

Ácidos gordos poliinsaturados n-3 e resposta imunológica

MOREIRA A.; RODRIGUES J.; FONSECA J.; VAZ M.

RESUMO

As dietas enriquecidas em ácidos gordos poliinsaturados (AGPI) da série n-3 estão associadas a imunossupressão. De facto, o consumo de óleos de peixe leva à substituição do ácido araquidónico da membrana celular pelo ácido eicosapentaenóico. Esta substituição modifica o padrão dos eicosanóides produzidos. Neste trabalho revemos os aspectos imunomoduladores dos AGPI n-3 nos aspectos de linfoproliferação, citotoxicidade mediada pela célula T, quimiotaxia de monócitos, expressão do complexo major de histocompatibilidade, apresentação de antigénio e produção de citoquinas pró-inflamatórias. Estas observações levaram ao interesse crescente do uso potencial dos AGPI n-3 como aproximação terapêutica nutricional para algumas doenças como lupus, artrite reumatóide, asma e outras. Apesar de os óleos de peixe não terem a eficácia de fármacos anti-inflamatórios, eles são concertiza úteis na redução das doses e dos efeitos laterais desta medicação. A compreensão do mecanismo pelo qual os AGPI modificam a função imunológica ajudará a aumentar a eficácia do tratamento destas doenças.

Palavras chave: Ácidos Gordos Poliinsaturados; Sistema Imunológico; Inflamação.

ABSTRACT

POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND IMMUNOLOGIC RESPONSE

Polyunsaturated fatty acids (PUFA) n-3 rich diets are associated with suppression of the immune system. In fact, consumption of fish oils leads to replacement of arachidonic acid in cell membranes by eicosapentaenoic acid. This changes the amount and alters the balance of eicosanoids produced. In this paper we review the immunomodulatory role of PUFA n-3, concerning lymphocyte proliferation, T cell mediated cytotoxicity, natural killer activity, monocyte chemotaxis, major

histocompatibility class II expression and antigen presentation, and production of proinflammatory cytoquines. These observations have lead to growing interest in the potential use of PUFA n-3 as a nutritionally based approach to the treatment of some inflammatory disorders like lupus, rheumatoid arthritis, asthma and others. Although fish oils aren't as effective as either steroidal or non-steroidal anti-inflammatory medications, they certainly are useful in reducing the dosage and side effects of these medications. A greater understanding of the mechanisms by which PUFA n-3 alters the immune function should aid in improving its efficacy in the treatment of some immune disorders.

Keywords: Polyunsaturated fatty acids; Immune system; Inflammation.

INTRODUÇÃO

Os efeitos benéficos para a saúde dos Ácidos Gordos Poliinsaturados (AGPI) n-3 apenas se tornaram aparentes com os trabalhos epidemiológicos de Bang e colaboradores^{1,2} em finais da década de 70. Apenas então, quase 90 anos após a descoberta do ácido linolénico (18:3, n-3), se constatou a baixa prevalência de doença cardiovascular em populações de esquimós da costa oeste da Gronelândia. Nas suas observações originais, Bang e Dyerberg relacionavam a reduzida incidência de doença coronária à dieta, que consistia em cerca de 400 grama diários de carne de foca ou baleia e peixes, e que resultava num consumo médio diário de aproximadamente 7 gramas de AGPI n-3!

A descoberta em 1979 por Needleman e colaboradores de que as prostaglandinas derivadas do ácido eicosapentaenoico (EPA) apresentavam diferentes propriedades biológicas das derivadas do ácido araquidónico (AA) estimulou o crescimento da investigação acerca das possibilidades de intervenção nutricional na modulação da síntese dos prostanóides, área que iria ter o seu expoente máximo durante a década de 80 e até meados de 90.

A 1ª Conferência dos Efeitos na Saúde dos Ácidos Gordos Poliinsaturados realizada em Washington, em

Junho de 1986, marca o início da era moderna para a investigação dos efeitos destas moléculas na saúde, e mais concretamente no sistema imune.

Os primeiros trabalhos relatando possíveis efeitos imunomoduladores dos AGPI foram publicados em 1990 por Kinsella e colaboradores.³ Desde então um número crescente de investigadores e de centros dedicam os seus esforços à tentativa de esclarecer o mecanismo de acção destas moléculas. Por exemplo o Centro de Investigação de Nutrição Humana, do Departamento de Agricultura Jean Mayer dos Estados Unidos, investiga actualmente o “Efeito dos AGPI na resposta imune em humanos” e os “Mecanismos de supressão da imunidade celular pelos AGPI n-3”, com os primeiros trabalhos nesta área a surgirem apenas em 1998.

As dietas ricas em ácidos gordos poliinsaturados (AGPI) n-3 estão associadas com supressão do sistema imune e as populações com elevados consumos de óleo de peixe, como os esquimós da Gronelândia, tem incidência menor de alterações inflamatórias e imunes. Estas e outras observações levaram a um crescente interesse no uso potencial de AGPI n-3 como uma abordagem nutricional para o tratamento da artrite reumatóide, psoríase, asma e outras doenças em que o componente inflamatório é preponderante. Apesar de os óleos de peixe, naturalmente ricos em AGPI n-3, poderem não ser tão eficazes como medicações anti-inflamatórias esteróides ou não esteróides, eles podem como adiante demonstraremos ser úteis na redução de dose de medicamentos e assim de efeitos adversos da terapia medicamentosa. Um maior conhecimento acerca dos meios pelos quais os AGPI n-3 afectam o sistema imunológico irão ajudar concerteza na definição de novas estratégias terapêuticas para doenças inflamatórias entre outras.

Na primeira parte deste trabalho irão ser comentados alguns aspectos relacionados com a nomenclatura, biossíntese e metabolismo dos ácidos gordos, para então se abordarem aspectos relacionados com a resposta imune, nomeadamente efeitos em funções celulares, em mediadores intercelulares, resposta inflamatória e infecção, transplante e algumas doenças imunológicas com destaque para artrite reumatóide, lúpus, doença inflamatória intestinal, asma e rinite alérgicas, psoríase e síndrome sjogren. A parte final é reservada para a apresentação de alguns, necessariamente escassos, trabalhos relacionados com o possível mecanismo de acção dos AGPI.

NOMENCLATURA

Os ácidos gordos (AG) são classificados em função da extensão da cadeia, definida pelo número de átomos de carbono, e pelo grau de saturação. Ácidos gordos de cadeia curta, média ou longa tem respectivamente menos

que 6, 6 a 10, ou mais que 12 átomos de carbono. O número de ligações duplas entre átomos de carbono define AG saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, respectivamente sem, com uma, duas ou mais ligações duplas. Os ácidos gordos poliinsaturados (AGPI) são ainda classificados em classes, conforme a localização da ligação dupla: assim os AGPI da família n-3 tem a primeira ligação dupla entre o 3º e 4º carbono da cadeia, enquanto da família n-6 tem a primeira ligação dupla entre o 6º e 7º carbono (fig.1).

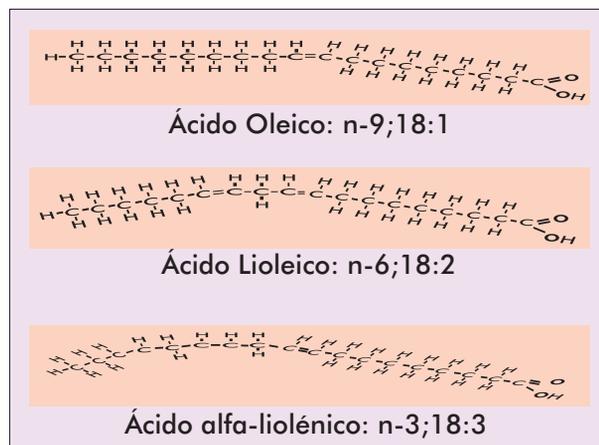


Fig. 1 — Exemplos de ácidos gordos das séries n-9, n-6 e n-3

METABOLISMO DOS AGPI

Todos os mamíferos podem sintetizar ácidos gordos de novo pela acetil-coenzima A na presença da sintetase dos ácidos gordos, oxigénio e NADPH. A síntese que é predominantemente hepática dá origem ao ácido palmítico (16:0), que por acção da alongase converte-se em ácido esteárico (18:0) (Fig.2). No homem ocidental, há pouca necessidade de síntese de AG pois estes encontram-se presentes na dieta em quantidade. Contudo, as membranas celulares necessitam de AGPI para manterem a estrutura, fluidez e função. Por isso existe um mecanismo de dessaturação, ie, introdução de ligações duplas. A $\Delta 9$ desaturase, presente em plantas e animais, introduz ligação dupla entre C9 e C10, catalizando assim a conversão do ácido esteárico em oleico (n-9, 18:1). As plantas, ao contrário dos animais podem introduzir mais ligações duplas entre o C10 e a extremidade metil da cadeia de carbonos. Ligações duplas adicionais são sempre introduzidas entre a ligação existente e a extremidade metil e separadas entre si por grupo metileno. Portanto, os animais que possuem a $\Delta 9$ desaturase são capazes de sintetizar a família de AGPI n-9 (ácido oleico) por alongamento e dessaturação contudo, como não possuem desaturase para sintetizar n-6 ou n-3, estes tem que ser fornecidos pela dieta. Por série semelhante de reacções o ácido linoleico é convertido via γ linoleico (n-6, 18:3) e dihomo- γ linoleico (n-6, 20:3) em ácido araquidónico (n-6, 20:4). As famílias n-9, n-6 e n-3 não são metabolicamente interconvertíveis nos mamíferos. Muitas plantas marinhas, especialmente algas unicelulares, também fazem alongação e dessaturação do

ácido linolénico a EPA e DHA. É a formação destes AGPI de cadeia longa n-3 pelas algas marinhas e a sua transferência pela cadeia alimentar que é responsável pela sua abundância em alguns óleos de peixe.

