



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS TRINDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE NUTRIÇÃO

Lígia Prietsch de Souza

O efeito da dieta com ácidos graxos ômega 3 (ω -3-PUFAs) na resposta inflamatória induzida por lipopolissacarídeos (LPS) em modelo animal com roedores. Uma revisão.

Florianópolis

2021

Lígia Prietsch de Souza

O efeito da dieta com ácidos graxos ômega 3 (ω -3-PUFAs) na resposta inflamatória induzida por lipopolissacarídeos (LPS) em modelo animal com roedores. Uma revisão.

Dissertação/Tese submetida ao Programa de Pós-graduação de Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Nutrição

Orientador: Prof. Júlia Dúbois Moreira, Dr.

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Prietsch de Souza, Lígia

O efeito da dieta com ácidos graxos ômega 3 (ω -3-PUFAs) na resposta inflamatória induzida por lipopolissacarídeos (LPS) em modelo animal com roedores. : Uma revisão /

Lígia Prietsch de Souza ; orientador, Júlia Dúbois Moreira, 2021.

61 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Nutrição. 2. Dieta com ácidos graxos omega 3. 3. inflamação sistêmica . 4. lipopolissacarídeos. 5. nutrição experimental . I. Dúbois Moreira, Júlia. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

Lígia Prietsch de Souza

O efeito da dieta com ácidos graxos ômega 3 (ω -3-PUFAs) na resposta inflamatória induzida por lipopolissacarídeos (LPS) em modelo animal com roedores. Uma revisão.

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Daniela Barbieri Hauschild, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Elisabeth Wazlawik, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. (a) Leticia Ramalho
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Nutrição.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof.(a) Júlia Dubois Moreira, Dr.(a)
Orientador(a)

Florianópolis, 2021

Dedico esse trabalho a Deus, ao meu esposo, familiares e aos meus amigos, que, nos momentos mais difíceis, sempre estiveram presentes.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha orientadora e professora Júlia Dúbois Moreira por acreditar nesse projeto e me auxiliar nas mudanças necessárias para que eu pudesse terminá-lo. Agradeço, também, ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina pelo apoio para que o estudo se concretizasse.

Sou grata a Deus por ter me dado forças para chegar até aqui. Também agradeço o apoio do meu esposo Rodrigo, da minha psicóloga Silvia e da minha amiga e colega de profissão Fernanda. Vocês sempre me incentivaram, mesmo nos dias em que não acreditava mais que seria capaz.

RESUMO

Estudos experimentais têm utilizado modelos de indução à inflamação com uma endotoxina de bactérias Gram-negativas chamada lipopolissacarídeos (LPS) para buscar estratégias terapêuticas e profiláticas nos processos inflamatórios e infecciosos. (Kingsley, SM & Bhat, BV 2016; Lepper, PM., 2002; Kuzmich, NN., et 2017). O LPS pode provocar uma resposta inflamatória no hospedeiro através de seu reconhecimento por diferentes sensores do sistema imune inato, principalmente através dos receptores do tipo Toll-like (TLR). (Manček-Keber & Jerala, 2015; Ciesielska A, et al., 2021).

Dentre as abordagens nutricionais anti-inflamatórias, os ácidos graxos poliinsaturados ω 3 (ω -3-PUFAs) têm sido estabelecidos na literatura como precursores de mediadores lipídicos anti-inflamatórios e moduladores da resposta inflamatória. (Serhan CN & Levy BD., 2018; Chen et al., 2017; Keapai et al., 2016; Manuscript., 2013). Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi investigar o que fornece literatura existente nos últimos dez anos no que tange aos efeitos da dieta com ω -3-PUFAs sobre a resposta inflamatória gerada por inflamação induzida por LPS em modelo animal com roedores. Nesta revisão, foram incluídos 21 artigos, separados de acordo com a dose endotoxina LPS utilizada para indução da inflamação de alto grau ou de baixo grau.

A expressão de citocinas pró-inflamatórias, mediada por TLR4 e NF- κ B, foi significativamente aumentada em resposta à administração sistêmica de LPS. O tratamento com ω -3-PUFAs parece atenuar a resposta inflamatória, reduzindo a atividade de citocinas como TNF- α , IL-6 e IL-1 β e estimulando a secreção da citocina anti-inflamatória, como IL-10, em diferentes doses de LPS, antes ou concomitante à inflamação (Shi et al., 2020; Coquerel, D., et al 2013; Ramos et al., 2019).

Os resultados dessa revisão não apenas fornecem informações sobre como os lipídios podem influenciar a resposta infecciosa ao LPS, mas também sugerem um papel para os ω -3-PUFAs de prevenção e de terapia aplicável frente à regulação da resposta inflamatória.

Palavras-chave: Lipopolissacarídeos, ω -3 PUFA, ácidos graxos ômega 3, inflamação, roedores, mediadores inflamatórios, sepse.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Causas e resultados fisiológicos da inflamação	16
Figura 2: Papel do receptor TRL na inflamação	18
Figura 3: Marcadores inflamatórios e proteínas de fase aguda	19
Figura 4: Reconhecimento do complexo LPS-LBP pelo receptor TLR4.....	20
Figura 5: O NFkB como mediador inflamatório	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estudos experimentais com inflamação de alto grau	15
Tabela 2: Estudos experimentais com inflamação de baixo grau	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARA - Ácido araquidônico

TLRs - Toll like receptor

TLR4 - Toll like receptor 4

ω -3-PUFAs - Ácidos graxos poli-insaturados ômega 3

ω -6 - Ômega 6

EPA - Ácidos graxos eicosapentaenóico

DHA - Ácidos graxos docosahexaenóico

FOXO - *Forkhead box protein*

NFkB - Fator nuclear kappa beta

SIRT1 - Sirtuinas 1

TNF α - Fator de necrose tumoral alfa

LPS - lipopolissacarídeo

LBP - Proteína de ligação do lipopolissacarídeo

CD14 - Cluster of differentiation 14

MyD88 - Fator de diferenciação mielóide 88

MAL - Proteína adaptada ao MyD88

TRIF - Ativador associado ao receptor de pedágio de interferon

TRAM - Molécula associada ao receptor de pedágio

AMPK - enzima AMP quinase

IGF-1 - Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1

NAD⁺ - Nicotinamida-adenina-dinucleótido

PAS - Proteína amilóide sérica

PCR - Proteína C reativa

PML - Proteína ligante de manose

DAMPs - Padrões moleculares associados a danos

PAMPs - Padrões moleculares associados a patógenos

ERO - Espécies reativas de oxigênio

iNOS - Óxido nítrico sintase induzível

IL-1 β - Interleucina 1

IL-6 - Interleucina 6

IL-8 - Interleucina 8

IL-10 - Interleucina 10

LCT - Triglicerídeo de cadeia longo

MCT - Triglicerídeos de cadeia média

FO - Óleo de peixe

HCO: óleo de coco hidrogenado

Sp1 - fator de transcrição Sp1

Sp3 - fator de transcrição Sp3

c-Maf - fator de transcrição c-Maf

AP-1 - proteína ativadora 1

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 VISÃO GERAL DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA	16
1.2 MODELOS EXPERIMENTAIS DE INFLAMAÇÃO COM LPS.....	19
1.3 TRATAMENTO COM ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3	22
2 OBJETIVOS	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
3 METODOS	25
3.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA	25
3.2 EXTRAÇÃO DOS DADOS	25
3.3 AVALIAÇÃO DE QUALIDADE	26
4 RESULTADOS.....	26
4.1 MANUSCRITO	26
5 DISCUSSÃO.....	15
6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	17
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	24
8 REFERÊNCIAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

A inflamação é considerada uma resposta adaptativa destinada a restaurar a homeostase dos vários sistemas fisiológicos, podendo ser desencadeada por estímulos ou condições nocivas, como infecção e lesão tecidual. (Medzhitov., 2008). A resposta de fase aguda é uma reação inflamatória não específica do hospedeiro, que tem como objetivo impedir a ação do patógeno e o dano celular. (Cray, C., et al, 2009). Durante o desenvolvimento desta resposta, são liberadas citocinas e outros mediadores que iniciam alterações sistêmicas e localizadas, além de mudanças na concentração de algumas proteínas plasmáticas chamadas proteínas de fase aguda. Em algumas destas proteínas, ocorre diminuição da concentração, tal como a albumina, globulina e transferrina; já em outras, um aumento, como a proteína C-reativa (PCR), proteína amiloide sérica (PAS), haptoglobina, α -1 glicoproteína-ácida, ceruloplasmina, fibrinogênio, proteína ligante de manose (PLM), e α -1-antitripsina. (Nehring SM., et al, 2021). O aumento das proteínas de fase aguda desencadeia o aparecimento de sinais clínicos como febre, hipotermia ou hipertermia, taquicardia e taquipneia, indicando a incapacidade do controle local da infecção (Hattori et al., 2018; Cervellin et al., 2019). Todos estes sinais fazem com que a inflamação se torne um desafio.

Estudos experimentais têm utilizado modelos de indução à inflamação para buscar estratégias terapêuticas e profiláticas nos processos inflamatórios e infecciosos. Dentre as abordagens nutricionais anti-inflamatórias, os ácidos graxos poli-insaturados ω 3 (ω -3-PUFAs) têm sido estabelecidos na literatura como precursores de mediadores lipídicos anti-inflamatórios, que são conhecidos como resolvinas, docosatrienos e protectinas (Serhan CN & Levy BD., 2018; Chen et al., 2017; Keapai et al., 2016; Manuscript., 2013). Em 2001, Lee e colaboradores foram os primeiros a demonstrar que as gorduras saturadas eram capazes de estimular diretamente a expressão de genes inflamatórios por meio da sinalização de receptores do tipo Toll (TLR) como TLR4 in vitro. A natureza deste efeito é influenciada pela quantidade e pelo tipo de gordura consumida. (Robertson et al, 2015). A substituição de ácidos graxos saturados por ω -3-PUFAs pode reduzir a atividade pró-inflamatória iniciada pela identificação de lipopolissacarídeos, uma endotoxina bacteriana encontra abundantemente na membrana externa das bactérias gram-negativa. (Kingsley, SM & Bhat, BV 2016).

Sendo assim, essa dissertação apresenta a seguinte pergunta de partida: Como a dieta enriquecida dos ω -3-PUFAs pode atenuar a resposta inflamatória gerada por infecção

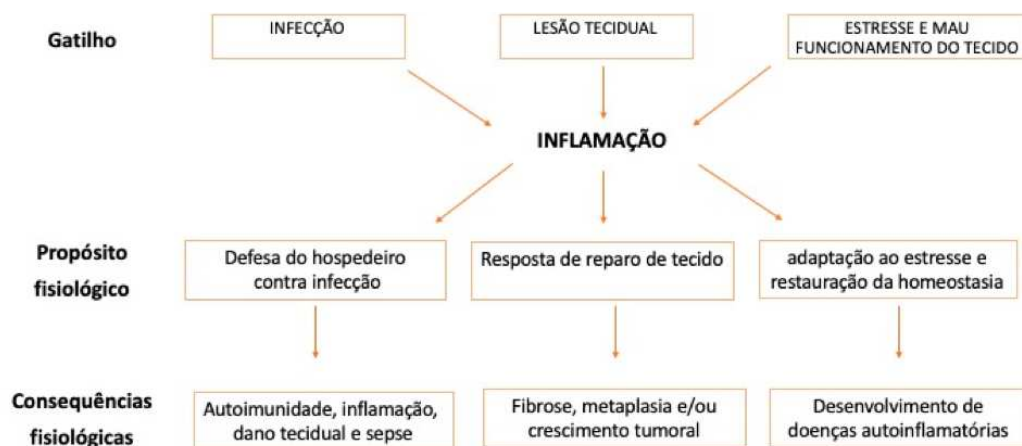
bacteriana induzida pela presença dos lipopolissacarídeos, em modelo animal com roedores?

1.1 VISÃO GERAL DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

A inflamação é considerada como resposta a uma ampla variedade de processos fisiológicos e patológicos. Sabe-se que a resposta inflamatória controlada é benéfica, por exemplo, ao fornecer proteção contra infecção, mas pode se tornar prejudicial se desregulada, por exemplo, causando choque séptico. Independentemente da causa, a inflamação presumivelmente evoluiu como uma resposta adaptativa para restaurar a homeostase. (Medzhitov, R., 2008)

A literatura descreve formas de inflamação classificadas de baixo grau como um estado inflamatório crônico, que tem como resultado um aumento nas concentrações plasmáticas de biomarcadores e de células inflamatórias ativadas na corrente sanguínea. Tais alterações podem ser facilmente observadas, por exemplo, em pacientes com condições crônicas, como artrite reumatoide e doenças inflamatórias intestinais (Sanz et al, 2005; Hou et al, 2018; Croft et al., 2019). Em contrapartida, a inflamação de alto grau caracteriza-se por produção excessiva de mediadores inflamatórios, que é descrita como um status hiperinflamatório frente a qualquer agressão infecciosa (Lima & Franco., 2010; Fullerton & Gilroy.,2016; Nisr et al., 2019). Dependendo do gatilho ou indutor, a resposta inflamatória tem uma finalidade fisiológica e consequências patológicas diferentes.

Figura 1: Causas e resultados fisiológicos da inflamação

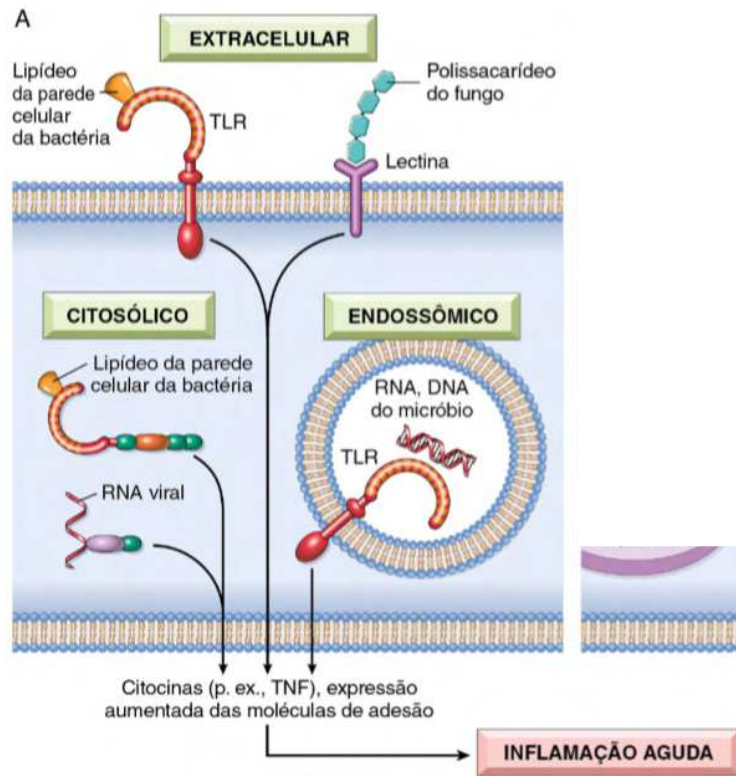


Fonte: Adaptado de Medzhitov, R., 2008

No caso das infecções, decorrentes principalmente de bactérias Gram-negativas, o lipopolissacarídeo (LPS) é um componente da parede dessas bactérias, cuja composição tem, ainda, o lipídio A, um elemento citotóxico responsável pela ativação da resposta inflamatória. (Okuda et al., 2016; Rosadini et al., 2017; Sweeney R& Lowary, 2019). Quando os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) são reconhecidos por receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como receptores Toll-like (TLRs), NOD- e RIG-like, a ativação destes leva à produção sistêmica de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. Os PRRs são capazes de reconhecer padrões moleculares associados a danos (DAMPs) que são liberados de células hospedeiras danificadas, levando à ativação excessiva de monócitos e endoteliócitos. (Ozment, TR., 201; Raymond, SL., et al 2017)

