance analysis. MUAC: Mid-upper arm circumference.

MAMC: Mid-arm muscle circumference. TSF: Triceps skin-fold. AGE: advanced glycation end products. CML: carboxymethyl lysine. sRAGE: soluble receptor of advanced glycation end products.

## DISCUSSION

In this case-control study, we aimed to evaluate AGEs and RAGE levels in patients with active TB and healthy controls, and the relationship between food intake and nutritional status with AGEs and RAGE levels. We found that sRAGE levels were higher in TB patients than in controls. Among cases that were current smokers, lower sRAGE levels were associated with weight loss and mortality. In addition, we could not demonstrate correlation between serum CML levels and diet CML levels. Also, we identified high prevalence of malnutrition in TB cases, regardless of the parameter used to assess nutritional status. However, there was no significant correlation between those parameters and CML or sRAGE levels.

RAGE is a cell-surface receptor belonging to the immunoglobulin superfamily (28). There is evidence of ligand/RAGE signaling pathway activation in a wide spectrum of diseases, including diabetes mellitus, cancer, chronic renal failure, and rheumatoid arthritis (29). RAGE is expressed at low levels in normal lung and becomes upregulated in conditions associated with inflammation and lung damage (6-9). Therefore, RAGE's inflammatory pathway is not specific of a single lung disease. RAGE overexpression was already described in smoke-related pulmonary disease, postobstructive pneumonia, organizing pneumonia, granulomatous disease, and usual interstitial pneumonia (7).

We found higher sRAGE levels in TB patients as compared with controls. sRAGE functions as a ligand-binding decoy, a competitive inhibitor of RAGE, protecting sensitive cells from the potentially deleterious effects of their hyperactivity (30). Reduced sRAGE levels have been observed in a number of chronic diseases such as diabetes mellitus, chronic renal failure, and cancer (31). On the other hand, in accordance with our findings, Watanabe et al (32) reported elevated levels of sRAGE in asthmatic sputum, and Uchida et al. (8) report significantly higher sRAGE levels both in pulmonary edema fluid, and in plasma from patients with ALI/ARDS compared to healthy volunteers. A possible explanation may be that enhanced RAGE expression and cellular



damage might increase sRAGE generation and release. In this context, sRAGE levels could reflect RAGE hyperactivity (29).

In contrast, lower sRAGE levels were associated with weight loss and mortality in the present study, but only among cases that were current smokers. Similar findings were described by van Zoelen et al (13) in murine models. The authors demonstrated that pulmonary RAGE expression was increased during TB, and that RAGE deficient mice displayed more body weight loss and enhanced mortality. In addition, plasma levels of sRAGE were previously described to be significantly lower in smokers (33).

CML is the predominant AGE in human plasma, and is overexpressed in conditions associated with inflammation and lung damage (7). However, there was no statistically significant difference in CML levels between cases and controls in the present study. In fact, the small sample size could prevent us to find differences. Nevertheless, there may be another explanation. RAGE is a pattern-recognition receptor that binds multiple ligands, not only AGEs, but also amyloid beta (A $\beta$ ), high-mobility group box 1 (HMGB1), lipopolysaccharide (LPS), macrophage-1 antigen (Mac-1), phosphatidylserine and S100 (34-37). Indeed, one study (38) showed that HMGB1/RAGE signaling may play an important role in pathogenesis and disease manifestations in non-HIV adults with active pulmonary TB. In this investigation, RAGE and HMGB1 gene expressions correlated positively with clinic-radiological severity.

Malnutrition is common among patients with TB (39;40) and is associated with disease severity and unfavorable outcomes (41;42). In our sample, approximately 40% of TB patients had criteria for malnutrition, according to BMI, TSF, MUAC and MAMC. Nonetheless, there was no significant correlation between any of these parameters and CML or sRAGE levels.

Our study has some limitations. First, the investigation was done in a single center. However, we assume that there is no reason why these results do not apply to other settings. Also, it must be considered that this study was conducted with a small sample size, which could prevent us to find

differences in serum and diet CML levels between cases and controls. In addition, we estimated daily dietary CML content from a FFQ and not from 3-day food records, probably the most adequate method. More important, the dietary AGE database that we used included foods selected from diets common in northeastern US area, and may thus not represent Brazilian diet. In spite of these concerns, the strength of the present study is that it is the first study to demonstrate the role of CML/RAGE signaling in TB patients, and not in animal models.

In conclusion, we demonstrated higher sRAGE levels in TB patients in comparison with controls. Moreover, sRAGE may play a role in disease manifestations and outcomes. At least among cases that were current smokers, lower sRAGE levels were associated with weight loss and mortality. Future studies with larger sample size are necessary to confirm these findings. Additionally, researches focusing on other ligand/RAGE signaling pathways can provide a better understanding of immunopathogenic processes involved in TB.

