

TICYANA MORALES DA SILVA

**DEPRESSÃO NA DOENÇA DE PARKINSON: POSSIBILIDADES
TERAPÊUTICAS DOS ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS
DA FAMÍLIA ÔMEGA-3**

CURITIBA

2007

TICYANA MORALES DA SILVA

**DEPRESSÃO NA DOENÇA DE PARKINSON: POSSIBILIDADES
TERAPÊUTICAS DOS ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS
DA FAMÍLIA ÔMEGA-3**

Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre em
Biologia Celular e Molecular, Setor de Ciências
Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^ª. Dr.^ª Anete Curte Ferraz
Co-orientador: Prof^º Dr^º Roberto Andreatini

CURITIBA

2007

Ao meu mestre Paramahansa Yogananda, pela inspiração.

Aos pacientes da APPP pois em um momento de grande dificuldade pessoal, foram capazes de doar-se em benefício da ciência e de um futuro melhor para os que virão.

Aos meus pais Terezinha e Waldemar da Silva pelo aprendizado da superação e persistência.

Ao André pelo amor e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

A todos que participaram, de forma tão generosa, como sujeitos desta pesquisa.

À Prof^ª. Dr^ª. Anete Curte Ferraz pela orientação científica e por ter aberto as portas de seu laboratório para realização deste trabalho, dividido comigo a paixão pela causa e por ter me incentivado a continuar nos momentos de dificuldades.

À Fundação Herbarium de Pesquisa e Saúde pela gentileza na doação das cápsulas de óleo de peixe.

Ao Prof. Dr. Roberto Andreatini pelo apoio e colaboração com seu amplo conhecimento.

Ao Dr. Cristiano Alvarez pela dedicação, profissionalismo e atenção nas triagens psiquiátricas.

Ao Dr. Renato Puppi Munhoz pelas avaliações dos pacientes e por sua contribuição neste trabalho.

À Sr. Terezinha Mariano pela gentileza em realizar a coleta de sangue dos pacientes com tanto carinho e dedicação

À APPP – Associação Paranaense de Portadores de Parkinsonismo por ter permitido, apoiado e fornecido o espaço físico necessário e seus associados para a realização deste trabalho.

Ao Sr. Jorge Magno Lima pela dedicação como Presidente da APPP por tantos anos, e que tanto me inspira não só neste trabalho mas na vida.

À Elisa Barichello Grolli por sua amizade e apoio dentro da APPP.

À Dirce e Zilda da APPP pela colaboração nos agendamentos dos pacientes.

À Edilene da APPP pela atenção aos pacientes durante a coleta de dados todos os Sábados.

Aos funcionários e colegas da APPP pelo constante incentivo e compreensão.

À Kátia Naliwaiko por sua eterna disponibilidade em me auxiliar, por sua amizade nos momentos de dificuldades e por sua imprescindível ajuda na análise lipídica por HPLC.

À Profa. Dra. Carolina Arruda de Oliveira Freire e ao Prof. Dr. Luis Cláudio Fernandes pela contribuição através de seus equipamentos de laboratório.

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

À minha família pela paciência e incentivo.

*“Cantar canções que ninguém cantou,
Conceber pensamentos que nenhum
cérebro pensou,
Andar por caminhos nunca antes
palmilhados,
Chorar lágrimas por Deus que ninguém
jamais chorou,
Levar a todos a paz que ninguém jamais
levou,
Abraçar os que são pelos outros
desprezados,
Amar a todos com um amor por ninguém
jamais sentido,
E enfrentar a batalha da vida com vigor
incontido.”*

Paramahansa Yogananda

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	12
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
<i>INTRODUÇÃO.....</i>	<i>15</i>
21 ÁCIDOS GRAXOS.....	15
2. ÁCIDOS GRAXOS E SISTEMA NERVOSO.....	19
3. ÁCIDOS GRAXOS E DEPRESSÃO.....	27
21 DEPRESSÃO E DOENÇA DE PARKINSON.....	30
OBJETIVOS.....	37
MATERIAL E MÉTODOS.....	38
1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL EM HUMANOS.....	38
2. GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	39
3. EXPERIMENTO DUPLO-CEGO.....	40
4. FLUXO GERAL DA PESQUISA.....	40
5. ESCALA PARA AVALIAÇÃO DA DEPRESSÃO DE MONTGOMERY-ASBERG – MADRS.....	45
6. INVENTÁRIO DE DEPRESSÃO DE BECK C- BDI.....	45
7. ESCALA DE IMPRESSÃO CLÍNICA GLOBAL – CGI.....	46
8. ESCALA AUTO AVALIATIVA.....	46
9. ESCALA UNIFICADA DE AVALIAÇÃO PARA A DOENÇA DE PARKINSON – UPDRS E HOEHN YAHR.....	46
10. COLETA DE SANGUE.....	47
11. PERFIL LIPÍDICO.....	47
12. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
RESULTADOS	51
Escala de Depressão BECK.....	51
Escala BECK nos pacientes suplementados com óleo de peixe – Grupo W3.....	53
Escala BECK nos pacientes suplementados com óleo de peixe e uso concomitante de antidepressivo – Grupo W3 AD.....	54
Escala BECK nos pacientes suplementados com óleo Mineral – Grupo PLACEBO.....	55
Escala BECK nos pacientes suplementados com óleo Mineral e uso concomitante de antidepressivo – Grupo PLACEBO AD.....	56
Escala Inventário de Impressão Clínica Global – CGI.....	57
Escala CGI nos pacientes suplementados com óleo de peixe – Grupo W3.....	59
Escala CGI nos pacientes suplementados com óleo de peixe e uso concomitante de antidepressivo – Grupo W3 AD.....	60
Escala CGI nos pacientes suplementados com óleo Mineral – Grupo PLACEBO.....	61

Escala CGI nos pacientes suplementados com óleo Mineral e uso concomitante de antidepressivo – Grupo PLACEBO AD.....	62
Escala de AUTO-AVALIAÇÃO.....	63
Escala AUTO-AVALIATIVA nos pacientes suplementados com óleo de peixe – Grupo W3.....	65
Escala AUTO-AVALIATIVA nos pacientes suplementados com óleo de peixe e uso concomitante de antidepressivo – Grupo W3 AD.....	66
Escala AUTO-AVALIATIVA nos pacientes suplementados com óleo Mineral – Grupo PLACEBO.....	67
Escala AUTO-AVALIATIVA nos pacientes suplementados com óleo Mineral e uso concomitante de antidepressivo – Grupo PLACEBO AD.....	68
Escala de Depressão de MADRS.....	69
Escala MADRS nos pacientes suplementados com óleo de peixe – Grupo W3.....	71
Escala MADRS nos pacientes suplementados com óleo de peixe e uso concomitante de antidepressivo – Grupo W3 AD.....	72
Escala MADRS nos pacientes suplementados com óleo Mineral – Grupo PLACEBO.....	73
Escala MADRS nos pacientes suplementados com óleo Mineral e uso concomitante de antidepressivo – Grupo PLACEBO AD.....	74
PERFIL LIPÍDICO	75
FAIXA ETÁRIA DOS PACIENTES.....	76
COMPARAÇÃO DA ESCALA DE HOEHN & YAHR.....	76
DISCUSSÃO.....	77
CONCLUSÃO.....	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
ANEXOS.....	106
Termo de consentimento livre e assistido.....	106
Escala para avaliação da depressão de Montgomery-Asberg – MADRS.....	109
Inventário de depressão de Beck – BDI.....	112
Escala de Impressão Clínica Global – CGI.....	114
Escala de Hoehn Yahr.....	115

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cadeia carbônica dos ácidos graxos essenciais n-6 e n-3.....	15
Figura 2: Pontuação dos pacientes antes da suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste de BECK.....	51
Figura 3: Pontuação dos pacientes após a suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste de BECK.....	52
Figura 4: Pontuação dos pacientes do grupo w3 na escala de Depressão de BECK antes e após o período de suplementação.....	53
Figura 5: Pontuação dos pacientes do grupo w3 e uso concomitante de antidepressivo na escala de Depressão de BECK antes e após o período de suplementação.....	54
Figura 6: Pontuação dos pacientes do grupo PLACEBO na escala de Depressão de BECK antes e após o período de suplementação.....	55
Figura 7: Pontuação dos pacientes do grupo PLACEBO e uso concomitante de antidepressivo na escala de Depressão de BECK antes e após o período de suplementação.....	56
Figura 8: Pontuação dos pacientes antes da suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste CGI.....	57
Figura 9: Pontuação dos pacientes após a suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste CGI.....	58
Figura 10: Pontuação dos pacientes do grupo w3 na escala CGI antes e após o período de suplementação.....	59
Figura 11: Pontuação dos pacientes do grupo w3 e uso concomitante de antidepressivo na escala CGI antes e após o período de suplementação.....	60
Figura 12: Pontuação dos pacientes do grupo PLACEBO na escala CGI antes e após o período de suplementação.....	61
Figura 13: Pontuação dos pacientes do grupo PLACEBO e uso concomitante de antidepressivo na escala CGI antes e após o período de suplementação.....	62

Figura 14: Pontuação dos pacientes antes da suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo na escala AUTO-AVALIATIVA.....	63
Figura 15: Pontuação dos pacientes após a suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo na escala AUTO-AVALIATIVA.....	64
Figura 16: Pontuação dos pacientes do grupo w3 na escala AUTO-AVALIATIVA antes e após o período de suplementação.....	65
Figura 17: Pontuação dos pacientes do grupo w3 e uso concomitante de antidepressivo na escala AUTO-AVALIATIVA antes e após o período de suplementação.....	66
Figura 18: Pontuação dos pacientes do grupo PLACEBO na escala AUTO-AVALIATIVA antes e após o período de suplementação.....	67
Figura 19: Pontuação dos pacientes do grupo PLACEBO e uso concomitante de antidepressivo na escala AUTO-AVALIATIVA antes e após o período de suplementação.....	68
Figura 20: Pontuação dos pacientes antes da suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo na escala de depressão de MADRS.....	69
Figura 21: Pontuação dos pacientes após a suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo na escala de depressão de MADRS.....	70
Figura 22: Pontuação dos pacientes do grupo w3 na escala de MADRS antes e após o período de suplementação	71
Figura 23: Pontuação dos pacientes do grupo w3e uso concomitante de antidepressivo na escala de MADRS antes e após o período de suplementação	72
Figura 24: Pontuação dos pacientes do grupo PLACEBO na escala de MADRS antes e após o período de suplementação	73
Figura 25: Pontuação dos pacientes do grupo PLACEBO e uso concomitante de antidepressivo na escala de MADRS antes e após o período de suplementação	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Etapas bioquímicas para síntese dos Ácidos Graxos.....	16
Tabela 2: Percentual de concentração de Ácidos Graxos nas amostras de sangue obtidas dos pacientes suplementados com óleo de peixe (ω 3) ou suplementados com óleo mineral (PLA).....	75
Tabela 3: Médias das faixas etárias nos grupos suplementados com óleo de peixe (ômega 3), grupo óleo de peixe e uso concomitante de antidepressivo (ômega 3 + AD), grupo placebo (PLA) e grupo placebo e uso concomitante de antidepressivo (PLA + AD).....	76

LISTA DE ABREVIATURAS

- AA - Ácido Araquidônico
AC – Adenil Ciclase
AGPIs – Ácidos Graxos Poliinsaturados
AGPIs-CL – Ácidos Graxos Poliinsaturados de Cadeia Longa
AL – Ácido Linoléico
ALA – Ácido α -linolênico
AMPc – Adenosina Monofosfato Cíclico
ANOVA – Análise de Variância
APPP – Associação Paranaense de Portadores de Parkinsonismo
BDNF- Brain Derived Neurotrophic Factor (Fator neurotrófico de desenvolvimento do cérebro)
BECK – Inventário de Depressão de Beck
BHT – Hidroxitolueno Butilato
BMMC – Bromometil-Metóxi-Coumarin
CGI – Impressão Clínica Global
DHA – Ácido Docosahexaenóico
DP – Doença de Parkinson
DSM IV- Manual Psiquiátrico de Doenças Mentais
DTA – Ácido Docosatetraenóico
EPA – Ácido Eicosapentaenóico
EPM – Erro Padrão da Média
FL – Fosfolipase
FLA2 – Fosfolipase A2
HPLC – High mPerformance Liquid Chromatography
MADRS – Escala de Avaliação da Depressão de Montgomery-Asberg
MINI – Escala psiquiátrica para classificação das doenças mentais
n-3 – Omega-3
n-6 – omega-6
PBS – Solução Tampão Fosfato
PKA – Proteína Kinase dependente de AMPc
PKC – Proteína Kinase C
PLA – Grupo suplementado com Óleo Mineral (Placebo)
PLA AD – Grupo suplementado com Óleo Mineral (Placebo) e Antidepressivo
rpm – Rotações por minuto
SNC – Sistema Nervoso Central
W3 – Grupo suplementado com Óleo de Peixe
W3 AD – Grupo suplementado com Óleo de Peixe e Antidepressivo

RESUMO

Os principais ácidos graxos constituintes do sistema nervoso central (SNC), ácido Docosahexaenóico (DHA) e o ácido Eicosapentaenóico (EPA), pertencem à família ω -3. DHA e EPA têm sido relatados como efetivos no tratamento da depressão. A Doença de Parkinson (DP) é uma moléstia crônica e degenerativa do SNC, caracterizada pela perda progressiva de neurônios dopaminérgicos e apresentando elevada freqüência de depressão.

Este estudo visou investigar se a suplementação com óleo de peixe, rico em DHA e EPA, possui efeito antidepressivo em pacientes portadores de DP com comorbidade de Depressão. Os pacientes foram triados pelo psiquiatra na Associação Paranaense de Portadores de Parkinsonismo (APPP); avaliados pelas escalas de depressão de Montgomery-Asberg, Impressão Clínica Global e Inventário de Depressão de Beck. Os pacientes foram divididos em 2 grupos, os quais receberam cápsulas de óleo de peixe ou óleo mineral durante 3 meses; dentro de cada grupo houve nova subdivisão em pacientes que faziam uso concomitante de medicação antidepressiva ou não. Os resultados das escalas foram analisados comparando os escores apresentados antes e após a suplementação através do teste t de Student de medidas repetidas. Os pacientes suplementados com óleo de peixe, utilizando ou não antidepressivo, apresentaram melhora significativa dos sintomas depressivos, comparando início e fim da suplementação: grupo ω -3 e grupo ω -3 utilizando antidepressivo, havendo melhora dos pacientes dos grupos placebo nas escalas Beck e CGI. Porém esta melhora, considerando a diferença entre os grupos, não é clinicamente significativa com relação ao grupo ω -3. A análise dos perfis de ácido graxo, por HPLC, demonstrou aumento nas concentrações de ácidos graxos ω -3 na membrana dos eritrócitos dos pacientes suplementados com óleo de peixe.

Estes resultados sugerem um efeito antidepressivo da suplementação com omega 3 e um efeito coadjuvante no tratamento com antidepressivos.

ABSTRACT

The most important fatty acids constitutive or the Central Nervous System (CNS) are acids Docosahexaenoic (DHA) and eicosapentaenoic (EPA), belonging to ω -3 family. DHA and EPA have been related as effectives in treatment of depression. Parkinson's disease (PD) is a degenerative illness of CNS that is distinguished by a progressive loss of mesencephalic dopaminergic neurons and shows high frequency of depression.

The objective of this study was to investigate the possible antidepressant effect of the fish oil supplementation, rich in DHA and EPA, in patients with DP and depression. The diagnosis of the patients were made by a psychiatry in Associação Paranaense de Portadores de Parkinsonismo (APPP); evaluated by depression scales of Montgomery-Asberg (MADRS), Impressão Clínica Global (CGI) e Beck Depression Inventory. The patients were separated in 2 groups of that received capsules of fish oil or mineral oil for 3 months; each group was separated in 2 new groups: the ones who take antidepressant drugs or not. The results in the scales utilized before and after supplementation were analyzed by t-Student test. The supplemented group with fish oil has shown a significant improve in depression's symptom, in comparison of the beginning and the end of the supplementation; there has been a little improvement of the symptoms in the placebo group in the scales Beck and CGI. This is only an statistical improvement if we consider the difference between groups it's not a clinical improvement in the Placebo group. HPLC analysis of fatty acid profile shown increase in the ω -3 fatty acid in the erythrocyte membrane of the patients that take fish oil.

These results reveal that the group taken fish oil, with or without taking antidepressives, presented improve in depression's symptoms and propose that the intake of omega 3 can be used with an antidepressant effect or adjuvant therapy with another medication.

INTRODUÇÃO

ÁCIDOS GRAXOS

Os lipídeos se encontram distribuídos em todos os tecidos, principalmente nas membranas celulares e nos adipócitos. A maioria dos lipídeos é derivada ou possui ácidos graxos em sua estrutura. Algumas substâncias classificadas entre os lipídeos possuem intensa atividade biológica; muitas vezes ligados a outras biomoléculas combinadas para preencher funções biológicas especializadas, dentre elas: comunicação celular, interação com enzimas, participação na constituição de alguns hormônios. Os lipídeos, constituintes das membranas celulares, são fundamentais para o desenvolvimento das funções cerebrais interagindo em cascatas bioquímicas importantes para produzir ações fisiológicas (Broadhurst et al., 2002; Farooqui et al., 2000).

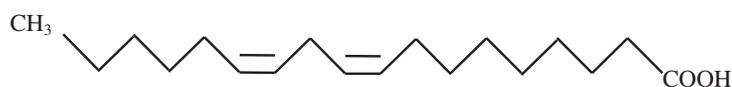
Na alimentação, a gordura usualmente está na forma de triacilgliceróis, que consistem de três diferentes ácidos graxos acoplados a uma molécula de glicerol e são as principais formas de armazenamento de gordura no organismo. A hidrólise ácida dos triacilglicerídios leva aos correspondentes ácidos carboxílicos – conhecidos como ácidos graxos. Este é o grupo mais abundante de lipídeos nos seres vivos, e são compostos derivados dos ácidos carboxílicos.

Os ácidos graxos são espécies químicas que caracterizam-se por apresentarem cadeia de carbonos e hidrogênios ligados entre si, que podem ter tamanhos variados. Ao longo da cadeia podemos encontrar dois tipos de ligações químicas, em diversas posições, originando assim as diferentes famílias de ácidos graxos que são encontradas na natureza. Podem ser

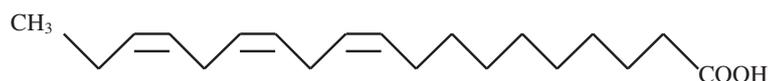
classificados como saturados ou insaturados, dependendo da ausência ou presença de ligações duplas carbono-carbono. Os insaturados (que contêm tais ligações) são facilmente convertidos em saturados através da hidrogenação catalítica (este processo é chamado de redução). A presença de insaturação nas cadeias de ácido carboxílico dificulta a interação intermolecular, fazendo com que, em geral, estes se apresentem, à temperatura ambiente, no estado líquido; já os saturados, com uma maior facilidade de empacotamento intermolecular, são sólidos. De acordo com estes critérios podemos classificar os ácidos graxos em saturados, monoinsaturados e poliinsaturados.

Os ácidos graxos poliinsaturados são os mais importantes componentes dos fosfolípidos que formam as membranas das células. Os ácidos graxos poliinsaturados (AGP), podem ser sub-divididos em duas famílias de acordo com a posição da primeira insaturação da cadeia carbônica, sendo então chamadas *família ômega-6* (W6 ou n-6) e *família ômega-3* (W3 ou n-3) (fig.1). As diferentes posições e número de duplas ligações dão aos ácidos graxos diferentes propriedades químicas, nutricionais e funcionais.

Figura 1. CADEIA CARBÔNICA DO ÁCIDO LINOLÉICO (W-6).



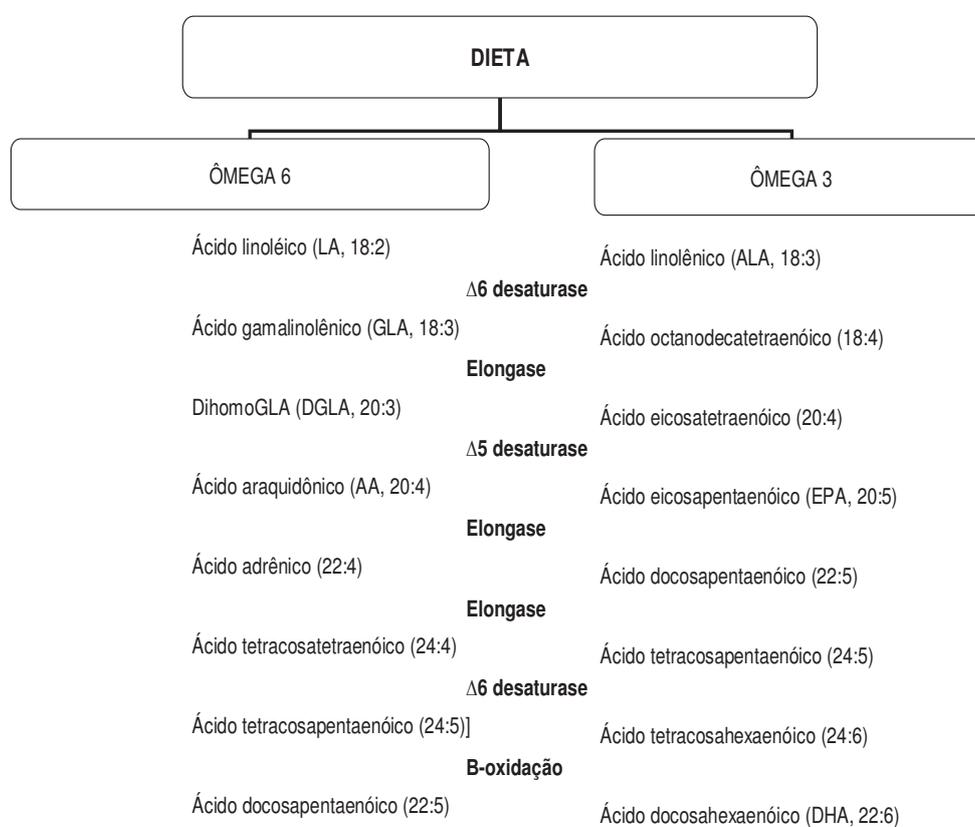
CADEIA CARBÔNICA DO ÁCIDO α -LINOLÉNICO (W-3)



São sintetizados à partir de dois ácidos graxos independentes e essenciais à nutrição: ácido α -linolenico e linoleico que produzem as famílias ômega-3 e ômega-6 de ácidos graxos poliinsaturados, respectivamente. Para

cada família tem-se um ácido graxo precursor específico, chamado essencial, o qual é convertido em outros ácidos graxos da mesma série através de sucessivas reações enzimáticas (Tabela 1), onde ocorrem adição de novos carbonos e insaturações a cadeia original (Lehninger et al., 1998).

Tabela 1: ETAPAS BIOQUÍMICAS PARA SÍNTESE DOS ÁCIDOS GRAXOS



Estes ácidos graxos são classificados como essenciais por não serem sintetizados pelas células do organismo, portanto, devem ser adquiridos através da alimentação.

Os ácidos alfa-linolênico 18:3n-3 (LNA – que tem três duplas ligações) e linoléico 18:2n-6 (LA – que tem duas duplas ligações) são considerados ácidos graxos essenciais e precursores dos demais ácidos da família n-3 e n-6,

respectivamente. O ácido LA pode ser encontrado em abundância nos óleos de milho, girassol, soja, dentre outros. Enquanto, o ácido LNA é encontrado em concentrações elevadas na semente de linho (*Linum usitatissimum*), a qual apresenta 32 a 38% de óleo e teores percentuais de LNA que variam de 44,6 a 51,5% do total dos ácidos graxos (Carter, 1993). Os AGPIs-w 3 são encontrados em concentrações mais expressivas em lipídios de peixes e animais marinhos, especialmente aqueles procedentes de regiões frias (Gibson, 1983).

Todos os membros da família n-6 contêm sua primeira ligação entre o sexto e sétimo átomo de carbono a partir do terminal metila do átomo de carbono, portanto a denominação ômega-6 ou n-6. Similarmente, os ácidos graxos n-3 tem sua primeira dupla ligação entre o terceiro e quarto átomo de carbono a partir do terminal metila do átomo de carbono, portanto a denominação ômega-3 ou n-3.