Em grande parte, as especificidades da família dos TLR já foram decifradas e muito se sabe sobre como eles sinalizam quatro proteínas adaptadoras, nomeadas: MyD88 (fator de diferenciação mielóide 88), MAL (proteína adaptada ao MyD88), TRIF (ativador associado ao receptor de pedágio de interferon) e TRAM (molécula associada ao receptor de pedágio) a transdução dos sinais de TIR (Toll / interleucina-1). (Kumar et al., 2010; Lembo-Fazio et al., 2018). Essa sinalização induz à produção e à liberação de proteínas quinases e de fatores de transcrição inflamatórios, como TNF α , citocinas e interleucinas mediados, principalmente, pelo fator de transcrição NF κ B, responsável por regular vários aspectos das funções imunes inatas e adaptativas, servindo como mediador essencial da resposta inflamatória. (Liu, T. et al., 2017)

Figura 2: Papel do receptor TRL na inflamação



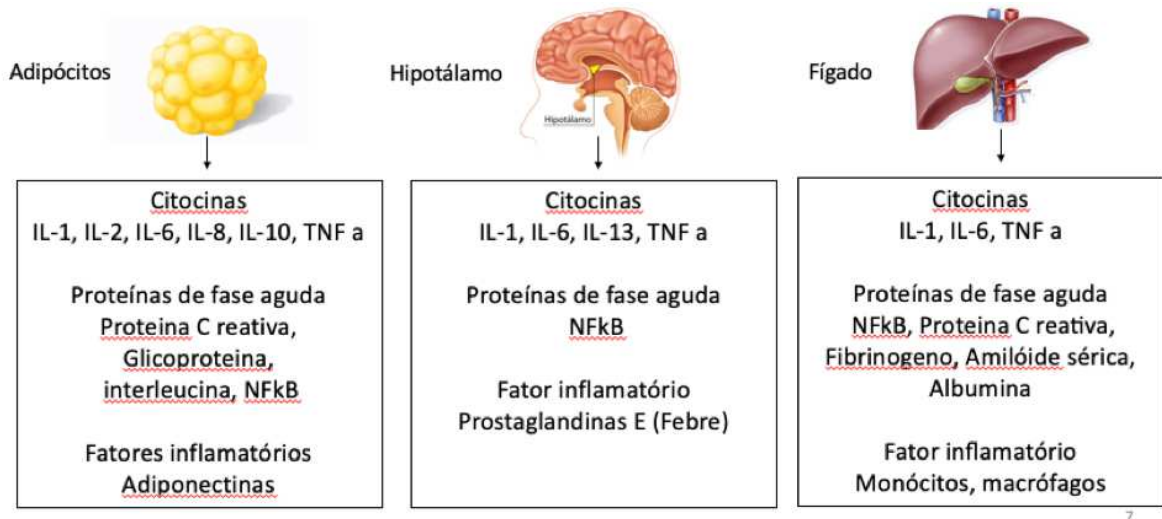
Fonte: Adaptado de Kumar et al., 2010

Os diversos marcadores associados à inflamação podem ser divididos em citocinas pró-inflamatórias, citocinas anti-inflamatórias, adipocinas, chemocinas, marcadores de inflamação derivados de hepatócitos e enzimas. As citocinas pró-inflamatórias de maior relevância são: a interleucina-6 (IL-6), o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), a interleucina-8 (IL-8), a interleucina-1 β (IL-1 β), e – considerada anti-inflamatória – a IL-10 (Volp et al, 2008).

Outros mediadores envolvidos na ativação de células imunes são as espécies reativas de oxigênio (ERO), a proteína cromatina (possíveis mediadores envolvidos na mortalidade) e o aumento da modulação da expressão do óxido nítrico sintase induzível (iNOS), que leva a um aumento na produção de óxido nítrico (NO), podendo estar parcialmente associado à hipotensão. Dentre os mediadores lipídicos, estão o desencadeamento da cascata do ácido araquidônico e o fator de adesão plaquetária (do inglês platelet aggregation fator - PAF), responsáveis por aumentar a permeabilidade vascular, estimular a síntese de mediadores inflamatórios, como os eicosanoides, e aumentar a aderência aos leucócitos (Fullerton & Gilroy, 2016; Karin, Michael, and Hans Clevers., 2016). Tais marcadores inflamatórios,

assim como ocorre com proteínas de fase aguda, são secretados por diferentes tecidos, principalmente, no hipotálamo no cérebro, pelos hepatócitos no fígado e pelos adipócitos no tecido adiposo durante a inflamação. (Razolli et al, 2019; Volp et al., 2008)

Figura 3: Marcadores inflamatórios e proteínas de fase aguda



Fonte: A Autora, 2020

A liberação de citocinas e proteínas de fase aguda, tanto pró-inflamatórias quanto anti-inflamatórias, estão elevadas durante a resposta inflamatória, desencadeando o aparecimento de sinais clínicos como febre, hipotermia ou hipertermia, taquicardia e taquipneia, indicando a incapacidade do controle local da infecção (Hattori et al., 2018; Cervellin et al., 2019). Todos estes sinais fazem com que a inflamação se torne um desafio para a medicina. Nos últimos anos, a inflamação grave tem sido a principal causa de morte na unidade de terapia intensiva no Brasil (Lobo et al., 2019).

1.2 MODELOS EXPERIMENTAIS DE INFLAMAÇÃO COM LPS

Devido à extensa rede de mecanismos da inflamação por infecção, não existe um único modelo de estudo experimental que possa capturar todos os aspectos clínicos. No entanto, três modelos são descritos na literatura como usados para induzir inflamação grave: 1) Injeção de um agente tóxico como lipopolissacarídeo (LPS), CpG, zimosan ou outro ligante PRR; 2) Injeção de patógenos vivos (bactérias ou conteúdo intestinal; indução de pneumonia, meningite, urosepsis, etc.) e 3) Indução ao comprometimento da integridade do tecido de barreira (perfuração intestinal, modelos de sepse de feridas, por exemplo)

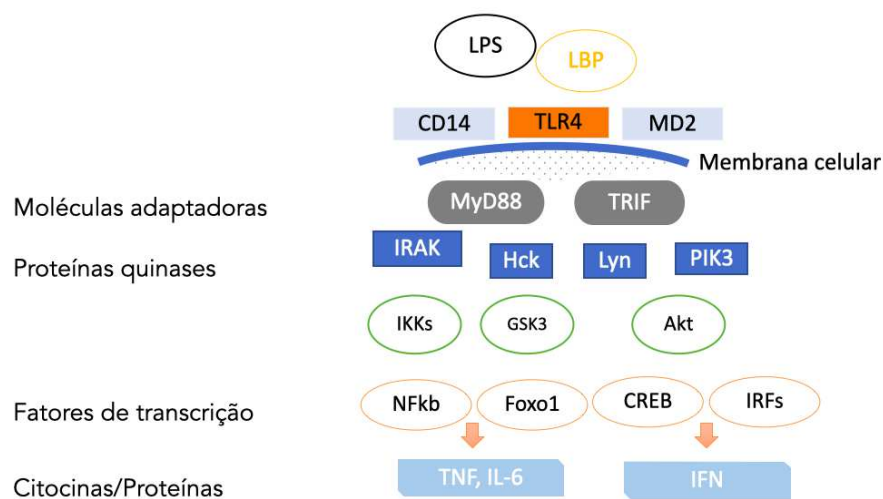
(Kingsley, SM & Bhat, BV 2016; Zhou, Z., Su, Y., & Fa, X.-E. 2019). Os dois primeiros grupos incluem, principalmente, modelos não cirúrgicos de baixa invasão, enquanto a cirurgia é necessária para obter um modelo de sepse do terceiro grupo.

O LPS pode provocar uma resposta inflamatória no hospedeiro através de seu reconhecimento por diferentes sensores do sistema imune inato, principalmente através dos receptores Toll-like (TLR). Existem 10 genes TLR expressos em humanos e 13 em roedores, sendo cada um responsável por reconhecer um grupo distinto de padrões moleculares. (Ciesielska A, et al., 2021).

O TLR4 é quem reconhece o LPS bacteriano (Ding, J., & Liu, Q., 2019). A resposta celular ao LPS requer uma proteína de transporte denominada proteína de ligação a LPS (LBP), que leva o LPS ao TLR4 e maximiza a sinalização intracelular (Manček-Keber & Jerala, 2015). O complexo LPS-LBP pode ser reconhecido pelo receptor TLR4, atuando em conjunto com o MD2 e o CD14. A partir desse reconhecimento, enfim, a cascata complexa de sinalização TLR4 pode ter início.

As sinalizações do TLR4 envolvem vias distintas, que são elas: via pró-inflamatória, pela sinalização dos fatores de transcrição NFκB e FOXO, que sinalizam a liberação do TNF-α, e interleucinas, principalmente, IL-1β e IL-6 (Kim et al., 2018; Morris et al., 2015; Yang et al., 2014; Gabay et al., 2010; Ciesielska A, et al., 2021).

Figura 4: Reconhecimento do complexo LPS-LBP pelo receptor TLR4



Legenda: A LPS: lipopolissacarídeos; LBP: LPS-binding protein; TLR4: tool-like receptor 4; CD14: cluster of differ-entiation; TRIF: TIR-domain-containing adaptor protein inducing interferon-β; Hck: Tyrosine-protein kinase HCK; Lyn: Tyrosine-protein kinase Lyn; NFκB: factor nuclear kappa B; TNF: fator de necrose tumoral; IL: interleucina, IFN: interferon

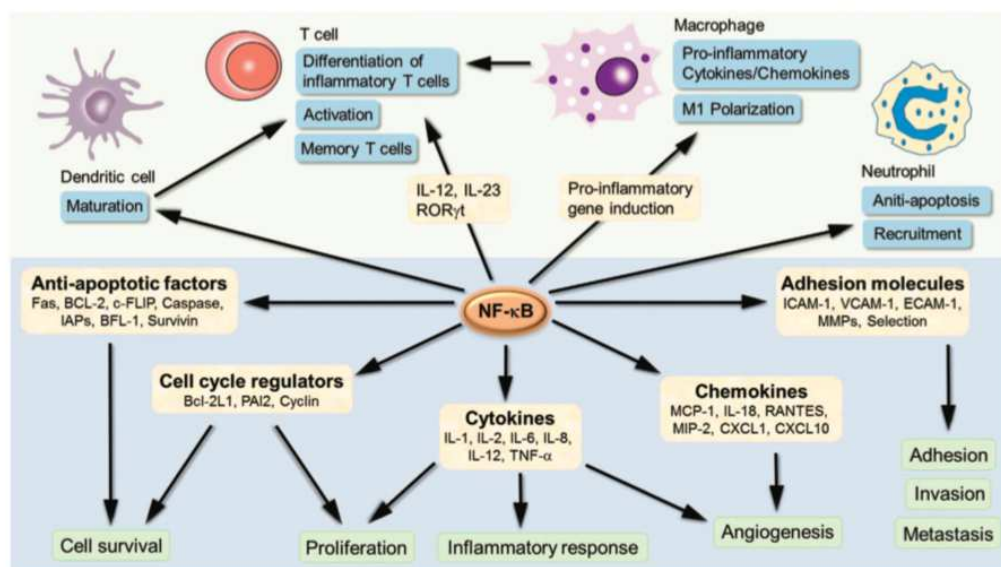
Fonte: Adaptado de Morris, 2015

Os FOXOs são regulados por síntese, fosforilação, acetilação e ubiquitinação em três níveis diferentes: localização subcelular, estabilidade e atividade transcricional. A principal contribuição regulatória para a atividade FOXOs vem da ativação dependente do fator de crescimento das vias fosfoinosítideo-3-quinase (PI3K) e serina-treonina quinase (AKT) e da sinalização de estresse celular. Essas vias são descritas como críticas devido à mobilização e à proliferação celular no processo inflamatório (Link, 2019; Martins et al., 2016; Nozhat & Hedayati, 2016).

O NFκB é bem aceito como um agente inflamatório central. Nesse sentido, estudos em animais e humanos têm visado o bloqueio de diferentes etapas de sua sinalização para abordagem de terapias anti-inflamatórias (Yang et al, 2014; Nisir et al, 2019; Olmos-Ortiz, et al 2019; Lee et al., 2019). Esses têm como alvo a inflamação através do aumento da produção de citocinas inflamatórias, quimiocinas e moléculas de adesão, além de atuar regulando a proliferação e diferenciação celular, apoptose e morfogênese.

O NFκB é dito como mediador de uma grande variedade de receptores através de duas vias de sinalização descritas na literatura: via canônica e via não canônica (ou alternativa), importantes para regular a resposta imune e inflamatória. A via canônica responde a diversos estímulos, incluindo ligantes de vários receptores de citocinas, receptores de PRRs, superfamília de receptores fator de necrose tumoral (TNF) e receptor de células T (Liu et al., 2017; Hattori et al., 2018)

Figura 5: O NFκB como mediador inflamatório



Fonte: Adpatado de Liu, et al., 2019

O LPS pode ser desfosforilado pela síntese de bactérias comensais que colonizam o intestino, que fogem do reconhecimento pelo PRR e que são cruciais para a manutenção do equilíbrio imunológico (Steimle A, et al., 2013; Tan Y, et al., 2015). Durante a infecção, a desacetilação e a desfosforilação do LPS bacteriano são importantes para o término das respostas inflamatórias. A sinalização descontrolada, desencadeada por TLR4 durante a infecção, é que pode levar à sepse, ao choque séptico e à morte (Zou B, et al., 2017; Deng M, et al., 2013; Zang M, et al., 2014).

O LPS pode alterar a expressão de fatores que modulam a sua resposta inflamatória, como interferon beta (IFN- β) e IL-10. A síntese de IL-10 induzida por LPS depende da ativação da via independente de MyD88, levando à produção de IFNs tipo I via fator regulador de interferon 3. Isso ativa a Via JAK-STAT, resultando na fosforilação de STAT3 e na síntese de IL-10 (Moore KW, et al 2001).

No entanto, além de STAT3, outros fatores de transcrição incluindo Sp1, Sp3, c-Maf, AP-1 e NF-kB também foram descritos como promotoras da expressão de IL-10 mediada por LPS em camundongos (Gorina R, et al., 2011; Bode JG, et al., 2012). A IL-10 é uma molécula pleiotrópica que inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias ativadas por monócitos e macrófagos, incluindo as citocinas mais envolvidas na inflamação: TNF α e IL-1 β . (Walter MR., 2014)

1.3 TRATAMENTO COM ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3

Os ácidos graxos com ligações duplas nos carbonos, ômega-6 (ω -6) e ômega-3 (ω -3), são essenciais ao bom funcionamento do organismo de mamíferos, incluindo os seres humanos, porém não podem ser sintetizados endogenamente. Estes devem estar presentes na alimentação para que possam ser utilizados pelos tecidos corporais. São eles: os ácidos linoléico (LA 18:2 ω 6) e α -linolênico (ALA 18:3 ω 3). Este se deriva nos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) por meio da ação de enzimas específicas no fígado, atuando principalmente nos processos de inflamação e de defesa do organismo (Haag 2003, Marszalek and Lodish 2005, Miles & Calder, 2012; Moreira et al., 2010).

