

## RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 28/11/2021.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JULIO DE MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Campus de Araraquara  
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Estudo da pentoxifilina sobre biomarcadores do estresse  
glico-oxidativo e da inflamação em camundongos  
submetidos ao modelo de obesidade e resistência à insulina**

**Maiara Destro Inácio**

Orientadora: Profa. Dra. Amanda Martins Baviera

**Araraquara, SP**

**2019**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JULIO DE MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Campus de Araraquara  
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Estudo da pentoxifilina sobre biomarcadores do estresse  
glico-oxidativo e da inflamação em camundongos  
submetidos ao modelo de obesidade e resistência à insulina**

**Maiara Destro Inácio**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Amanda Martins Baviera

**Araraquara, SP**

**2019**

- 
- I56e** Inácio, Maiara Destro.  
Estudo da pentoxifilina sobre biomarcadores do estresse glico-oxidativo e da inflamação em camundongos submetidos ao modelo de obesidade e resistência à insulina / Maiara Destro Inácio. – Araraquara: [S.n.], 2019.  
134 f. : il.
- Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.
- Orientador: Amanda Martins Baviera.
1. Obesidade. 2. Resistência à insulina. 3. Diabetes mellitus. 4. Estresse glico-oxidativo. 5. Pentoxifilina. I. Baviera, Amanda Martins, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA TESE: ESTUDO DA PENTOXIFILINA SOBRE BIOMARCADORES DO ESTRESSE GLICO-  
OXIDATIVO E DA INFLAMAÇÃO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO MODELO  
DE OBESIDADE E RESISTÊNCIA À INSULINA

**AUTORA: MAIARA DESTRO INÁCIO**

**ORIENTADORA: AMANDA MARTINS BAVIERA**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS, área de conhecimento: Sem Área de Conhecimento pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. AMANDA MARTINS BAVIERA  
Departamento de Análises Clínicas / FCF/ UNESP Araraquara

  
Profa. Dra. ISIS DO CARMO KETTELHUT  
Departamento de Bioquímica e Imunologia / FMRP - USP Ribeirão Preto  
Prof. Dr. LUIS CARLOS SPOLIDORIO  
Departamento de Fisiologia e Patologia / Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP  
Prof. Dr. PAULO INACIO DA COSTA  
Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara  
Profa. Dra. CAMILA RENATA CORREA CAMACHO  
Departamento de Clínica Médica / Faculdade de Medicina de Botucatu da UNESP

Araraquara, 28 de novembro de 2019

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço primeiramente à Deus pelo dom da vida, por me conceder saúde, por guiar e iluminar meus caminhos, me dando força e sabedoria para superar as dificuldades encontradas e me capacitar para realização deste trabalho.*

*Ao meu marido Felipe, meu especial agradecimento por ser esse companheiro maravilhoso e peça fundamental para realização deste trabalho. Se cheguei até aqui foi por você acreditar em mim (muito mais que eu mesma). Agradeço por todo zelo, amor, carinho, ajuda, compreensão e apoio.*

*Aos meus pais, José Valentim e Ester, por todo amor, compreensão e por sempre apoiarem meus objetivos, não medindo esforços para me ajudarem no que fosse necessário.*

*A minha irmã Raquel, ao meu cunhado Cassiano, aos meus sobrinhos Caio e Davi e a minha sogra Lucilene por todo amor, carinho e apoio.*

*A Profa. Dra. Amanda Martins Baviera pela paciência e dedicação em me orientar. Por ser uma grande incentivadora e apaixonada à pesquisa que muito me auxiliou para a conclusão deste trabalho. Agradeço também por todas as oportunidades de aprendizado e parcerias em trabalhos, contribuindo de forma relevante na minha formação acadêmica.*

*Ao Prof. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti que tive o privilégio em conviver, agradeço pela contribuição neste trabalho com valiosos ensinamentos de bancada e de vida, e por todo carinho e momentos de descontração no laboratório.*

*Ao Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio e ao José Antônio Sampaio Zuanon do Departamento de Fisiologia e Patologia da Faculdade de Odontologia da UNESP (Araraquara, SP) pela confecção das lâminas histológicas dos rins, e todo cuidado e atenção nas análises.*

*A Profa. Dra. Hérica Regina Nunes Salgado do Departameno de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP (Araraquara, SP) por gentilmente nos emprestar a gaiola metabólica de camundongo.*

*Ao técnico Renildo Moreira pela ajuda no biotério durante a realização do piloto deste trabalho.*

*A todos os amigos e companheiros do laboratório de Bioquímica e Enzimologia Clínicas, Carlos, Monalisa, Megley, Maíra, Anderson, Ingrid, Marcel, Juliana, Bruno, Tassiana, Camila, e em especial a Mariana, Renata e Tayra, cada um contribuindo da sua maneira e de acordo com sua habilidade, mas todos de forma indispensável. Agradeço por tudo que me ensinaram, por toda ajuda, apoio e agradáveis momentos que passamos juntos.*

*Aos amigos que Deus me presenteou em Araraquara e que me trouxeram conforto, alegria, apoio e carinho nesta trajetória, Leila, Jairo, Bruno, Aline Rigo, André, Aline Galliani, Monalisa e a todos os irmãos/irmãs da Igreja Presbiteriana Vale do Sol (Araraquara, SP) que oraram por mim, em especial a Janaína.*

*Aos amigos de longa data que mesmo distantes também me trouxeram conforto, alegria, apoio e carinho, Verônica, Fernanda, Egláia, Nathália, Angélica e Ana Célia.*

*A Universidade Estadual Paulista (UNESP) e ao programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.*

*A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo número 2016/23644–9, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo número 305936/2017–4, pelo apoio financeiro.*

*A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo durante todo o curso de doutorado.*

*A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.*

## RESUMO

A obesidade é considerada um problema de saúde pública devido a sua alta prevalência e incidência mundial, e está entre os principais fatores de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2, ambos levando à hiperglicemia. A manutenção da hiperglicemia por longos períodos é responsável pelo desenvolvimento de complicações microvasculares e macrovasculares, desencadeadas principalmente pelo estresse glico-oxidativo, caracterizado pelo aumento na formação de produtos finais de glicação avançada (AGE). A pentoxifilina, um derivado de metilxantina que atua como um inibidor não-seletivo de fosfodiesterases, tem sido utilizada para o tratamento da claudicação intermitente. No entanto, estudos pré-clínicos indicam que a pentoxifilina é eficaz na promoção de melhorias na resistência à insulina e complicações associadas à obesidade. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento com pentoxifilina em camundongos submetidos ao modelo de obesidade e resistência à insulina, com ênfase nas alterações de parâmetros fisiometabólicos, biomarcadores do estresse glico-oxidativo e da inflamação. Camundongos machos C57BL-6J foram alimentados durante 14 semanas com dieta padrão (P; 3,85 kcal/g, 4% lipídeos) ou com dieta hiperlipídica/hipercalórica (HL; 5,40 kcal/g; 35% de lipídeos). A partir da 7ª semana foram iniciados os tratamentos diários (*i.p.*) com veículo (salina 0,85%; grupos P e HL) ou com pentoxifilina (50 mg/kg; grupo HPTX), durante as próximas 7 semanas. Peso corporal e ingestão alimentar foram monitorados semanalmente. Nas 12ª e 13ª semanas foram realizados o teste de tolerância à glicose oral (TTGO) e o teste de tolerância à insulina (ITT), respectivamente. Na 14ª semana, os animais foram anestesiados, e em seguida, metade dos animais de cada grupo recebeu insulina (3,8 U/kg, *i.p.*) e a outra metade recebeu salina e, após 10 minutos dos respectivos estímulos, amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca (obtenção de plasma) e foram removidos, pesados e congelados os tecidos adiposos brancos, o tecido adiposo marrom interescapular (iTAM) e o músculo esquelético *gastrocnemius* para o estudo das alterações na fosforilação de AKT (Ser-473), bem como o fígado e rins para diversas análises: (i) marcadores bioquímicos plasmáticos; (ii) biomarcadores inflamatórios no soro e rim (TNF- $\alpha$ , IL-6 e MCP-1); (iii) hormônios no soro (insulina, leptina e resistina); (iv) atividades das enzimas antioxidantes, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) em fígado e rim, e paraoxonase 1 (PON 1) no plasma; (v) estimativa dos AGEs fluorescentes e (vi) substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em plasma, fígado e rim; (vii) conteúdo de triacilgliceróis no fígado e rim; (viii) nos rins foram realizadas análises histológicas e determinados os níveis proteicos do receptor de AGEs (RAGE), marcadores de apoptose (BAX e caspase-3), marcador de inflamação (NF- $\kappa$ B), componentes relacionados à detoxificação de AGEs (GLO 1 e AGE-R1), sensores metabólicos (PGC-1 $\alpha$  e AMPK) e do fator de transcrição de enzimas antioxidantes (NRF 2); (ix) por fim, no iTAM foram analisados componentes do programa termogênico (PGC-1 $\alpha$ , AMPK, NRF 2, SIRT 1, UCP 1) e do marcador de inflamação (NF- $\kappa$ B). Em comparação aos animais do grupo P, animais HL apresentaram: aumento no ganho de peso corporal e nas massas de tecidos adiposos, fígado e rim; aumento no conteúdo de triacilgliceróis no fígado e rim; aumento nos níveis de marcadores do estresse glico-oxidativo (TBARS e AGEs no plasma, fígado e rim); redução nas defesas antioxidantes endógenas (SOD, CAT, GSH-Px e PON 1); apresentaram intolerância à glicose, redução da sensibilidade à insulina e nos níveis de fosforilação de AKT estimulada por insulina nos tecidos adiposos e no músculo esquelético *gastrocnemius*; aumento nos níveis séricos de insulina, leptina, resistina, MCP-1 e TNF- $\alpha$ . Nos rins de animais HL, houve aumento na área glomerular; aumento nos níveis renais de MCP-1, TNF- $\alpha$  e IL-6; aumento nos níveis proteicos de RAGE, NF- $\kappa$ B, BAX e caspase-3 clivada; redução nos níveis proteicos de NRF 2, AGE-R1 e nos níveis proteicos/fosforilação de AMPK (Thr 172), mas não observou-se alteração em GLO 1. No iTAM de animais HL, houve diminuição nos níveis de



SIRT 1 e nos níveis de fosforilação de AMPK, e aumento nos níveis de PGC-1 $\alpha$ , UCP 1 e NF- $\kappa$ B, quando comparados aos animais do grupo P. Animais HPTX apresentaram menor ganho de peso corporal e menores massas dos tecidos adiposos, fígado e rim; redução no conteúdo de triacilgliceróis no fígado e rim; atenuação nas alterações morfológicas renais promovidas pela ingestão de dieta hiperlipídica; redução nos níveis dos biomarcadores do estresse glicoxidativo (TBARS e AGEs no plasma, fígado e rim), bem como aumento nas atividades de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GSH-Px e PON 1). O tratamento com pentoxifilina melhorou a tolerância à glicose, aumentou a sensibilidade à insulina e os níveis de fosforilação de AKT estimulada por insulina nos tecidos adiposos e no músculo esquelético *gastrocnemius*, além de reduzir os níveis séricos de insulina e leptina. Avanços foram conquistados na compreensão das ações protetoras da pentoxifilina nos rins de animais alimentados com dieta hiperlipídica, incluindo a redução de biomarcadores inflamatórios (TNF- $\alpha$ , MCP-1 e IL-6) e nos níveis proteicos de RAGE, BAX, caspase-3 e NF- $\kappa$ B, e aumento nos níveis de fosforilação de AMPK (Thr 172); e em relação aos componentes de detoxificação de AGEs, animais HPTX apresentaram aumento nos níveis proteicos de GLO 1 e redução de AGE-R1. No iTAM de animais HPTX, houve o aumento nos níveis proteicos de componentes do programa termogênico (NRF 2, SIRT 1, UCP 1) e redução do NF- $\kappa$ B. Em conjunto, os achados deste estudo apresentam evidências pré-clínicas que podem futuramente contribuir para o reposicionamento da pentoxifilina como uma opção para o tratamento da obesidade, diabetes mellitus e complicações associadas, com ênfase nas complicações renais.

**Palavras-chave:** obesidade; resistência à insulina; diabetes mellitus; estresse glico-oxidativo; pentoxifilina.

## ABSTRACT

Obesity is considered a public health problem due to its increased prevalence and incidence worldwide, and is one main risk factor for the development of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus, both leading to hyperglycemia. The maintenance of hyperglycemia for long periods is responsible for the onset of microvascular and macrovascular complications, mainly triggered by glycoxidative stress, characterized by the increased generation of advanced glycation end products (AGEs). Pentoxifylline, a methylxanthine derivative that acts as a non-selective inhibitor of phosphodiesterases, has been used for the treatment of intermittent claudication. However, preclinical studies indicate that pentoxifylline is effective in promoting improvements in insulin resistance and complications associated with obesity. The objective of this study was to investigate with emphasis in the changes in physiometabolic parameters, biomarkers of glyco-oxidative stress and inflammation of mice under an experimental model of high-fat diet-induced obesity and treated with pentoxifylline. C57BL-6J male mice were fed a standard diet (P; 3.85 kcal/g, 4% lipids) or a high-fat/hypercaloric diet (HFD, 5.40 kcal/g, 35% lipid) for 14 weeks. Daily treatments (*i.p.*) were performed with vehicle (0.85% saline, P and HL groups) or with pentoxifylline (50 mg/kg, HPTX group) from the 7<sup>th</sup> week, during the next 7 weeks. Body weight and food intake were monitored weekly. At 12<sup>th</sup> and 13<sup>th</sup> weeks, the oral glucose tolerance test (OGTT) and the insulin tolerance test (ITT) were performed, respectively. At the 14<sup>th</sup> week, the animals were anesthetized, and then, half of the animals from each group received insulin (3.8 U/kg, *i.p.*) and the other half received saline and, after 10 minutes of the respective stimulus, blood samples were collected by cardiac puncture (to obtain plasma), white adipose tissues, interscapular brown adipose tissues (iBAT) and skeletal muscles *gastrocnemius* were removed, weighed and frozen for the study of the changes in the phosphorylation of AKT (Ser-473) as well as liver and kidneys for several analyzes: (i) plasma biochemical markers; (ii) serum and renal inflammatory biomarkers (TNF- $\alpha$ , IL-6 and MCP-1); (iii) serum hormonal (insulin, leptin and resistin); (iv) activities of antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) in liver and kidney, and paraoxonase 1 (PON 1) in plasma; (v) estimation of fluorescent AGEs and (vi) thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in plasma, liver and kidney; (vii) triacylglycerol content in liver and kidney; (viii) in the kidneys were performed histological analysis and determined the protein levels of the AGE receptor (RAGE), markers of apoptosis (BAX and caspase-3), inflammation marker (NF- $\kappa$ B), components related to the detoxification of AGEs (GLO 1 and AGE-R1), metabolic sensors (PGC-1 $\alpha$  and AMPK) and transcription factor for antioxidant enzymes and GLO 1 (NRF 2); (ix) finally, in the iBAT were analyzed components of the thermogenic program (PGC-1 $\alpha$ , AMPK, NRF 2, SIRT 1, UCP 1) and the inflammation marker (NF- $\kappa$ B). In comparison to P animals, HL animals showed: increase in body weight gain and in the weights of adipose tissues, liver and kidney; increased levels of glycoxidative stress markers (TBARS and AGEs in plasma, liver and kidney); increased content of triacylglycerols in liver and kidney; reduction in endogenous antioxidant defenses (SOD, CAT, GSH-Px, and PON 1); HL animals showed glucose intolerance, reduced insulin sensitivity and phosphorylation levels of insulin-stimulated AKT in adipose tissues and skeletal muscle *gastrocnemius*; increased serum insulin, leptin, resistin levels; and increased renal TNF- $\alpha$  and MCP-1 levels. In the kidneys of HL animals, there was an increase in the glomerular area; increased renal levels of MCP-1, TNF- $\alpha$  and IL-6; increase in the protein levels of RAGE, NF- $\kappa$ B, BAX and cleaved caspase-3, and reduction in the protein levels of NRF 2, AMPK protein levels/phosphorylation (Thr 172) and AGE-R1, however there was no change in GLO 1. In iBAT of HL animals, there was a reduction in the levels of SIRT 1 and in the AMPK phosphorylation, and an increase in the levels of PGC-1 $\alpha$ , UCP 1 and NF- $\kappa$ B, when compared to P animals. HPTX animals had lower body weight gain, minor weights of adipose tissues,

liver and kidney, attenuation in renal morphological alterations caused by the ingestion of high-fat diet, as well as reduction in biomarkers of glycoxidative stress (TBARS and AGEs in plasma, liver and kidney), increases in the activities of antioxidant enzymes (SOD, CAT, GSH-Px and PON 1). The treatment with pentoxifylline improved the insulin sensitivity, increased glucose tolerance and the phosphorylation levels of insulin-stimulated AKT in adipose tissues and skeletal muscle *gastrocnemius*, as well as reducing serum insulin and leptin levels. Advances were achieved in the understanding of the protective actions of pentoxifylline in kidneys of animals fed a high-fat diet, including reduction of inflammatory biomarkers (TNF- $\alpha$ , MCP-1 and IL-6) and protein levels of the receptor RAGE, BAX, caspase-3 and NF- $\kappa$ B, and increase in AMPK phosphorylation levels (Thr 172); about AGE detoxification-related components, HPTX animals showed increased GLO 1 protein levels and reduced AGE-R1. There was an increase in the protein levels of NRF 2, SIRT 1 and UCP 1, and reduction of NF- $\kappa$ B in iBAT of HPTX animals. Taken together, the findings of this study indicate preclinical evidence that may contribute, in the future, to repositioning pentoxifylline as an option for the treatment of obesity, diabetes mellitus and associated complications, with emphasis on renal complications.

**Keywords:** obesity; insulin resistance; diabetes mellitus; glycoxidative stress; pentoxifylline.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfologia de um glomérulo renal saudável (A) e glomérulo renal com mudanças estruturais na doença renal crônica (DRC) (B).....	<b>31</b>
<b>Figura 2.</b> Espécies reativas e sistemas antioxidantes.....	<b>35</b>
<b>Figura 3.</b> Formação de compostos dicarbonílicos e produtos finais de glicação avançada (AGEs).....	<b>37</b>
<b>Figura 4.</b> Estruturas moleculares da pentoxifilina e seus metabólitos (M).....	<b>42</b>
<b>Figura 5.</b> Curva de calibração de 1,1'3,3'-tetrametoxipropano em espectrofluorímetro (A) e em espectrofotômetro (B).....	<b>54</b>
<b>Figura 6.</b> Curva de calibração de albumina bovina sérica para dosagem de proteínas totais no plasma e dos sobrenadantes dos tecidos analisados.....	<b>56</b>
<b>Figura 7.</b> Curva de calibração de albumina bovina sérica para dosagem de proteínas totais na urina de 24 horas.....	<b>57</b>
<b>Figura 8.</b> Curva de calibração de triacilglicerol.....	<b>59</b>
<b>Figura 9.</b> Evolução do peso corporal (A), ganho de peso corporal total (B), massa dos tecidos adiposos brancos epididimal (C) e retroperitoneal (D) de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>61</b>
<b>Figura 10.</b> Teste tolerância à glicose oral (A), AUC da glicemia no TTGO (B) e glicemia de jejum de 12 horas (C) de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>63</b>
<b>Figura 11.</b> Níveis de TBARS no plasma (A), fígado (B) e rim (C) de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>65</b>
<b>Figura 12.</b> Estimativa dos AGEs fluorescentes no plasma de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>66</b>
<b>Figura 13.</b> Atividade da paraoxonase 1 no plasma de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>66</b>

<b>Figura 14.</b> Evolução do peso corporal (A), ganho de peso corporal total (B), ingestão alimentar (C) e ingestão energética média (D) de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>69</b>
<b>Figura 15.</b> Massas (mg) dos tecidos adiposos branco retroperitoneal (A), epididimal (B), subcutâneo (C) e tecido adiposo marrom interescapular (D) corrigidos pelo comprimento da tibia (mm) de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>70</b>
<b>Figura 16.</b> Conteúdo de triacilgliceróis no rim (A) e no fígado (B) de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>72</b>
<b>Figura 17.</b> Níveis séricos de insulina (A), leptina (B) e resistina (C) de animais alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>73</b>
<b>Figura 18.</b> Níveis séricos de TNF- $\alpha$ (A), IL-6 (B) e MCP-1 (C) de animais alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>74</b>
<b>Figura 19.</b> Teste de tolerância à glicose oral (A), AUC da glicemia no TTGO (B), glicemia de jejum de 12 horas (C), teste de tolerância à insulina (D), AUC da glicemia no ITT (E) glicemia de jejum de 6 horas (F) de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>76</b>
<b>Figura 20.</b> Fosforilação da AKT (basal e estimulada por insulina) nos tecidos adiposos brancos epididimal (A), subcutâneo (B) e no tecido adiposo marrom interescapular (C) de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>78</b>
<b>Figura 21.</b> Fosforilação da AKT (basal e estimulada por insulina) no musculo esquelético <i>gastrocnemius</i> de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>79</b>
<b>Figura 22.</b> Estimativa dos AGEs fluorescentes (A), níveis de frutossamina (B), níveis de TBARS (C) e atividade de PON 1 (D) no plasma de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina .....	<b>80</b>

