

METABOLISMO DE LEUCOTRIENOS*

Introdução

O termo eicosanoide é usado para caracterizar um grupo de compostos oxigenados a partir de ácidos graxos de vinte carbonos (C20) (Smith & Murphy, 2002). Eicosanoides são hormônios parácrinos, caracterizados por serem substâncias que atuam apenas em células próximas ao local onde o hormônio é sintetizado, ao invés de serem transportados pelo sangue e atuar em células de outros tecidos e órgãos (Nelson & Cox, 2005). Os eicosanóides sintetizados a partir de C20 são procedentes dos ácidos graxos essenciais (AGE), linoléico (AL) (18:2n-6) e α -linolênico (ALA) (18:3n-3), ou diretamente via dieta, através dos ácidos araquidônico (AA) (20:4n-6), eicosapentaenóico (EPA) (20:5n-3) ou gama-linolênico (18:3n-6) (GLA) (Mayes & Botham, 2003; Case et al., 2011).

Os eicosanóides não são armazenados nas células, são sintetizados e liberados rapidamente (5 – 60 segundos) em resposta a estímulo hormonal extracelular (Smith & Murphy, 2002). São constituídos de três grupos: prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, sendo que a via de produção destes compostos ocorre através de reações em cascata, que levam o nome das enzimas que catalisam o primeiro passo de cada via, as cicloxigenases e as lipoxigenases (Smith & Murphy, 2002; Smyth & Fitzgerald, 2010). Estes compostos derivados de C20 exercem inúmeros efeitos importantes nos tecidos de animais superiores. Sabe-se que estão envolvidos em funções reprodutivas; em processos inflamatórios, febre, dor associada a lesões ou doenças; na formação de coágulos sanguíneos e na pressão arterial; na secreção de HCl no estômago e em uma variedade de processos importantes em seres saudáveis ou doentes (Nelson & Cox, 2005; Case et al., 2011).

Nesta revisão serão descritas as rotas metabólicas envolvidas no processo de formação de leucotrienos, produzidos a partir da via das lipoxigenases, assim como as principais funções desenvolvidas por cada um destes compostos, conforme o local em que foi produzido. Também serão apresentadas formas de modular nutricionalmente a síntese destes compostos e os reflexos desta modulação nas respostas imunológicas dos animais.

Síntese de leucotrienos

Os leucotrienos pertencem à família compostos que possuem três duplas ligações, trienos, formados a partir de ácidos eicosanoicos nos leucócitos, células de mastocitomas, plaquetas e macrófagos através da via das lipoxigenases (5-, 8-, 12-, 15-), em resposta a estímulos

*Seminário apresentado pelo aluno FÁBIO RITTER MARX na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2013. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

imunológicos ou não (Mayes & Botham, 2003). O nome leucotrieno foi concebido a partir da junção de duas características destes compostos. A primeira parte do nome sendo relacionada aos chamados glóbulos brancos, pois estes possuem a capacidade de sintetizar estes eicosanóides, um exemplo, são os leucócitos polimorfonucleares (leuco). Já a segunda parte é relacionada à estrutura química como citado anteriormente, devido às três duplas ligações (trienos) (Gurr et al., 2002).

Estes compostos possuem potentes atividades biológicas (Tabela 1) e seus principais efeitos podem ser observados nos sistemas respiratório, microvascular, leucocitário e gastrointestinal (Gurr et al., 2002). Os leucotrienos constituem uma família de comunicadores celulares que são reconhecidos por receptores acoplados a proteínas, receptores nucleares e por proteínas que facilitam a transferência de intermediários bioquímicos de uma célula para outra (Murphy & Gijón, 2007). Os leucotrienos mais ativamente investigados são os produzidos pela 5-lipoxigenase (5-LO) presente nas células inflamatórias; leucócitos polimorfonucleares, neutrófilos, monócitos, basófilos, mastócitos, eosinófilos e macrófagos, assim como no pulmão, baço, cérebro e coração (Gurr et al., 2002; Smyth & Fitzgerald, 2010).

Tabela 1. Efeito biológico dos leucotrienos

Efeito	Comentários
Respiratório	Peptidoleucotrienos causam a constrição dos brônquios, especialmente nas vias aéreas inferiores e aumentam a secreção de muco
Microvascular	Peptidoleucotrienos causam a constrição arteriolar, dilatação venosa e exsudação plasmática
Leucocitário	Leucotrienos B ₄ agem como mediadores químicos dos neutrófilos, eosinófilos (ex: aumentam a degranulação de plaquetas, receptores de superfície celular e a aderência de polimorfonucleócitos aos receptores celulares)
Gastrointestinal	Peptidoleucotrienos causam a constrição da musculatura lisa (Leucotrienos B ₄ sem efeito)

Adaptado de Gurr et al. (2002)

A disponibilidade de um ácido graxo insaturado é pré-requisito necessário para formação de eicosanóides. O AA é o ácido graxo predominante na constituição das membranas fosfolipídicas, sendo assim o mais comumente utilizado. As duas classes de fosfolipídeos que desenvolvem papel principal como fontes de AA nas células são: a fosfatidilcolina (maior constituinte de membrana) e as fosfoinositidinas (Gurr et al., 2002; Smyth & Fitzgerald, 2010).

Os leucotrienos são liberados após ativação celular por patógenos, mediadores solúveis, reação antígeno-anticorpo entre outros. A síntese de leucotrienos começa a partir da interação de vários hormônios; como por exemplo: histamina, bradicinina, angiotensina II e trombina; com seus respectivos receptores de superfície celular, estes por sua vez causam a ativação de uma ou mais lipases celulares (Smith & Murphy, 2002). Apesar de várias lipases e fosfolipases poderem atuar na mobilização do AA, as principais lipases envolvidas no processo são: a fosfolipase A₂ (PLA₂) citosólica e a PLA₂ secretora (PLA₂s), a PLA₂ citosólica possui papel central na produção de eicosanóides, sendo comprovada esta essencialidade pelo fato de que ratos transgênicos com deficiência de ação desta enzima apresentam quase nula capacidade de síntese de prostaglandinas e leucotrienos em resposta a vários estímulos (Uozumi et al., 1997; Gijón et al., 2000). As localizações subcelulares das principais enzimas envolvidas na síntese de leucotrienos estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Localização subcelular das enzimas envolvidas na síntese e metabolismo dos leucotrienos A₄ a partir dos precursores celulares fosfolipídicos

