

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Mariane Curado Borges

**ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: influência
no perfil inflamatório, na atividade da doença e nos exames bioquímicos**

Belo Horizonte

2014

Mariane Curado Borges

**ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: influência
no perfil inflamatório, na atividade da doença e nos exames bioquímicos**

Versão Final

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Minas Gerais como requisito parcial para obtenção de grau de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Costa
Duarte Lanna

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel T.
D. Correia

Belo Horizonte

2014

B732a Borges, Mariane Curado.
Ácidos graxos ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: [manuscrito]: influência no perfil inflamatório, na atividade da doença e nos exames bioquímicos. / Mariane Curado Borges. - - Belo Horizonte: 2014.
119 f.: il.
Orientador (a): Cristina Costa Duarte Lanna.
Coorientador (a): Maria Isabel Toulson Davisson Correia.
Área de concentração: Ciências Clínicas.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Lúpus Eritematoso Sistêmico. 2. Ácidos Graxos Ômega-3. 3. Inflamação. 4. Citocinas. 5. Adipocinas. 6. Ensaio de Imunoadsorção Enzimática. 7. Ensaio Clínico. 8. Dissertação Acadêmica. I. Lanna, Cristina Costa Duarte. II. Correia, Maria Isabel Toulson Davisson. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WD 380

Bibliotecária responsável: Fabiene Letizia Alves Furtado CRB-6/2745



ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA MARIANE CURADO BORGES

Realizou-se, no dia 10 de fevereiro de 2014, às 13:30 horas, sala 018, andar térreo da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada **ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: INFLUÊNCIA NO PERFIL INFLAMATÓRIO, ATIVIDADE DA DOENÇA E EXAMES BIOQUÍMICOS**, apresentada por **MARIANE CURADO BORGES**, número de registro 2009711500, graduada no curso de Nutrição, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, à seguinte Comissão Examinadora: Prof^ª. Cristina Costa Duarte Lanna - Orientadora (UFMG), Prof^ª. Maria Isabel Toulson Davisson Correia - Coorientadora (UFMG), Prof^ª. Gilda Aparecida Ferreira (UFMG), Prof^ª. Jacqueline Isaura Alvarez Leite (UFMG), Prof. Evandro Mendes Klumb (UERJ), Prof^ª. Renata Nascimento de Freitas (UFOP).

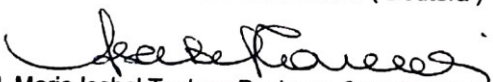
A Comissão considerou a tese:

(X) Aprovada

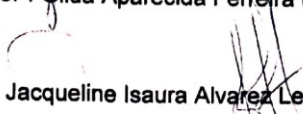
() Reprovada

Finalizados os trabalhos, foi lavrada a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 10 de fevereiro de 2014.


Prof^ª. Cristina Costa Duarte Lanna (Doutora)


Prof^ª. Maria Isabel Toulson Davisson Correia (Doutora)

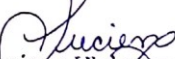

Prof^ª. Gilda Aparecida Ferreira (Doutora)


Prof^ª. Jacqueline Isaura Alvarez Leite (Doutora)


Prof. Evandro Mendes Klumb (Doutor)


Prof^ª. Renata Nascimento de Freitas (Doutora)

CONFERE COM ORIGINAL
Centro de Pós-Graduação
Faculdade de Medicina - UFMG


Luciene Vieira da Silva
Assistente em Administração - SIAPE: 2184168
Secretária do Programa de Pós Graduação
em Infectologia e Medicina Tropical
Faculdade de Medicina - UFMG

Aos meus pais, meus mestres da vida!

AGRADECIMENTOS

À orientadora, **Profa. Dra. Cristina Costa Duarte Lanna**, pela dedicação e contribuição inestimável para a realização deste trabalho, pelo seu apoio nos momentos de dificuldade e também de realizações. Leverei comigo seu exemplo profissional e pessoal.

À co-orientadora, **Profa. Dra. Maria Isabel T. D. Correia**, pela sua objetividade e inestimáveis conhecimentos que puderam tornar realidade este trabalho. Ao longo de todos esses anos de convivência fui sempre presenteada com muito aprendizado.

À **Fabiana de Miranda Moura dos Santos**, pelo seu companheirismo, amizade, cumplicidade, profissionalismo. Ter você como “dupla” foi realmente um presente.

À **Rosa Weiss Telles**, pelo seu conhecimento, dedicação e incentivo para a elaboração, realização e conclusão deste trabalho. Como aprendi com você!

Ao **Prof. Dr. Marcus Vinícius Melo de Andrade**, pela realização das dosagens dos marcadores inflamatórios e por toda a sua contribuição à pesquisa desde o início.

Às colegas **Juliana de Castro Lino e Kênia Cristina Correia Martins**, pela enorme colaboração, desde o início, na coleta e análise dos dados.

A toda **equipe do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas**, pela convivência, pelo aprendizado, pelo incentivo e também pelas boas risadas que compartilhamos ao longo desses anos.

A toda **equipe do Laboratório Lineu Freire-Maia**, pela disponibilidade e ajuda em todas as etapas das análises laboratoriais.

À **Neusa**, por sua paciência e dedicação.

Às **pacientes** que participaram dessa pesquisa, sempre com muito carinho e desprendimento.

À minha **família e amigos**, meu eixo, meu significado de vida!

“Não sei se a vida é curta ou longa demais para nós, mas sei que nada do que vivemos tem sentido, se não tocarmos o coração das pessoas.

Muitas vezes basta ser: colo que acolhe, braço que envolve, palavra que conforta, silêncio que respeita, alegria que contagia, lágrima que corre, olhar que acaricia, desejo que sacia, amor que promove.

E isso não é coisa de outro mundo, é o que dá sentido à vida. É o que faz com que ela não seja nem curta, nem longa demais, mas que seja intensa, verdadeira, pura enquanto durar.”

Cora Coralina

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”

Cora Coralina

RESUMO

Introdução: O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é doença inflamatória auto-imune, que resulta em aumento dos níveis circulantes de mediadores inflamatórios. Alguns estudos têm demonstrado a habilidade dos ácidos graxos ômega-3 em reduzir as concentrações de proteína C-reativa (PCR), eicosanoides pró-inflamatórios, citocinas, quimiocinas e de outros biomarcadores da inflamação. Por essas propriedades, a suplementação com essa classe de lipídeos pode representar terapia adicional ao tratamento de doenças inflamatórias crônicas sistêmicas, como LES. **Objetivos:** 1- apresentar revisão da literatura científica sobre os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 em pacientes com LES; 2- analisar o efeito da suplementação com esse nutriente na atividade da doença, nos exames laboratoriais e nos níveis plasmáticos de citocinas (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α , leptina e adiponectina). **Métodos:** No ensaio clínico, foram avaliadas 49 mulheres com LES, sendo 22 do grupo de estudo e 27 do grupo controle. As pacientes do grupo de estudo receberam 2g de ômega-3 por dia (1040mg de EPA + 200mg de DHA) durante 12 semanas. A atividade da doença foi avaliada pelo SLEDAI-2K, as citocinas IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A e TNF- α por citometria de fluxo ultrasensível e, leptina e adiponectina pelo método ELISA de captura. Avaliação nutricional pelo índice de massa corporal e pela bioimpedância, assim como marcadores bioquímicos foram avaliados ao início do estudo (T0) e ao final (T1). **Resultados:** A suplementação do ômega-3 não resultou em alterações da atividade da doença e dos níveis séricos das citocinas. Houve aumento significativo dos níveis séricos de colesterol total (T0=180,0 (456,0-193,5) mg/dL e T1=188,0 (162,0-214,5) mg/dL, $p=0,012$), LDL-c (T0=100,0 (88,0-120,5) mg/dL e T1=115,5 (90,0-129,2) mg/dL, $p=0,003$) e da glicemia (T0=77,5 (75,0-84,5) mg/dL e T1=83,0 (75,0-87,0)

mg/dL, $p=0,043$) no grupo que recebeu suplementação. Os níveis de PCR aumentaram significativamente no grupo controle ($T0=5,0$ (4,9-9,6) mg/dL e $T1=5,0$ (4,9-11,6) mg/dL, $p=0,009$) enquanto não se modificaram no grupo de estudo. Nessa amostra, 69,4% (34) das pacientes apresentavam excesso de peso ($IMC \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$) e em 73,5% (36) o percentual de gordura corporal estava acima do recomendado.

Conclusões: Estudos longitudinais placebo controlados são necessários de modo a avaliar a relação entre a suplementação com ômega-3, os níveis de colesterol e o processo inflamatório no LES, além da avaliação da dose eficaz e do tempo de tratamento.

Palavras-chave: lúpus eritematoso sistêmico, ácidos graxos ômega-3, inflamação, citocinas, adipocinas.

ABSTRACT

Introduction: Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease, which results in systemic inflammation and tissue damage. A few studies have demonstrated that omega-3 fatty acids reduces the concentrations of eicosanoids, cytokines, chemokines, C-reactive protein (CRP) and other biomarkers of inflammation. Supplementation with this class of lipids may bring benefits to treatment of inflammatory diseases such as SLE. **Objectives:** 1-carry out a review of the scientific literature on the effects of omega-3 fatty acids in patients with SLE; 2- analyze the effect of omega-3 fatty acids supplementation on disease activity, biochemistry tests and plasma levels of cytokines (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α , leptin and adiponectin). **Methods:** This clinical trial encompassed 49 women with SLE, 22 in the study group and 27 in the control group. The study group patients received 2g of omega-3 daily (1040mg EPA + 200mg DHA) for 12 weeks. Disease activity was assessed by SLEDAI-2K, cytokines (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A and TNF- α) by ultrasensitive flow cytometry and leptin and adiponectin by ELISA, at the beginning of the study (T0) and at the end (T1). Nutritional status was assessed by body mass index and bioimpedance. **Results:** Omega-3 did not impact on disease activity and serum levels of cytokines. A significant increase in serum total cholesterol (T0=180.0 (456.0-193.5) mg/dL and T1=188.0 (162.0-214.5) mg/dL, $p=0.012$), LDL-c (T0=100.0 (88.0-120.5) mg/dL and T1=115.5 (90.0-129.2) mg/dL, $p=0.003$) and glucose (T0=77.5 (75.0-84.5) mg/dL and T1=83.0 (75.0-87.0) mg/dL, $p=0.043$) in the group that received supplementation was seen. CRP levels increased significantly in the control group (T0=5.0 (4.9-9.6) mg/dL and T1=5.0 (4.9-11.6) mg/dL, $p=0.009$) while they remained unchanged in the study group. In this sample, 69.4% (34) of the patients were

overweight ($\text{BMI} \geq 25.0 \text{ kg/m}^2$) and in 73.5% (36) the percentage of body fat was higher than recommended. **Conclusions:** Future trials are required to better assess the relationship between omega-3 supplementation, levels of cholesterol and inflammation in SLE. Furthermore, these trials should also assess what the effective dosage and duration of treatment.

Keywords: systemic lupus erythematosus, omega-3 fatty acids, inflammation, cytokines, adipokines.

SUMÁRIO

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	14
2 OBJETIVOS	24
2.1 OBJETIVO DO ARTIGO I	24
2.2 OBJETIVOS DO ARTIGO II	24
3 ARTIGOS	25
3.1 ARTIGO I: Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?	25
3.1.1 Resumo	27
3.1.2 Abstract	28
3.1.3 Introdução	29
3.1.4 Métodos	31
3.1.5 Lúpus Eritematoso Sistêmico	32
3.1.6 Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3.....	33
3.1.7 Mecanismos de ação dos ácidos graxos ômega-3	34
3.1.8 Ômega-3 e LES.....	38
3.1.9 Considerações finais.....	45
3.1.10 Referências.....	46
3.2 ARTIGO II: Ácidos graxos ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: influência no perfil inflamatório, na atividade da doença e nos exames bioquímicos	51
3.2.1 Resumo.....	53
3.2.2 Abstract	55
3.2.3 Introdução.....	57
3.2.4 Pacientes e Métodos	59
3.2.5 Resultados.....	66
3.2.6 Discussão	75
3.2.7 Referências.....	82
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
APÊNDICES	94
APÊNDICE A – Termo de consentimento Livre e Esclarecido	94
APÊNDICE B – Protocolo da Pesquisa	96
APÊNDICE C – Tabela das concentrações séricas de citocinas (IL-6 e IL-10) no início do estudo (T0), dos grupos com e sem excesso de peso, segundo o IMC, de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG	103

APÊNDICE D – Tabela das concentrações séricas de citocinas (IL-6 e IL-10) no início do estudo (T0), dos grupos com percentual de gordura corporal normal e acima do recomendado, de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFGM.....	104
APÊNDICE E – Tabela de comparação entre os valores dos exames bioquímicos de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo	105
APÊNDICE F – Tabela de comparação entre as concentrações séricas das citocinas de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo	106
APÊNDICE G – Tabela de comparação entre as concentrações séricas das adipocinas de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo	107
APÊNDICE H – Tabela de comparação entre as concentrações séricas das adipocinas de pacientes com LES do grupo com suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo	108
APÊNDICE I – Tabela das variações das concentrações séricas dos exames bioquímicos entre o início (T0) e o final do estudo (T1) dos grupos com e sem suplementação de ômega-3 de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFGM	109
ANEXOS	110
ANEXO A – Artigo: <i>Avaliação do estado nutricional e da atividade física em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico</i>	110
ANEXO B – Artigo: <i>Nutritional status and food intake in patients with systemic lupus erythematosus</i>	111
ANEXO C – Artigo: <i>Excess weight and associated risk factors in patients with systemic lupus erythematosus</i>	112
ANEXO D – Aceite da Revista Brasileira de Reumatologia para publicação do artigo de revisão intitulado Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?	113
ANEXO E – Carta do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos.....	114
ANEXO F – Critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia para Lúpus Eritematoso Sistêmico.....	115
ANEXO G – Tabela de classificação do estado nutricional segundo o índice de massa corporal (IMC)	116
ANEXO H – Locais de colocação dos eletrodos para realização da bioimpedância elétrica	117
ANEXO I – Tabela de classificação do percentual de gordura corporal	118

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é doença inflamatória auto-imune, cuja etiologia é desconhecida, em que vários órgãos e tecidos podem ser acometidos, em diversas combinações. A forma de apresentação clínica é bastante heterogênea e caracteriza-se por períodos de exacerbação e remissão. A gravidade da doença é variável: desde formas leves e intermitentes até quadros graves e fulminantes. As taxas de morbidade e mortalidade estão aumentadas em pacientes com LES quando comparadas com as da população geral, contudo, os avanços terapêuticos ocorridos nas últimas décadas melhoraram significativamente a evolução da doença¹.

O LES é primariamente uma doença com deficiências na regulação do sistema imunológico. Predisposição genética associada, aos estímulos ambientais e hormonais, produz o desequilíbrio da imunorregulação celular, com perda da tolerância aos auto-antígenos, resultando em resposta auto-imune e aumento dos níveis circulantes de mediadores inflamatórios^{2,3}.

1.1 Patogênese do lúpus eritematoso sistêmico

Em condições normais, os auto-antígenos que são reconhecidos pelo sistema imunológico estão presentes, principalmente, na superfície das células ativadas ou que estão em processo de apoptose. Todavia, em indivíduos com LES ocorre defeito genético na apoptose, o que resulta em programação anormal da morte celular⁴. Além disso, a fagocitose e o *clearance* dos imunocomplexos e das células apoptóticas são deficientes, permitindo a persistência de antígenos e imunocomplexos. As células B, responsáveis pela produção dos auto-anticorpos, são persistentemente ativadas e induzidas ao processo de maturação pelo fator de

ativação das células B (BAFF), também conhecido como estimulador de linfócitos B (BLyS), frequentemente aumentado no LES⁵. Este aumento persistente dos auto-anticorpos não é controlado adequadamente pelos mecanismos que deveriam interromper o processo e transformar a resposta imune em *self* (própria), quais sejam: anticorpos anti-idiotípicos, células T reguladoras CD4+ ou células T supressoras CD8+⁵.

Alguns imunocomplexos, particularmente aqueles que contêm proteínas de DNA ou RNA, ativam o sistema imunológico inato via receptor *toll-like* 9 (TLR-9) ou TLR-7, respectivamente. Esses imunocomplexos se depositam em órgãos-alvo ativando células dendríticas, que levam à produção de interferons (IFN) tipo 1 e fator de necrose tumoral (TNF) α , e células T que produzem IFN- γ , interleucina (IL) 6 e IL-10. Além disso, as células *Natural Killer* e T não conseguem produzir quantidades adequadas de fator de transformação do crescimento (TGF) β . Tanto a imunidade inata quanto a adaptativa conspiram para a produção contínua dos auto-anticorpos. Esta resposta auto-imune habitualmente é controlada ao longo de alguns anos, mas quando falha, resulta em manifestações clínicas da doença⁶.

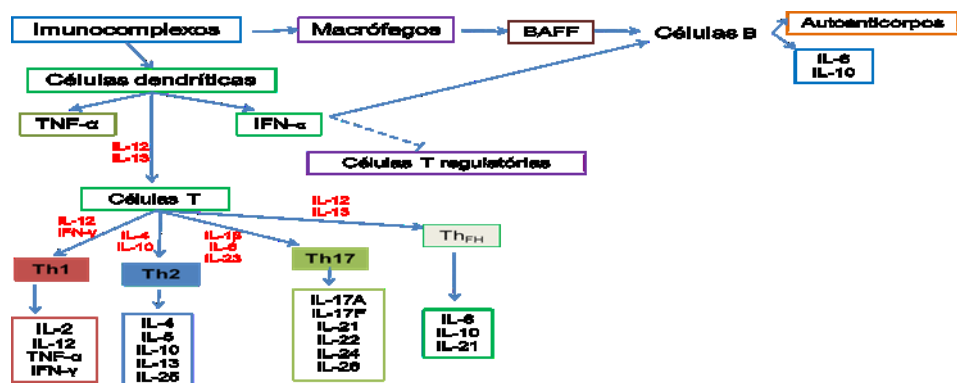


Figura 1. Fisiopatogenia do lúpus eritematoso sistêmico, Belo Horizonte, MG, 2014.

1.2 Ômega-3 e inflamação

Considerando os mecanismos desencadeadores da inflamação, sabe-se que a composição de ácidos graxos nos fosfolipídeos das membranas celulares influencia na classe de eicosanoides produzidos. Os eicosanoides estão entre os principais mediadores e reguladores da inflamação e incluem prostaglandinas (PG), leucotrienos (LT), tromboxanos e outros derivados oxidados^{7,8}.

A dieta ocidental, rica em ácidos graxos ômega-6, favorece a incorporação de AA nas membranas celulares, aumentando a produção de eicosanoides das séries 2 e 4 (prostaglandina E2 e leucotrieno B4) por meio das vias enzimáticas da ciclooxigenase e lipoxigenase, respectivamente. Alta produção desses eicosanoides está relacionada com a ocorrência de distúrbios imunológicos, doenças cardiovasculares e inflamatórias^{9,10}. Já o consumo de alimentos fontes de ácidos graxos ômega-3 ou suplementos contendo este nutriente leva a incorporação de derivados como ácido eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA) nas membranas celulares, desencadeando a produção de prostaglandinas da série 3 e leucotrienos da série 5. Esses possuem características menos inflamatórias que aqueles eicosanoides derivados do ácido araquidônico (AA)^{9,11}.

Os efeitos benéficos dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 têm sido extensivamente estudados, principalmente aqueles sobre o sistema cardiovascular¹²⁻¹⁵. Nos últimos anos, cresceu o interesse sobre o papel desse nutriente na redução da inflamação, como um todo¹⁶⁻²⁵.

Estudos com animais e humanos, em diversas condições e usando diferentes doses, têm demonstrado a habilidade dos ácidos graxos ômega-3 em reduzir as concentrações de proteína C-reativa (PCR), eicosanoides pró-inflamatórios, citocinas, quimiocinas e outros biomarcadores da inflamação¹⁷⁻²⁰. Em culturas de células,

demonstrou-se a habilidade desses ácidos graxos em inibir a produção de citocinas inflamatórias clássicas como TNF- α , IL-1, IL-6²¹⁻²³. No entanto, esses resultados são ainda controversos e essa relação parece ser dose-dependente. Além do mais, EPA e DHA são também precursores de substâncias denominadas resolvinas e protectinas que possuem, por sua vez, características anti-inflamatórias e imunomoduladoras, e podem agir na resolução da inflamação^{24,25}.

Por essas propriedades, a suplementação com essa classe de lipídeos pode representar terapia adicional no tratamento de doenças inflamatórias crônicas sistêmicas, como o lúpus eritematoso sistêmico (LES) e outras doenças reumáticas. Estudos realizados em indivíduos com artrite reumatoide referem melhora da avaliação física geral da dor, da rigidez matinal e redução no uso de medicamentos anti-inflamatórios após suplementação com ômega-3²⁶⁻²⁸.

1.3 Ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico

O conhecimento sobre o papel do ômega-3 nas doenças cardiovasculares e outras doenças inflamatórias como a artrite reumatoide estimulou estudos sobre o possível benefício deste ácido graxo no controle da inflamação de indivíduos com LES. Porém, até o momento, poucos estudos avaliaram o papel dos ácidos graxos ômega-3 no LES. Esses ácidos graxos parecem estar associados com a diminuição da atividade da doença, sugerindo que a suplementação com essa classe de lipídeos possa representar opção adicional ao tratamento farmacológico tradicional do LES²⁹⁻³⁶. Além disso, esses ácidos graxos demonstraram efeitos benéficos na prevenção ou controle das comorbidades associadas ao LES, como doenças cardiovasculares³⁷, dislipidemia^{38,39} e diabetes mellitus³⁹.

O interesse pelos efeitos dos fatores nutricionais tanto na prevenção quanto no controle de doenças, e a escassez de evidências científicas sobre os efeitos do ômega-3 em indivíduos com LES, levou-nos a propor este estudo cujo objetivo foi analisar a influência da suplementação com ácidos graxos ômega-3 nos níveis circulantes de citocinas pró e anti-inflamatórias de mulheres com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

O presente trabalho constitui Tese do Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, área de concentração em Ciências Clínicas, na linha de pesquisa Nutrição e Lúpus Eritematoso Sistêmico, para obtenção do grau de Doutor em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto. Essa linha de pesquisa teve início com a parceria do Grupo de Nutrição do Instituto Alfa de Gastroenterologia e o Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, em 2007, com as Dissertações de Mestrado desta aluna e de uma Reumatologista do Serviço. Essas dissertações deram origem a três artigos: “Avaliação do estado nutricional e da atividade física em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico” (ANEXO A), “Nutritional status and food intake in patients with systemic lupus erythematosus” (ANEXO B) e “Excess weight and associated risk factors in patients with systemic lupus erythematosus” (ANEXO C).

De acordo com as diretrizes do Programa, a tese será apresentada na forma de dois artigos científicos. A formatação da tese segue as orientações contidas no “Guia para redação e apresentação de monografias, dissertações e teses”⁴⁰. A formatação das referências bibliográficas segue as instruções dos periódicos e foi organizada com o auxílio do programa EndNote Web.

Este volume contém:

1. Considerações iniciais: apresenta a fundamentação teórica, a partir de revisão da literatura, a justificativa e o objetivo geral da pesquisa;
2. Apresentação dos objetivos do Artigo I e do Artigo II;
3. O primeiro artigo, intitulado **Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?**, teve como objetivo principal apresentar revisão da literatura científica sobre o papel dos ácidos graxos ômega-3 no LES. Foi aceito para publicação na Revista Brasileira de Reumatologia (ANEXO D).
4. O segundo artigo, **Influência da suplementação com ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 no perfil inflamatório de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico**, teve como principal objetivo analisar a influência da suplementação com ácidos graxos ômega 3 nos níveis plasmáticos de citocinas pró e anti-inflamatórias em pacientes com LES;
5. Considerações finais: compreendem os aspectos críticos e relevantes do estudo, recomendações e aplicações;
6. Apêndices;
7. Anexos.

