

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA

DAGLIANE DANELUZ PAGLIOSA

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM EMULSÃO RICA EM ÁCIDOS  
GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA 3, DURANTE 72 HORAS, EM  
RATOS COM LESÃO MEDULAR**

CURITIBA

2016

DAGLIANE DANELUZ PAGLIOSA

**EFEITOS METABÓLICOS DO TRATAMENTO COM EMULSÃO RICA  
EM ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA 3, EM RATOS  
COM LESÃO MEDULAR**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Fisiologia no Curso de Pós Graduação em Fisiologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Tanhofer.

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes.

CURITIBA

2016

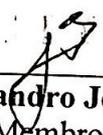


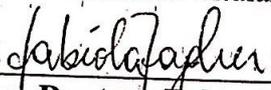
## PARECER

Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado, a qual se submeteu **DAGLIANE DANELUZ PAGLIOSA** para fins de obter o título de Mestre em Fisiologia pela Universidade Federal do Paraná, são de parecer unânime à aprovação da acadêmica.

A obtenção do título está condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 01 de julho de 2016.

  
\_\_\_\_\_  
**Professor Doutor Sandro José Ribeiro Bonatto**  
IPPP - Membro Titular

  
\_\_\_\_\_  
**Professora Doutora Fabíola Iagher**  
UFPR - Membro Titular

  
\_\_\_\_\_  
**Professor Doutor Ricardo Antônio Tanhoffer**  
UFPR - Orientadora e Presidente da Banca Examinadora



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Departamento de Fisiologia  
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia



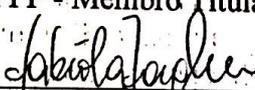
### Ata da defesa de dissertação de mestrado de DAGLIANE DANELUZ PAGLIOSA

Ao primeiro dia do mês de julho do ano de dois mil e dezesseis, foi realizada no Auditório do Departamento de Fisiologia no Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, A defesa de dissertação da mestranda **DAGLIANE DANELUZ PAGLIOSA**, intitulada **“EFEITOS METABÓLICOS DO TRATAMENTO COM EMULSÃO RICA EM ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS ÔMEGA 3 EM RATOS COM LESÃO MEDULAR”**. A abertura teve início às 14h00min pelo Presidente da Banca Examinadora e Orientador da candidata, Professor Doutor Ricardo Antônio Tanhoffer. O Presidente apresentou ao público presente os membros da banca examinadora e logo passou à palavra a aluna, para que fizesse uma apresentação sucinta de sua dissertação. Após a explanação oral, o Professor Doutor Ricardo Antônio Tanhoffer passou à palavra ao primeiro examinador, o Professor Doutor Sandro José Ribeiro Bonatto, pesquisador do Instituto Pelé Pequeno Príncipe. Na sequência, passou a palavra ao segundo examinador, Professora Doutora Fabíola Iagher do Departamento de Fisiologia da UFPR. A aluna respondeu as perguntas dos examinadores e se posicionou frente às críticas. Findas as arguições pelos demais membros da banca, o Presidente, Professor Doutor Ricardo Antônio Tanhoffer fez uma rápida apreciação das conclusões mais importantes dos debates realizados e comunicou que a Banca Examinadora iria reunir-se em sessão secreta para discussão e atribuição dos conceitos. Os trabalhos foram interrompidos por cinco minutos. Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata, os membros da banca examinadora reunidos em sessão secreta deliberaram pela “aprovação”, habilitando-a ao título de Mestre em Fisiologia, condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Art. 59º do Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação. Eu, Professor Doutor Ricardo Antônio Tanhoffer, Presidente da Banca Examinadora lavrei a presente ata, da qual assino juntamente com os senhores examinadores.

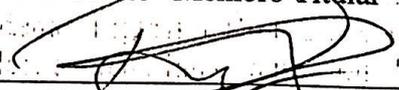
Curitiba, 01 de julho de dois mil e dezesseis.

  
\_\_\_\_\_  
**Professor Doutor Sandro José Ribeiro Bonatto**

IPPP - Membro Titular

  
\_\_\_\_\_  
**Professora Doutora Fabíola Iagher**

UFPR - Membro Titular

  
\_\_\_\_\_  
**Professor Doutor Ricardo Antônio Tanhoffer**

UFPR - Orientadora e Presidente da Banca Examinadora

Centro Politécnico - Caixa Postal 19031 - CEP: 81531-990 - Curitiba/PR  
Telefones: (41) 3361-1714 - Fax (41) 3361-1714 - fisiologia@ufpr.br  
www.bio.ufpr.br

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus e ao universo pela oportunidade de evolução.

Aos meus Pais, meu Pai (Neco) dono de um coração enorme, quem sempre me incentivou e acreditou que o conhecimento não tem limites, a minha Mãe (Iria) meu colo, meu afago meu tudo, minhas irmãs, duas criaturas incríveis a quem daria a minha vida pra vê-las felizes, e um especial obrigada a Tai.. “gorda” obrigada por estar comigo todos os dias desta caminhada, se não fosse vc, eu não sei o que eu seria..rs

É tanta gratidão, que não sei por onde agradecer... Se sintam agradecidos aqueles que me ajudaram, e eu não lembrei neste momento de citar..

A Universidade Federal do Paraná e a todos que fazem parte dela: os seguranças do setor que me acompanhavam nas noites macabras, a Gil e a Luana, duas queridas, a Claudinha, a Gracinha...Aos professores da fisiologia obrigada, prof Fogaça.. o Sr. me tocou bastante com a simplicidade e coração humano..

Obrigada ao meu coorientador Professor Dr. Luiz Cláudio, por ter aberto as portas e ter confiado na minha capacidade de colaborar com no laboratório, obrigada também por ter me ensinado muito sobre humildade, e que as coisas complexas podem ser simplificadas.

Ao meu orientador Dr. Ricardo e a Aldre, vocês foram fundamentais, devo muito do meu crescimento pessoal e profissional a vocês.

A profKatya, obrigada por ter me juntado quando os caminhos eram só pedras...por sempre ter tirado uma carta da manga pra resolver as coisas...

A prof Fabi por ter sido minha prof modelo de iniciação à docência.. Quando crescer vou ser assim..hehehe..

A Camila.. doidinha de tudo.. Obrigada por toda ajuda de coração...

A Ju e ao facetime..hehe..que facilitaram o entendimento das coisas e junto aos seus ouvidos e pitacos de fim de tarde me ajudaram muito..ao Jhonny, que já chegou me fazendo dividir a Ste..hahah..a Bru, que só fica fazendo lombriga com comida gostosa..hehe..que cuidou dos meus cortes histológicos e sempre me acalmou..a Ju (corujinha) e o Adam (Japa power), e a todos do lab que de uma maneira ou outra sempre estiveram presente.. Carolzinha..acredito muito no seu

potencial, você vai estar aqui daqui uns dias, com certeza...Mari.. obrigado por ter visto e me ajudado no meu 0,99 no brad..huahaua

E o que seria do meu mundo, se não fossem “as Malvadinhas”??...sei não se eu estaria aqui.... obrigada por cada puxão de orelha, verdades sem meias palavras, vontade e luta para me verem crescer..sem falar na paciência..hehe..Haja paciência! com quem não anotaVA as coisas, ERA distraída.. Stefani e Prof Márcia..

Falando em prof Márcia, quero agradecer a todos os amigos dela que colaboraram muito para que esta pesquisa acontecesse, mesmo aqueles que, as vezes ainda penso que sejam imaginários..hehe..

Obrigada as meninas do HBC.. Ize, Lê, Bi, Manu, Aninha e a Cami que sempre mais pertinho junto com a Luiza e o Aislan tornaram as minhas segundas mais alegres..

Aos professores e amigos da graduação, que até hoje são exemplos.. prof Dr Anna Raquel Silveira Gomes, a Prof Dr. Vera Lucia Israel, Tainá, Elis,...a Giziz..que se não fosse por você não teria conhecido Vinícius e tido regalias no botânico..hauhuahau..Obrigada aos dois..A Rox, Deisoca, Naninha, Vizzu, Caroles..

Obrigada aos amigos que o mestrado me trouxe: “as amiguinhas”..Andri, Sthe, Lê, Amandinha, Ste..Diego, Eduardo, Pati...

Gratidão por toda ajuda neste momento também a vocês, que mesmo sem entender direito o que era, e como funcionava, estiveram sempre prontos a me ajudar: minha mestre conselheira Kassinha e ao Marcelo..hehe..aos meus Carrapatos..hehe..sem vocês meu mundo não seria o mesmo, e é muito bom mesmo saber que tem mais gente igual a gente no mundo...hehe..a Ju meu maior presente do 1003..Pra quem tentou avisar que o mestrado não era fácil, né Sô?..hehe..Juro que da próxima vez te escuto.. a Gabi, o Nani, a Caroles mais conhecida como rainha do excel, Fi, Teta e ao Ber..que mesmo do PY não mediu esforços para me ajudar a terminar, deixou até minha dissertação internacional...hehe.. a Bi, o Rubens, a Karol, Dona Ana, Mônica, Vânia, Tereza, Japa (Ivan), a Mone...pessoinha que me fez ver o mundo diferente.. E a todos que passaram por mim nesta caminhada e não foram citados, mas moram no meu coração.. Muito Obrigada de coração!!

*“Sabedoria para resolver e paciência para fazer.”*

*Homero*

## RESUMO

A lesão medular (LM) mais comum é a traumática, este tipo de patologia danifica a medula e pode alterar a fisiologia de todo o organismo. As respostas do organismo na tentativa de reparo acabam aumentando ainda mais os danos causados por esta lesão. Os mecanismos de tratamento da LM ainda são limitados, e a qualidade de vida juntamente com a expectativa de vida são drasticamente alteradas. O conhecimento sobre intervenções que sejam capazes de atuar metabolicamente na tentativa de reduzir os efeitos pós-lesão pode desempenhar papel crucial ao indivíduo, entretanto, não existe tratamento efetivo para minimizar os efeitos dessa lesão. Por outro lado, ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) tem demonstrado efeitos promissores em casos de LM. Ratos da linhagem *Wistar* foram submetidos a lesão medular induzida por trauma. Os animais eram divididos em 9 grupos: Falso operado (SHAM), lesão medular sem tratamento (LM), lesão medular tratado com omegaven, e cada grupo subdividido nos tempos (48h, 72h e 14d). Nos animais tratados eram administradas 3 doses de omegaven, sendo a primeira dose três horas após o dano medular. Os animais controle (SHAM) tiveram a vértebra retirada, e os animais lesão medular não tiveram tratamento algum. Foram analisados o perfil metabólico do fígado e as características correspondente a massa úmida de alguns tecidos. A administração destas doses na fase aguda da LM foi capaz de modificar o metabolismo lipídico de ácidos graxos no fígado.

**Palavras-chave:** Lesão medular; ômega-3; metabolismo.

## ABSTRACT

Spinal cord injury (SCI) is the most common traumatic, this type of pathology damage the cord and can change the physiology of the organism. The responses of the body in an attempt to repair turn further increasing the damage caused by this lesion. The LM handling mechanisms are still limited, and the quality of life along with the life expectancy is drastically changed. Knowledge of interventions are capable of metabolically act in an attempt to reduce post-injury effects may play a crucial role in the individual, however, there is no effective treatment to minimize the effects of injury. Furthermore, polyunsaturated fatty acids (PUFAs) have shown promising effects in cases of SCI. Wistar rats were subjected to spinal cord injury-induced trauma. The animals were divided into 9 groups: False operated (SHAM), spinal cord injury without treatment (LM), spinal cord injury treated with Omegaven, and each group subdivided in time (48h, 72h and 14d). Treated animals were administered 3 doses of Omegaven, the first dose being three hours after the spinal cord injury. Control animals (SHAM) were withdrawn the vertebra, and spinal cord injury the animals have not had any treatment. We analyzed the metabolic liver profile and corresponding features a wet mass of some tissues. The administration of these doses in acute SCI is capable of modifying the lipid metabolism of fatty acids in the liver.

Keywords: Spinal cord injury; Omega 3; metabolism.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	– Secção transversa da medula espinhal humana. Localização aproximada dos tratos espinhais ascendentes e descendentes. S= sensorial M=motor.....	23
<b>Figura 2</b>	– Descrição sistemática dos dermatômos.....	24
<b>Figura 3</b>	– Principais características da lesão medular (LM) de acordo com a escala ASIA de avaliação.....	29
<b>Figura 4</b>	– Metabolismo dos ácidos n-3 e n-6.....	36
<b>Figura 5</b>	– Características dos grupos.....	45
<b>Figura 6</b>	– Linha temporal dos experimentos e grupos.....	47
<b>Figura 7</b>	– Massa corporal dos animais após a cirurgia.....	51
<b>Figura 8</b>	– Massa úmida do fígado dos grupos SHAM, LM e LMO, para 48 h, 72 h e 14 dias.....	52
<b>Figura 9</b>	– Massa úmida renal corrigida pelo peso do animal.....	53
<b>Figura10</b>	– Massa úmida da adrenal de todos os grupos.....	55
<b>Figura11</b>	– Massa úmida do tecido retroperitoneal correspondente aos grupos SHAM, LM e LMO nos tempos de 48h, 72h e 14 dias.....	56
<b>Figura12</b>	– Concentração da glicose no plasma dos animais do grupo SHAM, lesado medular (LM) e lesado medular tratado por três dias com omegaven (LMO) nos tempos de 48 h, 72 h e 14 dias.....	57
<b>Figura13</b>	– Evolução do triglicilglicerol no plasma dos animais.....	58

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	– Perfil dos ácidos graxos obtidos de tecido hepático mensurado por HPLC dos animais SHAM, lesão medular (LM) e tratados por 3 dias com omegaven (LMO).....	49
<b>Tabela 2</b>	– Razão entre ácidos graxos ômega 6 e ômega 3, no fígado, nos tempos de 48 h, 72 h e 14 dias.....	51
<b>Tabela 3</b>	– Índice de insaturação no fígado dos animais SHAM, lesão medular (LM) e lesão medular tratado (LMO) nos tempos de 48 h, 72 h e 14 dias.....	51
<b>Tabela 4</b>	– Características do tecido perigonadal ao longo das avaliações.....	56
<b>Tabela 5</b>	– Concentração de colesterol no plasma dos animais nos grupos SHAM, lesado e lesado tratado com omegaven (LMO) durante três dias no período de 48 h, 72 h e 14 dias.....	60

## **LISTA DE SIGLAS**

ASIA	–	American Spinal Injury Association
ISCoS	–	International Spinal Cord Society
MIF	–	Functional Independence Measure

## LISTA DE ABREVIATURAS

ARA	–	Ácido aracdônico
ACTH	–	Hormônio Adrenocorticotrófico
AGPI	–	Ácidos graxos poli-insaturados
ALA	–	Ácido alfa linolênico
AO	–	Ácido oleico
cox-2	–	Ciclooxigenases 2
DHA	–	Ácido docosahexaenóico
EPA	–	Ácido eicosapentaenoico
ERK	–	Expressão De Quinases Reguladoras ½
GI	–	Trato Gastrointestinal
GLUT 2	–	Transportadores GLUT 2
IL	–	Interleucinas
LA	–	Ácido linoleico
LM	–	Lesão medular
LMO	–	Lesado medular tratado
LOX	–	Lipoxigenases
LTs	–	Leucotrienos
MAPK	–	Proteínas Quinases Ativadas Por Mitógenos
n-3	–	Ômega 3
n-6	–	Ômega 6
NC	–	Nervos cranianos
PGs	–	Prostaglandinas
PKA	–	Proteína Kinase A
POMC	–	Polipeptídico Pró-Opiomelanocortina
PPAR	–	Receptores proliferadores ativados de peroxisomos
SHAM	–	Falso operado
SNA	–	Sistema nervoso autonômico
SNC	–	Sistema nervoso central
SNP	–	Sistema nervoso periférico
SNPa	–	Sistema nervoso parassimpático
SNS	–	Sistema nervoso somático

- SNSi – Sistema nervoso simpático
- TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa

## LISTA DE SÍMBOLOS

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>1. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>20</b>
1.1 SISTEMA NERVOSO CENTRAL .....	20
1.2 MEDULA ESPINHAL .....	21
1.3 SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMICO .....	24
1.4 LESÃO MEDULAR .....	26
1.4.1. Definição .....	26
1.4.2. Etiologia e Epidemiologia .....	26
1.4.3 Classificação da LM .....	27
1.4.4 Fisiopatologias .....	29
1.4.5 Histopatologia .....	30
1.5 MECANISMOS E TRATAMENTOS – MINIMIZANDO OS EFEITOS DA INJÚRIA .....	32
1.6 AGPI .....	33
1.7 SNC E SISTEMA IMUNITÁRIO .....	37
1.7.1 AGPI e Neuroproteção .....	40
1.8. ÓLEO DE PEIXE .....	41
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>43</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>44</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	44
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	44
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>45</b>
4.1 PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....	45
4.2 MODELO EXPERIMENTAL .....	46
4.2.1 Cuidados Pós-operatórios .....	46
4.2.2. Administração da Emulsão Injetável Rica em Ômega 3 .....	47

4.3 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPÓREA .....	48
4.4 ANÁLISE DE MASSA TECIDUAL .....	48
4.5 ANÁLISE PLASMÁTICA.....	48
4.6 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE .....	48
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>49</b>
5.1 HPLC.....	49
5.1.1 Percentagem de ácidos graxos saturados e insaturados no fígado .....	49
5.1.2 Razão n-6 /n-3 no fígado.....	51
5.1.3 Índice de Insaturação do fígado .....	52
5.2 MASSA CORPORAL DOS ANIMAIS .....	52
5.3 MASSA ÚMIDA DOS TECIDOS.....	53
5.3.1 Fígado .....	53
5.3.2 Rim.....	54
5.3.3 Adrenal .....	55
5.3.4 Perigonadal .....	56
5.3.5 Retroperitonal .....	57
5.4 CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA .....	58
5.4.1 Glicose .....	58
5.4.2 Colesterol .....	59
5.4.3. Triacilglicerol -TAG .....	60
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>83</b>

## INTRODUÇÃO

A capacidade do organismo de se comunicar e adaptar-se ao meio é fundamental para a sobrevivência da espécie. Nos mamíferos os sistemas humorais e neuronais desempenham papéis importantes nessa interação homeostática adaptativa(KANDEL; SCHWARTZ, 2003).

A medula espinhal é uma estrutura, localizada na região dorsal, com origem no encéfalo e se estende até a região lombar. Apresenta em sua estrutura regiões com diferentes funcionalidades, embora as funções sensíveis e motoras sejam as mais conhecidas e estudadas, as alterações autonômicas não são menos importantes para o equilíbrio do organismo(SILVA et al., 2014).

Diversas estruturas, órgãos e moléculas interagem para que respostas possam ser organizadas, sinérgicas, promissoras e eficazes. O sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP) desempenham importante papel nesta função.

A integração entre SNC e o SNP, via medula é responsável pela conexão autonômica, motora e sensitiva.

Danos na medula, comumente chamados de lesão medular (LM) podem interromper a comunicação entre os sistemas em maior ou menor grau, trazendo consequências de acordo com sua severidade. LM pode gerar perdas sensitivas e motoras e modificar respostas em órgãos e sistemas. Os danos variam de acordo com a região acometida (SILVA et al., 2014).

A LM diminui a expectativa e qualidade de vida por diversos fatores em que os problemas cardíacos são os mais fatais e alterações na composição corporal, úlceras de pressão e infecções são as mais recorrentes (KRASSIOUKOV et al., 2009).

Por outro lado, ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 (AGPI n-3) são moléculas com funções reconhecidas e essenciais em todo organismo. Sua função de sinalização, imunomodulação, neuroproteção, neurorestauração, fonte energética e metabólica, tornam-no um importante recurso para o tratamento e prevenção de diversas disfunções, seja no SNC ou sistemicamente(IBARGUREN et al., 2014).

As alterações metabólicas após lesão na medula, e a falta de respostas para

tratamento destas alterações, comprova a necessidade de pesquisas que aumentem a qualidade de vida e longevidade desta população.

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 SISTEMA NERVOSO CENTRAL

O sistema nervoso central (SNC), é composto pelo encéfalo e medula espinhal, sendo essas estruturas compostas majoritariamente por neurônios e células da glia – as células nervosas. As células da glia são compostas pela micróglia, oligodendrócitos e astrócitos. A micróglia possui função fagocitária, e são derivadas do tecido hematopoiético. Os oligodendrócitos desempenham papel de sustentação, com capacidade pluripotente e os astrócitos são responsáveis pelo aporte sanguíneo, metabolismo, homeostase, defesa, transmissão sináptica, e em alguns casos neurogênese (HEINRICH et al., 2012; KERSTETTER; MILLER, 2012).

Os neurônios, por sua vez, são compostos por três principais estruturas: (i) dendritos cuja importância é estabelecer conexões entre um neurônio e outro, sendo especializados em receber informação. Um neurônio pode ter milhares de dendritos e normalmente não são mielinizados; (ii) axônios, que estabelece transporte na despolarização e na transmissão sináptica, que chegaram pelos dendritos e passaram pelo corpo celular. Normalmente a célula nervosa possui apenas um axônio, e seu comprimento varia entre milímetros e até um metro; (iii) corpo celular onde se situa o núcleo e demais organelas, sendo o centro metabólico do neurônio. Corpos celulares variam muito de tamanho e estrutura, e é responsável pela síntese de todas as proteínas neuronais (KANDEL; SCHWARTZ, 2003; JUNQUEIRA, 2013). Fisiologicamente, o SNC com a interação do sistema nervoso periférico, controlam todas funções endócrinas, exócrinas, musculares e sensitivas. São essenciais na manutenção da homeostase, bem como na monitoração entre o ambiente externo e interno. Respostas autônomas e adaptativas são ações influenciadas por ações do SNC.