Proteína	Local de descanso celular	Local de ativação celular
PLA ₂	Citosol	Membrana perinuclear, Complexo de Golgi, Retículo endoplasmático
5-LO	Citosol, nucleoplasma	Membrana perinuclear
FLAP	Membrana perinuclear	Membrana perinuclear
LTA ₄ -H	Citosol	Citosol, Nucleoplasma
LTC ₄ -S	Membrana perinuclear	Membrana perinuclear

Adaptado de Murphy & Gijón (2007)

A PLA₂ citosólica é encontrada no citosol de células em repouso, porém uma mobilização do Ca²⁺ intracelular induzida através de hormônios faz com que ocorra uma translocação da PLA₂ citosólica para o retículo endoplasmático e envoltório nuclear (Figura 1). Neste local, o PLA₂ citosólico cliva o AA da posição *sn*2 dos fosfolipídeos na superfície citosólica das membranas (Gurr et al., 2002; Smith & Murphy, 2002). O AA atravessa a membrana servindo de substrato para as lipoxigenases, que catalizam a incorporação de moléculas de oxigênio ao AA, estas enzimas estão localizadas nos leucócitos, coração, cérebro, pulmões e baço (Nelson & Cox, 2005).

A PLA₂ citosólica possui um sítio de ligação dependente de Ca²⁺ (domínio C2), que é comum em proteínas que realizam a translocação do citosol para as membranas em presença de Ca²⁺. A ação da PLA₂ citosólica aumenta muito na presença de Ca²⁺, porém o Ca²⁺ não atua de forma catalítica no processo e sim atua de forma a promover o estímulo de interação entre



A partir dos LTA₄ podem ser geradas duas classes de leucotrienos, conforme o local onde

endoteliais) (Smith & Murphy, 2002). Maclouf (1989) demonstrou que as células podem atuar de forma cooperativa para produção de leucotrienos através de um processo denominado de biossíntese transcelular. Neste processo uma célula como o neutrófilo ou mastócito geram LTA_4 que é liberado da célula e então é usado ou por plaquetas para produção de LTC_4 ou por eritrócitos para produção de LTB_4 . Apesar da reatividade química dos LTA_4 , este processo é tido como de grande eficiência, sendo que 60-70% dos LTA_4 produzidos pelos neutrófilos ativados podem ser liberados em outras células para a biossíntese transcelular dos leucotrienos (Sala et al., 1996).

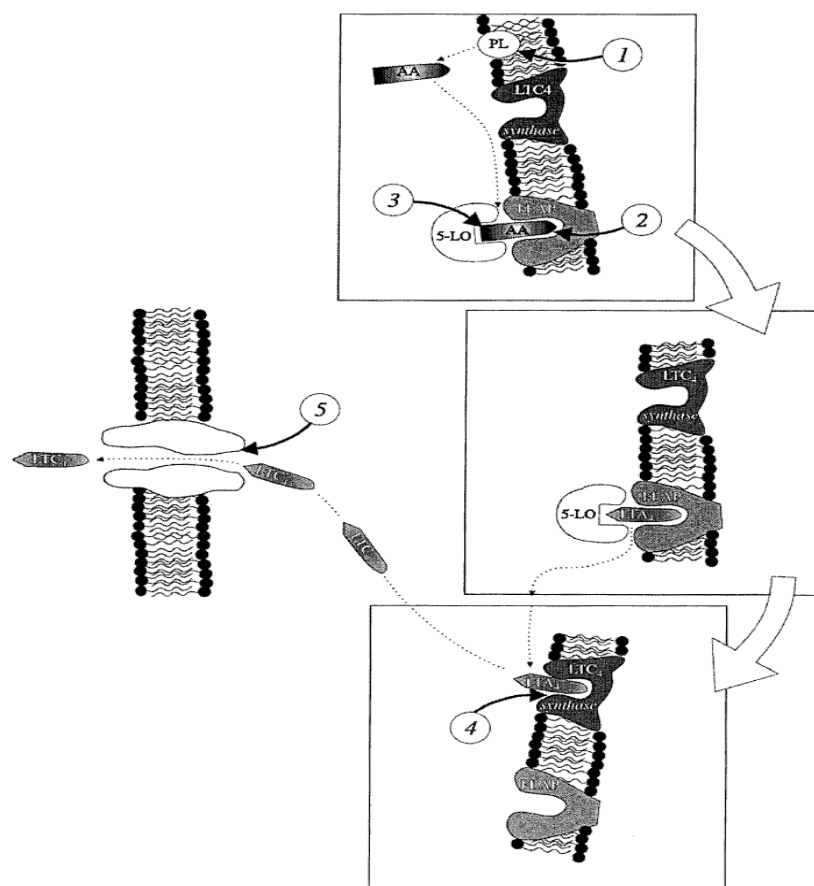


Figura 2. Modelo da síntese e liberação do leucotrieno LTC_4 . Adaptado de Gurr et al. (2002).

A incorporação do oxigênio molecular pela 5-LO ocorre em associação com a proteína ativadora da 5-LO (FLAP). A FLAP foi descoberta através de estudos que tinha como objetivo avaliar um potente inibidor da biossíntese dos leucotrienos o MK-886. Sua principal função é aumentar a eficiência das reações da 5-LO por possuir um sítio de ligação para o AA e assim facilitar a transferência deste substrato para a enzima. Na Figura 2, é apresentado um possível modelo de como ocorre a síntese dependente de FLAP e a liberação subsequente de LTC_4 . A enzima 5-LO após realizar a translocação até a membrana nuclear, liga-se ao AA e a reação de

conversão do AA em LTA_4 é então mediada pela FLAP sendo este subsequentemente convertido a LTC_4 em processo catalizado pela enzima LTC_4 sintetase. Posteriormente o LTC_4 é exportado da célula por um carreador de membrana (Gurr et al., 2002; Smith & Murphy, 2002).