Os ácidos graxos das famílias ω -3 e ω -6 competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e de alongamento da cadeia. (Chang et al., 2018). Embora essas enzimas tenham maior afinidade pelos ácidos da família ω 3, a conversão do ácido alfa-

linolênico, que é um ácido graxo de cadeia longa, é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoléico na dieta. Estudos relatam que uma relação $\omega 6$ e $\omega 3$ de 5:1 a 1:1 é a mais adequada para que ambos tenham seu melhor aproveitamento pelo organismo (Simopoulos, 2002; Marszalek & Lodish, 2005). Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos $\omega 3$ e $\omega 6$ assume grande importância na nutrição humana, resultando em várias recomendações que têm sido estabelecidas por autores e órgãos de saúde em diferentes países (Emken et al., 1994; Pascoe et al., 2015)

A inclusão dos ácidos graxos ω -3 na dieta tem demonstrado benefícios nas doenças inflamatórias intestinais, pulmonares, articulares, concentrações plasmáticas de triglicerídeos, função vascular, ritmo cardíaco, sensibilidade à insulina, crescimento de células tumorais, desenvolvimento do cérebro nos processos cognitivos e neurodegeneração, psoríase, lúpus e fibrose cística. (Borges et al., 2014; Calder et al, 2012; Saravanan et al, 2012; Santos et al., 2013).

Sabe-se que os micróbios intestinais podem ser uma fonte de infecção bacteriana sistêmica que leva à sepse e à falência de órgãos em uma variedade de circunstâncias médicas, e que a gordura dietética pode promover a absorção de endotoxinas (Deitch EA., 1990; Berg RD., 1999; Saad MJ., et al 2016). Assim, em ratos com uma dieta muito rica em gordura (ou seja, 72% da energia total) ao longo de 4 semanas, houve uma elevação significativa das concentrações de endotoxina circulante em comparação com ratos alimentados com uma dieta de controle de baixo teor de gordura. (Cani PD., et al 2007). Os dados sugerem que a alimentação com alto teor de gordura resulta em uma elevação crônica da endotoxina circulante, pois as refeições com alto teor de gordura podem promover a translocação da endotoxina LPS para a corrente sanguínea, estimulando as células imunes inatas e levando a uma resposta inflamatória pós-prandial transitória (Cani PD., et al 2007). Como já relatado, os macrófagos e outras células do sistema imunológico inato possuem receptores semelhantes a TLR que reconhecem endotoxinas como LPS. A sinalização mediada por LPS por meio de TLR4 leva à ativação de NF κ B, um fator de transcrição, que posteriormente ativa a expressão de numerosas citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8. (Ostareck DH & Ostareck-Lederer A., 2019; Fritsche KL., 2015).

Em 2001, Lee e colaboradores (2019) foram os primeiros a demonstrar que as gorduras saturadas eram capazes de estimular diretamente a expressão de genes inflamatórios por meio da sinalização de TLR4 *in vitro*. A natureza deste efeito é influenciada pela quantidade e pelo tipo de gordura consumida. (Robertson et al, 2015).

A substituição de ácidos graxos saturados por Ω -3-PUFAs pode reduzir a atividade pró-inflamatória do LPS por três mecanismos. O primeiro deles indica que o EPA e DHA ou ω -3-PUFAs são precursores de mediadores lipídicos anti-inflamatórios conhecidos como resolvinas, docosatrienos e protectinas, modulando a resposta inflamatória de neutrófilos e do recrutamento de monócitos (Fredman et al., 2010; Kasuga et al., 2008). Os estudos que utilizam monócitos estimulados por LPS demonstraram que há uma redução na expressão de diversos genes e citocinas pró-inflamatórias, mediada pelo pré-tratamento com ω -3-PUFAs, entre eles o receptor TLR4 (Mullen et al., 2010; Robertson et al., 2015; Rocha et al., 2016). Além disso, regulam as respostas inflamatórias e, por meio da enzima lipoxigenase-15, produzem moléculas chamadas de lipoxinas, que têm a função de finalizar o processo inflamatório no organismo (Muthukumar et al., 2002; Fritsche et al., 2015; Chen et al., 2017).

O segundo mecanismo está relacionado ao DHA, pois afeta microdomínios lipídicos dentro das membranas celulares, diminuindo o recrutamento de TLR4 após o tratamento com LPS. Outro achado está na redução do TLR4 como modulador da produção das espécies reativas de oxigênio (Wong et al., 2009). Por fim, o terceiro mecanismo, presente nos recentes estudos, tem demonstrado a influência dos Ω -3-PUFAs, equilibrando o metabolismo energético por regular vias da proteína G, envolvida na transdução de sinais celulares, principalmente no tecido adiposo (Amos et al., 2019). Os ω -3-PUFAs regulam as respostas inflamatórias por meio da enzima lipoxigenase-15, que ativa moléculas chamadas de lipoxinas. Essas moléculas parecem exercer a função de finalizar o processo inflamatório no organismo (Muthukumar et al., 2002; Fritsche et al., 2015; Chen et al., 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente projeto de dissertação é investigar a literatura existente, o efeito da dieta enriquecida de ácido graxo ômega 3 sobre a resposta inflamatória gerada por infecção induzida por lipopolissacarídeos em modelo animal com roedores.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a resposta inflamatória gerada pela presença de LPS em diferentes dosagens no modelo animal com roedores.

Analisar o efeito da presença dos ω -3-PUFAs sobre proteínas de fase aguda, citocinas inflamatórias e fatores de transcrição envolvidos na amplificação da resposta inflamatória após desafio com LPS.

3 METODOS

3.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA

A presente investigação começou com a pergunta de partida: como a presença dos ω -3-PUFAs pode atenuar a resposta inflamatória gerada por infecção grave induzida por lipopolissacarídeos (LPS) em modelo animal?

A estratégia de busca foi conduzida usando a plataforma Pubmed, Scopus e Medline, sendo utilizadas as seguintes palavras-chaves em inglês: "Lipopolysaccharides" OR "LPS" OR "Endotoxins" AND "Inflammation" OR "Mediators OR Inflammation" OR "Mediators of Inflammation OR sepsis" AND "Acid, Omega-3 Fatty" OR "Omega 3 Fatty Acid" OR "Omega-3 Fatty Acids" OR "n-3 Oil" OR "n3 Fatty Acids" OR "Omega 3 Fatty Acids" OR, "PUFA, n-3" AND "mouse" OR "mice OR rats". A estratégia de pesquisa está detalhada no fluxograma Figura 5. As buscas nas bases de dados iniciaram em março de 2021 e foram finalizadas em junho de 2021. Os estudos incluídos preencheram os seguintes critérios de elegibilidade: 1) Utilização de LPS como fator de indução à inflamação e ácido graxo ω -3; 2) Estudos publicados nos últimos 10 anos; 3) Estudos que utilizaram roedores; 4) Estudos que utilizaram marcadores inflamatórios sistêmicos em suas análises de resultados.

Os seguintes critérios de exclusão foram: 1) Estudos in vitro; 2) Metodologias que não utilizaram o ω -3 como intervenção exclusiva; 3) Indução da inflamação ou sepse que não utilizou exclusivamente LPS; 4) Não utilizar de marcadores inflamatórios para avaliar o desfecho.

3.2 EXTRAÇÃO DOS DADOS

A busca foi realizada por dois autores. Nessa busca, foram extraídas as informações que incluíam o primeiro nome do autor e o ano de publicação, características metodológicas e de intervenção, tais como: tempo de tratamento, dose de LPS, tipo e quantidade suplementação ou dieta enriquecida com ω -3-PUFAs, característica dos animais utilizados, tamanho da amostra e tipo de análise. Dos resultados, foram incluídos os marcadores de resposta inflamatória e anti-inflamatório que tiveram significância estatística.

3.3 AVALIAÇÃO DE QUALIDADE

Para avaliar a qualidade dos estudos experimentais foram aplicadas as diretrizes ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments), que têm os seguintes objetivos: melhorar o relato da investigação feita com animais; guiar os autores na informação essencial que é necessária incluir em um manuscrito, sem ser absolutamente normativo; ser flexível de forma a acomodar relatos de um leque amplo de áreas de investigação e protocolos experimentais; promover a publicação de manuscritos replicáveis, transparentes, precisos, detalhados, concisos, com uma ordem lógica e bem escritos.

4 RESULTADOS

4.1 MANUSCRITO

Os resultados provenientes do projeto de dissertação serão submetidos na forma de artigo ao periódico *The Journal of Nutritional Biochemistry*, cujo qualis na Nutrição é A1 e o fator de impacto (2021) é 6,048. As normas de submissão ao periódico desejado estão disponíveis no seguinte link abaixo:

https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/525013?generatepdf=true

Título: O efeito da dieta com ácidos graxos ômega 3 (ω -3-pufas) na resposta inflamatória induzida por lipopolissacarídeos (lps) em modelo animal com roedores. Uma revisão.

Autores: Lígia Prietsch, Julia Dúbois Moreira, Leticia Carina Ribeiro da Silva

Resumo

Introdução: Estudos experimentais têm utilizado modelos de indução à inflamação com uma endotoxina de bactérias Gram-negativas chamada lipopolissacarídeos (LPS) para buscar estratégias terapêuticas e profiláticas nos processos inflamatórios e infecciosos. O LPS pode provocar uma resposta inflamatória no hospedeiro através de seu reconhecimento por diferentes sensores do sistema imune inato, principalmente através dos receptores do tipo Toll-like (TLR). Dentre as abordagens nutricionais anti-inflamatórias, os ácidos graxos poli-insaturados ω 3 (ω -3-PUFAs) têm sido estabelecido na literatura como precursores de mediadores lipídicos anti-inflamatórios e moduladores da resposta inflamatória.

Objetivo: O objetivo do presente projeto de dissertação é investigar a literatura existente, o efeito da dieta enriquecida de ácido graxo ômega 3 sobre a resposta inflamatória gerada por infecção induzida por lipopolissacarídeos em modelo animal com roedores.

Metodologia: A busca se limitou à literatura existente nos últimos 10 anos. Nesta revisão, foram incluídos 21 artigos, separados de acordo com a dose de LPS utilizada para indução da inflamação e divididos em inflamação de alto grau ou de baixo grau. Os estudos incluídos preencheram os seguintes critérios de elegibilidade: 1) Utilização de LPS como fator de indução à inflamação e ácido graxo ômega-3; 2) Estudos publicados nos últimos 10 anos; 3) Estudos que utilizaram roedores; 4) Estudos que utilizaram marcadores inflamatórios sistêmicos em suas análises de resultados. E os seguintes critérios de exclusão: 1) Estudos *in vitro*; 2) Metodologias que não utilizaram o ômega-3 como intervenção exclusiva; 3) Indução da inflamação ou sepse que não utilizou exclusivamente LPS; 4) Não utilizar de marcadores inflamatórios para avaliar o desfecho.

Resultados: A expressão de citocinas pró-inflamatórias mediada por TLR4 e NF- κ B foi significativamente aumentada em resposta à administração sistêmica de LPS. O tratamento com ω -3-PUFAs parece atenuar a resposta inflamatória, reduzindo a atividade de citocinas como TNF- α , IL-6 e IL-1 β e estimulando a secreção da citocina anti-inflamatória como IL-10 antes ou após momento da infecção.

Palavras-chave: Lipopolysaccharides, Inflammation, mediators of Inflammation, sepsis, omega 3 Fatty Acid.

2 INTRODUÇÃO

A inflamação é uma resposta adaptativa destinada a restaurar a homeostase dos vários sistemas fisiológicos, podendo ser desencadeada por estímulos ou condições nocivas, como infecção e lesão tecidual. [1,2]

A literatura descreve duas formas de inflamação, são elas: de baixo grau, que é um estado inflamatório crônico, que tem como resultado um aumento nas concentrações plasmáticas de biomarcadores e de células inflamatórias ativadas na corrente sanguínea em condições crônicas, como artrite reumatóide e doenças inflamatórias intestinais [3,4,5]; e inflamação de alto grau, que caracteriza-se por produção excessiva de mediadores inflamatórios, que é descrita como um status hiper-inflamatório frente a qualquer agressão infecciosa. [6,7,8]

Devido à extensa rede de mecanismos da inflamação por infecção, não existe um único modelo de estudo experimental que possa capturar todos os aspectos clínicos. No entanto, três modelos são descritos na literatura usados para induzir inflamação grave: 1) Injeção de um agente tóxico lipopolissacarídeo (LPS), CpG, zimosan ou outro ligante PRR; 2) Injeção de patógenos vivos (bactérias ou conteúdo intestinal; indução de pneumonia, meningite, urosepsis, etc.); 3) Indução do comprometimento da integridade do tecido de barreira (perfuração intestinal, modelos de sepse de feridas, por exemplo) [9,10]. Os dois primeiros grupos incluem, principalmente, modelos não cirúrgicos de baixa invasão, enquanto a cirurgia é necessária para obter um modelo de sepse do terceiro grupo.

O LPS pode provocar uma resposta inflamatória amplificada no hospedeiro através de seu reconhecimento por diferentes sensores do sistema imune inato, principalmente através dos receptores Toll-like (TLR). [11] A sinalização do TLR4 envolve uma via pró-inflamatória, pela sinalização dos fatores de transcrição NF κ B e FOXO, que sinalizam a liberação de um grupo de citocinas pró inflamatórias como TNF α e interleucinas, principalmente, IL-1 β e IL-6 [12,13,14].

Adicionar ácidos graxos poli-insaturados ω 3 (ω -3-PUFAs) à dieta é geralmente considerada uma estratégia eficaz para reduzir a inflamação, podendo afetar a inflamação de várias maneiras [15]. A natureza deste efeito é influenciada pela quantidade e pelo tipo de gordura consumida. [16]. A substituição de ácidos graxos saturados por ω -3-PUFAs pode reduzir a atividade pró-inflamatória do LPS por três mecanismos: O primeiro deles indica que o EPA e DHA ou ω -3-PUFAs são precursores de mediadores lipídicos anti-inflamatórios conhecidos como resolvinas, docosatrienos e protectinas, modulando a resposta inflamatória de neutrófilos e do recrutamento de monócitos [15,18]. Os estudos que utilizam monócitos estimulados por LPS demonstraram que há uma redução na expressão de diversos genes e citocinas pró-inflamatórias, mediada pelo pré-tratamento com ω -3-PUFAs, entre eles o receptor TLR4. [16] Além disso, regulam as respostas inflamatórias e, por meio da enzima lipoxigenase-15, produzem moléculas chamadas de lipoxinas, que têm a função de finalizar o processo inflamatório no organismo. [17,18] O segundo mecanismo está relacionado ao DHA, pois afeta microdomínios lipídicos dentro das membranas celulares, diminuindo o recrutamento de TLR4 após o tratamento com LPS. Outro achado está na redução do TLR4 como modulador da produção das espécies reativas de oxigênio. [15, 16, 19] Por fim, o terceiro mecanismo, presente nos recentes estudos, tem demonstrado a influência dos Ω -3-PUFAs, equilibrando o metabolismo energético por

regular vias da proteína G, envolvida na transdução de sinais celulares, principalmente no tecido adiposo [20]

O presente projeto se dispôs a investigar na literatura existente, o efeito da dieta enriquecida de ácido graxo ômega 3 sobre a resposta inflamatória gerada por infecção induzida por lipopolissacarídeos em modelo animal com roedores. Ademais, busca revisar a resposta inflamatória gerada pela presença de LPS em diferentes dosagens no modelo animal com roedores, observando a resposta anti-inflamatória pela presença dos ω -3-PUFAs sobre proteínas de fase aguda, citocinas inflamatórias e fatores de transcrição envolvidos na amplificação da resposta inflamatória após endotoxemia.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Estratégia de busca

A estratégia de busca foi conduzida usando a plataforma Pubmed, Scopus e Medline. Nesta, as seguintes palavras-chaves, em inglês, foram utilizadas: "Lipopolysaccharides" OR "LPS" OR "Endotoxins" AND "Inflammation" OR "Mediators OR Inflammation" OR "Mediators of Inflammation OR sepsis" AND "Acid, Omega-3 Fatty" OR "Omega 3 Fatty Acid" OR "Omega-3 Fatty Acids" OR "n-3 Oil" OR "n3 Fatty Acids" OR "Omega 3 Fatty Acids" OR, "PUFA, n-3" AND "mouse" OR "mice OR rats". A estratégia de pesquisa está detalhada no fluxograma Figura 1. As buscas nas bases de dados iniciaram em março de 2021 e foram finalizadas em junho de 2021.