<b>Figura 23.</b> Estimativa dos AGEs fluorescentes (A), níveis de TBARS (B) e atividades das enzimas antioxidantes SOD (C), CAT (D) e GSH-Px (E) no fígado de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>81</b>
<b>Figura 24.</b> Imagens representativas de cortes histológicos de rins corados em H&E (ampliação de 400x) (A); células tubulares vacuolizadas (setas) (B); glomérulo (C); densidade (%) de túbulos contendo células vacuolizadas (D); área glomerular (E) e relação de proteína total e creatinina urinária (F) de animais alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>83</b>
<b>Figura 25.</b> Estimativa dos AGEs fluorescentes (A) e níveis de TBARS (B) nos rins de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>84</b>
<b>Figura 26.</b> Níveis de TNF- $\alpha$ (A), IL-6 (B) e MCP-1 (C) nos rins de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>85</b>
<b>Figura 27.</b> Atividade das enzimas antioxidantes SOD (A), CAT (B) e GSH-Px (C) nos rins de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>86</b>
<b>Figura 28.</b> Efeito da pentoxifilina (1 mM) e aminoguanidina (1 mM) sobre a estimativa da formação de AGEs fluorescentes <i>in vitro</i> , nas incubações de BSA na presença de glicose nas concentrações de 160 mM (A) e de 500 mM (B), após 14 dias.....	<b>88</b>
<b>Figura 29.</b> Níveis proteicos do receptor RAGE (A), do fator de transcrição nuclear NF- $\kappa$ B (B), dos efetores de apoptose BAX (C) e caspase-3 clivada (D) nos rins de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>89</b>
<b>Figura 30.</b> Níveis proteicos de p-AMPK/AMPK (A), PGC-1 $\alpha$ (B), SIRT 1 (B), NRF 2 (C), GLO 1 (D) e AGER-R1 (E) nos rins de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>91</b>

**Figura 31.** Níveis proteicos do receptor do fator de transcrição nuclear NF- $\kappa$ B (A), SIRT 1 (B), p-AMPK/AMPK (C), PGC-1 $\alpha$  (D), NRF 2 (E) e UCP 1 (F) no tecido adiposo marrom interescapular de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....**93**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição das dietas padrão (P) e hiperlipídica (HL).....	<b>48</b>
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros bioquímicos plasmáticos de camundongos alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>62</b>
<b>Tabela 3.</b> Massas do músculo esquelético <i>gastrocnemius</i> , fígado, coração e rim (mg) corrigidas pelo comprimento da tíbia (mm) de animais alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>71</b>
<b>Tabela 4.</b> Níveis plasmáticos de colesterol total, colesterol HDL, triacilgliceróis, ALT, ALP, ácido úrico, creatinina e albumina de animais alimentados com as dietas P e HL e tratados com pentoxifilina.....	<b>71</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ACC</b>	Acetil-CoA carboxilase
<b>AGEs</b>	Produtos finais de glicação avançada
<b>AGE-R1</b>	<i>AGE receptor R1</i>
<b>AGL</b>	Ácidos graxos livres
<b>AKT</b>	Proteína quinase B
<b>ALP</b>	Fosfatase alcalina
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferase
<b>AMP</b>	Adenosina monofosfato
<b>AMPC</b>	Adenosina 3,5-monofosfato cíclico
<b>AMPK</b>	Proteína quinase ativada por adenosina monofosfato
<b>ApoB</b>	Apolipoproteína B
<b>ATGL</b>	<i>Adipose triglyceride lipase</i>
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>AUC</b>	Área sob a curva
<b>BAX</b>	Proteína X associada a bcl-2
<b>BSA</b>	Albumina sérica bovina
<b>CAMKK<math>\beta</math></b>	Proteína quinase dependente de Ca <sup>2+</sup> /calmodulina $\beta$
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CD36</b>	Ácido graxo translocase
<b>CETP</b>	Proteína de transferência de éster de colesterol
<b>CRE</b>	Elemento regulador do AMPC
<b>CREB</b>	Proteína de ligação responsiva ao AMPC
<b>DDOST</b>	<i>Dolichyl-diphosphooligosaccharide</i>
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DRC</b>	Doença renal crônica
<b>EPAC</b>	<i>Exchange Protein Activated by cAMP</i>
<b>ERO</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>FADH<sub>2</sub></b>	Flavina adenina dinucleotídeo na forma reduzida
<b>FATP</b>	Proteína transportadora de ácidos graxos
<b>GAPDH</b>	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
<b>GLO 1</b>	Glioxalase 1

<b>GLUT</b>	Transportador de glicose
<b>GMPc</b>	Guanosina monofosfato cíclico
<b>GSH</b>	Glutationa reduzida
<b>GSH-Rd</b>	Glutationa redutase
<b>GSH-Px</b>	Glutationa peroxidase
<b>HDL</b>	Lipoproteína de alta densidade
<b>HMG-CoA</b>	3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA
<b>IDL</b>	Lipoproteína de densidade intermediária
<b>IKK-β</b>	Ikappa quinase beta
<b>IL-1β</b>	Interleucina-1β
<b>IL-6</b>	Interleucina-6
<b>IR</b>	Receptor de insulina
<b>IRS-1</b>	Substrato do receptor de insulina 1
<b>ITT</b>	Teste de tolerância à insulina
<b>JNK</b>	c-Jun N-terminal quinase
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baixa densidade
<b>LDL-ox</b>	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
<b>LHS</b>	Lipase hormônio sensível
<b>LKB1</b>	Quinase B1 do fígado
<b>MAPK</b>	Proteína ativada por mitogênio p38 quinase
<b>MCP-1</b>	Proteína quimiotática de monócito do tipo 1
<b>MEC</b>	Matriz extracelular
<b>NAD<sup>+</sup></b>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma oxidada
<b>NADH</b>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma reduzida
<b>NADP<sup>+</sup></b>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma oxidada
<b>NADPH</b>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma reduzida
<b>NAFLD</b>	<i>Nonalcoholic fatty liver disease</i>
<b>NASH</b>	<i>Nonalcoholic steatohepatitis</i>
<b>NF-κB</b>	Fator de transcrição nuclear kappa B
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NRF 2</b>	Fator nuclear eritróide 2
<b>PDE</b>	Inibidor de fosfodiesterase
<b>PGC-1α</b>	Coativador-1 alfa do receptor ativado por PPAR gama

<b>PI3K</b>	Fosfatidilinositol-3-quinase
<b>PKA</b>	Proteína quinase dependente de AMPc
<b>PKC</b>	Proteína quinase C
<b>PNPLA3</b>	<i>Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3</i>
<b>PON 1</b>	Paraoxonase 1
<b>PPA2</b>	Proteína fosfatase A2
<b>PPAR</b>	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma
<b>QM</b>	Quilomicron
<b>RAGE</b>	<i>Receptor for AGEs</i>
<b>RE</b>	Retículo endoplasmático
<b>SIRT 1</b>	Sirtuína 1
<b>SOD</b>	Superóxido dismutase
<b>SREBP</b>	Proteína 1c ligadora do elemento regulatório de esterol
<b>TAB</b>	Tecido adiposo branco
<b>TAM</b>	Tecido adiposo marrom
<b>TBA</b>	Ácido tiobarbitúrico
<b>TBARS</b>	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
<b>TFG</b>	Taxa de filtração glomerular
<b>TGF-β</b>	Fator de crescimento transformador-β
<b>TLR 4</b>	<i>Toll like receptor 4</i>
<b>TNF-α</b>	Fator de necrose tumoral-α
<b>TTGO</b>	Teste de tolerância à glicose oral
<b>UCP 1</b>	Proteína desacopladora 1
<b>UPR</b>	<i>Unfolded protein response</i>
<b>VEGF-β</b>	Fator de crescimento endotelial-β
<b>VLDL</b>	Lipoproteína de densidade muito baixa
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

**RESUMO**

**ABSTRACT**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABELAS**

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>24</b>
2.1 Tecidos adiposos branco e marrom .....	24
2.2 Adipocinas.....	25
2.3 Obesidade e resistência à insulina .....	27
2.4 Lipotoxicidade e disfunção renal.....	30
2.5 Estresse glico-oxidativo no diabetes mellitus e na obesidade .....	34
2.6 Pentoxifilina.....	41
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>46</b>
3.1 Objetivo Geral .....	46
3.2 Objetivos Específicos .....	46
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
4.1 Animais, dietas e desenho experimental.....	47
4.1.1 Experimento piloto: definição de dose de pentoxifilina (25, 50 ou 100 mg/kg) em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica .....	47
4.1.2 Experimento definitivo: efeitos do tratamento com pentoxifilina (50 mg/kg) em parâmetros fisiometabólicos e biomarcadores do estresse glico-oxidativo em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica. ....	49
4.2 Análise histológica.....	51
4.3 Biomarcadores do metabolismo de carboidratos, lipídeos e função hepática e renal .....	51
4.4 Hormônios e biomarcadores inflamatórios.....	53
4.5 Níveis plasmáticos de frutossamina.....	53
4.6 Biomarcador de peroxidação lipídica .....	53
4.7 Atividades de enzimas antioxidantes.....	54

4.7.1 Preparo das amostras para determinação das atividades das enzimas antioxidantes, SOD, CAT e GSH-Px.....	54
4.7.2 Atividade da superóxido dismutase (SOD) .....	54
4.7.3 Atividade da catalase (CAT) .....	54
4.7.4 Atividade da glutathiona peroxidase (GSH-Px) .....	55
4.7.5 Atividade da paraoxonase (PON 1) .....	55
4.8 Estimativa dos produtos finais de glicação avançada (AGEs) .....	55
4.9 Dosagem de proteínas totais no plasma e dos sobrenadantes dos tecidos analisados .....	56
4.10 Dosagem de proteínas totais na urina de 24 horas.....	56
4.11 Western blotting.....	57
4.12 Estudo do potencial antiglicação da pentoxifilina via sistema-modelo de glicação <i>in vitro</i> .....	58
4.13 Conteúdo tecidual de triacilgliceróis.....	58
4.14 Análise estatística .....	59

## **5. RESULTADOS ..... 60**

5.1 Experimento piloto: Avaliação de parâmetros fisiometabólicos e de biomarcadores do estresse glico-oxidativo em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e tratados pentoxifilina (25, 50 e 100 mg/kg).....	60
5.1.1 Parâmetros fisiológicos.....	60
5.1.2 Parâmetros bioquímicos plasmáticos.....	61
5.1.3 Teste de tolerância à glicose oral .....	62
5.1.4 Marcadores de estresse glico-oxidativo e atividade da enzima antioxidante PON 1 .....	64
5.2 Experimento definitivo: Avaliação de parâmetros fisiometabólicos e biomarcadores do estresse glico-oxidativo em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e tratados com pentoxifilina (50 mg/kg) .....	68
5.2.1 Parâmetros fisiológicos.....	68
5.2.2 Parâmetros bioquímicos plasmáticos, hormonais e inflamatórios.....	71
5.2.3 Caracterização da intolerância à glicose e sensibilidade à insulina.....	74

5.2.4 Níveis de fosforilação de AKT em tecidos adiposos brancos epididimal e subcutâneo, tecido adiposo marrom interescapular e no músculo esquelético <i>gastrocnemius</i> .....	77
5.2.5 Parâmetros relacionados a inflamação, estresse glico-oxidativo e potencial antioxidante.....	79
5.2.6 Estudo do potencial antiglicação da pentoxifilina em sistema-modelo de glicação proteica em <i>in vitro</i> .....	86
5.2.7 Efeito da pentoxifilina nos componentes relacionados à via da sinalização do receptor RAGE em rins de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica .....	88
5.2.8 Efeito da pentoxifilina em componentes relacionados aos sensores metabólicos e à detoxificação dos AGEs em rins de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica .....	90
5.2.9 Efeito da pentoxifilina em componentes relacionados ao programa termogênico no tecido adiposo marrom interescapular de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica .....	92
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>94</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>112</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>113</b>
<b>9. ANEXOS .....</b>	<b>135</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O desequilíbrio energético entre a quantidade de calorias consumidas e a quantidade de calorias gastas em geral contribui para a instalação do excesso de peso corporal e da obesidade (SAMPLE et al., 2015; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015). Nas últimas décadas houve uma grande mudança no padrão alimentar da população em geral, que substituiu a alimentação tradicional, constituída principalmente por cereais, verduras e carnes, por alimentos ultraprocessados, ricos em energia e gorduras saturadas. Outro componente comportamental é a atividade física, condicionado também por fatores socioeconômicos e culturais, onde adotou-se um estilo de vida sedentário, inclusive nas muitas formas de trabalho, lazer e tipos de transporte (VANDEVIJVERE et al., 2015). Além destes fatores, a obesidade tem outras causas que incluem os fatores genéticos e fisiológicos (ALBUQUERQUE et al., 2017).

Atualmente, a obesidade é considerada um problema de saúde pública devido a sua alta prevalência e incidência mundiais. Pesquisa realizada pela Organização Mundial da Saúde (WHO, *World Health Organization*) indica que o número de casos de obesidade ao redor do mundo quase triplicou nos últimos 40 anos. Em 2016, a WHO estimou que 1,9 bilhão de adultos tinham sobrepeso, sendo que destes mais de 650 milhões eram obesos. Vale ressaltar o drástico aumento de crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade, de 4% em 1975 para cerca de 18% em 2016; 41 milhões de crianças com idade inferior a 5 anos encontram-se neste contexto (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015). De acordo com dados do Ministério da Saúde, nos últimos 10 anos no Brasil houve um aumento de 26% nos casos de indivíduos com excesso de peso e de 60% com obesidade (BRASIL, 2018).

A obesidade é um fator de risco para diversas patologias e comorbidades, incluindo síndrome metabólica, doença renal crônica (DRC), doença cardiovascular, diabetes mellitus (DM) tipo 2, certos tipos de câncer, doença hepática gordurosa não alcoólica (*nonalcoholic fatty liver disease*, NAFLD), dentre outros. Além disso, as consequências psicológicas devido ao estigma ou discriminação do elevado peso corporal estão associadas à depressão, ansiedade e bulimia (WILLIAMS et al., 2015). Para a sociedade, estas doenças associadas à obesidade exigem altos gastos com saúde pública, e ainda acarretam na perda de qualidade de vida e redução no crescimento econômico (TREMMELE et al., 2017).

Diante disso, a prevenção e o tratamento da obesidade são cruciais. Na clínica, a terapia nutricional é comumente utilizada (dietas hipocalóricas e atividade física), em conjunto com o uso de fármacos que controlam o apetite e/ou alteram a absorção de nutrientes (MONTEIRO,

2014). Em adição, produtos de origem natural também têm sido utilizados como suplemento alimentar para contribuir na perda de peso; dentre estes, podemos citar as metilxantinas (cafeína, teobromina, teofilina), que tem apresentado um crescente interesse em pesquisas visando a comprovação da sua eficácia na promoção de perda de peso corporal (CARRAGETA et al., 2018).

A pentoxifilina é um derivado de metilxantina e tem sido utilizada na clínica para o tratamento dos sintomas associados à claudicação intermitente (RALL, 1990). No entanto, evidências recentes indicam efeitos benéficos deste fármaco em diversas desordens metabólicas (ZHANG et al., 2004; ACEDO et al., 2015, ARCARO et al., 2018). Diante das diversas propriedades farmacológicas da pentoxifilina em potencial, esta torna-se um interessante candidato para o reposicionamento de fármacos, uma proposta da indústria farmacêutica para a descoberta de novos usos terapêuticos de medicamentos já prescritos, visando redução de riscos, tempo e gastos com o desenvolvimento de pesquisas (KHANAPURE; CHUKI; DE SOUSA, 2014).

Apesar de novos compostos terem sido recentemente identificados para o tratamento da obesidade, as opções farmacológicas permanecem ainda bastante limitadas (MONTEIRO, 2014). Assim, torna-se importante a investigação das ações da pentoxifilina quanto ao seu potencial anti-obesogênico e quanto a sua efetividade na prevenção/tratamento de complicações associadas. Utilizando um modelo experimental de obesidade e resistência à insulina induzido por dieta hiperlipídica em camundongos, podemos contribuir com evidências para o reposicionamento da pentoxifilina. O modelo experimental escolhido tem sido utilizado por muitos estudos pré-clínicos, uma vez que mimetiza a fisiopatologia e as comorbidades da obesidade em humanos.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Tecidos adiposos branco e marrom

O tecido adiposo é um órgão central na regulação da homeostase energética no organismo. Em comparação a outros órgãos e tecidos do corpo, o tecido adiposo apresenta a capacidade única de armazenamento do excesso de energia na forma de triacilgliceróis nos adipócitos (LUO; LIU, 2016).

Há dois principais tipos de tecidos adiposos. O tecido adiposo branco (TAB) é especializado no armazenamento de energia na forma de triacilgliceróis (GESTA; TSENG; KAHN, 2007), e o tecido adiposo marrom (TAM) tem papel fundamental no controle da temperatura corporal, além de influenciar no peso corporal, pois faz a conversão de energia química de biomoléculas, principalmente ácidos graxos e glicose, em energia térmica (CELI; LE; NI, 2015). O TAB pode diferenciar-se em TAM, formando o tecido adiposo bege pelo processo conhecido como *browning*, e tem como uma das principais características o aumento na expressão da proteína desacopladora 1 (UCP 1) e do coativador-1 alfa do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PGC-1 $\alpha$ ) (MONTANARI; POŠĆIĆ; COLITTI, 2017).

Nos seres humanos, o TAB localizado ao redor de órgãos internos é subdividido em dois tipos de depósitos de gordura, o TAB subcutâneo e o TAB visceral. O TAB visceral está localizado preferencialmente na cavidade abdominal e encontra-se intimamente associado às complicações metabólicas, tais como resistência à insulina e DM tipo 2. Extrapolando para a anatomia em roedores, parte do TAB visceral em humanos é considerado o TAB epididimal (eTAB) nos roedores machos, localizado ao redor dos testículos, enquanto que o TAB subcutâneo (sTAB) está localizado na região posterior inguinal (CHOE et al., 2016). Em camundongos, o TAM localiza-se principalmente na região interescapular (iTAM) (CANNON; NEDERGAARD, 2004); já em humanos, é encontrado em maiores quantidades em recém-nascidos, sendo substituído por TAB com o envelhecimento (CHOE et al., 2016).

O TAM possui alta concentração de mitocôndrias que expressam a proteína UCP 1, presente na membrana interna da mitocôndria como componente da cadeia transportadora de elétrons. A UCP 1 tem a função de dissipar, na forma de calor, o gradiente eletroquímico de prótons gerado pela cadeia transportadora de elétrons, via processo denominado termogênese (CANNON; NEDERGAARD, 2004; TOWNSEND; TSENG, 2012). A ativação do TAM após exposição a um ambiente frio, ocorre através do sistema nervoso simpático, com a liberação de

noradrenalina que, ao se ligar nos receptores  $\beta$ -adrenérgicos, ativa vias de sinalização intracelulares que culminam no aumento dos níveis intracelulares de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc). Este segundo mensageiro é o responsável por ativar a proteína quinase dependente de AMPc (PKA), que fosforila e ativa a enzima lipase hormônio sensível (LHS), responsável por hidrolisar os estoques intracelulares de triacilgliceróis em ácidos graxos livres (AGL), os quais são transportados para a matriz mitocondrial e oxidados via  $\beta$ -oxidação. A oxidação destes lipídeos no TAM é um dos principais indutores da termogênese. A ativação de PKA também estimula a transcrição de UCP 1 pela ativação do fator de transcrição CREB (proteína de ligação responsiva ao AMPc) e da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK p38); CREB liga-se a região promotora do gene UCP 1, denominado de elemento regulador do AMPc (CRE), enquanto a jusante MAPK p38 fosforila PGC-1 $\alpha$  e sua translocação para o núcleo aonde estimulará a expressão de UCP 1 (TOWNSEND; TSENG, 2012).

Outro mecanismo promotor da termogênese ocorre pelo estímulo à biogênese mitocondrial, ativado por estresse celular ou em resposta a estímulos ambientais (BHATTI, BHATTI; REDDY, 2017). A formação de novas mitocôndrias ocorre principalmente via coativador PGC-1 $\alpha$ , pela interação com diversos fatores de transcrição, dentre eles o fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator 2 (NRF 2) o responsável pela transcrição de genes cujo produtos proteicos são necessários para a regulação da biogênese mitocondrial, respiração celular,  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa (BHARGAVA; SCHNELLMANN, 2017). Em condições de restrição calórica e exercício físico ocorre o aumento do conteúdo de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>) nos tecidos, ativando assim a sirtuína 1 (SIRT 1), e o aumento na relação AMP/ATP (adenosina monofosfato/adenosina trifosfato) ativando a proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK). AMPK e SIRT 1 são dois importantes sensores metabólicos reguladores da biogênese mitocondrial e da termogênese, via fosforilação e desacetilação do PGC-1 $\alpha$ , respectivamente (BHATTI; BHATTI; REDDY, 2017).

