



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS



NATALIE BITENCOURT RAMOS

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE ÁCIDO GRAXO
 ω -9 OLEICO (OL) NA COMPOSIÇÃO LIPÍDICA DO SORO DE
CAMUNDONGOS COM PSORÍASE INDUZIDA POR
IMIQUIMODE (IMQ)**

Limeira
2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS



NATALIE BITENCOURT RAMOS

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE ÁCIDO GRAXO ω -9
OLEICO (OL) NA COMPOSIÇÃO LIPÍDICA DO SORO DE
CAMUNDONGOS COM PSORÍASE INDUZIDA POR IMIQUIMODE
(IMQ)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para a obtenção do título de
Bacharel em Nutrição à Faculdade de Ciências
Aplicadas da Universidade Estadual de Campinas.

Orientador(a): Mr(a). Beatriz Bürger

Coorientador (a): Prof(a). Dr(a). Hosana Gomes Rodrigues

Limeira
2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Ana Luiza Clemente de Abreu Valério - CRB 8/10669

R147e

Ramos, Natalie Bitencourt, 2000-

Efeitos da suplementação oral de ácido graxo ω -9 oleico (OL) na composição lipídica do soro de camundongos com psoríase induzida por imiquimode (IMQ) / Natalie Bitencourt Ramos. – Limeira, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Beatriz Bürger.

Coorientador: Hosana Gomes Rodrigues.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Nutrição. 2. Baço. 3. Linfonodos. 4. Pele. I. Bürger, Beatriz, 1995-. II. Rodrigues, Hosana Gomes, 1980-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. IV. Título.

2. Informações adicionais, complementares

Título em outro idioma: Effects of oral ω -9 oleic fatty acid (OL) supplementation on the serum lipid composition of mice with imiquimod (IMQ) induced psoriasis **Palavras-chave em inglês:**

Nutrition

Spleen

Lymph nodes

Skin

Titulação: Bacharel em Nutrição

Banca examinadora:

Roberta Nicolli Sagionato

Ana Beatriz Gonzalez

Data de entrega do trabalho definitivo: 26-06-2023

Autor: Natalie Bitencourt Ramos

Título: Efeitos da suplementação oral de ácido graxo ω -9 oleico (OL) na composição lipídica do soro de camundongos com psoríase induzida por Imiquimode (IMQ)

Natureza: Trabalho de Conclusão de Curso em Nutrição

Instituição: Faculdade de Ciências Aplicadas, Universidade Estadual de Campinas

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Dr(a). Beatriz Bürger - Orientador(a)) – Presidente
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Prof(a). Dr(a). Hosana Gomes Rodrigues – Coorientador(a))
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Prof(a). Mr(a). Roberta Nicolli Sagiorato – Avaliadora
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Este exemplar corresponde à versão final da monografia aprovada.

Prof(a). Dr(a). Beatriz Bürger (Orientador(a))
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Dedico este trabalho a minha família pelo apoio que sempre tiveram durante a minha formação acadêmica, a Deus e a Maria por ter me concedido saúde, força e sabedoria para realizar o trabalho com dedicação e desempenho e a todas do Labnutre pela paciência por me ensinar os processos durante o meu trabalho no laboratório.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Natanael e Joelma por todo o incentivo e apoio ao longo da minha vida acadêmica, e aos meus irmãos Jonathan e Jessica. Aos meus avós Valdemar, Josefa e Maria Aparecida por todo o carinho, sem vocês eu não estaria onde estou. Também os meus tios Lucileide e Fabio, por sempre me ajudarem quando mais precisei e a todos os familiares, cada um teve a sua importância para minha vida acadêmica.

Agradeço ao grupo de pesquisa do Laboratório Nutrição e Reparo Tecidual (Labnutre) por todo o carinho e dedicação, dúvidas e anseios. À professora Hosana por orientar e proporcionar a realização da pesquisa, a Beatriz por me acompanhar e orientar também do projeto, foi muito enriquecedor e com certeza levarei para a vida todo o aprendizado, além de ser uma amiga durante todo o período que fiquei no laboratório e fora dele também. À Jéssica e Roberta por solucionar as dúvidas e me ensinar sobre as normas e afins do laboratório. A Ana Beatriz Gonzalez por fazer parte da minha educação acadêmica também, durante o outro projeto de extensão que atualmente faço parte e que ela me auxilia muito, e sendo uma amiga também.

Às minhas amigas que estão sempre presentes torcendo pelo meu sucesso e escutando as minhas angústias, a Amanda, a Fernanda, a Marcela e a todas que de alguma forma fizeram parte. Ao meu ex-namorado Murilo, por todo o carinho e apoio nos momentos mais difíceis e por ter me acolhido na pandemia para a realização do trabalho no laboratório. A todas da República Caipiras, mesmo conhecendo vocês bem no final do curso, se tornaram a minha segunda família, vocês são muito importantes para fechar o meu ciclo do curso com chave de ouro, obrigada a todas.

Por fim, agradeço imensamente à Deus e a Maria, por ter me concedido saúde, força e sabedoria para realizar todo o trabalho com dedicação.

Agradeço ao suporte financeiro da FAPESP, CNPq e FAEPEX/UNICAMP. Este estudo foi financiado parcialmente pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código 001. Meus agradecimentos à agência de fomento Capes que me proporcionou bolsa e a Pró-reitoria da UNICAMP pelo Programa de Iniciação Científica (PIBIC), durante o início de setembro de 2021 a agosto de 2022.

RAMOS, Natalie Bitencourt. Efeitos da suplementação oral de ácido graxo ω -9 oleico (OL) na composição lipídica do soro de camundongos com psoríase induzida por Imiquimode (IMQ). 2023. nº 34. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em nutrição) – Faculdade de Ciências Aplicadas. Universidade Estadual de Campinas. Limeira, 2023.

RESUMO

O sistema imune tem diversos mecanismos de proteção contra a entrada de microrganismo patogênicos no organismo, um deles é a pele, no qual é constituído por diversos tipos de células imunes que participam da resposta imune inata e adaptativa, como queratinócitos, neutrófilos, monócitos, macrófagos, células dendríticas (DCs), linfócitos B e T. Entretanto, quando há reações imunes alteradas, podem ocorrer doenças inflamatórias crônicas, como a psoríase, que acomete em torno de 3% da população no mundo. A psoríase não tem cura, porém existem terapias que podem diminuir ou quase interromper os sintomas em determinado período. Os compostos antioxidantes e anti-inflamatórios, como ácidos graxos, têm sido utilizados como estratégia para o tratamento de outras doenças inflamatórias como diabetes, dislipidemia, obesidade, cicatrização de feridas cutâneas e dermatites. Nosso grupo investiga os efeitos da administração oral de ácido oleico (OL) em modelo de psoríase induzida por IMQ em camundongos. Os objetivos deste estudo foram: avaliar o peso, consumo de água e ração dos animais com psoríase induzida por imiquimode (IMQ) e suplementados com oleico; avaliar a composição de ácidos graxos séricos após 10 dias de suplementação com OL, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM); analisar os efeitos da suplementação de OL na área e peso do baço e linfonodos axilares no 3 e 5º dia após o início do protocolo. Para tanto, os camundongos foram divididos em 3 grupos: (C) controle que teve aplicação tópica de 60mg de vaselina e administração oral de 12,5 μ L de água; (IMQ) com aplicação de 60 mg de Ixium® (5% de IMQ) e administração oral de 12,5 μ L de água e (IMQ+12,5 μ L) no qual recebeu a aplicação de IMQ e foi realizada a administração oral com 12,5 μ L de ácido oleico (OL). A aplicação do IMQ ocorreu por 5 dias consecutivos, enquanto a suplementação de água ou OL aconteceu do dia 1 ao dia 10. No 10º dia, o sangue foi coletado e processado para análise por CG/EM, mostrando que 12,5 μ L de OL aumentou a incorporação sérica de ácido oleico e não alterou as concentrações dos outros ácidos graxos, como ácido palmítico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenóico

(DHA). Posteriormente, coletamos o baço e os linfonodos axilares no 3º e 5º dia. Desde modo, observamos que houve aumento da área do baço e dos linfonodos axilares no grupo IMQ em relação ao grupo controle e diminuição da área dos linfonodos entre os grupos IMQ e IMQ+12,5 µL. A suplementação oral de OL não alterou a ingestão de ração e água, assim como o peso dos animais em comparação ao grupo IMQ. Logo os resultados apontam que houve a incorporação do ácido oleico no soro dos camundongos e a suplementação pode atenuar o desenvolvimento da psoríase relacionado com a resposta imunológica local e sistêmica induzida por IMQ em camundongos.

Palavra-chave: Nutrição 1; Baço 2; Linfonodo 3; Pele 4; Oleico 5.

RAMOS, Natalie Bitencourt. Effects of oral ω -9 oleic fatty acid (OL) supplementation on the serum lipid composition of mice with imiquimod(IMQ) induced psoriasis. 2023. n° 34. Completion of Course Work (Undergraduate in Nutrition) – School of Applied Sciences, University of Campinas, Limeira, Brazil, 2023.