## 1.2 MEDULA ESPINHAL

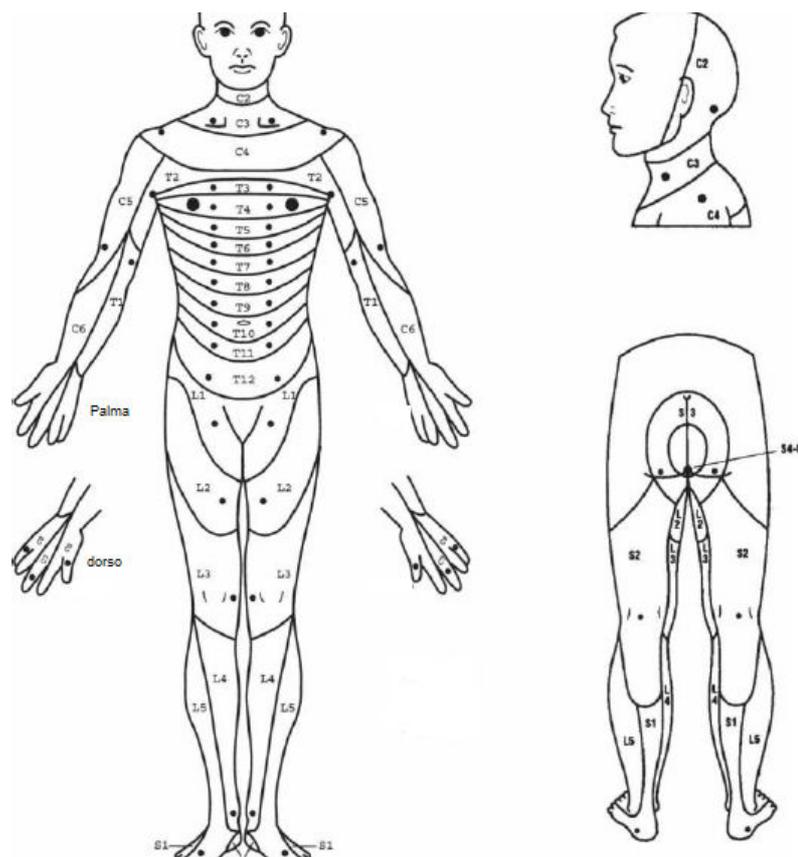
A medula liga o centro superior e o sistema periférico, e tem como função a condução e transmissão nervosa tanto ascendente quanto descendente (GARSTANG; MILLER-SMITH, 2007; ZHOU et al., 2015). Anatomicamente com origem na base do cérebro, na medula oblonga, se estende até a primeira vértebra lombar nos humanos e, em ratos até a terceira vértebra lombar, podendo apresentar diferenças individuais. Ao longo do seu comprimento, partem nervos sensitivos e motores que são classificados de acordo com os níveis vertebrais em que se encontram, sendo divididos e classificados em 8 cervicais, 12 torácicos, 5 lombares, 5 sacrais e 1 coccígeo, totalizando 31 pares.

O tecido medular é composto pela substância cinzenta e branca. A substância cinzenta, localizada na porção central da medula tem corpos celulares, possuindo um formato de “H” ou de borboleta, cuja secções transversas são denominadas cornos dorsal e ventral (Figura 1). Pelo corno ventral descende neurônios motores que irão inervar a musculatura correspondente, e pelo corno dorsal ascende neurônios sensoriais para o encéfalo. Perifericamente à substância cinzenta, encontra-se a substância branca, composta principalmente de axônios mielinizados, o que dá a coloração esbranquiçada dessa região. Essa região é responsável pela condução de informações aferentes (do corpo para o encéfalo – Fig 01/esquerda) e eferentes (do encéfalo para o corpo – Fig 01/direita) (KIRSHBLUM et al., 2002; SILVA et al., 2014).



**Figura 1** – Secção transversa da medula espinhal humana. Localização aproximada dos tratos espinhais ascendentes (esquerda) e descendentes (direita). S= sensorial M=motor.  
**Fonte:** SILVA et al., 2014 (modificada pelo autor).

Pela medula espinhal encontra-se fibras nervosas pertencentes ao sistema nervoso somático (SNS) e sistema nervoso autonômico (SNA). O sistema somático é responsável pelas funções motoras e sensoriais. O sistema nervoso motor corresponde a grupos musculares específicos que recebem informações de movimento, das raízes nervosas específicas da região medular. Por exemplo, raízes nervosas torácicas descendentes irão inervar regiões específicas da musculatura abdominal, torácica e membros inferiores. Já raízes nervosas da região cervical irão inervar, além das regiões acima citadas, com os membros superiores. Cada região muscular é conhecida como miótomo, sendo que o corpo humano possui 10 miótomos. Por outro lado, o sistema nervoso somático sensitivo corresponde a áreas específicas com informação sensória em uma raiz medular já conhecida (Fig 2). Cada região sensitiva é conhecida como dermatomo, sendo 28 o número de dermatomos do corpo humano (JR et al., 1997).



**Figura 2** – Descrição sistemática dos dermatômeros.  
**Fonte:** KIRSHBLUM et al., 2002 (modificada pelo autor).

A medula é protegida por vértebras e meninges. Ao todo são 24 vértebras, divididas em 7 cervicais, 12 torácicas, 5 lombares, 4 sacrais e em torno de 4 coccígeas. As vértebras são formadas de tecido ósseo, como principal função proteger a medula espinhal são individuais, e quando todas unidas formam o canal medular. As meninges também possuem importante papel de proteção da medula. É um envoltório de característica fibrosa e são constituídas de 3 membranas: (i) a dura-máter, membrana mais espessa e externa. A dura-máter ainda ‘envelopa’ as raízes nervosas, já externamente à medula espinhal; (ii) A aracnoide é a membrana localiza entre a dura-máter e a pia-máter; (iii) a pia-máter é a membrana mais interna e envolve e adere toda medula, inclusive penetrando na fissura mediana anterior (SILVA et al., 2014).

### 1.3 SISTEMA NERVOSO AUTONÔMICO

O sistema nervoso autonômico é uma complexa rede neuronal que fornece informações a todo corpo humano (INSKIP et al., 2009), sendo responsável pela regulação de diversos órgãos e mecanismos como a musculatura lisa, cardíaca e glândulas exócrinas. Por exemplo, mecanismos cardiovasculares, homeostase térmica, ações ligadas diretamente e indiretamente a funções de órgãos como bexiga, rins e intestino e respostas ao exercício físico são orquestrados pelo SNA. O SNA faz parte do SNC, percorrendo toda a medula espinhal, assim como os feixes ascendentes e descendentes somáticos, exteriorizam-se da medula espinhal pelos forâmens, inervando todos os órgãos. Em adição, o SNA é dividido em sistema nervoso simpático (SNSi) e sistema nervoso parassimpático (SNPa). Esses sistemas normalmente possuem funções antagônicas, tendo o SNSi um papel de luta ou fuga (excitatório), e o SNPa de descanso e digestão (depressor) (GARSTANG; MILLER-SMITH, 2007). Ambos, o SNSi e SNPa, possuem neurônios dentro do sistema nervoso central, os chamados neurônios pré-ganglionares, cujo corpo do neurônio apresenta uma coloração acinzentada. Os axônios destas fibras ficam nas raízes ventrais ou dentro do crânio, e estes neurônios centrais se comunicam com outros neurônios. Os neurônios periféricos, são conhecidos como neurônios pós-ganglionares, ou seja, são neurônios que estão em gânglios e fazem parte do sistema periférico, os axônios destes neurônios periféricos chegam até os órgãos alvo (KRASSIOUKOV et al., 2012).

O SNSi é anatomicamente localizado na região tóraco-lombar. Seus feixes são localizados por toda região torácica se estende até mais ou menos a região das duas primeiras vértebras lombares. Na medula, seus núcleos ficam normalmente nos cornos laterais e intermédio laterais. Os neurônios simpáticos pós-ganglionares ficam na região onde se encontra a musculatura paravertebral, e estes neurônios pós-ganglionares tem axônios extensos que chegam à região periférica se comunicando então com todos os órgãos (KRASSIOUKOV et al., 2012).

Já o SNPa, tem 4 neurônios que estão localizados aos pares em núcleos dentro da caixa craniana (NC III, VII, IX e X), neurônios no tronco cerebral e neurônios originados da região sacral, ou seja, craniocaudal. A bexiga, os órgãos reprodutores e a região final do intestino são os únicos órgãos a receber inervação

parassimpática, e ela vem da região sacral. O nervo vago (CN X), troca informações com o nodo sinoatrial e células do sistema nervoso entérico do intestino (KRASSIOUKOV et al., 2012). Anatomicamente, a integridade morfológica e funcional da medula espinhal e seus componentes é necessária a homeostase. O coração, é um exemplo de órgão que recebe informação parassimpática via nervo vago no nodo sinoatrial e simpática diretamente no coração que vem da região torácica superior e indiretamente da região torácica média inferior (T5-T12), inervando o sistema vascular mantendo assim um fino controle sobre a circulação sanguínea basal, pressão arterial e frequência cardíaca. Na bexiga a função do SNSi é relaxar o músculo detrusor e contrair o colo, portanto o sistema simpático trabalha no armazenamento da urina, enquanto o SNP, mais especificamente os gânglios sacrais, tem ação antagônica no músculo detrusor, ou seja, ele relaxa o músculo e auxilia na liberação da urina. Alterações na região medular podem causar a dessincronização, causando diferentes respostas no controle urinário, esta alteração de resposta é importante fonte de informação na investigação sobre danos medulares. Além do coração e da bexiga é importante lembrar que a sincronia entre SNSi e SNPa é responsável pelas respostas sexuais, sendo que a região inferior torácica e lombar, associada com a região parassimpática sacral e o controle somático são responsáveis pela lubrificação, ejaculação e orgasmo (KRASSIOUKOV et al., 2012). O domínio de ação simpática ou parassimpática também pode ser alternada, um exemplo rotineiro dessa modulação seria a predominância do SNPa enquanto descansamos, mantendo a frequência cardíaca e pressão arterial em condições basais, porém, ao levantar-nos e começar a caminhar, é necessário ativar o sistema cardiovascular, e nesse caso existe uma troca de predominância do SNPa para o SNSi (GARSTANG; MILLER-SMITH, 2007).

Células do sistema nervoso podem atuar regulando e sendo reguladas por mecanismos inflamatórios no SNC. O SNA também é conhecido por ser integrador entre o sistema imunitário e endócrino. Fibras simpáticas e parassimpáticas inervam diretamente órgãos como baço, timo e nódulos linfáticos, além de seus vasos sanguíneos, controlando o fluxo de sangue e a comunicação celular (BASTIEN; LACROIX, 2014). As catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) são importantes moduladoras do sistema neural, endócrino e imunitário, e isto se dá pela comunicação direta entre as fibras simpáticas e órgãos linfoides.

## 1.4 LESÃO MEDULAR

### 1.4.1. Definição

LM refere-se a qualquer lesão no tecido medular que culmine em déficits sensoriais e/ou motores, e é uma importante causa de dependência, morbidade e mortalidade em indivíduos jovens (BOTELHO et al., 2014)

Os primeiros relatos sobre casos de LM datam mais de 4.000 anos, e mesmo com todo o conhecimento adquirido, há somente cuidados referentes as patologias secundárias à LM, sem um tratamento de recuperação integral das funções perdidas(OUDEGA,2013;SILVA et al.,2014).

As consequências da LM são multifatoriais, dependente de mecanismos celulares, genético e ambientais (THURET et al., 2006). LM apresenta consequências físicas, fisiológicas, sociais e emocionais de impacto severo e muito deles permanentes, que variam de acordo com a idade cronológica no momento da lesão, condições de saúde anterior à LM, causa da lesão, primeiros atendimentos, condições relacionadas a higiene, cuidados e atenção à saúde também são fatores que influenciam o “pós-lesão” (BRASIL, 2013).

### 1.4.2. Etiologia e Epidemiologia

Diferentes são as causas de LM e entre as mais comuns estão o trauma, alguns tipos de cânceres e certos vírus. Entretanto, dentre essas citadas, a de maior incidência é a LM traumática (RAHIMI-MOVAGHAR et al., 2013). Ainda, os casos de trauma diferem entre si, que podem ter influências regionais e sazonais. Grandes centros urbanos tendem a ter maior índice de LM por acidentes no trânsito (motos e carros), por armas de fogo e em menor escala por arma branca. Em cidades do interior, ou durante o verão no litoral, a grande causa de LM é o mergulho em águas rasas (KIM et al., 2015).

A revisão sistemática de literatura de Rahimi-Movaghar et al. (2013), ao fazer um panorama mundial, mostra que anualmente os casos de LM traumática variam entre 12,1 até 57,8 casos por milhão de habitantes, representando a imensa maioria dos casos o sexo masculino (82%), com idade média de 37,5 anos e características de lesão de lesão completa (56%), e tendo como principais causas acidentes automobilísticos (41%) sendo o mais citado em todas as pesquisas, e queda de altura ou ferimentos por arma de fogo, que divergem entre si de acordo com as características culturais e geográficas.

Especificamente no Brasil, Botelho et al. (2014) relatam que, a idade em que a maioria dos casos de LM traumática acontece é 34,75 anos, sendo que mais de 35% dos casos são tetraplegia e aproximadamente 85% dos casos são do gênero masculino, sendo que a incidência pode variar de 16 a 26 casos por milhão de habitantes

Dados do centro nacional de estatística data-base LM dos Estados Unidos, verificaram que na década de 70 a idade das pessoas que sofriam LM tinha média de 29 anos e agora no século XXI subiu para 37 anos, e, proporcionalmente o número de lesões com pessoas acima de 60 anos passou de 5% para 13%. Assim como a média de idade da LM vem aumentando em países onde a expectativa de vida vem crescendo, o número de mulheres que sofrem LM decorrentes de problemas de osteoporose (DEVIVO, 2012).

#### 1.4.3 Classificação da LM

Quando se fala em injúria na medula espinhal, as diferentes etiologias além das particularidades estruturais da medula espinhal ditarão a gravidade da lesão. Dependendo do nível (qual ou quais raízes nervosas foram comprometidas) e extensão (área atingida da secção transversa), se manifestarão em quadros distintos de LM. Devido a isso, houve a necessidade de se estabelecer um método para classificar os diferentes níveis de LM (KRASSIOUKOV et al., 2012).

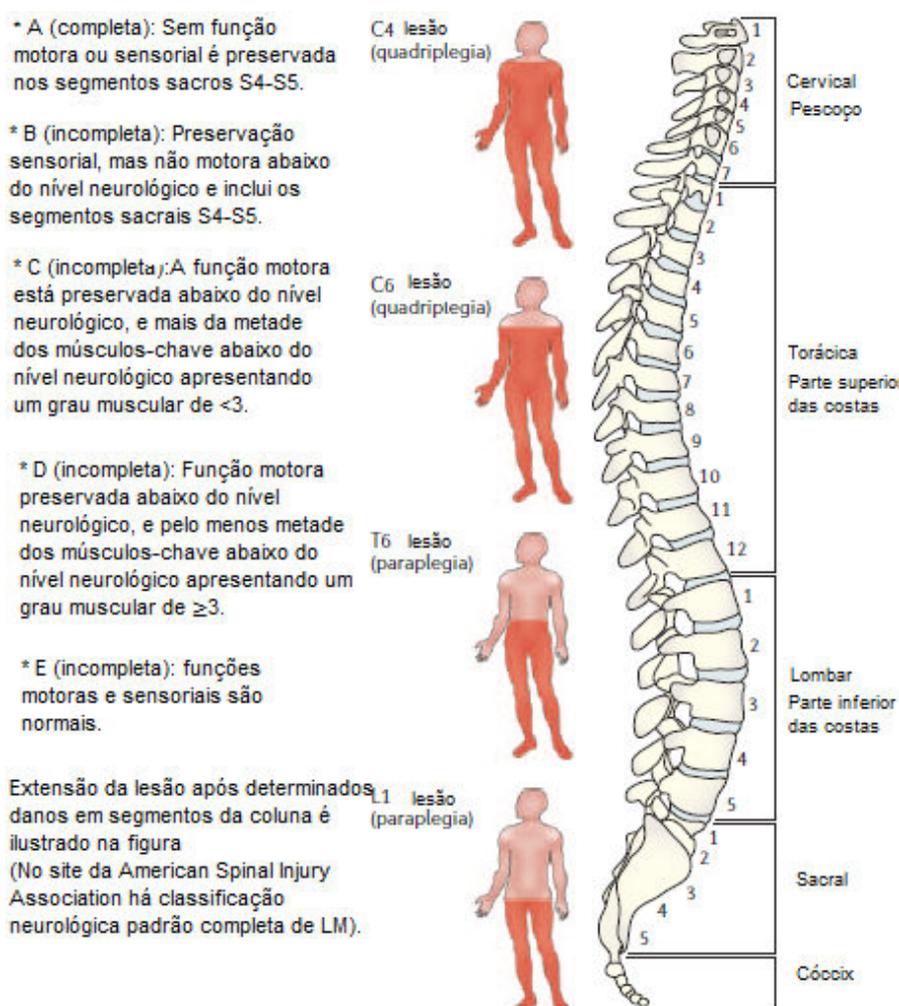
A American Spinal Injury Association (ASIA), juntamente com a International Spinal Cord Society (ISCoS) estabeleceram a utilização de uma escala de exames motor e sensitiva, para a classificação da LM. Agregado a escala ASIA (FIGURA 3),

outras avaliações são usadas mensurando dificuldades, facilidades e limitações apresentadas por estes indivíduos, como exemplo a Functional Independence Measure (MIF), que avalia o grau de independência do indivíduo nas realizações de atividades de vida diária (JR et al., 1997; KRASSIOUKOV et al., 2012).

A escala ASIA, avalia os dermatômos, que são regiões específicas na pele que recebem inervação sensitiva, e os miótomos, correspondente aos músculos inervados pela raiz motora espinhal. Há nesta escala um total de 28 dermatômos e 10 miótomos, que são testados bilateralmente. A avaliação permite classificar a LM em categorias, sendo elas:

Tetraplegia = Acometimento em que compromete a atividade dos 4 membros (braços e pernas) e tronco.

Paraplegia = Compromete dois membros, a lesão normalmente acomete o sistema central em região torácica, lombar e sacral envolvendo também cauda equina. (JR et al., 1997).



**Figura 3** –Principais características da lesão medular (LM) de acordo com a escala ASIA de avaliação. **Fonte:** Adaptado de Thuret et al. (2006).

#### 1.4.4 Fisiopatologias

Além das consequências diretas (paralisia e perda da sensibilidade referente ao nível da lesão), LM pode desencadear mudanças metabólicas, funcionais e estruturais em outros órgãos e tecidos, como por exemplo: problemas renais, incontinência urinária, úlceras de pressão, infecções do trato urinário e respiratório, dor neuropática, osteoporose problemas cardiovasculares, disreflexia autonômica, entre outras (RAHIMI-MOVAGHAR et al.,2013;MICHAEL-TITUS; PRIESTLEY,2014;ZHOU et al.,2015;GORGEY et al., 2015).

Entretanto, dentre todas as patologias, algumas representam maior índice de morbidade e mortalidade, como por exemplo disfunção do sistema imunitário, doença cardiovascular, disreflexia autonômica e disfunção do sistema nervoso autonômico (SQUAIR et al.,2015).

As disfunções autonômicas cardiovasculares variam de acordo com o nível da lesão: por exemplo, lesões cervicais, pela perda de comunicação dos gânglios simpáticos com o coração, eliminam as informações excitatórias deste órgão, apresentando bradicardia e hipotensão. Disfunções respiratórias que comprometem a inervação do diafragma são severas, causando hipossuficiência e direcionando a patologias do trato respiratório. Em adição, alterações de função no trato urinário como consequência do sistema autonômico comprometido, pode causar dissinergismo da bexiga, que, aliado com retenção de urina e aumento da pressão interna e refluxo para o trato urinário superior. Essa disfunção do trato urinário inferior e superior são agentes causadores de infecções urinárias por repetição, causando também altos níveis de óbitos. A função gastrointestinal autônoma age em conjunto com o sistema entérico, a liberação fecal, por exemplo, constipação ou incontinência fecal é relativa também ao grau de preservação do sistema simpático e parassimpático. Alterações autonômicas neste sistema estão relacionadas principalmente a qualidade de vida dos lesados. No período de choque medular há uma arreflexia da bexiga e a retenção urinária comum em todas as lesões, passada

esta fase alterações morfológicas, na estrutura e circuitaria são vistas e a bexiga e a uretra acabam se tornando antagônicas e alterando as funções de acordo com o nível de comprometimento da lesão. Disfunções sexuais estão entre os principais comprometimentos na qualidade de vida pós LM, porque os órgãos genitais (masculino quanto o feminino), tem suas funções dependentes tanto do sistema nervoso autônomo, quanto do córtex. O controle da temperatura é feito normalmente pelo sistema autônomo, através de alterações na circulação periférica e pelas glândulas sudoríparas, o comprometimento dos destes gânglios do sistema nervoso acomete a homeostase corporal, dificultando por exemplo o controle da temperatura durante o exercício físico, que acarreta em diversas consequências drásticas ao organismo(INSKIP et al., 2009;SQUAIR et al., 2015).

A disreflexia autonômica, nome dado devido a uma ação intensa do sistema nervoso simpático frente a um estímulo. Dentre os sintomas estão fortes dores de cabeça, sudorese acima do nível da lesão, ansiedade, congestão nasal, pele seca e pálida abaixo do nível da lesão, bradicardia, arritmias, aumento na pressão arterial, e se não for tratada, pode apresentar desde descolamento da retina, aumento na pressão intracraniana, convulsões e até mesmo a morte. Sendo mais comum ser apresentada em pacientes com lesão medular completa e quando a lesão se encontra acima da sexta vértebra na região torácica. A manifestação normalmente pode acontecer pós estímulo nocivo, como estímulos relacionado a bexiga e inflamação do cólon (KRASSIOUKOV et al., 2009).

Danos na medula espinhal, acarretam em falhas de comunicação entre o sistema neuroendócrino e imunitário. As falhas nessa comunicação fazem com que o lesado medular apresentem tanto inflamação crônica como déficit imunitário. De fato, altos níveis de mortalidade são relacionados com o sistema imunitário comprometido, seja por inflamação crônica, responsável por doenças cardiovascular, seja por imunodepressão, elevando a incidência de infecções(BASTIEN; LACROIX, 2014).

#### 1.4.5Histopatologia

Os eventos secundários da LM, são clássicos de processos inflamatórios. A

resposta à apoptose e necrose celular, aumenta a resposta pró-inflamatória favorecendo respostas do sistema imunitário e metabólico aumentando os danos celulares na região (ALVES et al., 2013).

As células componentes do sistema nervoso normalmente não respondem igualmente às demais células do organismo quando sofrem algum dano, portanto, a lesão inicial causada pelo trauma mecânico é apenas o início de uma cascata de eventos que acarretará em morte celular por horas e até dias (MCDONALD; SADOWSKY, 2002; BOWEN et al., 2007).

