

GIOVANA COLOZZA MECATTI

EFEITOS NOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E  
CLÍNICOS DE PACIENTES COM SEPSE GRAVE E  
CHOQUE SÉPTICO SUPLEMENTADOS COM EMULSÃO  
LIPÍDICA DE ÓLEO DE PEIXE

Bragança Paulista

2014

GIOVANA COLOZZA MECATTI

EFEITOS NOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E  
CLÍNICOS DE PACIENTES COM SEPSE GRAVE E  
CHOQUE SÉPTICO SUPLEMENTADOS COM EMULSÃO  
LIPÍDICA DE ÓLEO DE PEIXE

Orientadora

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. PATRÍCIA DE OLIVEIRA CARVALHO

Dissertação apresentada ao Curso  
de Pós-Graduação Strictu Sensu  
em Ciências da Saúde da  
Universidade São Francisco para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências da Saúde.

Bragança Paulista

2014

WC 240 Mecatti, Giovana Colozza.  
M432e Efeitos nos parâmetros bioquímicos e clínicos de  
pacientes com sepse grave e choque séptico  
suplementados com emulsão lipídica de óleo de peixe /  
Giovana Colozza Mecatti. -- Bragança Paulista, 2014.  
71 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação  
*Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São  
Francisco.

Orientação de: Patrícia de Oliveira Carvalho.

1. Sepse. 2. Choque séptico. 3. Ácidos graxos N-3  
4. Paciente crítico. 5. Resposta inflamatória.  
6. Imunomodulação. I. Carvalho, Patrícia de Oliveira.  
II. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelas bibliotecárias do Setor de  
Processamento Técnico da Universidade São Francisco.

Diretoria Acadêmica de Pós Graduação  
Programa de Pós-Graduação Stricto-Sensu  
Mestrado em Ciências da Saúde

Credenciado pela CAPES  
Portaria Ministerial nº 2.000  
DOU 21/12/06 –Seção I – p.35-36

#### **Ata de Arguição Final da Dissertação da Aluna**

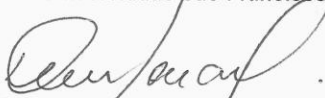
*Giovana Colozza Mecatti*

Aos quatro dias do mês de dezembro do ano de dois mil e quatorze, às quinze horas, nas dependências da Universidade São Francisco, reuniu-se a Comissão da Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco, para avaliação da dissertação intitulada *“Efeitos nos parâmetros bioquímicos e clínicos de pacientes com sepse grave e choque séptico suplementados com emulsão lipídica de óleo de peixe”*, apresentada pela aluna, *Giovana Colozza Mecatti* graduada em medicina, pela Universidade do Vale do Sapucaí, que concluiu os créditos exigidos para a obtenção do Grau de “Mestre em Ciências da Saúde” segundo os registros constantes na Secretaria de Campus de Bragança Paulista. Os trabalhos foram instalados às quinze horas, pela Professora Dra. Patrícia de Oliveira Carvalho, orientadora e presidente da Banca Examinadora, constituída pelos seguintes Professores: Professora Karina Vieira de Barros Munhoz, Doutora em Nutrição pela Universidade Federal de São Paulo, professora Denise Gonçalves Priolli, Doutora em Gastroenterologia pela Universidade Federal de São Paulo. A Banca Examinadora tendo decidido aceitar a dissertação, passou à Arguição Pública a candidata. Encerrados os trabalhos às 17:00 horas, os examinadores, consideraram a candidata aprovada estando apta a receber o título de “Mestre em Ciências da Saúde”. E, para constar, eu Professora Doutora Patrícia de Oliveira Carvalho lavei a presente Ata, que assino juntamente com os demais membros da Banca Examinadora.

**Bragança Paulista, 04 de dezembro de 2014.**



\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Patrícia de Oliveira Carvalho  
Universidade São Francisco



\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Denise Gonçalves Priolli  
Universidade São Francisco



\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Karina Vieira de Barros Munhoz  
Complexo Hospital São Caetano do Sul

Obs.:  
\_\_\_\_\_

À Maria Inês Godoi Bueno Colozza

## **Agradecimentos**

Agradeço a todos que participaram de forma direta ou indireta na realização deste trabalho. À Universidade São Francisco, pela bolsa concedida e ao corpo docente do programa de pós graduação que tanto acrescentou com conhecimento. De forma especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise Prioli, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Giovana Tofoli Moniz, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Gambero e Prof. Dr. Mário Ângelo Claudino. Ao Hospital Universitário São Francisco de Assis da Providência de Deus, administrado pela Associação Lar São Francisco de Assis na Providência de Deus, na figura do Frei Bento, que auxiliou tanto na disponibilização das amostras utilizadas no estudo quanto no incentivo. À equipe de nutrição do HUSF, representado pelas nutricionistas Cintia Hanashiro Chicaoka e Ângela Ferreira Pontes Del Col. Ao Laboratório de Análises Clínicas São José, do HUSF, representado pela Fernanda Volpe Palácio, pela realização de exames laboratoriais e preparo inicial da amostra. À UNIFESP representada pelas Dr<sup>a</sup>. Karina Vieira de Barros e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vera Lúcia Flor Silveira pelo auxílio imprescindível desde a concepção do projeto, disponibilização de amostras até a realização das análises. À Marcia Cristina Fernandes Messias, pela ajuda fundamental com relação às análises dos ácidos graxos e por toda a ajuda dispensada. À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Patrícia de Oliveira Carvalho, por toda a informação compartilhada, tanto técnica, como pessoal. Finalmente agradeço a minha família: Daniel, Carolina e Vincenzo, pela paciência e apoio e aos meus queridos pais (Maria Inês e João Batista).

Feliz é aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina  
Cora Coralina

## RESUMO

Sepse é uma condição grave de alta incidência associada a disfunções orgânicas e de alta mortalidade. Ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa n-3 (AGPI da família n-3), em especial os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), encontrados no óleo de peixe modulam a resposta imune e inflamatória através da produção de metabólitos lipídicos com atividade pró-resolução da inflamação. Apesar dos potenciais benefícios do óleo de peixe, poucos trabalhos avaliaram o efeito deste nutriente para pacientes sépticos e com choque séptico. Sendo assim, este ensaio clínico prospectivo, controlado e randomizado foi conduzido com o objetivo de avaliar se existem alterações sobre os parâmetros bioquímicos, clínicos e sobre o perfil de ácidos graxos de pacientes com sepse grave e choque séptico que receberam 0,2g/Kg/dia de emulsão lipídica de óleo de peixe durante 6 horas por três dias consecutivos. Oito pacientes adultos com diagnóstico de sepse grave e choque séptico internados na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Universitário São Francisco da Providência de Deus foram randomizados para dois grupos, óleo de peixe - GOP (n=3) e grupo controle sem placebo - GC (n=5), e amostras de sangue foram coletadas antes do início da infusão (T0), 24 (T1) e 72 horas (T2) após o término da infusão. Também foram coletadas amostras de sangue de seis pacientes saudáveis para avaliação do perfil de ácidos graxos. Os parâmetros bioquímicos foram avaliados por métodos colorimétricos; proteína C reativa (PCR) pelo método turbidimétrico; hemograma e leucograma por citometria de fluxo; e a composição de ácidos graxos do plasma e eritrócitos por cromatografia à gás. Os desfechos clínicos foram avaliados após a suplementação e três meses após a alta da UTI. Não foram encontradas diferenças na glicemia, colesterol total e frações, triglicérides, lactato, albumina, bilirrubinas total e frações, enzimas hepáticas (AST e ALT), leucócitos, plaquetas, taxa de oxigenação (relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ), e nos exames de coagulação entre os tempos e os grupos. Foi observada redução significativa da PCR no grupo suplementado entre o período T0 e T2 ( $p=0.02$ ). O tempo de ventilação mecânica, tempo de permanência em UTI e hospitalar, mortalidade, taxa de aquisição de nova infecção, necessidade de hemodiálise, traqueostomia ou droga vasoativa não foram diferentes entre os grupos. Após 3 meses de alta, dois pacientes do grupo suplementado (67%) e dois do grupo controle (40%) haviam voltado às suas atividades habituais e três do grupo controle (60%) ainda encontravam-se em período de recuperação com alguma limitação com relação ao período pré-sepse. Proporções plasmáticas de EPA e DHA aumentaram cerca de 3,5 e 2 vezes respectivamente, o que levou a redução da relação entre os AGPI n-6/AGPI n-3 nos dois tempos de suplementação (T1 e T2). Nos eritrócitos foi evidenciado aumento dos níveis de EPA no grupo suplementado no T1 e no T2. Comparado aos indivíduos saudáveis, os pacientes com sepse mostraram níveis aumentados de ácido oleico e reduzidos de AGPI n-6 no plasma e nos eritrócitos. Estes relatos evidenciam que a administração de emulsão lipídica de óleo de peixe nas condições testadas pode ser administrada de forma segura e parece exercer efeito positivo sobre a resposta inflamatória sistêmica e sobre o perfil de ácidos graxos do plasma e dos eritrócitos destes pacientes.

Palavras Chave: sepse grave, choque séptico, paciente crítico, resposta inflamatória, ácidos graxos n-3, imunomodulação.