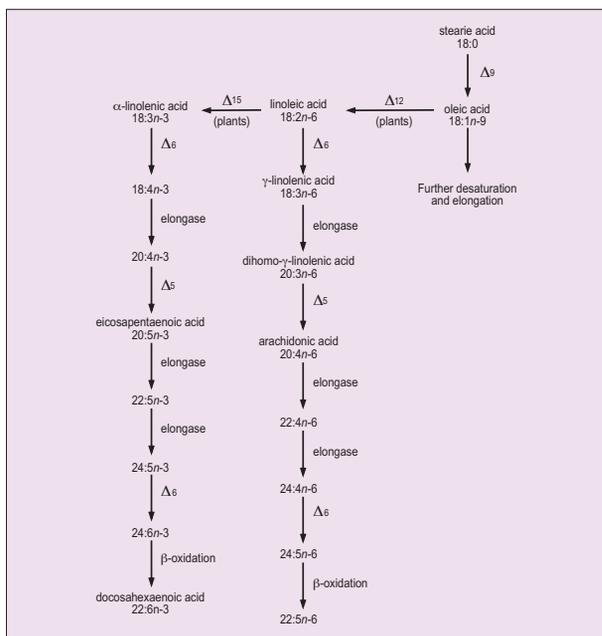


Fig. 2 — Metabolismo dos AGPI

Aos AGPI que não podem ser sintetizados pelo homem, cuja carência provoca alterações que podem ser revertidas pela suplementação, chamamos AG essenciais, de que são exemplos o ácido linoléico e o linolénico.

Dietas enriquecidas em AGPI n-3 inibem conversão ácido linoleico ao ácido (γ)linoleico por inibição da delta 6-desaturase, diminuindo o conteúdo em AA dos lipídios séricos e fosfolípidos microsossomiais hepáticos.⁴ Este facto assume importância porque para além das diferentes propriedades biológicas dos derivados prostanóides dos AGPI n-3 em relação aos n-6, aqueles ao serem fornecidos na dieta induzem naturalmente inibição da síntese de ácido araquidónico.

O ácido araquidónico e outros AGPI C20 são incorporados aos fosfolípidos da membrana e por acção das fosfolípases, são o substrato para a biosíntese de eicosanóides, (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos). As vias de metabolismo são divergentes, com a síntese de prostanóides (PG e TX₂) a competir com a síntese de LT₄ pelo ácido araquidónico. Estas duas vias são conhecidas como vias da ciclooxigenase e da lipoxigenase respectivamente (Fig 3).

Existem três grupos de eicosanóides (PG, TX, LT) que são sintetizados a partir de cada um dos ácidos gordos essenciais (linolénico, linoleico) e araquidónico. Os eicosanóides do grupo 1 (PG₁, TXA₁, LT₃) resultam do ácido linoleico, os do grupo 2 (PG₂, TXA₂, LT₄) do metabolismo do ácido araquidónico, e os do grupo 3 (PG₃, TXA₃, LT₅) do metabolismo do ácido linolénico (Fig4).

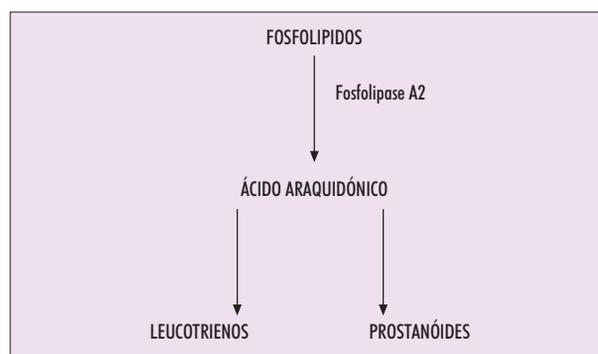


Fig. 3 — Vias da 5' Lipoxigenase e da Ciclooxigenase

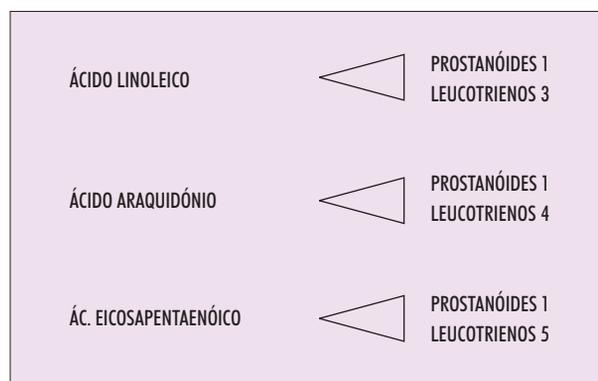


Fig. 4 — Síntese de Eicosanóides

ÓLEO DE PEIXE E MEMBRANAS CELULARES

Quando os AGPI n-3 são ingeridos pelo homem, uma pequena quantidade é incorporada em depósitos de triacilglicerol, e a maioria é incorporada pelos lípidos das membranas celulares. As moléculas de fosfolípidos são bastante móveis ao longo do plano da membrana e o seu grau de movimento, a fluidez da membrana, está directamente relacionado com o conteúdo em AGPI. Aumentando a fluidez da membrana modulamos as propriedades funcionais de sistemas de transporte, actividade enzimática e expressão de moléculas receptoras de proteínas à superfície da célula. Gibney et al⁵ demonstraram aumento significativo dos níveis de EPA nas membranas celulares de células do sistema imune em duas semanas de suplementação com AGPI n-3.

A VIA DA CICLOOXIGENASE É RESPONSÁVEL PELA BIOSÍNTESE DOS PROSTANÓIDES

O produto da actividade da ciclooxigenase, um endoperóxido, é convertido a PGD, E, F, bem como a TXA₂ e prostaciclina (PGI₂). O TX é sintetizado pelas plaquetas e depois de libertado promove agregação plaquetária e vasoconstrição, enquanto as prostaciclinas são produzidas pelas células endoteliais e são potentes inibidores da agregação plaquetária. Portanto TX e PGI₂ são antagonistas. A baixa incidência de doença coronária em esquimós da Gronelândia tem sido atribuída à ingestão aumentada de AGPI n-3 (EPA) que origina prostanóides da série 3. PG₃ e TX₃ inibem a libertação do AA dos

fosfolípidos da membrana e a formação de prostanoídes da série 2. A PGI₃ é um potente antiagregante plaquetário, mas o TXA₃ é um fraco agregante, e deste balanço resulta o desvio no sentido da não agregação.

Logicamente a alteração na produção de eicosanóides pode ser conseguida alterando a disponibilidade dos precursores.⁶ Os eicosanóides derivados do EPA tem um espectro de actividade biológica que difere dos derivados do AA.

OS LEUCOTRIENOS SÃO FORMADOS PELA VIA DA LIPOOXIGENASE

Vários tipos celulares derivados de precursores da medula óssea possuem enzimas da via da 5-lipooxigenase (LO). Estes tipos celulares, que incluem neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e macrófagos estão entre as principais células envolvidas na resposta inflamatória. O metabolismo do ácido araquidónico (AA) (20:4 n-6) via 5-LO, é iniciado quando o AA é libertado da sua forma ester nos fosfolípidos da membrana por activação da fosfolipase A₂ e possivelmente em triglicéridos por acção de estímulo que actua célula alvo. O AA assim libertado, é apresentado à 5-LO pela proteína activadora da 5-LO. Este factor de iniciação é responsável também pela activação independente da LO, via translocação de cálcio. Do metabolismo do AA pela 5-LO resulta ácido hidroperoxyeicosatetraenoico (5-HPETE), que é processado por redução ao seu álcool, hidroxyeicosatetraenoico (5-HETE) e por conversão enzimática ao epóxido intermediário instável, ácido oxidoeicosatetraenoico (leucotrieno A₄). O metabolismo subsequente do LTA₄ a LTB₄ e LTC₄ envolve respectivamente a epóxido hidrolase e glutatona-S-transferase.

O LTB₄ promove quimiotaxia, desgranulação, agregação e aderência endotelial de polimorfonucleares, e tem efeitos imunoreguladores de populações linfocitárias. Os LTC₄ e LTD₄ causam constrição arteriolar e os LTC₄, D₄, E₄ aumentam a permeabilidade venular e provocam constrição das vias aéreas.

Os produtos assim formados são transportados via proteínas transmembrana para o espaço extracelular onde por interacção com receptores para LT cisteinil (receptor para LTC, LTD e LTE) e não cisteinil (receptor para LTB₄), tem efeitos de quimiotaxia, aumento da permeabilidade vascular e contração músculo liso.

EPA (20:5 n-3), o principal AGPI nos triglicéridos de peixes, é metabolizado pela via da 5-LO a compostos análogos aos metabolitos do AA.⁷ Contudo o LTB₅ tem apenas 5 a 10% da potência do LTB₄ em relação a efeitos quimiotáticos, agregadores e de aderência de polimorfonucleares. LTC₅, LTD₅, LTE₅ são comparáveis aos seus equivalentes da série 4 em potência de contração do músculo liso.

ÁCIDOS GORDOS POLIINSATURADOS E FUNÇÃO IMUNOLÓGICA

Influência dos AGPI n-3 em funções de células do sistema imune

Influência na proliferação de linfócitos

A proliferação de linfócitos é usualmente medida pela incorporação de precursores radioactivos no DNA. Os mitogénios mais frequentemente usados para induzir a proliferação são concanavalina A e a fitohemaglutinina que estimulam especificamente os linfócitos T, ou os lipopolissacarídeos bacterianos que estimulam os linfócitos B. Também podem ser usados anticorpos monoclonais para estruturas da superfície de linfócitos como por exemplo anti CD3.