O impacto na medula espinhal pode causar danos na barreira hematoencefálica, lise dos vasos sanguíneos e de neurônios. Como consequência, a infiltração de células responsáveis pelo processo inflamatório, íons e outras moléculas aumentam o edema local, exacerbando o processo inflamatório (LUKOVIC et al., 2015).

Aumentada quantidade de cálcio no interior destas células neuronais eleva a concentração de ânions como o peróxido de oxigênio na célula. Diante do aumento de ânions peróxidos da célula, superóxidos catalisam a reação de formação de peróxido de hidrogênio, que diminui o pH da célula. A formação destas espécies livres de oxigênio, alteram algumas associações celulares como a ligação da transferrina com a ferritina, ou também por exemplo, o óxido nítrico formando o peróxido de nitrito e outros radicais como subprodutos. Os radicais livres originados destas reações interagem com a membrana celular, que é composta por ácidos graxos, gerando peroxidação lipídica, e assim, lisando a membrana celular de células até então saudáveis, como astrócitos adjacentes (BAINS; HALL, 2012; WILSON et al., 2013; OUDEGA, 2013; MICHAEL-TITUS; PRIESTLEY, 2014; ZHOU et al., 2015).

Os astrócitos, após um dano neuronal, abandonam a forma quiescente e desencadeiam diversos e complexos mecanismos de ação e ainda há incertezas sobre a origem da ativação destes mecanismos como molecular, temporal e/ou funcional. Esse tipo celular, no dano celular ao interagir com células da meninge e outras células adicionais do sistema nervoso aumenta a liberação de substâncias reparativas e benéficas ao sistema neuronal como por exemplo na cicatrização, na preservação de neurônios e oligodendrócitos, e funções de preservação motora, mas o mesmo não acontece diante da interação com outras moléculas de matriz extracelular (LUKOVIC et al., 2015; BUFFO et al., 2010; FAULKNER, 2004).

A lise celular e a exposição do conteúdo citoplasmático nos astrócitos também pode ser uma via de sinalização via receptores P2Y, um tipo de receptor que acoplado à proteína G, aumenta a produção de proteína fibrilar glial (GFAP), evidenciando então o processo de regeneração de astrócitos. A mesma família P2Y também ativa vias inflamatórias, como a expressão das ciclooxigenases 2 (cox-2), e do ácido araquidônico (ARA) e seus derivados. Além destas ativações os receptores da família P2Y podem atuar via integrinas aumentando o processo de liberação de citocinas e apoptose celular (BUFFO et al., 2010).

Citocinas são moléculas mediadoras, e em situação homeostática são expressas em pequenas concentrações, já situações adversas liberam mediadores primários como as interleucinas (IL-1B), fatores de necrose tumoral (TNF) e interferons. Estes mediadores levam a a produção de mediadores secundários que são os ácidos como o araquidônico, óxido nítrico e algumas enzimas. Estes mediadores secundários, ao permanecer no sistema nervoso central por mais tempo, podem desencadear a destruição de células saudáveis. As efrinas são um tipo molecular provavelmente liberado pela citocinas inflamatórias também tem função em reparo de dano neuronal (FAULKNER, 2004; BUFFO et al., 2010).

## 1.5 MECANISMOS E TRATAMENTOS – MINIMIZANDO OS EFEITOS DA INJÚRIA

A utilização de fármacos após a LM é fundamentada na tentativa de evitar o alastramento da lesão. O alastramento da lesão é conhecido como dano secundário após a LM.

Terapias com fármacos antioxidantes, tenta inibir a formação de espécies reativas de oxigênio. É uma terapia praticamente inviável, já que o tempo necessário para a intervenção tem uma janela de ação muito pequena.

O tratamento mais comum, o anti-inflamatório cujo fármaco mais conhecido e utilizado é o esteroide glicocorticoide metilprednisolona.

Avanços no conhecimento da LM aconteceram principalmente depois da década de 90, embora os conhecimentos sobre os mecanismos de lesão tenham sido melhor elucidados, pouco se consegue fazer para evitar as complicações secundárias decorrentes de uma lesão ao sistema neuronal, ou seja, são poucas as

intervenções utilizadas eficazes para diminuir os efeitos deletérios da inflamação pós-LM no sítio da injúria (THURET et al., 2006).

Na década de 80 os glicocorticoides se mostraram eficientes na excitabilidade motora e transmissão sináptica. Tal ideia foi embasada na natureza lipofílica do fármaco, e acreditava-se que havia diminuição da propagação da peroxidação lipídica e diminuição da concentração interna de cálcio, a melhora no metabolismo aeróbio celular e na vascularização da região. O uso do esteroide metilprednosolona, principalmente nas primeiras horas pós lesão tem evidências de que atue diminuindo radicais livres, o efeito tóxico do glutamato livre e assim, apresentando uma melhora na recuperação motora (MCDONALD; SADOWSKY, 2002). Observou-se, no entanto, que a quantidade necessária para a perfeita dose-resposta do fármaco era extremamente alta e a utilização de tal fármaco além da dose sofre a influência de tempo (BAINS; HALL, 2012). Seus efeitos passaram a ser considerados controversos. Estudos recentes mostram efeitos deletérios como hemorragia intestinal, sepse, pneumonia, dentre outros (WILSON et al., 2013).

Fármacos como o U-83836E, um lazaróide, tem tido resultados positivos na preservação da capacidade respiratória da mitocôndria, bem como na diminuição da peroxidação lipídica. A utilização da melatonina também vem apresentando resultados promissores devido a alteração na expressão de enzimas antioxidante. Resveratrol, tem sido associado a diminuição de edema e também na função da bomba de  $\text{Na}^+$   $\text{K}^+$  ATPase, diminuindo então o estresse oxidativo na LM, antioxidantes compostos de nitrato vem sendo estudados como benéficos no tratamento após LM (BAINS; HALL, 2012)

Sintéticos similares aos receptores proliferadores ativados de peroxisomos (PPAR), em especial da família  $\gamma$ , atuam na expressão e repressão da transcrição de determinados genes que controlam funções ligadas a sobrevivência neuronal tem apresentado resultados promissores em LM, esses fármacos atuam especialmente prevenindo a expressão de RNA mensageiros na transcrição de fatores pró-inflamatórios (BOWEN et al., 2007).

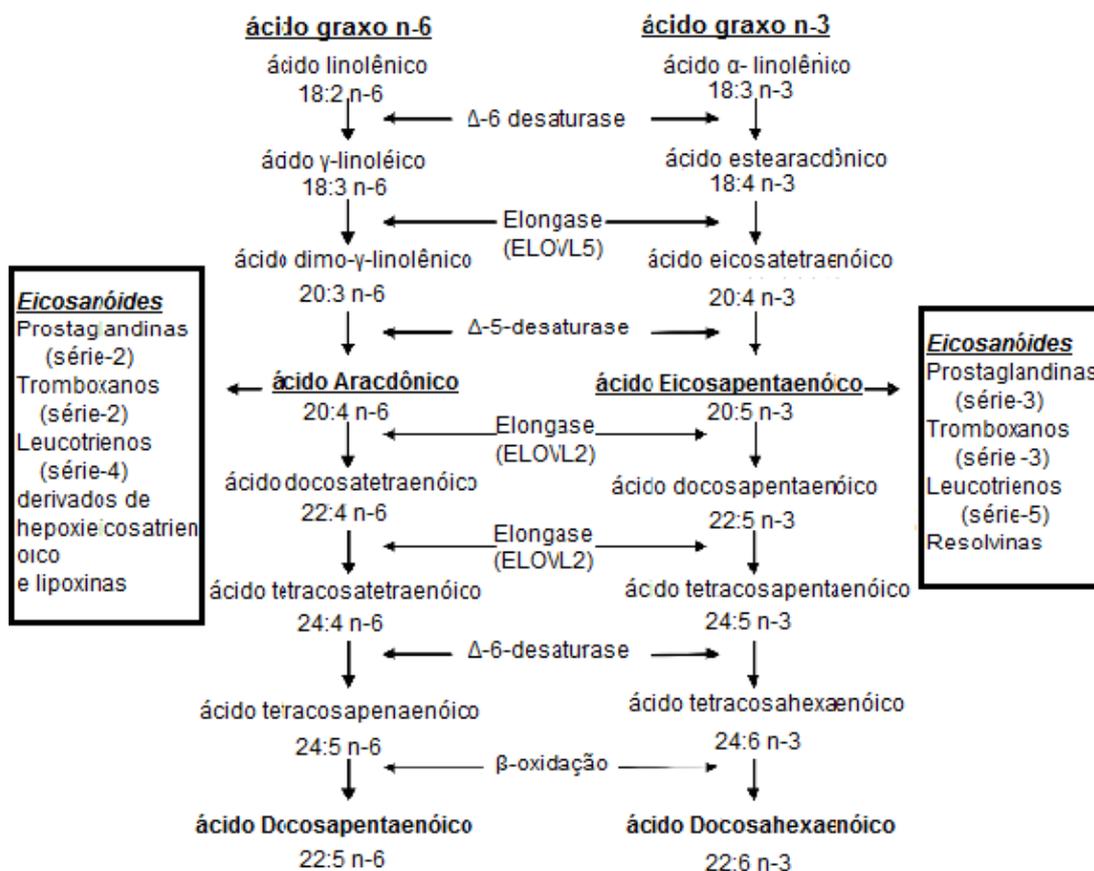
## 1.6 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS

Ácidos graxos são ácidos carboxílicos (COOH) de cadeia curta, média ou longa, hidrofóbicos, estando presente na natureza sob diversas formas e são classificados de acordo com o número de carbonos presente na molécula (KLEK, 2016).

A ligação entre os carbonos pode ser saturada (onde os carbonos apresentam ligações simples) ou insaturada (quando apresentam uma ou mais ligações duplas). Ácidos graxos que apresentem apenas uma ligação dupla são chamados de monoinsaturados, e os que apresentam duas ou mais ligações duplas são denominados poli-insaturados. A saturação corresponde a um único par de elétrons partilhado entre os carbonos. Quando insaturado, o ácido graxo tem mais de dois elétrons partilhados, e essa insaturação pode ser em um único lugar na molécula (monoinsaturado) ou mais de uma ligação dupla em diferentes posições (DEFILIPPIS; SPERLING, 2006). Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), das famílias n-6 e n-3 são obtidos pela dieta ou produzidos no organismo a partir dos ácidos linoléico (LA) e alfa-linolênico (ALA), respectivamente (DYALL; MICHAEL-TITUS, 2008).

No final da década de 70, pesquisadores perceberam que mais do que a função de estruturar as membranas, lipídeos atuavam também na sinalização, e na ativação de proteínas específicas (IBARGUREN et al., 2014).

Hábitos alimentares principalmente vem se alterando nas últimas décadas, havendo um declínio na qualidade alimentar, onde a ingestão de gorduras saturadas vem sobrepondo o consumo de vegetais e peixes o que favorece a manifestação de diversas doenças, como por exemplo, doenças cardiovasculares e imunes. Os ácidos graxos n-3 e n-6 têm distintas funções no organismo e nós, humanos, não temos capacidade de converter estes substratos, ou seja, não temos como alterar as concentrações destes ácidos depois de ingerido, o fornecimento destes substratos é dependente da ingestão alimentar. As enzimas  $\Delta 12$  e  $\Delta 15$  não são enzimas responsáveis pela conversão do n-3 em n-6 e vice-versa. A ausência destas enzimas, como no caso do organismo humano, há a perda na capacidade de conversão, conclui-se então a necessidade de uma dieta balanceada para o equilíbrio do organismo em especial dosando corretamente as concentrações de ácidos graxos. A capacidade do organismo tornar os ácidos graxos n-3 e n-6 em eicosanóides metabolicamente ativos deve-se principalmente a cascata de reações descritas na (FIGURA 4) (IBARGUREN et al., 2014).



**Figura 4** –Metabolismo dos ácidos n-3 e n-6.  
**Fonte:** Adaptado de Schmitz e Ecker (2008).

Os ácidos graxos são uma excelente fonte de energia, tem sua função conhecida na membrana celular, pela construção de lipídeos complexos, além da importância na absorção de vitaminas, como a A e D e nos humanos E e K (GLATZ et al., 2010; HUANG et al., 2007).

Os ácidos graxos são transportados nos mamíferos principalmente agregados à albumina, ou são internalizados em vesículas. Raras são as concentrações livres. Há evidências de que a internalização das vesículas de ácido graxo seja dependente da concentração de íons no organismo. Pode-se então supor que as membranas tenham um limite e especificidade de internalização dos ácidos graxos. O transporte deve estar sempre conjugado a outra molécula devido sua característica hidrofóbica, além de se entender que o transporte aconteça através de molécula carreadora. Eles podem estar presente livres, na forma de triacilgliceróis ou como fosfolipídeos (GLATZ et al., 2010; IBARGUREN et al., 2014).

A insaturação e o comprimento dos ácidos alteram desde a biofísica da

membrana celular, a interação com proteínas e até mesmo o mecanismo de expressão gênica. Estas alterações de membrana permitem maior estabilidade ou maior flexibilidade na sua conformação, o que favorece ou dificulta a inserção de vesículas ou mecanismos de fusão, como por exemplo, metabolismo do fosfato de inositol, que atua na inflamação e sinalização dependente de cálcio. A afinidade lipídica vem sendo estudada por favorecer a formação de domínios específicos e ancoragem de proteínas específicas, que são porções formadas principalmente de esfingolipídios e colesterol, tido hoje como flutuadores livres e desordenados sobre a bicamada celular. Há evidências de que o ácido eicosapentaenoico (EPA) iniba a ativação de células T, e o ácido docosaexaenoico (DHA) interferirá nestes domínios desorganizando e aumentando a concentração de fosfolipase D, que desencadeia efeitos imunossupressores. Além disso, o metabolismo de lipídeo e a sinalização inflamatória são alterados via receptores nucleares. Estes podem sofrer mudanças em sua conformação e alterar a formação de proteínas específicas e consequentemente ações de transcrição. A transcrição dos receptores nucleares é responsável pela formação de diversas citocinas e quimiocinas, além de atuar na formação de diversas enzimas como as ciclooxigenases, sendo a inativação da transcrição destes receptores nucleares percebida na presença de ácidos graxos n-3 (SCHMITZ; ECKER, 2008; GLATZ et al., 2010; IBARGUREN et al., 2014).

As membranas lipídicas podem apresentar diferentes composições com três diferentes classificações: glicerolipídeos, esfingolipídeos e lipídeos esteróis (IBARGUREN et al., 2014). Esta classificação é devido a forma como os AGPI são armazenados, ou seja, eles podem ser armazenados em fosfolipídios no citosol e nas membranas celulares e organelas, em forma de lipídeo ligado a gliceróis e fosfolipídios no citosol (SCHMITZ; ECKER, 2008).

A enzima fosfolipase A2 é responsável pela mobilização dos ácidos graxos. As enzimas ciclo oxigenases e lipoxigenases convertem o ácido araquidônico (ARA) em prostaglandinas tromboxanos, leucotrienos e derivados de lipoxina. Em contraste ácidos como o DHA dão origem a resolvinas, docosatrienos e neuroprotectinas (SCHMITZ; ECKER, 2008).

Estudos propõe que o estabelecimento do equilíbrio entre a ingesta destes dois ácidos essenciais seja essencial na homeostase celular, pois enquanto os eicosanoides vindo do EPA e DHA são anti-inflamatórios, os eicosanoides formados pelo ARA são pró-inflamatórios. Como por exemplo ativação de enzimas pelo ARA

tem características que favorecem as arritmias, ao contrário das ativadas pelo EPA ou as prostaglandinas E2 alterando a produção de COX-2, gerando também uma sequência de citocinas pró-inflamatórias e as tromboxanos B2 que tem ação vasoconstritora e de agregação plaquetária. Já as prostaglandinas E2 que são derivadas do EPA e DHA, diminuem a produção de leucotrienos, este AGPI também tem propriedade de inibir ações como as da enzima tromboxanos E2, promovendo então a vasodilatação(SCHMITZ; ECKER, 2008).Esta modulação nos efeitos E2 é importante na redução do estresse oxidativo e conseqüentemente neuromodulação protetora(MILLS et al., 2011).

O ARA derivado dos ácidos graxos essenciais n-6 está presente na membrana celular e é considerado um lipídeo pró-inflamatório. Há crescentes evidências de que o aumento na concentração de ARA, seja o precursor de diversas doenças(DYALL; MICHAEL-TITUS, 2008). Ao passo que, o EPA e DHA, derivados do n-3 tem características anti-inflamatórias, mas quando em excesso também pode ser precursora de patologias, que por exemplo impedem a defesa celular.

Há evidências de que estes ácidos desempenhem importantes respostas neurais, modulando o sistema dopaminérgico, serotoninérgico e atuem auxiliando na neurotransmissão colinérgica também(ANTHONY; COUCH, 2014).

## 1.7 SNC E SISTEMA IMUNITÁRIO

O sistema imunitário tem função de proteção contra danos ao organismo, seja por patógenos ou qualquer outro insulto. O sistema de defesa tradicionalmente pode ser dividido em duas categorias: o sistema inato (natural) e o adquirido (adaptado). As células componentes do sistema imunitário são originadas na medula óssea, circulam na corrente sanguínea e tem órgãos como o timo, baço, nódulos linfáticos como estruturas especializadas. As células deste sistema têm papéis distintos e agem em conjunto para obter respostas regulares e especializadas (CALDER,2008). Ações do sistema imunitário inato ativam citocinas, recrutam monócitos e macrófagos, enquanto o sistema adaptativo tem resposta específica por conhecimento prévio do antígeno (ROSAS-BALLINA; TRACEY,2009). O sistema imunitário diferencia o que é invasor do que é nato, além de ter “memória” de

proteção relacionada a ações bem-sucedidas de proteção contra antígenos ao longo da vida. Falhas neste sistema são ligadas a ação contra as células do próprio corpo (doenças autoimunes). Reações inesperadas diante de eventos não nocivos (alergias), reações envolvendo perda de tolerância a determinados alimentos (intolerância), em transplantes, e em especial a resposta inesperada diante de eventos externos como a injúria.

Citocinas são proteínas, que diferentes células podem produzi-las, e elas podem atuar sozinhas, juntas ou desencadear a produção de outras citocinas. Os macrófagos são um dos tipos celulares envolvidos na liberação de citocinas, como as Interleucinas (IL) e fator de necrose tumoral (TNF). Atuam desde o metabolismo, até em respostas imunitárias. A diminuição da resposta de citocinas na micróglia contribui para uma resposta atípica após eventos de injúria no SNC (ANTHONY; COUCH, 2014). O aumento dos glóbulos brancos, de proteína C reativa (PCR) e de interleucinas como a IL-6, podem classificar a lesão medular como um estado inflamatório crônico. A alta concentração de citocinas pró-inflamatórias no sistema nervoso diminui a resistência elétrica e aumenta a permeabilidade de diversas outras proteínas na barreira hemato encefálica. Há também evidências de que as citocinas da região peritoneal influenciam a produção de citocinas cerebrais, tal evidência, é baseada na percepção de que após transecção do nervo vago houve diminuição de febre, aumento na liberação de noradrenalina a noite, levando a hipótese de que as citocinas da região peritoneal alteram as respostas de citocinas do SNC (ALVES et al., 2013), lembrando que são tipos celulares com pouco tempo de vida, pontuais e inflamatórias, mas ao passar do tempo de aumentam o espectro de ação em tecidos saudáveis dificultando o reestabelecimento da homeostase (ROSAS-BALLINA; TRACEY, 2009).

A medula espinhal apresenta micróglia uniforme em toda sua extensão, porém os eventos causadores da resposta à injúria medular são diferentes e dependem da região acometida (ANTHONY; COUCH, 2014). A resistência à entrada de células do sistema imunitário aumenta a resposta atípica de células inflamatórias no SNC, a presença de células do sistema imunitário é diferente entre tecidos periféricos e o sistema nervoso central, enquanto o primeiro rapidamente é inundado por leucócitos o segundo sofre uma invasão tardia de monócitos por exemplo (ANTHONY; COUCH, 2014).

O fígado é responsável por atenuar os resultados inflamatórios ou

infecciosos do corpo, ele modula os níveis de leucócitos, de eletrólitos, glicocorticoides, afim de coordenar respostas que retornem a homeostase e promovam o reparo e a regeneração tecidual. Nessa tentativa de reparo tecidual, muitas expressões gênicas são alteradas e o organismo, de maneira geral, resultando em resposta sistêmica a inflamação, o que causa danos aos mais diferentes tecidos. Evidências verificam que LM acima do nível torácico comprometem menos o sistema hepático do que quando a injúria está abaixo do nível torácico. Em seres humanos após a LM traumática há um aumento no recrutamento de leucócitos que se inicia nas primeiras 6 horas e perdura por duas semanas (ANTHONY; COUCH, 2014).

O sistema imunitário na LM traumática induz resposta de células de defesa, e a quantidade circulante e o recrutamento são administradas pelo fígado e, esse excesso aumenta sistemicamente a resposta inflamatória causando danos a diversos outros tecidos (ANTHONY; COUCH, 2014).

A regulação neural do sistema imunitário é evidenciada, por exemplo, em eventos estressores que desencadeiam respostas não apenas derivada das adrenais, mas também mutações, apoptoses, aumento da secreção de imunoglobulinas, ação do timo e órgão linfoides, dentre outras (DOWNING; MIYAN,2000).

Os macrófagos e neutrófilos são os principais responsáveis pela produção de TNF- $\alpha$ , e a produção desta proteína acontece devido a diversos estímulos, em que processos inflamatórios é considerado um deles. Funcionalmente esta citocina tem capacidade de atuar na expressão de diversos genes e vias de transdução, seu volume aumentado pode alterar desde temperatura corporal, até em processos catabólicos, como no câncer e doenças inflamatórias(ALVES et al., 2013). Os macrófagos, apresentam dois fenótipos de ativação distintos. A ativação pró-inflamatória e a ativação anti-inflamatória. Esta distinção de ativação ainda é investigada e responde a fenômenos ainda não elucidados, sabe-se, no entanto que a ativação pró-inflamatória é permanente e ligada aos efeitos secundários da LM, enquanto a ação anti-inflamatória é passageira e auxilia no processo de recuperação celular(OUDEGA,2013).