Os estudos incluídos preencheram os seguintes critérios de elegibilidade: 1) Utilização de LPS como fator de indução à inflamação e ácido graxo ômega-3; 2) Estudos publicados nos últimos 10 anos; 3) Estudos que utilizaram roedores; 4) Estudos que utilizaram marcadores inflamatórios sistêmicos em suas análises de resultados.

Os seguintes critérios de exclusão foram: 1) Estudos in vitro; 2) Metodologias que não utilizaram o ômega-3 como intervenção exclusiva; 3) Indução da inflamação ou sepsis que não utilizou exclusivamente LPS; 4) Não utilizar de marcadores inflamatórios para avaliar o desfecho.

2.2 Extração dos dados

A busca foi realizada por dois autores. Nesta busca, foram extraídas as informações que incluíam o primeiro nome do autor e ano de publicação, características metodológicas e de intervenção como: tempo de tratamento, dose de LPS, tipo e quantidade suplementação

ou dieta enriquecida com ω -3-PUFA, característica dos animais utilizados, tamanho da amostra e tipo de análise.

2.3 Avaliação de qualidade

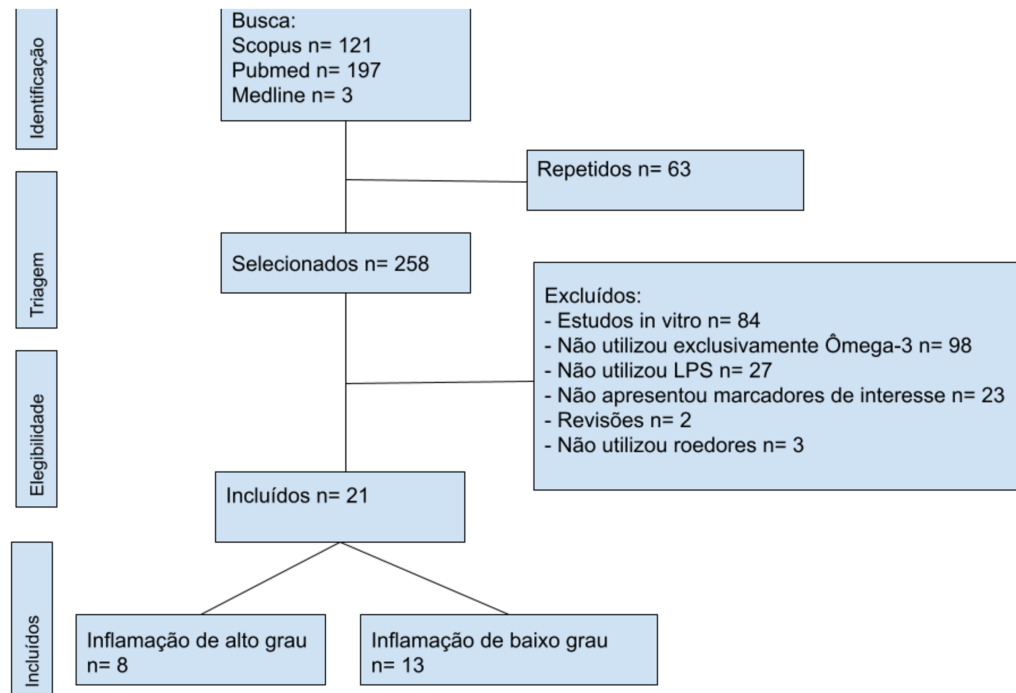
Para avaliar a qualidade dos estudos experimentais foi aplicado as diretrizes ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) que tem o objetivo de melhorar o relato da investigação feita com animais, guiar os autores na informação essencial que é necessário incluir em um manuscrito, sem ser absolutamente normativo, ser flexível de forma a acomodar relatos de um leque amplo de áreas de investigação e protocolos experimentais, promover a publicação de manuscritos replicáveis, transparentes, precisos, detalhados, concisos, com uma ordem lógica e bem escritos.

RESULTADOS

3.1 Características dos estudos

A pesquisa eletrônica identificou 321 potenciais estudos. Após a remoção da duplicata, foram selecionados artigos para leitura a partir do título e resumo, totalizando 258 artigos. Após aplicação dos critérios de exclusão e elegibilidade, foram incluídos 21 artigos e separados de acordo com a dose endotoxina LPS utilizada para indução da inflamação de alto grau ou de baixo grau.

Figura 1: Fluxograma



Legenda: LPS: lipopolissacarídeos;

3.2 Indução da inflamação com LPS

Os estudos utilizaram de *Escherichia coli* por via intraperitoneal como agente infeccioso. Enquanto a inflamação de baixo grau foi caracterizada pela dose igual ou menor que 1 mg/kg de LPS (Tabela 2), a inflamação moderada foi desencadeada por doses entre 3,5 a 5 mg/kg de LPS. Já os modelos de inflamação com sepse ou choque séptico, descritos na tabela 2, utilizaram doses de 10 mg/kg a 20 mg/kg de LPS (Tabela 1). A taxa de sobrevivência após 48 horas foi de 75%, de acordo com Hecker et al., (2014) e Ramos et al., (2019).

O tempo de indução à inflamação variou de 2 a 48 horas de incubação a partir de uma única dose de LPS administrada via intraperitoneal, exceto o estudo de Dang e colaboradores (2018) que totalizou 7 aplicações de 500 µg/kg/dia. Os marcadores de inflamação mais avaliados foram: proteína C reativa, fator de transcrição NfκB, TNFα, IL-1β, IL-10 e receptor TLR4.

Dos 21 artigos incluídos, seis deles utilizaram a suplementação dos ω-3-PUFAs administrada por gavagem, dois artigos utilizaram nutrição parenteral, e os demais estudos

modificaram a composição da dieta. Para estes, o tempo de intervenção com os ω -3-PUFAs variou de 1 a 180 dias. Enquanto, os demais estudos mantiveram o pré-tratamento, apenas Liu e colaboradores (2015) utilizaram a suplementação com óleo de peixe após a injeção de LPS.

Os órgãos alvos avaliados nos estudos revistos foram: hipocampo e córtex (neuroinflamação), sangue, endotélio aórtico, fígado, pulmão e rins. Dos 21 estudos, 17 utilizaram uma proporção maior eicosapentaenóicos (EPA) em comparação ao docosahexaenóico (DHA), exceto 4 artigos, que trabalharam com neuroinflamação.

Para as análises e resultados, os pesquisadores utilizaram Kit's Elisa, m-RNA e/ou Western blot a fim de quantificar suas proteínas.

3.3 Sobrevida nos animais após indução a inflamação

Em animais, a suplementação com os ácidos graxos ômega 3 demonstra uma diminuição da resposta inflamatória e uma melhora da sobrevida global após a administração de endotoxina (Mascioli EA., et al., 1989; Mancuso P., et al., 1997). Nessa revisão destaca-se que 2 dos 21 trabalhos avaliam a sobrevida global dos animais.

Segundo Kohama K e colaboradores (2014), em ratos que receberam nutrição parenteral sem lipídios, a sobrevida global que ocorre 24 horas após a administração de LPS foi de 45,5% (5/11). Enquanto a suplementação com óleo de soja não alterou significativamente a sobrevivência (63,6% após 24 horas, 7/11), a suplementação com óleo de soja e ω -3-PUFA prolongou, significativamente, a sobrevivência animal com 91% (10/11), sobrevivendo 24 horas após o tratamento com LPS.

De acordo com Ramos e colaboradores (2019), resultados semelhantes são encontrados. Um total de 37% (6 de 16) dos ratos do grupo LPS sobreviveram durante todo o período experimental de 48 horas. Em ratos sépticos tratados com azeite de oliva, a taxa de sobrevida global foi de 60% (6 em 10). Já nos grupos azeite de oliva e ω -3-PUFA, a taxa de sobrevivência aumenta para 75% (6 em 8).

3.4 O efeito dos ω -3-PUFA sobre o desfecho inflamatório

O LPS administrado por meio da injeção intraperitoneal pode interagir prontamente com os abundantes receptores TLR4 no intestino, aumentando os níveis de IL-1 β , IL-6 e TNF α no plasma, no intestino delgado, no endotélio ártico e no tecido renal. Os ω -3-PUFA

reduziram significativamente a expressão de TNF- α , IL-6 e IL-1 β , e estimularam significativamente a expressão de IL-10 em 11 dos 21 estudos.

Dentre esses desfechos, Coquerel e colaboradores (2013) avaliaram o pré-tratamento parenteral com ω -3-PUFAs. Após 90 minutos antes do choque endotóxico com LPS em uma dose 20mg/kg, houve melhora da disfunção miocárdica, uma menor redução da expressão de ocludina intestinal (preservando a integridade intestinal) e atenuação da expressão de TNF α plasmático após 5 horas de endotoxemia. Porém, não houve alteração nos aumentos de TNF α jejunal após 2 horas.

Também, Keisuke Kohama e colaboradores (2014) observaram uma inflamação pulmonar grave nos ratos alimentados por 3 dias com dieta parenteral enriquecida com os ω -3-PUFAs. Os seus resultados mostraram uma redução dos picos de expressão de TNF α após 24 horas de 15 mg/kg de LPS. Essas foram as doses mais altas de LPS encontradas nesta revisão de acordo com a tabela 1.

Os ω -3-PUFA são considerados neuroimunomoduladores e regulam a atividade das células imunes inatas do cérebro [23]. Observamos que a presença do LPS induziu inflamação no córtex frontal, na microglia, no hipocampo e no hipotálamo em 8 dos 21 trabalhos. Desses, Delpech e colaboradores (2015) observou que a IL-1 β esteve mais expressa em animais deficientes de ω -3-PUFA, tendo isso ocorrido após 6 horas de endotoxemia e tendo como desfecho a depressão de longo prazo. Já Rey e colaboradores (2019) observou uma redução significativa da produção de IL-1 β e TNF α após 24 horas de LPS. Dinel e colaboradores (2016), por sua vez, utilizando um acréscimo de 0,2% de DHA do primeiro de gestação até a idade adulta da prole, não observou a redução de IL-1 β e TNF α após 3 horas de endotoxemia, porém relatou que a qualidade lipídica da dieta modulou o efeito do LPS no início da vida no fenótipo da micróglia e na memória na idade adulta.

Os ω -3-PUFAs apresentaram bons efeitos quando combinados a outras estratégias nutricionais. Observamos 2/21 estudos que combinaram ω -3-PUFA com ácidos graxos de cadeia média (MCT) em forma de óleo de coco [23] e flavonóides da maçã [24]. Ambos trabalhos verificaram uma redução dos marcadores inflamatórios como IL-6 e TNF α e não apresentaram diferença estatística entre a combinação e a suplementação isolada dos ω -3-PUFAs.

3.5 DHA como precursor anti-inflamatório

Das doses de óleo de peixe utilizadas nos estudos, o ácido graxo eicosapentaenóico (EPA) representa a maior parte se comparado ao docosahexaenóico (DHA), exceto por estudos que trabalharam com neuroinflamação, como Shi e colaboradores (2016). Nesse estudo, os animais receberam 50 µL de óleo de peixe (contendo 5 mg de EPA e 30 mg de DHA) durante 2 semanas. Após endotoxemia de 1mg/kg de LPS em 24 horas, a indução da neuroinflamação em diferentes regiões do cérebro foi atenuada pelo pré-tratamento com óleo de peixe, bloqueando o aumento de citocinas e supressão de p56 (subunidade do NFκB) e reduzindo IL-6, TNF-α.

O estudo de Ling e colaboradores (2012) analisou a resposta inflamatória da dieta com ácidos graxos essenciais (20:3n9/20:4n6) com ácido araquidônico (AA) e DHA comparado à dieta padrão AIN-93 com 2% de óleo de soja e à dieta pobre em ácidos graxos com 2% de óleo de coco na composição. Após 4 horas de endotoxemia, houve um aumento significativo de IL-6 no grupo AA + DHA quando comparado aos demais grupos. Entretanto, o grupo AA + DHA reduziu significativamente as concentrações de PCR no plasma em comparação com a dieta AIN-93, refletindo a redução na inflamação da linha de base

Tabela 1: Estudos experimentais com inflamação de alto grau

Estudo	Modelo do estudo				Animais		Análise	Métodos	Resultados
	Autor	LPS	Tratamento ω -3-PUFAs		Animais	n			
	Dose	Incubação	Dose	Tempo de tratamento					
Coquerel, D., et al (2013)	20 mg/kg	2 ou 5 horas	Nutrição parenteral com 0,5g/kg Omegaven	90 minutos pré dose de LPS	Ratos machos Wistar	3 grupos (n=30)	Elisa e RT-PCR plasmático	Miocárdio Ventriculo esquerdo	ω -3-PUFAs reduziu TNF- α plasmático ($p \leq 0,0001$ vs) após 5 horas de LPS
Sekhon-Look Du S et al., (2014)	5 mg/kg	5 horas via intraperitonea	Dieta 1000 mg/kg de peso (EPA 82% DHA14%)	4 semanas	Ratos machos Wistar	5 grupos (n=60)	Elisa	Sangue, Fígado, baço e tecido adiposo	ω -3-PUFAs reduziram as concentrações séricas de IL-6 e aumentaram IL-10 após o tratamento com LPS.
Keisuke Kohama, et al (2014)	15 mg/kg via intratraquea	3 ou 24 horas	Nutrição Parenteral 380 ml/kg/dia Omegaven	3 dias	Ratos Sprague-Dawley machos	3 grupos (n=18)	RT-PCR m-RNA quantificado	Pulmão	NP com ω -3-PUFAs reduziu picos de expressão de TNF α e ICAM-1, edema, infiltração de neutrófilos no

									alvéolo após LPS. (p<0,05)	24h
Liu et al., (2015)	3,5 mg/kg	8 dias	Gavagem de 0,1 ml/dia com 63% de EPA e DHA	8 dias após LPS	Camundongos C57BL	4 grupos (n=24)	Western blot e RT-PCR m-RNA	Intestino, Músculo esquelético, fígado	ω -3-PUFAs regulou a expressão do TLR4 e reduziu níveis de TNF- α , IL-1 β e IL-6 (p<0,05)	
Ramos et al., (2019)	10 mg/kg	17 e 48 horas	Gavagem de 1.000 mg (21,3% de EPA e 11,4% de DHA)	17 e 48 horas	Ratos Wistar machos adultos	7 grupos (n=49)	Elisa	Rim	Grupo ω -3-PUFAs reduziu secreção induzida por LPS de TNF- α , IL-6 e IL-1 β , e estimulam a secreção da citocina antiinflamatória IL-10 nas primeiras 17 e 48h.	
Hintze et al., (2016)	5 mg/kg	24 horas	Dieta com 2,5%, 5% e 10% de proporção n-6: n-3 (1: 1, 10: 1 e 20: 1)	8 semanas	Camundongos C57BL6 / J. machos adultos	n=12	Elisa	Sangue	A expressão de IL-5, IL-6, IL-10 e IL-12 foram afetados pelo teor de 5 e 10% de ω -3-PUFAs	

Anez-Bustillos L., (2019)	5 mg/kg	2 ou 14 horas pós prandial	Dieta cetogênica com éster etílico (92% EPA e DHA, Pronova BioPharma Norge AS, Sandefjord, Noruega)	4 semanas	Camundongos machos adultos	6 grupos n=50 *pré e pós prandial	RT-PCR m-RNA Elisa	Fígado (n=5 por grupo) Sangue	Tratamento com ω -3-PUFAs reduzir TNF-alfa e IL-6 após LPS/2 horas pós prandial.
Dang, Ret al., (2018)	500 μ g/kg/dia	A cada 2 dias, no total de 7 injeções	Gavagem de 1,5 g/kg (EPA 34%, DHA 24%,)	3 semanas	Ratos Sprague-Dawley adultos	4 grupos (n=8)	Western blot e RT-PCR m-RNA	Córtex e hipocampo	O pré tratamento com ω -3-PUFAs reduziu neuroinflamação induzida por LPS de IL-1 β e IL-6 no córtex e hipocampo.