ABSTRACT

The immune system has several protective mechanisms against the entry of pathogenic microorganisms into the body, one of which is the skin, which is made up of different types of immune cells that participate in the innate and adaptive immune response, such as keratinocytes, neutrophils, monocytes, macrophages, dendritic cells (DCs), B and T lymphocytes. However, when there are altered immune reactions, chronic inflammatory diseases can occur, such as psoriasis, which affects around 3% of the world's population. There is no cure for psoriasis, but there are therapies that can lessen or almost stop symptoms over a period. Antioxidant and anti-inflammatory compounds, such as fatty acids, have been used as a strategy for the treatment of other inflammatory diseases such as diabetes, dyslipidemia, obesity, healing of skin wounds and dermatitis. Our group investigates the effects of oral administration of oleic acid (OL) in a mouse model of IMQ-induced psoriasis. The objectives of this study were: to evaluate the weight, water and feed intake of animals with psoriasis induced by imiquimod (IMQ) and supplemented with oleic acid; to evaluate the composition of serum fatty acids after 10 days of OL supplementation, by Gas Chromatography-coupled with Mass Spectrometry (GC/MS); to analyze the effects of OL supplementation on the area and weight of the spleen and axillary lymph nodes on the 3rd and 5th day after starting the protocol. For that, the mice were divided into 3 groups: (C) control that had topical application of 60mg of Vaseline and oral administration of 12.5 μ L of water; (IMQ) with application of 60 mg of Ixium[®] (5% of IMQ) and oral administration of 12.5 μ L of water and (IMQ+12.5 μ L) in which it received the application of IMQ and oral administration was performed with 12.5 μ L of oleic acid (OL). IMQ application occurred for 5 consecutive days, while water or OL supplementation occurred from day 1 to day 10. On the 10th day, blood was collected and processed for analysis by GC/MS, showing that 12.5 μ L of OL increased the serum incorporation of oleic acid and did not alter the concentrations of other fatty acids, such as palmitic acid, stearic acid, linoleic acid, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). Subsequently, we collected the spleen and axillary

lymph nodes on the 3rd and 5th day. Thus, we observed that there was an increase of spleen and lymph node in the IMQ groups compared to the control group and a decrease in the lymph node area between the IMQ and IMQ+12.5 μ L groups. Oral OL supplementation did not change feed and water intake, as well as body weight compared to the IMQ group. So, the results indicate that there was the incorporation of oleic acid in the serum of mice and the supplementation can attenuate the development of psoriasis related to the local and systemic immune response induced by IMQ in mice.

Keywords: Nutrition 1; Spleen 2; Lymph node 3; Skin 4; Oleic 5.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Desenho experimental para avaliar os efeitos dos ácidos graxos linoleico e oleico em células derivadas da medula óssea de camundongos	19
Figura 2	Desenho experimental em animais	20
Figura 3	Concentração de citocinas no sobrenadante das células derivadas da medula óssea após 24 horas de tratamento com 0, 10, 25 e 50 μ M de ácido linoleico	22
Figura 4	Concentração de citocinas no sobrenadante das células derivadas da medula óssea após 24 horas de tratamento com 0 e 10 μ M de ácido oleico	23
Figura 5	Percentual da espessura da pele em relação ao 1° dia até o 10° dia.	24
Figura 6	Parâmetros nutricionais. (A) Consumo de ração (g). (B) Consumo de água (mL). (C) Porcentagem de perda de peso em relação ao 1° dia, dos grupos IMQ e IMQ +12,5 μ L (n=5/grupo)	25
Figura 7	Composição dos ácidos graxos no soro em μ g/mL após 10 dias de suplementação (n=5/grupo)	26
Figura 8	Peso (g) e área dos baços (cm ²) após 3 e 5 dias no protocolo de suplementação com OL	28
Figura 9	Peso (g) e área do linfonodo axilar (cm ²) 3 e 5 dias no protocolo de suplementação com OL	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OL	Ácido graxo Oleico
AGs	Ácidos graxos
MUFAs	Ácidos graxos monoinsaturados
PUFAs	Ácidos graxos poli-insaturados
ILC3	Células linfoides inatas do tipo 3
NKs	Células Natural Killers
Treg	Células T reguladoras
CEMIB	Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
ROS	Espécies Reativas de oxigênio
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
FCA	Faculdade de Ciências Aplicadas
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos
g	Gramas
IMQ	Imiquimode
IL-23	Interleucina - 23
IL-17	Interleucina -17
LPS	Lipopolissacarídeo
l	Litros
MEC	Matriz extracelular
ml	Mililitros
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Fator nuclear derivado de eritróide 2)

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
$\pm$	Mais ou menos
$\text{\textcircled{R}}$	Registro de marca
μg	Micrograma
μM	Micromolar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
	Sistema imune na pele	14
	Psoríase	15
	Ácido Graxo Oleico.....	16
	Modelo de pesquisa	18
2	OBJETIVO.....	18
	Objetivo geral.....	18
	Objetivo específico	18
3	METODOLOGIA	19
	Coleta das células da medula óssea dos animais e ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA)	19
	Estudo em animais	19
	Cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa (CG/EM)	21
	Coleta do baço e linfonodos axilares	21
	Análise estatística	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
	Análise da coleta das células da medula óssea dos animais e ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA)	22
	Efeitos da suplementação com o ácido graxo oleico na psoríase induzida por IMQ em camundongos	24
	Análise dos parâmetros nutricionais	25
	Análise da composição lipídica do plasma por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)	26
	Análise da área e peso do baço e linfoides axilares	27
5	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIA	31

1. INTRODUÇÃO

Sistema imune na pele

O sistema imune tem diversos mecanismos de proteção contra a entrada de microrganismo patogênicos no organismo, um deles é a pele, sendo considerado um órgão imunologicamente ativo e uma barreira imunológica do sistema imune inato, tal órgão é constituído por diversos tipos de células imunes que participam da resposta imune inata e adaptativa (QUARESMA, 2019).

A pele é constituída pela epiderme, derme, apêndices cutâneos e tecido subcutâneo. Na derme encontramos matriz extracelular (MEC) e células estromais, como fibroblastos, células estruturais dos vasos sanguíneos e linfáticos. Além de células imunológicas mieloides (neutrófilos, macrófagos, mastócitos e células dendríticas) e linfoides (linfócitos, células linfoides inatas), estas podem ser residentes ou trafegarem através da derme, que podem atuar como vigias contra as ameaças externas, iniciando uma cascata de sinalização no local e sistêmica (PASPARAKIS *et al.*, 2014; QUARESMA, 2019).

Os queratinócitos correspondem a 95% das células da epiderme, sendo que o nível de maturação delas definem o estrato basal, o estrato espinhoso, o estrato granuloso e o estrato córneo (MEGLIO *et al.*, 2011; ABDALLAH, 2017). Entre os queratinócitos, residem as células dendríticas, sendo a sua derivação as células de *Langherans* representando de 2 a 4% das células da epiderme (ABDALLAH, 2017; PASPARAKIS *et al.*, 2014). Pela sua proximidade com o ambiente externo, os queratinócitos podem ser iniciadores de inflamação, transmitindo sinais para as células imunes da pele, que têm como papel importante na homeostase imunológica e na inflamação (PASPARAKIS *et al.*, 2014).

Todo este sistema tem a função de defender o organismo, entretanto quando há reações imunes alteradas podem ocorrer doenças inflamatórias crônicas na pele, como a psoríase, que acomete em torno de 3% da população no mundo, não é transmissível e tem caráter recorrente-remitente, isto é, mesmo com o quadro clínico normalizado, os quadros de psoríase podem voltar, sendo desconhecido o estímulo para a remissão (KEVIN *et al.*, 2020).

Psoríase

A patogênese da psoríase é complexa e ainda pouco compreendida. Fatores que podem estar relacionados com o desencadeamento da doença incluem alteração do sistema imunológico, fatores genéticos e ambientais, como estresse, traumas e drogas que geram uma resposta inflamatória, principalmente mediada por células dendríticas (DCs), células T e queratinócitos. Caracterizada pelo aumento do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina(IL)-23 e IL-17, hiperproliferação e diferenciação dos queratinócitos epidérmicos e angiogêneses, e entre outras (KANDA *et al.*, 2020; TOKUYAMA; MABUCHI, 2020; TRANCOSO *et al.*, 2022).

Quando as células dendríticas são ativadas por estímulos cutâneos, secretam TNF- α agindo de forma autócrina e induzindo a secreção de IL-23, esta, por sua vez, promove a proliferação e diferenciação de células T auxiliares do tipo 17 (Th17), que aumentam a produção de IL-17 ou IL-22, que irão aumentar a proliferação de queratinócitos e induzir a produção de TNF- α , peptídeos antimicrobianos (AMPs) como (β -defensina, S100A8, S100A9, LL-37, lipocalina 2) e de quimocinas, como CXCL1 e CXCL20, que recrutam neutrófilos, monócitos e linfócitos (MA; SHAO; WANG, 2020; KANDA *et al.*, 2020; TAKAHASHI; YAMASAKI, 2020).

Esse estímulo dos queratinócitos por IL-17 ou TNF- α induz a expressão das queratinas 6 e 16, que são relacionadas à acantose (aumento da espessura da pele) e redução do tempo de *turnover* na epiderme (renovação celular da epiderme). As células linfoides inatas do tipo 3 (ILC3), as células T ou as células Natural Killers (NKs), que compõe as células do sistema imune adaptativo também produzem IL-17, relacionado com o desenvolvimento da psoríase. O eixo IL-23/IL-17 é essencial para o desenvolvimento da doença (KANDA *et al.*, 2020; TRANCOSO *et al.*, 2022).

Os sintomas da psoríase mais relatados são dor, coceira e sangramento. O diagnóstico é baseado nas características da pele: escamosa branca/prateada, avermelhada, com hiperproliferação de queratinócitos, ampliação dos capilares dérmicos e, conseqüentemente, aumento no infiltrado de leucócitos na epiderme e derme. Acomete ambos os sexos, qualquer idade, com maior incidência entre 15 e 30 anos e do sexo masculino, sendo a mais comum a psoríase em placas, conhecida como psoríase vulgar (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015; WEIGLE, McBANE, 2013).