As demais lipoxigenases geram diferentes produtos, por exemplo: a 12-lipoxigenase (12-LO), gera produtos como o ácido 12-hidroperoxieicosatetraenóico (12-HpETE), responsável pela inibição da agregação plaquetária induzida pelo colágeno e também o ácido 12-hidroxeicosatetraenóico (12-HETE) que pode ocasionar a migração de células da musculatura lisa. A 15-lipoxigenase (15-LO) tem como produto o ácido 15-hidroxeicosatetraenóico (15-HETE) que por sua vez possui poucos relatos a respeito de suas atividades biológicas, apesar de ser conhecido o potencial de ação importante como inibidor das 5-LO e 12-LO de vários tecidos. O papel fisiológico da 8-lipoxigenase (8-LO) ainda permanece obscuro uma vez que esta enzima foi descoberta apenas recentemente (Gurr et al., 2002).

O intermediário LTA_4 quando não é convertido LTB_4 pela enzima LTA_4 hidrolase, sofre conjugação com a glutathiona (Figura 3), processo mediado pela enzima glutathiona S-transferase, para produção dos LTC_4 , que por sua vez sofre degradação sequencial do componente glutathiona por peptidases para formação de leucotrienos D_4 e E_4 (LTD_4 e LTE_4). Todos três produtos sendo denominados de cistenil leucotrienos ou peptidoleucotrienos (Smyth & Fitzgerald, 2010).

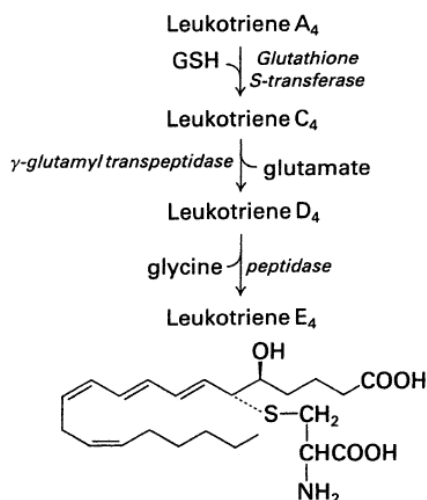


Figura 3. Formação de peptidoleucotrienos. Adaptado de Gurr et al. (2002).

Os LTD_4 e LTE_4 são potentes broncoconstritores e componentes primários da substância de reação lenta da anafilaxia (SRS-A), que é secretada na asma e na anafilaxia. Atualmente são apontadas quatro hipóteses para desenvolvimento de fármacos anti-leucotriênicos: inibidores da

enzima 5-LO, antagonistas dos receptores de leucotrienos, inibidores da FLAP e inibidores das PLA₂ (Smyth & Fitzgerald, 2010). Um exemplo de inibidor da enzima 5-LO é o Zileuton, este fármaco tem apresentado resultados promissores em estudos com humanos. Uma dose diária via oral de 800 mg diminui o broncoespasmo induzido por ar frio e seco (Israel et al., 1990), múltiplas doses deste fármaco ocasionam uma redução substancial na excreção de LTE₄ em casos de asma induzida por aspirina e desta forma diminuem a sintomatologia da doença (Israel et al., 1993). A dose recomendada atualmente para uso do Zileuton é de 600 mg quatro vezes ao dia. Como o Zileuton inibe diretamente a 5-LO, este efeito bloqueia a produção tanto dos peptidoleucotrienos como também do LTB₄. O LTB₄ tem ação importante de quimioatração de neutrófilos, células envolvidas na asma neutrofílica, na asma severa, bem como nas exacerbações da asma (Telles Filho, 2012). Outro exemplo são os antagonistas dos receptores do LTD₄, os antagonistas seletivos de receptores de leucotrienos bloqueiam um subtipo de receptor denominado arbitrariamente de receptor cistenil leucotrieno 1 (cys-LT1), um receptor acoplado de proteínas G, sendo este responsável por mediar muitas das ações dos peptidoleucotrienos (Henderson, 1994).

A ação dos leucotrienos a nível molecular primeiramente envolve a ligação dos mesmos aos seus respectivos sítios de ligação específicos de alta afinidade. Os receptores dos LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄ já são conhecidos, porém os mecanismos de ação de forma mais detalhada tem sido estudos de forma mais aprofundada nos neutrófilos, onde a ligação dos LTB₄, processo este que envolve uma proteína G sensível à toxina da coqueluche (Gurr et al., 2002). Uma das principais funções dos LTB₄ pode ser evidenciada pela subsequente quimotaxia, quimiocinese, aumento da aderência e liberação de enzimas lisossômicas (Goetzl & Pickett, 1980). Também pode ser observado estímulo provocado pelos LTB₄ na síntese de DNA em queratinócitos da epiderme humana cultivada (Kragballe et al., 1985). A estimulação de receptores de LTB₄ nos neutrófilos é um dos primeiros passos na cascata cíclica de recrutamento, quimotaxia e degranulação de neutrófilos, subsequente síntese de leucócitos B e continuação/perpetuação das respostas inflamatórias (Charleson et al., 1986).

Ciclo de Lands

Um dos vários mecanismos necessários para manutenção dos níveis celulares baixos de AA e lisofosfolípídeos, moléculas bioativas que estão envolvidas no processo de síntese dos leucotrienos, é o processo de reacilação dos fosfolípídeos conhecido como ciclo de Lands (Lands & Crawford, 1976). Nesta via os ácidos graxos são eventualmente conjugados com a coenzima A (CoA) através da ação de Acil-CoA ligases de ácido graxos, que esterifica os Acil-CoA ésteres de gordura a lisofosfolípídeos em uma reação catalisada pela LAT (lisofosfolípídeos aciltransferase) (Figura 4) (Murphy & Gijón, 2007). O processo inicia com a

liberação do AA da membrana celular, sendo uma parte destinada para síntese de eicosanóides enquanto outra é convertida em ésteres de Araquidonil-CoA, processo este mediado pela Acil-CoA ligase de ácidos graxos. O éster CoA então junto com espécies de lipídeos, lisoglicerofosfolinas, reage através da ação da enzima LAT para que ocorra a reesterificação do AA. A movimentação do AA até fosfolipídeos de fosfatidiletanolamina é possivelmente carregada por uma enzima transacilase independente de CoA (Chilton et al., 1995). A essencialidade deste processo que atua na regulação da disponibilidade de AA livre e subsequente produção de eicosanóides ocorrente após esta estimulação celular já foi comprovada por alguns grupos de pesquisa (Kaeffer et al., 1988; Zarini et al., 2006).

