

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

**EFEITOS ANTIOXIDANTES DA SUPLEMENTAÇÃO
COM ÓLEO DE LINHAÇA MARROM SOBRE
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES ASMÁTICOS**

RECIFE

2014

Érika Michelle Correia de Macêdo

**EFEITOS ANTIOXIDANTES DA SUPLEMENTAÇÃO
COM ÓLEO DE LINHAÇA MARROM SOBRE
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES ASMÁTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Nutrição.

Orientadora: Prof. Dra. Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Co-orientadora: Prof. Dra. Maria Eugênia Farias Almeida Motta

RECIFE

2014

Ficha catalográfica elaborada pela

Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

M141e Macêdo, Érika Michelle Correia de.

Efeitos antioxidantes da suplementação com óleo de linhaça marrom sobre parâmetros inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos / Érika Michelle Correia de Macêdo. – Recife: O autor, 2014.

149 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Célia Maria Machado Barbosa de Castro.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2014.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Óleo de semente do linho. 2. Leucócitos. 3. Peroxidação de lipídeos. 4. Reagentes de sulfidril. 5. Antioxidantes. I. Castro, Célia Maria Machado Barbosa de (Orientadora). II. Título.

ÉRIKA MICHELLE CORREIA DE MACÊDO

**EFEITOS ANTIOXIDANTES DA SUPLEMENTAÇÃO
COM ÓLEO DE LINHAÇA MARROM SOBRE
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES ASMÁTICOS**

Tese aprovada em: 19 de dezembro de 2014.

Banca Examinadora:

Prof^a Célia Maria Machado Barbosa de Castro/UFPE

Prof^a Tânia Lúcia Montenegro Stamford /UFPE

Prof^a Luciana Gonçalves de Orange CAV/UFPE

Prof^a Michelle Figueiredo Carvalho CAV/UFPE

Prof^a Eduila Maria Couto Santos CAV/UFPE

Recife

2014

*Dedico este trabalho aos bens mais preciosos da minha vida,
meus pais: Esio e Marizete: foi por vocês e pra vocês. Amo
muito vocês!!!!*

AGRADECIMENTOS

A **Deus** pela vida maravilhosas!!! Conhecê-lo melhor foi a melhor coisa que aconteceu na minha vida! Obrigada por tudo de maravilhoso que me proporcionou, pelos sonhos conquistados, por me dá sempre força e saúde para conquistá-los.

“Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué 1:9.

Toda honra e toda glória a ti Senhor. Obrigada por me transformar em um ser novo.

“Imerecida vida, de graça recebi,
Por Sua cruz, da morte me livrou,
Trouxe-me a vida, eu estava condenado,
Mas agora pela cruz eu fui reconciliado,
Impressionante é o Seu amor,
Me redimiu e me mostrou
O quanto É fiel”

Quebrantado (Ministério Vineyard).

Obrigada por me ajudar a realizar mais um sonho! Como é bom realizar sonhos!!!!

Deus, mais uma vez segure em minha mão
Minha alma aflita pede tua atenção
Cheguei no nível mais difícil até aqui
Me ajude a concluir
Quando penso que estou forte, fraco eu estou
Mas quando reconheço que sem Ti eu nada sou
Alcanço os lugares impossíveis, me torno um vencedor
Estou sentindo minhas forças indo embora
Mas Tua presença me renova nessa hora
Vem, Senhor, vem... e me leva além
O meu sonho de chegar está tão longe
Sou humano, não consigo ser perfeito
Vem, Senhor, vem... e me leva além
Sou humano (Bruna Karla)

Aos meus maravilhosos pais, ao meu pai **Ésio** que abdicou de seus sonhos para conquistar o sonho de seus filhos. Obrigada "painho" por escolher está presente no dia da minha defesa e passar natal sozinho no Pará, longe de todos nós, que Deus esteja contigo sempre. A minha mãe **Marizete**, minha melhor amiga, minha confidente, conselheira, essa mulher guerreira, que lutou incansavelmente para nos proporcionar uma educação de qualidade, que me conhece como ninguém e sabe se estou bem ou não até quando eu digo apenas um alô no telefone. "Mainha" ser sua filha é uma honra! Penso na senhora a cada passo que dou. "Te amo do fundo do meu coração". Todo meu esforço e dedicação são por vocês e pra vocês. Vocês são os meus maiores incentivadores e batalho a cada dia para ser uma pessoa melhor e encher vocês de orgulho. Obrigada por tudo que fizeram por mim. Amo muito vocês. Que Deus nos dê muita saúde pra que tenha vocês ao meu lado por muito tempo!

Aos meus irmãos, **Murilo e Marcílio**, os melhores irmãos do mundo, mesmo de longe sempre protegem e apoiam a irmã caçula. Como é bom saber que posso contar sempre com vocês. Obrigada por todo incentivo e pelo amor que vocês têm por mim. Espero que um dia a gente se veja com mais frequência. Marcílio, sei que você estará de coração e em pensamento positivo por mim. Amo vocês. E as minhas cunhadas, **Alexandra e Cindy**, pela torcida. E a **Ranieri**, meu primo-irmão que torce muito por mim.

A **Júnior**, por estar sempre presente mesmo quando eu estava ausente, pela ajuda em cada etapa deste trabalho, por aguentar meus estresses, pelo apoio constante e por acreditar sempre em mim. Pelas inúmeras vezes que pensei em desistir você estava do meu lado, mostrando do que sou capaz. Muito obrigada, de coração!

A **Morganna**, que foi fundamental para a conclusão dessa tese, pelo todo apoio na parte de coleta de dados, dos experimentos e por me aguentar em casa enquanto eu escrevia a tese! Muito obrigada Morganna, que Deus te abençoe sempre.

A **Célia Castro**, pela orientação deste trabalho, pela confiança depositada em mim desde a iniciação científica e por permitir a realização deste trabalho mesmo sendo com humanos.

A **Maria Eugênia**, que, enquanto pode, me auxiliou muito na elaboração desse projeto, sempre disposta a ajudar e sempre me incentivando a pensar.

A **André Galvão**, por toda paciência e pela disponibilidade de ensinar a metodologia do estudo, bem como pela realização da análise estatística dos meus dados.

Aos meus afilhados, **Eric, Nina, Manuca, Davi, Andersom, Eliakim**, que sempre me trazem muitos motivos de alegria. Dinda ama tanto vocês!!!!

As amigas **Marina, Luciana, Eduíla e Keila**, pela amizade, torcida, apoio e compreensão para finalização desta tese e pelo aprendizado transmitido que foram essenciais em meu crescimento profissional. É um sonho trabalhar com vocês, por serem pessoas que sempre admirei. Meninas muito obrigada por terem aceitado participar da banca. Adoro vocês!

As professoras **Tânia Stamford e Poliana Cabral**, por todos os ensinamentos transmitidos e por aceitarem participar da minha banca.

As amigas, **Thays, Rebecca e Michelle Carvalho**, que mesmo com a rotina corrida, reservaram um tempo pra ler meus artigos e dar sugestões maravilhosas.

As minhas amigas **Lygia, Cris, Geórgia, Gabriela, Neide, Elizabeth, Roberta, Andréa, Karla, Júlia, Dani; Daniella, Jeanine, Guia** por todo apoio e incentivo e por compreender minha ausência.

Ao **HC e ao LIKA** pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao **paciente**, sem você nada teria sentido. Meu muito obrigada.

Aos **familiares dos pacientes**, muito obrigada por permitirem a realização deste trabalho.

A **Décio**, por todo o apoio na coleta de dados.

Aos **funcionários do ambulatório de Alergologia do HC** pelo apoio que me deram na coleta de dados.

Aos **professores e funcionários da Pós graduação de Nutrição**, pela imensa contribuição neste meu processo de formação.

Aos meus **alunos**, pela torcida, incentivo e compreensão para a concretização desta tese. A cada aula ministrada tenho mais certeza que estou no "caminho certo".

Aos demais familiares e amigos que sempre procuraram entender minha ausência e sempre estavam próximos e prontos para ajudar.

*" Não vou me preocupar com
as perseguições, com as
pedras que me lançam,
Eu posso confiar, eu posso
descansar, Jesus está por
perto!!!!".*

*Advogado fiel - Bruna
Karla*

RESUMO

A asma brônquica é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas, é considerada um importante problema de saúde pública e sua prevalência vem crescendo consideravelmente nas últimas décadas. A resposta inflamatória envolvida na gênese da asma é complexa e envolve uma variedade de mediadores inflamatórios que podem levar a geração de radicais livres, com consequente estresse oxidativo. Embora o tratamento farmacológico seja, geralmente, eficaz, os medicamentos utilizados muitas vezes apresentam efeitos colaterais significativos como candidíase oral e esofagiana, odinofagia, disfagia, disfonia entre outros. Alguns imunonutrientes vêm sendo apontados na prevenção e tratamento da asma, dentre eles os ácidos graxos poli-insaturado Ômega 3 presente em peixes e óleos. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito anti-inflamatório e antioxidante da suplementação com óleo de linhaça marrom em crianças e adolescentes com asma brônquica moderada. Estudo do tipo ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado com crianças e adolescentes de ambos os sexos, entre 7 e 19 anos, diagnosticados com asma brônquica moderada, em uso de broncodilatador inalado, atendidos no ambulatório de Alergologia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, no período de julho de 2013 a agosto de 2014. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo linhaça, os quais foram suplementados com óleo de linhaça marrom e grupo placebo, que receberam cápsulas contendo glucose de milho, com a mesma cor e aspecto do óleo de linhaça. Os pacientes foram orientados a ingerir 1 cápsula contendo 1 grama de óleo de linhaça marrom ou placebo por dia, durante 6 semanas. Para avaliação do estado nutricional foram utilizados os índices de massa corporal para idade (IMC/I) e estatura para idade (E/I). Foram analisados parâmetros inflamatórios do sangue dos pacientes antes e após a suplementação. Para análise estatística foi empregado o teste “t” de Student pareado e o de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn`s. Foram avaliados 63 pacientes, sendo 31 suplementadas com óleo de linhaça marrom e 32 do grupo placebo. A maior parte da amostra era do sexo masculino, com idade entre 7,1 e 18,9 anos. Em ambos os grupos, prevaleceu a eutrofia. Entretanto, observou-se que 34,9% da amostra tinham excesso de peso. Não foram encontradas diferenças entre os dados de idade, peso, altura e IMC entre os grupos. No grupo linhaça foram encontradas reduções no número de eosinófilos (de $4,53\% \pm 1,61$ para $2,9\% \pm 0,99$), nos níveis de Imunoglobulina E (de $122,9\text{UI/mL} \pm 27,9$ para $68,5\text{UI/mL} \pm 28,1$), na peroxidação lipídica ($0,205 \pm 0,013\text{nmol}$ versus $0,076 \pm 0,005\text{nmol}$) e no carbonil ($37,36 \pm 5,9\text{nmol}$ versus $2,08 \pm 1,39\text{nmol}$) e aumento no total de tiol ($6,90 \pm 0,67\text{nmol}$ para $9,86 \pm 1,63\text{nmol}$), porém, não foram encontradas diferenças na produção de catalase. No grupo placebo nenhum dos parâmetros analisados deram diferença. Em conclusão, a suplementação com óleo de linhaça marrom atuou como terapia coadjuvante na asma por reduzir os parâmetros inflamatórios de crianças e adolescentes com asma moderada.

Palavras-chave: Óleo de semente do linho. Leucócitos. Peroxidação de lipídeos. Reagentes de sulfidril. Antioxidantes.

ABSTRACT

Asthma is a chronic inflammatory disease of the airways, considered a major public health problem and its prevalence has increased considerably in recent decades. The inflammatory response involved in the genesis of asthma is complex and involves a variety of types of inflammatory mediators that can lead to the generation of free radicals and consequent oxidative stress. Although pharmacological treatment is generally effective, the drugs used often have significant side effects. Some immunonutrients has been pointed to the prevention and treatment of asthma, including polyunsaturated fatty acids Omega 3. The objective of this study was to investigate the effects of supplementation with brown flaxseed oil on inflammatory parameters in children and adolescents with moderate asthma. Randomized, double-blind, placebo controlled study with children and adolescents of both sexes, aged between 7 and 19 years, diagnosed with moderate bronchial asthma, inhaled bronchodilator in use seen in the ambulatory of Allergology and Immunology, Hospital das Clinicas, Federal University of Pernambuco, from July 2013 to August 2014. Patients were randomly distributed into two groups: flaxseed group, which were supplemented with brown flaxseed oil and placebo group, who received capsules containing corn syrup, with the same color and appearance of linseed oil. Patients were instructed to ingest 1 capsule containing 1 gram of linseed oil or placebo daily for 6 weeks. To assess the nutritional status of the body mass indices were used for age (BMI/A) and height for age (H/A). Inflammatory parameters from blood of patients were analyzed before and after supplementation. For statistical analysis was used the "t" test of Student and the Kruskal-Wallis test followed by Dunn`s post-test. We evaluated 63 patients, 31 supplemented with linseed oil and 32 in the placebo group. Most of sample was male and aged between 7.1 and 18.9 years. In both groups eutrophy was prevalent. No differences were found between the data age, weight, height and BMI between groups. In the flaxseed group was found reductions in the number of eosinophils ($4.53\% \pm 1.61$ to $2.9 \pm 0.99\%$), levels of immunoglobulin E (from $122.9 \text{UI/mL} \pm 27.9$ to $68.5 \text{UI/mL} \pm 28.1$), lipid peroxidation ($0.205 \pm 0.013 \text{nmol}$ versus $0.076 \pm 0.005 \text{nmol}$) and carbonyl ($37.36 \pm 5.9 \text{nmol}$ vs. $2.08 \pm 1.39 \text{nmol}$) and increased total thiol ($6.90 \pm 0.67 \text{nmol}$ to $9.86 \pm 1.63 \text{nmol}$), but no differences were found in the production of catalase. In the placebo group no differences were observed. In conclusion, brown flaxseed oil supplementation served as adjuvant therapy in asthma by reducing the inflammatory parameters of children and adolescents with moderate asthma.

Keywords: Flax seed oil. Leukocytes. Lipid peroxidation. Sulfhydryl reagents. Antioxidants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Perfil da prevalência de asma clínica no mundo	21
FIGURA 2	Resposta imune alérgica na asma.	23
FIGURA 3	Esquema do sistema imune	25
FIGURA 4	Ação das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase, glutathione peroxidase e a catalase.	29
FIGURA 5	Síntese dos ácidos graxos poli-insaturados a partir do ácido linolênico e alfa-linolênico.	32
FIGURA 6	Principais eicosanóides derivados do AA e do EPA	35
FIGURA 7	Cápsulas de óleo de linhaça marrom da marca ELC®.	47
FIGURA 8	Glucose de milho da marca karo®Ação das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase, glutathione peroxidase e a catalase.	47

ARTIGO 1

FIGURA 1	Número de eosinófilos antes e após a intervenção com óleo de linhaça marrom ou placebo, de crianças e adolescentes asmáticos atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014	77
FIGURA 2	Níveis de IgE antes e após a intervenção com óleo de linhaça marrom ou placebo, de crianças e adolescentes asmáticos atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014	78

ARTIGO 2

FIGURA 1	Comparação da peroxidação lipídica (A), do carbonil (B), do tiol total (C) e da catalase (D) antes e após a intervenção com óleo de linhaça marrom ou placebo, de crianças e adolescentes asmáticas atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014	95
-----------------	---	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Classificação da gravidade da asma.	21
TABELA 2	Nutrientes implicados na etiologia da asma e seus possíveis efeitos ou mecanismos.	30
TABELA 3	Concentração dos ácidos linoleico alfa-linolênico e razão n-6/n-3, em alimentos de origem vegetal.	33
TABELA 4	Concentração dos ácidos linoléico, alfa-linolênico, araquidônico, eicosapentanoico e docosapentanoico em alimentos de origem animal.	34
TABELA 5	Pontos de corte para avaliação nutricional segundo A/I.	49
TABELA 6	Pontos de corte para avaliação nutricional segundo IMC/I	49
TABELA 7	Valores de referência para a contagem de eosinófilos de crianças e adolescentes	50

ARTIGO 1

TABELA 1	Classificação do estado nutricional das crianças e adolescentes asmáticas atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014	76
-----------------	---	----

ARTIGO 2

TABELA 1	Características demográficas e antropométricas das crianças e adolescentes asmáticas atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014	94
-----------------	--	----

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Acetato miristato de forbol - PMA

Ácido alfa-linolênico - ALA

Ácido araquidônico – AA

Ácido docosaexahenóico – DHA

Ácido etilenodiamino tetra-acético - EDTA

Ácido eicosapentaenóico - EPA

Ácido linoleico - AL

Ácidos graxos monoinsaturados - MUFAs

Ácidos graxos poli-insaturados - PUFAS

Altura para idade – A/I

Catalase – CAT

Células Natural Killer – NK

Células T helper 2 - Th2

Centro de Ciência da Saúde - CCS

Cicloxigenase - COX

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Conselho Nacional de Pesquisa - CNPq

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES

Desvio padrão – DP

Dinitrofenilhidrazina - DNPH

Espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico – TBARS

Fator de necrose tumoral – TNF α e TNF β

Fator nuclear de transcrição kB - NFkB

Glutathiona Peroxidase – GPx

Grupos sulfidrílicos - SH

Hidroxila - OH

Hospital das Clínicas - HC

Imunoglobulina A – IgA

Imunoglobulina D – IgD

Imunoglobulina E – IgE

Imunoglobulina G – IgG

Imunoglobulina M – IgM

Índice de massa corporal – IMC
Índice de massa corporal para idade – IMC/I
Interferon – IFN
Interleucina – IL
Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA
Leucotrienos - LT
Lipoproteína de baixa densidade - LDL
Lipoxigenase - LOX
Malondialdeído - MDA
Metros - m
Ministério da Saúde – MS
Ômega 3 – n-3
Ômega 6 – n-6
Ômega 9 – n-9
Organização Mundial de Saúde – OMS
Oxidação de proteínas – OP
Óxido Nítrico – ON
Peroxidação lipídica – PL
Peróxido de hidrogênio - H₂O₂
Peso para idade – P/I
Prostaglandinas - PG
Quilogramas - Kg
Radicais livres - RLs
Sistema Único de Saúde – SUS
Superóxido – O₂⁻
Superóxido dismutase – SOD
Tampão fosfato salino - PBS
Tromboxanos - TX
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Volume expiratório final - VEF
World Health Organization - WHO

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	17
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	21
2.1 Asma na infância e adolescência.....	22
2.2 Sistema Imune.....	26
2.3 Estresse oxidativo.....	28
2.4 Dieta e asma.....	33
2.5 Ácidos graxos na asma.....	35
2.6 Linhaça.....	38
3. HIPÓTESE.....	41
4. OBJETIVOS.....	43
4.1 Objetivo geral.....	44
4.2 Objetivos específicos.....	44
5. MÉTODOS.....	45
5.1 Local da pesquisa.....	46
5.2 Desenho do estudo e população.....	46
5.3 Estimativa do tamanho amostral.....	46
5.4 Recrutamento dos pacientes.....	47
5.5 Formação dos grupos.....	47
5.6 Intervenção.....	48
5.7 Coleta de dados.....	49
5.8 Variáveis estudadas.....	50
5.8.1 Antropometria e avaliação do estado nutricional.....	50
5.8.2 Coleta de sangue.....	51
5.8.2.1 Contagem de eosinófilos.....	52
5.8.2.2 Dosagem de IgE.....	52
5.8.2.3 Dosagem da avaliação das espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico (TBARS).....	52
5.8.2.4 Dosagem das Proteínas carboniladas.....	53
5.8.2.5 Dosagem dos Grupos Sulfidrilas em proteínas.....	53
5.8.2.6 Dosagem da Avaliação da atividade enzimática da Catalase (CAT).....	53
5.9 Análise estatística.....	53
5.10 Aspectos éticos.....	54
6. RESULTADOS.....	55
ARTIGO 1 - Suplementação com óleo de linhaça marrom reduz mediadores inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos.....	56
ARTIGO 2 - Suplementação com óleo de linhaça marrom reduz o dano oxidativo em crianças e adolescentes com asma moderada.....	80
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	102
REFERÊNCIAS.....	104
APÊNDICES.....	118
ANEXOS.....	126

APRESENTAÇÃO

1 APRESENTAÇÃO

A asma brônquica é uma doença inflamatória crônica e é caracterizada por broncoespasmo, hipersecreção de muco e edema da mucosa das vias aéreas acarretando diminuição do volume expiratório forçado (VEF), dispnéia, tosse e chiado (SINGAS e KARPEL, 2011). Sua patogênese é decorrente da liberação de mediadores inflamatórios por mastócitos em resposta a alérgenos, induzindo hiper-reatividade brônquica com afrouxamento das junções do epitélio bronquiolar, aumento da permeabilidade capilar e contrações espasmódicas dos músculos lisos que circundam os brônquios, causando estreitamento e obstrução aguda e transitória das vias aéreas (ANDERSON et al., 2009, COCKCROFT e DAVIS, 2006; SINGAS e KARPEL, 2011).

A doença apresenta-se de maneira intermitente, leve, moderada e grave dependendo dos números de intercorrências diárias, gravidade do broncoespasmo e dosagem de fármacos (IV DIRETRIZES BRASILEIRAS PARA O MANEJO DA ASMA, 2006).

A asma é considerada um importante problema de saúde pública e sua prevalência vem crescendo consideravelmente nas últimas décadas (OMS, 2008; SOLÉ et al., 2006). Além disso, a asma é a doença que está mais relacionada à necessidade de cuidados em serviços de emergência médica, bem como a hospitalizações em crianças (NEFFEN, 2005). Os gastos com asma grave consomem quase 25% da renda familiar dos pacientes da classe menos favorecida, sendo que a recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS) é de que não exceda 5% (OMS, 2009).

A inflamação crônica da asma é um processo no qual existe um ciclo contínuo de agressão e reparo que pode levar a alterações estruturais irreversíveis, isto é, o remodelamento das vias aéreas (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA PARA O MANEJO DA ASMA, 2012). Embora o tratamento farmacológico seja geralmente eficaz, os medicamentos utilizados muitas vezes apresentam efeitos colaterais significativos como candidíase oral e esofagiana, odinofagia, disfagia, disфонia, aumento do peso, retardo do crescimento, entre outros (FERNANDES et al., 2001). Terapias alternativas que reduzam as exigências de intervenções farmacológicas seriam benéficas e poderiam reduzir consideravelmente os custos pessoais e de saúde pública gerados pela doença (MCKEEVER e BRITTON, 2004).

Alguns imunonutrientes vêm sendo apontados na prevenção e tratamento para a asma, dentre eles, os ácidos graxos poli-insaturados Ômega 3 (n-3) (NAGAKURA et al., 2000). O interesse da ação desse ácido graxo sobre a asma iniciou com o estudo de Horrobin (1987), que sugeriu a hipótese de que a baixa incidência de asma na população indígena americana era decorrente do consumo elevado de óleo de peixe, o qual é rico em n-3, principalmente nos ácidos eicosapentanoico (EPA, 20:5 n-3) e docosahexanoico (DHA, 22:6 n-3), os quais são sintetizados a partir do ácido alfa-linolênico (ALA, 18:3 n-3).

Após o consumo, estes ácidos graxos, principalmente o EPA, podem ser incorporados nas membranas celulares e reduzir a quantidade de ácido araquidônico, produto do Ômega 6 (n-6), o qual estaria menos disponível para a síntese de eicosanóides pró-inflamatórios, como as prostaglandinas, leucotrienos e os tromboxanos. Da mesma forma, também podem reduzir a produção de radicais livres e de citocinas inflamatórias (GIL, 2002; REISMAN, 2006).

Estudos têm mostrado benefícios com a suplementação com óleo de peixe, rico em n-3 (METCALF et al., 2007; FURST, 2000). Porém, o óleo de linhaça, além de ter um custo inferior, é menos susceptível a oxidação e melhor palatabilidade do que o óleo de peixe. Além disso, é um alimento livre de poluentes, não processado, é um produto orgânico e sua fonte é renovável e sustentável. Porém, diferentemente do óleo de peixe, o óleo de linhaça apresenta maiores concentrações de ALA, o qual ainda precisa ser convertido em EPA e DHA no organismo (BARCELO-COBLIJN et al., 2008; KAUL et al., 2008; KEW et al., 2003). Neste sentido, estudos desenvolvidos com a suplementação de ácidos graxos poli-insaturados provenientes do óleo de linhaça em pacientes asmáticos são de interesse.

Sendo assim, a pergunta condutora que norteou esta pesquisa foi: Qual o efeito da suplementação com óleo de linhaça marrom sobre a resposta inflamatória de crianças e adolescentes com asma?

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito antioxidante do óleo de linhaça marrom sobre os parâmetros inflamatórios de crianças e adolescentes com asma brônquica moderada. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Imunopatologia Keiso Azami (LIKA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e no Hospital das Clínicas de Pernambuco (HC/UFPE), tendo como orientadora a Prof^ª. Dr^ª. Célia

Maria Machado Barbosa de Castro e como co-orientadora a Prof^a. Dr^a. Maria Eugênia Farias Almeida Motta.

O 1º artigo, intitulado: ***Suplementação com óleo de linhaça marrom reduz os mediadores inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos***, está apresentado como resultado da pesquisa e disposto em sua versão original. Foi submetido como artigo original na revista: *Jornal de Pediatria* (Anexo B). As normas para publicação na revista estão dispostas no Anexo D. O periódico possui qualis B2 no comitê de Nutrição da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Em resumo, neste artigo, foram avaliados, antes e após a suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo, o estado nutricional, a contagem de eosinófilos e de Imunoglobulina E de crianças e adolescentes de ambos os sexos, entre 7 e 19 anos, diagnosticados com asma brônquica moderada e atendidos no ambulatório de Alergologia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE), no período de julho de 2013 a agosto de 2014.

O 2º artigo, intitulado: ***Suplementação com óleo de linhaça marrom reduz o dano oxidativo em crianças e adolescentes asmáticos***, também está apresentado como resultado da pesquisa e está disposto em sua versão original. Foi submetido como artigo original na revista: *Revista de Nutrição* (Anexo C). As normas para publicação na revista estão dispostas no Anexo E. O periódico possui qualis B1 no comitê de Nutrição da CAPES. Em resumo, neste artigo, foram avaliados, antes e após a suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo, a peroxidação lipídica, oxidação proteica, proteínas sulfidrilas e catalase de crianças e adolescentes de ambos os sexos, entre 7 e 19 anos, diagnosticados com asma brônquica moderada e atendidos no ambulatório de Alergologia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE), no período de julho de 2013 a agosto de 2014.

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Asma na Infância e Adolescência

A asma é uma doença inflamatória pulmonar crônica grave caracterizada por episódios recorrentes de falta de ar, com expiração prolongada acompanhada de tosse seca e muco viscoso. Esses sintomas são decorrentes da broncoconstrição, espessamento da mucosa brônquica por edema, infiltração eosinofílica, remodelação da parede brônquica e produção excessiva de muco como obstrução das vias aéreas dos pulmões. Estas alterações nas vias respiratórias levam a um aumento da hiperreatividade brônquica em resposta a uma variedade de estímulos alérgicos e não alérgicos. A obstrução é geralmente reversível, espontaneamente ou em resposta a terapêutica adequada (ANDERSON et al., 2009, BOSNJAK et al., 2011; COCKCROFT e DAVIS, 2006; SINGAS e KARPEL, 2011).

Cerca de 70-80% dos casos é causada por alérgenos comuns, por exemplo, pólen, poeira doméstica, pelos de animais, inalantes, alimentos, medicamentos, poluentes gasosos, produtos químicos, drogas, bactérias e vírus causando uma resposta imune excessiva ou inapropriada que pode causar danos aos tecidos pulmonares (BOSNJAK et al., 2011).

A asma na infância e adolescência constitui uma importante causa de morbidade, resultando em comprometimento de atividades diárias e faltas escolares. Sua prevalência vem aumentando nas últimas décadas, sendo considerada, atualmente, uma das principais doenças crônicas no mundo (ANADAN et al., 2010). A asma afeta cerca de 300 milhões de pessoas em todo o mundo (OMS, 2007). No Brasil, anualmente, ocorrem cerca de 350.000 internações por asma, sendo a quarta causa de hospitalizações pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2005). Asma atópica ou alérgica geralmente ocorre na infância ou na idade adulta jovem (com idade inferior a 40 anos) (OMS, 2008). A figura 1 mostra o perfil da prevalência de asma clínica no mundo. Observa-se que o Brasil está entre os países que apresentam maior prevalência de asma clínica.

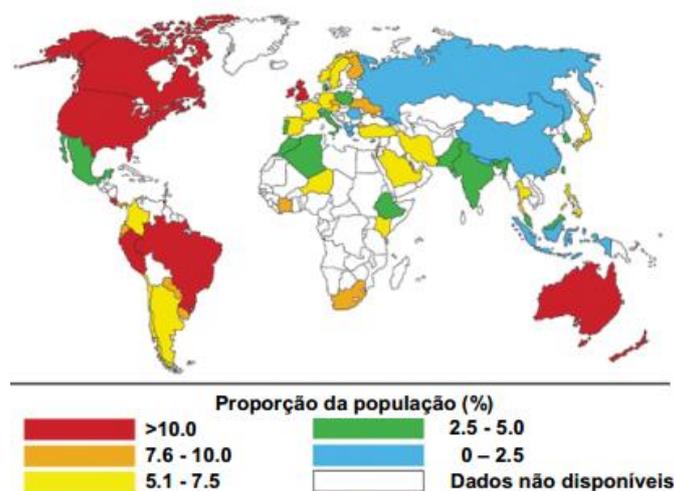


Figura 1: Perfil da prevalência de asma clínica no mundo (adaptado de Bousquet et al., 2005).

As Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma, (2012), recomenda a classificação dos casos de asma em quatro níveis de gravidade clínica, baseando-se na frequência dos sintomas (dispneia sibilante e/ou tosse), despertares noturnos, necessidade de agonista inalado para alívio, limitação de atividades, exarcebações, e na função pulmonar (volume expiratório final no primeiro segundo, VEF₁): intermitente, persistente leve, moderada e grave. O diagnóstico baseado na gravidade da asma está descrito na tabela 1.

Tabela 1 – Classificação da gravidade da asma.

	Persistente			
	Intermitente	Leve	Moderada	Grave
Sintomas	Raros	Semanais	Diários	Diários ou contínuos
Despertares noturnos	Raros	Mensais	Semanais	Quase diários
Necessidade de agente beta2-agonista inalado para alívio	Rara	Eventual	Diária	Diária
Limitação de atividades	Nenhuma	Presente nas exarcebações	Presente nas exarcebações	Contínua

Exarcebações	Raras	Afeta atividades e o sono	Afeta atividades e o sono	Frequentes
VEF1 ou PFE	≥80% previsto	≥80% previsto	60-80% previsto	≤60% previsto
Variação VEF1 ou PFE	<20%	<20%-30%	>30%	>30%

Fonte: DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA PARA O MANEJO DA ASMA, 2012.

Há estimativas de que 60% dos casos de asma sejam classificados em intermitente ou persistente leve, 25 a 30% sejam asma moderada e 5 a 10%, asma grave. Embora, os pacientes com asma grave sejam minoria, representam a parcela maior em utilização de recursos de saúde, morbimortalidade e custos (IV DIRETRIZES BRASILEIRAS PARA O MANEJO DA ASMA, 2006).