## ABSTRACT

Sepsis is a serious condition associated with a high incidence of organ dysfunction and high mortality. N-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs), especially eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), found in fish oil modulate the immune and inflammatory response through production of lipid metabolites with activity pro-resolution of inflammation. Despite the potential benefits of fish oil, few studies have evaluated the effect of this pharmaconutrition for septic patients and septic shock. Therefore, this prospective, randomized controlled clinical trial was conducted to evaluate whether there are changes on the biochemical and clinical parameters, and the fatty acid profile of patients with severe sepsis and septic shock who received 0.2 g / kg / day of the lipid emulsion of fish oil for 6 hours for three consecutive days. Eight adult patients with severe sepsis and septic shock admitted to the Intensive Care Unit, of Hospital Universitário São Francisco da Providência de Deus, were randomized to two groups, fish oil (n = 3) and control without placebo (n = 5) and blood samples were collected before the start of the infusion (T0), 24 (T1) and 72 hours (T2) after the end of infusion. Blood samples from six healthy patients were also collected for evaluation of fatty acid profile. Biochemical parameters were measured by colorimetric methods; C-reactive protein (CRP) by the turbidimetric method; CBC and WBC by flow cytometry; and the composition of plasma and erythrocytes fatty acids by gas chromatography. Clinical outcomes were evaluated after supplementation and three months after discharge from the ICU. No differences in blood glucose, total cholesterol and fractions, triglycerides, lactate, albumin, total and fractions of bilirubin, liver enzymes (AST and ALT), leukocytes, platelets, rate of oxygenation (PO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub>), and coagulation tests were found between times and groups. CRP significant reduction was observed in the group supplemented between T0 and T2 period (p = 0.02). The duration of mechanical ventilation, length of ICU and hospital mortality, rate of acquisition of new infection, need for hemodialysis, tracheostomy or vasoactive drugs were not different between groups. After 3 months of discharge, two patients of the supplemented group (67%) and two of the control group (40%) had returned to their usual activities and three in the control group (60%) still were in recovery period with some limitation regarding the period before sepsis. Proportions of plasma EPA and DHA increased about 3.5 and 2 times, respectively, leading to a lower ratio between n-6 PUFA / n-3 PUFA at T1 and T2 in the supplemented group. In erythrocytes was evidenced increased levels of EPA in the supplemented group in T1 and T2. Compared to healthy individuals, patients with sepsis show increased levels of oleic acid in plasma and low n-6 PUFA in plasma and erythrocytes. These reports show that the administration of lipid emulsion of fish oil in the tested conditions can be safely administered and seems to have a positive effect on the systemic inflammatory response and the profile of erythrocytes and plasma fatty acids of these patients.

Key words: Severe sepsis, septic shock, critical patient, inflammatory response, n-3 fatty acids immunomodulation.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ACCP – *American College of Chest Physicians*

Adr - adrenalina

AG – ácidos graxos

AGMI – ácido graxo monoinsaturado

AGPI – ácido graxo poliinsaturado

AGPI n-3 – ácido graxo poliinsaturado da família n-3

AGPI n-6 – ácido graxo poliinsaturado da família n-6

ALT – alanina aminotransferase

APACHE – acute physiology and chronic health evaluation

ARA – ácido araquidônico

AST – aspartato aminotransferase

ATS – *The American Thoracic Society*

BF<sub>3</sub> metanol – solução de trifluoreto de boro metanólico

CARS – síndrome da resposta anti-inflamatória compensatória

CDC – *Centers of Disease Control and Prevention*

COX - ciclooxigenase

Creat - creatinina

DHA – ácido docosahexaenóico

DOPA – dopamina

DP – desvio padrão

DPA – ácido docosapentaenóico

EL – emulsão lipídica

EPA – ácido eicosapentaenóico

ESICM – *The European Society of Intensive Care Medicine*

EV - endovenoso

FiO<sub>2</sub> – fração inspirada de oxigênio

GC – grupo controle

GOP – grupo óleo de peixe

HCO<sub>3</sub> – bicarbonato de sódio

HUSF – Hospital Universitário São Francisco da Providência de Deus

IL – interleucina  
IMC – índice de massa corpórea  
INR – índice internacional normalizado  
LODS II – *Logistic Organ Dysfunction Score II*  
LOS - lipoxigenase  
LT – leucotrieno  
NCHS – *National Center of Healthy Statistics*  
NE – nutrição enteral  
NF-κB – fator nuclear kappa B  
NK – células natural killer  
NO – óxido nítrico  
NOS – oxido nítrico sintetase  
Noradr - noradrenalina  
PaCO<sub>2</sub> – pressão parcial de monóxido de carbono  
PAF – fator de ativação plaquetária  
PAM – pressão arterial média  
PaO<sub>2</sub> – pressão parcial de oxigênio  
PAS – pressão arterial sistólica  
PAMP – padrões moleculares associados aos patógenos  
PCR – proteína C reativa  
PG – prostaglandina  
PPAR – receptores ativados por proliferadores de peroxissomos  
PRR – receptores de reconhecimento padrão  
PVC – pressão venosa central  
SCCM – *Society of Critical Care Medicine*  
SAPS III – *Simplified Acute Physiology Score III*  
SDRA – síndrome do desconforto respiratório agudo  
SIRS – síndrome da resposta inflamatória sistêmica  
SIS – *Surgical Infection Society*  
SOFA – sequential organ failure assessment  
TCL – triglicérides de cadeia longa

TCLE – termo de consentimento livre esclarecido

TCM – triglicérides de cadeia média

TFPI – *tissue factor pathway inhibitor*

TLR – receptor *toll-like*

TNF- $\alpha$  – fator de necrose tumoral  $\alpha$

TP – tempo de protrombina

TTPA – tempo de tromboplastina parcial ativada

TX – tromboxano

UTI – unidade de terapia intensiva

Vesp – ventilação espontânea

VO – via oral

VM – ventilação mecânica

## LISTA DE ÁCIDOS GRAXOS

C8:0	Ácido caprílico
C10:0	Ácido cáprico
C12:0	Ácido láurico
C14:0	Ácido mirístico
C15:0	Ácido pentadecanóico
C16:0	Ácido palmítico
C16:1	Ácido palmitoleico
C17:0	Ácido heptadecanóico
C18:0	Ácido esteárico
C18:1 n-9	Ácido oléico
C18:2 n-6	Ácido linoléico
C18:3 n-6	Ácido gama-linolênico
C18:3 n-3	Ácido alfa-linolênico
C20:1 n-9	Ácido eicosanóico
C20:2 n-6	Ácido eicosadienóico
C20:3 n-3	Ácido eicosatrienóico
C20:3 n-6	Ácido dihomo-gama-linolênico
C20:4 n-6	Ácido araquidônico
C20:5 n-3	Ácido eicosapentaenóico
C22:1 n-9	Ácido erúcico
C22:6 n-3	Ácido docosahexaenóico
C23:0	Ácido tricosanóico
C24:0	Ácido lignocérico
C24:1 n-9	Ácido nervônico

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estudos clínicos avaliando o efeito da administração parenteral e/ou suplementação enteral de ácidos graxos de cadeia longa da família n-3 em pacientes críticos	21
Tabela 2	Dados dos indivíduos incluídos no estudo: idade, sexo, IMC, diagnóstico, foco de infecção, necessidade de ventilação mecânica, e via de administração de nutrição	29
Tabela 3	Composição de ácidos graxos da emulsão lipídica de óleo de peixe (Omegaven® da Fresenius Kabi)	32
Tabela 4	Composição nutricional da dieta enteral Nutrison® (Support)	33
Tabela 5	Dados demográficos e clínicos no momento T0 nos grupos controle e suplementado com emulsão lipídica de óleo de peixe	40
Tabela 6	Dados bioquímicos no momento T0 nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe	41
Tabela 7	Parâmetros bioquímicos nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe, nos tempos de coleta T0 (antes do início da infusão da emulsão de óleo de peixe), T1 e T2 (24 e 72 horas após o término da infusão, respectivamente)	43
Tabela 8	Composição de ácidos graxos (% relativa do total) de lípides totais do plasma nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe, nos tempos de coleta T0 (antes do início da infusão da emulsão de óleo de peixe), T1 e T2 (24 e 72 horas após o término da infusão, respectivamente)	45
Tabela 9	Composição de ácidos graxos (% relativa do total) de lípides totais nos eritrócitos nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe, nos tempos de coleta T0 (antes do início da infusão da emulsão de óleo de peixe), T1 e T2 (24 e 72 horas após o término da infusão, respectivamente)	46
Tabela 10	Composição de ácidos graxos dos lípides totais do plasma e eritrócitos de indivíduos saudáveis (n=6) e com sepse grave e choque séptico (n=6)	49

Tabela 11	Desfechos clínicos nos grupos controle e suplementado com emulsão lipídica de óleo de peixe	51
-----------	---	----

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Relação entre SIRS, sepse e infecção	3
Figura 2	Resposta inflamatória na sepse	6
Figura 3	Resposta pró-coagulante na sepse	9
Figura 4	Resposta imune na sepse nas duas fases: pró-inflamatória e anti-inflamatória	11
Figura 5	Mecanismos de ação imunomoduladora dos ácidos graxos poliinsaturados da família n-3	16
Figura 6	Metabolismo dos ácidos graxos das famílias n-6 e n-3	18
Figura 7	Síntese e ação dos mediadores lipídicos produzidos pelo ácido araquidônico, EPA e DHA	19
Figura 8	Triagem, pacientes incluídos e causas de exclusão de pacientes com diagnóstico de sepse grave ou choque séptico no período de novembro de 2012 a setembro de 2014	28
Figura 9	Desenho do estudo	30
Figura 10	Variáveis para cálculo do escore SOFA ( <i>Sequential Organ Failure Assessment</i> )	35
Figura 11	Variáveis para cálculo do escore APACHE II ( <i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation</i> )	36
Figura 12	Níveis de proteína C reativa nos três tempos de coleta (T0, T1 e T2) nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe	42
Figura 13	Relação da somatória da AGPI n-6/AGPI n-3 nos lípidos totais no plasma nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe nos tempos de coleta T0, T1 e T2	47
Figura 14	Relação da somatória da AGPI n-6/AGPI n-3 nos lípidos totais nos eritrócitos nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe nos tempos de coleta T0, T1 e T2	47
Figura 15	Relação PCR/albumina nos tempos T0 e T2 nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe	52
Figura 16	Escore SOFA ( <i>Sequential Organ Failure Assessment</i> ) nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe	52