A psoríase não tem cura, porém existem terapias que podem diminuir ou quase interromper os sintomas e que geralmente tem efeito por determinado período, podendo ser de uso tópico ou oral. Na forma leve da doença, é utilizado o uso tópico principalmente de corticosteroides com ou sem análogos da vitamina D, que podem trazer efeitos adversos e seu uso deve ser controlado. Além disso, temos o uso de retinóides tópicos (tazaroteno) e tracolimus. Casos graves são tratados de forma sistêmica com a combinação do tratamento tópico e fototerapia com a luz ultravioleta B (UVB) ou fotoquimioterapia com o PUVA (psolareno + UVA), entretanto o potencial carcinogênico, pelo uso do UVA (luz ultravioleta A) faz seu uso limitado, além de tratamentos orais como acitretina ciclosporina e metotrexato, e imunobiológicos, como os inibidores do TNF- α , IL-12/23, IL-17 e IL-23, no qual devem ser avaliado caso a caso, que trazem efeitos adversos muito graves hepatite B e C, tuberculose e entre outros, com isso é importante o desenvolvimento de formas de tratamentos com menor efeito colateral possível (ARMSTRONG; READ, 2020; MAIA *et al.*, 2012; MARQUES *et al.*, 2012; TOKUYAMA; MABUCHI, 2020).

Ademais, estudos epidemiológicos em indivíduos com psoríase moderada a grave têm demonstrado maior propensão a desenvolver outras doenças crônicas e problemas de saúde, com artrite psoriática, síndrome metabólica, obesidade, hipertensão, dislipidemia, diabetes, alteração na microbiota intestinal, doenças cardiovasculares e doença renal crônica, depressão e ansiedade. Visto a carga emocional e psicológica que a doença trás, diante da caracterização da pele e a reação da sociedade perante a doença, prejudicando a qualidade de vida do indivíduo (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015; MYŚLIWIEC *et al.*, 2017; TOKUYAMA; MABUCHI, 2020; TRANCOSO *et al.*, 2022).

Ácido Graxo Oleico

O hábito alimentar pode influenciar no agravamento ou melhora do quadro. Alimentos ricos em ácidos graxos saturados, açúcares simples, carne vermelha e álcool podem ativar o eixo TNF- α /IL-23/IL-17 assim como suprimir células T reguladoras (Treg). Todavia, compostos antioxidantes e anti-inflamatórios, como ácidos graxos poli-insaturados (ômega 3 e 6), vitamina D, vitamina B12, ácidos graxos de cadeia curta, selênio, fibras alimentares ou probióticos, podem melhorar o quadro de psoríase através da supressão das vias inflamatórias ou pela indução das células T reguladoras (KANDA *et al.*, 2020).

Os possíveis mecanismos de ação dos ácidos graxos são as modificações na composição lipídica da membrana celular e estrutural da pele, modulação da resposta imune através da inibição da produção de eicosanoides pró-inflamatórios, espécies reativas de oxigênio (ROS) e citocinas (BALIĆ *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2018) e nos mecanismos relacionados a epigenética (BALIĆ *et al.*, 2020; GONZÁLEZ-BECERRA *et al.*, 2019). Assim os ácidos graxos são utilizados como estratégia de sucesso para o tratamento de doenças inflamatórias como diabetes, dislipidemia (MYŚLIWIEC *et al.*, 2016; GONZÁLEZ-BECERRA *et al.*, 2019), obesidade (STELZNER *et al.*, 2016), cicatrização de feridas cutâneas (RODRIGUES *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2018) e dermatites (BALIĆ *et al.*, 2020).

O ácido oleico (OL, C18:1, ômega-9, ω -9) pertence ao grupo dos ácidos graxos monoinsaturados, com a composição estrutural de hidrocarbonetos com uma dupla ligação, encontrado em óleos vegetais como no azeite de oliva, óleo de canola e em sementes de abóbora e girassol, no abacate e nas nozes. Foram relatados que o oleico, pode atuar como imunomodulador relevante, inibindo neutrófilos e modulação as funções regulatórias das células T. No qual têm mostrado efeitos farmacológicos importantes, agindo como fator neurotrófico, inibindo a proliferação do câncer, auxiliando na resposta imune, principalmente relacionado a doenças autoimunes, reduz a inflamação diminuem os riscos de obesidade, diabetes *mellitus* tipo 2 e de doenças cardiovasculares, além da dependência da modulação intestinal, onde estudos indicam que há alterações no metabolismo de ácidos graxos, no qual o ácido oleico sensibilizam as DCs, aumentando a expressão IL-14 e a infiltração das células Th17 na lesão e diferenciação delas, levando a inflamação cutânea e da espessura da epiderme. O seu papel ainda é controverso na literatura, dependendo da quantidade e do conteúdo de ácidos graxos recebido pelo modelo experimental, pode ser considerado pró ou anti-inflamatório (EL MAHI *et al.*, 2023; SALES-CAMPOS *et al.*, 2013; ZHAO, Q. *et al.*, 2023; ZHAO *et al.*, 2021).

O azeite de oliva extravirgem é um óleo natural originário das oliveiras (*Olea europaea*) consiste em 75% de ácido oleico e 1% componentes menores, como polifenóis. A mistura de OL e polifenóis tem potencial antioxidante e anti-inflamatório, podendo reduzir os riscos de doenças inflamatórias, como a psoríase (TRANCOSO *et al.*, 2022). Entretanto no artigo de Trancoso *et al.* (2022) foi relado um aumento da inflamação da pele na psoríase. Visto os resultados controversos na literatura e a

escassez de estudos que investiguem os efeitos do ácido graxo oleico (OL) puro na psoríase, nosso grupo investiga os efeitos da administração oral dele em modelo de psoríase induzida por IMQ em camundongos.

Modelo de pesquisa

O modelo murino, com aplicação tópica de imiquimode (IMQ) para desenvolvimento da dermatite psoriasiforme é o mais utilizado para estudos sobre a psoríase devido as características fenotípicas e comportamentais semelhantes à psoríase humana (ALVAREZ, JENSEN, 2016; KEVIN *et al.*, 2020). O IMQ é um ligante para o receptor *Toll-like receptor* (TLR7 e TLR8) sendo um poderoso ativador imunológico, utilizado geralmente para o tratamento tópico de verrugas genitais causadas pelo vírus papiloma humano e outras anormalidades cancerígenas cutâneas (FITS *et al.*, 2009)

3. OBJETIVO

Objetivo geral

O objetivo foi analisar a incorporação de ácidos graxos no soro dos camundongos com psoríase induzida por imiquimode (IMQ) após 10 dias da suplementação com 12,5 µL de ácido oleico e os efeitos da suplementação nos parâmetros nutricionais e no tamanho dos órgãos linfoides secundários (baço e linfonodos axilares).

Objetivo específico

Os objetivos específicos incluíram, *in vitro*, a análise dos efeitos de diferentes concentrações não tóxicas de ácidos graxos linoleico e oleico em células isoladas da medula óssea. Após isso, *in vivo*, os objetivos específicos foram: 1) avaliar o peso, consumo de água e ração dos animais com psoríase induzida por imiquimode (IMQ) e suplementados com 12,5 µL oleico; 2) avaliar a composição de ácidos graxos séricos após 10 dias de suplementação com OL, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM); 3) analisar os efeitos da suplementação de OL na área e peso do baço e linfonodos axilares no 3º e 5º dia após o início do protocolo.

4. METODOLOGIA

Estudo em animais

Sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) (Protocolo: 5562-1/2020), foram utilizados camundongos machos da linhagem C57BL/6 com 2 meses de idade provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (CEMIB) da UNICAMP. Os animais foram mantidos no biotério BioNutreGen/FCA em ciclo claro/escuro de 12 horas, em temperatura aproximada de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, alojados individualmente em gaiolas de plástico opaco.

Coleta das células da medula óssea dos animais e ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA)

Células da medula óssea do fêmur foram coletadas e plaqueadas com 10 ng/mL de GM-CSF. O meio de cultura foi trocado nos dias 4 e 6. No dia 8, as células foram tratadas com ácido linoleico ou oleico (0, 10, 25, 50 e 100 μM) e LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) (**Figura 1**). A viabilidade celular foi avaliada por calceína (**dados não mostrados**) e o sobrenadante, das concentrações não tóxicas, foi utilizado para quantificação de citocinas por ELISA.

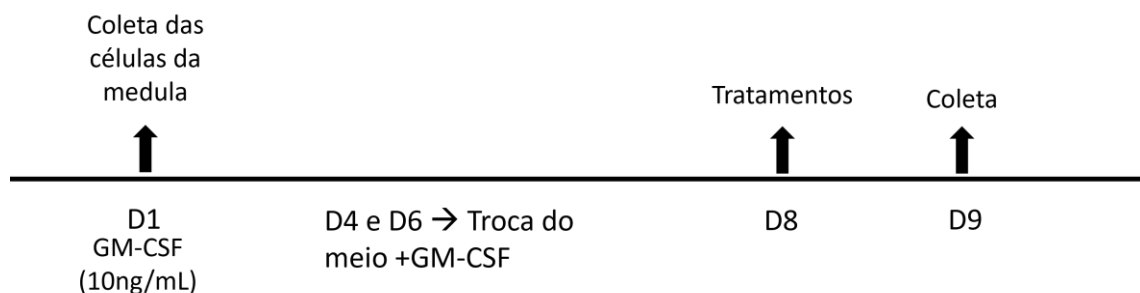


Figura 1. Desenho experimental para avaliar os efeitos dos ácidos graxos linoleico e oleico em células derivadas da medula óssea de camundongos. Células da medula óssea foram coletadas e plaqueadas com 10 ng/mL de GM-CSF. O meio de cultura foi trocado nos dias 4 e 6. No dia 8, as células foram tratadas com ácido linoleico ou oleico (0, 10, 25, 50 e 100 μM) e LPS (1 $\mu\text{g/mL}$). A viabilidade celular foi avaliada por calceína e o sobrenadante, das concentrações não tóxicas, foi utilizado para quantificação de citocinas por ELISA.