### 1.7.1 AGPI e Neuroproteção

Células enriquecidas com ácidos graxos n-3, tem um aumento na concentração de fosfato de inositol alterando as ações no ciclo fosfato, também apresentam ações em mecanismos reguladores da inflamação principalmente pela via de sinalização NF-kB, tiveram ações de enzimas como as ciclooxigenases, e o ácido também foi propriamente um substrato para mediadores da inflamação.(PÉREZ et al., 2005)

A supressão das enzimas inflamatórias, oferecida pelos AGPI n-3, é relacionada como auxiliar na diminuição da dor neuropática. Também associado a preservação neuronal, inibição de processos neurodegenerativos, formação de novos neurônios (neurogênese). (PÉREZ et al., 2005)

A ingesta do n-3, tem tido um efeito protetor em diversas patologias como doenças coronarianas, cardíacas, bem como uma diminuição nas doenças autoimunes e inflamatórias. (CORDERO; LLÁN et al.,2013).

O DHA é um ácido graxo n-3 presente em óleo de peixe, conhecido pela importância na formação do sistema nervoso humano, pois tem altas concentrações nas membranas e vesículas sinápticas. Além da importância estrutural, quando ele está presente na membrana fosfolipídica altera a permeabilidade e a curva de permeabilidade celular, altera as concentrações lipídicas e formações de domínios específicos, facilita a translocação da membrana de neurônios, aumenta os níveis de fosfatidilserina. É eficaz na condução sináptica, que é ligada a preservação da substância branca em casos de lesão medular, diminui as perdas de proteínas do neurofilamento, melhora na função dos axônios, importante auxiliar na reorganização proteica do citoesqueleto. Nas células da astroglia estes efeitos anti-apoptóticos, preservam fibras serotoninérgicas descendentes e auxiliam na menor formação de edema por ação na barreira hemato encefálica. DHA por ação gênica via proteína C quinase, na tolerância a eventos isquêmicos e diminuição da neurodegeneração (PÉREZ et al., 2005; WARD et al., 2010; MILLS et al., 2011; FIGUEROA; CORDERO; LLÁN et al.,2013). Por isto pesquisadores como Mills et al. (2011) defendem que a suplementação deve acontecer em pessoas com risco de lesão encefálica por exemplo como mecanismo de precaução, já que diretamente responde num aumento da memória espacial em ratos que tiveram danos

encefálicos, na melhora motora em animais com LM, melhora na recuperação após LM em seres humanos que são suplementados com o DHA antes do dano.

Ao longo do tempo inúmeras pesquisas estiveram evidenciando o uso dos ácidos graxos as respostas do sistema imunitário. Dentre os ácidos graxos o, n-3 vem se destacando nas pesquisas em aspectos positivos quando relacionado aos efeitos negativos relacionados a resposta imunitária(CALDER, 2008).

Os ácidos graxos são usados pelo sistema imunitário como fonte de energia, fazem parte da composição da membrana celular, alteram funções de proteínas, regulam a transcrição de genes, e são precursores de moléculas como as prostaglandinas (PGs), leucotrienos (LTs), Lipoxinas e resolvinas. (CALDER, 2008).

As resolvinas da série E, derivadas de EPA tem ações anti-inflamatórias, sendo alguns subtipos responsáveis por bloquear os efeitos e a produção de citocinas e quimiocinas inflamatórias, enquanto as resolvinas da série D, vindas do DHA, são relacionadas a neuroproteção e produção de efeitos anti-inflamatórios.(CALDER, 2008).

## 1.8. ÓLEO DE PEIXE

O óleo de peixe especialmente marinhos são excelente fonte de ácidos graxos n-3. A concentração de derivados como EPA e DHA variam de acordo com a espécie, mas normalmente estão na faixa de 18% de EPA e 1% de DHA. Os ácidos EPA e DHA, que são ácidos ômega 3, e já se sabe sobre a eficácia deles em humanos, tanto no tratamento de patologias do sistema nervoso (depressão, demência, maturação do SNC, etc..), como na modulação de processos inflamatórios (artrites, câncer, alergias, etc..). Suplementar com óleo de peixe mamíferos tem intuito de aumentar a disponibilidade de ácidos essenciais, alterando a capacidade de modular processos inflamatórios, não só pela competição com o ARA, mas também pela liberação de substancias como as protectinas e as resolvinas. Goldberg e Katz (2007) também encontraram estudos que diagnosticaram a efetividade dos AGPI n-3 em patologias inflamatórias, por 3 meses com doses acima de 2,7g/dia de AGPI n-3, além disso eles também descreveram a atuação dos AGPI n-3 na produção de citocinas e desencadeamento de algias

nervosas.

A resposta eficaz de ácidos graxos n-3 é dose dependente, ou seja, quanto maior a ingestão maior a eficácia quando usadas para tratamento. Fontes de pesquisas chegam a sugerir 500g/dia de ômega 3. A dificuldade no cumprimento dessa dose começa no paladar e passa pelo bolso e termina no tempo necessário para conseguir atingir o objetivo diário de ingestão. Diante deste fato uma forma alternativa é a suplementação do n-3 por capsulas, as concentrações dos ácidos EPA e DHA podem variar de acordo com a fonte e com o tipo de processamento deste óleo. A oxidação deste ácido é o principal empecilho para o aumento do consumo dos AGPI n-3. A eficácia sendo dose dependente desafia o estabelecimento do menor volume com a maior concentração destes ácidos essenciais (WEATHERHEAD; MELLOR,2011).

A emulsão de óleo de peixe tem características físico químicas distintas, além disto facilitar tempo e a concentração de absorção(RAATZ et al., 2009). Além da eficácia na concentração e velocidade de absorção ao promover uma emulsão com os ácidos essenciais as chances de oxidação dos ácidos essenciais são diminuídas(WEATHERHEAD; MELLOR, 2011)As vantagens de uma rápida absorção via venosa, são especialmente centradas por serem independentes da ingestão direta e apresentam uma rápida absorção podendo ter uma alta concentração. A emulsão omegaven® tem características distintas cujos valores de pH e solubilidade são equiparados ao do sangue humano.

## 2. JUSTIFICATIVA

LM é uma patologia com consequências diretas, como a paralisia e disfunção do sistema nervoso autonômico. Além das consequências diretas, uma série de patologias secundárias acometem o indivíduo com LM, podendo ser alterações físicas, emocionais e sociais.

Apesar da gravidade da LM e de suas consequências secundárias, existem várias lacunas relacionadas a terapias e tratamentos desta patologia.

No entanto, Os AGPI n-3 vem demonstrando eficácia em processos metabólicos em diversas patologias como as cardíacas que são a principal causa de morte na lesão medular.

Tendo em vista a grave a alteração física e fisiológica que a LM induz, principalmente relacionada a patologias secundárias, e o fato de não haver a cura definitiva, surge a necessidade de tentar ao menos reduzir os efeitos colaterais, e neste sentido, os AGPI, podem demonstrar resultados importantes em indivíduos com LM.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar os efeitos metabólicos da administração da emulsão venosa rica em AGPI n-3, após lesão medular aguda em ratos Wistar, em diferentes momentos após a lesão (48 horas, 72 horas e 14 dias).

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analisar se a fase aguda da lesão medular que recebeu tratamento de AGPI n-3 teve alteração nas características de desenvolvimento de caquexia;
- b) Observar alterações nos depósitos de gorduras viscerais após a lesão medular ao longo dos tempos de 48h, 72h e 14d;
- c) Verificar se há alterações em órgãos como tecido adiposo retroperitoneal e perigonadal ao longo dos tempos;
- d) Quantificar no fígado a incorporação dos AGPI n-3 e o perfil dos ácidos graxos por HPLC nos tempos determinados.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada sob aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (nº 873). Anexo 2.

### 4.1 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais foram divididos em três grupos (Figura 5): animais submetidos à laminectomia mas sem dano na medula espinhal (SHAM); grupo com lesão medular e não suplementado (LM) e grupo com lesão medular e tratados com Omegaven® (LMO). Todos os três grupos passaram pelo processo operatório nas mesmas datas, no período claro do dia. O experimento foi feito em triplicata, com o objetivo de aumentar a confiabilidade dos resultados.

Foram usados 117 animais para a pesquisa, sendo que 27 animais foram excluídos da pesquisa, pela mortalidade ou problemas na cirurgia.

SHAM	Falso Operado	Retirada da vértebra (T10).
LM	Lesão Medular	Lesão medular diretamente sobre a medula (T10).
LMO	Lesão Medular Tratado	Lesão medular diretamente sobre a medula (T10), e tratamento com omegaven.

**Figura 5** –Características dos grupos.

## 4.2 MODELO EXPERIMENTAL

Foram utilizados ratos da linhagem *Wistar* machos com peso médio variando de 240g a 280g, fornecidos pelo biotério central da UFPR. Os animais foram mantidos em ambiente climatizado e com luminosidade controlada (12 horas de ciclo claro e 12 horas de escuro).

Para o processo cirúrgico os animais foram anestesiados com Quetamina (70mg/kg) e Xilasina (15 mg/kg), por via intraperitoneal. Após a aplicação, os animais ficaram isolados em um ambiente calmo e a falta de reflexo ocular foi parâmetro de confirmação de anestesia.

Após a perda deste reflexo, o animal recebeu na região ocular uma gaze umedecida em solução salina (0,9%). Realizada a assepsia e tricotomia na região torácica, uma avaliadora previamente treinada demarcou a região correspondente a localização das vértebras T9/T10. Com uma lâmina de bisturi realizou-se então o afastamento dos tecidos moles (expondo as vértebras T9 e T10), fixando o processo espinhoso, e então laminectomia (retirada do tecido ósseo na dorsal da vértebra T10) foi executada em todos os 3 grupos (vértebra T10), expondo a medula com espaço suficiente para que um pino 14,5g pudesse ter contato com a medula. Depois que o animal era fixo, um peso de 20g caía de uma altura de 30 cm até atingir o pino, causando então, a lesão por impacto. Após o procedimento o animal era suturado com fio Nylon 5 e iniciam-se os cuidados no pós-operatório.

### 4.2.1 Cuidados Pós-operatórios

Os animais foram mantidos aquecidos, devido ao risco de hipotermia como consequência da lesão medular. Assim que os efeitos da anestesia passaram, os animais receberam injeção intraperitoneal de solução salina (0,9%) para hidratação e analgésico dipirona (1mg/kg) intramuscular. Os animais foram alocados em grupos de até 3 por caixa, que eram forradas com material especial de papelão, afim de evitar que o atrito com o cepilho pudesse causar algum tipo de desconforto no animal. Além disso tinham acesso facilitado para comida e água, e a caixa tinha

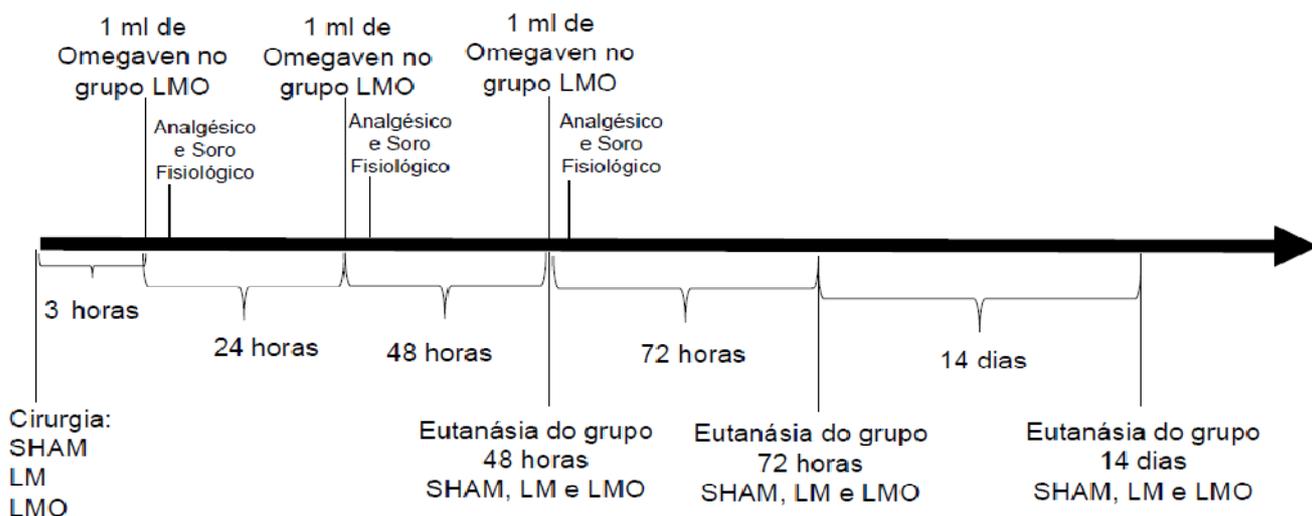
aparatos lúdicos (tubos de PVC suficientemente largos para não os prender), com o intuito de melhorar o bem estar animal.

Em função da intervenção, os animais lesionados (LM e LMO) apresentaram disfunção no trato urinário e como forma de minimizar as consequências deste efeito os animais eram manipulados na região pubiana, altura correspondente à bexiga vesical, para relaxar a bexiga liberando então a urina. Este procedimento era realizado 6 vezes ao dia. O grupo SHAM não necessitou do cuidado, pois apresentava controle urinário. As caixas eram trocadas uma vez ao dia e água e alimentação renovadas também. Durante os primeiros dias de pós-operatório, analgésico e solução salina 0,9% foram administrados durante a cada 24 horas.

#### 4.2.2. Administração da Emulsão Injetável Rica em Ômega 3

Os animais do grupo LMO foram tratados com emulsão rica em n-3 (Omegaven®), com aplicação pela veia peniana. A primeira dose era aplicada três horas depois que ocorria a LM e, eram novamente tratados com Omegaven® a cada 24 h. Os animais LMO 48 h recebiam a emulsão intravenosa nos dois primeiros dias e eram ortotansados no terceiro, dia. Os demais animais receberam três administrações de Omegaven®. Os animais receberam 1 ml da emulsão em cada aplicação.

Os dados referentes as características do produto estão no ANEXO 1.



**Figura 6** –Linha temporal dos experimentos e grupos.

### 4.3 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPÓREA

Os animais foram pesados individualmente todos os dias, ao final do período claro e início do período escuro e a unidade de medida foi expressa em gramas.

### 4.4 ANÁLISE DE MASSA TECIDUAL

Após a ortotanásia, houve a coleta dos tecidos e a massa úmida foi mensurada logo após a coleta. O material foi coletado sempre na mesma ordem: gordura perigonadal, fígado, glândula adrenal, rim e gordura retroperitoneal, sempre por um mesmo examinador previamente treinado. A massa úmida foi mensurada e expressa em g/100g.

### 4.5 ANÁLISE PLASMÁTICA

Após 12 horas de jejum, os animais foram ortotanasados e foi coletado o sangue do animal. As amostras sanguíneas foram coletadas em tubos heparinizados, e ao final de todas as coletas, o sangue foi então centrifugado, e o plasma foi coletado para dosagens lipídicas de triacilgliceróis (mg/dL), colesterol total (mg/dL) e glicose (mg/dL). O método utilizado foi teste enzimático colorimétrico. Os kits foram da marca *Vida Biotecnologia*® e foram seguidas as instruções disponíveis no protocolo de cada kit.

### 4.6 CROMATOGRAFIA DE ALTA PERFORMANCE PERFIL LIPÍDICO

Para o conteúdo lipídico hepático, foram coletados 20 mg do lobo medial do fígado, e em seguida adicionados 400  $\mu$ l de solução de PBS. As amostras foram maceradas e submetidas ao método HPLC

A extração dos ácidos graxos foi realizada quebrando as ligações entre os triacilgliceróis e deixando os ácidos graxos livres e então por adição de solutos polares os ácidos foram coletados e injetados no cromatógrafo de alta performance para determinação do perfil lipídico (HPLC).

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão apresentados como média e desvio padrão, submetidos a ANOVA one way com pós teste de bonferroni.

### 5. RESULTADOS

#### 5.1 HPLC

##### 5.1.1 Percentagem de ácidos graxos saturados e insaturados no fígado

A inclusão de omegaven como tratamento do lesado medular pode ser comprovada pelo monitoramento da presença no fígado dos principais ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3, ou seja, o ácido eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico (DHA). De fato, observa-se um aumento da presença em parte do DHA em 48 horas no grupo LMO atingindo o pico em 72 h ( $p < 0,05$  versus sem tratamento 72 h) e retardando ao basal após 14 dias ( $p > 0,05$ ). No tempo de 72 horas a concentração de ácido Palmítico também foi significativamente maior nos animais suplementados em relação aos animais suplementados com 14 dias. Já em relação aos 14 dias o ácido oleico aumentou no grupo LMO comparado com o LMO

no tempo de 14 dias LMO 48h. O ácido esteárico nos animais com LM e LMO só foi detectado no tempo de 14 dias, os demais tempos não foi possível observar sua presença.

TABELA 1 – PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS MENSURADO POR HPLC NO FÍGADO DOS ANIMAIS, SHAM, LESÃO MEDULAR (LM) E TRATADOS POR 3 DIAS COM OMEGAVEN (LMO)

48 HORAS			
ácidos graxos	SHAM	LM	LMO
EPA	nd	nd	nd
DHA	8,38 ± 0,59	9,56 ± 1,32	10,13 ± 1,55
Mirístico	nd	nd	nd
α Linolênico	nd	nd	nd
Araquidônico	34,02 ± 1,49	35,64 ± 5,76	33,71 ± 3,39
Linoleico	20,61 ± 2,25	19,96 ± 3,05	20,90 ± 2,30
Palmítico	18,28 ± 1,68	15,65 ± 4,55	16,45 ± 0,61
Oleico	6,563 ± 0,46	6,13 ± 0,85	5,48 ± 0,40
Esteárico	14,76 ± 2,04	nd	nd
72 HORAS			
ácidos graxos	SHAM	LM	LMO
EPA	nd	nd	nd
DHA	9,44 ± 1,04	8,99 ± 0,74	14,21 ± 1,25 <sup>a</sup>
Mirístico	nd	nd	nd
α Linolênico	nd	nd	nd
Araquidônico	34,69 ± 1,86	44,07 ± 18,49	48,25 ± 34,55
Linoleico	20,41 ± 0,65	20,67 ± 5,06	17,33 ± 0,96
Palmítico	16,88 ± 2,34	18,19 ± 1,79	18,36 ± 1,30 <sup>b</sup>
Oleico	5,99 ± 0,95	5,05 ± 0,134	4,60 ± 0,128
Esteárico	13,36 ± 2,67	nd	nd
14 DIAS			
ácidos graxos	SHAM	LM	LMO
EPA	nd	nd	nd
DHA	8,36 ± 1,72	8,76 ± 1,21	8,96 ± 1,15
Mirístico	nd	nd	nd
α Linolênico	nd	nd	nd
Araquidônico	35,66 ± 5,71	35,11 ± 1,41	34,80 ± 2,75
Linoleico	23,48 ± 5,19	21,29 ± 2,95	23,05 ± 2,585
Palmítico	15,17 ± 1,56	17,93 ± 2,65	15,55 ± 1,48
Oleico	7,01 ± 1,71	6,12 ± 0,65	6,93 ± 0,92 <sup>c</sup>
Esteárico	10,34 ± 1,03	13,75 ± 2,31 <sup>d</sup>	10,71 ± 1,80 <sup>e</sup>

**Tabela 1** –Dados representados como Média ± DP (p<0.05). Os símbolos significam: <sup>a</sup>(LMO 72h x LM 72h), <sup>a</sup>(LMO 72h x SHAM 72h), <sup>a</sup>(LMO 72h x LMO 14d), <sup>a</sup>(LMO 72h x LMO 48h), <sup>b</sup>(LMO 72h x LMO 14d), <sup>c</sup>(LMO 72h x LMO 48h), <sup>c</sup>(LMO 14d x LMO 48h), <sup>d</sup>(LM 14d x LM 72h), <sup>d</sup>(LM 14d x LM 48h), <sup>e</sup>(LMO 14d x LMO 72h), <sup>e</sup>(LMO 14d x LMO 48h), N=4 animais por grupo. Abreviaturas: nd= não

detectado; SHAM = falso-operado; LM = lesão medular; LMO= lesão medular com tratamento de Omegaven®.

### 5.1.2 Razão n-6 /n-3

Os dados a seguir correspondem à razão entre os n-6/ n-3, extraída do fígado, concentrações correspondentes aos animais que tiveram apenas a laminectomia (SHAM) os que tiveram a lesão medular (LM) e os com lesão medular que receberam a emulsão de omegaven® (LMO), nos tempos 48 horas, 72 horas e 14 dias. Esta razão corresponde à soma das concentrações do ácido araquidônico e do ácido linoleico dividido pela soma dos ácidos alfa-linolênico, eicosapentaenoico e docosaexaenoico. No tempo de 72h no grupo LMO a razão n-6/n-3 caiu significativamente quando comparado aos demais grupos LMO, indicando a presença de ácidos graxos poli-insaturados n-3 no organismo.

TABELA 2 – RAZÃO ENTRE ÁCIDOS GRAXOS OMEGA 6 E OMEGA 3 PRESENTES NO FÍGADO, NOS TEMPOS DE 48 H, 72 H E 14 DIAS.

	N6 total	N3 total	RAZÃO N6/N3
<b>(48 HORAS)</b>			
SHAM	54,63	8,38	6,52
LM	55,6	9,56	5,82
LMO	54,61	10,13	5,39
<b>(72 HORAS)</b>			
SHAM	55,1	9,44	5,84
LM	64,74	8,99	7,20
LMO	65,58	14,21	4,62 <sup>a</sup>
<b>(14 DIAS)</b>			
SHAM	60,14	8,36	7,19
LM	56,4	8,76	6,44
LMO	57,13	8,96	6,38

**Tabela 2** – Dados representados como Média ± DP (p<0.05). a p<0,05 versus SHAM 72h e LM 72h, a também representa P<0,05 versus LMO 48h e LMO 14d, N=4 animais por grupo. Abreviaturas: SHAM = falso-operado; LM = lesão medular; LMO= lesão medular com tratamento de Omegaven®.

### 5.1.3 Índice de Insaturação

O dado do índice de insaturação (TABELA 3) corrobora com o achado na razão n-6: n-3 (TABELA 2) indicando que o fígado dos animais tratados tem uma concentração maior de ácidos graxos poli-insaturados detectada no terceiro dia de tratamento ( $p < 0,05$  versus 48 h LMO). Encerrando os 14 dias, observa-se o retorno do índice aos valores normais em todos os grupos ( $p > 0,05$ ).

TABELA 3 – ÍNDICE DE INSATURAÇÃO NO FÍGADO DOS ANIMAIS SHAM, LESÃO MEDULAR (LM) E LESÃO MEDULAR TRATADO (LMO) NOS TEMPOS DE 48 H, 72 H E 14 DIAS.