## SUMÁRIO

1.	Introdução	1
	1.1 Conceitos e definições	3
	1.2 Fisiopatologia da sepse	4
	1.3 Tratamento da sepse	11
	1.4 Imunomodulação	13
	1.5 Lipídeos e seus efeitos na resposta inflamatória	15
2.	Objetivos	25
	2.1 Geral	25
	2.2 Específicos	25
3.	Material e métodos	26
	3.1 Amostra do estudo	26
	3.2 Grupos do estudo	27
	3.3 Desenho do estudo	30
	3.4 Caracterização da emulsão lipídica de óleo de peixe	31
	3.5 Cálculo das necessidades nutricionais	32
	3.6 Avaliação do estado nutricional e cálculo do peso estimado	34
	3.7 Gravidade da doença, diagnóstico e acompanhamento clínico, dias de ventilação mecânica e tempo de internação em UTI	34
	3.8 Coleta de sangue	36
	3.9 Exames bioquímicos	37
	3.10 Extração de lípidos totais	37
	3.11 Determinação do perfil de ácidos graxos por cromatografia a gás	38
	3.12 Análise estatística	38
4.	Resultados	39
	4.1 Dados demográficos e clínicos dos indivíduos	39
	4.2 Dados bioquímicos	41
	4.3 Composição de ácidos graxos no plasma e eritrócitos dos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe	44

4.4	Composição de ácidos graxos dos lípidos totais do plasma e eritrócitos de indivíduos saudáveis com sepse grave e choque séptico	48
4.5	Desfechos clínicos	50
5.	Discussão	53
6.	Conclusão	58
7.	Referências bibliográficas	59
8.	Anexos	67
	Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre Esclarecido	67
	Anexo 2 – Relatório da ferramenta de gestão utilizada na UTI (Epimed Monitor®) do período de março de 2013 a setembro de 2014	69
	Anexo 3 – Ficha de coleta de dados	70

## 1. INTRODUÇÃO

Sepse é a denominação de uma síndrome causada pela infecção por um microorganismo, podendo ser ele bactéria, fungo, vírus ou protozoários. Na tentativa de combater o agente invasor, o sistema imune (imunidade inata e adquirida específica) é ativado, sendo iniciada uma resposta inflamatória, através da ação de células de defesa e produção de inúmeras moléculas que terão por objetivo eliminar o microorganismo agressor. Entretanto, eventos não desejados podem acontecer decorrente da ação dessas citocinas inflamatórias produzidas, com efeito também sobre o hospedeiro, podendo levar a disfunções orgânicas de número e intensidade variáveis e com desfechos desfavoráveis, inclusive o óbito (Dellinger *et al*, 2013).

A sepse grave (sepse com presença de pelo menos uma disfunção orgânica, hipotensão ou hiperlactatemia) e o choque séptico (hipotensão secundária a infecção e refratária a ressuscitação volêmica com necessidade de droga vasoativa) apresentam grande morbimortalidade e acometem todas as faixas etárias, sendo que os extremos de idade e os pacientes com algum tipo de imunodepressão são mais propensos a adquirir a infecção. Nos Estados Unidos da América, o número de indivíduos hospitalizados por sepse, dobrou entre os períodos do ano de 2000 a 2008 (22,1 para 37,7 indivíduos por 10.000 habitantes) e os pacientes acometidos apresentaram mortalidade de 17%, maior do que a mortalidade por outras patologias que é de 2%, segundo Hall *et al*, 2011 em publicação utilizando como fonte dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC – Centers of Disease Control and Prevention) e Centro Nacional para Estatística em Saúde (NCHS – National Center for Health Statistics). No Brasil, segundo o estudo BASES, com avaliação de 1.383 pacientes admitidos em cinco UTI's em um período de cinco meses, a mortalidade por sepse grave observada foi de 47,3% e por choque séptico superior a 50% (Silva *et al*, 2004).

O tratamento da sepse grave e choque séptico baseia-se na administração precoce de antimicrobianos e terapias de suporte para as disfunções orgânicas, segundo preconizado por diretrizes internacionais da Campanha Sobrevivendo a Sepse. No contexto da resposta inflamatória, de acordo com as diretrizes não está indicada terapia específica para controle da síndrome sistêmica (*Surviving Sepsis Campaign*) (Dellinger *et al*, 2013).

Vários estudos vêm sendo realizados com o intuito de descobrir compostos capazes de modular a resposta inflamatória em pacientes criticamente enfermos. Os nutrientes que têm recebido maior atenção dos pesquisadores são a arginina, glutamina, antioxidantes como o selênio e os ácidos graxos poliinsaturados da família n-3 (AGPI n-3) oriundos do óleo de peixe. Nas diretrizes para o tratamento da sepse, não existe indicação de suplementação desses nutrientes com o objetivo de imunomodulação para os pacientes sépticos uma vez que não há evidências de que possam melhorar o desfecho clínico e diminuir a mortalidade (Surviving Sepsis Campaign, 2013).

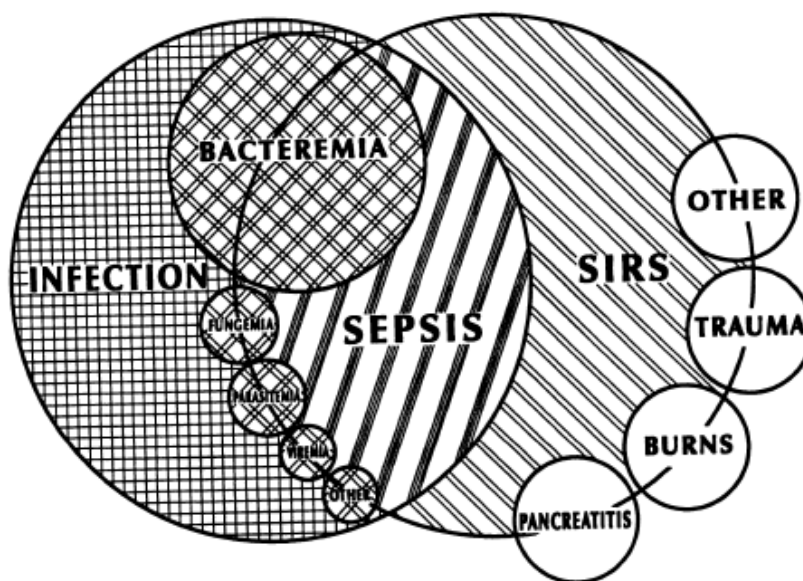
Com relação à suplementação com óleo de peixe, rico em AGPI n-3, de pacientes com sepse grave e choque séptico, os estudos são escassos e, além disto, apresentam diferentes métodos com relação às vias de suplementação, doses e tempo para o início da infusão. Alguns efeitos benéficos têm sido relatados, como diminuição da produção de interleucina-6 (IL-6) e melhora da oxigenação (relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ) (Barbosa *et al*, 2010; Barros *et al*, 2013a), redução dos níveis de procalcitonina (Khor *et al*, 2011), aumento dos teores de AGPI n-3 e redução do AGPI n-6 nos fosfolípides plasmáticos (Verleijen *et al*, 2011; Barros *et al*, 2013a), diminuição do número de disfunções orgânicas e da concentração de proteína C reativa (PCR) (Hall *et al*, 2014) e menor mortalidade e tempo de ventilação mecânica (Pontes Arruda *et al*, 2006).

Os dados, entretanto, não são conclusivos e não há evidências científicas suficientes para o uso de óleo de peixe na suplementação de pacientes sépticos. Além disto, os estudos não avaliaram outros parâmetros clínicos importantes, como a qualidade de vida e a manutenção de disfunções orgânicas no período pós sepse.

Sendo assim, o presente estudo pretende identificar os possíveis benefícios aos pacientes sépticos suplementados com emulsão lipídica de óleo de peixe, através da avaliação dos parâmetros bioquímicos e clínicos, e do perfil de ácidos graxos do plasma e eritrócitos, comparados aos pacientes randomizados para o grupo controle que não receberam a suplementação.

## 1.1 Conceitos e definições

As terminologias relacionadas a síndrome foram definidas em 1991 em uma reunião de consenso do *American College of Chest Physicians (ACCP)* e *Society of Critical Care Medicine (SCCM)* (Bone *et al.* 1992), com o objetivo de padronizar as diferentes apresentações da doença que era nomeada de várias formas, como infecção, bacteremia, sepse, septicemia, síndrome séptica e choque séptico (Figura 1). Esta padronização tinha por objetivo promover o reconhecimento da síndrome e aplicação de protocolos dirigidos com o objetivo de melhorar a assistência ao paciente séptico.