A essencialidade dos ácidos linoléico e α -linolénico é definida por duas ações diferentes: como componentes estruturais de membranas e como precursores de substâncias fisiologicamente ativas, os eicosanóides. Os eicosanóides são sintetizados a partir do ácido araquidônico (n-6), presente nos fosfolípidos nas membranas celulares. Em adição, em menor extensão, a partir também do ácido eicosapentaenóico (EPA n-3) e di-homo-gama-linolénico (n-6) (British Nutrition Foundation, 1991). Eicosanóides são moléculas altamente bioativas, frequentemente de vida curta, produzida pelas células para atuarem no seu ambiente. São produzidas em resposta a estímulo fisiológico (ex: hormônios tais como adrenalina ou complexo antígeno/anticorpo) e também a estímulo não fisiológico (dano mecânico).

Os derivados da família n-3 apresentaram menor potência inflamatória do que àqueles da família n-6 (Youdim et al., 2000), isto aumentou o interesse em se investigar qual o papel do óleo de peixe, rico em ácido graxo de cadeia longa da série n-3, no tratamento de condições inflamatórias tais como artrite reumatóide (Volker, 1997) ou ainda na doença de Alzheimer, esquizofrenia (Farooqui et al., 2000) e depressão (Young, 2003). Para que ocorra a síntese dos eicosanóides, um conjunto de enzimas é compartilhado pelos ácidos graxos n-3 e n-6; fazendo com que ocorra uma competição entre as duas famílias de ácidos graxos. Assim sendo, a composição lipídica da dieta pode influenciar o perfil de ácidos graxos dos tecidos.

Estudos recentes em modelo de Alzheimer com ratos sugerem efeito na sinaptotoxicidade, verificados através da redução da produção de placas β -amilóide quando a dieta era enriquecida com ácido graxo da família ômega-3 – DHA (Lim, 2005).

ÁCIDOS GRAXOS E SISTEMA NERVOSO

As membranas neuronais apresentam fosfoglicerolípídeos ricos em ácidos graxos poliinsaturados, especialmente DHA e ácido Araquidônico (AA) não só porque estes ácidos graxos são importantes na manutenção das propriedades da bicamada lipídica (Tinoco, 1982; Stubs, 1984), mas também porque servem de base para outros processos bioquímicos, tais como a produção de eicosanóides, geração de segundo mensageiro, regulação de canais iônicos e receptores (Farooqui et al., 2000). Os ácidos graxos encontrados nas membranas cerebrais são de grande importância na regulação da função cerebral, quando incorporados à membrana dos neurônios, alteram suas características físico-químicas, podendo assim participar ativamente de processos de sinalização celular (Wainwright et al.,

1996), por exemplo, os fosfoglicerolípídeos participam ativamente da sinalização celular, regulação da atividade enzimática e apoptose (Youdim et al., 2000). Também existem observações relacionando o DHA à integridade das membranas neurais e sua deficiência gerando uma alteração no balanço de expressão de certos genes (Kitajka, 2002). Quando agonistas estimulam receptores de membrana, ativam a adenil ciclase (AC) ou a fosfolipase (FL), os segundos mensageiros produzidos a partir destes (lípidos no caso da FL), influenciam as ações da proteína kinase dependente de AMPc (PKA) e da proteína kinase C (PKC), respectivamente. Tem sido mostrado que AGPIs n-3 influenciam os efeitos da AC (Alam et al., 1988), FLA₂ (Ballou, 1985), PKA (Speizer et al., 1991) e PKC (Speizer et al., 1991; Holian, 1992). Ácido Eicosapentenoico (20:5 n-3) também se liga a canais de sódio voltagem-sensíveis de membrana e pode alterar a condutância destes canais (Kang, 1996, Farooqui et al., 2000).

A forma predominante de ácido graxo poliinsaturado no cérebro é o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3), e representa 15 % do total de ácidos graxos do cérebro (Levant, 2006).

Os lipídios do cérebro de mamíferos têm perfil de ácido graxo poliinsaturado de cadeia longa (AGPI-CL) (Crawford, 1972). Os AGPI-CL, ricamente insaturados são encontrados nas membranas da retina e de neurônios, nos locais de alta atividade de transferência de sinais. Membranas com grande quantidade de ácidos graxos saturados são encontradas em estruturas mais rígidas, tais como a bainha de mielina (Crawford et al., 1976).

Vários autores têm evidenciado a íntima relação entre os AGPIs e o metabolismo cerebral. A composição lipídica das membranas neuronais varia de acordo com a área cerebral e disponibilidade de ácidos graxos na dieta. A

presença de grandes concentrações de AGPIs nas membranas neuronais é responsável pelas alterações na fluidez da membrana, podendo alterar de maneira significativa os processos de transmissão sináptica e função cognitiva (Youdim et al., 2000). Os AGPIs quando incorporados em grandes quantidades pelas membranas celulares, são capazes de facilitar a formação de espinhos dendríticos e crescimento neuronal (Wainwright et al., 1998). As alterações na composição dos fosfolípidos que resultam em mudanças na fluidez e permeabilidade de membrana neuronal, somam-se à peroxidação lipídica e ao comprometimento do metabolismo energético e podem ser responsáveis pela neurodegeneração em condições neurológicas (Farooqui, 2000).

Como o ácido docosahexaenóico-22:6 n-3 (DHA) é obtido a partir das reservas de ácido α -linolénico do organismo, quantidades inadequadas dos precursores nos períodos de formação e amadurecimento do SNC podem resultar em prejuízos da função cognitiva e debilidade da função neural (Moriguchi et al., 2000). O DHA é seletivamente incorporado nos sinaptosomas cerebrais e sua depleção é sabido resultar em habilidade cognitiva reduzida (Messerli et al., 1975; Suzuki et al., 1997) No cérebro humano, quadrilhões de microconexões ocorrem entre as extensões dendríticas dos neurônios. Essas microconexões são filas de pequenas protruções feitas de \square assidão \square on \square s, particularmente, ricas em DHA.

O DHA é liberado endogenamente a partir da bicamada lipídica pela fosfolipase A_2 (Sawazaki et al., 1994; Youdim et al., 2000), e assim tem sido proposto um papel deste ácido sobre a plasticidade sináptica e o desenvolvimento do SNC.

Todas as sinapses são dependentes dos neurotransmissores; com base nesta realidade e nos diversos resultados obtidos em trabalhos envolvendo

ácidos graxos e comportamento, muitos autores têm direcionado seus estudos para uma possível interação entre os ácidos graxos e a síntese e liberação de neurotransmissores nos terminais sinápticos.

Utilizando-se de estudos de comportamento, ensaios *in vivo* ou *in vitro*, muitos pesquisadores têm investigado quais as relações entre as quantidades de ácidos graxos disponíveis na dieta e a síntese e liberação de neurotransmissores (Kodas et al, 2002; Zimmer, et al., 2000). Tem-se aventado a hipótese de estreita relação entre os processos bioquímicos de síntese e liberação de neurotransmissores estarem diretamente ligados aos estoques de ácidos graxos disponíveis na dieta, na ocasião da formação de todo o sistema nervoso central (Fernstrom, 1999). Trabalhos envolvendo alterações das composições lipídicas das dietas de ratas durante a gestação têm demonstrado que as alterações nos lipídeos disponíveis durante a fase gestacional acarretam mudanças nas taxas de crescimento das células nervosas dos filhotes e nas quantidades de dopamina e metabólitos na fenda sináptica (Innis, 2000).

Estudos recentes indicam que DHA diminuído no cérebro pode aumentar sensibilidade ao stress pela influência na função neuronal. Variações na composição de fosfolipídios da membrana neuronal, que formam o microambiente das proteínas de membrana, podem alterar a estrutura e função dos receptores, transportadores, canais iônicos e outras proteínas sinalizadoras (Levant, 2006). Trabalhos desenvolvidos com animais tratados com ômega-3 que apresentaram um aumento de DHA no córtex, também apresentaram aumento dos níveis de serotonina (De La Presa Owens, 2000); e em outros estudos, animais com baixo nível de DHA no cérebro também

apresentaram outros neurotransmissores com seus níveis afetados, como a dopamina (Chalon, 2001).

Por esta razão, tem sido proposto um papel para este ácido graxo sobre a plasticidade sináptica e o desenvolvimento do SNC, uma vez que a arquitetura plástica das sinapses cerebrais nas redes neurais constitui-se no substrato para o ideal funcionamento do SNC e regulação de suas ações sobre o organismo e eventos fisiológicos.

A relação existente entre o conteúdo de AGPIs do cérebro e sua função pode ser constatada a partir de experimentos comportamentais. Muitos estudos têm sido realizados buscando estabelecer um paralelo entre as alterações na composição lipídica cerebral e alterações de comportamento (Chalon et al., 1998; Carrié et al., 2000; Moriguchi et al., 2000), mostrando que os ácidos graxos essenciais são necessários para o desenvolvimento do cérebro e de suas funções.

A dieta ocidental, em grande parte do século passado, foi drasticamente alterada no balanceamento entre a ingestão de ácidos graxos da família ômega-3 e 6. Há mais de cento e cinquenta anos estimava-se que a razão de ingestão ômega-3X6 era de 1:1; esta razão foi alterada, principalmente após a revolução industrial (Simopoulos, 2002), para aproximadamente 15:1 (Sontrop, 2006). Outros estudos apontam uma razão n-6/n-3 de aproximadamente 20 a 30:1, valores muito elevados quando comparados com aqueles considerados ideais de 1 a 2:1 (Simopoulos, 1999).

Esta alteração da dieta levou a modificações na composição lipídica das membranas celulares e, conseqüentemente, possível prejuízo da função

neural, o que pode resultar no surgimento de diferentes neuropatologias e distúrbios cognitivos (Youdim et al., 2000; Shapiro, 2003).

Alterações nos conteúdos de AGPIs nas membranas neurais, podem estar intimamente relacionadas com o desenvolvimento de neuropatologias, tais como depressão e esquizofrenia (Maidment, 2000). Já que DHA e outros AGPIs estão amplamente envolvidos com a função neural e estrutura cerebral, tem sido sugerido que alterações no perfil lipídico da dieta esteja relacionado com o aparecimento da depressão (Horrocks, 1999). A hipótese de que os níveis de ácidos graxos no organismo podem estar envolvidos no início da depressão e desordens de humor, vem sendo sustentada por trabalhos epidemiológicos que abordam a relação entre o consumo de peixe e prevalência da doença (Tanskanen, 2001; Freeman, 2000). A deficiência de AGPIs da família ômega-3 tem efeitos rápidos e extremos, como no caso das neuropatias, onde contribui para deficiências no sistema imune (Holman, 1998). Estudos epidemiológicos demonstram a existência de relação entre o consumo de peixe e índices de depressão. Países como Japão, Coreia e Chile onde o consumo de peixe e derivados marinhos é grande, os índices de depressão são consideravelmente menores quando comparados com os da maioria dos países ocidentais (Hibbeln, 1998). Em estudo realizado em uma comunidade de idosos com acompanhamento da dieta de consumo de peixe por 6 anos e acompanhamento cognitivo, aludiu um declínio cognitivo mais lento em idosos com maior consumo de peixe, neste caso envolvendo risco de Alzheimer e acidente vascular cerebral (Morris, 2005).

No caso da depressão em idosos, pode não estar simplesmente relacionada à uma reação emocional ao envelhecimento, mas como consequência de mudanças bioquímicas que ocorrem com a idade (Horrobin, 1999). Neste

mesmo estudo, há a sugestão de que a redução do metabolismo de ácidos graxos e fosfolípidos estejam relacionados à causa primária da depressão em muitos pacientes e poderiam explicar as interações com outras doenças. Assim, alguns autores têm sugerido a utilização do óleo de peixe, no tratamento da depressão e desordens afetivas (Maidment, 2000; Young, 2003). Nemets e colegas (2002) avaliaram o possível efeito do óleo de peixe associado à medicação farmacológica, por um curto espaço de tempo. Neste trabalho, pacientes com depressão unipolar receberam 2g/dia de óleo de peixe e apresentaram considerável melhora dos sintomas da depressão em apenas quatro semanas de tratamento. Apesar da utilização de AGPIs da família n-3 no tratamento da depressão ainda ser recente e pouco explorada, uma série de abordagens distintas têm sido empregadas para avaliar como o óleo de peixe e seus AGPIs (DHA e EPA) podem ser eficazes no tratamento e manutenção dos transtornos afetivos.

Estudo em nosso laboratório demonstrou efeito antidepressivo da suplementação com óleo de peixe, em ratos cronicamente suplementados (Naliwaiko et al., 2004), neste trabalho ratos machos obtidos de mães previamente suplementadas, receberam 3,0g/kg de óleo de peixe diariamente. Quando submetidos ao modelo de depressão os animais suplementados apresentaram-se menos deprimidos que os controles. Ainda neste trabalho verificou-se que a incorporação de ácidos graxos de família ômega-3 encontrados no óleo de peixe foi maior em estruturas como córtex cerebral e hipocampo dos animais suplementados com este óleo. Posteriormente, nosso laboratório investigou este efeito antidepressivo em diferentes janelas temporais como na janela aonde a suplementação ocorreu somente através das mães na gestação e lactação ou na suplementação ocorrida somente após a

suplementação e em ambos os casos o efeito antidepressivo estava presente (dados não publicados). Este resultado fortalece a idéia de que independentemente da fase em que ocorrer suplementação as alterações nas membranas celulares decorrentes da mesma se expressarão em alterações fisiológicas.

Estudos realizados por Chalon (1998) demonstraram que a redução da atividade locomotora observada em ratos que receberam dieta deficiente em ácidos graxos ômega-3 era acompanhada de decréscimo do número de receptores do tipo D₂ para dopamina, sugerindo o envolvimento direto dos ácidos graxos essenciais ômega-3 com a função dos neurotransmissores.

Alterações na composição lipídica das membranas cerebrais, decorrentes da deficiência de ácidos graxos, modificam severamente a fluidez da membrana e sua plasticidade na região da fenda sináptica (Zimmer, 1999; Zimmer, 1998). Por conseqüência, a liberação e recaptção de neurotransmissores nos terminais pré e pós-sinápticos respectivamente, pode ser afetada (Murphy, 1990).

O uso do ácido graxo ômega-3 foi desenvolvido baseado em evidências de mecanismos bioquímicos de componentes estabilizadores de humor (Stoll, 1999) sugerindo possível efeito psicotrópico e propondo uma alteração no mecanismo de neurotransmissão da serotonina.

O DHA possui efeito sobre diversas patologias como hipertensão, artrite, aterosclerose, diabetes mellitus, infarto no miocárdio, trombose, alguns tipos de câncer e depressão (Horrocks, 1999).

Muitas pesquisas têm o interesse em desvendar qual o papel do óleo de peixe, rico em ácido graxo de cadeia longa, no tratamento de condições inflamatórias tais como artrite reumatóide (Volker, 1996) ou ainda de patologias

tais como Doença de Alzheimer, esquizofrenia ou isquemias (Farooqui, 2000; Peet, 2002).

ÁCIDOS GRAXOS E DEPRESSÃO

Os ácidos graxos poliinsaturados têm sido relatados como efetivos no tratamento de várias patologias psiquiátricas, e verificou-se que pacientes com depressão maior possuíam um baixo nível de EPA (Assies, 2004; Edwards, 1998; Malamakis, 2002; Peet, 2002; Su, 2003).

Existe correlação entre a ocorrência de depressão e a deficiência de ácidos graxos da família ômega-3, como por exemplo, no Japão, onde o consumo de peixe (fonte de óleo rico em ácidos graxos da família ômega-3) é significativamente maior que nos Estados Unidos, as taxas de depressão para a população é de 0,12% contra 3,0% dos EUA (Horrocks, 1999). Em pesquisa recente, feita com grande número de pessoas na Finlândia, verificou-se uma associação estatisticamente significativa entre os baixos consumos de peixe e depressão (Timonsem, 2004). Outros pesquisadores comprovaram a interação entre baixos níveis de ácidos graxos da família ômega-3 e aumento dos índices de depressão pós-parto, sugerindo a suplementação alimentar com ômega-3 (mais especificamente o DHA) durante a gestação como método profilático para depressão pós-parto (De Vriese et al., 2002).

O mecanismo de efeito de ácidos graxos da família ômega-3 na depressão é ainda desconhecido. Uma das hipóteses é que os níveis de DHA podem normalizar as alterações na microestrutura das membranas e dos neurotransmissores nos pacientes com depressão (Delion et al., 1994; Parker, 2006). Diversos estudos têm demonstrado diferenças nos níveis de ácidos graxos da família ômega-3 em pacientes com transtornos psiquiátricos quando

comparados a grupos controle, principalmente nos níveis de DHA (Green, 2006). Já quando relacionados ao EPA, Fux (2004) não pode verificar o efeito do uso do AGPI em pacientes com transtorno Obsessivo-Compulsivo, porém somente utilizou doses de EPA e não DHA na suplementação. Outros estudos referenciaram a associação da diminuição de frações de AGPIs da família ômega-3 nas membranas dos eritrócitos de pacientes depressivos (Pass, 1999; Edwards, 1998)

A depressão é um transtorno afetivo, isto é, do humor, caracterizada por uma alteração psíquica global e, conseqüentes alterações na maneira de condução e valorização da vida (Klerman, 1994). De forma geral, considera-se o diagnóstico de depressão quando um indivíduo apresenta tristeza profunda, desânimo e diminuição importante de seus interesses e atividades, de forma contínua por no mínimo duas semanas. Encontram-se ainda alterações no apetite, sono, dores e mal-estar físico.

Para que esta patologia seja diagnosticada, segundo os critérios do DSM IV (American Psychiatric Association, 1994) que é um manual psiquiátrico para doenças, cinco ou mais dos seguintes sintomas devem estar presentes: humor deprimido; diminuição ou perda de interesse ou prazer em atividades que antes gostava, incluindo sexo; diminuição ou aumento de peso; insônia ou hipersonia; agitação ou retardo psicomotor; fadiga ou perda de energia; sentimento de irritabilidade ou culpa excessiva; diminuição da capacidade de concentração; pensamentos de morte ou ideação suicida. Dentro da descrição do DSM IV sobre Transtorno Depressivo Maior está associado com uma alta mortalidade. Ocorrendo suicídio em 15% dos casos. Evidências epidemiológicas também sugerem que o índice de mortalidade em indivíduos com mais de 55 anos com Transtorno Depressivo Maior pode ser quatro vezes

maior. Os indivíduos com Transtorno Depressivo Maior admitidos em asilos com cuidados de enfermagem podem ter uma probabilidade acentuadamente aumentada de morte no primeiro ano. Entre os indivíduos vistos em contextos médicos gerais, aqueles com Transtorno Depressivo Maior têm mais dor e doença física e uma redução do funcionamento físico, social e de papéis.

O Transtorno Depressivo Maior pode estar associado com condições médicas gerais crônicas. Até 20-25% dos indivíduos com certas condições médicas gerais desenvolvem Transtorno Depressivo Maior durante o curso de sua condição médica geral. O tratamento da condição médica geral é mais complexo e o prognóstico menos favorável quando um Transtorno Depressivo Maior está presente.

A prevalência do Transtorno Depressivo Maior em adultos, nas amostras comunitárias, tem variado de 5 a 9% para as mulheres e de 2 a 3% para os homens. Os índices de prevalência para Transtorno Depressivo Maior parecem não ter relação com etnia, educação, rendimentos ou estado civil. A WHO (World Health Organization) estima que esta patologia seja em 2020 a segunda maior causa de incapacidade entre as populações dos países desenvolvidos e a primeira causa nos países em desenvolvimento (Su, 2003).

Em indivíduos idosos, freqüentemente é difícil determinar se os sintomas cognitivos (por ex., desorientação, apatia, dificuldade de concentração, perda de memória) são mais bem explicados por uma demência ou por um Episódio Depressivo Maior no Transtorno Depressivo Maior. Este diagnóstico diferencial pode ser consubstanciado por uma avaliação médica geral completa e consideração quanto ao início do distúrbio, seqüência temporal dos sintomas depressivos e cognitivos, curso da doença e resposta ao tratamento. O estado pré-mórbido do indivíduo pode ajudar a diferenciar entre um Transtorno

Depressivo Maior e uma demência. Nesta, existe habitualmente uma história pré-mórbida de declínio do funcionamento cognitivo, ao passo que o indivíduo com Transtorno Depressivo Maior está muito mais propenso a ter um estado pré-mórbido relativamente normal e um declínio cognitivo abrupto, associado com a depressão.

As alterações que levam à depressão estão associadas a diversos fatores, tais como: presença de doenças físicas e cerebrais, uso de fármacos, piora nas condições de vida (preconceito social com relação à velhice), questões situacionais (perdas) e pré disposição genética (Klerman, 1994). A depressão tende a agravar outra doença associada a ela. No caso da doença de Parkinson associado à depressão, já existem evidências de metabolismo de fosfolipídeos defeituoso e distorção no processo de transdução de sinal relacionado a AGPIs. Este metabolismo alterado pode estar relacionado à depressão em muitos pacientes e explicar a interação com outras doenças (Horrobin, 1999)

DEPRESSÃO E DOENÇA DE PARKINSON

A depressão pode afetar qualquer um e pessoas com Doença de Parkinson correm um risco maior (Burn, 2002). A freqüência da depressão na Doença de Parkinson é elevada e, apesar do tratamento medicamentoso e psicoterapia, tende a recorrer. Isso se explica, conforme Forcica (1998) devido à deficiência não só da dopamina, que causa as dificuldades motoras, mas também, em menor extensão, da noradrenalina e da serotonina (Anand, 2000; Leonard, 1997). Estas alterações na bioquímica do cérebro predis põem o paciente de Parkinson à depressão como patologia subjacente. Outros estudos também indicaram que variações no alelo da proteína transportadora de serotonina

representam um fator de risco para o desenvolvimento da depressão em pacientes com Parkinson (Mossner, 2007). Mudanças nas concentrações das AGPIs, principalmente DHA, estariam associados com o tratamento com Levodopa em pacientes com Doença de Parkinson e também em modelo animal da doença, devido ao ômega-3 ter apresentado efeito anti-discoinético nestes estudos, melhorando as complicações motoras induzidas pelo tratamento com levodopa (Julien, 2006).

A doença de Parkinson é uma afecção do sistema nervoso central que acomete principalmente o sistema motor. É uma das condições neurológicas mais freqüentes e sua causa permanece desconhecida (Teive, 2000; Teive, 2003). As estatísticas disponíveis revelam que a prevalência da doença de Parkinson na população é de 100 a 150 casos por 100 000 habitantes e a cada ano surgem 20 novos casos por 100 000 habitantes (Papaleo Netto, 1996; Stoll, 1999). Os sintomas motores mais comuns são: tremor, rigidez muscular, acinesia e alterações posturais. Entretanto, manifestações não motoras também podem ocorrer, tais como: comprometimento da memória, depressão, alterações do sono e distúrbios do sistema nervoso autônomo (Andrade, 2000). Os sintomas de depressão podem se misturar com os da doença de Parkinson e outras patologias (Nuyen, 2006).

A doença de Parkinson é uma condição crônica, em que a evolução dos sintomas é usualmente lenta e variável em cada caso. A doença de Parkinson é a forma mais freqüente de parkinsonismo. O termo parkinsonismo refere-se a um grupo de doenças que podem ter várias causas e que apresentam em comum os sintomas descritos acima em combinações variáveis, associados ou não a outras manifestações neurológicas (Teive, 2000).

Qualquer que seja a causa da doença de Parkinson sabe-se que ela ocorre quando há perda de pelo menos 50% das células da substância negra o que corresponderia à perda de 80% da dopamina que chega ao estriado. Quando analisados ao microscópio, os cortes de substância negra apresentam poucos neurônios remanescentes e a presença característica de inclusões citoplasmáticas conhecidas por corpos de Lewy. Os mecanismos envolvidos no processo degenerativo estão longe de serem elucidados. Evidências recentes sugerem a existência de defeitos no metabolismo dos neurônios da substância negra que poderiam desencadear o processo degenerativo. Tais defeitos poderiam ter origem em determinantes genéticos ou ambientais.