Tabela 2: Estudos experimentais com inflamação de baixo grau

Estudo	Modelo do estudo				Animais		Métodos		Resultados	
Autor	LPS		Tratamento Ω -3-PUFAs		Animais	n	Análise	Órgão alvo	Marcadores inflamatórios	
	Dose	Incubação	Dose	Tempo de tratamento						
Mézešová, L et al., (2013)	1 mg/kg dose única	10 horas	Suplemento oral 30 mg/kg/dia (57% EPA e 43% de DHA)	10 semanas	Ratos machos adultos	Wistar	4 grupos (n=46)	Elisa	Sangue Rins	ω -3-PUFA reduziu níveis de Proteína C reativa e radicais livres mantendo a atividade renal controlada.
Frimmel K et al., (2014)	1 mg/kg dose única	24 horas	Dieta enriquecida com 30 mg/kg/dia (57% EPA e 43% de DHA)	10 semanas	Ratos machos adultos	Wistar	4 grupos (n=24)	Elisa	Sangue Endotélio aórtico	ω -3-PUFA diminui a inflamação moderada, pela redução de Cx40, CD68 e Proteína C reativa no tecido aórtico.
Carlson et al., (2016)	1 mg/kg dose única	4 horas	Dieta com 3% de óleo de peixe purificado	12 semanas	Camundongos C57Bl6 machos adultos		5 grupos (n=50)	Elisa	Sangue Fígado	IL-6, TNF- α significativamente mais altos em após tratamento com LPS e ω -3-PUFA
Krizak et al., (2016)	1 mg/kg dose unida	24 horas	Dieta enriquecida com 30 mg/kg/dia	10 semanas	Ratos machos adultos	Wistar	4 grupos (n=24)	Elisa	Sangue Endotélio aórtico	ω -3-PUFA reduziu a expressão de proteína C reativa, CD68 e radicais livres sem afetar

			(57% EPA e 43% de DHA)							expressão de ocludinas no tecido aórtico.
Labrousse FV, et al., (2018)	0,12 µg /g dose única	3 horas	Dieta com 5% de gordura com uma razão LA / ALA alta, balanceada ou deficiente de Ω-3 PUFA	17 dias	Camundongos C57BL6 / J homens e mulheres adultos e neonatos	4 grupos (n=30)	Elisa	Sangue Fígado Microglia	A deficiência de ω-3-PUFAs exacerbou a produção de IL-6 e TNFα induzida por LPS no sangue materno. Na placenta, a produção de IL-6 induzida por LPS também foi exacerbada na prole deficientes em ω-3 PUFAs	
Shi et al., (2020)	0,6 mg/kg dose única	24 horas ou 5 dias	Solução salina contendo 10% ou 20% de Ω-3 PUFA	1 ou 5 dias	Ratos Sprague-Dawley neonatos com 3 dias	4 grupos (n=48)	RT-PCR e Western blot	Hipocampo	ω-3-PUFAs reduziu m-RNA de TLR4 e NF-kB no dia 1 ou 5 após LPS. (p<0,05).	
Gomes et al., (2018)	0,15 mg / kg dose única	24 horas	50 µL EPA 43%, DHA 20%, outro n-3: 2%	180 dias	Camundongos C57BJ / machos idosos (2 anos)	4 grupos (n=24)	Elisa	Hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal	ω-3-PUFAs reduziu os níveis de IL-1β e atenuou IL-6 no hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal induzido por LPS. (p <0,001)	
Shi et al., (2017)	1 mg/kg	24 horas	50 µL de óleo de peixe	2 semanas	Camundongos C57BL machos adultos	3 grupos (n=15)	Elisa	córtex frontal,	LPS induziu neuroinflamação em diferentes	

	dose unida		(contendo 5 mg de EPA e 30 mg de DHA)					hipocampo e hipotálamo	regiões do cérebro, com níveis aumentados de citocinas, incluindo IL-6, TNF- α , e IL-1 β . O pré-tratamento com óleo de peixe bloqueou o aumento de citocinas e supressão de p56 (subunidade do NfKb).
Delpech et al., (2015)	125 μ g / kg dose única	2, 6, 12 ou 24 horas	Dieta com 5% óleo de colza (rica em ácido α -linolênico, 18:3n-3; 'dieta balanceada com PUFA n-3')	8 semanas	Camundongos machos C57Bl6 / J jovens (21 semanas pós natal)	2 grupos (n= 21) Dieta adequada e deficiente	Elisa	Hipocampo	IL-1 mais expresso em animais deficientes em ω -3-PUFAs após 6 horas. IL-1, IL-6 e TNF-alfa estiveram mais altos após 2h LPS e voltaram a reduzir após 24h independente da presença de ω -3-PUFAs.
Hecker et al., (2014)	0,01 mg/kg dose única	4, 24 e 48 horas	200 μ l - LCT (40%) / MCT (50%) / FO (10%) (Lipoplus 20% ®)	3 dias	Camundongos BALB adultos	4 grupos	Elisa	Pulmão	Animais com ω -3-PUFAs, houve a diminuição da invasão de leucócitos, vazamento de

										proteínas, atividade de mieloperoxidase e produção de TNF- α em seu espaço alveolar após desafio com LPS.
Ling et al., (2012)	1 mg/kg dose única	4 horas	3,3 mg de DHA	de 2 semanas	Ratos Sprague-Dawley machos adultos	3 grupos n=39	Elisa	Sangue e Fígado		A presença de DHA reduziu a expressão de Proteína C reativa, TNF, IL-6 plasmático aumentou em todos os grupos após LPS, exceto IL-6.
Dinel et al., (2016)	0,1 mg/kg dose única	3 horas	Acréscimo de 0.2% de DHA na dieta materna.	35 dias (21 + 14)	Camundongos suíços machos e fêmeas (camundongos CD1)	2 cortes n=40	Elisa	Hipocampo		O tratamento com LPS aumentou IL-1 β p <0,05 e TNF α (p <0,001) no hipocampo dos animais com dieta balanceada (DHA e ARA). O acréscimo DHA 0,2% diminuiu a ácido araquidônico no cérebro.
Rey C, et al. (2019)	0,1 mg / kg dose única	24 horas	Dieta com 67% óleo de peixe	8 semanas	Camundongos adultos C57B16 /	8 grupos n=40	RT-PCR m-RNA	Hipocampo		A suplementação de PUFA reduziu significativamente a produção de IL-1 e TNF-alfa após 24h

sendo 18,1%
PUFAs n-3,
1,1% ALA e
17,0% (n-6 /
n-3 = 0,8)

de inflamação
induzida por LPS.
($p < 0,05$ e $p < 0,01$).

Legenda: LCT: Triglicerídeo de cadeia longo; MCT: Triglicerídeos de cadeia média; FO: Óleo de peixe; HCO: óleo de coco hidrogenado; AA: Ácido araquidônico; DHA: ácido graxo docosahexaenoico; PCR: Proteína C reativa

5 DISCUSSÃO

Nossos resultados indicam que as dietas enriquecidas com ω -3-PUFAs têm um impacto significativo na redução da amplificação da resposta inflamatória sistêmica após endotoxemia com LPS. A presença do LPS aumentou os níveis de citocinas pró-inflamatórias na corrente sanguínea, estimulando uma resposta celular intensa em diversas situações, tais como: neuroinflamação, hipoperfusão pulmonar e renal, permeabilidade vascular, sepse e choque séptico. Observamos que uma dose, mesmo que moderada, de LPS é conhecida por acionar a transdução de sinal associada à inflamação sistêmica incluindo citocinas resolutivas como IL-10. Segundo Sekhon-Loodu e colaboradores (2014), no grupo de roedores que recebeu LPS, a expressão de IL-10 foi 18 vezes maior que no grupo controle. Esse aumento ainda se mostrou mais elevado no grupo LPS que recebeu o tratamento com ω -3-PUFAs.

Os ω -3-PUFAs inseridos na dieta, foi capaz de diminuir a resposta inflamatória e melhorar sobrevida global após a administração de endotoxina. [28, 38] Os demais estudos não traduzem os melhores resultados para a sobrevida, tendo em vista que a inflamação é uma resposta adaptativa do hospedeiro, os estudos buscaram elucidar estados inflamatórios crônicos e outros parâmetros ligados a morte séptica. Como de acordo com achados de Liu e colaboradores (2015), que observou a queda gradual do peso corporal nos animais que receberam óleo de peixe contendo 63% de EPA e DHA após serem desafiados com LPS, comparado com a suplementação de óleo de milho. Esse estudo foi encerrado quando o peso corporal médio no grupo LPS atingiu 20% de seu valor inicial. Os ω -3-PUFA além de reduzirem significativamente a perda de peso, também atenuaram o estado inflamatório, duas principais manifestações da sepse que podem aumentar a incidência de morte.

O aumento de biomarcadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios fazem parte da resposta inflamatória resolutiva. [1] Porém, quando a dieta fornece ω -3-PUFAs observamos um efeito pró-resolutivo mais eficaz. O conteúdo de ω -3-PUFAs e ω -6 em diversos tecidos é importante para a regulação da inflamação sistêmica. [24] Uma dieta que esteja desbalanceada ou que possua um aumento de oferta de gorduras saturadas parece afetar negativamente a resposta inflamatória. Presume-se que o ácido graxo ômega 6, assim como o ácido araquidônico, seja mais pró-inflamatório por meio de sua produção de eicosanóides da série 2, como prostaglandina e prostaciclina, e leucotrienos da série 4. [25]

O LPS também é conhecido por induzir a produção de fosfolipase A2, que sinaliza a liberação de ácido araquidônico do plasma e dos tecidos lipídicos e enzimas ciclooxigenase-2 e que converte AA em prostaglandinas e outros mediadores para a produção e resolução de inflamação. [26]

Observamos que a expressão de citocinas pró-inflamatórias mediada por TLR4 e NF- κ B foi significativamente aumentada em resposta à administração sistêmica de LPS. O tratamento com ω -3-PUFAs parece atenuar a resposta inflamatória, reduzindo a expressão de citocinas como TNF- α , IL-6 e IL-1 β e estimulando a secreção da citocina anti-inflamatória como IL-10 em diferentes doses de LPS, antes ou junto ao momento da infecção. [21,27,28]

O LPS pode afetar órgãos como rim, pulmão, fígado e cérebro em um grau diferente por meio de mecanismos moleculares [29,38]. O estudo de Carlson et al., 2016 observou um aumento da resposta inflamatória com a presença de óleo de peixe purificado quando comparado aos demais grupos. Esse aumento da resposta inflamatória sistêmica também refletiu em um aumento da resposta imune, o que, em certas circunstâncias, pode ser benéfico, como, por exemplo, na correção da deficiência de ácidos graxos essenciais. [28,37]

Entende-se, também, que no óleo de peixe nativo ou não purificado, EPA e DHA estão presentes em 25–30% dos ácidos graxos totais e AA em, aproximadamente, 0,5–1% com a maioria restando ácidos graxos saturados, o que justificaria um possível efeito diferente dos ω -3-PUFAs na resposta inflamatória, um fato que ocorre devido, em parte, à produção de prostanóides da série 3 e leucotrienos da série 5 [30] e desempenha um papel importante na regulação na conversão enzimática em mediadores derivados de lipídios. [18]. O DHA e o EPA podem ser enzimaticamente convertidos na família de resolvinas da série D e E, respectivamente, e disponibilizados para conversão enzimática em resolvinas, protectinas e maresinas, que são bioativas para resolução da inflamação. [31,32]

A família de resolvinas da série E tem uma atividade que promove a redução dos neutrófilos ao regular a infiltração do tecido, aumentando a produção de neutrófilos apoptóticos pelos macrófagos e a depuração linfática dos fagócitos. [33] Isso leva à redução da inflamação dérmica, peritonite, migração de células dendríticas e produção de IL-12 e bloqueia a ativação e a agregação plaquetária, além de regular a produção de citocinas pró-inflamatórias por células dendríticas. [34] Já a família de resolvinas da série D aumenta a sobrevivência em um modelo de camundongo de sepse, por meio da produção de óxido

nítrico, bem como modifica os receptores de adesão dos leucócitos e diminui carga bacteriana, contribuindo para a regulação da inflamação sistêmica. [34,35,36]

Nossos dados fornecem informações sobre como os ω -3-PUFAs podem influenciar a resposta inflamatória sistêmica frente à infecção, mas também sugerem um papel crucial da composição da dieta como estratégia preventiva e terapêutica aplicável.

6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

As principais limitações identificadas estão relacionadas ao tempo de tratamento utilizado em cada estudo. Não é possível estabelecer um padrão de tempo para intervenção com ω -3-PUFAs [18]. Entretanto, o tempo e a dose LPS estabeleceram a intensidade do processo inflamatório, que variou de inflamação de baixo grau a um quadro de sepse de acordo com os achados nas tabelas 1 e 2. Observamos também que a proporção de ω -3-PUFAs e ω -6 variou ou, então, não foi ressaltada pelos estudos. É sabido que, para a regulação da inflamação sistêmica, essa proporção deve ser equilibrada, entendendo que a presença de ω -3-PUFAs não determina sozinho o efeito anti-inflamatório [24].

7 CONCLUSÃO

Os modelos animais desempenham um papel importante na pesquisa. Mesmo com limitações, observamos que a presença do ω -3-PUFAs foi capaz de mimetizar a amplificação da resposta inflamatória mesmo em quadros mais severos de indução à inflamação. Para restaurar a homeostase, os ácidos graxos ômega-3 DHA e EPA e o ácido araquidônico ômega-6 estão disponíveis em locais de inflamação, porém os ω -3-PUFA direcionam as principais características da resolução da inflamação, incluindo a inibição da migração de neutrófilos, o aumento da fagocitose de macrófagos de neutrófilos apoptóticos e a supressão de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias.

Os resultados dessa revisão não apenas fornecem informações sobre como os lipídios podem influenciar a resposta infecciosa ao LPS, mas também sugerem um papel para os ω -3-PUFAs de prevenção e de terapia aplicável frente à regulação da resposta inflamatória.

Esta revisão englobou diferentes níveis de inflamação e doses de tratamento com ω -3-PUFA, podendo servir de apoio para trabalhos futuros, economizando tempo de pesquisa e recurso financeiro e preservando a vida de animais que serviram de modelos para tais

investigações. Nesse viés, trabalhos futuros podem usar os dados desta revisão para elaborar pesquisas e expandir os mecanismos dos ω -3-PUFAs.