Referências

1. Vasudevan AR, Ginzler EM. Clinical features of systemic lupus erythematosus. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH. *Rheumatology*, 5th edition, Mosby Elsevier, pages 1229-1246, 2011
2. Hochberg MC. *Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum 1997; 40:1725.
3. Hahn BH, Ebling F, Singh RR, et al. *Cellular and molecular mechanisms of regulation of autoantibody production in lupus*. Ann N Y Acad Sci 2005; 1051:433.
4. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, et al. *Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus*. N Engl J Med 2003; 349:1526.
5. Muñoz LE, Janko C, Grossmayer GE, et al. *Remnants of secondarily necrotic cells fuel inflammation in systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum 2009; 60:1733.
6. Gerl V, Lischka A, Panne D, et al. *Blood dendritic cells in systemic lupus erythematosus exhibit altered activation state and chemokine receptor function*. Ann Rheum Dis 2010; 69:1370.
7. Tilley SL, Coffman TM, Koller BH. *Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes*. J Clin Invest 2001; 108:15-23.
8. Calder PC. *N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases*. Am J Clin Nutr 2006; 83:1505S-19S.
9. Ferrucci L A, Cherubini S, Bandinelli B, Bartali A, Corsi F, Lauretani A, Martin C, Aandres-Lacueva U. Senin and J. M. Guralnik. *Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers*. JCEM 2006; 91:439-446.
10. Bhangle, S, Kolasinski SL. *Fish oil in rheumatic diseases*. Rheum Dis Clin N Am 2011; 37:77-84.
11. Tull SP, Yates CM, Maskrey BH, O'Donnell VB, Madden J, Grimble RF, Calder PC, Nash GB, Rainger GE. *Omega-3 fatty acids and inflammation: novel interactions reveal a new step in neutrophil recruitment*. Plos Biol 2009; 7:e1000177.
12. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. *Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E*

- after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial.* Lancet 1999; 354:447-55.
13. Wang C, Harris WS, Chung M, Lichtenstein AH, Balk EM, Kupelnick B, Jordan HS, Lau J. *N-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review.* Am J Clin Nutr 2006; 84:5-17.
 14. Kromhout D, Giltay EJ, Geleijnse JM. *N-3 fatty acids and cardiovascular events after myocardial infarction.* N Engl J Med 2010; 363:2015-26.
 15. Lorente-Cebrián S, Costa AG, Navas-Carretero S, Zabala M, Martínez JA, Moreno-Aliaga MJ. *Role of omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases: a review of the evidence.* J Physiol Biochem 2013; 69:633-51.
 16. Calviello G, Su HM, Weylandt KH, Fasano E, Serini S, Cittadini A. *Experimental evidence of ω -3 polyunsaturated fatty acid modulation of inflammatory cytokines and bioactive lipid mediators: their potential role in inflammatory, neurodegenerative, and neoplastic diseases.* Biomed Res Int 2013; 2013:743171.
 17. Schwab JM, Serhan CN. *Lipoxins and new lipid mediators in the and resolution of inflammation.* Curr Opin Pharmacol 2006; 6:414-20.
 18. Thies F, Miles EA, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Hurst TL, Newsholme EA, Calder PC. *Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in health adults.* Lipids 2001; 36:1183-93.
 19. Trebble T, Arden NK, Stroud MA, Wootton SA, Burdge GC, Miles EA, Ballinger AB, Thompson RL, Calder PC. *Inhibition of tumour necrosis factor- α and interleukin-6 production by mononuclear cells following dietary fish-oil supplementation in healthy men and response to antioxidant co-supplementation.* Brit J Nutr 2003; 90:405-12.
 20. Wallace FA, Miles EA, Calder PC. *Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects.* Brit J Nutr 2003; 89:679-89.
 21. De Caterina R, Cybulsky MI, Clinton SK, Gimbrone MA, Libby P. *The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells.* Arterioscler Thromb 1994; 14:1829-36.

22. Khalfoun B, Thibault F, Watier H, Bardos P, Lebranchu Y. *Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6*. Adv Exp Biol Med 1997; 400: 589-597.
23. Zhao Y, Joshi-Barve S, Barve S, Chen LH, Barve S, Chen LH. *Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF-alpha expression by preventing NF-kappaB activation*. J Am Coll Nutr 2004; 23:71-8.
24. Serhan CN, Hong S, Gronert K, et al. *Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals*. J Exp Med 2002; 196:1025-37.
25. Hong S, Gronert K, Devchand P, Moussignac RL, Serhan CN. *Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine brain, human blood and glial cells: autocooids in anti-inflammation*. J Biol Chem 2003; 278:14677-87.
26. Lau CS, Morley KD, Belch JJ. *Effects of fish oil supplementation on non-steroidal anti-inflammatory drug requirement in patients with mild rheumatoid arthritis - a double-blind placebo controlled study*. Br J Rheumatol 1993; 32:982-9.
27. Berbert AA, Kondo CR, Almendra CL, Matsuo T, Dichi I. *Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis*. Nutrition 2005; 21:131-36.
28. Lee YH, Bae SC, Song GG. *Omega-3 polyunsaturated fatty acids and the treatment of rheumatoid arthritis: a meta-analysis*. Arch Med Res 2012; 43:356-62.
29. Clark WF, Parbtani A, Huff MW, Reid B, Holub BJ, Falardeau P. *Omega-3 fatty acid dietary supplementation in systemic lupus erythematosus*. Kidney Int 1989, 36:653-60.
30. Westberg G, Tarkowski A. *Effect of MaxEPA in patients with SLE. A double-blind, crossover study*. Scand J Rheumatol 1990; 19:137-43.
31. Clark WF, Parbtani A, Naylor CD, Levinton CM, Muirhead N, Spanner E, Huff MW, Philbrick DJ, Holub BJ. *Fish oil in lupus nephritis: clinical findings and methodological implications*. Kidney Int 1993; 44:75-86.
32. Duffy EM, Meenagh GK, McMillan SA, Strain JJ, Hannigan BM, Bell AL. *The clinical effect of dietary supplementation with omega-3 fish oils and copper in systemic lupus erythematosus*. J Rheumatol 2004; 31:1551-56.
33. Nakamura N, Kumasaka R, Osawa H, Yamabe H, Shirato K, Fujita T, Murakami R, Shimada M, Nakamura M, Okumura K, Hamazaki K, Hamazaki T. *Effects of eicosapentaenoic acids on oxidative stress and plasma fatty acid composition in patients with lupus nephritis*. In vivo 2005; 19:879-82.

34. Wright SA, O'Prey FM, McHenry MT, Leahey WJ, Devine AB, Duffy EM, Johnston DG, Finch MB, Bell AL, McVeigh GE. *A randomised interventional trial of w-3 polyunsaturated acids on endothelial function and disease activity in systemic lupus erythematosus*. Ann Rheum Dis 2008; 67: 841-48.
35. Aghdassi E, Ma DW, Morrison S, Hillyer LM, Clarke S, Gladman DD, Urowitz MB, Fortin PR. *Alterations in circulating fatty acid composition in patients with systemic lupus erythematosus: a pilot study*. JPEN 2011; 35:198-208.
36. Elkan AC, Anania C, Gustafsson T, Jogestrand T, Hafström I, Frostegård J. *Diet and fatty acid pattern among patients with SLE: associations with disease activity, blood lipids and atherosclerosis*. Lupus 2012; 21:1405-11.
37. Cawood AL, Ding R, Napper FL, Young et al. *Eicosapentaenoic acid (EPA) from highly concentrated n-3 fatty acid ethyl esters is incorporated into advanced atherosclerotic plaques and higher plaque EPA is associated with decreased plaque inflammation and increased stability*. Atherosclerosis 2010; 20:252-59.
38. Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, et al. *Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia*. Am J Clin Nutr 2011; 93:243-52.
39. Udupa AS, Nahar PS, Shah SH, Kshirsagar MJ, Ghongane BB. *Study of comparative effects os antioxidants on insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus*. J Clin Diagn Res 2012; 6:1469-73.
40. Souza MSL. *Guia para redação e apresentação de monografias, dissertações e teses*. Belo Horizonte: Coopmed; 2005.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO DO ARTIGO I

1. Apresentar revisão da literatura científica sobre os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 em pacientes com LES.

2.2 OBJETIVOS DO ARTIGO II

1. Analisar o efeito da suplementação com ácidos graxos ômega-3 na atividade da doença avaliando as manifestações clínicas e alterações dos exames laboratoriais, em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, atendidos em Serviço Terciário de Hospital Universitário, em Belo Horizonte.

2. Analisar o efeito da suplementação com ácidos graxos ômega-3 nos níveis plasmáticos de citocinas pró e anti-inflamatórias (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α), nestes pacientes.

3. Analisar o efeito da suplementação com ácidos graxos ômega-3 nos níveis plasmáticos das citocinas do tecido adiposo - leptina e adiponectina, nestes pacientes com LES.

3 ARTIGOS

3.1 ARTIGO I: Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?

Mariane Curado Borges¹, Fabiana de Miranda Moura dos Santos², Rosa Weiss Telles³, Maria Isabel Toulson Davisson Correia⁴, Cristina Costa Duarte Lanna⁵

1. Nutricionista

Doutoranda do Programa de Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto (Faculdade de Medicina da UFMG)

2. Reumatologista do Hospital das Clínicas da UFMG

Doutoranda do Programa de Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto (Faculdade de Medicina da UFMG)

3. Reumatologista, Professora Adjunta, Departamento de Clínica Médica Faculdade de Medicina da UFMG

4. Cirurgiã, Professora Titular, Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina da UFMG

5. Reumatologista, Professora Associada, Departamento do Aparelho Locomotor, Faculdade de Medicina da UFMG

Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG/ Departamento do Aparelho Locomotor e Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina da UFMG – Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da UFMG, área de concentração em Ciências Clínicas.

Este projeto de pesquisa foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

Correspondência

Mariane Curado Borges

Rua Melro quadra 46 lote 15 Parque das Laranjeiras – Goiânia, GO

CEP 74855-590

E-mail: maricurado@gmail.com

Título resumido

Ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico

3.1.1 Resumo

Diversos estudos têm demonstrado a habilidade dos ácidos graxos ômega-3 em reduzir as concentrações de proteína C-reativa (PCR), eicosanóides pró-inflamatórios, citocinas, quimiocinas e de outros biomarcadores da inflamação. Por essas propriedades, a suplementação com essa classe de lipídeos pode representar terapia adicional ao tratamento de doenças inflamatórias crônicas sistêmicas, como o lúpus eritematoso sistêmico (LES) e outras doenças reumáticas. O papel dessa classe de lipídeos no LES ainda não está bem estabelecido. No entanto, parece haver relação entre o consumo deste tipo de gordura e a diminuição das manifestações e da atividade inflamatória da doença. Sendo assim, este artigo apresenta revisão da literatura científica sobre os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 em pacientes com LES. Realizou-se levantamento bibliográfico junto aos bancos de dados Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), utilizando-se como palavras-chave: lúpus eritematoso sistêmico, ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), antioxidantes e dieta. Foram incluídos artigos publicados até setembro de 2013. Quarenta e três artigos relacionados ao tema foram encontrados. Após limitar a busca apenas para estudos realizados em seres humanos foram encontrados 15 artigos, sendo três de revisão e 12 ensaios clínicos.

Palavras-chave: lúpus eritematoso sistêmico, ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), antioxidantes.

3.1.2 Abstract

Various studies have demonstrated the impact of omega-3 fatty acids on the concentration of C reactive protein (CRP), pro-inflammatory eicosanoids, cytokines, chemokines and other inflammatory mediators. Therefore, the supplementation of these type of lipids may represent additional option treatment for chronic systemic diseases, such as Systemic Lupus Erythematosus and other rheumatic diseases. The role of these lipids has not been well established, yet. However, it seems there is a direct relationship between its intake and the decrease of the disease clinical manifestations as well as of the inflammatory status of the patients. Thus, the aim of this manuscript is to present a thorough review on the effects of omega-3 fatty acids in patients with SLE. Bibliographic data set as the Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE) and Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) were searched using as key words: systemic lupus erythematosus, polyunsaturated fatty acids omega-3, eicosapentanoic acid (EPA), docosahexanoic acid (DHA), antioxidants and diet. Manuscripts published up to September 2013 were included. There were 43 articles related to the topic, however only 15 pertained human studies, with three review articles and 12 clinical studies.

Key words: systemic lupus erythematosus, polyunsaturated fatty acids omega-3, eicosapentanoic acid (EPA), docosahexanoic acid (DHA), antioxidants and diet.

3.1.3 Introdução

Os efeitos benéficos dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 têm sido extensivamente estudados, principalmente aqueles sobre o sistema cardiovascular¹⁻⁴. Nos últimos anos, cresceu o interesse sobre o papel desse nutriente na redução da inflamação⁵.

Esses ácidos graxos são considerados essenciais e devem ser fornecidos pela alimentação ou na forma de suplementos. Competem com o ácido araquidônico (AA), membro da família ômega-6, pela mesma via enzimática, e estimulam a produção de prostaglandinas da série 3 e leucotrienos da série 5, que possuem menor ação inflamatória que aqueles eicosanóides derivados do AA⁶.

Diversos estudos têm demonstrado a habilidade dos ácidos graxos ômega-3 em reduzir as concentrações de proteína C-reativa (PCR), eicosanóides pró-inflamatórios, citocinas, quimiocinas e de outros biomarcadores da inflamação⁷⁻¹⁰. Além disso, o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenoico (DHA), membros da família ômega-3, são precursores de mediadores lipídicos denominados resolvinas e protectinas, que possuem características anti-inflamatórias e imunomoduladoras¹¹⁻¹³.

Por essas propriedades, a suplementação com essa classe de lipídeos pode representar terapia adicional ao tratamento de doenças inflamatórias crônicas sistêmica, como o lúpus eritematoso sistêmico (LES) e outras doenças reumáticas. Estudos realizados em indivíduos com artrite reumatoide referem melhora da avaliação física geral, da dor, da rigidez matinal e, redução no uso de medicamentos anti-inflamatórios após suplementação com ômega-3¹⁴⁻¹⁶.

O papel desses ácidos graxos no LES ainda não está bem estabelecido. No entanto, parece haver relação entre o consumo deste tipo de gordura e a diminuição das manifestações e da atividade inflamatória da doença¹⁷⁻²⁵.

Os autores apresentam revisão da literatura científica sobre os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 em pacientes com LES.

3.1.4 Métodos

Realizou-se revisão de literatura científica baseada no levantamento bibliográfico junto aos bancos de dados MEDLINE e LILACS. Utilizaram-se como palavras-chave: lúpus eritematoso sistêmico, ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA), antioxidantes e dieta. Foram incluídos artigos publicados até setembro de 2013. Quarenta e três artigos relacionados ao tema foram encontrados. Após limitar a busca apenas para estudos realizados em seres humanos foram encontrados 15 artigos, sendo três artigos de revisão e 12 ensaios clínicos.

3.1.5 Lúpus Eritematoso Sistêmico

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é doença inflamatória auto-imune, multissistêmica, com amplo espectro de manifestações, clinicamente caracterizada por períodos de atividade e remissão, com curso e prognóstico variáveis. A gravidade da doença varia desde formas leves e intermitentes até quadros graves e fulminantes. Entretanto, remissão completa e permanente é rara²⁶.

Embora a causa do LES não seja conhecida, admite-se que a interação de fatores genéticos, hormonais e ambientais participe do desencadeamento dessa doença, havendo perda do equilíbrio da imunorregulação celular²⁷. Este desequilíbrio imunológico ocorre por meio da perda da tolerância a antígenos nucleares, ativação desregulada dos linfócitos B e T e, subsequente ativação policlonal de linfócitos B com a produção de grande quantidade de auto anticorpos reativos e formação de complexos imunológicos. Estes, conjuntamente com os auto anticorpos, são os principais responsáveis pela lesão tecidual e dano orgânico²⁸.

Este processo complexo envolve a interação de várias citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão e receptores de reconhecimento de padrão (pattern- recognition receptors - PRRs), que desencadeiam a ativação celular²⁹.

Os linfócitos T com resposta funcional TH1 são estimulados pela interleucina (IL) 12 a produzir fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon gama (IFN- γ) e IL2. Já os linfócitos TH2 produzem IL4, IL5 e IL13 quando estimulados pela IL4. Significante elevação de citocinas, decorrentes da resposta TH1 é observada em soro de pacientes com LES indicando provável desequilíbrio no padrão de resposta TH1/TH2²⁸. A resposta funcional TH17, e os níveis séricos de outras citocinas como IL23, IL18, IL21, IL33 também encontram-se elevados, mas o papel delas na

patogênese da doença ainda está sendo estudado²⁸. Muitas destas citocinas estão elevadas no soro de pacientes com LES e, são associadas a pior atividade da doença ou a determinadas manifestações clínicas²⁹⁻³².

Até o momento, poucos estudos avaliaram o papel da nutrição na patogênese do LES. Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 poderiam ter efeitos clínicos benéficos no LES, em virtude das ações anti-inflamatórias, o que justificaria o uso como outra opção no tratamento da doença¹³.

3.1.6 Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3

Os ácidos graxos podem ser classificados como saturados (sem duplas ligações entre átomos de carbono) e mono ou poli-insaturados de acordo com o número de ligações duplas em cadeia. Os ácidos graxos saturados mais frequentes na alimentação de humanos são: láurico, mirístico, palmítico e esteárico (que variam de 12 a 18 átomos de carbono). Os ácidos graxos insaturados são classificados em duas categorias principais: poli-insaturados, representados pelas séries ômega-6 (sendo os principais representantes os ácidos linoleico e araquidônico) e ômega-3 (sendo os principais representantes os ácidos α -linolênico, eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA)) ou monoinsaturados representados pela série ômega-9 (oleico). Ômega-3 (w-3) e ômega-6 (w-6) são considerados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo. O ácido linoleico (18:2 w-6) é o precursor dos demais ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-6, cujas principais fontes alimentares são os óleos vegetais de soja, milho, e girassol. Na família ômega-3, o ácido α -linolênico (18:3 w-3) é encontrado em alguns vegetais como canola e linhaça e EPA (20:5 w-3) e DHA (22:6 w-3) em peixes de águas frias e profundas (cavala, sardinha,

salmão, arenque). Já o ácido oleico (18:1 ω -9) pode ser sintetizado pelo organismo e tem como principais fontes dietéticas o óleo de oliva, o óleo de canola, a azeitona, o abacate e as oleaginosas (amendoim, castanhas, nozes, amêndoas)³³.

3.1.7 Mecanismos de ação dos ácidos graxos ômega-3

Os primeiros dados que sugerem o possível papel anti-inflamatório dos ácidos graxos ômega-3 derivam de estudo epidemiológico com esquimós da Groenlândia, realizado por Kronmann and Green em 1980. Os autores verificaram que a prevalência de doenças com componente inflamatório como infarto agudo do miocárdio, diabetes mellitus, esclerose múltipla, asma brônquica e tireotoxicose foi menor na população do estudo que nas populações dos países ocidentais. Os esquimós consomem dieta rica em frutos do mar, fontes de ácidos graxos poli-insaturados³⁴. A partir de então, foram realizados diversos estudos buscando verificar o papel desses lipídeos em diversas doenças crônicas nas quais a inflamação tem papel central na patogênese.

As famílias ω -3 e ω -6, por meio dos seus membros EPA, DHA e ácido araquidônico (AA), são as duas classes de lipídeos essenciais para a síntese de eicosanóides. Os eicosanóides estão entre os principais mediadores e reguladores da inflamação. Incluem prostaglandinas (PG), leucotrienos (LT), tromboxanos e outros derivados oxidados. São produzidos pelas vias oxidativas das enzimas cicloxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX)³⁵.

Devido à semelhança química, ácido linoleico e α -linolênico competem pelas mesmas enzimas para sintetizar os derivados com 20 átomos de carbono: AA (20:4 ω -6), ácido eicosapentaenóico (EPA) (20:5 ω -3) e ácido eicosatrienóico (ETA) (20:3

ω -9). O ácido α -linolênico ainda possui um derivado com 22 átomos de carbono, o ácido docosaexaenóico (DHA) (22:6 ω -3)^{33,36,37} (Figura 1).

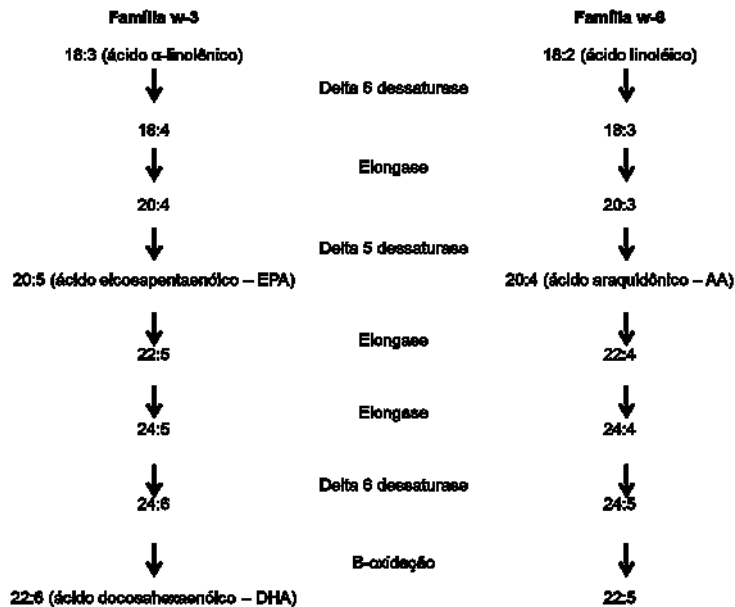


Figura 1. Metabolismo dos ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, Belo Horizonte, MG, 2014.
Adaptado de Leonard *et al*, 2004³⁷

Alto consumo de ácido linoleico favorece o aumento do conteúdo de AA nos fosfolipídios de membrana, aumentando a produção de eicosanóides das séries 2 e 4 (prostaglandina E2 e leucotrieno B4) por meio das vias enzimáticas da ciclooxigenase e lipoxigenase, respectivamente. Alta produção desses eicosanóides está relacionada com a ocorrência de distúrbios imunológicos, doenças cardiovasculares e inflamatórias. Por outro lado, o consumo de ácidos graxos da família ω -3, como o ácido α -linolênico, EPA ou DHA, que competem com o AA pelas mesmas vias enzimáticas, inibe competitivamente a oxidação do ácido araquidônico pela ciclooxigenase (COX) para prostaglandinas e a conversão para leucotrienos (LTs) via 5-lipoxigenase (LOX)^{6,33}. O ácido graxo ômega-6 leva à produção de eicosanóides das séries 2 e 4 (PGE2, tromboxano A2 (TXA2) e leucotrieno B4 (LTB4)) que são todos inflamatórios. PGE2 induz a inúmeros efeitos pró-inflamatórios como aumento

da permeabilidade vascular, vasodilatação, hiperemia e hiperalgesia³⁸⁻⁴⁰. TXA2 promove a síntese de citocinas inflamatórias, IL-1 β e TNF- α por fagócitos mononucleares^{39,41}. Já o LTB₄, além de causar aumento da permeabilidade vascular e hiperemia, é potente agente quimioatraente de leucócitos que induz à produção de enzimas lisossomais e aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio e citocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6^{39,40} (Figura 2).