A verdadeira prevalência da depressão em pessoas portadoras da DP é difícil de ser determinada devido à inexistência de mecanismos de diagnósticos padronizados para avaliar a existência de sintomas depressivos no contexto desta doença (Lazzaretti, 2000). Porém, estima-se que sintomas depressivos ocorrem em 40-56% dos pacientes parkinsonianos (Papaleo Netto, 1996; Aguenot, 2002; Errea, 1999).

Embora considerada como reativa a uma condição que limita a atividade normal, pacientes com doença de Parkinson costumam ter depressão mais freqüentemente se comparados a pacientes portadores de outras doenças ainda mais incapacitantes. Mas ainda como visto em Sánchez-Rodríguez (2002), não se pode relacionar a presença de depressão e o tempo de duração da enfermidade ou à deterioração cognitiva. Além disso, em número considerável de casos, a depressão inicia-se antes mesmo do aparecimento dos sintomas clássicos, em um momento em que não há qualquer evidência de incapacidade.

Em estudo recente pesquisadores holandeses (Akker, 2002) constataram que as pessoas que sofrem de depressão são três vezes mais propensas a desenvolver a doença de Parkinson. Outro fator importante a ser levantado é que os índices de incidência de depressão aumentam significativamente em pacientes mais jovens portadores de Parkinson. Como descrito por Errea (1999), existem diversos estudos que encontraram associações entre o nível de depressão e outras características da Doença de Parkinson como a idade, sexo, duração da enfermidade, incapacidade motora e deterioração cognitiva.

Há pouco tempo dizia-se que o Brasil era um “país jovem”, boa parte de sua população tinha menos de 30 anos de idade. No entanto, uma rápida mudança vem ocorrendo nos últimos anos, tanto no Brasil, como no mundo em geral. O número de idosos (pessoas acima de 65 anos de idade, a chamada terceira idade) vem crescendo rapidamente na população. No Brasil havia cerca de 10 milhões em 1990; esse número deve chegar a 15 milhões no ano 2000 e 34 milhões em 2025.

A depressão constitui a desordem psiquiátrica mais comum em adultos e um dos maiores problemas de saúde nos mais idosos (Malamakis, 2002), e doença de Parkinson é uma das enfermidades neurodegenerativas também de maior prevalência na população idosa (Teive, 2000). A politerapia medicamentosa utilizada nesses pacientes pode resultar numa menor eficácia do tratamento do paciente parkinsoniano.

Sabe-se que a composição lipídica das membranas varia de acordo com a área cerebral e disponibilidade de ácidos graxos na dieta. A presença de grandes concentrações de AGPIs nas membranas neuronais é responsável

pelas alterações na fluidez da membrana, podendo alterar de maneira significativa os processos de transmissão sináptica (Yodim, 2000).

Contudo, segundo um relatório publicado pela Agency for Research and Quality (2005) muito pouco se sabe sobre os efeitos dos ácidos graxos n-3 sobre o SNC quando ocorre o processo de envelhecimento e quando o organismo está envolvido em algum processo neurodegenerativo.

Alguns estudos já conseguiram evidenciar a hipótese de associação entre genética de baixa atividade da Fatty Acil Coenzima A ligase (FACL) juntamente com a fosfolipase A2 e baixo consumo em AGPIs da família ômega-3 nas dietas, resultando em pequena incorporação celular de ômega-3 e constituindo fator de risco aumentado para a depressão (Ross, 2007).

Em estudo comparativo de exames SPECT (Tomografia Computada por Emissão de Fóton Único) em pacientes com doença de Parkinson deprimidos e não deprimidos, foi demonstrado uma maior degeneração dos neurônios dopaminérgicos e dos transportadores 5-HT nos pacientes que apresentavam depressão associada à doença de Parkinson (Anand, 1998).

Alguns pesquisadores afirmam que a depressão é o distúrbio psiquiátrico mais comum em pacientes com doença de Parkinson, embora na maioria dos casos seja pouco diagnosticada (Pilo, 1996; Bjarkam, 2004; McDonald, 2003; Wichowicz, 2006). A prevalência da depressão e DP é muito variável nos diferentes estudos, porém a maioria deles concorda com o fato de que metade dos pacientes com doenças neurológicas tem sintomas depressivos. No caso da DP a depressão pode estar sub-diagnosticada ou super-diagnosticada devido à aparência facial do parkinsoniano mimetizar o paciente depressivo. Além disto, o paciente com Parkinson pode apresentar hipotonia de face, hipofonia, retardo psicomotor e postura retraída que também

podem associá-lo à depressão sem que isto seja verdadeiro (Krishnan, 2002). Outros sintomas da depressão, como: fadiga, perda de apetite, diminuição da libido e insônia são sintomas também comuns na doença de Parkinson.

Dentre os estudos envolvendo o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, trabalhos vêm sendo publicados envolvendo patologias como a doença de Alzheimer e a esclerose múltipla, porém, muito pouco tem sido visto acerca da doença de Parkinson. Exceção em relação à escassez de trabalhos sobre a DP e ácidos graxos foi um estudo recente que sugere que o consumo de AGPIs exerce um efeito protetor contra o desenvolvimento da doença. No entanto, a correlação entre o consumo do óleo de peixe e ocorrência dos sintomas depressivos na DP carece ainda de esclarecimentos e desta forma pode-se dizer que o papel do óleo de peixe no cérebro do portador de DP ainda não é conhecido (De Lau, 2005).

Outro dado importante a ser ressaltado é a severa diminuição dos AGPIs da família ômega-3 na membrana dos eritrócitos de pacientes depressivos (Edwards, 1997; Mães, 1999; Young 2003, Levant, 2006), e já existem estudos demonstrando que os níveis destes ácidos graxos em algumas doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer estão diminuídos em até 40%, sugerindo uma deficiência da incorporação dos mesmos às membranas (Boston, 2004), motivada não só pela patologia como pelo próprio processo de envelhecimento em si (Youdim, 2000; Rabini, 2002; Ross, 2007). Um estudo na população idosa da cidade de Rotterdam analisando perfil de consumo alimentar, associou a ingestão elevada de AGPIs na dieta a uma diminuição do risco de desenvolvimento de doença de Parkinson (de Lau, 2005). Não é encontrada na literatura referência a análise de perfil lipídico destes ácidos

graxos em pacientes parkinsonianos, bem como nenhum trabalho que utilize a suplementação em pacientes relacionados a esta patologia, tornando esta área de pesquisa realmente inovadora e necessária.

O uso de suplementação alimentar com óleo de peixe pode ser uma boa opção para os parkinsonianos, principalmente os mais idosos que, de maneira geral já utilizam politerapia medicamentosa e estão mais sujeitos a interações e a reações adversas das mais variadas medicações. O óleo de peixe está associado a uma melhora dos sintomas depressivos e uma pesquisa sobre este efeito antidepressivo se faz necessária, tendo em vista a grande porcentagem de pacientes parkinsonianos que convivem simultaneamente com a depressão.

A grande importância de se encontrar um tratamento adequado para a depressão diagnosticada na Doença de Parkinson decorre do fato desta constituir o sintoma de maior impacto na qualidade de vida em indivíduos parkinsonianos (Kuopio, 2000). A identificação, a monitorização e o tratamento desse sintoma são essenciais para minimizar as limitações decorrentes da progressão da doença, contribuindo para a restauração da qualidade de vida. Buscar novas formas de tratamento consiste em oferecer meios de enfrentar melhor a doença de Parkinson e seus sintomas buscando o resgate do indivíduo dentro de suas próprias capacidades de suportar, aceitar e adaptar-se à nova realidade. Como nos diz uma paciente parkinsoniana em seu relato sobre como enfrentar a doença de Parkinson (Grossmann, 1998):

“Cada pessoa tem, pelo menos em nível subconsciente, um modo de sobreviver ou estratégia de virar o jogo a seu favor, por reforçar suas forças e minimizar suas fraquezas... o

processo de entendimento ajuda-me a aceitar o meu destino, enquanto ao mesmo tempo, racionalmente o estou desafiando.”

OBJETIVOS

- 1- Triar pacientes portadores da Doença de Parkinson quanto a presença de Depressão Maior, classificados segundo critérios do DSM IV, através de aplicação da entrevista MINI.
- 2- Avaliar a Depressão em pacientes portadores da Doença de Parkinson utilizando óleo de peixe ou placebo (óleo mineral), através de escalas de avaliação de depressão hetero-avaliativas – MADRS e CGI, e auto-avaliativas – BECK e AUTOAVALIATIVA aplicadas antes e depois da suplementação com óleo de peixe ou placebo (óleo mineral).
- 3- Investigar o efeito do óleo de peixe como aditivo ao efeito do antidepressivo em pacientes que fizeram uso concomitante e óleo de peixe e já efetuavam tratamento com antidepressivo por pelo menos um ano antes do início da pesquisa.
- 4- Verificar através da dosagem do perfil lipídico a incorporação dos ácidos graxos poliinsaturados da família ômega-3 na membrana dos eritrócitos dos pacientes suplementados com óleo de peixe, após a suplementação de três meses; conseqüentemente a não incorporação no grupo controle suplementado com placebo – óleo mineral.

MATERIAL E MÉTODOS

1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL EM HUMANOS

Os pacientes foram avaliados pelo serviço de Psicologia da Associação Paranaense de Portadores de Parkinsonismo, representados por portadores de Doença de Parkinson que apresentavam Depressão diagnosticada segundo os critérios do DSM IV para Transtorno Depressivo Maior episódio atual, levantados através da entrevista clínica estruturada para diagnóstico pelo DSM IV. No caso de diagnóstico de Depressão, foi realizada a verificação se o paciente está fazendo uso de medicação antidepressiva e caso não estivesse era recomendado para acompanhamento psiquiátrico. Permaneceram na pesquisa pacientes que já faziam uso de antidepressivos há mais de um ano ou os que se recusaram a usá-los; os pacientes que iniciam o uso de antidepressivo após este diagnóstico não foram incluídos na pesquisa, bem como pacientes com sintomas de declínio cognitivo e de memória, que poderiam estar apresentando estágios demenciais iniciais.

Depois de selecionados os pacientes e assinados os termos de consentimento, os mesmos foram avaliados através da Escala de Avaliação da Depressão de *Montgomery-Asberg*, *Escala de Impressão Clínica Global* e *Inventário de Depressão de Beck* pela psicóloga Ticyana Moralez da Silva e avaliados quanto aos sintomas parkinsonianos pelo neurologista Renato Puppi Munhoz, que fez a avaliação clínica. Os pacientes selecionados foram

subdivididos em quatro grupos, dos quais dois receberam cápsulas de ômega-3 e dois de óleo mineral. A subdivisão consta de um programa duplo-cego, portanto a identificação dos grupos e separação das respectivas cápsulas foi realizada no laboratório de fisiologia da UFPR pela orientadora responsável.

2. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os pacientes foram divididos primeiramente em dois grupos experimentais.

- 1-Grupo Suplementado: recebeu diariamente quatro gramas de composto de extratos marinhos ricos em ácidos graxos ômega-3, que contém 180mg de EPA, 120mg de DHA.
- 2-Grupo Placebo: os pacientes receberam 4 cápsulas de 1 grama contendo óleo mineral.

Dentro destes grupos houve outra subdivisão entre os que tomavam antidepressivos ou não. Portanto, a subdivisão final ficou em:

1. Grupo W3: suplementado com óleo de peixe via oral, 4 gramas/dia (180mg de EPA, 120mg de DHA) – composto por seis pacientes.
2. Grupo W3 AD: suplementado com óleo de peixe via oral, 4 gramas/dia (180mg de EPA, 120mg de DHA) – composto por oito pacientes que também faziam uso concomitante de antidepressivo há mais de um ano.
3. Grupo PLACEBO: suplementado com 4 cápsulas de óleo mineral via oral por dia – composto por sete pacientes.
4. Grupo PLACEBO AD – suplementado com 4 cápsulas de óleo mineral via oral por dia – composto por oito pacientes que

também faziam uso concomitante de antidepressivo há mais de um ano.

3. EXPERIMENTO DUPLO-CEGO

Os grupos experimentais passaram pela escala de depressão na semana anterior ao início da suplementação, bem como efetuaram a coleta de sangue para as dosagens de perfil lipídico.

A lista dos pacientes foi numerada e a avaliadora recebeu os frascos, contendo as cápsulas de óleo de peixe e óleo mineral, distribuídos aleatoriamente pelos números de pacientes. A distribuição ocorreu no laboratório de Fisiologia do Sistema Nervoso Central da UFPR. A avaliadora e, tampouco os pacientes souberam qual dos componentes foi ingerido pelos próprios pacientes.

Após três meses (décima segunda semana) de suplementação todos os pacientes foram submetidos novamente à escala de depressão de Montgomery-Asberg e passaram por nova coleta de sangue para dosagem.

4. FLUXO GERAL DA PESQUISA

FASE DE CAPTAÇÃO DE SUJEITOS PARA PESQUISA

Toda a pesquisa ocorreu nas dependências da Associação Paranaense de Portadores de Parkinsonismo – APPP, com membros associados e portadores da Doença de Parkinson diagnosticada por Neurologista.

A captação dos sujeitos para participação na pesquisa iniciou-se com a avaliação neurológica. Durante esta avaliação os pacientes são avaliados dentro de seu estado motor, mental e emocional através da aplicação da Escala Unificada de Avaliação para a Doença de Parkinson –UPDRS

(Taylor, 2005), e Escala de Hoehn & Yahr para estadiamento da doença de Parkinson, bem como quanto a sintomas demenciais através do Mini Exame do Estado Mental – MEEM (Folstein -1975). Foram excluídos para esta pesquisa os pacientes que apresentavam escore na escala Hoehn & Yahr superior ao grau 2,5 e que apresentaram pontuação para suspeita de quadro demencial. Após a suplementação de três meses, os pacientes que apresentaram alteração do estadiamento da doença de Parkinson acima de 0,5 pontos foram excluídos da pesquisa para que a melhora ou piora do quadro de Parkinson não interferisse na avaliação do quadro depressivo avaliado nesta pesquisa.

Após a seleção inicial os pacientes eram avaliados por psiquiatra através da escala M.I.N.I. plus (Amorin, 2000) e classificados em seus sintomas dentro do DSM IV (American Psychiatric Association, 1994), somente permanecendo na pesquisa os pacientes que apresentassem diagnóstico de Transtorno Depressivo Maior de episódio atual (podendo ser recorrente) e com exclusão de pacientes usuários de drogas ou alcoolistas.

A escala M.I.N.I. é organizada por módulos diagnósticos independentes, elaborados de forma a otimizar a sensibilidade do instrumento, a despeito de um possível aumento de falso-positivos.

Os pacientes classificados dentro do quadro de Transtorno Depressivo Maior eram orientados a efetuar tratamento medicamentoso para o transtorno diagnosticado. Os pacientes que já faziam uso de medicação antidepressiva há mais de 12 meses e continuavam com o transtorno e os pacientes que se recusaram a fazer tratamento medicamentoso para o transtorno permaneceram na pesquisa, sendo excluídos os pacientes que iniciaram o uso de medicação

após esta triagem, pois não seria possível avaliar separadamente o efeito do óleo de peixe do efeito do antidepressivo.

Esta triagem ocorreu de março de 2005 a março de 2006, tendo sido efetuadas aproximadamente 250 avaliações de pacientes neste período, após serem considerados todos os fatores de exclusão à pesquisa, finalmente restaram 31 pacientes, dentro dos padrões adequados para a participação na pesquisa.

Os pacientes que passavam por esta triagem inicial eram então entrevistados pela psicóloga e assinavam o termo de consentimento de participação no estudo clínico duplo-cego.

Todos os pacientes passaram por avaliação nutricional pela nutricionista da APPP e foram solicitados a não alterarem suas dietas durante o período de suplementação.

FASE INICIAL

Os pacientes eram então submetidos às escalas de depressão: 1) hetero-avaliativas, isto é, que são avaliadas pelo pesquisador – no caso um psicólogo. Sendo elas a Escala para Avaliação da Depressão de Montgomery-Asberg (MADRS) e a Escala de Impressão Clínica Global (CGI) e 2) Auto-avaliativas, em que o próprio indivíduo quantifica seus sintomas – Escala Auto-avaliativa e Inventário de Depressão de Beck.

Após esta avaliação os pacientes eram submetidos à coleta de sangue por Enfermeira voluntária. Foram coletadas amostras de 5 ml de sangue em tubos sem anti-coagulantes e mantidas à temperatura ambiente por 1 h e depois por 1h a -4°C (para ativação plaquetária) antes da separação do soro (centrifugação a $2000\times g \times 10$ min a -4°C). Após a separação em soro e

substância vermelha do sangue no Laboratório da UFPR e o material foi congelado a -80°C até o momento de dosagem do perfil lipídico.

No Laboratório de Fisiologia do Sistema Nervoso Central da UFPR foi efetuada a numeração dos pacientes, randomização e separação nos grupos 1) óleo de peixe e 2) placebo. Dentro destes dois grupos, posteriormente, foi efetuada nova separação, em pacientes fazendo uso ou não de antidepressivos. As cápsulas contendo óleo de peixe ou placebo foram numeradas com o paciente a que se destinavam e enviadas à pesquisadora na APPP para entrega aos pacientes. Por se tratar de estudo duplo-cego, nem a pesquisadora nem os pacientes sabiam qual a substância que estariam usando como suplementação. As cápsulas foram entregues mensalmente aos pacientes da pesquisa, para que assim houvesse maior controle de sua ingestão, ocorrência de possíveis efeitos colaterais ou eventos que invalidassem a participação de determinados pacientes à pesquisa.

FASE INTERMEDIÁRIA

Entrega de cartelas de óleo de peixe ou óleo mineral aos pacientes e monitoração de seu estado geral e adesão à pesquisa (ingestão da suplementação, ocorrência de efeitos colaterais, alterações medicamentosas ou do quadro de saúde).

Durante o período de suplementação de 3 (três) meses ocorreram as invalidações e descontinuidade na pesquisa de dois pacientes: um por ocorrência de desarranjo intestinal e um por piora generalizada de seu quadro de saúde em decorrência de cirurgia ortopédica na coluna.

FASE TERMINAL

Após o término da suplementação – 3 meses – os pacientes foram novamente avaliados pelas escalas de depressão hetero-avaliativas – Escala para Avaliação da Depressão de Montgomery-Asberg (MADRS) e a Escala de Impressão Clínica Global (CGI) e Auto-avaliativas – Escala Auto-avaliativa e Inventário de Depressão de Beck.

Os pacientes passaram novamente pela aplicação da Escala Unificada de Avaliação para a Doença de Parkinson (UPDRS) escala de Hoehn & Yahr, bem como quanto à sintomas demenciais através do Mini Exame do Estado Mental – MEEM (Folstein -1975) e foram excluídos os pacientes que apresentavam que apresentaram pontuação suspeita de quadro demencial ou que apresentaram escore na escala de estadiamento da DP com alteração superior à 0,5 para mais ou menos.

Após esta avaliação os pacientes foram novamente submetidos à coleta de sangue por Enfermeira voluntária. Coletadas amostras de 5 ml de sangue em tubos sem anti-coagulantes e mantidas à temperatura ambiente por 1 h e depois por 1 h a -4°C (para ativação plaquetária) antes da separação do soro (centrifugação a $2000\times g \times 10$ min a -4°C). Após a separação em soro e substância vermelha do sangue no Laboratório da UFPR e o material foi congelado a -80°C até o momento de dosagem do perfil lipídico e posterior comparação dos dados obtidos para a pré e pós-suplementação.

FASE FINAL

Durante a fase final da pesquisa foi efetuada a análise dos dados coletados, elaboração dos resultados da pesquisa e discussão dos resultados encontrados em comparação com os objetivos propostos inicialmente,

verificando se as hipóteses levantadas foram confirmadas e caso não houvesse confirmação, quais teriam sido as razões de tal falha.

5. ESCALA PARA AVALIAÇÃO DA DEPRESSÃO DE MONTGOMERY-ASBERG

Escala utilizada principalmente em pesquisas científicas que tem o escopo de quantificar sintomas depressivos dentro de dez itens, que incluem aspectos biológicos, cognitivos, afetivos e comportamentais, porém, não sintomas somáticos ou psicomotores (Moreno,1998), são eles: tristeza aparente, tristeza relatada, tensão interior, sono diminuído, diminuição do apetite, dificuldade de concentração, lassidão, incapacidade de sentir, pensamentos pessimistas e pensamentos suicidas.

Para que um indivíduo esteja classificado em quadro depressivo sua classificação neste teste deve ser acima de 30 pontos para quadro severo, acima de 20 para quadro moderado, acima de 15 para quadro leve e para que haja remissão dos sintomas sua classificação posterior deve estar abaixo dos 9 pontos (Hawley, 2002; Mueller, 2003).

6. INVENTÁRIO DE DEPRESSÃO DE BECK- BDI

Medida de auto-avaliação da depressão, constituída de vinte e um itens incluindo sintomas e atitudes (Gorestein, 1998), sendo possível em cada um deles uma resposta cujo escore varia de 0 a 4 (ausente, leve, moderada e grave), permitindo quantificar a intensidade do sintoma. Esta escala avalia os diversos sintomas ou atitudes que usualmente estão presentes na depressão, independentemente da sua causa. Dentre estas questões, existem itens

relacionados com humor, pessimismo, insatisfação, autocrítica, irritabilidade, alterações de peso, dificuldades para o trabalho, fadiga, preocupações com a saúde, alterações de libido, entre outras.

7. ESCALA DE IMPRESSÃO CLÍNICA GLOBAL – CGI

Escala de auto e heteroavaliação em que o paciente e o avaliador darão uma pontuação para seu estado clínico, quanto à gravidade da doença e quanto a sua melhora global. Os escores variaram entre 1 (“são”) e 7 (“entre os mais gravemente doentes”).

8. ESCALA AUTO-AVALIATIVA

Durante as aplicações das escalas de depressão foi feito o pedido para que os pacientes graduassem seu estado depressivo pontuando de 0 a 10. Esta graduação foi realizada antes e após a suplementação de três meses. Sendo que a pontuação mais baixa (tendendo ao 0) para estado menos deprimido e mais alta (tendendo ao 10) para estado mais deprimido.

9. ESCALA UNIFICADA DE AVALIAÇÃO PARA A DOENÇA DE PARKINSON – UPDRS e Hoehn Yahr

A escala unificada de avaliação para a doença de parkinson é a medida preliminar do resultado em a maioria de experimentações clínicas terapêuticas da doença de Parkinson. Cada sub-score da seção motora compreende uma larga escala do desempenho motor.

A escala de Hoehn & Yahr foi feita em 1967 e se baseia na classificação dos pacientes em 5 estágios de doença, sendo que o valor zero, significa não

ter sintoma da doença, valor 1 sintomas unilaterais discretos, até o valor 5 que é o grau máximo de incapacitação. Essa escala foi modificada uma vez há cerca de 20 anos por um grupo de pesquisadores internacionais para incluir os estágios 1,5 e 2,5. Essa escala foi utilizada nesta pesquisa, além da UPDRS, pois proporciona um estadiamento da doença para que pudesse ser utilizada comparativamente antes e após a suplementação.

10. COLETA DE SANGUE

Foram efetuadas coletas de sangue previa e posteriormente a suplementação com óleo de peixe – na 1^o e 12^o semana do estudo, respectivamente.

Amostras de 5 ml de sangue foram coletadas dos pacientes em seringas não contendo heparina. Estas amostras foram centrifugadas a 1200 rpm durante 10 min, o plasma e soro foram removidos e guardados, separadamente a -80°C , para posterior dosagem de lipídica.

11. PERFIL LIPÍDICO

Do sangue foi investigado o perfil de lipídeos, utilizando-se cromatografia líquida de alta precisão (HPLC – High Performance Liquid Chromatography). Equipamento Varian ProStar 230, autoinjeter ProStar 410 e detector de fluorescência Flu 363 com interface de integração Star 800. A coluna analítica utilizada para a separação dos ácidos graxos derivatizados foi de fase reversa: Licosorb – C8 4,6 mm i.d. x 25 cm com partículas de 5 μm (Varian) precedida de pré-coluna (G-ODS 8,0 mm i.d.x x 1,5 cm). O software para integração e registro dos dados foi o Star, versão 4.0. Esta análise foi feita a partir do extrato de ácidos graxos obtidos através de extração lipídica seguida

da saponificação as amostras do sangue dos pacientes – membrana dos eritrócitos.