A suplementação da dieta com AGPI n-3 resultou, em ratos, em diminuição dos níveis de ácido araquidónico sérico e na membrana celular, e em supressão da proliferação de linfócitos T esplénicos em resposta à concanavalina A, bem como diminuição da actividade natural killer, ambas medidas *in vitro*.^{8,9}

Em estudos *in vitro* a incorporação de timidina radioactiva em linfócitos tímicos ou esplénicos estimulados pela IL-1 ou concanavalina A é inibida pela incubação com AGPI n-3.^{10,11}

A inibição da proliferação de linfócitos estimulados por citocinas implica uma atenuação da resposta imune celular.

Citotoxicidade mediada por célula Natural Killer e macrófago

A suplementação da dieta com AGPI n-3 diminui a actividade citotóxica do linfócito T, célula NK e macrófago.^{12,15} O mecanismo pelo qual a actividade citotóxica está diminuída ainda não foi esclarecido, mas é tentador sugerir que para além da depressão da eficácia da citotoxicidade pela diminuição de IL-2 e outros mediadores quimiotáticos, exista regulação da expressão génica de radicais reactivos de oxigénio.

Quimiotaxia de neutrófilos e monócitos

A quimiotaxia de neutrófilos e monócitos em direcção a uma variedade de agentes que incluem LTB₄, factor de activação plaquetária, é suprimida após a suplementação da dieta com AGPI n-3.⁷ Iversen et al verificaram que neutrófilos humanos purificados encubados com ácido di-homo- γ -linolénico apresentavam diminuição da produção de LTB₄ de uma forma dose dependente.¹⁶

MHC II e apresentação de antígeno

As células dendríticas são as células chave na apresentação de antígeno *in vivo*. A suplementação da dieta com EPA, em ratos, durante 4-5 semanas resulta em diminuição da capacidade de apresentação de antígenos pela célula dendrítica, bem como dos níveis de MHCII.¹⁷

Em humanos a suplementação da dieta em 1.56g/dia de AGPI n-3, durante 3 semanas resulta em diminuição nível MHCII na superfície de monócitos periféricos.¹⁸

INFLUÊNCIA DOS AGPI n-3 NA COMUNICAÇÃO ENTRE CÉLULAS

A comunicação entre células do sistema imune é feita através de mediadores químicos e pelo contacto directo (adesão). Os mediadores químicos incluem eicosanóides, citocinas e óxido nítrico. A seguir descrevemos a influência dos AGPI n-3 em cada um destes agentes.

Eicosanóides

Yagaloff e colaboradores verificaram experimentalmente em modelos animais que ácidos gordos de cadeia longa inibiam broncoconstrição induzida pelo LTB4 em 46% na dose de 1mg/Kg endovenoso,¹⁹ sugerindo os autores uma inibição da ligação do LTB4 ao receptor na membrana do neutrófilo. Apesar dos resultados estarem de acordo com outras experiências, a conclusão poderá ser abusiva na medida em que não está determinado claramente o mecanismo de acção dos AGPI n-3.

Citoquinas

Para os objectivos deste trabalho, interessam-nos mais os efeitos das citocinas proinamatórias IL-1 (antes factor de activação cel T), IL-6 e TNF. Ambas participam na activação de células T e B, produção de proteínas de fase aguda.

A interleucina 1 participa na activação cel T helper actuando como coestimulante junto com a célula apresentadora de antigénio. Aumenta também a expressão nas células endoteliais de moléculas de adesão que permitem a translocação de células do sistema imune dos vasos para o interstício. No hipotálamo, actua como pirógeno endógeno ao causar febre por alteração do “termostato”.

A interleucina 6 produzida pelos monócitos, macrófagos, células da medula óssea e principalmente pela resposta Th2 like, actua na célula B induzindo a sua diferenciação para o plasmócito secretor de anticorpos. Actua também no hepatócito (antes chamada de factor estimulação do hepatócito), induzindo a síntese de proteínas da fase aguda em resposta à inflamação.

Os linfócitos T helper (CD4+) reconhecem o antigénio específico em associação com molécula homóloga MHC classe II. Subtipos de células T ocorrem em humanos, ratos e provavelmente todos os mamíferos. As células Th1 medeiam funções relacionadas com citotoxicidade e reacção inflamatória local, incluindo activação de célula T citotóxica e segregam IgG2, TNF γ , IL-2, IL-3 e INF γ . Este regula parcialmente a resposta Th2 e promove a citotoxicidade celular mediada por anticorpos. As células com resposta de perfil Th2 dirigem a resposta imune no sentido da produção de IgE e portanto de doença atópica, IgA e IgG1. Promovem via IL-5 a proliferação eosinófilos

e via IL-3, IL-4 de mastócitos. Estes subtipos de resposta Thelper regulam-se recíprocamente com efeito inibidor mútuo.

Como a produção de citocinas é regulada pelos eicosanóides e os lipídios da dieta afectam a produção de eicosanóides, era de esperar que os AGPI n-3 influenciassem a produção de citocinas e o perfil de resposta T helper.

De facto em ratos, a alimentação enriquecida em AGPI n-3 durante 8 semanas resulta em diminuição da produção de IL-1, IL-6 pelos macrófagos.²⁰ Em outros estudos o efeito sobre a produção de TNF não foi uniforme.^{21,22} As razões mais prováveis para isso devem-se a diferenças no método, nomeadamente variações na quantidade de AGPI administrada, duração da experiência, espécies animais diferentes, diferentes tipos de macrófagos usados (alveolares, peritoneais, kupfer), estímulo para o macrófago produzir citocinas, meio de cultura in vitro, e o método usado para dosear as concentrações de citocinas.

Apesar de existirem estudos para a produção de citocinas pelos macrófagos, são escassos resultados para a influência dos AGPI na produção de citocinas pelos linfócitos. Chandrasekar et al²³ mostraram que em ratos, a suplementação da dieta com AGPI elimina completamente a produção de RNA mensageiro para a IL-1, IL-6, e TNF em células renais.

Estudos em voluntários saudáveis,²⁴ demonstraram redução dos níveis de IL-2 e TNF após 12 a 24 semanas de suplementação da dieta habitual com 2.4 g/dia de AGPI n-3.

Em ratos com dieta suplementada em AGPI n-6 a produção por células B esplénicas de IgM ou IgG após imunização com eritrócitos de carneiro era mais baixa. Pelo contrário na suplementação com gordura saturada a produção de anticorpos era superior ao control.²⁵

A ingestão de AGPI n-3, diminui em animais a proporção de linfócitos tímicos ou esplénicos com receptor para a IL-2 (CD25+) após estimulação com concanavalina A.

Ou seja pelos resultados dos estudos feitos até hoje, verifica-se que a suplementação da dieta com AGPI da série 3 durante período mínimo de 4 semanas induz diminuição da síntese de RNA mensageiro e de proteínas para IL-1, IL-6 e TNF. Deste modo contraria uma resposta celular com perfil Th2.

Óxido nítrico (NO)

A actividade da sintetase do óxido nítrico é estimulada em células fagocíticas pela acção sinérgica do INF γ e do TNF. A enzima combina oxigénio com guanidino-nitrogénio da L-arginina para formar NO que é tóxico para parasitas, fungos, células tumorais e algumas bactérias.

A produção de NO pelos macrófagos está significativamente diminuída pela ingestão de AGPI n-3.²⁶ Pelo contrário em voluntários saudáveis a ingestão de 5g de concentrado de óleo de peixe por dia resultava em aumento da excreção urinária de NO,²⁷ sugerindo outra fonte para este aumento (a célula endotelial), já que o macrófago diminui a produção.

Moléculas de adesão

As moléculas de adesão estão envolvidas em muitas interações célula a célula. Actualmente, é cada vez mais reconhecida a importância da interação entre a célula apresentadora de antígeno e o linfócito T imaturo. Para a eficácia desta interação são essenciais as ligações entre o complexo MHC-antígeno e receptor da célula T e também entre CD28 e B7, além das moléculas de adesão, constituindo este conjunto aquilo que podemos designar de Sinapse Imunológica. Por exemplo a interação entre linfócitos T e as células apresentadoras de antígeno é em parte mediada pela ligação entre CD11a/CD18:CD54, CD11a/CD18:CD102 e CD2:CD58. Portanto uma resposta eficaz exige níveis destes receptores adequados. A adesão de leucócitos ao endotélio envolve os pares CD11a/CD18:CD54, CD54: CD11a/CD18, CD49d/CD29:CD106, CD2:CD58, CD62L:MAcCAM-1. Portanto o movimento de leucócito requer também a eficácia destas ligações. Em ratos a suplementação da dieta com 200 grama/kg de óleo de peixe reduziu significativamente os níveis de expressão de CD2, CD11a e CD54 em linfócitos estimulados a proliferar com Concanavalina A.^{28;29} Para além dos trabalhos de Hughes e colaboradores são escassos os estudos dos efeitos dos AGPI n-3 na expressão de moléculas de adesão em humanos. Contudo apresentam resultados idênticos a estudos animais com diminuição da expressão de CD11 e CD54 em monócitos periféricos.^{18;30;31}

RESPOSTA INFLAMATÓRIA

A resposta inflamatória é iniciada quando um estímulo evoca a libertação de Interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e Factor de Necrose Tumoral (TNF). Estas moléculas, em conjunto designadas de citocinas próinflamatórias são produzidas essencialmente pelas células do sistema mononuclear fagocítico (monócitos e macrófagos), e vão modular a resposta inflamatória, induzindo febre, activação linfócitos T e B, células endoteliais, síntese hepática de proteínas de fase aguda, e muitos outros efeitos que fazem parte da resposta **inflamatória aguda**. *(Resposta de fase aguda refere-se ao conjunto de alterações metabólicas, endócrinas e neurológicas através das quais o organismo reage vários estímulos, incluindo infecções, formas de inflamação estéril como doenças autoimunes, hemorragia, trauma, ou exercício violento, Dinarello 1991).*

Os eventos precoces na fase aguda da resposta inflamatória são locais e servem para limitar a lesão tissular, hemostase, e chamada de células para a subsequente fase reparativa, que requer resposta sistémica. Esta **segunda fase**, sistémica, envolve febre, anorexia, leucocitose, e alterações metabólicas que incluem aumento fluxo de aminoácidos do músculo para fígado e rearranjo do padrão de síntese proteica pelo fígado: diminui a produção de albumina e aumenta produção de proteínas de fase aguda como proteína C reactiva, amilóide A e fibrinogénio (o seu aparecimento conduz a um fenómeno bem conhecido na inflamação: o aumento da VS).