Desta forma, o ácido graxo ômega-3 age diminuindo a formação de eicosanóides com características inflamatórias, já que compete com ácidos graxos ômega-6 pela mesma via enzimática, e ainda inibe a síntese de TNF- α , IL-1 e IL-6 e reduz a expressão de moléculas de adesão intracelular (ICAM-1)⁴². É também substrato para a síntese de eicosanóides das séries 3 e 5, que possuem características menos inflamatórias⁶ (Figura 2).

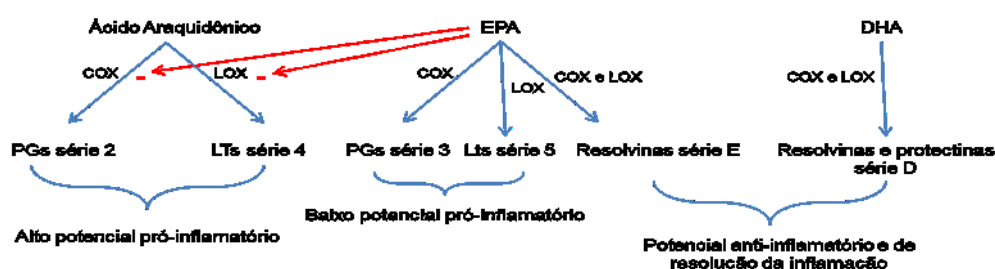


Figura 2. Sínteses e ações dos mediadores lipídicos produzidos pelo AA, EPA e DHA, Belo Horizonte, MG, 2014.
 AA: ácido araquidônico; EPA: ácido eicosapentaenóico; DHA: ácido docosahexaenóico; COX: ciclooxigenase; LOX: lipoxigenase; PG: prostaglandinas; LT: leucotrienos
 Adaptado de Calder *et al*, 2010¹³

Estudos com culturas de células têm demonstrado ainda que EPA e DHA podem inibir a produção de citocinas inflamatórias clássicas como TNF- α , IL-1, IL-6 entre outras^{40,43-45}. Em indivíduos saudáveis já foi demonstrada diminuição na produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 por monócitos e células mononucleares após a suplementação com óleo de peixe^{9,10,46}, apesar de outros estudos não confirmarem

esses achados^{8,47,48}. Tais diferenças podem ter ocorrido devido à diferença de doses utilizadas, tempo de tratamento e amostras não representativas.

Também em culturas de células, foi verificada inibição da proliferação de células T e produção de IL-2 após suplementação com EPA e DHA⁴⁹. No entanto, esses achados são ainda inconsistentes em estudos com humanos.

Além disso, EPA e DHA são precursores de mediadores lipídicos chamados resolvinas e protectinas. A via de produção desses mediadores também envolve as enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase (Figura 2). Em estudos com culturas de células e com animais, tem sido demonstrado que tanto as resolvinas quanto as protectinas são anti-inflamatórias e imunomoduladoras^{11-13,50}. Resolvinas E1 e D1 e protectina D1 podem inibir a migração transendotelial de neutrófilos, prevenindo a infiltração dessas células imunológicas no local da inflamação. Resolvina E1 pode ainda inibir a produção de IL-1 e a protectina E1 de IL-1 e TNF- α ⁵⁰. Desta forma, esses mediadores lipídicos podem ajudar na resolução da inflamação e limitação dos danos causados aos tecidos.

Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos ω -6 e ω -3 assume grande importância na nutrição humana³⁶. No entanto, a dieta ocidental é caracterizada por alto consumo de ácidos graxos poli-insaturados ω -6 e alta relação ω -6/ ω -3, o que pode favorecer a patogênese de muitas doenças, incluindo as cardiovasculares, inflamatórias, auto-imunes e câncer. Estima-se que a relação ω -6/ ω -3 na dieta ocidental seja de 15-20:1. Por outro lado, aumento do consumo de ômega-3, com consequente diminuição na relação entre esses ácidos graxos, parece exercer efeito supressor na patogênese dessas doenças⁵¹.

3.1.8 Ômega-3 e LES

Até o momento, foram realizados poucos estudos investigando os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 em indivíduos com LES. No entanto, alguns ensaios clínicos sugerem que a suplementação com essa classe de lipídeos pode representar terapia adicional ao tratamento farmacológico tradicional desta doença devido às propriedades anti-inflamatórias¹⁷⁻²⁵.

Parece haver diferença nos níveis de ácidos graxos nas hemácias e no plasma de indivíduos com LES e naqueles sem a doença. No entanto, não se sabe se essa diferença ocorre devido à dieta inadequada ou à própria doença. Aghdassi *et al.* (2011) compararam a composição de ácidos graxos nas células vermelhas e no plasma entre mulheres com LES e controles sem a doença, entre pacientes com LES com ou sem história de doença cardiovascular (DCV) e entre as pacientes que faziam ou não uso de prednisona. Na membrana de eritrócitos de indivíduos com LES foram encontrados menores índices de ômega-3 (EPA+DHA) e de EPA isoladamente quando comparados com indivíduos saudáveis. Já no plasma não foram encontradas diferenças significativas quanto ao conteúdo de ácidos graxos entre pacientes e controles. Além disso, os pacientes com LES com história de DCV apresentaram maiores índices plasmáticos de ácidos graxos monoinsaturados e maiores índices de ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-6 que aqueles sem DCV. Pacientes em uso de prednisona apresentaram maiores níveis de ômega-3 e menores índices de AA/EPA quando comparados com aqueles sem uso de prednisona. Entretanto, essas diferenças não foram estatisticamente significativas²³.

Estes baixos níveis de ômega-3 poderiam contribuir para piora da inflamação já presente nestes pacientes, indicando que a suplementação deste nutriente, por sua

vez, contribuiria para melhora do perfil inflamatório e, consequentemente, da atividade da doença, como constatado por Elkan *et al.* (2012) em estudo realizado com 114 pacientes com LES e 122 indivíduos sem a doença. Os autores verificaram que maiores níveis de EPA e DHA nas células do tecido adiposo de pacientes com LES foram negativamente associados com atividade da doença (medida pelo Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index – SLEDAI-2K) e presença de placas ateroscleróticas. Por outro lado, maiores níveis de ômega-6 foram positivamente associados com maior índice de dano (avaliado pelo *Systemic Lupus International Collaboration Clinics/ American College of Rheumatology Damage Index*–SLICC/ACR) e com presença de placas ateroscleróticas. Neste estudo a avaliação da ingestão alimentar identificou que os indivíduos com LES descreveram maior consumo de carboidratos e menor consumo de fibras e ácidos graxos poli-insaturados (ômega-6 e ômega-3) que os indivíduos do grupo controle. A ingestão de carboidrato foi positivamente associada com a quantidade de ácidos graxos ômega-6 presente no tecido adiposo. Não foi encontrada associação entre a ingestão de carboidratos, fibras, ácidos graxos saturados e monoinsaturados com a atividade da doença ou índice de dano²⁴.

O primeiro estudo avaliando o efeito dos ácidos graxos ômega-3 em pacientes com LES utilizou óleo de peixe e, foi publicado em 1989 por Clark *et al.* Os autores analisaram o efeito do ômega-3 (EPA e DHA) em 12 indivíduos com LES e nefrite e, concluíram que a suplementação da dieta com óleo de peixe pode afetar os mecanismos envolvidos na inflamação e na aterosclerose. Os pacientes receberam suplementação durante cinco semanas com doses diárias de 6,0g de óleo de peixe, seguido por período de cinco semanas sem suplementação e, em seguida, mais cinco semanas de 18,0g de óleo de peixe por dia. Verificou-se aumento dos níveis de EPA

e DHA nos fosfolipídeos de membranas e diminuição da incorporação de AA. Estas mudanças foram associadas com diminuição da agregação de plaquetas e da viscosidade sanguínea e aumento na flexibilidade dos glóbulos vermelhos. Houve também redução significativa na produção de LTB₄ por neutrófilos. A dose mais elevada de óleo de peixe induziu diminuição de 38% dos níveis de triglicerídeos e 39% no colesterol VLDL associada ao aumento de 28% nos níveis de colesterol HDL. Não foi verificado efeito sobre o título de anti-DNA e albuminúria¹⁷.

Em contrapartida, em outro ensaio clínico, realizado por esse mesmo grupo de pesquisadores resultados diferentes foram encontrados. Em 21 pacientes com nefrite lúpica estável, suplementados com dose diária de 15g de óleo de peixe ou placebo contendo azeite de oliva, por um ano, não foi verificada melhora da função renal ou da atividade da doença no grupo de estudo quando comparado com o grupo que usou placebo. Quanto aos lipídeos sanguíneos, apenas o colesterol VLDL e os triglicerídeos apresentaram redução significativa após o tratamento com óleo de peixe, enquanto as frações LDL e HDL não foram afetadas¹⁹.

Já Westberg *et al.* (1990) avaliaram os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 em 60 pacientes com LES moderadamente ativo por meio da suplementação com cápsulas contendo óleo de peixe ou cápsulas de azeite de oliva como placebo. Durante os primeiros três meses os pacientes suplementados com ômega-3 apresentaram significativa melhora dos parâmetros clínicos e laboratoriais. No entanto, após seis meses de suplementação não foram detectadas diferenças entre os grupos, sugerindo, segundo os autores, que os efeitos do suplemento ocorrem apenas por curto período¹⁸.

Em 2004, Duffy *et al.* publicaram outro ensaio clínico em que foi avaliado o efeito da suplementação com ômega-3 e/ou cobre em pacientes com LES. Cinquenta

e dois pacientes foram divididos em quatro grupos de tratamento. Um grupo recebeu 3g de óleo de peixe em cápsulas (540mg EPA + 360mg DHA/cápsula) e 3mg de cobre, o outro 3g de óleo de peixe e placebo de cobre, o terceiro grupo foi suplementado com 3mg de cobre e placebo de óleo de peixe e o quarto com placebo de ambos nutrientes. Após seis meses de suplementação, verificou-se diminuição da atividade da doença, medida pelo Systemic Lupus Activity Measure (SLAM), de 6,12 para 4,69 ($p < 0,05$). Os componentes do SLAM mais afetados pela suplementação foram pele, sistema neuromotor e exames laboratoriais²⁰.

Os efeitos benéficos do ômega-3 na redução da atividade da nefrite lúpica foram avaliados por Nakamura *et al.* (2005). Os autores analisaram o efeito da suplementação diária com 1,8g de EPA purificado, em seis pacientes com nefrite lúpica, diagnosticada por biópsia renal. Após três meses de suplementação foi encontrada diminuição dos níveis de AA e aumento dos níveis de EPA nos fosfolipídeos plasmáticos, além da diminuição dos níveis urinários de 8-isoprostanos (de $530 \pm 113 \text{ pg/mg} \cdot \text{CR}$ para $235 \pm 49 \text{ pg/mg} \cdot \text{CR}$, $p = 0,02$). Estes achados, na opinião dos autores, indicaram que o EPA pode promover diminuição do estresse oxidativo, com consequentes benefícios no tratamento da nefrite lúpica. Já quando avaliados parâmetros imunológicos, não foram encontradas diferenças significativas nos valores de anti-DNA e complemento sérico após tratamento com ômega-3²¹.

Wright *et al.* (2008) compararam os efeitos do consumo diário de três gramas de ômega-3 (1200g de DHA + 1800g de EPA) com o uso de placebo de óleo de oliva, em 60 pacientes com LES, por um período de 24 semanas. Identificaram que a suplementação com ômega-3 em pacientes com LES não apenas pode ter efeito terapêutico sobre a atividade da doença, medida segundo os índices Systemic Lupus Activity Measure (SLAM-R) e British Isles Lupus Assessment Group (BILAG), como

também pode promover melhora da função endotelial e redução do estresse oxidativo, conferindo benefícios cardiovasculares²².

Recentemente Bello *et al* (2013) publicaram ensaio clínico duplo-mascarado placebo controlado, no qual 85 pacientes com LES foram randomizados em um grupo recebendo 3g diários de suplemento de ômega-3 ou placebo. Após 12 semanas de suplementação não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos quanto à atividade da doença, níveis séricos de marcadores inflamatórios (ICAM-1, VCAM-1 e IL-6) e função endotelial. Já quanto ao perfil lipídico, os pacientes que receberam ômega-3 apresentaram aumento significativo dos níveis de LDL-c, enquanto aqueles do grupo placebo apresentaram redução significativa dessa lipoproteína²⁵.

Os estudos avaliando o efeito dos ácidos graxos ômega-3 no LES estão listados na Tabela 1.

Tabela 1. Estudos de intervenção com ácidos graxos ômega-3 em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES), Belo Horizonte, MG, 2014.

Estudo	N	Desenho do estudo	Resultados
Clark <i>et al</i> , 1989 ¹⁷	12 indivíduos com nefrite lúpica	Suplementação com 6,0g ômega-3/dia por cinco semanas, seguidas de cinco semanas sem nenhuma suplementação e mais outras cinco semanas com 18,0g de ômega-3/dia	Aumento dos níveis de EPA e DHA nos fosfolípidos de membrana e redução dos níveis de AA Diminuição da agregação de plaquetas e da viscosidade sanguínea Aumento da flexibilidade dos glóbulos vermelhos Redução da produção de LTB4 por neutrófilos Redução em 38% dos níveis de triglicerídeos e em 39% dos níveis de VLDL-c Aumento de 28% dos níveis de HDL-c Sem efeitos sobre níveis de anti-DNA e albuminúria
Wetsberg <i>et al</i> , 1990 ¹⁸	60 indivíduos com LES moderadamente ativo	Suplementação de ômega-3 versus placebo Seis meses de suplementação	Melhora dos parâmetros clínicos e laboratoriais nos primeiros 3 meses de suplementação Sem modificações após seis meses de suplementação
Clark <i>et al</i> , 1993 ¹⁹	21 indivíduos com nefrite lúpica estável	15g de óleo de peixe versus placebo de azeite de oliva 1 ano de suplementação	Sem modificações na função renal e na atividade da doença Redução dos níveis sanguíneos de VLDL-c e triglicerídeos Sem alterações dos níveis de LDL-c e HDL-c
Duffy <i>et al</i> , 2004 ²⁰	52 indivíduos com LES	4 grupos: (1) 3g de ômega-3 + 3mg de cobre; (2) 3g de ômega-3 + placebo de cobre; (3) 3mg de cobre + placebo de ômega-3; (4) placebo de ômega-3 e cobre Seis meses de suplementação	Redução da atividade da doença nos grupos que receberam ômega-3
Nakamura <i>et al</i> , 2005 ²¹	6 indivíduos com nefrite lúpica	Suplementação com doses diárias de 1,8g de EPA purificado Três meses de suplementação	Redução dos níveis de AA e aumento dos níveis de EPA nos fosfolípidos de membrana Redução dos níveis urinários de 8-isoprostano Sem alterações nos valores de anti-DNA e complemento sérico

Wright <i>et al</i> , 2008 ²²	60 indivíduos com LES	Suplementação com 3g/dia de ômega-3 versus placebo de azeite de oliva Seis meses de suplementação	Redução dos níveis de atividade da doença Melhora da função endotelial Redução do estresse oxidativo
Aghdassi <i>et al</i> , 2011 ²³	32 indivíduos com LES e 20 controles sem a doença	Compararam a composição de ácidos graxos nos eritrócitos e no plasma de: mulheres com LES e sem a doença; entre pacientes com LES com e sem história de DCV; entre as pacientes que faziam ou não uso de corticóide	Menores índices de ômega-3 na membrana de eritrócitos de indivíduos com LES que naqueles sem a doença Maiores índices plasmáticos de ácidos graxos ômega-6 em pacientes com LES com história de DCV Maiores níveis ômega-3 em pacientes em uso de corticóide Porém diferenças não foram estatisticamente significativas
Elkan <i>et al</i> , 2012 ²⁴	114 pacientes com LES e 122 indivíduos sem a doença	Avaliaram o conteúdo de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 nas células do tecido adiposo de pacientes com LES	Associação negativa entre maiores níveis de EPA e DHA nas células do tecido adiposo e atividade da doença e presença de placas ateroscleróticas Associação positiva entre maiores níveis de ômega-6 nas células do tecido adiposo índice de dano e presença de placas ateroscleróticas
Bello <i>et al</i> , 2013 ²⁵	85 indivíduos com LES	Suplementação com 3g de ômega-3/dia versus placebo Doze semanas de suplementação	Sem alterações da função endotelial e atividade da doença Aumento dos níveis de LDL-c em indivíduos que receberam ômega-3 Sem alterações nos níveis dos marcadores inflamatórios (IL-6, ICAM-1 e VCAM-1)

LES: lúpus eritematoso sistêmico; EPA: ácido eicosapentaenóico; DHA: ácido docosahexaenóico; LT: leucotrieno; VLDL-c: lipoproteína de muito baixa densidade; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; AA: ácido araquidônico; DCV: doença cardiovascular; IL: interleucina; ICAM: molécula de adesão intercelular; VCAM: molécula de adesão das células vasculares.

3.1.9 Considerações finais

Estudos clínicos sugerem que a suplementação com ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 pode representar opção adicional ao tratamento farmacológico tradicional do LES pelas propriedades anti-inflamatórias¹⁷⁻²⁵. Esta classe de lipídeos está relacionada com a produção de eicosanóides com menor ação inflamatória do que os produzidos pelos ácidos graxos pertencentes à família ômega-6, além da redução dos níveis séricos de citocinas inflamatórias e da ativação de linfócitos T.

Os ensaios clínicos realizados diferem muito quanto à dose utilizada, variando entre 1,8 e 18,0 gramas de óleo de peixe, e ao tempo de tratamento, que variou de cinco semanas a 12 meses. Há ainda dúvidas quanto aos efeitos positivos serem devido ao consumo de EPA, DHA ou à combinação de ambos. Além disso, a maioria dos estudos apresenta número reduzido de participantes, o que limita as conclusões.

Deste modo, são ainda necessários mais estudos, com maior número de participantes, de modo a avaliar o real efeito desses ácidos graxos em pacientes LES, a dose eficaz e o tempo de tratamento.

3.1.10 Referências

1. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet* 1999; 354:447-55.
2. Wang C, Harris WS, Chung M, Lichtenstein AH, Balk EM, Kupelnick B, Jordan HS, Lau J. N-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:5-17.
3. Kromhout D, Giltay EJ, Geleijnse JM. N-3 fatty acids and cardiovascular events after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2010; 363:2015-26.
4. Lorente-Cebrián S, Costa AG, Navas-Carretero S, Zabala M, Martínez JA, Moreno-Aliaga MJ. Role of omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases: a review of the evidence. *J Physiol Biochem* 2013; 69:633-51.
5. Calviello G, Su HM, Weylandt KH, Fasano E, Serini S, Cittadini A. Experimental evidence of ω -3 polyunsaturated fatty acid modulation of inflammatory cytokines and bioactive lipid mediators: their potential role in inflammatory, neurodegenerative, and neoplastic diseases. *Biomed Res Int* 2013; 2013:743171.
6. Ferrucci L, Cherubini A, Bandinelli S, Bartali B, Corsi A, Lauretani F, Martin A, Andres-Lacueva C, Senin U, Guralnik JM. Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers. *JCEM* 2006; 91:439-446.
7. Schwab JM, Serhan CN. Lipoxins and new lipid mediators in the resolution of inflammation. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 6:414-20.
8. Thies F, Miles EA, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Hurst TL, Newsholme EA, Calder PC. Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in health adults. *Lipids* 2001; 36:1183-93.
9. Trebble T, Arden NK, Stroud MA, Wootton SA, Burdge GC, Miles EA, Ballinger AB, Thompson RL, Calder PC. Inhibition of tumour necrosis factor- α and interleukin-6 production by mononuclear cells following dietary fish-oil supplementation in healthy men and response to antioxidant co-supplementation. *Brit J Nutr* 2003; 90:405-12.

10. Wallace FA, Miles EA, Calder PC. Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects. *Brit J Nutr* 2003; 89:679-89.
11. Serhan CN, Hong S, Gronert K, Colgan SP, Devchand PR, Mirick G, Moussignac RL. Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammatory signals. *J Exp Med* 2002; 196:1025-37.
12. Hong S, Gronert K, Devchand P, Moussignac RL, Serhan CN. Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine brain, human blood and glial cells: autocoids in anti-inflammation. *J Biol Chem* 2003; 278:14677-87.
13. Calder, PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients* 2010; 2:355-74.
14. Lau CS, Morley KD, Belch JJ. Effects of fish oil supplementation on non-steroidal anti-inflammatory drug requirement in patients with mild rheumatoid arthritis - a double-blind placebo controlled study. *Br J Rheumatol* 1993; 32:982-9.
15. Berbert AA, Kondo CR, Almendra CL, Matsuo T, Dichi I. Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition* 2005; 21:131-36.
16. Lee YH, Bae SC, Song GG. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and the treatment of rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Arch Med Res* 2012; 43:356-62.
17. Clark WF, Parbtani A, Huff MW, Reid B, Holub BJ, Falardeau P. Omega-3 fatty acid dietary supplementation in systemic lupus erythematosus. *Kidney Int* 1989, 36:653-60.
18. Westberg G, Tarkowski A. Effect of MaxEPA in patients with SLE. A double-blind, crossover study. *Scand J Rheumatol* 1990; 19:137-43.
19. Clark WF, Parbtani A, Naylor CD, Levinton CM, Muirhead N, Spanner E, Huff MW, Philbrick DJ, Holub BJ. Fish oil in lupus nephritis: clinical findings and methodological implications. *Kidney Int* 1993; 44:75-86.
20. Duffy EM, Meenagh GK, McMillan SA, Strain JJ, Hannigan BM, Bell AL. The clinical effect of dietary supplementation with omega-3 fish oils and copper in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2004; 31:1551-56.
21. Nakamura N, Kumasaka R, Osawa H, Yamabe H, Shirato K, Fujita T, Murakami R, Shimada M, Nakamura M, Okumura K, Hamazaki K, Hamazaki T. Effects of eicosapentaenoic acids on oxidative stress and plasma fatty acid composition in patients with lupus nephritis. *In vivo* 2005; 19:879-82.

22. Wright SA, O'Prey FM, McHenry MT, Leahey WJ, Devine AB, Duffy EM, Johnston DG, Finch MB, Bell AL, McVeigh GE. A randomised interventional trial of w-3 polyunsaturated acids on endothelial function and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 841-48.
23. Aghdassi E, L. Ma DW, Morrison S, Hillyer LM, Clarke S, Gladman DD, Urowitz MB, Fortin PR. Alterations in circulating fatty acid composition in patients with systemic lupus erythematosus: a pilot study. *JPEN* 2011; 35:198-208.
24. Elkan AC, Anania C, Gustafsson T, Jogestrand T, Hafström I, Frostegard J. Diet and fatty acid pattern among patients with SLE: associations with disease activity, blood lipids and atherosclerosis. *Lupus* 2012; 21:1405-11.
25. Bello KJ, Fang H, Fazeli P, Bolad W, Corretti M, Magder LS, Petri M. Omega-3 in SLE: a double-blind, placebo-controlled randomized clinical trial of endothelial dysfunction and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 2013; 33:2789-96.
26. Vasudevan A, Ginzler E. Clinical features of systemic lupus erythematosus. In: Hochberg M, Silman A, Smolen J, Weinblatt M, Weisman M. *Rheumatology*. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2011.
27. Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, St Clair EW, Gilkeson GS. Risk factors for development of systemic lupus erythematosus: allergies, infections, and family history. *J Clin Epidemiol* 2002; 55:982-89.
28. Yu SL, Kuan WP, Wong CK, Li EK, Tam LS. Immunopathological roles of cytokines, chemokines, signaling molecules, and pattern-recognition receptors in systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol* 2012;2012: 715190.
29. Heinlen LD, McClain MT, Merrill J, Akbarali YW, Edgerton CC, Harley JB and J. JA. Clinical criteria for systemic lupus erythematosus precede diagnosis, and associated autoantibodies are present before clinical symptoms. *Arthritis Rheum* 2007; 56:2344-51.
30. Jacob N, Stohl W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res* 2011; 13:228.
31. Ohl K, Tenbrock K. Inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:432595.
32. Su DL, Lu ZM, Shen MN, Li X, Sun LY. Roles of pro and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of SLE. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:34714.
33. Bhangle S, Kolasinski SL. Fish oil in rheumatic diseases. *Rheum Dis Clin N Am* 2011; 37:77-84.
34. Kronmann N, Green A. Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland: incidence of some chronic diseases 1950-1974. *Acta Med Scand* 1980; 208:401-6.