Extração dos lipídeos das amostras foi efetuada de acordo com o método descrito por Folch et.al. (1957). As amostras foram homogeneizadas em 0,4ml de PBS e ao sobrenadante resultante da homogeneização foi adicionado 0,5 ml de metanol e 1 ml de clorofórmio. As amostras, depois de agitadas, foram centrifugadas durante 2 minutos a 2.500 rpm em centrífuga Eppendorf modelo 5810R. Este procedimento promove a formação de uma solução bifásica, cuja parte superior (hidrometanólica) foi separada para reextração. Esta fase foi transferida para outro tubo de ensaio e adicionou-se 0,5 mL de clorofórmio e 0,5mL de metanol, novamente agitada em vórtex, centrifugada e a fase superior descartada. Aos extratos clorofórmicos resultantes das duas extrações, foi adicionado 1 ml de solução clorofórmio:metanol:água, na proporção de 3:47:48 (solvente de Folch). As amostras foram centrifugadas durante 2 minutos a 2.500 rpm. A fase resultante (orgânica) foi evaporada e submetida à secagem em fluxo de nitrogênio gasoso, em banho-maria a 37°C.

Após secagem, as amostras contendo os lipídeos foram submetidas ao processo de saponificação onde foram separados apenas os ácidos graxos dos lipídeos totais. A cada amostra submetida ao fluxo de nitrogênio, foram acrescentados 2mL de solução alcalina em metanol (1 mol/L de hidróxido de sódio em metanol a 90%) sendo então incubadas em banho-maria a 37°C, sob agitação por 2 horas (Nishiyama-Naruke et.al., 1998). Passada a incubação as amostras foram resfriadas em banho de gelo e a solução alcalina foi acidificada até atingir pH 3.0 com ácido clorídrico 1 mol/L. Os ácidos graxos contidos nesta solução foram extraídos 3 vezes com 2 mL de Hexano. O solvente

resultante foi evaporado e as amostras acondicionadas em nitrogênio gasoso, protegidas da luz à -20°C , até a derivatização com Bromometil-Metóxi-Coumarin (BMMC) e posterior análise por HPLC.

Para a análise dos ácidos graxos derivatizados, através de detetor de fluorescência, foram realizadas injeções de volumes que variaram de 10 a 50 μL dos derivados diluídos. O fluxo foi de 1,2 mL/min à temperatura ambiente. Os compostos foram detectados fluorimetricamente, com excitação a 325 nm e emissão a 398 nm. Quanto à fase móvel, foi realizado um gradiente binário com acetonitrila e água. O gradiente linear consistiu de 77 a 90% de acetonitrila até 40 min., os quais foram constantemente degaseificados com gás hélio.

A reação dos ácidos graxos com BMMC foi realizada segundo o método descrito por Abushufa et.al., 1994. Preparou-se os reagentes: Bromometil-metóxi-coumarin dissolvidos em 1g/mL de acetonitrila (reagente 1), 26,5 mg de 18-crown-6 e 100 mg de carbonato de potássio, dissolvidos em 5 mL de acetonitrila (reagente 2). A solução foi sonicada por 30 minutos e outros 5 mL foram adicionados. O sobrenadante foi separado do precipitado e a solução foi estocada em temperatura de 4°C . As amostras foram reconstituídas em 0,1 mL de acetonitrila, homogeneizada em vórtex e filtrada. Após 30 segundos adicionou-se 0,1 mL do reagente 1 e 0,1 mL do reagente 2. As amostras foram novamente homogeneizadas e mantidas a 60°C por 15 minutos. Após, estas foram diluídas em igual volume e transferidas para outros frascos, onde foram mantidas a 10°C até o momento da injeção no HPLC.

12. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de resultados paramétricos foram expressos como média \pm Erro Padrão da Média e submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido com pós teste de Newman-Keuls. Após foi efetuada uma análise estatística utilizando-se o teste t de student de medidas repetidas para cada grupo separadamente.

RESULTADOS

Escala de Depressão de BECK

Nas figuras 2 e 3 são apresentados dados relativos à escala de depressão de BECK. Os pacientes suplementados com óleo de peixe dos grupos W3 e W3 AD não apresentaram melhora na escala de depressão de BECK quando comparados aos grupos placebo, tanto antes da suplementação (ANOVA de uma via $F(3,25)=0,68$, $p=0,56$,) como após 12 semanas de suplementação (ANOVA de uma via $F(3,25)=1,42$, $p=0,20$), embora haja uma tendência dos grupos W3 e W3 AD a apresentarem melhora dos sintomas depressivos.

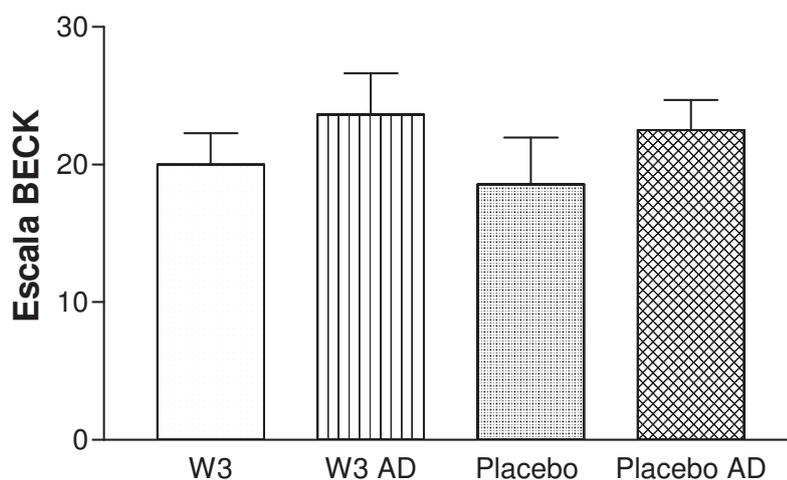


Figura 2. Pontuação dos pacientes antes da suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste de BECK. Os valores do escore total do teste foram expressos em média \pm EPM. W3, grupo suplementado com óleo de peixe (n=6); W3AD, grupo suplementado com óleo de peixe e uso de antidepressivo (n=8); PLACEBO, grupo suplementado com óleo mineral (n=7); PLACEBO AD, grupo suplementado com óleo mineral e uso de antidepressivo (n=8). ANOVA de uma via, $F(3,25)=0,69$; $p=0,57$.

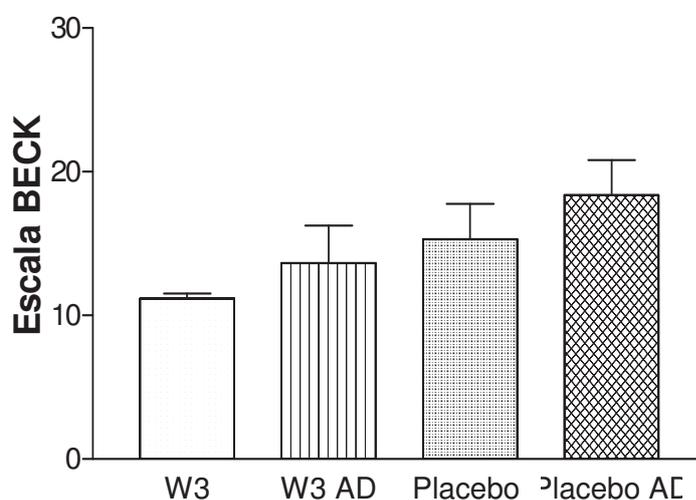


Figura 3. Pontuação dos pacientes após a suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste de BECK. Os valores do escore total do teste foram expressos em média \pm EPM. W3, grupo suplementado com óleo de peixe (n=6); W3 AD, grupo suplementado com óleo de peixe e uso de antidepressivo (n=8); PLACEBO, grupo suplementado com óleo mineral (n=7); PLACEBO AD, grupo suplementado com óleo mineral e uso de antidepressivo (n=8). ANOVA de uma via, $F(3,25)=1,661$; $p=0,25$.

Após a realização do teste ANOVA para os resultados da escala de BECK, os grupos experimentais foram analisados individualmente considerando-se a variável temporal entre cada grupo relativo ao início e término da suplementação. Os resultados relativos a esta análise estão representados nas figuras 4, 5, 6 e 7.

Diferentemente dos resultados observados na figura 3, na figura 4 foi verificada uma melhora significativa no quadro depressivo segundo a escala BECK comparando o início e o término das 12 semanas de suplementação com óleo de peixe (grupo W3), teste t de Student; * $p \leq 0,05$.

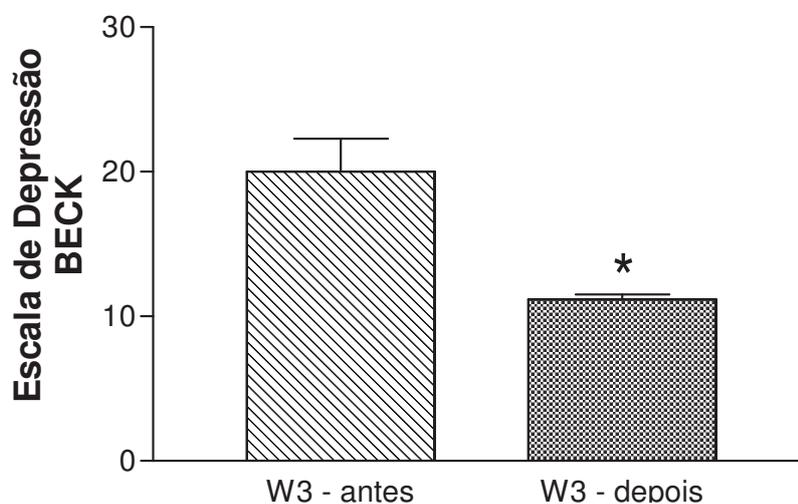


Figura 4. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo de peixe (4,0g/dia) durante 12 semanas na escala de Depressão de BECK. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, * $p \leq 0,05$

Da mesma forma, pode-se observar na figura 5, que no grupo W3 AD foi verificada uma melhora significativa no quadro depressivo segundo a escala BECK comparando o início e o término das 12 semanas de suplementação com óleo de peixe, teste t de Student $*p \leq 0,001$.

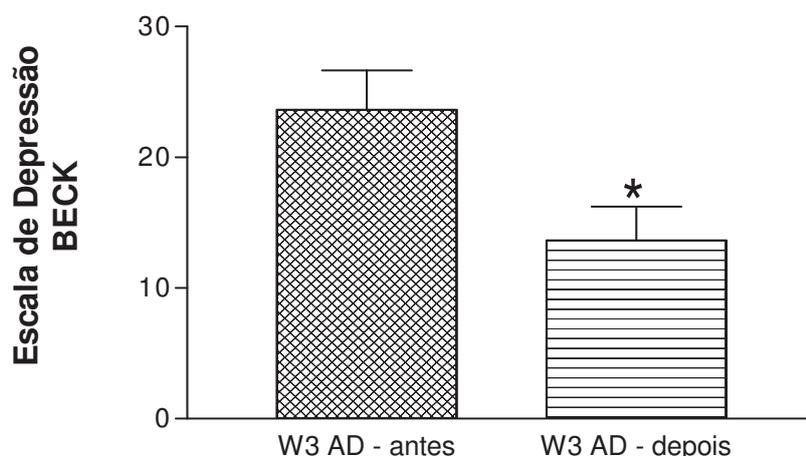


Figura 5. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo de peixe (4,0g/dia) e uso concomitante de antidepressivo, durante 12 semanas na escala de Depressão de BECK. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $*p \leq 0,001$

Como podemos observar nas figuras 6 e 7 a pontuação na escala de depressão de BECK apresentou queda significativa dos seus escores comparando o início e o término das 12 semanas de suplementação com óleo mineral (grupo PLACEBO), teste t de Student $*p=0,028$, ou suplementado com óleo mineral e uso concomitante de antidepressivo (grupo W3 AD), teste t de Student; $p = 0,003$.

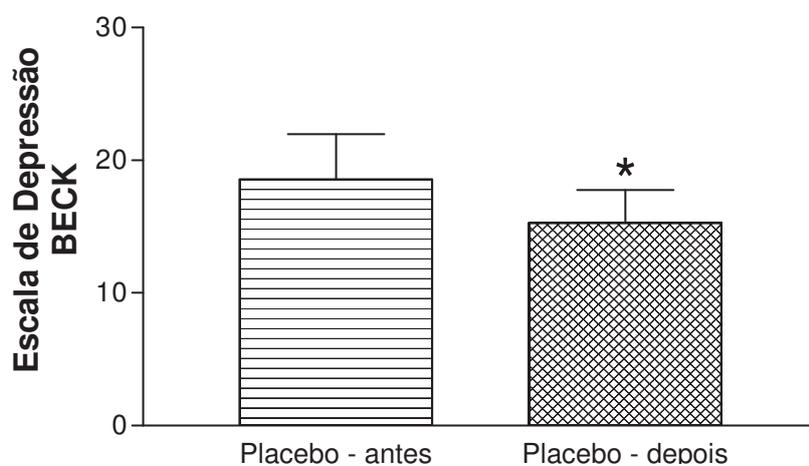


Figura 6. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo de Mineral – PLACEBO (4,0g/dia) durante 12 semanas na escala de Depressão de BECK. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $*p=0,028$.

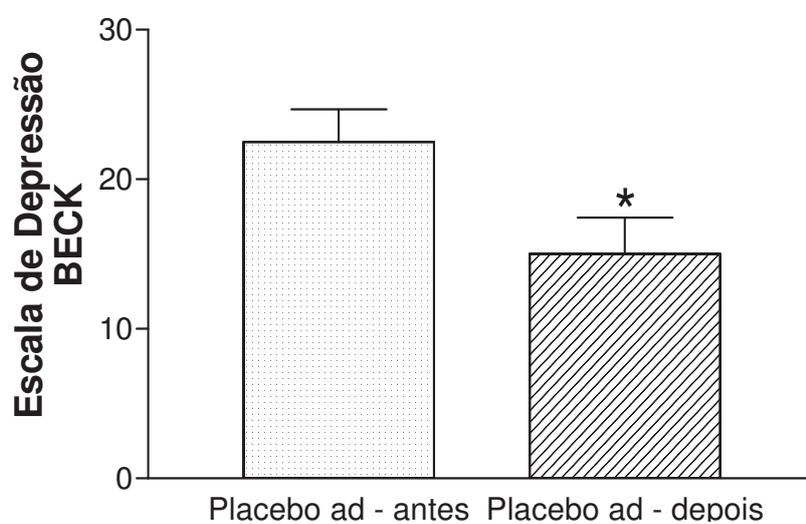


Figura 7. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo de Mineral – PLACEBO (4,0g/dia) e uso concomitante de antidepressivo, durante 12 semanas na escala de Depressão de BECK. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, * $p=0,003$.

Escala Inventário de Impressão Clínica Global – CGI

Os pacientes parkinsonianos foram submetidos à Escala Inventário de Impressão Clínica Global (CGI) antes da suplementação com óleo de peixe ou óleo mineral e, como se pode observar na figura 8, não houve diferença entre os grupos, (ANOVA de uma via $F(3,25)=0,82$, $p=0,49$).

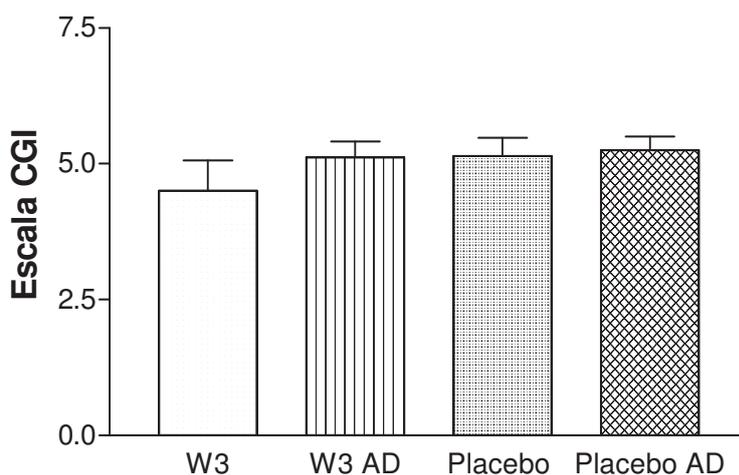


Figura 8. Pontuação dos pacientes antes da suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste de CGI. Os valores do escore total do teste foram expressos em média \pm EPM. W3, grupo suplementado com óleo de peixe (n=6); W3AD, grupo suplementado com óleo de peixe e uso de antidepressivo (n=8); PLACEBO, grupo suplementado com óleo mineral (n=7); PLACEBO AD, grupo suplementado com óleo mineral e uso de antidepressivo (n=8). ANOVA de uma via, $F(3,25)=0,82$; $p=0,49$.

No entanto, na figura 9 que expressa os resultados da Escala Inventário de Impressão Clínica Global (CGI) após 12 semanas de suplementação com óleo de peixe ou mineral, pode-se observar que os grupos W3 e W3 AD obtiveram uma melhora na auto avaliação de depressão estatisticamente significativa quando comparados aos grupos placebos (ANOVA de uma via $F(3,25)=3,67$, $*p=0,02$ pós-teste Newman-Keuls).

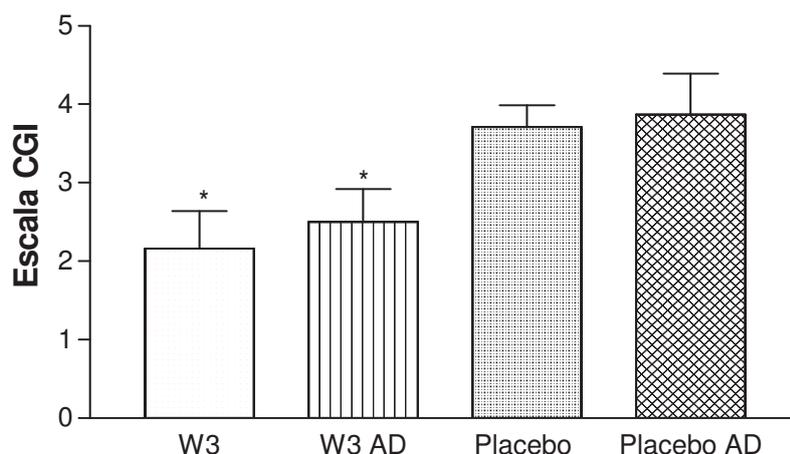


Figura 9. Pontuação dos pacientes após a suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste de CGI. Os valores do escore total do teste foram expressos em média \pm EPM. W3, grupo suplementado com óleo de peixe (n=6); W3 AD, grupo suplementado com óleo de peixe e uso de antidepressivo (n=8); Placebo, grupo suplementado com óleo mineral (n=7); Placebo AD, grupo suplementado com óleo mineral e uso de antidepressivo (n=8). ANOVA de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls, * $p=0,02$ comparado com os grupos PLACEBO e PLACEBO AD.

Nas figuras 10, 11, 12 e 13 estão representados os resultados relativos a comparação entre início e término de suplementação com óleo de peixe ou com óleo mineral dos diferentes grupos experimentais.

Após as 12 semanas de suplementação com óleo de peixe ocorreu uma melhora significativa no quadro depressivo segundo a escala CGI para o grupo W3, teste t de Student ; $*p \leq 0,05$ (figura 10) e grupo W3 AD, $*p \leq 0,0001$ (figura 11).

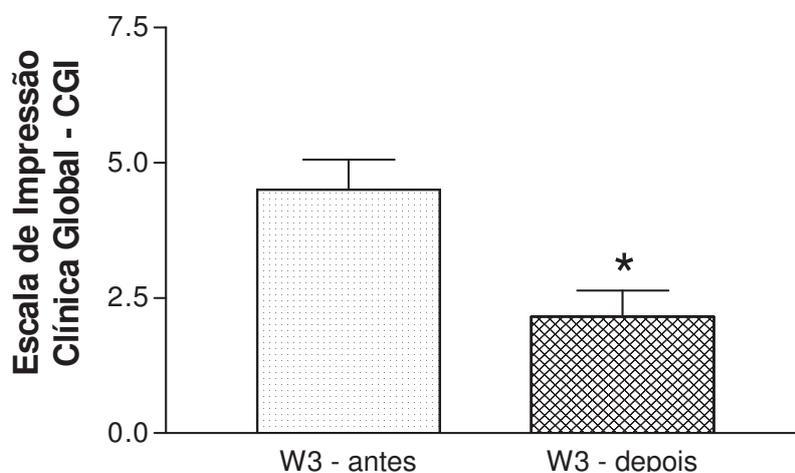


Figura 10. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo de peixe (4,0g/dia) durante 12 semanas na escala de Impressão Clínica Global - CGI. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p \leq 0,01$.

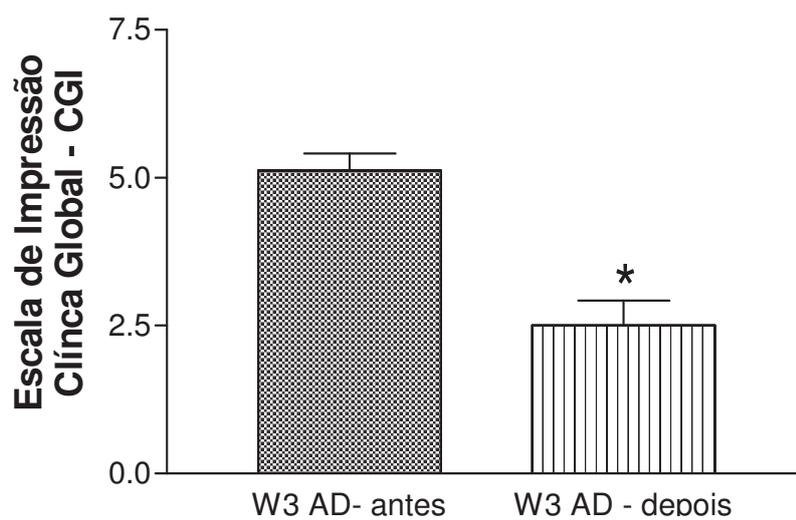


Figura 11. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo de peixe (4,0g/dia) e uso concomitante de antidepressivo, durante 12 semanas na escala de Impressão Clínica Global - CGI. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p \leq 0,0001$

Os pacientes que receberam óleo mineral sem uso concomitante de antidepressivo (grupo PLACEBO) ou com uso de antidepressivo (grupo PLACEBO AD) apresentaram também melhora significativa no quadro depressivo segundo a escala CGI após 12 semanas de suplementação, teste t de student $*p \leq 0,0005$ e $*p \leq 0,05$, figuras 12 e 13 respectivamente.

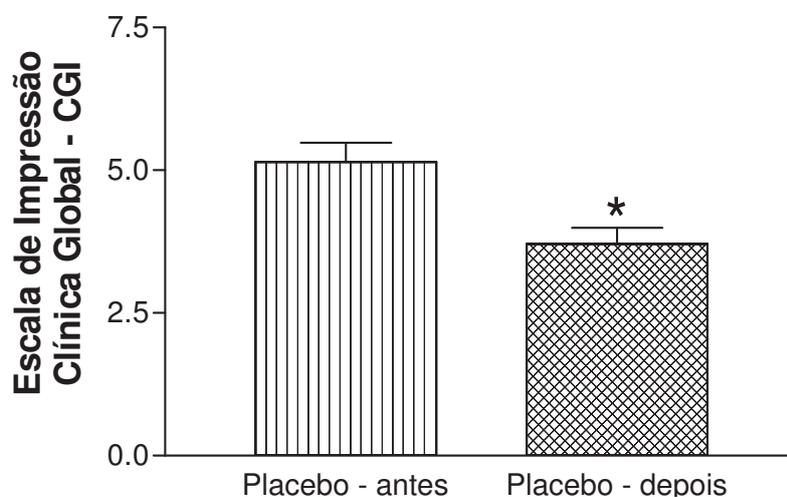


Figura 12. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo Mineral - PLACEBO (4,0g/dia) durante 12 semanas na escala de Impressão Clínica Global - CGI. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p \leq 0,01$

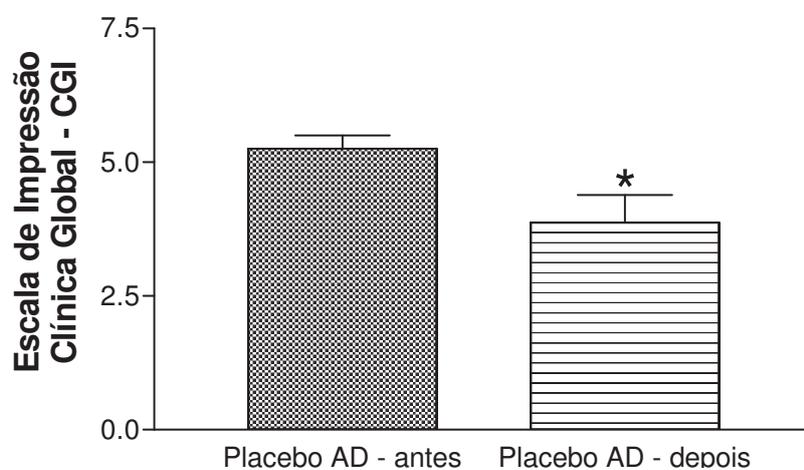


Figura 13. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo Mineral - PLACEBO (4,0g/dia) e uso concomitante de antidepressivo, durante 12 semanas na escala de Impressão Clínica Global - CGI. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p \leq 0,05$

Escala de AUTO-AVALIAÇÃO

Os pacientes parkinsonianos foram submetidos à escala AUTO-AVALIATIVA antes da suplementação com óleo de peixe ou óleo mineral e, como pode-se observar na figura 14, não houve diferença entre os grupos (ANOVA de uma via $F(3,25)=0,67$, $p=0,27$).

