

ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SANTA CASA DE MISERICORDIA DE
VITÓRIA - EMESCAM

GLAUDSON LIMA SOARES CALIMAN
LUCAS SANTOS NEVES VICENTINI
MURILO SILVA ANDRADE

IMPLICAÇÕES DO CONCEITO DE AUTOFAGIA EM TERAPIA NUTRICIONAL

VITÓRIA
2015

GLAUDSON LIMA SOARES CALIMAN
LUCAS SANTOS NEVES VICENTINI
MURILO SILVA ANDRADE

IMPLICAÇÕES DO CONCEITO DE AUTOFAGIA EM TERAPIA NUTRICIONAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM, como requisito parcial para obtenção do grau de médico.

Orientador: Álvaro Armando Carvalho de Moraes

VITÓRIA
2015

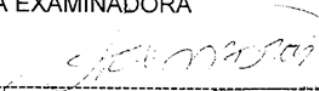
GLAUDSON LIMA SOARES CALIMAN
LUCAS SANTOS NEVES VICENTINI
MURILO SILVA ANDRADE

IMPLICAÇÕES DO CONCEITO DE AUTOFAGIA EM TERAPIA NUTRICIONAL

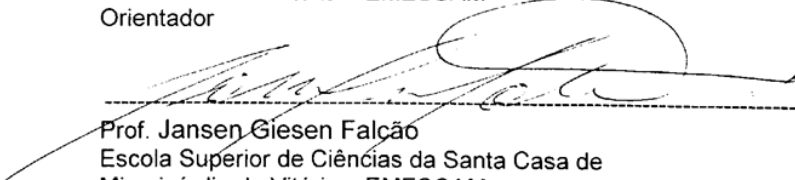
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM, como requisito parcial para obtenção do grau de médico.

Aprovado em 18 de Setembro de 2015

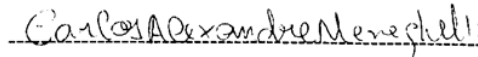
BANCA EXAMINADORA



Prof. Álvaro Armando Carvalho de Moraes
Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória – EMESCAM
Orientador



Prof. Jansen Giesen Falção
Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória – EMESCAM



Prof. Carlos Alexandre Meneghelli
Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória – EMESCAM

Dedicamos este
trabalho aos nossos pais, familiares e amigos que nos apoiaram incondicionalmente
durante estes anos de estudo.

Agradecemos primeiramente a Deus pela oportunidade que nos foi dada e por nunca nos deixar desanimar. Aos nossos pais, pois sem eles esse sonho não estaria se tornando realidade. Aos professores Álvaro Armando Carvalho de Moraes e Maria das Graças Silva Mattede por nos ensinarem e auxiliarem durante esse trabalho, nunca medindo esforços. Aos pacientes que todos os dias nos fazem aprender um pouco mais, o nosso muito obrigado!

“Se dois homens vêm andando por uma estrada, cada um com um pão, e, ao se encontrarem, trocarem os pães, cada um vai embora com um.
Se dois homens vêm andando por uma estrada, cada um com uma ideia, e, ao se encontrarem, trocarem as ideias, cada um vai embora com duas.”

Provérbio Chinês

RESUMO

A autofagia representa uma resposta fisiológica à privação de nutrientes e ao estresse oxidativo celular. Atua na depuração de patógenos, agregados proteicos e organelas disfuncionais, promovendo a sobrevivência da célula. Também existem relatos na literatura sobre sua relação com as vias de morte celular, quando a atividade autofágica ultrapassa a capacidade de síntese de novas organelas e energia (ATP) durante o estresse. A sobrevivência ou morte celular é regulada pelo grau, momento e duração do estímulo ao processo de autofagia.

A célula submetida ao estresse produz citocinas que se associam à redução do apetite, do esvaziamento gástrico e da motilidade intestinal, com consequente perda de peso, falência orgânica e aumento da mortalidade. Dessa maneira, a renovação celular desempenha papel fundamental no prognóstico do paciente crítico.

São descritos 3 principais tipos de autofagia: a macroautofagia (mais comum), microautofagia e autofagia mediada por chaperonas. Através da macroautofagia, há formação de dupla membrana, que envolve as substâncias a serem degradadas pelas hidrolases após sua fusão ao lisossomo. Estudos demonstram a restauração mitocondrial como o mecanismo mais importante visando a proteção celular durante doenças críticas.

Pacientes que necessitam de cuidado em unidades de terapia intensiva apresentam graus variados de inflamação, o que promove aumento das necessidades basais e do gasto energético, no entanto, sem aumento suficiente do aporte de calorias e proteínas. Dessa maneira, seria sensato pensar que a terapia nutricional precoce melhoraria a evolução destes doentes. Porém, estudos recentes evidenciam melhores desfechos clínicos quando a restrição calórica e a realimentação tardia são instituídas.

Palavras-chave: Autofagia. Terapia nutricional. Doença aguda. Inflamação. Desnutrição.

ABSTRACT

Autophagy is a physiological response to nutrient deprivation and cellular oxidative stress. Engages in the clearance of pathogens, protein aggregates and dysfunctional organelles, promoting cell survival. There are also reports about their relationship with cell death pathways, when the autophagy activity exceeds the capacity of synthesis of new organelles and energy (ATP) during stress. The survival or cell death is regulated by the extent, timing and duration of stimulation of autophagy process.

The cell subjected to stress produces cytokines that are associated with reduced appetite, gastric emptying and intestinal motility, with consequent weight loss, organ failure and increasing mortality. Thus, cell renewal plays a fundamental role in the prognosis of critically ill patients.

Three main types of autophagy are described: macroautophagy (most common), microautophagy and chaperone-mediated autophagy. Through macroautophagy, a double membrane is formed and involves the substances to be degraded by hydrolases after their fusion to the lysosome. Studies have shown mitochondrial restoration as the most important mechanism aimed at cellular protection during critical illnesses.

Patients requiring care in intensive care units have varying degrees of inflammation, which promotes increased baseline needs and energy expenditure, however, without sufficient increase in the intake of calories and protein. In this way, it would be reasonable to believe that early nutritional therapy would improve the evolution of these patients. However, recent studies have shown improved clinical outcomes when caloric restriction and delayed feedback are instituted.

Keywords: Autophagy. Nutrition therapy. Acute disease. Inflammation. Malnutrition.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NF- κ B	Fator nuclear kappa B
PCR	Proteína C reativa
KFERQ	Sequência de aminoácidos lisina-fenilalanina-glutamina-arginina-glicina
KDa	Kilodaltons
mTOR	Alvo mamífero da rapamicina
mTORC1	Complexo 1 do alvo mamífero da rapamicina
AMP	Monofosfato de adenosina
AMPK	AMP-Proteína quinase ativada
PI3K	Classe I fosfatidilinositol 3-quinase
Akt	Proteína quinase B
ULK1	Serina / treonina-proteína-quinase 1
ATG13	Proteína relacionada à autofagia 13
ATG101	Proteína relacionada à autofagia 101
FIP200	Proteína quinase de interação de 200kDa
VPS34	Gene codificador da fosfatidilinositol 3-quinase
PI3KC3	Classe III fosfatidilinositol 3-quinase
ATG14L	Proteína relacionada à autofagia 14
PI3P	Fosfatidilinositol 3-fosfato
UVRAG	Gene de resistência à radiação UV
Bif-1	Fator de interação BAX-1
IKKbeta	Inibidor da subunidade beta do fator nuclear Kappa-B quinase
Bcl-2	Célula de linfoma B 2
c-Flip	Proteína inibidora celular FLICE
FLICE	Enzima beta-conversora de interleucina-1 semelhante ao FADD
FADD	Proteína associada ao Fas do domínio de morte
FAS	Receptor de morte de superfície celular
IAP	Proteína inibidora de apoptose
EROs	Espécies reativas de oxigênio
TNF	Fator de necrose tumoral
LC3	Proteína-1 de cadeia leve 3 associada ao microtúbulo
LC3-I	Forma livre não conjugada de LC3

LC3B-I	Isoforma livre não conjugada de LC3
LC3B-II	Forma conjugada de LC3B
UTI	Unidade de terapia intensiva

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVOS	14
1.2 JUSTIFICATIVA	15
2 METODOLOGIA	16
3 DISCUSSÃO	17
3.1 Resposta ao trauma (paradoxo).....	17
3.2 Autofagia: o que é?.....	17
3.3 Xenofagia	22
3.4 Mitocôndria.....	22
3.5 Autofagia x doente crítico.....	24
3.6 Autofagia x terapia nutricional.....	26
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Autofagia tem sua etimologia no grego, e significa “auto”, de si mesmo; “fagia” comer, e representa uma resposta fisiológica à privação de nutrientes e ao estresse oxidativo celular. Tem como função, embora não completamente esclarecida, remover componentes intracelulares danificados e preservar a homeostase celular.^{1,2}