**Figura 1.** Relação entre SIRS, sepse e infecção (Fonte: Bone, 1992)

No consenso do colegiado realizado em 2001 com a *Society of Critical Care Medicine (SCCM)*, *The European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)*, *American College of Chest Physicians (ACCP)*, *The American Thoracic Society (ATS)* e *Surgical Infection Society (SIS)* foram revistas e aprovadas as definições: Infecção – fenômeno microbiológico caracterizado por uma resposta inflamatória em resposta a invasão de um tecido estéril, fluido ou cavidade por um microorganismo patogênico ou potencialmente patogênico; síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) – resposta inflamatória decorrente de uma variedade de estímulos, infecciosos ou não infecciosos, como trauma, politransusão, queimadura, sendo caracterizada por pelo

menos dois dos seguintes achados: (1) temperatura > 38°C ou < 36°C, (2) frequência cardíaca > 90 batimentos por minuto, (3) frequência respiratória > 20 incursões por minuto ou PaCO<sub>2</sub> < 32 mmHg, (4) leucócitos > 12000/mm<sup>3</sup> ou < 4000/mm<sup>3</sup>, ou > 10% de células jovens. Sepses – resposta inflamatória sistêmica decorrente de uma infecção; sepsis grave – sepsis associada a pelo menos uma disfunção orgânica, hipoperfusão definida pela presença de hiperlactatemia ou hipotensão; choque séptico – hipotensão refratária a ressuscitação volêmica com necessidade de droga vasoativa; hipotensão causada pela sepsis – pressão arterial sistólica < 90 mmHg ou a diminuição ≥ 40 mmHg da pressão arterial sistólica basal, na ausência de outras causas que justifiquem a hipotensão. Disfunção de múltiplos órgãos – alteração da função de mais de um órgão em que a homeostase não pode ser mantida sem intervenção, por exemplo, uso de droga vasoativa para hipotensão, ventilação mecânica para disfunção respiratória. Quanto maior o número de órgãos envolvidos e com disfunções, maior mortalidade é observada (Levy *et al*, 2003).

Críticas foram feitas a essa padronização por não avaliar a heterogeneidade entre esses grupos. Outras definições foram sugeridas para classificar pacientes sépticos, sendo o choque séptico caracterizado por hiperlactatemia sem hipotensão persistente, o choque vasoplégico com hipotensão persistente sem hiperlactatemia e o choque disóxico a hipotensão persistente com hiperlactatemia (Ranzani *et al*, 2013).

## **1.2 Fisiopatologia da sepsis**

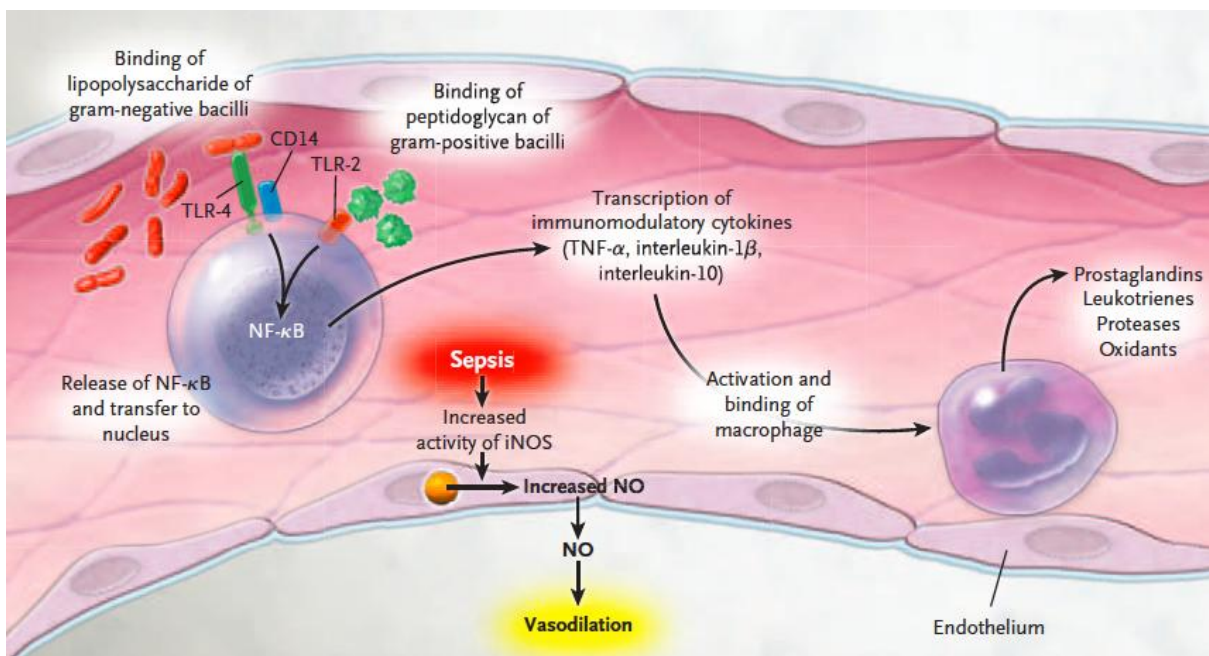
A infecção é uma resposta do organismo a um agente (microrganismo), que invade um tecido estéril, fluido ou cavidade. A partir deste momento, inicia-se uma resposta inflamatória com o objetivo de combater o agente agressor. Para que se desenvolva a infecção é necessário o contato com o microrganismo, de fatores relacionados ao hospedeiro e características do agente. Dentre os fatores relacionados ao hospedeiro estão comorbidades, idade, sexo, estado nutricional e predisposição genética, que vai definir a intensidade da resposta inflamatória em resposta a agressão. Os fatores relacionados ao microrganismo são principalmente virulência a quantidade inoculada e local da inoculação (Levy *et al*, 2003).

O ser humano é colonizado por microrganismos que se encontram principalmente em trato gastrointestinal e pele. Seres humanos e estes seres vivem em simbiose. Estes microrganismos geralmente apresentam baixa virulência e baixa capacidade de invasão aos tecidos e por estarem presentes nestes locais de maior contato com o meio externo, também servem como proteção contra a aquisição de infecção por outros microrganismos competindo por nutrientes essenciais ou produzindo substâncias inibitórias (Roitt *et al*, 2013). Portanto, a pele e mucosas do trato gastrointestinal e respiratório servem de barreira mecânica, prevenindo assim a infecção e são a primeira barreira de defesa do organismo.

A segunda linha de defesa do organismo é o sistema imunológico, que reconhece e combate esses microrganismos agressores. A partir do momento da ativação do sistema imunológico, acontece um estímulo das células de defesa, macrófagos e neutrófilos, que vão produzir diversas substâncias (citocinas) que atuarão como sinalizadores para que outras células migrem para o local (quimiotaxia). Essas substâncias também acabam causando outros efeitos, como vasodilatação, que leva ao extravasamento de líquido do intravascular para o extravascular, podendo levar a hipovolemia relativa e conseqüentemente a baixa oferta de oxigênio para os tecidos, culminando com a evolução para a disfunção orgânica, que agrava o quadro clínico do paciente e interfere diretamente no prognóstico, aumentando o risco de óbito. Quanto mais intensificada é a resposta inflamatória, maior número de órgãos são afetados e maior número de disfunções orgânicas (Knobel, 2006).

Após a invasão bacteriana, inicia-se a resposta imune inata, com o reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMP's) por receptores de reconhecimento de padrões (PRR), sendo dentre estes o mais importante o receptor *toll-like* (TRL). Os lipopolissacarídeos de bactérias gram negativas são reconhecidas pelo TRL-4 e os peptidoglicanos das bactérias gram positivas pelo TRL-2. Essa ligação ativa a via de sinalização intracelular e leva a ativação do fator nuclear (NF- $\kappa$ B) presente no citosol. Esta molécula ativada move-se para o núcleo aumentando a transcrição de moléculas, como fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1 $\beta$ , e interleucina-10. O TNF-  $\alpha$  e a IL-1 $\beta$  são citocinas pro-inflamatórias que aumentam a adesão de moléculas em neutrófilos e células endoteliais. Neutrófilos ativados

promovem a morte dos microorganismos, mas também levam a lesão do endotélio por liberação de mediadores que aumentam a permeabilidade vascular causando um extravasamento de líquido nos pulmões e outros tecidos. A IL-10 é uma citocina considerada anti-inflamatória, entretanto, se houver elevada produção desta na fase inicial da síndrome da sepse, ocorrerá efeito deletério, por transformar o choque reversível em irreversível (Latifi *et al*, 2002) e aumentar a mortalidade em período mais precoce. Chuang *et al*, 2014, observaram níveis elevados de IL-10 em pacientes que evoluíram rapidamente para óbito (período de até 48 horas após instalação da sepse grave ou choque séptico) comparados a pacientes que evoluíram para óbito em períodos de 48 horas a 28 dias do início da síndrome e em sobreviventes no vigésimo oitavo dia. Somando-se a isso, a sepse aumenta a atividade da óxido nítrico sintetase (NOS), que aumenta a formação do óxido nítrico (NO) que é um potente vasodilatador e que também colabora com a instabilidade desses pacientes (Figura 2) (Russel, 2006).



**Figura 2.** Resposta inflamatória na sepse (Fonte: Russel, 2006)

Os componentes da resposta inata são os neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastócitos, monócitos, macrófagos, células dendríticas e as células *natural killer* (NK).



As moléculas envolvidas nessa resposta são as proteínas de fase aguda e o complemento (Roitt *et al*, 2013).