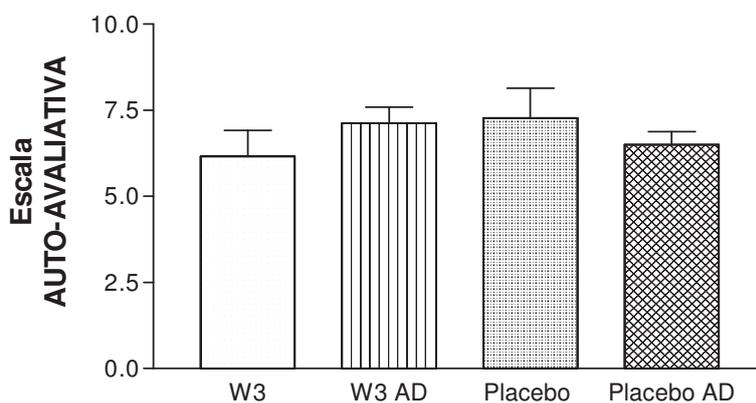


Figura 14. Pontuação dos pacientes antes da suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo na escala auto-avaliativa. Os valores do escore total do teste foram expressos em média \pm EPM. W3, grupo suplementado com óleo de peixe (n=6); W3AD, grupo suplementado com óleo de peixe e uso de antidepressivo (n=8); PLACEBO, grupo suplementado com óleo mineral (n=7); PLACEBO AD, grupo suplementado com óleo mineral e uso de antidepressivo (n=8). ANOVA de uma via, $F(3,25)=0,6778$; $p=0,2777$

Na figura 15 que expressa os resultados na escala AUTO-AVALIATIVA após 12 semanas de suplementação com óleo de peixe ou mineral, pode-se observar que os grupos W3 e W3 AD obtiveram uma melhora na auto avaliação de depressão estatisticamente significativa quando comparados aos grupos placebos (ANOVA de uma via $F(3,25)=3,59$, $*p=0,028$, pós-teste Newman-Keuls).

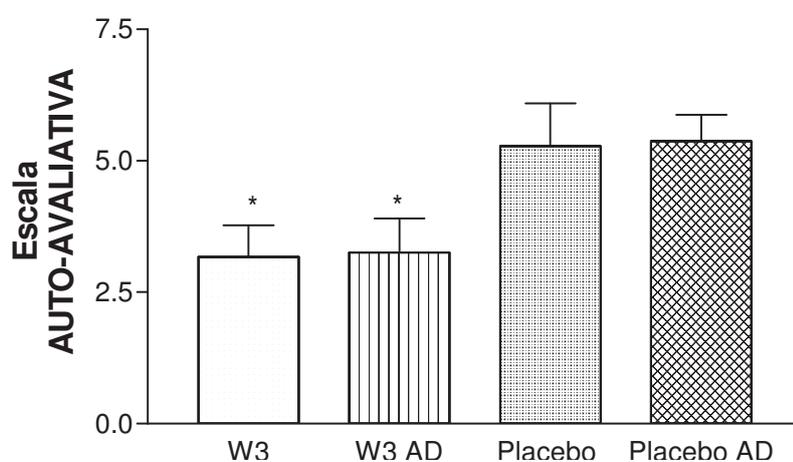


Figura 15. Pontuação dos pacientes após a suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo na escala auto-avaliativa. Os valores do escore total do teste foram expressos em média \pm EPM. W3, grupo suplementado com óleo de peixe (n=6); W3 AD, grupo suplementado com óleo de peixe e uso de antidepressivo (n=8); PLACEBO, grupo suplementado com óleo mineral (n=7); PLACEBO AD, grupo suplementado com óleo mineral e uso de antidepressivo (n=8). ANOVA de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls, $*p=0,028$ comparado com os grupos PLACEBO e PLACEBO AD.

Após a realização do teste ANOVA para os resultados da escala AUTO-AVALIATIVA, os grupos experimentais foram analisados individualmente considerando-se a variável temporal entre cada grupo relativo ao início e término da suplementação. Os resultados relativos a esta análise estão representados nas figuras 16, 17, 18 e 19.

Nas figuras 16 e 17 foi verificada uma melhora significativa no quadro depressivo segundo a escala AUTO-AVALIATIVA após 12 semanas de suplementação com óleo de peixe (grupo W3), teste t de Student; * $p \leq 0,05$ e grupo W3 AD, teste t de Student ;* $p=0,005$.

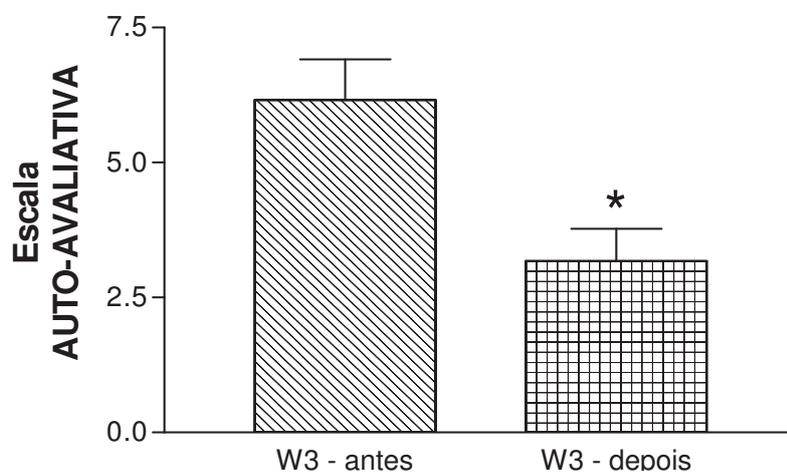


Figura 16. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo de peixe (4,0g/dia) durante 12 semanas na escala de Auto-avaliação. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p \leq 0,05$.

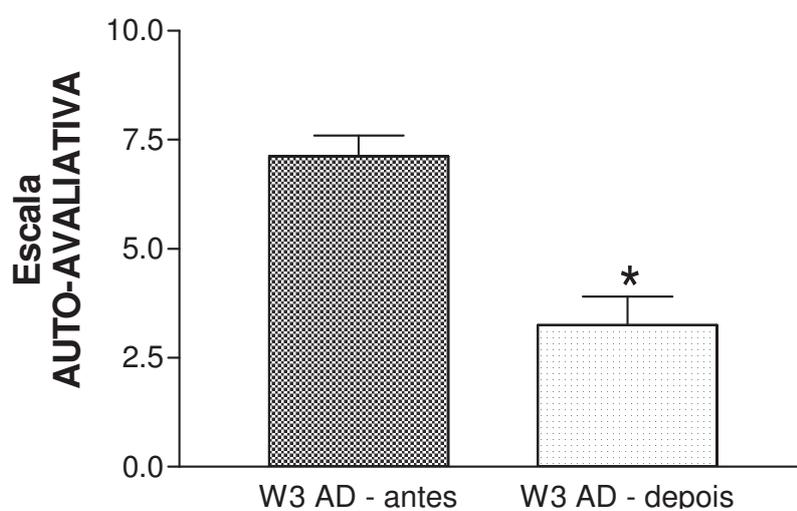


Figura 17. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo de peixe (4,0g/dia) e uso concomitante de antidepressivo, durante 12 semanas na escala de Auto-avaliação. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p \leq 0,005$.

A pontuação na escala AUTO-AVALIATIVA não apresentou alteração significativa entre o início e término do tratamento nos grupos placebo (teste t de Student $p=0,074$) ou placebo AD (teste t de Student $p=0,08$), figuras 18 e 19 respectivamente.

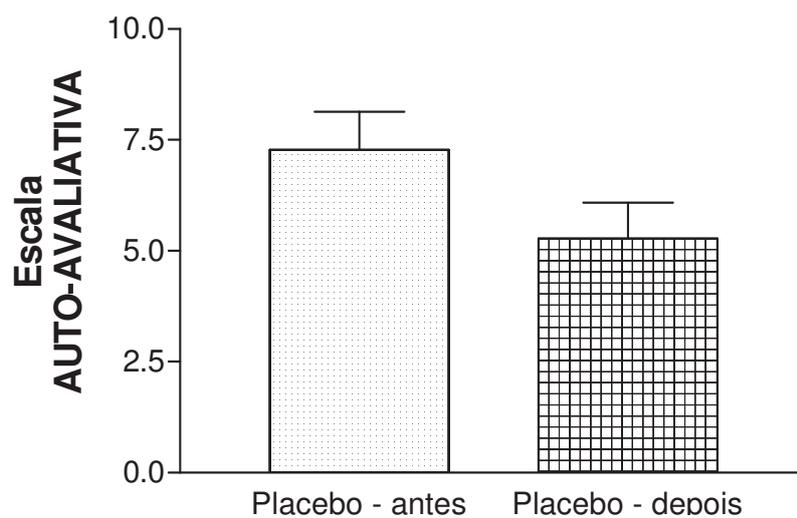


Figura 18. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo Mineral - PLACEBO (4,0g/dia) durante 12 semanas na escala de Auto-avaliação. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p=0,07$.

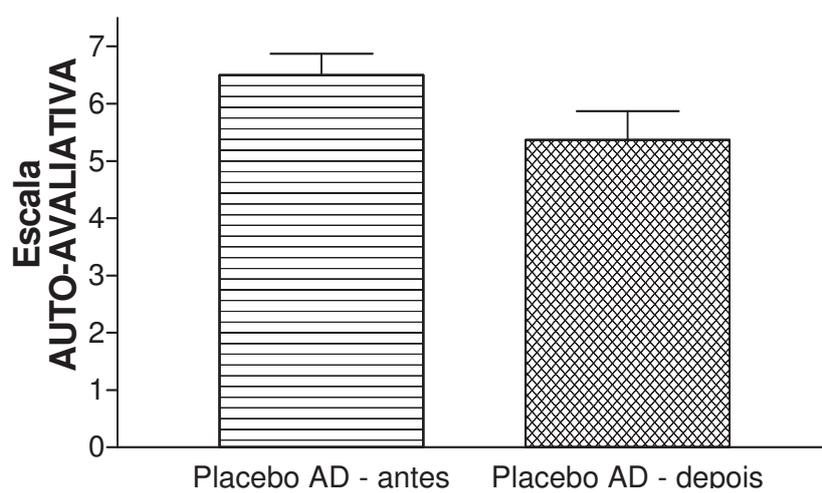


Figura 19. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo Mineral - PLACEBO (4,0g/dia) e uso concomitante de antidepressivo, durante 12 semanas na escala de Auto-avaliação. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p=0,08$.

Escala de Depressão MADRS

Os pacientes parkinsonianos foram submetidos à Escala de MADRS antes da suplementação com óleo de peixe ou óleo mineral e, como se pode observar na figura 20, não houve diferença entre os grupos, o que de fato não era esperado devido ao estágio inicial da pesquisa, com todos os pacientes apresentando alta pontuação na escala MADRS (ANOVA de uma via $F(3,25)=1,436$, $p=0,96$).

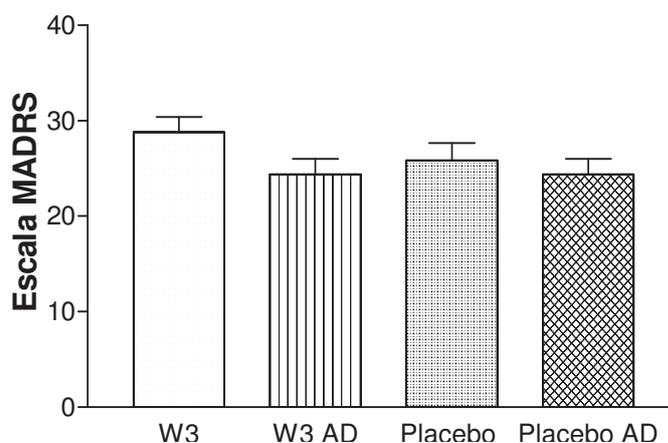


Figura20. Pontuação dos pacientes antes da suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste de MADRS. Os valores do escore total do teste foram expressos em média \pm EPM. W3, grupo suplementado com óleo de peixe (n=6); W3AD, grupo suplementado com óleo de peixe e uso de antidepressivo (n=8); PLACEBO, grupo suplementado com óleo mineral (n=7); PLACEBO AD, grupo suplementado com óleo mineral e uso de antidepressivo (n=8). ANOVA de uma via, $F(3,25)=1,436$; $p=0,96$.

Os resultados do teste de MADRS após 3 meses de suplementação com óleo de peixe ou óleo mineral estão representados na figura 21. Os pacientes suplementados com óleo de peixe constituindo os grupos W3 e W3 AD, obtiveram uma melhora do estado depressivo estatisticamente significativa quando comparados aos grupos placebo e placebo AD (ANOVA de uma via $F(3,25)=5,657$, $*p=0,01$, pós-teste Newman-Keuls).

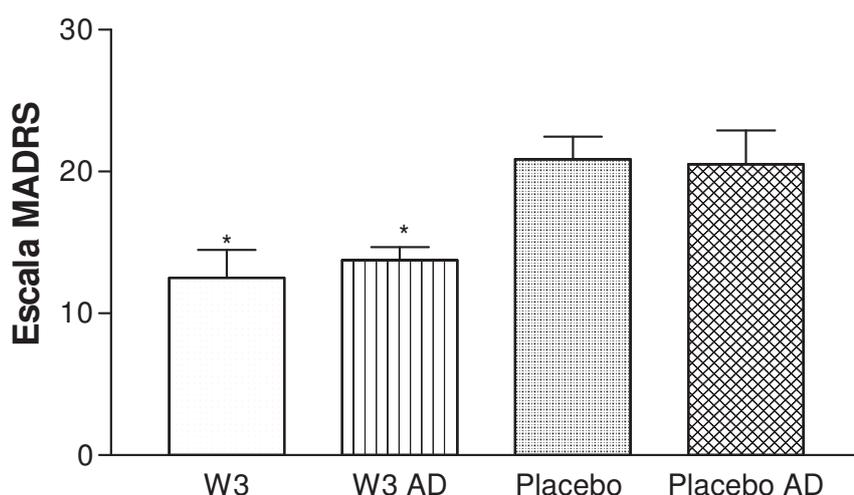


Figura21. Pontuação dos pacientes após a suplementação de óleo de peixe ou óleo mineral com uso ou não de antidepressivo no teste de MADRS. Os valores do escore total do teste foram expressos em média \pm EPM. W3, grupo suplementado com óleo de peixe (n=6); W3 AD, grupo suplementado com óleo de peixe e uso de antidepressivo (n=8); PLACEBO, grupo suplementado com óleo mineral (n=7); Placebo AD, grupo suplementado com óleo mineral e uso de antidepressivo (n=8). ANOVA de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls, * $p=0,01$ comparados com os grupos PLACEBO e PLACEBO AD.

Após a realização do teste ANOVA os grupos experimentais foram analisados individualmente considerando-se a variável temporal entre cada grupo relativo ao início e término da suplementação. Os resultados relativos a esta análise estão representados nas figuras 22, 23, 24 e 25.

Na figura 22 foi verificada uma alteração significativa no quadro depressivo segundo a escala MADRS comparando o início e o término das 12 semanas de suplementação com óleo de peixe (grupo W3), teste t de Student; * $p \leq 0,005$.

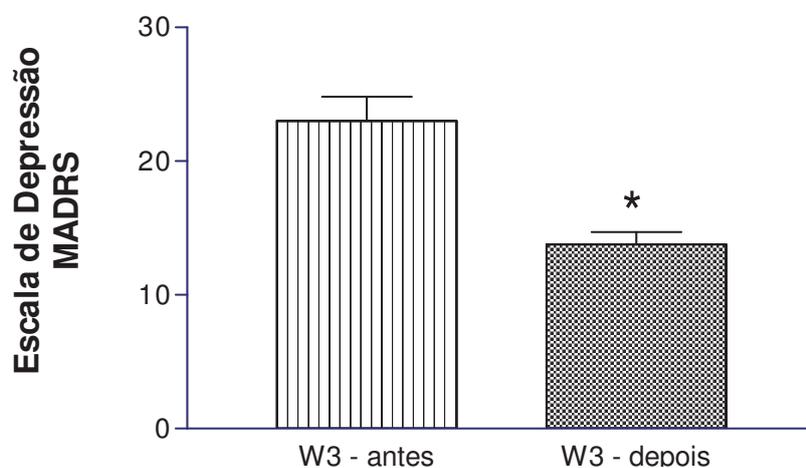


Figura 22. Pontuação dos pacientes w3 – grupo suplementado com óleo de peixe (4,0g/dia) (n=6), durante 12 semanas. Os pacientes foram avaliados na escala de Depressão de MADRS antes e após o período de suplementação. Os valores do escore total do teste estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, * $p \leq 0,005$

Com relação ao grupo W3 AD, suplementado com óleo de peixe e usando antidepressivo, também foi observada uma melhora significativa no quadro depressivo segundo a escala MADRS comparando o início e o término das 12 semanas de suplementação com óleo de peixe, teste t de Student; $*p \leq 0,001$. Figura 23.

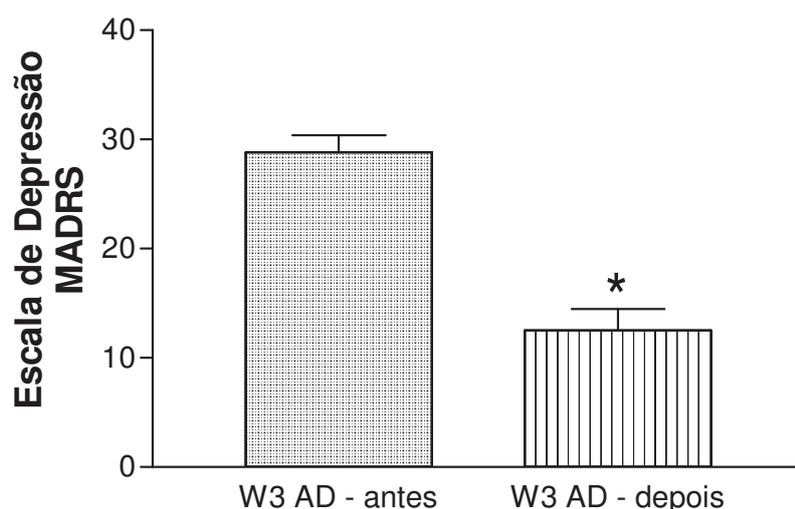


Figura 23. Pontuação dos pacientes w3 AD – grupo suplementado com óleo de peixe (4,0g/dia) (n=6) e uso concomitante de antidepressivo, durante 12 semanas. Os pacientes foram avaliados na escala de Depressão de MADRS antes e após o período de suplementação. Os valores do escore total do teste estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $* p \leq 0,001$

Nas figuras 24 e 25 estão representados os resultados comparativos entre antes e depois da suplementação de 12 semanas com óleo mineral, grupo PLACEBO ou óleo mineral com uso concomitante de antidepressivo, grupo PLACEBO AD. Não houve queda significativa da depressão na escala MADRS tanto para o grupo PLACEBO, teste t de Student; $p=0,084$, quanto para o grupo PLACEBO AD, teste t de Student; $p=0,25$.

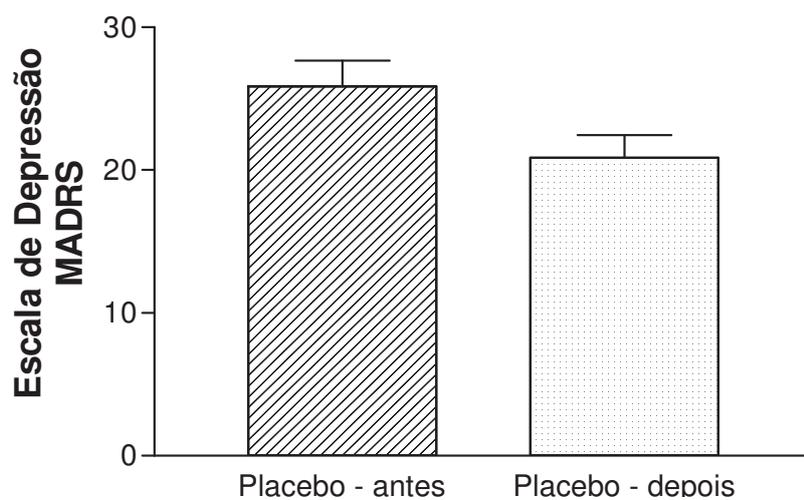


Figura 24. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo Mineral - PLACEBO (4,0g/dia) durante 12 semanas na escala de Depressão de MADRS. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p=0,084$

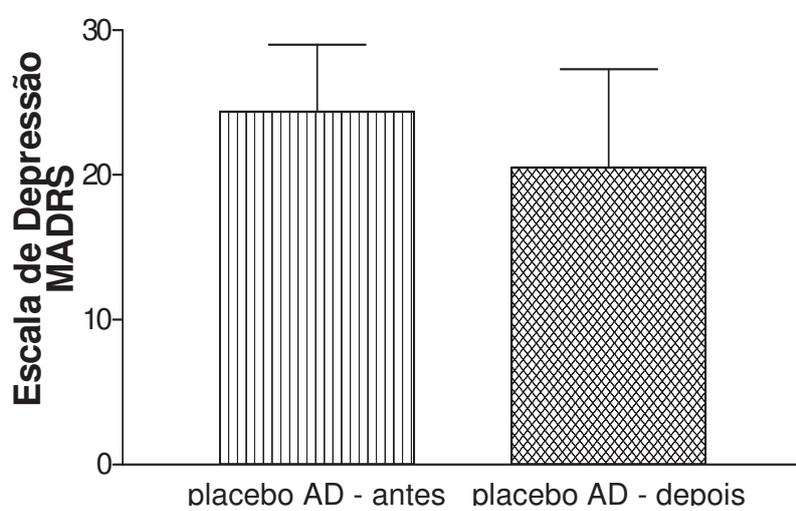


Figura 25. Pontuação dos pacientes antes e após suplementação de óleo Mineral - PLACEBO (4,0g/dia) e uso concomitante de antidepressivo, durante 12 semanas na escala de Depressão de MADRS. Os dados estão apresentados como média \pm EPM. Teste t de Student, $p=0,25$.

Perfil Lipídico

Concentração de Ácidos Graxos na Membrana dos Eritrócitos

O percentual de DHA encontrado nas membranas dos eritrócitos das amostras de sangue dos pacientes suplementados com óleo de peixe foi três vezes maior do encontrado no grupo placebo (ANOVA $F(1,8) = 6,57$; $p = 0,03$). O percentual de EPA somente foi encontrado nas amostras dos pacientes suplementados com óleo de peixe, não sendo observado nas outras amostras. Os percentuais dos demais ácidos graxos encontrados nas membranas dos eritrócitos estão representados na tabela 2.