As análises de citocinas foram realizadas no sobrenadante das células através de ELISA utilizando-se o *Kits Duo Set* (R&D System®, Mineapolis, MN, USA). A quantificação das citocinas foi realizada seguindo os procedimentos padrões

estabelecidos pelo fabricante. As citocinas analisadas foram: IL-1 β , TNF- α , IL-23, IL-12, IL-22 e IL-10.

Indução da psoríase experimental com imiquimode

O dorso dos camundongos foi depilado um dia antes do início do protocolo como descrito na literatura, denominamos este dia como D0 (HAN *et al.*, 2019). No dia seguinte (D1), os animais foram anestesiados com isoflurano utilizando-se o Sistema de Anestesia Inalatória por Infusão – Baixo Fluxo – *Compact* - Bonther® (volume de 0,3L/m e taxa de infusão de 1,5%, conforme recomendado pelo fabricante) e então foi iniciada o protocolo de indução da aplicação de 60 mg de Ixium® (5% de IMQ), em uma área de 4 cm (comprimento) x 2 cm (largura), por 5 dias consecutivos. Para a análise dos aspectos fisiopatológicos da psoríase, diariamente, aferimos a espessura da pele utilizando um paquímetro digital (Digimess®), pesávamos e tirávamos fotos do dorso dos animais (**Figura 2**).

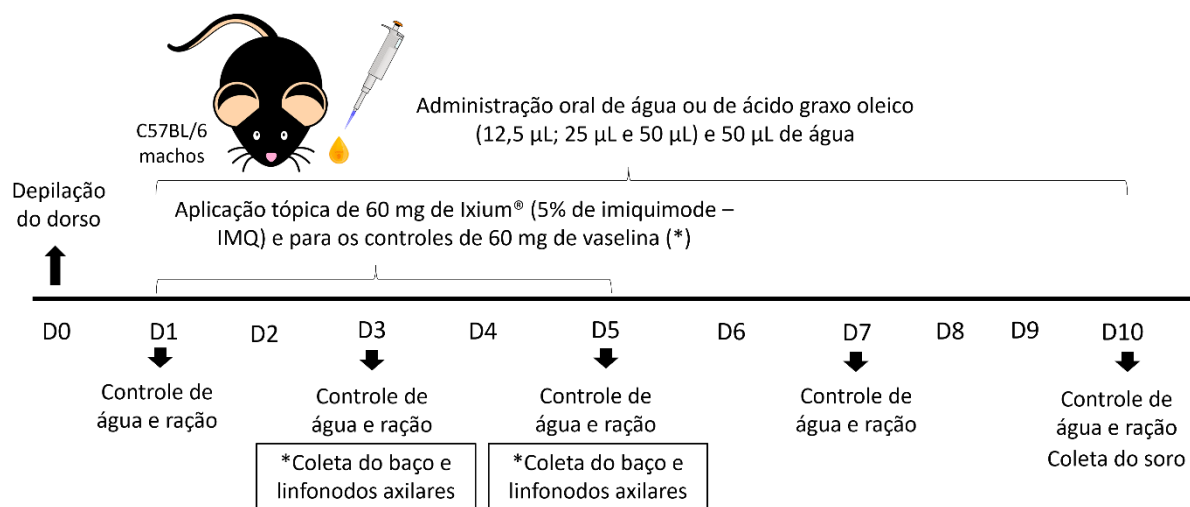


Figura 2. Desenho experimental em animais. Os camundongos foram divididos em 4 grupos: IMQ, IMQ suplementados com 12,5; 25 ou 50 µL de ácido oleico (OL) (n=4/5 animais/grupo). A coleta do soro foi realizada no 10º dia para análise da composição lipídica por CG/EM. (*) Posteriormente, em outro lote foi realizada a coleta do baço e dos linfonodos axilares, no 3º e 5º dia após a suplementação com 12,5 µL oleico, além da introdução do grupo controle com aplicação de 60mg vaselina e suplementação oral com água (placebo).

Diariamente os camundongos foram suplementados com o ácido graxo oleico (OL) (0; 12,5 µL; 25 µL e 50 µL), através de pseudogavagem. Após o experimento dose-resposta, escolhemos a menor dose com efeito (12,5 µL de OL) e então foram analisados os parâmetros nutricionais, como consumo de água e ração três vezes na

semana e a análise da incorporação de ácidos graxos no soro foi feita utilizando-se o CG/EM.

Posteriormente, os camundongos foram divididos em 3 grupos: (C) controle que teve aplicação de 60 mg de vaselina e administração oral de água como placebo; (IMQ) com aplicação de 60 mg de Ixium® (5% de IMQ) e administração oral de água e (IMQ+12,5µL) com aplicação de 60 mg de Ixium® (5% de IMQ) mais administração oral de 12,5µL de ácido oleico (OL). Então foi realizada a coleta dos órgãos linfoides secundário baço e linfonodos axilares após 3 ou 5 dias de indução da psoríase e administração de 12,5 µL de água (placebo) ou de ácido oleico (**Figura 2**).

Cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa (CG/EM)

A metodologia do CG/EM foi adaptada de Shirai *et al.* (2005). Brevemente, o sangue foi coletado via intracardíaca por punção cardíaca, através do plexo torácico, deixado em temperatura ambiente por 1 hora e então centrifugado por 15 minutos a 3000 rpm a 25°C e imediatamente congelado a -80°C até a análise. Para o processamento das amostras, foi adicionado 1 mL de hidróxido de sódio (NaOH) metanólico, 150 µL de amostra e 25 µL de padrão interno do ácido pentadecanóico (1 mg/mL isooctano) e as amostras foram vortexadas. As amostras foram aquecidas por 10 minutos e resfriadas em água fria. Foi adicionado 2 mL de reagente de esterificação trifluoreto de boro (BF₃) e vortexadas. Em seguida, elas foram aquecidas por 5 minutos e resfriadas. Foi adicionado 2 mL de isooctano, vortexou-se e foi adicionado 5 mL de solução saturada de cloreto de sódio (NaCl). As fases separaram-se e então a fase superior foi aspirado com pipeta pasteur de vidro. As amostras foram diluídas com isooctano (1:2) para a leitura no cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massa CG/EM-QP2010 Ultra (Shimadzu®, Quioto, Japão), com o Split de 1 para 10.

Coleta do baço e linfonodos axilares

A coleta do baço e linfonodos axilares ocorreu após 3 e 5 dias do início do protocolo (**Figura 2**). O baço e os linfonodos foram pesados em balança analítica digital de precisão e fotografados sobre um papel milimétrico com zoom ótico de 1,5 e 2,0x, respectivamente. A área dos órgãos foi avaliada utilizando o *software ImageJ* (National Institute of Mental Health-NIH), de maneira cega, ou seja, o avaliador não sabia quem eram os grupos.

Análise estatística

Os resultados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Para a realização das análises estatísticas, foi utilizado o programa Prisma 8.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). As diferenças foram consideradas significantes para $p < 0,05$. Comparações entre os grupos foram realizadas pelo *One-way* ANOVA e o pós-teste Bonferroni (**Figura 3; 4; 8 e 9**), teste t de *Student* e pós-teste de Mann-Whitney (**Figura 6A; 6B e 7**) e *Two-Way* ANOVA e pós-teste de Bonferroni (**Figura 5 e 6C**).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise da coleta das células da medula óssea dos animais e ensaio de imun absorção enzimática (ELISA)

A análise do sobrenadante das células originárias da medula óssea, foi realizado para a escolha de qual ácido graxo iríamos utilizar no modelo *in vivo*. O tratamento com 10, 25 e 50 μ M de LA aumentou as concentrações de citocinas inflamatórias relacionadas com o quadro de desenvolvimento da psoríase, como a interleucina 1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina-22 (IL-22), ao mesmo tempo que reduz IL-10 (**Figura 3**). Todas as concentrações utilizadas foram não tóxicas pelo método de calceína-AM (**dados não mostrados**).

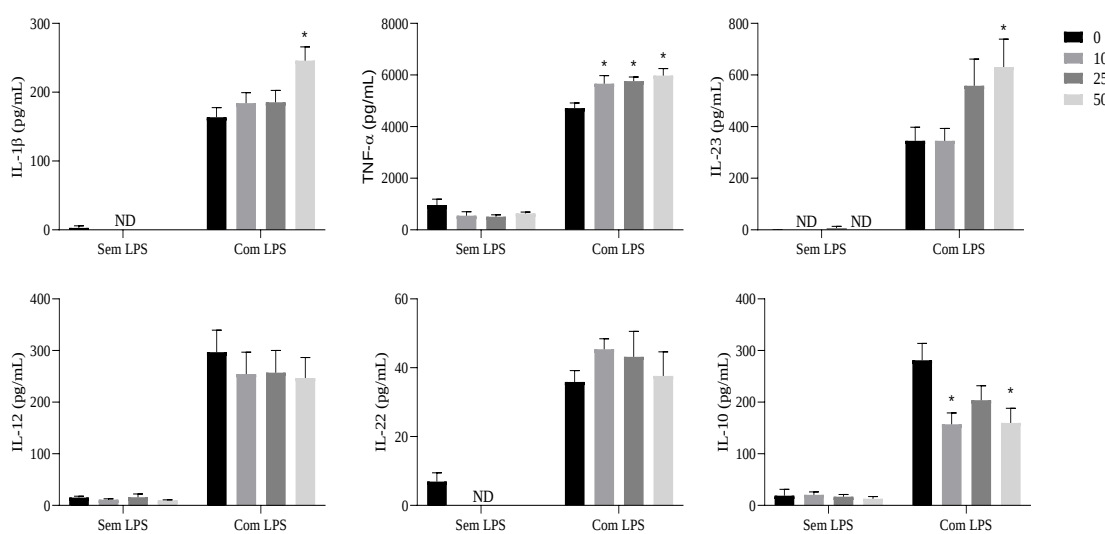


Figura 3. Concentração de citocinas no sobrenadante das células derivadas da medula óssea após 24 horas de tratamento com 0, 10, 25 e 50 μ M de ácido linoleico. Concentrações de interleucina 1- β (IL- β), fator de necrose

tumoral- α (TNF- α), interleucina-23 (IL-23), interleucina-12 (IL-12), interleucina-22 (IL-22) e interleucina-10 (IL-10), com ou sem LPS. Valores são expressos como média $\pm$ erro padrão da média, sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$. (*) Diferença em relação ao 0 μ M, por One-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni. ND: Não detectável.