**REFERENCES**

- (1) WHO report Tuberculosis. 2016. Available at: [www.who.int](http://www.who.int).
- (2) Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. Especial Tuberculose. 2017. Available at: [www.saude.gov.br](http://www.saude.gov.br).
- (3) Schwenk A, Macallan DC. Tuberculosis, malnutrition and wasting. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3(4):285-291.
- (4) Dheda K, Schwander SK, Zhu B, van Zyl-Smit RN, Zhang Y. The immunology of tuberculosis: from bench to bedside. *Respirology* 2010; 15(3):433-450.
- (5) Verrall AJ, Netea MG, Alisjahbana B, Hill PC, van CR. Early clearance of *Mycobacterium tuberculosis*: a new frontier in prevention. *Immunology* 2014; 141(4):506-513.
- (6) Cheng C, Tsuneyama K, Kominami R, Shinohara H, Sakurai S, Yonekura H et al. Expression profiling of endogenous secretory receptor for advanced glycation end products in human organs. *Mod Pathol* 2005; 18(10):1385-1396.
- (7) Morbini P, Villa C, Campo I, Zorzetto M, Inghilleri S, Luisetti M. The receptor for advanced glycation end products and its ligands: a new inflammatory pathway in lung disease? *Mod Pathol* 2006; 19(11):1437-1445.
- (8) Uchida T, Shirasawa M, Ware LB, Kojima K, Hata Y, Makita K et al. Receptor for advanced glycation end-products is a marker of type I cell injury in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173(9):1008-1015.
- (9) Wittkowski H, Sturrock A, van Zoelen MA, Viemann D, van der Poll T, Hoidal JR et al. Neutrophil-derived S100A12 in acute lung injury and respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2007; 35(5):1369-1375.
- (10) Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation* 2006; 114(6):597-605.

- (11) Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44(2):129-146.
- (12) Byun K, Yoo Y, Son M, Lee J, Jeong GB, Park YM et al. Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: A common contributor to inflammation and degenerative diseases. *Pharmacol Ther* 2017; 177:44-55.
- (13) van Zoelen MA, Wieland CW, van der Windt GJ, Florquin S, Nawroth PP, Bierhaus A et al. Receptor for advanced glycation end products is protective during murine tuberculosis. *Mol Immunol* 2012; 52(3-4):183-189.
- (14) Rachman H, Kim N, Ulrichs T, Baumann S, Pradl L, Nasser EA et al. Critical role of methylglyoxal and AGE in mycobacteria-induced macrophage apoptosis and activation. *PLoS One* 2006; 1:e29.
- (15) Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(4 Pt 1):1376-1395.
- (16) Conde MB, Melo FA, Marques AM, Cardoso NC, Pinheiro VG, Dalcin PT et al. III Brazilian Thoracic Association Guidelines on tuberculosis. *J Bras Pneumol* 2009; 35(10):1018-1048.
- (17) World Health Organization. BMI classification – Global Database on Body Mass Index. 2015. Available at: [www.who.int](http://www.who.int).
- (18) Heymsfield SB, Baumgartner RN, Sheau-Fang R. Avaliação nutricional da desnutrição por métodos antropométricos. In: Shils ME, editor. *Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença*. 9 ed. São Paulo: Manole; 2003.

- (19) de Onis M, Habicht JP. Anthropometric reference data for international use: recommendations from a World Health Organization Expert Committee. *Am J Clin Nutr* 1996; 64(4):650-658.
- (20) National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). Anthropometric procedures manual. 2007. Available at: [http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes\\_07\\_08/manual\\_an.pdf](http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_07_08/manual_an.pdf)
- (21) Tang AM, Dong K, Deitcher M, Chung M, Maalouf-Manasseh Z, Tumilowicz A, Wanke C. Use of cutoffs for Mid-Upper Arm Circumference (MUAC) as an Indicator or Predictor of Nutritional and Health-Related Outcomes in Adolescents and Adults: A Systematic Review. 2013. Available at: [www.fantaproject.org](http://www.fantaproject.org).
- (22) Weber J KJ. Assessing nutrition. In: Nieginski E, editor. *Health Assessment in Nursing*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.
- (23) Kyle UG, Genton L, Karsegard L, Slosman DO, Pichard C. Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20--94 years. *Nutrition* 2001; 17(3):248-253.
- (24) Kotler DP, Burastero S, Wang J, Pierson RN, Jr. Prediction of body cell mass, fat-free mass, and total body water with bioelectrical impedance analysis: effects of race, sex, and disease. *Am J Clin Nutr* 1996; 64(3 Suppl):489S-497S.
- (25) Molina MC, Bensenor IM, Cardoso LO, Velasquez-Melendez G, Drehmer M, Pereira TS et al. [Reproducibility and relative validity of the Food Frequency Questionnaire used in the ELSA-Brasil]. *Cad Saude Publica* 2013; 29(2):379-389.
- (26) Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J Am Diet Assoc* 2010; 110(6):911-916.
- (27) Chao PC, Huang CN, Hsu CC, Yin MC, Guo YR. Association of dietary AGEs with circulating AGEs, glycated LDL, IL-1alpha and MCP-1 levels in type 2 diabetic patients. *Eur J Nutr* 2010; 49(7):429-434.