Depois de secretadas, as citocinas, que são glicoproteínas, agem intermediadas por receptores de membranas. As citocinas mais importantes nessa síndrome são a interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e o TNF- $\alpha$ . Estas moléculas são responsáveis por vários sinais e sintomas observados na sepse, como mudança de temperatura, variações de resistência e permeabilidade vascular, redução na contratilidade miocárdica, aumento da atividade da medula óssea e de diversas vias metabólicas. A IL-1 é a responsável pela febre, anorexia, sonolência, neutrofilia ou neutropenia, estimulação da produção de IL-6, aumento da produção de proteínas de fase aguda, redução dos níveis de tiroxina e catecolaminas (Knobel, 2006).

A ligação do PAMP ao TRL estimula ainda a liberação de outras moléculas sinalizadoras, entre eles mediadores lipídicos, como o fator de agregação plaquetária (PAF) e o leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), fragmentos do complemento (C5a), citocinas e uma variedade de quimiocinas (incluindo IL-8), espécies reativas de oxigênio e outras, levando a uma migração de leucócitos dos vasos sanguíneos em direção ao sítio de infecção, com o objetivo de controlar o processo infeccioso. Essa resposta inflamatória é considerada patológica ou exagerada, porque a intenção inicial de controle de um foco localizado acaba gerando uma resposta inflamatória intensificada e sistêmica com múltiplas manifestações, como lesão tecidual, aumento da permeabilidade vascular, falência de múltiplos órgãos e choque (Decker, 2004).

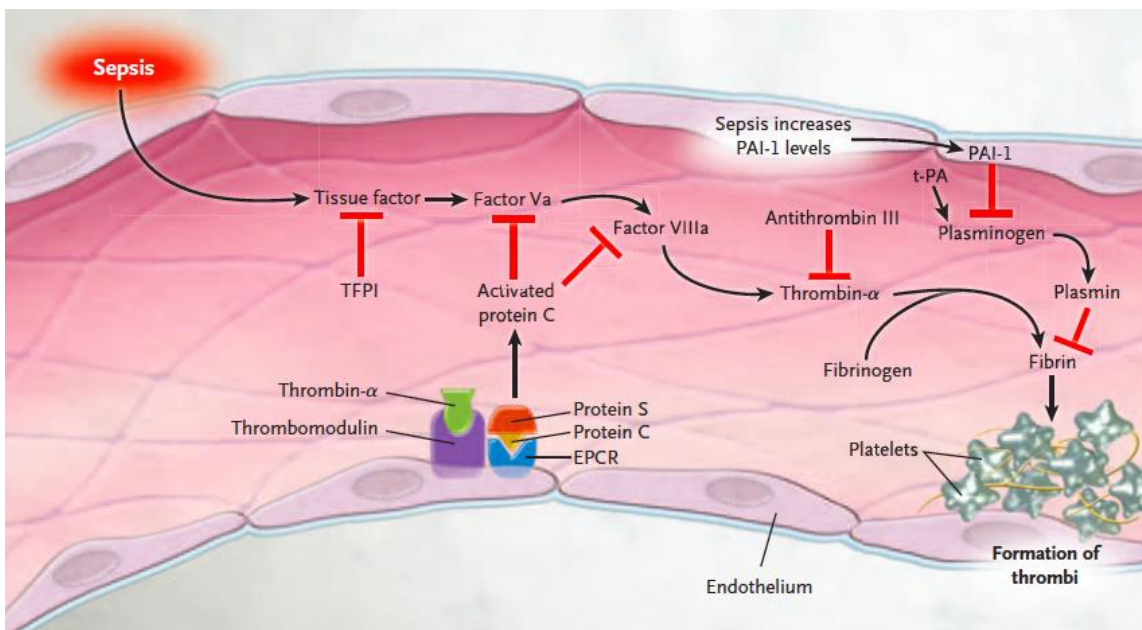
A resposta imune adaptativa é estimulada quando a resposta imune inata não conseguiu controlar o foco infeccioso, sendo que esta pode estimular e direcionar os mecanismos da resposta adaptativa (Russel, 2006). Antígenos são estruturas reconhecidas pelos anticorpos, uma molécula capaz de reconhecer especificamente o agente agressor. Os antígenos podem ser proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos dos componentes dos microorganismos, substâncias de alimentos, substâncias inaladas ou presentes no ambiente e até do nosso próprio organismo, levando a uma resposta autoimune. Os anticorpos possuem dois componentes: a região variável que se liga ao antígeno e a região constante que conecta ao complemento, fagócito e célula NK. A ativação do complemento resulta na opsonização

dos microorganismos, facilitando seu reconhecimento pelos fagócitos, estimulando a atração quimiotóxica destes e aumentando a permeabilidade vascular para facilitar a sua transferência da circulação sanguínea aos tecidos. Os anticorpos são produzidos pelos linfócitos B (imunidade humoral). Os linfócitos B ativados pelo contato com o antígeno induzem a proliferação de um clone de plasmócitos, levando a expansão clonal. A imunidade celular é a resposta dos linfócitos T. Os clones de células T auxiliares são divididos em três subgrupos principais, Th1, Th2 e Th17, sendo cada um deles capaz de produzir citocinas diferentes. As células Th1 respondem contra a infecções bacterianas e virais intracelulares, produzindo uma grande quantidade de TNF, IL-1 e IL-2. As células Th2 atuam contra patógenos extracelulares e produzem IL-4, IL-5 e IL-13. As células Th17 promovem resposta inflamatória aguda e recruta neutrófilo, produzindo IL-17<sup>A</sup>, IL-21 e IL-22, atuando contra infecções bacterianas e fúngicas extracelulares (Roitt *et al*, 2013). A IL-10 suprime a produção de citocinas inflamatórias em células T helper tipo 1 (Th1) e macrófagos, suprime a hipersensibilidade tardia, diminui a capacidade dos macrófagos em apresentar antígenos, diminui a produção de complexo principal de histocompatibilidade da classe II nos macrófagos e diminui a produção de óxidos de nitrogênio, inibe a proliferação de linfócitos B e estimula a diferenciação do linfócito B (Knobel, 2006 e Roitt *et al*, 2013).

Com a evolução da doença, acontece o aumento da expressão do fator endotelial, com ativação da cascata de coagulação e predisposição a formação de trombos em microvasculatura. Este fato acontece por aumento da atividade do fator Va e VIIIa, formando trombina- $\alpha$ , que converte fibrinogênio em fibrina. Neste momento acontece a adesão de plaquetas e o trombo é formado em vasos distais, colaborando com a diminuição da oferta de oxigênio aos tecidos, culminando com as disfunções. Em situações normais, existe um balanço entre estado pró-coagulante e anticoagulante, sendo os responsáveis por este controle a proteína C, proteína S, antitrombina III e o inibidor da via de ativação tecidual (TFPI, sigla de *tissue factor-pathway inhibitor* – inibidor da via do fator tecidual). Trombomodulina é uma proteína da membrana endotelial que ativa a proteína C. Esta forma um complexo com a proteína S e inativa os fatores Va e VIIIa. A sepse diminui os níveis de proteína C, proteína S, antitrombina III e do inibidor da via do fator tecidual. Além disso, há aumento da produção do inibidor

do ativador do plasminogênio. O lipopolissacarídeo e a TNF- $\alpha$  diminuem a síntese de trombomodulina e do receptor endotelial da proteína C, diminuindo a ativação desta. A figura 3 representa a resposta pro-coagulante da sepse (Russel, 2006).

A inflamação levará, portanto, ao aumento do suprimento de sangue para a área inflamada, aumento da permeabilidade capilar com extravasamento de moléculas para o tecido, incluindo os mediadores inflamatórios, migração de leucócitos dos capilares para o tecido lesado, produção e localização de mediadores inflamatórios produzidos pelos leucócitos no local da inflamação, sendo eles produtos de metabolismo lipídico (prostaglandinas, leucotrienos), citocinas, espécies reativas de oxigênio e enzimas. Estas substâncias podem atingir a corrente sanguínea e provocar alterações sistêmicas (Calder, 2010).



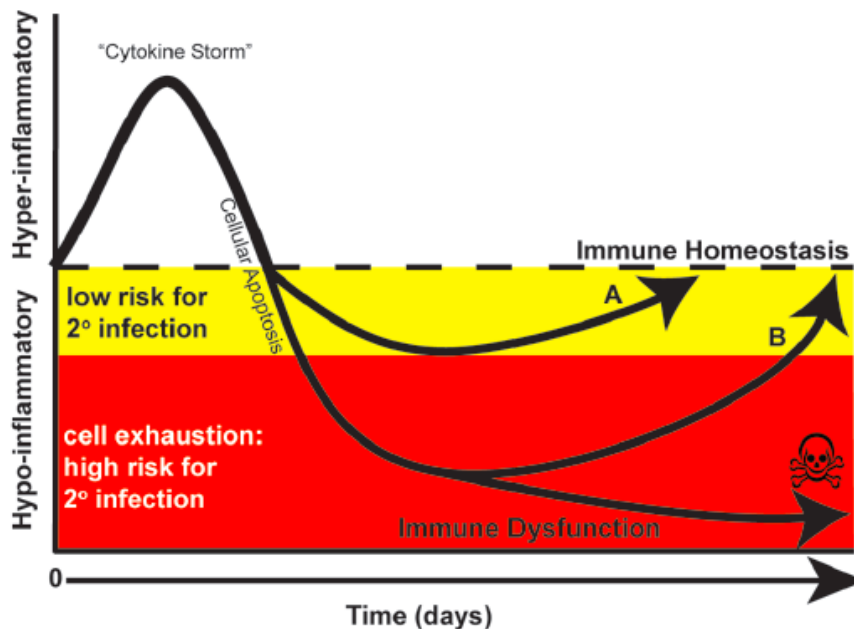
**Figura 3.** Resposta pró-coagulante na sepse (Fonte: Russel, 2006)

Todo esse processo levará a disfunção orgânica, sendo os órgãos acometidos: sistema nervoso central (alterações do nível de consciência, encefalopatias), sistema respiratório (necessidade de suplementação de oxigênio até necessidade de ventilação mecânica, síndrome do desconforto respiratório agudo), sistema renal (disfunção renal de grau variável, podendo ser necessária terapia renal substitutiva), trato gastrointestinal (íleo paralíticos e translocação bacteriana), disfunção cardiovascular

(hipotensão e diminuição da contratilidade), coagulopatia e disfunção hepática (hiperbilirrubinemia).