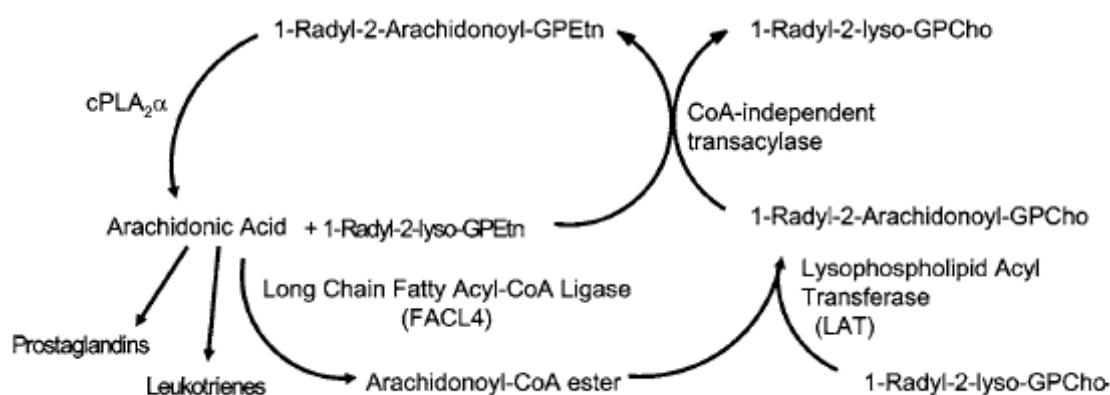


Figura 4. Remodelação do ácido araquidônico (Ciclo de Lands) iniciado pela PLA₂, responsável pela liberação do lisofosfolípido. Adaptado de Murphy & Gijón (2007).

Ácidos graxos como precursores de eicosanóides

A gordura da dieta é o componente que mais concentra energia, fornece AGE e é determinante para transportar vitaminas lipossolúveis, além de ter grande importância para a palatabilidade e a textura de dietas para animais de companhia (NRC, 2006; Ahlstrøm et al., 2004). Os animais possuem necessidades fisiológicas de duas famílias distintas de AGE das séries ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3) (Case et al., 2011). Todos AGE para espécies animais são poli-insaturados (PUFA's) e podem ser classificados como a porção da gordura que é funcional (Bauer, 2008).

A quantidade e o tipo de eicosanóides sintetizados são determinados pela disponibilidade e tipo de AG precursores das membranas celulares, assim como pela atividade dos sistemas enzimáticos metabólicos envolvidos. Os AG n-6 e n-3 produzem diferentes famílias de eicosanóides, além de competir pelas mesmas rotas metabólicas (Case et al., 2011). Sabe-se que ambas as séries de AG, n3 e n6, não são interconvertíveis e dependem das mesmas enzimas

para dessaturar e alongar AG. Assim, a quantidade de ALA na dieta deve ser sempre fornecida em nível proporcional ao AL, a fim de manter o balanço entre as duas famílias de AG (NRC, 2006). Devido o ALA ser precursor do ácido docosaexaenóico (DHA) (22:6n-3), é necessário que este AG seja fornecido via dieta em uma quantidade adequada, para que assim os níveis necessários de DHA sejam mantidos pelos animais (Barceló-Coblijn & Murphy, 2009). O ALA é convertido a EPA e DHA através de uma série de processos em cadeia de elongações e dessaturações (Case et al., 2011).

Durante uma resposta inflamatória, a liberação e o metabolismo de AG n-6 produz prostaglandinas da série-2, leucotrienos da série-4, ácido 12-hidroxieicosatetraenoico (12-HETE) e tromboxanos A₂ (Figura 5). Esses agentes são imunossupressores e atuam como potentes mediadores inflamatórios. Em contraste, a liberação e o metabolismo de AG n-3 (especificamente, EPA) produz mediadores de menor atividade inflamatória. Estes compostos são antiagregantes, e em níveis normais não são imunossupressores e vasos dilatadores. Estes compostos incluem prostaglandinas da série-3, leucotrienos da série-5, ácido hidroxieicosapentaenóico (HEPE) e tromboxanos A₃ (Rosychuk et al., 2000; Case et al., 2011).

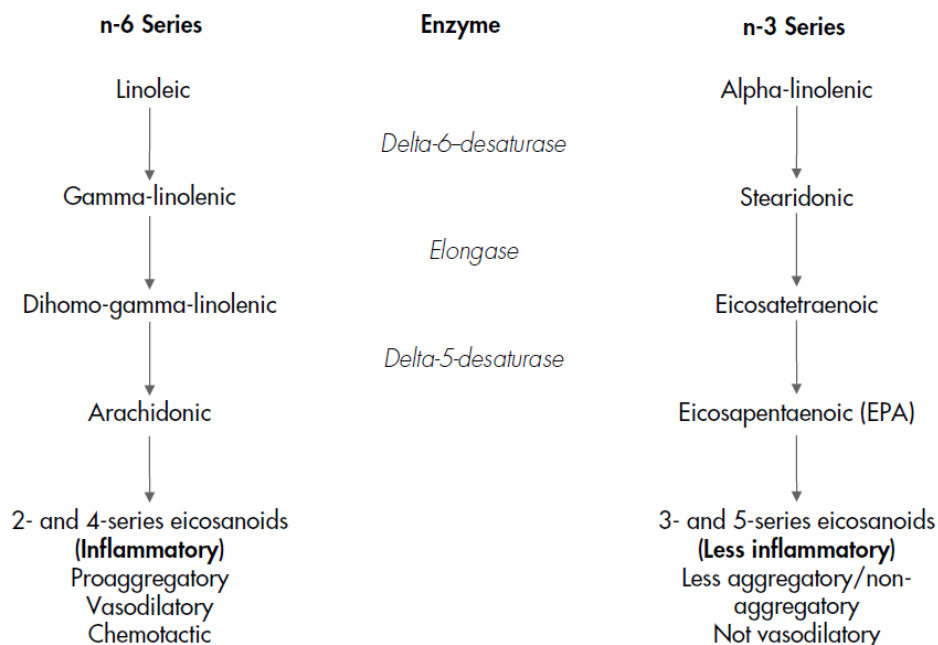


Figura 5. Metabolismo das séries de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3
Adaptado de Case et al. (2011).