Estas alterações são na maioria mediadas pelas IL-1, IL-6 e TNF. Elas podem activar linfócitos a segregar outros produtos inflamatórios como IL-2 e mediadores lipídicos (prostaglandinas, leucotrienos, factor de activação plaquetária). Concentrações plasmáticas elevadas de IL-1, IL-6 e TNF podem ser observadas em doentes com infecções, endotoxemia, trauma ou queimaduras, mas também em doenças autoimunes como Lúpus Eritematoso Sistémico ou Artrite reumatóide e em doentes com rejeição de órgão transplantado, ou em doentes com doença inflamatória intestinal activa.

Apesar de as citocinas próinflamatórias beneficiarem as capacidades de defesa do hospedeiro, altas concentrações destas citocinas podem estar relacionadas com pior prognóstico em doentes em choque séptico. Estratégias terapêuticas com anticorpos anti-TNF ou antagonistas do receptor da IL-1, mostraram diminuir a gravidade da inflamação e proteger contra a morte em modelos animais. A partir destas observações surgiu o conceito de **“citoquinemia letal”**, que implica que a produção exagerada de citocinas pode ser prejudicial, podendo mesmo ser fatal. As concentrações persistentemente elevadas de citocinas na artrite reumatóide podem contribuir para perpetuar inflamação. Estas observações conduziram à investigação dos possíveis benefícios da redução da produção de citocinas por intervenção na dieta. Deste tipo de intervenção o uso dos ácidos gordos de cadeia longa mereceu considerável atenção, já que os derivados eicosanóides do ácido araquidónico são em parte responsáveis pela resposta inflamatória. Como os AGPI diminuem a produção destes mediadores, eles tem acção antiinflamatória.

A razão de AGPI n-3: n-6, mais do que o valor absoluto da ingestão de AGPI, é que é o factor determinante na modificação da produção de eicosanóides.³²

ACÇÃO NA INFECCÃO

Ainda são escassos os estudos dos efeitos dos AGPI n-3 na resposta imunológica à infecção. A suplementação da dieta durante 13 semanas com AGPI n-3 (EPA e DHA) em ratos com tuberculose induzida experimentalmente, tem efeito facilitador da infecção com aumento do número de micobactérias em circulação e do índice de virulência, não havendo contudo diferenças para a suplementação

com AGPI n-6 (33). Em porcos, com inoculação intra-traqueal do *Mycoplasma pneumoniae*, a suplementação com AGPI n-3 durante 4 semanas, diminui a resposta inflamatória, com diminuição da produção de TNF e inflamação peribrônquica avaliada histologicamente.³⁴ Qualquer destes trabalhos confirma o efeito facilitador da ocorrência de infecção após suplementação da dieta com AGPI n-3.

ACÇÃO SOBRE DOENÇAS IMUNES

A baixa incidência de doenças cardiovasculares em populações que consomem grandes quantidades de AGPI n-3 (esquimós da Gronelândia, pe) desviou a atenção para outras evidências epidemiológicas nas mesmas populações como a baixa incidência de doenças autoimunes e inflamatórias como psoríase, asma e diabetes tipo I ou a completa ausência de esclerose múltipla. A maioria destas doenças são caracterizadas por activação inapropriada de células T, que resulta em destruição dos tecidos do hospedeiro. Tipicamente, os lugares de destruição (articulações na artrite reumatóide, tecido neural na esclerose múltipla) contém células T activadas, macrófagos e mediadores produzidos por estas células, como as citocinas, eicosanóides e espécies reactivas de oxigénio.

A capacidade dos ácidos gordos da dieta influenciarem a classe e as quantidades de derivados eicosanóides produzidos está já há muito demonstrada em experiências animais. Pelos papéis desempenhados pelos produtos das vias das LO e CO parece razoável que alterações nos lípidos da dieta modifiquem o curso das doenças inflamatórias. A partir deste conceito surgiram as primeiras experiências em modelos animais para investigar o papel dos AGPI em doenças inflamatórias.

O prognóstico favorável da suplementação da dieta com AGPI n-3 em grupos de doentes, evidenciado em estudos controlados e bem desenhados, fornece mais uma possibilidade de intervenção na terapêutica destes doentes.

Artrite Reumatóide

A artrite reumatóide é uma doença inflamatória crónica com envolvimento sistémico. Um agente etiológico, ou vários, desconhecido, inicia resposta imune não específica. Uma inflamação que se inicia na membrana sinovial destrói cartilagem e osso adjacente resultando daí deformidade articular. A artrite reumatóide afecta primariamente mulheres e está associada com HLA-DR4 que confere susceptibilidade genética.

Estudos recentes mostram que em grupos de doentes com artrite reumatóide, a suplementação com AGPI diminui a rigidez matinal, a artralgia, e em alguns doentes foi possível interromper o AINE.^{36,37}

Presume-se, como acima se explica, que os efeitos benéficos decorram por diminuição da produção de eicosa-

nóides inflamatórios. Contudo, é possível que alterações da transcrição de genes para interleucinas proinflamatórias e seus receptores sejam, outros mecanismos.

Na Universidade de Washington e em Fred Hutchinson Cancer Research Centre, em Seattle, foi realizado em 1996 um estudo populacional caso-controle comparando a dieta de 324 mulheres com artrite reumatóide e 1245 controlos. O odds ratio ajustado para consumo de AGPI n-3 e risco de artrite reumatóide variava de 0.78 a 0.57. Mais, os 10% de indivíduos do topo de consumo de AGPI n-3 apresentavam risco significativamente menor que o primeiro quartil (efeito dose dependente).³⁵

Lupus (LES)

O LES é uma doença autoimune, inflamatória, de etiologia desconhecida, que afecta principalmente mulheres em idade fértil. Uma das principais causas de morbidade e mortalidade do doente lúpico é a glomerulonefrite autoimune.

Estudos em modelos animais, ratos alimentados com AGPI n-3, apresentam incidências inferiores de proteinúria e mortalidade em relação ao grupo controlo, bem como alterações histológicas menores.

Em modelos experimentais de lúpus eritematoso sistémico (LES), a variação da quantidade de ingestão de EPA e DHA, está relacionada com a taxa de mortalidade em estirpes de ratos NZB ou NZW. A mortalidade variava directamente com a concentração tissular de AGPI n-3.³⁸

A sobrevida de ratos com nefrite lúpica induzida experimentalmente e a suplementados com AGPI n-3 é aumentada em comparação aos que recebem AGPI n-6. O aparecimento precoce de doença autoimune nos que receberam AGPI n-6 está relacionada com perda da função T. Quer a produção de IL-2, quer a expressão do receptor para a IL-2 estavam reduzidos pela perda de células T naïve e aumento células T memória. Nos ratos suplementados com n-3 a resposta proliferativa célula T a antigénios estava aumentada. Concomitantemente a estas alterações as células esplénicas apresentavam diminuição da produção de PGE2.³⁹

Sjögren (SS)

O SS é também uma doença inflamatória, crónica, que afecta as glândulas exócrinas, principalmente as lacrimais e salivares. A maioria dos doentes são mulheres, sendo a clínica caracterizada pela queratoconjuntivite seca. Oxholm et al verificaram em 41 doentes com síndrome de sjögren a relação inversa dos níveis de DHA e os níveis de anticorpos anti SSA/RO e factor reumatóide IgM.⁴⁰

Psoríase

A psoríase é uma das doenças dermatológicas mais desfigurantes e traumatizantes. Contudo a sua patogénese ainda não é conhecida e existem poucos tratamentos bem tolerados. Vários estudos mostram perturbação do metabolismo do AA nas placas psoríase, com concentrações

de AA e dos seus metabolitos proinflatórios aumentada.

Foi neste contexto que um grupo Internacional, liderado por Justus Liebig, realizou estudo randomizado, duplamente cego, em oito centros europeus. Doentes com psoríase receberam infusão endovenosa de AGPI n-3 ou n-6 durante 14 dias, tendo-se verificado para o grupo de AGPI n-3 melhoria significativa no Index de Severidade e Área de Psoríase (PASI).⁴¹

Asma

A asma é um síndrome clínico caracterizado pela obstrução reversível ao fluxo de ar que afecta cerca de 10% crianças e 5% adultos em países desenvolvidos. Representa por isso uma porção significativa dos gastos directos em serviços médicos (consultas, admissões hospitalares, meios auxiliares de diagnóstico) e indirectos pela morbilidade (absentismo, pior qualidade de vida).