A resposta imune alérgica é também conhecida como hipersensibilidade imediata, pois os sintomas após a exposição ao antígeno são rápidos, ocorrendo dentro de minutos. É um processo complexo que tem início com a ativação de células alérgeno-específica T auxiliares tipo 2 (Th2) pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), seguido por sua proliferação, as quais estimulam as células B que se diferenciam em plasmócitos, estimulada pelas interleucinas IL- 4 e IL-13, e produzem Imunoglobulina E (IgE) reativa ao alérgeno. Em seguida, a IgE entra na circulação e é rapidamente capturada pelos receptores dos mastócitos teciduais, levando a degranulação de mastócitos e a liberação de mediadores inflamatórios como histamina, prostaglandinas da série 2 e leucotrienos da série 4 que ocasiona contração da musculatura lisa vascular, causando broncoespasmo, edema e obstrução das vias aéreas que são responsáveis pela sintomatologia da asma, como falta de ar, tosse e chiado, dificultando a passagem do ar (Figura 2) (BOSNJAK et al., 2011; LARCHE et al., 2003; LEIGH ET AL., 2004).

A exposição frequente aos alérgenos mantém as células Th2 de memória ativadas e induz à disfunção crônica do sistema imune, resultando em processo inflamatório persistente, levando à liberação excessiva de mediadores imunológicos próinflamatórios, incluindo as interleucinas: IL-4, IL-5 e IL-13 que causam a maturação de eosinófilos e neutrófilos, aumentando a liberação de eosinófilos na corrente sanguínea e de radicais livres (RLs) produzidos pelos neutrófilos, como óxido nítrico e superóxido (BARNES, 2008). Essa amplificação da resposta inflamatória acarreta

inflamação das vias aéreas, hipereatividade brônquica e obstrução das vias aéreas (Figura 2) (HAMMAD e LAMBRECHT, 2011).

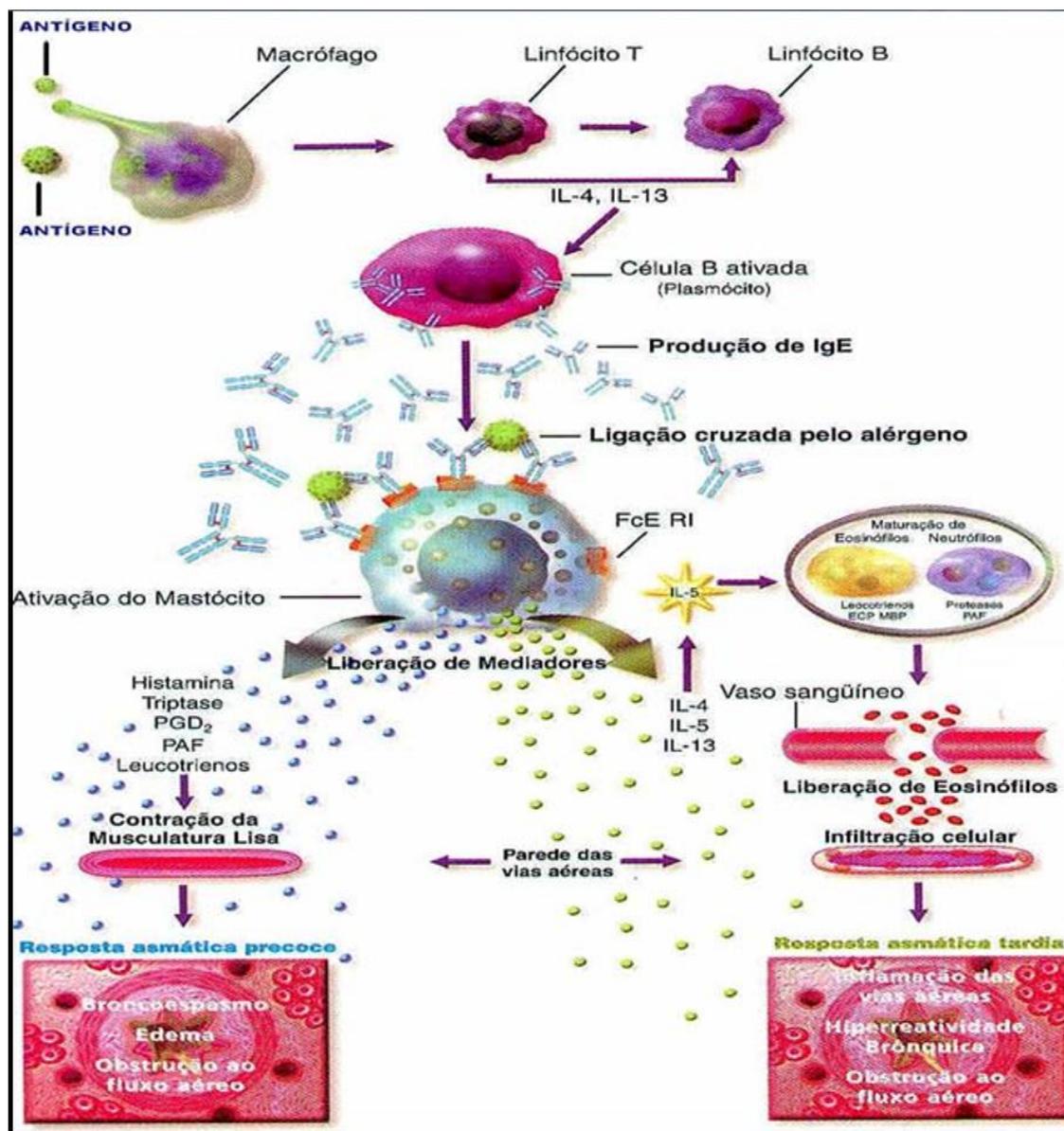


Figura 2 – Resposta imune alérgica na asma. Referência: HAMMAD e LAMBRECHT, 2011

Em pacientes asmáticos, há uma grande liberação de RLs pelos neutrófilos e monócitos do sangue periférico, assim como pelos leucócitos de vias aeríferas, principalmente durante os períodos de exacerbação da doença (SARTORELLI et al., 2009). Na asma, o excesso de RLs leva à injúria aguda das células e tecidos pulmonares através da peroxidação lipídica, da oxidação proteica e da liberação de mediadores endógenos, especialmente os metabólitos do ácido araquidônico, que ativam ainda o

fator nuclear de transcrição kB (NFkB) amplificando a resposta inflamatória (SUGIURA e ICHINOSE, 2008).

Alguns estudos foram conduzidos em crianças e adolescente asmáticos para verificar a liberação de radicais livres. Sartorelli et al., (2009) ao avaliar 32 pacientes com asma crônica, entre 6 e 18 anos, observaram que a liberação de ânion superóxido por granulócitos de sangue periférico foi significativamente maior nos indivíduos asmáticos em relação aos saudáveis. Resultados semelhantes foram encontrados por Marçal et al., (2004), que também encontraram uma maior produção de superóxido por granulócitos em 33 pacientes asmáticos, de ambos os sexos, com idade entre 6 e 16 anos em relação ao grupo controle. Ademais, observa-se também uma correlação direta entre produção de ânion superóxido por neutrófilos de sangue periférico e gravidade, progressão e duração da doença (SARTORELLI et al., 2009). Tais achados também foram encontrados por outros autores (BOWLER & CRAPP, 2002; LACY et al., 2003; MONTESEIRIN et al., 2002). Estes resultados indicam que crianças e adolescentes asmáticos por apresentarem uma maior produção de RLs, estão mais propensos ao estresse oxidativo, que pode ser o fator desencadeador da fisiopatologia da doença.

Ao longo do tempo, diversas estratégias terapêuticas foram desenvolvidas para o tratamento da asma, incluindo o uso de medicações agonistas beta 2 de ação curta, medicações anti-inflamatórias como corticosteroides inalatórios e antagonistas oral de leucotrienos. Porém, tais medicações ainda trazem efeitos colaterais indesejados como aumento do peso, retardo do crescimento, candidíase oral e rouquidão (BATEMAN et al., 2008).

2.2 Sistema Imune

O sistema imune de mamíferos inclui um complexo conjunto de células e de moléculas que interagem para fornecer a proteção contra micróbios patogênicos (bactérias, vírus, parasitas, fungos) (CHANDRA, 2002; LIMA e SAMPAIO, 2007). As células constituintes deste sistema são derivadas das células-tronco hematopoéticas pluripotentes, localizadas na medula óssea, que podem se diferenciar na linhagem mielóide que compreendem os granulócitos polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), os monócitos/macrófagos ou na linhagem linfóide compostas pelos linfócitos T, B e células natural killer [NK]. (LEANDRO et al., 2007). (Fig 3).

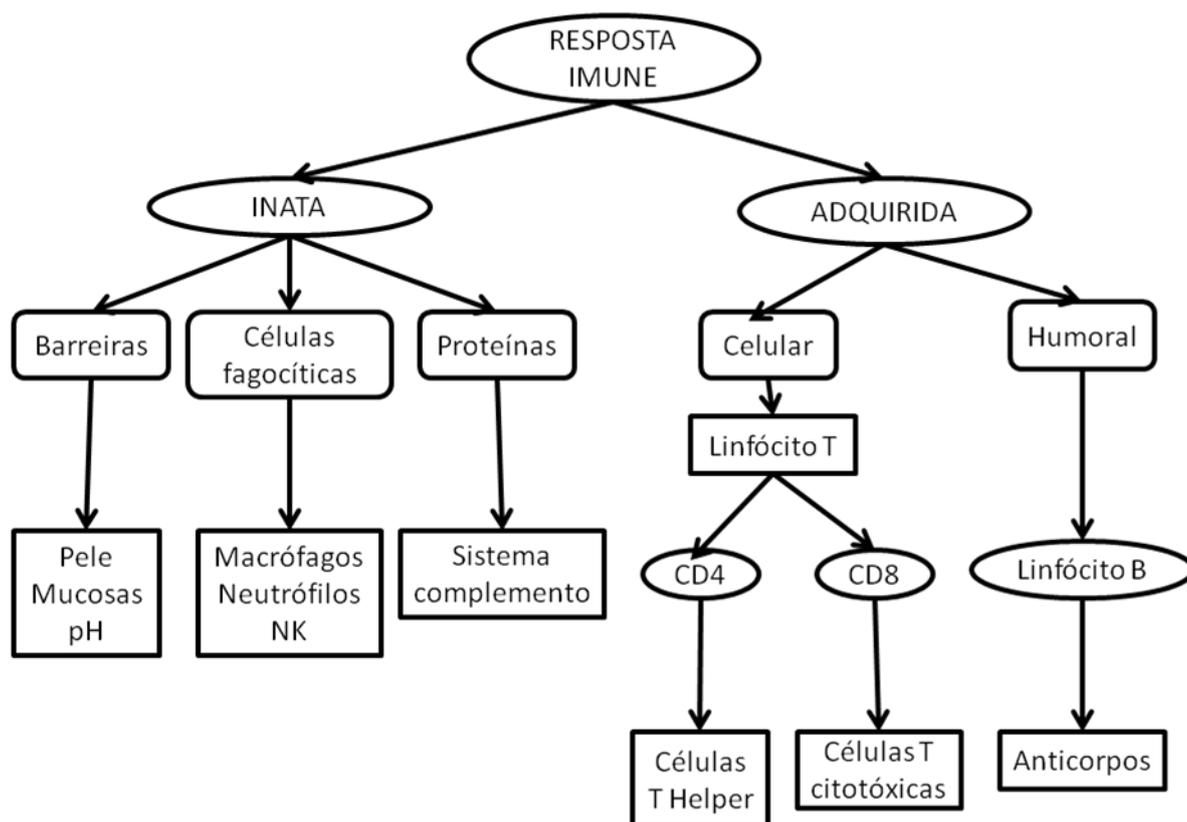


Figura 3: Esquema do sistema imune. Fonte: Delcenserie, 2008.

O sistema imune compreende dois componentes principais: o sistema imune inato e o adquirido (DELCENSERIE et al., 2008; KLAUS-HELGE e LOTHAR, 2003). A defesa inata está presente desde o nascimento, não é específica e pode responder aos diferentes agentes da mesma forma sem produzir células de memória. Compreende barreiras estruturais (pele e membranas mucosas) e fisiológicas (pH e níveis de oxigênio). Em adição, células fagocitárias e outros leucócitos, como as células natural killer (NK), estão envolvidas diretamente na fagocitose, pinocitose, morte celular e resposta inflamatória. Tais processos não são influenciados pelo contato prévio com o agente infeccioso e formam a primeira linha de defesa do organismo, eliminando células infectadas por vírus e células tumorais, retardando o estabelecimento da infecção (DELCENSERIE et al., 2008; KLAUS-HELGE e LOTHAR, 2003).

As células de maior destaque na resposta imune inata são os neutrófilos e macrófagos. Ambos produzem citocinas, proteínas sinalizadoras que recrutam outras células inflamatórias, durante o desencadeamento da resposta imune. Interferons (IFN), interleucinas (IL) e o fator de necrose tumoral (TNF α e TNF β) são as principais citocinas envolvidas na resposta imune (BESEDOVSKY e REY 2006; VIZI, 1998). As

células NK reagem rapidamente à presença de células infectadas por vírus e agem também eliminando determinados tipos de células tumorais (DELCENSERIE et al., 2008; KLAUS-HELGE e LOTHAR, 2003).

Os monócitos são células presentes no sangue periférico e constituem a segunda maior população celular do sistema imune. Na presença de um estímulo, migram para os tecidos e se diferenciam em macrófagos. Após diferenciação, os macrófagos podem apresentar algumas alterações como: incremento da aderência, do tamanho, da velocidade de deslocamento e da atividade fagocítica (MELO et al., 2008; GORDON, 2007; SCHULENBURG, KURZ e EWBANK, 2004).

Frente ao estímulo, os macrófagos podem responder de três formas diferentes: realizando fagocitose, através de enzimas lisossômicas; citotoxicidade, pelo auxílio dos linfócitos T ou produzindo e liberando um amplo espectro de mediadores, como as espécies reativas de oxigênio (superóxido) e nitrogênio (óxido nítrico) que são responsáveis pela destruição dos microorganismos fagocitados (GORDON, 2007; SCHULENBURG, KURZ e EWBANK, 2004).

Já a resposta imune adquirida atua por maior período do que a inata e apresenta especificidade e memória. Esta defesa fornece uma proteção mais efetiva contra patógenos por sua habilidade em memorizar e reconhecer expressivo número de antígenos. É composta por células de memória B e T (DELCENSERIE et al., 2008; KLAUS-HELGE e LOTHAR, 2003).

As células B são maturadas na medula óssea, contribuem para a resposta imune por meio da secreção de anticorpos ou imunoglobulinas que são sintetizadas pelas células B diferenciadas, denominadas plasmócitos. As imunoglobulinas são subdivididas em cinco classes: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM (imunidade humoral) e, as células T, na imunidade mediada por células. As células T apresentam-se em populações funcionais distintas: células T helper (CD4, também chamada Th) e células T citotóxicas (CD8 – divididas em citotóxicas e supressoras) (DELCENSERIE et al., 2008; KLAUS-HELGE e LOTHAR, 2003; LEANDRO et al., 2007).

Durante a infância, o timo e a medula óssea constituem os principais tecidos linfóides, responsáveis pela síntese e maturação das células linfóides (LIMA e SAMPAIO, 2007). A integridade desses órgãos é primordial para uma resposta imune eficaz na infância. A imunodeficiência é expressa por leucopenia (diminuição dos leucócitos), linfopenia (diminuição dos linfócitos), redução no número de células T e

das subpopulações CD4 e CD8, além da inversão na relação entre linfócitos T *helper* e supressor (KLAUS-HELGE e LOTHAR, 2003).

2.3 Estresse Oxidativo

Estresse oxidativo é o desequilíbrio entre as atividades oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos RLs. Ocorre devido ao aumento da produção de RLs ou pela ineficiência da defesa antioxidante ou, ainda, pela combinação de ambas. RLs ou oxidantes são espécies que contêm um ou mais elétrons desemparelhados na sua órbita, o que os tornam altamente reativos (FANG, YANG e WU, 2002; TATLI, VURAL e KOC, 2000).

Nos mamíferos são produzidos RLs de carbono, enxofre, nitrogênio e oxigênio, mas os mais implicados no estresse oxidativo são os de oxigênio como o superóxido e de nitrogênio como o óxido nítrico. Os RLs podem ser produzidos por fontes endógenas, como metabolismo normal da célula, ou por fonte exógena, tais como irradiação, fumo, poluentes, inseticidas entre outros (ARITA et al., 2004; BRANDT et al., 2007; LEITE e SARNI, 2003).

Os RLs apresentam papel importante na mediação da resposta imune por atuarem no processo de fagocitose, mecanismo fundamental para a destruição de microorganismos e participam também em diversos processos de sinalização intracelular. Em células infectadas, acarretam danos aos lipídios da membrana celular, proteínas intracelulares, e ao DNA nuclear e mitocondrial, levando a injúria celular induzindo a morte destas células (ARITA et al., 2004; BALL e SOLE, 1998; FANG, YANG e WU, 2002; MCCORD, 2000; ZHENG e STORZ, 2000).

No entanto, o excesso de RLs pode tornar-se deletério, podendo causar lesão a distância de células normais. Tais efeitos podem ocasionar sequelas adversas como a carcinogênese, envelhecimento, progressão de doenças cardiovasculares, processos inflamatórios, entre outros (FANG, YANG e WU, 2002; LEITE e SARNI, 2003; TATLI, VURAL e KOC, 2000). O estresse oxidativo também tem um importante papel na patogênese de muitas doenças inflamatórias, particularmente na asma (CIENCEWICKI, et al. 2008; DOZOR, 2010).

Há um sistema eficiente para a neutralização desse excesso de RLs os quais são convertidos em espécies menos reativas, limitando seus efeitos tóxicos. Em condições fisiológicas, há duas atividades antioxidantes: uma enzimática constituída pela superóxido dismutase (SOD), a glutathiona peroxidase (GPx) e a catalase e a outra não enzimática composta por vitaminas e minerais, tais como as vitaminas A, C e E, e os minerais selênio e zinco (LEITE e SARNI, 2003; TATLI, VURAL e KOC, 2000).

Superóxido dismutase é uma metaloenzima que converte o radical superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Fig. 4). A espécie reativa de oxigênio, o H_2O_2 , é, então, decomposta em água e oxigênio pela catalase ou pela glutathiona peroxidase. Há três tipos de SOD nos mamíferos: manganês (Mn)-SOD (SOD1) na matriz mitocondrial, cobre/zinco (Cu/Zn)-SOD no citosol (SOD2) e SOD extracelular (NISHIOKA et al, 2003). Uma falha nesse processo de defesa antioxidante poderá ocasionar peroxidação lipídica ou lesão oxidativa no DNA ou em proteínas (YAO, REDDY e VAN KAMMEN, 2001).

Assim sendo, níveis adequados de enzimas antioxidantes é importante, tanto para regulação e preservação da defesa do hospedeiro, como no estabelecimento de mecanismos que visem impedir uma nova infecção (BRANDT *et al.*, 2007).

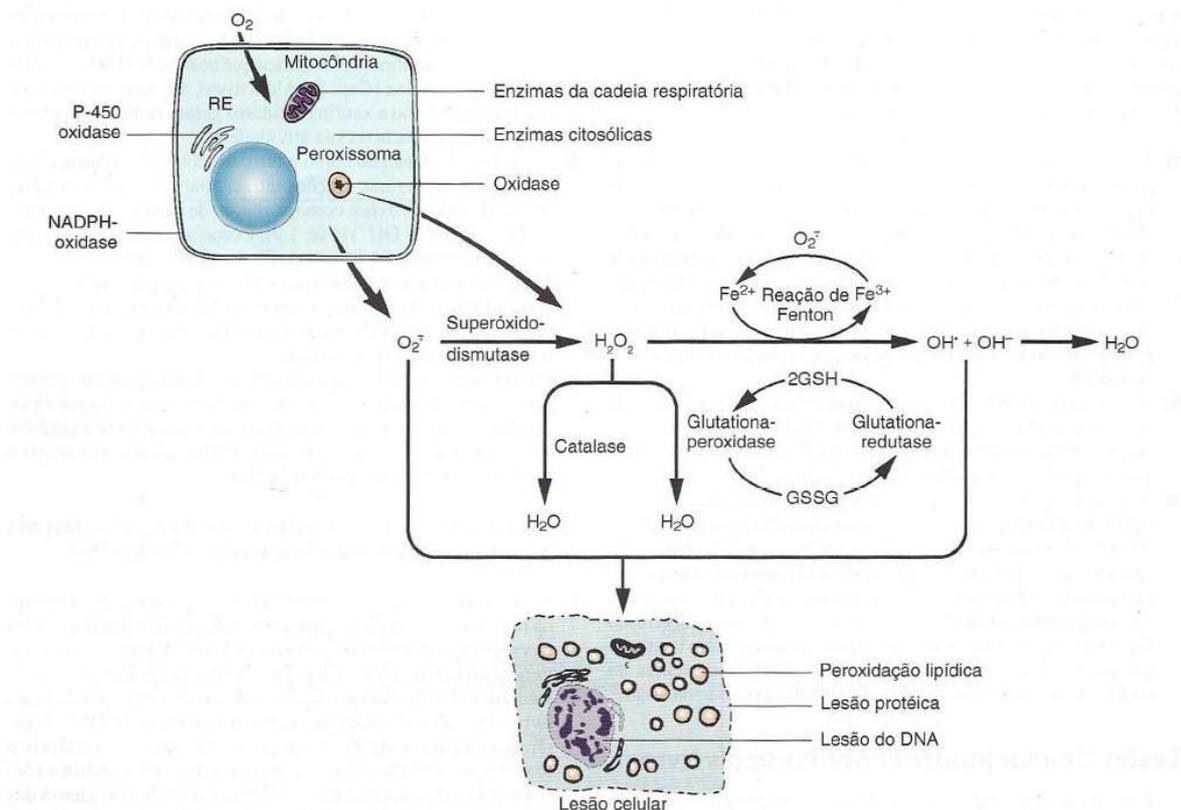


Figura 4: Ação das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase, glutaciona peroxidase e a catalase.

2.4 Dieta e Asma

Nas últimas décadas, tem havido um crescente interesse na investigação de vários fatores ambientais que podem contribuir para a asma, entre eles, a mudança dos hábitos alimentares (MCKEEVER & BRITTON, 2004). A preferência por alimentos industrializados com alto teor de carboidratos simples e gordura, substituiu os alimentos *in natura* (BARROS FILHO, 2004), o que diminuiu substancialmente o consumo de nutrientes antioxidantes.

Alguns nutrientes estão relacionados tanto na gênese quanto na prevenção da asma. O consumo de nutrientes antioxidantes como as vitaminas A, C e E, minerais como o selênio, cobre, zinco e magnésio, os flavonoides e os ácidos graxos n-3 estão relacionados com a prevenção da asma. Enquanto que, o sódio e os ácidos graxos trans e n-6 são descritos como desencadeadores da asma (MCKEEVER e BRITTON, 2004; TRICIA E MCKEEVER, 2004). Na tabela 2 está descrita os nutrientes implicados na etiologia da asma e seus possíveis efeitos ou mecanismos.

Tabela 2 – Nutrientes implicados na etiologia da asma e seus possíveis efeitos ou mecanismos.

Nutrientes	Atividade e possível mecanismo ou efeito
Vitaminas A, C, E	Antioxidantes, proteção contra oxidantes inflamatórios endógenos e exógenos.
Vitamina C	Inibidor de prostaglandina
Vitamina E	Estabilizador de membrana, inibidor da produção de IgE
Flavonas e flavonóides	Antioxidantes, estabilização de mastócitos
Magnésio	Relaxamento da musculatura lisa, estabilização de mastócitos
Selênio	Antioxidante: cofator da glutathione peroxidase
Cobre, zinco	Antioxidante: cofator da superóxido dismutase
Ácido graxo ômega 3	Substituição de leucotrienos, estabilizante de membranas das celulares inflamatórias
Ácido graxo ômega 6 e trans	Aumento da produção de eicosanoides
Sódio	Aumento da contração da musculatura lisa

Fonte: MCKEEVER & BRITTON, 2004.

Recentemente, tem sido questionado, se o aumento do consumo de alimentos ricos em ácidos graxo n-6 e a diminuição da ingestão do ácido graxo n-3, é um fator contribuinte para o aumento de doenças alérgicas como a asma (DE LUIS et al., 2005; DEVERAUX & SEATON, 2005; FARCHI et al., 2003; MCKEEVER & BRITTON, 2004; NAGEL et al., 2005).

O interesse da ação do ácido graxo n-3 sobre a asma iniciou com o estudo de Horrobin (1987), que sugeriu a hipótese de que a baixa incidência de asma na população indígena americana era decorrente do consumo elevado de óleo de peixe, o qual é rico em n-3. Em contrapartida, a dieta ocidental, onde há uma elevada prevalência de asma, é deficiente em n-3, devido ao baixo consumo de peixes, pela preferência alimentar de alimentos industrializados preparados com óleos de soja ou milho, os quais são ricos em ácidos graxos n-6. A partir desta perspectiva, vários estudos foram conduzidos suplementando óleo de peixe em indivíduos asmáticos, porém, os estudos ainda são inconclusivos e contraditórios (BARDEN et al, 2004; DUNSTAN et al., 2003; HIBBELN et al., 2006; PEAT et al., 2004; WOODS et al, 2000).

2.5 Ácidos Graxos na Asma

Os lipídios são ésteres formados por um ácido graxo e por um álcool, e perfazem cerca de 30% das calorias diárias ingeridas de um indivíduo. Os ácidos graxos podem ser classificados quanto à saturação em saturados e em insaturados. Os saturados são aqueles que não possuem dupla ligação entre os seus carbonos e os insaturados apresentam pelo menos uma dupla ligação entre os carbonos (YOUUDIM, MARTIN e JOSEPH, 2000).

Os insaturados são divididos em monoinsaturados (MUFAs), quando apresentam apenas uma dupla ligação e poli-insaturados (PUFAs) quando possuem mais de uma dupla ligação. Exemplo de um ácido graxo monoinsaturado é o oleico ou ômega 9 e os ácidos graxos linoleico (18:2, ômega 6, AL) e linolênico (18:3, ômega 3, AAL) são poli-insaturados. Os PUFAs são essenciais, logo, precisam ser ingeridos pela alimentação, pois o nosso organismo não os sintetizam e são necessários para manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos (YEHUDA et al., 2002; YOUUDIM, MARTIN e JOSEPH, 2000).

Segundo a Ingestão dietética de referência (DRIS, 2002), a recomendação do consumo de n-3 é de 0,6 a 1,2% do valor energético total (VET) e de 5 a 10% do VET de n-6.

Os PUFAs são sintetizados a partir do ácido linoleico (AL, 18:2 n-6). O AL é convertido em ácido alfa-linolênico (ALA, 18:3 n-3), a partir do qual são sintetizados o ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5 n-3) e o ácido docosahexanoico (DHA, 22:6 n-3). O EPA relaciona-se principalmente com os efeitos anti-inflamatórios, enquanto o DHA é fundamental para o desenvolvimento do cérebro e retina. O n-6, por sua vez, é proveniente diretamente do AL, o qual produz o ácido araquidônico (AA), responsável pela síntese de mediadores inflamatórios (Figura 5) (YATES, CALDER e RAINGER, 2014; GARCIA, GARCIA e HERNANDEZ, 2006).

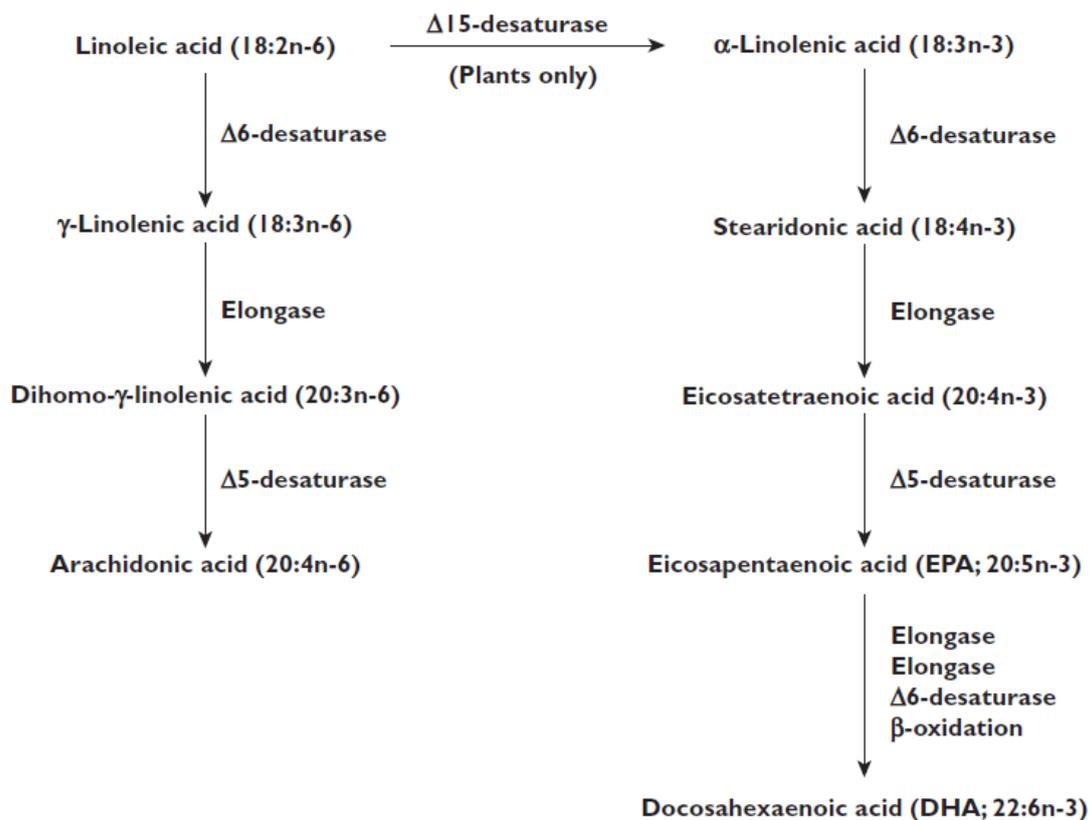


Figura 5 – Síntese dos ácidos graxos poli-insaturados a partir do ácido linoleico e alfa-linolênico. **Fonte:** Calder, 2014.

O EPA e o AA são constituintes das membranas biológicas das células e são dependentes da ingestão dietética. Dieta rica em n-3 aumenta a proporção de EPA nas membranas, estimulando a síntese de mediadores anti-inflamatórios. Em contrapartida, alimentação com alto teor de n-6 acentua a quantidade de AA, acarretando na produção de mediadores inflamatórios (CALDER, 2014; GARCIA, 2006).