## **2.2 Adipocinas**

O tecido adiposo também desempenha função endócrina e moduladora da resposta imune, uma vez que produz e secreta moléculas bioativas denominadas adipocinas. As adipocinas são classificadas como hormônios, fatores de crescimento, fatores angiogênicos e citocinas (PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014). A disfunção do tecido adiposo observada na obesidade culmina em desregulação na produção e secreção das adipocinas, podendo contribuir

para a patogênese das complicações relacionadas à obesidade (OUCHI et al., 2011). Dentre as principais adipocinas que tipicamente participam da instalação da obesidade e de doenças metabólicas, podemos citar a leptina, fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6), resistina e proteína quimiotática de monócito do tipo 1 (MCP-1 ou CCL2). Embora em menor quantidade, o tecido adiposo também produz e secreta adipocinas anti-inflamatórias, tais como adiponectina, IL-10 e SFRP5 (*frizzled-related protein 5*) (OUCHI et al., 2011).

As adipocinas atuam de forma parácrina, autócrina e endócrina, influenciando na secreção de outras citocinas e quimiocinas, fatores hormonais e de crescimento, além de interferir nas ações de insulina e no metabolismo de lipídeos e glicose (PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014); suas ações são mediadas principalmente pela ligação aos seus respectivos receptores de membrana, presente nas células-alvo, e desencadeando vias de sinalização intracelulares (LUO; LIU, 2016).

A leptina é um hormônio produzido predominantemente pelo tecido adiposo branco em relação proporcional e direta à massa corporal (PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014). Pequenas elevações nos níveis circulantes de leptina promovem redução da ingestão alimentar e conseqüentemente do gasto energético, através da ligação em seu receptor altamente expresso no núcleo arqueado do hipotálamo, um centro primário de controle do apetite (GRUZDEVA et al., 2019; PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014). Os receptores de leptina também são expressos em outros tecidos, tais como pulmão, fígado, baço, rins, glândula adrenal e tecidos reprodutivos (HARRIS, 2014). No entanto, na obesidade, apesar do aumento nas concentrações plasmáticas de leptina (hiperleptinemia), o seu efeito anoréxico está diminuído devido ao desenvolvimento de resistência à leptina (KNIGHT et al., 2010), podendo estar relacionado a defeitos no receptor da leptina, na sinalização intracelular ou à diminuição do transporte de leptina pela barreira hematoencefálica (GRUZDEVA et al., 2019; PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014). O tratamento de pacientes obesos com leptina não é capaz de promover a perda de peso corporal, devido a maioria destes indivíduos exibirem resistência à leptina. No entanto, medicamentos que melhoram a sensibilidade à leptina são potenciais alvos de estudo no tratamento da obesidade (PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014).

A resistina é um hormônio conhecido por promover resistência à insulina e inflamação (PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014). Estudos apontam que a síntese de resistina em roedores ocorre de forma restrita nos adipócitos, enquanto que em humanos é produzida principalmente por macrófagos e monócitos (OUCHI et al., 2011). Os mecanismos de ação da resistina ainda não estão totalmente elucidados. Os prováveis receptores da resistina são um fragmento da decorina e o receptor do tipo *toll-like-4* (TLR-4), sendo os principais órgãos-alvo o fígado, o

tecido adiposo e o músculo esquelético (PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014). O tratamento de adipócitos 3T3-L1 com resistina atenuou a ativação de várias proteínas da via de sinalização da insulina, dentre elas a fosforilação do receptor de insulina (IR), a fosforilação do substrato de receptor de insulina 1 (IRS-1), a ativação da fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) e a ativação da proteína quinase B (PKB ou AKT). Além disso, o tratamento com resistina marcadamente estimula a expressão gênica do supressor da sinalização de citocinas 3 (SOCS-3), um conhecido inibidor da sinalização de insulina (STEPPAN et al., 2005). A resistina também induz a transcrição de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-6, TNF- $\alpha$  e MCP-1, via ativação de fatores de transcrição, incluindo o fator de transcrição nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), bem como via ativação da proteína ativada por MAPK p38 (CODONER-FRANCH; ALONSO-IGLESIAS, 2015). Como os níveis de resistina estão elevados em vários modelos animais de obesidade, ela é uma adipocina alvo para os estudos de descoberta de fármacos sensibilizadores das ações da insulina com potencial para o tratamento do DM associado à obesidade (SCHWARTZ; LAZAR, 2011).

### **2.3 Obesidade e resistência à insulina**

A obesidade está entre os principais fatores de risco para o desenvolvimento da resistência à insulina e do DM tipo 2, onde cerca de 90% dos casos de DM é atribuído ao excesso de peso corporal (HOSSAIN; KAWAR; EL NAHAS, 2007). A resistência à insulina caracteriza-se pela redução da capacidade dos tecidos sensíveis à insulina de regularem a homeostase do metabolismo energético quando o hormônio é secretado em níveis normalmente suficientes. A combinação entre dislipidemia e a progressão da hiperglicemia devido ao estabelecimento da resistência à insulina favorece a disfunção das células  $\beta$  pancreáticas, com progressiva deterioração de sua função e promoção de apoptose celular, tornando-as incapazes de secretar quantidades adequadas do hormônio. Diante disso, instala-se definitivamente o quadro de DM tipo 2 (CEFALU, 2001).

O acúmulo de lipídeos nos tecidos adiposos ocorre pela combinação entre a ingestão excessiva de calorias e o estilo de vida sedentário, causando assim a deposição do excesso de energia nos adipócitos na forma de triacilgliceróis, com subsequente hipertrofia adipocítica (SAMPLE et al., 2015). A expansão do tecido adiposo impede o suprimento local de oxigênio de forma adequada, gerando focos de hipóxia e conseqüentemente ocorre a ativação de vias de estresse intracelular e a liberação de fatores proteicos, incluindo MCP-1, que exerce atividade quimioatrativa dos macrófagos M1. Estes macrófagos exibem fenótipo pró-inflamatório,

secretando citocinas, tais como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 que, por sua vez, desencadeiam resposta inflamatória (LUCA; OLEFSKY, 2008; SALTIEL; OLEFSKY, 2017). Estas citocinas pró-inflamatórias encontram-se associadas a efeitos inibitórios sobre a via de sinalização da insulina (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993; REHMAN; AKASH, 2016).

Em adipócitos e células musculares, o disparo da via de sinalização do TNF- $\alpha$  leva à ativação das proteínas quinases Ikappa quinase beta (IKK $\beta$ ) e c-Jun N-terminal quinase (JNK), que promovem a fosforilação de IRS-1 em resíduos de serina, prejudicando a ativação da AKT 2 que, por sua vez, não estimula a translocação das vesículas contendo os transportadores de glicose do tipo 4 (GLUT 4) para as membranas plasmáticas das células na musculatura esquelética e tecidos adiposos, deste modo prejudicando a captação de glicose. O comprometimento desta via é um importante indicador da instalação de resistência à insulina nos tecidos periféricos, culminando no aumento dos níveis circulantes de glicose (SAMUEL; SHULMAN, 2012; PETERSEN; SHULMAN, 2018). Além disso, o TNF- $\alpha$  estimula a lipólise dos triacilgliceróis nos adipócitos, liberando AGL na circulação. Os AGL saturados podem se ligar ao receptor TLR 4 e assim ativar a via JNK/IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B em macrófagos, adipócitos, células musculares e hepatócitos. A ativação da proteína IKK $\beta$  promove a degradação do I $\kappa$ B e conseqüentemente a dissociação do complexo I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B no citoplasma, permitindo a translocação do fator de transcrição NF- $\kappa$ B até o núcleo da célula, evento este que culmina no aumento da transcrição de citocinas pró-inflamatórias (SAMUEL; SHULMAN, 2012; PETERSEN; SHULMAN, 2018). Deste modo, estabelece-se um círculo vicioso que agrava o *status* inflamatório sistêmico (MAURY; BRICHARD, 2010).

Os AGL gerados a partir da lipólise dos triacilgliceróis armazenados nos adipócitos ou aqueles provenientes da dieta como produtos da hidrólise de triacilgliceróis presentes em quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) ou lipoproteína de densidade intermediária (IDL), podem ser esterificados em triacilgliceróis e acumularem-se em outros órgãos e tecidos não adiposos, incluindo rins, músculo esquelético, fígado, coração e pâncreas (MAURY; BRICHARD, 2010; SAMUEL; SHULMAN, 2012). Este acúmulo ectópico de lipídeos, especialmente no músculo esquelético e no fígado, órgãos importantes na manutenção da homeostase da glicose, também contribui para a instalação da resistência insulínica, principalmente via formação de metabólitos de triacilgliceróis, incluindo o diacilglicerol e a ceramida. Diacilglicerol e ceramidas são intermediários lipídicos também conhecidos por atuarem como segundos mensageiros em vias de sinalização intracelulares. Estes metabólitos podem ser provenientes dos depósitos intracelulares de lipídeos, sendo sua concentração modulada pelas enzimas ATGL (*adipose triglyceride lipase*) e PNPLA3 (*patatin-like*

*phospholipase domain-containing protein 3*), ou podem ainda ser sintetizados a partir dos AGL que, ao alcançarem o citoplasma das células, são rapidamente esterificados com coenzima A, gerando moléculas de acil-CoA graxo. As moléculas de acil-CoA graxo são sucessivamente transferidas para uma molécula de glicerol-3-fosfato para formar os triacilgliceróis, ou também as moléculas de acil-CoA graxo podem ser esterificadas com a esfingosina, tendo como produto final moléculas de ceramida (SAMUEL; SHULMAN, 2012). Diacilglicerol e ceramida atuam como moduladores alostéricos positivos da proteína quinase C (PKC) e/ou IKK $\beta$  e JNK quinases, e estas quinases ativadas causam inibição da cascata de sinalização de insulina (CASTRO et al., 2014; STINKENS et al., 2015).

A família da PKC compreende um grupo de 10 isoenzimas que são classificadas em três grupos, de acordo com a sua estrutura e característica de ativação. As PKCs convencionais (cPKC: PKC $\alpha$ , PKC $\beta$ I, PKC $\beta$ II e PKC $\gamma$ ) requerem para a sua ativação cálcio e diacilglicerol. As PKCs “novas” (nPKC: PKC $\delta$ , PKC $\epsilon$ , PKC $\eta$  e PKC $\theta$ ) requerem apenas o diacilglicerol. As PKCs atípicas (aPKC: PKC $\zeta$  e PKC $\lambda$ ) não requerem cálcio, nem o diacilglicerol (MIYAKE et al., 2009).

A ativação de nPKCs, mediada por diacilglicerol, culmina em inibição da sinalização da insulina. Estudos indicam que a resistência à insulina induzida por lipídeos no músculo esquelético conta com a ativação de PKC $\theta$ , enquanto que no fígado envolve a participação da isoforma PKC $\epsilon$ . A PKC $\theta$  está associada com a promoção de aumento na fosforilação inibitória de IRS-1, em resíduo de serina-1101, prejudicando a fosforilação estimulatória em resíduos de tirosina. A PKC $\epsilon$  inibe a cascata de sinalização da insulina via fosforilação de IR em resíduo de treonina-1160 (inibitória), presente no domínio tirosina quinase do IR (SAMUEL; SHULMAN, 2012; PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Estudos sobre a resistência à insulina induzida por ceramidas no músculo esquelético enfatizam como mecanismo primário sua ação inibitória sobre a proteína quinase AKT 2, seja por aumentar a ativação da proteína fosfatase A2 (PPA2) ou por impedir a ativação da AKT 2 estimulada pela insulina. Normalmente, PKC $\zeta$  e AKT 2 encontram-se associadas intracelularmente, mas se dissociam após o estímulo à sinalização da insulina; ceramidas agem prejudicando essa dissociação. Assim, a não ativação da AKT 2 limita a translocação de vesículas contendo GLUT 4 para a membrana plasmática, resultando em menor captação de glicose no músculo esquelético. No fígado, ceramidas também inibem a AKT 2 via PPA2 e PKC $\zeta$ . Além disso, também podemos citar que a inibição da AKT 2 no fígado induz o aumento

na expressão de enzimas-chave da gliconeogênese, bem como há uma diminuição na síntese de glicogênio hepático (SAMUEL; SHULMAN, 2012; PETERSEN; SHULMAN, 2018).

Todos estes mecanismos acima descritos promotores de resistência à insulina em músculos esqueléticos e fígado que contam com a participação de lipídeos (triacilglicerol e ácidos graxos) e seus metabólitos é denominado como lipotoxicidade. Porém, a lipotoxicidade, além de causar a resistência à insulina, também contribui para o estabelecimento da disfunção de vários órgãos, tal como será descrito no item seguinte (SCHAFFER, 2003; VAN HERPEN; SCHRAUWEN-HINDERLING, 2008; STINKENS et al., 2015).

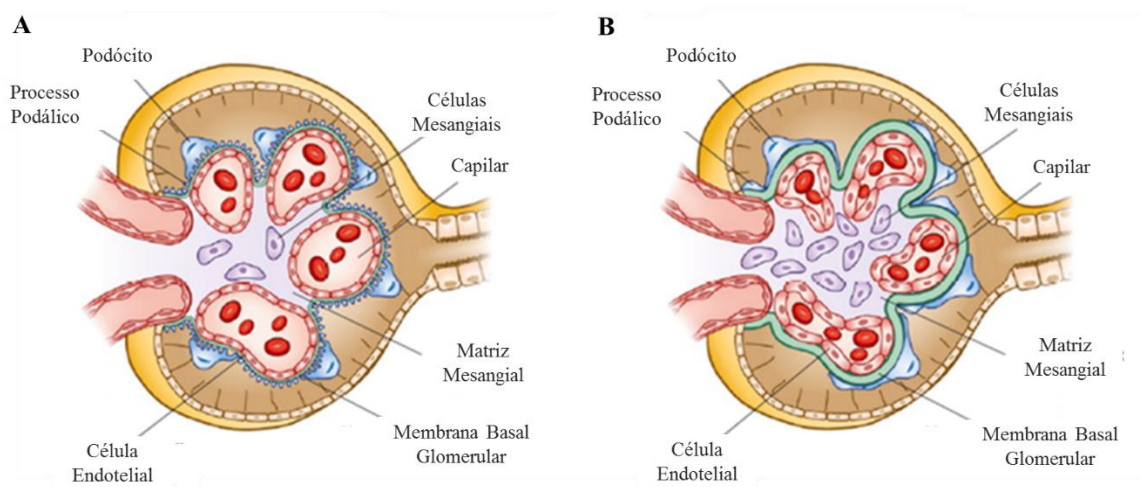
## **2.4 Lipotoxicidade e disfunção renal**

A lipotoxicidade tem sido associada a diversas doenças ou complicações metabólicas, tais como NAFLD, doenças cardiovasculares, disfunção das células  $\beta$  pancreáticas e resistência à insulina (STINKENS et al., 2015). Dentre elas também podemos citar a DRC, principal causa de morte devido às complicações diabéticas (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017); sabe-se que a obesidade tem papel fundamental e um fator de risco independente na instalação desta doença (WANG et al., 2008; SCHWEITZER et al., 2019).

A DRC é definida como uma anormalidade da estrutura ou da função renal, presente por um período igual ou superior a três meses (ISAKOVA et al., 2017). Clinicamente, a DRC é caracterizada pela diminuição na velocidade (taxa) de filtração glomerular (TFG;  $< 60$  mL/min/1,73m) e/ou pelo aumento na excreção urinária de albumina (EUA;  $> 30$  mg/24h) (ISAKOVA et al., 2017; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017). Alterações na estrutura renal são caracterizadas pelo acúmulo de componentes de matriz extracelular (MEC), tais como colágeno e fibronectina, resultando no espessamento da membrana basal glomerular e dos capilares, perda de fenestrações endoteliais, expansão das células mesangiais, hipertrofia e perda de podócitos, e esclerose e fibrose glomerulares, levando ao declínio progressivo da TGF e aumento da proteinúria, e conseqüentemente instalação da disfunção renal (Figura 1) (MENG et al., 2015; ALICIC; ROONEY; TUTTLE, 2017).

A fibrose renal é caracterizada pelo acúmulo excessivo de MEC. Estudos indicam que os processos iniciais para o estabelecimento de fibrose no rim incluem inflamação e lesões nas células do epitélio renal, induzidas principalmente por altos níveis de glicose e AGL circulantes. Com a lesão das células epiteliais, ocorre o influxo de células do sistema imune para a regeneração dos danos celulares; quando a lesão não pode ser reparada, as células epiteliais entram em apoptose celular. No processo de fibrose, as células epiteliais também podem liberar

fatores parácrinos, incluindo fator de crescimento transformador- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), fator de crescimento de tecido conjuntivo, fator de crescimento fibroblástico, fator de crescimento derivado de plaquetas, IL-1, TNF- $\alpha$ , angiotensina II e aldosterona, que são responsáveis por ativar os fibroblastos, células responsáveis pela produção de componentes de MEC. O TGF- $\beta$  age em diferentes tipos de células renais, promovendo a proliferação de células mesangiais, aumento na produção de MEC ou induzindo a eliminação de células epiteliais tubulares e podócitos. Acredita-se que o TGF- $\beta$  é o principal responsável pela promoção de fibrose no rim, principalmente via sinalização da proteína Smad (MENG et al., 2015).



**Figura 1.** Morfologia de um glomérulo renal saudável (A) e glomérulo renal com mudanças estruturais na doença renal crônica (DRC) (B). Fonte: ALICIC; ROONEY; TUTTLE, (2017), modificado.

Dentre os principais fatores responsáveis pelo estabelecimento das alterações em nível glomerular em condições de disfunção metabólica estão a hiperglicemia e a hipertensão arterial, características comumente observadas no DM tipo 2, e que interagem sinergicamente na progressão da DRC (REIDY et al., 2014). Em células renais que captam glicose de maneira independente de insulina, via transportadores de glicose GLUT 1 e GLUT 2, a hiperglicemia crônica induz a formação de lesões glomerulares pela ativação de diversas rotas metabólicas e aumento na geração de produtos de glicação avançada (AMORIM et al., 2019). No entanto, apesar de a hiperglicemia ser frequentemente associada ao desenvolvimento da DRC, o uso de fármacos antihiperglicemiantes não é completamente eficaz na redução da prevalência de DRC em indivíduos diabéticos, ou seja, outros mecanismos além da hiperglicemia devem contribuir para a DRC (DE BOER et al., 2011).

O rim é um órgão com alta e contínua demanda de energia, e sua principal fonte de ATP ocorre pela  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos. Para o suprimento adequado, a captação e utilização



de ácidos graxos são intensamente regulados pelas células renais e acredita-se que o desequilíbrio deste processo resulta na sobrecarga lipídica e comprometimento da  $\beta$ -oxidação, com consequente acúmulo de lipídeos nos rins (TANG; CAI; DONG, 2016). O acúmulo ectópico de lipídeos pode causar alterações estruturais e funcionais em todas as células renais, mas principalmente nas células mesangiais, podócitos e células epiteliais do túbulo proximal, contribuindo deste modo para a DRC. Nas células tubulares proximais, que possuem uma alta demanda de energia e uma capacidade glicolítica relativamente baixa, o estoque excessivo de lipídeos favorece a lipotoxicidade, particularmente devido aos danos mitocondriais observados nesta região do rim (GAI et al., 2019). Falkevall e colaboradores (2017) demonstraram em animais com DM tipo 2 (*db/db*) induzidos à obesidade com dieta hiperlipídica e em indivíduos diabéticos, que o acúmulo de lipídeos na DRC ocorre principalmente nos podócitos, células que contribuem na composição da estrutura de filtração glomerular. Os autores demonstraram que o fator de crescimento endotelial (VEGF)  $\beta$  é a proteína responsável por regular o transporte de ácidos graxos para o interior dos podócitos, e pode estar relacionada com o processo de estabelecimento da lipotoxicidade renal.

A relação entre o acúmulo ectópico de lipídeos no rim e a DRC foi sugerida pela primeira vez em 1860, por Rudolf Virchow (VIRCHOW; CHANCE, 1860). Desde então, muitos estudos buscam explicar os mecanismos pelos quais os lipídeos causam a disfunção renal. Atualmente, na literatura cita-se como fatores contribuintes da lipotoxicidade na DRC o aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), a formação exacerbada de produtos finais de glicação avançada (AGEs) (que serão discutimos detalhadamente no item 2.5), disfunção mitocondrial, apoptose e estresse do retículo endoplasmático (RE) (HAUCK; BERNLOHR, 2016).