A autofagia, ainda em processo de elucidação, geralmente é considerada como um mecanismo de sobrevivência ou de adaptação. No entanto, existem relatos na literatura sobre sua relação com as vias de morte celular, podendo ser ora protagonista e, até mesmo, como via efetuada da morte celular em condições de apoptose prejudicada, ora antagonista, a depender do contexto experimental.³

Influencia de modo importante na imunidade, inflamação, câncer, envelhecimento, doenças pulmonares e metabólicas, além de desordens neurodegenerativas, pois remove proteínas desdobradas, organelas danificadas, vírus, bactérias e depósitos de carboidratos e gorduras.^{4,5}

Além de participar da homeostase celular, a autofagia possui uma série de funções, dentre elas a capacidade de induzir uma resposta ao estresse celular causada pela exposição a agentes químicos e físicos (oxidantes, agentes infecciosos, xenobióticos, estados pró-inflamatórios, hipóxia e agentes que perturbam a função do retículo endoplasmático) promovendo a depuração dos danos celulares causados.⁶ Outra função é a de manter a homeostasia das proteínas celulares (proteostasia), ao facilitar a remoção de agregados proteicos ubiquitinados (agregofagia), podendo servir como uma via de *turnover* proteico em situações de atividade proteossômica prejudicada.⁷ Além disso, a autofagia pode depurar mitocôndrias disfuncionais ou despolarizantes que surgem da ação de xenobióticos ou estresse ambiental (mitofagia).⁸

Outro papel é a interferência em outras vias, como a do NF-κB. A autofagia constitui uma via na qual os componentes de sinalização do NF-κB são degradados,

resultando em inibição da ativação inicial do NF-kB ou ativação persistente desse processo. Os componentes do NF-kB podem estimular ou inibir a autofagia através de múltiplas vias. ⁹

Recentemente, evidências apontam que a autofagia tem um importante papel na resposta imune inata e adaptativa, possuindo diversas funções, entre elas a apresentação de antígenos, a depuração de patógenos (xenofagia) e modulação da resposta inflamatória com estímulo à produção de interferon, na seleção de células T e na sobrevivência de células B. ^{10,11,12}

Durante a evolução de doenças agudas e crônicas existe um estado pró-inflamatório, com a liberação de citocinas, resultando em anorexia, perda de peso, anemia, fragilidade e disfunção cognitiva. ^{13,14,15}

A resposta inflamatória em doenças críticas se associa com alterações celulares e teciduais, com falência orgânica e aumento de mortalidade. ^{16,17} As citocinas associam-se com a redução do apetite, do esvaziamento gástrico e da motilidade intestinal, com consequente perda de peso. ^{13,18,19} Estimulam o eixo hipotálamo – hipófise – suprarrenal, com aumento da liberação de glicocorticoides e catecolaminas, além da diminuição da liberação de testosterona e outros hormônios sexuais, o que leva ao aumento da taxa metabólica basal, catabolismo e perda de massa magra. ^{13,20,21} Também estimulam o sistema proteolítico mediado pela ubiquitina, resultando em proteólise muscular e uso dos aminoácidos liberados para a formação de proteínas de fase aguda no fígado (exemplo: PCR). ^{13, 20, 21, 22}

Esses mecanismos, em conjunto, levam ao balanço energético negativo, à desnutrição proteico-energética e caquexia. ¹³

Outra consequência da inflamação sistêmica é a lesão à mitocôndria, que pode gerar disfunção desta organela e, conseqüentemente, se associa à falência orgânica e à morte. Assim, os sobreviventes de doenças críticas são marcados pela sua capacidade de restaurar o funcionamento normal da população de mitocôndrias. ²³

1.1 OBJETIVOS

Estudos recentes levantam discussões acerca da melhor abordagem nutricional em doentes críticos, utilizando o mecanismo da autofagia como ponto de partida. O presente estudo tem o objetivo de realizar uma revisão de literatura descritiva, visando esclarecer o conceito de autofagia e sobre os benefícios das estratégias nutricionais para estes pacientes. A diferença entre realimentação precoce e tardia, o uso de dietas hipocalóricas ainda na fase aguda da resposta ao trauma e como a autofagia influencia o prognósticos destes pacientes.

1.2 JUSTIFICATIVA

Estudos recentes apontam cada vez mais a importância do papel da autofagia na recuperação da célula em situações de estresse. Extrapolando seus conceitos para o doente crítico, a literatura não é contundente em afirmar a relação da via autofágica com o prognóstico destes doentes. Foi observada a associação entre o melhor desfecho nos pacientes submetidos à restrição calórica em detrimento do aporte precoce de nutrientes. Portanto faz-se necessário, uma revisão bibliográfica mais recente sobre as últimas descobertas relacionadas à terapia nutricional e ao paciente grave.

2 METODOLOGIA

Este estudo constitui-se de uma revisão de literatura especializada, realizada entre junho a setembro de 2015, no qual foram consultados artigos científicos selecionados através de busca no banco de dados da Bireme, SCielo, Pubmed, a partir das fontes Medline e Lilacs. A pesquisa dos artigos foi realizada entre junho e julho de 2015.

Os critérios de inclusão para os estudos encontrados foram artigos que discutem o mecanismo de autofagia, sua relação com a resposta inflamatória e com a terapia nutricional em doentes críticos. Foram excluídos artigos que abordavam autofagia em outro contexto.

Os critérios para seleção dos artigos foram a partir da análise dos resumos, sendo incluídos os que continham os descritores: autofagia, doença aguda, desnutrição, inflamação. Após a seleção dos artigos, procedeu-se a análise das informações obtidas.

3 DISCUSSÃO

A via da autofagia é estimulada pelo organismo sob estresse e desempenha, até o momento, função de manter a homeostase celular. Apesar de descoberto nos anos 70, seu papel ainda permanece não completamente esclarecido. Os presentes estudos buscam explicar uma associação entre a restrição calórica como estímulo à via autofágica, resultando em um possível melhor prognóstico para os pacientes críticos.^{4, 24}

3.1 RESPOSTA AO TRAUMA (PARADOXO)

Existe um paradoxo quando se analisa a resposta orgânica às grandes agressões. Comprova-se uma necessidade aumentada de energia e de nutrientes, mas associa-se uma incapacidade para ingerir alimentos. Mesmo nas pequenas agressões, como nos resfriados e nas operações de porte menor, existe anorexia; nos grandes traumas, inclusive naqueles sem acometimento do abdome, pode ocorrer íleo paralítico ou gastroparesia. Este paradoxo começa a ser entendido – a redução da ingestão permitiria a ação benéfica da autofagia.

Este paradoxo tem sido estendido à terapia nutricional, principalmente no que se refere à oferta de nutrientes na primeira semana de tratamento dos doentes críticos. Considerando-se que existe necessidade aumentada de nutrientes nas grandes agressões, procurou-se atingir as necessidades de energia e de nutrientes, seja por via enteral, parenteral ou combinada, o mais rápido possível; esta foi a abordagem não contestada até poucos anos. Pesquisas recentes sugerem que uma oferta mínima de nutrientes seria equivalente ou até melhor do que a oferta completa.^{24,25,26,27}

3.2 AUTOFAGIA: O QUE É?

O processo de autofagia foi conhecido nos anos 70.^{4,5,28} É um fenômeno intracelular fundamental que atua no *turnover* de organelas celulares e proteínas. A sua ativação pode representar uma defesa celular contra o estresse oxidativo ou condições

relacionadas, que causam acúmulo de proteínas ou organelas danificadas. Vias específicas de autofagia podem manter organelas ou remover proteínas agregadas. Pode ainda aumentar a sobrevivência durante a deficiência de nutrientes e desempenham um papel fundamental na defesa do hospedeiro, através da promoção de *clearance* de patógenos e modulação das respostas imune, inata e adaptativa.^{1,28}

Os 3 principais tipos de autofagia descritos na literatura são:

- Macroautofagia: é a forma mais comum. Há formação do autofagossomo (camada de dupla membrana), que posteriormente envolve agregados proteicos que precisam ser degradados em massa. Essa nova estrutura se junta ao lisossomo, formando o autolisossomo, com degradação do material recolhido através de enzimas hidrolíticas.¹¹ Os componentes básicos (exemplo: aminoácidos e ácidos graxos) são liberados ao citoplasma, através de proteases de membrana, para serem reutilizados pela célula, de acordo com sua necessidade.^{29,30}

- Autofagia mediada por chaperonas: remove proteínas solúveis com uma sequência específica de aminoácidos – KFERQ -, que são direcionadas para o lisossomo por chaperonas moleculares (Por exemplo, a proteína de 70 kDa de choque térmico, Hsc70).^{2,31} Essa sequência de aminoácidos permite que as proteínas do citoplasma sejam carregadas para dentro do lisossomo, por translocação. Não há formação do autofagossomo.^{2,11,28,32}

- Microautofagia: pode não ser funcional em mamíferos.^{2,11,28,32} Engloba alvos citosólicos próximos ao lisossomo, para degradá-los.³³ Não necessita da formação de autofagossomo, nem do envolvimento das Hsc70.^{2,4,11,28,32}