Os PUFAs têm sido alvo de inúmeros estudos nas últimas décadas, os quais esclareceram muitas das suas funções no organismo humano e as reações envolvidas na sua formação a partir dos ácidos linoléico e alfa-linolênico. Estudos epidemiológicos conduzidos em gestantes, nos primeiros meses após o nascimento, na infância, adolescência, na terceira idade e em diversas doenças, principalmente degenerativas e imunológicas, observaram uma baixa incidência de desordens autoimunes e inflamatórias, como a psoríase, diabetes tipo 1 e asma, associadas ao consumo de n-3, destacando a importância desses PUFAs (ALBERTAZZI e COUPLAND, 2002; HORNSTRA, 2000; UAUY et al, 2001).

Os AL e AAL estão presentes tanto em espécies vegetais como animais. Na figura 4 apresenta as concentrações dos ácidos linoleico e alfa-linolênico em alimentos de origem vegetal (SIMOPOULOS, 2004; SIMOPOULOS, 2002).

Tabela 3 - Concentração dos ácidos linoleico alfa-linolênico e razão n-6/n-3, em alimentos de origem vegetal.

Hortalças	18:2 n-6(mg/g)	18:3 n-3 (mg/g)	n-6/n-3	Cereais e leguminosas	18:2 n-6 (mg/g)	18:3 n-3 (mg/g)	n-6/n-3
Agrião ¹	0,4	1,8	0,2	Arroz ²	0,6	0,1	4,8
Alface ¹	0,4	0,9	0,4	Arroz ² (parboilizado)	3,1	0,2	17,9
Brócolis ¹	0,5	1,1	0,5	Aveia ¹	24,4	1,1	22,0
Beldroega ¹	0,9	4,1	0,2	Ervilha ²	1,4	0,3	4,9
Couve ¹	1,4	1,8	0,8	Feijão ²	0,8	1,1	0,7
Couve-flor ¹	0,5	1,7	0,3	Lentilha ²	1,4	0,4	3,7
Espinafre ¹	0,3	1,3	0,2	Milho ²	58,6	1,8	32,5
Hortelã ¹	0,3	2,0	0,2	Soja ²	44,6	6,0	7,5
Frutas				Óleos			
Abacate ¹	16,7	1,3	12,5	Canola	203,0	93,0	2,2
Banana ¹	0,5	0,3	1,7	Linhaça	127,0	533,0	0,2
Mamão ¹	0,1	0,3	0,3	Milho	523,0	11,6	45,1
Manga ¹	0,4	0,1	4,0	Oliva	97,6	7,60	12,8
Morango ¹	1,8	0,7	2,6	Soja	510,0	68,0	7,5

¹Alimento cru; ²Alimento cozido.

Fonte: MARTIN et al., 2006

A figura 5 relaciona as quantidades de AL, AAL, ácido araquidônico (AA), eicosapentanóico (EPA) e docosapentanóico (DHA) em alimentos de origem animal. Entre os peixes, os de origem marinha, como a sardinha e o salmão, geralmente apresentam quantidades maiores de EPA e DHA que os peixes oriundos de águas continentais. Isso ocorre, devido à expressiva quantidade desses ácidos graxos no fitoplâncton, que provê a sua distribuição ao longo da cadeia alimentar marinha. Sendo que as quantidades de EPA e DHA são muito dependentes da dieta a que esses animais foram submetidos e muitos dos peixes consumidos no Brasil são provenientes de viveiros que diminui consideravelmente a quantidade de n-3. Nos alimentos provenientes de animais terrestres, que não foram submetidos a dietas com fontes adicionais de AAL, geralmente não se observa a presença de EPA e DHA. Contudo, alguns desses alimentos são fontes de AA (MARTINS, et al., 2006; SIMOPOULOS, 2004; SIMOPOULOS, 2002)

Tabela 4 - Concentração dos ácidos linoléico, alfa-linolênico, araquidônico, eicosapentanoico e docosapentanoico em alimentos de origem animal.

Alimento	18:2 n-6 (mg/g)	18:3 n-3 (mg/g)	20:4 n-3 (mg/g)	20:5 n-3 (mg/g)	22:6 n-3 (mg/g)
Carne bovina ¹	4,1	0,4	0,5	-	-
Carne de frango ¹	46,5	2,5	1,6	0,2	0,2
Bagre ³	26,2	1,8	1,0	1,2	2,2
Carpa ²	6,6	3,5	2,0	3,1	1,5
Salmão ²	2,2	3,8	3,4	4,1	14,3
Sardinha ^{1a}	35,4	5,0	-	4,7	5,1
Tilápia ²	2,9	0,5	3,5	-	1,3
Truta ²	2,2	2,0	2,4	2,6	6,7
Leite de vaca ¹	16,7	0,8	-	-	-
Leite de cabra ¹	10,9	0,4	-	-	-
Salsicha (bovina) ¹	5,7	0,5	-	-	-
Ovos (galinha) ¹	26,1	0,5	5,0	-	1,1

¹Alimento fresco; ²Cozido; ³Grelhado; ^aenlatada com óleo de soja.

Fonte: Martin et al., 2006

A eficácia da suplementação com alimentos ricos em n-3 na tentativa de atenuar a resposta inflamatória, baseia-se no fato de que os ácidos graxos n-3 e 6 competem entre si na formação de eicosanóides (CALDER, 2014; GARCIA, GARCIA, HERNANDEZ, 2006).

O EPA compete com o AA pela síntese de prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos na via cicloxigenase e lipoxigenase. Quando humanos ingerem n-3, o EPA leva a um decréscimo da produção de prostaglandina E2 (PGE2), de tromboxano A2, um potente agregador plaquetário e vasoconstrictor, e na formação do leucotrieno B4, um indutor da inflamação e um poderoso indutor da quimiotaxia leucocitária e aderência (BURDGE e WOOTTON, 2002; SIMOPOULOS, 2004; QIU, 2003). Em contrapartida, ocorrerá um aumento do tromboxano A3, um fraco agregador plaquetário e um fraco vasoconstrictor e um aumento do leucotrieno B5, um fraco indutor da inflamação e um fraco agente quimiotático (CALDER, 2014; GARCIA, GARCIA, HERNANDEZ, 2006) (Figura 6).

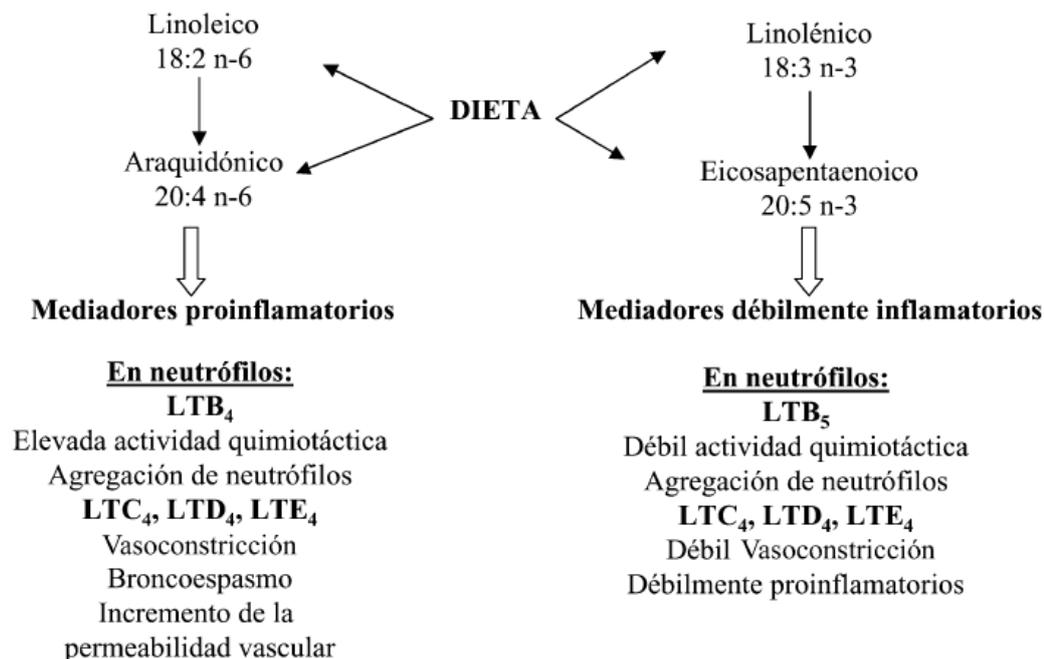


Figura 6: Principais eicasonóides derivados do AA e do EPA. Fonte: GARCIA, GARCIA, HERNANDEZ, 2006.

Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos n-6 e n-3 assume grande importância na nutrição humana, resultando em várias recomendações que têm sido estabelecidas por autores e órgãos de saúde, em diferentes países. As razões de 2:1 a 3:1 têm sido recomendadas por alguns autores (MARTIN, 2006; SIMOPOULOS, 2004), por possibilitar uma maior conversão do ácido alfa-linolênico em EPA e DHA, que alcança o seu valor máximo em torno de 2,3:1. Assim, as razões entre 2:1 e 4:1 têm maior importância para pessoas com hábitos alimentares que resultam em uma baixa ingestão de EPA e DHA. Por outro lado, dietas baseadas em razões n-6/n-3 inferiores a 1:1 não são recomendadas, por inibirem a transformação do ácido linolênico em EPA e DHA. Porém, os hábitos alimentares da dieta ocidental são superiores a 10:1, o que indica uma dieta deficiente de n-3 (MICKLEBOROUGH et al., 2006).

Estudos verificando a relação do consumo de n-3 e sua relação com a diminuição de crises asmáticas já foram conduzidos. Burns et al., (2007), verificou que o baixo consumo de alimentos fonte de n-3 foi fortemente associado a maior severidade e crises de asma em adolescentes, quando comparados com aqueles com maior ingestão de n-3. Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores (ANTOVA et al., 2003; TABAK et al., 2006).

Outros estudos foram realizados verificando a suplementação com óleo de peixe que é rico em n-3. Biltagi et al., 2009, suplementaram óleo de peixe em crianças com idade entre 7 e 10 anos com diagnóstico de asma moderada durante 6 semanas e verificou que após a suplementação, as crianças apresentaram melhoria no teste de função pulmonar e redução dos mediadores inflamatórios, como a interleucina 1, leucotrienos da série 4 e prostaglandinas da série 2, quando comparados com o grupo placebo. Mickleborough et al., (2006), encontraram resultados similares em adultos, após a suplementação com óleo de peixe durante 3 semanas, onde foram encontrados menor concentração de leucotrienos da série 4, prostaglandinas da série 2, interleucina 1 e TNF (mediadores pró-inflamatórios) e aumento da prostaglandina 5 (anti-inflamatório) em comparação ao grupo placebo. Jang et al., 2014 verificaram que a suplementação com óleo de peixe modulou a resposta inflamatória, via células Th2, em ratos, tendo, portanto, efeitos benéficos tanto no tratamento quanto na prevenção da asma.

Um estudo também avaliou o efeito da suplementação com óleo de peixe na prevenção da asma, ao suplementar óleo de peixe em gestantes e verificar a prevalência de asma após 16 anos nos adolescentes que receberam a suplementação na gestação. Verificou-se que o risco de desenvolver asma foi reduzido em 87% quando comparado às mães que receberam placebo na gestação (OLSEN et al., 2008). Porém, outros autores não encontraram benefícios na suplementação com óleo de peixe em crianças asmáticas (HODGE et al., 1998; NAGAKURA, 2000).

2.6 Linhaça

A linhaça (*Linum usitatissimum*) é a semente do linho, planta pertencente à família das Lináceas, que tem sido cultivada há cerca de 4000 anos nos países mediterrâneos. É rica em proteína, gordura e fibras dietéticas. A energia presente em 100 gramas de linhaça é de 396, sendo 109 provenientes de proteína e 287 de lipídios. Isto corresponde a 41% de lipídios, 21% de proteínas, 28% de fibras dietéticas, 4% de resíduo mineral e 6% de outros carboidratos (os quais incluem açúcares, ácidos fenólicos, lignano e hemicelulose). A semente crua e armazenada em temperatura ambiente de 20°C é composta por, aproximadamente, 46% de ácidos graxos n-3, 15% de n-6, 24% de ácido graxo monoinsaturado e somente 15% de saturados (ALMEIDA, BOAVENTURA e GUZMAN-SILVA, 2009; GALVÃO et al., 2008).

O óleo da linhaça é um óleo de semente do linho ou sementes de linhaça comestível, obtido pelo esmagamento da semente de linhaça. Apresenta coloração âmbar escuro e forte odor característico, o que parece estar relacionado ao seu alto conteúdo de ácidos graxos insaturados. A quantidade de óleo encontrado na semente varia de 40 a 44% (COSKUNER; KARABABA, 2007; GALVÃO et al., 2008).

Como todos os vegetais, existem muitas variedades na mesma família. No que se refere à linhaça, a marrom e a dourada são as mais conhecidas. Ambas as variedades são praticamente idênticas nas propriedades nutricionais e terapêuticas sendo mínimas as diferenças, as quais, de um modo geral, são resultantes das condições de cultivo (COSKUNER e KARABABA, 2007).

A linhaça dourada desenvolve-se em climas muito frios, como no Canadá (maior produtor mundial de linhaça) e norte dos Estados Unidos. A linhaça marrom pode desenvolver-se em regiões de clima quente e úmido, como é o caso do Brasil. A linhaça dourada apresenta índices de lignana superiores, por ser orgânica, aos da linhaça marrom, nas quais são utilizadas agrotóxicos. Entretanto, ao contrário do que alegam os que comercializam a linhaça dourada, existe discreta vantagem para a linhaça marrom, que é 100% nacional, em relação à quantidade de n-3 (FENG et al., 2003; TRUCOM, 2006).

Barroso et al., (2014), verificaram que o óleo de linhaça marrom apresentou maiores quantidades de n-3, de tocoferóis, maior capacidade antioxidante e maior estabilidade oxidativa quando comparada ao óleo de linhaça dourada. E concluiu que o consumo da linhaça marrom, produzida em maior quantidade no Brasil e com menor valor comercial, deve ser incentivado com o intuito de aumentar a funcionalidade da dieta brasileira.

Molena-Fernandes et al., 2010 avaliaram os efeitos da farinha de linhaça marrom e dourada sobre o perfil lipídico e ganho ponderal em ratos. Ambas as farinhas foram igualmente eficazes em reduzir os níveis de triglicérides séricos e da razão CT/HDL-c, com concomitante aumento dos níveis séricos de HDL-c, e importante ação preventiva no desenvolvimento da obesidade para a farinha de linhaça. Estes autores também sugerem que o consumo da farinha de linhaça marrom, produzida no Brasil e vendida a preços bem mais acessíveis do que a farinha dourada, deve ser incentivado na população para que a incidência de doenças crônicas como a obesidade, a dislipidemia e outras doenças cardiovasculares sejam reduzidas.

Recentemente, a linhaça, foi reconhecida como alimento funcional (HALL, 2006). E por isso tem crescido o número de estudo utilizando seu óleo como suplemento alimentar, principalmente na prevenção de doenças cardiovasculares, devido à sua composição de ácidos graxos (BLOEDON e SZAPARY, 2004). A linhaça é a fonte vegetal mais rica em ALA, correspondendo a cerca de 50-62% da sua composição e 15 a 18% de AL, e apresenta ainda, lignanas, fibra alimentar e compostos fenólicos (MUIR, 2006).

Estudos têm apontado, ainda, que a ingestão de linhaça ao dia promove alterações hormonais contribuindo com a redução do risco de câncer e diabetes, dos níveis de colesterol total e LDL-c, assim como favorece a diminuição da agregação plaquetária (DDODIN et al., 2008; PELLIZON et al., 2007). A linhaça e os seus componentes parecem exercer efeito, ainda, na redução do peso e, portanto, poderia ser utilizada para o controle da obesidade e do diabetes mellitus tipo 2 (BHATENA e VELASQUEZ, 2002). Por outro lado, estudos verificando a ação do óleo de linhaça no controle dos mediadores inflamatórios em pacientes asmáticos são escassos.

Em relação ao óleo de peixe, o óleo de linhaça apresenta menor custo, melhor palatabilidade, é livre de poluentes, não é processado, é orgânico e sua fonte é renovável e sustentável. Porém, diferentemente do óleo de peixe, o óleo de linhaça apresenta maiores concentrações de ALA, o qual ainda precisa ser convertido em EPA e DHA no organismo (BARCELO-COBLIJN et al., 2008; KAUL et al., 2008; KEW et al, 2003). Assim, estudos que utilizem a suplementação com óleo de linhaça em pacientes asmáticos são necessários para verificar se a suplementação com o óleo de linhaça é eficaz em atenuar os mediadores inflamatórios, e conseqüentemente na melhoria dos sintomas relacionados à asma, o que pode vir a ser uma importante terapêutica no manejo dessa doença.

HIPÓTESE

3. HIPÓTESE

A suplementação com óleo de linhaça marrom, durante 6 semanas, reduz os parâmetros inflamatórios e atenua os danos oxidativos produzidos pela asma moderada em crianças e adolescentes, melhorando o quadro clínico e sintomatologia da doença.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito anti-inflamatório e antioxidante da suplementação com óleo de linhaça marrom em crianças e adolescentes com asma brônquica moderada.

4.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar a população estudada quanto as variáveis demográficas e antropométricas;
- Avaliar o estado nutricional das crianças e adolescentes asmáticas antes e após a suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo;
- Verificar a sintomatologia apresentada pelos pacientes antes e depois da intervenção;
- Averiguar o número de eosinófilos e dos níveis de IgE plasmáticos antes e após a suplementação;
- Analisar o dano decorrente do estresse oxidativo antes e depois da intervenção;
- Quantificar os níveis de tiol e da catalase antes e após a suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo.

MÉTODOS

5. MÉTODOS

5.1 Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada no ambulatório de Alergologia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE) localizado na cidade do Recife, que atua nas áreas de assistência, ensino e pesquisa. Os pacientes atendidos nesses ambulatórios são usuários do Sistema Único de Saúde (SUS).

5.2 Desenho do estudo e população

Ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado com crianças e adolescentes de ambos os sexos, entre 7 e 19 anos, diagnosticados com asma brônquica moderada, em uso de broncodilatador inalado e atendidos no ambulatório de Alergologia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE), no período de julho de 2013 a agosto de 2014.

Foram escolhidos pacientes com asma moderada, visto que na leve o processo inflamatório encontra-se atenuado e na grave há necessidade recorrente de corticoide para controle das crises e de internamento. A asma foi definida como história recorrente de dispneia, tosse crônica, sibilância, aperto no peito ou desconforto torácico, com melhora da sintomatologia após o uso de broncodilatador. Foram considerados pacientes com asma brônquica moderada, aqueles que apresentavam sintomas diários, despertares noturnos semanais, necessidade de agente beta2-agonista inalado para alívio diário e limitações das atividades presentes nas exarcebações (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA PARA O MANEJO DA ASMA, 2012).

Foram excluídos do estudo portadores de outra doença inflamatória ou que acarretasse imunodeficiência e de pneumopatia crônica, os que estavam sendo atendidos pela primeira vez e em uso de corticoide.

5.3 Estimativa do tamanho amostral

O cálculo estimado da amostra foi realizado com base na pesquisa de Biltagi *et al.* (2009), que suplementou óleo de peixe em crianças com asma moderada, o qual possui composição nutricional similar ao óleo de linhaça e obteve redução dos níveis

séricos de IL-1 de $7,43 \pm 1,75$ para $3,81 \pm 1,28$ após a suplementação (BILTAGI *et al*, 2009).

O tamanho da amostra foi estimado pela fórmula de comparação de duas médias (KIRKWOOD, 1998):

$$N = \frac{(n+v)^2 \times (DP_1^2 + DP_2^2)}{(\chi_1 - \chi_2)^2}$$

Onde,

N = tamanho da amostra para cada grupo

u = 2,33 para o poder estatístico de 99% (monocaudal)

v = 1,96 para o nível de significância de 5% no teste bicaudal

DP₁ = desvio padrão de IL-1 no grupo antes da suplementação

DP₂ = desvio padrão de IL-1 no grupo após a suplementação

χ₁ = média de IL-1 no grupo antes da suplementação

χ₂ = média de IL-1 no grupo após a suplementação

Então,

N = 24 pacientes para cada grupo, foi estimada uma perda de 20%, perfazendo um mínimo de 29 pacientes para cada grupo.

5.4 Recrutamento dos pacientes

No dia da consulta no ambulatório de Alergologia e Imunologia do HC/UFPE, os pacientes que se encaixavam nos critérios de inclusão foram convidados a participar da pesquisa. Nesta ocasião, os pesquisadores esclareceram aos pais ou responsáveis os objetivos e as etapas da pesquisa, solicitando àqueles que concordaram em participar a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A). Foram recrutados um total de 76 pacientes durante o período do estudo.

5.5 Formação dos grupos

As crianças e adolescentes asmáticas que já estavam sendo atendidas e realizando tratamento no ambulatório foram distribuídas aleatoriamente no estudo em dois grupos: o grupo de pacientes com asma que receberam suplementação com o óleo de linhaça marrom (Grupo linhaça) e o grupo de pacientes com asma que receberam suplementação com cápsulas contendo glucose de milho que apresenta a mesma cor e

aspecto do óleo de linhaça (Grupo Placebo). Nenhuma das crianças e adolescentes incluídas no estudo tiveram interrupção e/ou mudanças no tratamento clínico, bem como das medicações.

5.6 Intervenção

A intervenção deste estudo foi feita com a suplementação com o óleo de linhaça marrom em cápsulas, contendo 1g, comercializadas no mercado, da marca ELC® (figura 7). Foi escolhida a linhaça marrom, visto que esta é mais acessível financeiramente e produzida em larga escala no Brasil, facilitando sua adesão na população de baixa renda.

O grupo placebo recebeu cápsulas contendo 1g de glucose de milho, da marca Karo® (Figura 8). As cápsulas de glucose de milho foram produzidas no laboratório de Microbiologia do LIKA, em ambiente livre de contaminação (no interior do fluxo laminar estéril), onde foram tomadas todas as medidas de biossegurança. As cápsulas apresentavam a mesma cor e tamanho das que contem óleo de linhaça.

Cada cápsula de linhaça de 1 grama, fornece 9kcal e 1g de lipídeos, sendo 0,5g de ácido graxo poli-insaturado n-3; 0,2g de ácido graxo poli-insaturado n-6 e 0,2g de ácido graxo monoinsaturado n-9. As cápsulas de glucose de milho forneciam 3,2kcal e 0,8g de carboidrato em 1000mg. As cápsulas foram doadas pela pesquisadora para todos os pacientes e foram oriundos do mesmo lote a fim de padronizar os produtos.

Os pais ou responsáveis pelos pacientes foram orientados a administrar às crianças ou adolescentes 1 cápsula de óleo de linhaça marrom ou placebo, por dia, antes do almoço, durante um período de 6 semanas. Não foram realizadas mudanças na dieta dos pacientes. Foram dadas aos pacientes e responsáveis instruções sobre a administração das cápsulas (Apêndice B).

O tempo de suplementação e a dosagem foram baseados no estudo de Biltagi *et al.*, (2009)¹¹, no qual suplementou pelo mesmo período, óleo de peixe em crianças, entre 7 e 10 anos, com asma moderada, e o mesmo apresenta semelhança na composição nutricional com o óleo de linhaça. Os autores observaram uma redução significativa dos marcadores inflamatórios após a suplementação (BILTAGI *et al.*, 2009).



Figura 7: Cápsulas de óleo de linhaça marrom da marca ELC®



Figura 8: Glucose de milho da marca karo®

As pesquisadoras responsáveis pela coleta dos dados, bem como o paciente não sabiam o conteúdo da cápsula. O responsável pela manipulação das cápsulas foi um pesquisador envolvido no estudo, porém, não participou da coleta de dados. O mesmo fez a identificação das cápsulas por um número composto por dois dígitos na sequência de admissão ao estudo e só o mesmo sabia o conteúdo das cápsulas. As pesquisadoras envolvidas na coleta de dados foram informadas quanto à composição dos grupos apenas após a análise estatística.

5.7 Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada pelas pesquisadoras após o recrutamento. Foi realizada uma entrevista com os pais ou responsáveis para o preenchimento do

formulário da pesquisa (Apêndice C) que continha informações acerca de sexo, idade, procedência, sintomatologia antes e após a suplementação, além das aferições do peso e da estatura dos pacientes. Em seguida, os pacientes passaram por um procedimento de coleta de sangue. Após o período de intervenção, de 6 semanas, foram realizados reavaliação desses parâmetros.

5.8 Variáveis estudadas

As crianças e adolescentes foram avaliadas antes do início da suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo. Foram realizadas análises de peso, altura, informações sobre a sintomatologia apresentada durante as crises asmáticas, coleta de sangue para posteriores avaliações: do número de eosinófilos, dos níveis de IgE total, avaliação das espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico (TBARS), das Proteínas carboniladas, dos Grupos Sulfidrilas em proteínas (tiol total) e da avaliação da atividade enzimática da Catalase. Após a intervenção foi os exames foram refeitos.

5.8.1 Antropometria e avaliação do estado nutricional

O estado nutricional foi avaliado com base na idade (em anos), peso (em quilogramas) e estatura (em metros). A aferição foi realizada conforme recomendado pela OMS, 2007. Para aferição do peso e do comprimento, foi utilizada uma balança mecânica, tipo plataforma, da marca Filizola - Brasil modelo 31, com capacidade para 150kg e precisão de 100g.

Para aferição do peso, os pacientes foram orientados a tirarem os sapatos no momento da pesagem e localizadas no centro da balança em posição ereta, com os pés juntos e os braços estendidos ao longo do corpo. A medição da estatura, em metros, foi realizada utilizando o estadiômetro com precisão de um milímetro, fixado na balança. A criança ou adolescente foi posicionada descalça e com a cabeça livre de adereços, no centro do equipamento, em posição ereta, com os braços estendidos ao longo do corpo, com a cabeça erguida, olhando para um ponto fixo na altura dos olhos. Os pés unidos, fazendo um ângulo reto com as pernas. Para realizar a leitura, a parte móvel do equipamento foi movida, fixando-a contra a cabeça, com pressão suficiente para comprimir o cabelo.

As medidas antropométricas foram convertidas pelo programa WHO Anthro versão 3.2.2, em altura para idade (A/I) e índice de massa corporal para idade (IMC/I),

baseada no sexo com base nos valores de referência das curvas da OMS (OMS, 2007). O IMC é o produto da relação peso pela altura ao quadrado. Os pontos de corte adotados para a classificação do estado nutricional foram os recomendados pela OMS (2007) descritos nas tabelas abaixo:

Tabela 5 – Pontos de corte para avaliação nutricional segundo A/I.

Valores críticos	Diagnóstico nutricional
< Escore-z-3	Muito baixa estatura para a idade
\geq Escore-z-3 e < Escore-z-2	Baixa estatura para a idade
\geq Escore-z-2	Estatura adequada para a idade

Fonte: OMS, 2007.

Tabela 6 – Pontos de corte para avaliação nutricional segundo IMC/I.

Valores críticos	Diagnóstico nutricional
< Escore-z-3	Magreza acentuada
\geq Escore-z-3 e < Escore-z-2	Magreza
\geq Escore-z-2 e \leq Escore-z+1	Eutrofia
\geq Escore-z+1 e \leq Escore-z+2	Sobrepeso
\geq Escore-z+2 e \leq Escore-z+3	Obesidade
> Escore-z+3	Obesidade grave

Fonte: OMS, 2007.

5.8.2 Sintomatologia

Foram questionados aos pacientes e seus responsáveis sobre a sintomatologia apresentada durante a crise de asma, tais como tosse, dispneia, placas e coceiras na pele, edema nos olhos, na boca e no corpo, dentre outros.

5.8.3 Coleta de sangue

A coleta de sangue foi realizada no laboratório de análises clínicas do HC/UFPE, mediante solicitação médica, e com consentimento dos pais ou responsáveis. Foram observadas as precauções universais para punção venosa, e realizada por profissionais habilitados. Foi coletada uma alíquota de sangue de 10 ml por punção venosa utilizando uma agulha e tubo para coleta por sistema de vácuo. O sangue foi armazenado em tubos

devidamente identificados, um contendo EDTA-k3 com aspirado preconizado de 3,0 a 4,5 ml de sangue total para realização da contagem de eosinófilos e dosagem dos mediadores inflamatórios, e, um tubo com ativador de coágulo com aspirado de 3,0 a 4,5ml de sangue total para obtenção de soro, sendo este destinado a dosagem de IgE. As amostras foram imediatamente transportadas em recipiente térmico atendendo as normas de segurança legais, até o laboratório do LIKA/UFPE onde ficaram armazenadas em freezer a menos 80 graus centígrados, até o processamento. Tais procedimentos foram realizados em 2 momentos: antes da suplementação e 6 semanas após a suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo.

5.8.3.1 Contagem de eosinófilos

Foi realizado pelo laboratório de Hematologia do HC/UFPE, onde foi feita a contagem diferencial de leucócitos, através da fabricação de estiraço sanguíneo corado pelo Panótico Rápido da marca New Prov e avaliado por microscopia convencional.

A faixa de normalidade do número de eosinófilos foi avaliada de acordo com os valores de referência adotados pelo ambulatório de análises clínicas do HC/UFPE, conforme descrito na tabela abaixo.

Tabela 7 – Valores de referência para a contagem de eosinófilos de crianças e adolescentes.

Leucócitos	Valores de Referência	
	Valor relativo (%)	Valor Absoluto (mm ³)
Eosinófilos	1 - 5	50 - 700

5.8.3.2 Dosagem de IgE

As dosagens de IgE total foram realizadas em um laboratório particular (Gilson Cidrim) após a coleta de sangue de todos os pacientes, em sistemas de automação IMMULITE Automated Analyzer. Esta técnica baseia-se na reação de quimioluminescência. Os valores de referência adotados foram a do próprio laboratório que considera níveis de IgE normais até 87,0 UI/ml.

5.8.3.3 Dosagem da avaliação das espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico (TBARS)

Para avaliação da peroxidação lipídica, utilizou-se a formação malondialdeído (MDA) que é reagente ao TBARS durante uma reação ácido-aquecida. Uma alíquota de 200 μL de sangue foi misturada com ácido tricloroacético 15% (400 μL), e centrifugadas por 10 minutos (4000 xg) e o sobrenadante foi misturado com igual volume de ácido tiobarbitúrico 0,67%. Este sistema foi aquecido em banho maria durante 15 minutos e o TBARS foi determinado por espectrometria com comprimento de onda de 535nm. A concentração de proteína foi avaliada pelo ensaio de Lowry e os resultados estão expressos como nmol de TBARS/mg de proteína (equivalentes de MDA).

5.8.3.4 Dosagem das Proteínas carboniladas

O dano oxidativo para a proteína foi medida pela determinação de grupos carbonil, com base numa reação com dinitrofenilhidrazina (DNPH). As proteínas foram precipitadas por adição de 20% de ácido tricloroacético e, em seguida, colocadas para reagir com DNPH. As amostras foram então redissolvidas em cloridrato de guanidina 6 M e o conteúdo de carbonila foi determinado medindo a absorvância a 370 nm usando um coeficiente de absorção molar de 22.000 M^{-1} .