Na fisiopatologia da asma o efeitos dos leucotrienos tem sido extensivamente revisto, com a investigação farmacológica dirigida na procura de agentes que inibam a libertação de ácido araquidónico (20:4 n-6) dos fosfolípidos da membrana, inibam a 5-lipooxigenase, ou sejam antagonistas dos receptores dos leucotrienos.

Para além dos seus potentes efeitos broncoconstritores os leucotrienos e outros produtos da via da 5-lipooxigenase provocam edema intersticial, migração eosinófilos, aumento da secreção de muco e proliferação de células musculares lisas e hematopoiéticas, assumindo um papel importante na biologia da parede da via respiratória.

A capacidade dos ácidos gordos da dieta influenciarem a classe e as quantidades de derivados eicosanóides produzidos está já há muito demonstrada experimentalmente. Os eicosanóides derivados do EPA (20:5 n-3) tem um espectro de actividade biológica que difere dos derivados do AA (20:4 n-6). Os leucotrienos da série 5 tem cerca de 10% da potência dos da série 4 e o tromboxano da série 3 é pouco agregante e fraco vasoconstritor.

Na asma alérgica, as células dendríticas, derivadas dos precursores CD34, estão presentes em grande número no epitélio e na submucosa das vias aéreas de asmáticos e desempenham papel fundamental no uptake de alérgenos e subsequente processamento para apresentação à célula T. No epitélio e na submucosa a célula dendrítica diferencia-se na presença do stem-cell factor e GM-CSF para exprimir CD1a e MHC classe II com perda progressiva da capacidade de segregar IL-2. Pela influência da IL-4 e TNF α , os receptores de alta e baixa afinidade para a IgE são apresentados à superfície da célula dendrítica que aumenta a sua capacidade de captura e processamento do antígeno. Naqueles geneticamente susceptíveis, a apresentação do antígeno a Th0, leva-os a diferenciar-se em células capazes de segregarem interleucinas codificadas pelo cluster do gene para a IL-4 e designadas células Th2-like.

Existe outra via de diferenciação de células T em que antígenos de microorganismos, na presença de concentrações elevadas de IL-12 das células dendríticas, induzem as células T a adoptar perfil Th1 com secreção de IL-2, IFN γ , TNF β . Estas duas populações de células T estão sob controle recíproco com a IL-4 a induzir resposta Th2 e a IL-12 resposta Th1. IL-10 das células Th2-like suprime função Th1, enquanto o interferão inibe resposta Th2.

As células dendríticas podem apresentar moléculas acessórias da série B7 (B7.1, B7.2) que interagem com CD28 nas células T, induzindo anergia ou fenómenos de apoptose. Através destes mecanismos a exposição repetida a alérgenos leva a resposta inflamatória crónica, mas este modelo tem algumas dificuldades em explicar a asma não alérgica ou a ocupacional, apesar de estudos nestes doentes mostrarem perfil de citocinas idêntico. Talvez a melhor explicação seja uma sensibilização IgE local e não sistémica, fornecendo assim o estímulo para o início e persistência da doença.

Vários estudos mostraram efeitos benéficos de DHA e EPA na melhoria dos sintomas e provas de função respiratória ou prova metacolina em doentes asmáticos.^{42;45} De facto, a suplementação da dieta com EPA durante 4 semanas, de modo a obtermos relação de ingestão de AGPI n-3:n-6 de 1:2, diminui os leucotrienos na urina e altera a concentração de metacolina necessária para provocar redução de 20% no FEV1.⁴⁶ Em doentes asmáticos e hiperlipidémicos a ingestão de 1800 mg/dia de EPA melhora score de sintomas, score terapêutico e peak flow, para além do efeito normolipidémico.⁴⁷ Em doentes asmáticos ou com febre dos fenos, sensíveis a pólenes, o aumento da ingestão de EPA não modifica o curso natural da doença durante a época polínica.⁴⁸

Um trabalho de Woolcock com 574 crianças entre 8 e 11 anos, mostrou que consumo de óleo de peixe era factor, independente e significativo, protector para desenvolvimento de asma.⁴⁹

Rinite

Estudos em doentes atópicos com rinite mostram que as células epiteliais da mucosa nasal destes indivíduos libertam quantidades significativamente maiores de IL-1, IL-8, GMC-SF e TNF que em controles saudáveis.⁵⁰

Pelos efeitos que as evidências experimentais demonstram para a suplementação da dieta com AGPI n-3 é natural pensar em possíveis benefícios neste grupo de doentes pela indução de perfil de resposta Th1 e diminuição dos níveis de citocinas inflamatórias e TNF. Ainda não existem estudos para confirmar esta hipótese.

Doença Inflamatória Intestinal

O emprego de anticorpos monoclonais, com o objetivo de inibir a activação de células T, tem produzido resultados estimulantes na doença inflamatória intestinal resistente. A utilização de anti-CD4 acompanha-se de índices de

remissão de cerca de 80% com a vantagem adicional da redução ou descontinuação da corticoterapia. Há, também, evidências, embora discutíveis, de resposta favorável imediata, clínica e endoscópica, à infusão venosa de anticorpos antifator de necrose tumoral em pacientes com doença de Crohn resistente aos corticosteróides.

A IL-1 é um importante mediador da colite experimental. Encontra-se aumentada, tanto quanto a IL-2 na mucosa lesada de pacientes com doença inflamatória intestinal. Além disso, a administração de altas doses de IL-2 reconhecidamente provoca exacerbações da doença de Crohn. O bloqueio dos receptores da IL-2 e o acoplamento da molécula a toxinas são motivo de investigação.

Vários metabólitos do ácido araquidônico participam do mecanismo amplificador do processo inflamatório na DII. Consequentemente, a inibição da produção de eicosanóides representa uma possibilidade terapêutica atraente. Por exemplo, uma das muitas funções dos corticosteróides consiste na regulação da atividade da lipoxigenase A2 de membrana o que reduz a biodisponibilidade de AA para a formação de leucotrienos. Outro exemplo é o do 5-ASA que inibe a 5-lipoxigenase.

Diferentes drogas inibidoras encontram-se sob investigação farmacológica, tendo em vista sua aplicabilidade na DII. Dependendo do modo de ação, tais fármacos podem ser divididos em dois grupos: inibidores diretos da atividade da 5-lipoxigenase, inibidores da proteína ativadora da 5-lipoxigenase (PAL). O zileuton pertence ao primeiro grupo. O MK-886 é uma substância do segundo grupo, com potente atividade inibitória sobre a biossíntese de LTB₄. Tem atividade prolongada, excelente biodisponibilidade e nenhuma toxicidade em animais, nos quais age controlando a resposta inflamatória induzida experimentalmente. O metabolismo do AA oferece vários outros pontos passíveis de interferência farmacológica que podem ser explorados com propósitos terapêuticos.

Dois metabólitos do AA estão aumentados na doença inflamatória intestinal: LTB₄ e PGE₂. Como os AGPI n-3 diminuem a produção destes eicosanóides, a suplementação destes doentes com n-3 está associada a melhoria das alterações histológicas.

A suplementação da dieta durante 7 meses com AGPI n-3, aumenta o conteúdo destes ácidos nos fosfolípidos dos enterócitos em doentes com doença inflamatória intestinal. A produção de derivados prostanóides do ácido araquidônico é reduzida e a extensão e severidade do envolvimento macroscópico melhorava moderadamente. Contudo, em doentes com doença de Crohn, a actividade clínica não foi alterada pela suplementação e o benefício foi apenas para doentes com colite ulcerosa.⁵¹

Em outro estudo prospectivo, duplamente cego, com 78 doentes com Doença de Crohn a administração de formulação entérica de óleo de peixe com cerca de

2.7 grama de AGPI n-3 diária durante 12 meses, manteve 59% do grupo em remissão contra apenas 26% para o placebo.⁵²

Transplante

Em ratos submetidos a alotransplante pulmonar ortotópico, e suplementados com DHA na dose de 0.5 g/kg/dia até ao 4º dia pós transplante, estudos da morfologia, lavado broncoalveolar e células sanguíneas periféricas (polimorfonucleares e linfócitos) mostraram alterações histológicas menores, e menos linfócitos e mais leucócitos polimorfonucleares periféricos e no lavado broncoalveolar, sugerindo assim efeito imunossupressor.⁵³

A resposta graft vs host localizada, uma medida da imunidade celular diminui progressivamente com o aumento da relação n-3:n-6 da dieta.⁵⁴ A injeção de uma emulsão com ácido di-homo- γ -linolénico em ratos diminui a reacção de hipersensibilidade retardada.⁵⁵

A inibição da reacção de hipersensibilidade retardada é uma possibilidade de intervenção na rejeição de transplante.

A nefrotoxicidade da ciclosporina é influenciada pelo consumo de AGPI n-3 pela interferência com a farmacocinética da droga. O consumo de AGPI n-3 está associado a menores variações farmacocinéticas e risco reduzido de rejeição (PUFA Newsletter- Vol. 2 - No. 4 - December 1998).

Cancro

Nas populações ocidentais os carcinomas da mama e cólon são os de maior incidência. Ambos mostram relação significativa com consumo de gorduras alimentares. Em estudos caso-control, a ingestão de gordura está mais relacionada com carcinoma do cólon que da mama. Ainda não existem informações suficientes acerca da influência dos AGPI n-3 da dieta e a incidência de carcinomas, mas parece que esta está mais dependente da quantidade que da qualidade da gordura.

Porque a diminuição de função de células T está implicada na resistência ao cancro, a influência dos AGPI n-3 na carcinogénese é motivo de preocupação. Estudos animais mostram que AGPI n-6 podem ter efeito promotor, enquanto AGPI n-3 tem efeito inibidor do carcinoma da mama e cólon. Num estudo humano (Carroll and Braden, 1984), baixos níveis de ácido linolénico estavam associados com metástases precoces para mama. Questões dietéticas que estão a ser avaliadas, mas ainda não resolvidas incluem os efeitos da quantidade total de lípidos ingerida em relação ao aporte calórico total, composição da dieta, necessidades de ácido linoleico e interações da gordura com outros nutrientes.