Já em relação ao tratamento das células com diferentes concentrações de ácido oleico, observamos que apenas a concentração de 10 μ M não foi tóxica para as células (**dados não mostrados**). Assim, quantificamos as concentrações das citocinas, apenas no sobrenadante das células tratadas com 10 μ M de OL e observamos redução da produção de IL-12 e IL-23 pelas células da medula óssea (**Figura 4**).

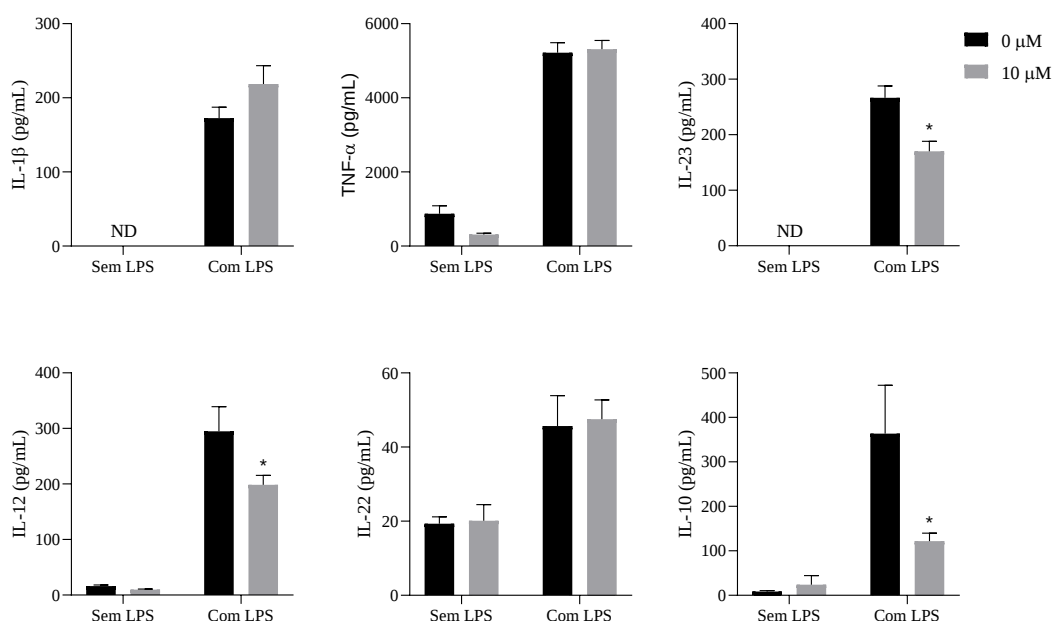


Figura 4. Concentração de citocinas no sobrenadante das células derivadas da medula óssea após 24 horas de tratamento com 0 e 10 μ M de ácido oleico. Concentrações de interleucina 1- β (IL- β), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-23 (IL-23), interleucina-12 (IL-12), interleucina-22 (IL-22) e interleucina-10 (IL-10), com ou sem LPS. Valores são expressos como média $\pm$ erro padrão da média, sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$, (*) Diferença em relação ao 0 μ M, por One-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni. ND: Não detectável.

Devido aos resultados obtidos da cultura de células da medula óssea, definimos a utilização de ácido graxo oleico para o modelo *in vivo* por ter demonstrado resultado mais promissor visto as características fisiopatológicas da psoríase. Seguindo a metodologia elucidada anteriormente (**Figura 2**).

Efeitos da suplementação com o ácido graxo oleico na psoríase induzida por IMQ em camundongos

Após a escolha do ácido graxo oleico, iniciamos o estudo dose-resposta para investigar os efeitos de diferentes doses de OL (12,5; 25 e 50 μL) na psoríase experimental. Observamos que do 3º ao 7º dia, todas as doses de oleico reduziram o percentual de espessura do dorso em comparação ao grupo IMQ (**Figura 5A**).

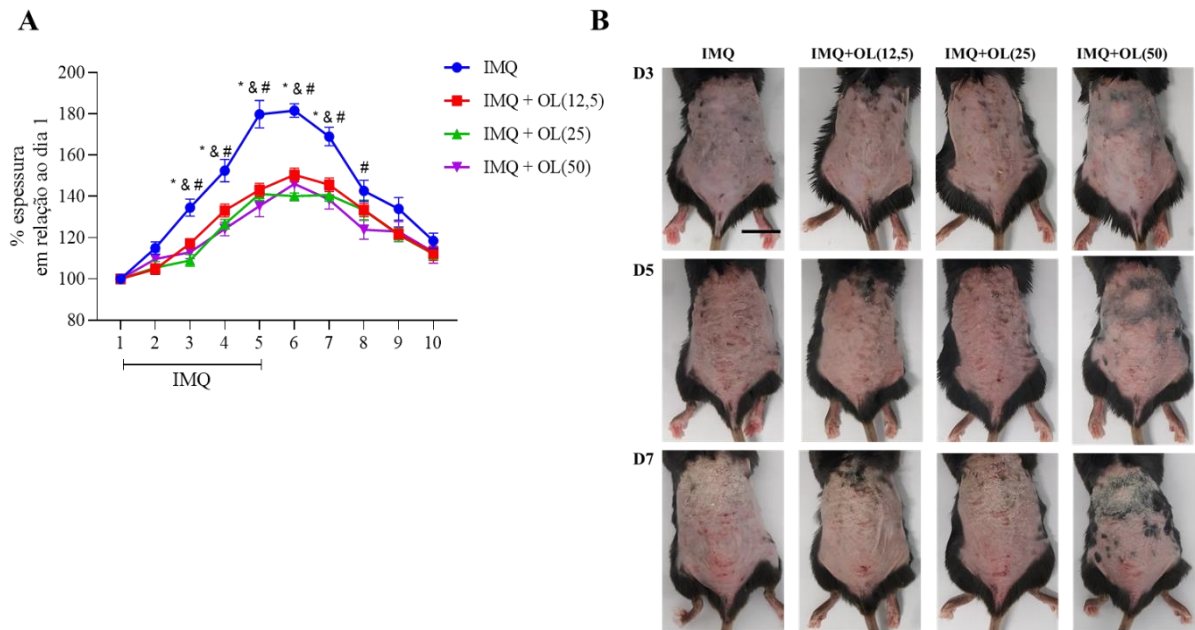


Figura 5. Percentual da espessura da pele em relação ao 1º dia até o 10º dia. Camundongos tratados com 3 mg de imiquimode (IMQ, linha azul), tratados com IMQ e suplementados com 12,5 μL de ácido oleico (IMQ+OL(12,5), linha vermelha), tratados com IMQ e suplementados com 25 μL de ácido oleico (IMQ+OL(25), linha verde), tratados com IMQ e suplementados com 50 μL de ácido oleico (IMQ+OL(50), linha roxa) do dia 1 ao dia 10 após início do protocolo. **(A)** Percentual de espessura da pele em relação ao 1º dia. (n: 5/grupo). **(B)** fotos representativas do dorso nos dias 3, 5 e 7. Valores são expressos como média $\pm$ erro padrão da média, sendo considerados significativos valores de $p < 0.05$, (*) IMQ *versus* IMQ+OL(12,5); (&) IMQ *versus* IMQ+OL(25); (#) IMQ *versus* IMQ+OL(50), por Two-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni.

Na **Figura 5B** observamos as fotos representativas do dorso dos animais. É possível observar uma menor descamação e vermelhidão no 5º e 7º dias após o início do protocolo nos camundongos que receberam 12,5 μL de ácido oleico. Deste modo, escolhemos a menor dose de 12,5 μL de oleico para continuar as análises dos experimentos.

Análise dos parâmetros nutricionais

Em relação aos parâmetros nutricionais, observamos que a suplementação com 12,5 μ L não alterou aspectos nutricionais como ração consumida (**Figura 6A**) e ingestão de água (**Figura 6B**), bem como a porcentagem de perda de peso corporal em relação ao 1º dia (**Figura 6C**).

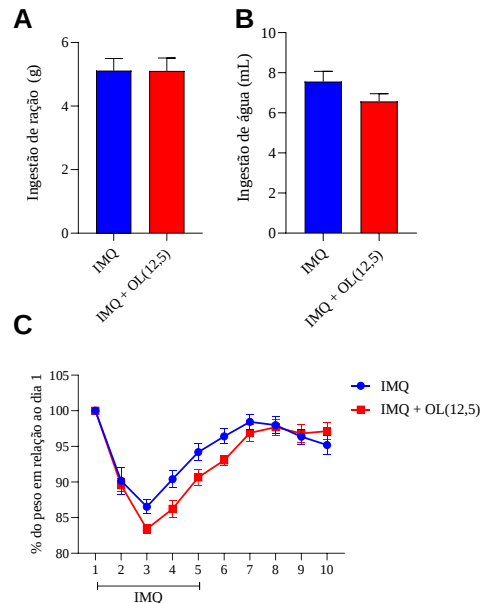


Figura 6. Parâmetros nutricionais. (A) Consumo de ração (g). (B) Consumo de água (mL). (C) Porcentagem de perda de peso em relação ao 1º dia, dos grupos IMQ e IMQ +12,5 μ L (n=5/grupo). Valores são expressos como média $\pm$ erro padrão da média (SEM), sendo considerados significativos valores de $p < 0.05$ por teste t de Student e pós-teste de Mann-Whitney (**A e B**) e diferença em relação ao dia 1, por Two-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni (**C**).