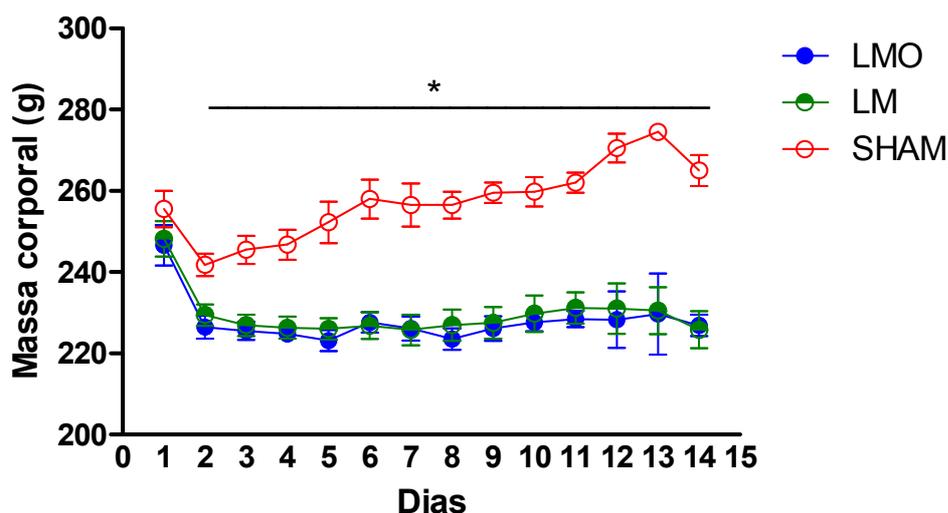
ÍNDICE DE INSATURAÇÃO	$((\text{DHA}) \cdot 6) + ((\text{EPA}) \cdot 5) + ((\text{ALFA-LIN}) \cdot 3) + ((\text{ARA}) \cdot 4) + ((\text{LIN}) \cdot 2)$
<b>(48 HORAS)</b>	
SHAM	227,58
LM	239,84
LMO	237,42
<b>(72 HORAS)</b>	
SHAM	236,22
LM	271,56
LMO	312,92 <sup>a</sup>
<b>(14 DIAS)</b>	
SHAM	243,76
LM	235,58
LMO	236,18

**Tabela 3** – Dados representados como Média  $\pm$  DP ( $p < 0,05$ ). a  $p < 0,05$  versus SHAM 72h e LM 72h, a também representa  $P < 0,05$  versus LMO 48h e LMO 14d. SHAM = falso-operado; LM = lesão medular; LMO = lesão medular com tratamento de Omegaven®.

### 5.2 MASSA CORPORAL DOS ANIMAIS

Conforme a Figura 7 demonstra, os animais SHAM tiveram perda de peso

nas primeiras 72h, e após isso voltaram a apresentar ganho de massa corpórea. O mesmo não aconteceu com os animais LM e LMO, que, além de uma perda de peso mais acentuada nas primeiras 72h, não retornaram ao ganho de massa corpórea ao longo do tempo avaliado.



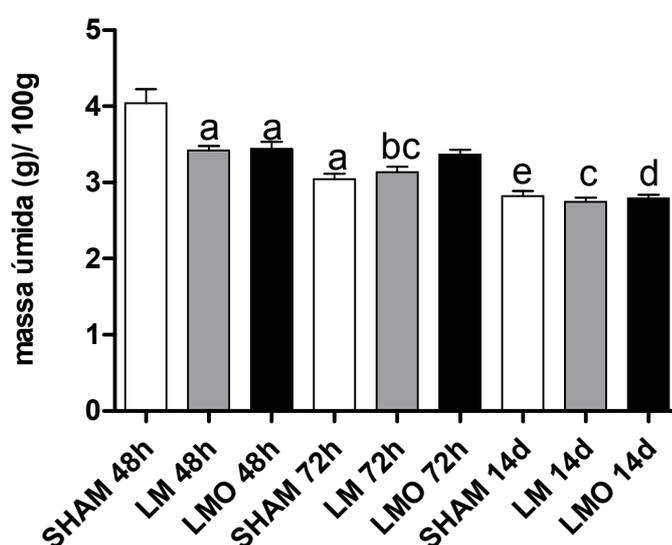
**Figura 7** – Massa corporal dos animais ao longo de 14 dias. Operados (SHAM), lesão medular (LM) e lesão medular tratado com omegaven (LMO). \*  $p < 0,05$ , que representa diferença estatística ao longo dos 14 dias. N= 28 a 32 animais por grupo. Abreviaturas: DP = desvio padrão; SHAM = falso-operado; LM = lesão medular; LMO= lesão medular com tratamento de Omegaven®, n = número de animais por grupo.

### 5.3 MASSA ÚMIDA DOS TECIDOS

#### 5.3.1 Fígado

Na figura 8 está apresentada a massa úmida do fígado dos grupos SHAM, LM e LMO nos tempos de 48h, 72h e 14d. A Lesão medular (LM) provocou uma redução significativa da massa hepática ( $p < 0,05$  versus SHAM 48 h), após 72 horas e o tratamento com omegaven não alterou este parâmetro ( $p < 0,05$  versus SHAM 72 h), após 72 horas e 14 dias o procedimento SHAM causou redução significativa da massa do fígado quando comparado ao tempo de 48h ( $p < 0,05$ ). A lesão medular

72h não promoveu modificação da massa hepática quando comparada ao tempo 48h e o tratamento com omegaven (LMO) promoveu um aumento desta massa o qual foi significativamente maior quando comparada ao perfil LM 72h e SHAM 72h ( $p < 0,05$ ). Ao final do estudo, com 14 dias, a massa hepática do grupo SHAM continuava menor ( $p < 0,05$ ) quando comparada a do SHAM 48 horas, mas não diferente do tempo de 72h ( $p > 0,05$ ). O tratamento com omegaven durante os dias não teve efeito na manutenção da ex massa hepática, a qual foi menor significativamente quando comparada ao tempo LMO 48h e 72h ( $p < 0,05$ ).

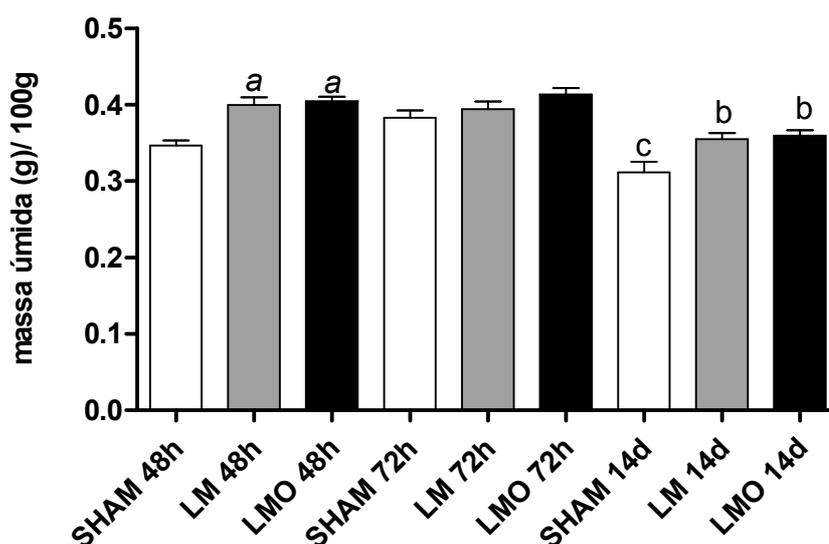


**Figura 8 – Massa úmida do fígado dos grupos SHAM, LM e LMO, para 48 h, 72 h e 14 dias.** a  $p < 0,05$  versus respectivo SHAM e a  $p < 0,05$  SHAM 72 h versus SHAM 48h, b  $p < 0,05$  versus LMO 72h, c  $p < 0,05$  versus LM 48h e LM 72h, d  $p < 0,05$  versus LMO 48 e LMO 72h, e  $p < 0,05$  versus SHAM 48h, N= 8 – 15 animais por grupo. Abreviaturas: DP = desvio padrão; SHAM = falso-operado; LM = lesão medular; LMO= lesão medular com tratamento de Omegaven®.

### 5.3.2Rim

Figura 9 corresponde à massa úmida do rim dos grupos SHAM, LM e LMO nos tempos de 48h, 72h e 14 dias. A massa úmida dos animais com lesão medular (LM e LMO) apresenta uma diferença estatística em relação ao SHAM nas primeiras 48 h. No tempo de 72h os animais não apresentaram diferenças estatísticas entre si, e aos 14 dias houve diferença estatística entre o SHAM e os demais grupos (LM e LMO) ( $p < 0,05$ ). Quando avaliadas as características dos grupos em si ao longo do

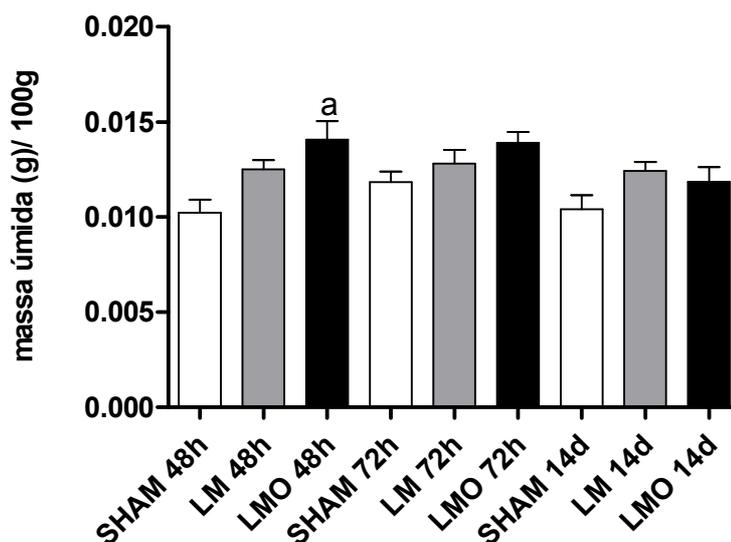
tempo há uma alteração significativa no grupo SHAM no tempo de 14 dias em relação ao grupo SHAM 72h. Os símbolos representam diferença significativa de ( $p < 0,05$ ) ao fazer análise de variância ANOVA (média  $\pm$  DP), com pós teste Bonferroni.



**Figura 9** – Massa úmida renal corrigida pelo peso dos animais operados (SHAM), lesado medular (LM), e lesado medular tratado (LMO). Os dados estão apresentados com média  $\pm$  DP. a  $p < 0,05$  versus SHAM 48h, b  $p < 0,05$  versus SHAM 14d, e c  $p < 0,05$  versus SHAM 72h. n= 8 – 15 animais por grupo.

### 5.3.3 Adrenal

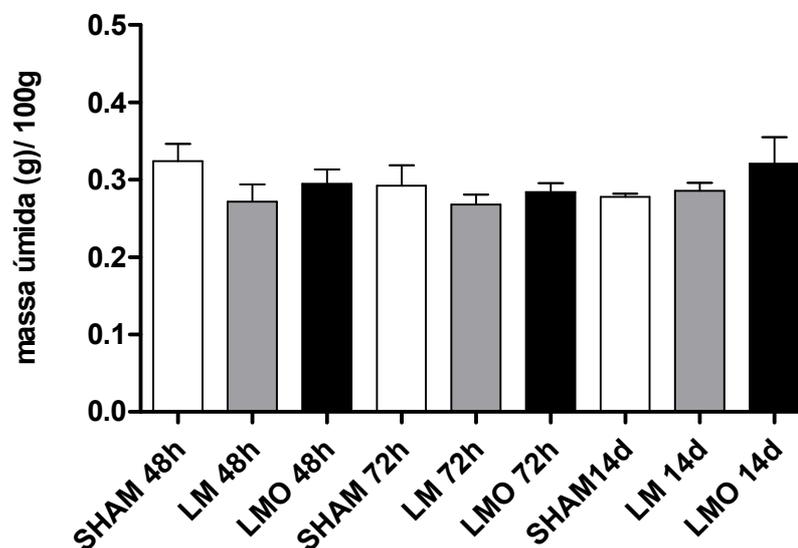
No gráfico 10 temos a mensuração da massa úmida da Adrenal. A massa úmida da adrenal após 48 h nos animais tratados foi  $0,010 \pm 0,001$  gramas, ao passo que os animais LM foi de  $0,012 \pm 0,001$ , contudo este aumento não foi significativo ( $p < 0,05$ ). No LM tratado com omegaven foi de  $0,012 \pm 0,003$ , cujo o aumento foi significativo ( $p < 0,05$ )



**Figura10** – Massa úmida da adrenal do grupo operado (SHAM), lesão medular (LM), e lesão medular tratado (LMO). Os dados representados como Média  $\pm$  DP ( $p < 0.05$ ). a  $p < 0,05$  versus SHAM 48 h , N= 8-15 animais por grupo.

#### 5.3.4 Tecido Adiposo Perigonadal

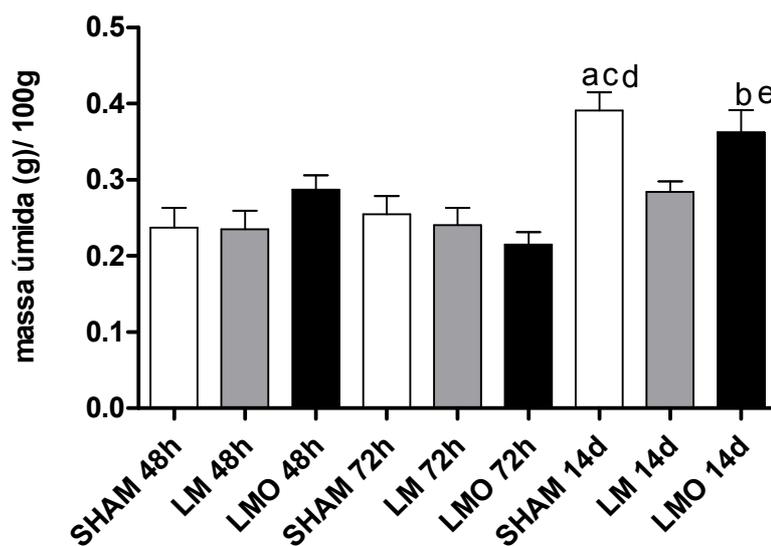
Os dados contidos na figura 11, referem-se à massa úmida do tecido adiposo perigonadal no período de 48h, 72h e 14 dias, dos animais SHAM, LM e LMO. Nos três períodos avaliados não foi encontrado diferença significativa entre os grupos ( $P > 0,05$ ).



**Figura 11** – Massa úmida da gordura perigonadal corrigida pela massa corpórea. N= 8 – 15 animais por grupo. Abreviaturas: DP = desvio padrão; SHAM = falso-operado; LM = lesão medular; LMO= lesão medular com tratamento de Omegaven®.

### 5.3.5 Tecido Adiposo Retroperitoneal

Na figura 12 está a mensuração do tecido retroperitoneal dos grupos SHAM, LM e LMO nos tempos de 48h, 72h e 14 dias. Nos tempos de 48h e 72h não houve alteração na massa do tecido adiposo retroperitoneal ( $p > 0,05$ ). Por outro lado após 14 dias a massa adiposa no grupo SHAM dos 14 dias foi maior quando comparada a do grupo SHAM 48h e 72h ( $p < 0,05$ ). No grupo LM após 14 dias não foi diferente a massa quando comparada aos tempos 48h e 72h ( $p > 0,05$ ), contudo foi significativamente menor quando comparada aos grupos SHAM e LMO no tempo de 14 dias ( $p < 0,05$ ). Finalmente o tratamento com omegaven após 14 dias (LMO) elevou significativamente a massa adiposa retroperitoneal quando comparada a dos grupos também tratados com omegaven nos tempos de 48h e 72h ( $p < 0,05$ ).

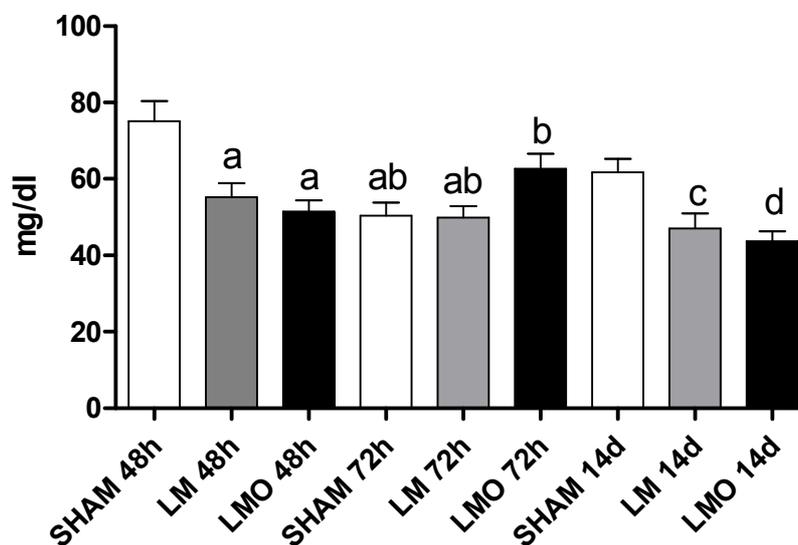


**Figura12** – Massa adiposa do tecido retroperitoneal dos grupos SHAM, LM e LMO nos tempos de 48h, 72h e 14 dias. Os dados representam média  $\pm$  DP. a ( $p < 0,05$ ) versus SHAM 48h e 72h. b ( $p < 0,05$ ) versus SHAM 14 dias e LMO 14 dias e c ( $p < 0,05$ ) versus LMO em 48h e 72h.

## 5.4 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS PLASMÁTICOS

### 5.4.1 Glicose

Na figura 13, estão os dados da concentração de glicose plasmática dos animais dos grupos SHAM, LM e LMO nos tempos 48h, 72, e 14 dias. O grupo SHAM 48h apresentou glicemia com a média variando entre  $71,5 \pm 15,44$  mg/dl. A lesão medular provocou forte queda na glicemia com média  $55,17 \pm 12,86$  mg/dl, que foi significativa quando comparada ao SHAM 48h ( $p < 0,05$ ). O tratamento com omegaven não modificou este achado ( $P < 0,05$  versus SHAM 48h). Invariavelmente o procedimento SHAM em 72h levou a uma hipoglicemia a qual foi menor ( $p < 0,05$ ) quando comparada ao grupo SHAM 48 h. A lesão medular (LM) no tempo 72 h induziu glicemia similar ao grupo 48h ( $p > 0,05$ ) e após 3 dias de tratamento com omegaven houve elevação da glicemia. No tempo de 14 dias, a glicemia do grupo SHAM 14 dias não foi significante da do grupo SHAM 48 h ( $p > 0,05$ ). No grupo com lesão medular (LM) a hipoglicemia persistiu ( $p > 0,05$  versus LM 48 h e LM 72 h) sendo menor quando comparada ao grupo SHAM 14 dias ( $P < 0,05$ ). O efeito benéfico de recuperação da glicemia pelo tratamento com omegaven desapareceu, sendo o benefício significativamente menor quando comparado ao tempo de 72 horas ( $p < 0,05$  versus LMO 72 h).



**Figura 13** – Concentração da glicose no plasma dos animais do grupo SHAM, lesado medular (LM) e lesado medular tratado por três dias com omegaven (LMO) nos tempos de 48 h, 72 h e 14 dias. a  $p < 0,05$  versus SHAM 48 h , b  $p < 0,05$  versus SHAM 72 h e LM 72h , c  $p < 0,05$  versus SHAM 14 dias, d  $p < 0,05$  versus LMO 72 h.

#### 5.4.2 Colesterol

NA TABELA 4, estão as mensurações de colesterol realizadas no plasma dos animais, após 12 horas de jejum. Não houve alteração significativa na concentração de colesterol no plasma dos animais nos três tempos investigados ( $p > 0,05$ ).

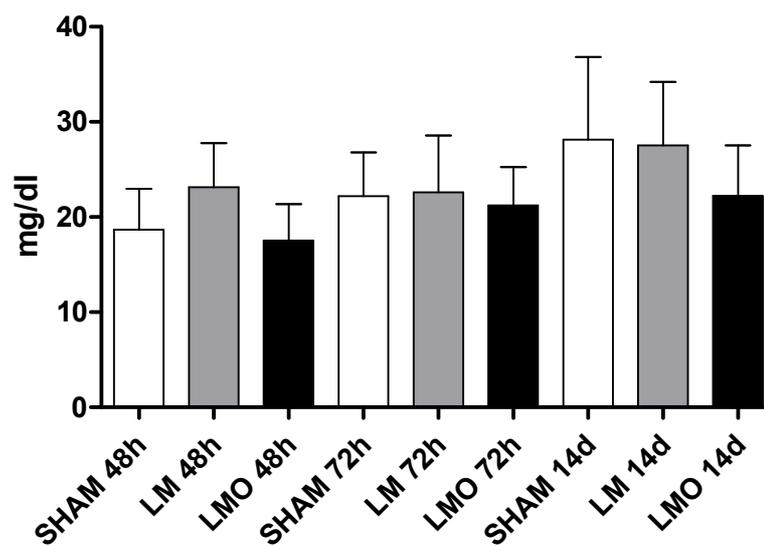
TABELA 4 – CONCENTRAÇÃO DE COLESTEROL NO PLASMA DOS ANIMAIS NOS GRUPOS SHAM, LESADO (LM) E LESADO TRATADO COM OMEGAVEN (LMO) APÓS 48 h, 72 h e 14 dias.

Colesterol mg/dl	SHAM	LM	LMO
Colesterol 48h	22,65 ± 14,45	23,72 ± 11,28	23,40 ± 7,68
Colesterol 72h	22,04 ± 10,34	19,23 ± 13,28	24,65 ± 11,61
Colesterol 14d	15,1 ± 6,5	21,92 ± 11,69	20,65 ± 7,76

**Tabela 4** –Perfil do colesterol ao longo das avaliações. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o colesterol em nos diferentes tempos e nem entre os grupos. Dados representados como Média ± DP ( $p < 0,05$ ). Abreviaturas: DP = desvio padrão; SHAM = falso-operado; LM = lesão medular; LMO = lesão medular com tratamento de Omegaven®. Os dados representam a média ± desvio padrão de 7 animais por grupo.