A evidência de que AG exercem influência na carcinogénese provém de dados epidemiológicos e experiências animais. A gordura actua como promotor da carcinogénese e os efeitos dependem do tipo e quantidade

de gordura da dieta. AGPI n-6 aumentam a tumorigénese mamária, mas o óleo de peixe, rico em AGPI n-3, tem efeito inibitório. Em ratos tratados com N-etil-N-nitrosureia, a incidência de carcinoma da mama é significativamente menor no grupo com dieta suplementada com AGPI n-3 em relação n-6⁶⁵). Estes factos sugerem que o efeito pode estar relacionado com a produção de prostaglandinas ou outros eicosanóides.^{57,58} Vários estudos mostram que AGPI n-3 alteram uma variedade de intermediários biológicos e inibem a carcinogénese, provavelmente afectando a via de produção de eicosanóides.⁵⁹

O sistema imune influencia o desenvolvimento e crescimento de tumores, incluindo os do colon. A maioria dos estudos da função imune utiliza células do sangue, contudo a mucosa colónica contém linfócitos que podem ter impacto fundamental na formação de tumores. Os linfócitos colónicos de ratos alimentados com AGPI n-6 tem níveis aumentados de AA e de produção de PGE2 em relação aos alimentados com AGPI n-3.⁶⁰

Erickson et al estudaram o efeito de dietas enriquecidas em AGPI n-3 na actividade antitumoral e produção de TNF- α pelos macrófagos. Óleo de peixe diminui a resposta dos macrófagos ao INT-gama, a capacidade citolítica de macrófagos activados por alvos tumorais, provavelmente via modulação da produção da PGE2.⁶¹

Dietas ricas em AGPI n-6 (ac linoleico) estimulam o crescimento e metástase de carcinoma da mama, pelo contrário dietas enriquecidas em AGPI n-3 (EPA, DHA) tem efeitos supressores. O crescimento do tumor estava significativamente atrasado em ratos com dietas suplementadas com AGPI n-3. A ocorrência de metástases pulmonares estava significativamente diminuída no mesmo grupo. No grupo de ratos alimentados com DHA, EPA, a representação destes ácidos nos fosfolípidos das membranas estava aumentada, com redução estatisticamente significativa nas concentrações de ácido araquidónico e derivados eicosanóides.⁶²

Em ratos alimentados com AGPI n-6 a concentração nas membranas de AA e ácido linoleico e produção de PGE2 eram superiores aos alimentados com AGPI n-3.⁶³

Num estudo recente, o ácido gamalinolénico apresenta diferença significativa na capacidade de expressão do gene de supressão tumoral - nm-23-H1, em relação aos ácidos araquidónico ou linoleico. O aumento da síntese de nm-23-H1 pelo ácido gamalinolénico foi verificado a nível de expressão de RNAm e de proteína. O aumento de nm-23 está relacionado com diminuição da capacidade invasiva da célula tumoral.⁶⁴

MECANISMO DE ACÇÃO

As vias de activação intracelular envolvem uma série complexa de reacções que levam a processos de biossíntese reguladores da expressão génica.

Para a activação da célula T é necessário que haja interacção do receptor da célula T (TCR) com o complexo epítotope homólogo-MHC II apresentado pela célula apresentadora de antigénio. Este é o sinal específico de antigénio e são necessários 10 a 100 destes sinais para a activação. Nesta interacção são também importantes as moléculas de adesão como ICAM 1 ao manterem as células juntas e as citocinas IL-1, IL-6 que também participam no processo de activação.

A ligação do complexo epítotope-MHCII com o TCR activa a Tirosina Cínase (associada aos domínios intracitoplasmáticos de CD3 e CD4) que fosforila a fosfolipase C o que origina trifosfato de inositol (IP3) e diacilglicerol (DAG). O IP3 promove o aumento de cálcio intracelular, ao libertá-lo dos organelos celulares, activando a calmodulina, que activa a Proteína Cínase A. O DAG activa a Proteína Cínase C. Ambas, proteínas cínases A e C, estão envolvidas na expressão de proteínas que regulam a expressão génica.

O Factor Nuclear (NF) de Células T activadas é exprimido depois da célula T activada e liga-se a uma sequência promotora para o gene da IL-2. Uma segunda proteína, NF- κ B, promove a transcrição do gene para o receptor da IL-2.

Os ácidos gordos poliinsaturados exercem as suas acções de duas formas: alteram a produção de mediadores envolvidos na comunicação entre células do sistema imune (eicosanóides, citocinas, NO) e alteram a expressão de moléculas à superfície da célula (moléculas de adesão) (Fig 7). A produção de citocinas e NO é regulada pelos eicosanóides e portanto as variações na produção de eicosanóides pelos AGPI n-3 podem pelo menos em parte explicar o seu mecanismo de acção. Contudo outros mecanismos devem ser considerados, nomeadamente a regulação da expressão de genes envolvidos na síntese de citocinas, moléculas de adesão e NO.



Fig. 7 — Mecanismo de acção

Os estudos para a influência dos AGPI na modulação da expressão génica são recentes e extraordinariamente escassos.

Moléculas de adesão

A diminuição da aderência de monócitos deriva provavelmente da diminuição de moléculas de aderência endotelial VCAM-1 e ELAM-1.⁶⁸ Os AGPI oxidados inibem a activação de factores de transcrição, como NF- κ B e a consequente indução de RNAm para moléculas de adesão.⁶⁹ Esta propriedade ajuda a explicar para além do efeito antiinflamatório o efeito antiaterogénico dos AGPI.

Citoquinas e eicosanóides

Os níveis de RNAm para o receptor da IL-2 em linfócitos esplénicos de ratos com dieta suplementada em EPA e DHA estimulados pela concanavalina A estão diminuídos em relação aos controlos.⁶⁵ Em culturas de células endoteliais de ratos, enriquecidas com AGPI n-3, a produção de PGH₂ está significativamente reduzida, com diminuição dos níveis de RNAm para a sintetase da PGH.⁶⁶ Em cultura de fibroblastos, o AA aumenta significativamente a incorporação de timidina radioactiva em relação ao EPA ou DHA, aumentando os níveis de PGE₂.⁶⁷

REGULAÇÃO DA TRANSCRIÇÃO

Pelos exemplos dados, existe a evidência experimental que os AGPI n-3 modulam a expressão génica, nomeadamente diminuído a síntese de RNAm para a IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α e da sintetase do NO. Os mecanismos que utilizam podem ser por acção a dois níveis: alteração nas vias de transdução de sinal da membrana celular aos factores de transcrição, ou alternativamente, por acção directa em factores de transcrição e por isso alterando a sua actividade (Fig 8).

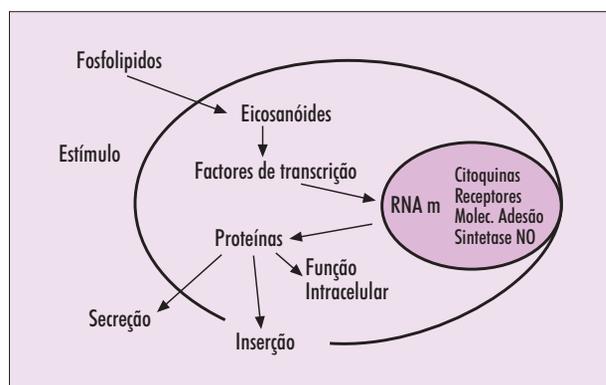


Fig. 8 — Resumo do mecanismo de acção provável dos AGPI n-3

A via de transdução de sinal

Muitos lipídios estão envolvidos directamente em vias de transdução de sinal.⁷⁰ A hidrólise de fosfolípidos da membrana como PIP₂ e fosfatidilcolina por fosfolipases origina segundos mensageiros como diacilglicerol(DAG) e trifosfato de inositol (IP₃). Por outro lado, outros fosfolípidos, como fosfatidilserina é necessária é necessária para a activação da proteína cínase C (PKC). O DAG

também pode activar isoformas de PKC e de esfingomielinase para produzir ceramida (2º mensageiro). A ceramida por sua vez pode ser convertida a esfingosina que activa algumas fosfolipases e inibe PKC. Como DAG, PIP₂, PC, Pserina contém ácidos gordos, é lógico admitir que modificando o tipo de ácido gordo podemos alterar as propriedades desta via.

Foi também proposto que AGPI da família n-3 possam ter efeito directo na via de transdução de sinal. Este efeito directo foi extensivamente documentado em relação à actividade da PKC que se mostra aumentada pelo DHA. Num estudo a transcrição de c-jun foi independente da activação da proteína cínase C, dos metabolitos do AA e verificou-se que o AA é ele próprio o 2º mensageiro da via de transdução de sinal.⁷¹

A alteração da concentração intracelular de cálcio livre é uma das alterações que fazem parte da via de transdução de sinal em linfócitos, macrófagos e outras células após a estimulação por factores de crescimento, citoquinas ou antigénios. Existe evidência de que os AGPI influenciam estas alterações, já que ácido oleico, mas não o esteárico, inibe na célula estimulada a subida do cálcio livre. Em outros estudos os ácidos linolénico, DHA e EPA tinham os mesmos efeitos em células estimuladas por antiCD3. Os ácidos gordos parecem agir por acção directa nos canais de cálcio, bloqueando a sua entrada na célula. A diminuição dos níveis de IP₃, por diminuição da actividade da fosfolipase também contribui para a diminuição dos níveis intracelulares de cálcio.