REFERÊNCIAS

- [1] Karin, Michael, and Hans Clevers. “Reparative inflammation takes charge of tissue regeneration.” *Nature* vol. 529,7586 (2016): 307-15. doi:10.1038/nature17039
- [2] Medzhitov, R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* **454**, 428–435 (2008) doi:10.1038/nature07201
- [3] Sanz A, Gredilla R, Pamplona R, Portero-Otín M, Vara E, Tresguerres JA, Barja G. Effect of insulin and growth hormone on rat heart and liver oxidative stress in control and caloric restricted animals. *Biogerontology*. 2005;6(1):15-26. doi: 10.1007/s10522-004-7380-0. PMID: 15834660
- [4] Hou Y, Wang XF, Lang ZQ, et al. Adiponectin is protective against endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis of endothelial cells in sepsis. *Braz J Med Biol Res*. 2018;51(12):e7747. Published 2018 Nov 14. doi:10.1590/1414-431X20187747
- [5] Croft, A. P., Campos, J., Jansen, K., Turner, J. D., Marshall, J., Attar, M., ... Buckley, C. D. (2019). Distinct fibroblast subsets drive inflammation and damage in arthritis. *Nature*, 570(7760), 246–251. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1263-7>
- [6] Lima, A. de F. K. T. de, & Franco, R. P. (2010). Systemic inflammatory response syndrome, a diagnostic challenge. *Acta Veterinaria Brasilica*, 3(4), 123–131.
- [7] Nisr, R. B., Shah, D. S., Ganley, I. G., & Hundal, H. S. (2019). Proinflammatory NFkB signalling promotes mitochondrial dysfunction in skeletal muscle in response to cellular fuel overloading. *Cellular and Molecular Life Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03148-8>.
- [8] FULLERTON, J. N., & GILROY, D. W. (2016). Resolution of inflammation: A new therapeutic frontier. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(8), 551–567. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.3>
- [9] Kingsley SM, Bhat BV 2016. Paradigmas diferenciais em modelos animais de sepse. *Curr. Infectar. Dis. Rep* . 18 , 26.
- [10] Zhou, Z., Su, Y., & Fa, X.-E. (2019). Isorhynchophylline exerts anti-inflammatory and anti-oxidative activities in LPS-stimulated murine alveolar macrophages. *Life Sciences*, #pagerange#. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.03.017>

- [11] Ding, J., & Liu, Q. (2019). Toll-like receptor 4: A promising therapeutic target for pneumonia caused by Gram-negative bacteria. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, (March), jcmm.14529. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14529>
- [12] Kim HM, Kim Y-M. HMGB1: LPS delivery vehicle for caspase-11-mediated pyroptosis. *Immunity*. 2018;49:582–584. doi: 10.1016/j.immuni.2018.09.021.
- [13] Morris MC, Gilliam EA, Li L. Innate immune programming by endotoxin and its pathological consequences. *Front Immunol*. 2015 Jan 6;5:680. doi: 10.3389/fimmu.2014.00680. PMID: 25610440; PMCID: PMC4285116.
- [14] Yang, F., Li, X., Wang, L. K., Wang, L. W., Han, X. Q., Zhang, H., & Gong, Z. J. (2014). Inhibitions of NF- κ B and TNF- α result in differential effects in rats with acute on chronic liver failure induced by d-Gal and LPS. *Inflammation*, 37(3), 848–857. <https://doi.org/10.1007/s10753-013-9805-x>
- [15] P.C. Calder. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids*, 75 (2006), pp. 197-202
- [16] Robertson, R. C., Guihéneuf, F., Bahar, B., Schmid, M., Stengel, D. B., Fitzgerald, G. F., Stanton, C. (2015). The anti-inflammatory effect of algae-derived lipid extracts on lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human THP-1 macrophages. *Marine Drugs*, 13(8), 5402–5424. <https://doi.org/10.3390/md13085402>
- [17] Fredman, G., Van Dyke, T. E., & Serhan, C. N. (2010). Resolvin E1 regulates adenosine diphosphate activation of human platelets. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 30(10), 2005–2013. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.209908>
- [18] Kasuga, K., Yang, R., Porter, T. F., Agrawal, N., Petasis, N. A., Irimia, D., ... Serhan, C. N. (2008). Rapid Appearance of Resolvin Precursors in Inflammatory Exudates: Novel Mechanisms in Resolution. *The Journal of Immunology*, 181(12), 8677–8687. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.12.8677>
- [19] Mullen, A., Loscher, C. E., & Roche, H. M. (2010). Anti-inflammatory effects of EPA and DHA are dependent upon time and dose-response elements associated with LPS stimulation in THP-1-derived macrophages. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(5), 444–450. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.02.008>
- [20] Rocha DM, Caldas AP, Oliveira LL, Bressan J, Hermsdorff HH. Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. *Atherosclerosis*. 2016; 244:211-5.
- [21] Coquerel D, Kušíková E, Mulder P, Coëffier M, Renet S, Dechelotte P, Richard V, Thuillez C, Tamion F. Omega-3 polyunsaturated fatty acids delay the progression of

endotoxic shock-induced myocardial dysfunction. *Inflammation*. 2013 Aug;36(4):932-40. doi: 10.1007/s10753-013-9622-2. PMID: 23536108.

[22] Madore C, Nadjar A, Delpech JC, Sere A, Aubert A, Portal C *et al* (2014). Nutritional n-3 PUFAs deficiency during perinatal periods alters brain innate immune system and neuronal plasticity-associated genes. *Brain Behav Immun* 41: 22–31.

[23] Hecker, M., Ott, J., Sondermann, C. *et al*. Immunomodulation by fish-oil containing lipid emulsions in murine acute respiratory distress syndrome. *Crit Care* 18, R85 (2014). <https://doi.org/10.1186/cc13850>

[24] Sekhon-Loodu S, Catalli A, Kulka M, Wang Y, Shahidi F, Rupasinghe HP. Apple flavonols and n-3 polyunsaturated fatty acid-rich fish oil lowers blood C-reactive protein in rats with hypercholesterolemia and acute inflammation. *Nutr Res*. 2014 Jun;34(6):535-43. doi: 10.1016/j.nutres.2014.05.002. Epub 2014 May 14. PMID: 25026921.

[24] T.L. Blasbalg, J.R. Hibbeln, C.E. Ramsden, S.F. Majchrzak, R.R. Rawlings. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century *Am. J. Clin. Nutr.*, 93 (2011), pp. 950-962

[25] R.T. Enos, K.T. Velazquez, J.L. McClellan, T.L. Cranford, M.D. Walla, E.A. Murphy Reducing the dietary omega-6:omega-3 utilizing alpha-linolenic acid; not a sufficient therapy for attenuating high-fat-diet-induced obesity development nor related detrimental metabolic and adipose tissue inflammatory outcomes *Plos ONE*, 9 (2014), p. e94897

[26] Akundi RS, Candelario-Jalil E, Hess S, et al. Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 in lipopolysaccharide-activated primary rat microglia. *Glia* 2005;51:199-208.

[27] Shi, J., wang, W., Sang, G., Xi, H., Sun, Y., Lu, C., ... Huang, L. (2020). Short Term Usage of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Ameliorate Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response and Oxidative Stress in the Neonatal Rat Hippocampal Tissue . *Frontiers in Nutrition* . Retrieved from <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnut.2020.572363>

[28] Ramos MFP, Oliveira OB, de Barros ADCMM, et al. Comparison of olive leaf, olive oil, palm oil, and omega-3 oil in acute kidney injury induced by sepsis in rats. *PeerJ*. 2019;7:e7219. Published 2019 Jul 9. doi:10.7717/peerj.7219

[29] Proniewski B, Kij A, Sitek B, Kelley EE, Chlopicki S. Multiorgan desenvolvimento de estresse oxidativo e nitrosativo em endotoxemia induzida por LPS em camundongos C57Bl

/ 6: abordagem *in vivo* baseada em DHE . *Oxid Med Cell Longev* . (2019) 2019: 7838406. doi: 10.1155 / 2019/7838406

[30] Cook J.A., Wise W.C., Halushka P.V. Elevated thromboxane levels in the rat during endotoxic shock: protective effects of imidazole, 13-azaprostanoic acid, or essential fatty acid deficiency. *J Clin Invest*. 1980; 65: 227-230

[31] Fredman, G., Van Dyke, T. E., & Serhan, C. N. (2010). Resolvin E1 regulates adenosine diphosphate activation of human platelets. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 30(10), 2005–2013. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.209908>

[32] Duvall MG, Levy BD. Resolvinas derivadas de DHA e EPA, protectinas e maresinas na inflamação das vias aéreas. *Eur J Pharmacol* . 2016; 785: 144-155. doi: 10.1016 / j.ejphar.2015.11.001

[33] Serhan CN, Levy BD. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J Clin Invest*. 2018;128(7):2657-2669. doi:10.1172/JCI97943

[34] Dona M, Fredman G, Schwab JM, Chiang N, Arita M, Goodarzi A, Cheng G, von Andrian UH, Serhan CN. Resolvin E1, um mediador derivado de EPA no sangue total, contra-regula seletivamente leucócitos e plaquetas. *Sangue*. 2008; 112 : 848–855.

[35] Spite M, Norling LV, Summers L, et al. Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis. *Nature*. 2009;461(7268):1287-1291. doi:10.1038/nature08541

[36] Zindel J, Kubes P. DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol*. 2020 Jan 24;15:493-518. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032847. Epub 2019 Nov 1. PMID: 31675482.

[37] Carlon SJ, Nandivada P, Chang MI, Mitchell PD, O'Loughlin A, Cowan E, Gura KM, Nose V, Bistrrian BR, Puder M. The addition of medium-chain triglycerides to a purified fish oil-based diet alters inflammatory profiles in mice. *Metabolism*. 2015 Feb;64(2):274-82. doi: 10.1016/j.metabol.2014.10.005. Epub 2014 Oct 13. PMID: 25458829; PMCID: PMC4277814.

[38] Kohama K, Nakao A, Terashima M, Aoyama-Ishikawa M, Shimizu T, Harada D, Nakayama M, Yamashita H, Fujiwara M, Kotani J. Supplementation of parenteral nutrition with fish oil attenuates acute lung injury in a rat model. *J Clin Biochem Nutr*. 2014 Mar;54(2):116-21. doi: 10.3164/jcbrn.13-90. Epub 2014 Jan 25. PMID: 24688221; PMCID: PMC3947972.

- [39] Liu YH, Li XY, Chen CY, Zhang HM, Kang JX. Omega-3 fatty acid intervention suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation and weight loss in mice. *Mar Drugs*. 2015 Feb 13;13(2):1026-36. doi: 10.3390/md13021026. PMID: 25689565; PMCID: PMC4344616.
- [40] Hintze KJ, Tawzer J, Ward RE. Concentration and ratio of essential fatty acids influences the inflammatory response in lipopolysaccharide challenged mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2016 Aug;111:37-44. doi: 10.1016/j.plefa.2016.03.003. Epub 2016 Mar 10. PMID: 27021356.
- [41] Anez-Bustillos L, Dao DT, Finkelstein A, Pan A, Cho BS, Mitchell PD, Gura KM, Bistrrian BR, Puder M. Metabolic and Inflammatory Effects of an ω -3 Fatty Acid-Based Eucaloric Ketogenic Diet in Mice With Endotoxemia. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2019 Nov;43(8):986-997. doi: 10.1002/jpen.1688. Epub 2019 Aug 21. PMID: 31435972.
- [42] Deng M, Scott MJ, Loughran P, Gibson G, Sodhi C, Watkins S, Hackam D, Billiar TR (2013) Lipopolysaccharide clearance, bacterial clearance, and systemic inflammatory responses are regulated by cell type-specific functions of TLR4 during sepsis. *J Immunol*. 190;190:5152–5160. doi: 10.4049/jimmunol.1300496.
- [43] Delpech JC, Thomazeau A, Madore C, Bosch-Bouju C, Larrieu T, Lacabanne C, Remus-Borel J, Aubert A, Joffre C, Nadjar A, Layé S. Dietary n-3 PUFAs Deficiency Increases Vulnerability to Inflammation-Induced Spatial Memory Impairment. *Neuropsychopharmacology*. 2015 Nov;40(12):2774-87. doi: 10.1038/npp.2015.127. Epub 2015 May 7. PMID: 25948102; PMCID: PMC4864653.
- [44] Navarová J, Kyselová-Brnoliaková Z, Vrbjar N. Supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids to lipopolysaccharide-induced rats improved inflammation and functional properties of renal Na,K-ATPase. *Nutr Res*. 2013 Sep;33(9):772-9. doi: 10.1016/j.nutres.2013.06.001. Epub 2013 Jul 26. PMID: 24034577.
- [45] Frimmel K, Vlkovicova J, Sotnikova R, Navarova J, Bernatova I, Okruhlicova L. The effect of omega-3 fatty acids on expression of connexin-40 in Wistar rat aorta after lipopolysaccharide administration. *J Physiol Pharmacol*. 2014 Feb;65(1):83-94. PMID: 24622833.
- [46] Krizak J, Frimmel K, Bernatova I, Navarova J, Sotnikova R, Okruhlicova L. The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on endothelial tight junction occludin expression in rat aorta during lipopolysaccharide-induced inflammation. *Iran J Basic Med Sci*. 2016 Mar;19(3):290-9. PMID: 27114799; PMCID: PMC4834119.

- [47] Labrousse VF, Leyrolle Q, Amadiou C, Aubert A, Sere A, Coutureau E, Grégoire S, Bretillon L, Pallet V, Gressens P, Joffre C, Nadjar A, Layé S. Dietary omega-3 deficiency exacerbates inflammation and reveals spatial memory deficits in mice exposed to lipopolysaccharide during gestation. *Brain Behav Immun*. 2018 Oct;73:427-440. doi: 10.1016/j.bbi.2018.06.004. Epub 2018 Jun 4. PMID: 29879442.
- [48] Shi, Z., Ren, H., Huang, Z. *et al.* Fish Oil Prevents Lipopolysaccharide-Induced Depressive-Like Behavior by Inhibiting Neuroinflammation. *Mol Neurobiol* 54, 7327–7334 (2017). <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0212-9>
- [49] Gomes MG, Souza LC, Goes AR, Del Fabbro L, Filho CB, Donato F, Prigol M, Luchese C, Roman SS, Puntel RL, Boeira SP, Jesse CR. Fish oil ameliorates sickness behavior induced by lipopolysaccharide in aged mice through the modulation of kynurenine pathway. *J Nutr Biochem*. 2018 Aug;58:37-48. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.05.002. Epub 2018 May 16. PMID: 29870875.
- [50] Ling PR, Malkan A, Le HD, Puder M, Bistran BR. Arachidonic acid and docosahexaenoic acid supplemented to an essential fatty acid-deficient diet alters the response to endotoxin in rats. *Metabolism*. 2012 Mar;61(3):395-406. doi: 10.1016/j.metabol.2011.07.017. Epub 2011 Sep 23. PMID: 21944266.
- [51] Dinel AL, Rey C, Baudry C, Fressange-Mazda C, Le Ruyet P, Nadjar A, Pallet P, Joffre C, Layé S. Enriched dairy fat matrix diet prevents early life lipopolysaccharide-induced spatial memory impairment at adulthood. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2016 Oct;113:9-18. doi: 10.1016/j.plefa.2016.08.013. Epub 2016 Aug 24. PMID: 27720041.
- [52] Rey C, Delpech JC, Madore C, Nadjar A, Greenhalgh AD, Amadiou C, Aubert A, Pallet V, Vaysse C, Layé S, Joffre C. Dietary n-3 long chain PUFA supplementation promotes a pro-resolving oxylipin profile in the brain. *Brain Behav Immun*. 2019 Feb;76:17-27. doi: 10.1016/j.bbi.2018.07.025. Epub 2018 Aug 4. PMID: 30086401.
- [53] Mascioli EA, Iwasa Y, Trimbo S, Leader L, Bistran BR, Blackburn GL. Endotoxin challenge after menhaden oil diet: effects on survival of guinea pigs. *Am J Clin Nutr*. 1989;49(2):277-282. <https://doi.org/10.1093/ajcn/49.2.277>. 19.
- [54] Mancuso P, Whelan J, DeMichele SJ, et al. Effects of eicosapentaenoic and gamma-linolenic acid on lung permeability and alveolar macrophage eicosanoid synthesis in endotoxic rats. *Crit Care Med*. 1997;25(3):523-532

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desse projeto de dissertação estão inseridos em um grande projeto coordenado pela profa. Júlia Dúbios Moreira e a profa. Letícia Carina Ribeiro, colaboradora desta proposta, ao ser contemplada com o edital Universal/CNPq em 2013, colocou em prática modelos experimentais aqui propostos na linha de pesquisa. Junto ao grupo de estudo e pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina, *Translacional Nutrition Neurocienciense*.