Leucotrienos B₅ (LTB₅) produzidos a partir do EPA, são aproximadamente dez vezes menos potentes como neutrófilos quimioatratores que os leucotrienos B₄ (LTB₄), produzidos pelo AA (Calder, 1998). Além de serem menos biologicamente ativos que os LTB₄, existem também evidências de que os LTB₅ atuam inibindo a ação dos LTB₄, possivelmente através da

competição de receptores de membrana celular (Kragballe et al.1987). Essas informações sugerem que a relação mantida entre as quantidades de leucotrienos produzidos a partir do AA e de leucotrienos produzidos a partir do EPA possam ser mais importantes que as quantidades absolutas destes compostos (Case et al., 2011).

Pesquisas realizadas com humanos, animais de laboratório e animais de companhia tem demonstrado que os níveis de AG n-6 e n-3 presentes nas membranas celulares dos tecidos podem ser manipulados pela dieta, sendo que esta manipulação influencia diretamente nas respostas inflamatórias (Case et al., 2011). Ao aumentar os níveis de n-3 na pele e outros tecidos pode-se diminuir a produção e atividade de eicosanóides pró-inflamatórios e aumentar a síntese de metabólitos menos inflamatórios (Lands, 1996).

Fontes de ácidos graxos

A suplementação com AG já vem sendo usada por alguns anos para controlar os sinais de inflamação na pele de animais de companhia. A incorporação de proporções ótimas de AG n-6:n-3 nas dietas possui benefícios preventivos e terapêuticos para os animais que sofrem de determinadas condições inflamatórias (Reinhart & Davenport, 2000).

O AL é precursor da família dos AG n-6, sendo encontrado abundantemente em óleos vegetais. Representa mais de 70% dos AG do óleo de prímula e mais de 50% dos óleos de girassol, trigo, milho e soja. O ALA é precursor da família dos AG n-3, sendo encontrado em vegetais verdes, frutas, gramíneas e algas. O óleo de peixes de águas frias possui grandes concentrações de dois AG de cadeia longa derivados do ALA, o EPA e o DHA, sendo ambos importantes para a fluidez da membrana celular (Prélaud & Harvey, 2006) (Tabela 3).

Após a síntese de AL e ALA a maior parte das plantas não adiciona demais insaturações nestes compostos, não sendo encontrados outros AG importantes como AA, DHA e EPA em óleos vegetais (Gurr et al., 2002). Plantas marinhas, zooplânctons e fitoplânctons são capazes de adicionar insaturações especialmente nos AG da série n3 e assim alongá-los até EPA e DHA (Cook & McMaster, 2002).

A utilização de óleo de borragem em dietas para animais com várias manifestações alérgicas propicia resultados interessantes na melhora dos sinais clínicos (Quoc & Pascaud, 1996). O óleo de borragem é caracterizado por possuir grandes quantidades de AG n-6, como o GLA. Sua eficácia é melhorada quando o mesmo é fornecido de forma consorciada com óleo de peixes de águas frias, ricos em EPA+DHA (Sture & Lloyd, 1995). As melhoras obtidas nos quadros clínicos de cães com dermatites são devidas as reduções nos sinais inflamatórios propiciados por dietas ricas em DHA+GLA (Gueck et al., 2004).

Tabela 3. Fontes naturais dos ácidos graxos α -linolênico (ALA), linoléico (AL) e eicosapentaenóico (EPA), docosaexaenóico (DHA) gama-linolênico (GLA), composição expressa em percentual (%).

Nome comum	ALA	AL	EPA	DHA	GLA
Óleo de peixes de água fria	1,0	1,5	12,0-15,0	18,0	
Semente de linhaça	22,8				
Óleo de linhaça	53,3				
Semente de chia	17,6				
Óleo de soja	6,8	54,0			
Nozes	9,1				
Óleo de canola	9,1				
Óleo de milho		70,0			
Óleo de borragem		35,0-40,0			20,0-25,0
Óleo de prímula		70,0-80,0			8,0-12,0
Óleo de girassol		69,0			
Óleo de safflower		78,0			

Adaptado de Prélard & Harvey (2006), Barceló-Coblijn & Murphy (2009) e Case et al.(2011)

Suplementos ricos em AG n-3 são frequentemente recomendados para o tratamento de doenças inflamatórias de pele em cães e gatos. Os PUFA's, EPA e DHA encontrados em óleos de peixes de águas frias e o ALA encontrado na linhaça tem sido utilizados. Outro AG da série n-6, porém menos comum tem sido estudado pelos seus efeitos anti-inflamatórios. O GLA é rapidamente convertido em ácido dihomo-gama-linolênico no fígado, onde na sequencia é metabolizado a prostaglandinas e tromboxanos monoenoicos ou a AA (Figuras 6 e 7) (Case et al., 2011).

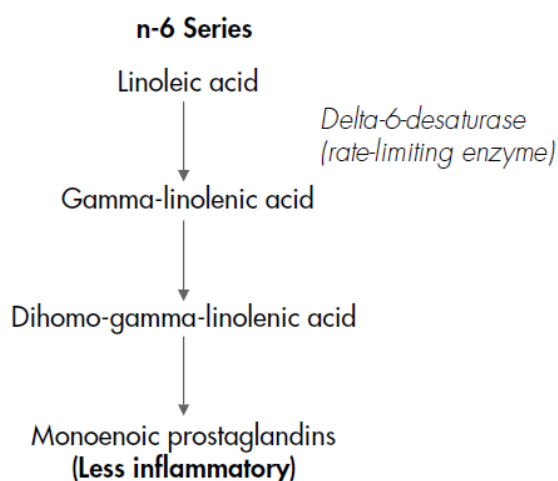


Figura 6. Produção de metabólitos do ácido gama-linolênico (GLA).