Macroautofagia (a partir de agora referida apenas como autofagia nesta revisão por se tratar do principal mecanismo da via) é uma resposta fisiológica ao jejum, que prolonga a sobrevivência celular ao reciclar macromoléculas intracelulares, ao promover a renovação proteica, ao depurar organelas danificadas e/ou disfuncionais e manter o número de organelas apropriado ao seu estado metabólico atual. Também repõe o estoque de precursores (substratos) em resposta à depleção de nutrientes.³¹

Fatores que podem estimular o processo são: glucagon, rapamicina, estresse oxidativo, glutamina e jejum prolongado.⁴ Os inibidores são: alimentação, excesso de nutrientes, hiperglicemia e secreção de insulina.⁴

Existem estudos que mostram a associação do jejum prolongado com o estímulo à autofagia, melhorando a reciclagem celular de agregados proteicos tóxicos e organelas danificadas.^{13,34,35,36,37} Apesar de o jejum prolongado apresentar benefícios na fase aguda de doenças, ainda é incerto o tempo em que deve ser mantido e quando esse mecanismo pode ser prejudicial.¹³

Existem várias vias de autofagia, dependendo do contexto molecular e ambiental, que conseguem se comunicar, permitindo efeito compensatório quando alguma das vias falha.³⁸

O principal mecanismo autofágico ocorre através de uma sequência: iniciação (formação de dupla membrana fosfolipídica), nucleação do autofagossoma (formação do “fagóforo”)³⁹, alongamento e maturação de sua dupla membrana nascente com assimilação de material citoplasmático e fusão com o lisossomo, culminando na degradação do material englobado.³⁰

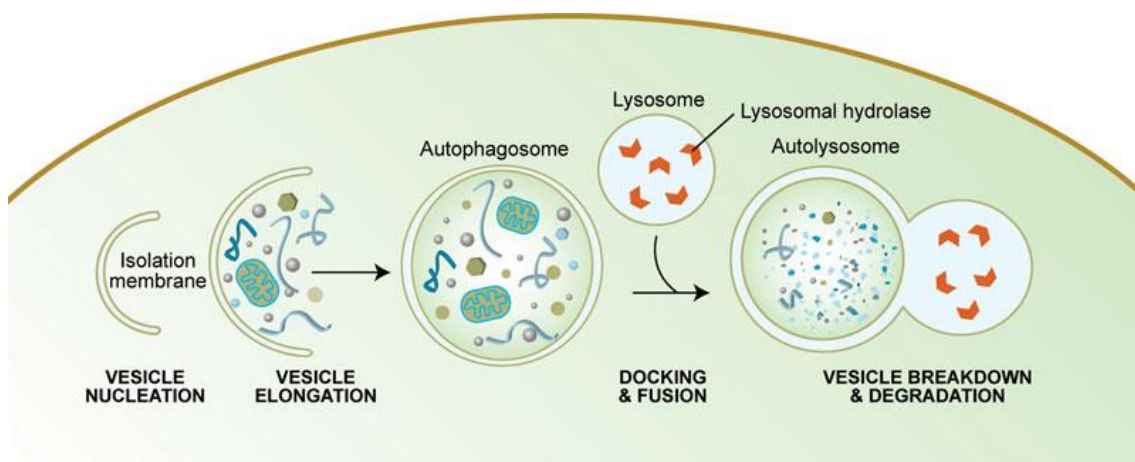


Figura 1 – Os passos da autofagia⁴⁰

A regulação da autofagia se dá por meio de estímulos ambientais, através de vias de sinalização que operam por um sistema de proteínas, denominadas núcleo de maquinaria autofágica.¹

A autofagia é inibida na presença de nutrientes e fatores de crescimento, ao passo que é estimulada pelo jejum e pela depleção energética através do alvo da via da rapamicina (mTOR).⁴¹ O mTOR se associa a um complexo multi-proteico (Complexo 1; mTORC1).⁴¹ O mTORC1, ativado na presença de nutrientes, incluindo aminoácidos e fatores de crescimento, regula negativamente a autofagia.⁴¹ No entanto, o mTORC1, ao ser inibido pelo jejum, pela rapamicina ou pela depleção energética, resulta na iniciação da autofagia.^{43,44}

Os fatores de crescimento (por exemplo, a insulina), regulam negativamente a autofagia através da ação de quinases, que inativam os inibidores do mTOR, promovendo a formação do mTORC1. Na presença de baixos níveis de energia intracelular, ocorre aumento da atividade do monofosfato de adenosina (AMP) – proteína quinase ativada (AMPK), inativando o mTORC1 e estimulando a autofagia.⁴⁵ A autofagia é negativamente regulada pela Classe I Fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) / via de sinalização Akt, a qual ativa mTOR em resposta a insulina e outros fatores de crescimento, formando mTORC1. A proteína quinase adenosina 5'-monofosfato ativada (AMPK), que é regulada por níveis de AMP, regula negativamente mTOR, e também fosforila ULK1, agindo assim como um regulador positivo da autofagia em resposta a depleção de energia. O mTOR é um componente principal do complexo de sinalização (mTORC1), que regula o complexo da ULK1, que consiste de ULK1, ATG13, ATG101, e FIP200. Sob condições ricas em nutrientes, mTORC1 inibe a atividade da ULK1 quinase, inibindo assim a ativação da autofagia. Autofagia também é regulada pelo complexo interativo beclin 1, que consiste em beclin 1, classe III fosfatidilinositol-3-quinase (VPS34 ou PI3KC3) e ATG14L. A estimulação deste complexo gera fosfatidilinositol-3-fosfato (PI3P), o que desencadeia a nucleação da membrana autofagossomal. PI3K/Akt também pode regular negativamente a autofagia ao fosforilar o beclin 1. Vários fatores podem participar nesta regulação, incluindo UVRAG e Bif-1, que substituem a ATG14L e Ambra1, estimulando a ativação de PI3P e

consequentemente da autofagia. O Rubicon, e proteínas da família Bcl-2 regulam negativamente o complexo da Beclin 1.² (figura 2).

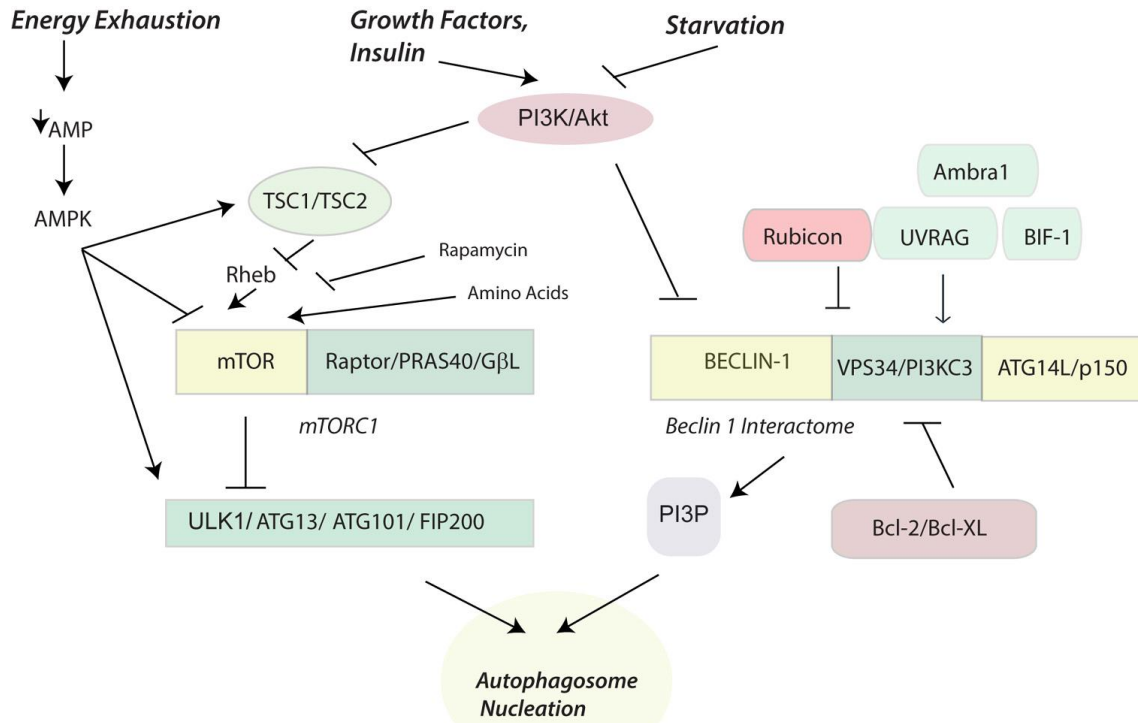


Figura 2 – Vias reguladoras da autofagia²

Componentes da via do NF-κB são degradados pela autofagia mediante inibição da heat shock protein 90. Isso leva à inativação da via do NF-κB e, por sua vez, à inibição da autofagia pela diminuição do estímulo de um gene essencial da via da autofagia, o Beclin 1. A autofagia consegue inibir a via do NF-κB através da degradação do IKKbeta.⁹