35. Tilley SL, Coffman TM, Koller BH. Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *J Clin Invest* 2001; 108:15-23.
36. Bistrian BR. Clinical aspects of essential fatty acid metabolism: Jonathan Rhoads lecture. *JPEN* 2003; 27:168-75.
37. Leonard AE, Pereira SL, Sprecher H, Huang HS. Elongation of long-chain fatty acids. *Prog Lipid Res* 2004; 43:36-54.
38. Samuelsson B. Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science* 1983; 220:568-75.
39. Salmon JA, Higgs GA. Prostaglandins and leukotrienes as inflammatory mediators. *Br Med Bull* 1987; 43:285-96.
40. Miles EA, Calder PC. Influence of marine n-3 polyunsaturated fatty acids on immune function and systematic review of their effects on clinical outcomes in rheumatoid arthritis. *Br J Nutr* 2012; 107:S171-84.
41. Caughey GE, Pouliot M, Cleland LG, James MJ. Regulation of tumor necrosis factor- α and IL-1 β synthesis by thromboxane A₂ in nonadherent human monocytes. *J Immunol* 1997; 158:351-58.
42. Hugues DA, Pinder AC. n-3 polyunsaturated fatty acids inhibit the antigen-presenting function of human monocytes. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:357S-360S.
43. De Caterina R, Cybulsky MI, Clinton SK, Gimbrone MA, Libby P. The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:1829-36.
44. Khalfoun B, Thibault F, Watier H, Bardos P, Lebranchu Y. Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6. *Adv Exp Biol Med* 1997; 400: 589-97.
45. Zhao Y, Joshi-Barve S, Barve S, Chen LH, Barve S, Chen LH. Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF- α expression by preventing NF- κ B activation. *J Am Coll Nutr* 2004; 23:71-8.
46. Meydani SN, Endres S, Woods MM, Goldin BR, Soo C, Morrill-Labrode A, Dinarello CA, Gorbach SL. Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *J Nutr* 1991; 121:547-55.

47. Kew S, Banerjee T, Minihane AM, Finnegan YE, Muggli R, Albers R, Williams CM, Calder PC. Lack of effect of foods enriched with plan- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:1287-95.
48. Miles EA, Banerjee T, Dooper MM, M'Rabet L, Graus YM, Calder PC. The influence of different combinations of gamma-linolenic acid, stearidonic acid and EPA on immune function in healthy young male subjects. *Brit J Nutr* 2004; 91:893-903.
49. Calder PC, Newsholme EA. Polyunsaturated fatty acids suppress human peripheral blood lymphocyte proliferation and interleukin-2 production. *Clin Sci* 1992; 82:695-700.
50. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Rev Immunol* 2008; 8:349-61.
51. Simopoulos AP. Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Rev Int* 2004; 20:36-54.

3.2 ARTIGO II: Ácidos graxos ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: influência no perfil inflamatório, na atividade da doença e nos exames bioquímicos

Mariane Curado Borges¹, Fabiana de Miranda Moura dos Santos², Rosa Weiss Telles³, Marcus Vinícius Melo de Andrade⁴, Maria Isabel Toulson Davisson Correia⁵, Cristina Costa Duarte Lanna⁶

1. Nutricionista

Doutoranda do Programa de Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto (Faculdade de Medicina da UFMG)

2. Reumatologista do Hospital das Clínicas da UFMG

Doutoranda do Programa de Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto (Faculdade de Medicina da UFMG)

3. Reumatologista, Professora Adjunta, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina da UFMG

4. Clínico geral, Professor Associado, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina da UFMG

5. Professora Titular, Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina da UFMG

6. Reumatologista, Professora Associada, Departamento do Aparelho Locomotor, Faculdade de Medicina da UFMG

Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG/ Departamento do Aparelho Locomotor e Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina da

UFMG – Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da UFMG, áreas de concentração em Ciências Clínicas.

Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFMG/ Departamento do Aparelho Locomotor e Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina da UFMG – Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da UFMG, áreas de concentração em Ciências Clínicas.

Este projeto de pesquisa foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Declaramos a inexistência de conflitos de interesse.

Correspondência

Mariane Curado Borges

Rua Melro quadra 46 lote 15 Parque das Laranjeiras – Goiânia, GO

CEP 74855-590

E-mail: maricurado@gmail.com

Título resumido

Ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico

3.2.1 Resumo

Introdução: O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é doença inflamatória auto-imune, que resulta em aumento dos níveis circulantes de mediadores inflamatórios. Alguns estudos têm demonstrado a habilidade dos ácidos graxos ômega-3 em reduzir as concentrações de proteína C-reativa (PCR), eicosanoides pró-inflamatórios, citocinas, quimiocinas e de outros biomarcadores da inflamação. Por essas propriedades, a suplementação com essa classe de lipídeos pode representar terapia adicional ao tratamento de doenças inflamatórias crônicas sistêmicas, como LES. **Objetivos:** Analisar o efeito da suplementação com esse nutriente na atividade da doença, nos exames laboratoriais e nos níveis plasmáticos de citocinas (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α , leptina e adiponectina). **Métodos:** Foram avaliadas 49 mulheres com LES, sendo 22 do grupo de estudo e 27 do grupo controle. As pacientes do grupo de estudo receberam 2g de ômega-3 por dia (1040mg de EPA + 200mg de DHA) durante 12 semanas. A atividade da doença foi avaliada pelo SLEDAI-2K, as citocinas IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A e TNF- α por citometria de fluxo ultrasensível e, leptina e adiponectina pelo método ELISA de captura. Avaliação nutricional pelo índice de massa corporal e pela bioimpedância, assim como marcadores bioquímicos foram avaliados ao início do estudo (T0) e ao final (T1). **Resultados:** A suplementação do ômega-3 não resultou em alterações da atividade da doença e dos níveis séricos das citocinas. Houve aumento significativo dos níveis séricos de colesterol total (T0=180,0 (456,0-193,5) mg/dL e T1=188,0 (162,0-214,5) mg/dL, $p=0,012$), LDL-c (T0=100,0 (88,0-120,5) mg/dL e T1=115,5 (90,0-129,2) mg/dL, $p=0,003$) e da glicemia (T0=77,5 (75,0-84,5)

mg/dL e T1=83,0 (75,0-87,0) mg/dL, $p=0,043$) no grupo que recebeu suplementação. Os níveis de PCR aumentaram significativamente no grupo controle (T0=5,0 (4,9-9,6) mg/dL e T1=5,0 (4,9-11,6) mg/dL, $p=0,009$) enquanto não se modificaram no grupo de estudo. Nessa amostra, 69,4% (34) das pacientes apresentavam excesso de peso ($IMC \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$) e em 73,5% (36) o percentual de gordura corporal estava acima do recomendado. **Conclusões:** Estudos longitudinais placebo controlados são necessários de modo a avaliar a relação entre a suplementação com ômega-3, os níveis de colesterol e o processo inflamatório no LES, além da avaliação da dose eficaz e do tempo de tratamento.

Palavras-chave: lúpus eritematoso sistêmico, ácidos graxos ômega-3, inflamação, citocinas, adipocinas.

3.2.2 Abstract

Introduction: Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease, which results in systemic inflammation and tissue damage. A few studies have demonstrated that omega-3 fatty acids reduces the concentrations of eicosanoids, cytokines, chemokines, C-reactive protein (CRP) and other biomarkers of inflammation. Supplementation with this class of lipids may bring benefits to treatment of inflammatory diseases such as SLE. **Objectives:** Analyze the effect of omega-3 fatty acids supplementation on disease activity, biochemistry tests and plasma levels of cytokines (IL- 4, IL -6, IL-10, IL-17A , TNF- α , leptin and adiponectin). **Methods:** This clinical trial encompassed 49 women with SLE, 22 in the study group and 27 in the control group. The study group patients received 2g of omega-3 daily (1040mg EPA + 200mg DHA) for 12 weeks. Disease activity was assessed by SLEDAI-2K, cytokines (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A and TNF- α) by ultrasensitive flow cytometry and leptin and adiponectin by ELISA, at the beginning of the study (T0) and at the end (T1). Nutritional status was assessment by body mass index and bioimpedance. **Results:** Omega-3 did not impact on disease activity and serum levels of cytokines. A significant increase in serum total cholesterol (T0=180.0 (456.0-193.5) mg/dL and T1=188.0 (162.0-214.5) mg/dL, p=0.012), LDL-c (T0=100.0 (88.0-120.5) mg/dL and T1=115.5 (90.0-129.2) mg/dL, p=0.003) and glucose (T0=77.5 (75.0-84.5) mg/dL and T1=83.0 (75.0-87.0) mg/dL, p=0.043) in the group that received supplementation was seen. CRP levels increased significantly in the control group (T0=5.0 (4.9-9.6) mg/dL and T1=5.0 (4.9-11.6) mg/dL, p=0.009) while they remained unchanged in the study group. In this sample, 69.4% (34) of the

patients were overweight ($\text{BMI} \geq 25.0 \text{ kg/m}^2$) and in 73.5% (36) the percentage of body fat was higher than recommended. **Conclusions:** Future trials are required to better assess the relationship between omega-3 supplementation, levels of cholesterol and inflammation in SLE. Furthermore, these trials should also assess what the effective dosage and duration of treatment.

Keywords: systemic lupus erythematosus, omega-3 fatty acids, inflammation, cytokines, adipokines.

3.2.3 Introdução

Os primeiros dados que sugerem o possível efeito anti-inflamatório dos ácidos graxos ômega-3 derivam de estudo epidemiológico com esquimós da Groenlândia, realizado por Kronmann and Green em 1980. Os esquimós consomem dieta rica em frutos do mar, fontes de ácidos graxos poli-insaturados. Os autores verificaram que a prevalência de doenças com componente inflamatório como infarto agudo do miocárdio, diabetes mellitus, esclerose múltipla, asma brônquica e tireotoxicose foi menor na população do estudo que nas populações dos países ocidentais¹.

Os ácidos graxos podem ser classificados como saturados e insaturados. Desses últimos fazem parte os ácidos graxos da família ômega-3 [representada principalmente pelo ácido α -linolênico, eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA)], e aqueles da família ômega-6 [representada principalmente pelo ácido linoleico e ácido araquidônico (AA)]².

As famílias ômega-3 e ômega-6, por meio dos seus membros EPA, DHA e AA, são as duas classes de lipídeos essenciais para a síntese de eicosanoides, que estão entre os principais mediadores e reguladores da inflamação. Incluem prostaglandinas (PG), leucotrienos (LT), tromboxanos e outros derivados oxidados³.

O lúpus eritematoso sistêmico (LES), doença inflamatória auto-imune, caracteriza-se pela perda do equilíbrio da imunorregulação celular e aumento dos níveis circulantes de mediadores inflamatórios^{4,5}. Alguns estudos têm demonstrado o papel dos ácidos graxos ômega-3 no controle da inflamação pela redução das concentrações de proteína C-reativa (PCR), eicosanoides pró-

inflamatórios, citocinas, quimiocinas e outros biomarcadores inflamatórios⁶⁻⁹. Por essas propriedades, a suplementação com essa classe de lipídeos poderia representar terapia adicional para os indivíduos com doenças inflamatórias crônicas sistêmicas. Contudo, até o momento, pouco se sabe sobre o papel desses ácidos graxos no LES, os efeitos na atividade da doença e nas concentrações das citocinas inflamatórias. Estudos sugerem que poderiam estar associados à diminuição da atividade da doença¹⁰⁻¹². Além disso, demonstraram efeitos benéficos na prevenção ou controle de comorbidades associadas ao LES, como doenças cardiovasculares¹³, dislipidemia^{14,15} e diabetes mellitus¹⁵.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo piloto foi analisar a influência da suplementação com ácidos graxos ômega-3 nos níveis circulantes de citocinas pró e anti-inflamatórias em mulheres com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

3.2.4 Pacientes e Métodos

Participantes do estudo

Trata-se de ensaio clínico, piloto, realizado no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas, UFMG. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais e pela Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas/UFMG (Parecer n°. ETIC0235.0.203.000-11) (ANEXO E). O estudo teve como base amostra de conveniência, em que as pacientes foram informadas da realização da pesquisa no momento da consulta e convidadas a participar. As que assim concordaram, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE A).

Os seguintes critérios de inclusão foram adotados: sexo feminino, idade igual ou superior a 18 anos e inferior a 60 anos, diagnóstico de LES segundo os critérios de classificação de 1972 (revisados em 1982 e 1997) do Colégio Americano de Reumatologia (CAR)⁵ (ANEXO F), apresentar índice de atividade da doença leve ou moderado segundo o Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index – SLEDAI-2K (≤ 6), e doses estáveis de medicações para tratamento do LES nos últimos três meses e estar em tratamento no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG.

Foram excluídas as gestantes, as pacientes que apresentavam tempo de duração da doença menor que um ano, diagnóstico de diabetes mellitus, hepatopatia, algum tipo de infecção no momento da inclusão e/ou ao longo do estudo, doença renal em atividade e/ou necessidade de hemodiálise.

Entre fevereiro de 2011 e dezembro de 2012 foram avaliadas 66 mulheres com diagnóstico de LES, atendidas no Serviço de Reumatologia da UFMG.

Deste total, nove foram excluídas ao longo do estudo (uma por falta de adesão ao método, quatro por complicações de ativação da doença, duas por mudanças na dosagem dos medicamentos para controle do LES e duas por apresentarem efeitos colaterais ao suplemento). Além disso, no momento das dosagens das citocinas e adipocinas, foram excluídas outras oito pacientes por intercorrências no processamento das amostras de soro para as análises (Figura 1).

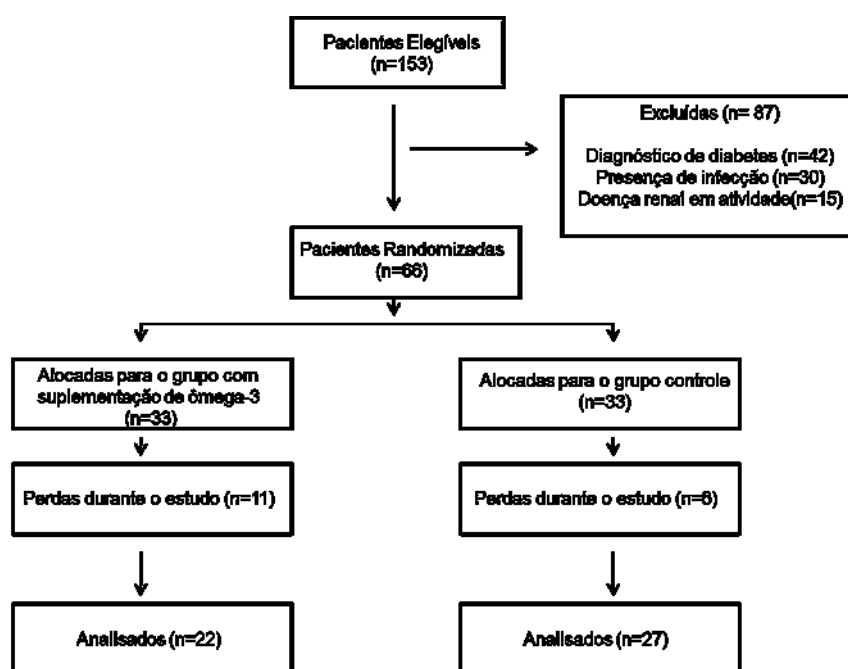


Figura 1: Organograma do desenho do estudo, Belo Horizonte, MG, 2014.

Desenho do estudo

As pacientes incluídas no estudo foram divididas em dois grupos: grupo de estudo, que recebeu o suplemento Hiomega-3 da empresa Naturalis® (registro no Ministério da Saúde número 4.1480.0006.001-4) (n=22), e grupo controle, que não recebeu a suplementação (n=27). A definição do grupo de cada uma foi feita por sorteio. A suplementação com ácidos graxos ômega-3 foi realizada durante 12 semanas e as pacientes foram avaliadas na primeira, sexta e décima segunda semanas de tratamento. As pacientes do grupo de estudo

receberam cápsulas de ômega-3 contendo 1g de óleo de peixe (540mg de EPA e 100mg de DHA) e foram orientadas a ingerir duas cápsulas por dia (2g de óleo de peixe: 1080mg de EPA e 200mg de DHA). Todas as pacientes foram orientadas pela pesquisadora, por escrito, a não consumir alimentos fonte de ômega-3 durante o período do estudo, a saber: salmão, sardinha, atum, arenque, cavala, óleo de peixe, semente de linhaça, óleo de linhaça, castanhas e nozes (APÊNDICE B).

Na primeira semana foi realizada avaliação clínica por reumatologista do serviço (FMMS) e nutricional pela pesquisadora (MCB). Foi também coletado sangue para a dosagem das citocinas e da incorporação de ômega-3 na membrana de eritrócitos. Na sexta semana foi realizada nova consulta para coleta de amostra de sangue para dosagem de ômega-3 na membrana de eritrócitos e verificação da adesão aos critérios de inclusão do protocolo: manutenção das doses dos medicamentos para o tratamento do LES, a exclusão de alimentos fonte de ômega-3 da dieta e a adesão ao uso do nutriente pela contagem das cápsulas trazidas de volta. Na décima segunda semana as pacientes foram reavaliadas segundo o protocolo da primeira semana.

Avaliação clínica

Na anamnese foram coletados dados sócio-demográficos, tempo de duração da doença e de acompanhamento no Serviço de Reumatologia/HC/UFGM. Foram também coletados dados sobre as manifestações clínicas do LES atuais e acumuladas, presença de comorbidades, medicamentos em uso e doses dos mesmos, exames laboratoriais, índice de atividade da doença e índice de dano (APÊNDICE B). A atividade da doença foi

avaliada pelo Systemic Lupus Erythematosus Activity Index – SLEDAI-2K¹⁶ (APÊNDICE B) e o dano permanente pelo *Systemic Lupus International Collaboration Clinics/ American College of Rheumatology Damage Index* - SLICC/ACR¹⁷ (APÊNDICE B).

As manifestações clínicas e sorológicas do LES foram apresentadas segundo critérios do Colégio Americano de Reumatologia (1997)⁵, sendo que lúpus cutâneo subagudo foi agrupado às manifestações mucocutâneas e acrescentou-se os dados de vasculite cutânea.

Os seguintes exames bioquímicos foram solicitados na consulta de inclusão no estudo: hemograma completo, ureia, creatinina, glicemia de jejum, transaminases (TGO, TGP), colesterol total e frações, triglicerídeos, 25-hidroxivitamina D, cálcio total, cálcio iônico, velocidade de hemossedimentação (VHS), proteína C-reativa (PCR), dosagem das frações do complemento C3, C4 e anti DNA nativo (APÊNDICE B). Estes exames foram realizados no Laboratório Central do Hospital das Clínicas, UFMG. Visto que a maioria destes exames faz parte da avaliação laboratorial rotineira do ambulatório, os resultados foram anotados no momento da consulta quando a paciente já os tinha, desde que realizados no período máximo de 30 dias antes da consulta de inclusão no estudo. Os exames faltantes no momento da primeira consulta foram solicitados e a paciente orientada a realizar a coleta de sangue no prazo máximo de uma semana. Para o retorno da décima segunda semana todos os exames foram novamente solicitados.

Foram consideradas hipertensas aquelas pacientes com pressão arterial sistólica maior ou igual a 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica maior ou igual a 90 mmHg em pelo menos duas ocasiões ou em uso de anti-hipertensivo¹⁸.

A dislipidemia foi determinada segundo os critérios da V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose¹⁹, a saber: colesterol total maior ou igual a 200mg/dL ou HDL-colesterol menor que 40mg/dL ou LDL-colesterol maior ou igual a 140mg/dL ou triglicerídeos maior ou igual a 150mg/dL ou uso de estatina²⁴. Considerando-se as recomendações atuais para controle da dislipidemia em pacientes de alto risco para eventos cardiovasculares, inclusive em pacientes com LES^{20,21}, foi também verificada a frequência de pacientes com valores de c-LDL ≥ 100 mg/dl.

A avaliação do estado hormonal das doentes contemplou como na menopausa, aquela cuja última menstruação espontânea tivesse ocorrido há mais de um ano; ou em uso de terapia de reposição hormonal (TRH); ou com irregularidade menstrual ou com amenorreia há menos de um ano e com dosagem de hormônio folículo estimulante (FSH) maior que 20 mUI/mL²².

Avaliação nutricional

O estado nutricional foi avaliado pela pesquisadora MCB pelo Índice de Massa Corporal (IMC) e os resultados comparados com os valores propostos pela *World Health Organization*²³ (ANEXO G). A avaliação da composição corporal foi realizada por meio de bioimpedância com o aparelho RJL Quantum X® (ANEXO H). As pacientes foram então classificadas de acordo com o percentual de gordura corporal segundo os valores de referência de GALLAGHER (2000)²⁴, sendo que as pacientes com 18 e 19 anos foram colocadas no grupo de 20 a 39 anos (ANEXO I).

Dosagem das citocinas e adipocinas

A dosagem das citocinas foi feita a partir de sangue coletado no tubo BD Vacutainer® SST II Advance, centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente e, o soro aliquotado armazenado a -80 °C, no laboratório Lineu Freire-Maia, localizado no 2° andar da Faculdade de Medicina da UFMG.

As amostras de soro foram então descongeladas à temperatura ambiente e analisadas quanto à presença das citocinas IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A e TNF- α , por citometria de fluxo (*Cytometric Bead Array*) ultra sensível. Para tal, foram utilizados os kits CBA Enhanced Sensitivity Flex Sets (BD®).

As adipocinas - leptina e adiponectina - foram dosadas pelo método ELISA de captura utilizando-se os kits Human Leptin Quantikine ELISA e Human Total Adiponectin/Acrp30 Quantikine ELISA Kit (R&D Systems®, Mineapolis), respectivamente.

Dosagem da incorporação de ômega-3 na membrana celular de eritrócitos

Para verificação da incorporação do ômega-3 na membrana celular de eritrócitos foi coletado sangue em tubo contendo EDTA, centrifugado a 2280rpm por 30 minutos, descartado o plasma e o *buffy coat*. A papa de hemácias foi armazenada a -80 °C, no laboratório Lineu Freire-Maia, localizado no 2° andar da Faculdade de Medicina da UFMG.

As análises da incorporação dos ácidos graxos seriam feitas em parceria com o Laboratório de Bioquímica Nutricional da Universidade Federal de Viçosa. No entanto, apesar de todo o protocolo para coleta das amostras ter sido rigorosamente seguido e as amostras enviadas ao laboratório, problemas técnicos impediram a finalização dessas análises.

Análises estatísticas

O banco de dados foi criado no programa EpiData® versão 3.1 (*EpiData Association, Odense, Denmark*). O software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS®) versão 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL USA.) foi utilizado para as análises estatísticas.