As células renais apresentam um grande número de mitocôndrias, e desta forma, a integridade e a função destas organelas são essenciais para o correto funcionamento dos rins (TANG; CAI; DONG, 2016). A disfunção mitocondrial desempenha um papel crítico na patogênese das doenças renais (CHE et al., 2013; SZETO et al., 2016), que incluem alterações na dinâmica mitocondrial, aumento do estresse oxidativo, e diminuição na biogênese mitocondrial e na produção de ATP. Dinâmica mitocondrial é o nome dado ao conjunto dos processos de fusão e fissão, através dos quais as mitocôndrias mudam constantemente de forma e tamanho, em resposta aos mais diversos sinais celulares. No caso da DRC, ocorre principalmente a fragmentação ou fissão mitocondrial (GALVAN; GREEN; DANESH, 2017), facilitando a remoção de mitocôndrias danificadas através da sua degradação pelos fagolisossomos (mitofagia) (TREWING; BERRY; WOJTOVICH, 2018).

A apoptose ou morte celular programada é ativada por vias extrínseca ou intrínseca (mitocondrial). A apoptose que ocorre pela via intrínseca pode ser induzida por ERO, óxido nítrico (NO), altas concentrações de cálcio, ceramidas ou ácidos graxos (lipoapoptose). A presença destes sinais de estresse intracelular ativa fatores pró-apoptóticos, incluindo a proteína X associada a bcl-2 (BAX), responsáveis por induzir a formação do poro de transição de permeabilidade, uma estrutura transitória formada na membrana interna da mitocôndria. Enquanto a membrana externa da mitocôndria é seletivamente permeável, a membrana interna mitocondrial é conhecida por ser praticamente impermeável, garantindo assim que o gradiente eletroquímico de prótons seja mantido para a síntese de ATP. A perda dessa impermeabilidade após a formação dos poros de transição resulta na liberação de citocromo c da mitocôndria para o citoplasma, levando à ativação da caspase-9, responsável por clivar e ativar as caspases executoras da apoptose, em particular a caspase-3. A apoptose pela via extrínseca é ativada por receptores apoptóticos localizados na superfície celular, incluindo a proteína transmembrana tipo II (Fas) e o fator de necrose tumoral 1 (TNF-R1). A ativação destes receptores também desencadeia a ativação da caspase-3 e tem como consequência a fragmentação do DNA e a disfunção mitocondrial (BAIG et al., 2016).

O RE é uma organela celular importante para a regulação da homeostase do cálcio, metabolismo lipídico e síntese de proteínas. Entre os diversos fatores que induzem a alteração na homeostase do RE, causando o estresse do RE, está o excesso de lipídeos. A manutenção do funcionamento normal do RE e sobrevivência celular ocorre pela ativação de uma via de sinalização intracelular altamente conservada, denominada UPR (*unfolded protein response*); no entanto, a ativação excessiva de UPR ativa vias pró-apoptóticas. Diversos estudos apontam que o estresse do RE está envolvido na lipotoxicidade em vários órgãos, culminando em apoptose (HAN; KAUFMAN, 2016). Vale ressaltar que o estresse do RE também está relacionado à disfunção mitocondrial; com a liberação de cálcio do lúmen do RE e aumento de seus níveis no citoplasma, ocorre aumento na captação de cálcio pelas mitocôndrias, induzindo a formação de poro de transição de permeabilidade mitocondrial e consequentemente ativação da apoptose (DENIAUD et al., 2008).

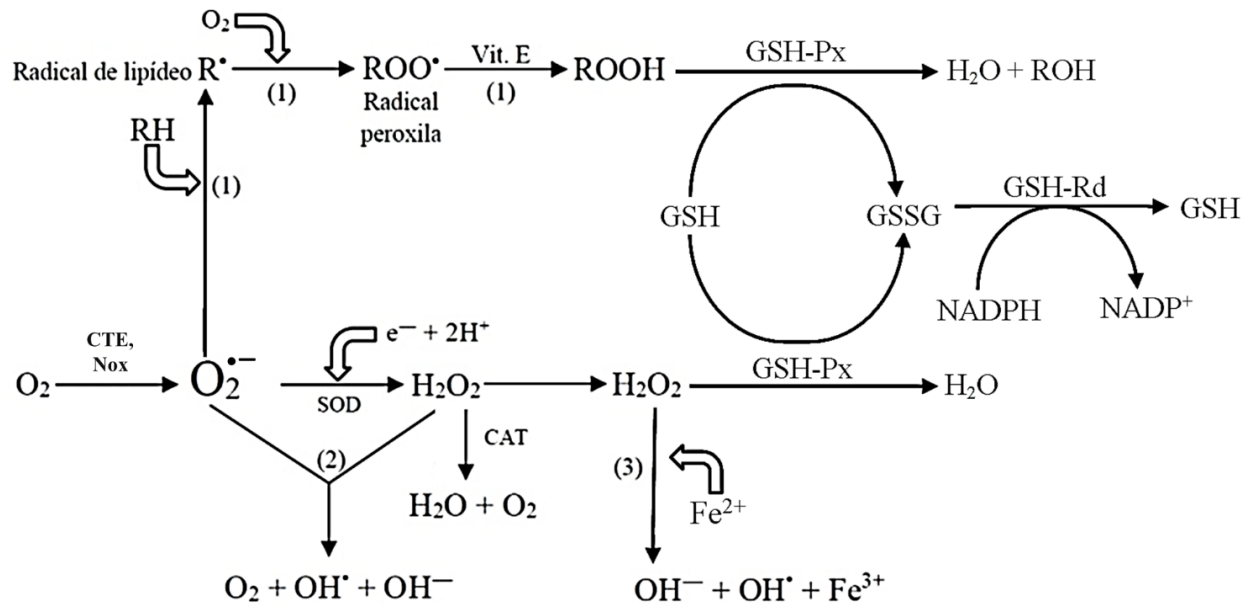
## **2.5 Estresse glico-oxidativo no diabetes mellitus e na obesidade**

A hiperglicemia crônica tem um importante papel no estabelecimento e manutenção de lesões em vasos sanguíneos, ocasionando complicações macrovasculares (aterosclerose, disfunção endotelial, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, doença vascular

periférica) ou microvasculares (nefropatia, retinopatia, neuropatia diabéticas) (FOWLER, 2008). As complicações cardiovasculares e renais são as principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes diabéticos (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017).

Elevados níveis circulantes de glicose e de ácidos graxos culminam no aumento da oxidação destes nutrientes, e posteriormente no fluxo das coenzimas transportadoras de elétrons, dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NADH) e dinucleotídeo de flavina e adenina (FADH<sub>2</sub>) para cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, aonde pode ocorrer a redução do oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) de forma univalente, formando o ânion radical superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), denominado com ERO primária. Este é o principal mecanismo responsáveis pela geração excessiva de ERO nas mitocôndrias (MADONNA; DE CATERINA, 2011; NOWOTNY et al., 2015). O papel das ERO tem destaque no estabelecimento da disfunção endotelial e de outras complicações diabéticas, principalmente em tecidos onde a captação de glicose ocorre de maneira independente da insulina, tais como rins, endotélio vascular, retina, pâncreas e fígado (TABIT et al., 2010).

Dentre as ERO, podemos citar as espécies radicalares, em especial o ânion radical superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), radical hidroxil ( $\cdot\text{OH}$ ), radical peroxil (ROO $\cdot$ ) e radical alcoxil (RO $\cdot$ ), e as espécies não radicalares, que incluem o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o ácido hipocloroso (HOCl) (Figura 2). O peroxinitrito (ONOO $\cdot$ ) é gerado a partir da reação de  $\cdot\text{O}_2^-$  com NO, sendo citado como a principal espécie reativa de nitrogênio. As alterações nas funções moleculares e celulares como consequência do desequilíbrio entre a produção de oxidantes e a capacidade antioxidante culminam em um quadro denominado de estresse oxidativo (SIES, 2015). Os sistemas de defesa antioxidante endógenos são representados principalmente pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutaciona peroxidase (GSH-Px) e glutaciona redutase (GSH-Rd) (Figura 2) (HALLIWELL; GUTTERRIDGE, 2010). Durante o estresse oxidativo e condições inflamatórias, a ativação do fator nuclear NRF 2 é responsável por estimular a expressão gênica de proteínas antioxidantes, tais como heme oxigenase-1, NAD(P)H quinona oxidoreductase-1, SOD2 e CAT (ZHANG; DAVIES; FORMAN, 2015).



**Figura 2.** Espécies reativas e sistemas antioxidantes. (1) peroxidação lipídica; (2) reação de Haber-Weiss; (3) reação de Fenton. CTE: cadeia transportadora de elétrons; Nox: NADPH oxidase neutrofílica; SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; GSH: glutatona reduzida; GSH-Px: glutatona peroxidase; GSH-Rd: glutatona redutase; GSSG: glutatona oxidada; Vit. E: vitamina E. Fonte: ROMÃO (2016), modificado.

A hiperglicemia induz danos teciduais por processos dependentes de aumento intracelular de ERO, associado aos seguintes mecanismos: (i) aumento no fluxo de substratos pela via dos poliois; (ii) aumento no fluxo de substratos pela via da hexosamina; (iii) formação de AGEs; (iv) ativação da PKC via aumento na geração de diacilglicerol (MADONNA; DE CATERINA, 2011).

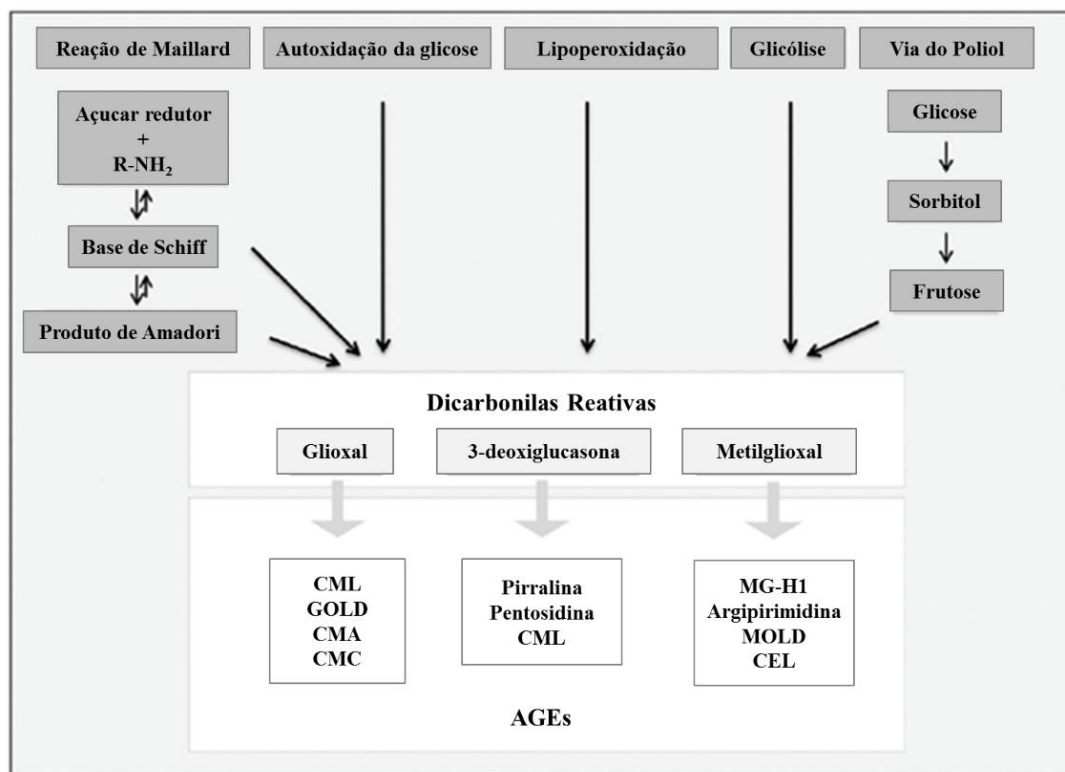
Com o aumento no fluxo de substratos pela via do poliois, ocorre a redução de glicose em sorbitol, catalisada pela enzima aldose redutase, e ocorre oxidação de nicotinamida adenosina dinucleotídeo fosfato (NADPH) à  $NADP^+$ . O sorbitol, por sua vez, é oxidado em frutose pela enzima sorbitol desidrogenase, e ocorre redução da nicotinamida adenina dinucleotídeo ( $NAD^+$ ) em NADH. O aumento no fluxo de substratos pela via dos poliois contribui para o estresse oxidativo por diminuir a disponibilidade de NADPH, importante coenzima na regeneração da glutatona em sua forma reduzida (GSH), sendo esta um importante antioxidante endógeno (TANG; MARTIN; HWA, 2012; FORBES; COOPER, 2013). Além disso, o excesso de NADH serve como substrato para a enzima NADPH oxidase, levando à produção de  $O_2^{\cdot-}$ . Podemos citar ainda que o aumento na relação  $NADH/NAD^+$  leva à inibição da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), enzima chave da via glicolítica (TANG; MARTIN; HWA, 2012; FORBES; COOPER, 2013).

De acordo com modelo proposto por Brownlee (2005), existe uma integração entre os processos bioquímicos exacerbados em situações de hiperglicemia, tanto em animais em

modelos experimentais de DM quanto em indivíduos diabéticos, bem como em células expostas a elevadas concentrações de glicose; tal integração ocorre devido à diminuição na atividade da enzima GAPDH; a hiperglicemia é a responsável pela inibição de GAPDH, e vale destacar que tal inibição não ocorre quando a superprodução de  $\cdot\text{O}_2^-$  na mitocôndria é prevenida pela ação da enzima SOD (DU et al., 2000). Assim, com a inibição de GAPDH, os níveis de todos os intermediários da via glicolítica aumentam, incluindo o gliceraldeído-3-fosfato. Com o aumento nos níveis de gliceraldeído-3-fosfato, ativam-se dois (dos quatro) processos associados a hiperglicemia: ocorre a ativação nos processos que participam da geração de AGEs, uma vez que o metilglioxal, principal precursor intracelular na geração de AGEs, é formado a partir de gliceraldeído-3-fosfato; ocorre ativação da via clássica de PKC, uma vez que o ativador desta proteína é o diacilglicerol, também sintetizado a partir de gliceraldeído-3-fosfato (BROWNLEE, 2005).

Dentre as várias fontes de ERO descritas sob condições de hiperglicemia, destacam-se os AGEs, um grupo de compostos heterogêneos envolvidos na patogênese e complicações do DM (NOWOTNY et al., 2015). A formação de AGEs ocorre predominantemente pela reação não enzimática entre o grupo carbonil de um carboidrato redutor e o grupo amino de uma proteína (reação de Maillard), gerando uma base de Schiff, que sofre rearranjo espontâneo em uma cetoamina, denominada de produto de Amadori. Entretanto, o produto de Amadori é instável, de modo que reações consecutivas ocorrem, levando eventualmente à formação de AGEs de maneira irreversível. A formação de AGEs pode ocorrer também pela reação de macromoléculas com compostos dicarbonílicos altamente reativos (glioxal, metilglioxal, 3-deoxiglicossina) gerados durante todos os estágios da reação de Maillard, bem como também a partir de intermediários da via glicolítica ou como produtos da auto-oxidação de monossacarídeos (glicose, ribose, frutose, gliceraldeído-3-fosfato), a partir da peroxidação lipídica ou pela via dos poliois (Figura 3). Tais espécies reativas carbonílicas geram o chamado estresse dicarbonílico. A peroxidação lipídica é uma das principais fontes de compostos carbonílicos, produzidos quando ERO atacam os ácidos graxos poli-insaturados nas membranas biológicas. Dentre os produtos gerados pela peroxidação lipídica estão o malondialdeído e 4-hidroxi-trans-2-nonenal (OTT et al., 2014). Por fim, AGEs são gerados por uma combinação de processos oxidativos e glicativos, de modo que a formação exacerbada destes produtos é denominada de estresse glico-oxidativo (NOWOTNY et al., 2015). O potencial prejudicial dos AGEs nas complicações diabéticas pode ser resultado da formação de ligações cruzadas entre proteínas (*crosslinking*), principalmente com proteínas da matriz extracelular e proteínas circulantes, incluindo hemoglobina e albumina. Tais ligações modificam as estruturas das

proteínas e inativam enzimas do metabolismo, contribuindo para a perda de função das biomoléculas (ABBAS et al., 2016). Em longo prazo, o acúmulo de AGEs em tecidos contribui para as complicações diabéticas e outras patologias, incluindo catarata, doença renal e doença de Alzheimer (PASUPULATI; CHITRA; REDDY, 2016). AGEs também podem ser encontrados como adutos livres na circulação e na urina. Nesta última situação, derivam da proteólise de proteínas *in vivo* ou da absorção de AGEs dietéticos (exógenos) (GUILBAUD et al., 2016). De acordo com Koschinsky e colaboradores (1997), os AGEs exógenos são aqueles ingeridos através de alimentos, principalmente alimentos assados e processados. Fatores ambientais que incluem dieta, tabagismo e consumo de álcool também influenciam no acúmulo de AGEs no organismo (PASUPULATI; CHITRA; REDDY, 2016).



**Figura 3.** Formação de compostos dicarbonílicos e produtos finais de glicação avançada (AGEs). Fonte: NOWOTNY et al. (2015), modificado.

Dentre as proteínas plasmáticas alvos de glicação, podemos citar a apolipoproteína B (ApoB) que faz parte da constituição da lipoproteína de baixa densidade (LDL). Macrófagos possuem maior afinidade em capturar LDL glicada, pois estas são mais suscetíveis às modificações oxidativas. Assim, a captação da lipoproteína modificada ocorre via receptores *scavenger* dos macrófagos, culminando na geração das células espumosas, evento fundamental

na formação das placas ateroscleróticas (STIRBAN; GAWLOWSKI; RODEN, 2014). Vale ressaltar ainda a formação da LDL oxidada (LDL-ox) pelo estresse oxidativo como componente importante no desenvolvimento de estágios iniciais da aterosclerose (LEVITAN; VOLKOV; SUBBAIAH, 2010). A paraoxonase 1 (PON 1) é uma enzima com atividades esterase e lactonase; é sintetizada principalmente no fígado e secretada no plasma, onde circula associada a Apo AI e Apo J presentes na lipoproteína de alta densidade (HDL) (MANOLESCU et al., 2015). A PON 1 apresenta atividade antioxidante, protegendo a LDL contra danos oxidativos devido a sua capacidade em hidrolisar peróxidos lipídicos presentes na LDL-ox (MACKNESS; MACKNESS, 2013). A atividade da PON 1 também é suscetível a processos glicativos ou oxidativos; condições onde é observada diminuição da atividade sérica de PON 1 estão associadas ao aumento do estresse oxidativo e maior risco de doenças cardiovasculares (CHISTIAKOV et al., 2017).

Além dos AGEs provocarem alterações na estrutura/função de proteínas, estes também podem ativar diferentes vias de sinalização intracelulares, culminando em eventos pró-oxidantes, pró-inflamatórios e pró-apoptóticos, via a ativação dos receptores de AGEs (RAGE). Os RAGE pertencem à superfamília das imunoglobulinas, e têm sido os receptores de AGEs mais estudados (OTT et al., 2014). O receptor RAGE consiste em um domínio extracelular e outro citoplasmático, sendo este último essencial para o estímulo de várias cascatas de sinalização após a interação AGE-RAGE. A ativação de RAGE desencadeia a geração de ERO via ativação de NADPH oxidase, exacerbando assim o estresse oxidativo; também aumenta a expressão de citocinas pró-inflamatórias (via PKC- $\zeta$ ), ativando as cascatas de sinalização da proteína MAPK e do NF- $\kappa$ B; e ativa vias fibrogênicas através da ativação da proteína TGF- $\beta$  (PASUPULATI; CHITRA; REDDY, 2016). Por fim, estudos demonstram que a ativação de RAGE induz a apoptose via aumento na expressão de BAX, e consequentemente há ativação da caspase-3, levando a danos no DNA e disfunção mitocondrial (MAO et al., 2018).

Em condições fisiológicas, a expressão de RAGE é baixa. No entanto, com a inflamação, ocorre um aumento nos níveis deste receptor, pois sua expressão é controlada por vários fatores de transcrição pró-inflamatórios, incluindo o NF- $\kappa$ B (BIERHAUS; NAWROTH, 2009; ROJAS et al., 2017). Este mecanismo pode explicar o fato da expressão de RAGE ser maior em tecidos que acumulam AGEs, tais como fígado (YAMAGISHI; MATSUI, 2015) e rins (TOMINO; HAGIWARA; GOHDA, 2011). Quando AGEs ligam-se aos receptores RAGE, culminando em ativação de NF- $\kappa$ B, há aumento na transcrição não somente das citocinas pró-inflamatórias, mas também de receptores RAGE (BIERHAUS; NAWROTH, 2009; ROJAS et al., 2017).