A investigação da literatura existente será utilizada para projetos experimentais futuros. Visto que na literatura não há padronização do protocolo com LPS e ω -3-PUFAs, encontramos obstáculos na comparação dos resultados. Por isso, uma amplificação dessa revisão com estudos *in vitro* é pretendida, assim como a elaboração de um modelo experimental.

O presente projeto representa grande contribuição para o entendimento dos diferentes mecanismos atribuídos aos ω -3-PUFAs sobre a inflamação sistêmica. Sabendo que uma dieta desbalanceada, com aumento de gorduras saturadas e ácidos graxos ômega 6 parecem afetar negativamente a resposta inflamatória. Além disso, será possível elaborar protocolos com a utilização do LPS como agente infeccioso em diferentes níveis de inflamação e órgãos alvos para estratégias científicas e terapêuticas que elucidem a regulação da resposta inflamatória.

9 REFERÊNCIAS

AKUNDI RS, CANDELARIO-JALIL E, HESS S, et al. Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 in lipopolysaccharide-activated primary rat microglia. *Glia* 2005;51:199-208.

ANEZ-BUSTILLOS L, DAO DT, FINKELSTEIN A, PAN A, CHO BS, MITCHELL PD, GURA KM, BISTRAN BR, PUDER M. Metabolic and Inflammatory Effects of an ω -3 Fatty Acid-Based Eucaloric Ketogenic Diet in Mice With Endotoxemia. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2019 Nov;43(8):986-997. doi: 10.1002/jpen.1688. Epub 2019 Aug 21. PMID: 31435972.

BERG RD. Translocação bacteriana do trato gastrointestinal. In: *Mecanismos na patogênese das doenças entéricas*. Vol. 2. Springer Science + Business Media, Nova York; 1999. p. 11-30.

BODE JG, EHLTING C, HÄUSSINGER D. The macrophage response towards LPS and its control through the p38(MAPK)-STAT3 axis. *Cell Signal*. 2012 Jun;24(6):1185-94. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.018. Epub 2012 Feb 4. PMID: 22330073.

CANTOR M., DEUTSCHMAN CS, SEYMOUR CW, SHANKAR-HARI M., ANNANE D., BAUER M., BELLOMO R., BERNARD GR, CHICHE JD, COOPERSMITH CM, HOTCHKISS RS, LEVY MM, MARSHALL JC, MARTIN GS, OPAL SM, ET AL. 2016. Definições do Terceiro Consenso Internacional para sepse e choque séptico (Sepse-3). *Geléia. Med. Assoc.* 315, 801–810.

CANI PD, BIBILONI R, KNAUF C, WAGET A, NEYRINCK AM, DELZENNE NM, BURCELIN R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008;57:1470–1481. doi: 10.2337/db07-1403.

CARLSON SJ, NANDIVADA P, CHANG MI, MITCHELL PD, O'LOUGHLIN A, COWAN E, GURA KM, NOSE V, BISTRIAN BR, PUDER M. The addition of medium-chain triglycerides to a purified fish oil-based diet alters inflammatory profiles in mice. *Metabolism*. 2015 Feb;64(2):274-82. doi: 10.1016/j.metabol.2014.10.005. Epub 2014 Oct 13. PMID: 25458829; PMCID: PMC4277814.

P.C. CALDER. Polyunsaturated fatty acids and inflammation Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids, 75 (2006), pp. 197-202

CRAY C, ZAIAS J, ALTMAN NH. Acute phase response in animals: a review. *Comp Med*. 2009;59(6):517-526.

CERVELLIN, G; SCHUETZ, P; LIPPI, G; CHAPTER FIVE - Toward a holistic approach for diagnosing sepsis in the emergency department, *Advances in Clinical Chemistry*, Elsevier, Volume 92, 2019, Pages 201-216, ISSN 0065-2423, ISBN 9780128174777, <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2019.04.004>.

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065242319300307>)

CHEN, X., WU, S., CHEN, C., XIE, B., FANG, Z., HU, W. HE, H. (2017). Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation attenuates microglial-induced inflammation by inhibiting the HMGB1/TLR4/NF-KB pathway following experimental traumatic brain injury. *Journal of Neuroinflammation*, 14(1), 1–12. [https://doi.org/10.1186/s12974-017-0917-3\(b\)](https://doi.org/10.1186/s12974-017-0917-3(b))

- COOK J.A., WISE W.C., HALUSHKA P.V. Elevated thromboxane levels in the rat during endotoxic shock: protective effects of imidazole, 13-azaprostanoic acid, or essential fatty acid deficiency. *J Clin Invest.* 1980; 65: 227-230
- COQUEREL D, KUŠÍKOVÁ E, MULDER P, COËFFIER M, RENET S, DECHELOTTE P, RICHARD V, THUILLEZ C, TAMION F. Omega-3 polyunsaturated fatty acids delay the progression of endotoxic shock-induced myocardial dysfunction. *Inflammation.* 2013 Aug;36(4):932-40. doi: 10.1007/s10753-013-9622-2. PMID: 23536108.
- CROFT, A. P., CAMPOS, J., JANSEN, K., TURNER, J. D., MARSHALL, J., ATTAR, M., BUCKLEY, C. D. (2019). Distinct fibroblast subsets drive inflammation and damage in arthritis. *Nature*, 570(7760), 246–251. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1263-7>
- DANG R, ZHOU X, TANG M, XU P, GONG X, LIU Y, JIAO H, JIANG P. Fish oil supplementation attenuates neuroinflammation and alleviates depressive-like behavior in rats submitted to repeated lipopolysaccharide. *Eur J Nutr.* 2018 Apr;57(3):893-906. doi: 10.1007/s00394-016-1373-z. Epub 2017 Jan 5. PMID: 28058465.
- DENG M, SCOTT MJ, LOUGHRAN P, GIBSON G, SODHI C, WATKINS S, HACKAM D. BILLIAR TR (2013) Lipopolysaccharide clearance, bacterial clearance, and systemic inflammatory responses are regulated by cell type-specific functions of TLR4 during sepsis. *J Immunol.* 190:5152–5160. doi: 10.4049/jimmunol.1300496.
- DELPECH JC, THOMAZEAU A, MADORE C, BOSCH-BOUJU C, LARRIEU T, LACABANNE C, REMUS-BOREL J, AUBERT A, JOFFRE C, NADJAR A, LAYÉ S. Dietary n-3 PUFAs Deficiency Increases Vulnerability to Inflammation-Induced Spatial Memory Impairment. *Neuropsychopharmacology.* 2015 Nov;40(12):2774-87. doi: 10.1038/npp.2015.127. Epub 2015 May 7. PMID: 25948102; PMCID: PMC4864653.
- DEITCH EA. Translocação bacteriana da flora intestinal . *J Trauma* 1990; 30 : S184–89
- DING, J., & LIU, Q. (2019). Toll-like receptor 4: A promising therapeutic target for pneumonia caused by Gram-negative bacteria. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, (March), jcmm.14529. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14529>
- DINEL AL, REY C, BAUDRY C, FRESSANGE-MAZDA C, LE RUYET P, NADJAR A, PALLET P, JOFFRE C, LAYÉ S. Enriched dairy fat matrix diet prevents early life lipopolysaccharide-induced spatial memory impairment at adulthood. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2016 Oct;113:9-18. doi: 10.1016/j.plefa.2016.08.013. Epub 2016 Aug 24. PMID: 27720041.

DONA M, FREDMAN G, SCHWAB JM, CHIANG N, ARITA M, GOODARZI A, CHENG G, VON ANDRIAN UH, SERHAN CN. Resolvin E1, um mediador derivado de EPA no sangue total, contra-regula seletivamente leucócitos e plaquetas. *Sangue*. 2008; 112 : 848–855.

DUVALL MG, LEVY BD. Resolvinas derivadas de DHA e EPA, protectinas e maresinas na inflamação das vias aéreas. *Eur J Pharmacol* . 2016; 785: 144-155. doi: 10.1016 / j.ejphar.2015.11.001

EMKEN, E. A., ADLOF, R. O., & GULLEY, R. M. (1994). Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Lipids and Lipid Metabolism*, 1213(3), 277–288. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(94\)00054-9](https://doi.org/10.1016/0005-2760(94)00054-9)

FREDMAN, G., VAN DYKE, T. E., & SERHAN, C. N. (2010). Resolvin E1 regulates adenosine diphosphate activation of human platelets. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 30(10), 2005–2013. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.209908>

FRIMMEL K, VLKOVICOVA J, SOTNIKOVA R, NAVAROVA J, BERNATOVA I, OKRUHLICOVA L. The effect of omega-3 fatty acids on expression of connexin-40 in Wistar rat aorta after lipopolysaccharide administration. *J Physiol Pharmacol*. 2014 Feb;65(1):83-94. PMID: 24622833.

FRITSCHKE KL. A ciência dos ácidos graxos e da inflamação. *Adv Nutr* . 2015; 6 (3): 293S-301S. Publicado em 15 de maio de 2015. doi: 10.3945 / an.114.006940

FULLERTON, J. N., & GILROY, D. W. (2016). Resolution of inflammation: A new therapeutic frontier. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(8), 551–567. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.3>

GOMES MG, SOUZA LC, GOES AR, DEL FABBRO L, FILHO CB, DONATO F, PRIGOL M, LUCCHESI C, ROMAN SS, PUNTEL RL, BOEIRA SP, JESSE CR. Fish oil ameliorates sickness behavior induced by lipopolysaccharide in aged mice through the modulation of kynurenine pathway. *J Nutr Biochem*. 2018 Aug;58:37-48. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.05.002. Epub 2018 May 16. PMID: 29870875.

GORINA R, FONT-NIEVES M, MÁRQUEZ-KISINOUSKY L, SANTALUCIA T, PLANAS AM. Astrocyte TLR4 activation induces a proinflammatory environment through the interplay between MyD88-dependent NFκB signaling, MAPK, and Jak1/Stat1 pathways. *Glia*. 2011 Feb;59(2):242-55. doi: 10.1002/glia.21094. PMID: 21125645.

- HATTORI, Y; HATTORI, K; SUZUKI, T; PALIKHE,S; MATSUDA, N; Nucleic-acid based gene therapy approaches for sepsis, *European Journal of Pharmacology*, Volume 833, 2018,Pages 403-410, ISSN 0014-2999, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.06.031>
- HINTZE KJ, TAWZER J, WARD RE. Concentration and ratio of essential fatty acids influences the inflammatory response in lipopolysaccharide challenged mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2016 Aug;111:37-44. doi: 10.1016/j.plefa.2016.03.003. Epub 2016 Mar 10. PMID: 27021356.
- HECKER, M., OTT, J., SONDERMANN, C. ET AL. Immunomodulation by fish-oil containing lipid emulsions in murine acute respiratory distress syndrome. *Crit Care* 18, R85 (2014). <https://doi.org/10.1186/cc13850>
- HOU Y, WANG XF, LANG ZQ, ET AL. Adiponectin is protective against endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis of endothelial cells in sepsis. *Braz J Med Biol Res*. 2018;51(12):e7747. Published 2018 Nov 14. doi:10.1590/1414-431X20187747
- KASUGA, K., YANG, R., PORTER, T. F., AGRAWAL, N., PETASIS, N. A., IRIMIA, D., SERHAN, C. N. (2008). Rapid Appearance of Resolvin Precursors in Inflammatory Exudates: Novel Mechanisms in Resolution. *The Journal of Immunology*, 181(12), 8677–8687. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.12.8677>
- KARIN, MICHAEL, AND HANS CLEVERS. “Reparative inflammation takes charge of tissue regeneration.” *Nature* vol. 529,7586 (2016): 307-15. doi:10.1038/nature17039
- Keapai, W., Apichai, S., Amornlerdpison, D., & Lailerd, N. (2016). Evaluation of fish oil-rich in MUFAs for anti-diabetic and antiinflammation potential in experimental type 2 diabetic rats. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 20(6), 581–593. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2016.20.6.581>
- KIM HM, KIM Y-M. HMGB1: LPS delivery vehicle for caspase-11-mediated pyroptosis. *Immunity*. 2018;49:582–584. doi: 10.1016/j.immuni.2018.09.021.
- KINGSLEY SM, BHAT BV 2016. Paradigmas diferenciais em modelos animais de sepse. *Curr. Infectar. Dis. Rep* . 18 , 26.
- KRIZAK J, FRIMMEL K, BERNATOVA I, NAVAROVA J, SOTNIKOVA R, OKRUHLICOVA L. The effect of omega- 3 polyunsaturated fatty acids on endothelial tight junction occludin expression in rat aorta during lipopolysaccharide-induced inflammation. *Iran J Basic Med Sci*. 2016 Mar;19(3):290-9. PMID: 27114799; PMCID: PMC4834119.
- KOHAMA K, NAKAO A, TERASHIMA M, AOYAMA-ISHIKAWA M, SHIMIZU T, HARADA D, NAKAYAMA M, YAMASHITA H, FUJIWARA M, KOTANI J.

Supplementation of parenteral nutrition with fish oil attenuates acute lung injury in a rat model. *J Clin Biochem Nutr.* 2014 Mar;54(2):116-21. doi: 10.3164/jcbn.13-90. Epub 2014 Jan 25. PMID: 24688221; PMCID: PMC3947972.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N. ROBBINS E COTRAN – patologia – Bases patológicas das doenças. 8. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010

KUZMICH NN, SIVAK KV, CHUBAREV VN, POROZOV YB, SAVATEEVA-LYUBIMOVA TN, PERI F. 2017. Moduladores da via de sinalização TLR4 como potencial terapêutico em inflamação e sepse. *Vacinas (Basel).* 5 , 34.

LABROUSSE VF, LEYROLLE Q, AMADIEU C, AUBERT A, SERE A, COUTUREAU E, GRÉGOIRE S, BRETILLON L, PALLET V, GRESSENS P, JOFFRE C, NADJAR A, LAYÉ S. Dietary omega-3 deficiency exacerbates inflammation and reveals spatial memory deficits in mice exposed to lipopolysaccharide during gestation. *Brain Behav Immun.* 2018 Oct;73:427-440. doi: 10.1016/j.bbi.2018.06.004. Epub 2018 Jun 4. PMID: 29879442.

LEE JY, SOHN KH, RHEE SH, HWANG D. Os ácidos graxos saturados, mas não os ácidos graxos insaturados, induzem a expressão da ciclooxigenase-2 mediada pelo receptor 4 do tipo Toll . *J Biol Chem* 2001; 276 : 16683–9.