5.8.3.5 Dosagem dos Grupos Sulfidrilas em proteínas (Tiol total)

O teor de tiol total (grupos sulfidrílicos - SH) no sangue foi determinado utilizando o método 5,5-ditiobis (2-nitrobenzóico) (2-nitrobenzóico) (DTNB). Uma amostra de 30 microlitos (mcl) foi adicionada a 1 mL de PBS/1mM EDTA (pH 7,5). A reação foi iniciada pela adição de 30mcl de solução padrão de DTNB 10 mM em PBS. As amostras tipo controle, que não incluem DTNB ou proteína, foram executadas simultaneamente. Após incubação durante 30 min à temperatura ambiente, a absorvância a 412 nm foi medida e as quantidades de TNB formadas (equivalente à quantidade de sulfidrílicos (SH) grupos) foram calculadas.

5.8.3.6 Dosagem da Avaliação da atividade enzimática da Catalase (CAT)

Para determinar a atividade de CAT, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos. O sobrenadante foi utilizado para

o ensaio enzimático. A atividade de CAT foi medida pela taxa de diminuição da absorvância de peróxido de hidrogénio a 240 nm e expressa como U/mg de proteína.

5.9 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo pacote estatístico GraphPad-Prism versão 6.0c para Mac OS X (GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, Estados Unidos) e os dados antropométricos pelo Software WHO Anthro versão 3.1. Os dados foram testados quanto à normalidade da distribuição pelo teste de Shapiro Wilk. A idade, peso, altura, IMC, número de eosinófilos e os níveis de IgE apresentaram normalidade e homogeneidade de variâncias, por isso, foi empregado o teste paramétrico “t” de Student para análise das características entre os grupos linhaça e placebo. Para análise entre os mesmos grupos, antes e após a suplementação, foi empregado o teste paramétrico “t” de Student pareado. Estes dados estão expressos em média e desvio padrão. Para verificar diferenças quanto ao estado nutricional, foi aplicado o teste qui-quadrado. Os dados estão expressos em número e percentual e em média e desvio padrão. Para análise dos dados não normais (produção de TBRAS, carbonil, tiol total e catalase), entre os mesmos grupos, antes e após a suplementação, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn`s, pois não apresentaram-se normais. Estes resultados estão expressos em média e erro padrão. A significância estatística foi considerada admitindo-se um nível crítico de 5% ($p < 0,05$) em todos os casos.

5.10 Aspectos éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciência da Saúde (CEP/CCS/UFPE), de acordo com a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, que regulamenta as pesquisas envolvendo seres humanos, segundo CAE número: 12055713.9.0000.5208 (Anexo A).

O estudo foi esclarecido aos pais ou responsáveis que, após concordarem com o mesmo, assinaram o TCLE (Apêndice A). Foi garantida aos participantes a possibilidade de não participar da pesquisa ou de desistir, a privacidade, a confidencialidade e o anonimato. Os dados estão mantidos sob sigilo, não expondo o paciente a nenhum tipo de risco e/ou constrangimento. Todos os pacientes continuaram sendo acompanhados no ambulatório de Alergologia e Imunologia do HC/UFPE e não

houve descontinuidade do tratamento. Os resultados foram encaminhados para o médico responsável pelo ambulatório, para anexar aos prontuários e repassar, posteriormente, aos pacientes e seus responsáveis.

RESULTADOS

6.0 RESULTADOS

Artigo original 1

Título: Suplementação com óleo de linhaça marrom reduz mediadores inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos

Título abreviado: Linhaça reduz mediadores inflamatórios da asma

Autores:

Érika M. C. de Macêdo. Doutoranda em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco. E-mail: erikamichellec@yahoo.com.br. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPQ. Participou da elaboração do projeto de pesquisa, da concepção e delineamento da pesquisa, da coleta de dados e da análise e interpretação dos resultados.

Morganna C. Lima. E-mail: morganna-costa@hotmail.com. Bacharel em Biomedicina pela Associação Caruaruense de Ensino Superior. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPQ. Participou da coleta de dados e da análise e interpretação dos resultados.

Marina de M. V. Petribú. Doutora em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco. E-mail: mpetribu@hotmail.com. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPQ. Participou da análise e interpretação dos resultados.

Décio M. Peixoto. Doutor em Pediatria e Ciências Aplicadas à Pediatria pela Universidade Federal de São Paulo. E-mail: daph@elogica.com.br. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPQ. Participou da coleta de dados e da análise e interpretação dos resultados.

Célia M. M. B. de Castro. PhD pela Universidad de Salamanca. cmmdbec@hotmail.com. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPQ. Participou da elaboração do projeto de pesquisa, da concepção e delineamento da pesquisa, da discussão dos resultados e da redação do artigo.

Declaração de conflito de interesse: nada a declarar.

Instituição: Departamento de Nutrição. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE.

Autor responsável pela correspondência e pelos contatos pré-publicação:

Érika Michelle Correia de Macêdo. Rua Múcio Uchôa Cavalcante, 470, apto. 202A – CEP: 50730-670 – Engenho do Meio - Recife, PE – Brasil. **Telefone:** (00 55 81) 9927-7925. **Fax:** (00 55 81) 2126-8463. **E-mail:** erikamichellec@yahoo.com.br

Fonte Financiadora: Conselho Nacional de Pesquisa - CNPq

Número total de palavras no texto: 2993

Número total de palavras no resumo: 250

Número de tabelas e figuras: 1 tabela e 1 figura

Resumo:

Objetivo: Verificar os efeitos da suplementação com óleo de linhaça marrom sobre os níveis de eosinófilos e de Imunoglobulina E (IgE) plasmáticas. **Métodos:** ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado com crianças e adolescentes, entre 7 e 19 anos com asma moderada, em uso de broncodilatador inalado, atendidos em ambulatório especializado de um Hospital de referência, no período de julho de 2013 a agosto de 2014. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo linhaça, os quais foram suplementados com óleo de linhaça marrom e grupo placebo, que receberam cápsulas contendo glucose de milho, com a mesma cor e aspecto do óleo de linhaça. Os pacientes foram orientados a ingerir 1 cápsula de 1 grama por dia, durante 6 semanas. Para as avaliações de eosinófilos e IgE, coletou-se alíquota de 5ml de sangue de cada paciente. Para análise estatística foi empregado o teste “t” de Student pareado. **Resultados:** Foram atendidos 76 pacientes, porém, 63 finalizaram o estudo, sendo 31 suplementados com óleo de linhaça marrom e 32 com placebo. No grupo linhaça, o número de eosinófilos foi reduzido ($p<0,05$) de $4,53\% \pm 1,61$, para $2,9\% \pm 0,99$ após a suplementação. No grupo placebo, não foi encontrada diferença (de $4,54\% \pm 1,32$ para $3,75\% \pm 2,04$ depois da suplementação). Quanto ao IgE, houve redução significativa ($p<0,05$) no grupo linhaça de $122,9\text{UI/mL} \pm 27,9$ para $68,5\text{UI/mL} \pm 28,1$. No grupo placebo, não foi verificada diferença (de $112,6 \pm 15,5\text{UI/mL}$ para $108,7\text{UI/mL} \pm 15,9$ depois da suplementação). **Conclusão:** A suplementação com óleo de linhaça marrom reduziu o número de eosinófilos e de IgE sanguíneo, indicando atenuação do processo inflamatório da asma.

Palavras-chave: óleo de semente do linho, asma, hipersensibilidade, leucócitos.

Abstract:

Objective: Assess the effects of supplementation with linseed oil on levels of eosinophils and immunoglobulin E (IgE) in plasma. **Methods:** A randomized, double-blind, controlled placebo test on children and adolescents aged 7 to 19 years with moderate asthma under use of inhaled bronchodilator, treated in outpatient clinic of a hospital referral from July 2013 to August 2014. Patients were randomized divided into two groups: linseed group, which were supplemented with linseed oil and placebo group, given capsules containing corn syrup, with the same color and appearance of linseed oil. Patients were instructed to ingest 1 capsule 1 gram per day for 6 weeks. For reviews of IgE and eosinophils was collected a 5mL-aliquot of blood from each patient. For statistical analysis we used the "t" Student's paired test. **Results:** 76 patients were treated; however, 63 completed the study, 31 supplemented with linseed oil and 32 treated with placebo. In linseed group, the number of eosinophils was reduced ($p < 0.05$) ranging from $4.53 \pm 1.61\%$ to $2.9 \pm 0.99\%$ after supplementation. In the placebo group, no difference was found ($4.54\% \pm 1.32$ to $3.75 \pm 2.04\%$ after supplementation). Regarding IgE, there was reduction ($p < 0.05$) in the group of linseed ($122.9 \text{ UI/mL} \pm 27.9$ to $68.5 \text{ UI/mL} \pm 28.1$). In the placebo group, there was no difference ($112.6 \pm 15.5 \text{ UI/mL}$ for $108.7 \text{ UI/mL} \pm 15.9$ after supplementation). **Conclusion:** Supplementation with linseed oil reduced the number of blood eosinophils and IgE, indicating attenuation of the asthma inflammatory process.

Keywords: linseed oil, hypersensitivity, asthma, leukocytes.

Introdução:

A asma é uma doença inflamatória crônica, caracterizada por broncoespasmo, hipersecreção de muco e edema da mucosa das vias aéreas acarretando diminuição do volume expiratório forçado, dispnéia, tosse e chiado¹. Apresenta-se de maneira intermitente, leve, moderada e grave dependendo dos números de intercorrências diárias, gravidade do broncoespasmo e dosagem de fármacos².

A asma é desencadeada por fatores ambientais, tais como inalação de alérgenos (ácaro, poluição, fumaça, perfumes), resfriados, contato com ar frio e seco, ingestão de determinados alimentos, agentes farmacológicos, estresse físico ou emocional e exercícios físicos³. Acomete principalmente crianças e adolescentes e sua prevalência vem aumentando significativamente no mundo⁴. No Brasil, a asma é a terceira maior causa de hospitalização, com quase 400 mil internações ao ano⁵ e estima-se que sua prevalência, entre escolares e adolescentes, esteja entre 19% e 24%, respectivamente, com variações regionais⁶.

A fisiopatologia da asma é desencadeada pela exposição frequente aos alérgenos. As células T helper 2 (Th2) tipo TCD4⁺ são ativadas e induzem à disfunção crônica do sistema imune, resultando em processo inflamatório persistente, levando à liberação excessiva de mediadores imunológicos pró-inflamatórios, incluindo as citocinas: IL-4, IL-5 e IL-13. Estas, por sua vez, estimulam a maturação de eosinófilos, aumentando sua liberação na corrente sanguínea e dos plasmócitos que secretam Imunoglobulina E (IgE) específica ao alérgeno³.

Apesar de muitos avanços terapêuticos que tem sido desenvolvidos, a asma ainda resulta em elevada morbidade na infância e adolescência⁷. Embora os medicamentos continuem sendo os principais tipos de tratamento, tem havido interesse

crecente na investigação de fatores ambientais que podem contribuir para o aumento da incidência da asma³.

Dentre esses fatores, os hábitos alimentares decorrentes do estilo de vida moderno, ocasionaram aumento do consumo de alimentos fontes de ômega 6 (n-6), tais como óleo de soja e milho, em relação aqueles fontes de ômega 3 (n-3), o que propicia a produção dos marcadores pró-inflamatórios⁸. Nessa perspectiva, o n-3 vem sendo apontado na prevenção e tratamento da asma, uma vez que o mesmo apresenta a característica de estimular a produção de mediadores anti-inflamatórios em detrimento dos pró-inflamatórios^{8,9}.

O n-3 é encontrado em concentrações elevadas em peixes e em óleos de peixe e linhaça. Atualmente, o óleo de linhaça tem ganhado ênfase como importante anti-inflamatório, devido a características como: alto teor de n-3, menor custo que outros óleos, melhor palatabilidade, livre de poluentes, não processado, é um produto orgânico e sua fonte é renovável e sustentável¹⁰.

Nenhum estudo foi encontrado utilizando óleo de linhaça e seus efeitos na redução do processo inflamatório da asma. Neste sentido, estudos desenvolvidos com a suplementação de óleo de linhaça em pacientes asmáticos são de interesse. Assim, o presente estudo teve por objetivo verificar os efeitos anti-inflamatórios da suplementação com o óleo de linhaça marrom sobre os níveis de eosinófilos e de IgE em crianças e adolescentes com asma moderada.

Metodologia:

Estudo do tipo ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado com crianças e adolescentes de ambos os sexos, entre 7 e 19 anos, diagnosticados com asma moderada, em uso de broncodilatador inalado e atendidos no ambulatório de Alergologia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE), no período de julho de 2013 a agosto de 2014. O diagnóstico e gravidade da asma foram estabelecidos de acordo com as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma, 2012².

Foram escolhidos pacientes com asma moderada, visto que na leve o processo inflamatório encontra-se atenuado e na grave há necessidade recorrente de corticoide para controle das crises e de internamento². Utilizou-se como critérios de exclusão, os portadores de outra doença inflamatória ou que acarretasse imunodeficiência e de pneumopatia crônica, os que estavam sendo atendidos pela primeira vez e em uso de corticoide.

Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente no estudo em dois grupos: Grupo linhaça, os quais receberam suplementação com óleo de linhaça marrom e o Grupo Placebo que receberam cápsulas contendo glucose de milho com a mesma cor e aspecto do óleo de linhaça.

Os pesquisadores responsáveis pela coleta dos dados e os pacientes não sabiam o conteúdo da cápsula. Nenhum dos participantes teve interrupção no tratamento clínico, bem como das medicações.

O tempo de suplementação, a dosagem e o cálculo amostral foram baseados no estudo de Biltagi *et al.*, (2009)¹¹, no qual suplementou óleo de peixe em crianças com asma moderada, e o mesmo apresenta semelhança na composição nutricional com o óleo de linhaça. O cálculo utilizou os níveis séricos de IL-1¹¹ e foi determinado pela

fórmula de comparação de duas médias¹². Foi estimada uma perda de 20%, perfazendo um mínimo de 29 pacientes para cada grupo.

No dia da consulta, os pacientes elegíveis foram convidados a participar da pesquisa. Após o consentimento, os pais ou responsáveis autorizaram a pesquisa mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Em seguida, foram coletadas informações acerca de sexo, idade, procedência, sintomatologia, peso e altura e, posteriormente, encaminhados para a coleta de sangue, para análise do número de eosinófilos e IgE. Após o período de intervenção, de 6 semanas, os pacientes retornavam ao ambulatório para reavaliação.

O estudo foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde (CEP/CCS/UFPE), segundo CAE número: 12055713.9.0000.5208.

Intervenção: Os pais ou responsáveis foram orientados a administrar aos pacientes 1 cápsula (de óleo de linhaça marrom ou placebo) de 1 grama, por dia, antes do almoço, durante 6 semanas. Não foram realizadas mudanças na dieta dos pacientes. O grupo linhaça recebeu cápsulas, comercializadas no mercado, contendo 1000mg de óleo, fornecendo 9kcal e 1g de lipídeos, sendo 0,5g de n-3; 0,2g de n-6 e 0,2g de n-9. As cápsulas de glucose de milho forneciam 3,2kcal e 0,8g de carboidrato em 1000mg.

Avaliação do estado nutricional: O peso e altura foram coletados conforme preconizado pela OMS, 2007¹³ e convertidas pelo programa WHO Anthro versão 3.2.2, para escore de altura para idade (A/I) e Índice de massa corporal para idade (IMC/I). O IMC é o produto da relação peso (kg) pela altura (m) ao quadrado. Foi utilizada como referência as curvas da OMS, 2007¹³.

Sintomatologia: Foram questionados aos pacientes e seus responsáveis sobre a sintomatologia apresentada durante a crise de asma, tais como tosse, dispneia, placas e coceiras na pele, edema nos olhos, na boca e no corpo, dentre outros.

Coleta do sangue. Foi realizada no Laboratório do HC/UFPE. Os participantes foram submetidos à punção venosa, na qual foram coletados aproximadamente 5ml de sangue, distribuídos em tubos estéreis com e sem anticoagulante, ambos da marca BD Vacutainer. Para a contagem de eosinófilos utilizou-se sangue total coletado em tubo com EDTA-k3. Para dosagem da IgE, foi obtido o soro. O sangue foi colhido em tubo com ativador de coágulo, e posteriormente centrifugado, separado em pequenas alíquotas, e armazenado a -80° C.

Contagem de eosinófilos: Foi realizada pelo laboratório de Hematologia do HC/UFPE, onde foi feita a contagem diferencial de leucócitos, através da fabricação de estirado sanguíneo corado pelo Panótico Rápido da marca New Prov e avaliado por microscopia convencional. O ponto de corte estabelecido foi o do próprio laboratório, que considera valores normais entre 1 e 5%.

IgE: Foram realizadas em um laboratório particular, em sistemas de automação IMMULITE Automated Analyzer. Esta técnica baseia-se na reação de quimioluminescência. Os valores de referência adotados foram a do próprio laboratório que considera níveis de IgE normais até 87,0 UI/ml.

Análise estatística: Os dados foram analisados pelo pacote estatístico GraphPad-Prism versão 6.0c. Os dados foram testados quanto à normalidade da distribuição pelo teste de

Shapiro Wilk, como apresentaram normalidade e homogeneidade de variâncias, foi empregado o teste paramétrico “t” de Student para análise entre os grupos linhaça e placebo. Para análise intragrupo, antes e após a suplementação, foi empregado o teste paramétrico “t” de Student pareado. Para verificar diferenças quanto ao estado nutricional, foi aplicado o teste qui-quadrado. Os dados estão expressos em número e percentual e média e desvio padrão. A significância estatística foi considerada admitindo-se um nível crítico de 5% ($p < 0,05$) em todos os casos.

Resultados:

No período do estudo foram atendidos 76 pacientes elegíveis para a pesquisa. Destes, um foi excluído por apresentar pneumopatia crônica, 8 não retornaram após o período de intervenção, um não ingeriu todas as cápsulas, dois não foram autorizados pelos pais ou responsáveis e um se recusou em participar. Nenhum foi internado durante a pesquisa e foram incluídos no estudo apenas os que referiram ingerir todas as cápsulas, resultando em uma amostra final de 63 pacientes, sendo 31 suplementados com o óleo de linhaça marrom e 32 do grupo placebo.

Dentre os 63 pacientes avaliados, 38 (60,3%) eram do sexo masculino. A idade variou entre 7,1 e 18,9 anos, com média de $11,7 \pm 2,63$ anos no grupo linhaça e $12,2 \pm 3,65$ anos no grupo placebo, com predomínio de adolescentes (60,3%) em ambos os grupos. Quanto a procedência, 31 (49,2%) eram provenientes da Região Metropolitana do Recife, (30) 47,6% do Interior de Pernambuco e 2 (3,2%) de outros Estados.

A média de peso e estatura no grupo linhaça foi de $46,04 \pm 12,05$ kg e de $1,49 \pm 0,12$ m, respectivamente. Enquanto que no grupo placebo foi de $43,5 \pm 14,17$ kg e de $1,48 \pm 0,16$ m. Quanto ao estado nutricional, em ambos os grupos, prevaleceu a eutrofia em relação ao IMC/I (54,5% de toda a amostra) e todos apresentavam estatura adequada para a idade. Entretanto, observou-se que 34,9% da amostra tinham sobrepeso ou obesidade (Tabela 1). Não foram encontradas diferenças significativas entre os dados de idade, peso, altura e IMC entre os grupos, indicando uma homogeneidade entre os mesmos.

Em relação à sintomatologia, observada após a suplementação, no grupo linhaça, vinte (64,5%) apresentaram diminuição da dispneia, tosse e coceira. Já no grupo

placebo, apenas dois (6%) pacientes mencionaram melhora, referindo estarem mais saudáveis. Nenhum paciente relatou efeitos colaterais da suplementação.

Na figura 1 mostra a evolução do número de eosinófilos antes e após a intervenção. No grupo linhaça, o número de eosinófilos inicial foi de $4,53\% \pm 1,61$, reduzindo ($p < 0,05$) para $2,9\% \pm 0,99$. No grupo placebo, não foi encontrada diferença ($4,54\% \pm 1,32$ antes da suplementação para $3,75\% \pm 2,04$ depois da suplementação). Ambos os grupos, apresentaram número de eosinófilos dentro da faixa de normalidade.

A figura 2 estão representados a evolução dos níveis de IgE após a suplementação. Houve uma redução ($p < 0,05$) no grupo linhaça de $122,9 \text{ UI/mL} \pm 27,9$ para $68,5 \text{ UI/mL} \pm 28,1$ depois da intervenção. Nota-se que inicialmente os níveis de IgE encontravam-se acima do ponto de corte estabelecido (até $87,0 \text{ UI/mL}$), normalizando após a suplementação. No grupo placebo, não foi verificada diferença ($112,6 \pm 15,5 \text{ UI/mL}$ versus $108,7 \text{ UI/mL} \pm 15,9$) e os níveis permaneceram acima do valor de referência.

Discussão

No presente estudo prevaleceu o sexo masculino, corroborando com outros autores^{14, 15}. Alguns pesquisadores tentam explicar essa maior prevalência da asma nos meninos, porém ainda não há um consenso. Dentre as teorias mais aceitáveis estão as que relacionam as diferenças entre geometria das vias aéreas nos sexos, a qual pode predispor os meninos em razão do aumento da resistência das vias aéreas, ou ainda a menor resistência ao fluxo aéreo dos brônquios nas meninas, ou a maior frequência de infecções das vias aéreas entre os meninos^{16, 17}.

Em relação à procedência, pelo fato do estudo ter sido realizado no ambulatório de Alergologia e Imunologia do HC/UFPE, referência para todo o Estado de Pernambuco, justifica-se o elevado percentual de pacientes do interior do Estado.

O estado nutricional dos pacientes foi avaliado pelo IMC/I e E/I, uma vez que o IMC/I é usado principalmente para identificar o excesso de peso entre crianças e adolescentes e é recomendado internacionalmente para estudos clínicos e epidemiológicos. Foi validado como indicador de gordura corporal total e tem a vantagem de ser utilizado em outras fases da vida¹⁸.

Verificou-se que a maior parte da amostra apresentava-se eutrófica, em ambos os grupos, porém, houve um alto percentual de pacientes com sobrepeso e obesidade. Van Gent *et al* (2007)¹⁹ encontraram um percentual de 16% de crianças entre 7 e 10 anos com IMC elevado para idade. Em contrapartida, Antonio *et al.*, (2003)²⁰, não encontram nenhum paciente asmático com sobrepeso ou obesidade.

Há um interesse na literatura atual em tentar esclarecer a possível relação entre asma e excesso de peso, visto que as duas doenças têm apresentado elevados valores de prevalência e frequentemente coexistem^{21, 22}. Os estudos são bastante divergentes e várias são as justificativas e conclusões acerca do assunto. Dentre os mais aceitos

atualmente estão os efeitos mecânicos diretos do diafragma, ocasionada pelo excesso de peso, sobre as vias aéreas levando a falta de ar. Ademais, a obesidade enquanto doença inflamatória provocaria alteração na musculatura lisa, levando ao estreitamento das vias aéreas, aumento da reatividade das vias aéreas com os alérgenos ambientais, e, mais recentemente, a desregulação do sistema nervoso autônomo mediado pela leptina^{23, 24}. Além disso, a diminuição do nível de atividade, devido à exarcebação das crises, e o uso de corticoides em pacientes asmáticos pode predispor ao ganho de peso corporal excessivo²⁰. Contudo, ainda são pouco conhecidos os mecanismos fisiológicos, imunológicos, mecânicos, genéticos, ambientais e dietéticos realmente responsáveis pela relação asma e obesidade²².

O índice altura para idade reflete o crescimento linear em relação à idade e é considerado o indicador mais sensível para aferir a qualidade de vida de uma população, por ter associações com as condições socioeconômicas, infecções crônicas e recorrentes e aporte nutricional inadequado¹⁹. Já foi relatado que a asma moderada compromete o crescimento de crianças e adolescentes²¹, porém, no presente estudo, não foi encontrado nenhum déficit de crescimento entre as crianças e adolescentes estudadas. Como estes pacientes encontravam-se em acompanhamento médico periódico, pode-se inferir que os mesmos faziam uso adequado das medicações para controle do quadro alérgico, bem como recebiam aconselhamento nutricional satisfatório, razões pelas quais a estatura não foi comprometida pela doença.

Quanto à sintomatologia, cerca de dois terços dos pacientes que receberam o óleo da linhaça marrom apresentou melhora dos sintomas, como redução da dispneia, tosse e coceira e conseqüente diminuição da necessidade de medicamentos. Como estes sintomas interferem nas atividades habituais dos pacientes asmáticos, a suplementação com n-3 repercutiu positivamente na qualidade vida, atuando como coadjuvante no

tratamento da asma. Tal efeito pode ser decorrente do efeito anti-inflamatório do n-3 na regeneração do epitélio do trato respiratório e pela modulação na cascata inflamatória da asma⁸.

A linhaça é reconhecidamente uma das maiores fontes de ácido alfa-linolênico (18:3n-3, ALA), e que pode ser metabolicamente convertido nos ácidos docosaexaenóico (22:6n-3, DHA) e eicosapentaenóico (20:5n-3, EPA), processo pelo qual é mediado pelas enzimas elongases e dessaturases²⁵. Particularmente, o EPA parece ter efeitos sobre a resposta imune e inflamatória através da modulação da resposta imune mediada pelas células Th2 presente na fisiopatologia da asma⁹.

A ativação das células Th2 é a responsável pelo início do processo inflamatório na asma. Após reconhecer o antígeno através da ligação com as células apresentadoras de antígeno, as células Th2 estimulam as células B que se diferenciam em plasmócitos secretores de IgE específica para o alérgeno. A IgE é rapidamente captada pelos receptores dos mastócitos teciduais, levando a sua desgranulação³. Isto conduz à liberação de uma variedade de moléculas inflamatórias, contribuindo para um maior recrutamento de células imunes e ativação de leucócitos, principalmente eosinófilos. Este processo desencadeia a contração da musculatura lisa dos vasos, vasodilatação, ocasionando tosse, chiado e dispneia frequentes na crise de asma³. Por isso, que de uma forma geral, nas doenças alérgicas, encontram-se elevados a contagem de eosinófilos e o nível de IgE sérica total.

Os eosinófilos e IgE sanguíneos desempenham um importante papel na patogênese da asma, atuando como marcadores da inflamação alérgica¹⁴. No presente estudo, a suplementação com óleo de linhaça marrom reduziu os níveis plasmáticos de eosinófilos e de IgE, e ainda, normalizou os níveis de IgE. Possivelmente o n-3 atenuou a resposta inflamatória através da redução da ativação das células Th2, levando a um

quadro de remissão clínica. Pois já foi demonstrado que, nesta situação, a contagem de eosinófilos sanguíneo está significativamente menor do que nas exacerbações¹⁴. Esta diminuição pode repercutir de forma positiva em pacientes asmáticos através da redução das alterações encontradas na musculatura lisa devido à inflamação, acarretando na dilatação das vias aéreas, com conseqüente atenuação da dispneia, como foi relatado pela maioria dos pacientes que receberam suplementação com o óleo de linhaça marrom.

Nenhum estudo foi encontrado utilizando óleo de linhaça e seus efeitos antioxidantes na asma. Outros estudos foram conduzidos verificando os efeitos da suplementação do n-3 na asma, porém utilizando óleo de peixe^{27,28}. Jang et al., (2014)²⁷, verificaram que a suplementação com óleo de peixe em ratos, foi capaz de modular a resposta inflamatória exacerbada via células Th2, apresentando benefícios na prevenção e no tratamento da asma. Tecklenburg-Lund et al., (2010)²⁸ compararam os efeitos antioxidantes do óleo de peixe, por um período de 3 semanas, com as medicações em pacientes asmáticos. Os autores verificaram que ambos foram igualmente eficientes em atenuar a inflamação das vias aéreas e broncoespasmo.

Confirmando nossos achados, Park et al., (2013)⁹ ao suplementar óleo de peixe, verificou reduções significativas na citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 produzidas pelas células Th2 em resposta a alérgenos, do fator de transcrição responsável pela ativação dos mastócitos e da gravidade da dermatite. Resultados semelhantes também foram encontrados por Schubert, et al., (2009)²⁶, que administrou óleo de peixe durante 3 semanas em pacientes com asma, observando um decréscimo no número de eosinófilos ($10,1 \pm 0,184$ vs. $5,79 \pm 0,69\%$), com conseqüente redução da inflamação brônquica.

Esses resultados mostram que a suplementação com óleo de linhaça marrom reduziu o número de eosinófilos e os níveis de IgE sanguíneo, indicando uma atenuação

do processo inflamatório nas crianças e adolescentes portadores de asma moderada. Como os grupos eram homogêneos, ou seja, iguais clinicamente, pode-se constatar que o n-3 atuou como coadjuvante no tratamento da asma, por reduzir a sintomatologia dos pacientes com conseqüente, diminuição da necessidade de medicamentos, melhora do quadro clínico e da qualidade vida. Sendo assim, torna-se cada vez mais importante incentivar o consumo de alimentos ou de suplementos ricos em n-3, particularmente por pacientes asmáticos, visto seus potenciais efeitos anti-inflamatórios.

Por se tratar de um estudo de intervenção, alguns vieses podem ter ocorrido, principalmente pelo fato da suplementação não ter supervisão dos pesquisadores e depender da memória e responsabilidade dos pacientes e de seus responsáveis. Mesmo com estas limitações, este estudo demonstra a importância de mais pesquisas sobre o assunto através de intervenções mais amplas, com controle da suplementação e por um período maior que possam confirmar e elucidar as hipóteses aqui postuladas.

Referências

1. Singas E, Karpel JP. Profile of ciclesonide for the maintenance treatment of asthma. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2011;7:351–358.
2. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma. *J Bras Pneumol*. 2012.
3. Bosnjak B, Stelzmueller B, Erb KJ, Epstein MM. Treatment of allergic asthma: modulation of Th2 cells and their responses. *Respir Res*. 2011;12:114.
4. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. ISAAC Phase Three Study. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhino conjunctivitis, and eczema in childhood. ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet*. 2006; 368: 733–743.
5. Fitzgerald JM, Bateman E, Hurd S, Boulet LP, Haahtela T, Cruz AA, Levy ML. The GINA Asthma Challenge: reducing asthma hospitalisations. *Eur Respir J*. 2011 Nov;38(5):997-8.
6. Solé D, et al. ISAAC - Brazilian Group. Prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and atopic eczema among Brazilian children and adolescents identified

- by the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). Phase 3. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82:341-6.
7. Anandan C, Nurmatov U, van Schayck OC, Sheikh A. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. *Allergy*. 2010;65(2):152-67.
 8. Reisman J, Schachter HM, Dales RE, Tran K, Kourad K, Barnes D, et al. Treating asthma with omega-3 fatty acids: where is the evidence? A systematic review. *BMC Complement Altern Med*. 2006;6:26.
 9. Park BK, Park S, Park JB, Park MC, Min TS, Jin M. Omega-3 fatty acids suppress Th2-associated cytokine gene expressions and GATA transcription factors in mast cells. *J Nutr Biochem*. 2013 May;24(5):868-76.
 10. Kaul N, Kreml R, Austria JA, Richard MN, Edel AL, Dibrov E, et al. A comparison of fish oil, flaxseed oil and hempseed oil supplementation on selected parameters of cardiovascular health in healthy volunteers. *Journal of the American College of Nutrition*. 2008;27(1):51-58.
 11. Biltagi MA, Baset AA, Bassiouny M, Kasrawil MA, Attia M. Omega-3 fatty acids, vitamin C and Zn supplementation in asthmatic children: a randomized self-controlled study. *Acta Pædiatrica*. 2009;98:737-742.