As variáveis contínuas, previamente avaliadas quanto à normalidade pelo teste de *Shapiro-Wilk*, foram apresentadas por mediana e intervalo interquartil (Iq), por apresentarem distribuição não normal. A comparação dos grupos de pacientes (com e sem ômega-3; com e sem excesso de peso; com percentual de gordura normal ou acima do recomendado) foi realizada pelo teste não paramétrico de *U-Mann-Whitney* para variáveis contínuas. As variáveis categóricas foram descritas como proporção e, o teste do qui-quadrado de *Pearson* ou o teste exato de *Fisher* foram usados, quando apropriados, para testá-las.

Em cada grupo, as diferenças entre as medianas das concentrações séricas das citocinas e dos testes bioquímicos entre a primeira (T0) e a décima segunda semana (T1) ($\Delta V = VT1 - VT0$), foram analisadas pelo teste não paramétrico pareado de *Wilcoxon*. Em seguida, com o objetivo de avaliar se as modificações encontradas foram devido ao uso do ômega-3, as medianas das variações entre os dois grupos (com e sem ômega-3) foram analisadas utilizando o teste *U-Mann-Whitney*.

Todas as análises foram consideradas significativas ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3.2.5 Resultados

A amostra final deste estudo piloto constituiu-se de 49 pacientes, sendo 22 no grupo que recebeu suplementação com ômega-3 e 27 no grupo que não recebeu ômega-3 (controle).

Caracterização da amostra antes da suplementação com ômega-3

A mediana (Iq) de idade das pacientes foi de 37,0 (29,0-48,0) anos, com medianas (Iq) de tempo de doença de 7,0 (4,0-13,0) anos e de tempo de acompanhamento no serviço de 5,0 (3,0-11,0) anos.

As frequências cumulativas das manifestações clínicas e sorológicas das pacientes foram: mucocutâneas 86,3%, hematológicas 80,0%, imunológicas 77,6%, artrite 66,7%, nefrite 56,9%, vasculite cutânea 25,5%, serosite 16,0% e neuropsiquiátricas 11,8%. As descrições dessas características no momento de inclusão no estudo estão apresentadas na Tabela 1. A mediana (Iq) da atividade da doença (SLEDAI-2K) foi de 1 (0-2) e do índice de dano (SLICC) de 0 (0-1).

A avaliação do estado nutricional, segundo o IMC, identificou 15 (30,6%) eutróficas, 18 (36,7%) com sobrepeso e 16 (32,7%) obesas, totalizando 34 (69,4%) pacientes com excesso de peso ($IMC \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$) (Figura 2). De acordo com a bioimpedância elétrica, 36 (73,5%) apresentaram percentual de gordura corporal acima do recomendado (Figura 2).

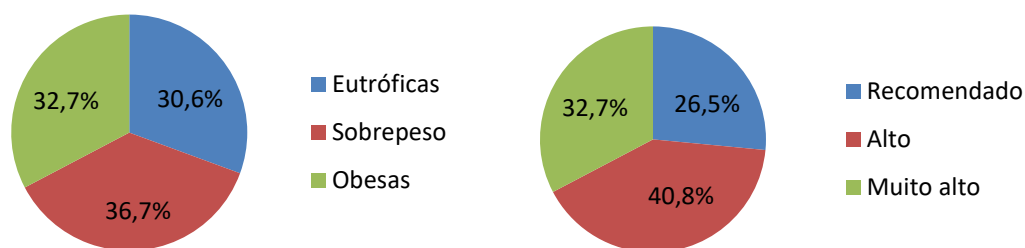


Figura 2. Classificação do percentual de gordura corporal segundo: (a) índice de massa corporal, (b) bioimpedância elétrica, Belo Horizonte, MG, 2014.

As pacientes do grupo de estudo e controle foram semelhantes entre si quanto às características clínicas e laboratoriais, ao uso de medicamentos, à presença de comorbidades e ao estado nutricional (Tabelas 1 e 2). Apesar da mediana da idade das pacientes avaliadas ter sido 37,0 anos, quatorze (28,6%) já se encontravam na menopausa (Tabela 2).

A mediana (Iq) da atividade da doença (SLEDAI-2K), no momento do início do estudo, foi 0 (0-2) no grupo que recebeu suplementação de ômega-3 e 2 (0-4) no grupo sem suplementação ($p=0,072$).

A análise do perfil lipídico demonstrou: seis (12,2%) pacientes apresentaram colesterol total $\geq 200\text{mg/dL}$, nove (18,4%) HDL-c $< 40\text{mg/dL}$, cinco (10,2%) LDL-c $\geq 130\text{mg/dL}$, 16 (32,7%) LDL-c $\geq 100\text{mg/dL}$ e oito (16,3%) triglicerídeos $\geq 150\text{mg/dL}$. Nove pacientes (18,4%) usavam estatina, sendo que dessas, três (33,33%) apresentavam valores séricos de LDL-c e HDL-c normais, duas (22,2%) HDL-c $< 40\text{mg/dL}$ e quatro (44,4%) LDL-c $\geq 100\text{mg/dL}$. Dessas nove (18,4%) pacientes, cinco pertenciam ao grupo que recebeu suplementação com ômega-3 e quatro ao grupo controle ($p=0,713$).

Tabela 1: Características clínicas e do uso de medicamentos no início do estudo (T0), do total, e dos grupos com e sem suplementação de ômega-3 de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFGM, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	Total n=49 n (%)	Grupo com ômega-3 n=22 n (%)	Grupo sem ômega-3 n=27 n (%)	p
Manifestações mucocutâneas ^a	20 (40,8)	9 (40,9)	11 (40,7)	0,829
Artrite ^a	3 (6,1)	1 (4,5)	2 (7,4)	0,724
Manifestações hematológicas ^a	27 (55,1)	13 (59,1)	14 (51,9)	0,340
Linfopenia ^a	26 (53,1)	13 (59,1)	13 (48,1)	0,233
Leucopenia ^a	10 (20,4)	3 (13,6)	7 (25,9)	0,390
Plaquetopenia ^a	1 (2,0)	0	1 (3,7)	0,390
Nefrite ^a	11 (22,4)	5 (22,7)	6 (22,2)	0,861
AntiDNA positivo ^a	6 (12,2)	3 (13,6)	3 (11,1)	0,741
Proteína C reativa (mg/dL) ^{*,b}	5,0 (4,9-10,1)	5,0 (4,9-8,8)	6,4 (4,9-11,6)	0,370
Complemento C3 diminuído ^a	9 (18,4)	2 (9,0)	7 (25,9)	0,146
Complemento C4 diminuído ^a	10 (20,4)	3 (13,6)	3 (11,1)	0,102
Uso de imunossupressor ^a	33 (67,3)	13 (59,1)	20 (74,1)	0,465
Azatioprina ^a	18 (36,7)	6 (27,3)	12 (44,4)	0,296
Ciclofosfamida EV ^a	6 (12,2)	3 (13,6)	3 (11,1)	0,718
Ciclosporina ^a	2 (4,0)	1 (4,5)	1 (3,7)	0,842
Metotrexato ^a	5 (10,2)	1 (4,5)	4 (14,8)	0,271
Micofenolato mofetil ^a	2 (4,1)	2 (9,1)	0 (0,0)	0,098
Uso de corticoide ^a	36 (73,5)	15 (68,2)	21 (77,8)	0,743
Dose atual de corticoide (mg) ^{*,b}	5,0 (2,5-10,0)	5,0 (0,6-10,0)	5,0 (3,5-8,1)	0,745
Dose acumulada de corticoide(g) ^{*,b}	20,0 (12,2-37,8)	22,40 (12,7-56,7)	19,10 (12,1-30,5)	0,178

*Mediana (intervalo interquartil); ^ateste do qui-quadrado de *Pearson* ou teste exato de *Fisher*; ^bteste *U-Mann-Whitney*; EV=endovenosa; mg=miligramas; g=gramas; dL=decilitro.

Tabela 2: Características laboratoriais, do estado nutricional e comorbidades no início do estudo (T0), do total, e dos grupos com e sem suplementação de ômega-3 de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFGM, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	Total n=49 Mediana (Ilq)	Grupo com ômega-3 n=22 Mediana (Ilq)	Grupo sem ômega-3 n=27 Mediana (Ilq)	p
Glicemia (mg/dL) ^a	78,0- (75,0-76,0)	77,5 (75,2-82,8)	78,0 (71,0-86,0)	0,958
Colesterol total (mg/dL) ^a	173,0 (151,0-193,0)	168,0 (151,0-194,0)	182,0 (155,5-192,2)	0,899
LDL-c (mg/dL) ^a	97,0 (79,5-115,0)	95,0 (80,0-116,0)	100,0 (84,5-111,8)	0,926
HDL-c (mg/dL) ^a	53,0 (45,0-62,5)	52,0 (38,0-57,0)	53,0 (37,8-63,2)	0,498
Triglicerídeos (mg/dL) ^a	89,0 (67,5-125,5)	112,0 (74,0-133,0)	79,5 (59,5-114,0)	0,311
Vitamina D (mg/dL) ^a	28,9 (24,2-41,5)	28,0 (22,0-42,0)	31,2 (25,5-42,6)	0,235
IMC (kg/m ²) ^a	28,4 (25,7-30,9)	29,0 (25,7-30,7)	28,1 (25,2-31,4)	0,805
Gordura corporal (%) ^a	36,9 (33,7-41,1)	37,7 (33,2-41,9)	36,0 (33,1-38,8)	0,512
Massa magra (%) ^a	63,1 (58,9-66,3)	62,2 (58,1-66,8)	63,7 (61,2-66,9)	0,483
HAS ^{*,b}	19 (38,7)	6 (27,3)	13 (48,1)	0,199
Obesidade ^{*,b}	17 (34,7)	8 (36,4)	9 (33,3)	0,689
Dislipidemia ^{*,b}	23 (46,9)	11 (50,0)	12 (44,4)	0,778
Menopausa ^{*,b}	14 (28,6)	7 (31,8)	7 (25,9)	0,755

*n (%); ^ateste *U-Mann-Whitney*; ^bteste do qui-quadrado de *Pearson* ou teste exato de *Fisher*; LDL-c=lipoproteína de baixa densidade; HDL-c=lipoproteína de alta densidade, IMC=Índice de Massa Corporal; HAS=hipertensão arterial sistêmica; mg=miligramas; dL=decilitro; kg=quilogramas; m=metro; Ilq = intervalo interquartil.

Os níveis séricos das citocinas IL-4, IL-17A e TNF- α estavam abaixo do limite de detecção do teste utilizado para suas dosagens, o que impossibilitou suas análises. Após a dosagem, para análise da IL-6 o número de participantes foi 47 (21 no grupo com ômega-3 e 26 no grupo controle) e da IL-10 foi 35 (14 no grupo com ômega-3 e 21 no grupo controle). As demais participantes foram excluídas por apresentarem níveis séricos dessas citocinas abaixo do limite mínimo de detecção do teste. As concentrações séricas da IL-6, IL-10 e das adipocinas foram semelhantes nos dois grupos (Tabela 3).

Tabela 3: Concentrações séricas de citocinas e adipocinas no início do estudo (T0), no total, e nos grupos com e sem suplementação de ômega-3 de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	Total N=49 Mediana (Ilq)	Grupo com ômega-3 n=22 Mediana (Ilq)	Grupo sem ômega-3 n=27 Mediana (Ilq)	p
IL-6* (fg/mL)	996,4 (421,3-2.026,2) ^a	571,5 (407,2-2.903,8) ^b	1.097,4 (520,0-1.985,5) ^c	0,692
IL-10* (fg/mL)	20.869,0 (9.019,0-47.496,0) ^d	19.050,5 (9.877,8-40.865,2) ^e	21.417,0 (6.717,0-51.640,5) ^f	0,699
Leptina* (ng/mL)	7286,0 (4345,5-11869,0)	8003,5 (6321,5-12940,8)	5812,0 (3665,0-10920,0)	0,067
Adiponectina* (μ g/mL)*	43017,0 (25670,0-59283,0)	42304,5 (24881,8-58007,8)	40079,0 (27696,0-59471,0)	0,817

*teste *U-Mann-Whitney*; ^an=47; ^bn=21; ^cn=26; ^dn=35; ^en=14; ^fn=21; IL=interleucina; Ilq=intervalo interquartil; fg=fenograma; mL=mililitro; ng=nanograma; μ g=micrograma.

As concentrações séricas de citocinas foram similares comparando-se as participantes eutróficas e as com excesso de peso (IL-6: p=0,429; IL-10: p=0,956) (APÊNDICE C). Na análise de acordo com a composição corporal - percentual de gordura corporal adequado versus acima da recomendação – as concentrações de IL-10 foram similares entre os grupos (p=0,192). Já as concentrações séricas de IL-6 foram maiores naquelas pacientes com elevado percentual de gordura corporal (479,5 (189,4-1.036,0) versus 1.223,2 (465,0-2.383,0); p=0,053) (APÊNDICE D).

As concentrações séricas de leptina foram maiores entre as participantes com excesso de peso do que nas eutróficas, e entre aquelas com percentual de gordura corporal acima do recomendado comparado às com percentual normal (Tabela 4). Em contraste, os níveis de adiponectina não variaram entre os grupos (Tabela 5).

Tabela 4: Concentrações séricas das adipocinas no início do estudo (T0), dos grupos com e sem excesso de peso, segundo o IMC, de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	IMC<25,0kg/m ² n=15 Mediana (Ilq)	IMC≥25,0kg/m ² n=34 Mediana (Ilq)	p
Leptina (ng/mL)*	47,6 (33,5-73,5)	84,0 (52,9-123,3)	0,033
Adiponectina (µg/mL)*	45,5 (33,1-59,3)	42,8 (25,1-58,8)	0,571

*teste *U-Mann-Whitney*; IMC=índice de massa corporal; kg=quilograma; m=metro; ng=nanograma; mL=mililitro; µg=micrograma; Ilq=intervalo interquartil.

Tabela 5: Concentrações séricas das adipocinas no início do estudo (T0), dos grupos com percentual de gordura corporal normal e acima do recomendado de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	%GC normal n=13 Mediana (Ilq)	%GC acima da recomendação n=36 Mediana (Ilq)	p
Leptina (ng/mL)*	45,8 (33,5-63,6)	93,8 (56,5-143,6)	0,002
Adiponectina (µg/mL)*	47,3 (31,4-61,0)	42,7 (25,4-56,6)	0,365

*teste *U-Mann-Whitney*; GC=gordura corporal; ng=nanograma; mL=mililitro; µg=micrograma; Ilq=intervalo interquartil.

Análises do grupo de pacientes sem suplementação com ácidos graxos ômega-3 após tempo de intervenção

Os valores de SLEDAI-2K entre o início (T0) e o final do estudo (T1) foram semelhantes entre as pacientes que não receberam suplementação com ômega-3 [T0=2 (0-2) e T1=2 (0-4), p=0,233].

Os níveis de LDL-colesterol e PCR aumentaram de forma significativa entre T0 e T1, mantendo-se dentro da faixa da normalidade [LDL-c: T0=89,0 (77,5-115,0) mg/dL e T1=98,0 (76,0-125,0) mg/dL, $p=0,019$; PCR: T0=5,0 (4,9-9,6) mg/dL e T1=5,0 (4,9-11,6) mg/dL, $p=0,009$]. Observou-se ainda aumento discreto nos níveis séricos de colesterol total, apesar de não significativo [T0=167,0 (145,5-192,0) mg/dL e T1=176,0 (152,0-199,8) mg/dL, $p=0,067$]. Os resultados dos demais exames bioquímicos não sofreram modificações após as 12 semanas de estudo (APÊNDICE E).

As concentrações séricas das citocinas (IL-6 e IL-10) (APÊNDICE F) e das adipocinas (leptina e adiponectina) (APÊNDICE G) também foram semelhantes quando comparados os valores no início e no final do estudo.

Análises do grupo de pacientes após suplementação com ácidos graxos ômega-3

As pacientes que receberam suplementação com ômega-3 apresentaram mediana (Iq) do SLEDAI-2K de 0 (0-2) ($p=0,066$) tanto no início (T0) como no final (T1) do estudo.

Encontrou-se aumento significativo dos valores de glicemia, colesterol total e LDL-colesterol após o uso do nutriente. Contudo, os níveis séricos permaneceram dentro dos limites normais (Tabela 6).

Após as 12 semanas de suplementação com ômega-3, as concentrações séricas das citocinas (IL-6, IL-10) foram similares quando comparados os valores no início (T0) e no final do estudo (T1) (Tabela 7).

Notou-se também aumento nas concentrações séricas de leptina e adiponectina após suplementação do ácido ômega-3, todavia, sem significância

estatística [leptina: T0=80,0 (54,6-146,5) ng/mL e T1=93,2 (54,8-153,4) ng/mL, p=0,506; adiponectina: T0=36,4 (22,2-56,3) µg/mL e T1=44,9 (23,9-57,2) µg/mL, p=0,465] (APÊNDICE H).

Tabela 6: Comparação entre os valores dos exames bioquímicos de pacientes com LES do grupo com suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo, Belo Horizonte, MG, 2014.

Exame Laboratorial	N	T0 Mediana (Iq)	T1 Mediana (Iq)	p
Glicemia (mg/dL)*	22	77,5 (75,0-84,5)	83,0 (75,0-87,0)	0,043
CT (mg/dL)*	22	180,0 (156,0-193,5)	188,0 (162,0-214,5)	0,012
LDL-c (mg/dL)*	22	100,0 (88,0-120,5)	115,5 (90,0-129,2)	0,003
HDL-c (mg/dL)*	22	52,0 (38,5-62,5)	53,0 (47,0-67,0)	0,537
TG (mg/dL)*	22	88,0 (64,0-124,0)	70,0 (57,0-98,5)	0,520
Vitamina D (mg/dL)*	22	34,0 (26,0-44,8)	25,4 (21,1-38,2)	0,266
PCR (mg/dL)*	22	5,0 (4,9-8,1)	4,9 (4,9-7,2)	0,230
C3 (mg/dL)*	22	110,0 (96,8-128,2)	114,5 (90,5-127,8)	0,601
C4 (mg/dL)*	22	23,7 (17,8-28,1)	21,7 (15,0-31,1)	0,420

*teste não paramétrico pareado de *Wilcoxon*; T0 = primeira semana de estudo; T1 = décima segunda semana de estudo; CT = colesterol total; LDL-c = lipoproteína de baixa densidade; HDL-c = lipoproteína de alta densidade; TG = triglicerídeos; PCR = proteína C reativa; C3 e C4 = complemento sérico; mg=miligrama; dL=decilitro; Iq = intervalo interquartil.

Tabela 7: Comparação entre as concentrações séricas das citocinas de pacientes com LES do grupo com suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo, Belo Horizonte, MG, 2014.

Citocina	N	T0 Mediana (Iq)	T1 Mediana (Iq)	p
IL-6 (fg/mL)*	21	571,5 (407,2-2.903,8)	1.117,2 (582,8-2.876,1)	0,821
IL-10 (fg/mL)*	14	19.050,5 (9.877,8-40.865,2)	29.971,5 (9.785,2-56.275,0)	0,363

*teste não paramétrico pareado de *Wilcoxon*; T0 = primeira semana de estudo; T1 = décima segunda semana de estudo; IL = interleucina; f = fenograma; mL = mililitro

Apenas duas (3,9%) pacientes relataram efeitos colaterais relacionados ao uso do nutriente na primeira semana de estudo. Uma relatou diarreia e, após contato telefônico com a pesquisadora, foi instruída a suspender o ômega-3. Outra participante relatou sabor residual de peixe após ingestão das cápsulas e

suspendeu a suplementação por conta própria após duas semanas de uso. Ambas foram excluídas.

Análises das variações entre a primeira e décima segunda semana do estudo ($\Delta V = VT1 - VT0$)

As medianas das variações das citocinas entre o início e o final do estudo foram semelhantes, quando comparadas as pacientes que receberam suplementação com ômega-3 com aquelas do grupo controle (Tabela 8).

Tabela 8: Variações (ΔV) das concentrações séricas de citocinas entre o início (T0) e o final do estudo (T1) dos grupos com e sem suplementação de ômega-3 de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	Grupo com ômega-3	Grupo sem ômega-3	p
$\Delta IL-6$ (fg/mL)*			0,915
Média±DP	120,0±3.860,1 ^a	-137,9±1.600,3 ^b	
Mediana (Ilq)	122,8 (-1.193,0-1.448,7)	-50,7 (-570,8-579,0)	
$\Delta IL-10$ (fg/mL)*			0,920
Média±DP	8.238,9±25.220,5 ^c	4.341,1±15.356,2 ^c	
Mediana (Ilq)	1.323,5 (-8.942,0-18.800,0)	1.041,0 (-7.174,5-12.198,5)	

*teste *U-Mann-Whitney*; ^an=21; ^bn=26; ^cn=14; ^dn=21; IL=interleucina; fg=fenograma; mL=mililitro; DP=desvio padrão; Ilq=intervalo interquartil.

As medianas das variações nos níveis da PCR e das adipocinas - leptina e adiponectina, no T0 e no T1, estão representadas na Tabela 9 e nos gráficos que compõem a Figura 3. Houve variação, com significância estatística entre os grupos, apenas dos níveis da PCR ($p=0,008$).

Nos exames bioquímicos as medianas das variações ocorridas entre T0 e T1 foram semelhantes, tanto nas pacientes que receberam suplementação quanto naquelas do grupo controle (APÊNDICE I).

Tabela 9: Variações das concentrações séricas da proteína C reativa (PCR), leptina e adiponectina entre o início (T0) e o final do estudo (T1) dos grupos com e sem suplementação de ômega-3 de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFGM, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	Grupo com ômega-3 n=22	Grupo sem ômega-3 n=27	p
Δ PCR (mg/dL)*			0,008
Média±DP	-3,1±12,8	2,9±6,1	
Mediana (Ilq)	0,0 (-1,5-0,0)	0,0 (0,0-1,5)	
Δ Leptina (ng/mL)*			0,924
Média±DP	8,0±38,0	6,6±42,9	
Mediana (Ilq)	3,4 (-18,2-22,6)	0,0 (-16,3-28,0)	
Δ Adiponectina (µg/mL)*			0,171
Média±DP	1,9±20,9	-1,2±12,2	
Mediana (Ilq)	0,6 (-3,2-11,8)	-3,4 (-6,6-5,8)	

*teste *U-Mann-Whitney*; PCR=proteína C reativa; mg=miligrama; dL=decilitro; ng=nanograma; mL=mililitro; µg=micrograma; DP=desvio padrão; Ilq=intervalo interquartil.