Tabela 2: PERCENTUAL DE CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NAS AMOSTRAS DE SANGUE OBTIDAS DOS PACIENTES SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE PEIXE (w3) OU SUPLEMENTADOS COM ÓLEO MINERAL (PLA), COMPARADOS ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO DE 3 MESES, TESTE t DE STUDENT DE VARIÁVEIS DEPENDENTES PARA A AMOSTRA DE DHA ($t=3,75$; $p= 0,019^*$) . OS DADOS REPRESENTAM AS MÉDIAS \pm EPM.

MEMBRANA DOS ERITRÓCITOS				
Ácidos Graxos	W3 Antes n=6	W3 Depois n=5	Pla Antes n=4	Pla Depois n=5
Láurico (12:0)	0,78 \pm 0,38	0,42 \pm 0,42	0,20 \pm 0,20	0,25 \pm 0,25
Palmitoléico (16:1 n-7)	7,32 \pm 0,67	7,45 \pm 0,83	7,69 \pm 0,49	7,94 \pm 0,74
Araquidônico (20:4 n-6)	15,0 \pm 1,72	11,8 \pm 0,79	13,8 \pm 1,89	13,2 \pm 1,61
Linolêico (18:2 n-6)	32,2 \pm 1,01	31,6 \pm 0,84	35,5 \pm 2,39	35,7 \pm 2,91
Palmítico (16:0)	18,8 \pm 1,21	15,4 \pm 0,58	18,3 \pm 1,52	19,3 \pm 1,63
Esteárico (18:0)	24,3 \pm 2,06	27,7 \pm 2,08	24,1 \pm 5,16	22,6 \pm 5,69
DHA (22:6 n-3)	0,99 \pm 0,63	3,99 \pm 1,06*	0,33 \pm 0,23	0,37 \pm 0,65
EPA (20:5 n-3)	0	0,22 \pm 0,21	0	0
Índice de Insaturação	137,66	142,89*	135,87	134,36

*diferença significativa estatisticamente.

Faixa Etária dos Pacientes

Quanto à idade dos pesquisados não houve variabilidade significativa nas faixas etárias pesquisadas entre os grupos (ANOVA, $F= 0,59$; $p= 0,63$). As médias das faixas etárias nos grupos estão representadas na tabela 3.

Tabela 3: Médias das faixas etárias nos grupos suplementados com óleo de peixe (ômega 3), grupo óleo de peixe e uso concomitante de antidepressivo (ômega 3 + AD), grupo placebo (PLA) e grupo placebo e uso concomitante de antidepressivo (PLA + AD). Os dados representam as médias \pm EPM.

IDADE MÉDIA DOS PACIENTES PESQUISADOS	
GRUPOS	MÉDIAS
Ômega 3	63,6 \pm 2,6
Ômega 3 + AD	62,1 \pm 3,6
PLA	64,8 \pm 2,5
PLA + AD	67,5 \pm 3,11

Comparação da Escala de Hoehn & Yahr (escala para estadiamento da Doença de Parkinson): antes e após a suplementação de três meses.

A escala de Hoehn & Yahr, não apresentou variação significativa na graduação dos sintomas motores da doença de Parkinson, antes e depois da suplementação de três meses (ANOVA, $F= 1,80$; $p= 0,17$).

DISCUSSÃO

Os ácidos graxos poliinsaturados tem sido reportados recentemente como efetivos no tratamento de várias desordens psiquiátricas. É notório que as membranas celulares do cérebro são compostas de AGPIs da família ômega-3 que não podem ser sintetizados e devem ser obtidos pela dieta. A importância da incorporação dos AGPIs às membranas neuronais pode ser verificada frente à anormalidades na composição destes ácidos graxos nas membranas celulares, as quais podem gerar alteração da microestrutura de membrana resultando em anormalidades na transdução de sinal e regulação imunológica (Su, 2003). Desta forma, concentração diminuída de AGPIs nas membranas neuronais estão relacionados ao aparecimento de patologias. Por exemplo, nas desordens depressivas, a severidade dos sintomas é diretamente proporcional à diminuição dos AGPIs da família omega-3 às membranas dos eritrócitos (Levant, 2006; Farooqui, 1999; Edwards, 1997; Pass, 1998; Adams, 1996).

A depressão ocorre em aproximadamente metade dos pacientes com doença de Parkinson, ocasionando ampliação das incapacidades motoras e cognitivas e, em muitos casos o tratamento com antidepressivos se faz necessário. No entanto, devido a muitos fatores a serem considerados na escolha da medicação por decorrência de seus efeitos colaterais e reações adversas em conjunto com as medicações antiparkinsonianas, o uso de antidepressivos apresenta controvérsias (Vajda, 2005). Uma vez que a depressão no paciente parkinsoniano é reconhecida e efetivamente tratada a qualidade de vida, cognição e mobilidade melhoram significativamente.

Neste trabalho, a graduação da doença de Parkinson foi medida através da escala unificada de avaliação para a doença de Parkinson (UPDRS) e na pontuação da escala de Hoehn & Yahr, que permite um estadiamento da doença. Estas escalas medem a incapacidade sofrida pelo paciente na performance das mais variadas atividades da vida diária, tais como: andar, vestir-se e comer. Também incluem escores para congelamento (do termo inglês freezing), incapacidade causada pelo tremor e severidade dos sintomas sensoriais (Pilo, 1996), medindo o impacto dos sintomas da doença em termos de inabilidades físicas e efeitos no cotidiano. Após a suplementação de três meses realizou-se uma comparação entre o estadiamento da doença e não houve diferença estatisticamente significativa no grau da doença de Parkinson dos pacientes analisados. Este evento já era esperado visto que um dos fatores de exclusão do paciente da pesquisa seria uma alteração maior de 0,5 pontos na escala de Hoehn&Yahr, para que as questões motoras muito presentes e com grande influência na DP não viessem a interferir nos sintomas depressivos em avaliação.

Nosso modelo experimental visava inicialmente avaliar oitenta pacientes no total da pesquisa, sendo que o número final ficou em trinta e um pacientes. No total da triagem psiquiátrica inicial foram avaliados 250 pacientes com indicação de depressão na Associação Paranaense de Portadores de Parkinsonismo. Deste montante foram excluídos os pacientes com sintomas demenciais, com outras alterações psiquiátricas, com histórico de alcoolismo e usuários de drogas e, os pacientes que passaram a fazer uso de medicação antidepressiva ou psicotrópicos em período inferior a um ano do início da pesquisa e, finalmente, os pacientes que quiseram iniciar uso de antidepressivo após o diagnóstico durante a triagem para a pesquisa. De todos aqueles que

iniciaram a pesquisa, três pacientes que estavam sendo suplementados com óleo de peixe tiveram que ser retirados da pesquisa, dois descontinuaram a suplementação por terem apresentado problemas gastrintestinais e o terceiro por necessitar de cirurgia de emergência na coluna, o que o impossibilitou de realizar a suplementação no período de internamento.

Apesar do número reduzido de pacientes avaliados, foi encontrado diminuição dos sintomas depressivos. Assim, demos descontinuidade à esta pesquisa por questões éticas, uma vez que, não é aconselhável submeter novos pacientes aos procedimentos experimentais, quando o efeito esperado é encontrado. A quantidade de suplementação com óleo de peixe utilizada neste trabalho teve como base vários trabalhos de pesquisa realizados com humanos (Richardson, 2002; Peet, 2002; Stoll, 2001; Zanarini, 2003; Donadio, 2001; Su, 2003; Aronson, 2001; Boston, 2004; Hakkarainem, 2004; Fux, 2004). Nestas investigações o uso de suplementação conjunta ou isolada dos ácidos graxos DHA e EPA, com doses inferiores a 3 gramas diárias não foi capaz de causar redução significativa de sintomas de depressão maior, desordem bipolar, neuropatias, esquizofrenia, transtorno obsessivo-compulsivo, entre outros.

A média da faixa etária dos pacientes participantes da pesquisa em todos os grupos foi de 64,5 anos \pm erro padrão da média (tabela 3) e, entre os grupos não houve variação significativa das idades entre os pacientes. Quanto ao gênero, 42% dos pacientes são do sexo masculino e 58% do sexo feminino.

O uso da escala de BECK para investigar depressão em pacientes com doenças físicas, como a doença de Parkinson, tem sido criticado, pois alguns dos itens da escala são baseados em sintomas somáticos e poderiam ser afetados pela patologia física (Pilo, 1996). Porém, outros estudos demonstram a escala de Beck como uma eficiente medida da depressão em pacientes com

doença de Parkinson (Shulman, 2002). Os escores da escala de BECK dos quatro grupos testados, quando analisados pelo teste de ANOVA, não apresentaram redução significativa dos sintomas depressivos entre os grupos suplementados (fig. 2) e não suplementados (fig. 3), embora os grupos suplementados demonstrem uma tendência à redução. Quando os grupos foram avaliados individualmente antes e depois da suplementação através do teste t de medidas repetidas, observou-se melhora dos sintomas depressivos em todos os grupos. Porém, ao olharmos as diferenças de pontuação na escala de Beck, pode-se verificar uma diferença acima de 5 pontos para os grupos que foram suplementados com omega-3 (fig. 4 e 5) e abaixo de 5 pontos para os grupos placebo (fig.6 e 7), salientando que o nível de pontuação em que se pode considerar uma melhora dos sintomas depressivos na escala de BECK segundo a literatura é de 5 pontos, caracterizando uma melhora clínica mais acentuada nos grupos suplementados com óleo de peixe (Gorestein, 1998; Calil, 1998).

Na escala CGI pudemos observar que na comparação entre os efeitos da suplementação dos quatro grupos entre si, após a suplementação, os grupos óleo de peixe demonstraram melhora significativa dos sintomas depressivos com relação aos grupos placebo (fig. 9). Porém na comparação dentro de cada grupo através de medidas repetidas, todos os grupos demonstraram uma melhora significativa (fig. 10,11,12 e 13), demonstrando novamente um efeito placebo ocorrido nesta escala, assim como aquele ocorrido na escala de BECK.

Torna-se importante evidenciar que o efeito placebo (Damico, 2002) nos pacientes com doença de Parkinson é substancialmente mais elevado, por estar relacionado aos circuitos de recompensa, como podemos constatar nos

trabalhos de Fuente-Fernández et.al. (2001, 2002 e 2004). Estes trabalhos mostram que, nos pacientes com doença de Parkinson, o efeito placebo pode estar relacionado à expectativa de benefício clínico e poderia estar sendo mediada pela liberação de dopamina nas vias nigroestriatais e no núcleo acumbens.

A escala AUTO-AVALIATIVA, além da escala de BECK, é também uma escala em que o próprio paciente realiza o julgamento de sua condição patológica e, portanto, tem suas críticas por ser um método de avaliação subjetivo e dependente de características de análise individuais. Apesar das críticas, esta escala é válida principalmente para a avaliação clínica e, contudo apresentou-se estatisticamente semelhante aos resultados da escala MADRS, que é heteroavaliativa e uma das mais utilizadas em pesquisas científicas.

A escala MADRS possui grande utilização em pesquisas com parkinsonianos devido à exclusão em seus itens de sintomas somáticos, portanto a melhora de sintomas somáticos não estaria, neste caso, diretamente influenciando a melhora da depressão. Nesta escala observamos nos grupos W3 e W3 AD uma melhora dos sintomas depressivos comparado aos grupos PLACEBO e PLACEBO AD tanto na avaliação entre todos os grupos (fig. 21), quanto na comparação individual entre cada grupo antes e após a suplementação (fig. 22,23,24 e 25). Esta ocorrência comprova nossa hipótese de efeito antidepressivo do óleo de peixe. É também importante ressaltar na escala MADRS o alto índice de remissão dos sintomas depressivos nos pacientes suplementados com óleo de peixe. Foi demonstrada a diminuição dos sintomas depressivos com remissão acima de 50% da pontuação segundo a escala MADRS, em 42% dos pacientes suplementados com óleo de peixe,

enquanto que apenas 6% dos pacientes do grupo placebo apresentaram remissão maior que 50% dos sintomas depressivos.

Sabe-se que existem estudos relacionando o óleo de peixe a um fator aditivo a medicações antidepressivas, quando o início do tratamento com antidepressivo e o óleo de peixe ocorre simultaneamente (Nemets, 2002). As hipóteses para estes resultados são de somação dos efeitos antidepressivos das duas substâncias ou do funcionamento do óleo de peixe como um catalisador do medicamento. No nosso trabalho foi verificado o resultado do óleo de peixe como tendo efeito antidepressivo em pacientes que já faziam uso de medicação antidepressiva num período superior a um ano e ainda apresentavam diagnóstico de depressão maior. No entanto, novos estudos se fazem necessários para determinar o papel dos AGPIs, DHA e EPA, sobre os sintomas depressivos. Estes ácidos graxos possuem efeito antidepressivo *per se*, ou estariam através de sua atuação nas membranas, favorecendo a ação dos medicamentos de alguma forma?

Pesquisas recentes têm indicado que o desequilíbrio entre os ácidos graxos essenciais no corpo humano vem ocasionando problemas relacionados a importantes funções neuronais (transdução de sinal, modificações na integridade das membranas neuronais e alterações na fluidez de membrana) estariam ligados à depressão (Young, 2003; Raeder, 2006; Fraiss, 2007). Existem inúmeros trabalhos tentando definir quais ácidos graxos atuam diretamente sobre os sintomas depressivos e quais seriam os mecanismos de ação envolvidos na melhora destes sintomas. O que já se sabe é que baixas concentrações de DHA nas membranas neuronais predizem baixas concentrações de ácido 5-hidroxiindolacético no fluído cérebro espinhal, um marcador de serotonina no cérebro, o qual estaria relacionado à depressão.

Em trabalhos desenvolvidos recentemente com a suplementação de AGPIs da família ômega-3, além da utilização de EPA e DHA em dosagens diferenciadas, também se verifica uma grande variação da dosagem da suplementação, podendo esta estar relacionada ao sucesso do tratamento ou não. Estudos demonstrando utilização aproximada de 2g/dia tanto de DHA quanto de EPA, não demonstraram melhora dos sintomas em estudo (depressão maior, desordem bipolar, neuropatias, esquizofrenia, transtorno obsessivo-compulsivo) em várias pesquisas (Marangell et al., 2006; Hakkarainem, 2004; Donadio, 2001; Keck, 2006; Fux, 2004). Já estudos relatando dosagens diárias maiores demonstraram efeitos na diminuição dos sintomas (Stoll, 1999; Munehira, 1999; Raeder, 2006; Sontroop, 2006; Amminger, 2007; Decsi, 2007; Murck, 2007), o que torna a dosagem diária de suplementação uma das questões importantes a serem consideradas.

Outro fator a ser avaliado é qual dos dois ácidos graxos, DHA ou EPA tem efeito sobre os sintomas depressivos? Os resultados deste estudo confirmam a incorporação do DHA nas membranas dos eritrócitos dos pacientes que foram suplementados com o óleo de peixe, não apresentando alteração significativa nos outros ácidos graxos analisados no perfil lipídico antes e após os três meses de tratamento, inclusive a incorporação estatisticamente insignificante do EPA (tabela 2). Em alguns estudos realizados utilizando somente suplementação com EPA (Keck, 2006; Fux, 2004), não foi verificado efeito significativo sobre a melhora dos sintomas depressivos. Já em estudos utilizando somente o DHA (Horrocks, 1999; Levant, 2006; Lim, 2005) foi verificado um efeito na diminuição dos sintomas da depressão. Em nosso experimento, pudemos verificar o efeito sobre a diminuição dos sintomas

depressivos, porém são necessários maiores estudos para que se possa afirmar o papel mais evidente do DHA.

Uma diversidade de patologias neurológicas estão envolvidas com alterações do metabolismo cerebral e levanta-se a hipótese de que deficiências nos AGPIS estejam relacionadas com o desencadear de certas patologias. Os principais ácidos graxos da família ômega-3 tem papéis distintos, porém complementares na função cerebral. Em estudos *post-mortem* realizados com pacientes portadores da doença de Alzheimer verificaram-se baixos níveis de DHA nas membranas neuronais, porém o que ainda não se sabe é se este fato seria causado por baixo consumo de DHA ou diminuição de sua síntese com o avanço da idade (Boston, 2004).

Estudos com humanos idosos demonstraram a diminuição da capacidade em converter ácido α -linolênico (ALA) em DHA, diferentemente do que acontece em crianças e jovens e nas pesquisas com animais (Freemantle, 2005), parte da razão para que isto aconteça é que nos indivíduos mais idosos o ALA é mais rapidamente β -oxidado. Em trabalhos verificando a incorporação lipídica nas membranas dos eritrócitos de pacientes idosos (de 61 a 99 anos) foi comprovada a diminuição de sua incorporação nas membranas, maior suscetibilidade ao estresse oxidativo, aumento da peroxidação lipídica e diminuição de quantidade de AGPIS nas membranas acarretando diminuição de fluidez das mesmas (Rabini, 2002).

Outro fator importante relacionado à composição dos AGPIS nas membranas de indivíduos idosos é a participação das enzimas envolvidas em sua síntese à partir da dieta. Sabe-se que a atividade da $\Delta 6$ e $\Delta 5$ desaturase declina com o envelhecimento, fato que suportaria a idéia da suplementação alimentar com AGPIS de cadeias longas C20 e C22, pois assim o indivíduo já

faria a ingestão do ácido graxo em seu estado final não necessitando da atuação destas enzimas para sua incorporação (Youdim, 2000). O declínio de DHA nas membranas neuronais em pacientes idosos ocorre em função do aumento de produtos de peroxidação lipídica observados no envelhecimento.

A diminuição de AGPIs nas membranas dos eritrócitos em pacientes depressivos é verificada com grande significância em inúmeros trabalhos (Edwards, 1997; Pass, 1999; Farooqui, 2000). Em nossa pesquisa foi verificado no perfil lipídico a dosagem muito pequena de DHA e ausência de EPA nas amostras de sangue retiradas antes da suplementação. Após os três meses de suplementação, verificou-se um aumento do DHA em três vezes, com relação ao perfil anterior à suplementação, porém, o EPA apresentou uma incorporação pequena e não significativa estatisticamente. Em estudo realizado com Ethil-EPA (E-EPA) em pacientes com doença de Alzheimer, tomando a dosagem de 1 grama de E-EPA ao dia, foi evidenciada a incorporação significativa na membrana dos eritrócitos (Boston, 2004). Outra pesquisa com pacientes diagnosticados com doença de Huntington e também tratados com E-EPA apresentaram melhora das funções motoras afetadas pela doença, porém ainda não se pode determinar se o efeito é diretamente relacionado ao EPA ou a seus metabólitos – possivelmente o DHA (Murk, 2007).

Já em nosso estudo, em que a suplementação foi de 720 mg ao dia de EPA, e não houve incorporação significativa, podemos supor que a dosagem de EPA foi muito pequena para que houvesse incorporação significativa, ou que o grupamento Ethil fosse responsável por esta maior incorporação através de mecanismo ainda desconhecido. Também se verifica no trabalho de Boston (2004) que os pacientes com doença de Alzheimer apresentavam o ácido graxo EPA na membrana dos eritrócitos quando examinados antes da

suplementação, todavia em nosso estudo, os pacientes com doença de Parkinson avaliados não apresentaram este ácido graxo nas membranas dos eritrócitos e apresentaram pequena porção de DHA, confirmando os dados de diminuição desses ácidos graxos com o envelhecimento, porém levantando uma questão a ser estudada futuramente: as modificações causadas pela doença de Parkinson que alteram a incorporação de AGPIs nas membranas.

Embora seja um método indireto de análise do perfil lipídico, estudos sugerem que se houve incorporação na membrana dos eritrócitos, esta também ocorreu nas membranas neuronais (Edwards, 1998; Lim, 2000). Estes dados nos permitem sugerir que uma suplementação crônica com acréscimo de apenas 1.2 g/dia (4 X 120mg de DHA e 180 mg de EPA) de ácidos graxos da família ômega-3 como suplementação alimentar representa um fator de incorporação aumentada de ácidos graxos poliinsaturados às membranas celulares alterando a função neuronal de maneira a proteger os indivíduos testados ao desenvolvimento de neuropatologias, como a depressão. É importante ressaltar que a melhora dos sintomas depressivos foi observada mesmo não havendo alterações significativas dos sintomas da doença de Parkinson, caracterizando um efeito direto sobre os sintomas depressivos.

Seriam importantes trabalhos desenvolvidos no sentido de avaliar os mecanismos de ação de ômega-3 no caso da depressão, o que já se sabe é que baixas concentrações de DHA nas membranas neuronais predizem baixas concentrações de ácido 5-hidroxiindolacético no fluído cérebro espinhal, que é um marcador de serotonina no cérebro e estaria relacionado à depressão (Martin, 2003). Outros mecanismos necessitam de mais estudos, tais como a atuação dos AGPIs sobre outros fatores importantes relacionados à depressão, como no caso do fator neurotrófico BDNF (Brain Derived

Neurotrophic Factor) que já está amplamente associado a esta patologia (Karege, 2002). Desta forma, teríamos a evidência comportamental de diminuição dos sintomas depressivos com a suplementação de óleo de peixe composto por AGPIS da família ômega-3 suportada cientificamente pela incorporação lipídica confirmada por este estudo associada à dosagem de um fator neurotrófico que se apresenta diminuído na depressão.

A evidência do efeito antidepressivo dos ácidos graxos essenciais da família ômega-3 é recente, contudo, torna-se uma boa notícia no tratamento para depressão, principalmente por ser um suplemento alimentar com poucos efeitos colaterais e principalmente no caso do paciente parkinsoniano, por já fazer uso de muitas medicações que possuem uma série de efeitos adversos.

As cápsulas de óleo de peixe são amplamente comercializadas sem, no entanto, estarem cientificamente relacionadas ao tratamento da depressão, portanto os resultados deste trabalho podem criar o interesse na geração de patente regularizando o efeito antidepressivo do óleo de peixe.

Após o término da coleta de dados, os pacientes finalizaram a suplementação, porém continuaram a ser acompanhados pelo setor de psicologia da APPP. Este estudo naturalístico longitudinal de acompanhamento dos pacientes ocorreu por 6 meses após o término da suplementação e foram detectados casos de retorno dos sintomas depressivos nos pacientes que haviam apresentado melhora dos sintomas após a suplementação com óleo de peixe, possivelmente devido ao declínio do incremento de ácidos graxos à dieta diária, demonstrando a necessidade de maior quantidade de pesquisas nesta área.

CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos neste trabalho e os dados encontrados na literatura podemos concluir que:

- 1) A suplementação de 4 gramas ao dia com óleo de peixe contendo em cada cápsula de 1 grama 180 mg de EPA e 120 mg de DHA, alterou o perfil lipídico da membrana dos eritrócitos dos pacientes resultando na incorporação significativa de DHA, porém não houve incorporação de EPA.

- 2) Os pacientes portadores da Doença de Parkinson e que também foram diagnosticados com Depressão Maior, que faziam uso ou não de medicação antidepressiva e que foram suplementados com óleo de peixe contendo AGPIs da família ômega-3, avaliados em seus sintomas depressivos pelo Inventário de Depressão de BECK, Escala de Impressão Clínica Global e pela Escala de Avaliação da Depressão de Montgomery-Asberg apresentaram diminuição significativas destes sintomas após o período de suplementação de 3 meses, sugerindo o efeito antidepressivo dos AGPIs da família ômega-3.

REFERÊNCIAS

ABUSHUFA, R.; REED, P.; WEINKOVE, C. Fatty acids in erythrocytes measured by isocratic HPLC. *Clinical Chemistry (1994) 40: 1707-1712.*

ADAMS, P.B.; LAWSON, S.; SANIGORSKI, A.; SINCLAIR, A.J. Arachidonic acid to eicosapentaenoic acid ratio in blood correlates positively with clinical symptoms of depression. *Lipids (1996) 31: S157-S161.*

AGENCY FOR HEALTHCARE RESEARCH AND QUALITY. Effects on omega-3 fatty acids on cognitive function with aging, dementia, and neurological diseases. Paper. Evidence Report/ Technology Assesment, AHRQ Publication, 2005.

AGUENOT A et al. *Depresión et Maladie de Parkinson: étude d'une série de 135 parkinsoniens.* Can. J. Neurol. Sci. (2002) 29:139-146.