A disfunção de órgãos tem como fator central a insuficiência bioenergética, com desequilíbrio entre oferta e consumo de oxigênio, levando a disfunção ou morte celular. As duas situações relacionadas a essa insuficiência são as alterações microvasculares e a disfunção mitocondrial. Na ocorrência da sepse, o sistema microvascular apresenta disfunção, com células endoteliais menos sensíveis a agentes vasoativos e ativação sistêmica de estado pró coagulante, com formação de microtrombos que, associado ao extravasamento do líquido para o extra vascular, contribui com a diminuição do fluxo sanguíneo ao tecido. Além da diminuição do fluxo sanguíneo para os tecidos, levando a baixa oferta de oxigênio, acontece uma diminuição da utilização do oxigênio pela mitocôndria, causado por produção aumentada de moléculas como o óxido nítrico, monóxido de carbono e sulfeto de hidrogênio que podem levar a dano na estrutura proteica dos complexos transportadores de elétrons por aumento da produção de espécie reativas de oxigênio (Azevedo e Machado, 2014).

Além da produção de citocinas pró-inflamatórias no curso da doença, são produzidas também substâncias anti-inflamatórias, sendo que esta resposta antagônica a inflamação é chamada de síndrome da resposta anti-inflamatória compensatória (em inglês *compensatory anti-inflammatory response syndrome* – CARS). A doença foi dividida em dois tempos, a fase inicial, pró-inflamatória, com ativação do sistema imune com o objetivo de matar o microorganismo agressor, através do estímulo de fagocitose, síntese de proteínas de fase aguda (citocinas), quimiotaxia e levando a ativação da coagulação e lesão endotelial. Em seguida a essa fase, seria iniciada a fase anti-inflamatória, após o controle da infecção, voltando o organismo para a fase de homeostase. Entretanto, alguns pacientes podem, nessa fase, evoluir com uma situação de imunossupressão, causada por excessiva apoptose de células de defesa (Hotchiss *et al*, 2001), hiporresponsividade por produção aumentada de citocinas anti-inflamatórias ou por exaustão celular (Boomer *et al*, 2014), ficando o paciente mais susceptível a adquirir um novo evento infeccioso (Figura 4).



**Figura 4.** Resposta imune na sepse nas duas fases: pró-inflamatória e anti-inflamatória (Fonte: Boomer *et al*, 2014)

Um artigo de revisão com inclusão de 12 estudos e 784 pacientes falhou em demonstrar de forma clara essa transição de fases pró e anti-inflamatória durante a fase inicial e tardia da sepse. Esse fato se deve a grande variedade na fase de transcrição gênica diferente nos indivíduos que desenvolvem a doença (Tang *et al*, 2010), com hipótese de que situações pró-inflamatórias e anti-inflamatórias aconteçam em vários períodos durante a evolução da doença e sendo possível que as duas situações atuem em um mesmo momento.

### 1.3 Tratamento da sepse

O tratamento da sepse é baseado em antibioticoterapia e suporte ao paciente com disfunções. Em 2001, Rivers *et al*, publicaram estudo com 263 pacientes concluindo que a terapia de suporte ao paciente com sepse grave e choque séptico baseada em metas melhorava o desfecho, inclusive com diminuição significativa da mortalidade (46,5% no grupo controle e 30,5% no grupo terapia precoce guiada por metas,  $p=0,009$ ). Dentre as metas estava o suporte hemodinâmico, com indicação de ressuscitação volêmica e instalação com cateter venoso central, para monitorização de

PVC (pressão venosa central) que deveria atingir o valor maior ou igual a 8mmHg, PAM (pressão arterial média) acima de 65mmHg e saturação venosa de O<sub>2</sub> ≥ 70%, lançando mão de uso de drogas vasoativas vasoconstritoras, agentes inotrópicos e transfusão de concentrado de hemácias para atingir os objetivos.

As diretrizes de tratamento são baseadas na Campanha Sobrevivendo a Sepsis (*Surviving Sepsis Campaign*), em sua terceira revisão, sendo inicialmente publicado em 2004, revisado em 2008 e por último em 2013. As diretrizes se baseiam em diagnóstico e reconhecimento precoce do quadro de sepse grave e choque séptico e medidas que devem ser aplicadas nas primeiras seis horas do reconhecimento da doença, sendo elas: administração do antimicrobiano em até uma hora do diagnóstico, coleta de culturas antes da administração do antimicrobiano (duas amostras de hemocultura e cultura de material de sítios pertinentes de acordo com a suspeita clínica, como urina, líquor ou outros); ressuscitação volêmica com 30ml/Kg de solução cristalóide para pacientes com hipotensão (PAS < 90mmHg ou queda > de 40mmHg da PAS basal do paciente) e para pacientes com hiperlactatemia (duas vezes maior que o valor da normalidade). Pacientes hipotensos, à despeito da ressuscitação volêmica, devem receber drogas vasoativas vasoconstritoras, preferencialmente noradrenalina. Pacientes com necessidade de droga vasoativa para manutenção de PAM > 65mmHg devem ser submetidos a punção venosa central e monitorização de PVC que, como meta, deve estar entre 8 a 12mmHg em pacientes sem ventilação mecânica e de 12 a 15mmHg em pacientes com ventilação mecânica. Pacientes com PVC abaixo da meta, devem receber mais cristalóides. Para pacientes em que é atingida a meta de PVC, deve ser monitorada a saturação venosa central de O<sub>2</sub> que tem como meta ser ≥70% ou saturação venosa mista ≥ 65mmHg (através de coleta de gasometria de cateter de artéria pulmonar). Se este valor não for observado, administrar agente inotrópico (dobutamina) e, se necessário, transfusão de concentrado de hemácias se paciente com hemoglobina < 7,0mg/dL ou até com valores maiores de acordo com patologias de base e julgamento clínico. Medidas posteriores a este período de seis horas, quando a terapêutica baseada por metas já não têm evidência de benefícios ao paciente, podem ser aplicadas, como controle da glicemia (meta < 150mg/dL), ventilação protetora com baixo volume corrente em pacientes com síndrome do desconforto ventilatório agudo

(SDRA) e uso de corticosteroides em baixa dose (hidrocortisona 200mg/dia) para pacientes com choque refratário (Dellinger *et al*, 2013).

#### 1.4 Imunomodulação

Para a resposta e controle de uma infecção, o organismo deve possuir uma resposta imunológica intacta. Situações que causam imunodepressão podem levar a um desfecho ruim para o paciente, com seqüela e até óbito secundário a ação do microorganismo no organismo humano. Entretanto se essa cascata inflamatória iniciada não tiver um controle adequado, além da morte do agente agressor, células, tecidos e estruturas do organismo podem ser lesados, principalmente pela alteração da oferta e consumo de oxigênio levando a disfunção orgânica. Pacientes que têm uma resposta inflamatória acentuada evoluem com mais disfunções orgânicas e pior desfecho.

O tratamento da sepse grave e choque séptico baseia-se na administração precoce do antimicrobiano e terapia de suporte na presença de hipotensão, hiperlactatemia e disfunção orgânica. No contexto da resposta inflamatória não existe tratamento específico para controle da síndrome sistêmica. Baseados na hipótese da resposta inflamatória exacerbada, levando à disfunção orgânica, estudos têm sido realizados na busca de um agente (medicamentos, substâncias ou nutrientes) que possa controlar essa resposta, podendo ser desde o bloqueio da adesão das bactérias gram-positivas ao receptor *toll-like-2* (Decker, 2004), ou impedindo a produção ou ação das citocinas, através de antagonistas dos receptores do TNF ou através do uso de anticorpo monoclonal do TNF, com observação de melhor efetividade com o uso do anticorpo se comparado com o antagonista do receptor (Reinhart e Karzai, 2001). Lv *et al*, 2014, em metanálise (17 estudos e 8971 pacientes) observaram que pacientes com sepse grave, antes da instalação do choque, e pacientes com choque e altos níveis de IL-6, poderiam se beneficiar com o uso do anticorpo anti-TNF- $\alpha$  com redução da mortalidade.

Na segunda revisão da Campanha Sobrevivendo a Sepse (*Surviving Sepsis Campaign*), realizada em 2008, havia sugestão para o uso da proteína C ativada, uma proteína exógena, para pacientes com APACHE (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*)  $\geq 25$  ou disfunção de múltiplos órgãos que não apresentassem contra-

indicações para o uso (Dellinger *et al*, 2008). O modo de ação da droga seria a modulação dos processos de inflamação e coagulação (Bernard *et al*, 2001). Entretanto, novos estudos foram realizados e não foi encontrado benefício com o uso da proteína C ativada, retirada do mercado em 2011.