Os receptores de AGEs pertencentes ao complexo AGE-R estão envolvidos na sinalização e captação endocítica de proteínas modificadas por AGEs. Este complexo consiste em três diferentes componentes, AGE-R1/OST-48, AGE-R2/80K-H, AGE-R3/galactina-3 e estão presentes especialmente em monócitos, macrófagos, linfócitos T, células endoteliais, células mesangiais, fibroblastos, células musculares lisas e células neuronais (OTT et al., 2014). Juntos, AGE-R1 e AGE-R3 participam na detoxificação de AGEs, via degradação intracelular de proteínas modificadas por AGEs após endocitose, formando peptídeos de baixo peso molecular que podem ingressar na circulação e serem filtrados pelo processo de filtração glomerular. Já a interação de AGEs com AGE-R2 desencadeia efeitos adversos nas células, incluindo a ativação de vias inflamatórias (PASUPULATI; CHITRA; REDDY, 2016).

AGE-R1 foi o primeiro componente do complexo AGE-R isolado de macrófagos/monócitos, e a princípio denominado como p60 (YANG et al., 1991). Estudos posteriores demonstraram que p60 apresentava 95% de similaridade com a proteína OST-48, uma subunidade de 48 KDa que faz parte de um complexo de oligossacariltransferase no lúmen do RE rugoso, responsável pelo processo de N-glicosilação (LI et al., 1996). Desse modo, foi demonstrado que AGE-R1 (ou p60), uma proteína integral de membrana plasmática com um segmento simples transmembrânico é homóloga a OST-48, pois representa o domínio N-terminal desta proteína localizada no RE rugoso (LI et al., 1996). Apesar de AGE-R1 e OST-48 serem decodificados pelo mesmo gene, *DDOST (dolichyl-diphosphooligosaccharide)*, podemos afirmar que OST-48 não é análogo ao AGE-R1 e vice-versa, mas sim a proteína AGE-R1 contém OST-48. Aonde OST-48 pode apresentar funções distintas, como subunidade chave no complexo oligossacariltransferas e também como componente de ligação de AGEs (ZHUANG et al., 2016).

Em adição, além de reduzir os níveis de AGEs circulantes pelo processo de detoxificação, também atua na diminuição de respostas inflamatórias via supressão da fosforilação da proteína p66<sup>shc</sup>. Em estudo de Cai e colaboradores (2008), demonstrou-se que a inibição da sinalização da proteína p66 em células com alta expressão de AGE-R1 culminou em resistência contra danos oxidativos. Adicionalmente, muitos trabalhos têm demonstrado o papel de AGE-R1 no rim. Em estudo com células mesangiais de ratos, foi relatado que o aumento na expressão de AGE-R1 prejudica a fosforilação de MAPK e a atividade de NF- $\kappa$ B induzidas pelos AGEs. Portanto, os autores sugerem que AGE-R1 atenua a toxicidade celular induzida pelos AGEs (CAI et al., 2006).

Podemos destacar ainda outro mecanismo endógeno de detoxificação dos AGEs, mais especificamente de eliminação de um dos precursores de AGEs, o metilglioxal, via sistema da



glioxalase. Este sistema compreende a ação de duas enzimas, a glioxalase 1 (GLO 1) e a glioxalase 2 (GLO 2). A partir da reação não enzimática entre o metilglioxal e GSH, forma-se o hemitioacetal. A GLO 1 catalisa a isomerização do hemitioacetal em S-D-lactoilglutathiona, e GLO 2 catalisa a hidrólise da S-D-lactoilglutathiona em D-lactato, restaurando o GSH (SILVA et al., 2013; RABBANI; THORNALLEY, 2018).

Xue e colaboradores (2012) relataram que o fator de transcrição NRF 2, além de atuar na proteção celular durante o estresse oxidativo e condições inflamatórias, também induz a expressão da GLO 1. Estudos sugerem ainda que o aumento na expressão e atividade da GLO 1 reduz o estresse dicarbonílico e inibe o desenvolvimento das complicações associadas à obesidade e DM, incluindo a resistência à insulina e a nefropatia (RABBANI; THORNALLEY, 2018). Enfim, supressão na expressão de GLO 1 foi observada com a ligação AGE-RAGE, sugerindo que o receptor RAGE desencadeia tanto aumento na produção quanto acúmulo de AGEs (LÓPEZ-DÍEZ et al., 2016).

Em estudo com indivíduos obesos, observou-se que o acúmulo de AGEs no tecido adiposo, especificamente da carboximetilisina (um dos produtos avançados de glicação formado especialmente a partir da reação de glioxal com resíduos de lisina), é seguido de aumento na expressão de RAGE e redução nos níveis circulantes de AGEs totais. Embora os mecanismos celulares estejam ainda sob investigação, foi demonstrado que RAGE aprisiona os AGEs no tecido adiposo de indivíduos obesos, sugerindo uma interação direta entre o ligante (AGEs) e o receptor (RAGE) na disfunção metabólica (LÓPEZ-DÍEZ et al., 2016).

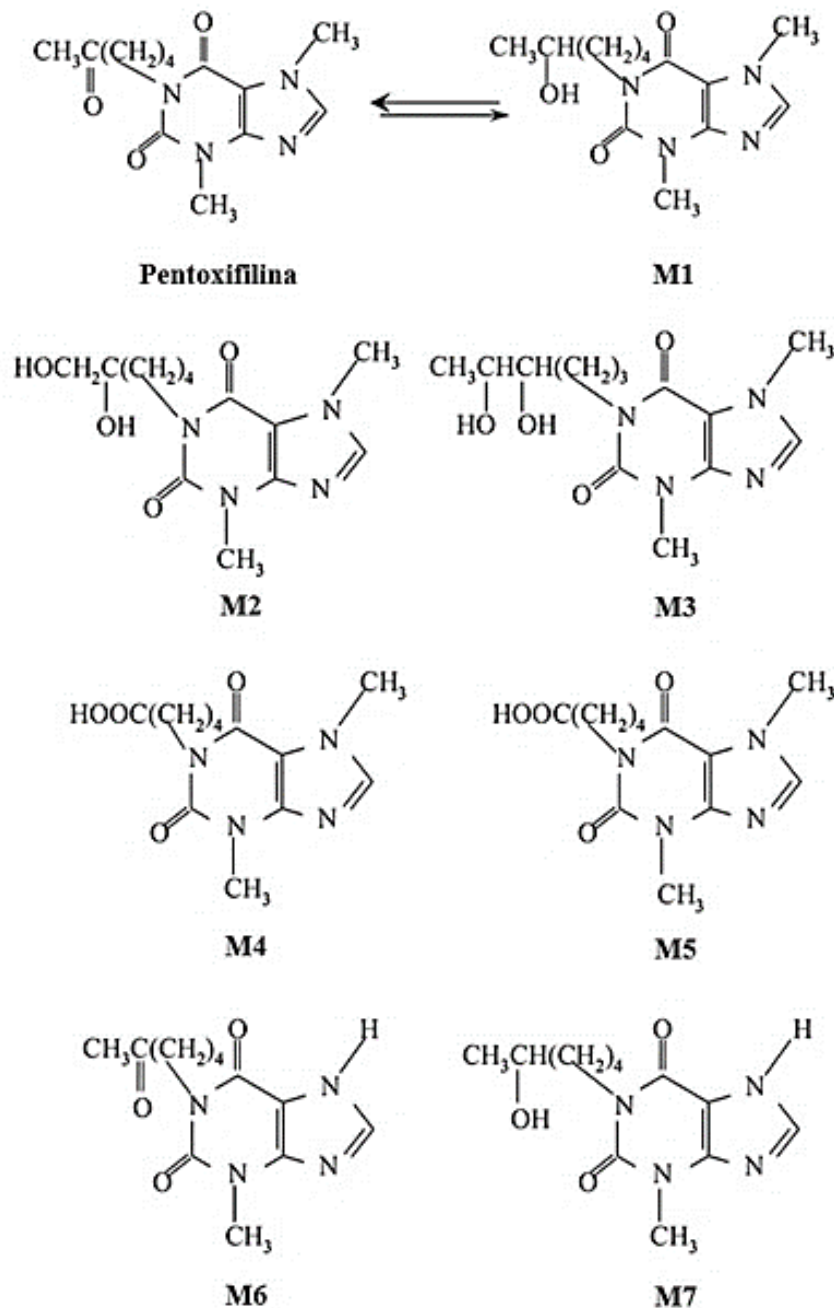
Os produtos avançados da glicação afetam todas as estruturas renais, via alteração de componentes da matriz extracelular, e também especialmente via interação com receptores RAGE expressos em podócitos, células mesangiais e tubulares renais. É importante ressaltar que o rim é um órgão alvo para os danos mediados pelos AGEs. Também é um dos principais contribuintes para o aumento nos níveis de AGEs circulantes, uma vez que a eliminação dos AGEs é dependente de manutenção da função renal (TOMINO; HAGIWARA; GOHDA, 2011). Em estudo com camundongos transgênicos que superexpressam receptores RAGE e que foram cruzados com outra linhagem transgênica que desenvolve DM tipo 1 logo após o nascimento, foi observado que este receptor se encontra relacionado com a instalação de lesões renais (YAMAMOTO et al., 2001). Além disso, o aumento do estresse oxidativo em glomérulos também podem favorecer o acúmulo de produtos avançados da glicação no tecido, culminando em estresse glico-oxidativo, disfunção mitocondrial, estresse do RE, com consequente prejuízo na função renal (FRIMAT et al., 2017).

Nos rins, AGEs estimulam diferentes vias de sinalização, mediando inflamação e fibrogênese. Nas células mesangiais, AGEs afetam o ciclo celular, proliferação, hipertrofia e induzem a apoptose, além de estimular a expressão de MCP 1, desencadeando processo inflamatório (FRIMAT et al., 2017). Entre as ações deletérias dos AGEs nos podócitos, podemos citar desprendimento da membrana basal glomerular e indução de apoptose. Por fim, a interação AGE/RAGE induz a expressão de TGF- $\beta$ , que atua como um fator pró-fibrótico, aumentando a produção de colágeno, laminina e fibronectina em podócitos, células tubulares e mesangiais, culminando em fibrose renal (NOWOTNY et al., 2015; PASUPULATI; CHITRA; REDDY, 2016; FRIMAT et al., 2017).

## **2.5 Pentoxifilina**

A pentoxifilina [3,7-dimetil-1-(5-oxohexil)-3,7-dihidro-1H-purina-2,6-diona] é um derivado de metilxantina. Após sua biotransformação, principalmente no fígado, foram identificados sete metabólitos da pentoxifilina; três metabólitos do tipo hidroxilado (M1, M2, M3a e M3b), dois metabólitos tipo carboxilado (M4 e M5) e dois metabólitos demetilados (M6 e M7). No entanto, sugere-se que o principal local para a conversão da pentoxifilina em metabólito M1 ocorra em eritrócitos (Figura 4) (NICKLASSON et al., 2002).

Quando a pentoxifilina foi administrada em humanos saudáveis por via intravenosa (300 ou 500 mg), após 3 horas foram observadas elevações nas concentrações plasmáticas dos metabólitos M5 e M1, sendo M1 o metabólito mais ativo, conhecido como lisofilina (LILLIBRIDGE; KALHORN; SLATTERY, 1996). Os principais metabólitos da pentoxifilina excretados na urina são M5, M3 e M4, enquanto que a excreção de pentoxifilina não metabolizada ou do metabólito M1 ocorre em fração menor que 1% (NICKLASSON et al., 2002).



**Figura 4.** Estruturas moleculares da pentoxifilina e seus metabólitos (M). M1: 1-(5-hidroxi-hexil)-3,7-dimetilxantina; M2: 1-(5,6-dihidroxi-hexil)-3,7-dimetilxantina; M3: 1-(4,5-dihidroxi-hexil)-3,7-dimetilxantina; M4: 1-(4-carboxibutil)-3,7-dimetilxantina; M5: 1-(3-carboxipropil)-3,7-dimetilxantina; M6: 1-(5-ketohexil)-3-dimetilxantina; M7: 1-(5-hidroxi-hexil)-3-dimetilxantina. Fonte: ZHANG et al. (2004), modificado.

Alterações nas propriedades reológicas do sangue provocadas pela pentoxifilina foram relatadas pela primeira vez em 1981 (MULLER, 1981). Logo em seguida, o fármaco foi aprovado pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento de sintomas associados à claudicação intermitente, comum em pacientes com doença arterial periférica crônica (RALL, 1990). Estudos demonstraram que a pentoxifilina atua diminuindo a viscosidade do plasma e

do sangue total, especialmente via redução dos níveis de fibrinogênio plasmático, diminuindo a agregação plaquetária e eritrocitária, além de suprimir a ativação de neutrófilos por diminuir a polimerização dos filamentos de actina, tornando-os menos distensíveis. Assim, a pentoxifilina melhora a eficiência com a qual os neutrófilos podem fluir através dos vasos sanguíneos, bem como outras células e componentes sanguíneos. Tais efeitos são importantes para a melhoria do fluxo sanguíneo, sendo clinicamente útil para amenizar os sintomas de claudicação intermitente (MCCARTY et al., 2016).

Outro mecanismo de ação da pentoxifilina é como inibidor não seletivo de enzimas do tipo fosfodiesterases (PDE), responsáveis pela degradação e regulação dos níveis intracelulares de AMPc e guanosina monofosfato cíclico (GMPc) (WINDMEIER; GRESSNER, 1997). AMPc e GMPc são segundos mensageiros envolvidos na transdução de sinais intracelulares que regulam vários processos fisiológicos no organismo (NEWTON; BOOTMAN; SCOTT, 2016). Em monócitos e linfócitos, o aumento nos níveis de AMPc culmina em ativação da PKA, responsável por inibir NF- $\kappa$ B, e conseqüentemente promove a diminuição na síntese de citocinas pró-inflamatórias (TAKAHASHI et al., 2002). O potencial anti-inflamatório da pentoxifilina tem sido uma das suas ações mais estudadas (GARCIA et al., 2015).

Além de seu uso nos distúrbios circulatórios, estudos apontam evidências de outros efeitos benéficos da pentoxifilina, seja em diversos modelos experimentais que mimetizam desordens metabólicas ou em estudos pré-clínicos, demonstrando os benefícios da pentoxifilina associados à NAFLD (ACEDO et al., 2015), distúrbios cardiovasculares (ZHANG et al., 2004), retinopatia diabética (BAYKARA et al., 2013) e atenuação na perda de massa muscular esquelética em condição catabólica promovida pela deficiência de insulina (BAVIERA et al. 2007, ARCARO et al., 2018). Tais ações da pentoxifilina parecem estar associadas ao seu potencial antioxidante (RADFAR et al., 2005), antiglicação (RAHBAR et al., 2000), anti-inflamatório (GARCIA et al., 2015), anti-fibrótico (NG et al., 2009) e via inibição de PDE (BAVIERA et al. 2007, ARCARO et al., 2018).

A NAFLD é a forma mais comum de doença hepática crônica que ocorre em associação à obesidade, e é considerada um problema de saúde pública (YOUNOSSI, 2018). A evolução da doença hepática envolve inicialmente a ocorrência de esteatose hepática (acúmulo de gordura no fígado), a qual evolui para uma esteatohepatite não alcoólica (*nonalcoholic steatohepatitis*, NASH), a forma mais agressiva de NAFLD, podendo progredir para fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular. A progressão para NASH tem sido relatada ser um evento multifatorial. No entanto, o acúmulo de gordura, principalmente de triacilgliceróis, é o ponto crucial para o desenvolvimento da NAFLD (DUARTE; STEFANO; OLIVEIRA, 2019).

Diversos estudos apontam a pentoxifilina como uma terapia promissora para o tratamento de NASH em modelos experimentais de obesidade induzido por oferta de dieta hiperlipídica (ACEDO et al., 2015; YE et al., 2016) e dieta deficiente em colina e metionina (KOPPE et al., 2004), bem como em estudo com humanos com NAFLD ou NASH (DU et al., 2014).

A pentoxifilina é um derivado sintético da teobromina (3,7-dimetilxantina), uma metilxantina encontrada principalmente no cacau (*Theobroma cacao* L.) (MONTEIRO et al., 2016). Metilxantinas são amplamente conhecidas por apresentarem múltiplos efeitos farmacológicos, incluindo estimulação do sistema nervoso central, sistema respiratório, sistema cardiovascular e função renal (OSSWALD; SCHNERMANN, 2011; SINGH et al., 2018). Além disso, podemos observar em diversos trabalhos a indicação do potencial anti-obesogênico das metilxantinas (INOUE et al., 2006; ARÇARI et al. 2009; LIU et al., 2015). Em revisão recente de Carragetta e colaboradores (2018), os autores abordaram os efeitos das metilxantinas na estimulação da lipólise nos tecidos adiposos, via antagonismo dos receptores de adenosina ou pelo aumento dos efeitos das catecolaminas, e também suas ações inibitórias da adipogênese que, em conjunto, promovem a redução dos depósitos de gordura. Diante disso, os autores ressaltam a importância das metilxantinas como uma opção farmacológica interessante para o tratamento da obesidade, e/ou como adjuvantes ou complementares às intervenções no estilo de vida (CARRAGETTA et al., 2018). No entanto, os mecanismos pelos quais as metilxantinas agem nestas vias que culminam em menores massas de tecidos adiposos ainda não estão totalmente elucidados, sendo necessários mais estudos para total compreensão.

Os efeitos das metilxantinas na função renal estão relacionadas com sua ação sobre a diurese, natriurese e secreção de renina (OSSWALD; SCHNERMANN, 2011). No entanto, em estudos de Tofovic e colaboradores, demonstrou-se em ratos obesos e diabéticos (ZSF1) que o consumo de cafeína por longos períodos exacerbou a insuficiência renal. O tratamento com cafeína, além de prejudicar a função renal, também foi capaz de promover aumento da proteinúria, e nos glomérulos foram observadas fibrose, proliferação da MEC e inflamação com infiltração de macrófagos (TOFOVIC et al. 2002; TOFOVIC et al. 2007). Apesar destas evidências sugerirem que a cafeína seja promotora de prejuízos aos rins, os tratamentos com pentoxifilina têm demonstrado resultados opostos (BADRI et al., 2011).

Evidências apontam efeitos atenuadores de prejuízos renais da pentoxifilina na DRC, e tais efeitos têm sido extensivamente revisados tanto em triagens clínicas, bem como em estudos *in vivo* e *in vitro* (BADRI et al., 2011; BHANOT; LEEHEY, 2016; LAI; CHIANG; CHEN, 2016; LEPORINI et al., 2016; LIU et al., 2017). Em recente revisão de Chen e colaboradores (2017), os autores propuseram os possíveis mecanismos envolvidos nas ações protetoras da

pentoxifilina aos rins. A pentoxifilina, via inibição de PDE 3 e 4, promove aumento nos níveis de AMPc e conseqüentemente ativação da PKA, levando à fosforilação do fator de transcrição CREB, responsável por diminuir a transcrição do gene para TGF- $\beta$ . Além disso, a ativação do efetor intracelular EPAC (*Exchange Protein Activated by cAMP*), também pode reduzir a transcrição gênica de TGF- $\beta$  mediada por Smad. Portanto, com a redução nos níveis de TGF- $\beta$ , é possível inibir as vias de sinalização envolvidas na fibrose renal e conseqüentemente o surgimento de proteinúria.

Em vários modelos experimentais de doença renal não diabética, a pentoxifilina atenua a proteinúria modulando componentes de diferentes vias: (i) citocinas, tais como TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, molécula de adesão intercelular-1 e MCP-1; (ii) fatores mitogênicos, tais como o fator de crescimento derivado de plaquetas, MAPK, AKT, ciclina D1 e fosfatidilinositol 3-quinase (IP3-K); (iii) moléculas fibrogênicas, tais como o TGF- $\beta$  e Smad3/4 (CHEN et al., 2017).

O modelo de glomerulonefrite em ratos induzida por anticorpos monoclonais anti-Thy1 é caracterizado por lesão glomerular, com danos à morfologia dos podócitos e das células mesangiais, resultando em proteinúria (YU et al., 2005). Neste modelo experimental, Chen e colaboradores (2015) demonstraram que o tratamento com pentoxifilina atenuou a proteinúria, via regulação negativa das vias de sinalização do NF- $\kappa$ B e Smad2/3, restaurando nos podócitos a expressão de nefrina, sinaptodina e podocina, importantes proteínas que constituem a ligação entre os podócitos, ou seja, responsáveis pela formação da estrutura de filtração glomerular.

Diante dos fatos apresentados, a compreensão dos benefícios da pentoxifilina em modelo experimental de obesidade e resistência à insulina poderia contribuir com evidências para o reposicionamento deste fármaco no tratamento da obesidade e/ou complicações diabéticas, com especial atenção à DRC. Apesar dos diversos estudos abordando o potencial e promissor uso da pentoxifilina para o tratamento de doenças renais, ainda são escassas as informações acerca das ações do fármaco em mecanismos relacionados ao estresse glicoxidativo, como uma estratégia terapêutica para atenuação das complicações renais associadas à obesidade e DM tipo 2.