A perda de peso observada entre os dias 1 e 4 nos grupos IMQ é descrita na literatura, sendo resultado dos efeitos sistêmicos causados pelo uso da droga (ALVAREZ, JENSEN, 2016). É importante ressaltar que antes do protocolo de indução e tratamento, os camundongos tiveram um tempo de adaptação ao local, de no mínimo uma semana, para não interferir nos resultados. Outro ponto importante a observar que não houve alteração do consumo de água e ração ou peso entre os animais IMQ e IMQ suplementados com oleico, evidenciando que os efeitos do oleico na psoríase são devidas as alterações no sistema imune e não alterações nutricionais.

Análise da composição lipídica do plasma por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)

Através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) foi analisada a composição lipídica do soro. Na **figura 7** observamos que a suplementação aumentou a concentração de ácido oleico no soro, sendo que não houve alteração em outros ácidos graxos como palmítico, esteárico, linoleico, EPA e DHA (**Figura 7**). Isso confirma que a suplementação foi eficiente para a incorporação do oleico.

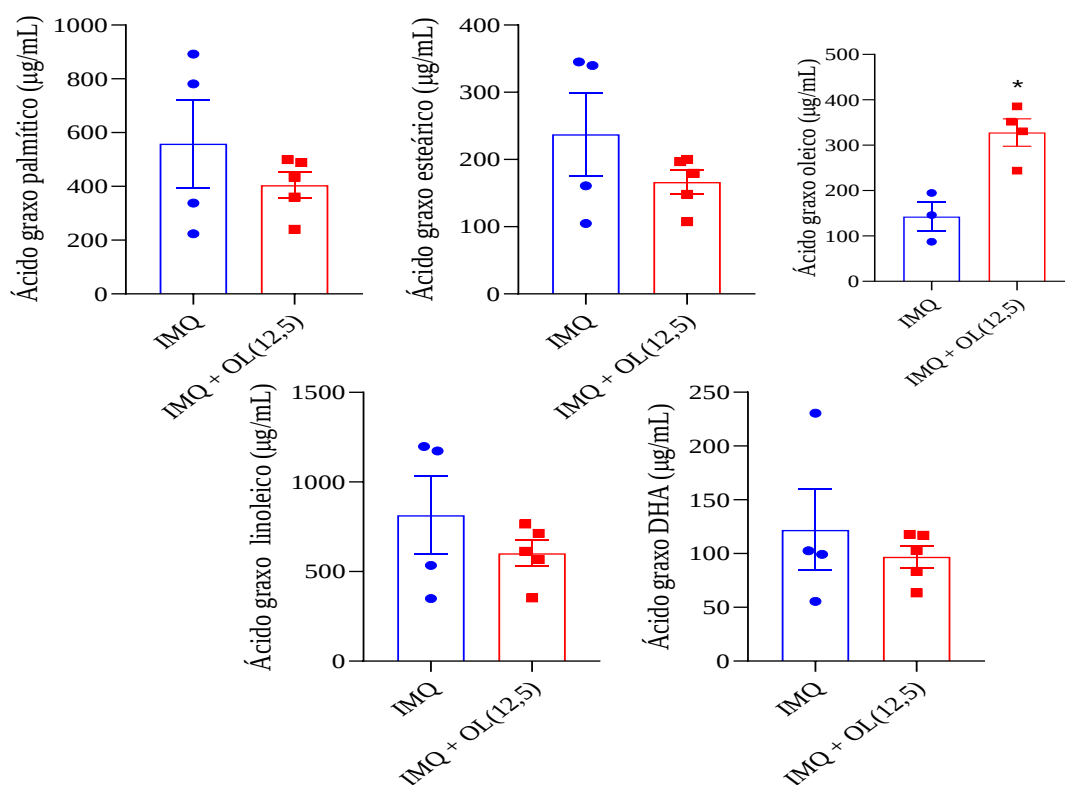


Figura 7. Composição dos ácidos graxos no soro em µg/mL após 10 dias de suplementação (n=5/grupo). O dorso dos camundongos C57BL/6 foi depilado um dia antes do início do protocolo e então foi iniciada a aplicação do IMQ ou vaselina por 5 dias consecutivos e acompanhados até o 10º dia, além disso, houve a administração oral de 12,5 µL de ácido oleico ou água (placebo) do dia 1 ao dia 10. Os animais foram eutanasiados para a coleta do soro sanguíneo no 10º. Valores são expressos com média ± erro padrão da média, sendo considerados significativos valores de $p < 0.05$, teste t de Student e pós teste de Mann Whitney.

A análise da composição de ácidos graxos (CG) no sangue é um importante método para avaliar composição e absorção lipídica. Sendo, o conjunto de técnicas empregadas para estudar os lipídios em diferentes tecidos, a cromatografia é a mais utilizada para caracterizar e quantificar. No qual, antigamente era realizada separando

as diferentes classes moléculas lipídicas por cromatografia em camada delgada (TLC) ou em colunas de fase sólida, após digestão alcalina dos lipídios. Além disso, diferentes métodos enzimáticos ou imunoquímicos foram ou ainda são utilizados para quantificar lipídios. O desenvolvimento da espectrometria de massa (EM) propiciou análise melhor sobre o número e estrutura das moléculas de lipídios em um curto tempo, sem a necessidade de digestão anterior (ÁCIDOS, 2015).

Os ácidos graxos (AGs) podem atuar como agentes pró ou anti-inflamatórios, dependendo do comprimento e da sua saturação. Dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) e dietas mediterrâneas, com altas quantidade ácidos graxos monoinsaturados (AGMIs), como o oleico, estão associados a baixas taxas de doenças relacionadas à inflamação (STELZNER *et al.*, 2016).

Diante disso, concentrações de AGs têm demonstrado relação com a gravidade das lesões psoriáticas em modelo animal (MYŚLIWIEC *et al.*, 2017). Sendo que os AGs são a principal fonte de energia para o corpo e estrutura para formação da membrana celular, além de atuar como moléculas de sinalização em vias de inflamatórias e metabólicas (MYSLIWIEC *et al.*, 2019).

No artigo de Trancoso *et al.* (2022), foi relatado que a suplementação com azeite de oliva extravirgem, que continha 75% de ácido oleico, promoveu o aumento do espessamento das lesões cutâneas psoriáticas através da superexpressão de Nrf2 e um desbalanço nos níveis de ácidos oleicos e linoleicos, o que compromete a função da barreira cutânea e agrava a inflamação da pele semelhante à psoríase. Entretanto, eles utilizaram 1,5g/kg de azeite de oliva, considerando que a média de peso dos animais relatado foi de 30g, temos uma suplementação com 0,045g, sendo 75% é de OL, temos 0,034g. No nosso estudo, utilizamos o ácido graxo oleico puro 12,5 µL, que equivale a 0,012mL, levando em conta a densidade dos óleos de aproximada de 0,9195 (PHILLIPPI, 2019, p.204), contemos em torno de 0,011g de oleico uma quantidade menor comparada com o utilizado no artigo.

Análise da área e peso do baço e linfoides axilares

Na coleta do baço e linfonodos axilares após 3 dias e 5 dias do início do protocolo, observamos que houve aumento da área dos baços no grupo IMQ em relação ao grupo controle no 3º dia e no 5º dia. Não foram observadas diferenças entre os grupos IMQ e IMQ+OL (**Figura 8**).

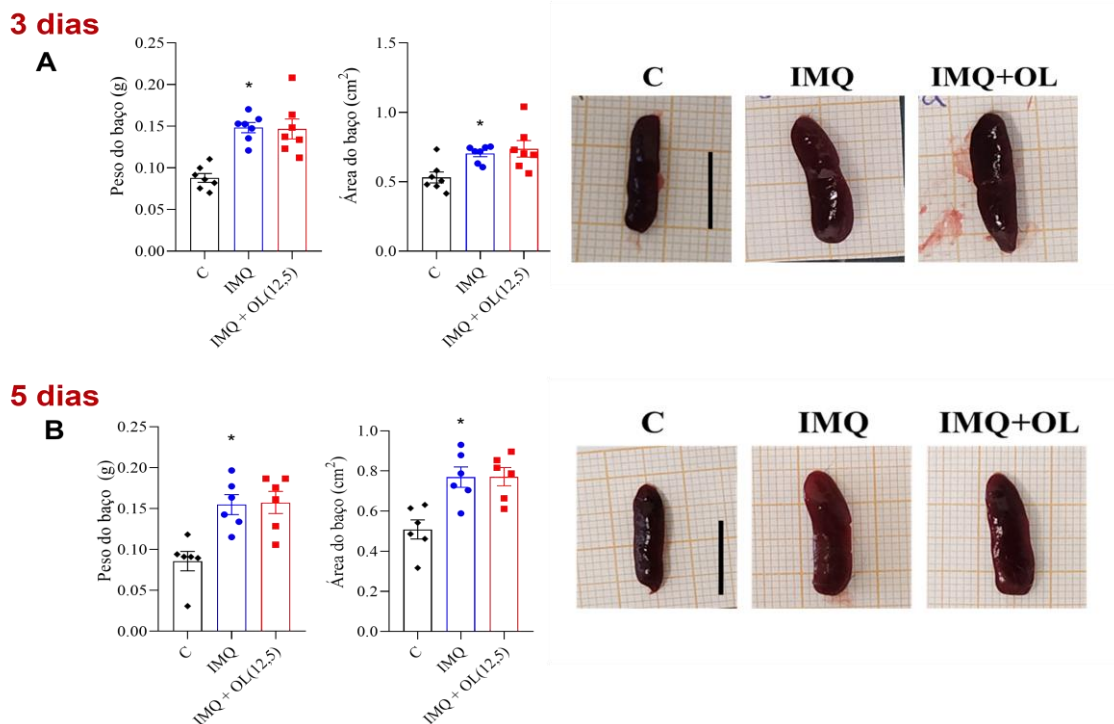


Figura 8. Peso (g) e área dos baços (cm²) após 3 e 5 dias no protocolo de suplementação com OL. (A) Peso (g) do baço, área do baço (cm²) e fotos representativas na coleta de 3 dias. **(B)** Peso (g) do baço, área do baço (cm²) e fotos representativas na coleta de 5 dias. O baço foi pesado e a área quantificada no *software ImageJ* (n=6-7/grupo), escala: 1 cm. Cada símbolo no gráfico significa um animal. Valores são expressos como média $\pm$ erro padrão da média, sendo considerados significativos valores de $p > 0.05$. (*) Diferença entre C e IMQ por teste One-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni.