12. Kirkwood BR. Calculation of required sample size. In: Essencials of medical statistics. 2nd ed.:Oxford: Blackwell Csientific plublications; 1998. p.413-428.
13. Organização Mundial da Saúde. The WHO child growth standards. [cited 2014 Apr 16]. Available from: <http://www.who.int/childgrowth/en>.
14. Razi E, Moosavi GA. Relação dos níveis séricos de IgE total e das contagens de eosinófilos com a resposta ao tratamento em pacientes com asma aguda. J Bras Pneumol. 2010;36(1):23-28.
15. de Andrade LB, Silva DA, Salgado TL, Figueroa JN, Lucena-Silva N, Britto MC. Comparison of six-minute walk test in children with moderate/severe asthma with reference values for healthy children. J Pediatr (Rio J). 2014;90:250-7.
16. Saldanha CT, Ageo MCS, Clovis B. Variações climáticas e uso de serviços de saúde em crianças asmáticas menores de cinco anos de idade: um estudo ecológico. J Bras Pneumol. 2005;31(6):492-8
17. Fiore RW, Comparsi AB, Reck CL, Oliveira JK, Pampanelli KB, Fritscher CC. Variação na prevalência de asma e atopia em um grupo de escolares de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. J Pneumologia (São Paulo). 2001;27(5):237-242.

18. Sociedade Brasileira de Pediatria. Avaliação nutricional da criança e do adolescente – Manual de Orientação. Departamento de Nutrologia. – São Paulo: Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento de Nutrologia; 2009. 112p.
19. Van-Gent R, Van-der-Ent CK, Rovers MM, Kimpen JLL, Van-Essen-Zandvliet LEM, et al. Excessive body weight is associated with additional loss of quality of life in children with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2007;119(3):591–596.
20. Antonio MÂGM, Ribeiro JD, Toro AAC, Piedrabuena AE, Morcillo AMA. Avaliação do estado nutricional de crianças e adolescentes com asma. *Rev Assoc Med Bras*. 2003;49(4):367-71.
21. Camilo DF. Obesidade e asma: associação ou coincidência?. *J Pediatr (Rio J)*. 2010;86(1):6-14.
22. Arteaga-Solis E, Zee T, Emala CW, Vinson C, Wess J, Karsenty G. Inhibition of leptin regulation of parasympathetic signaling as a cause of extreme body weight-associated asthma. *Cell Metab*. 2013;17:35-48.
23. Dixon AE, Holguin F, Sood A, Salome CM, Pratley RE, Beuther DA, et al. An official American Thoracic Society Workshop report: obesity and asthma. *Proc Am Thorac Soc*. 2010;7:325-35.

24. Perini JÂL, Stevanato FB, Sargi SC, Visentainer JEL, Dalalio MMO, Matshushita M et al . Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. Rev. Nutr. 2010 Dec; 23(6): 1075-1086.
25. Burdge GC, Calder PC. Dietary α -linolenic acid and health-related outcomes: a combination on airway inflammation and hyperpnea-induced bronchoconstriction. PLoS One. 2010;5(1):134-87.
26. Schubert R, Kitz R, Beermann C, Rose MA, Sommere PC, Moskovits J, et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in asthma after low-dose allergen challenge. Int Arch Allergy Immunol. 2009;148:321–9.
27. Jang HY, Lim K, Lee SM, Park BH. Effects of n-3 PUFA on the CD4+ type 2 helper T-cell-mediated immune responses in Fat-1 mice. Nutr Food Res. 2014; 58:365–375.
28. Tecklenburg-Lund S, Mickleborough TD, Turner LA, Fly AD, Stager JM, Montgomery GS. Randomized controlled trial of fish oil and montelukast and their metabolic perspective. Nutr Res Ver.2006;19:26–52.

Tabela 1 - Classificação do estado nutricional das crianças e adolescentes asmáticas atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014

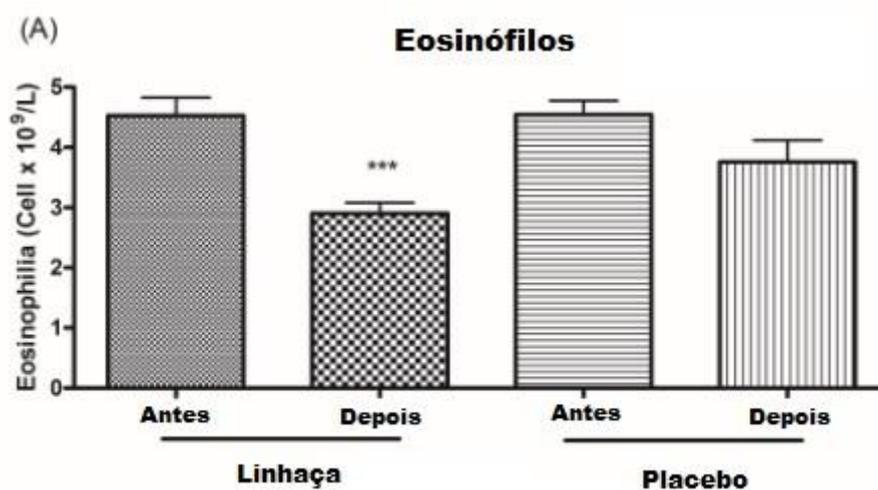
Grupos de estudo			
	Grupo linhaça	Grupo placebo	p#
	(n=31)	(n=32)	
	n (%)	n (%)	
IMC/I‡			0,531
Eutrofia	19 (61,2)	23 (71,8)	
Sobrepeso	7 (22,6)	8 (25)	
Obesidade	5 (16,2)	2 (6,2)	
Estatura para idade‡			
Adequada para idade	31 (100)	32 (100)	

IMC = Índice de massa corporal.

‡Classificação de acordo com a OMS, 2006,2007.

#teste qui-quadrado

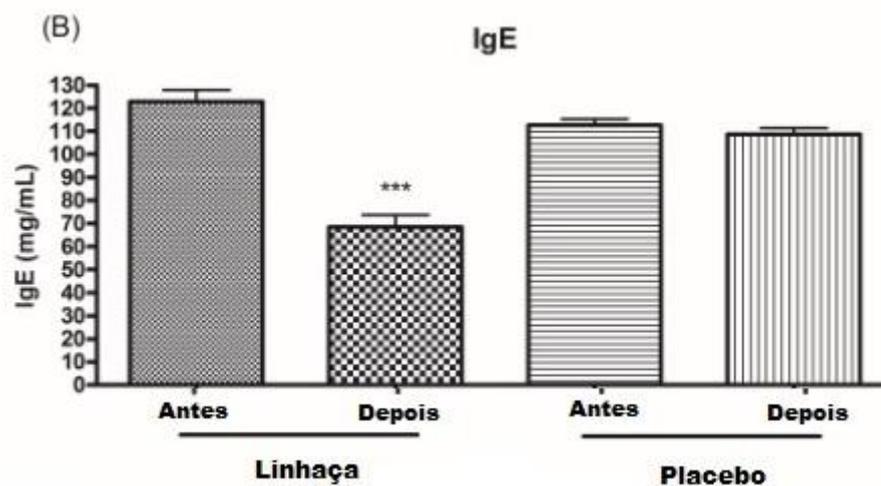
Figura 1 – Número de eosinófilos antes e após a suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo, de crianças e adolescentes asmáticos atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014



Os resultados estão representados em média e desvio padrão (DP).

* $p < 0,05$, teste t pareado de student

Figura 2 – Níveis de IgE antes e após a suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo, de crianças e adolescentes asmáticos atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014



Os resultados estão representados em média e desvio padrão (DP).

* $p < 0,05$, teste t pareado de student.

Artigo 2 - Suplementação com óleo de linhaça marrom reduz o dano oxidativo em crianças e adolescentes com asma moderada.

Título abreviado: Linhaça reduz dano oxidativo da asma

Short title: Flaxseed reduces oxidative stress in asthma

Categoria do artigo: Artigo original

Área temática do artigo: Nutrição clínica

Artigo baseado na Tese de Érika Michelle Correia de Macêdo, intitulada: Efeitos antioxidantes da suplementação com óleo de linhaça marrom sobre parâmetros inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos. Instituição: Universidade Federal de Pernambuco. Ano de obtenção do título: 2014.

Autores:

Érika Michelle Correia de Macêdo. Filiação Institucional: Universidade Federal de Pernambuco. Doutoranda em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco. E-mail: erikamichellec@yahoo.com.br. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPQ. Participou da elaboração do projeto de pesquisa, da concepção e delineamento da pesquisa, da coleta de dados e da análise e interpretação dos resultados.

Morganna Costa Lima. Filiação Institucional: Universidade Federal de Pernambuco. E-mail: morganna-costa@hotmail.com. Bacharel em Biomedicina pela Associação Caruaruense de Ensino Superior. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPQ. Participou da coleta de dados e da análise e interpretação dos resultados.

André Martins Galvão. Filiação Institucional: Universidade Federal de Pernambuco. E-mail: andremgalvao@hotmail.com. Doutor em Biologia Aplicada à Saúde pela Universidade Federal de Pernambuco. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPQ. Participou da análise e interpretação dos resultados.

Célia Maria Machado Barbosa de Castro. Filiação Institucional: Universidade Federal de Pernambuco. PhD pela Universidad de Salamanca. cmmbdec@hotmail.com. Possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPq. Participou da elaboração do projeto de pesquisa, da concepção e delineamento da pesquisa, da discussão dos resultados e da redação do artigo.

Declaração de conflito de interesse: nada a declarar.

Instituição: Departamento de Nutrição. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901.

Autor responsável pela correspondência e pelos contatos pré-publicação:

Érika Michelle Correia de Macêdo. Rua Múcio Uchôa Cavalcante, 470, apto. 202A – CEP: 50730-670 – Engenho do Meio - Recife, PE – Brasil. **Telefone:** (00 55 81) 9927-7925. **Fax:** (00 55 81) 2126-8463. **E-mail:** erikamichellec@yahoo.com.br

Resumo

Objetivo: investigar o papel antioxidante da suplementação com óleo de linhaça marrom sobre o dano decorrente do estresse oxidativo da asma. **Métodos:** ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado com crianças e adolescentes, entre 7 e 19 anos com asma moderada, em uso de broncodilatador inalado, atendidos em ambulatório especializado de um Hospital de referência, no período de julho de 2013 a agosto de 2014. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo linhaça, os quais foram suplementados com óleo de linhaça marrom e grupo placebo, que receberam cápsulas contendo glucose de milho, com a mesma cor e aspecto do óleo de linhaça. Os pacientes foram orientados a ingerir 1 cápsula contendo 1 grama de óleo de linhaça marrom ou placebo por dia, durante 6 semanas. Foram analisadas a peroxidação lipídica, oxidação proteica, tiol total e catalase do sangue dos pacientes antes e após a suplementação. Para análise estatística foi empregado o teste Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn's. **Resultados:** No grupo linhaça foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$), após a suplementação, na peroxidação lipídica (reduzindo de $0,205 \pm 0,013 \text{ nmol}$ para $0,076 \pm 0,005 \text{ nmol}$), no carbonil (diminuindo de $37,36 \pm 5,9 \text{ nmol}$ para $2,08 \pm 1,39 \text{ nmol}$) e no tiol total (aumentando de $6,90 \pm 0,67 \text{ nmol}$ para $9,86 \pm 1,63 \text{ nmol}$). Porém, não foram encontradas diferenças na produção de catalase (de $2,25 \pm 0,15 \text{ U/mg}$ para $2,10 \pm 0,13 \text{ U/mg}$). No grupo placebo não houve diferença em nenhum parâmetro analisado. **Conclusão:** a suplementação com óleo de linhaça marrom atuou como terapia coadjuvante na asma, por amenizar o dano oxidativo de crianças e adolescentes com asma moderada. Assim, o consumo de ômega-3 deve ser incentivado em pacientes asmáticos.

Palavras-chave: óleo de semente do linho, peroxidação de lipídeos, reagentes de sulfidril, antioxidantes, catalase

Abstract

Objective: To investigate the possible antioxidant role of linseed oil on the damage resulting from oxidative stress in asthma. **Methods:** A randomized, double-blind, controlled placebo test on children and adolescents aged 7 to 19 years with moderate asthma under use of inhaled bronchodilator, treated in outpatient clinic of a hospital referral from July 2013 to August 2014. Patients were randomized divided into two groups: linseed group, which were supplemented with linseed oil and placebo group, given capsules containing corn syrup, with the same color and appearance of linseed oil. The patients were instructed to ingest one capsule containing 1 gram of brown flaxseed oil daily for six weeks. Lipid peroxidation, protein oxidation, the total thiol and catalase blood of patients before and after supplementation were analyzed. For statistical analysis we used the Kruskal-Wallis test followed by post-test Dunn's.

Results: In the group linseed significant differences ($p < 0.05$) after supplementation in lipid peroxidation (reduced ranging from $0,205 \pm 0,013 \text{ nmol}$ to $0,076 \pm 0,005 \text{ nmol}$), the carbonyl (decreasing reduced ranging from $37,36 \pm 5,9 \text{ nmol}$ to $2,08 \pm 1,39 \text{ nmol}$) and total thiol (increasing reduced ranging from $6,90 \pm 0,67 \text{ nmol}$ to $9,86 \pm 1,63 \text{ nmol}$). In the placebo group there was no difference in any parameter examined. **Conclusion:** Supplementation with brown flaxseed oil served as an adjunct therapy for asthma, to ameliorate oxidative damage in children and adolescents with moderate asthma. Thus, consumption of n-3 should be encouraged in asthmatics.

Keywords: flax seed oil, lipid peroxidation, sulfhydryl reagents, antioxidants, catalase

Introdução

A asma brônquica é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas e é caracterizada por broncoespasmo, hipersecreção de muco e edema da mucosa, acarretando na diminuição do volume expiratório forçado, dispneia, tosse e chiado¹. O seu diagnóstico deve ser baseado nas condições clínicas, sintomatologias específicas e em indicadores funcionais, sendo mais utilizado na prática clínica a espirometria². Nos últimos anos tem apresentado um aumento significativo de sua prevalência, compreendendo tanto países desenvolvidos quanto aqueles em desenvolvimento³. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2007) estima-se que 300 milhões de pessoas em todo o mundo sofram de asma, chegando a 250 mil óbitos por ano⁴.

Sua patogênese é complexa e é decorrente da liberação de mediadores inflamatórios¹. A exposição frequente aos alérgenos mantém as células Th2 de memória ativadas e induz à disfunção crônica do sistema imune, resultando em processo inflamatório persistente⁵. Desta forma, ocorre liberação excessiva de mediadores imunológicos pró-inflamatórios, como histamina, eicosanóides (prostaglandinas da série 2, leucotrienos da série 4, tromboxano da série 2) e as citocinas: IL-4, IL-5 e IL-13, os quais causam a maturação de eosinófilos e de neutrófilos¹. Os eosinófilos provocam infiltração celular característica da asma⁶.

Os neutrófilos, por sua vez, liberam radicais livres (RLs), como o superóxido e óxido nítrico, os quais são responsáveis pela inflamação das vias aéreas^{5,6}. Caso os RLs não sejam inativados pelo sistema antioxidante, ocorrerá liberação excessiva desses radicais, acarretando no estresse oxidativo, com consequente peroxidação lipídica, oxidação proteica e lesão oxidativa no DNA^{6,7}.

Ao longo do tempo, diversas estratégias terapêuticas têm sido desenvolvidas para controlar a asma, incluindo broncodilatadores como agonistas dos receptores adrenérgicos, agentes antiinflamatórios como corticosteróides inalados e antagonistas de leucotrienos⁸. Porém, apesar da progressão no entendimento de sua fisiopatologia e de crescentes ofertas de tratamento, a asma ainda resulta em elevada morbidade e mortalidade em crianças e adolescentes⁹.

Tem havido um interesse crescente na investigação de vários fatores ambientais responsáveis pelo aumento do número de casos de asma. Dentre estes inclui-se o consumo de uma dieta pró-inflamatória, caracterizada pelo elevado teor de alimentos fontes de ácidos graxos Ômega 6 (n-6) em relação ao Ômega 3 (n-3), pelo fato do n-6 induzir a liberação de mediadores inflamatórios, antagonicamente ao n-3¹⁰. Na dieta típica ocidental, o consumo de n-6 em relação ao n-3 é cerca de cinco vezes maior que o recomendado¹¹. Portanto, pacientes asmáticos que consomem uma dieta

com uma alta relação de n-6:n-3 estão mais propensos ao estresse oxidativo, logo, intervenções terapêuticas que reduzam a atividade oxidante e melhorem a defesa antioxidante podem ser úteis no tratamento da asma.

Uma abordagem, do ponto de vista nutricional, na tentativa de atenuar a produção de mediadores inflamatórios pelo n-6 na asma, é a suplementação com o n-3. O interesse da ação do n-3 sobre a asma iniciou com o estudo de Horrobin (1987)¹², o qual sugeriu que a baixa incidência de asma na população indígena americana era decorrente do consumo elevado de peixe, alimento fonte de n-3.

Os ácidos graxos poli-insaturados, n-3 e n-6 são considerados essenciais e são sintetizados a partir do ácido linoleico (AL, 18:2 n-6). O AL é convertido em ácido alfa-linolênico (ALA, 18:3 n-3), a partir do qual são sintetizados o ácido eicosapentanóico (EPA, 20:5 n-3) e o ácido docosahexanóico (DHA, 22:6 n-3)¹³. O EPA relaciona-se principalmente com os efeitos anti-inflamatórios, enquanto o DHA é fundamental para o desenvolvimento do cérebro e retina¹⁴. O n-6, por sua vez, é proveniente diretamente do AL, o qual produz o ácido araquidônico (AA), responsável pela síntese de mediadores inflamatórios^{13,14}.

AA e EPA são os ácidos graxos que formam os fosfolípidos das membranas biológicas. O n-3, particularmente o EPA, compete com o AA por enzimas nas reações de desnaturação e alongamento da cadeia que catalizam a síntese de eicosanóides¹⁴. Em proporções adequadas de n-6:n-3, em torno de 3:1, ocorre maior conversão de AL em ALA, pois as enzimas apresentam maior afinidade pelos ácidos da família n-3, com consequente maior produção de mediadores com menor potencial inflamatório^{1,14}.

A partir desta perspectiva, estudos foram conduzidos suplementando óleo de peixe em asmáticos por apresentar grande quantidade de DHA e EPA^{15,16}. Seus benefícios têm sido reportados em diversos processos inflamatórios e imunológicos¹⁷. No sistema respiratório foi verificada a redução de mediadores da inflamação, tais como radicais livres e citocinas pró-inflamatórias¹⁵.

Atualmente, o óleo de linhaça tem ganhado ênfase por ser menos susceptível a oxidação, apresentar menor custo e melhor palatabilidade do que o óleo de peixe. Além disso, é um alimento livre de poluentes, não processado, é um produto orgânico e sua fonte é renovável e sustentável^{18,19}. Porém, diferentemente do óleo de peixe, o óleo de linhaça apresenta maiores concentrações de ALA, o qual ainda precisa ser convertido em EPA e DHA no organismo¹⁸. Nenhum estudo foi encontrado utilizando óleo de linhaça e seus efeitos antioxidantes na asma. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi investigar o possível papel antioxidante do óleo de linhaça marrom sobre o dano decorrente do estresse oxidativo decorrente da asma.

Metodologia:

Ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado com crianças e adolescentes de ambos os sexos, entre 7 e 19 anos, diagnosticados com asma brônquica moderada, em uso de broncodilatador inalado e atendidos no ambulatório de Alergologia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE), no período de julho de 2013 a agosto de 2014. Foram excluídos do estudo, portadores de alguma doença que acarretasse imunodeficiência ou de pneumopatia crônica, os pacientes atendidos pela primeira vez e em uso de corticóide. Foram escolhidos pacientes com asma moderada, visto que na leve o processo inflamatório encontra-se atenuado e na grave há necessidade recorrente de corticoide para controle das crises e de internamento².

A asma foi definida como história recorrente de dispneia, tosse crônica, sibilância, aperto no peito ou desconforto torácico, com melhora da sintomatologia após o uso de broncodilatador. Foram considerados pacientes com asma brônquica moderada, aqueles que apresentavam sintomas diários, despertares noturnos semanais, necessidade de agente beta2-agonista inalado para alívio diário e limitações das atividades presentes nas exarcebações².

As crianças e adolescentes asmáticas que já estavam sendo atendidas e realizando tratamento no ambulatório foram distribuídas aleatoriamente no estudo em dois grupos: Grupo linhaça, crianças e adolescentes com asma moderada que receberam suplementação com óleo de linhaça marrom e o grupo placebo formado por pacientes com asma moderada que foram suplementados com cápsulas contendo glucose de milho que apresenta a mesma cor e aspecto do óleo de linhaça. A pesquisadora responsável pela coleta dos dados, bem como o paciente não sabiam qual o conteúdo da cápsula. Nenhuma das crianças e adolescentes incluídas no estudo teve interrupção e/ou mudanças no tratamento clínico, bem como das medicações.

Os pacientes receberam a suplementação por um período de 6 semanas. O tempo de suplementação, a dosagem e o cálculo amostral foram baseados no estudo de Biltagi *et al.*, (2009)¹⁵, no qual suplementou óleo de peixe em crianças com asma moderada, o qual possui composição nutricional similar ao óleo de linhaça e obteve redução dos marcadores inflamatórios pós suplementação (BILTAGI *et al.*, 2009)¹⁵. Para o cálculo amostral foi utilizado os níveis séricos de IL-1 e a fórmula de comparação de duas médias²⁰. Foi estimada uma perda de 20%, perfazendo um mínimo de 29 pacientes para cada grupo.

No dia da consulta no ambulatório de Alergologia e Imunologia do HC/UFPE, os pacientes que se encaixavam nos critérios de inclusão foram convidados a participar da pesquisa. Nesta ocasião, os pesquisadores esclareceram aos pais ou responsáveis os objetivos e as etapas da pesquisa, solicitando àqueles que concordaram em participar, a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

O estudo foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde (CEP/CCS/UFPE), segundo CAE número: 12055713.9.0000.5208.

A coleta de dados foi realizada pela pesquisadora após o recrutamento. Foi realizada uma entrevista com os pais ou responsáveis para o preenchimento do formulário da pesquisa, contendo informações a cerca de sexo, idade, sintomatologia antes e após a suplementação, além das aferições do peso e da estatura dos pacientes. Em seguida, os pacientes passaram por um procedimento de coleta de sangue, para posterior análise da peroxidação lipídica, total de tiol, carbonil e da enzima antioxidante catalase. Após o período de intervenção, de 6 semanas, foi realizada uma reavaliação desses parâmetros.

Coleta de sangue: A coleta de sangue foi realizada no laboratório de análises clínicas do HC/UFPE, mediante solicitação médica, e com consentimento dos pais ou responsáveis. Foram observadas as precauções universais para punção venosa, e realizada por profissionais habilitados. Foi coletada uma alíquota de sangue de 5 ml por punção venosa utilizando uma agulha e tubo para coleta por sistema de vácuo. O sangue foi armazenado em tubos devidamente identificados, contendo EDTA-k3 com aspirado preconizado de 3,0 a 4,5 ml de sangue. As amostras foram imediatamente transportadas em recipiente térmico atendendo as normas de segurança legais, até o laboratório do Laboratório de Imunopatologia Keiso Azami da UFPE (LIKA/UFPE) onde ficaram armazenadas até o processamento. Tais procedimentos foram realizados em 2 momentos: antes da suplementação e após 6 semanas de suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo.

Intervenção: A intervenção deste estudo foi feita com a suplementação com o óleo de linhaça marrom em cápsulas. Os pais ou responsáveis pelos pacientes foram orientados a administrar às crianças ou adolescentes 1 cápsula de óleo de linhaça marrom por dia, comercializadas no mercado, antes do almoço, contendo 1000mg de óleo, durante um período de 6 semanas. Não foram realizadas mudanças na dieta dos

pacientes. Cada cápsula contém aproximadamente 9kcal e 1g de lipídeos, sendo 0,5g de ácido graxo poli-insaturado n-3; 0,2g de ácido graxo poli-insaturado n-6 e 0,2g de ácido graxo monoinsaturado n-9. O produto foi doado pela pesquisadora para todos os pacientes e as cápsulas foram oriundas do mesmo lote a fim de padronizar o produto. As crianças e adolescentes do grupo placebo receberam cápsulas contendo 1g de glucose de milho, que apresentam a mesma cor e tamanho das que contem óleo de linhaça. Cada cápsula fornecia aproximadamente 3,2kcal e 0,8g de carboidrato.

Variáveis estudadas: As crianças e adolescentes foram avaliadas antes do início da suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo. Foram coletados idade, peso e altura para avaliação antropométrica e alíquotas de 5ml de sangue para posteriores avaliações da peroxidação lipídica, proteínas sulfidrilas, carbonil e da enzima antioxidante catalase. Ao término da suplementação, após 6 semanas, foi realizada uma reavaliação destes parâmetros.

Antropometria: Foram aferidos o peso (em quilogramas) e a estatura (em centímetros), conforme recomendado pela OMS, (2007)²¹ e convertidas pelo programa WHO Anthro versão 3.2.2 em índice de massa corporal (IMC), que é o produto da relação peso pela altura ao quadrado. Para avaliação do estado nutricional foi utilizado o IMC para idade (IMC/I) segundo sexo e comparando com as curvas da OMS, 2007²¹.

Avaliação das espécies reativas ao ácido Tiobarbiturico (TBARS): Para avaliação da peroxidação lipídica, utilizou-se a formação malondialdeído (MDA) que é reagente ao TBARS durante uma reação ácido-aquecida. Uma alíquota de 200 µL de sangue foi misturada com ácido tricloroacético 15% (400 µL), e centrifugadas por 10 minutos (4000 xg) e o sobrenadante foi misturado com igual volume de ácido tiobarbitúrico 0,67%. Este sistema foi aquecido em banho maria durante 15 minutos e o TBARS foi determinado por espectrometria com comprimento de onda de 535nm. A concentração de proteína foi avaliada pelo ensaio de Lowry e os resultados estão expressos como nmol de TBARS/mg de proteína (equivalentes de MDA).

Proteínas carboniladas: O dano oxidativo para a proteína foi medida pela determinação de grupos carbonil, com base numa reação com dinitrofenilhidrazina (DNPH). As proteínas foram precipitadas por adição de 20% de ácido tricloroacético e, em seguida, colocadas para reagir com DNPH. As amostras foram então redissolvidas

em cloridrato de guanidina 6 M e o conteúdo de carbonila foi determinado medindo a absorvância a 370 nm usando um coeficiente de absorção molar de 22.000 M⁻¹.

Grupos Sulfidrilas em proteínas: O teor de tiol total (grupos sulfidrílicos - SH) no sangue foi determinado utilizando o método 5,5-ditiobis (2-nitrobenzóico) (2-nitrobenzóico) (DTNB). Uma amostra de 30 microlitos (µl) foi adicionada a 1 mL de PBS/1mM EDTA (pH 7,5). A reação foi iniciada pela adição de 30 µl de solução padrão de DTNB 10 mM em PBS. As amostras tipo controle, que não incluem DTNB ou proteína, foram executadas simultaneamente. Após incubação durante 30 min à temperatura ambiente, a absorvância a 412 nm foi medida e as quantidades de TNB formadas (equivalente à quantidade de sulfidrílicos (SH) grupos) foram calculadas.

Avaliação da atividade enzimática da Catalase (CAT): Para determinar a atividade de CAT, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos. O sobrenadante foi utilizado para o ensaio enzimático. A atividade de CAT foi medida pela taxa de diminuição da absorvância de peróxido de hidrogênio a 240 nm e expressa como U/mg de proteína.

Sintomatologia: Foram questionados aos pacientes e seus responsáveis sobre a sintomatologia apresentada durante a crise de asma, tais como tosse, dispneia, placas e coceiras na pele, edema nos olhos, na boca e no corpo, dentre outros.

3.8 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo pacote estatístico GraphPad-Prism versão 6.0c para Mac OS X (GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, Estados Unidos) e os dados antropométricos pelo Software WHO Anthro versão 3.1. Os dados foram testados quanto à normalidade da distribuição pelo teste de Shapiro Wilk. A idade, peso, altura e IMC apresentaram normalidade e homogeneidade de variâncias e empregado o teste paramétrico “t” de Student para análise das características entre os grupos linhaça e placebo. Estes dados estão expressos em média e desvio padrão. Para análise da produção de TBRAS, carbonil, tiol total e catalase, entre os mesmos grupos, antes e após a suplementação, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn`s, pois não apresentaram-se normais. Os resultados estão expressos em média e erro padrão. A significância estatística foi considerada admitindo-se um nível crítico de 5% (p<0,05) em todos os casos.

Resultados:

No período do estudo foram atendidos 76 pacientes elegíveis para a pesquisa. Destes, um foi excluído por apresentar pneumopatia crônica, 8 não retornaram após o período de intervenção, um não ingeriu todas as cápsulas, dois não foram autorizados pelos pais ou responsáveis e um se recusou em participar. Nenhum foi internado durante a pesquisa e foram incluídos no estudo apenas os que referiram ingerir todas as cápsulas, resultando em uma amostra final de 63 pacientes, sendo 31 suplementados com o óleo de linhaça marrom e 32 do grupo placebo.

Na tabela 1 estão descritas as características demográfica e antropométrica da população estudada. Houve predomínio do sexo masculino (60,3%). Não foram encontradas diferenças entre os dados de idade, peso, altura e IMC entre os grupos, indicando uma homogeneidade entre os grupos.

Na figura 1 estão descritas a peroxidação lipídica, o carbonil, o total de tiol e a catalase das crianças e adolescentes asmáticas do tipo moderada, as quais foram suplementadas com óleo de linhaça marrom ou placebo.

Em relação à peroxidação lipídica, medida neste estudo pelo TBRAS, observa-se que houve uma redução ($p < 0,05$) no grupo linhaça de $0,205 \pm 0,013 \text{ nmol}$ para $0,076 \pm 0,005 \text{ nmol}$, diferentemente do grupo placebo que não foi encontrada alteração ($0,150 \pm 0,015 \text{ nmol}$ versus $0,130 \pm 0,004 \text{ nmol}$). Quanto ao carbonil, verificou-se diminuição ($p < 0,05$) nos pacientes suplementados com óleo de linhaça marrom ($37,36 \pm 5,9 \text{ nmol}$ versus $2,08 \pm 1,39 \text{ nmol}$), não sendo detectada diferença nos que receberam placebo ($34,31 \pm 2,97 \text{ nmol}$ versus $29,64 \pm 2,82 \text{ nmol}$).

Houve um aumento ($p < 0,05$) no total de tiol no grupo linhaça de $6,90 \pm 0,67 \text{ nmol}$ para $9,86 \pm 1,63 \text{ nmol}$, porém, esta alteração não foi encontrada nos pacientes suplementados com placebo (de $4,51 \pm 0,54 \text{ nmol}$ para $5,50 \pm 0,77 \text{ nmol}$). Não foram observadas diferenças na produção de catalase em ambos os grupos. No grupo linhaça, inicialmente a produção de catalase foi de $2,25 \pm 0,15 \text{ U/mg}$ e de $2,10 \pm 0,13 \text{ U/mg}$ ao término da suplementação. No grupo placebo os níveis de catalase iniciais foram de $2,26 \pm 0,12 \text{ U/mg}$ e de $2,21 \pm 0,09 \text{ U/mg}$ após a intervenção.