Factores de transcrição em células do sistema imune

Os linfócitos e outras células do sistema imune contém muitos factores de transcrição. Factor de transcrição nuclear κ B (NF- κ B), factor de transcrição nuclear de células T activadas (NFAT), AP-1, vários produtos de oncogenes (myc, fos), factores de transcrição específicos como NF-IL-2, NF-IL-6, e NF-ICAM-1. **NF- κ B** desempenha um papel fundamental na regulação da síntese das citoquinas IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α e INF- γ , dos receptores das interleucinas, de moléculas de adesão CD54, CD62E e CD106, e de enzimas envolvidas na geração de mediadores como sintetase de iNO e de proteínas de fase aguda. **NF- κ B é activado** pela fosforilação e subsequente dissociação de uma das suas três unidades, o inibidor- κ B (I- κ B), este deixa o dímero restante livre para se translocar para o núcleo e ligar-se aos genes alvo. Parece, que em resposta a algum estímulo, a fosforilação do NF- κ B é feita pela PKC, o que de acordo com o que acima se explica pode ser inibido ou limitado pelos AGPI que reduzem a activação da PKC, e deste modo limitar a transcrição de genes para citoquinas, receptores e moléculas de adesão. A ceramida também pode activar independentemente o NF- κ B e por isso a sua diminuição provocada pelos AGPI também contribui para a diminuição da transcrição.

AGPI das famílias n-3 e n-6 comandam a síntese hepática de lipídios e oxidação pela supressão de transcrição de genes hepáticos que codificam enzimas lipogénicas e glicolíticas enquanto concomitantemente induzem enzimas mitocondriais e peroxisomiais de oxidação de ácidos gordos.⁷² Recentemente, um grupo de factores de transcrição nucleares activados pelos AGPI, designado peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) foi clonado. A descoberta dos PPAR levou-nos à hipótese que os AGPI modulam a transcrição de genes lipogénicos e oxidativos via PPAR. Clarke et al⁷³ demonstraram que a alimentação de ratos com um potente activador PPAR, o ácido eicosatetraínico, induz o aumento de RNAm para a peroxisomal acyl-CoA oxidase, mas inesperadamente não diminui a sintetase hepática dos AG, portanto o PPAR não é o único factor responsável pela regulação da síntese e oxidação lipídica pelos AGPI.

CONCLUSÃO

Existem muitas evidências que mostram que em estudos bem desenhados e controlados a ingestão de ácidos gordos poliinsaturados n-3 pode ter efeitos profundos em modelos animais de doença autoimune. Estudos em humanos, não tem contudo apresentado resultados tão satisfatórios, em parte porque existem outras variáveis não facilmente controláveis como a genética, dieta relativamente mal controlada, infecção e outras influências ambientais. O impacto dos ácidos gordos da dieta em modelos animais parece depender do modelo animal, no tipo e na quantidade de ácidos gordos ingeridos. Dietas pobres em lipídios, deficientes em ácidos gordos essenciais, ou ricas em óleos de peixe, aumentam a sobrevida e reduzem a severidade da doença em doenças induzidas por auto anticorpos, enquanto dieta rica em ácido linoleico parece aumentar a gravidade da doença.

Supressão da proliferação célula T, apoptose de linfócitos autoreactivos e diminuição da produção de citocinas próinflamatórias por óleo de peixe em doses elevadas, são todos mecanismos pelos quais actuam AGPI n-3. Para além destes efeitos, imunoreguladores, a inflamação como consequência da activação imune em doenças autoimunes pode ser também um importante mecanismo de acção pelo qual os AGPI modulam a actividade da doença.

Em resumo: regulação da expressão génica, vias de transdução de sinal, produção de eicosanóides e citocinas e acção de enzimas antioxidantes são todos mecanismos pelos quais AGPI exercem os seus efeitos.

A realização de estudos controlados e bem desenhados, em humanos, será no futuro a melhor forma de esclarecermos qual o papel destes agentes na promoção e melhoria da qualidade de vida dos doentes.

BIBLIOGRAFIA

1. **Dyerberg, J.** Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. **Bang H.O.** *Am J Clin Nutr* (28), 958. 1975.
2. **Dyerberg, J.** Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis. **Bang H.O., Stofferson E, and Mocada S.** *Lancet* i, 117. 1978.
3. **Kinsella JE.** Lipids, membrane receptors, and enzymes: effects of dietary fatty acids. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1990;14:200S-217S.
4. **Garg ML, Thomson AB, Clandinin MT.** Interactions of saturated, n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids to modulate arachidonic acid metabolism. *J Lipid Res* 1990;31:271-277.
5. **Gibney, M. J. and Huth, P.** The effects of short and long term supplementation with fish oil on the incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids into cells of the immune system in healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr* 47, 255-259. 1993.
6. **Quoc KP, Pascaud M.** Effects of dietary gamma-linolenic acid on the tissue phospholipid fatty acid composition and the synthesis of eicosanoids in rats. *Ann Nutr Metab* 1996;40:99-108.
7. **Schmidt EB, Dyerberg J.** n-3 fatty acids and leucocytes. *J Intern Med Suppl* 1989;225:151-158.
8. **Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC.** The effect of dietary lipid manipulation on rat lymphocyte subsets and proliferation. *Immunology* 1994;82:603-610.
9. **Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC.** Inhibition of natural killer cell activity by dietary lipids. *Immunol Lett* 1994; 41:241-247.
10. **Laura J.Jenskia JMSLDCVANAWS.** The Triggering Signal Dictates the Effect of Docosahexaenoic Acid on Lymphocyte Function in vitro. *Lipids* 1998;33:869-878.
11. **Rotondo D, Earl CR, Laing KJ, Kaimakamis D.** Inhibition of cytokine-stimulated thymic lymphocyte proliferation by fatty acids: the role of eicosanoids. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1223:185-194.
12. **Jeffery NM, Sanderson P, Sherrington EJ, Newsholme EA, Calder PC.** The ratio of n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids in the rat diet alters serum lipid levels and lymphocyte functions. *Lipids* 1996;31:737-745.
13. **Somers SD, Erickson KL.** Alteration of tumor necrosis factor-alpha production by macrophages from mice fed diets high in eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acids. *Cell Immunol* 1994;153:287-297.
14. **Black JM, Kinsella JE.** Dietary n-3 fatty acids alter murine peritoneal macrophage cytotoxicity. *Ann Nutr Metab* 1993; 37:110-120.
15. **Hubbard NE, Chapkin RS, Erickson KL.** Effect of dietary linseed oil on tumoricidal activity and eicosanoid production in murine macrophages. *Lipids* 1994;29:651-655.
16. **Iversen, L. Fogh K. Bojesen G. and Kragballe K.** Linoleic acid and dihomogammalinolenic acid inhibit leukotriene B4 formation and stimulate the formation of their 15-lipoxygenase products by human neutrophils *in vitro*. Evidence of formation of anti-inflammatory compounds. *Agents and Actions* 33(3), 286. 1991.
17. **Sanderson P, MacPherson GG, Jenkins CH, Calder PC.** Dietary fish oil diminishes the antigen presentation activity of rat dendritic cells. *J Leukoc Biol* 1997;62:771-777.
18. **Hughes DA, Pinder AC, and Piper, Z.** Fish oil supplementation inhibits the expression of major histocompatibility complex class II molecules on human monocytes. *Am J Clin Nutr* 63, 769-773. 1996.
19. **Yagaloff, K. A. Franco L. Simko B. and Burghardt B.** Essential fatty acids are antagonists of the Leukotriene B4 receptor. Prostagland. Leukotri. *Ess.Fatty Acids.* 52, 293. 1995.