LEE H., LEE DS., CHANG KJ, KIM SH, CHEONG SH (2019) Ribose-Taurina suprime a inflamação através da regulação de NF- κ B em macrófagos RAW 264,7 ativados. In: Hu J., PIAO F., SCHAFFER S., EL IDRISSE A., WU JY. (eds) Taurine 11. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1155. Springer, Singapura. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8023-5_87

LEPPER PM, HELD TK, SCHNEIDER EM, BOLKE E., GERLACH H., TRAUTMANN M. 2002. Implicações clínicas da liberação de endotoxina induzida por antibióticos em choque séptico. *Intensive Care Med* . 28 , 824–833.

LEMBO-FAZIO L, BILLOD JM, DI LORENZO F, PACIELLO I, PALLACH M, VAZ-FRANCISCO S, HOLGADO A, BEYAERT R, FRESNO M, SHIMOYAMA A, LANZETTA R, FUKASE K, GULLY D, GIRAUD E, MARTÍN-SANTAMARÍA S, BERNARDINI ML, SILIPO A. BRADYRHIZOBIUM Lipid A: Immunological Properties and Molecular Basis of Its Binding to the Myeloid Differentiation Protein-2/Toll-Like Receptor 4 Complex. *Front Immunol.* 2018 Aug 14;9:1888. doi: 10.3389/fimmu.2018.01888.

LING PR, MALKAN A, LE HD, PUDER M, BISTRAN BR. Arachidonic acid and docosahexaenoic acid supplemented to an essential fatty acid-deficient diet alters the

- response to endotoxin in rats. *Metabolism*. 2012 Mar;61(3):395-406. doi: 10.1016/j.metabol.2011.07.017. Epub 2011 Sep 23. PMID: 21944266.
- LIU YH, LI XY, CHEN CY, ZHANG HM, KANG JX. Omega-3 fatty acid intervention suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation and weight loss in mice. *Mar Drugs*. 2015 Feb 13;13(2):1026-36. doi: 10.3390/md13021026. PMID: 25689565; PMCID: PMC4344616.
- LIU, T., ZHANG, L., JOO, D., & SUN, S. C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2(March). <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- LIMA, A. DE F. K. T. DE, & FRANCO, R. P. (2010). Systemic inflammatory response syndrome, a diagnostic challenge. *Acta Veterinaria Brasilica*, 3(4), 123–131.
- LIMONGI D., D'AGOSTINI C., CIOTTI M. 2016. New sepsis biomarkers. *Asian Pacific J. Trop. Biomed.* 6 , 516–519.
- LIU, Y.-H.; LI, X.-Y.; CHEN, C.-Y.; ZHANG, H.-M.; KANG, J.X. Omega-3 Fatty Acid Intervention Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Weight Loss in MICE. *MAR. DRUGS* 2015, 13, 1026-1036. [HTTPS://DOI.ORG/10.3390/MD13021026](https://doi.org/10.3390/md13021026)
- LOBO, S. M., REZENDE, E., MENDES, C. L., & OLIVEIRA, M. C. DE. (2019). Mortality due to sepsis in Brazil in a real scenario: the Brazilian ICUs project. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, 31(1), 7–10. <https://doi.org/10.5935/0103-507X.20190008>
- MASCIOLI EA, IWASA Y, TRIMBO S, LEADER L, BISTRIAN BR, BLACKBURN GL. Endotoxin challenge after menhaden oil diet: effects on survival of guinea pigs. *Am J Clin Nutr*. 1989;49(2):277-282. <https://doi.org/10.1093/ajcn/49.2.277>. 19.
- MANCUSO P, WHELAN J, DEMICHELE SJ, ET AL. Effects of eicosapentaenoic and gamma-linolenic acid on lung permeability and alveolar macrophage eicosanoid synthesis in endotoxic rats. *Crit Care Med*. 1997;25(3):523-532
- MANUSCRIPT, A. (2013). SUPPLEMENTARY , INFORMATION " Projected leaf area (cm) Shoot biomass (g), 8(5), 1–20. <https://doi.org/10.1038/nri2294>. Resolving
- MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; PARRA, M.D.; CERÓN, J.J. Proteínas de fase aguda: isoconceptos básicos y principales aplicaciones en medicina veterinaria. *Anales de Veterinaria*.2001, 17: 99.
- MADORE C, NADJAR A, DELPECH JC, SERE A, AUBERT A, PORTAL C ET AL (2014). Nutritional n-3 PUFAs deficiency during perinatal periods alters brain innate immune system and neuronal plasticity-associated genes. *Brain Behav Immun* 41: 22–31.

MÉZEŠOVÁ L, JENDRUCHOVÁ-JAVORKOVÁ V, VLKOVIČOVÁ J, OKRUHLICOVÁ L, FRIMMEL K, NAVAROVÁ J, KYSELOVÁ-BRNOLIAKOVÁ Z, VRBJAR N. Supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids to lipopolysaccharide-induced rats improved inflammation and functional properties of renal Na,K-ATPase. *Nutr Res.* 2013 Sep;33(9):772-9. doi: 10.1016/j.nutres.2013.06.001. Epub 2013 Jul 26. PMID: 24034577.

MOORE KW, DE WAAL MALEFYT R, COFFMAN RL, O'GARRA A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:683-765. doi: 10.1146/annurev.immunol.19.1.683. PMID: 11244051.

MORRIS MC, GILLIAM EA, LI L. Innate immune programming by endotoxin and its pathological consequences. *Front Immunol.* 2015 Jan 6;5:680. doi: 10.3389/fimmu.2014.00680. PMID: 25610440; PMCID: PMC4285116.

MULLEN, A., LOSCHER, C. E., & ROCHE, H. M. (2010). Anti-inflammatory effects of EPA and DHA are dependent upon time and dose-response elements associated with LPS stimulation in THP-1-derived macrophages. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(5), 444–450. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.02.008>

NEHRING SM, GOYAL A, BANSAL P, PATEL BC. C Reactive Protein. 2021 May 10. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan–. PMID: 28722873.

NISR, R. B., SHAH, D. S., GANLEY, I. G., & HUNDAL, H. S. (2019). Proinflammatory NFκB signalling promotes mitochondrial dysfunction in skeletal muscle in response to cellular fuel overloading. *Cellular and Molecular Life Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03148-8>

OLMOS-ORTIZ A, DÉCIGA-GARCÍA M, PRECIADO-MARTÍNEZ E, ET AL. Prolactin decreases LPS-induced inflammatory cytokines by inhibiting TLR-4/NFκB signaling in the human placenta. *Mol Hum Reprod.* 2019;25(10):660–667. doi:10.1093/molehr/gaz038

OKUDA, SUGURU ET AL. “Lipopolysaccharide transport and assembly at the outer membrane: the PEZ model.” *Nature reviews. Microbiology* vol. 14,6 (2016): 337-45. doi:10.1038/nrmicro.2016.25

OSTARECK DH, OSTARECK-LEDERER A. RNA-Binding Proteins in the Control of LPS-Induced Macrophage Response. *Front Genet.* 2019 Feb 4;10:31. doi: 10.3389/fgene.2019.00031. PMID: 30778370; PMCID: PMC6369361.

OZMENT TR, HA T., BREUEL KF, FORD TR, FERGUSON DA, KALBFLEISCH J., SCHWEITZER JB, KELLEY JL, LI C., WILLIAMS DL 2012. A classe de receptor de scavenger a desempenha um papel central na mediação da mortalidade e no desenvolvimento do fenótipo pró-inflamatório na sepse polimicrobiana. *PLoS Pathog* . 8 , e1002967.

PRONIEWSKI B, KIJ A, SITEK B, KELLEY EE, CHLOPICKI S. Multiorgan desenvolvimento de estresse oxidativo e nitrosativo em endotoxemia induzida por LPS em camundongos C57Bl / 6: abordagem in vivo baseada em DHE . *Oxid Med Cell Longev* . (2019) 2019: 7838406. doi: 10.1155 / 2019/7838406

RAMOS MFP, OLIVEIRA OB, DE BARROS ADCMM, ET AL. Comparison of olive leaf, olive oil, palm oil, and omega-3 oil in acute kidney injury induced by sepsis in rats. *PeerJ*. 2019;7:e7219. Published 2019 Jul 9. doi:10.7717/peerj.7219

R.T. ENOS, K.T. VELAZQUEZ, J.L. MCCLELLAN, T.L. CRANFORD, M.D. WALLA, E.A. Murphy Reducing the dietary omega-6:omega-3 utilizing alpha-linolenic acid; not a sufficient therapy for attenuating high-fat-diet-induced obesity development nor related detrimental metabolic and adipose tissue inflammatory outcomes *Plos ONE*, 9 (2014), p. e94897

RAZOLLI, D.S., MOURA-ASSIS, A., BOMBASSARO, B. ET AL. Hypothalamic neuronal cellular and subcellular abnormalities in experimental obesity. *Int J Obes* (2019) doi:10.1038/s41366-019-0451-8

RAYMOND SL, HOLDEN DC, MIRA JC, STORTZ JA, LOFTUS TJ, MOHR AM, MOLDAWER LL, MOORE FA, LARSON SD, EFRON PA 2017. Reconhecimento microbiano e sinais de perigo em sepse e trauma. *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Basis Dis* . 1863 , 2564–2573.

REINHART K., DANIELS R., KISSOON N., MACHADO FR, SCHACHTER RD, FINFER S. 2017. Reconhecendo a sepse como uma prioridade de saúde global - uma resolução da OMS. *N. Engl. J. Med* . 377 , 414–417.

REY C, DELPECH JC, MADORE C, NADJAR A, GREENHALGH AD, AMADIEU C, AUBERT A, PALLET V, VAYSSE C, LAYÉ S, JOFFRE C. Dietary n-3 long chain PUFA supplementation promotes a pro-resolving oxylipin profile in the brain. *Brain Behav Immun*. 2019 Feb;76:17-27. doi: 10.1016/j.bbi.2018.07.025. Epub 2018 Aug 4. PMID: 30086401.

RITTIRSCH D., FLIERL MA, WARD PA 2008. Harmful molecular engines in sepsis. *Nat. Rev. Immunol.* 8, 776–787.

RITTIRSCH D., Hoesel LM, Ward PA 2007. A desconexão entre os modelos animais de sepsis e sepsis humana. *J. Leukoc. Biol.* 81, 137–143.

ROBERTSON, R. C., GUIHÉNEUF, F., BAHAR, B., SCHMID, M., STENGEL, D. B., FITZGERALD, G. F., STANTON, C. (2015). The anti-inflammatory effect of algae-derived lipid extracts on lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human THP-1 macrophages. *Marine Drugs*, 13(8), 5402–5424. <https://doi.org/10.3390/md13085402>

ROCHA DM, CALDAS AP, OLIVEIRA LL, BRESSAN J, HERMSDORFF HH. Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. *Atherosclerosis*. 2016; 244:211-5.

ROSADINI, CHARLES V, AND JONATHAN C KAGAN. “Early innate immune responses to bacterial LPS.” *Current opinion in immunology* vol. 44 (2017): 14-19. doi:10.1016/j.coi.2016.10.005

SAAD MJ, SANTOS A, PRADA PO. Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. *Physiology (Bethesda)*. 2016 Jul;31(4):283-93. doi: 10.1152/physiol.00041.2015. PMID: 27252163.

SANZ A, GREDILLA R, PAMPLONA R, PORTERO-OTÍN M, VARA E, TRESGUERRES JA, BARJA G. Effect of insulin and growth hormone on rat heart and liver oxidative stress in control and caloric restricted animals. *Biogerontology*. 2005;6(1):15-26. doi: 10.1007/s10522-004-7380-0. PMID: 15834660.

SHI, J., WANG, W., SANG, G., XI, H., SUN, Y., LU, C., ... HUANG, L. (2020). Short Term Usage of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Ameliorate Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response and Oxidative Stress in the Neonatal Rat Hippocampal Tissue. *Frontiers in Nutrition*. Retrieved from <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnut.2020.572363>

SHI, Z., REN, H., HUANG, Z. ET AL. Fish Oil Prevents Lipopolysaccharide-Induced Depressive-Like Behavior by Inhibiting Neuroinflammation. *Mol Neurobiol* 54, 7327–7334 (2017). <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0212-9>

SERHAN CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature*. 2014;510(7503):92-101. doi:10.1038/nature13479

SERHAN CN, LEVY BD. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J Clin Invest*. 2018;128(7):2657-2669. doi:10.1172/JCI97943

- SEKHON-LOODU S, CATALLI A, KULKA M, WANG Y, SHAHIDI F, RUPASINGHE HP. Apple flavonols and n-3 polyunsaturated fatty acid-rich fish oil lowers blood C-reactive protein in rats with hypercholesterolemia and acute inflammation. *Nutr Res.* 2014 Jun;34(6):535-43. doi: 10.1016/j.nutres.2014.05.002. Epub 2014 May 14. PMID: 25026921.
- STEIMLE A, AUTENRIETH IB, FRICK J-S. Structure and function: Lipid A modifications in commensals and pathogens. *Int J Med Microbiol.* 2016;306:290–301. doi: 10.1016/j.ijmm.2016.03.001.
- SPITE M, NORLING LV, SUMMERS L, ET AL. Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis. *Nature.* 2009;461(7268):1287-1291. doi:10.1038/nature08541
- SWEENEY, R. P., & LOWARY, T. L. (2019). New insights into lipopolysaccharide assembly and export. *Current Opinion in Chemical Biology*, 53, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.07.004>
- T.L. BLASBALG, J.R. HIBBELN, C.E. RAMSDEN, S.F. MAJCHRZAK, R.R. RAWLINGS. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century *Am. J. Clin. Nutr.*, 93 (2011), pp. 950-962
- TAN Y, ZANONI I, CULLEN TW, GOODMAN AL, KAGAN JC. Mechanisms of toll-like receptor 4 endocytosis reveal a common immune-evasion strategy used by pathogenic and commensal bacteria. *Immunity.* 2015;43:909–922. doi: 10.1016/j.immuni.2015.10.008.
- VELLOSO LA, FOLLI F, SAAD MJ. TLR4 at the crossroads of nutrients, gut microbiota, and metabolic inflammation. *Endocr Rev.* 2015;36:245–271. doi: 10.1210/er.2014-1100.
- VOLP, ANA CAROLINA PINHEIRO ET AL. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab* [online]. 2008, vol.52, n.3, pp.537-549. ISSN 1677-9487. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302008000300015>.
- Walter MR. The molecular basis of IL-10 function: from receptor structure to the onset of signaling. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2014;380:191-212. doi: 10.1007/978-3-662-43492-5_9. PMID: 25004819; PMCID: PMC4489423.
- ZHANG M, ZOU L, FENG Y, CHEN Y-J, ZHOU Q, ICHINOSE F, CHAO W. Toll-like receptor 4 is essential to preserving cardiac function and survival in low-grade polymicrobial sepsis. *Anesthesiology.* 2014;121:1270–1280. doi: 10.1097/ALN.0000000000000337.

ZINDEL J, KUBES P. DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation. *Annu Rev Pathol.* 2020 Jan 24;15:493-518. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032847. Epub 2019 Nov 1. PMID: 31675482.

ZOU B, JIANG W, HAN H, LI J, MAO W, TANG Z, YANG Q, QIAN G, QIAN J, ZENG W, GU J, CHU T, ZHU N, ZHANG W, YAN D, HE R, CHU Y, LU M. Acyloxyacyl hydrolase promotes the resolution of lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *PLoS Pathog.* 2017;13:e1006436. doi: 10.1371/journal.ppat.1006436.

YANG, F., LI, X., WANG, L. K., WANG, L. W., HAN, X. Q., ZHANG, H., & GONG, Z. J. (2014). Inhibitions of NF- κ B and TNF- α result in differential effects in rats with acute on chronic liver failure induced by d-Gal and LPS. *Inflammation*, 37(3), 848–857. <https://doi.org/10.1007/s10753-013-9805-x>