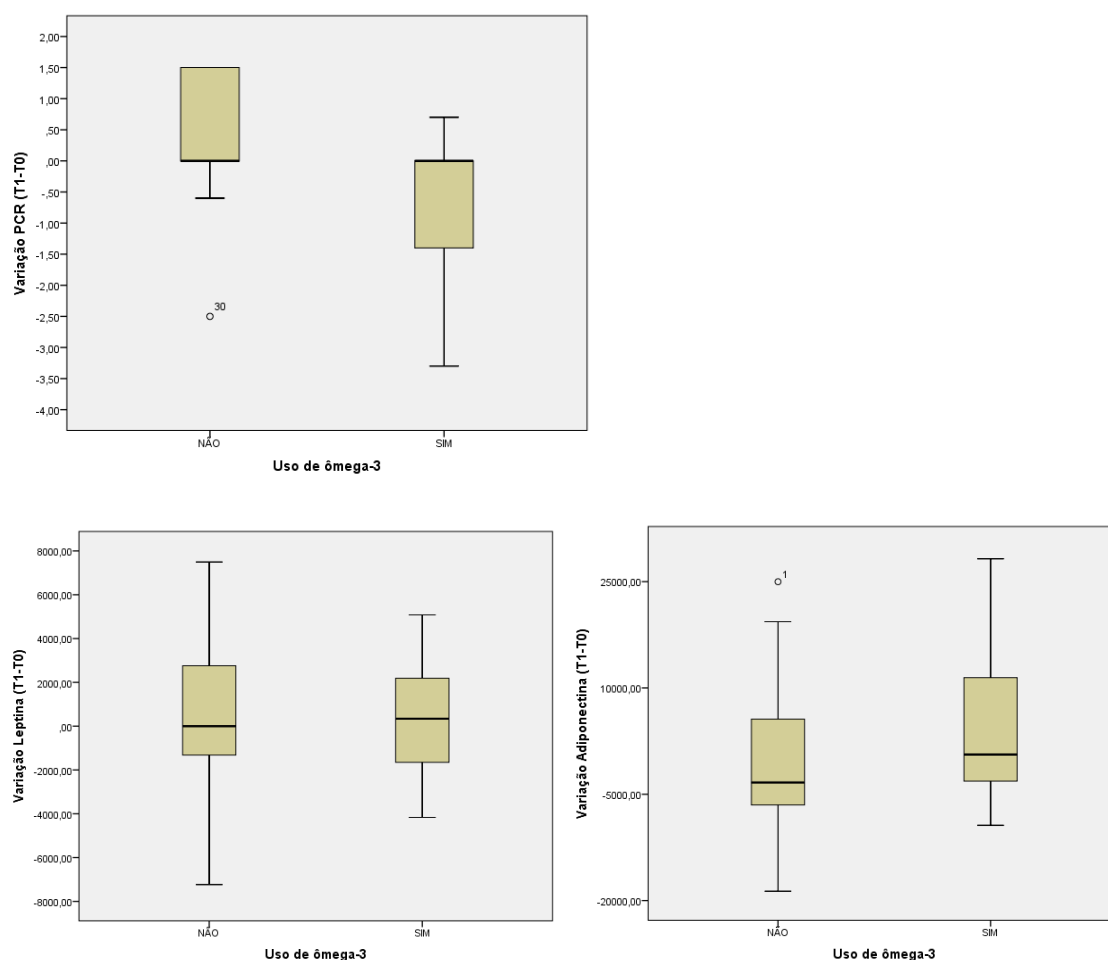


Figura 3: Comparação das variações da PCR, leptina e adiponectina entre o início (T0) e o final (T1) do estudo entre pacientes do grupo com e sem suplementação com ômega-3, Belo Horizonte, MG, 2014.

3.2.6 Discussão

Neste estudo piloto, com 49 mulheres com LES e baixa atividade de doença, não foi encontrada variação nas concentrações séricas das citocinas IL-6, IL-10, leptina e adiponectina após 12 semanas de uso de ômega-3 (2g: 1080mg de EPA e 200mg de DHA). De forma semelhante, Bello *et al*²⁵ (2013) não encontraram redução dos níveis dos marcadores inflamatórios (sICAM-1, sVCAM-1 e IL-6) após uso de doses maiores desse ácido graxo (3g de ômega-3: 1800mg de EPA e 1200mg de DHA), por 12 semanas, em 85 pacientes com LES. O presente estudo analisou um maior número de citocinas quando comparado à pesquisa de Bello *et al* (2013), que avaliou marcadores inflamatórios envolvidos na aterosclerose. Não há outras publicações com análise do efeito desses ácidos graxos no perfil inflamatório de pacientes com LES.

Em indivíduos saudáveis, estudos em culturas de células identificaram que EPA e DHA podem inibir a produção de IL-6, TNF- α , IL-1 e IL-1 β ^{8,9,26-28}. Esses resultados foram confirmados por um grupo de pesquisadores em dois estudos, um com mulheres sedentárias que utilizaram 5g de ômega-3 (1300mg de EPA e 2900mg DHA) por dia por 12 semanas²⁹ e outro com estudantes de medicina que utilizaram 2,5g de ômega-3 (2100mg de EPA e 360mg de DHA) por dia também por 12 semanas³⁰. Entretanto, alguns estudos clínicos em indivíduos saudáveis não confirmaram modificações nos níveis séricos de biomarcadores inflamatórios após a suplementação com ômega-3, o que, segundo os autores, poderia ser justificado pelos baixos níveis de inflamação

presentes nessa população^{7,31-35}. Nesses estudos as doses variaram entre 0,1g a 2,1g de ômega-3 por duas a 12 semanas.

No presente estudo foram incluídas apenas pacientes com baixa atividade da doença (SLEDAI-2K≤6), pois eram necessárias doses estáveis dos medicamentos para o LES durante o período da suplementação, para que não houvessem outras interferências na análise dos reais efeitos do ômega-3. Na revisão de literatura realizada não foram encontrados estudos avaliando a influência desse ácido graxo em indivíduos com doença moderadamente ou muito ativa, inexistindo dados sobre a segurança do uso desse nutriente neste grupo.

Não houve modificação no índice de atividade da doença (SLEDAI-2K) após o uso de ômega-3, resultado similar ao de Bello *et al*²⁵ (2013) que utilizaram o índice SELENA-SLEDAI. Entretanto, Wright *et al*¹¹ (2008) e Duffy *et al*¹⁰ (2004) verificaram redução desse índice após a suplementação com ômega-3. No primeiro estudo 60 indivíduos com LES receberam 3 g diárias do ácido graxo (1800mg de EPA e 1200mg de DHA), por 24 semanas e apresentaram melhora significativa nos valores do SLAM-R (de 9,4±3,0 para 6,3±2,5; p=0,001) e do BILAG (de 13,6±6,0 para 6,7±3,8; p=0,001) após 12 semanas de suplementação. Já no estudo de Duffy *et al*¹⁰, 52 pacientes com LES receberam 3g diários do suplemento (540mg de EPA e 360mg de DHA) por 24 semanas, e houve redução do SLAM-R de 6,12 para 4,69 (p<0,05).

Em nossa amostra, identificou-se aumento dos níveis séricos de colesterol total (p=0,012) e LDL-c (p=0,003) nas pacientes que receberam suplementos de ômega-3 (Tabela 6), o que também foi descrito por Bello *et al*²⁵ (2013). Wright *et al*¹⁰ (2008) verificaram aumento, porém sem significância

estatística, nos níveis de LDL-c no grupo que recebeu ômega-3 em comparação com o grupo placebo. Em indivíduos com hipertrigliceridemia e sem LES, outros autores identificaram aumento dos níveis séricos de LDL-c após suplementação com esse ácido graxo^{36,37}. Este é um dado clinicamente importante, já que pessoas com LES apresentam risco aumentado de doença cardiovascular aterosclerótica, sendo uma das principais causas de mortalidade nestes indivíduos³⁸⁻⁴³.

Apesar de, inicialmente, a suplementação com ômega-3 ter sido relacionada com benefícios clínicos, recentes metanálises não mostraram redução na frequência de eventos cardiovasculares, coronarianos, cerebrovasculares, arritmias ou da mortalidade global com esta suplementação^{44,45}. A metanálise publicada por Jacobson *et al*⁴⁶ (2012) analisou 22 estudos comparando os efeitos do EPA e DHA sobre as lipoproteínas sanguíneas. Observou-se aumento de 2,6% dos níveis de LDL-c com DHA e redução de 0,7% com EPA. Tanto DHA quanto EPA foram associados à redução dos triglicerídeos sanguíneos (22,4% e 15,6%, respectivamente). Além disso, suplementos contendo DHA foram associados a aumento de 7,3% do HDL-c e suplementos contendo EPA a um aumento de 5,9% dessa fração. Esses resultados sugerem que suplementos contendo DHA foram mais associados com aumentos significativos nos níveis de LDL-c e HDL-c que aqueles contendo EPA. De acordo com a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose¹⁹ (2013) altas doses dos ácidos graxos ômega-3 (4 a 10g ao dia) podem reduzir os níveis sanguíneos de triglicerídeos e aumentar discretamente os níveis de HDL-c e LDL-c.

O aumento significativo da glicemia de jejum verificado no presente estudo nas pacientes que fizeram uso de ômega-3 ($p=0,043$) (Tabela 6), ainda que permanecendo dentro dos parâmetros da normalidade, não foi demonstrado por outros autores. Em metanálise publicada em 2009, os estudos analisados não demonstraram modificação dos níveis plasmáticos de glicose ou hemoglobina glicosilada após a suplementação com ômega-3⁴⁷. Da mesma forma, em um ensaio clínico duplo-cego placebo controlado com duração de 12 semanas, com 97 pacientes com diabetes mellitus, não se identificou efeito significativo da suplementação com 4g de óleo de peixe nos valores de glicemia de jejum⁴⁸.

É interessante observar que os resultados desse estudo indicam um possível efeito do ômega-3 nos níveis de PCR (Figura 3 e Tabela 9). Diversos estudos epidemiológicos têm demonstrado que o consumo de ácidos graxos ômega-3 está inversamente associado às concentrações séricas de PCR⁴⁹⁻⁵⁴. No entanto, os mecanismos moleculares que levam à essa redução permanecem desconhecidos. Wang *et al*⁵⁵ (2013) demonstraram que, em culturas de células hepáticas (HpG2), EPA e DHA reduzem a expressão da PCR induzida pela IL-6 nos hepatócitos via inibição da ativação do *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3). Em indivíduos saudáveis, Júlia *et al*⁵⁶ (2013) (n=843) descreveram relação inversa entre o consumo de ácidos graxos poli-insaturados, tanto da família ômega-3 como da família ômega-6, e os níveis plasmáticos de PCR. Em contraste, Malekshahi *et al*⁵⁷ (2012) (n=84) não encontraram alteração dos níveis desse marcador inflamatório após suplementação com 3g por dia de ômega-3 (1548mg de EPA e 828mg de DHA), durante oito semanas, em pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

Neste estudo ressaltamos a alta frequência de indivíduos com excesso de peso (69,4%), segundo o IMC, resultados já descritos por outros autores em pacientes com LES, inclusive em estudos realizados com pacientes do Serviço de Reumatologia do HC/UFMG pelas autoras dessa pesquisa^{58,59}. De acordo com Oeser *et al.* em 2005⁶⁰ este índice foi de 67,0% (100 pacientes) e no multicêntrico LUMINA (LUpus in MInorities: NATure versus Nurture)⁶¹ de 56,0% (364 pacientes). No último VIGITEL (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico)⁶², publicado em 2013, a frequência de excesso de peso entre mulheres brasileiras foi de 46,9%. Esses dados mostram a importância da avaliação e intervenção nutricional na rotina de tratamento de pacientes com LES, visto que a obesidade é um fator de risco para doenças crônicas não transmissíveis (DCNT).

Sabe-se que o tecido adiposo é considerado um órgão com funções neuroendócrinas e imunológicas, capaz de produzir diversos mediadores inflamatórios como TNF- α , IL-6, IL-1, a quimiocina ligante 2 (CCL2), o inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 e as frações do complemento (C3 e C4)⁶³. Em sua função endócrina é secretor de mediadores denominados adipocinas, sendo as mais importantes a leptina, a adiponectina, a visfatina e a resistina. Essas adipocinas atuam como hormônios na homeostasia da glicose e na regulação do apetite, e como citocinas, promovendo a interação da obesidade e da resistência à insulina com o sistema imunológico e o processo inflamatório⁶³⁻⁶⁵. Em indivíduos com LES, Oeser *et al.*⁶⁰ (2005) encontraram concentrações séricas de IL-6 e PCR significativamente maiores nos obesos do que nos eutróficos e com sobrepeso.

No presente estudo as concentrações de leptina e adiponectina em mulheres com LES estavam acima daquelas descritas na literatura em indivíduos saudáveis^{66,67}. Nossos resultados estão de acordo com o descrito por outros autores que relatam maiores concentrações dessas adipocinas em indivíduos com LES^{66,68-70}. As maiores concentrações séricas de leptina nas pacientes com excesso de peso e percentual de gordura corporal acima do recomendado, descritas neste estudo, é confirmada pelos dados da literatura^{71,72}. Altos níveis de leptina estão associados com elevado IMC, presença de resistência à insulina e maiores níveis de PCR, enquanto a adiponectina está negativamente associada com os mesmos fatores^{66,69,73}.

As concentrações séricas de leptina e de adiponectina não se modificaram, nesse estudo piloto, após a suplementação com ômega-3. É uma contribuição original do nosso estudo, pois não encontramos outras publicações que descrevem os efeitos desses ácidos graxos nos níveis dessas citocinas em pacientes com LES. Em indivíduos saudáveis os resultados são conflitantes, mas a maioria dos autores não demonstraram relação entre o consumo desse suplemento e as concentrações séricas de leptina e adiponectina⁷³⁻⁷⁵. Contudo, Ramel *et al*⁷⁶ (2009) identificaram que o consumo diário de 1,3g de EPA + DHA promoveu redução significativa nos níveis séricos de leptina, ressaltando que houve perda ponderal de aproximadamente 1kg nesses indivíduos, que poderia ser um viés na interpretação desses resultados. Itoh *et al*⁷⁷ (2007),descreveram que após tratamento com doses diárias de 1,8g de EPA houve aumento significativo da produção de adiponectina. Em estudos que avaliaram as concentrações de ômega-3 e ômega-6 nas membranas celulares observou-se associação positiva entre a presença de ômega-3 e aumento dos níveis séricos

de adiponectina e diminuição da leptina^{73,78}, indicando um possível efeito do ômega-3 no controle da inflamação.

Concluindo, neste ensaio clínico piloto com pacientes com LES e baixa atividade inflamatória, a suplementação com ácidos graxos ômega-3 (EPA e DHA), por 12 semanas, não se associou com modificações na atividade da doença ou nos níveis séricos de IL-6, IL-10, leptina e adiponectina. No entanto, houve diminuição significativa dos níveis da PCR. Chama atenção o aumento dos níveis de colesterol total e LDL-c após a suplementação com ômega-3, indicando a necessidade de estudos longitudinais que analisem a relação entre a suplementação com esse ácido graxo, os níveis de colesterol, o processo inflamatório e a ocorrência de eventos cardiovasculares ateroscleróticos no LES. Ressalta-se, ainda, a elevada frequência de excesso de peso encontrada, o que poderia ser um fator de risco para DCNT.

Por ser um estudo piloto, com amostra pequena, em que foram incluídas apenas pacientes com baixa atividade inflamatória, não é possível a extrapolação dos resultados encontrados. Além do mais, a impossibilidade de análise da incorporação do ômega-3 na membrana celular dos eritrócitos não permite afirmar a adesão das pacientes ao tratamento.

Diante do exposto, consideramos que estudos prospectivos randomizados são necessários para confirmar estes resultados preliminares, determinar os efeitos potenciais destes ácidos graxos sobre outros desfechos clínicos e avaliar a generalização dos dados para populações maiores e mais heterogêneas de pacientes.

3.2.7 Referências

1. Kronmann N, Green A. *Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland: incidence of some chronic diseases 1950-1974*. Acta Med Scand 1980; 208:401-6.
2. Bhangle S, Kolasinski SL. *Fish oil in rheumatic diseases*. Rheum Dis Clin N Am 2011; 37:77-84.
3. Tilley SL, Coffman TM, Koller BH. *Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes*. J Clin Invest 2001, 108:15-23.
4. Tan EM, Cohen AS, Fries JF et al. *The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus*. Arthr & Rheum 1982; 25: 1271-77.
5. Hochberg MC. *Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum 1997; 40:1725.
6. Schwab JM, Serhan CN. *Lipoxins and new lipid mediators in the and resolution of inflammation*. Curr Opin Pharmacol 2006; 6:414-20.
7. Thies F, Miles EA, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Hurst TL, Newsholme EA, Calder PC. *Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and fuctions and on plasma soluble adhesion molecules in health adults*. Lipids 2001; 36:1183-93.
8. Trebble T, Arden NK, Stroud MA, Wootton SA, Burdge GC, Miles EA, Ballinger AB, Thompson RL, Calder PC. *Inhibition of tumour necrosis factor- α and interleukin-6 production by mononuclear cells following dietary fish-oil supplementation in healthy men and response to antioxidant co-supplementation*. Brit J Nutr 2003; 90:405-12.
9. Wallace FA, Miles EA, Calder PC. *Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects*. Brit J Nutr 2003; 89:679-89.
10. Duffy EM; Meenagh GK, McMillan SA, Strain JJ, Hannigan BM, Bell AL. *The clinical effect of dietary supplementation with omega-3 fish oils and copper in systemic lupus erythematosus*. J Rheumatol 2004; 31:1551-56.
11. Wright SA, O'Prey FM, McHenry MT, Leahey WJ, Devine AB, Duffy EM, Johnston DG, Finch MB, Bel AL, McVeigh GE. *A randomised interventional trial of w-3 polyunsaturated acids on endothelial function and*

- disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 841-48.
12. Elkan AC, Anania C, Gustafsson T, Jogestrand T, Hafström I, Frostegard J. *Diet and fatty acid pattern among patients with SLE: associations with disease activity, blood lipids and atherosclerosis*. *Lupus* 2012; 21:1405-11.
 13. Cawood AL, Ding R, Napper FL, Young RH, Williams JA, Ward MJ, Gudmundsen O, Vige R, Payne SP, Ye S, Shearman CP, Gallagher PJ, Grimble RF, Calder PC. *Eicosapentaenoic acid (EPA) from highly concentrated n-3 fatty acid ethyl esters is incorporated into advanced atherosclerotic plaques and higher plaque EPA is associated with decreased plaque inflammation and increased stability*. *Atherosclerosis* 2010; 20:252-59.
 14. Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, Vanden Heuvel JP, Wagner PR, West SG. *Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia*. *Am J Clin Nutr* 2011; 93:243
 15. Udupa AS, Nahar PS, Shah SH, Kshirsagar MJ, Ghongane BB. *Study of comparative effects os antioxidants on insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus*. *J Clin Diagn Res* 2012; 6:1469-73.
 16. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000*. *J Rheumatol* 2001; 29:288-91.
 17. Gladman D, Goldsmith C, Urowitz MB. *The reliability of the the Sytemic Lupus International Collaborating Clinics/ American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus*. *Arthritis & Rheumatism* 1997; 40:809-13.
 18. Sociedade Brasileira de Cardiologia/Sociedade Brasileira de Hipertensão/ Sociedade Brasileira de Nefrologia. *VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão*. *Arq Bras Cardiol* 2010; 95:1-51.
 19. Sociedade Brasileira de Cardiologia: *V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose*. *Arq Bras Cardiol* 2013; 101:1-22.
 20. *Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults – Executive Summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) (Adult Treatment Panel III)*. *JAMA* 2001; 285:2486-97.
 21. Wajed J, Ahmad Y, Durrington PN, Bruce IN: *Prevention of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus – proposed guidelines for risk factor management*. *Rheumatology* 2004; 43:7-12.

22. Rosa Weiss Telles RW, Lanna CCD, Ferreira GA, Carvaho MAP, Ribeiro AL. *Frequência de Doença Cardiovascular Aterosclerótica e de seus Fatores de Risco em Pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico*. Rev Bras Reumatol 2007; 47:165-73.
23. WHO (World Health Organization). *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of WHO consultation*. Geneva: WHO 1997; 276 p.
24. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. *Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index*. Am J Clin Nutr 2000; 72: 694-701.
25. Bello KJ, Fang H, Fazeli P, Bolad W, Corretti M, Magder LS, Petri M. *Omega-3 in SLE: a double-blind, placebo-controlled randomized clinical trial of endothelial dysfunction and disease activity in systemic lúpus erythematosus*. Rheumatol Int. 2013; 33: 2789-96.
26. Babcock TA, Novak T, Ong E, Jho DH, Helton WS, Espat NJ. *Modulation of lipopolysaccharide-stimulated macrophage tumor necrosis factor- α production by w-3 fatty acid is associated with differential cyclooxygenase-2 protein expression and is independent of interleukin-10*. J Surg Res 2002; 107:135-9.
27. Novak TE, Babcock TA, Jho DH, Helton WS, Espat NJ. *NF kappa B inhibition by omega-3 fatty acids modulates LPS-stimulated macrophage TNF-alpha transcription*. Am J Physiol 2003; 284:L84-9.
28. Zhao Y, Joshi-Barve S, Barve S, Chen LH, Barve S, Chen LH. *Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF-alpha expression by preventing NF-kappaB activation*. J Am Coll Nutr 2004; 23:71-8.
29. Browning LM, Krebs JD, Moore CS, Mishra GD, O'Connell MA, Jebb SA. *The impact of long chain n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on inflammation, insulin sensitivity and CVD risk in a group of overweight woman with an inflammatory phenotype*. Diabetes Obes Metab 2007; 9:70-80.
30. Kiecolt-Glaser JK, Belury MA, Andridge R, Malarkey WB, Glaser R. *Omega-3 supplementation lowers inflammation and anxiety in medical students: a randomized controlled trial*. Brain Behav Immun 2011; 25: 1725-34.
31. Pot GK, Brouwer IA, Enneman A, Rijkers GT, Kampman E, Geelen A. *No effect of fish oil supplementation on serum inflammatory markers and their interrelationships: a randomized controlled trial in healthy, middle-aged individuals*. Eur J Clin Nutr 2009; 63:1353-9.

32. Yusof HM, Miles E, Calder P. *Influence of very long-chain n-3 fatty acids on plasma markers of inflammation in middle-aged men*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2008; 78:219-28.
33. Schubert R, Kitz R, Beermann C, Rose MA, Baer PC, Zielen S, Boehles H. *Influence of low-dose polyunsaturated fatty acids supplementation on the inflammatory response of healthy adults*. Nutrition 2007; 23:724-30.
34. Fujioka S, Hamazaki K, Itomura M, Huan M, Nishizawa H, Sawazaki S, Kitajima I, Hamazaki T. *The effects of eicosapentaenoic acid-fortified food on inflammatory markers in healthy subjects – a randomized, placebo-controlled, double-blind study*. J Nutr Sci Vitaminol 2006; 52:261-5.
35. Murphy KJ, Galvin K, Kiely M, Morrissey PA, Mann NJ, Sinclair AJ. *Low dose supplementation with two different marine oils does not reduce pro-inflammatory eicosanoids and cytokines in vivo*. Asia Pac J 2006; 15:418-24.
36. Pownall JH, Brauchi D, Kilinc C, Osmundsen K, Pao Q, Payton-Ross C et al. *Correlation of serum triglyceride and its reduction by x-3 fatty acids with lipid transfer activity and the neutral lipid compositions of high-density and low-density lipoproteins*. Arterioscler 1999;143:285-97.
37. Harris WS, Ginsberg HN, Arunakul N, Shachter NS, Windsor SL, Adams M et al. *Safety and efficacy of Omacor in severe hypertriglyceridemia*. J Cardiovasc Risk 1997; 4:385-91.
38. Urowitz MB, Bookman AA, Koehler BE, Gordon DA, Smythe HA, Ogryzlo MA. *The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus*. Am J Med 1976; 60:221-25.
39. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA Jr, Jansen-McWilliams L et al. *Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study*. Am J Epidemiol 1997;145:408-15
40. Urowitz MB, Gladman DD. *Accelerated atheroma in lupus–background*. Lupus 2000; 9:161-65.
41. Hak AE, Karlson EW, Feskanich D, Stampfer MJ, Costenbader KH. *Systemic lupus erythematosus and the risk of cardiovascular disease: results from the nurses' health study*. Arthritis Rheum 2009; 61:1396-402.
42. Telles RW, Lanna CC, Sousa AJ, Navarro TP, Souza FL, Rodrigues A, Reis RC, Ribeiro AL. *Progression of carotid atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus*. Clin Rheumatol 2013; 32:1293-300.