## 7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos sugerem que o tratamento de animais submetidos ao modelo de obesidade e resistência à insulina com pentoxifilina foi eficaz na melhoria de diversas alterações metabólicas e promotora de proteção contra complicações teciduais, especialmente complicações renais associadas ao estresse glico-oxidativo.

Dentre os diversos benefícios associados ao tratamento com pentoxifilina, podemos destacar o efeito antiobesogênico, melhoria na sensibilidade à insulina e a atenuação das alterações na morfologia renal, bem como na promoção de diminuição nos níveis séricos de hormônios (insulina e leptina), níveis renais de biomarcadores inflamatórios (TNF- $\alpha$ , IL-6 e MCP-1) e de biomarcadores do estresse glico-oxidativo (TBARS e AGEs), e aumento nas atividades de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GSH-Px e PON 1).

Avanços foram conquistados na compreensão das ações protetoras da pentoxifilina nos rins de animais alimentados com dieta hiperlipídica, e tais ações podem ter relação com a atenuação nas alterações morfológicas renais induzidas pela dieta hiperlipídica, e que parecem depender da diminuição nos níveis proteicos do receptor RAGE e de componentes relacionados a sua ativação, em especial BAX, caspase-3 (marcadores de apoptose) e NF- $\kappa$ B (marcador de inflamação). O tratamento de animais alimentados com dieta hiperlipídica com pentoxifilina também foi capaz de promover nos rins alterações em componentes relacionados com a detoxificação de AGEs, aumentando os níveis proteicos de GLO 1 e reduzindo os níveis de AGE-R1.

Por fim, observamos um aumento nos níveis proteicos de componentes do programa termogênico no iTAM de animais alimentados com dieta hiperlipídica e tratados com a pentoxifilina.

Em conjunto, este estudo reúne evidências pré-clínicas que podem futuramente contribuir para o reposicionamento da pentoxifilina como uma opção para o tratamento da obesidade, diabetes e complicações associadas, com ênfase nas complicações renais.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, G.; AL-HARRASI, A. S.; HUSSAIN, H.; HUSSAIN, J.; RASHID, R.; CHOUDHARY, M. I. Antiglycation therapy: Discovery of promising antiglycation agents for the management of diabetic complications. **Pharmaceutical Biology**, 54: 198-206, 2016.

ACEDO, S. C.; CARIA, C. R.; GOTARDO, É. M.; PEREIRA, J. A.; PEDRAZZOLI, J.; RIBEIRO, M. L.; GAMBERO, A. Role of pentoxifylline in non-alcoholic fatty liver disease in high fat diet-induced obesity in mice. **World Journal of Hepatology**, 24: 2551-2558, 2015.

AIZAWA, N.; HOMMA, Y.; IGAWA, Y. Influence of high fat diet feeding for 20 weeks on lower urinary tract function in mice. **Lower Urinary Tract Symptoms**, 5:101-108, 2013.

ALBUQUERQUE, D.; NÓBREGA, C.; MANCO, L.; PADEZ, C. The contribution of genetics and environment to obesity. **British Medical Bulletin**, 123:159-173, 2017.

ALICIC, R. Z.; ROONEY, M. T.; TUTTLE, K. R. Diabetic kidney disease: challenges, progress, and possibilities. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, 12:2032-2045, 2017.

AMORIM, R. G.; GUEDES, G. D. S.; VASCONCELOS, S. M. D. L.; SANTOS, J. C. D. F. Kidney Disease in Diabetes Mellitus: Cross-Linking between Hyperglycemia, Redox Imbalance and Inflammation. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, 112:577-587, 2019.

ARÇARI, D. P.; BARTCHEWSKY, W.; DOS SANTOS, T. W.; OLIVEIRA, K. A.; FUNCK, A.; PEDRAZZOLI, J.; DE SOUZA, M. F.; SAAD, M. J.; BASTOS, D. H.; GAMBERO, A.; CARVALHO, P. D. E. O.; RIBEIRO, M. L. Antiobesity effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. **Obesity**, 17:2127-2133, 2009.

ARCARO, C. A.; ASSIS, R. P.; ZANON, N. M.; PAULA-GOMES, S.; NAVEGANTES, L. C. C.; KETTELHUT, I. C.; BRUNETTI, I. L.; BAVIERA, A. M. Involvement of cAMP/EPAC/Akt signaling in the antiproteolytic effects of pentoxifylline on skeletal muscles of diabetic rats. **Journal of Applied Physiology**, 124:3, 704-716, 2018.

ASSIS, R.; ARCARO, C.; GUTIERRES, V.; OLIVEIRA, J.; COSTA, P.; BAVIERA, A.; BRUNETTI, I. Combined effects of curcumin and lycopene or bixin in yoghurt on inhibition of ldl oxidation and increases in hdl and paraoxonase levels in streptozotocin-diabetic rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n.4, 2017.

BADRI, S.; DASHTI-KHAVIDAKI, S.; LESSAN-PEZESHKI, M.; ABDOLLAHI, M. A review of the potential benefits of pentoxifylline in diabetic and non-diabetic proteinuria. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, 14:128-37, 2011.

BAIG, S.; SEEVASANT, I.; MOHAMAD, J.; MUKHEEM, A.; HURI, H. Z.; KAMARUL, T. Potential of apoptotic pathway-targeted cancer therapeutic research: Where do we stand?. **Cell Death & Disease**, 7:e2058, 2016.



BARGUT, T. C. L.; SILVA-E, A. C. A. G.; SOUZA-MELLO, V; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; AGUILA, M. B. Mice fed fish oil diet and upregulation of brown adipose tissue thermogenic markers. **European Journal of Nutrition**, 55:159-169, 2016.

BHARGAVA, P.; SCHNELLMANN, R. G. Mitochondrial energetics in the kidney. **Nature Reviews Nephrology**, 13:629, 2017.

BARTHOLOMEW, R. J.; DELANEY, A. M. Bromocresol Green as a Reagent for Serum Albumin. **Proceedings of the Association of Clinical Biochemists**, 1:214, 1966.

BAVIERA, A. M.; ZANON, N. M.; CARVALHO NAVEGANTES, L. C.; MIGLIORINI, R. H.; KETTELHUT, I. D. C. Pentoxifylline inhibits Ca<sup>2+</sup>-dependent and ATP proteasome-dependent proteolysis in skeletal muscle from acutely diabetic rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 292: E702-8, 2007.

BAYKARA, M.; ATABEK, M. E.; EKLIOGLU, B. S.; KURTOGLU, S. Pentoxifylline treatment for protecting diabetic retinopathy in children with type 1 diabetes. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, 26: 19-24, 2013.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, 44: 276-87, 1971.

BEERS, R. F. J. R.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method of measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **The Journal of Biological Chemistry**, 195: 133-40, 1952.

BERGMEYER, H. U.; GAWEHN, K. Methods of enzymatic analysis. 2nd English Edition, v. 1, 1974.

BHANOT, S.; LEEHEY, D. J. Pentoxifylline for Diabetic Nephropathy: An Important Opportunity to Re-purpose an Old Drug? **Current Hypertension Reports**, 18:8, 2016.

BHAT, V. B.; MADYASTHA, K. M. Antioxidant and radical scavenging properties of 8-oxo derivatives of xanthine drugs pentoxifylline and lisofylline. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 288:1212–1217, 2001.

BHATTI, J. S.; BHATTI, G. K.; REDDY, P. Hemachandra Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders: A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. **Molecular Basis of Disease**, 1863:1066-1077, 2017.

BLACKBURN, P.; LAMARCHE, B.; COUILLARD, C.; PASCOT, A.; BERGERON, N.; PRUD'HOMME, D.; TREMBLAY, A.; BERGERON, J.; LEMIEUX, I.; DESPRÉS, J. P. Postprandial hyperlipidemia: another correlate of the “hypertriglyceridemic waist” phenotype in men. **Atherosclerosis**, 171:327-336, 2003.

BIERHAUS, A.; NAWROTH, P. P. Multiple levels of regulation determine the role of the receptor for AGE (RAGE) as common soil in inflammation, immune responses and diabetes mellitus and its complications. **Diabetologia**, 52:2251-2263, 2009.

BOINI, K. M.; XIA, M.; ABAIS, J. M.; LI, G.; PITZER, A. L.; GEHR, T. W.; ZHANG, Y.; LI, P. L. Activation of inflammasomes in podocyte injury of mice on the high fat diet: effects of ASC gene deletion and silencing. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, 1843:836-845, 2014.

BOUCHER, J.; KLEINRIDDER, A.; KAHN, C. R. Ronald. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, 6:a009191, 2014.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72:248-254, 1976.

BRASIL. Vigitel Brasil 2017: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**, 54:1615-1625, 2005.

CAI, W.; HE, J. C.; ZHU, L.; LU, C.; VLASSARA, H. Advanced glycation end product (AGE) receptor 1 suppresses cell oxidant stress and activation signaling via EGF receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 103:13801-13806, 2006.

CAI, W.; HE, J. C.; ZHU, L.; CHEN, X.; STRIKER, G. E.; VLASSARA, H. AGE-receptor-1 counteracts cellular oxidant stress induced by AGEs via negative regulation of p66 shc-dependent FKHRL1 phosphorylation. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, 294:C145-C152, 2008.

CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiological Reviews**, 84: 277-359, 2004.

CARICILLI, A. M.; PICARDI, P. K.; DE ABREU, L. L.; UENO, M.; PRADA, P. O.; ROPELLE, E. R.; HIRABARA, S. M.; CASTOLDI, Â.; VIEIRA, P.; CAMARA, N. O.; CURI, R.; CARVALHEIRA, J. B.; SAAD, M. J. Gut microbiota is a key modulator of insulin resistance in TLR 2 knockout mice. **PLoS Biology**, 9:1001212, 2011.

CARRAGETA, D. F.; DIAS, T. R.; ALVES, M. G.; OLIVEIRA, P. F.; MONTEIRO, M. P.; SILVA, B. M. Anti-obesity potential of natural methylxanthines. **Journal of Functional Foods**, v. 43, p. 84-94, 2018.

CASTRO, A. V. B.; KOLKA, C. M.; KIM, S. P.; BERGMAN, R. N. Obesity, insulin resistance and comorbidities? Mechanisms of association. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 58:600-609, 2014.

CEFALU, W. T. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. **Experimental Biology and Medicine**, 226: 13-26, 2001.

CELI, F. S.; LE, T. N.; NI, B. Physiology and relevance of human adaptive thermogenesis response. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, 26: 238–247, 2015.

CHE, R.; YUAN, Y.; HUANG, S.; ZHANG, A. Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of renal diseases. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, 306:F367-F378, 2013.

CHEN, Y. M.; CHIANG, W. C.; YANG, Y.; LAI, C. F.; WU, K. D.; LIN, S. L. Pentoxifylline attenuates proteinuria in anti-Thy1 glomerulonephritis via downregulation of nuclear factor- $\kappa$ B and Smad2/3 signaling. **Molecular Medicine**, 21:276-284, 2015.

CHEN, Y. M.; CHIANG, W. C.; LIN, S. L.; TSAI, T. J. Therapeutic efficacy of pentoxifylline on proteinuria and renal progression: an update. **Journal of Biomedical Science**, 24:84, 2017.

CHISTIAKOV, D. A.; MELNICHENKO, A. A.; OREKHOV, A. N.; BOBRYSHCHEV, Y. V. Paraoxonase and atherosclerosis-related cardiovascular diseases. **Biochimie**, 132:19-27, 2017.

CHOE, S. S.; HUH, J. Y.; HWANG, I. J.; KIM, J. I.; KIM, J. B. Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders. **Frontiers in Endocrinology**, 7:30, 2016.

CHUNG, J. H.; MANGANIELLO, V.; DYCK, J. R. B. Resveratrol as a calorie restriction mimetic: therapeutic implications. **Trends in cell biology**, 22:546-554, 2012.

CODONER-FRANCH, P.; ALONSO-IGLESIAS, E. Resistin: insulin resistance to malignancy. **Clinica chimica acta**, 438:46-54, 2015.

COOK, J. G. H. Creatinine assay in the presence of protein. **International Journal of Clinical Chemistry**, 32:485-6, 1971.

CORKEY, B. E. Banting lecture 2011: hyperinsulinemia: cause or consequence? **Diabetes**, 61:4-13, 2012.

COSTA, L. G.; MCDONALD, B. E.; MURPHY, S. D.; OMENN, G. S.; RICHTER, R. J.; MOTULSKY, A. G.; FURLONG, C. E. Serum Paraoxonase and its influence on paraoxon and chlorpyrifos-oxon toxicity in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 103:66-76, 1990.

COSTA, L. G.; GIORDANO, G.; FURLONG, C. E. Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: the hunt goes on. **Biochemical Pharmacology**, 81:337-344, 2011.

CROUCH, S. P.; FLETCHER, J. Effect of ingested pentoxifylline on neutrophil superoxide anion production. **Infection and Immunity**, 60:4504-9, 1992.

CYPESS, A. M.; KAHN, C. R. Brown fat as a therapy for obesity and diabetes. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity**, 17:143-9, 2010.

CZECH, M. P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. **Nature medicine**, 23:804, 2017.

DE BOER, I. H.; RUE, T. C.; HALL, Y. N.; HEAGERTY, P. J.; WEISS, N. S.; HIMMELFARB, J. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. **Jama**, 305:2532–2539, 2011.

DECLÈVES, A. E.; MATHEW, A. V.; CUNARD, R.; SHARMA, K. AMPK mediates the initiation of kidney disease induced by a high-fat diet. **Journal of the American Society of Nephrology**, 22:1846–1855, 2011.

DECLÈVES, A. E.; ZOLKIPLI, Z.; SATRIANO, J.; WANG, L.; NAKAYAMA, T.; ROGAC, M.; LE, T. P.; NORTIER, J. L.; FARQUHAR, M. G.; NAVIAUX, R. K.; SHARMA, K. Regulation of lipid accumulation by AMK-activated kinase in high fat diet–induced kidney injury. **Kidney International**, 85:611-623, 2014.

DENIAUD, A.; MAILLIER, E.; PONCET, D.; KROEMER, G.; LEMAIRE, C.; BRENNER, C. Endoplasmic reticulum stress induces calcium-dependent permeability transition, mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis. **Oncogene**, 27:285–299, 2008.

DONATE-CORREA, J.; TAGUA, V. G.; FERRI, C.; MARTÍN-NÚÑEZ, E.; HERNÁNDEZ-CARBALLO, C.; UREÑA-TORRES, P.; RUIZ-ORTEGA, M.; ORTIZ, A.; MORA-FERNÁNDEZ, C.; NAVARRO-GONZÁLEZ, J. F. Pentoxifylline for renal protection in diabetic kidney disease. A Model of old drugs for new horizons. **Journal of clinical medicine**, 8:287, 2019.

SANTOS, C. H. C.; TALPO, T. C.; MOTTA, B. P.; KAGA, A. K.; BAVIERA, A. M.; CASTRO, R. N.; DA SILVA, V. C.; DE SOUSA-JUNIOR, P. T.; WESSJOHANN, L.; DE CARVALHO, M. G. New compounds of *Siolmatra brasiliensis* and inhibition of in vitro protein glycation damage. **Fitoterapia**, 133:109-119, 2019.

DU, X. L.; EDELSTEIN, D.; ROSSETTI, L.; FANTUS, I. G.; GOLDBERG, H.; ZIYADEH, F.; WU, J.; BROWNLEE, M. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 97:12222-12226, 2000.

DU, J.; MA, Y. Y.; YU, C. H.; LI, Y. M. Effects of pentoxifylline on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, 20:569, 2014.

DUARTE, S. M. B.; STEFANO, J. T.; OLIVEIRA, C. P. Microbiota and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH). **Annals of hepatology**, 18:416-421, 2019.

DUCOMMUN, S.; DEAK, M.; SUMPTON, D.; FORD, R. J.; NÚÑEZ GALINDO, A.; KUSSMANN, M.; VIOLLET, B.; STEINBERG, G. R.; FORETZ, M.; DAYON, L.; MORRICE, N. A.; SAKAMOTO, K. Motif affinity and mass spectrometry proteomic approach for the discovery of cellular AMPK targets: identification of mitochondrial fission factor as a new AMPK substrate. **Cellular signalling**, 27:978-988, 2015.

DULLOO, A. G. The search for compounds that stimulate thermogenesis in obesity management: from pharmaceuticals to functional food ingredients. **Obesity reviews**, 12:866-883, 2011.

DUMAN, D. G.; OZDEMIR, F.; BIRBEN, E.; KESKIN, O.; EKŞİOĞLU-DEMIRALP, E.; CELIKEL, C.; KALAYCI, O.; KALAYCI, C. Effects of pentoxifylline on TNF- $\alpha$  production by peripheral blood mononuclear cells in patients with nonalcoholic steatohepatitis. **Digestive Diseases and Sciences**, 52:2520-2524, 2007.

FALKEVALL, A.; MEHLEM, A.; PALOMBO, I.; HELLER SAHLGREN, B.; EBARASI, L.; HE, L.; YTTERBERG, A. J.; OLAUSON, H.; AXELSSON, J.; SUNDELIN, B.; PATRAKKA, J.; SCOTNEY, P.; NASH, A.; ERIKSSON, U. Reducing VEGF-B signaling ameliorates renal lipotoxicity and protects against diabetic kidney disease. **Cell Metabolism**, 25:713-726, 2017.

FERREIRA, A. V. M.; MENEZES-GARCIA, Z.; VIANA, J. B.; MÁRIO, E. G.; BOTION, L. M. Distinct metabolic pathways trigger adipocyte fat accumulation induced by high-carbohydrate and high-fat diets. **Nutrition**, 30:1138-1143, 2014.

FESTING, M. F. Inbred strains should replace outbred stocks in toxicology, safety testing, and drug development. **Toxicologic Pathology**, 38:681-690, 2010.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, 226:497-509, 1956.

FORBES, J. M.; COOPER, M. E. Mechanisms of diabetic complications. **Physiological Reviews**, 93:137-188, 2013.

FOWLER, M. J. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. **Clinical Diabets**, 26:77-82, 2008.

FREITAS, J. P.; FILIPE, P. M. Pentoxifylline. **Biological Trace Element Research**, 47:307-311, 1995.

FRIMAT, M.; DAROUX, M.; LITKE, R.; NEVIÈRE, R.; TESSIER, F. J.; BOULANGER, E. Kidney, heart and brain: three organs targeted by ageing and glycation. **Clinical Science**, 131:1069-1092, 2017.

GAI, Z.; WANG, T.; VISENTIN, M.; KULLAK-UBLICK, G. A.; FU, X.; WANG, Z. Lipid Accumulation and Chronic Kidney Disease. **Nutrients**, 11:722, 2019.

GALVAN, D. L.; GREEN, N. H.; DANESH, F. R. The hallmarks of mitochondrial dysfunction in chronic kidney disease. **Kidney international**, 92:1051-1057, 2017.

GARCIA, F. A. O.; REBOUÇAS, J. F.; BALBINO, T. Q.; DA SILVA, T. G.; DE CARVALHO-JÚNIOR, C. H. R.; CERQUEIRA, G. S.; BRITO G. A.; DE BARROS VIANA, G. S. Pentoxifylline reduces the inflammatory process in diabetic rats: relationship with decreases of pro-inflammatory cytokines and inducible nitric oxide synthase. **Journal of Inflammation**, 12: 33, 2015.

GESTA, S.; TSENG, Y. H.; KAHN, C. R. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. **Cell**, 131:242-256, 2007.

GETZ, G. S. Overview of murine atherosclerosis series. **Current Drug Targets**, 8:1144–1149, 2007.

GRUZDEVA, O.; BORODKINA, D.; UCHASOVA, E.; DYLEVA, Y.; BARBARASH, O. Leptin resistance: underlying mechanisms and diagnosis. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy**, 12:191, 2019.

GUILBAUD, A.; NIQUET-LERIDON, C.; BOULANGER, E.; TESSIER, F. J. How can diet affect the accumulation of advanced glycation end-products in the human body? **Foods**, 5:84, 2016.

GUO, J.; JOU, W.; GAVRILOVA, O.; HALL, K. D. Persistent diet-induced obesity in male C57BL/6 mice resulting from temporary obesogenic diets, **PloS One**, 4:e5370, 2009.

GUTCH, M.; KUMAR, S.; RAZI, S. M.; GUPTA, K. K.; GUPTA, A. Assessment of insulin sensitivity/resistance. **Indian journal of endocrinology and metabolism**, 19:160, 2015.

HAAN, C.; BEHRMANN, I. A cost effective non-commercial ECL-solution for Western blot detections yielding strong signals and low background. **Journal of Immunological Methods**, 318: 11-19, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERRIDGE, J. M. C. Free radical in Biology and Medicine. 3rd ed. New York: **Oxford Science Publications**, 2010.

HAN, J.; KAUFMAN, R. J. The role of ER stress in lipid metabolism and lipotoxicity. **Journal of Lipid Research**, 57:1329-1338, 2016.