A ativação do NF-κB resulta em aumento da expressão de genes que codificam proteínas anti-apoptóticas, como a família da Bcl-2, c-Flip e IAPs. A ativação desse fator de transcrição também estimula a expressão de proteínas antioxidantes que inibem a apoptose e necrose dependentes de espécies reativas de oxigênio (EROs).⁹

A indução da autofagia pelo TNF, na ausência de NF-κB funcional, necessita do acúmulo de EROs. Já a ativação do NF-κB mediada pelo TNF resulta em supressão da autofagia, através da ativação do sistema mTOR e inibição das EROs.⁹

Em condições de hipóxia e estresse de choque térmico, há estímulo ao NF-kB, com ativação da autofagia.⁹

Determinados marcadores podem ser utilizados como indicadores experimentais da ativação/modulação e de atividade/bloqueio do processo de autofagia, como a mensuração da conversão do LC3 e o acúmulo de autofagossomo, na presença ou não de fatores inibidores.³⁰ O LC3 (*microtubule-associated protein-1 light chain 3*), um sistema de conjugação ubiquitina-símile, é clivado em sua forma livre não conjugada (LC3-I). A LC3B-I, ao ser conjugada com fosfatidiletanolamina, forma o LC3B-II, o que representa um marcador da formação do autofagossomo.⁴⁶

3.3 XENOFAGIA

Na xenofagia, os patógenos invasores são ubiquitinados e apresentados aos autofagossomos através de proteínas adaptadoras seletivas como o P62,⁴⁷ o optineurin (OPTN),⁴⁸ o fator de regulação da ubiquitina 1 (Smurf1),⁴⁹ NBR1⁵⁰ e proteína ponto nuclear, 52-kDa (NDP52).⁵¹ Entre os patógenos clinicamente relevantes já identificados como potenciais alvos da xenofagia, incluem-se bactérias (por exemplo, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* do grupo A, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, e outros), vírus (como vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1)) e parasitas (por exemplo, *Toxoplasma gondii*).^{10,52}

Todavia, nem sempre a autofagia consegue exercer a xenofagia. Em algumas situações pode servir como mecanismo de sobrevivência a alguns patógenos invasores que utilizam essas organelas autofágicas como mecanismo de proteção, favorecendo seu crescimento.¹⁰ Dentre os agentes que podem utilizar esse mecanismo estão diversas cepas de bactérias (por exemplo, *Brucella abortus*,⁵³ *Coxiella burnetii*,⁵⁴ *Francisella tularensis*)⁵⁵ e vírus [vírus da imunodeficiência humana (HIV),⁵⁶ vírus da hepatite B^{57,58} vírus da hepatite C, e outros].⁵⁹ Dentre estes, a autofagia ora foi responsável por inibir,⁶⁰ ora por promover⁵⁷ a infecção por HIV.

3.4 MITOFAGIA

A mitofagia representa um importante papel na maturação dos eritrócitos e também na homeostase celular. A depuração seletiva de mitocôndrias pode, inclusive, ser realizada com a finalidade de adequar o número de mitocôndrias à suas necessidades metabólicas, sendo esta uma das funções da autofagia. No entanto, pode ocorrer de forma exacerbada devido ao estresse ambiental ou exposição à xenobióticos.^{2,61}

A disfunção mitocondrial, representada pela perda do potencial de membrana e/ou aumento na produção de subprodutos potencialmente tóxicos, como as espécies reativas de oxigênio (EROs), é sinal que estimula o início da autofagia. Caso as EROs não sejam removidas, poderão gerar danos ao DNA mitocondrial e às proteínas, gerando disfunção mitocondrial.^{2,62,63,64} Além disso, mitocôndrias disfuncionais liberam proteínas pró-apoptóticas. Desse modo, a remoção de mitocôndrias danificadas pode evitar mais danos citopáticos ou mesmo evitar a morte de células.^{16,65} Assim, medidas citoprotetoras se iniciam em resposta ao estresse celular agudo com promoção da depuração de mitocôndrias senescentes ou danificadas, de modo seletivo através da mitofagia, sendo os substratos formados utilizados para geração de energia.^{64,65} Estudos demonstraram que a mitofagia desempenha um papel importante na remoção seletiva de mitocôndrias danificadas durante a fase aguda da sepse.¹⁶

Apesar da autofagia também atuar na renovação de outras organelas e componentes citoplasmáticos, a restauração mitocondrial é o mecanismo mais importante visando a proteção celular durante doenças críticas.¹⁶

A correção da hiperglicemia, no decorrer das doenças críticas, leva à maior depuração de mitocôndrias danificadas (mitofagia) e formação de novas funcionantes através da biogênese. Dessa maneira, há preservação da função orgânica nesses pacientes. Porém, a influência da hiperglicemia sobre outros mecanismos deve ser levada em consideração e estudada, principalmente quando se leva em consideração os riscos de se tentar manter a normoglicemia nos pacientes críticos (indução de hipoglicemia fatal).¹⁶

Todavia, apesar do papel protetor da autofagia sob estas circunstâncias, é sabido que a autofagia em excesso pode conduzir à morte celular. Assim, autofagia, particularmente envolvendo mitocôndrias, pode ser vista como uma "faca de dois gumes".¹⁶

Em suma, autofagia é geralmente considerada como uma resposta adaptativa ao estresse celular, o que pode proporcionar funções de proteção durante a lesão tecidual, à infecção e à patogênese da doença. Estas funções de proteção incluem, mas não estão limitadas, a sobrevivência celular, homeostase mitocondrial, *turnover* de proteínas agregadas, e depuração de patógenos. Estas funções adaptativas da autofagia são provavelmente relevantes para uma gama de condições patogênicas e sistemas de órgãos. No entanto, autofagia também tem sido associada com efeitos pró-patogênicos, tais como aumentar a sobrevivência de células cancerosas, facilitação da replicação de patógenos, e em alguns contextos, promoção da apoptose e morte celular. A dupla natureza da autofagia na doença complica o desenho de terapias.¹⁶

3.5 AUTOFAGIA X DOENTE CRÍTICO

A autofagia influencia a resposta imune inata e adquirida através da renovação de corpos apoptóticos, produção citocinas e regulação da resposta inflamatória; influencia a apresentação de antígenos, maturação do fagossomo, degradação de patógenos (xenofagia) e proteção contra toxinas, além de outras.^{4,11}

Tanto a autofagia prejudicada como estimulada estão associadas com a morte celular.^{4,11}

Autofagia é chamada de morte celular programada do tipo 2, atuando precocemente neste processo.^{4,67} Ela remove proteínas mal formadas e organelas danificadas para geração de energia (ATP). Quando se inicia a via de morte celular, devido ao crescente estresse oxidativo, as células que conseguem produzir ATP (pela mitocôndria) e que mantém os níveis de cálcio baixos no citosol (pela ação do retículo endoplasmático) evoluem para morte celular programada do tipo 1, ou

apoptose.^{4,68} A evolução do processo oxidativo leva a disfunção de organelas, com redução do ATP e aumento do cálcio citoplasmático, levando à necrose, ou morte celular não programada, piorando a inflamação devido à destruição celular.⁴

Considerar somente a autofagia como mecanismo responsável pelos efeitos adversos da terapia nutricional é muito restrito. Este compete com outros mecanismos fisiológicos, como o sistema de detecção mTOR (mTORC1) e a síntese de proteínas.⁴ A síntese de lipídeos, resistência à insulina, angiogênese, sinalização do NF-kB e a produção do TNF são estimuladas tanto pela autofagia quanto pelo mTORC1. Porém, enquanto o sistema de detecção mTOR inibe a autofagia (e com isso a apoptose) e estimula a síntese proteica (na translação ribossomal), a autofagia, pela ação do estresse ao retículo endoplasmático, inibe a translação ribossomal, resultando em prejuízo da síntese proteica.^{4,67} Autofagia também é chamada de “caminho da insuficiência” ou de resposta ao estresse do retículo endoplasmático (resposta às proteínas mal formadas). O mTORC1 é chamada de “caminho da suficiência” e um dos principais estimuladores da síntese proteica.^{4,67} Basear a terapêutica em somente um desses mecanismos pode gerar piores resultados do que quando se busca o equilíbrio entre eles.