No grupo linhaça, vinte pacientes (64,5%) relataram redução das crises de asma brônquica, em contrapartida, no grupo placebo, apenas dois pacientes (6,0%) mencionaram melhora, referindo estarem mais saudáveis. Nenhum paciente relatou efeitos colaterais da suplementação.

Discussão

Estudos têm sido conduzidos com a suplementação de óleo de peixe em pacientes asmáticos, devido ao seu teor elevado de DHA e EPA, os quais são mediadores anti-inflamatórios^{15,16}. Porém, em decorrência do elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, o óleo de peixe está mais susceptível a oxidação, além de apresentar maior risco de contaminação por metais pesados e pesticidas e baixa aceitação pelo sabor e odor característicos. Ademais, apresentam variação em sua composição de ácido graxo, devido a vários fatores como: disponibilidade de alimentos, idade, sexo, temperatura da água, localização geográfica e estação do ano em que os peixes são obtidos^{18,19}.

Diferentemente do óleo de peixe, no óleo de linhaça há predomínio de ALA, o qual ainda precisa ser convertido por elongases e dessaturases em DHA e EPA, porém, o percentual da conversão em DHA, em seres humanos é desconhecido¹⁸. Todavia, as maiores funções relacionadas aos efeitos anti-inflamatórios estão associados ao EPA e seus níveis não são comprometidos²². Barcelo-Coblijn et al, (2008)¹⁹, verificaram que tanto o óleo de peixe quanto o de linhaça foram igualmente eficazes em aumentar a quantidade de EPA e DHA nos eritrócitos de indivíduos adultos.

Não foi encontrado, até o presente momento, nenhum estudo verificando os efeitos da suplementação com o óleo de linhaça sobre o estresse oxidativo em pacientes asmáticos. Nosso estudo foi iniciado com grupos de pacientes com características homogêneas, ou seja, clinicamente iguais, permitindo desta forma, que a análise pudesse ser realizada considerando os grupos como sendo oriundos de uma única população.

Não há consenso sobre qual o método mais útil, mais confiável, mais acurado, ou específico para avaliar os diferentes tipos de danos decorrente do estresse oxidativo²³. No presente estudo, os parâmetros avaliados foram a peroxidação lipídica (PL), oxidação de proteínas (OP), total de tiol e a mensuração da enzima catalase. Foi observada uma diminuição da PL e dos grupos carbonilas de proteínas e aumento no total de tiol, no grupo que recebeu suplementação com óleo de linhaça marrom, não sendo encontrado o mesmo no grupo placebo. A catalase não sofreu modificações em ambos os grupos. Poucos estudos avaliaram os efeitos do n-3 no estresse oxidativo em asmáticos. Zanatta et al., 2014²⁴ verificaram, em ratos, atenuação do estresse oxidativo após suplementação com óleo de peixe, observando reduções de nitrito e da PL.

O estresse oxidativo tem um importante papel na patogênese de muitas doenças inflamatórias, particularmente na asma²⁵. O superóxido (O₂⁻), um importante radical livre, é sintetizado continuamente por diversos processos celulares. Quando produzido em pequenas quantidades, ao entrar no interior das células é neutralizado pela enzima antioxidante superóxido dismutase, uma metaloenzima, que converte o radical superóxido em peróxido de hidrogênio (H₂O₂), um fraco agente oxidante. A espécie reativa de oxigênio, o H₂O₂, é, então, decomposta em água e oxigênio pela catalase^{5,6}. Uma falha nesse processo de defesa antioxidante poderá ocasionar peroxidação lipídica, proteica e lesão oxidativa no DNA²⁶.

A peroxidação lipídica pode ocorrer por via enzimática (cicloxigenases e peroxidases) e por via não-enzimática (auto-oxidação)²⁷. Neste estudo foi avaliada pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma. Os lipídios de membrana contendo ácidos graxos poli-insaturados (PUFAS) são instáveis e são os principais alvos de oxidação dos RLs¹. Estes produzem uma série de produtos de oxidação que incluem compostos carbonílicos reativos, como o malondialdeído (MDA), que ocorre por via enzimática²³. Atualmente, o MDA é considerado o melhor biomarcador de dano oxidativo no plasma e tem-se demonstrado que os níveis de MDA são elevados em estados inflamatórios²⁶.

A oxidação proteica foi avaliada pela presença de grupos carbonila em proteínas. Todos os aminoácidos são susceptíveis à oxidação, principalmente os aromáticos, que são os alvos preferidos de ataque dos RLs^{25,28}. Com o dano oxidativo ocorrem fragmentação das cadeias e oxidação direta de lisina, arginina, prolina e treonina com produção frequente de compostos carbonilados²⁵. O conteúdo carbonílico de proteínas é amplamente utilizado como marcador de dano oxidativo em proteínas, sob condições de estresse oxidativo²⁸.

Os grupamentos tiol estão presentes em proteínas, como a glutathiona, cisteína e homocisteína²⁹. O total de tióis no corpo, especialmente grupos de tiol sulfidrílica (-SH) presentes na proteína são consideradas como os maiores e mais frequentes antioxidantes do plasma. Na sua forma reduzida, encontram-se ativos, atuando como um eficaz agente de redução, eliminando RLs e mantendo outras proteínas no seu estado reduzido, impedindo sua oxidação, preservando a estrutura das proteínas³⁰. Todas as mudanças no estado redox de tióis no plasma e no citoplasma podem afetar significativamente a estrutura e função das proteínas entre elas as proteínas da membrana²⁹.

Todas estas modificações oxidativas causam mudanças nas propriedades físicas e químicas das membranas, alterando sua fluidez e permeabilidade, com

expansão do líquido intracelular e risco de ruptura das membranas da célula e das organelas, com conseqüente alteração da função normal ou morte celular^{5,7,25}.

Assim, como foi encontrada no presente estudo, redução na PL, na OP e aumento no grupamento de tióis nos pacientes que receberam suplementação com óleo de linhaça marrom, pode-se inferir que o óleo de linhaça marrom foi eficaz em reduzir os danos às células decorrente do estresse oxidativo da asma, mantendo sua estrutura e função.

Tais resultados podem ser relacionados aos efeitos antioxidantes do ômega 3 presente no óleo de linhaça. As células do sistema imunológico são susceptíveis a mudanças no perfil de ácidos graxos de suas membranas de acordo com a ingestão lipídica dietética¹⁴. O perfil lipídico das membranas das células imunes pode modular qual a via de eicosanóides será produzida influenciando assim, a resposta inflamatória das células¹¹.

O ácido graxo que se incorpora aos fosfolipídeos das membranas celulares em maior quantidade é o AA que é o precursor mais importante dos eicosanóides, tais como prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX) e leucotrienos (LT)^{1,22}. O AA atua como substrato para cicloxigenase (COX) 1 e 2 e 5-lipoxigenase (5-LOX). A COX-2 e 5-LOX são induzidas por estímulos inflamatórios como endotoxinas bacterianas, resultando em aumento exagerado da produção de PG e de TX da série 2, via COX-2, e de LT da série 4, via 5-LOX, as quais são inflamatórias¹.

Além de bactérias outros compostos podem ativar estas vias como o alérgeno, tais como ácaro, poluição, fumaça e perfumes, em pacientes asmáticos. A asma é caracterizada pela produção exagerada de eicosanóides derivados do AA, principalmente leucotrienos da série 4 que possuem atividade broncoconstrictora¹⁴. LT4 já foram detectados no sangue, no lavado broncoalveolar e na urina de asmáticos¹, por isso que pacientes asmáticos encontram-se frequentemente em estresse oxidativo.

O consumo dietético excessivo de n-6 em relação ao n-3 também estimula as enzimas COX-2 e 5-LOX, via AA, produzindo eicosanóides inflamatórios¹¹. A produção de AA a partir do n-6 é suprimida pelo ALA, EPA e DHA, pois as enzimas apresentam maior afinidade pelos ácidos graxos da família n-3, porém quando a proporção de n-6:n-3 estão adequadas^{1,14}. Em contrapartida, o EPA compete com o AA, estimulando a COX-1 que sinaliza a produção de mediadores com menor capacidade inflamatória, as PG3 e TX3 e a enzima 5-LOX, porém produzindo LT5, um leucotrieno anti-inflamatório¹. O EPA está relacionado, ainda, em diminuir a expressão do gene da COX-2¹.

Já foi verificado que a suplementação com óleo de peixe reduz as concentrações de AA nos neutrófilos, sua quimiotaxia, com consequente redução de RLs, como o superóxido¹⁴, de leucotrienos pró-inflamatórios (LT4) e melhora na função pulmonar¹⁶. Desta forma, o n-3, possui efeitos anti-inflamatórios, uma vez que reduz o teor de AA das membranas biológicas das células imunes e consequentemente a síntese de derivados desse ácido graxo, elevando a quantidade de EPA, reduzindo o potencial inflamatório dessas células, o que justifica nossos achados.

Neste estudo, a catalase foi mensurada pela medida do decaimento na concentração de H₂O₂ e da geração do oxigênio. Apesar do H₂O₂ não ter alto potencial oxidante, o mesmo pode reagir com metais de transição, principalmente o ferro, ligado ou não a grupamentos heme localizados dentro das células, dando origem ao radical hidroxila (OH), um poderoso oxidante, mil vezes mais potente^{7,25}. No presente estudo, não foram encontradas diferenças nesta mensuração em ambos os grupos após a intervenção. Possivelmente a produção de RLs foram reduzidos pelos efeitos antioxidantes do n-3, uma vez que reduz a produção de superóxido¹⁴, diminuindo, assim, a produção de H₂O₂ pela superóxido dismutase, não sendo necessário o aumento da produção da catalase, o que pode explicaria os achados da catalase no grupo linhaça.

Os efeitos antioxidantes do n-3 também foram verificados na sintomatologia apresentada pelos pacientes deste estudo. Cerca de dois terços do grupo que recebeu linhaça relataram melhoras das crises de asma. Por diminuir a resposta das células imunes frente à exposição à alérgenos, a função dos pulmões foi melhorada, reduzindo a severidade da asma. Resultados semelhantes foram encontrados por Nagakura et al, (2000)¹⁶, que verificaram redução da sintomatologia após a suplementação com 300mg (84mg de EPA e 36mg de DHA) de óleo de peixe em crianças asmáticas durante 10 meses em comparação ao grupo placebo que recebeu cápsulas contendo óleo de oliva.

Pacientes asmáticos que não consomem uma dieta balanceada em nutrientes antioxidantes, tais como, vitaminas A, C, E e minerais como cobre, zinco e selênio, e ainda com consumo excessivo de n-6 em relação ao n-3, estão mais propensos ao estresse oxidativo e seus danos subsequentes^{10,11}. Desta forma, acarreta piora das crises de asfixia, causando sofrimento pessoal e familiar, piora da qualidade de vida, custos com assistência a saúde, ausência dos pais ao trabalho e das crianças e adolescentes na escola e ainda leva ao sedentarismo dos pacientes por restrição da realização das atividades físicas².

Estes resultados mostram que a suplementação com óleo de linhaça marrom atuou como terapia coadjuvante na asma, por ter reduzido a atividade oxidante, medida pela diminuição da peroxidação lipídica e da oxidação de proteínas e por ter melhorado a defesa antioxidante, aferida pelo aumento do total de tiol de crianças e adolescentes com asma moderada, indicando atenuação do dano oxidativo. Assim, o consumo de n-3 na alimentação, ou na forma de suplementação deve ser incentivado, principalmente em pacientes asmáticos.

Este estudo tem importância do ponto de vista clínico, pois pôde contribuir na redução das crises de asma brônquica e da necessidade de medicamentos, o que pode reduzir potencialmente a carga de saúde pública desta doença e melhorar a qualidade de vida dos pacientes e de seus familiares e ainda poderá subsidiar dados para formulações de novas intervenções.

Por se tratar de um estudo de intervenção, alguns vieses podem ter ocorrido, principalmente pelo fato da suplementação não ter supervisão dos pesquisadores e depender da memória e responsabilidade dos pacientes e de seus responsáveis. Esta pesquisa enfatiza a importância de mais estudos envolvendo a suplementação com o óleo de linhaça em pacientes asmáticos, principalmente para elucidar a conversão do ALA, presente o óleo de linhaça, em EPA e DHA no organismo, e, ainda, para verificar os efeitos do óleo de linhaça na redução de radicais livres e em diferentes graus de severidade da asma.

Tabela 1 – Características demográficas e antropométricas das crianças e adolescentes asmáticas atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014

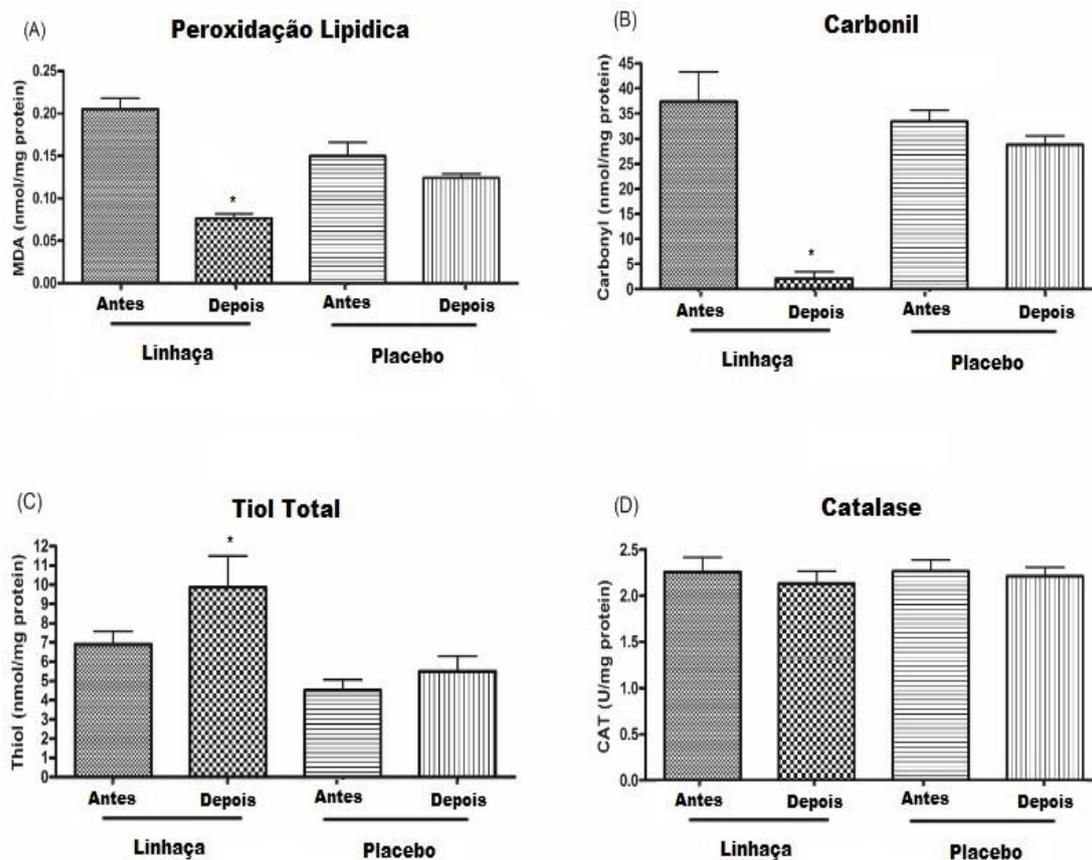
	Grupos de estudo		p#
	Grupo linhaça (n=31)	Grupo placebo (n=32)	
Idade (anos)	11,7±2,63	12,2±3,65	0,527
Peso inicial (kg)	46,04±12,05	43,5±14,17	0,455
Peso final (kg)	46,3±12	44,05±14,3	0,510
Altura (m)	1,49±0,12	1,48±0,16	0,616
IMC inicial (kg/m²)	20,27±3,92	19,3±3,47	0,308
IMC final (kg/m²)	20,38±3,9	19,55±3,5	0,375

Os resultados estão representados em média e desvio padrão (DP)

IMC = Índice de massa corporal

#teste t de Student

Figura 1 – Comparação da peroxidação lipídica (A), do carbonil (B), do tiol total (C) e da catalase (D) antes e após a suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo, de crianças e adolescentes asmáticas atendidas no ambulatório de alergia do hospital das clínicas de Pernambuco. Recife, 2013/2014



Os resultados estão representados em média e erro padrão (EP)

* $p < 0,05$, teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn`s.

Referências

1. Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014; 4(6): 1388-1981.
2. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma. *J Bras Pneumol*. 2012.
3. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. ISAAC Phase Three Study. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhino conjunctivitis, and eczema in childhood. ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet*. 2006; 368: 733–743.
4. Organização Mundial da Saúde [Internet]. R: Asthma; 2007 [cited 2014 March 15]. Available from: <http://www.who.int>
5. Talati M, Meyrick B, Peebles RS Jr, Davies SS, Dworski R, Mernaugh R et al. Oxidant stress modulates murine allergic airway responses. *Free Radical Biology and Medicine*. 2006; 40: 1210–1219.
6. Bosnjak B, Stelzmueller B, Erb KJ, Epstein MM. Treatment of allergic asthma: modulation of Th2 cells and their responses. *Respir Res*. 2011; 12: 114.
7. Fujisawa, T. Role of oxygen radicals on bronchial asthma. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy*. 2005; 4: 505–509.
8. Fernandes ALG, Faresin SM, Amorim MM, Fritscher CC, Pereira CA, Jardim JR. Inhaled budesonide for adults with mild-to-moderate asthma: a randomized placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Sao Paulo Med. J*. 2001; 5: 119.
9. Anandan C, Nurmatov U, van Schayck OC, Sheikh A. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. *Allergy*. 2010; 65(2): 152-67.

10. Mckeever TM, Britton J. Diet and asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004; 170: 725–729.
11. Mickleborough TD, Rundell KW. Dietary polyunsaturated fatty acids in asthma and exercise-induced bronchoconstriction. *Eur J Clin Nutr.* 2005; 59(12): 1335–46.
12. Horrobin DF. Low prevalences of coronary heart disease (CHD), psoriasis, asthma and rheumatoid arthritis in Eskimos: are they caused by high dietary intake of eicosapentaenoic acid (EPA), a genetic variation of essential fatty acid (EFA) metabolism or a combination of both? *Med Hypotheses.* 1987; 22: 421–428.
13. Yates CM, Calder PC, Rainger GE. Pharmacology and therapeutics of omega-3 polyunsaturated fatty acids in chronic inflammatory disease. *Pharmacology & Therapeutics.* 2014; 143(3) : 272-282.
14. Garcia MDM, Garcia CMA, Hernandez AG. Importancia de los lípidios en el tratamiento de las patologías de base inflamatoria. *Nutr. Hosp.* 2006; 21(2): 30-43.
15. Biltagi MA, Baset AA, Bassiouny M, Kasrawi1 MA, Attia M. Omega-3 fatty acids, vitamin C and Zn supplementation in asthmatic children: a randomized self-controlled study. *Acta Pædiatrica.* 2009; 98: 737–742.
16. Nagakura T, Matsuda S, Shichijyo K, Sugimoto H, Hata K. Dietary supplementation with fish oil rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in children with bronchial asthma. *Eur Respir J.* 2006; 16(5): 861-5.
17. Fürst P, Kuhn KS. Fish oil emulsions: what benefits can they bring? *Clin Nutr.* 2000; 19: 7-14.
18. Barceló-Coblijn G, Murphy EJ, Othman R, Moghadasian MH, Kashour T, Friel JK. Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell n-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing 2 sources of n-3 fatty acid. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88(3): 801-9.

19. Kew S, Banerjee T, Minihane AM, Finnegan YE, Muggli R, Albers R, et al. Lack of effect of foods enriched with plant or marine derived n-3 fatty acids on human immune function. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2003; 77(5): 1287-1295.
20. Kirkwood BR. Calculation of required sample size. In: *Essentials of medical statistics*. 2nd. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1998. 413-428.
21. Organização Mundial da Saúde. The WHO child growth standards. [cited 2014 Apr 16]. Available from: <http://www.who.int/childgrowth/en>.
22. Mickleborough TD, Tecklenburg SL, Montgomery GS, Lindley MR. Eicosapentaenoic acid is more effective than docosahexaenoic acid in inhibiting proinflammatory mediator production and transcription from LPS-induced human asthmatic alveolar macrophage cells. *Clin Nutr*. 2009; 28(1): 71-7.
23. França BK, Alves MRM, Souto FMS, Tiziane L, Boaventura RF, Guimarães A et al. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *J Port Gastreterol*. 2013; 94:1-8
24. Zanatta DTS, Miranda BCL, Dias RM, Campos MC, Massaro PV, Michelotto-Jr I, et al. Fish Oil Supplementation Decreases Oxidative Stress but Does Not Affect Platelet-Activating Factor Bioactivity in Lungs of Asthmatic Rats. *Lipids*. 2014; 49(7): 665-675.
25. Ciencewicki J, Trivedi S, Kleeberger SR. Oxidants and the pathogenesis of lung diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122: 456-70.
26. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: na emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 2003; 18(7) : 1272-1280.
27. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005; 15(4): 316-28.

28. Lushchak V, Semchyshyn H, Mandryk S, Lushchak O. Possible role of superoxide dismutases in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* under respiratory conditions. *Arch Biochem Biophys*. 2005; 441(1): 35-40.
29. Iciek M, Chwatko G, Lorenc-Koci E, Bald E, Wlodek L. Plasma levels of total, free and protein bound thiols as well as sulfane sulfur in different age groups of rats. *Acta Biochimica polonica*. 2004; 51(3): 815-824.
30. Himmelfarb J, McMonagle E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. *Kidney International*. 2001; 60(1): 358-363.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

7.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados indicam que as crianças e adolescentes portadores de asma moderada foram beneficiados com a suplementação de 1 grama de óleo de linhaça marrom por dia, já que apresentaram atenuação na produção dos mediadores inflamatórios e dos danos decorrentes do estresse oxidativo, os quais parecem ser os desencadeadores da fisiopatologia da doença, além de melhorar a defesa antioxidante.

Ademais, houve melhora das crises e dos sintomas relacionados à asma, como diminuição da dispneia, tosse e coceira, com consequente redução nas intervenções farmacológicas e melhora da qualidade de vida dos pacientes e de seus familiares. O que proporciona, entre outras coisas, atividades diárias mais produtivas, redução das faltas escolares e ao trabalho dos pais dos pacientes, dos gastos públicos e privados com saúde e da morbimortalidade da doença.

Assim, a suplementação com óleo de linhaça pode vir a ser uma importante terapêutica no manejo da asma e o consumo de alimentos fonte de ômega 3 ou a sua suplementação deve ser estimulado, particularmente em pacientes asmáticos. Esses dados fornecem, ainda, informações relevantes e servem de base para melhorar a abordagem médica e nutricional de crianças e adolescentes asmáticas e podem servir para futuras intervenções em diferentes gravidades da asma. Mais estudos são necessários para elucidar a conversão do ALA, presente o óleo de linhaça, em EPA e DHA no organismo, para verificar os efeitos do óleo de linhaça na redução de radicais livres, em diferentes graus de gravidade da asma, bem como em diferentes dosagens.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALBERTAZZI, P.; COUPLAND, K. Polyunsaturated fatty acids. Is there a role in postmenopausal osteoporosis prevention? **Maturitas**, v, 42, n. 1, p. 3-22, 2002.
- ALMEIDA, K. C. L.; BOAVENTURA, G. T.; GUZMAN-SILVA, M. A. A linhaça (*Linum usitatissimum*) como fonte de ácido α -linolênico na formação da bainha de mielina. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 22, n. 5, 2009.
- ANANDAN, C. et al. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. **Allergy**, n. 65, p. 152-67, 2010.
- ANTONIO M. A. G. M. et al. Avaliação do estado nutricional de crianças e adolescentes com asma. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 49, n. 4, p. 367-71, 2003.
- ANTOVA, T. et al. Nutrition and respiratory health in children in six Central and Eastern European countries. **Thorax**, v. 58, n. 3, p. 231-236, 2003.
- ARITA, Y. et al. Superoxide dismutase moderates basal and induced bacterial adherence and interleukin-8 expression in airway epithelial cells. **American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 287, n.6, p. 1199-206, 2004.
- ARTEAGA-SOLIS, E. et al. Inhibition of leptin regulation of parasympathetic signaling as a cause of extreme body weight-associated asthma. **Cell Metabolism**, v. 17, n.1, p. 35-48, 2013.
- ASHER, M. I. et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhino conjunctivitis, and eczema in childhood. ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. **Lancet**, v. 26, n. 368, p. 733-743, 2006.
- BALL, A. M.; SOLE, M. J. Oxidative stress and the pathogenesis of heart failure. **Cardiology Clinics**, v. 28, n.2, p. 506-14, 1998.
- BARCELÓ-COBLIJN, G. et al. Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell n-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing 2 sources of n-3 fatty acid. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 3, p. 801-9, 2008.

BARDEN, A. E. et al. Fish oil supplementation in pregnancy lowers F2-isoprostanes in neonates at high risk of atopy. **Free Radical Research**, v. 38, n. 3, p. 233-9, 2004.

BARNES, P. J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Nature Reviews Immunology**., v. 8, n.3, p. 183-92, 2008.

BARROS FILHO, A. A. Obesity: a puzzling disorder. **Jornal de Pediatria**, Rios de Janeiro, v.80, n.1, p.1-2, 2004.

BARROSO, A. K. M. et al. Linhaça marrom e dourada: propriedades químicas e funcionais das sementes e dos óleos prensados a frio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.1, p.181-187, 2014.

BATEMAN, E.D. et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. **European Respiratory Journal**, v. 31, n.1, p. 143–178, 2008.

BESEDOVSKY, H. O.; del REY, A. Regulating inflammation by glucocorticoids. **Nature Immunology**, v. 7, n.6, p.537, 2006.

BHATENA, S.J.; Velazquez, M.T. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, n.6, p.1191-201, 2002.

BILTAGI, M. A. et al. Omega-3 fatty acids, vitamin C and Zn supplementation in asthmatic children: a randomized self-controlled study. **Acta Paediatrica**, v. 98, n. 4, p. 737–742, 2009.

BLOEDON, L. T.; SZAPARY, P. O. Flaxseed and cardiovascular risk. **Nutrition Reviews**, v. 62, n. 1, p. 18–27, 2004.

BOSNJAK, B. et al. Treatment of allergic asthma: modulation of Th2 cells and their responses. **Respiratory Research**, v.12, n.114, p. 1-17, 2011.

BOUSQUET, J. et al. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 79, p. 971-979, 2005.

BOWLER, R. P.; CRAPO, J. D. Oxidative stress in airways. Is there a role for extracellular superoxide dismutase? **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 15, n. 166, p. 38-43, 2002.

BRANDT, C. T. et al. Níveis de superóxido dismutase produzidos por monócitos em portadores de esquistossomose hepatoesplênica submetidos a esplenectomia, ligadura da veia gástrica esquerda e auto-implante de tecido esplênico no omento maior. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias**, v. 34, n. 1, p. 25-30, 2007.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Ações Básicas. Estatísticas de saúde e mortalidade. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

BURDGE, G. C.; CALDER, P. C. Dietary α -linolenic acid and health-related outcomes: a combination on airway inflammation and hyperpnea-induced bronchoconstriction. **PLoS One**, v. 5, n.1, p. 134-87, 2010.

BURDGE, G. C.; WOOTTON, S. A. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. 4, p. 411-20, 2002.

CALDER, P. C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 4, n. 6, p. 1388-1981, 2014.

CAMILO, D. F. Obesidade e asma: associação ou coincidência? **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 1, p. 6-14, 2010.

CHANDRA, R. K. Nutrition and the immune system from birth to old age. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.56, suppl. 3, p. S73-S76, 2002.

CIENCEWICKI, J.; TRIVEDI, S.; KLEEBERGER, S. R. Oxidants and the pathogenesis of lung diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 122, n. 3, p. 456-468, 2008.

COCKCROFT, D. W.; DAVIS, B. E., Mechanisms of airway hyperresponsiveness, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, n. 3, v. 118, p. 551-559, 2006.

COSKUNER, Y.; Karababa, E. Some physical properties of flax seed (*Linum usitatissimum* L.). **Journal of food Engineering**, v.78, n.3, p.1067-73, 2007.

DDODIN, S. et al. Flaxseed on cardiovascular disease markers in healthy menopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Nutrition**, v.24, n.1, p.23-30, 2008.

- DE ANDRADE, L. B et al. Comparison of six-minute walk test in children with moderate/severe asthma with reference values for healthy children. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 3, p. 250-7, 2014.
- De LUIS, D. A. Dietary intake in patients with asthma: A case control study. **Nutrition**, v. 21, n. 3, p. 320-4, 2005.
- DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 15, n. 4, p. 316-28, 2005.
- DELCENSERIE, D.; MARTEL, M.; LAMOUREUX, J. A. et al. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. **Current Issues Molecular Biology**, v. 10, n. 1-2, p. 37-54, 2008.
- DEVEREUX, G.; SEATON, A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. **Journal Allergy Clinical Immunology**, v. 115, n. 6, p. 1109-17, 2005.
- DIXON A. E. et al. An official American Thoracic Society Workshop report: obesity and asthma. **Proceedings of the American Thoracic Society**, v.7, n.5, p. 325-35, 2010.
- DOZOR, A. J. The role of oxidative stress in the pathogenesis and treatment of asthma. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1203, p. 133–137, 2010.
- DUNSTAN, J et al. A. Fish oil supplementation in pregnancy modifies neonatal allergen-specific immune responses and clinical outcomes in infants at high risk of atopy: a randomized, controlled trial. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.112, n. 6, p. 1178-84, 2003.
- DUNSTAN, J. A. Maternal fish oil supplementation in pregnancy reduces interleukin-13 levels in cord blood of infants at high risk of atopy. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 33, n 4, p. 442-8, 2003.
- FANG, Y.Z.; YANG, S.; WU, G. Free Radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v. 18, n.10, p. 872-89, 2002.
- FARCHI, S. et al. Dietary factors associated with wheezing and allergic rhinitis in children. **European Respiratory Journal**, n. 22, v. 5, p. 772-80, 2003.

FENG, D.; Shen, Y.; Chavez, E.R. Effectiveness of different processing methods in reducing hydrogen cyanide content of flaxseed. **Journal Science of Food and Agriculture**, v.83, n.8, p.836-41, 2003.

FERNANDES, A. L. G. et al. Inhaled budesonide for adults with mild-to-moderate asthma: a randomized placebo-controlled, double-blind clinical trial. **Sao Paulo Medical Journal**, São Paulo, v. 119, n.5, 2001.

FIGLIORE, R. W. et al. Variação na prevalência de asma e atopia em um grupo de escolares de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Jornal de Pneumologia**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 237-42, 2001.

FITZGERALD JM. et al The GINA Asthma Challenge: reducing asthma hospitalisations. **European Respiratory Journal**. v. 38, n. 5, p. 997-8, 2011.

FRANÇA, B, K. et al. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **Jornal Português de Gastrenterologia**, v. 94, n. 1, p. 1-8, 2013

FUJISAWA, T. Role of oxygen radicals on bronchial asthma. **Current Drugs Targets Inflammation & Allergy**, v. 4, n. 4, p. 505–509, 2005.