Diet

Linoleate

$-2H$

γ -Linolenate

$+2C$

8,11,14-Eicosatrienoate (dihomo γ -linolenate)

GROUP 1

Prostanoids

PGE_1

PGF_1

TXA_1

Leukotrienes

LTA_3

LTC_3

LTD_3

$-2H$

5,8,11,14-Eicosatetraenoate

Arachidonate

Membrane phospholipid

PHOSPHOLIPASE A_2

Diet

Angiotensin II

Bradykinin

Epinephrine

Thrombin

GROUP 2

Prostanoids

PGD_2

PGE_2

PGF_2

PGI_2

TXA_2

Leukotrienes

LTA_4

LTB_4

LTC_4

LTD_4

LTE_4

Lipoxins

LXA_4

LXB_4

LXC_4

LXD_4

LXE_4

GROUP 3

Prostanoids

PGD_3

PGE_3

PGF_3

PGI_3

TXA_3

Leukotrienes

LTA_5

LTB_5

LTC_5

5,8,11,14,17-Eicosapentaenoate

Octadecatetraenoate

$+2C$

Eicosatetraenoate

$-2H$

Diet

α -Linolenate

$-2H$

Diet

Cães com dermatite atópica ao receberem dietas ricas em GLA e AG da série n-3 tiveram os sinais clínicos controlados, porém ao serem substituídas as fontes destes AG por um suplemento contendo apenas óleo de oliva (pobre em AG de ambas as séries n-6 e n-3) os sinais clínicos retornaram (Bond & Lloyd, 1992). Um fator que pode contribuir para a ocorrência deste fato é a baixa atividade da enzima delta-6-desaturase, que é limitante de velocidade da conversão de AL

para GLA (Campbell, 1990). Ao fornecer GLA para cães que apresentam quadro de dermatite atópica espera-se que ao pular uma etapa no metabolismo de AG se forneça um substrato para a produção de prostaglandinas monoenoicas (Case et al., 2011).

Em estudo inicial, Vaughn et al. (1994) utilizaram 30 cães Beagle saudáveis para testar dietas com diferentes relações de n-6:n-3 - 5:1, 10:1, 25:1, 50:1, 100:1, sendo realizadas avaliações nas respostas de metabólitos inflamatórios da pele dos animais em um período de 12 semanas. As dietas com a relação 5:1 e 10:1 propiciaram uma produção significativamente menor de LTB₄ e maior de LTB₅ na pele dos cães que as dietas com relação n-6:n-3 de 25:1 ou mais (Figura 7).

As pesquisa de Wander et al. (1997) corroboram os resultados de Vaughn et al. (1994), pois demonstram que tipos e quantidades específicas de AG n-3 podem modular as respostas inflamatórias. Ao trabalharem com Beagle idosos e saudáveis alimentados com óleo de peixe mantendo uma relação n-6:n-3 de 1,4:1 estes apresentaram alterações no conteúdo plasmático de AG, aumento de EPA+DHA e diminuição de AA, assim como redução na produção de prostaglandinas E₂ (PGE₂) pelas células mononucleares sanguíneas periféricas.

Miller et al. (1991) utilizaram uma dieta controle e testaram a suplementação de ésteres etílicos de duas fontes diferentes de PUFA's, óleo de peixe (fonte de EPA + DHA) ou óleo de borragem (fonte de GLA) para avaliar o efeito modulador dos PUFA's na epiderme de porcos da índia. Estes autores demonstraram que a distribuição de PUFA's nos fosfolídeos da epiderme é alterada conforme a fonte suplementada, assim como os níveis. Animais suplementados com óleo de peixe incorporam mais EPA e DHA, enquanto que animais suplementados com GLA incorporam o ácido dihomo-gama-linolênico nos fosfolídeos epidérmicos. Os resultados apontam que as fontes de PUFA's possuem um efeito potencial na melhora das desordens inflamatórias da pele dos animais, pois a produção de potenciais inibidores de leucotrienos foi aumentada com a suplementação de ambas as fontes quando comparada com a dieta controle.

LeBlanc et al. (2008) utilizou 15 cães saudáveis para avaliar o efeito de três dietas com diferentes fontes de AG, óleo de girassol (fonte de AL), óleo de peixe (fonte de EPA+DHA) e óleo de peixe + vitamina E, nas respostas dos mediadores inflamatórios séricos, interleucina (IL)-1 e IL-6 e PGE₂, do animais. As dietas com óleo de peixe forneciam aos animais 1,75 g EPA/kg de dieta e 2,20 g de DHA/kg de dieta, resultando em uma relação n-6:n-3 de 3,4:1. Após 12 semanas recebendo as dietas os cães alimentados com óleo de peixe apresentaram resposta inflamatória ao lipopolissacarídeo (LPS) mais branda que os cães alimentados com óleo de girassol. Demonstrando o potencial do uso de dietas enriquecidas com EPA+DHA como coadjuvantes no tratamento de doenças inflamatórias.

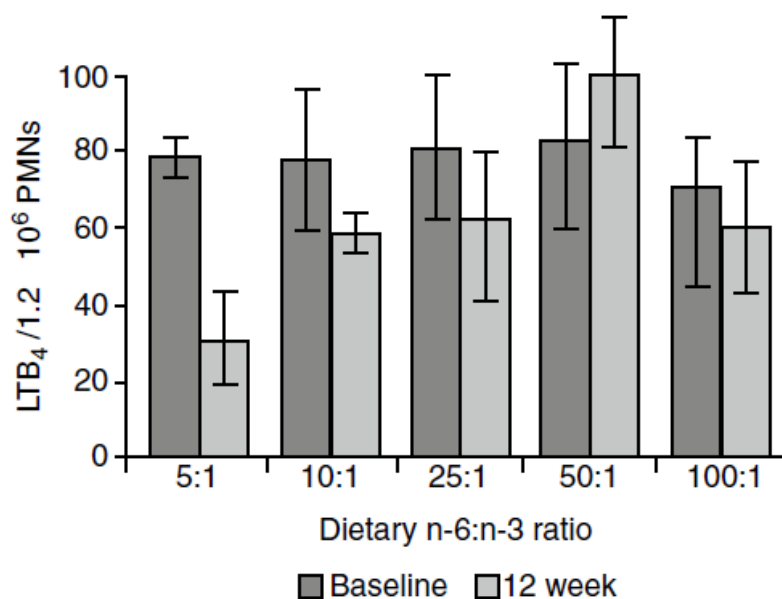


Figura 7. Efeito da relação dietética de ômega-6 e ômega-3 na síntese de leucotrienos B₄ (LTB₄). PMNs: leucócitos polimorfonucleares. Adaptado de Vaughn et al. (1994).