20. **Yaqoob, P. and Calder, P. C.** The effects of dietary lipid manipulation on the production of murine T-cell-derived cytokines. *Cytoquine* 7, 548-553. 1995.
21. **Lokesh, B. R., Sayers TJ, and Kinsella, J. E.** Interleukine 1 and tumoral necrosis factor synthesis by mouse peritoneal macrophages is enhanced by dietary n-3 polyunsaturated fatty acids. *Immunol Lett* 23, 281-286. 1993.
22. **Renier J, Skamene E, and de Sanctis J.** Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids prevent the development of atherosclerotic lesions in mice: modulation of macrophage secretory activities. *Arteriosclero Thomb* 13, 1515-1524. 1993.
23. **Chandrasekar B and Fernandes, G.** Decreased proinflammatory cytokines and increased antioxidant enzyme gene expression by n-3 lipids in murine lupus nephritis. *Biochem Biophys Res Comm* 200, 893-898. 1994.
24. Dietary supplementation with n-3 fatty acids suppresses interleukine 2 production and mononuclear cell proliferation. *J Leukoc Biol* 54, 599-603. 1993.
25. **Erickson KL, Adams DA, Scibienski RJ.** Dietary fatty acid modulation of murine B-cell responsiveness. *J Nutr* 1986; 116:1830-1840.
26. **Boutard V.** Fish oil supplementation and essential fatty acid deficiency reduce nitric oxide synthesis by rat macrophages. **Fouquery B, Philippe C, Perez J., and Baud L.** *Kidney. Int* (46), 1280-1286. 1994.
27. **Harris WS.** n-3 Fatty acids and urinary excretion of nitric oxid metabolites in humans. **Rambjor GS, Windsor SL, and Diederich D.** *Am J Clin Nutr* 65, 459-464. 1997.
28. **Sanderson P, Yaqoob P, Calder PC.** Effects of dietary lipid manipulation upon graft vs host and host vs graft responses in the rat. *Cell Immunol* 1995;164:240-247.
29. **Sanderson, P.** Effects of dietary lipid manipulation upon rat spleen lymphocyte functions and the expression of lymphocyte surface molecules. **Yaqoob, P. and Calder, P. C.** *Journal of Nutritional and Environmental Medicine* 5, 119-132. 1995.
30. **Hughes DA, Pinder AC, Piper Z, Lund EK.** N-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) modulate the expression of functionally associated molecules on human monocytes. *Biochem Soc Trans* 1995;23:303S
31. **Hughes DA, Pinder AC.** Influence of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) on the antigen-presenting function of human monocytes. *Biochem Soc Trans* 1996;24:389S
32. **Boudreau MD, Chanmugam PS, Hart SB, Lee SH, Hwang DH.** Lack of dose response by dietary n-3 fatty acids at a constant ratio of n-3 to n-6 fatty acids in suppressing eicosanoid biosynthesis from arachidonic acid. *Am J Clin Nutr* 1991;54:111-117.
33. **Gorelova JY, Semikina EM.** The changes of lymphocyte membrane receptors in bronchial asthma and atopic dermatitis in pediatric patients receiving treatment with polyenic fatty acids. *Z Ernahrungswiss* 1998; 37 Suppl 1:142-143.
34. **Turek JJ, Schoenlein IA, Watkins BA, Van Alstine WG, Clark LK, Knox K.** Dietary polyunsaturated fatty acids modulate responses of pigs to Mycoplasma hyopneumoniae infection. *J Nutr* 1996;126:1541-1548.
35. **Shapiro J, Koepsell T Voigt L Dugowson C Kestin M Lee Nelson J.** Diet and rheumatoid arthritis in women: A possible protective effect of fish consumption. *Epidemiology* 7(3), 256-263. 1996.
36. **Kremer JM.** Effects of modulation of inflammatory and immune parameters in patients with rheumatic and inflammatory disease receiving dietary supplementation of n-3 and n-6 fatty acids. *Lipids* 1996; 31 Suppl:S243-S247.
37. **Cathcart ES, Gonnerman WA, Leslie CA, Hayes KC.** Dietary n-3 fatty acids and arthritis. *J Intern Med Suppl* 1989;225: 217-223.
38. **Robinson DR, Prickett JD, Polisson R, Steinberg AD, Levine L.** The protective effect of dietary fish oil on murine lupus. *Prostaglandins* 1985; 30:51-75.
39. **Fernandes G, Chandrasekar B, Luan X, Troyer DA.** Modulation of antioxidant enzymes and programmed cell death by n-3 fatty acids. *Lipids* 1996;31 Suppl:S91-S96
40. **Oxholm P, Asmussen K, Wiik A, Horrobin DF.** Essential fatty acid status in cell membranes and plasma of patients with primary Sjögren's syndrome. Correlations to clinical and immunologic variables using a new model for classification and assessment of disease manifestations. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1998; 59:239-245.
41. **Mayser P, Mrowietz U Arenberger P.** Omega-3 fatty acid-based lipid infusion in patients with chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, multi-center trial. *J Am Acad Dermatol* 38, 539-547. 1998.
42. **Arm JP, Thien FC, Lee TH.** Leukotrienes, fish-oil, and asthma. *Allergy Proc* 1994;15:129-134.
43. **Masuev KA.** [The effect of polyunsaturated fatty acids on the biochemical indices of bronchial asthma patients]. *Ter Arkh* 1997; 69:33-35.
44. **Masuev KA.** [The effect of polyunsaturated fatty acids of the omega-3 class on the late phase of the allergic reaction in bronchial asthma patients]. *Ter Arkh* 1997; 69:31-33.
45. **Dry J, Vincent D.** Effect of a fish oil diet on asthma: results of a 1-year double-blind study. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991; 95:156-157.
46. **K S Broughton, Cody S Johnson, Bobin K Pace, Michael Liebman, and Khalfoun, B.** Reduced asthma symptoms with n-3 fatty acid ingestion are related to 5-series leukotriene production. *Am J Clin Nutr* 65, 1011-1017. 1997.
47. **Hashimoto N, Majima T, Ichimura K, Iwata T, Suguro H, Horie T.** [Effects of eicosapentaenoic acid in patients with bronchial asthma]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1997; 35:634-640.
48. **Thien FC, Mencia-Huerta JM, Lee TH.** Dietary fish oil effects on seasonal hay fever and asthma in pollen - sensitive subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1138-1143.
49. **Hodge L, Salome C Peat J Haby M Xuan W Woolcock A.** Consumption of oily fish and childhood asthma risk. *Med J of Australia* 164, 137-140. 5-2-1996.
50. **Moises A Calderon, Jagdish L Devalia, Andrew J Prior, Raymond J Sapsford, and Robert J Davies.** A comparison of cytokine release from epithelial cells cultered from nasal biopsy specimens of atopic patients with and without rhinitis and nonatopic subjects without rhinitis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 99(1), 65-76. 1997.
51. **Lorenz R, Weber PC, Szimnau P, Heldwein W, Strasser T, Loeschke K.** Supplementation with n-3 fatty acids from fish oil in chronic inflammatory bowel disease - a randomized, placebo-controlled, double - blind cross-over trial. *J Intern Med Suppl* 1989; 225:225-232.
52. **Belluzzi A.** Effect of an enteric-coated fish oil preparation on relapses in Crohn's disease. *New Eng. J of Med* 334(24), 1557-1560. 1996.
53. **Sasaki H, Hirose H, Sakai S, Zhang YQ, Hamazaki T.** [Immunosuppressive effect of intravenously injected docosahexaenoic acid on single lung allotransplantation in the rat]. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi* 1996;44:936-944.
54. **Jeffery NM, Sanderson P, Sherrington EJ, Newsholme EA, Calder PC.** The ratio of n-6 to n-3 polyunsaturated fatty acids in the rat diet alters serum lipid levels and lymphocyte functions. *Lipids* 1996;31:737-745.

55. **Taki, H, Nakamura N, Hamazaki T. and Kobayashi M.** Intravenous injection of tridihomo-gamma-linolenyl-glycerol into mice and its effects on delayed-type hypersensitivity. *Lipids* 28, 873. 1993.
56. **Williams CM, Maunder K.** The influence of dietary fatty acid composition on N-ethyl-N-nitrosourea-induced mammary tumour incidence in the rat and on the composition of inositol - and ethanolamine-phospholipids of normal and tumour mammary tissue. *Br J Nutr* 1994;71:543-552.
57. **Carroll KK, Braden LM.** Dietary fat and mammary carcinogenesis. *Nutr Cancer* 1984;6:254-259.
58. **Karmali RA.** Eicosanoids in neoplasia. *Prev Med* 1987;16:493-502.
59. **Klurfeld DM, Bull AW.** Fatty acids and colon cancer in experimental models. *Am J Clin Nutr* 1997;66:1530S-1538S.
60. **Kuratko CN, Becker SA.** Dietary lipids alter fatty acid composition and PGE2 production in colonic lymphocytes. *Nutr Cancer* 1998;31:56-61.
61. **Erickson KL, Hubbard NE.** Dietary fish oil modulation of macrophage tumoricidal activity. *Nutrition* 1996;12:S34-S38.
62. **Rose DP, Connolly JM, Rayburn J, Coleman M.** Influence of diets containing eicosapentaenoic or docosahexaenoic acid on growth and metastasis of breast cancer cells in nude mice. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:587-592.
63. **Kuratko CN, Becker SA.** Dietary lipids alter fatty acid composition and PGE2 production in colonic lymphocytes. *Nutr Cancer* 1998; 31:56-61.
64. **Clarke SD, Baillie R, Jump DB, Nakamura MT.** Fatty acid regulation of gene expression. Its role in fuel partitioning and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci* 1997;827:178-187.
65. **Jolly CA, McMurray DN, Chapkin RS.** Effect of dietary n-3 fatty acids on interleukin-2 and interleukin-2 receptor alpha expression in activated murine lymphocytes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1998;58:289-293.
66. **Achard F, Gilbert M, Benistant C, et al.** Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids reduce PGH synthase 1 expression in bovine aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;241:513-518.
67. **Danesch U, Weber PC, Sellmayer A.** Differential effects of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on cell growth and early gene expression in Swiss 3T3 fibroblasts. *J Cell Physiol* 1996; 168:618-624.
68. **Weber C, Erl W, Pietsch A, Danesch U, Weber PC.** Docosahexaenoic acid selectively attenuates induction of vascular cell adhesion molecule-1 and subsequent monocytic cell adhesion to human endothelial cells stimulated by tumor necrosis factor-alpha. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:622-628.
69. **Sethi S, Eastman AY, Eaton JW.** Inhibition of phagocyte-endothelium interactions by oxidized fatty acids: a natural anti-inflammatory mechanism? *J Lab Clin Med* 1996;128:27-38.
70. **Sellmayer A, Danesch U, Weber PC.** Modulation of the expression of early genes by polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;57:353-357.
71. **Rizzo MT, Carlo-Stella C.** Arachidonic acid mediates interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha-induced activation of the c-jun amino-terminal kinases in stromal cells. *Blood* 1996;88: 3792-3800.
72. **Clarke SD, Jump DB.** Polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Lipids* 1996;31 Suppl:S7-11.
73. **Clarke SD, Jump D.** Polyunsaturated fatty acids regulate lipogenic and peroxisomal gene expression by independent mechanisms [published erratum appears in *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997 Oct;57(4-5):526]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;57:65-69.

Correspondência:

André Moreira
 Unidade de Imunoalergologia, Hospital S. João
 Alameda Prof. Hernâni Monteiro, 4202-451 Porto
 E-mail: andremoreira@netc.pt