A sobrevivência ou morte celular é regulada pelo grau, momento e duração do estímulo ao processo de autofagia.^{16,28} Fatores ativadores levam a produção de energia (ATP), remoção de organelas, bactérias, vírus, proteínas e corpos apoptóticos de maneira controlada. A apoptose é inibida e a renovação celular ocorre. Porém, quando o estímulo ocorre por tempo prolongado e de forma excessiva, o processo age da mesma forma (em excesso); há falha na produção energética, pela perda de proteínas e organelas, com apoptose e morte celular.^{16,67} Dessa maneira, a autofagia funcionaria de maneira mais eficaz na fase aguda da doença e em estágios leves e moderados. De outra maneira (intensa agressão), levaria à apoptose, necrose e morte celular.^{11,28,67}

Está bem documentado o efeito inibitório da insulina sobre a autofagia.⁶² Hiperglicemia (por mau controle glicêmico) e nutrição parenteral mal indicada são dois dos mais importantes fatores de supressão da autofagia. Porém, são facilmente evitáveis.¹⁶

A hiperinsulinemia e hiperglicemia (refletindo a resistência à insulina) são manifestações comuns de doença grave, e a normalização da hiperglicemia foi previamente relacionada com maior atividade de autofagia em doentes críticos.³⁶ A correção da hiperglicemia foi associada a menor mortalidade em 7 dias. Em conjunto, os resultados de um estudo indicam que a hiperglicemia suprime autofagia em órgãos vitais durante a doença crítica, o que promove danos nos órgãos e, eventualmente, morte.⁷⁰

No entanto, estudos prévios indicam que a supressão de autofagia, pelo menos em parte relacionada com a expressão aumentada do inibidor mTOR, é uma adaptação citoprotetora para hiperglicemia.⁷¹ Evidentemente, este mecanismo de proteção torna-se uma má adaptação durante a doença crítica, levando ao acúmulo de componentes celulares danificados incluindo as mitocôndrias.³⁷

Oferecer alimentação de forma a manter a função autofágica junto à promoção da síntese proteica pela ação do mTORC1 deve gerar melhores resultados do que inibir a realimentação precoce na primeira semana de unidade de terapia intensiva (UTI) visando o estímulo apenas da autofagia.⁴

3.6 AUTOFAGIA X TERAPIA NUTRICIONAL

Pacientes que necessitam de cuidados em unidades de terapia intensiva geralmente apresentam enfermidades agudas graves ou descompensação de uma doença prévia. Esses pacientes apresentam graus variados de inflamação, o que promove aumento das necessidades basais e do gasto energético, no entanto, sem aumento suficiente do aporte de calorias e proteínas.⁷² Em decorrência disso, os pacientes evoluem, invariavelmente, com déficit nutricional enquanto permanecem na unidade de terapia intensiva.³⁴ Em pacientes críticos internados em UTI, é de suma importância o suporte nutricional,^{73,74,75} visto que o déficit nutricional está ligado a resultados adversos.^{76,77} Estes desfechos podem ser tanto causa ou consequência, e o jejum prolongado leva, em última análise, à morte. Assim, questiona-se atualmente se a nutrição artificial administrada no doente crítico é capaz de prevenir ou corrigir o déficit nutricional, assim como as complicações associadas.³⁴

O tipo de nutrientes, a quantidade de calorias, a via de administração e o tipo de nutrição a ser utilizada são fatores que influenciam na escolha da melhor terapia para os pacientes críticos.^{24,25,26,27} De um lado figura a nutrição enteral e do outro a nutrição parenteral. Há também a possibilidade da combinação das duas estratégias.²⁴

Utilizar somente a terapia nutricional enteral leva a menos complicações e menos gastos financeiros do que a associação com terapia parenteral.^{27,78,79} Entretanto, pode não satisfazer as necessidades energéticas do paciente, predispondo ao desenvolvimento de infecções, fraqueza, aumento do tempo sob ventilação mecânica e morte.^{80,81,82,83,84} Associar o suporte parenteral pode levar ao fornecimento energético exagerado e aumento da glicemia, predispondo a complicações como disfunção hepática, maior tempo em suporte ventilatório e infecções.^{24,85,86,87,88}

Os guidelines existentes recomendam nutrição enteral precoce aos pacientes que estão estáveis hemodinamicamente e incapazes de ingerir dieta oral plena dentro de três dias da admissão.^{73,74,75} O momento ideal para introdução de nutrição parenteral nos pacientes em que a nutrição enteral não foi suficiente permanece controverso. Enquanto a escola europeia advoga início precoce, a escola americana recomenda postergar a nutrição parenteral até o 7-10º dia, na ausência de desnutrição prévia. Atualmente, as recomendações de necessidade proteica variam de 1,2 a 2 g/kg/dia.^{74,75}

Pacientes críticos geralmente estão em processo de anorexia. Assim, fornecer nutrição artificial não é um processo fisiológico, podendo gerar efeitos colaterais e complicações que merecem ser pesados contra qualquer benefício esperado.²⁴

Não se sabe ainda se a nutrição artificial, apesar de fornecer calorias e proteínas, é capaz de prevenir o catabolismo muscular acelerado em pacientes críticos imobilizados com inflamação sistêmica.²⁴ Foi demonstrado na literatura que o aporte nutricional agressivo a pacientes críticos resultou apenas em ganho de gordura ao

invés de prevenir perda muscular, redução do catabolismo e da gliconeogênese.^{89,90,91,92,93} A nutrição artificial não é isenta de complicações como pneumonia aspirativa, deslocamento da sonda de nutrição, diarreia, isquemia intestinal, sepse de foco de cateter, hipertensão abdominal, esteatose hepática, hiperglicemia, síndrome de realimentação e dislipidemia.^{94,95,96} Além disso, com a nutrição ocorre supressão da autofagia.^{28,30,95}

Diversos estudos observacionais sugerem uma associação entre déficit calórico e eventos adversos. Este déficit calórico se desenvolve, principalmente, nos primeiros dias da admissão na UTI, quando a nutrição enteral é insuficiente, seja por instabilidade hemodinâmica, progressão lenta da dieta, interrupções para realização de exames e a baixa tolerância.^{82,97} Um grande estudo observacional demonstrou uma relação inversa entre aporte calórico e mortalidade, sendo apenas significativo para pacientes com índice de massa corporal <25 ou >35 kg/m².⁸³

A permanência na UTI, tempo de internação hospitalar e duração de necessidade de ventilação mecânica foram menores em pacientes que não atingiram nem o alvo calórico, nem o alvo proteico.⁹⁸ Em outros estudos observacionais, maior aporte calórico foi associado com piores desfechos, incluindo infecções e mortalidade,^{99,100} além de menor incidência de pneumonia associada à ventilação mecânica e menor tempo de permanência na UTI no grupo que iniciou dieta de forma tardia.¹⁰¹

Um estudo piloto incluiu 130 pacientes com permanência estimada na UTI ≥ 3 dias.⁷⁴ Os pacientes foram randomizados em um grupo controle com aporte calórico de 25 kcal/kg/dia e em outro grupo restrição calórica, cujo aporte variou de acordo com os resultados da calorimetria indireta, realizadas diariamente. Os pacientes foram randomizados para receber energia em calorimetria indireta e o grupo controle com 25 kcal/Kg/dia. Os pacientes do grupo calorimetria receberam em média 2.086 ± 460 Kcal/dia e o grupo controle recebeu 1.480 ± 356 Kcal/dia, com $p = 0,04$. Houve tendência para redução de mortalidade no grupo que recebeu maior oferta calórica ($21/65 = 32,3\%$ versus $31/65 = 47,7\%$, $p = 0,058$). Não houve diferença no tempo de ventilação e de internação na UTI.⁷⁴

Outros estudos observacionais evidenciaram que pacientes sépticos, com trauma e

queimados apresentam o equilíbrio entre síntese e degradação proteica otimizado com ingestão de 1 a 1,5g/kg/dia de proteína. Qualquer acréscimo a esses valores são perdidos em vias oxidativas.^{102,103,104,105}

Um modelo experimental recente usando coelhos demonstrou que a nutrição parenteral precoce, especialmente o fornecimento de lipídeos e proteínas, resultou na supressão da via ubiquitina-proteossoma, contribuindo para a manutenção da massa muscular, apesar de promover um fenótipo de deficiência da via de autofagia no músculo esquelético e no fígado, sugerindo que a manutenção de massa muscular pode ter o preço do acúmulo de metabólitos tóxicos, comprometendo a função desses órgãos.³⁵ Camundongos deficientes de autofagia apresentaram perda de massa muscular com acúmulo de metabólitos tóxicos e disfunção de organelas,^{96,106} sugerindo que autofagia inibida pela nutrição pode ter impacto negativo sobre a massa livre de gordura (massa magra).³⁴

Dois estudos randomizados controlados recentes compararam a quantidade do aporte de NE em pacientes de UTI.^{107,108} O primeiro estudo, monocêntrico, composto por um pequeno número de pacientes (240), teve como critério de inclusão pacientes com permanência estimada mínima na UTI de 48h. Comparou o aporte calórico de 90-100% do alvo com o aporte de 60-70% do alvo, denominado subalimentação permissiva. Foi demonstrado que a subalimentação permissiva reduziu de forma significativa a mortalidade hospitalar e tendeu à redução da mortalidade em 180 dias. No entanto, a energia fornecida de fato variou em apenas 10% entre os grupos (59% x 71% do alvo).¹⁰⁹