Em humanos existem evidências bem documentadas de menor incidência de desordens cardiovasculares em populações que consomem grandes quantidades de óleo de peixe (Dyerberg et al., 1975; Kromhout et al., 1985). Kromann & Green (1980) descreveram incidências muito baixas de desordens autoimunes e inflamatórias, como psoríases, asma e diabetes tipo I, assim como também completa ausência de esclerose múltipla, quando compararam populações de esquimós da Groelândia com grupos de mesmo sexo e idade habitantes da Dinamarca, e assim, concluíram que os níveis PUFA's n-3 contidos no óleo de peixe da dieta dos esquimós podem desempenhar um papel protetor contra estes tipos de doenças.

Referências bibliográficas

- AHLSTRØM, O.; KROGDAHL, A.; VHILE, S.; SKREDE, A. Fatty acid composition in commercial dog foods. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2145-2147, 2004.
- BARCELÓ-COBLIJN, G.; MURPHY, E. J. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acids levels. **Progress in Lipid Research**, v. 48, p. 355-374, 2009.
- BAUER, J. E. Essencial fatty acid metabolism in dogs and cats. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 20-27, 2008. Suplemento especial
- BOND, R.; LLOYD, D. H. A double-blind comparison of olive oil and a combination of evening primrose oil and fish oil in the management of canine atopy. **Veterinary Record**, v. 131, p.558-660, 1992.
- CALDER, P. C. Dietary fatty acids and the immune system. **Nutrition Reviews**, v. 56, p. S70-S83, 1998.

- CAMPBELL, K. L. Fatty acid supplementation and skin disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practic**, v. 20, p. 1475-1486, 1990.
- CASE, L. P.; DARISTOTLE, L.; HAYEK, M. G.; RAASCH, M. F. **Canine and feline nutrition: a resource for companion animal professionals**. 3rd ed. Maryland Heights: Mosby Elsevier, 2011. p. 562.
- CHARLESON, S.; EVANS, J. F.; ZAMBONI, R. J.; LEBLANC, Y.; FITZSIMMONS, B. J.; LEVEILLE, C.; DUPUIS, P.; FORD-HUTCHINSON, A. W. Leukotriene B3, leukotriene B4 and leukotriene B5; binding to leukotriene B4 receptors on rat and human leukocyte membranes. **Prostaglandins**, v. 32, p. 503-516, 1986.
- CHILTON, F. H.; FONTEH, A. N.; SUNG, C.; HICKEY, D. M. B.; TORPHY, T. J.; MAYER, R. J.; MARSHALL, L. A.; HERAVI, J. D.; WINKLER, J. D. Inhibitors of CoA-independent transacyclase block the movement of arachidonate into 1-ether-linked phospholipids of human neutrophils. **Biochemistry**, v. 34, p. 5403-5410, 1995.
- COOK, H. W.; MCMASTER, C. R. Fatty acids desaturation and chain elongation ineukaryotes. In: VANCE, D. E.; VANCE, J. E. (Ed.). **Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes**. 4th ed. Amsterdam: Elsevier Science, 2002. p. 181-204.
- DYERBERG, J.; BANG, H. O.; HJOME, N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 28, p. 958-966, 1975.
- GIJÓN, M. A.; SPENCER, D. M.; SIDDIQI, A. R.; BONVENTRE, J. V.; LESLIE, C. C. Cytosolic phospholipase A₂ is required for macrophage arachidonic acid release by agonists that do and do not mobilize calcium: novel role of mitogen-activated protein kinase pathways in cytosolic phospholipase A₂ regulation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275, p. 20146-20156, 2000.
- GOETZL, E. J.; PICKETT, W. C. The human PMN leukocyte chemotactic activity of complex hydroxy-eicosastetraenoic acids (HETEs). **The Journal of Immunology**, v. 125, p. 1789-1791, 1980.
- GUECK, T.; SEIDEL, A.; BAUMANN, D.; MEISTER, A.; FUHRMANN, H. Alterations of mast cell mediator production and release by gamma-linolenic and docosahexaenoic acid. **Veterinary Dermatology**, v. 15, p. 309-314, 2004.
- GURR, M. I.; HARWOOD, J. L.; FRAYN, K. N. **Lipid biochemistry – an introduction**. 5th ed. Oxford: Blackwell, 2002. p. 320.
- HENDERSON, W. R. The role of leukotrienes in inflammation. **Annals of Internal Medicine**, v. 121, p. 684-697, 1994.
- ISRAEL, E.; DERMARKARIAN, R.; ROSENBERG, M.; SPERLING, R.; TAYLOR, G.; RUBIN, P.; DRAZEN, J. M. The effects of a 5-lipoxygenase inhibitor on asthma induced by cold, dry air. **The New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 1740-1744, 1990.
- ISRAEL, E.; FISCHER, A. R.; ROSENBERG, M. A.; LILLY, C. M.; CALLERY, J. C.; SHAPIRO, J.; COHN, J.; RUBIN, P.; DRAZEN, J. M. The pivotal role of 5-lipoxygenase products in the reaction of aspirin-sensitive asthmatics to aspirin. **American Review of Respiratory Disease**, v. 148, p. 1447-1451, 1993.
- KAEVER, V.; GOPPELT-STRUBE, M.; RESCH, K. Enhancement of eicosanoid synthesis in mouse peritoneal macrophages by organic mercury compound thimerosal. **Prostaglandins**, v. 35, p. 885-902, 1988.
- KRAGBALLE, K.; DESJARLAIS, L.; VOORHEES, J. J. Leukotrienes B₄ C₄ and D₄ stimulate DNA synthesis in cultured human epidermal keratinocytes. **British Journal of Dermatology**, v. 113, p. 43-52, 1985.
- KRAGBALLE, K.; VOORHEES, J. J.; GOETZL, E. J. Inhibition by leukotrienes B5 of leukotrienes B4-induced activation of human keratinocytes and neutrophils. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 88, p. 555-558, 1987.
- KROMANN, N.; GREENM A. Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. **Acta Medica Scandinavica**, v. 208, p. 401-406, 1980.
- KROMHOUT, D.; BOSSCHIETER, E. B.; COULANDER, C. L. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. **The New England Journal of Medicine**, v.312, p. 1205-1209, 1985.