ALAM,S.Q.; REN,Y.F.; ALM,B.S. *(³H)forskolin-and (³H)dihidroalprenolon-binding sites and adenylate cyclase activity in heart of rats fed diets containing different oil.* Lipids (1988) 23:207-213.

ALEX, K.D.; PEHEK, E.A. *Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission.* Pharmacology & Therapeutics (2007)113:296–320.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (1994): *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.* 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Press.

AMMINGER, G.P.; BERGER, G.E. SCHAFFER, M.R.; KLIER, C.; FRIEDRICH, M.H.; FEUCHT, M. *Omega-3 fatty acids supplementation in children with*

autism: a double blind randomized, placebo-controlled pilot study. Biological Psychiatry (2007) 61: 551-553.

AMORIN, P. *Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais.* Revista Brasileira de Psiquiatria (2000) 22, 106-115.

ANAND, A.; INNIS, R.B.; SIBYL, J.P.; MAREK, K.L.; CHARNEY, D.S. *Brain spect imaging in □assidão□'s disease associated with depression.* Biological Psychiatry (1998) 43, 1S-133S.

ANAND, A.; CHARNEY, D.S. *Norepinephrine Dysfunction in Depression.* Journal of Clinical Psychiatry (2000) 61 Suppl.10: 16-24.

ANDRADE, L.A. F.; SILVA, S.M.A. *Características cínicas da doença de Parkinson em: Doença de Parkinson – um guia prático para pacientes e familiares/ Hélio Teive (org) – São Paulo: Lemos Editorial, 2000.*

AKKER, M.V.D. *Depressed at Risk of Parkinson's Disease.* Neurology (2002) 58:1501-1504.

ARONSON, W.; GLASPY, J.A.; REDDY, S.T.; REESE, D.; HEBER, A.; BAGGA, D. *Modulation of omega-3/ omega-6 polyunsaturated ratios with dietary fish oils in men with prostate cancer.* Urology (2001) 58 (2): 283-288.

ASSIES, J.; LOK, A.; BOCKTING, C.L.; WEVERLING, G.J.; LIEVERSE, R.; VISSER, I.; ABELING, N.G.G.M.; DURAN, M.; SCHENE, A.H. *Fatty acids and homocysteine levels in patients with recurrent depression: na explorative pilot study.* Prostaglandis, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 70 (2004)349-356.

BALLOU, L.R AND CHEUNG. W.Y. *Inhibition of human platelet phospholipase A₂ activity by unsaturated fatty acids.* P.N.A.S. USA (1985) 82: 371-75.

BRITISH NUTRITION FOUNDATION. N-3 Fatty Acids and Health. Briefing paper. London: BNF (1991) 1-44.

BJARKAM, C.R.; SORENSEN, J.C. *Therapeutic strategies for neurodegenerative disorders: emerging clues from Parkinson's disease*. Biological Psychiatry(2004) 56: 213-216.

BOSTON, P.F.; BENNETTA, A.; HORROBIN, D.F.; BENNETT, C. *Ethyl-EPA in Alzheimer's disease—a pilot study*. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 2004) 71:341–346.

BROADHURST, C.L.; WANG, Y.; CRAWFORD, M.A.; CUNNANE, S.C.; PARKINTONG, J.E.; SCHMIDT, W.F. Brain-specific lipids from marine, leucistrine, or terrestrial food resources: potential impact on early African *Homo sapiens*. Comparative Biochemistry and Physiology part B(2002)131:653-673.

BURN, D.J. *Depression in Parkinson's disease*. Eur.J. Neurol. (2002) 9 Suppl 3:44-54.

CALIL, H.M.; PIRES, M.L.N. *Aspectos gerais das escalas de avaliação de depressão*. Revista de Psiquiatria Clínica (1998) 25 (5): 240-244.

CARRIE, I.; CLÉMENT, M.; JAVEL, D.; FRANCÉS, H.; BOURRE, J-M. *Phospholipid supplementation reverses behavioral and biochemical alterations induced by n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in mice*. Journal of lipid research (2000) 41: 473-480.

CARTER, J. F. *Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition*. Cereal Foods world. (1993) 38: 753-59.

CHALON, S; DELION-VANCASSEL, S.; BELZUNG, C.; GUILLOTEAU, D.; LEGUISQUET, A.M.; BESNARD, J.C.; Durand, G. *Dietary fish oil affects*

monoaminergic neurotransmission and behavior in rats. Nutritional neurosciences, (1998) 128: 2512-2519.

CHALON, S.; VANCASSEL, S.; ZIMMER, L.; GUILHOTEAU, D.; DURAND, G. *Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: Focus on monoaminergic neurotransmission*. Lipids (2001) 36:937-944.

CRAWFORD, M.A.; CASPERD, N.M., SINCLAIR, A.J. The long chain metabolites of linolenic and linolenic acids in liver and brains of herbivores and carnivores. Comparative Biochemistry and Physiology (1972) 54B:395-401.

DAMICO, K.;STOLL,.A.L.; MARANGELL, L.B.; COHEN, B.M. *How blind is double blind? A study of fish oil versus placebo*. Prostaglandins, Leucotriens and Essential Fatty Acids (2002) 66(4), 393-395.

DE LA PRESA OWENS, S.; INNIS, S.M. *Diverse, region-specific effects of addition of arachadonic and docosahexaenoic acids to formula with low or adequate linoleic and α -linolenic acids on piglet brain monoaminergic neurotransmitters*. Pediatric Res. (2000) 48:125-130.

DE LAU, L.M.L.; BORNEDROEK, M.; WITTEMAN, J.C.M.; HOSNAN, A.; KOUDESTAAN, P.J.; BRETELER, M.N.B. Dietary of fatty acids and the risk of Parkinson disease. Neurology(2005)64: 2040-2045.

DECSI T.; SZABO, E.; BURUS, I.; MAROSVO'IGYI, T.;KOZA'RI,A.; ERNHARDT,E. *Low contribution of n-3 polyunsaturated fatty acids to plasma and erythrocyte membrane lipids in diabetic young adults*. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (2007) 76:159–164.

DE VRIESE, S.R.; CHRISTOPHE, A.B.; MAES, M. *Lowered serum n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) levels predict the occurrence of postpartum depression: Further evidence that lowered n-PUFAs are related to major depression*. Life Sciences 73 (2003) 3181-3187.

DONADIO, J.V.; LARSON, T.S.; BERGSTRALH, E.J.; GRANDE, J. *A randomized trial of high-dose compared with low-dose omega-3 fatty acids in severe IgA neuropathy*. Journal of American Society of Nephrology (2001) 12, 791-799.

EDWARDS, R.; PEET, M.; SHAY, J.; HORROBIN, D. *Omega-3 polyunsaturated fatty acid levels in the diet and in red blood cell membranes of depressed patients*. Journal of Affective Disorders 48 (1998) 149-155.

ERREA J.M. ; ARA J.R. *Depresión y enfermedad de Parkinson*. Neurology (1999) 28 (7):694-698.

FAROOQUI, A.A.; HORROCKS, L.A.; FAROOQUI, T. *Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders*. Chemistry and Physics of Lipids (2000) 106: 1-29.

FERNSTROM, J.D. *Effects of dietary fatty acids on neuronal function*. Lipids (1999) 34: 161-169.

FOLCH, J.; LEES, M. ; STANLEY, G.H.S. *A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues*. Journal Biological Chemistry (1957) 226: 497.

FOLSTEIN, M.F.; FOLSTEIN, S.E.; MCHUGH, P.R. *Mini-Mental State: a practical method for grading the cognitive state of patients for clinician*. J Psychiatr Res (1975)12:189-198.

FORCIEA, M.A *Segredos em Geriatria: respostas ao dia-a-dia em rounds na clínica, em exames orais e escritos*. Porto Alegre: Artes Médicas, 1998.

FRAIS, A.T. *Depression and the causal role of specific memory system degenerations: Link may be supported by reported therapeutic benefits of Omega 3 fatty acids*. Medical Hypotheses (2007) xxx xxx-xxx.

FREEMAN, M.P.; Omega-3 fatty acids in psychiatry: a review. *Ann. Clinical Psychiatry* (2000)12:159-165.

FREEMANTLE, E.; VANDAL, M.; TREMBLAY-MERCIER, J.; TREMBLAY, S.; BLACHERE, J.; MICHEL, E. *Omega-3 fatty acids, energy substrates, and brain function during aging*. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* (2006),75(3):213-220.

FUENTE-FERNANDEZ, R.; SCHULTZER, M.; STOESSL, A.J. *Placebo mechanisms and reward circuitry: clues from Parkinson's disease*. *Biological Psychiatry* (2004) 56, 67-71.

FUENTE-FERNANDEZ, R.; STOESSL, A.J. *The placebo effect in Parkinson's disease*. *TRENDS in Neurosciences* (2002) 25(6) 302-305.

FUENTE-FERNANDEZ, R.; SCHULTZER, M.; STOESSL, A.J. *Expectation and dopamine release: mechanism of the placebo effect in Parkinson's Disease*. *Science* (2001) 293, 1164-1166.

FUX, M.; BENJAMIM, J.; NEMETS, B. *A placebo-controlled cross-over trial of adjunctive EPA in OCD*. *Journal of Psychiatric Research* (2004) 38, 323-325.

GERSHON, A.; VISHNE, T.; GRUNHAUS, L. *Dopamine D2-like receptors and the antidepressant response*. *Biological Psychiatry* (2007) 61, 145-153.

GIBSON, R.A. *Australian fish- An excellent source of both arachidonic acid and w-3 polyunsaturated fatty acids*. *Lipids* (1983) 18: 743-752.

GORESTEIN, C. ANDRADE, L. *Inventário de depressão de Beck: propriedades psicométricas da versão em português*. *Rev. Psiq. Clín* (1998) 25(5) Edição Especial: 245-250.

GREEN, P.; HERMESH, H.; MONSELISE, A.; MAROM, S.; PRESBURGER, G.; WEIZMAN, A. *Red cell membrane omega-3 fatty acids are decreased in nondepressed patients with social anxiety disorder.* European Neuropsychopharmacology (2006) 16, 107—113.

GROSSMANN, Marylandes. *Com Parkinson e de bem com a vida: a experiência de uma parkinsoniana.* São Paulo: Lemos Editorial, 1998.

HAKKARAINEM, R.; PARTONEM, T.; HAUKKA, J.; VIRTAMO, J.; ALBANES, D.; LÖNNQVIST, J. *Is low dietary intake of omega-3 fatty acids associated with depression?* American Journal of Psychiatry (2004) 161, 567-569.

HAWLEY, C.J.; GALE, T.M.; SIVAKUMARAN, T. *Defining remission by cut off score on the MADRS: selecting the optimal value.* Journal of Affective Disorders (2002) 72, 177-184.

HOLMAN, R.T. *The slow discovery of the importance of ω 3 essential fatty acids in human health.* The journal of Nutrition (1998) 128 n 2, 427-433.

HIBBELN, J.R. Fish oil consumption and major depression. Lancet (1998) 351: 1213.

HOLIAN, O. AND NELSON, R. Action of long-chain fatty acids on protein kinase C activity: Comparison of omega and omega-3 fatty acids. Anticancer Research (1992) 12: 975-980.

HORROCKS, L. *A Health benefits of docosahexanoic acid (DHA).* Pharmacological Research (1999)40:211-225.

HORROBIN, D.F.; BENETT, C.N. *Depression and bipolar disorder: relationships to impaired fatty acid and phospholipids metabolism and to diabetes, cardiovascular disease, immunological abnormalities, cancer, ageing and osteoporosis. Possible candidate genes.* Prostaglandins, Leukotriens and Essential Fatty Acids (1999) 60 (4): 217-234.

INNIS, S.M. *The role of dietary n-6 and n-3 fatty acids in the developin brain.* Developmental Neuroscience (2000) 22: 474-480.

JULIEN, C.; BERTHIAUME, L.; HADJ-TAHAR, A.; RAJPUT, A.H.; BEDARD, P.J.; DI PAOLO, T.; JULIEN, P.; CALON, F. *Postmortem brain fatty acid profile of levodopa-treated Parkinson diseased patients and parkinsonian monkeys.* Neurochemistry International (2006) 48(5): 404-414.

KANG, J.X AND LEAF, A. Evidence of free polyunsaturated fatty acids modify Na⁺ channels by directly binding to the channel proteins. PNAS USA (1996) 93: 3542-3546.

KAREGE, F.; PERRET, G.; BONDOLFI, M G.; SCHWALD, M.; BERTSCHY, G.; AUBRY, J.M. *Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients.* Psychiatry Res. (2002) 109:143-148.

KECK, P.; MINTZ, J.; MCELROY, A.; FREEMAN, M.; FRYE, T.S.M.A.; ALTSCHULER, L.L; KULPKA, R.; NOLEN, W.; LEVERICH, G.; DENICOFF, K.D.; GRUNZE, H.; DUAN, N.; POST, R.M. *Double-blind, randomized, placebo-controlled trials of ethyl-eicosapentanoate in the treatment of bipolar depression and rapid cycling bipolar disorder.* Biological Psychiatry (2006) 60, 1020-1022.

KIDD, P. *Parkinson's disease as multifactorial oxidative neurodegeneration: implications for integrative management.* Alternative Medicine Review (2000) 5, 502- 524.

KITAJKA, K.; PUSKAS, L.; ZVARA, A.; HACKLER, L.; BARCELÓ-COBLIJN, G.; YEO, Y.; FARKAS, T. *The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in brain: Modulation of rat brain gene expression by dietary n-3 fatty acids.* PNAS (2002) 99, 2619-2624.

KLERMAN, G.; WEISSMAN, M.M.; FRANK, E.; KOCSIS, J.H.; MARKOWITZ, J.C.; MONTGOMERY, S. *Evaluating Drug Treatments of Depressive Disorders in: Clinical evaluation of psychotropic drugs: principles and guidelines*. Ed R.F. Prien and D.S. Robinson. Raven Press, Ltd. New York:1994.

KODAS, E.; PAGE, G.; ZIMMER, L.; VANCASSEL, S.; GUILLOTEAU, D.; DURAND, G.; CHALON, S. *Neither the density nor function of striatal dopamine transporters were influenced by chronic n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in rodents*. Neuroscience Letters, article in press, 2002.

KRISHNAN, K.R.; DELONG, M.; KRAEMER, H.; CARNEY, R.; SPIEGEL, D.; GORDON, C.; MCDONALD, W.; DEW. M.A.; ALEXOPOULOS, G.; BUCKWALTER, K.; COHEN, P.D.; EVANS, D.; KAUFFMAN, P.G.; OLIN, J.; OTEY, E.; WAINSCOTT, C. *Comorbidity of depression with other medical diseases in the elderly*. Biological Psychiatry (2002) 52, 559-588.

KUOPIO, A.M. *The quality of life in Parkinson's disease*. Movement Disorders (2000) 15 (2): 216-223.

LAZZARETTI, C. *Distúrbios Psicológicos na Doença de Parkinson em: Doença de Parkinson – um guia prático para pacientes e familiares/ Hélio Teive (org) – São Paulo: Lemos Editorial, 2000.*

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. Lipídeos. In: Princípios de Bioquímica. Ed. Sarvier, São Paulo (1998) 179-199.

LEONARD, B.E. *O papel da noradrenalina na depressão: uma revisão*. Jornal de Psicofarmacologia. Vol 11 N°4 Supl. (1997) 39-47.

LEVANT, B.; RADEL, J.D.; CARLSON, S.E. *Reduced Brain DHA Content After a Single Reproductive Cycle in Female Rats Fed a Diet Deficient in N-3 Polyunsaturated Fatty Acids*. Biological Psychiatry (2006)60:987–990.

LIM, G.P.; CALON, F.; MORIHARA, T.; YANG, F.; TETER, B.; UBEDA, O.; SALEM JR, N.; FRAUTSCHY, S.; COLE, G.M. *A diet enriched with the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid reduces amyloid burden in an aged Alzheimer mouse model.* The Journal of Neuroscience (2005) 25, 3032-3040.

LIM, S.Y.; SUZUKI, H. *Effect of dietary docosahexaenoic acid and phosphatidylcholine on maze behavior and fatty acid composition of plasma and brain lipids in mice.* Journal of Vitamin and Nutritional Research (2000) 70:251-259.

MAES, M.; CHRISTOPHE, A.; DELANGHE, J.; ALTAMURA, C.; NEELS, H.; MELTZER, H.Y. *Lowered ω 3 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients.* Psychiatry Research (1999) 85, 275-291.

MAIDMENT, I.D.; *Are fish oil an effective therapy in mental illness – an analysis of the data.* Acta Psychiatrica Scandinavica (2000) 102:3-11.

MALAMAKIS, G.; TORNARITIS, M.; KAFATOS, A. *Depression and adipose essential polyunsaturated fatty acids.* Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (2002) 67 (5), 311-318.

MARANGELL, L.B.; MARTINEZ, J.M.; ZBOYAN, H.; KERTZ, B.; KIM, F.S.; PURYEAR, L. *Double-blind, placebo-controlled study of the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid in the treatment of major depression.* American Journal of Psychiatry (2006) 160, 996-999.

MCDONALD, W.M.; RICHARD, I.H.; DELONG, M.R. *Prevalence, etiology, and treatment of depression in Parkinson's disease.* Biological Psychiatry (2003) 54, 363-375.

MESSERI, G.P.; OLIVERIO, A.; PAOLETTI, R.; GALLI, C. *Deficiency of essential fatty acids during pregnancy and avoidance learning in the progeny.* Pharmacological Research Communications, (1975) 1:71-80.

MORENO, R.A; MORENO, D. H. *Escalas de depressão de Montgomery e Asberg (MADRS) e de Hamilton (HAM-D)*. Ver.Psiq. Clin. (1998) 25(5) Edição especial:262-272.

MORIGUCHI, T.; GEINER, R.S.; SALEM, N.Jr. *Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration*. Journal of Neurochemistry (2000) 75: 2563-2573.

MORRIS, M.C.; EVANS, D.A.; TANGNEY,C.; BIENIAS, J.; WILSON, R.S. *Fish consumption and cognitive decline with age in a large community study*. Arch. Of Neurology (2005) 62.

MOSSNER, R.; RIEDERER, P. *Allelic variation of a functional promoter polymorphism of the serotonin transporter and depression in Parkinson's Disease*. Parkinsonism and Related Disorders 13 (2007) 62. Letter to the Editor.

MÜLLER, M.J.; HIMMERICH, H.; KIENZLE, B.; SZEGEDI, A. *Differentiating moderate and severe depression using the Montgomery-Asberg depression rating scale(MADRS)*. Journal of Affective Disorders (2003) 77, 255-260.

MUNEHIRA, J.; MATSUMOTO, M.;IWAI, K.; KAWANISHI, K.; YAMADA, K.; HOSHINO, T.; KIMURA, Y.; TSUCHIYA, H.; HATTORI, H. *Effects of Eicosapentaenoic Acid on the Physical Properties of the Common Carotid Artery in Elderly Patients with Atherosclerosis*. Current Therapeutic Research (1999) 60(2).

MURK, H. MANKU, M. *Ethyl-EPA in Huntington disease—Potentially relevant mechanism of action*.Brain Research Bulletin, (2007) 72 (2-3): 159-164.

MURPHY, M.G. *Dietary fatty acids and membrane protein function*. Journal of Nutrition and Biochemistry (1990)1: 69-79.

NALIWAIKO, K.; FERRAZ, A. C.); FERNANDES, L. C.: *Effects of fish oil on the central nervous system: A new potential antidepressant*. Nutritional Neuroscience (2004) 7 (2) 91-99.

NEMETS, B.; STAHL, Z.; BELMAKER, R.H. Addition of omega-3 fatty acid to maintenance medication treatment for recurrent unipolar depressive disorder. American Journal of Psychiatry (2002) 159, n.3, p. 477-479.

NISHIYAMA-NARUKE, A.; SOUZA, J.A.; CARNELLÓS, M.; CURI, R. *Determination of underivatized fatty acids saponified at 37°C analysis of fatty acids in oil and tissues*. Analytical Letters (1998) 31: 2565-2576.

NUYEN, J.; SCHELLEVIS, F.G.; SATARIANO, W.A.; SPREEUWENBERG, P.M.; BIRKNER, M.D.; VAN DEN BOS, G.A.M.; GROENEWEGEN, P.P. *Comorbidity was associated with neurologic and psychiatric disease: a general practice-based controlled study*. Journal of Affective Disorders (2006) 59, 1274-1284.

PAPALEO NETO, M. *Gerontologia*. São Paulo: Editora Atheneu, 1996.

PARKER, G. B.; HERUC, G.; HILTON, T. M.; OLLEY, A.; BROTCHE, H.; HADZI-PAVLOVIC, D.; FRIEND, C.; WALSH, W.; STOCKER, R. *Low levels of docosahexaenoic acid identified in acute coronary syndrome patients with depression*. Psychiatry Research 141 (2006) 279– 286.

PEET, M.; HORROBIN, D.F. *A dose-ranging study of the effects of ethyl-eicosapentaenoate in patients with ongoing depression despite apparently adequate treatment with standard drugs*. Archives of General Psychiatry. (2002) 59 (10): 913-919.

PEET, M.; HORROBIN, D.F. *A dose-ranging exploratory study of the effects of ethyl-eicosapentaenoate in patients with persistent schizophrenic symptoms*. Journal of Psychiatric Research (2002) 36:7-18.

PEET, M.; MURPHY, B.; EDWARDS, R.W.; HORROBIN, D.F. *Depletion of docosahexaenoic acid in erythrocyte membranes of depressive patients.* *Biological Psychiatry* (1997) 42: 1S-297S.

PILO, L.; RING, H.; QUINN, N.; TRIMBLE, M. *Depression in a multiple system atrophy idiopathic Parkinson's disease: a pilot comparative study.* *Biological Psychiatry* (1996) 39, 803-807.

RABINI, R.A.; MORETTI, N.; STAFFOLANI, R.; SALVOLINI, E.; NANETTI, L.; FRANCESCHI, C.; MAZZANI, L. *Reduced ω -oxidation of ω -oxidation in plasma membranes from centenarians.* *Experimental Gerontology* (2002) 37: 657-663.

RAEDER, M.B.; STEEN, V.M.; VOLLSET, S.E.; BJELLAND, I. *Associations between cod liver oil use and symptoms of depression: The Hordaland Health Study.* *Journal of Affective Disorders* (2006), doi: 10.1016/j.jad.2006.11.006.

RICHARDSON, A.; PURI, B.K. *A randomized double-blind, placebo-controlled study of the effects of supplementation with highly unsaturated fatty acids on ADHD-related symptoms in children with specific learning difficulties.* *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* (2002) 26: 233-239.

ROSS, B.M. *ω -3 Fatty acid deficiency in major depressive disorder is caused by the interaction between diet and a genetically determined abnormality in ω -oxidation metabolism.* *Medical Hypotheses* (2007) 68, 515–524

SÁNCHEZ-RODRIGUEZ, J. L. *Déficit neuropsicológicos en la enfermedad de Parkinson. Relación con variables clínicas.* *Ver. Neurology* (2002) 35 (4): 310-317.

SAWAZAKI, S.; SALEN, N.Jr.; KIM, H.Y. *Lipoxygenation of docosahexaenoic acid by the rat pineal body.* *Journal of Neurochemistry* (1994) 62: 2437-2447.

SHAPIRO, H. Could n-3 polyunsaturated fatty acids reduce pathological pain by direct actions on the nervous system? Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (2003) 68: 219-224.

SHULMAN, L.M; TABACK, R.L.; RABINSTEIN, A.A.; WEINER, W.J. *Non-recognition of depression and other non-motor symptoms in Parkinson's disease*. Parkinsonism and related disorders, 8 (2002) 193-197.

SIMOPOULOS, A.P.; LEAF, A.;SALEM, N.Jr. Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. Annals of Nutrition and Metabolism (1999) 43 (2):127-130.

SIMOPOULUS, A.P. *Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases*. Biomedicine & Pharmacotherapy (2006) 60: 502–507.

SONTROP, J.; CAMPBELL, K. *N-3 polyunsaturated fatty acids and depression: A review of the evidence and a methodological critique*. Preventive Medicine 42 (2006) 4 – 13.

SPEIZER, L.A., WATSON, M.J. AND BRUNTON, L.L. Differential effects of omega-3 fish oils on protein kinase activities *in vitro*. A.J.P(1991) 261: E109-E114.