Outro estudo randomizado e controlado,¹⁰⁸ do tipo não cego e multicêntrico comparou a nutrição enteral trófica com nutrição enteral total em amostra estatisticamente significativa (N = 1000 pacientes). O grupo da nutrição enteral total teve a progressão da dieta de forma rápida até atingir o alvo (25 a 30kcal/peso ideal/dia de calorias não proteicas). Os pacientes do grupo trófico receberam aporte calórico de 20kcal/hora. A progressão para dieta plena apenas foi realizada caso o paciente permanecesse em ventilação mecânica após 6 dias. Em comparação, o grupo de nutrição enteral trófica recebeu 400kcal/dia, correspondendo a 25% do alvo, enquanto o grupo de dieta plena recebeu 1300kcal/dia (80% do alvo). Não foi

observada diferença estatística entre os grupos com relação à necessidade de ventilação mecânica em 28 dias, complicações infecciosas, dias livre de UTI, dias livres de insuficiência orgânica ou à mortalidade em 60 dias. Além disso, nos pacientes do grupo de nutrição enteral plena foi observado maiores níveis de glicemia, maior necessidade de administração de insulina e maior balanço hídrico.¹⁰⁸

Em suma, esses estudos sugerem que o menor aporte calórico nos primeiros dias de UTI não são deletérios ao paciente. No entanto, há de se considerar que não foram incluídos pacientes com desnutrição prévia, não foi possível realizar a comparação entre as estratégias de nutrição artificial e não foram observados os desfechos a longo prazo, podendo ser considerados como possíveis limitações dos trabalhos.¹⁰⁹

Outro estudo²⁴ randomizou 4640 pacientes de UTI sem déficit nutricional prévio em dois grupos, um de início precoce e outro tardio de nutrição parenteral, a fim de complementar, caso necessário, a nutrição enteral. O início tardio da nutrição parenteral reduziu de maneira significativa o tempo de permanência na UTI, aumento de 6,3% na probabilidade de alta hospitalar mais precoce, menor tempo de ventilação mecânica, menor incidência de complicações infecciosas e consequentemente, redução do custo de internação hospitalar por paciente. Um subgrupo de 517 pacientes que apresentava contra-indicações à nutrição enteral, portanto não exposto a nutrição parenteral precoce, apresentou resultados ainda mais expressivos.²⁴

Ambos os artigos demonstraram benefícios ao se reduzir o aporte calórico, diminuindo morbidade.^{24,74}

Os resultados atuais não permitem conclusões definitivas. Alguns pesquisadores consideram que para pacientes críticos, sem desnutrição, a nutrição enteral trófica é pelo menos tão benéfica quanto a nutrição enteral total, na primeira semana de tratamento.²⁴ Outros autores consideram que a autofagia é importante, mas não pode direcionar a terapia nutricional. Um artigo de revisão recente tem conclusão óbvia para o momento; a nutrição enteral trófica, oferecendo 25% das calorias calculadas, é indicada para pacientes clínicos, com síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e risco nutricional moderado; para pacientes muito

graves, com desnutrição prévia ou risco nutricional elevado recomenda-se procurar atingir a necessidade de energia e de proteínas o mais rápido possível.¹¹⁰

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Determinados fatores estimulam a autofagia, como o jejum, o estresse celular e a rapamicina, enquanto outros, como fatores de crescimento celular (exemplo: insulina) e hiperglicemia (nutrição) a inibem. Autofagia é modulada pela intensidade do estímulo e sua duração. Quando ocorre de forma menos intensa, este processo promove a remoção de organelas desnecessárias ou disfuncionantes, agregados proteicos e patógenos, reutilizando os substratos na geração de ATP e produção de novas organelas, contribuindo para a homeostase celular.

A autofagia pode explicar, em parte, a tendência para anorexia e ingestão reduzida de alimentos que se segue às agressões, inclusive as de menor intensidade.

Estudos recentes têm contrariado a conduta tradicional de procurar atingir rapidamente as necessidades de energia e de nutrientes para os doentes críticos. Admite-se que essa oferta bloquearia a autofagia, com possibilidade de aumento da morbidade e até mortalidade. Estes estudos são realizados, principalmente, em doentes com SDRA, sem desnutrição prévia.

Ainda não existem conclusões definitivas. Parece que a nutrição enteral trófica é segura e vantajosa para pacientes críticos com SDRA, sem desnutrição prévia e sem risco nutricional elevado na primeira semana de tratamento.

REFERÊNCIAS

- 1 Yang, Z; Klionsky, D.J. Eaten alive: a history of macroautophagy. *Nat Cell Biol.* 2010a;12:814–822.
- 2 Ryter, S. W.; Cloonan, S. M.; Choi A. M. Autophagy: A critical regulator of cellular metabolism and homeostasis. *Mol Cells.* 2013 Jul 31; 36(1): 7–16.
- 3 Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, Kroemer G. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8:741–752.
- 4 Mc Clave A., Weiss P. J. M. Preservation of autophagy should not direct nutrition therapy.
- 5 Choi AM, Ryder SW, Lavine B. Autophagy in human health and diseases. *N Engl J Med* 2013, 388:661-662
- 6 Kroemer G, Mariño G, Levine B. Autophagy and the integrated stress response. *Mol Cell.* 2010;40:280–293.
- 7 Lamark T, Johansen T. Aggrephagy: selective disposal of protein aggregates by macroautophagy. *Int J Cell Biol.* 2012;2012:736905.
- 8 Youle RJ, Narendra DP. Mechanisms of mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011;12:9–14.
- 9 Trocoli A; Mergny M D. The complex interplay between autophagy and NF-κB signaling pathways in cancer cells. *Am J Cancer Res.* 2011; 1(5): 629–649
- 10 Deretic V, Levine B. Autophagy, immunity, and microbial adaptations. *Cell Host Microbe.* 2009;5:527–549.
- 11 Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature.* 2011;469:323–335.
- 12 Yano T, Kurata S. Intracellular recognition of pathogens and autophagy as an innate immune host defence. *J Biochem.* 2011;150:143–149.
- 13 Schuetz P., et al. Loss of appetite in acutely ill medical inpatients: physiological response or therapeutic target? *The European J of Med Sci*; 29 April 2014, doi 10.4414

- 14 Kuhlmann MK, Levin NW. Potential Interplay between nutrition and inflammation in dialysis patients. *Contrib Nephrol.* 2008;161:76–82
- 15 Oner Iyidogan Y, Gurdol F, Kocak H, Oner P, Cetinalp-Demircan P, Caliskan Y, et al. Appetite-regulating Hormones in chronic kidney disease patients. *Journal of renal nutrition: the official journal of the Council on Renal Nutrition of the National Kidney Foundation.* 2011;21(4):316–21
- 16 Crouser, Elliott D. MD. Autophagy, the First Step Towards Recovery From Critical Illness. *Crit Care Med.* 2013 Jan;41(1):358-9
- 17 1. Yasuhara S, Asai A, Sahani ND, et al. Mitochondria, endoplasmic reticulum, and alternative pathways of cell death in critical illness. *Crit Care Med.* 2007;35(Suppl 9):S488–S495
- 18 Morley JE, Thomas DR, Wilson MM. Cachexia: Pathophysiology and clinical relevance. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(4):735–43.
- 19 L. Malnutrition in acute care patients: a narrative review. *Int J Nurs Stud.* 2007;44(6):1036–54.
- 20 Pende A, Musso NR, Vergassola C, Puppo F, Ioverno A, Criscuolo D, et al. Neuroendocrine effects of interferon alpha 2-a in healthy human subjects. *Journal of biological regulators and homeostatic agents.* 1990;4(2):67–72
- 21 Schuetz P, Muller B. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in critical illness. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2006;35(4):823–38,
- 22 Mitch WE, Goldber GAL. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med.* 1996;335(25):1897–905
- 23 Carré JE, et al 2010; 3 Brealey D, et al 2002 - Autophagy, the First Step Towards Recovery From Critical Illness
- 24 Casaer MP, Hermans G, Wilmer A, Van den Berghe G. Impact of early parenteral nutrition completing enteral nutrition in adult critically ill patients (EPaNIC trial): a study protocol and statistical analysis plan for a randomized controlled trial. *Trials* 2011;12:21-21
- 25 Barr J, Hecht M, Flavin KE, Khorana A, Gould MK. Outcomes in critically ill patients before and after the implementation of an evidence-based nutritional management protocol. *Chest* 2004;125:1446-1457
- 26 Martin CM, Doig GS, Heyland DK, Morrison T, Sibbald WJ. Multicentre, cluster-randomized clinical trial of algorithms for critical-care enteral and parenteral therapy (ACCEPT). *CMAJ* 2004;170:197-204