Diferentes nutrientes vêm sendo estudados com relação ao seu efeito imunomodulador, algumas vezes de forma isolada e outras associados a outros componentes. Não existe recomendação de suplementação de imunonutrientes para o paciente com sepse grave ou choque séptico, segundo as diretrizes de tratamento, pela falta de evidência de impacto clínico favorável para esses pacientes (Dellinger, *et al*, 2013). Isto ocorre devido a desenhos de estudo diversos, com vias de administração e doses diferentes nos estudos realizados. Dentre os nutrientes estudados estão a glutamina, arginina, selênio e os AGPI n-3. A glutamina é um aminoácido não essencial que em situações críticas, de catabolismo intenso torna-se essencial e nutriente preferencial para células de replicação rápida como os enterócitos. Sugere-se que seu uso possa reduzir a permeabilidade intestinal, reduzindo a translocação bacteriana; prevenir apoptose, regular a resposta inflamatória, diminuir o stress oxidativo e a expressão da óxido nítrico sintetase (NOS). Estudo recente, com 1200 pacientes graves, sendo 70% deles com choque séptico, divididos em grupos que receberam glutamina, antioxidantes, os dois ou placebo não mostrou melhora do desfecho e, no grupo que recebeu glutamina, houve um aumento da mortalidade (Heyland *et al*, 2013). Arginina é também um aminoácido não essencial que também pode tornar-se essencial em situações de estresse. Participa do crescimento celular, da cicatrização, é substrato para síntese de óxido nítrico e aumenta quimiotaxia dos macrófagos (Vermeulen *et al*, 2007). Este nutriente acentua a resposta inflamatória e aumenta a produção do óxido nítrico, podendo piorar a instabilidade hemodinâmica e não tem indicação de uso na sepse (Dellinger, *et al*, 2013). O selênio é um elemento químico, com efeito antioxidante, atuando também na imunidade. Estudos mais recentes falharam em mostrar diminuição da mortalidade com o uso de selênio, sendo que questões relacionadas a dose não estão claras (Zong *et al*, 2013; Sakr *et al*, 2014).



## 1.5 Lipídeos e seus efeitos na resposta inflamatória

Pacientes que estão sob um estresse causado pela síndrome da resposta inflamatória sistêmica, incluindo a sepse, apresentam deficiência energética, esta associada a aumento de complicações, como maior permanência hospitalar e mortalidade. A terapia nutricional, quando prescrita tinha como objetivo inicial melhorar a oferta de nutrientes (Roche, 2012), considerando que a fonte lipídica fornece maior quantidade de caloria (9kcal/g), comparado com glicose parenteral (3,4kcal/g) ou enteral (4Kcal/Kg) e proteína (4kcal/g).

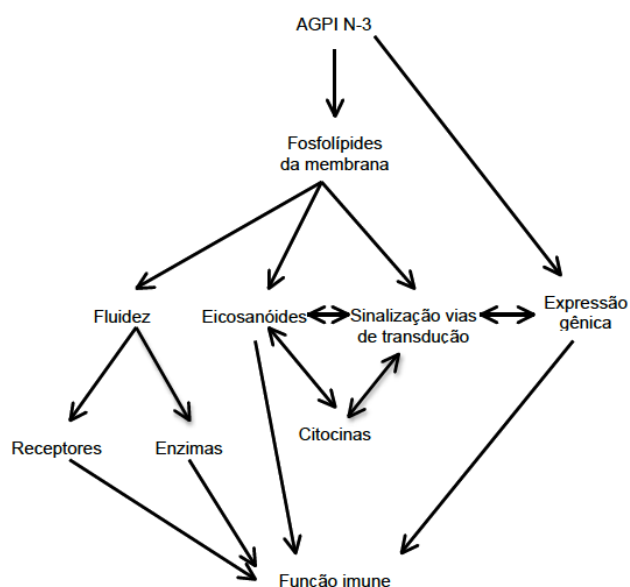
Lipídeo é uma substância formada a partir dos ácidos graxos. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos representados por  $\text{RCO}_2\text{H}$ . Na maioria das vezes, o grupamento R é uma cadeia carbônica longa, não ramificada, com número par de átomos de carbono, podendo ser saturada ou conter uma ou mais instaurações. Ácidos graxos insaturados apresentam nas suas cadeias carbônicas, dupla ligações. Na presença de uma ligação insaturada o AG é denominado monoinsaturado e na presença de mais de uma cadeia dupla, poliinsaturado. Os ácidos graxos insaturados são divididos em quatro famílias: n-7 (ácido palmitoléico), n-9 (ácido oléico), n-6 (ácido linoleico) e n-3 (ácido linolênico). Além disso, os ácidos graxos também são classificados de acordo com o tamanho da cadeia: pequena, média ou longa, baseados no número de átomos de carbonos que apresentam, sendo curta com dois a quatro, média com seis a dez e longa com maior de doze (Curi *et al*, 2002).

Na década de 60, o lipídio utilizado para a terapia nutricional era o derivado de óleo de soja. Na década de 70 e 80 observou-se que a dieta rica em óleo de soja e algodão poderiam estar relacionadas a eventos adversos imunológicos (Calder, 2007).

A partir desse momento, foram iniciados estudos comparando os diferentes lipídeos, associados ou não a outros nutrientes imunomoduladores, com o objetivo de tentar controlar a resposta inflamatória, melhorar a evolução clínica e diminuir a mortalidade dos pacientes. Observado que o grande número de dupla ligações dos AGPI podem aumentar a taxa de peroxidação lipídica, aumentando o risco de estresse oxidativo que pode levar a lesão celular. Com este fato, existe a hipótese que o uso de fontes lipídicas alternativas, como triglicérides de cadeia média (óleo de coco) e AGMI (óleo de oliva) que poderiam ser utilizados, diminuindo a intensidade da resposta

inflamatória (Roche, 2012). Os TCM's, presentes no óleo de coco, são fonte de calorias, facilmente metabolizados pelo organismo por serem mais solúveis em água que os AGPI e não necessitar da ação da carnitina para transporte para as mitocôndrias, quando administrados por via enteral (Wanten e Calder, 2007). Quando administrados por via parenteral, o TCM é rapidamente hidrolisado por lipases lipoprotéicas presentes no plasma (Curi, 2002). Entretanto, não são fonte de ácidos graxos essenciais e, portanto, não podem ser administrados de forma isolada. O óleo de oliva parece ter um efeito neutro, não interferindo na resposta inflamatória do indivíduo (Wanten e Calder, 2007).

Os ácidos graxos servem de substrato para produção de energia, fazem parte da composição dos fosfolípidios da membrana celular, são reguladores da expressão gênica tanto na atividade do receptor quanto na ativação do fator de transcrição e são precursores da síntese de lipídios bioativos como prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas e resolvinas. A modificação na composição dos ácidos graxos nos fosfolípides da membrana pode alterar a resposta imune, através da alteração das propriedades físicas da membrana e do efeito nas vias de sinalização, alterando a expressão gênica (Calder, 2007). A figura 5 demonstra os mecanismos pelos quais os AGPI n-3 podem atuar na resposta imunomoduladora.