43. Telles RW, Lanna CC, Souza FL, Rodrigues LA, Reis RC, Ribeiro AL. *Causes and predictors of death in Brazilian lupus patients*. Rheumatol Int 2013; 33:467-73.
44. Chowdhury R, Stevens S, Gorman D, Pan A, Warnakula S, Chowdhury S, et al. *Association between fish consumption, long chain omega 3 fatty acids, and risk of cerebrovascular disease: systematic review and meta-analysis*. BMJ 2012;345:e6698.
45. Kotwal S, Jun M, Sullivan D, Perkovic V, Neal B. *Omega 3 Fatty acids and cardiovascular outcomes: systematic review and meta-analysis*. Circ Cardiovasc Qual Outcomes 2012;5:808-18.
46. Jacobson TA, Glickstein SB, Rowe JD, Soni PN. *Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on low-density lipoprotein cholesterol and other lipids: a review*. J Clin Lipidol 2012; 6:5-18.
47. Hartweg J, Farmer AJ, Holman RR, et al. *Potential impact of omega-3 treatment on cardiovascular disease in type 2 diabetes*. Curr Opin Lipidol 2009;20:30-8.
48. Wong CY, Yiu KH, Li SW, et al. *Fish-oil supplement has neutral effects on vascular and metabolic function but improves renal function in patients with Type 2 diabetes mellitus*. Diabet Med J Br Diabet Assoc 2010;27:54-60.
49. Ferrucci L, Cherubini A, Bandinelli S, Bartali B, Corsi A, Lauretani F, Martin A, Aandres-Lacueva C, Senin U, Guralnik JM. *Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers*. JCEM 2006; 91:439-46.
50. Tsitouras PD, Gucciardo F, Salbe AD, Heward C, Harman SM. *High omega-3 fat intake improves insulin sensitivity and reduces CRP and IL6, but does not affect other endocrine axes in healthy older adults*. Horm Metab Res 2008; 40:199-205.
51. Micallef MA, Munro IA, Garg ML. *An inverse relationship between plasma n-3 fatty acids and C-reactive protein in healthy individuals*. Eur J Clin Nutr 2009; 63:1154-6.
52. Farzaneh-Far R, Harris WS, Garg S, Na B, Whooley MA. *Inverse association of erythrocyte n-3 fatty acid levels with inflammatory biomarkers in patients with stable coronary artery disease: the Heart and Soul Study*. Atherosclerosis 2009; 205:538-43.
53. He K, Liu K, Daviglus ML, Jenny NS, Mayer-Davis E, Jiang R, Steffen L, Siscovick D, Tsai M, Herrington D. *Associations of dietary long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and fish with biomarkers of inflammation and*

- endothelial activation (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [MESA]). Am J Cardiol* 2009; 103:1238-43.
54. Kelley DS, Siegel D, Fedor DM, Adkins Y, Mackey BE. *DHA supplementation decreases serum C-reactive protein and other markers of inflammation in hypertriglyceridemic men.* J Nutr 2009; 139:495-501.
 55. Wang TM, Hsieh SC, Chen JW, Chiang AN. *Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid reduce C-reactive protein expression and STAT3 activation in IL-6-treated HepG2 cells.* Mol Cell Biochem 2013; 377:97-106.
 56. Julia C, Touvier M, Meunier N, Papet I, Galan P, Hercberg S, Kesse-Guyot E. *Intakes of PUFAs were inversely associated with plasma C-reactive protein 12 years later in a middle-aged population with vitamin E intake as an effect modifier.* J Nutr 2013; 143:1760-6.
 57. Malekshahi Moghadam A, Saedisomeolia A, Djalali M, Djazayeri A, Pooya S, Sojoudi F. *Efficacy of omega-3 fatty acid supplementation on serum levels of tumour necrosis factor-alpha, C-reactive protein and interleukin-2 in type 2 diabetes mellitus patients.* Singapore Med J 2012; 53:615-9.
 58. Borges MC, dos Santos Fde M, Telles RW, Lanna CC, Correia MI. *Nutritional status and food intake in patients with systemic lupus erythematosus.* Nutrition 2012; 28:1098-103.
 59. Telles RW, Lanna C, Ferreira G, Ribeiro A. *Metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus: association with traditional risk factors for coronary heart disease and lupus characteristics.* Lupus 2010; 19:803-9.
 60. Oeser A, Chung CP, Asanuma Y, Avalos I, Stein CM. *Obesity is an independent contributor to functional capacity and inflammation in systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 2005; 52:3651-9.
 61. Chaiamnuay S, Bertoli AM, Roseman JM, Mcgwin G, Apte M, Duran S, Vilá LM, Reveille JD, Alarcón GS. *African-American and Hispanic ethnicities, renal involvement and obesity predispose to hypertension in systemic lupus erythematosus: results from LUMINA, a multiethnic cohort (LUMINAXLV).* Annals of the Rheumatic Diseases 2007; 66:618-22.
 62. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção de Saúde. *Vigitel Brasil 2012 : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico.* Brasília: Ministério da Saúde, 2013. 136 p.
 63. Tilg H, Moschen AR. *Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity.* Nat Rev Immunol 2006; 6:772-83.

64. Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J, Gualillo O. *The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses*. Cytokine Growth Factor Rev 2007; 18:313-25.
65. Guzik TJ, Mangalat D, Korbust R. *Adipocytokines – novel link between inflammation and vascular function?* J Physiol Pharmacol 2006; 57:505-28.
66. Chung CP, Long AG, Solus JF, Rho YH, Oeser A, Raggi P, Stein CM. *Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis*. Lupus 2009; 18:799-806.
67. Al-Suhaimi EA, Shehzad A. *Leptin, resistin and visfatin: the missing link between endocrine metabolic disorders and immunity*. Eur J Med Res 2013; 1;18:12.
68. Garcia-Gonzalez A, Gonzalez-Lopez L, Valera-Gonzalez IC, Cardona-Muñoz EG, Salazar-Paramo M, González-Ortiz M, Martínez-Abundis E, Gamez-Nava JI. *Serum leptin levels in women with systemic lupus erythematosus*. Rheumatol Int 2002; 22:138-41.
69. Vadacca M, Margiotta D, Rigon A, Cacciapaglia F, Coppolino G, Amoroso A, Afeltra A. *Adipokines and systemic lupus erythematosus: relationship with metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors*. J Rheumatol 2009, 36:295-7.
70. Kim HA, Choi GS, Jeon JY, Yoon JM, Sung JM, Suh CH. *Leptin and ghrelin in Korean systemic lupus erythematosus*. Lupus 2010; 19:170-4.
71. Kershaw EE, Flier JS. *Adipose tissue as an endocrine organ*. J Clin Endocrinol Metab 2004, 89:2548-56.
72. Van Harmelen V, Reynisdottir S, Eriksson P, Thorne A, Hoffstedt J, Lonnqvist F, Arner P. *Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women*. Diabetes 1998, 47:913-7.
73. An WS, Son YK, Kim SE, Kim KH, Bae HR, Lee S, Park Y, Kim J, Vaziri ND. *Association of adiponectin and leptin with serum lipids and erythrocyte omega-3 and omega-6 fatty acids in dialysis patients*. Clin Nephrol 2011; 75:195-203.
74. Olza J, Mesa MD, Aguilera CM, Moreno-Torres R, Jiménez A, Pérez de la Cruz A, Gil A. *Influence of an eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid-enriched enteral nutrition formula on plasma fatty acid composition and biomarkers of insulin resistance in the elderly*. Clin Nutr 2010, 29:31-7.

75. Kaur B, Jørgensen A, Duttaroy AK. *Fatty acid uptake by breast cancer cells (MDA-MB-231): effects of insulin, leptin, adiponectin, and TNFalpha*. Prostaglandins Leukot Fatty Acids 2009; 80:93.
76. Ramel A, Parra D, Martínéz JA, Kiely M, Thorsdottir I. *Effects of seafood consumption and weight loss on fasting leptin and ghrelin concentrations in overweight and obese European young adults*. Eur J Nutr 2009; 48:107-14.
77. Itoh M, Suganami T, Satoh N, Tanimoto-Koyama K, Yuan X, Tanaka M, Kawano H, Yano T, Aoe S, Takeya M, Shimatsu A, Kuzuya H, Kamei Y, Ogawa Y. *Increased adiponectin secretion by highly purified eicosapentaenoic acid in rodent models of obesity and human obese subjects*. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007; 27:1918-25.
78. Min Y, Lowy C, Islam S, Khan FS, Swaminathan R. *Relationship between red cell membrane fatty acids and adipokines in individuals with varying insulin sensitivity*. Eur J Clin Nutr 2011; 65:690-5.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados neste ensaio clínico piloto e as evidências já publicadas até o momento, não embasam a indicação da suplementação com ômega-3 como adjuvante ao tratamento tradicional do LES para pacientes com baixa atividade de doença. Será que estudos com maior número de pacientes, com doses maiores do suplemento, com tempo mais longo de tratamento e em pacientes com doença mais ativa poderiam identificar efeitos benéficos desses ácidos graxos?

Ressaltamos que a identificação do efeito indesejável de aumento dos níveis de colesterol total e LDL-c indica cautela no uso desse nutriente, pelo possível aumento do risco de desenvolvimento de aterosclerose, em uma população já com o risco elevado.

Esta é uma pesquisa original, pois não há estudo semelhante em âmbito nacional de conhecimento dos autores. Consideramos que, apesar do pequeno número de pacientes avaliados, estes resultados contribuem muito porque há poucas evidências, mesmo na literatura internacional, sobre o efeito do ômega-3 em pacientes com LES.

Em relação aos objetivos propostos nos artigos, seguem abaixo as principais conclusões:

Artigo I:

1. Os ácidos graxos ômega-3 estão relacionados com a produção de eicosanoides com menor ação inflamatória do que os produzidos pelos

ácidos graxos pertencentes à família ômega-6, além da redução dos níveis séricos de citocinas inflamatórias.

2. Os ensaios clínicos realizados em pacientes com LES são em pequeno número, e diferem quanto à dose de ômega-3 utilizada e ao tempo de tratamento.
3. Há ainda dúvidas quanto aos efeitos benéficos desses ácidos graxos para indivíduos com LES e se os mesmos são devido ao consumo de EPA, DHA ou à combinação de ambos.
4. Estudos longitudinais placebo controlados são ainda necessários de modo a avaliar o real efeito desses ácidos graxos em pacientes com LES, a dose eficaz e o tempo de tratamento.

Artigo II:

1. A suplementação de pacientes com LES com ácidos graxos ômega-3, por 12 semanas, não foi associada com modificações na atividade da doença ou nos níveis séricos de IL-6, IL-10, leptina e adiponectina, neste estudo piloto.
2. Ressalta-se o aumento dos níveis séricos de colesterol total e LDL-c após suplementação com o nutriente, mesmo que esses tenham permanecido dentro da normalidade, o que poderia contribuir para aumento do risco de

desenvolvimento de doença aterosclerótica, em indivíduos com maior risco de morbidade e mortalidade por doença cardiovascular.

3. De maneira interessante, os resultados desse estudo indicam um possível efeito do ômega-3 nos níveis de PCR.
4. Chama atenção o elevado índice de sobrepeso neste grupo de mulheres com LES e baixa atividade inflamatória, um dado preocupante, pois está associado à comorbidades.
5. Os valores das concentrações séricas das adipocinas - leptina e adiponectina - estavam acima do encontrado em indivíduos saudáveis e a leptina foi positivamente associada com maior IMC e maior percentual de gordura corporal.

Como há poucos dados na literatura sobre o comportamento de citocinas em pacientes com LES após suplementação com ômega-3, este é um campo aberto e muito interessante para estudos.

Dificuldades na execução de um estudo com intervenção terapêutica certamente contribuíram para alguns resultados:

1. O tempo de duração da suplementação foi curto, insuficiente para modificar a atividade da doença?

2. A dose de ômega-3 utilizada encontrava-se dentro do valor de segurança e eficácia relatada na literatura. Doses maiores poderiam trazer resultados benéficos e sem riscos para o paciente?
3. A necessidade de manter as doses dos medicamentos imunossupressores estáveis impediu a inclusão de pacientes com índice de atividade da doença moderados a altos. Os baixos níveis de inflamação presentes nas participantes do estudo poderiam ter contribuído para a não modificação dos níveis séricos de citocinas após a suplementação com ômega-3?
4. A não realização das dosagens da incorporação dos ácidos graxos ômega-3 na membrana plasmática dos eritrócitos impossibilitou a confirmação da adesão das pacientes à suplementação.

Apesar destas dificuldades, trata-se de assunto intrigante e instigante. Os benefícios da nutrição no controle da inflamação crônica certamente são alvos terapêuticos que merecem nossa atenção.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa: Interferência do uso de ácidos graxos ômega-3 no perfil inflamatório de pacientes com LES

Investigadores principais: Prof. Dra. Cristina Costa Duarte Lanna, Prof. Dra. Maria Isabel Correia, Médica Fabiana de Miranda Moura e Nutricionista Mariane Curado Borges. Telefone de contato: 31 88136267

O Lúpus Eritematoso Sistêmico é uma doença reumática que acomete vários órgãos como a pele, os rins, as articulações, o coração, o pulmão e os vasos sanguíneos. Acomete principalmente mulheres jovens e, geralmente, os pacientes apresentam períodos de melhora e piora. O paciente usualmente necessita de medicamentos e controle médico regular.

Observamos, em entrevistas, que o hábito alimentar nem sempre é adequado, e encontramos algumas pacientes acima do peso e outras emagrecidas. Este desequilíbrio alimentar nos motivou a avaliar detalhadamente o estado nutricional e o hábito alimentar de pacientes com Lúpus.

Este estudo é semelhante ao estudo que avaliou seu estado nutricional e ingestão alimentar, realizado há cerca de 3 anos atrás. O seu sangue que foi coletado no estudo anterior está congelado e somente agora serão realizadas análises de substâncias normalmente presentes em pacientes com Lúpus.

Da mesma forma que no estudo anterior, você precisará responder dois questionários e serão analisados seu peso, altura e percentual de gordura corporal. A quantidade de gordura e água do seu corpo será medida com um aparelho especial de bioimpedância. Para uso deste aparelho você precisará ficar deitada por 10 minutos, serão colocadas quatro fitas adesivas, 2 nas mãos e 2 nos pés (semelhante ao eletrocardiograma do coração). Este exame não dói e nem representa risco para você.

Após a consulta, iremos coletar outra amostra de sangue, da mesma forma que foi realizado no estudo anterior. Iremos dosar em seu sangue as mesmas substâncias dosadas no estudo anterior.

Após essa primeira entrevista você participará, durante três meses, de um Programa de Intervenção Nutricional. Para tal, você receberá cápsulas de ácidos graxos ômega-3. O ácido graxo ômega-3 é um tipo de gordura boa, que não acarreta riscos de doenças cardíacas ou outras, e alguns estudos têm mostrado que ele tem efeitos benéficos para a saúde (diminui inflamação, diminui o risco de ocorrência de doenças cardiovasculares, etc). O consumo diário dessas cápsulas não traz risco à sua saúde e não irá prejudicar o tratamento de sua doença. Você deverá tomar duas cápsulas dessas por dia durante três meses. Todas as cápsulas serão fornecidas a você pelas pesquisadoras, não acarretando nenhum gasto a você.

Após esse três meses de intervenção dietética, você será reavaliada como da primeira vez. Nós iremos novamente fazer toda a sua avaliação nutricional (peso, altura, bioimpedância) e coletar uma nova amostra de sangue para dosagem das mesmas substâncias analisadas no início da pesquisa.

A pesquisa não acarretará nenhum risco para o participante. Ao final da pesquisa, em 2013, você saberá todos os resultados dos seus exames e avaliações. Se forem constatados os benefícios do ômega-3 no tratamento do lúpus, esse nutriente poderá complementar os tratamentos já existentes para a doença, proporcionando melhor controle da mesma.

Se você recusar participar da pesquisa o seu atendimento no ambulatório não será prejudicado. Você continuará o seu acompanhamento normalmente sem nenhuma restrição.

Se concordar em participar do estudo, os dados obtidos durante as consultas e preenchimento de questionários no ambulatório do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), serão passados para um protocolo próprio, assim como os exames feitos rotineiramente durante o seu acompanhamento.

Todos os exames e consultas serão gratuitos. Caso você tenha que comparecer ao ambulatório fora dos dias de suas consultas normais, você receberá o dinheiro referente ao seu transporte.

Os resultados serão entregues com a devida explicação, sendo feito o tratamento e encaminhamentos necessários. As informações obtidas nesse estudo serão mantidas em sigilo, servirão apenas para a pesquisa e para o seu tratamento. Todos os participantes da pesquisa serão identificados por códigos acessados somente pelos pesquisadores.

Os pesquisadores assumem o compromisso de utilizar o material biológico coletado apenas com a autorização dos sujeitos da pesquisa.

Os dados encontrados no estudo poderão ser publicados e divulgados nos meios de comunicação médica como congressos e revistas.

Consentimento: Concordo em participar deste estudo. Recebi uma cópia do presente termo de consentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer dúvidas.

Não haverá qualquer ressarcimento de despesas, em nenhuma hipótese.

Data: ____/____/20____.

Assinatura:

Assinatura do paciente

Assinatura do Médico ou Nutricionista

Assinatura da testemunha

Assinatura da testemunha

Comitê de Ética em Pesquisa - UFMG

Av. Pres. Antonio Carlos, 6627 - Campus Pampulha/ Unidade Administrativa II - 2o. Andar/ Belo Horizonte-MG -

Cep: 31270-901

Telefone: 34094592

APÊNDICE B – Protocolo da Pesquisa

Interferência do uso de ácidos graxos ômega-3 no perfil inflamatório de pacientes com LES

Nome: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Tel.: () _____

SAME: _____

Protocolo w3: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: ____

Data M₀: ____/____/____

Data M₆: ____/____/____

Data M₁₂: ____/____/____

Data do diagnóstico: ____/____/____

Idade ao diagnóstico: ____ Tempo de doença: ____

Data da primeira consulta: ____/____/____ Tempo de acompanhamento: ____

Escolaridade: ____ anos estudados

Grau de escolaridade: ____ (0-não se aplica; 1-ensino fundamental completo; 2-ensino médio completo; 3-ensino superior completo)

Manifestações LES (0- não 1- sim 9- não se aplica)	Acumulada	M ₀	M ₆	M ₁₂
Mucocutâneas				
Fotossensibilidade				
LED				
Rash Malar				
Úlcera				
Lúpus subagudo				
Artrite				
Serosite				
Pleurite				
Pericardite				
Hematológica				
Anemia hemolítica com reticulocitose				
Plaquetopenia (<100.000)				
Linfopenia (<1500; duas ocasiões)				
Leucopenia (<4000; duas ocasiões)				
Neuropsiquiátrica				
Psicose				
Convulsão				
Par craniano				
Neuropatia periférica				
Mielite transversa				
Nefrite				
Proteinúria >0,5g/24hs ou cilindros celulares				
DRC				
Vasculite				
Imunológica (anti DNA, anti SM, ACL, LA, VDRL)				

COMORBIDADES (0-não; 1-sim)	M ₀	M ₁₂
HAS	____/ PA: ____ x ____	____/ PA: ____ x ____
SM		
Obesidade		
Dislipidemia		
HDL<40		
LDL≥130		
LDL≥100		
CT≥200		
TGLs≥150		
Menopausa	____ ()>1 ano de amenorréia? ____ ()<1ano de amenorréia? ____ FSH: ____, ____ ____	____ ()>1 ano de amenorréia? ____ ()<1ano de amenorréia? ____ FSH: ____, ____ ____

Medicamentos (0-não; 1-sim)	M ₀	M ₆	M ₁₂
Corticóide VO	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Dose acumulada corticóide	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Metilprednisolona EV	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Antimalárico	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Ciclofosfamida EV	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Ciclofosfamida VO	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Azatioprina	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Ciclosporina	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Metotrexato	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Micofenolato mofetil	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Imunossuppressores	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Carbonato de cálcio	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Vitamina D	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Captopril	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Losartana	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____
Sinvastatina	Dose: _____	Dose: _____	Dose: _____

Dose acumulada corticóide (M₀ – M₁₂): ____ ____, ____ g

Antimaláricos: Qual (1.DFC 2.HCQ): M₀: ____ M₆: ____ M₁₂: ____

EXAMES LABORATORIAIS

Nome: _____

Prontuário: _____ Protocolo: _____

Exame	M ₀		M ₁₂	
	Resultado	Data	Resultado	Data
Hb				
Ht				
VCM				
HCM				
Plaquetas				
Leucócitos				
Neutrófilos				
Linfócitos				
Uréia				
Creatinina				
Glicemia de jejum				
TGO				
TGP				
Colesterol total				
LDL colesterol				
HDL colesterol				
Triglicerídeos				
Vitamina D				
Cálcio				
VHS				
PCR				
C3				
C4				
CH50				
Anti DNA				

Atividade física: (0- sedentário;1- insuficientemente ativo; 2-ativo)

M₀: _____ M₁₂: _____

Qualidade de vida	M ₀	M ₁₂
Capacidade funcional		
Dor		
Vitalidade		
Aspectos emocionais		
Aspectos físicos		
Estado geral de saúde		
Aspectos sociais		
Saúde mental		
Total		

Avaliação Nutricional

Nome: _____

Prontuário: _____ Protocolo: _____

	M₀	M₁₂
Peso		
Altura		
IMC 1-Magreza III; 2-Magreza II; 3-Magreza I; 4-Eutrofia; 5-Pré-obeso; 6-Obeso I; 7-Obeso II; 8-Obeso III		

Bioimpedância	M₀	M₁₂
GORDURA (%)		
GORDURA (Kg)		
MASSA MAGRA (%)		
MASSA MAGRA (Kg)		
TAXA METABÓLICA BASAL (Kcal/dia)		
AGUA CORPORAL (litros)		
AGUA CORPORAL (% peso corporal)		
AGUA CORPORAL (% massa magra)		
BIORESITÊNCIA (ohms)		
REACTÂNCIA (ohms)		
Bioimpedância RJL	M₀	M₁₂
GORDURA (%)		
GORDURA (Kg)		
MASSA MAGRA (%)		
MASSA MAGRA (Kg)		
TAXA METABÓLICA BASAL (Kcal/dia)		
AGUA CORPORAL TOTAL (%)		
AGUA CORPORAL INTRACELULAR (%)		
AGUA CORPORAL EXTRACELULAR (%)		
BIORESITÊNCIA (ohms)		
REACTÂNCIA (ohms)		

CONTROLE ÔMEGA 3

Nome: _____

Prontuário: _____ Protocolo: _____

Controle ômega-3	M₆	M₁₂
Quantidade de cápsulas levadas		
Quantidade de cápsulas trazidas		
Quantidade de cápsulas tomadas		
Quantidade de dias		
Quantidade tomada esperada		
% adesão		

Consumo de alimentos ricos em ômega 3

Consumo alimentar	M₆	M₁₂
Comeu peixe?	_____ Se sim, qual? Cavala: _____ Arenque: _____ Salmão: _____ Sardinha: _____ Quantas vezes? _____ Porção: _____	_____ Se sim, qual? Cavala: _____ Arenque: _____ Salmão: _____ Sardinha: _____ Quantas vezes? _____ Porção: _____
Semente de linhaça moída?	_____ Quantas vezes? _____ Porção: _____	_____ Quantas vezes? _____ Porção: _____
Óleo de peixe?	_____ Per capita: _____	_____ Per capita: _____
Óleo de canola?	_____ Per capita: _____	_____ Per capita: _____
Óleo de linhaça?	_____ Per capita: _____	_____ Per capita: _____
Óleo de soja?	_____ Per capita: _____	_____ Per capita: _____
Castanhas e nozes?	_____ Quantas vezes? _____ Porção: _____	_____ Quantas vezes? _____ Porção: _____

Uso de ômega 3? _____

SLEDAI

Nome: _____

Prontuário: _____ Protocolo: _____

PESO	DESCRIÇÃO	DEFINIÇÃO
8	Convulsão	Início recente. Excluído causas metabólicas, infecciosas ou por drogas
8	Psicose	Habilidade alterada de realizar atividades normais devido à grave distúrbio na percepção da realidade. Inclui alucinações, incoerência, perda significativa de associações, conteúdo inadequado do pensamento, pensamento ilógico, comportamento bizarro, desorganizado ou catatônico. Exclui uremia e drogas.
8	S. cerebral orgânica	Função mental alterada com prejuízo da orientação, memória ou outra função intelectual, com início e flutuações súbitas. Inclui alteração do nível de consciência com diminuição da capacidade de concentração e incapacidade de sustentar atenção no meio-ambiente associado a 2 dos seguintes: distúrbios perceptivos, discurso incoerente, insônia ou sonolência diurna, atividade psicomotora aumentada ou diminuída. Excluir causas infecciosas, metabólicas ou drogas.
8	Distúrbio visual	Alterações retinianas do LES. Inclui corpos citóides, hemorragia retiniana, exsudato seroso ou hemorragia na coróide, neurite ótica. Excluir hipertensão, infecção e drogas.
8	Alteração de par craniano	Início de neuropatia sensorial ou motora.
8	Cefaléia lúpica	Cefaléia intensa e persistente podendo ser tipo enxaqueca, mas tem que ser resistente ao uso de narcóticos.
8	AVC	AVC novo. Exclui aterosclerose.
8	Vasculite	Ulceração, gangrena, nódulos em dedos, infartos periungueais, hemorragias pontuais, biópsia ou arteriografia comprovando vasculite.
4	Artrite	Mais de 2 articulações com dor e flogose
4	Miosite	Fraqueza/dor muscular proximal associado a aumento de CK-T/aldolase ou ENMG ou biópsia muscular.
4	Cilindrúria	Granular hemático ou celular de hemácias
4	Hematúria	> 5 hemácias/cp. Excluir infecção, nefrolitíase ou outra causa.
4	Piúria	>5 leucócitos/cp. Excluir infecção.
4	Proteinúria	>0,5 mg/24hs (independente de início recente ou recorrência)
2	Nova erupção cutânea	Erupção cutânea nova ou recorrente com sinais de inflamação.
2	Alopécia	Início recente ou recorrência de queda de cabelo anormal difusa ou localizada.
2	Úlcera mucosa	Início recente ou recorrência de úlceras orais ou nasais.
2	Pleurite	Dor torácica pleurítica com atrito ou derrame pleural ou espessamento pleural.
2	Pericardite	Dor pericárdica com mais um dos seguintes: derrame, atrito ou ECG, ou ECO.
2	Baixo complemento	Diminuição de CH50, C3, C4 abaixo do limite normal do laboratório.
2	Aumento de anti-DNA	>25% do título de anti-DNA ou valor acima do normal para referência do laboratório (>25% <i>biding by Farr assay...</i>)
1	Febre	>38°C. Excluir infecção.
1	Trombocitopenia	< 100.000 plaquetas/mm ³
1	Leucopenia	< 3.000 leucócitos/ mm ³ . Exclui drogas.