- (28) Fritz G. RAGE: a single receptor fits multiple ligands. *Trends Biochem Sci* 2011; 36(12):625-632.
- (29) Santilli F, Vazzana N, Bucciarelli LG, Davi G. Soluble forms of RAGE in human diseases: clinical and therapeutical implications. *Curr Med Chem* 2009; 16(8):940-952.
- (30) Renard C, Chappey O, Wautier MP, Nagashima M, Lundh E, Morser J et al. Recombinant advanced glycation end product receptor pharmacokinetics in normal and diabetic rats. *Mol Pharmacol* 1997; 52(1):54-62.
- (31) Vazzana N, Santilli F, Cucurullo C, Davi G. Soluble forms of RAGE in internal medicine. *Intern Emerg Med* 2009; 4(5):389-401.
- (32) Watanabe T, Asai K, Fujimoto H, Tanaka H, Kanazawa H, Hirata K. Increased levels of HMGB-1 and endogenous secretory RAGE in induced sputum from asthmatic patients. *Respir Med* 2011; 105(4):519-525.
- (33) Gopal P, Reynaert NL, Scheijen JL, Schalkwijk CG, Franssen FM, Wouters EF et al. Association of plasma sRAGE, but not esRAGE with lung function impairment in COPD. *Respir Res* 2014; 15:24.
- (34) Chavakis T, Bierhaus A, Nawroth PP. RAGE (receptor for advanced glycation end products): a central player in the inflammatory response. *Microbes Infect* 2004; 6(13):1219-1225.
- (35) He M, Kubo H, Morimoto K, Fujino N, Suzuki T, Takahashi T et al. Receptor for advanced glycation end products binds to phosphatidylserine and assists in the clearance of apoptotic cells. *EMBO Rep* 2011; 12(4):358-364.
- (36) Hofmann MA, Drury S, Fu C, Qu W, Taguchi A, Lu Y et al. RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *Cell* 1999; 97(7):889-901.
- (37) Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern DM. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest* 2001; 108(7):949-955.

- (38) Lui G, Wong CK, Ip M, Chu YJ, Yung IM, Cheung CS et al. HMGB1/RAGE Signaling and Pro-Inflammatory Cytokine Responses in Non-HIV Adults with Active Pulmonary Tuberculosis. *PLoS One* 2016; 11(7):e0159132.
- (39) Macallan DC. Malnutrition in tuberculosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34(2):153-157.
- (40) Onwubalili JK. Malnutrition among tuberculosis patients in Harrow, England. *Eur J Clin Nutr* 1988; 42(4):363-366.
- (41) van LM, Kumwenda JJ, Harries AD, Whalen CC, Taha TE, Kumwenda N et al. Malnutrition and the severity of lung disease in adults with pulmonary tuberculosis in Malawi. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8(2):211-217.
- (42) Zachariah R, Spielmann MP, Harries AD, Salaniponi FM. Moderate to severe malnutrition in patients with tuberculosis is a risk factor associated with early death. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; 96(3):291-294.

## 6 CONCLUSÃO

Neste estudo caso-controle, buscou-se avaliar os níveis de AGEs e RAGE em pacientes com TB ativa e controles saudáveis e sua relação com a ingestão de alimentos e o estado nutricional. Os níveis de sRAGE foram maiores nos pacientes com tuberculose do que nos controles. Entre os casos que eram fumantes atuais, menores níveis de sRAGE foram associados à perda de peso e mortalidade. Além disso, não se demonstrou correlação entre os níveis séricos de CML e os níveis de CML da dieta com o estado nutricional. Foi identificada alta prevalência de desnutrição em casos de TB, independentemente do parâmetro utilizado para avaliar o estado nutricional.



## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pacientes com TB tiveram maiores níveis de sRAGE em comparação com os controles. Além disso, o sRAGE pode desempenhar um papel nas manifestações e desfechos da doença. Pelo menos entre os casos que eram fumantes, baixos níveis sRAGE foram associados com a perda de peso e a mortalidade. Estudos futuros com maior tamanho de amostra são necessários para confirmar esses achados. Além disso, pesquisas enfocando outras vias de sinalização ligantes/RAGE pode fornecer uma melhor compreensão dos processos envolvidos na imunopatogenia da TB.