- 27 Doig GS, Simpson F, Finfer S, et al. Effect of evidence-based feeding guidelines on mortality of critically ill adults: a cluster randomized controlled trial. *JAMA* 2008;300:2731-2741
- 28 Cuervo AM, Macian F. Autophagy, nutrition and immunology *Mol Aspects Med.* 2012 Feb;33(1):2-13. doi: 10.1016/j.mam.2011.09.001. Epub 2011 Oct 1.
- 29 Nakahira K, Cloonan SM, Mizumura K, Choi AM, Ryter SW. Autophagy: a crucial moderator of redox balance, inflammation, and apoptosis in lung disease. *Antioxid Redox Signal.* 2014 Jan 20;20(3):474-94. doi: 10.1089/ars.2013.5373. Epub 2013 Sep 26.
- 30 Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. Methods in mammalian autophagy research. *Cell.* 2010;140:313–326.
- 31 Ravikumar B, Sarkar S, Davies JE, Futter M, Garcia-Arencibia M, Green-Thompson ZW, Jimenez-Sanchez M, Korolchuk VI, Lichtenberg M, Luo S, et al. Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2010;90:1383–1435.
- 32 Reggiori, PB; Codogno P. Emerging regulation and functions of autophagy. *Nature Cell Biology* 15, 713–720 (2013) doi:10.1038/ncb2788
- 33 Santambrogio L, Cuervo AM. Chasing the elusive mammalian microautophagy. *Autophagy.* 2011;7:652–654.
- 34 Casaer, MP, Schetz M, Van der Berghe G. Does artificial nutrition improve outcome of critical illness? *Crit Care.* 2013 Feb 1;17(1):302
- 35 Derde S, Vanhorebeek I, Guiza F, Derese I, Gunst J, Fahrenkrog B, et al. Early parenteral nutrition evokes a phenotype of autophagy deficiency in liver and skeletal muscle of critically ill rabbits. *Endocrinology.* 2012;153(5):2267–76
- 36 Vanhorebeek I, Gunst J, Derde S, Derese I, Boussemaere M, Guiza F, et al. Insufficient activation of autophagy allows cellular damage to accumulate in critically ill patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(4):E633–45
- 37 Gunst J, Derese I, Aertgeerts A, Ververs EJ, Wauters A, Van den Berghe G, et al. Insufficient autophagy contributes to mitochondrial dysfunction, organ failure, and adverse outcome in an animal model of critical illness. *Crit Care Med.* 2013;41(1):182–94

- 38 Stelter, RA, et al. Heat shock proteins: cellular and molecular mechanisms in the central nervous system. *Prog Neurobiol.* 2010 Oct;92(2):184-211. doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.05.002. Epub 2010 Jun 4.
- 39 Van Limbergen, J. Autophagy: from basic science to clinical application. *Mucosal Immunology* (2009) 2, 315–330; doi:10.1038/mi.2009.20; published online 6 May 2009
- 40 Meléndez A, Levine B. Autophagy in *C. elegans*. Disponível em: <http://www.wormbook.org/chapters/www_autophagy/autophagy.html>. Acesso em: 04 de ago. 2015. às 14:27h.
- 41 Jung HS, Lee MS. Role of autophagy in diabetes and mitochondria. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1201:79–83.
- 42 Vander Haar E, Lee SI, Bandhakavi S, Griffin TJ, Kim DH. Insulin signalling to mTOR mediated by the Akt/PKB substrate PRAS40. *Nat Cell Biol.* 2007;9:316–323.
- 43 Ganley IG, Lam DH, Wang J, Ding X, Chen S, Jiang X. ULK1.ATG13.FIP200 complex mediates mTOR signaling and is essential for autophagy. *J Biol Chem.* 2009;284:12297–12305.
- 44 Wong PM, Puente C, Ganley IG, Jiang X. The ULK1 complex: sensing nutrient signals for autophagy activation. *Autophagy.* 2013;9:124–137.
- 45 Mihaylova MM, Shaw RJ. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nat Cell Biol.* 2011;13:1016–1023.
- 46 Satoo K, Noda NN, Kumeta H, Fujioka Y, Mizushima N, Ohsumi Y, Inagaki F. The structure of Atg4B-LC3 complex reveals the mechanism of LC3 processing and delipidation during autophagy. *EMBO J.* 2009;28:1341–1350.
- 47 Johansen T, Lamark T. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy.* 2011;7:279–296.
- 48 Wild P, Farhan H, McEwan DG, Wagner S, Rogov VV, Brady NR, Richter B, Korac J, Waidmann O, Choudhary C, et al. Phosphorylation of the autophagy receptor optineurin restricts Salmonella growth. *Science.* 2011;333:228–233.
- 49 Orvedahl A, Sumpter R, Xiao G, Ng A, Zou Z, Tang Y, Narimatsu M, Gilpin C, Sun Q, Roth M, et al. Image-based genome-wide siRNA screen identifies selective autophagy factors. *Nature.* 2011;480:113–117.

- 50 Kirkin V, Lamark T, Sou YS, Bjørkøy G, Nunn JL, Bruun JA, Shvets E, McEwan DG, Clausen TH, Wild P, et al. A role for NBR1 in autophagosomal degradation of ubiquitinated substrates. *Mol Cell*. 2009;33:505–516.
- 51 Thurston TL, Ryzhakov G, Bloor S, von Muhlinen N, Randow F. The TBK1 adaptor and autophagy receptor NDP52 restricts the proliferation of ubiquitin-coated bacteria. *Nat Immunol*. 2009;10:1215–1221.
- 52 Rubinsztein DC, Codogno P, Levine B. Autophagy modulation as a potential therapeutic target for diverse diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11:709–730.
- 53 Starr T, Child R, Wehrly TD, Hansen B, Hwang S, López-Otin C, Virgin HW, Celli J. Selective subversion of autophagy complexes facilitates completion of the *Brucella* intracellular cycle. *Cell Host Microbe*. 2012;11:33–45.
- 54 Gutierrez MG, Vazquez CL, Munafo DB, Zoppino FC, Berón W, Rabinovitch M, Colombo MI. Autophagy induction favours the generation and maturation of the *Coxiella*-replicative vacuoles. *Cell Microbiol*. 2005;7:981–993.
- 55 Checroun C, Wehrly TD, Fischer ER, Hayes SF, Celli J. Autophagy-mediated reentry of *Francisella tularensis* into the endocytic compartment after cytoplasmic replication. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2006;103:14578–14583.
- 56 Kyei GB, Dinkins C, Davis AS, Roberts E, Singh SB, Dong C, Wu L, Kominami E, Ueno T, Yamamoto A, et al. Autophagy pathway intersects with HIV-1 biosynthesis and regulates viral yields in macrophages. *J Cell Biol*. 2009;186:255–268.
- 57 Li J, Liu Y, Wang Z, Liu K, Wang Y, Liu J, Ding H, Yuan Z. Subversion of cellular autophagy machinery by hepatitis B virus for viral envelopment. *J Virol*. 2011;85:6319–6333.
- 58 Tian Y, Sir D, Kuo CF, Ann DK, Ou JH. Autophagy required for hepatitis B virus replication in transgenic mice. *J Virol*. 2011;85:13453–13456.
- 59 Ke PY, Chen SS. Activation of the unfolded protein response and autophagy after hepatitis C virus infection suppresses innate antiviral immunity *in vitro*. *J Clin Invest*. 2011;121:37–56.
- 60 Campbell GR, Spector SA. Hormonally active vitamin D3 (1 α ,25-dihydroxycholecalciferol) triggers autophagy in human macrophages that inhibits HIV-1 infection. *J Biol Chem*. 2011;286:18890–18902.

- 61 Shaid S, Brandts CH, Serve H, Dikic I. Ubiquitination and selective autophagy. *Cell Death Differ.* 2013;20:21–30.
- 62 Geisler S, Holmström KM, Skujat D, Fiesel FC, Rothfuss OC, Kahle PJ, Springer W. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat Cell Biol.* 2010;12:119–131.
- 63 Narendra D, Tanaka A, Suen DF, Youle RJ. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J Cell Biol.* 2008;183:795–803.
- 64 Vives-Bauza C, Zhou C, Huang Y, Cui M, de Vries RL, Kim J, May J, Tocilescu MA, Liu W, Ko HS, et al. PINK1-dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2010;107:378–383.
- 65 Ashrafi G, Schwarz TL. The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria. *Cell Death Differ.* 2012 Jun 29. doi: 10.1038/cdd.2012.81.
- 66 Broekemeier KM, Iben JR, LeVan EG, et al. Pore formation and uncoupling initiate a Ca²⁺-independent degradation of mitochondrial phospholipids. *Biochemistry.* 2002;41:7771–7780
- 67 Hsieh, YC; Athar, M; Chaudry. When apoptosis meets autophagy: deciding cell fate after trauma and sepsis. *Trends Mol Med.* 2009 Mar;15(3):129-38. doi: 10.1016/j.molmed.2009.01.002. Epub 2009 Feb 21.
- 68 Pandol, SJ; et al. Acute pancreatitis: bench to the bedside. *Gastroenterology.* 2007 Mar;132(3):1127-51
- 69 Pfeifer U. Inhibition by insulin of the formation of autophagic vacuoles in rat liver. A morphometric approach to the kinetics of intracellular degradation by autophagy. *J Cell Biol.* 1978;78:152–167
- 70 Vanhorebeek I, Gunst J, Ellger B, et al. Hyperglycemic kidney damage in an animal model of prolonged critical illness. *Kidney Int.* 2009;76:512–520
- 71 Kobayashi S, Xu X, Chen K, et al. Suppression of autophagy is protective in high glucose-induced cardiomyocyte injury. *Autophagy.* 2012;8:577–592
- 72 Jensen GL, Mirtallo J, Campher C, Dhaliwal R, Forbes A, Grijalba RF, Hardy G, Kondrup J, Labadarios D, Nyulasi I, Castillo Pineda JC, Waitzberg D; International Consensus Guideline Committee: Adult starvation and disease-related malnutrition: a proposal for etiology-based diagnosis in the clinical practice setting from the International Consensus Guideline Committee. *J*