SLEDAI M₀: _____SLEDAI M₆: _____SLEDAI M₁₂: _____

SLICC

Nome: _____
 Prontuário: _____ Protocolo: _____

ITEM	ESCORE	DATA
OCULAR – qualquer olho, avaliação clínica		
Catarata	1	__/__/__
Lesão retiniana ou atrofia ótica	1	__/__/__
NEUROPSIQUIÁTRICA		
Alteração Cognitiva (ex. déficit de memória, dificuldade de cálculo, baixa concentração, dificuldade de falar ou escrever) ou psicose	1	__/__/__
Convulsão necessitando de terapia por 6 meses	1	__/__/__
Acidente vascular cerebral em qualquer momento (escore 2 se >1)	1 (2)	__/__/__
Neuropatia periférica ou craniana (excluir ótica)	1	__/__/__
Mielite transversa	1	__/__/__
RENAL		
RFG estimado ou medido <50%	1	__/__/__
Proteinúria >3,5 mg/24hs ou	1	__/__/__
IRC terminal (diálise ou transplante)	3	__/__/__
PULMONAR		
Hipertensão pulmonar (proeminência de VD ou hiperfonese de B2)	1	__/__/__
Fibrose pulmonar (exame físico ou radiografia)	1	__/__/__
Pulmão retraído (radiografia)	1	__/__/__
Fibrose pleural (radiografia)	1	__/__/__
Infarto pulmonar (radiografia)	1	__/__/__
CARDIOVASCULAR		
Angina ou bypass coronariano	1	__/__/__
Infarto do miocárdio (escore 2 se >1)	1 (2)	__/__/__
Miocardiopatia (disfunção ventricular)	1	__/__/__
Doença valvular (sopro diastólico ou sistólico >3/6)	1	__/__/__
Pericardite por 6 meses ou pericardiectomia	1	__/__/__
DOENÇA VASCULAR PERIFÉRICA		
Claudicação por 6 meses	1	__/__/__
Perda tecidual pequena (polpa)	1	__/__/__
Perda tecidual significativa (ex. perda digital ou membro) (escore 2 se >1 local)	1 (2)	__/__/__
Trombose venosa com edema, ulceração ou estase venosa	1	__/__/__
GASTROINTESTINAL		
Infarto ou ressecção intestinal abaixo do duodeno, baço, fígado ou vesícula biliar, por qualquer causa (escore 2 se >1 local)	1 (2)	__/__/__
Insuficiência mesentérica	1	__/__/__
Peritonite crônica	1	__/__/__
Estenose ou cirurgia do trato gastrointestinal superior em qualquer momento	1	__/__/__
MUSCULOESQUELÉTICA		
Atrofia ou fraqueza muscular	1	__/__/__
Artrite erosiva ou deformante (inclusive deformidades redutíveis, excluindo necrose avascular)	1	__/__/__
Osteoporose com fratura ou colapso vertebral (excluindo necrose avascular)	1	__/__/__
Necrose avascular (escore 2 se >1)	1 (2)	__/__/__
Osteomielite	1	__/__/__
PELE		
Alopecia crônica cicatricial	1	__/__/__
Cicatriz extensa em outro local além de couro cabeludo e polpa digital	1	__/__/__
Ulceração cutânea (excluindo trombose) por >6 meses	1	__/__/__
FALÊNCIA GONADAL PREMATURA	1	__/__/__
DIABETE MELITO (independente de tratamento)	1	__/__/__
MALIGNIDADE (excluindo displasia) (escore 2 se >1 local)	1 (2)	__/__/__

* Dano (alterações irreversíveis não relacionada a inflamação ativa) ocorrendo a partir do início do LES, avaliada por abordagem clínica e presente por, pelo menos, 6 meses. Episódios repetidos devem ocorrer após no mínimo 6 meses para escore 2. A mesma lesão não pode ser considerada 2 vezes

SLICC M₀: __ Data: __/__/__

SLICC M₆: __ Data: __/__/__

SLICC M₁₂: __ Data: __/__/__

APÊNDICE C – Tabela das concentrações séricas de citocinas (IL-6 e IL-10) no início do estudo (T0), dos grupos com e sem excesso de peso, segundo o IMC, de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG

Concentrações séricas de citocinas (IL-6 e IL-10) no início do estudo (T0), dos grupos com e sem excesso de peso, segundo o IMC, de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	IMC<25,0kg/m ² n=15 Mediana (Ilq)	IMC≥25,0kg/m ² n=34 Mediana (Ilq)	p
IL-6 (fg/mL)*	1.377,0 (479,5-3.134,4) ^b	920,4 (400,2-1.947,5) ^c	0,429
IL-10 (fg/mL)*	19.299,5 (7.850,8-53.353,0) ^e	21.417,0 (9.398,0-51.159,0) ^f	0,956

*teste *U-Mann-Whitney*; ^an=47; ^bn=21; ^cn=26; ^dn=35; ^en=14; ^fn=21; IMC=índice de massa corporal; kg=quilograma; m=metro; IL=interleucina; Ilq=intervalo interquartil; fg=fenograma; mL=mililitro.

APÊNDICE D – Tabela das concentrações séricas de citocinas (IL-6 e IL-10) no início do estudo (T0), dos grupos com percentual de gordura corporal normal e acima do recomendado, de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG

Concentrações séricas de citocinas (IL-6 e IL-10) no início do estudo (T0), dos grupos com percentual de gordura corporal normal e acima do recomendado, de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	IMC<25,0kg/m ² n=15 Mediana (Ilq)	IMC≥25,0kg/m ² n=34 Mediana (Ilq)	p
IL-6 (fg/mL)*	479,5 (189,4-1.036,0) ^b	1.223,2 (465,0-2.383,0) ^c	0,053
IL-10 (fg/mL)*	16.269,5 (5.514,2-22.257,0) ^e	22.537,0 (9.777,0-55.785,0) ^f	0,192

*teste *U-Mann-Whitney*; ^an=47; ^bn=21; ^cn=26; ^dn=35; ^en=14; ^fn=21; GC=gordura corporal; IL=interleucina; Ilq=intervalo interquartil; fg=fenograma; mL=mililitro.

APÊNDICE E – Tabela de comparação entre os valores dos exames bioquímicos de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo

Comparação entre os valores dos exames bioquímicos de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo, Belo Horizonte, MG, 2014.

Exame Laboratorial	N	T0	T1	p
		Mediana (Iq)	Mediana (Iq)	
Glicemia (mg/dl)*	27	78,5 (71,2-84,8)	77,5 (72,2-85,0)	0,354
CT (mg/dl)*	27	167,0 (145,5-192,0)	176,0 (152,0-199,8)	0,067
LDL-c (mg/dl)*	27	89,0 (77,5-115,0)	98,0 (76,0-125,0)	0,019
HDL-c (mg/dl)*	27	53,0 (47,0-62,0)	53,5 (45,5-59,0)	0,857
TG (mg/dl)*	27	90,0 (70,0-123,0)	87,0 (63,2-128,0)	0,657
Vitamina D (mg/dl)*	27	27,5 (22,5-40,4)	35,0 (13,5-37,8)	0,359
PCR (mg/dl)*	27	5,0 (4,9-9,6)	5,0 (4,9-11,6)	0,009
C3 (mg/dl)*	27	112,0 (89,0-118,0)	105,0 (89,0-128,0)	0,174
C4 (mg/dl)*	27	26,0 (14,1-30,5)	23,0 (15,4-27,0)	0,899

*teste não paramétrico pareado de *Wilcoxon*; T0 = primeira semana de estudo; T1 = décima segunda semana de estudo; CT = colesterol total; LDL-c = lipoproteína de baixa densidade; HDL-c = lipoproteína de alta densidade; TG = triglicerídeos; PCR = proteína C reativa; C3 e C4 = complemento sérico; mg=miligrama; dL=decilitro; Iq = intervalo interquartil.

APÊNDICE F – Tabela de comparação entre as concentrações séricas das citocinas de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo

Comparação entre as concentrações séricas das citocinas de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo, Belo Horizonte, MG, 2014.

Citocina	N	T0	T1	p
		Mediana (Iq)	Mediana (Iq)	
IL-6 (fg/mL)*	26	1.097,4 (520,0-1.985,5)	881,8 (332,0-2.081,2)	0,946
IL-10 (fg/mL)*	21	21.417,0 (6.717,0-51.640,5)	26.078,0 (11.384,5-47.542,0)	0,332

*teste não paramétrico pareado de *Wilcoxon*; T0 = primeira semana de estudo; T1 = décima segunda semana de estudo; IL = interleucina; f = fenograma; mL = mililitro.

APÊNDICE G – Tabela de comparação entre as concentrações séricas das adipocinas de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo

Comparação entre as concentrações séricas das adipocinas de pacientes com LES do grupo sem suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo, Belo Horizonte, MG, 2014.

Citocina	N	T0	T1	p
		Mediana (Iq)	Mediana (Iq)	
Leptina (ng/mL) *	27	58,8 (37,4-113,2)	77,2 (50,0-103,0)	0,416
Adiponectina (µg/mL) *	27	43,8 (31,8-59,8)	44,5 (20,0-59,0)	0,462

*teste não paramétrico pareado de *Wilcoxon*; T0 = primeira semana de estudo; T1 = décima segunda semana de estudo; ng = nanograma; µg = micrograma; mL = mililitro.

APÊNDICE H – Tabela de comparação entre as concentrações séricas das adipocinas de pacientes com LES do grupo com suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo

Comparação entre as concentrações séricas das adipocinas de pacientes com LES do grupo com suplementação de ômega-3, na primeira (T0) e décima segunda semana (T1) de estudo, Belo Horizonte, MG, 2014.

Citocina	N	T0	T1	p
		Mediana (Iq)	Mediana (Iq)	
Leptina (ng/mL) *	22	80,0 (54,6-146,5)	93,2 (54,8-153,4)	0,506
Adiponectina (µg/mL) *	22	36,4 (22,2-56,3)	44,9 (23,9-57,2)	0,465

*teste não paramétrico pareado de *Wilcoxon*; T0 = primeira semana de estudo; T1 = décima segunda semana de estudo; ng = nanograma; µg = micrograma; mL = mililitro.

APÊNDICE I – Tabela das variações das concentrações séricas dos exames bioquímicos entre o início (T0) e o final do estudo (T1) dos grupos com e sem suplementação de ômega-3 de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG

Variações das concentrações séricas dos exames bioquímicos entre o início (T0) e o final do estudo (T1) dos grupos com e sem suplementação de ômega-3 de pacientes com LES atendidas no Serviço de Reumatologia do HC/UFMG, Belo Horizonte, MG, 2014.

Variável	Grupo com ômega-3 n=22	Grupo sem ômega-3 n=27	p
Δ Glicemia (mg/dL)*			0,496
Média±DP	-3,0±5,9	-2,0±8,7	
Mediana (Ilq)	-4,0 (-8,0-0,0)	-1,0 (-8,0-4,0)	
Δ Colesterol total (mg/mL)*			0,477
Média±DP	12,9±18,7	7,1±23,8	
Mediana (Ilq)	14,0 (-2,5-27,2)	4,5 (-8,5-23,8)	
Δ LDL-colesterol (mg/dL)*			0,288
Média±DP	13,8±15,4	5,1±27,0	
Mediana (Ilq)	17,0 (3,0-27,0)	10,5 (-2,5-20,8)	
Δ HDL-colesterol (mg/dL)*			0,536
Média±DP	3,2±11,8	0,2±7,9	
Mediana (Ilq)	0,0 (-4,5-12,5)	-0,5 (-7,0-5,0)	
Δ Triglicerídeos (mg/dL)*			0,867
Média±DP	2,0±65,0	-1,5±41,6	
Mediana (Ilq)	-1,0 (-39,2-22,8)	-4,5 (-17,8-16,8)	
Δ Vitamina D (mg/dL)*			0,105
Média±DP	-4,4±11,6 ^a	1,6±7,0 ^b	
Mediana (Ilq)	-6,0 (-10,6-1,3)	3,5 (-2,0-5,9)	
Δ C3 (mg/dL)*			0,590
Média±DP	1,1±21,3 ^c	3,0±15,8	
Mediana (Ilq)	3,0 (-10,0-11,3)	5,0 (-8,0-17,0)	
Δ C4 (mg/dL)*			0,582
Média±DP	-0,7±5,2 ^c	0,1±6,5	
Mediana (Ilq)	-1,0 (-4,1-2,5)	0,0 (-3,0-3,0)	

*teste *U-Mann-Whitney*; ^an=11; ^bn=10; ^cn=20; LDL-c=lipoproteína de baixa densidade; HDL-c=lipoproteína de alta densidade; C3 e C4=complemento sérico; mg=miligramas; dL=decilitro; DP=desvio padrão; Ilq=intervalo interquartil.

ANEXOS

ANEXO A – Artigo: *Avaliação do estado nutricional e da atividade física em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico*

dos Santos Fde M, Borges MC, Correia MI, Telles RW, Lanna CC. *Avaliação do estado nutricional e da atividade física em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico*. Rev. Bras. Reumatol 2010, 50:6, 631-638.

ANEXO B – Artigo: *Nutritional status and food intake in patients with systemic lúpus erythematosus*

Borges MC, dos Santos Fde M, Telles RW, Lanna CC, Correia MI. *Nutritional status and food intake in patients with systemic lupus erythematosus*. Nutrition 2012; 28:1098-103.

ANEXO C – Artigo: *Excess weight and associated risk factors in patients with systemic lupus erythematosus*

dos Santos Fde M, Borges MC, Telles RW, Correia MI, Lanna CC. *Excess weight and associated risk factors in patients with systemic lupus erythematosus*. Rheumatol Int 2013; 33:681-8.

ANEXO D – Aceite da Revista Brasileira de Reumatologia para publicação do artigo de revisão intitulado **Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?**

Ms. Ref. No.: BJR-D-13-00135

Title: Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?

Brazilian Journal of Rheumatology

Dear Prof. Cristina Costa Duarte Lanna,

I am pleased to inform you that your paper "Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: o que sabemos?" has been accepted for publication in Brazilian Journal of Rheumatology.

Below are comments from the editor and reviewers.

Thank you for submitting your work to Brazilian Journal of Rheumatology.

Yours sincerely,

Max Carioca Freitas

Editor-in-Chief

Brazilian Journal of Rheumatology

ANEXO E – Carta do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

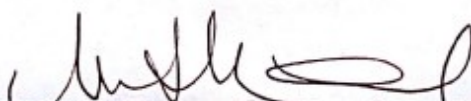
Parecer nº. ETIC 0235.0.203.000-11

Interessado(a): Profa. Cristina Costa Duarte Lanna
Departamento de Aparelho Locomotor
Faculdade de Medicina - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 04 de julho de 2011, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Impacto da implementação com ácidos graxos ômega-3 na inflamação de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Prof.ª Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO F – Critérios de classificação do Colégio Americano de Reumatologia para Lúpus Eritematoso Sistêmico

Critério	Definição
Eritema malar	Eritema fixo, plano ou elevado, sobre as eminências malares e que tende a respeitar as pregas nasolabiais.
Lesão Discóide	Placas eritematosas sobrelevadas, com descamação queratótica e obstrução folicular; cicatrização atrófica pode ocorrer em lesões antigas.
Fotossensibilidade	Exantema cutâneo, resultado de reação anormal da pele à luz solar, relatado por paciente ou observado por médico.
Úlceração mucosa	Úlceração oral ou nasofaríngea, geralmente indolor, observada por médico.
Artrite não erosiva	Artrite envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizada por dor à palpação, edema ou derrame articulares.
Serosite	a) Pleurite: história convincente de dor pleurítica ou atrito pleural auscultado por médico ou evidência de derrame pleural OU b) Pericardite: documentada por ECG, presença de atrito pericárdico ou evidência de derrame pericárdico.
Nefrite	a) Proteinúria persistente >0,5g/d ou >3+ OU b) Cilindros celulares: granulosos, hemáticos ou mistos.
Alteração neurológica	a) Convulsões: na ausência de uma causa, como drogas ou distúrbios metabólicos OU b) Psicose: na ausência de uma causa, como drogas ou distúrbio metabólico.
Alterações hematológicas	a) Anemia hemolítica: com reticulocitose OU b) Leucopenia: <4.000/mm³ em duas ou mais ocasiões OU c) Linfopenia: <1.500/mm³ em duas ou mais ocasiões OU d) Plaquetopenia: <1150.000/mm³; na ausência de drogas como causa.
Alterações imunológicas	a) Anticorpos anti-DNA nativo em títulos anormais OU b) Anticorpos anti-Sm positivo OU c) Anticorpos antifosfolípides baseados em: nível sérico anormal de anticorpos anticardiolipina, frações IgM ou IgG, ou teste positivo para anticoagulante lúpico, utilizando método padrão, ou prova sorológica falsamente positiva para sífilis por pelo menos 6 meses e confirmada pela reação com o antígeno treponêmico ou hemaglutinação passiva, utilizando hemácias recobertas com antígenos treponêmicos.
Anticorpo antinuclear	Título anormal de anticorpo antinúcleo por imunofluorescência ou por teste equivalente, em qualquer fase e na ausência de drogas que causam síndrome de “lúpus induzido por drogas”.

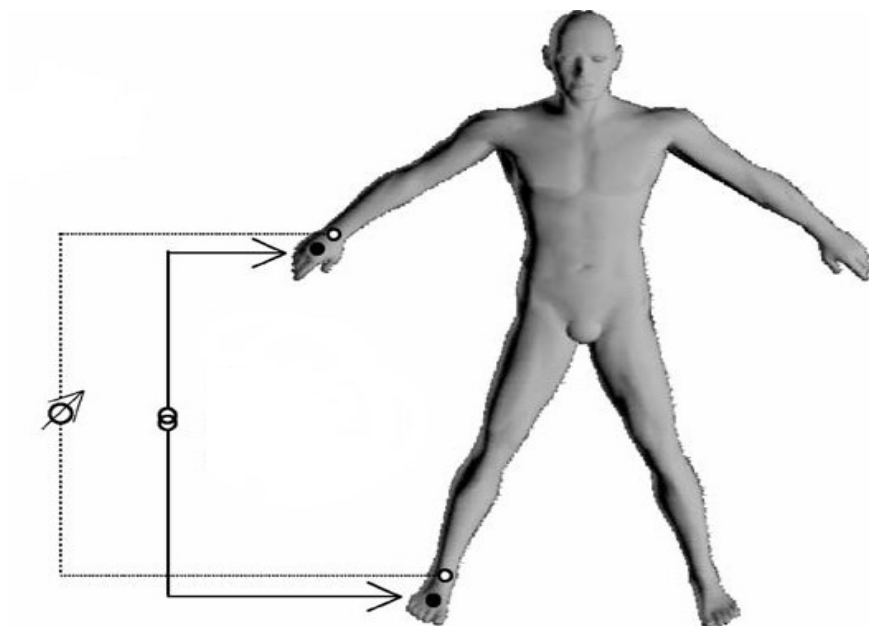
A propósito de se identificar pacientes com LES para estudos clínicos, deve-se ter 4 ou mais dos 11 critérios, de forma seriada ou simultânea, durante qualquer intervalo da observação.

ANEXO G – Tabela de classificação do estado nutricional segundo o índice de massa corporal (IMC)

Classificação nutricional de acordo com o índice de massa corporal (IMC)	
<i>Classificação</i>	<i>IMC</i>
Magreza grau III	< 16,00 kg/m ²
Magreza grau II	16,00 a 16,99 kg/m ²
Magreza grau I	17,00 a 18,49 kg/m ²
Eutrofia	18,50 a 24,99 kg/m ²
Pré-obeso	25,00 a 29,99 kg/m ²
Obesidade Classe I	30,00 a 34,99 kg/m ²
Obesidade Classe II	35,00 a 39,99 kg/m ²
Obesidade Classe III	≥ 40,00 kg/m ²

Fonte: WHO, 1997.

ANEXO H – Locais de colocação dos eletrodos para realização da bioimpedância elétrica



Locais de colocação dos eletrodos da bioimpedância

ANEXO I – Tabela de classificação do percentual de gordura corporal

Valores de referência para percentuais de gordura em mulheres

Idade	Baixo	Recomendado	Alto	Muito alto
20-39	5-20	21-33	34-38	>38
40-59	5-22	23-34	35-40	>40
60-79	5-23	24-36	37-41	>41

Fonte: GALLAGHER, 2000.