HARCOURT, B. E.; SOURRIS, K. C.; COUGHLAN, M. T.; WALKER, K. Z.; DOUGHERTY, S. L.; ANDRIKOPOULOS, S.; MORLEY, A. L.; THALLAS-BONKE, V.; CHAND, V.; PENFOLD, S. A.; DE COURTEN, M. P.; THOMAS, M. C.; KINGWELL, B. A.; BIERHAUS, A.; COOPER, M. E.; DE COURTEN, B.; FORBES, J. M. Targeted reduction of advanced glycation improves renal function in obesity. **Kidney international**, 80: 190-198, 2011.

HARRIS, R. B. S. Direct and indirect effects of leptin on adipocyte metabolism. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, 1842:414-423, 2014.

HAUCK, A. K.; BERNLOHR, D. A. Oxidative stress and lipotoxicity. **Journal of Lipid Research** 57:1976-1986, 2016.

HE, C.; SABOL, J.; MITSUHASHI, T.; VLASSARA, H. Dietary glycotoxins: inhibition of reactive products by aminoguanidine facilitates renal clearance and reduces tissue sequestration. **Diabetes**, 48: 1308-1315, 1999.

HOCK, M. B.; KRALLI, A. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis and function. **Annual review of physiology**, 71:177-203, 2009.

HOSSAIN, P.; KAWAR, B.; EL NAHAS, M. Obesity and diabetes in the developing world a growing challenge. **New England Journal of Medicine**, 356:213-5, 2007.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, 259:87-91, 1993.

INOUE, H.; KOBAYASHI-HATTORI, K.; HORIUCHI, Y.; OISHI, Y.; ARAI, S.; TAKITA, T. Regulation of the body fat percentage in developmental-stage rats by methylxanthine derivatives in a high-fat diet. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 70:1134-1139, 2006.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. Diabetes Atlas, 8th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2017.

ISAKOVA, T.; NICKOLAS, T. L.; DENBURG, M.; YARLAGADDA, S.; WEINER, D. E.; GUTIÉRREZ, O. M.; BANSAL, V.; ROSAS, S. E.; NIGWEKAR, S.; YEE, J.; KRAMER, H.; KDOQI US commentary on the 2017 KDIGO clinical practice guideline update for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease–mineral and bone disorder (CKD-MBD). **American Journal of Kidney Diseases**, 70:737-751, 2017.

JEFFERSON, J. A.; SHANKLAND, S. J.; PICHLER, R. H. Proteinuria in diabetic kidney disease: a mechanistic viewpoint. **Kidney international**, 74:22-36, 2008.

JENSEN, V. S.; PORSGAARD, T.; LYKKESFELDT, J.; HVID, H. Rodent model choice has major impact on variability of standard preclinical readouts associated with diabetes and obesity research. **American Journal of Translational Research**, 8:3574, 2016.

JIANG, T.; WANG, Z.; PROCTOR, G.; MOSKOWITZ, S.; LIEBMAN, S. E.; ROGERS, T.; LUCIA, M. S.; LI, J.; LEVI, M. Diet-induced obesity in C57BL/6J mice causes increased renal lipid accumulation and glomerulosclerosis via a sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent pathway. **Journal of Biological Chemistry**, 280:32317-32325, 2005.

JOHNSON, R. N.; METCALF, P. A.; BAKER, J. R. Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosylprotein. An index of diabetic control. **Clinica Chimica Acta**, 127:87-95, 1982.

KANG, Y. R.; LEE, H. Y.; KIM, J. H.; MOON, D. I.; SEO, M. Y.; PARK, S. H.; CHOI, K. H.; KIM, C. R.; KIM, S. H.; OH, J. H.; CHO, S. W.; KIM, S. Y.; KIM, M. G.; CHAE, S. W.; KIM, O.; OH, H. G. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. **Laboratory Animal Research**, 28:23-29, 2012.

KERN, P. A.; RANGANATHAN, S.; LI, C.; WOOD, L.; RANGANATHAN, G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 280:745–751. 2001.

KHANAPURE, A.; CHUKI, P.; DE SOUSA, S. Drug repositioning: old drugs for new indications, **Indian Journal of Applied Research**, 8:462-66, 2014.

KNIGHT, Z. A.; HANNAN, K. S.; GREENBERG, M. L.; FRIEDMAN, J. M. Hyperleptinemia is required for the development of leptin resistance. **PloS one**, 5:e11376, 2010.

KOHN, H. I.; LIVERSEDGE, M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 82: 292-300, 1944.

KOPPE, S. W.; SAHAI, A.; MALLADI, P.; WHITINGTON, P. F.; GREEN, R. M. Pentoxifylline attenuates steatohepatitis induced by the methionine choline deficient diet. **Journal of hepatology**, 41:592-598, 2004.

KOSCHINSKY, T.; HE, C. J.; MITSUHASHI, T.; BUCALA, R.; LIU, C.; BUENTING, C.; HEITMANN, K.; VLASSARA, H. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): An environmental risk factor in diabetic nephropathy. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 94, 6474–6479, 1997.

KUMAGAI, T.; NANGAKU, M.; KOJIMA, I.; NAGAI, R.; INGELFINGER, J. R.; MIYATA, T.; FUJITA, T.; INAGI, R. Glyoxalase I overexpression ameliorates renal ischemia-reperfusion injury in rats. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, 296:F912-F921, 2009.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**. 227:680-685, 1970.

LAI, T. S.; CHIANG, W. C.; CHEN, Y. M. Pentoxifylline: evidence strong enough for renoprotection? **Journal of the Formosan Medical Associations**, 115:591–2, 2016.

LEE, H. J.; FELIERS, D.; MARIAPPAN, M. M.; SATARANATARAJAN, K.; CHOUDHURY, G. G.; GORIN, Y.; KASINATH, B. S. Tadalafil integrates nitric oxide-hydrogen sulfide signaling to inhibit high glucose-induced matrix protein synthesis in podocytes. **Journal of Biological Chemistry**, 290:12014-12026, 2015.

LEPORINI, C.; PISANO, A.; RUSSO, E.; DE SARRO, G.; COPPOLINO, G.; BOLIGNANO, D. Effect of pentoxifylline on renal outcomes in chronic kidney disease patients: a systematic review and meta-analysis. **Pharmacological Research**, 107:315–32, 2016.



LEVITAN, I.; VOLKOV, S.; SUBBIAH, P. V. Oxidized LDL: Diversity, patterns of recognition, and pathophysiology. **Antioxidants & Redox Signaling**, 13:39-75, 2010.

LI, Y. M.; MITSUHASHI, T.; WOJCIECHOWICZ, D.; SHIMIZU, N.; LI, J.; STITT, A.; HE, C.; BANERJEE, D.; VLASSARA, H. Molecular identity and cellular distribution of advanced glycation endproduct receptors: relationship of p60 to OST-48 and p90 to 80K-H membrane proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 93:11047-11052, 1996.

LI, T.; GAO, J.; DU, M.; SONG, J.; MAO, X. Milk fat globule membrane attenuates high-fat diet-induced obesity by inhibiting Adipogenesis and increasing uncoupling protein 1 expression in white adipose tissue of mice. **Nutrients**, 10:331, 2018.

LILLIBRIDGE, J. A.; KALHORN, T. F.; SLATTERY, J. T. Metabolism of lisofylline and pentoxifylline in human liver microsomes and cytosol. **Drug Metabolism and Disposition**, 24:1174-9, 1996.

LIU, A. G.; ARCENEUX, K. P.; CHU, J. T.; JACOB, G. JR.; SCHREIBER, A. L.; TIPTON, R. C.; YU, Y.; JOHNSON, W. D.; GREENWAY, F. L.; PRIMEAUX, S. D. The effect of caffeine and albuterol on body composition and metabolic rate. **Obesity**, 23:1830–1835, 2015.

LIU, D.; WANG, L. N.; LI, H. X.; HUANG, P.; QU, L. B.; CHEN, F. Y. Pentoxifylline plus ACEIs/ ARBs for proteinuria and kidney function in chronic kidney disease: a meta-analysis. **Journal of International Medical Research**, 45:383–98, 2017.

LÓPEZ-DÍEZ, R.; SHEKHTMAN, A.; RAMASAMY, R.; SCHMIDT, A. M. Cellular mechanisms and consequences of glycation in atherosclerosis and obesity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA), Molecular Basis of Disease**, 1862:2244-2252, 2016.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 193:265-275, 1951.

LU, C.; HE, J. C.; CAI, W.; LIU, H.; ZHU, L. I.; VLASSARA, H. Advanced glycation endproduct (AGE) receptor 1 is a negative regulator of the inflammatory response to AGE in mesangial cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 101: 11767-11772, 2004.

LUCA, C.; OLEFSKY, J.M. Inflammation and Insulin Resistance. **FEBS Lett.** 582:97-105, 2008.

LUO, L.; LIU, M. Adipose tissue in control of metabolism. **Journal of Endocrinology**, 231: R77-R99, 2016.

MACKNESS, M.; MACKNESS, B. Targeting paraoxonase-1 in atherosclerosis. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, 17:829–837, 2013.

MADONNA, R.; DE CATERINA, R. Cellular and molecular mechanisms of vascular injury in diabetes—part I: pathways of vascular disease in diabetes. **Vascular Pharmacology**, 54:68-74, 2011.

MANOLESCU, B. N.; BUSU, C.; BADITA, D.; STANCULESCU, R.; BERTEANU, M. Paraoxonase 1—an update of the antioxidant properties of high-density lipoproteins. **Maedica**, 10:173, 2015.

MANSBACH, C. M.; GORELICK, F. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, 293:G645-G650, 2007.

MAO, Y. X.; CAI, W. J.; SUN, X. Y.; DAI, P. P.; LI, X. M.; WANG, Q.; HUANG, X. L.; HE, B.; WANG, P. P.; WU, G.; MA, J. F.; HUANG, S. B. RAGE-dependent mitochondria pathway: a novel target of silibinin against apoptosis of osteoblastic cells induced by advanced glycation end products. **Cell Death & Disease**, 9:674, 2018.

MARTIN, B.; CARON, N.; JADOT, I.; COLOMBARO, V.; FEDERICI, G.; DEPOMMIER, C.; DECLÈVES, A. É. Evaluation of inducible nitric oxide synthase inhibition on kidney function and structure in high-fat diet-induced kidney disease. **Experimental Physiology**, 103:125-140, 2018.

MASSART, J.; ROBIN, M. A.; NOURY, F.; FAUTREL, A.; LETTÉRON, P.; BADO, A.; ELIAT, P. A.; FROMENTY, B. Pentoxifylline aggravates fatty liver in obese and diabetic ob/ob mice by increasing intestinal glucose absorption and activating hepatic lipogenesis. **British Journal of Pharmacology**, 165:1361-1374, 2012.

MAURY, E.; BRICHARD, S. M. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 314:1-16, 2010.

MCCARTY, M. F.; O'KEEFE, J. H.; DINICOLANTONIO, J. J. Pentoxifylline for vascular health: a brief review of the literature. **Open Heart**, 3:365, 2016.

MEEPROM, A.; SOMPONG, W.; CHAN, C.; ADISAKWATTANA, S. Isoferulic Acid, a New Anti-Glycation Agent, Inhibits Fructose and Glucose-Mediated Protein Glycation in Vitro. **Molecules**, 18:6439-54, 2013.

MENG, X. M.; TANG, P. M. K.; LI, J.; LAN, H. Y. TGF- $\beta$ /Smad signaling in renal fibrosis. **Frontiers in Physiology**, 6:82, 2015.

MITSUMOTO, A.; KIM, K. R.; OSHIMA, G.; KUNIMOTO, M.; OKAWA, K.; IWAMATSU, A.; NAKAGAWA, Y. Nitric oxide inactivates glyoxalase I in cooperation with glutathione. **The Journal of Biochemistry**, 128:647-654, 2000.

MIYAKE, Y.; YASUI, M.; IKEDA, K.; KONDO, T.; TSUKAMOTO, S.; HORI, C.; OKEMOTO, N.; MASHOU, K.; BANDO, R.; NAKAMURA, N.; TORAYA, T. Molecular cloning and expression of starfish protein kinase C isoforms. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 73:1550-1560, 2009.

MÖLLMANN, J.; KAHLES, F.; LEBHERZ, C.; KAPPEL, B.; BAECK, C.; TACKE, F.; WERNER, C.; FEDERICI M.; MARX N.; LEHRKE M. The PDE4 inhibitor roflumilast reduces weight gain by increasing energy expenditure and leads to improved glucose metabolism. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, 19:496-508, 2017.

MONTANARI, T.; POŠČIĆ, N.; COLITTI, M. Factors involved in white-to-brown adipose tissue conversion and in thermogenesis: a review. **Obesity Reviews**, 18:495-513, 2017.

MONTEIRO, J. P.; ALVES, M. G.; OLIVEIRA, P. F.; SILVA, B. M. Structure-bioactivity relationships of methylxanthines: Trying to make sense of all the promises and the drawbacks. **Molecules**, 21:974, 2016.

MONTEIRO, M. P. "Obesity vaccines." **Human Vaccines & Immunotherapeutics** 10.4:887-895, 2014.

MONTGOMERY, M. K.; HALLAHAN, N. L.; BROWN, S. H.; LIU, M.; MITCHELL, T. W.; COONEY, G. J.; TURNER, N. Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding. **Diabetologia**, 56:1129-1139, 2013.

MONTORO-MOLINA, S.; LÓPEZ-CARMONA, A.; QUESADA, A.; O'VALLE, F.; MARTÍN-MORALES, N.; OSUNA, A.; VARGAS, F.; WANGENSTEEN, R. Klotho and aminopeptidases as early biomarkers of renal injury in Zucker obese rats. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 1599, 2018.

MOSLI, R. H.; MILLER, A. L.; PETERSON, K. E.; KACIROTI, N.; ROSENBLUM, K.; BAYLIN, A.; LUMENG, J. C. Birth order and sibship composition as predictors of overweight or obesity among low-income 4-to 8-year-old children. **Pediatric Obesity**, 11:40-46, 2016.

MOTTA, B. P.; KAGA, A. K.; OLIVEIRA, J. O.; INACIO, M. D.; DA SILVA, C. F.; DE SOUSA JUNIOR, P. T.; BRUNETTI, I. L.; BAVIERA, A. M. *In vitro* inhibition of protein glycation and advanced glycation end products formation by hydroethanolic extract and two fractions of *Simaba trichilioides* roots. **Natural Product Research**, 1-5, 2018.

MROZ, J. R. Clinical Enzymology. In: Anderson SC, Cockayne S (eds). *Clinical Chemistry Concepts & Applications*, chapter 11, Mc Graw-Hill, 179-202, 2003.

MULLER, R. Hemorheology and peripheral vascular diseases: A new therapeutic approach. **Journal of Medicine**, 12: 209-35, 1981.

NEWTON, A. C.; BOOTMAN, M. D.; SCOTT, J. D. Second messengers. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, 8: a005926, 2016.

NG, Y. Y.; CHEN, Y. M.; TSAI, T. J.; LAN, X. R.; YANG, W. C.; LAN, H. Y. Pentoxifylline inhibits transforming growth factor-beta signaling and renal fibrosis in experimental crescentic glomerulonephritis in rats. **American Journal of Nephrology**, v. 29, n. 1, p. 43-53, 2009.

NICKLASSON, M.; BJÖRKMAN, S.; ROTH, B.; JÖNSSON, M.; HÖGLUND, P. Stereoselective metabolism of pentoxifylline in vitro and in vivo in humans. **Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry**, 14:643-652, 2002.

NOWOTNY, K.; JUNG, T.; HÖHN, A.; WEBER, D.; GRUNE, T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. **Biomolecules**, 5:194-222, 2015.

O'CONNELL, T. X.; HORITA, T. J.; KASRAVI, B. Understanding and interpreting serum protein electrophoresis. **American Family Physician**, 71:105-112, 2005.

OSSWALD, H.; SCHNERMANN, J. Methylxanthines and the kidney. **Handbook of Experimental Pharmacology**, 200:391-412., 2011.

OTT, C.; JACOBS, K.; HAUCKE, E.; SANTOS, A. N.; GRUNE, T.; SIMM, A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. **Redox Biology**, 2:411-429, 2014.

OUCHI, N.; PARKER, J. L.; LUGUS, J. J.; WALSH, K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature reviews immunology**, 11:85, 2011.

PANEE, J. Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. **Cytokine**, 60:1-12, 2012.

PATSRI, O.; SIRIPURKPONG, P.; FONGSUPA, S.; KONGKHUM, S.; RERKSNAGARM T.; BORDEERAT, N. K. Comparison of renal biomarkers in obesity with early renal dysfunction. **Journal of Associated Medical Sciences**, 52:163-169, 2019.

PASUPULATI, A. K.; CHITRA, P. S.; REDDY, G. B. Advanced glycation end products mediated cellular and molecular events in the pathology of diabetic nephropathy. **Biomolecular Concepts**, p. 1-17, 2016.

PEREIRA, S. S.; ALVAREZ-LEITE, J. I. Adipokines: biological functions and metabolically healthy obese profile. **Journal of Receptor, Ligand and Channel Research**, 7:15-25, 2014.

PETERSEN, M. C.; SHULMAN, G. I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. **Physiological Reviews**, 98:2133-2223, 2018.

PODRINI, C.; CAMBRIDGE, E. L.; LELLIOTT, C. J.; CARRAGHER, D. M.; ESTABEL, J.; GERDIN, A. K.; KARP, N. A.; SCUDAMORE, C. L.; SANGER MOUSE GENETICS PROJECT; RAMIREZ-SOLIS, R.; WHITE, J. K. High-fat feeding rapidly induces obesity and lipid derangements in C57BL/6N mice. **Mammalian Genome**, 24:240-251, 2013.

POKUPEC, R.; KALAUZ, M.; TURK, N.; TURK, Z. Advanced glycation endproducts in human diabetic and non-diabetic cataractous lenses. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, 241:378-384, 2003.

PROTZEK, A. O.; RAFACHO, A.; VISCELLI, B. A.; BOSQUEIRO, J. R.; CAPPELLI, A. P.; PAULA, F. M.; BOSCHERO, A. C.; PINHEIRO, E. C. Insulin and glucose sensitivity, insulin secretion and  $\beta$ -cell distribution in endocrine pancreas of the fruit bat *Artibeus lituratus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 157:142–148, 2010.

RABBANI, N.; THORNALLEY, P. J. Glyoxalase 1 Modulation in Obesity and Diabetes. **Antioxidants & Redox Signaling**, 30:354-374, 2018.

RADFAR, M.; LARIJANI, B.; HADJIBABAIE, M.; RAJABIPOUR, B.; MOJTAHEDI, A.; ABDOLLAHI, M. Effects of pentoxifylline on oxidative stress and levels of EGF and NO in blood of diabetic type-2 patients; a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 59:302-6, 2005.

RAHBAR, S.; NATARAJAN, R.; YERNENI, K.; SCOTT, S.; GONZALES, N.; NADLER, J. L. Evidence that pioglitazone, metformin and pentoxifylline are inhibitors of glycation. **Clinica Chimica Acta**, 301:65-77, 2000.

RALL, T. W. Drug used in the treatment of asthma. In: Limbird LE, Milinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG, Hardman JG, eds. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. New York: Pergamon Press, 618-38, 1990.

RAMALHO, L.; DA JORNADA, M. N.; ANTUNES, L. C.; HIDALGO, M. P. Metabolic disturbances due to a high-fat diet in a non-insulin-resistant animal model. **Nutrition & Diabetes**, 7:e245, 2017.

RAMIREZ, C. E.; NIAN, H.; YU, C.; GAMBOA, J. L.; LUTHER, J. M.; BROWN, N. J.; SHIBAO, C. A. Treatment with sildenafil improves insulin sensitivity in prediabetes: a randomized, controlled trial. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 100:4533-4540, 2015.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **Journal of Nutritional**, 1938-51, 1993.

REHMAN, K.; AKASH, M. S. H. Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance: how are they interlinked?. **Journal of biomedical science**, 23:87, 2016.

REIDY, K.; KANG, H. M.; HOSTETTER, T.; SUSZTAK, K. Molecular mechanisms of diabetic kidney disease. **The Journal of Clinical Investigation**, 124:2333-2340, 2014.

RICHTER, R. J.; JARVIK, G. P.; FURLONG, C. E. Determination of paraoxonase 1 status without the use of toxic organophosphate substrates. **Circulation: Genomic and Precision Medicine**, 1:147-152, 2008.

RIFAI, N.; WARNICK, G. R. Lipids, lipoproteins, Apolipoproteins, and other cardiovascular risk factors. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds). **Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics**, 4th ed, Elsevier S., 903-81, 2006.

ROJAS, A.; MORALES, M. A.; ARAYA, P.; GONZÁLEZ, I. RAGE-The Receptor of Advanced Glycation End Products. **eLS**, p. 1-7, 2017.