FÜRST, P.; KUHN, K. S. Fish oil emulsions: what benefits can they bring? **Clinical Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 7-14, 2000.

GALVÃO, E. L. et al. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 551-557, 2008.

GARCIA, M. D. M.; GARCIA, C. M. A.; HERNANDEZ, A. G. Importancia de los lípidios en el tratamiento de las patologías de base inflamatoria. **Nutricion Hospitalaria**, v. 21, n. 2, p. 30-43, 2006.

GIL, A. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n.8, p. 388–396, 2002.

GORDON, S. The macrophage: past, present and future. **European Journal of Immunology**, v. 37, n. 1, p. 9-17, 2007.

HALL, C. I. Tulbek MC, Xu Y. Flaxseed. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 51, p. 1–97, 2006.

HAMMAD, H.; LAMBRECHT, B. N. Dendritic cells and airway epithelial cells at the interface between innate and adaptive immune responses. **Allergy**, v. 66, n.5, p. 579-587, 2011.

HIBBELN J.R. et al. Healthy intakes of n-3 and n-6 fatty acids: estimations considering worldwide diversity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 6, p. 1483–1493, 2006.

HIMMELFARB, J.; MCMONAGLE, E. Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia. **Kidney International**. v. 60, n. 1, p. 358–363, 2001.

HODGE, L. et al. Effects of dietary intake of omega-3 and omega-6 fatty acids on severity of asthma in children. **European Respiratory Journal**, v.11, n.1, p. 361-65, 1997.

HORNSTRA, G. Essential fatty acids in mothers and their neonates. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 5, p. 1262-9, 2000.

HORROBIN, D. F. Low prevalences of coronary heart disease (CHD), psoriasis, asthma and rheumatoid arthritis in Eskimos: are they caused by high dietary intake of eicosapentaenoic acid (EPA), a genetic variation of essential fatty acid (EFA) metabolism or a combination of both? **Medical Hypotheses**, v. 22, n. 4, p. 421–428, 1987.

ICIEK, M. et al. Plasma levels of total, free and protein bound thiols as well as sulfane sulfur in different age groups of rats. **Acta Biochimica Polonica**. v. 51, n. 3, p. 815-824, 2004.

JANG H. Y. et al. Effects of n-3 PUFA on the CD4+ type 2 helper T-cell-mediated immune responses in Fat-1 mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.58, n.2, p. 365–375, 2014.

KAUL N. et al. A comparison of fish oil, flaxseed oil and hempseed oil supplementation on selected parameters of cardiovascular health in healthy volunteers. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 51-58, 2008.

KEW, S. et al. Lack of effect of foods enriched with plant- or marine-derived n-3 fatty acids on human immune function. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 5, p. 1287-1295, 2003.

KIRKWOOD, B. R. Essencials of medical statistics. Oxford: Blackwell Csientific plublications, p. 413-428, 1998.

KLAUS-HELGE, I. B. S.; LOTHAR, R. I. N. K. Zinc-Altered Immune Function. **The Journal Clinical Nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1452S, 2003.

LACY, P. et al. Divergence of mechanisms regulating respiratory burst in blood and sputum eosinophils and neutrophils from atopic subjects. **Journal of Immunology**, v. 170, n. 5, p. 2670-2679, 2003.

LARCHE, M.; ROBINSON, D. S.; KAY, A. B. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology.**, v. 111, n.3, p. 450-463, 2003.

LEANDRO, C. G. et al. Mecanismos adaptativos do sistema imunológico em resposta ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n. 5, p. 343-348, 2007.

LEIGH, R. et al. Type 2 cytokines in the pathogenesis of sustained airway dysfunction and airway remodeling in mice. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 169, n. 7, p. 860-867, 2004.

LEITE, H. P.; SARNI, R. S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.18, n.2, p.60-65, 2003.

LIMA, F. A.; SAMPAIO, M. C. O papel do timo no desenvolvimento do sistema imune. **Pediatria**,v. 29, n. 1, p. 33-42, 2007.

LOCATELLI F. et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. **Nephrology Dialysis Transplant**, v. 18, n.7, p. 1272-1280, 2003.

LUSHCHAK, V. et al. Possible role of superoxide dismutases in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* under respiratory conditions. **Archives Biochemistry and Biophysics**, v. 441, n. 1, p. 35-40, 2005.

MARÇAL, L. E. et al. Superoxide release and cellular glutathione peroxidase activity in leukocytes from children with persistent asthma. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 11, p. 1607-1613, 2004.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MCCORD, J. M. The evolution of free radicals and oxidative stress. **America Journal of Medicine**, v. 108, n. 8, p. 652-9, 2000

MCKEEVER, T. M.; BRITTON, J. Diet and asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 170, n. 7, p.725–729, 2004.

MELO, J. F. et al. Efeito da desnutrição neonatal sobre o recrutamento celular e a atividade oxidante-antioxidante de macrófagos em ratos adultos endotoxêmicos. **Revista de Nutrição**, v.21, n.6, 2008.

METCALF, R. G. et al. Effects of fish-oil supplementation on myocardial fatty acids in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, n. 5, p. 1222–1228, 2007.

MICKLEBOROUGH TD. et al. Eicosapentaenoic acid is more effective than docosahexaenoic acid in inhibiting proinflammatory mediator production and transcription from LPS-induced human asthmatic alveolar macrophage cells. **Clinical Nutrition**, v.28, n. 1, p. 71-7, 2009.

MICKLEBOROUGH, T. D.; RUNDELL, K. W. Dietary polyunsaturated fatty acids in asthma- and exercise-induced bronchoconstriction. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, n. 12, p. 1335-46, 2005.

MOLENA- FERNANDES, C. A. et al. Avaliação dos efeitos da suplementação com farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) marrom e dourada sobre o perfil lipídico e a evolução ponderal em ratos Wistar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, n. 2, p. 201-207, 2010.

MONTESEIRIN, J. Respiratory burst in neutrophils from asthmatic patients. **Journal of Asthma**, v. 39, n.7, p. 619-624, 2003.

MUIR, A. D. Flax lignans-analytical methods and how they influence our understanding of biological activity. **Journal of AOAC International**, v. 89, n.4, p. 1147–57, 2006.

NAGAKURA, T. et al. Dietary supplementation with fish oil rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in children with bronchial asthma. **European Respiratory Journal**, v. 16, n. 5, p. 861-5, 2000.

NAGEL, G.; LINSEISEN, J. Dietary intake of fatty acids, antioxidants and selected food groups and asthma in adults. . **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 8-15, 2005.

National Research Council (NRC). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Washington (DC): National Academy Press; 2002.

NEFFEN, H. et al. Asthma control in Latin America: the Asthma Insights and Reality in Latin America (AIRLA) survey. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 17, n.3, p. 191-7, 2005.

NISHIOKA, H. et al. Immunocytochemical demonstration of the expression and induction of manganese-superoxide dismutase in the adenohypophysis. **The Histochemical Journal**, v.30, n.4, p.231-6, 1998.

OLSEN, S. F. et al., Fish oil intake compared with olive oil intake in late pregnancy and asthma in the offspring: 16 y of registry-based follow-up from a randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n.1, p. 167-75, 2008

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. [Internet]. R: Asthma; 2007 [cited 2014 March 15]. Available from: <http://www.who.int>

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Division of Child Health and Development. Indicators for assessing infant and young child feeding practices: conclusions of a consensus meeting held 6–8 November 2007. Washington, D. C., 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. The WHO child growth standards. [cited 2014 Apr 16]. Disponível em: <http://www.who.int/childgrowth/en>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. National Heart, Lung, and Blood Institute; National Institutes of Health; Global Initiative for Asthma Management and Prevention 2009 update. Bethesda: National Heart, Lung and Blood Institute, p. 1-112, 2009.

PARK BK. et al. Omega-3 fatty acids suppress Th2-associated cytokine gene expressions and GATA transcription factors in mast cells. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 5, p. 868-76, 2013.

PEAT, J. K. et al. Three-year outcomes of dietary fatty acid modification and house dust mite reduction in the Childhood Asthma Prevention Study. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 114, n. 4, p. 807-13, 2004.

PELLIZZON, M.A. et al. Flaxseed reduces plasma cholesterol levels in hypercholesterolemic mouse models. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.26, n.1, p.66-75, 2007.

PERINI, J. A. L. et al. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 6, p. 1075-1086, 2010.

QIU, X. Biosynthesis of docosahexaenoic acid (DHA, 22:6-4,7,10,13,16,19): two distinct pathways. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 68, n. 2, p. 181-6, 2003.

RAZI E.; MOOSAVI G. A. Relação dos níveis séricos de IgE total e das contagens de eosinófilos com a resposta ao tratamento em pacientes com asma aguda. Relação dos níveis séricos de IgE total e das contagens de eosinófilos com a resposta ao tratamento em pacientes com asma aguda. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 36, n. 1, p. 23-28, 2010.

REISMAN, J. et al. Treating asthma with omega-3 fatty acids: where is the evidence? A systematic review. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, p. 26, 2006.

SALDANHA C. T., AGEO M. C. S., CLOVIS B. Variações climáticas e uso de serviços de saúde em crianças asmáticas menores de cinco anos de idade: um estudo ecológico. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 31, n. 6, p.492-8, 2005.

SARTORELLI, C. F. et al. Avaliação da inflamação com base na liberação de radicais oxidantes por granulócitos na asma crônica não-controlada. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 2, p. 143-148, 2009.

SCHUBERT R, R. et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in asthma after low-dose allergen challenge. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 148, n. 4, p. 321–9, 2009.

SCHULENBURG, H.; KURZ, C. L.; EWBANK, J. J. Evolution of the innate immune system: the worm perspective. **Immunology Review**, v. 198, p. 36-58, 2004.

SENFTLEBEN, U. NF-kappa B in critical diseases: a bad guy? **Intensive Care Medicine**, v. 29, p. 873–1876, 2003.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. **Food Reviews International**, v. 20, n. 1, p. 77-90, 2004.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, n. 56, p. 365–379, 2002.

SINGAS, E.; KARPEL, J. P. Profile of ciclesonide for the maintenance treatment of asthma. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v.7, p. 351–358, 2011.

Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia para o Manejo da Asma. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.38, n.1, p. 1-46, 2012.

SOLÉ, D. et al. Prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and atopic eczema among Brazilian children and adolescents identified by the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). Phase 3. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 5, p. 341-6, 2006.

SUGIURA, H.; ICHINOSE, M. Oxidative and nitrate stress in bronchial asthma. **Antioxid & Redox Signaling**, v. 10, n.4, p. 785-97, 2008.

TABAK, C. et al. Diet and asthma in Dutch school children (ISAAC-2). **Thorax**, v. 61, n.12, p. 1048-1053, 2006.

TALATI, M. et al. Oxidant stress modulates murine allergic airway responses. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 40, p. 1210–1219, 2006.

TATLI, M. M.; VURAL, H.; KOC, A. Altered anti-oxidant status and increased lipid peroxidation in marasmic children. **Pediatrics International**, v. 42, p. 289-292, 2000.

TECKLENBURG-LUND, S. et al. Randomized controlled trial of fish oil and montelukast and their metabolic perspective, **Nutrition Research Reviews**, v. 5, n.10, p. 26–52, 2006.

TRICIA, M.; MCKEEVER, J. B. Diet and Asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 170, 2004.

TRUCOM, C. **A importância da linhaça na saúde**. São Paulo: Alaúde, 2006. 152p.

UAUY, R. Essential fatty acids in visual and brain development. **Lipids**, v. 36, n. 9, p. 885-95, 2001.

VAN-GENT R. et al. Excessive body weight is associated with additional loss of quality of life in children with asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 119, n. 3, p. 591–596, 2007.

WOODS, R. K.; THIEN, F. C.; ABRAMSON, M. J. Dietary marine fatty acids (fish oil) for asthma. **Cochrane Database Syst Rev.**, v. 3, 2000.

YAO, J. K.; REDDY, R. D.; VAN KAMMEN, D. P. Oxidative damage and schizophrenia: an overview of the evidence and its therapeutic implications. **CNS Drugs**, v. 15, n. 4, p. 287-310, 2001.

YATES C. M.; PHILIP C. C.; RAINGER G. E. Pharmacology and therapeutics of omega-3 polyunsaturated fatty acids in chronic inflammatory disease. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 141, n.3, p. 272–282, 2014

YEHUDA, S. et al. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. **Neurobiology of Aging**, v. 23, n. 5, p. 843-53, 2002.

YOUDIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 18, n. 4/5, p. 383-99, 2000.

ZANATTA, D. T. S. et al. Fish Oil Supplementation Decreases Oxidative Stress but Does Not Affect Platelet-Activating Factor Bioactivity in Lungs of Asthmatic Rats. **Lipids**, v. 49, n. 7, p. 665-675, 2014.

ZHENG, M.; STORZ, G. Redox sensing by prokaryotic transcription factors.
Biochemical Pharmacology, v. 59, n. 1, p. 1-6, 2000.

APÊNDICES

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

APÊNDICE B – Orientações para a administração da cápsula contendo óleo de linhaça marrom ou glucose de milho

APÊNDICE C – Formulário para coleta de dados da pesquisa

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Pesquisa: Efeitos antioxidantes da suplementação com óleo de linhaça marrom sobre parâmetros inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos.

Responsável: Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Laboratório de Microbiologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA)/UFPE – Rua Prof. Moraes Rego, S/N – Fones: (81) 2126-8484; e-mail: cmmbdec@hotmail.com

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Senhores pais ou responsáveis,

A asma é uma doença inflamatória crônica que causa dispneia, tosse e chiado. É ocasionada por uma elevada liberação de mediadores inflamatórios que podem ser reduzidos por nutrientes antiinflamatórios como o ácido graxo ômega 3 que está presente em grandes quantidades no óleo de linhaça. Apesar do tratamento farmacológico ser, geralmente, eficaz no tratamento da asma, os medicamentos utilizados muitas vezes apresentam efeitos colaterais significativos como aumento do peso, retardo do crescimento, candidíase oral e rouquidão. Assim, esta pesquisa tem por objetivo suplementar óleo de linhaça marrom em cápsulas, durante um período de 6 semanas em crianças e adolescentes com asma moderada. Essas informações estão sendo fornecidas para que você permita a participação voluntária de seu filho neste estudo.

Para a realização deste estudo, é necessária a realização de uma entrevista inicial para identificação do paciente, será necessária apenas a informação do nome da criança ou adolescente, a sua data de nascimento, o nome da mãe, o telefone e o seu endereço. Em seguida, realizaremos a pesagem e verificaremos sua altura para saber como está seu estado nutricional.

Será necessária também a realização de alguns exames através da coleta de sangue. Para a coleta de sangue, será retirada por profissionais treinados e qualificados

uma quantidade de 5 ml para a realização dos exames bioquímicos e imunológicos. Na próxima consulta você terá acesso aos resultados dos exames e caso seja encontrada alguma alteração, você receberá orientações médicas e nutricionais. Os exames não causam prejuízo à saúde da criança. Todos esses exames serão realizados no Serviço de Pediatria Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco para diminuir os riscos. Todo o custo dos exames será de responsabilidade da pesquisadora.

RISCOS E BENEFÍCIOS: Na coleta de sangue pode haver desconforto ou um pouco de dor na hora da coleta ou a presença de hematomas. Para que o paciente não tenha incômodo, a retirada do material será realizada com muito cuidado, por profissional preparado, para evitar sofrimento desnecessário.

Como benefícios deste estudo, os pacientes portadores de asma moderada podem ter suas crises de asma brônquica reduzidas, o que pode resultar em redução da quantidade ou da dose do medicamento utilizado por estes pacientes, melhorando a qualidade de vida dessas crianças e adolescentes.

Declaro que tenho conhecimento dos direitos e das condições que me foram garantidas, assim como dos riscos e benefícios relacionados abaixo:

1. Autorizei a participação da criança ou do adolescente na pesquisa sem que recebesse nenhuma pressão dos que participaram do projeto.
2. A criança ou adolescente continuará sendo atendida e dispondo de toda a atenção devida neste Hospital, independente da minha participação na pesquisa.
3. Será necessária a retirada de uma alíquota de material sanguíneo, através da qual serão realizadas dosagens no laboratório da UFPE.
4. Tenho conhecimento de que os dados obtidos nesta pesquisa serão mantidos confidencialmente e que terei acesso as pesquisadoras para qualquer esclarecimento.
5. Poderei retirar a criança a qualquer momento da pesquisa caso não me sinta satisfeito (a), sem que isso venha a prejudicar o atendimento da criança ou adolescente no ambulatório.
6. Sei que as despesas para o estudo são de responsabilidade apenas dos pesquisadores.

Li e entendi as informações descrevendo este estudo e todas as minhas dúvidas em relação ao estudo e a participação minha e do meu filho _____ foram respondidas.

Concordo com todas as condições e dou livremente o consentimento para a participação minha e do meu filho no estudo.

Recife, ____ de _____ de 2013.

Nome do representante legal: _____

Assinatura do representante legal: _____ Data: __/__/__

Nome da testemunha: _____

Assinatura da testemunha: _____ Data: __/__/__

Nome da testemunha: _____

Assinatura da testemunha: _____ Data: __/__/__

APÊNDICE B - Orientações para a administração da cápsula contendo óleo de linhaça marrom ou glucose de milho

1. Ingerir 1 cápsula por dia **ANTES** do almoço com qualquer líquido que prefira, de preferência com água.
2. O consumo das cápsulas deve ser feito durante 6 semanas, ou seja, do dia: _____ até o dia: _____
3. Voltar para a consulta no Ambulatório de Alergologia (Asma) do Hospital das Clínicas (HC), a tarde, no dia: _____. Não precisa marcar.
4. Caso você esqueça de tomar a cápsula antes do almoço, pode tomar durante ou logo após o almoço ou antes do jantar. Não fique sem tomar a cápsula. Tome todos os dias!!!! Porém, caso você esqueça-se de tomar 1 dia, no outro faça a ingestão de 2 cápsulas no dia seguinte, 1 antes do almoço e outra antes do jantar.
5. Se algum dia você esquecer-se de tomar a cápsula anote o dia abaixo:

APÊNDICE C - Formulário para coleta de dados da pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

AMBULATÓRIO DE ALERGOLOGIA E IMUNOLOGIA

Pesquisa: Efeitos antioxidantes da suplementação com óleo de linhaça marrom sobre parâmetros inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos.

Pesquisadora: Érika Michelle Correia de Macêdo

1. Criança nº _____
 2. Nome da criança: _____
 3. Registro nº _____
 4. Sexo: [1] masculino [2] feminino
 5. Data de nascimento: ___/___/___ idade: _____
 6. Data da 1ª consulta: ___/___/___ Data da 2ª consulta: ___/___/___
- Nome da mãe _____ (Fone: _____)
- Endereço: _____
- Ponto de Referência: _____ Linha de ônibus: _____

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL	
Antes da suplementação	Após da suplementação:
Peso:	Peso:
Estatura:	Estatura:
Escore Z P/I:	Escore Z P/I:
Escore Z A/I:	Escore Z A/I:
Escore Z IMC/I:	Escore Z IMC/I:
Presença de edema: sim () não ()	Presença de edema: sim () não ()

Sintomatologia antes da suplementação

Quais os sintomas que você apresenta relacionada a crise asmática?

Tosse: sim () não ()

Dispnéia: sim () não ()

Placas na pele: sim () não ()

Coceiras na pele: sim () não ()

Inchaços nos olhos: sim () não ()

Inchaços na boca: sim () não ()

Inchaços no corpo: sim () não ()

Outros: _____

Questões a cerca da administração das cápsulas

Quantos dias você ou sua criança tomou as cápsulas? _____

Quantas vezes por dia você ou sua criança ingeriu as cápsulas? _____

Em que horário as cápsulas foram ingeridas? _____

Teve algum dia que a cápsula foi esquecida de ser ingerida?
_____ Quantas vezes? _____

Sintomatologia após a suplementação

Houve alguma melhora dos sintomas apresentados na crise de asma após a suplementação? sim () não () Quais? _____

Houve algum efeito colateral da suplementação? sim () não () Quais? _____

Exames

Exames	Antes da suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo	Após da suplementação com óleo de linhaça marrom ou placebo
IgE total		
Eosinófilos		
TBARS		
Carbonil		
Proteínas sulfidrilas		
Catalase		

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação do comitê de ética em pesquisa

ANEXO B – Documentação de encaminhamento do artigo 1 ao periódico

ANEXO C – Documentação de encaminhamento do artigo 2 ao periódico

ANEXO D – Normas para publicação do Jornal de Pediatria

ANEXO E – Normas para publicação da Revista de Nutrição

ANEXO A – Aprovação do comitê de ética em pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM ÓLEO DE LINHAÇA E CARACTERIZAÇÃO DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO E ÀSMA

Pesquisador: REBECCA PEIXOTO PAES SILVA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 12055713.9.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 220.336

Data da Relatoria: 22/03/2013

Apresentação do Projeto:

Indicado na relatoria inicial.

Objetivo da Pesquisa:

Indicado na relatoria inicial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Indicado na relatoria inicial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Indicado na relatoria inicial.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Indicado na relatoria inicial.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

ANEXO B – Documentação de encaminhamento do artigo 1 ao periódico

Jornal de **Pediatria** Contact us Help ? 'My EES Hub' available for consolidated users ... [more](#)

home | main menu | submit paper | guide for authors | register | change details | log out Username: enikamichellec@yahoo.com.br Switch To: Author Go to: [My EES Hub](#) Version: [EES 2014](#)

Submissions Being Processed for Author Érika Michelle Correia de Macêdo

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
View Submission Send E-mail	JPED-D-14-00477	Suplementação com óleo de linhaça reduz mediadores inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos: Ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado.	Nov 18, 2014	Nov 19, 2014	With Editor

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

Dear Prof. Érika Michelle Correia de Macêdo,

We have received your article "Suplementação com óleo de linhaça marrom reduz mediadores inflamatórios de crianças e adolescentes asmáticos" for consideration for publication in *Jornal de Pediatria*.

Your manuscript will be given a reference number once an editor has been assigned. To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <http://ees.elsevier.com/jped/>
2. Log in as an Author
3. Click [Submissions Being Processed]
4. Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,
Elsevier Editorial System *Jornal de Pediatria*.

Please note that the editorial process varies considerably from journal to journal. For more information about the submission-to-publication lifecycle, click here: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/p/7923/a_id/160

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

ANEXO C – Documentação de encaminhamento do artigo 2 ao periódico

Revista de Nutrição



PÁGINA INICIAL SOBRE PÁGINA DO USUÁRIO

Página inicial > Usuário > Autor > **Submissões Ativas**

Submissões Ativas

ATIVO		ARQUIVO			
ID	MM-DD ENVIADO	SEÇÃO	AUTORES	TÍTULO	SITUAÇÃO
RN-1631	11-18	NC	MACEDO, Lima, Galvão, Castro	<u>SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE LINHAÇA REDUZ O DANO...</u>	Aguardando designação

1 a 1 de 1 itens

Iniciar nova submissão
[CLIQUE AQUI](#) para iniciar os cinco passos do processo de submissão.

USUÁRIO
 Logado como:
erikamcm
 Meus periódicos
 Perfil
 Sair do sistema

AUTOR
 Submissões
 Ativo (1)
 Arquivo (0)
 Nova submissão

IDIOMA
 Português (Brasil) ▼

Núcleo de Editoração - SBI
 Av. John Boyd Dunlop, s/n., Prédio de Odontologia, Jd. Ipaussurama, 13060-904, Campinas, SP, Brasil.
Fones: (55 19) 3343-6859 Fone/Fax: (55 19) 3343-6875
E-mail: sbi.submissionrn@puc-campinas.edu.br

Prezado(a) Professoro(a) Dr(a) Érika Michelle Correia de MACEDO,

Agradecemos a submissão do seu manuscrito "Suplementação com óleo de linhaça marrom reduz o dano oxidativo em crianças e adolescentes com asma moderada." para Revista de Nutrição. Para toda correspondência futura relativa a este trabalho, por favor, refira-se ao número gerado pelo sistema SciELO.

Tão logo quanto possível, V.Sa será notificado(a) a respeito do processo para consideração de eventuais sugestões dos revisores ou sobre a aprovação ou rejeição do trabalho.

Maria Cristina Matoso

Revista de Nutrição

<http://submission.scielo.br/index.php/nutr>

ANEXO D – Normas para publicação do Jornal de Pediatria

O Jornal de Pediatria é a publicação científica da Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP), com circulação regular desde 1934. Todo o conteúdo do Jornal de Pediatria está disponível em português e inglês no site <http://www.jped.com.br>, que é de livre acesso. O Jornal de Pediatria é indexado pelo Index Medicus/MEDLINE (<http://www.pubmed.gov>), SciELO (<http://www.scielo.org>), LILACS (<http://www.bireme.br/abd/P/lilacs.htm>), EMBASE/Excerpta Medica (<http://www.embase.com>), Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC) Data Bases (<http://www.siicsalud.com>), Medical Research Index (<http://www.purplehealth.com/medical-research-index.htm>) e University Microfilms International.

O Jornal de Pediatria publica resultados de investigação clínica em pediatria e, excepcionalmente, de investigação científica básica. Aceita-se a submissão de artigos em português e inglês. Na versão impressa da revista, os artigos são publicados em inglês. No site, todos os artigos são publicados em português e inglês, tanto em HTML quanto em PDF. A grafia adotada é a do inglês americano. Por isso, recomenda-se que os autores utilizem a língua com a qual se sintam mais confortáveis e confiantes de que se comunicam com mais clareza. Se um determinado artigo foi escrito originalmente em português, não deve ser submetido em inglês, a não ser que se trate de uma tradução com qualidade profissional.

Observação importante: A língua oficial de publicação do Jornal de Pediatria é o inglês e todo o site de submissão é apresentado exclusivamente em inglês.

Processo de revisão (Peer review)

Todo o conteúdo publicado pelo Jornal de Pediatria passa por processo de revisão por especialistas (peer review). Cada artigo submetido para apreciação é encaminhado aos editores, que fazem uma revisão inicial quanto aos padrões mínimos de exigência do Jornal de Pediatria e ao atendimento de todas as normas requeridas para envio dos originais. A seguir, remetem o artigo a dois revisores especialistas na área pertinente, selecionados de um cadastro de revisores. Os revisores são sempre de instituições diferentes da instituição de origem do artigo e são cegos quanto à identidade dos autores e ao local de origem do trabalho. Após receber ambos os pareceres, o Conselho Editorial os avalia e decide pela aceitação do artigo sem modificações, pela recusa ou pela devolução aos autores com as sugestões de modificações. Conforme a necessidade, um determinado artigo pode retornar várias vezes aos autores para esclarecimentos e, a qualquer momento, pode ter sua recusa determinada. Cada versão é sempre analisada pelo Conselho Editorial, que detém o poder da decisão final.

Tipos de artigos publicados

O Jornal de Pediatria aceita a submissão espontânea de artigos originais, artigos especiais e cartas ao editor.

Artigos originais incluem estudos controlados e randomizados, estudos de testes diagnósticos e de triagem e outros estudos descritivos e de intervenção, bem como pesquisa básica com animais de laboratório. O texto deve ter no máximo 3.000 palavras, excluindo tabelas e referências; o número de referências não deve exceder 30. O número total de tabelas e figuras não pode ser maior do que quatro. Artigos que relatam ensaios

clínicos com intervenção terapêutica (clinical trials) devem ser registrados em um dos Registros de Ensaio Clínico listados pela Organização Mundial da Saúde e pelo International Committee of Medical Journal Editors. Na ausência de um registro latino-americano, o Jornal de Pediatria sugere que os autores utilizem o registro www.clinicaltrials.gov, dos National Institutes of Health (NIH). O número de identificação deve ser apresentado ao final do resumo.

Artigos especiais são textos não classificáveis nas demais categorias, que o Conselho Editorial julgue de especial relevância. Sua revisão admite critérios próprios, não havendo limite de tamanho ou exigências prévias quanto à bibliografia.

Cartas ao editor devem comentar, discutir ou criticar artigos publicados no Jornal de Pediatria. O tamanho máximo é de 1.000 palavras, incluindo no máximo seis referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto com a carta. São publicados, mediante convite, editoriais, comentários e artigos de revisão. Autores não convidados podem também submeter ao Conselho Editorial uma proposta para publicação de artigos dessas classificações.

Editoriais e comentários, que geralmente se referem a artigos selecionados, são encomendados a autoridades em áreas específicas. O Conselho Editorial também analisa propostas de comentários submetidas espontaneamente.

Artigos de revisão são avaliações críticas e ordenadas da literatura em relação a temas de importância clínica, com ênfase em fatores como causas e prevenção de doenças, seu diagnóstico, tratamento e prognóstico – em geral são escritos, mediante convite, por profissionais de reconhecida experiência. Meta-análises são incluídas nesta categoria. Autores não convidados podem também submeter ao Conselho Editorial uma proposta de artigo de revisão, com um roteiro. Se aprovado, o autor pode desenvolver o roteiro e submetê-lo para publicação. Artigos de revisão devem limitar-se a 6.000 palavras, excluindo referências e tabelas. As referências bibliográficas devem ser atuais e em número mínimo de 30.

Orientações gerais

O arquivo original – incluindo tabelas, ilustrações e referências bibliográficas – deve estar em conformidade com os “Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas”, publicado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>). Cada seção deve ser iniciada em nova página, na seguinte ordem: página de rosto, resumo em português, resumo em inglês, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e notas de rodapé, em página separada), figuras (cada figura completa, com título e notas de rodapé, em página separada) e legendas das figuras. A seguir, as principais orientações sobre cada seção:

Página de rosto

A página de rosto deve conter todas as seguintes informações:

- a) título do artigo, conciso e informativo, evitando termos supérfluos e abreviaturas; evitar também a indicação do local e da cidade onde o estudo foi realizado;
- b) título abreviado (para constar no topo das páginas), com máximo de 50 caracteres, contando os espaços;

- c) nome de cada um dos autores (primeiro nome e o último sobrenome; todos os demais nomes aparecem como iniciais);
- d) apenas a titulação mais importante de cada autor;
- e) endereço eletrônico de cada autor;
- f) informar se cada um dos autores possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPq;
- g) a contribuição específica de cada autor para o estudo;
- h) declaração de conflito de interesse (escrever “nada a declarar” ou a revelação clara de quaisquer interesses econômicos ou de outra natureza que poderiam causar constrangimento se conhecidos depois da publicação do artigo);
- i) definição de instituição ou serviço oficial ao qual o trabalho está vinculado para fins de registro no banco de dados do Index Medicus/MEDLINE;
- j) nome, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico do autor responsável pela correspondência;
- k) nome, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico do autor responsável pelos contatos pré-publicação;
- l) fonte financiadora ou fornecedora de equipamento e materiais, quando for o caso;
- m) contagem total das palavras do texto, excluindo resumo, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas e legendas das figuras;
- n) contagem total das palavras do resumo;
- o) número de tabelas e figuras.