#### 5.4.3. Triacilglicerol -TAG

Na Figura 14 estão apresentados os dados da mensuração da concentração de triacilgliceróis dos animais do grupo SHAM, LM e LMO, nos tempos de 48h, 72h e 14 dias. Não houve diferença estatística nos dados analisados ( $p < 0,05$ )



**Figura 14** – Concentração de triacilgliceróis no plasma dos animais dos grupos SHAM, lesados medulares (LM) e tratados por três dias com omegaven (LMO).

## 6. DISCUSSÃO

Estas respostas diferentes apresentadas por esta pesquisa podem ser genericamente chamadas de choque medular. Como observamos as características são diferentes mesmo em curto espaço de tempo, apesar de não haver consenso na literatura sobre o termo choque medular, tempo, e durabilidade de tal evento, Ditunno et al. (2004) melhoraram algumas definições relacionadas ao choque medular e apresentam o evento dividido em fases, com tempo e características distintas.

A arreflexia ou hiporreflexia são características da primeira fase. Clinicamente é quando as informações supra espinhais, que estão sempre ativas embora algumas vezes sejam inibidas pelos movimentos voluntários, não chegam ou apresentam déficits para chegar, acontece então a perda do centro de referência superior, que diminui ou inibe os reflexos, sucedendo então o choque medular. Há também a influência dos neurônios motores gama, que podem perder a informação dos reflexos de estiramentos. Segundo este autor, as alterações metabólicas e estruturais não são a causa primária do choque medular. A segunda fase é quando acontece um fenômeno conhecido como supersensibilidade, desencadeando aumento da sensibilidade aos neurotransmissores, pela inibição da degradação ou da inativação dos receptores. A função genética de transcrição e tradução de receptores e neurotransmissores torna-se extremamente ativa. A liberação de citocinas, neurotrofinas, fatores de crescimento são bastante significativos nas respostas durante esta fase. O aumento nas sinapses de excitação e a falta de inibição destas sinapses também são tidos como contribuintes desta segunda fase do choque medular. Na terceira fase do choque medular, que está na janela entre o 8° até 14° dia após a lesão, é característica pelo retorno dos reflexos, e reestabelecimento da função autonômica. A disreflexia autonômica, normalmente de origem visceral vai apresentando tendências a manifestações nesta fase. A última fase é a de reorganização da bexiga, que em humanos varia da quarta até a sexta semana, a melhora na hipotensão ortostática, que normalmente tem início no segundo mês. Nesta quarta fase a hipertensão maligna autonômica e a disreflexia

autônômica podem surgir, e têm tempo indefinido de manifestação. Os tempos avaliados nesta pesquisa foram baseados nestas informações acima mencionadas. O nível de recuperação após LM depende do equilíbrio entre as relações neurodestrutivas e neurorestaurativas e a utilização de mecanismos anti-inflamatórios pode ser capaz de auxiliar na facilitação das ações neurorestaurativas. (PLOUMIS et al., 2010; FIGUEROA; CORDERO; LLÁN et al., 2013) Diversas intervenções após eventos de LM são comuns na tentativa de minimizar os efeitos decorrentes da LM (DUMONT et al., 2001). Tendo em vista que a LM é normalmente vista pelas alterações motoras e sensitivas, as pesquisas voltadas a respostas teciduais geradas pelo processo inflamatório da LM em órgãos como fígado, rins, coração, contribuem significativamente para melhoras nas disfunções desta população (SAUERBECK et al., 2015) Juntando ao fato de emulsões venosas serem altamente utilizadas como suporte nutricional em paciente vulneráveis, já que é um produto que tem custo relativamente baixo e de fácil transferência para a clínica. (NOROUZI JAVIDAN et al., 2014). O tratamento pode ser considerado eficaz pois mesmo não conseguindo melhoras em eventos como a caquexia apresentou melhoras na recuperação da glicemia durante o tratamento, mas tratamento não pode ser considerado eficaz ao longo do tempo, já que foram avaliadas mínimas manutenções relacionadas aos efeitos positivos da inserção.

O fígado é o órgão responsável pelo metabolismo de lipídeos. A presença ou ausência de um metabólito é diretamente relacionada a funcionalidade hepática e do sistema como um todo (GARCÍA-CAÑEVERAS et al., 2011). Considerando o papel central do fígado na inflamação sistêmica após LM, e suas respostas em processos inflamatórios do SNC (SAUERBECK et al., 2015), a dosagem dos ácidos graxos presentes neste tecido foi utilizada como subsídio para panorama de diagnóstico sistêmico (TABELA 1).

Os ácidos graxos essenciais n-6 e o n-3 têm diferenças fundamentais que alteram sinalização e biofísica celular e até mesmo expressões genéticas (AMELIA et al., 2015). Enquanto o n-3 tem efeitos além protetores e restauradores (KING, 2006) da homeostase orgânica, o n-6 tem efeitos inflamatórios e com características mais rígidas. Alterações e armazenamento desbalanceados destes ácidos graxos têm papel especial em resposta aguda à eventos dependentes do metabolismo lipídico (HOENE et al., 2016).

A razão entre a concentração de ARA e DHA são determinantes para o

metabolismo, função e estrutura corporal (SIMOPOULOS, 2002; RAPOPORT, 2008)além disso, fomentam inúmeras evidências de que diferenças exacerbadas são expressas em diagnóstico de diversas patologias como câncer, Alzheimer e doenças cardiovasculares (EBERLIN et al., 2011).

A técnica de cromatografia por HPLC do fígado é descrita na literatura como adequada na determinação das diferentes concentrações de ácidos graxos em amostras biológicas, além de determinar os ácidos graxos é também importante na determinação da proporção entre a quantidade de n-3 e n-6 (n-6/ n-3) (AMELIA et al., 2015).

O fornecimento de substrato rico em AGPI n-3 com uma dose de 1 ml a cada 24 horas, tendo o início do tratamento três horas após o dano medular, não foi suficiente para que nas primeiras 48 horas o fígado modificasse o perfil de ácidos graxos em concentrações diferentes entre os animais SHAM, tratados e não tratados. Esta ausência de diferença nas primeiras 48 horas pode ser fundamentada pelo fato de que a lesão alterou as necessidades de ácidos graxos na tentativa homeostática. Lipídeos e ácidos graxos correspondem a mais ou menos metade do peso seco da medula espinhal,e a disponibilidade de ácidos graxos é uma das primeiras respostas após a lesão medular. (GIROD et al., 2011)

No tempo de 72 horas, depois de um total de 3 doses da emulsão rica em n-3, foi possível começar a perceber a mudança no perfil lipídico do fígado dos animais. Além de perceber aumento de DHA foi possível perceber diminuição na concentração do ácido linoleico. De fato, DHA quando presente é prioridade e entra normalmente como substituto dos ácidos derivados do n-6 nas membranas celulares (SIMOPOULOS, 2002),. A substituição é confirmada pelo cálculo da razão n-6/n-3, ou seja, quanto maior o denominador, menor a razão, e maior é a capacidade anti-inflamatória.

Os benefícios apresentados pelo tratamento com alta concentração de ácidos graxos foram pontuais e não se mantiveram na análise feita 11 dias após a interrupção do tratamento. As características lipídicas do fígado no tempo de 14 dias, retornaram a concentrações similares àquelas do grupo lesado que não foi tratado.

Apesar de comprovada a presença do EPA na solução injetada, não foi possível detectar sua presença no fígado, e esta ausência pode ser devido à característica bifásica na concentração de ácidos graxos livres descritas por Girod et

al. 2011. Neste artigo os autores afirmam que a Lesão medular diminui a quantidade de fosfolípido total. O impacto causado SCI resulta em diminuição do conteúdo de fosfolípido total para até 3 dias após a lesão. O primeiro aumento, é visto dentro de 5 minutos após o trauma da medula espinal, 30 minutos após a lesão há um declínio na concentração de fosfolípido. Uma hora aproximadamente após a lesão a concentração livre desta substância segundo os autores volta a subir e chega a seu máximo 24 horas após o trauma.

Outra possível razão da não detecção do EPA pode ser devido aos achados que Ibarquren et al. (2014), que descrevem que concentrações de EPA com 5 minutos após uma infusão venosa foi detectada como fosfolípido e triacilglicerol no fígado, encéfalo e coração de ratos. A ausência no fígado deve-se ao fato de que a análise desta pesquisa tinha uma janela mínima de 24 horas pós infusão, ou seja, este ácido já pode ter sido metabolizado como integrante na composição de membranas celulares, ou tenha sido precursor de prostaglandinas da série 3.(SIMOPOULOS, 2002; KING, 2006)

Além dos dados de perfil lipídico no fígado, dados metabólicos como a glicose basal, podem fornecer importantes subsídios para fomentar ou não a utilização deste tratamento na fase aguda da lesão medular. O principal sítio inflamatório sendo o sistema neuronal, e a glicose sendo a fonte de energia primária para o SNC (PÉNICAUD et al., 2000), trouxeram à tona a necessidade de se analisar o perfil plasmático da glicose neste experimento. Foi possível perceber que danos na medula alteram significativamente a concentração de glicose. O grupo LM desde a primeira avaliação apresentou valores baixos de glicemia. Diferente deles, os grupos SHAM e LMO tiveram mudança significativa da glicose. Enquanto o primeiro apresentou concentração basal padrão no tempo de 48 horas e 14 dias, os animais tratados com omegaven apresentaram uma tentativa de reestabelecimento do padrão de glicose apenas no tempo de 72 horas.

Estas ineficácias na manutenção das taxas glicêmicas no grupo tratado mostram que apesar da melhora promovida pela intervenção, a manutenção desta melhora não foi eficaz, ou seja, ao longo do tempo estes animais voltaram as condições glicêmicas semelhante aqueles animais que não tiveram nenhum tipo de tratamento.

Respostas metabólicas diferenciadas no tempo 72 horas versus 48 horas e 14 dias no grupo SHAM, deve-se ao tipo de intervenção provocada para classificar

estes animais como controle, ou seja, o processo inflamatório foi extrapolado para além do processo inflamatório apenas cirúrgico.

Além desta característica hipoglicêmica presente em animais que passaram por processo de injúria neuronal, a mensuração de massa úmida busca uma correlação entre os animais tratados e os animais não tratados. Observa-se que o estado de caquexia não foi possível de ser evitado utilizando esta concentração e aplicação nos tempos críticos após a lesão medular. Isto pode ter acontecido pelo fato de que além de na fase aguda da lesão medular, ser comum a perda de apetite, direcionado e acontece um hipermetabolismo, em que mesmo os músculos paralisados mecanicamente tem um grau de energia que como descreve Rodriguez et al. (1997) há um retardo, temporal metabólico após a lesão medular, provavelmente em reposta ao estresse e a necessidade de termogênese.

Os animais tiveram perda de massa corporal total ao longo do tempo (FIGURA 7). Segunda análise da literatura realizada por Thibault-Halman et al. (2011), a inserção de vias alternativas para a suplementação metabólica, pode ser alternativa segura e com menores complicações. Tais achados favorecem a utilização de emulsões venosas como realizada nesta pesquisa, além das concentrações dos ácidos ômega 3 essenciais, é pensada também, devido à dificuldade na ingestão via oral na fase aguda pós lesão medular.

Resultados de Primeaux et al. (2007) e Figueroa, Cordero, Llán et al. (2013) corroboram com os encontrados em nosso estudo. Ele também correlacionam o baixo peso com infecções e dificuldade no processo de recuperação em lesados medulares. Já Figueroa; Cordero; Llán et al. (2013) obtiveram diferença estatística na perda de massa corpórea entre os animais suplementados com derivado de n-3 e não suplementados nas primeiras semanas após a LM, o que foi diferente dos encontrados em nosso estudo. Isto pode ter acontecido em virtude do tratamento utilizado na pesquisa por eles utilizada, pois os animais ingeriram o ômega 3, com quase um mês antes do processo cirúrgico.

A ingestão de gordura pode favorecer o estoque de gordura mas, Noreen et al. (2010) e Mills et al. (2011) relatam que n-3, induz a remoção dos triglicerídeos plasmáticos, e Parrish et al. (1997) documentam que a alimentação com base em óleo de peixe, modifica o HDL e a ligação as membranas plasmáticas, e uma de suas funções é a de compactar a membrana celular. Além da melhora no HDL a suplementação também reduz a possibilidade de dislipidemia e esteatose hepática

(MICE et al., 2009). Neste experimento durante as janelas avaliadas não foi possível perceber nenhuma alteração relacionada, nem no colesterol, nem nos triacilgliceróis.

A LM apresenta consequências drásticas e irreversíveis e diversos são os mecanismos desencadeados na tentativa de minimizar estes efeitos deletérios. O organismo que passa por este evento tem mudanças na capacidade funcional e no perfil corpóreo (JONES et al., 2003; GORGEY et al., 2014). Com o intuito de complementar as informações sistêmicas da LM e do tratamento da lesão medular foram mensuradas algumas massas teciduais distintas. A mensuração da massa úmida dos órgãos teve o objetivo de verificar uma possível alteração no perfil sistêmico, seja pela lesão medular, pelo tratamento com omegaven ou até mesmo pela resposta exacerbada da massa úmida apresentada pelos animais controle do experimento. Tal fato poderia ser melhor descrito se fossem isolados alguns fatores como por exemplo ao invés de mensurar a massa úmida destes órgãos, fosse mensurada a massa seca, já que, em qualquer nível medular há a alteração da condução simpática diminuindo o volume de sangue circulante.(GULY et al., 2008; PLOUMIS et al., 2010)

A menor mudança na composição corpórea destes indivíduos na fase aguda da lesão é intimamente relacionada a menores problemas metabólicos crônicos após uma LM (MOORE et al., 2015).Sabour et al. (2015) relatam que a LM leva a alterações que podem ser fatores desencadeantes de síndrome metabólica, alterações cardiovasculares e hormonais.Baseado nestas afirmações, as avaliações de massa úmida de fígado, rim, adrenal, tecidos adiposos perigonadal e retroperitonal foram elencados como importantes na resposta sistêmica diante de um processo inflamatório exacerbado.

A afirmação de Uyama et al. (2004)sobre o papel chave do fígado no metabolismo e na questão hemodinâmica, diversas outras patologias secundárias como diabetes, obesidade, o controle no nível de triacilgliceróis e tecido adiposo (YI et al., 2011) são alterações diretamente relacionada a este órgão. No fígado do grupo LM ao longo do tempo a massa úmida apresentou queda, ao contrário dos animais tratados, que enquanto estavam recebendo a emulsão venosa rica em ácidos graxos não apresentaram diferença estatística na massa úmida e com relação ao SHAM. A massa úmida do fígado apresenta uma alteração no grupo SHAM, este aumento pode ter acontecido em resposta ao processo inflamatório desencadeado pela cirurgia. A resposta esperada era que os animais que

passassem pelo processo de LM tivessem resposta ainda mais significativa do que a que o grupo controle apresentou, porém isto não foi verificado. Tal evento talvez possa ser justificado pelo fato de que a metabolização de substâncias é altamente influenciada pela quantidade sanguínea circulante, e como na LM especialmente o período do choque medular tem como características baixo volume de sangue e débito cardíaco alterado, influenciando então no volume de sangue circulante e consequentemente na massa úmida. (GARCIA-LOPEZ et al., 2007). Concordando com Sauerbeck et al. (2015) a resposta inflamatória do fígado após a lesão medular vai além de seu controle autônomo. Esta pesquisa torna-se importante não só para o conhecimento da LM como também o coadjuvante em outros tratamentos, por exemplo em casos de fibrose hepática e ações reativas de astrócitos há o mesmo tipo de ativação de cicatrizes, ou seja, a deposição de fibrinogênio e o fator de crescimento epidérmico inibem o processo de regeneração de astrócitos, da mesma forma que no fígado diminuem processo de reparo e recuperação (SCHACHTRUP et al., 2011).

Ao observar os dados fornecidos pela massa úmida, além da alteração no fígado, foi possível perceber conservação de tecido adiposo retroperitoneal dos animais que receberam 3 doses do omegaven, ou seja, os animais tratados (LMO), aos 14 dias tinham massa adiposa retroperitoneal semelhante aos animais controle e maiores do que a dos animais lesão medular. O tecido adiposo é uma forma eficaz de acúmulo de energia, além de alta disposição de recursos energéticos em tecido altamente compacto. Estruturalmente este tecido possui células revestidas de colágeno que armazenam majoritariamente triglicerídeos. Além da oferta energética, este tecido tem função de isolar os órgãos, tanto termicamente, quanto mecanicamente. (GATER, 2007). Os adipócitos são altamente vascularizados com alta permeabilidade em pequenas distâncias. A gordura branca, recebe informações do sistema simpático e sua inervação é altamente relacionada com sua vascularização. A inervação recebe a informação normalmente por norepinefrina, mas pode também ser por neuropeptídeos Y e substância P. Há evidências de que tanto o tecido adiposo marrom, quanto branco sejam inervados por fibras sensoriais, especulando-se que esteja relacionado ao balanço energético. Na região medular há demonstrações de que a informação nervosa para tecido adiposo esteja principalmente na região intermediolateral da medula (PÉNICAUD et al., 2000). SNsi primariamente aumenta a perda de tecido adiposo mas, consequentemente recruta

a formação de novos adipócitos o que resultaria numa maior dificuldade de perda posterior de tecido adiposo branco. Outro dado bastante peculiar e importante em nosso estudo é que a perda de tecido adiposo branco tem ligação direta com a presença de TNF- $\alpha$  e da insulina (PÉNICAUD et al., 2000). Outra vantagem na preservação deste tecido é demonstrada por Primeaux et al. (2007) relacionando a gordura subcutânea e o efeito benéfico evitando úlcera de pressão, comorbidade responsável por liberar diversas citocinas inflamatórias que pioram o estado de caquexia em LM; lembrando que estas complicações como as úlceras de pressão aumentam a resposta inflamatória aguda, tem uma lenta recuperação e faz com que aconteça um aumento no estado inflamatório (BASTIEN; LACROIX, 2014).

Já a concentração de gordura perigonadal não foi significativamente alterada, ou seja, a fase aguda da lesão medular não foi capaz de desencadear alterações entre os lesados medulares e lesados medulares tratados, nem com o SHAM. Isto pode ter acontecido devido à reprodução ser considerada uma função essencial na sobrevivência da espécie, (GIULIANO; CLÉMENT, 2005) e portanto, subsídios básicos como a gordura adjacente aos órgãos reprodutores foi conservada.

O rim, fisiologicamente envolvido em processos de excreta metabólica teve sua massa úmida aumentada no tempo de 48 horas dos animais LM e LMO. Tendo o fato de a intervenção cirúrgica ter sido descartada pelos animais controle, esta alteração poderia elevar o fato de ter acontecido falha na coleta da urina, favorecendo o retorno da urina da bexiga, sendo tal hipótese descartada quando o resultado se mantém estatisticamente significativo ainda 14 dias após LM.

A inervação simpática renal tem origem entre as vértebras T9 – T13, esta inervação simpática é ligada a diversas funções como a secreção de renina e controle na absorção de líquidos, é possível sugerir então que estas a massa úmida renal possa ter sido alterada devido a estes fatores. Além disso, anatomicamente já se sabe da existência de pequenas vesículas com noradrenalina armazenadas em terminações simpáticas no sistema renal e, que as fibras aferentes e eferentes do sistema nervoso têm ação recíproca no controle da informação, além disso sabe-se da influência do óxido nítrico em ações de neurotransmissão e que há o aumento da expressão das isoformas induzíveis quando há presença de processos inflamatórios (JOHNS et al., 2011). Após o processo cirúrgico os animais LM apresentaram hematúria, e o grupo LMO ao apresentar hematúria com características de sangue

arterial pode ter acontecido pelo fato de que, EPA tem efeitos na liberação de fatores relaxantes que facilitam o relaxamento em artérias e vasos (SIMOPOULOS, 2002), e a inervação dos alfa1-adrenoreceptores que atuam na resistência arteriolar e são dependentes da ativação simpática renal. Além disso, as células beta1-adrenoreceptoras atuam na liberação de renina dependente de estímulo simpático, ou seja, nossos achados condizem com as informações fisiológicas de que o sistema simpático tem importante efeito no controle do sistema renal, que altera a homeostase do sódio e da água por exemplo, já que a massa úmida do rim nos animais que tiveram a lesão medular foi estatisticamente diferente dos animais que passaram apenas pela retirada da vértebra (JOHNS et al., 2011).

Avaliando a massa úmida da adrenal percebemos que nas primeiras 48 horas há aumento significativo. Como a adrenal é a glândula de “luta ou fuga”, num primeiro momento é mais plausível supor que esta alteração possa ter acontecido devido à manipulação para a inserção da emulsão venosa do n-3, do que supor que seja alteração metabólica decorrente da lesão. Esta alteração pode também ter sido uma resposta benéfica apresentada pelos animais que receberam os AGPI n-3, mostrando a preservação da capacidade de resposta aos mecanismos de luta ou fuga diferente dos animais que tiveram a lesão medular e não receberam o tratamento. A preservação de funções que atuam no eixo hipotálamo-hipófise adrenal contribui para melhor função imunológica. E a falha nesta comunicação neuro-humoral pode contribuir para disfunção imunológica, já que o excesso de glicocorticoides resulta na imunossupressão, que por sua vez facilita a infecção, e a inibição deste eixo aumenta o estado inflamatório, na fase aguda da lesão medular há evidências através de exames de urina em LM, que os níveis de cortisol ficam elevados por até 3 meses (BASTIEN; LACROIX, 2014). Noreen et al. (2010) relata efeitos positivos em animais suplementados com AGPI n-3 afirmando de estes ácidos graxos são capazes de reduzir concentrações de cortisol alteram respostas na quantidade de gordura corporal.

Uma das principais morbidades responsáveis pelo óbito de lesados medulares são as disfunções cardíacas, e a alteração de resposta do eixo adrenal está intimamente relacionada ao aumento do risco de doenças coronarianas (BRUNNER et al., 2002).

É importante lembrar que o tratamento padrão usado em LM é o uso de glicocorticoides e que já é consolidada na literatura o feedback negativo entre os

glicocorticoides e a liberação de ACTH, visto isto, o uso de glicocorticóides sintéticos pode influenciar de forma negativa na fisiologia das adrenais, alterando mecanismos desde a expressão de proteínas kinases (PKA), até na inibição de respostas fisiológicas adequadas, subsidiando então, o questionamento sobre o uso de glicocorticoides após lesão medular. (HOEFLICH; BIELOHUBY, 2009).