STOLL, A.L.; LOCKE, C.A.; MARANGELL, L.B.; SEVERUS, W.E. *Omega-3 fatty acids and bipolar disorder: a review*. Prostaglandis, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (1999) 60 (5&6), 329-337.

STUBS, C.D.; SMITH, A.D. *The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function*. Biochim. Biophys. Acta (1984) 799:89-137.

SU, KUAN-PIN. *Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial.* European Neuropsychopharmacology (2003) 13: 267-271.

SUZUKI, H.; MANABE,S.; WADA, O.; CRAWFORD, M.A. *Rapid incorporation of docosahexaenoic acid from dietary sources into brain microsomal, synaptosomal and mitochondrial membranes in adult mice.* Int. Journal of Vitamin Nutritional Research (1997) 67 (4): 272-278.

TANSKANEN, A.; HIBBELN, J.R.; HINTIKKA, J.; HAATAINEN, K.; HONLALAMPIK., VIINAMÄKI, H. *fish oil consumption, depression and suicidality in a general population.* Archives of General Psychiatry (2001) 58(5):512-513.

TAYLOR, T.; JEFFERIS, G.S.; KOOP, M.; HILL, B.C.; HASTIE, T.; HEIT, G.; BRONTE-STEWART, H.M. *Quantitative measurements of alternating finger tapping in Parkinson's disease correlate with UPDRS motor disability and reveal the improvement in fine motor control from medication and deep brain stimulation.* Mov Disord. (2005) Jul 6.

TEIVE, H. A. G. ; MENESES, M. S. . *Doença de Parkison.* 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

TEIVE, H. (ORG) *Doença de Parkinson – um guia prático para pacientes e familiares.* São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

TIMONSEN, M.;HORROBIN, D; JOKELAINEN, J.; LAITINEN, J.; HERVA, A.; RASANEN, P. *Fish consumption and depression: the Northern Finland 1966 birth cohort study.* Journal of Affective Disorders – Article in press (2004).

TINOCO, J. *Dietary requirements and functions of alpha – linolenic acid in animals.* Prope. Lipid. Res (1982)21: 1-45.

VAJDA, F.J.E.; SOLINAS, C. *Current approaches to management of depression in Parkinson's disease*. Journal of Clinical Neuroscience (2005)12(7): 739-743.

VOLKER, D.; GARG, M. *Dietary n-3 fatty acids in rheumatoid arthritis – mechanisms, clinical outcomes, controversies, and future directions*. J. Clin. Biochem. Nutr. (1996) 20:83-87.

WAINWRIGHT, P.E.; HUANG, Y-S.; LÉVESQUE, S.; MUTSAERS, L.; McCUTCHEON, D.; BALCAEN, P; HAMMOND, J. Effects of dietary γ -linolenic acid and prenatal ethanol on mouse brain and behavior. Pharmacology, Biochemistry and Behavior (1996) 53(4): 843-852.

WICHOWICZ, H.M.; SLAWEK, J.; DEREJKO, M.; CUBALA, W. *Factors associated with depression in Parkinson's disease: a cross-sectional study in a Polish population*. European Psychiatry (2006) 21:516–520.

YOUDIM, K.A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J.A. *Essential fatty acids and the brain: possible health implications*. International Journal of Developmental Neuroscience, (2000)18: 383-399.

YOUNG, C.; MARTIN, A. Omega-3 fatty acids in mood disorders: an overview. Revista Brasileira de Psiquiatria (2003) 25(3):184-187.

ZANARINI, M.C.; FRANKENBURG, F.R. *Omega-3 fatty acid treatment of women with borderline personality disorders: a double-blind, placebo-controlled pilot study*. American Journal of Psychiatry (2003) 160: 167-169.

ZIMMER, L.; HEMBERT, S.; DURAND, G.; BRETON, P.; GUILLOTEAU, D.; BESNARD, J.-C., CHALON, S. *Chronic n-3 polyunsaturated fatty acids diet-deficiency acts on dopamine metabolism in the rat frontal cortex: a microdialysis study*. Neuroscience Letters (1998)240: 177-181.

ZIMMER, L.; DURAND, G.; GUILLOTEAU, D.; CHALON, S. *n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and dopamine metabolism in the rat frontal cortex*. *Lipids* (1999) 34: s251.

ZIMMER, L.; DELPAL, S.; GUILLOTEAU, D.; AÏOUN, J.; DURAND, G.; CHALON, S. *Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency alters dopamine vesicle density in the rat frontal cortex*. *Neuroscience Letters* (2000) 284: 25-28.

ANEXOS

TERMO DE CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO CLINICO DUPLO-CEGO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR COM ÁCIDO GRAXO ÔMEGA-3 SOBRE A DEPRESSÃO EM PACIENTES PARKINSONIANOS
Pesquisador responsável: Ticyana Moralez da Silva
Este é um convite para o(a) sr(a). participar voluntariamente de um estudo clínico duplo-cego sobre os efeitos da suplementação alimentar com “óleo de peixe” (omega-3) nos sintomas depressivos que o sr(a). está sentindo. Por favor, leia com atenção as informações abaixo antes de dar seu consentimento para participar ou não do estudo. Qualquer dúvida sobre o estudo ou sobre este documento pergunte ao pesquisador com que o(a) sr(a). está conversando neste momento.
<ul style="list-style-type: none"> • OBJETIVO DO ESTUDO
O presente estudo tem como objetivo principal avaliar o efeito do “óleo de peixe” (omega-3) sobre os sintomas de depressão que o(a) sr(a). está sentindo.
<ul style="list-style-type: none"> • PROCEDIMENTOS
Se o(a) sr(a). participar deste experimento, será associado (adicionado) ao seu tratamento atual cápsulas contendo “óleo de peixe” ou placebo (óleo mineral, que não se espera que melhore o seus sintomas depressivos). Durante o período da pesquisa o sr(a). irá comparecer a 12 consultas, sendo as 2 primeiras na primeira semana (Psicólogo e Neurologista). Na segunda semana irá participar de 4 consultas (Psicólogo, Neurologista, Nutricionista e Enfermagem), dando início a suplementação. Após um mês da primeira consulta serão efetuadas 2 consultas (Psicólogo, Neurologista). No terceiro mês da pesquisa irá participar de 4 consultas, havendo então término da suplementação e, portanto do experimento. Em cada consulta que será feita uma entrevista (responderá a perguntas) e um exame clínico, sendo que o tratamento com óleo será iniciado na 3ª consulta terá a duração de 11 semanas. Antes do início da suplementação e na última semana do estudo (12ª) será também coletado sangue (10 ml) para análises bioquímicas (exame de sangue) que terão como objetivo estudar como o “óleo de peixe” pode melhorar a depressão.
<ul style="list-style-type: none"> • DROGA/ MÉTODO EM ESTUDO
O tratamento da depressão com “óleo de peixe” (omega-3) é um tratamento experimental, sobre o qual não temos certeza da eficácia na depressão, motivo pelo qual estamos realizando esta pesquisa.
<ul style="list-style-type: none"> • EFEITOS ADVERSOS/RISCOS/ DESCONFORTOS ESPERADOS OU PREVISTOS
Os efeitos colaterais (desconfortos) decorrentes do “óleo de peixe” (omega-3) em estudos anteriores foram pouco frequentes e sem gravidade, sendo relatado certo desconforto abdominal e fezes amolecidas.
<ul style="list-style-type: none"> • CONTRA-INDICAÇÕES
Não existem contra-indicações à utilização do “óleo de peixe” (omega-3), podendo ocorrer desarranjo intestinal por ocasião de superdosagem, e nesse caso o tratamento deve ser descontinuado.
<ul style="list-style-type: none"> • BENEFÍCIOS
Sua participação neste projeto poderá ter como benefício direto para você uma melhora nos seus sintomas de depressão, permitindo ainda esclarecer melhor os efeitos do óleo de peixe na depressão e seu possível mecanismo de ação (como funciona).
<ul style="list-style-type: none"> • TRATAMENTOS/ PROCEDIMENTOS ALTERNATIVOS DISPONÍVEIS
Atualmente existem uma série de medicamentos úteis para tratar a depressão associada à doença de

Parkinson, tais como amitriptilina (Tryptanol), imipramina (Tofranil), fluoxetina (Prozac e similares) e outros antidepressivos. Converse com seu médico sobre estes tratamentos para o seu caso.
<ul style="list-style-type: none"> • USO DE GRUPO CONTROLE/ PLACEBO E DO ESQUEMA DUPLO-CEGO
Neste estudo está previsto o uso de placebo e o esquema duplo-cego. O uso de placebo significa que metade dos pacientes irá tomar uma substância (“óleo mineral”) que não possui efeito específico para esta doença. Isto quer dizer que alguns pacientes poderão melhorar com o “óleo mineral” não pelo efeito da substância, mas pelo evolução da doença (iriam melhorar mesmo sem tratamento). O “esquema duplo-cego” significa que nem você nem seu médico saberão, durante o tratamento, se você esta tomando “óleo de peixe” (medicamento experimental) ou “óleo mineral” (placebo).
<ul style="list-style-type: none"> • DESPESAS/ RESSARCIMENTO DE DESPESAS DO VOLUNTÁRIO
Todas as despesas necessárias para realização da pesquisa (exames, medicamentos, etc.) são de responsabilidade dos pesquisadores. Qualquer problema médico decorrente da pesquisa será tratado na Associação Paranaense de Portadores de Parkinsonismo, localizada na rua João Negrão nº539, conjunto 1, telefone 224-5616, Curitiba, Paraná.
<ul style="list-style-type: none"> • PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA
A sua participação neste estudo é <i>voluntária</i> . Mesmo que o(a) sr(a). decida participar, terá plena e total liberdade para desistir do estudo a qualquer momento, sem que isso acarrete qualquer prejuízo para o(a) sr(a).. Embora não seja esperado, caso você tenha algum problema e não possa ir ao trabalho, você receberá um atestado médico para justificar a sua falta.
<ul style="list-style-type: none"> • GARANTIA DE SIGILO E PRIVACIDADE
As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos médicos que executam a pesquisa e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.
<ul style="list-style-type: none"> • ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS
O(A) sr(a). pode e deve fazer todas as perguntas que julgar necessárias antes de concordar em participar do estudo.
<ul style="list-style-type: none"> • IDENTIFICAÇÃO
A sua identificação será mantida confidencial. Os resultados do estudo serão publicados sem revelar a sua identidade.
<ul style="list-style-type: none"> • DESCONTINUIDADE DO ESTUDO
O estudo será descontinuado caso os efeitos adversos descritos acima atinjam uma quantidade de pacientes superior à 50%.
<ul style="list-style-type: none"> • EQUIPE DE PESQUISADORES
Os pesquisadores envolvidos nesse projeto são:
Ticyana Moralez da Silva – Psicóloga – 338-8885 / 9108-9829
Dr. Renato Puppi Munhoz – Neurologista – 9997-0696
Dra. Anete Curte Ferraz – Orientadora Responsável – 361-1722
Dr. Roberto Andreatini – Co-orientador e Psiquiatra – 361-1716
Os pesquisadores poderão ser contatados para esclarecimentos ou problemas durante a pesquisa.
<ul style="list-style-type: none"> • COMITÊ DE ÉTICA DO SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Fui informado que este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Setor de Ciências Biológicas e que

no caso de qualquer problema ou reclamação em relação à conduta dos pesquisadores deste projeto, poderei procurar o referido Comitê, localizado na Direção do Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná.	
Diante do exposto acima eu, _____, declaro que fui esclarecido sobre os objetivos do presente estudo, sobre os desconfortos que poderei sofrer, assim como sobre os benefícios que poderão resultar deste estudo. Concedo meu acordo de participação de livre e espontânea vontade. Foi-me assegurado o direito de abandonar o estudo a qualquer momento, se eu assim o desejar. Declaro também não possuir nenhum grau de dependência profissional ou educacional com os pesquisadores envolvidos nesse projeto (ou seja, os pesquisadores desse projeto não podem me prejudicar de modo algum no trabalho ou nos estudos), não me sentindo pressionado de nenhum modo a participar dessa pesquisa.	
Curitiba, de _____ de 200__	
_____	_____
(Nome do Paciente)	(Nome do Pesquisador)
RG	RG

ESCALA DE AVALIAÇÃO PARA DEPRESSÃO DE MONTGOMERY-ÅSBERG

Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale — MADRS (Montgomery e Åsberg, 1979)

A avaliação deve basear-se em uma entrevista clínica que se inicie com perguntas genéricas sobre sintomas e seja acompanhada de questões mais detalhadas que permitam avaliação precisa da gravidade. O avaliador deve decidir se a avaliação se situa em graus definidos da escala (0, 2, 4, 6) ou entre eles (1, 3, 5). É importante lembrar que somente em raras ocasiões se encontra um paciente deprimido que não pode ser avaliado de acordo com os itens da escala. Caso respostas definidas não possam ser obtidas do paciente, devem ser usados todos os indícios relevantes, bem como informações de outras fontes como base para a avaliação, de acordo com a prática clínica costumeira. A escala pode ser usada para qualquer intervalo de tempo entre avaliações, seja semanal ou outro, mas isso deve ser registrado.

1 – Tristeza aparente

Representando desânimo, tristeza e desespero (mais que um abatimento simples e transitório), refletidos na fala, na expressão facial e na postura.

Avalie pela profundidade e incapacidade de alegrar-se.

- 0 () Nenhuma tristeza.
1
2 () Parece abatido, mas alegra-se sem dificuldades.
3
4 () Parece triste e infeliz a maior parte do tempo.
5
6 () Parece muito triste todo o tempo. Extremamente desanimado.

2 – Tristeza relatada

Representando relatos de humor depressivo, independentemente de estarem refletidos na aparência. Inclui abatimento, desânimo ou sentimento de desamparo e desesperança.

Avalie pela intensidade, duração e grau com que se relata que o humor é influenciado pelos acontecimentos.

- 0 () Tristeza ocasional compatível com as circunstâncias.
1
2 () Triste e abatido, mas se alegra sem dificuldades.
3
4 () Sentimentos predominantes de tristeza ou melancolia. O humor é ainda influenciado por circunstâncias externas.
5
6 () Tristeza, infelicidade ou desânimo contínuos e invariáveis.

3 – Tensão interior

Representando sentimentos de desconforto indefinido, inquietação, agitação interior e tensão mental crescente, chegando até pânico, pavor ou angústia.

Avaliar de acordo com intensidade, frequência e duração do grau de reassuramento necessário.

- 0 () Tranquilo, somente tensão interior fugaz.
1
2 () Sentimentos ocasionais de inquietação e desconforto indefinido.
3
4 () Sentimentos contínuos de tensão interna ou de pânico intermitente, em que o paciente só consegue dominar com alguma dificuldade.
5
6 () Apreensão ou angústia persistente. Pânico incontrolável.

4 – Sono diminuído

Representando a experiência de redução de duração ou profundidade do sono comparadas com o padrão normal próprio do indivíduo quando está bem.

- 0 () Dorme normalmente.
1
2 () Leve dificuldade para adormecer ou sono discretamente reduzido, leve ou interrompido.
3
4 () Sono reduzido ou interrompido por, pelo menos, duas horas.
5
6 () Menos de duas ou três horas de sono.

5 – Diminuição do apetite

Representando o sentimento de perda de apetite quando comparado ao seu normal. Avalie pela perda da vontade de com necessidade de forçar-se a comer.

- 0 () Apetite normal ou aumentado.
1
2 () Apetite levemente diminuído.
3
4 () Sem apetite. A comida não tem sabor.
5
6 () É necessário ser sempre persuadido para comer.

6 – Dificuldade de concentração

Representando dificuldades em concluir ou organizar os pensamentos chegando à falta de concentração incapacitante.

Avalie de acordo com a intensidade, a frequência e o grau de incapacidade resultante.

- 0 () Sem dificuldade para se concentrar.
1
2 () Dificuldades ocasionais em concluir ou organizar os pensamentos.
3
4 () Dificuldades para se concentrar e sustentar o pensamento, que reduzem a capacidade para ler ou manter uma conversa.
5
6 () Incapaz de ler ou conversar, a não ser com grande dificuldade.

7 – lassidão

Representando a dificuldade ou lentidão para iniciar e realizar atividades rotineiras.

0 () Dificilmente apresenta qualquer dificuldade para iniciar atividades. Sem preguiça.

- 1
2 () Dificuldade para iniciar atividades.
3
4 () Dificuldade para começar atividades rotineiras simples que são realizadas à custa de esforço.
5
6 () Lassidão completa. Incapaz de fazer qualquer coisa sem ajuda.

8 – Incapacidade de sentir

Representando a experiência subjetiva de interesse reduzido pelo ambiente ou atividades que são normalmente prazerosas. A capacidade de reagir com emoção apropriada às circunstâncias ou às pessoas está reduzida.

- 0 () Interesse normal pelo ambiente e outras pessoas.
1
2 () Capacidade reduzida de desfrutar interesses rotineiros.
3
4 () Perda de interesse pelo ambiente. Perda de sentimentos pelos amigos e conhecidos.
5
6 () A experiência de estar emocionalmente paralisado, incapaz de sentir raiva, pesar ou prazer e uma falta de sentimentos completa ou mesmo dolorosa em relação a parentes próximos ou amigos.

9 – Pensamentos pessimistas

Representando pensamentos de culpa, inferioridade, auto-reprovação, pecado, remorso e ruína.

- 0 () Sem pensamentos pessimistas.
1
2 () Idéias flutuantes de falha, auto-reprovação ou autodepreciação.
3
4 () Auto-acusações persistentes ou idéias definidas, mas ainda racionais de culpa ou pecado. Progressivamente pessimista sobre o futuro.
5
6 () Delírios de ruína, remorso ou pecado irremediável. Auto-acusações que são absurdas e inabaláveis.

10 – Pensamentos suicidas

Representando o sentimento de que não vale a pena viver, que uma morte natural seria bem-vinda, pensamentos suicidas e preparativos para suicídio.

Tentativas de suicídio por si só não devem influenciar a avaliação.

0 () Aprecia a vida ou a aceita como ela é.

1

2 () Enfastiado de viver. Pensamentos suicidas transitórios.

3

4 () Provavelmente seria melhor morrer. Pensamentos suicidas são freqüentes e o suicídio é considerado como uma solução possível, mas sem planos ou intenções específicas.

5

6 () Planos explícitos para o suicídio quando houver uma oportunidade. Providência para o suicídio.

INVENTÁRIO DE DEPRESSÃO DE BECK – BDI

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2, ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreve melhor a maneira que você tem se sentido na última semana, incluindo hoje. Se várias afirmações num grupo parecerem se aplicar igualmente bem, faça um círculo em cada uma. Tome o cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer a sua escolha.

1. 0 Não me sinto triste.
1 Eu me sinto triste.
2 Estou sempre triste e não consigo sair disto.
3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.
2. 0 Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.
1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro.
2 Acho que nada tenho a esperar.
3 Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.
3. 0 Não me sinto um fracasso.
1 Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.
2 Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos.
3 Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.
4. 0 Tenho tanto prazer em tudo como antes.
1 Não sinto mais prazer nas coisas como antes.
2 Não encontro um prazer real em mais nada.
3 Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.
5. 0 Não me sinto especialmente culpado.
1 Eu me sinto culpado grande parte do tempo.
2 Eu me sinto culpado na maior parte do tempo.
3 Eu me sinto sempre culpado.
6. 0 Não acho que esteja sendo punido.
1 Acho que posso ser punido.
2 Creio que vou ser punido.
3 Acho que estou sendo punido.
7. 0 Não me sinto decepcionado comigo mesmo.
1 Estou decepcionado comigo mesmo.
2 Estou enojado de mim.
3 Eu me odeio.
8. 0 Não me sinto de qualquer modo pior que os outros.
1 Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros.
2 Eu me culpo sempre por minhas falhas.
3 Eu me culpo por tudo de mau que acontece.
9. 0 Não tenho quaisquer idéias de me matar.
1 Tenho idéias de me matar, mas não as executaria.
2 Gostaria de me matar.
3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.
10. 0 Não choro mais do que o habitual.
1 Choro mais agora do que costumava.
2 Agora, choro o tempo todo.
3 Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo mesmo que o queira.
11. 0 Não sou mais irritado agora do que já fui.
1 Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava.
2 Atualmente sinto-me irritado o tempo todo.

	3	Não me irrita mais com as coisas que costumavam me irritar.
12.	0	Não perdi o interesse pelas outras pessoas.
	1	Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar.
	2	Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas.
	3	Perdi todo o meu interesse nas outras pessoas.
13.	0	Tomo decisões tão bem quanto antes.
	1	Adio as tomadas de decisões mais do que costumava.
	2	Tenho mais dificuldade em tomar decisões do que antes.
	3	Não consigo mais tomar decisões.
14.	0	Não acho que minha aparência esteja pior do que costumava ser.
	1	Estou preocupado por estar parecendo velho ou sem atrativos.
	2	Acho que há mudanças permanentes na minha aparência que me fazem parecer sem atrativos.
	3	Acredito que pareço feio.
15.	0	Posso trabalhar tão bem quanto antes.
	1	Preciso de um esforço extra para fazer alguma coisa.
	2	Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa.
	3	Não consigo mais fazer nenhum trabalho.
16.	0	Consigo dormir tão bem como o habitual.
	1	Não durmo tão bem quanto costumava.
	2	Acordo uma a duas horas mais cedo do habitualmente e tenho dificuldade em voltar a dormir.
	3	Acordo várias horas mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.
17.	0	Não fico mais cansado do que o habitual.
	1	Fico cansado com mais facilidade do que costumava.
	2	Sinto-me cansado ao fazer qualquer coisa.
	3	Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.
18.	0	Meu apetite não está pior do que o habitual.
	1	Meu apetite não é tão bom quanto costumava ser.
	2	Meu apetite está muito pior agora.
	3	Não tenho mais nenhum apetite.
19.	0	Não tenho perdido muito peso, se é que perdi algum recentemente.
	1	Perdi mais do que 2 quilos e meio.
	2	Perdi mais do que 5 quilos.
	3	Perdi mais do que 7 quilos.
		Estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: Sim () Não ()
20.	0	Não estou mais preocupado com minha saúde do que o habitual.
	1	Estou preocupado com problemas físicos tais como dores, indisposição do estômago ou prisão de ventre.
	2	Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa.
	3	Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.
21.	0	Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo.
	1	Estou menos interessado por sexo do que costumava estar.
	2	Estou muito menos interessado em sexo atualmente.
	3	Perdi completamente o interesse por sexo.

ESCALA DE IMPRESSÃO CLÍNICA GLOBAL - CGI

Circule o número correspondente à sua avaliação nos 2 itens a seguir: o item 1 deve ser preenchido sempre, enquanto o item 2 deve ser omitido na avaliação inicial (circular 0. Não avaliado)

1. GRAVIDADE DA DOENÇA

Considerando toda sua experiência clínica com esta população em particular, quão doente está este paciente nesta ocasião?

- | | |
|--|-------------------------------------|
| 0. Não avaliado | 4. Moderadamente doente |
| 1. Normal, não doente | 5. Marcadamente doente |
| 2. Transtorno mental limítrofe ou duvidoso | 6. Gravemente doente |
| 3. Levemente doente | 7. Doença mental extremamente grave |

2. MELHORA GLOBAL

Este item deve ser omitido na avaliação inicial. Circular "0. Não avaliado"

Avalie se a melhora total, em sua opinião, é totalmente decorrente ou não do tratamento medicamentoso.

Comparado com a condição clínica do paciente no 1º dia de tratamento, quanto o quadro modificou?

- | | |
|-----------------|---------------|
| 0. Não avaliado | 4. Inalterado |
| 1. Muito Melhor | 5. Pouco Pior |
| 2. Melhor | 6. Pior |
| 3. Pouco Melhor | 7. Muito Pior |

ESCALA DE HOEHN-YAHR

Estágio 0	Sem sinais da doença
Estágio 1	Doença unilateral
Estágio 1,5	Unilateral + envolvimento axial
Estágio 2	Bilateral sem distúrbio de equilíbrio
Estágio 2,5	Bilateral leve, com recuperação na estabilidade postural
Estágio 3	Bilateral leve moderada: alguma instabilidade postural, fisicamente independente
Estágio 4	Debilitação severa, ainda apto para andar ou ficar em pé sem auxílio
Estágio 5	Restrito a cadeira de rodas ou leito