Um dos efeitos sistêmicos da aplicação tópica do IMQ no camundongo é o aumento da massa do baço, há poucos estudos que investiguem a ligação entre o baço e a psoríase na inflamação sistêmica. Mas, considerado que o baço é maior órgão linfóide secundário do corpo, sendo altamente vascularizado, cujas principais funções é retirar da circulação células sanguíneas envelhecidas, danificadas ou substâncias (imunocomplexos e microrganismos opsonizados), e induzir respostas imunes adaptativas a antígenos pelo sangue. Onde por exemplo, a IL-10 produzida em muitos órgãos no organismo, um deles através das células B na zona marginal do baço, ela é considerada uma citocina anti-inflamatória, com isso colabora com os achados que este aumento vem de uma resposta sistêmica do sistema imune ao estado na psoríase, como uma tentativa de controle da inflamação induzida (ABBAS, 2019; BALATO, N. *et al.*, 2015).

Com relação a área do linfonodo axilar do 3º e 5º dia, houve aumento com a aplicação do IMQ. Entretanto, a suplementação com OL reduziu a área comparado com o grupo IMQ (**Figura 9**).

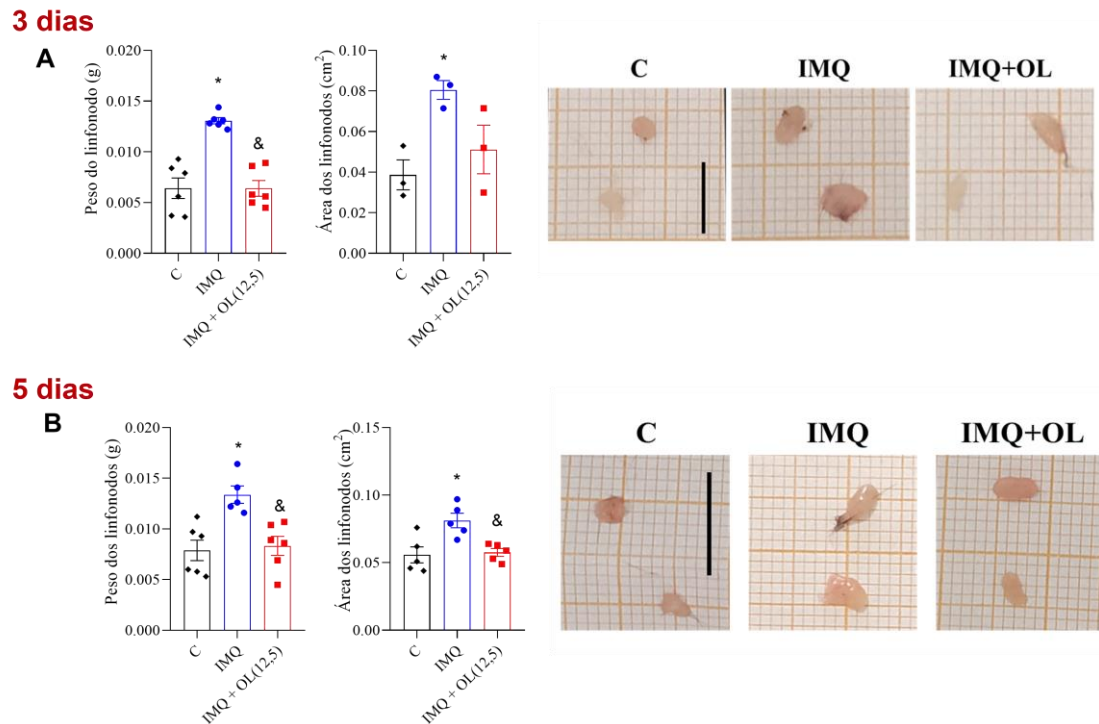


Figura 9. Peso (g) e área do linfonodo axilar (cm²) 3 e 5 dias no protocolo de suplementação com OL. (A) Peso (g) dos linfonodos, área dos linfonodos (cm²) e fotos representativas na coleta de 3 dias. **(B)** Peso (g) dos linfonodos, área dos linfonodos (cm²) e fotos representativas na coleta de 5 dias. Os linfonodos foram pesados e a área quantificada no *software ImageJ* (n=3-6/grupo), escala: 1 cm. Cada símbolo no gráfico significa um animal. Valores são expressos como média $\pm$ erro padrão da média, sendo considerados significativos valores de $p > 0.05$, (*) Diferença entre C e IMQ e (&) Diferença entre IMQ e IMQ+OL(12,5) por teste de One-Way ANOVA e pós-teste de Bonferroni.

Os linfonodos são órgãos linfoides secundários. No corpo humano existem mais de 500 espalhados, o que facilita o início de respostas imunes adaptativas a antígenos transportados dos tecidos pelo sistema linfático. O aumento do tamanho do linfonodo também é um sinal de efeito sistêmico do IMQ, sendo que essa alteração é descrita na literatura, como um dos efeitos do Interferon- α (IFN- α) ativando as células dendríticas a provocar a migração para os linfonodos, intensificando as células T auxiliares e induzem diferenciação dessas células em células efectoras de *homing* para a pele (ABBAS, 2019). A redução do tamanho dos linfonodos após a suplementação com oleico sugere que pode estar protegendo contra uma inflamação sistêmica,

reduzindo a migração de células dendríticas da pele para os linfonodos, neutrófilos, monócitos, assim como a ativação de linfócitos.

6. CONCLUSÃO

No modelo de psoríase induzida por IMQ em camundongos, a suplementação oral com ácido oleico não alterou a ingestão de ração e água, assim como o peso dos animais em comparação ao grupo IMQ. Assim, os efeitos do oleico na psoríase não são devido a alterações nutricionais e sim devido a efeitos no sistema imunológico. A suplementação oral com ácido oleico teve uma tendência de aumentar a incorporação de ácido oleico no soro e reduziu o tamanho dos linfonodos axilares.

Logo os resultados sugerem que o ácido oleico atenua o desenvolvimento da psoríase induzida por IMQ em camundongos, o que pode estar relacionado com redução da inflamação local e sistêmica. Deste modo, investigações futuras sobre o potencial sistêmico serão realizadas para elucidar as vias de ação em que a suplementação pode ter efeito.

Para perspectivas de futuros experimentos o grupo de pesquisa irá avaliada a incorporação de ácidos graxos na pele dos animais suplementados. Além disso, paralelamente a este trabalho, será observado os efeitos benéficos do ácido graxo oleico na psoríase induzida por IMQ em camundongos, relacionada com um efeito bifásico na expressão gênica da IL-12p40 (redução no 3º dia e aumento no 5º dia) e redução da migração de neutrófilos e monócitos para a pele. Em próximos experiência investigaram o papel da IL-12 no efeito do ácido oleico na psoríase, assim como as células responsáveis pela sua produção.

REFERÊNCIA

ABBAS, A. K. **Imunologia celular e molecular**. Coautoria de Andrew H. H. Lichtman, Shiv Pillai. Rio de Janeiro, RJ: GEN Guanabara Koogan, 2019. E-BOOK. (1 recurso online). ISBN 9788595150355. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/9788595150355>. Acesso em: 01 set. 2022.

ABDALLAH, F.; MIJOUIN, L.; Pichon, C. Skin. Immune Landscape: Inside and Outside the Organism. **Mediators Inflamm.** 2017, 1–17 (2017). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29180836/>. Acesso em: 02 maio 2021.

ÁCIDOS graxos na saúde e na doença: influência da genética, nutrição, exercício físico e esporte. **Organização de Sandro Massao Hirabara**. Curitiba, PR: CRV, 2015. 354 p., il. ISBN 9788544405994 (broch.).

ALVAREZ, P.; LISELOTTE E. J. Imiquimod Treatment Causes Systemic Disease in Mice Resembling Generalized Pustular Psoriasis in an IL-1 and IL-36 Dependent Manner. **Mediators of inflammation** vol. 2016 (2016): 6756138. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5183767/>. Acesso em: 18 ago. 2022.

ARMSTRONG A.W., READ C. Pathophysiology, Clinical Presentation, and Treatment of Psoriasis: A Review. **JAMA.** 2020;323(19):1945-1960. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32427307/>. Acesso em: 26 ago. 2022.