- LANDS, W. E. M.; CRAWFORD, C. G. Enzymes of membrane phospholipid metabolism in animals. In: MARTONOSI, A. **The enzymes of biological membranes**. Plenum Press, New York, p. 3-85, 1976.
- LANDS, W. E. M. Control of eicosanoid response intensity. In: VANDERHOEK, J. **Frontiers in bioactive lipids**. Plenum Press, New York, 1996. p. 314.
- LEBLANC, C. J.; HOROHOV, D. W.; BAUER, J. E.; HOSGOOD, G.; MAULDIN, G. E. Effects of dietary supplementation with fish oil on in vivo production of inflammatory mediators in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 69, p. 486-493, 2008.
- LLOYD, D. H.; THOMSETT, L. R. Essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopy. **Veterinary Dermatology**, v. 1, p. 41-44, 1989.
- MACLOUF, J.; MURPHY, R. C.; HENSON, P. M. Transcellular sulfidopeptide leukotriene biosynthetic capacity of vascular cells. **Blood**, v. 74, p. 703-707, 1989.
- MAYES, P. A.; BOTHAM, K. M. Metabolism of unsaturated fatty acids & eicosanoids. In: MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A.; RODWELL, V. W. (Ed.). **Harper's Illustrated Biochemistry**. 26th ed. USA: McGraw-Hill Companies, 2003, p. 190-196.
- MILLER, C. C.; TANG, W.; ZIBOH, V. A.; FLETCHER, M. P. Dietary supplementation with ethyl ester concentrates of fish oil (n-3) and borage oil (n-6) polyunsaturated fatty acids induces epidermal generation of local putative anti-inflammatory metabolites. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 96, p. 98-103, 1991.
- MURPHY, R. C.; GIJÓN, M. A. Biosynthesis and metabolism of leukotrienes. **Biochemical Journal**, v. 405, p. 379-395, 2007.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington: The National Academy Press, 2006. p. 398.
- NELSON, D. L. & COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 4th ed. New York: Freeman and Company, 2005. 1216 p.
- PRÉLAUD, P.; HARVEY, R. Nutritional dermatoses and the contribution of dietetics in dermatology. In: PIBOT, P.; BOURGE, V.; ELLIOT, D. A. **Encyclopedia of canine clinical nutrition**. Royal Canin, Italy. 2006. p. 63-92.
- QHOC, K. P.; PASCAUD, M. Effects of dietary gamma-linolenic acid on the tissue phospholipids fatty acid composition and the synthesis of eicosanóides in rats. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 40, p. 99-108, 1996.
- REINHART, G. A.; DAVENPORT, G. M. Omega-3 fatty acids and inflammation management. In: **Current Research in Canine Dermatology**. Proceedings of fourth world congress of veterinary dermatology. San Francisco: The Iams Company, 2000, p. 31-34.
- ROSYCHUK, R. A. W.; SCOTT-FIESELER, K.; WHITE, S. D.; SHACKELFORD, S. Nutritional management of canine atopy in 47 dogs: a retrospective study In: **Current Research in Canine Dermatology**. Proceedings of fourth world congress of veterinary dermatology. San Francisco: The Iams Company, 2000, p. 28-30.
- SALA, A.; TESTA, T.; FOLCO, G. Leukotriene A₄ and not leukotriene B₄ is the main 5-lipoxygenase metabolite released by bovine leukocytes. **FEBS Letters**, v. 388, p. 94-98, 1996.
- SCHOENHERR, W. D.; JEWELL, D. E. Nutritional modification of inflammatory diseases. **Seminars in Veterinary Medicine & Surgery (Small Animal)**, v. 12, p. 212-222, 1997.
- SMITH, W. L.; MURPHY, R. C. The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathways. In: VANCE, D. E.; VANCE, J. E. (Ed.). **Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes**. 4th ed. Amsterdam: Elsevier Science, 2002. p. 341-371.
- SMYTH E. M.; FITZGERALD, G. A. Os eicosanóides, prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e compostos relacionados. In: KATZUNG, B. G. (Ed.) **Farmacologia básica e clínica**. 10^a ed. Porto Alegre: Mcgraw-hill Interamericana, 2010, p. 261-274.
- STURE, G. H.; LLOYD, D. H. Canine atopic disease: therapeutic use of an evening primrose oil and fish combination. **Veterinary Record**, v. 137, p. 169-170, 1995.

- TELLES FILHO, P. A. Informações médicas - Asma brônquica/modificadores de leucotrienos. http://www.asma-bronquica.com.br/medical/tratamento_asma_modificadores_de_leucotrienos.html. 2012, p. 9.
- UOZUMI, N.; KUME, K.; NAGASE, T.; NAKATANI, N.; ISHII, S.; TASHIRO, F.; KOMAGATA, Y.; MAKI, K.; IKUTA, K.; OUCHI, Y. MIYAZAKI, J.; SHIMIZU, T. Role of cytosolic phospholipase A₂ in allergic response and parturition. **Nature**, v. 390, p. 618-622, 1997.
- VAUGHN, D. M.; REINHART, G. A.; SWAIM, S. F.; LAUTEN, S. D.; GARNER, C. A.; BOUDREAUX, M. K.; SPANO, J. S.; HOFFMAN, C. E.; CONNER, B. Evaluation of dietary n-6 to n-3 fatty acid ratios on leukotriene B synthesis in dog skin and neutrophils. **Veterinary Dermatology**, v. 5, p. 163-173, 1994.
- WANDER, R. C.; HALL, J. A.; GRADIN, J. L.; DU, S.; JEWELL, D. E. The ratio of dietary (n-6) to (n-3) fatty acids influences immune system function, eicosanoid metabolism, lipid peroxidation and vitamin E status in aged dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 127, p. 1198-1205, 1997.
- WILTON, D. C.; WAITE, M. Phospholipases. In: VANCE, D. E.; VANCE, J. E. (Ed.). **Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes**. 4th ed. Amsterdam: Elsevier Science, 2002. p. 291-314.
- ZARINI, S.; GIJÓN, M. A.; FOLCO, G.; MURPHY, R. C. Effect of arachidonic acid reacylation on leukotriene biosynthesis in human neutrophils stimulated with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and formyl-methionyl-leucylphenylalanine. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 281, p. 10134-10142, 2006.