- Parenter Enteral Nutr* 2010, 34:156-159.
- 73 Kreymann KG, Berger MM, Deutz NE, Hiesmayr M, Jolliet P, Kazandjiev G, Nitenberg G, Van den BG, Wernerman J, Ebner C, Hartl W, Heymann C, Spies C: ESPEN guidelines on enteral nutrition: intensive care. *Clin Nutr* 2006, 25:210-223.
- 74 Singer P, Berger MM, Van den Berghe G, Biolo G, Calder P, Forbes A, Griffiths R, Kreyman G, Leverve X, Pichard C; ESPEN: ESPEN guidelines on parenteral nutrition: intensive care. *Clin Nutr* 2009, 28:387-400.
- 75 McClave SA, Martindale RG, Vanek VW, McCarthy M, Roberts P, Taylor B, Ochoa JB, Napolitano L, Cresci G; A.S.P.E.N. Board of Directors, American College of Critical Care Medicine, Society of Critical Care Medicine: Guidelines for the provision and assessment of nutrition support therapy in the adult critically ill patient: Society of Critical Care Medicine (SCCM) and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.). *J Parenter Enteral Nutr* 2009, 33:277-316.
- 76 Correia MI, Waitzberg DL: The impact of malnutrition on morbidity, mortality, length of hospital stay and costs evaluated through a multivariate model analysis. *Clin Nutr* 2003, 22:235-239.
- 77 Lim SL, Ong KC, Chan YH, Loke WC, Ferguson M, Daniels L: Malnutrition and its impact on cost of hospitalization, length of stay, readmission and 3-year mortality. *Clin Nutr* 2012, 31:345-350.
- 78 Peter JV, Moran JL, Phillips-Hughes J. A metaanalysis of treatment outcomes of early enteral versus early parenteral nutrition in hospitalized patients. *Crit Care Med* 2005;33:213-220
- 79 Simpson F, Doig GS. Parenteral vs. enteral nutrition in the critically ill patient: a meta-analysis of trials using the intention to treat principle. *Intensive Care Med* 2005;31:12-23
- 80 Heyland DK, Schroter-Noppe D, Drover JW, et al. Nutrition support in the critical care setting: current practice in Canadian ICUs -- opportunities for improvement? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2003;27:74-83
- 81 Rubinson L, Diette GB, Song X, Brower RG, Krishnan JA. Low caloric intake is associated with nosocomial bloodstream infections in patients in the medical intensive care unit. *Crit Care Med* 2004;32:350-357

- 82 Villet S, Chioloro RL, Bollmann MD, et al. Negative impact of hypocaloric feeding and energy balance on clinical outcome in ICU patients. *Clin Nutr* 2005;24:502-509
- 83 Dvir D, Cohen J, Singer P. Computerized energy balance and complications in critically ill patients: an observational study. *Clin Nutr* 2006;25:37-44
- 84 Alberda C, Gramlich L, Jones N, et al. The relationship between nutritional intake and clinical outcomes in critically ill patients: results of an international multicenter observational study. *Intensive Care Med* 2009;35:1728-1737[Erratum, *Intensive Care Med* 2009;35:1821.]
- 85 Reid C. Frequency of under- and overfeeding in mechanically ventilated ICU patients: causes and possible consequences. *J Hum Nutr Diet* 2006;19:13-22
- 86 Dhaliwal R, Jurewitsch B, Harrietha D, Heyland DK. Combination enteral and parenteral nutrition in critically ill patients: harmful or beneficial? A systematic review of the evidence. *Intensive Care Med* 2004;30:1666-1671
- 87 McClave SA, Lowen CC, Kleber MJ, et al. Are patients fed appropriately according to their caloric requirements? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1998;22:375-381
- 88 Grau T, Bonet A, Rubio M, et al. Liver dysfunction associated with artificial nutrition in critically ill patients. *Crit Care* 2007;11:R10-R10.
- 89 Streat SJ, Beddoe AH, Hill GL: Aggressive nutritional support does not prevent protein loss despite fat gain in septic intensive care patients. *J Trauma* 1987, 27:262-266.
- 90 Frankenfield DC, Smith JS, Cooney RN: Accelerated nitrogen loss after traumatic injury is not attenuated by achievement of energy balance. *J Parenter Enteral Nutr* 1997, 21:324-329.
- 91 Hart DW, Wolf SE, Herndon DN, Chinkes DL, Lal SO, Obeng MK, Beauford RB, Mlcak RT RP: Energy expenditure and caloric balance after burn: increased feeding leads to fat rather than lean mass accretion. *Ann Surg* 2002, 235:152-161.
- 92 Tappy L, Berger M, Schwarz JM, McCamish M, Revelly JP, Schneiter P, Jéquier E, Chioléro R: Hepatic and peripheral glucose metabolism in intensive care patients receiving continuous high- or low-carbohydrate enteral nutrition.

- J Parenter Enteral Nutr* 1999, 23:260-267.
- 93 Schwarz JM, Chioloro R, Revelly JP, Cayeux C, Schneiter P, Jéquier E, Chen T, Tappy L: Effects of enteral carbohydrates on de novo lipogenesis in critically ill patients. *Am J Clin Nutr* 2000, 72:940-945.
- 94 Ziegler TR: Parenteral nutrition in the critically ill. *N Engl J Med* 2009, 361:1088-1097.
- 95 Moreau K, Luo S, Rubinsztein DC: Cytoprotective roles for autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2010, 22:206-211.
- 96 Masiero E, Sandri M: Autophagy inhibition induces atrophy and myopathy in adult skeletal muscles. *Autophagy* 2010, 6:307-309.
- 97 Dvir D, Cohen J, Singer P: Computerized energy balance and complications in critically ill patients: an observational study. *Clin Nutr* 2006, 25:37-44.
- 98 Weijs PJ, Stapel SN, de Groot SD, Driessen RH, de Jong E, Girbes AR, Strack van Schijndel RJ, Beishuizen A: Optimal protein and energy nutrition decreases mortality in mechanically ventilated, critically ill patients: a prospective observational cohort study. *J Parenter Enteral Nutr* 2012, 36:60-68.
- 99 Krishnan JA, Parce PB, Martinez A, Diette GB, Brower RG: Caloric intake in medical ICU patients: consistency of care with guidelines and relationship to clinical outcomes. *Chest* 2003, 124:297-305.
- 100 Arabi YM, Haddad SH, Tamim HM, Rishu AH, Sakkijha MH, Kahoul SH, Britts RJ: Near-target caloric intake in critically ill medical–surgical patients is associated with adverse outcomes. *J Parenter Enteral Nutr* 2010, 34:280-288.
- 101 Artinian V, Krayem H, DiGiovine B: Effects of early enteral feeding on the outcome of critically ill mechanically ventilated medical patients. *Chest* 2006, 129:960-967.
- 102 Wolfe RR, Goodenough RD, Burke JF, Wolfe MH: Response of protein and urea kinetics in burn patients to different levels of protein intake. *Ann Surg* 1983, 197:163-171.
- 103 Shaw JH, Wildbore M, Wolfe RR: Whole body protein kinetics in severely septic patients. The response to glucose infusion and total parenteral

- nutrition. *Ann Surg* 1987, 205:288-294.
- 104 Larsson J, Lennmarken C, Mårtensson J, Sandstedt S, Vinnars E: Nitrogen requirements in severely injured patients. *Br J Surg* 1990, 77:413-416.
- 105 Ishibashi N, Plank LD, Sando K, Hill GL: Optimal protein requirements during the first 2 weeks after the onset of critical illness. *Crit Care Med* 1998, 26:1529-1535.
- 106 Masiero E, Agatea L, Mammucari C, Blaauw B, Loro E, Komatsu M, Metzger D, Reggiani C, Schiaffino S, Sandri M: Autophagy is required to maintain muscle mass. *Cell Metab* 2009, 10:507-515.
- 107 Arabi YM, Tamim HM, Dhar GS, Al-Dawood A, Al-Sultan M, Sakkijha MH, Kahoul SH, Brits R: Permissive underfeeding and intensive insulin therapy in critically ill patients: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2011, 93:569-577.
- 108 National Heart, Lung, and Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) Clinical Trials Network; Rice TW, Wheeler AP, Thompson BT, Steingrub J, Hite RD, Moss M, Morris A, Dong N, Rock P: Initial trophic vs full enteral feeding in patients with acute lung injury: the EDEN randomized trial. *JAMA* 2012, 307:795-803.
- 109 Griffiths RD: Nutrition for critically ill patients: how much is enough? *JAMA* 2012, 307:845-846.
- 110 Desai SV, McClave AS, Rice TW. Nutrition in the ICU: an evidence-based approach. *Chest* 2011