BALATO, N. *et al.*. Nonalcoholic fatty liver disease, spleen and psoriasis: New aspects of low-grade chronic inflammation. **World J Gastroenterol.** 2015;21(22):6892-6897. Disponível em: doi:10.3748/wjg.v21.i22.6892. Acesso em: 21 maio 2023.

BALIĆ A, VLAŠIĆ D, ŽUŽUL K, MARINOVIĆ B, BUKVIĆ MOKOS Z. Omega-3 Versus Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids in the Prevention and Treatment of Inflammatory Skin Diseases. **Int J Mol Sci.** 2020;21(3):741. Published 2020 Jan 23. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7037798/>. Acesso em: 28 ago. 2022.

BOEHNCKE, W. H.; SCHÖN, M. P. Psoriasis. **Lancet** (London, England). vol. 386,9997 (2015): 983-94. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26025581/>. Acesso em: 07 ago. 2022.

CALDER, P. C. Functional Roles of Fatty Acids and Their Effects on Human Health. **J. Parenter. Enter. Nutr.** vol. 39, 18S-32S (2015). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26177664/>. Acesso em: 06 maio 2021.

CUI, L. *et al.* Advancements in the maintenance of skin barrier/skin lipid composition and the involvement of metabolic enzymes. **J Cosmet Dermatol.** 2016;15(4):549-558. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27405934/>. Acesso em: 19 ago. 2022.

EL MAHI, Y. *et al.* Resolved psoriasis with abundant oleic acid in stratum corneum exhibits lower T-cell-driven IL-17 signature. **The Journal of investigative dermatology**, S0022-202X(23)02067-5. 17 May. 2023. Disponível em: doi:10.1016/j.jid.2023.04.021. Acesso em: 21 maio 2023.

FISK, H. L., WEST, A. L., CHILDS, C. E., BURDGE, G. C. & CALDER, P. C. The Use of Gas Chromatography to Analyze Compositional Changes of Fatty Acids in Rat Liver Tissue during Pregnancy. **J. Vis. Exp.** vol. 13, 1–10 (2014). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24686562/>. Acesso em: 06 maio 2021.

FITS, L. *et al.* Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. **J Immunol.** 2009;182(9):5836-5845. Disponível em: doi:10.4049/jimmunol.0802999. Acesso em: 07 agosto 2022.

GONZÁLEZ-BECERRA, K. *et al.* Fatty acids, epigenetic mechanisms and chronic diseases: a systematic review. **Lipids in health and disease** vol. 18,1 178. 15 Oct. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6792183/>. Acesso em: 28 ago. 2022.

HAN, Y. *et al.* IL-38 Ameliorates Skin Inflammation and Limits IL-17 Production from gd T Cells Article IL-38 Ameliorates. **Cells. Cell Rep.** 835–846 (2019). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30995480/>. Acesso em: 06 maio 2021.

KANDA, N. *et al.* Nutrition and Psoriasis. **International journal of molecular sciences.** vol. 21,15 5405. 29 jul. 2020. doi:10.3390/ijms21155405. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/15/5405>. Acesso em: 03 maio 2021.

KIEZEL-TSUGUNOVA, M. *et al.* Fatty acids and related lipid mediators in the regulation of cutaneous inflammation.” **Biochemical Society transactions** vol. 46,1 (2018): 119-129. Disponível em: <https://portlandpress.com/biochemsoctrans/article/46/1/119/66386/Fatty-acids-and-related-lipid-mediators-in-the>. Acesso em: 28 ago. 2022.

LESLIE V. D. F. *et al.* Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice Is Mediated via the IL-23/IL-17 Axis. **J Immunol.** May 1, 2009, 182 (9) 5836-5845. Disponível em: <https://www.jimmunol.org/content/182/9/5836/tab-article-info>. Acesso em: 19 ago. 2022.

LIU, M., LI, X., CHEN, X., XUE, F. ZHENG, J. Topical application of a linoleic acid-ceramide containing moisturizer exhibit therapeutic and preventive benefits for psoriasis vulgaris: a randomized controlled trial. **Dermatol Ther.** 2015 Nov-Dec;28(6):373-82. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26286610/>. Acesso em: 06 maio 2021.

MA JY, SHAO S, WANG G. Antimicrobial peptides: bridging innate and adaptive immunity in the pathogenesis of psoriasis. **Chin Med J (Engl).** 2020;133(24):2966-2975. Published 2020 Nov 20. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33237697/>. Acesso em: 26 ago. 2022.

MAIA, C. P. A.; TAKAHASHI, M. F.; ROMITI, R. (coord.). **Consenso Brasileiro de Psoríase 2012:** guias de avaliação e tratamento. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2012. E-BOOK. (1 recurso online (172 p.)), PDF. ISBN 9788589240048 (PDF). Disponível em: http://www.ufrgs.br/textecc/traducao/dermatologia/files/outros/Consenso_Psoríase_2012.pdf. Acesso em: 28 ago. 2022.

MANLI Y., MINGYUE Z., LIYA S. A review of fatty acids influencing skin condition. **J Cosmet Dermatol.** 2020; 19:3199–3204. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jocd.13616>. Acesso em: 19 ago. 2022.

MARQUES, P. G., FILIPE, P.. Normas de Boa Prática Para o Tratamento da Psoríase em Placas em Idade Não Pediátrica com Biológicos [Guidelines for high-quality use of biologic therapies in adults with plaque psoriasis]. **Acta médica portuguesa.** vol. 25,2 (2012): 125-41. Disponível em: <https://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/12/26>. Acesso em: 03 maio 2021.

MEGLIO, P. Di; PERERA, G. K.; NESTLE, F. O. Review the Multitasking Organ: Recent Insights into Skin Immune Function. **Immunity.** vol. 35, 857–869 (2011). Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761311005127>. Acesso em: 06 maio 2021.

MYŚLIWIEC, H. *et al.* Serum fatty acid profile in psoriasis and its comorbidity. **Archives of dermatological research**. vol. 309,5 (2017): 371-380. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5486566/>. Acesso em: 16 ago. 2022.

MYŚLIWIEC, H. *et al.* Abnormal serum fatty acid profile in psoriatic arthritis." **Archives of medical science: AMS** vol. 15,6 (2019): 1407-1414. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6855161/>. Acesso em: 16 ago. 2022.

PASPARAKIS, M.; HAASE, I.; Nestle, F. O. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. **Nat. Rev. Immunol.** vol. 14, 289–301 (2014). Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri3646>. Acesso em: 25 ago. 2022.

PHILLIPPI, S.T. **Nutrição e técnica dietética**. Barueri (SP): Editora Manole, 2019. E-book. 9788520454312. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520454312/>. Acesso em: 28 ago. 2022.

QUARESMA, J. A. S. Organization of the Skin Immune System and Compartmentalized Immune Responses in Infectious Diseases. **Clinical microbiology reviews**. vol. 32,4 e00034-18. 31 Jul. 2019. Disponível em: <https://cmr.asm.org/content/32/4/e00034-18.abstract>. Acesso em: 03 maio 2021.

RODRIGUES H.G., VINOLO M.A., MAGDALON J. *et al.* Oral administration of oleic or linoleic acid accelerates the inflammatory phase of wound healing. **J Invest Dermatol.** 2012;132(1):208-215. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X1535449X?via%3Dihub>. Acesso em: 28 ago. 2022.

SALES-CAMPOS, H. *et al.* An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. **Mini reviews in medicinal chemistry** vol. 13,2 (2013): 201-10. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/article/48393>. Acesso em: 28 ago. 2022.

SHIRAI, N.; SUZUKI, H.; WADA, S. Direct methylation from mouse plasma and from liver and brain homogenates. **Analytical Biochemistry**, vol. 343, 48–53 (2005). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003269705003337>. Acesso em: 25 maio 2023.

SILVA, J. R. *et al.* Wound Healing and Omega-6 Fatty Acids: From Inflammation to Repair. **Mediators of inflammation**. vol. 2018 2503950. 12 Apr. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5925018/>. Acesso em: 28 ago. 2022.

STELZNER K., HERBERT D., POPKOVA Y. *et al.* Free fatty acids sensitize dendritic cells to amplify TH1/TH17-immune responses. **Eur J Immunol.** 2016;46(8):2043-2053. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eji.201546263>. Acesso em: 27 ago. 2022.

TAKAHASHI T, YAMASAKI K. Psoriasis and Antimicrobial Peptides. **Int J Mol Sci.** 2020;21(18):6791. Published 2020 Sep 16. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32947991/>. Acesso em: 26 ago. 2022.

TOKUYAMA, M.; MABUCHI, T. New Treatment Addressing the Pathogenesis of Psoriasis. **Int. J. Mol. Sci.** 2020, 21, 7488. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21207488>. Acesso em: 16 maio 2023.

TRANCOSO, A. D.; ATELLA, G.C.; SOUZA, B. R.. Dietary olive oil intake aggravates psoriatic skin inflammation in mice via Nrf2 activation and polyunsaturated fatty acid

imbalance. **Int Immunopharmacol.** 2022; 108:108851. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567576922003356?via%3Dihub#>. Acesso em: 08 ago. 2022.

WEIGLE, N.; MCBANE, S. Psoriasis. **American family physician.** vol. 87,9 (2013): 626-33. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23668525/>. Acesso em: 02 maio 2021.

ZHAO, Q. *et al.* Intestinal dysbiosis exacerbates the pathogenesis of psoriasis-like phenotype through changes in fatty acid metabolism. **Sig Transduct Target Ther** 8, 40 (2023). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01219-0>. Acesso em: 21 maio 2023.

ZHAO, X. *et al.* Identification and direct determination of fatty acids profile in oleic acid by HPLC-CAD and MS-IT-TOF. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis** vol. 204 (2021): 114238. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708521003496>. Acesso em: 18 jul. 2022.