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste trabalho podemos concluir:

- a fase aguda da lesão medular que recebeu tratamento de AGPI n-3 teve alteração nas características de desenvolvimento de caquexia;
- depósitos de gorduras viscerais foram diferentes após a lesão medular ao longo dos tempos de 48h, 72h e 14d;
- tecido adiposo retroperitoneal e perigonadal ao longo dos tempos nos animais tratados e não tratados;
- houve incorporação dos AGPI n-3, comprovada pela mensuração no fígado e o mesmo tecido permitiu o perfil dos ácidos graxos por HPLC nos tempos determinados.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, E. da S.; LEMOS, V. de A.; SILVA, F. R. da; et. al..Low-Grade Inflammation and Spinal Cord Injury: Exercise as Therapy? **Mediators of Inflammation**, v. 2013, p. 1–7, 2013.
- AMELIA, T.; BIANCA-EUGENIA, O.; CAMIL-EUGENE, V.; SILVIA, I.; GABRIEL, H. Determination of Omega-3 / Omega-6 Ratio in Swine Brain Homogenate as an Animal Model for Human Nervous Tissue. **Acta Medica Merisiensis**, v. 62, n. 1, p. 86–89, 2015.
- ANTHONY, D. C.; COUCH, Y. The systemic response to CNS injury. **Experimental Neurology**, v. 258, p. 105–111, 2014. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.03.013>>. Acesso em jan. 2016.
- AVILA-MARTIN, G.; GALAN-ARRIERO, I.; GÓMEZ-SORIANO, J.; TAYLOR, J. Treatment of rat spinal cord injury with the neurotrophic factor Albumin-Oleic acid: Translational application for paralysis, spasticity and pain. **PLoS ONE**, v. 6, n. 10, 2011.
- BAINS, M.; HALL, E. D. Antioxidant therapies in traumatic brain and spinal cord injury. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1822, n. 5, p. 675–684, 2012. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092544391100250X>>. Acesso em jan. 2016.
- BASTIEN, D.; LACROIX, S. Cytokine pathways regulating glial and leukocyte function after spinal cord and peripheral nerve injury. **Experimental Neurology**, v. 258, p. 62–77, 2014. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.04.006>>. Acesso em jan. 2016.
- BETHEA, J. R.; CASTRO, M.; KEANE, R. W.; et al. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappaB activation. **J Neurosci**, v. 18, n. 9, p. 3251–3260, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9547234>\nhttp://www.jneurosci.org/content/18/9/3251.full.pdf>. Acesso em jan. 2016.
- BOSETTI, F. Arachidonic acid metabolism in brain physiology and pathology: lessons from genetically altered mouse models. **Journal of Neurochemistry**, v. 102, n. 3, p. 577–586, 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-4159.2007.04558.x>>. Acesso em jan. 2016.
- BOTELHO, R. V.; ALBUQUERQUE, L. D. G.; BASTIANELLO JR, R.; ARANTES JR, A. A. A. Brazilian Neurosurgery. **arquivos Brasileiros de Neurocirurgia**, v. 33, n. 2, p. 100–106, 2014.
- BOWEN, K.; PARK, S.; YI, J.; et al. Thiazolidinedione Class of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  Agonists Prevents Neuronal Damage, Motor Dysfunction, Myelin Loss, Neuropathic Pain, and Inflammation after spinal cord injury

in adult rats. **The Journal of Pharmacology**, n. 358, July 2016, 2007.

BRASH, A. R.. Arachidonic acid as a bioactive molecule. **Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 11, p. 1339–1345, 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Diretrizes de atenção á pessoa com lesão medular**. Brasília, DF, 2013.

BRUNNER, E. J.; HEMINGWAY, H.; WALKER, B. R.; et al. Adrenocortical, autonomic, and inflammatory causes of the metabolic syndrome: Nested case-control study. **Circulation**, v. 106, n. 21, p. 2659–2665, 2002.

BUFFO, A.; ROLANDO, C.; CERUTI, S. Astrocytes in the damaged brain: Molecular and cellular insights into their reactive response and healing potential. **Biochemical Pharmacology**, v. 79, n. 2, p. 77–89, 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006295209007680>>. Acesso em Jan. 2016.

CALDER, P. C. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 79, n. 3-5, p. 101–108, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952327808001361>>. Acesso em Jan. 2016.

CARLSON, K.F.; WILT, T.J.; TAYLOR, B.C.; et al. Effect of exercise on disorders of carbohydrate and lipid metabolism in adults with traumatic spinal cord injury: systematic review of the evidence. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 32, n. 4, p. 361–378, 2009. Disponível em: <<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed9&NEWS=N&AN=2009519569\nhttp://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cin20&AN=105440450&site=ehost-live>>. Acesso em Jan. 2016.

CESMEBASI, A.; DU PLESSIS, M.; IANNATUONO, M.; et al. A review of the anatomy and clinical significance of adrenal veins. **Clinical Anatomy**, v. 27, n. 8, p. 1253–1263, 2014.

DEFILIPPIS, A. P.; SPERLING, L. S. Understanding omega-3's. **American Heart Journal**, v. 151, p. 564–570, 2006.

DEVIVO, M. J. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: trends and future implications. **Spinal cord**, v. 50, n. 5, p. 365–372, 2012. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/sc.2011.178>>. Acesso em Jan. 2016.

DING, X.; BONEY-MONTOYA, J.; OWEN, B. M.; et al.  $\beta$ Klotho Is Required for Fibroblast Growth Factor 21 Effects on Growth and Metabolism. **Cell Metabolism**, v. 16, n. 3, p. 387–393, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413112003245>>. Acesso em Jan. 2016.

DITUNNO, J. F.; LITTLE, J. W.; TESSLER, A.; BURNS, A. S.. Spinal shock revisited: a four-phase model. **Spinal Cord**, v. 42, n. 7, p. 383–95, 2004. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/sj.sc.3101603>>. Acesso em Jan. 2016.

DOWNING, J. E. G.; MIYAN, J. A. Neural immunoregulation: emerging roles for nerves in immune homeostasis and disease. **Review Immunology Today**, v. 21, n. 6, p. 281–289, 2000.

DUMONT, R. J.; OKONKWO, D. O.; VERMA, S.; et al.. Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. **Clinical neuropharmacology**, v. 24, n. 5, p. 254–264, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11586110>>. Acesso em jan. 2016.

DYALL, S. C.; MICHAEL-TITUS, A. T. Neurological benefits of omega-3 fatty acids. **NeuroMolecular Medicine**, v. 10, n. 4, p. 219–235, 2008.

EBERLIN, L. S.; FERREIRA, C. R.; DILL, A. L.; IFA, D. R.; COOKS, G. R. Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Lipid Characterization and Biological Tissue Imaging. **Biochem Biophys Acta**, v. 1811, n. 11, p. 946–960, 2011.

FAULKNER, J. R. Reactive Astrocytes Protect Tissue and Preserve Function after Spinal Cord Injury. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 9, p. 2143–2155, 2004. Disponível em: <<http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.3547-03.2004>>. Acesso em jan. 2016.

FIGUEROA, J.; CORDERO, K.; LLÁN, M.; et. al.. Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Improve the Neurolipidome and Restore the DHA Status while Promoting Functional Recovery after Experimental Spinal Cord Injury. **Journal of neurotrauma**, v. 30, n. 10, p. 853–868, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23294084>\n<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3660112&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>\n<http://online.liebertpub.com/doi/pdfplus/10.1089/neu.2012.2718>>. Acesso em jan. 2016.

FIGUEROA, J.; CORDERO, K.; LLÁN, M.; ET AL. Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Improve the Neurolipidome and Restore the DHA Status while Promoting Functional Recovery after Experimental Spinal Cord Injury. **Journal of neurotrauma**, v. 30, n. 10, p. 853–68, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23294084>\n<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3660112&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>\n<http://online.liebertpub.com/doi/pdfplus/10.1089/neu.2012.2718>>. Acesso em jan. 2016.

FURLAN, J. C.; SAKAKIBARA, B. M.; MILLER, W. C.; KRASSIOUKOV, A. V. Global incidence and prevalence of traumatic spinal cord injury. **The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques**, v. 40, p. 456–464, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23786727>>. Acesso em jan. 2016.

GARCÍA-CAÑEVERAS, J. C.; DONATO, M. T.; CASTELL, J. V.; LAHOZ, A. A comprehensive untargeted metabolomic analysis of human steatotic liver tissue by RP and HILIC chromatography coupled to mass spectrometry reveals important metabolic alterations. **Journal of Proteome Research**, v. 10, n. 10, p. 4825–4834, 2011.

GARCIA-LOPEZ, P.; MARTINEZ-CRUZ, A.; GUIZAR-SAHAGUN, G.; CASTANEDA-

HERNANDEZ, G. Acute spinal cord injury changes the disposition of some, but not all drugs given intravenously. **Spinal Cord**, v. 45, n. 9, p. 603–608, 2007.

GARSTANG, S. V.; MILLER-SMITH, S. A. Autonomic Nervous System Dysfunction After Spinal Cord Injury. **Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America**, v. 18, n. 2, p. 275–296, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1047965107000198>>. Acesso em jan. 2016.

GATER, D. R. Obesity After Spinal Cord Injury. **Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America**, v. 18, n. 2, p. 333–351, 2007.

GIROD, M.; SHI, Y.; CHENG, J. X.; COOKS, R. G. Mapping lipid alterations in traumatically injured rat spinal cord by desorption electrospray ionization imaging mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 1, p. 207–215, 2011.

GIULIANO, F.; CLÉMENT, P. Physiology of ejaculation: Emphasis on serotonergic control. **European Urology**, v. 48, n. 3, p. 408–417, 2005.

GLATZ, J. A. N. F. C.; LUIKEN, J. J. F. P.; BONEN, A. Membrane Fatty Acid Transporters as Regulators of Lipid Metabolism: Implications for Metabolic Disease. **Physiological Reviews**, v. 90, p. 367–417, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20086080>>. Acesso em jan. 2016.

GOLDBERG, R. J.; KATZ, J. A meta-analysis of the analgesic effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for inflammatory joint pain. **Pain**, v. 129, n. 1-2, p. 210–223, 2007.

GORGEY, A. S.; DUDLEY, G. A. Skeletal muscle atrophy and increased intramuscular fat after incomplete spinal cord injury. **Spinal cord**, v. 45, n. 4, p. 304–9, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16940987>>. Acesso em jan. 2016.

GORGEY, A. S.; DOLBOW, D. R.; DOLBOW, J. D.; et al. Effects of spinal cord injury on body composition and metabolic profile – Part I. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 37, n. 0, p. 693–702, 2014. Disponível em: <<http://www.maneyonline.com/doi/abs/10.1179/2045772314Y.0000000245>>. Acesso em jan. 2016.

GORGEY, A. S.; MATHER, K. J.; GATER, D. R. Central adiposity associations to carbohydrate and lipid metabolism in individuals with complete motor spinal cord injury. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 60, n. 6, p. 843–851, 2011. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2010.08.002>>. Acesso em jan. 2016.

GREGORY, C. M.; VANDENBORNE, K.; HUANG, H. F. S.; OTTENWELLER, J. E.; DUDLEY, G. A. Effects of testosterone replacement therapy on skeletal muscle after spinal cord injury. **Spinal cord: the official journal of the International Medical Society of Paraplegia**, v. 41, n. 1, p. 23–28, 2003.

GULY, H. R.; BOUAMRA, O.; LECKY, F. E. The incidence of neurogenic shock in

patients with isolated spinal cord injury in the emergency department. **Resuscitation**, v. 76, n. 1, p. 57–62, 2008.

HEINRICH, C.; GÖTZ, M.; BERNINGER, B. Astrocytes: Methods and Protocols. **Methods in Molecular Biology**, v. 814, p. 485–498, 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-1-61779-452-0>>. Acesso em jan. 2016.

HOEFLICH, A.; BIELOHUBY, M. Mechanisms of adrenal gland growth: Signal integration by extracellular signal regulated kinases1/2. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 42, n. 3, p. 191–203, 2009.

HOENE, M.; LI, J.; LI, Y.; et al. Muscle and liver-specific alterations in lipid and acylcarnitine metabolism after a single bout of exercise in mice. **Scientific Reports**, v. 6, feb. 2016. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/srep22218>>. Acesso em jan. 2016.

HUANG, W. L.; KING, V. R.; CURRAN, O. E.; et al. A combination of intravenous and dietary docosahexaenoic acid significantly improves outcome after spinal cord injury. **Brain**, v. 130, n. 11, p. 3004–3019, 2007.

HUBSCHER, C. H.; JOHNSON, R. D. Effects of acute and chronic midthoracic spinal cord injury on neural circuits for male sexual function. II. Descending pathways. **Journal of neurophysiology**, v. 83, n. 5, p. 2508–2518, 2000. Disponível em: <<papers://40ab18b2-d275-4dd1-ab17-808c82b9f3da/Paper/p1712>\n<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10805652>>. Acesso em jan. 2016.

IBARGUREN, M.; LÓPEZ, D. J.; ESCRIBÁ, P. V. The effect of natural and synthetic fatty acids on membrane structure, microdomain organization, cellular functions and human health. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1838, n. 6, p. 1518–28, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273613004604>>. Acesso em jan. 2016.

INSKIP, J. A.; RAMER, L. M.; RAMER, M. S.; KRASSIOUKOV, A. V. Autonomic assessment of animals with spinal cord injury: tools, techniques and translation. **Spinal Cord**, v. 47, n. 1, p. 2–35, 2009. Disponível em: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/sc.2008.61>>. Acesso em jan. 2016.

JAVIERRE, C.; VIDAL, J.; SEGURA, R.; MEDINA, J.; GARRIDO, E. Continual supplementation with n-3 fatty acids does not modify plasma lipid profile in spinal cord injury patients. **Spinal Cord**, v. 43, n. 9, p. 527–530, 2005.

JOHNS, E. J.; KOPP, U. C.; DIBONA, G. F. Neural control of renal function. **Comprehensive Physiology**, v. 1, n. 2, p. 731–767, 2011.

JONES, L. M.; LEGGE, M.; GOULDING, A. Healthy body mass index values often underestimate body fat in men with spinal cord injury. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 84, n. 7, p. 1068–1071, 2003.

JR, F. M. M.; BRACKEN, M. B.; CREASEY, G.; et al. International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury. **Spinal Cord**, v. 35, n. 5, p. 266–274, 1997.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa. **Histologia básica: texto & atlas**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 538 p., il. color. Bibliografia e índice. ISBN 9788527723114:(broch.)

KANDEL, Eric R; SCHWARTZ, James H. (James Harris); JESSELL, Thomas M. **Princípios da neurociência**. 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2003. xliii, 1412 p., il. col. Inclui bibliografia e índice. ISBN 8520412815 (broch.).

KEARNS, P. J.; THOMPSON, J. D.; WERNER, P. C.; PIPP, T. L.; WILMOT, C. B. Nutritional and metabolic response to acute spinal-cord injury. **Jpen: Journal of Parenteral & Enteral Nutrition**, v. 16, n. 1, p. 11–15, 1992.

KERSTETTER, A. E.; MILLER, R. H. Isolation and Culture of Spinal Cord Astrocytes. **Astrocytes. Methods in Molecular Biology**, v. 814, p. 93–104, 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-1-61779-452-0>>. Acesso em jan. 2016.

KHALATBARY, A. R. Natural polyphenols and spinal cord injury. **Iranian Biomedical Journal**, 2014.

KIM, J. H.; SHIM, S. R.; DOO, S. W.; et al. Bladder recovery by stem cell based cell therapy in the bladder dysfunction induced by spinal cord injury: systematic review and meta-analysis. **PloS one**, v. 10, n. 3, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25781610>>. Acesso em jan. 2016.

KING, V. R. Omega-3 Fatty Acids Improve Recovery, whereas Omega-6 Fatty Acids Worsen Outcome, after Spinal Cord Injury in the Adult Rat. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 17, p. 4672–4680, 2006. Disponível em: <<http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.5539-05.2006>>. Acesso em jan. 2016.

KIRSHBLUM, S. C.; GROAH, S. L.; MCKINLEY, W. O.; GITTLER, M. S.; STIENS, S. A. Spinal cord injury medicine. 1. Etiology, classification, and acute medical management. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 83, n. March, p. S50–S57, S90–S98, 2002.

KJAER, M.; DELA, F.; SØRENSEN, F. B.; et al. Fatty acid kinetics and carbohydrate metabolism during electrical exercise in spinal cord-injured humans. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 281, n. 5, p. R1492–R1498, 2001.

KLEK, S. Omega-3 Fatty Acids in Modern Parenteral Nutrition: A Review of the Current Evidence. **Journal of Clinical Medicine**, v. 5, n. 3, p. 34, 2016. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2077-0383/5/3/34>>. Acesso em jan. 2016.

KRASSIOUKOV, A.; BIERING-SØRENSEN, F.; DONOVAN, W.; et al. International standards to document remaining autonomic function after spinal cord injury. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 35, n. 4, p. 201–210, 2012. Disponível em: <<http://www.maneyonline.com/doi/abs/10.1179/1079026812Z.00000000053>>.

Acesso em jan. 2016.

LI, C.; DIPIRO, N. D.; CAO, Y.; SZLACHCIC, Y.; KRAUSE, J. The association between metabolic syndrome and pressure ulcers among individuals living with spinal cord injury. **Spinal Cord**, jan., p. 1–6, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27089866>>. Acesso em jan. 2016.

LUKOVIC, D.; STOJKOVIC, M.; MORENO-MANZANO, V.; et al. Concise review: reactive astrocytes and stem cells in spinal cord injury: good guys or bad guys? **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 33, n. 4, p. 1036–1041, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25728093>>. Acesso em jan. 2016.

MCDONALD, J. W.; SADOWSKY, C. Spinal-cord injury. **Lancet**, v. 359, p. 417–425, 2002.

MIAO, H.; CHEN, L.; HAO, L.; et al. Stearic acid induces proinflammatory cytokine production partly through activation of lactate-HIF1 $\alpha$  pathway in chondrocytes. **Scientific reports**, v. 5, aug, p. 13092, 2015. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4536527&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em jan. 2016.

MICE, L.; SARASWATHI, V.; MORROW, J. D.; HASTY, A. H. Dietary Fish Oil Exerts Hypolipidemic Effects in Lean and Insulin Sensitizing Effects in Obese. **The Journal of Nutrition**, n. 139, dec., p. 2380–2386, 2009.

MILLS, J. D.; HADLEY, K.; BAILES, J. E. Dietary supplementation with the Omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid in traumatic brain injury. **Neurosurgery**, v. 68, n. 2, p. 474–481, 2011.

MOORE, C. D.; CRAVEN, B. C.; THABANE, L.; et al. Lower-extremity muscle atrophy and fat infiltration after chronic spinal cord injury. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 15, n. 1, p. 32–41, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25730650>>. Acesso em jan. 2016.

NICHOLLS, S. J.; LUNDMAN, P.; HARMER, J. A.; et al. Consumption of Saturated Fat Impairs the Anti-Inflammatory Properties of High-Density Lipoproteins and Endothelial Function. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 48, n. 4, p. 715–720, 2006.

NOREEN, E. E.; SASS, M. J.; CROWE, M. L.; et al. Effects of supplemental fish oil on resting metabolic rate, body composition, and salivary cortisol in healthy adults. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 7, p. 31, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2958879&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em jan. 2016.

NOROUZI JAVIDAN, A.; SABOUR, H.; LATIFI, S.; et al. Does consumption of polyunsaturated fatty acids influence on neurorehabilitation in traumatic spinal cord-injured individuals? A double-blinded clinical trial. **Spinal cord**, v. 52, n. 5, p. 378–382, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24637568>>. .

OUDEGA, M. Inflammatory response after spinal cord injury. **Experimental Neurology**, v. 250, p. 151–155, 2013. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.09.013>>. Acesso em jan. 2016.

OUDEGA, M.; PEREZ, M. A. Corticospinal reorganization after spinal cord injury. **The Journal of physiology**, v. 590, n. Pt 16, p. 3647–3663, 2012. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3476625&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em jan. 2016.

PAN, P.; LIN, S.; OU, Y.; CHEN, W. Stearic acid attenuates cholestasis-induced liver injury. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 391, n. 3, p. 1537–1542, 2010. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20036638>\n<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X09024929>>. Acesso em jan. 2016.

PARRISH, C. C.; MYHER, J. J.; KUKSIS, A.; ANGEL, A. Lipid structure of rat adipocyte plasma membranes following dietary lard and fish oil. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, v. 1323, n. 2, p. 253–262, 1997.

PÉNICAUD, L.; COUSIN, B.; LELOUP, C.; LORSIGNOL, A.; CASTEILLA, L. The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance. **Nutrition**, v. 16, n. 10, p. 903–908, 2000.

PÉREZ, J.; WARE, M. A.; CHEVALIER, S.; GOUGEON, R.; SHIR, Y. Dietary omega-3 fatty acids may be associated with increased neuropathic pain in nerve-injured rats. **Anesthesia and Analgesia**, v. 101, n. 2, p. 444–448, 2005.

PLOUMIS, A.; YADLAPALLI, N.; FEHLINGS, M. G.; KWON, B. K.; VACCARO, A. R. A systematic review of the evidence supporting a role for vasopressor support in acute SCI. **Spinal cord**, v. 48, n. 5, p. 356–362, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/sc.2009.150>>. Acesso em jan. 2016.

PRIMEAUX, D.; TONG, M.; HOLMES, M. Effects of chronic spinal cord injury on body weight and body composition in rats fed a standard chow diet. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 293, n. 3, p. 1102–1109, 2007. Disponível em: <Available from Highwire Press in [http://link.worldcat.org/?rft.institution\\_id=129941&pkgName=freeart&issn=0363-6119&linkclass=to\\_article&jKey=ajpregu.physiology.org&issue=3&provider=highwire&date=2007-09&aulast=Primeaux,+Stefany+D&atitle=Effects+of+chro](http://link.worldcat.org/?rft.institution_id=129941&pkgName=freeart&issn=0363-6119&linkclass=to_article&jKey=ajpregu.physiology.org&issue=3&provider=highwire&date=2007-09&aulast=Primeaux,+Stefany+D&atitle=Effects+of+chro)>. Acesso em jan. 2016.

RAATZ, S. K.; REDMON, J. B.; WIMMERGREN, N.; DONADIO, J. V.; BIBUS, D. M. Enhanced Absorption of n-3 Fatty Acids from Emulsified Compared with Encapsulated Fish Oil. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 109, n. 6, p. 1076–1081, 2009. American Dietetic Association. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jada.2009.03.006>>. Acesso em jan. 2016.