ROMÃO G. B. Estudo in vitro da ação de extrato hidroetanólico de *Cordia verbenácea* DC. Em espécies reativas de oxigênio de importância biológica. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, 2016.

RUSH, J. W; SANDIFORD, S. D. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. **Clinical Biochemistry**, 36:345-51, 2003.

SABOUNY, R.; FRAUNBERGER, E.; GEOFFRION, M.; NG, A. C.; BAIRD, S. D.; SCREATON, R. A.; MILNE, R.; MCBRIDE, H. M.; SHUTT, T. E. The Keap1–Nrf2 stress response pathway promotes mitochondrial hyperfusion through degradation of the mitochondrial fission protein Drp1. **Antioxidants & redox signaling**, 27:1447-1459, 2017.

SALTIEL, A. R.; OLEFSKY, J. M. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. **The Journal of Clinical Investigation**, 127:1-4, 2017.

SAMPLE, C. H.; MARTIN, A. A.; JONES, S.; HARGRAVE, S. L.; DAVIDSON, T. L. Western-style diet impairs stimulus control by food deprivation state cues: implications for obesogenic environments. **Appetite**, 93:13-23, 2015.

SAMUEL, V. T.; SHULMAN, G. I. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. **Cell**, 148:852-871, 2012.

STEENBERGEN, R. H.; JOYCE, M. A.; LUND, G.; LEWIS, J.; CHEN, R.; BARSBY, N.; DOUGLAS, D.; ZHU, L. F.; TYRRELL, D. L.; KNETEMAN, N. M. Lipoprotein profiles in SCID/uPA mice transplanted with human hepatocytes become human-like and correlate with HCV infection success. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver**, 299: G844–G854, 2010.

SCHAFFER, J. E. Lipotoxicity: When tissues overeat. **Current Opinion in Lipidology**, 14: 281-287, 2003.

SCHWARTZ, D. R.; LAZAR, M. A. Human resistin: found in translation from mouse to man. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, 22:259-265, 2011.

SCHWEITZER, M. L.; STENGEL, B.; LEGRAND, K.; BRIANÇON, S.; JACQUELINET, C.; COMBE, C.; FOUQUE, D.; MASSY, Z. A.; LAVILLE, M.; FRIMAT, L.; AYAV, C. Obesity phenotype and patient-reported outcomes in moderate and severe chronic kidney disease: a cross-sectional study from the CKD-REIN cohort study. **Quality of Life Research**, p. 1-11, 2019.

SELVIN, E.; RAWLINGS, A. M.; GRAMS, M.; KLEIN, R.; SHARRETT, A. R.; STEFFES, M.; CORESH, J. Fructosamine and glycated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications: a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. **The lancet Diabetes & endocrinology**, 2:279-288, 2014.

SÉRO, L.; SANGUINET, L.; BLANCHARD, P.; DANG, B. T.; MOREL, S.; RICHOMME, P.; SÉRAPHIN, D.; DERBRÉ, S. Tuning a 96-well microtiter plate fluorescence-based assay to identify AGE inhibitors in crude plant extracts. **Molecules**, 18:14320-14339, 2013.

SHANIK, M. H.; XU, Y.; ŠKRHA, J.; DANKNER, R.; ZICK, Y.; ROTH, J. Insulin resistance and hyperinsulinemia: is hyperinsulinemia the cart or the horse?. **Diabetes care**, 31:S262-S268, 2008.

SHIRKHANI, S.; MARANDI, S. M.; KAZEMINASAB, F.; ESMAEILI, M.; GHAEDI, K.; ESFARJANI, F.; SHIRALIAN-ESFAHANI, H.; NASR-ESFAHANI, M. H. Comparative studies on the effects of high-fat diet, endurance training and obesity on Ucp1 expression in male C57BL/6 mice. **Gene**, 676:16-21, 2018.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, 4:180-183, 2015.

SILVA, M. S.; GOMES, R. A.; FERREIRA, A. E.; PONCES FREIRE, A.; CORDEIRO, C. The glyoxalase pathway: the first hundred years... and beyond. **Biochemical Journal**, 453:1-15, 2013.

SINDHU, S.; THOMAS, R.; SHIHAB, P.; SRIRAMAN, D.; BEHBEHANI, K.; AHMAD, R. Obesity is a positive modulator of IL-6R and IL-6 expression in the subcutaneous adipose tissue: significance for metabolic inflammation. **PloS one**, 10:e0133494, 2015.

SINGH, N.; SHRESHTHA, A. K.; THAKUR, M. S.; PATRA, S. Xanthine scaffold: Scope and potential in drug development. **Heliyon**, 4:e00829, 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2017-2018), 2017.

STEPPAN, C. M.; WANG, J.; WHITEMAN, E. L.; BIRNBAUM, M. J.; LAZAR, M. A. Activation of SOCS-3 by resistin. **Molecular and cellular biology**, 25:1569-1575, 2005.

STINKENS, R.; GOOSSENS, G. H.; JOCKEN, J. W.; BLAAK, E. E. Targeting fatty acid metabolism to improve glucose metabolism. **Obesity Reviews**, 16:715-757, 2015.

STIRBAN, A.; GAWLOWSKI, T.; RODEN, M. Vascular effects of advanced glycation endproducts: clinical effects and molecular mechanisms. **Molecular Metabolism**, 3: 94-108, 2014.

SURWIT, R. S.; KUHN, C. M.; COCHRANE, C.; MCCUBBIN, J. A.; FEINGLOS, M. N. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. **Diabetes**, 37:1163-1167, 1988.

SURWIT, R. S.; FEINGLOS, M. N.; RODIN, J.; SUTHERLAND, A.; PETRO, A. E.; OPARA, E. C.; KUHN, C. M.; REBUFFÉ-SCRIVE, M. Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C57BL/6J and A/J mice. **Metabolism**, 44:645-651, 1995.

SUSZTAK, K.; CICCONE, E.; MCCUE, P.; SHARMA, K.; BÖTTINGER, E. P. Multiple metabolic hits converge on CD36 as novel mediator of tubular epithelial apoptosis in diabetic nephropathy. **PLoS Medicine**, 2:e45, 2005.

SZETO, H. H.; LIU, S.; SOONG, Y.; ALAM, N.; PRUSKY, G. T.; SESHAN, S. V. Protection of mitochondria prevents high-fat diet-induced glomerulopathy and proximal tubular injury. **Kidney International**, 90:997-1011, 2016.

TABIT, C. E.; CHUNG, W. B.; HAMBURG, N. M.; VITA, J. A. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, 11:61-74, 2010.

TAIN, Y-L; HSU, C-N. AMP-activated protein kinase as a reprogramming strategy for hypertension and kidney disease of developmental origin. **International journal of molecular sciences**, 19:1744, 2018.

TAIN, Y-L; HSU, C-N; CHAN, J. Y. H. PPARs link early life nutritional insults to later programmed hypertension and metabolic syndrome. **International journal of molecular sciences**, 17:20, 2016.

TAKAHASHI, N.; TETSUKA, T.; URANISHI, H.; OKAMOTO, T. Inhibition of the NF- $\kappa$ B transcriptional activity by protein kinase A. **European Journal of Biochemistry**, 269:4559-4565, 2002.

TANAKA, Y.; KUME, S.; ARAKI, S.; ISSHIKI, K.; CHIN-KANASAKI, M.; SAKAGUCHI, M.; SUGIMOTO, T.; KOYA, D.; HANEDA, M.; KASHIWAGI, A.; MAEGAWA, H.; UZU, T. Fenofibrate, a PPAR $\alpha$  agonist, has renoprotective effects in mice by enhancing renal lipolysis. **Kidney International**, 79:871-882, 2011.

TANG, W.; MARTIN, K. A.; HWA, J. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. **Frontiers in Pharmacology**, 3:87, 2012.

TANG, C.; CAI, J.; DONG, Z. Mitochondrial dysfunction in obesity-related kidney disease: a novel therapeutic target. **Kidney international**, 90:930-933, 2016.

TATEYA, S.; TAMORI, Y.; KAWAGUCHI, T.; KANDA, H.; KASUGA, M. An increase in the circulating concentration of monocyte chemoattractant protein-1 elicits systemic insulin resistance irrespective of adipose tissue inflammation in mice. **Endocrinology**, 151:971-979, 2010

TATEYA, S.; KIM, F.; TAMORI, Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. **Frontiers in Endocrinology**, 4:93, 2013.

The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology: Four Enzymes in Blood. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory**, 33:291-306, 1974.



THORNALLEY, P. J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 419:31-40, 2003.

TOFOVIC, S. P.; KOST JR, C. K.; JACKSON, E. K.; BASTACKY, S. I. Long-term caffeine consumption exacerbates renal failure in obese, diabetic, ZSF1 (fa-facp) rats. **Kidney International**, 61:1433-1444, 2002.

TOFOVIC, S. P.; SALAH, E. M.; JACKSON, E. K.; MELHEM, M. Early renal injury induced by caffeine consumption in obese, diabetic ZSF1 rats. **Renal Failure**, 29:891-902, 2007.

TOMINO, Y.; HAGIWARA, S.; GOHDA, T. AGE-RAGE interaction and oxidative stress in obesity-related renal dysfunction. **Kidney International**. 2011.

TOWBIN, H.; STAEHELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 76:4350-4354, 1979.

TOWNSEND, K.; TSENG, Y. Brown adipose tissue: recent insights into development, metabolic function and therapeutic potential. **Adipocyte**, 1:13-24, 2012.

TREMMEL, M.; GERDTHAM, U. G.; NILSSON, P. M.; SAHA, S. Economic burden of obesity: a systematic literature review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 14: 435, 2017.

TREWIN, A. J.; BERRY, B. J.; WOJTOVICH, A. P. Exercise and mitochondrial dynamics: keeping in shape with ROS and AMPK. **Antioxidants**, 7:7, 2018.

TRINDER, P. Determination of blood glucose using 4-amino phenazone as oxygen acceptor. **Journal of Clinical Pathology**, 22: 158-61, 1969.

UCHIDA, A.; WHITSITT, M. C.; EUSTAQUIO, T.; SLIPCHENKO, M. N.; LEARY, J. F.; CHENG, J. X.; BUHMAN, K. K. Reduced triglyceride secretion in response to an acute dietary fat challenge in obese compared to lean mice. **Frontiers in physiology**, 3:26, 2012.

UEDA-WAKAGI, M.; NAGAYASU, H.; YAMASHITA, Y.; ASHIDA, H. Green Tea Ameliorates Hyperglycemia by Promoting the Translocation of Glucose Transporter 4 in the Skeletal Muscle of Diabetic Rodents. **International journal of molecular sciences**, 20:2436, 2019.

VAN DER HEIJDEN, R. A.; BIJZET, J.; MEIJERS, W. C.; YAKALA, G. K.; KLEEMANN, R.; NGUYEN, T. Q.; DE BOER, R. A.; SCHALKWIJK, C. G.; HAZENBERG, B. P.; TIETGE, U. J.; HEERINGA, P. Obesity-induced chronic inflammation in high fat diet challenged C57BL/6J mice is associated with acceleration of age-dependent renal amyloidosis. **Scientific reports**, v. 5, p. 16474, 2015.

VAN HERPEN, N. A.; SCHRAUWEN-HINDERLING, V. B. Lipid accumulation in non-adipose tissue and lipotoxicity. **Physiology & Behavior**, 94:231-241, 2008.

VANDEVIJVERE, S.; CHOW, C. C.; HALL, K. D.; UMALI, E.; SWINBURN, B. A. Increased food energy supply as a major driver of the obesity epidemic: a global analysis. **Bulletin of the World Health Organization**, 93:446-456, 2015.

VIRCHOW, R.; CHANCE, F. Cellular pathology, as based on physiological and pathological histology. J. Churchill; London: 1860. A more precise account of fatty metamorphosis.; p. 351(texto completo disponível eletronicamente via Google Books, <http://books.google.com/>).

WANG, Y.; CHEN, X.; SONG, Y.; CABALLERO, B.; CHESKIN, L. J. Association between obesity and kidney disease: A systematic review and meta-analysis. **Kidney International**, 73: 19-33, 2008.

WANG, Z. H.; HSU, C. C.; LIN, H. H.; CHEN, J. H. Antidiabetic effects of Carassius auratus complex formula in high fat diet combined streptozotocin-induced diabetic mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

WANG, Z.; LIANG, Y.; ZHANG, L.; ZHANG, N.; LIU, Q.; WANG, Z. Phosphodiesterase 4 inhibitor activates AMPK-SIRT6 pathway to prevent aging-related adipose deposition induced by metabolic disorder. **Aging**, 10:2394, 2018.

WILLIAMS, E. P.; MESIDOR, M.; WINTERS, K.; DUBBERT, P. M.; WYATT, S. B. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. **Current Obesity Reports**, 4:363-370, 2015.

WINDMEIER, C.; GRESSNER, A. M. Pharmacological aspects of pentoxifylline with emphasis on its inhibitory actions on hepatic fibrogenesis. **General Pharmacology: The Vascular System**, 29:181-96, 1997.

World Health Organization - Obesity and overweight factsheets. <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>> (acessado em 09 de janeiro de 2018).

WRIGHT, E. M.; MARTÍN, M. G.; TURK, E. Intestinal absorption in health and disease-sugars. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, 17:943-956, 2003.

WROBLEWSKI, F.; LADUE, J. S. Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac with hepatic disease. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 91:569-71, 1956.

WU, J.; ZHAO, M. Y.; ZHENG, H.; ZHANG, H.; JIANG, Y. Pentoxifylline alleviates high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis and early atherosclerosis in rats by inhibiting AGE and RAGE expression. **Acta Pharmacologica Sinica**, 31:1367-75, 2010.

WU, N.; SARNA, L. K.; HWANG, S. Y.; ZHU, Q.; WANG, P.; SIOW, Y. L.; KARMIN, O. Activation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase during high fat diet feeding. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, 1832:1560-1568, 2013.

WU, B. N.; KUO, K. K.; CHEN, Y. H.; CHANG, C. T.; HUANG, H. T.; CHAI, C. Y.; DAI, Z. K.; CHEN, I. J. Theophylline-Based KMUP-1 Improves Steatohepatitis via MMP-9/IL-10 and Lipolysis via HSL/p-HSL in Obese Mice. **International Journal of Molecular Sciences**, 17:1345, 2016.

XENACHIS, C.; SAMOJLIK, E.; RAGHUWANSHI, M. P.; KIRSCHNER, M. A. Leptin, insulin and TNF-alpha in weight loss. **Journal of Endocrinological Investigation**, 24:865–870, 2001.

XU, H.; BARNES, G. T.; YANG, Q.; TAN, G.; YANG, D.; CHOU, C. J.; SOLE, J.; NICHOLS, A.; ROSS, J. S.; TARTAGLIA, L. A.; CHEN, H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**. 112:1821-1830, 2003.

XU, E.; DUBOIS, M. J.; LEUNG, N.; CHARBONNEAU, A.; TURBIDE, C.; AVRAMOGLU, R. K.; DEMARTE, L.; ELCHEBLY, M.; STREICHERT, T.; LÉVY, E.; BEAUCHEMIN, N.; MARETTE, A. Targeted disruption of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 promotes diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance. **Endocrinology**, 150:3503-3512, 2009.

XU, D.; XU, M.; JEONG, S.; QIAN, Y.; WU, H.; XIA, Q.; KONG, X. The Role of Nrf2 in Liver Disease: Novel Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches. **Frontiers in Pharmacology**, 9:1428, 2019.

XUE, M.; RABBANI, N.; MOMIJI, H.; IMBASI, P.; ANWAR, M. M.; KITTERINGHAM, N.; PARK, B. K.; SOUMA, T.; MORIGUCHI, T.; YAMAMOTO, M.; THORNALLEY, P. J. Transcriptional control of glyoxalase 1 by Nrf2 provides a stress-responsive defence against dicarbonyl glycation. **Biochemical Journal**, 443:213-22, 2012.

YALNIZ, M.; BAHÇECIOĞLU, I. H.; KUZU, N.; CELEBI, S.; ATASEVEN, H.; USTÜNDAĞ, B.; OZERCAN, I. H.; SAHIN, K. Amelioration of Steatohepatitis with Pentoxifylline in a Novel Nonalcoholic Steatohepatitis Model Induced by High-Fat Diet. **Digestive Diseases and Sciences**, 52: 2380-86, 2007.

YAMAGISHI S; MATSUI T. Role of receptor for advanced glycation end products (RAGE) in liver disease. **European Journal of Medical Research**, 20:15, 2015.

YAMAMOTO, Y.; KATO, I.; DOI, T.; YONEKURA, H.; OHASHI, S.; TAKEUCHI, M.; WATANABE, T.; YAMAGISHI, S.; SAKURAI, S.; TAKASAWA, S.; OKAMOTO, H.; YAMAMOTO, H. Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE-overexpressing mice. **The Journal of Clinical Investigation**, 108:261-268, 2001.

YANG, Z.; MAKITA, Z.; HORII, Y.; BRUNELLE, S.; CERAMI, A.; SEHAJPAL, P.; SUTHANTHIRAN, M.; VLASSARA, H. Two novel rat liver membrane proteins that bind advanced glycosylation endproducts: relationship to macrophage receptor for glucose-modified proteins. **Journal of Experimental Medicine**, 174:515-524, 1991.

YE, J. H.; CHAO, J.; CHANG, M. L.; PENG, W. H.; CHENG, H. Y.; LIAO, J. W.; PAO, L. H. Pentoxifylline ameliorates non-alcoholic fatty liver disease in hyperglycaemic and dyslipidaemic mice by upregulating fatty acid  $\beta$ -oxidation. **Scientific Reports**, 6:33102, 2016.

YOUNOSSI, Z. M. Non-alcoholic fatty liver disease - a global public health perspective. **Journal of hepatology**, 2018.

YU, D.; PETERMANN, A.; KUNTER, U.; RONG, S.; SHANKLAND, S. J.; FLOEGE, J. Urinary podocyte loss is a specific marker of ongoing glomerular damage than proteinuria. **Journal of the American Society of Nephrology**, 16:1733-41, 2005.

YU, W.; LIU, X.; FENG, L.; YANG, H.; YU, W.; FENG, T.; WANG, S.; WANG, J.; LIU, N. Glycation of paraoxonase 1 by high glucose instigates endoplasmic reticulum stress to induce endothelial dysfunction in vivo. **Scientific Reports**, 7:45827, 2017.

ZHANG, M.; XU, Y. J.; MENGI, S. A.; ARNEJA, A. S.; DHALLA, N. S. Therapeutic potentials of pentoxifylline for treatment of cardiovascular diseases. **Experimental & Clinical Cardiology**, 9: 103-111, 2004.

ZHANG, H.; DAVIES, K. J.; FORMAN, H. J. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. **Free Radical Biology and Medicine**, 88:314-336, 2015.

ZHAO, L.; ZHONG, S.; QU, H.; XIE, Y.; CAO, Z.; LI, Q.; YANG, P.; VARGHESE, Z.; MOORHEAD, J. F.; CHEN, Y.; RUAN, X. Z. Chronic inflammation aggravates metabolic disorders of hepatic fatty acids in high-fat diet-induced obese mice. **Scientific reports**, 5:10222, 2015.

ZHANG, G.; SUN, Q.; LIU, C. Influencing factors of thermogenic adipose tissue activity. **Frontiers in Physiology**, 7:29, 2016.

ZHOU, L. L.; CAO, W.; XIE, C.; TIAN, J.; ZHOU, Z.; ZHOU, Q.; ZHU, P.; LI, A.; LIU, Y.; MIYATA, T.; HOU, F. F.; NIE, J. The receptor of advanced glycation end products plays a central role in advanced oxidation protein products-induced podocyte apoptosis. **Kidney International**, 82:759-770, 2012.

ZHU, Q.; SCHERER, P. E. Immunologic and endocrine functions of adipose tissue: implications for kidney disease. **Nature Reviews Nephrology**, 14:105, 2018.

ZHUANG, A.; FORBES, J. M. Diabetic kidney disease: a role for advanced glycation end-product receptor 1 (AGE-R1)? **Glycoconjugate journal**, 33:645-652, 2016.

ZHUANG, A. Novel role of AGE-R1/OST48 in the metabolome and proteome promoting ER stress in the kidney and liver. 2018. Tese de Doutorado, School of Medicine, The University of Queensland, 2016.

ZHUANG, A.; YAP, F. Y. T.; MCCARTHY, D.; PENFOLD, S. A.; SOURRIS, K. C.; COUGHLAN, M. T.; SCHULZ, B. L.; FORBES, J. M. The AGE receptor, OST48 drives podocyte foot process effacement and basement membrane expansion in experimental diabetic kidney disease via promotion of endoplasmic reticulum stress. **bioRxiv**, p. 710186, 2019.

ZILIN, S.; NAIFENG, L.; BICHENG, L.; JIPING, W. The determination of AGE-peptides by flow injection assay, a practical marker of diabetic nephropathy. **Clinica Chimica Acta**, 313:69-75, 2001