Resumo

O resumo deve ter no máximo 250 palavras ou 1.400 caracteres, evitando o uso de abreviaturas. Não se devem colocar no resumo palavras que identifiquem a instituição ou cidade onde foi feito o artigo, para facilitar a revisão cega. Todas as informações que aparecem no resumo devem aparecer também no artigo. O resumo deve ser estruturado conforme descrito a seguir:

Resumo de artigo original

Objetivo: informar por que o estudo foi iniciado e quais foram as hipóteses iniciais, se houve alguma. Definir precisamente qual foi o objetivo principal e informar somente os objetivos secundários mais relevantes.

Métodos: informar sobre o delineamento do estudo (definir, se pertinente, se o estudo é randomizado, cego, prospectivo, etc.), o contexto ou local (definir, se pertinente, o nível de

atendimento, se primário, secundário ou terciário, clínica privada, institucional, etc.), os pacientes ou participantes (definir critérios de seleção, número de casos no início e fim do estudo, etc.), as intervenções (descrever as características essenciais, incluindo métodos e duração) e os critérios de mensuração do desfecho.

Resultados: informar os principais dados, intervalos de confiança e significância estatística dos achados.

Conclusões: apresentar apenas aquelas apoiadas pelos dados do estudo e que contemplem os objetivos, bem como sua aplicação prática, dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares.

Resumo de artigo de revisão

Objetivo: informar por que a revisão da literatura foi feita, indicando se enfatiza algum fator em especial, como causa, prevenção, diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

Fontes dos dados: descrever as fontes da pesquisa, definindo as bases de dados e os anos pesquisados. Informar sucintamente os critérios de seleção de artigos e os métodos de extração e avaliação da qualidade das informações.

Síntese dos dados: informar os principais resultados da pesquisa, sejam quantitativos ou qualitativos.

Conclusões: apresentar as conclusões e suas aplicações clínicas, limitando generalizações ao escopo do assunto em revisão.

Após o resumo, inclua de três a seis palavras-chave que serão usadas para indexação. Utilize termos do Medical Subject Headings (MeSH), disponíveis em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>. Quando não estiverem disponíveis descritores adequados, é possível utilizar termos novos.

Abreviaturas

Devem ser evitadas, pois prejudicam a leitura confortável do texto. Quando usadas, devem ser definidas ao serem mencionadas pela primeira vez. Jamais devem aparecer no título e nos resumos.

Texto

O texto dos artigos originais deve conter as seguintes seções, cada uma com seu respectivo subtítulo:

a) Introdução: sucinta, citando apenas referências estritamente pertinentes para mostrar a importância do tema e justificar o trabalho. Ao final da introdução, os objetivos do estudo devem ser claramente descritos.

b) Métodos: descrever a população estudada, a amostra e os critérios de seleção; definir claramente as variáveis e detalhar a análise estatística; incluir referências padronizadas sobre os métodos estatísticos e informação de eventuais programas de computação. Procedimentos, produtos e equipamentos utilizados devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a reprodução do estudo. É obrigatória a inclusão de declaração de que todos os procedimentos tenham sido aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da instituição a que se vinculam os autores ou, na falta deste, por outro comitê de ética em pesquisa indicado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde.

c) Resultados: devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica. As informações contidas em tabelas ou figuras não devem ser repetidas no texto. Usar gráficos em vez de tabelas com um número muito grande de dados.

d) Discussão: deve interpretar os resultados e compará-los com os dados já descritos na literatura, enfatizando os aspectos novos e importantes do estudo. Discutir as implicações dos achados e suas limitações, bem como a necessidade de pesquisas adicionais. As conclusões devem ser apresentadas no final da discussão, levando em consideração os objetivos do trabalho. Relacionar as conclusões aos objetivos iniciais do estudo, evitando assertivas não

apoiadas pelos achados e dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares. Incluir recomendações, quando pertinentes.

O texto de **artigos de revisão** não obedece a um esquema rígido de seções. Sugere-se uma introdução breve, em que os autores explicam qual a importância da revisão para a prática pediátrica, à luz da literatura médica. Não é necessário descrever os métodos de seleção e extração dos dados, passando logo para a sua síntese, que,

entretanto, deve apresentar todas as informações pertinentes em detalhe. A seção de conclusões deve correlacionar as ideias principais da revisão com as possíveis aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

Agradecimentos

Devem ser breves e objetivos, somente a pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria. Integrantes da lista de agradecimento devem dar sua autorização por escrito para a divulgação de seus nomes, uma vez que os leitores podem supor seu endosso às conclusões do estudo.

Referências bibliográficas

As referências devem ser formatadas no estilo Vancouver, também conhecido como o estilo Uniform Requirements, que é baseado em um dos estilos do American National Standards Institute, adaptado pela U.S. National Library of Medicine (NLM) para suas bases de dados. Os autores devem consultar Citing Medicine, The NLM Style Guide for Authors, Editors, and Publishers (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed>) para informações sobre os formatos recomendados para uma variedade de tipos de referências. Podem também consultar o site “sample references” (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html), que contém uma lista de exemplos extraídos ou baseados em Citing Medicine, para uso geral facilitado; essas amostras de referências são mantidas pela NLM.

As referências bibliográficas devem ser numeradas e ordenadas segundo a ordem de aparecimento no texto, no qual devem ser identificadas pelos algarismos arábicos respectivos sobrescritos. Para listar as referências, não utilize o recurso de notas de fim ou notas de rodapé do Word. Artigos aceitos para publicação, mas ainda não publicados, podem ser citados desde que indicando a revista e que estão “no prelo”. Observações não publicadas e comunicações pessoais não podem ser citadas como referências; se for imprescindível a inclusão de informações dessa natureza no artigo, elas devem ser seguidas pela observação “observação não publicada” ou “comunicação pessoal” entre parênteses no corpo do artigo.

Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme recomenda o Index Medicus; uma lista com suas respectivas abreviaturas pode ser obtida através da publicação da NLM “List of Serials Indexed for Online Users”, disponível no endereço <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html>. Para informações mais detalhadas, consulte os “Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas”. Este documento está disponível em <http://www.icmje.org/>.

Abaixo, apresentamos alguns exemplos do modelo adotado pelo Jornal de Pediatria:

Artigos em periódicos:

1. Até seis autores:

Araújo LA, Silva LR, Mendes FA. Digestive tract neural control and gastrointestinal disorders in cerebral palsy. J Pediatr (Rio J). 2012;88:455-64.

2. Mais de seis autores:

Ribeiro MA, Silva MT, Ribeiro JD, Moreira MM, Almeida CC, Almeida-Junior AA, et al. Volumetric capnography as a tool to detect early peripheral lung obstruction in cystic fibrosis patients. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;88:509-17.

3. *Organização como autor:*

Mercier CE, Dunn MS, Ferrelli KR, Howard DB, Soll RF; Vermont Oxford Network ELBW Infant Follow-Up Study Group. Neurodevelopmental outcome of extremely low birth weight infants from the Vermont Oxford network: 1998-2003. *Neonatology*. 2010;97:329-38.

4. *Sem autor:*

Informed consent, parental permission, and assent in pediatric practice. Committee on Bioethics, American Academy of Pediatrics. *Pediatrics*. 1995;95:314-7.

5. *Artigos com publicação eletrônica ainda sem publicação impressa:*

Carvalho CG, Ribeiro MR, Bonilha MM, Fernandes Jr M, Procionoy RS, Silveira RC. Use of off-label and unlicensed drugs in the neonatal intensive care unit and its association with severity scores. *J Pediatr (Rio J)*. 2012 Oct 30. [Epub ahead of print]

Livros:

Blumer JL, Reed MD. Principles of neonatal pharmacology. In: Yaffe SJ, Aranda JV, eds. *Neonatal and Pediatric Pharmacology*. 3rd ed. Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins; 2005. p. 146-58.

Trabalhos acadêmicos:

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant, MI: Central Michigan University; 2002.

CD-ROM:

Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

Homepage/website:

R Development Core Team [Internet]. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2003 [cited 2011 Oct 21]. Available from: <http://www.R-project.org>

Documentos do Ministério da Saúde:

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. *Atenção à saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde: cuidados gerais*. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. v. 1. 192p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

Apresentação de trabalho:

Bugni VM, Okamoto KY, Ozaki LS, Teles FM, Molina J, Bueno VC, et al. Development of a questionnaire for early detection of factors associated to the adherence to treatment of children and adolescents with chronic rheumatic diseases - "the Pediatric Rheumatology Adherence Questionnaire (PRAQ)". Paper presented at the ACR/ARHP Annual Meeting; November 5-9, 2011; Chicago, IL.

Tabelas

Cada tabela deve ser apresentada em folha separada, numerada na ordem de aparecimento no texto, e conter um título sucinto, porém explicativo. Todas as explicações devem ser apresentadas em notas de rodapé e não no título, identificadas com letras sobrescritas em ordem alfabética. Não sublinhar ou desenhar linhas dentro das tabelas e não usar espaços para separar colunas. Não usar espaço em qualquer lado do símbolo \pm .

Figuras (fotografias, desenhos, gráficos, etc.)

Todas as figuras devem ser numeradas na ordem de aparecimento no texto. Todas as explicações devem ser apresentadas nas legendas, inclusive acerca das abreviaturas utilizadas.

Figuras reproduzidas de outras fontes já publicadas devem indicar esta condição na legenda, assim como devem ser acompanhadas por uma carta de permissão do detentor dos direitos. Fotos não devem permitir a identificação do paciente; tarjas cobrindo os olhos podem não constituir proteção adequada. Caso exista a possibilidade de identificação, é obrigatória a inclusão de documento escrito fornecendo consentimento livre e esclarecido para a publicação. Microfotografias devem apresentar escalas internas e setas que contrastem com o fundo.

As ilustrações são aceitas em cores para publicação no site. Contudo, todas as figuras serão vertidas para o preto e branco na versão impressa. Caso os autores julguem essencial que uma determinada imagem seja colorida mesmo na versão impressa, solicita-se um contato especial com os editores. Imagens geradas em computador, como gráficos, devem ser anexadas sob a forma de arquivos nos formatos .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi, para possibilitar uma impressão nítida; na versão eletrônica, a resolução será ajustada para 72 dpi. Gráficos devem ser apresentados somente em duas dimensões, em qualquer circunstância. Desenhos, fotografias ou quaisquer ilustrações que tenham sido digitalizadas por escaneamento podem não apresentar grau de resolução adequado para a versão impressa da revista; assim, é preferível que sejam enviadas em versão impressa original (qualidade profissional, a nanquim ou impressora com resolução gráfica superior a 300 dpi). Nesses casos, no verso de cada figura deve ser colada uma etiqueta com o seu número, o nome do primeiro autor e uma seta indicando o lado para cima.

Legendas das figuras

Devem ser apresentadas em página própria, devidamente identificadas com os respectivos números.

Lista de verificação

Como parte do processo de submissão, os autores são solicitados a indicar sua concordância com todos os itens abaixo; a submissão pode ser devolvida aos autores que não aderirem a estas diretrizes.

1. Todos os autores concordam plenamente com a Nota de Copyright.
2. O arquivo de submissão foi salvo como um documento do Microsoft Word.
3. A página de rosto contém todas as informações requeridas, conforme especificado nas diretrizes aos autores.
4. O resumo e as palavras-chave estão na língua de submissão (inglês ou português), seguindo a página de rosto.
5. O texto é todo apresentado em espaço duplo, utiliza fonte tamanho 12 e itálico em vez de sublinhado para indicar ênfase (exceto em endereços da internet). Todas as tabelas, figuras e

legendas estão numeradas na ordem em que aparecem no texto e foram colocadas cada uma em página separada, seguindo as referências, no fim do arquivo.

6. O texto segue as exigências de estilo e bibliografia descritas nas normas de publicação.

7. As referências estão apresentadas no chamado estilo de Vancouver e numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto.

8. Informações acerca da aprovação do estudo por um conselho de ética em pesquisa são claramente apresentadas no texto, na seção de métodos.

9. Todos os endereços da internet apresentados no texto (p.ex., <http://www.sbp.com.br>) estão ativos e prontos para serem clicados.

ANEXO E – Normas para publicação do Revista de Nutrição



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ISSN 1415-5273 versão
ISSN 1678-9865 versão on-line

impresa

Escopo e política

A **Revista de Nutrição** é um periódico especializado que publica artigos que contribuem para o estudo da Nutrição em suas diversas subáreas e interfaces. Com periodicidade bimestral, está aberta a contribuições da comunidade científica nacional e internacional.

Os manuscritos podem ser rejeitados sem comentários detalhados após análise inicial, por pelo menos dois editores da **Revista de Nutrição**, se os artigos forem considerados inadequados ou de prioridade científica insuficiente para publicação na Revista.

Categoria dos artigos

A Revista aceita artigos inéditos em português, espanhol ou inglês, com título, resumo e termos de indexação no idioma original e em inglês, nas seguintes categorias:

Original: contribuições destinadas à divulgação de resultados de pesquisas inéditas, tendo em vista a relevância do tema, o alcance e o conhecimento gerado para a área da pesquisa (limite máximo de 5 mil palavras).

Especial: artigos a convite sobre temas atuais (limite máximo de 6 mil palavras).

Revisão (a convite): síntese de conhecimentos disponíveis sobre determinado tema, mediante análise e interpretação de bibliografia pertinente, de modo a conter uma análise crítica e comparativa dos trabalhos na área, que discuta os limites e alcances metodológicos, permitindo indicar perspectivas de

continuidade de estudos naquela linha de pesquisa (limite máximo de 6 mil palavras). Serão publicados até dois trabalhos por fascículo.

Comunicação: relato de informações sobre temas relevantes, apoiado em pesquisas recentes, cujo mote seja subsidiar o trabalho de profissionais que atuam na área, servindo de apresentação ou atualização sobre o tema (limite máximo de 4 mil palavras).

Nota Científica: dados inéditos parciais de uma pesquisa em andamento (limite máximo de 4 mil palavras).

Ensaio: trabalhos que possam trazer reflexão e discussão de assunto que gere questionamentos e hipóteses para futuras pesquisas (limite máximo de 5 mil palavras).

Seção Temática (a convite): seção destinada à publicação de 2 a 3 artigos coordenados entre si, de diferentes autores, e versando sobre tema de interesse atual (máximo de 10 mil palavras no total).

Categoria e a área temática do artigo: Os autores devem indicar a categoria do artigo e a área temática, a saber: alimentação e ciências sociais, avaliação nutricional, bioquímica nutricional, dietética, educação nutricional, epidemiologia e estatística, micronutrientes, nutrição clínica, nutrição experimental, nutrição e geriatria, nutrição materno-infantil, nutrição em produção de refeições, políticas de alimentação e nutrição e saúde coletiva.

Pesquisas envolvendo seres vivos

Resultados de pesquisas relacionadas a seres humanos e animais devem ser acompanhados de cópia de aprovação do parecer de um Comitê de Ética em pesquisa.

Registros de Ensaio Clínicos

Artigos com resultados de pesquisas clínicas devem apresentar um número de identificação em um dos Registros de Ensaio Clínicos validados pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE. O número de identificação

deverá ser registrado ao final do resumo.

Os autores devem indicar três possíveis revisores para o manuscrito. Opcionalmente, podem indicar três revisores para os quais não gostaria que seu trabalho fosse enviado.

Procedimentos editoriais

Autoria

A indicação dos nomes dos autores logo abaixo do título do artigo é limitada a 6. O crédito de autoria deverá ser baseado em contribuições substanciais, tais como concepção e desenho, ou análise e interpretação dos dados. Não se justifica a inclusão de nomes de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios acima.

Os manuscritos devem conter, na página de identificação, explicitamente, a contribuição de cada um dos autores.

Processo de julgamento dos manuscritos

Todos os outros manuscritos só iniciarão o processo de tramitação se estiverem de acordo com as Instruções aos Autores. Caso contrário, **serão devolvidos para adequação às normas**, inclusão de carta ou de outros documentos eventualmente necessários.

Recomenda-se fortemente que o(s) autor(es) busque(m) assessoria linguística profissional (revisores e/ou tradutores certificados em língua portuguesa e inglesa) antes de submeter(em) originais que possam conter incorreções e/ou inadequações morfológicas, sintáticas, idiomáticas ou de estilo. Devem ainda evitar o uso da primeira pessoa "meu estudo...", ou da primeira pessoa do plural "percebemos...", pois em texto científico o discurso deve ser impessoal, sem juízo de valor e na terceira pessoa do singular.

Originais identificados com incorreções e/ou inadequações morfológicas ou sintáticas **serão devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação** quanto ao mérito do trabalho e à conveniência de sua publicação.

Pré-análise: a avaliação é feita pelos Editores Científicos com base na originalidade, pertinência, qualidade acadêmica e relevância do manuscrito para a nutrição.

Aprovados nesta fase, os manuscritos serão encaminhados aos revisores *ad hoc* selecionados pelos editores. Cada manuscrito será enviado para dois revisores de reconhecida competência na temática abordada, podendo um deles ser escolhido a partir da indicação dos autores. Em caso de desacordo, o original será enviado para uma terceira avaliação.

Todo processo de avaliação dos manuscritos terminará na segunda e última versão.

O processo de avaliação por pares é o sistema de *blind review*, procedimento sigiloso quanto à identidade tanto dos autores quanto dos revisores. Por isso os autores deverão empregar todos os meios possíveis para evitar a identificação de autoria do manuscrito.

Os pareceres dos revisores comportam três possibilidades: a) aprovação; b) recomendação de nova análise; c) recusa. Em quaisquer desses casos, o autor será comunicado.

Os pareceres são analisados pelos editores associados, que propõem ao Editor Científico a aprovação ou não do manuscrito.

Manuscritos recusados, mas com possibilidade de reformulação, poderão retornar como novo trabalho, iniciando outro processo de julgamento.

Conflito de interesse

No caso da identificação de conflito de interesse da parte dos revisores, o Comitê Editorial encaminhará o manuscrito a outro revisor *ad hoc*.

Manuscritos aceitos: manuscritos aceitos poderão retornar aos autores para aprovação de eventuais alterações, no processo de editoração e normalização, de acordo com o estilo da Revista.

Provas: serão enviadas provas tipográficas aos autores para a correção de erros de impressão. As provas devem retornar ao Núcleo de Editoração na data estipulada. Outras mudanças no manuscrito original não serão aceitas nesta fase.

Preparo do manuscrito

Submissão de trabalhos

Serão aceitos trabalhos acompanhados de carta assinada por todos os autores, com descrição do tipo de trabalho e da área temática, declaração de que o trabalho está sendo submetido apenas à Revista de Nutrição e de concordância com a cessão de direitos autorais e uma carta sobre a principal contribuição do estudo para a área.

Caso haja utilização de figuras ou tabelas publicadas em outras fontes, deve-se anexar documento que ateste a permissão para seu uso.

Enviar os manuscritos via site <<http://www.scielo.br/rn>>, preparados em espaço entrelinhas 1,5, com fonte Arial 11. O arquivo deverá ser gravado em editor de texto similar ou superior à versão 97-2003 do Word (Windows).

É fundamental que o escopo do artigo **não contenha qualquer forma de identificação da autoria**, o que inclui referência a trabalhos anteriores do(s) autor(es), da instituição de origem, por exemplo.

O texto deverá contemplar o número de palavras de acordo com a categoria do artigo. As folhas deverão ter numeração personalizada desde a folha de rosto (que deverá apresentar o número 1). O papel deverá ser de tamanho A4, com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).

Os artigos devem ter, aproximadamente, 30 referências, exceto no caso de artigos de revisão, que podem apresentar em torno de 50. Sempre que uma referência possuir o número de *Digital Object Identifier* (DOI), este deve ser informado.

Versão reformulada: a versão reformulada deverá ser encaminhada via <<http://www.scielo.br/rn>>. **O(s) autor(es) deverá(ão) enviar apenas a última versão do trabalho.**

O texto do artigo deverá empregar fonte colorida (cor azul) ou sublinhar, para todas as alterações, juntamente com uma carta ao editor, reiterando o interesse em publicar nesta Revista e informando quais alterações foram processadas no manuscrito, na versão reformulada. Se houver discordância quanto às recomendações dos revisores, o(s) autor(es) deverão apresentar os argumentos que justificam sua posição. O título e o código do manuscrito deverão ser especificados.

Página de rosto deve conter

a) título completo - deve ser conciso, evitando excesso de palavras, como "avaliação do....", "considerações acerca de..." 'estudo exploratório...";

b) *short title* com até 40 caracteres (incluindo espaços), em português (ou espanhol) e inglês;

c) nome de todos os autores por extenso, indicando a filiação institucional de cada um. Será aceita uma única titulação e filiação por autor. O(s) autor(es) deverá(ão), portanto, escolher, entre suas titulações e filiações institucionais, aquela que julgar(em) a mais importante.

d) Todos os dados da titulação e da filiação deverão ser apresentados por extenso, sem siglas.

e) Indicação dos endereços completos de todas as universidades às quais estão vinculados os autores;

f) Indicação de endereço para correspondência com o autor para a tramitação do original, incluindo fax, telefone e endereço eletrônico;

Observação: esta deverá ser a única parte do texto com a identificação dos autores.

Resumo: todos os artigos submetidos em português ou espanhol deverão ter resumo no idioma original e em inglês, com um mínimo de 150 palavras e máximo de 250 palavras.

Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português, além do *abstract* em inglês.

Para os artigos originais, os resumos devem ser estruturados destacando objetivos, métodos básicos adotados, informação sobre o local, população e amostragem da pesquisa, resultados e conclusões mais relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicando formas de continuidade do estudo.

Para as demais categorias, o formato dos resumos deve ser o narrativo, mas com as mesmas informações.

O texto não deve conter citações e abreviaturas. Destacar no mínimo três e no máximo seis termos de indexação, utilizando os descritores em Ciência da Saúde - DeCS - da Bireme <<http://decs.bvs.br>>.

Texto: com exceção dos manuscritos apresentados como Revisão, Comunicação, Nota Científica e Ensaio, os trabalhos deverão seguir a

estrutura formal para trabalhos científicos:

Introdução: deve conter revisão da literatura atualizada e pertinente ao tema, adequada à apresentação do problema, e que destaque sua relevância. Não deve ser extensa, a não ser em manuscritos submetidos como Artigo de Revisão.

Métodos: deve conter descrição clara e sucinta do método empregado, acompanhada da correspondente citação bibliográfica, incluindo: procedimentos adotados; universo e amostra; instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação; tratamento estatístico.

Em relação à análise estatística, os autores devem demonstrar que os procedimentos utilizados foram não somente apropriados para testar as hipóteses do estudo, mas também corretamente interpretados. Os níveis de significância estatística (ex. $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) devem ser mencionados.

Informar que a pesquisa foi aprovada por Comitê de Ética credenciado junto ao Conselho Nacional de Saúde e fornecer o número do processo.

Ao relatar experimentos com animais, indicar se as diretrizes de conselhos de pesquisa institucionais ou nacionais - ou se qualquer lei nacional relativa aos cuidados e ao uso de animais de laboratório - foram seguidas.

Resultados: sempre que possível, os resultados devem ser apresentados em tabelas ou figuras, elaboradas de forma a serem auto-explicativas e com análise estatística. Evitar repetir dados no texto.

Tabelas, quadros e figuras devem ser limitados a cinco no conjunto e numerados consecutiva e independentemente com algarismos arábicos, de acordo com a ordem de menção dos dados, e devem vir em folhas individuais e separadas, com indicação de sua localização no texto. **É imprescindível a informação do local e ano do estudo.** A cada um se deve atribuir um título breve. Os quadros e tabelas terão as bordas laterais abertas.

O(s) autor(es) se responsabiliza(m) pela qualidade das figuras (desenhos, ilustrações, tabelas, quadros e gráficos), que deverão ser elaboradas em tamanhos de uma ou duas colunas (7 e 15cm, respectivamente); **não é permitido o formato paisagem.** Figuras digitalizadas deverão ter extensão jpeg e resolução mínima de 400 dpi.

Gráficos e desenhos deverão ser gerados em programas de desenho vetorial (*Microsoft Excel, CorelDraw, Adobe Illustrator* etc.), acompanhados de seus parâmetros quantitativos, em forma de tabela e com nome de todas as variáveis.

A publicação de imagens coloridas, após avaliação da viabilidade técnica de sua reprodução, será custeada pelo(s) autor(es). Em caso de manifestação de interesse por parte do(s) autor(es), a Revista de Nutrição providenciará um orçamento dos custos envolvidos, que poderão variar de acordo com o número de imagens, sua distribuição em páginas diferentes e a publicação concomitante de material em cores por parte de outro(s) autor(es).

Uma vez apresentado ao(s) autor(es) o orçamento dos custos correspondentes ao material de seu interesse, este(s) deverá(ão) efetuar depósito bancário. As informações para o depósito serão fornecidas oportunamente.

Discussão: deve explorar, adequada e objetivamente, os resultados, discutidos à luz de outras observações já registradas na literatura.

Conclusão: apresentar as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho, e indicar formas de continuidade do estudo. **Não serão aceitas citações bibliográficas nesta seção.**

Agradecimentos: podem ser registrados agradecimentos, em parágrafo não superior a três linhas, dirigidos a instituições ou indivíduos que prestaram efetiva colaboração para o trabalho.

Anexos: deverão ser incluídos apenas quando imprescindíveis à compreensão do texto. Caberá aos editores julgar a necessidade de sua publicação.

Abreviaturas e siglas: deverão ser utilizadas de forma padronizada, restringindo-se apenas àquelas usadas convencionalmente ou sancionadas pelo uso, acompanhadas do significado, por extenso, quando da primeira citação no texto. Não devem ser usadas no título e no resumo.

Referências de acordo com o estilo *Vancouver*

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, seguindo a ordem em que foram mencionadas pela primeira vez no texto, conforme o estilo *Vancouver*.

Nas referências com dois até o limite de seis autores, citam-se todos os autores; acima de seis autores, citam-se os seis primeiros autores, seguido de *et al.*

As abreviaturas dos títulos dos periódicos citados deverão estar de acordo com o *Index Medicus*.

Não serão aceitas citações/referências de **monografias** de conclusão de curso de graduação, de **trabalhos** de Congressos,

Simpósios, *Workshops*, Encontros, entre outros, e de **textos não publicados** (aulas, entre outros).

Se um trabalho não publicado, de autoria de um dos autores do manuscrito, for citado (ou seja, um artigo *in press*), será necessário incluir a carta de aceitação da revista que publicará o referido artigo.

Se dados não publicados obtidos por outros pesquisadores forem citados pelo manuscrito, será necessário incluir uma carta de autorização, do uso dos mesmos por seus autores.

Citações bibliográficas no texto: deverão ser expostas em ordem numérica, em algarismos arábicos, meia linha acima e após a citação, e devem constar da lista de referências. Se forem dois autores, citam-se ambos ligados pelo "&"; se forem mais de dois, cita-se o primeiro autor, seguido da expressão *et al.*

A exatidão e a adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo são de responsabilidade do autor. Todos os autores cujos trabalhos forem citados no texto deverão ser listados na seção de Referências.

Exemplos

Artigo com mais de seis autores

Oliveira JS, Lira PIC, Veras ICL, Maia SR, Lemos MCC, Andrade SLL, *et al.* Estado nutricional e insegurança alimentar de adolescentes e adultos em duas localidades de baixo índice de desenvolvimento humano. *Rev Nutr.* 2009; 22(4): 453-66. doi: 10.1590/S1415-52732009000400002.

Artigo com um autor

Burlandy L. A construção da política de segurança alimentar e nutricional no Brasil: estratégias e desafios para a promoção da intersectorialidade no âmbito federal de governo. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2009; 14(3):851-60. doi: 10.1590/S1413-81232009000300020.

Artigo em suporte eletrônico

Sichieri R, Moura EC. Análise multinível das variações no índice de massa corporal entre adultos, Brasil, 2006. *Rev Saúde Pública* [Internet]. 2009 [acesso 2009 dez 18]; 43(Suppl.2):90-7. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102009000900012&lng=pt&nrm=iso>. doi: 10.1590/S0034-89102009000900012.

Livro

Alberts B, Lewis J, Raff MC. Biologia molecular da célula. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2010.

Livro em suporte eletrônico

Brasil. Alimentação saudável para pessoa idosa: um manual para o profissional da saúde [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2009 [acesso 2010 jan 13]. Disponível em: <http://200.18.252.57/services/e-books/alimentacao_saudavel_idosa_profissionais_saude.pdf>.

Capítulos de livros

Aciolly E. Banco de leite. In: Aciolly E. Nutrição em obstetrícia e pediatria. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009. Unidade 4.

Capítulo de livro em suporte eletrônico

Emergency contraceptive pills (ECPs). In: World Health Organization. Medical eligibility criteria for contraceptive use [Internet]. 4th ed. Geneva: WHO; 2009 [cited 2010 Jan 14]. Available from: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563888_eng.pdf>.

Dissertações e teses

Duran ACFL. Qualidade da dieta de adultos vivendo com HIV/AIDS e seus fatores associados [mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.

Texto em formato eletrônico

Sociedade Brasileira de Nutrição Parental e Enteral [Internet]. Assuntos de interesse do farmacêutico atuante na terapia nutricional. 2008/2009 [acesso 2010 jan 14]. Disponível em: <<http://www.sbnpe.com.br/ctdpg.php?pg=13&ct=A>>.

Programa de computador

Software de avaliação nutricional. DietWin Professional [programa de computador]. Versão 2008. Porto Alegre: Brubins Comércio de Alimentos e Supergelados; 2008. Para outros exemplos recomendamos consultar as normas do Committee of Medical Journals Editors (Grupo Vancouver) <<http://www.icmje.org>>.

Para outros exemplos recomendamos consultar as normas do Committee of Medical Journals Editors (Grupo Vancouver) <<http://www.icmje.org>>.

Lista de checagem

- Declaração de responsabilidade e transferência de direitos autorais assinada por cada autor.
- Verificar se o texto, incluindo resumos, tabelas e referências, está reproduzido com letras fonte Arial, corpo 11 e entrelinhas 1,5 e com formatação de margens superior e inferior (no mínimo 2,5cm), esquerda e direita (no mínimo 3cm).
- Indicação da categoria e área temática do artigo.
- Verificar se estão completas as informações de legendas das figuras e tabelas.
- Preparar página de rosto com as informações solicitadas.
- Incluir o nome de agências financiadoras e o número do processo.
- Indicar se o artigo é baseado em tese/dissertação, colocando o título, o nome da instituição, o ano de defesa.
- Incluir título do manuscrito, em português e em inglês.
- Incluir título abreviado (short title), com 40 caracteres, para fins de legenda em todas as páginas.
- Incluir resumos estruturados para trabalhos submetidos na categoria de originais e narrativos para manuscritos submetidos nas demais categorias, com um mínimo de 150 palavras e máximo de 250 palavras nos dois idiomas, português e inglês, ou em espanhol, nos casos em que se aplique, com termos de indexação.
- Verificar se as referências estão normalizadas segundo estilo Vancouver, ordenadas na ordem em que foram mencionadas pela primeira vez no texto, e se todas estão citadas no texto.
- Incluir permissão de editores para reprodução de figuras ou tabelas publicadas.
- Cópia do parecer do Comitê de Ética em pesquisa.

Revista de Nutrição

**Núcleo de Editoração SBI - Campus II - Av. John Boyd Dunlop, s/n. - Prédio de Odontologia
Jd. Ipaussurama - 13059-900 - Campinas - SP
Tel./Fax: +55 19 3343-6875**



sbi.submissionrn@puc-campinas.edu.br