RAHIMI-MOVAGHAR, V.; SAYYAH, M. K.; AKBARI, H.; et al. Epidemiology of traumatic spinal cord injury in developing countries: a systematic review. **Neuroepidemiology**, v. 41, p. 65–85, 2013.

RAPOPORT, S. I. Arachidonic acid and the brain. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. 12, p. 2515–20, 2008. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3415870&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em jan. 2016.

RODRIGUEZ, D. J.; BENZEL, E. C.; CLEVENGER, F. W. The metabolic response to spinal cord injury. **Spinal cord: the official journal of the International Medical Society of Paraplegia**, v. 35, n. 9, p. 599–604, 1997.

ROSAS-BALLINA, M.; TRACEY, K. J. The Neurology of the Immune System: Neural Reflexes Regulate Immunity. **Neuron**, v. 64, n. 1, p. 28–32, 2009. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627309007508>>. Acesso em jan. 2016.

SABOUR, H.; JAVIDAN, A. N.; LATIFI, S.; et al. Omega-3 fatty acids' effect on leptin and adiponectin concentrations in patients with spinal cord injury: A double-blinded randomized clinical trial. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 38, n. 5, p. 599–606, 2015.

SAUERBECK, A. D.; LAWS, J. L.; BANDARU, V. V. R.; et al. Spinal cord injury causes chronic liver pathology in rats. **Journal of neurotrauma**, v. 32, n. 3, p. 159–169, 2015.

SCHACHTRUP, C.; LE MOAN, N.; PASSINO, M. A.; AKASSOGLU, K. Hepatic stellate cells and astrocytes: Stars of scar formation and tissue repair. **Cell Cycle**, v. 10, n. 11, p. 1764–1771, 2011.

SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 47, n. 2, p. 147–155, 2008.

SILVA, N. A.; SOUSA, N.; REIS, R. L.; SALGADO, A. J. From basics to clinical: A comprehensive review on spinal cord injury. **Progress in Neurobiology**, 2014.

SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 56, n. 8, p. 365–379, 2002.

KIRSHBLUM, S. C.; GROAH, S. L.; MCKINLEY, W. O.; GITTLER, M. S.; STIENS, S. A. Spinal cord injury medicine. 1. Etiology, classification, and acute medical management. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 83, n. March, p. S50–S57, S90–S98, 2002.

SQUAIR, J. W.; LE NOBEL, G.; NOONAN, V. K.; RAINA, G.; KRASSIOUKOV, A. V. Assessment of clinical adherence to the international autonomic standards following spinal cord injury. **Spinal Cord**, , n. November 2014, p. 1–5, 2015. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/sc.2015.54>>. .

THIBAUT-HALMAN, G.; CASHA, S.; SINGER, S.; CHRISTIE, S. Acute management of nutritional demands after spinal cord injury. **Journal of neurotrauma**, v. 28, n. 8, p. 1497–507, 2011. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3143385&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em jan. 2016.

THURET, S.; MOON, L. D. F.; GAGE, F. H. Therapeutic interventions after spinal cord injury. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 7, aug, p. 628–643, 2006.

TOBOREK, M.; MALECKI, A.; GARRIDO, R.; et al. Arachidonic acid-induced oxidative injury to cultured spinal cord neurons. **Journal of Neurochemistry**, v. 73, n. 2, p. 684–692, 1999.

UYAMA, N.; GEERTS, A.; REYNAERT, H. Neural connections between the hypothalamus and the liver. **Anatomical Record - Part A Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology**, v. 280, n. 1, p. 808–820, 2004.

WARD, R. E.; HUANG, W.; CURRAN, O. E.; PRIESTLEY, J. V; MICHAEL-TITUS, A. T. Docosahexaenoic acid prevents white matter damage after spinal cord injury. **Journal of neurotrauma**, v. 27, n. 10, p. 1769–80, 2010. Disponível em: <<http://online.liebertpub.com/ucsf.idm.oclc.org/doi/full/10.1089/neu.2010.1348>>. Acesso em jan. 2016.

WEATHERHEAD, G.; MELLOR, S. Novel omega 3 emulsion technologies. **Nutrafoods**, v. 10, n. 4, p. 17–21, 2011. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF03223355>>. Acesso em jan. 2016.

WILSON, J. R.; FORGIONE, N.; FEHLINGS, M. G. Emerging therapies for acute traumatic spinal cord injury. **CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne**, v. 185, n. 6, p. 485–92, 2013. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3612151&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em jan. 2016.

YI, C. X.; LA FLEUR, S. E.; FLIERS, E.; KALSBECK, A. The role of the autonomic nervous liver innervation in the control of energy metabolism. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1802, n. 4, p. 416–431, 2010.

YI, C. X.; KALSBECK, A.; TSCHÖP, M. H. Autonomic MC sets the metabolic tone. **Cell Metabolism**, v. 13, n. 2, p. 121–123, 2011.

ZHOU, K.; ZHOU, Y.; WU, K.; et al. Stimulation of autophagy promotes functional recovery in diabetic rats with spinal cord injury. **Scientific Reports**, v. 5, 2015. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/srep17130>>. Acesso em jan. 2016.

**ANEXO**

## ANEXO 1

### Omegaven<sup>®</sup> óleo de peixe

#### Forma farmacêutica e apresentações:

Emulsão injetável -100mg/ mL

Frasco de vidro com 50mL ou 100mL

Caixa com 10 frascos de vidro com 50 ou 100mL

#### USO INTRAVENOSO

#### USO ADULTO

#### Composição:

Cada 100ml contém:

óleo de peixe altamente refinado	10,0g
(10%) contendo:	
ácido eicosapentaenóico (EPA)	1,25-2,82g
ácido docosahexaenóico (DHA)	1,44-3,09g
ácido mirístico	0,1-0,6g
ácido palmítico	0,25-1,0g
ácido palmitoléico	0,3-0,9g
ácido esteárico	0,05-0,2g
ácido oléico	0,6-1,3g
ácido linoléico	0,1-0,7g
ácido linolênico	□□ 0,2g
ácido octadecatetraenóico	0,05-0,65g
ácido eicosaenóico	0,05-0,3g
ácido araquidônico	0,1-0,4g
ácido docosaenóico	□□ 0,15g
ácido docosapentaenóico	0,15-0,45g
raça alfa tocoferol	0,015-0,0296g
Excipientes q.s.p	100,0mL

Excipientes: glicerol, lecitina de ovo, hidróxido de sódio, oleato de sódio e água para injeção

O.

Energia total: 470 kJ/100 mL = 112 kcal/100 mL Valor de pH: 7,5 a 8,7

Acidez de titulação: &lt; 1 mmol HCl/L Osmolaridade teórica: 273 mOsm/L

## INFORMAÇÃO TÉCNICA SAOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE

### 1. INDICAÇÕES

Este medicamento é destinado à suplementação de nutrição parenteral com ácidos graxos ômega-3 de cadeia longa, especialmente o ácido eicosapentaenoico e o ácido docosahexaenoico, quando a nutrição oral ou enteral é impossível, insuficiente ou contraindicada.

### 2. RESULTADOS DE EFICÁCIA

Maiores estudos clínicos com **Omegaven**<sup>®</sup> foram realizados em pacientes pós-operatórios após vários tipos de cirurgia. Heller et al.<sup>01</sup> demonstraram que um grande número de pacientes (n=661) tratados com terapia de nutrição parenteral (TNP) contendo **Omegaven**<sup>®</sup> apresentou mais efeitos favoráveis na sobrevivência, na taxa de infecção e no tempo de permanência quando administradas doses entre 0,1-0,2 g de lipídios/kg/dia.

Estudos clínicos em pacientes com sepse, efeitos favoráveis podem ser observados quando **Omegaven**<sup>®</sup> é administrado – na maioria das vezes em combinação com emulsões de óleo de soja – mas também como fonte exclusiva de lipídios.

Estudo	Principais resultados com <b>Omegaven</b> <sup>®</sup>
os com câncer	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Melhorar a função do fígado e pâncreas</li> <li>- Sem influência nos fatores de coagulação</li> <li>- Tendência a menor tempo de permanência no hospital</li> <li>- Ausência de perda de peso</li> </ul>

<p>cos com Omegaven durante 5 dias (pós-operatórios ou pré e pós-operatórios)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Redução do tempo de permanência no hospital</li> <li>- Taxa mais baixa de infecção</li> <li>- Redução da IL-6</li> <li>- Manutenção do HLA-DR+ níveis</li> </ul>
<p>cos misturas lipídicas</p>	<p>- Emulsões lipídicas com ácidos graxos <math>\omega</math>-6: <math>\omega</math>-3 na razão 2:1 resultou numa proporção mais alta de LTC<sub>5</sub>/LTC<sub>4</sub></p>
<p>cos</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Proporção de EPA/AA em trombócitos diminuiu significativamente</li> <li>- Significativa redução da velocidade de agregação trombocítica</li> <li>- Sem diferenças no tempo de coagulação</li> <li>- Reduzido risco de trombose pós-operatória</li> </ul>
<p>epse e insuficiência renal em infusão intravenosa de Omegaven</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Redução do tempo de permanência no hospital</li> <li>- Redução do tempo de permanência na UTI</li> </ul>
<p>no que séptico</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aumento de EPA e DHA no plasma</li> <li>- Aumento significativo de LTB<sub>5</sub> e PAF</li> <li>- Aumento da taxa TXA<sub>3</sub>/TXA<sub>2</sub></li> </ul>

### Referências Bibliográficas:

<sup>1</sup>Heller AR, Rossler S, Litz RJ, Stehr SN, Heller SC, Koch R, Koch T. Omega-3 fatty acids improve the diagnosis-related clinical outcome. **Crit Care Med** (in press).

<sup>2</sup>Heller AR, Fischer S, Rossel T, Geiger S, Siegert G, Ragaller M et al. Impact of n-3 fatty acid supplemented parenteral nutrition on haemostasis patterns after major abdominal surgery. **Br J Nutr** 2002; 87 (Suppl 1): S95-101.

<sup>3</sup>Heller AR, Koch T. [Immunologic impact of lipid administration in parenteral nutrition with a focus on n-3 fatty acids]. **Aktuel Ernähr Med** 2002; 27: 222-9.

<sup>4</sup>Heller AR, Rossel T, Gottschlich B, Tiebel O, Menschikowski M, Litz R et al. Omega-3 fatty acids improve liver and pancreas function in postoperative cancer patients. **Int J Ca**

5

WeissG, MeyerF, MatthiesB, ProssM, KoenigW, LippertH. Immunomodulation by perioperative administration of n-3 fatty acids. **Br. J Nutr** 2002;87(Suppl1):S89-S94.

<sup>6</sup>Morlion B. J., Torwesten E., Wrenger K., Puchstein C., and Furst P. What is the optimum omega-3 to omega-6 fatty acid (FA) ratio of parenteral lipid emulsions in postoperative trauma? **Clin Nutr**, 16(Suppl):49.

<sup>7</sup>Roulet M, Frascarolo P, Pilet M, Chapuis G. Effect of intravenously infused fish oil on platelet fatty acid phospholipid composition and on platelet function in postoperative trauma. **J Parenter Enteral Nutr** 1997;21:296-301.

<sup>8</sup>Ingale AV, Ingale FA, Kadam N, Kulkarni HG. Parenteral fish oil is safe in renal failure. **Clin Nutr** 2004;23.

<sup>9</sup> Mayer K, Fegbeutel C, Hattar K, Sibelius U, Kramer HJ, Heuer KU et al. Omega-3 vs. omega-6 lipid emulsion exerts differential influence on neutrophils in septic shock patients: impact on plasma fatty acids and lipid mediator generation. **Intensive Care Med** 2003;29:1472-81.

### 3. CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS

#### Propriedades farmacodinâmicas

Os ácidos graxos ômega-

3 de cadeia longa em **Omegaven**<sup>®</sup> são parcialmente incorporados no plasma e nos lipídios teciduais. O ácido docosahexaenóico é um

importante elemento estrutural nos fosfolípidos da membrana, enquanto o ácido eicosapentaenóico é um precursor nas sínteses de uma classe especial de eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e outros mediadores lipídicos). O aumento das sínteses dessas substâncias mediadoras derivadas do ácido eicosapentaenóico pode ajudar a promover efeitos antiagregantes e antiinflamatórios, e está associada a efeitos imunomoduladores. O óleo de peixe utilizado é um triglicéride puro.

O ração de colesterol adicionado ao óleo de peixe como um antioxidante durante a última etapa de fabricação e afim de aumentar a estabilidade da matéria-prima.

A quantidade eliminada de triglicérides oxidados é inferior a 1,5%, não havendo prejuízo à saúde.

A quantidade de lecitina de ovo é limitada a 12g/L de emulsão, visto que a quantidade



es maiores poderiam aumentar o conteúdo de fósforo e colesterol no soro, o que é fisiologicamente indesejável.

O glicerol contido em **Omegaven**<sup>®</sup> destina-se à produção de energia através da glicólise ou é re-esterificado junto com os ácidos graxos livres no fígado para formar triglicerídios. O glicerol também é utilizado para isotonizar e estabilizar a emulsão óleo-em-água.

**Omegaven**<sup>®</sup> contém também fosfolipídios do ovo, que são hidrolisados ou incorporados nas membranas celulares, onde são essenciais para a manutenção da integridade da membrana.

#### Propriedades farmacocinéticas

As partículas lipídicas infundidas com **Omegaven**<sup>®</sup> são similares aos quilomícrons fisiológicos em tamanho e eliminação. Em voluntários saudáveis do sexo masculino, foi calculada uma meia-vida de triglicerídios para **Omegaven** de 54 minutos.

#### **4. CONTRAINDICAÇÕES**

Este medicamento é contra-indicado em casos de:

- Comprometimento do metabolismo lipídico
- Distúrbios hemorrágicos graves
- *Diabetes mellitus* instável



Certasafeçõesagudasefataisà vida,taiscomo:

- Colapso e choque
- Infartodomiocárdiorecente
- Acidentevascularcerebral
- Embolia
- Estadodecomanãodefinido

Contraindicaçõesgeraisparanutriçãoparenteral:

- Hipocalemia
- Hiperidratação
- Desidrataçãohipotônica
- Metabolismoinstável
- Acidose

Devidoàfaltadeestudosclínicos,**Omegaven<sup>®</sup>**nãodeveseradministradoapacient escominsuficiênciarenalouhepáticagraves.

**Omegaven<sup>®</sup>**nãodeveserusadoempreaturos, recém-nascidos,bebêsecrianças,devido à experiêncialimitada.

**Omegaven<sup>®</sup>**nãodeveseradministradoapacientesalérgicosàpeixeouàproteínad oovo.

## **5. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES**

Oníveldetriglicéridesséricosdevesermonitorizadodiariamente.Devemserregula rmenterealizadasavaliaçõesnosperfisdeglicosangüínea,metabolismoácido-básico,eletrólitosséricos,equilíbriohídrico,hemogramaetempodesangramentoempacie ntestratadoscomanticoagulantes.Aconcentraçãodetriglicéridesséricosnãodeveexceder 3mmol/Lduranteaadministraçãodeemulsõesgordurosas.

### **Gravidez elactação**

Nãoháevidênciasobreasegurançadestamedicaçãoduranteagravidezouamame ntação.Estamedicaçãoñodeveserusadaduranteagravidezouamamentação.

**CATEGORIA DE RISCO C: ESTE MEDICAMENTO NÃO DEVE SER UTILIZADO POR MULHERES GRÁVIDAS SEM ORIENTAÇÃO MÉDICA OU DO CIRURGIÃO-DENTISTA.**

## 6. INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

A infusão de **Omegaven**<sup>®</sup> pode causar prolongamento do tempo de sangramento e uma inibição da agregação plaquetária. Portanto, **Omegaven**<sup>®</sup> deve ser administrado com cautela em pacientes que requerem tratamento com anticoagulantes, mesmo com relação a uma possível redução de anticoagulantes.

Quando **Omegaven**<sup>®</sup> for administrado com outras soluções de infusão (p.ex., soluções de aminoácido) através de uma linha comum de infusão (desvio, tubo Y), a compatibilidade das soluções/emulsões deve ser assegurada.

### Incompatibilidades

Podem ocorrer incompatibilidades durante a adição de cátions polivalentes, por exemplo, cálcio, especialmente quando combinado com heparina.

**Omegaven**<sup>®</sup> pode ser asepticamente misturado com emulsões lipídicas, bem como vitaminas lipossolúveis.

## 7. CUIDADOS DE ARMAZENAMENTO DO MEDICAMENTO

Conservar em temperatura não superior a 25°C. Não congelar. Desde que armazenados sob condições adequadas, o medicamento tem prazo de validade de 18 meses a partir da data de fabricação.

A estabilidade química e física em soluções contendo **Omegaven**<sup>®</sup> foi demonstrada durante 24 horas a 25°C. De um ponto de vista microbiológico, misturas com emulsões lipídicas contendo vitaminas lipossolúveis devem ser utilizadas imediatamente. Caso não sejam utilizadas imediatamente, o tempo de armazenamento em uso e as condições antes do uso são de responsabilidade do usuário. Somente se a preparação for realizada em condições assépticas e controladas, as condições de armazenamento podem ser baseadas nos dados de estabilidade.

**Número de lote e data de fabricação e validade: vide embalagem.**

**Não use medicamento como prazo de validade vencido. Guarde-o em sua embalagem original.**

**Omegaven<sup>®</sup>** é uma emulsão branca homogênea.

**Antes de usar, observe o aspecto do medicamento.**

**Todo medicamento deve ser mantido fora do alcance das crianças.**

## **8. POSOLOGIA E MODO DE USAR**

A medicação deve ser administrada exclusivamente pela via que consta em bula, sob risco de danos de eficácia terapêutica.

### Dose diária

1 mL até no máximo 2 mL de **Omegaven<sup>®</sup>**/kg

= 0,1 g até no máximo 0,2 g de óleo de peixe/kg

= 70 mL até no máximo 140 mL de **Omegaven<sup>®</sup>** para um paciente 70 kg.

### Velocidade máxima de infusão:

A velocidade de infusão não deve exceder 0,5 mL

de **Omegaven<sup>®</sup>**/kg/hora, correspondendo a 0,05 g de óleo de peixe/kg/hora.

A velocidade de infusão máxima deve ser restritamente seguida, caso contrário pode ser observado um aumento acentuado na concentração de triglicéridos séricos.

**Omegaven<sup>®</sup>** deve ser administrado simultaneamente com outras emulsões lipídicas.

Com base na ingestão total diária de lipídios recomendada de 1-

2 g/kg, a porção de óleo de peixe de **Omegaven<sup>®</sup>** deve constituir 10- 20% dessa ingestão.



### Método de administração

Para infusão por meio de veia central ou periférica. Agitar antes de usar.

### Duração da administração

A duração da administração não deve exceder 4 semanas.

## 9. REAÇÕES ADVERSAS

Reação rara ( $>1/10.000$  e  $<1.000$ ): a infusão de **Omegaven<sup>®</sup>** pode levar a prolongamento do tempo de sangramento e uma inibição da agregação plaquetária. Em casos raros, os pacientes podem apresentar gosto de peixe na boca.

Efeitos indesejáveis observados durante a administração de emulsões lipídicas:

- Reação incomum ( $>1/1.000$  e  $<1/100$ ): dor abdominal, náusea, vômito, elevação na temperatura corporal, tremores, calafrios, cansaço, hipertrigliceridemia e dor de cabeça;
- Reação muito rara ( $<1/10.000$ ): trombocitopenia, hemólise, reticulocitose, reações anafiláticas, aumento transitório no teste de função hepática, priapismo, rash, urticária e efeitos circulatórios (p.ex. hiper/hipotensão).

Pode-

se observar um aumento transitório no teste de função hepática após nutrição parenteral prolongada com emulsões lipídicas.

Devem ser observados possíveis sinais de sobrecarga metabólica. A causa pode ser genética (metabolismos individualmente diferentes) e relacionada a diferentes doenças prévias com rapidez variada e após diferentes doses, mas esses sinais têm sido observados principalmente com o uso de emulsões lipídicas de semente de algodão.

A sobrecarga metabólica pode causar os seguintes sintomas:

- Hepatomegalia com ou sem icterícia;
- Uma alteração ou redução de alguns parâmetros de coagulação (p.ex., tempo de sangramento, tempo de coagulação, tempo de protrombina, contagem de plaquetas);
- Esplenomegalia;
- Anemia, leucopenia, trombocitopenia;
- Sangramentos e tendência a sangramento;



- Testes de função hepática anormais;
- Febre;
- Hiperlipidemia;
- Cefaléia, dores de estômago, fadiga;
- Hiperglicemia.

Caso esses efeitos colaterais ocorram ou nos casos de nível de triglicérides durante a infusão de lipídios aumentar acima de 3mmol/L, a infusão de lipídios deve ser interrompida ou, se necessário, mantida com posologia reduzida.

**Em caso de eventos adversos, notifique o Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária–**

**NOTIVISA, disponível em <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/notivisa/index.htm>, ou para a Vigilância Sanitária Estadual ou Municipal.**

## **10. SUPERDOSE**

Pode ocorrer superdose levando à síndrome de sobrecarga lipídica quando o nível de triglicérides durante a infusão de lipídios eleva-se acima de 3mmol/L, acentuadamente, como resultado de velocidade muito rápida de infusão, ou cronicamente, nas velocidades de infusão recomendadas em associação com uma alteração na condição clínica do paciente, por exemplo, comprometimento da função renal por infecção. A superdose pode levar a efeitos colaterais. Nessas situações, a infusão de lipídios deve ser interrompida ou, se necessário, mantida em dose reduzida. A administração de lipídios também deve ser interrompida se ocorrer um aumento acentuado nos níveis de glicose sanguínea durante a infusão de **Omegaven<sup>®</sup>**. Uma superdose grave de **Omegaven<sup>®</sup>**, sem administração simultânea de uma solução de carboidrato, pode levar à acidose metabólica.



Emcasodeintoxicaçãoliguepara08007226001,sevocêprecisardemaisorientações

## DIZERESLEGAIS

**M.S.1.0041.9942**

**FarmacêuticaResponsável:CíntiaM.P. GarciaCRF-SP34871**

**Fabricado por:**

FreseniusKabi AustriaGmbHGraz– Áustria

**Importado por:**

**Fresenius KabiBrasilLtda**

Av.Marginal Projetada,1652 – Barueri –SPCNPJ:49.324.221/0001-04

SAC:0800 7043855

**Uso restritoahospitaisVenda sob prescriçãomédica**

**Esta bulafoi aprovada pelaAnvisa em29/01/2013.**