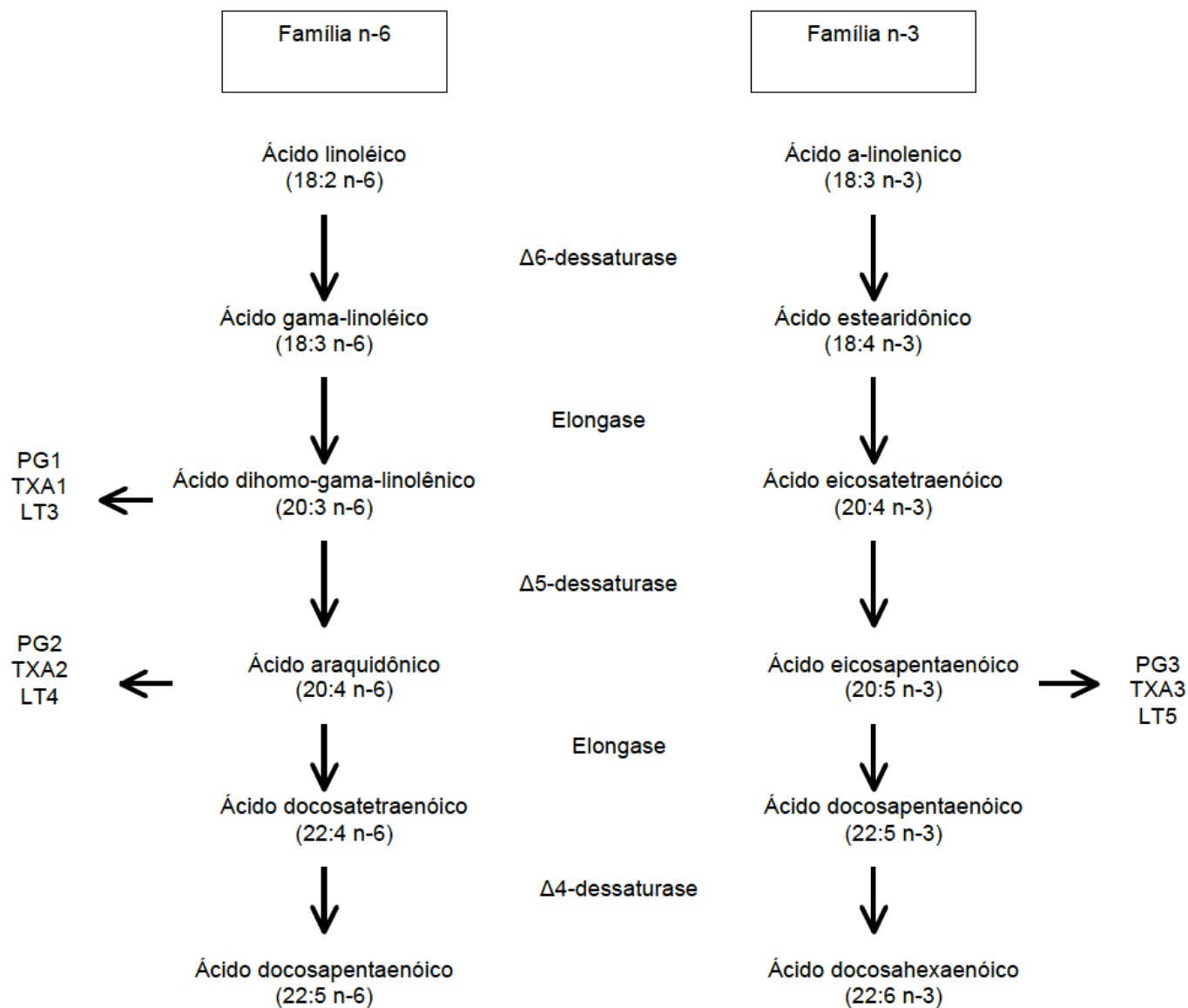


**Figura 5.** Mecanismos de ação imunomoduladora dos ácidos graxos poliinsaturados da família n-3 (Fonte: Calder, 1997)

A dieta convencional, rica em AGPI n-6 (óleo de soja), promove produção de grande quantidade de ácido araquidônico (ARA) em situações de estresse com a ativação da resposta inflamatória. A produção de ARA e a incorporação de ácido eicosapentaenóico (EPA) e do ácido docosahexaenóico (DHA) nas membranas celulares e no plasma são alteradas com a suplementação oral dessas substâncias com pico máximo de concentração por volta de quatro semanas. EPA e DHA mudam os produtos do metabolismo dando origem a substâncias menos potentes, como eicosanóides e resolvinas e também afetam a produção de moléculas de adesão e citocinas (Calder, 2010).

A suplementação com o AGPI n-3 tem demonstrado atenuação do efeito de uma inflamação exacerbada, mostrando-se segura e pode ser benéfica (Hall *et al*, 2014), mas este efeito depende da gravidade da doença, da dose suplementada e da via de administração. A administração de AGPI n-3 parece ter efeito supressor, inibindo a produção de linfócitos, a produção de anticorpos e citocinas, a expressão de moléculas de adesão e a atividade das células citotóxicas (Curi, 2002). Com relação a via de administração, a incorporação dos ácidos graxos nas membranas se administrado por via parenteral é mais rápida e mais efetiva se comparado com a via enteral em ratos (Barros *et al*, 2013b).

Existe uma maior quantidade de ARA nas membranas das células imunes, sendo este a maior fonte de produção de eicosanóides ( $PGE_2$  e  $LTB_4$ ) (Calder, 2007). A incorporação do EPA e DHA nas membranas celulares, fornecida através da dieta, diminui a produção de eicosanóides derivados do ARA (Mayer *et al*, 2003). As enzimas ciclooxigenase e lipooxigenase metabolizam o ARA ( $C_{20:4}$  n-6) e produzem mediadores pró-inflamatórios, prostaglandinas da série 2 ( $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$  e  $TXA_2$ ) e leucotrienos da série 4 ( $LTB_4$ ,  $LTC_4$ ,  $LTD_4$ ). Na disponibilidade do EPA ( $C_{20:5n-3}$ ), este serve de substrato para estas enzimas e ocorre produção de mediadores anti-inflamatórios, prostanóides da série 3 -  $PGE_3$ ,  $PGI_3$ ,  $TXA_3$  e leucotrienos da série 5 -  $LTB_5$ ,  $LTC_5$ , e  $LTD_5$  (Fürst e Kuhn, 2000) (Figura 6).

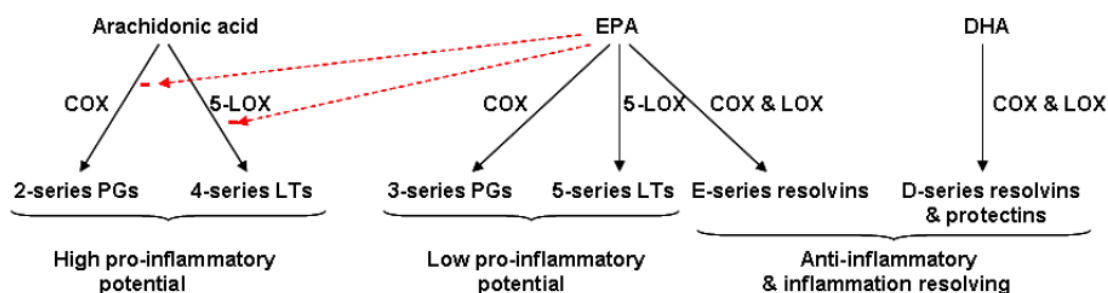


**Figura 6.** Metabolismo dos ácidos graxos das famílias n-6 e n-3

As vantagens dos produtos derivados do EPA comparados com o derivado do ARA são: menor atividade de agregação plaquetária pelo TXA<sub>3</sub> comparado com o TXA<sub>2</sub>, permanecendo a mesma ação da propriedade de anticoagulação e relaxamento muscular. LTB<sub>4</sub> aumenta quimiotaxia; LTC<sub>4</sub>, D<sub>4</sub> e E<sub>4</sub> aumentam permeabilidade vascular e contratilidade, sendo que LTB<sub>5</sub> tem uma potência menor da atividade comparado com

o LTB<sub>4</sub> e com o fator de ativador plaquetário (PAF), resultando em menor migração quimiotática e aderência celular endotelial (Fürst e Kuhn, 2000).

Eicosanoides derivados do EPA são menos ativos, apresentam ação menos eficaz na produção de mediadores pró-inflamatórios, agregação plaquetária, permeabilidade da parede dos vasos e produção de superóxido, protegendo a microperfusão tecidual e imunidade, com possíveis benefícios em doenças inflamatórias crônicas e agudas (trauma e sepse). EPA e DHA também originam as resolvinas e docosanóides por vias envolvendo as enzimas ciclooxigenase e lipooxigenase. Estas moléculas parecem ser antiinflamatórias e imunomoduladoras (Calder, 2007). As resolvinas e protectinas parecem estar envolvidas na diminuição da migração de células para o tecido lesado e inibição da produção de TNF- $\alpha$  e IL-1 (Calder, 2010). As resolvinas, protectinas e as lipoxinas são consideradas moléculas endógenas pró-resolução, pois promovem absorção e eliminação de microrganismos e células apoptóticas pelos macrófagos nos locais de inflamação. Resolvinas e protectinas são biossintetizadas a partir de ácidos graxos n-3 de cadeia longa (EPA e DHA), e lipoxina a partir de ARA (Boomer *et al*, 2014) (Figura 7).



**Figura 7.** Síntese e ação dos mediadores lipídicos produzidos pelo ácido araquidônico, EPA e DHA, COX: ciclooxigenase, LOS: lipoxigenase (Fonte: Calder, 2010)

Um evento adverso com a suplementação de EPA e DHA é o aumento da peroxidação lipídica e diminuição da capacidade antioxidante, sendo que este fato pode ser prevenido com o uso associado da vitamina E (Fürst e Kuhn, 2000).

Em artigo de revisão, incluídos 22 estudos randomizados publicado em 2008 com um total de 2419 pacientes críticos cirúrgicos e clínicos foram relatados desfechos clínicos (mortalidade, complicações infecciosas e tempo de permanência hospitalar) de grupos que receberam dieta enteral padrão comparados aos que receberam dietas enriquecidas com arginina, glutamina, AGPI n-3 ou nucleotídeos (imunonutrição). Todos os estudos avaliados incluíam pelo menos dois nutrientes. Os resultados evidenciaram que o uso da imunonutrição diminuiu a taxa de complicação infecciosa predominantemente em pacientes cirúrgicos, mas não alterou a mortalidade dos indivíduos (Heyland *et al*, 2001).

Marik e Zaloga, em meta-análise de 24 estudos, publicados entre 1990 a 2006, com 3013 pacientes comparou grupos de pacientes que receberam dietas enriquecidas com imunonutrientes, sendo quatro estudos com suplemento de arginina, dois com arginina e glutamina, nove com arginina e AGPI n-3, dois com arginina, glutamina e AGPI n-3, seis somente com suplementação de glutamina e três com suplementação de AGPI n-3 isolado, incluindo pacientes com sepse, síndrome da resposta inflamatória sistêmica, síndrome do desconforto respiratória agudo, traumatizados e queimados. Não foi observado diminuição da mortalidade e o tempo de permanência com a administração dos imunonutrientes. Encontrado diminuição do risco de adquirir nova infecção em pacientes que receberam a dieta imunomoduladora ( $p=0.004$ ). No grupo que recebeu óleo de peixe isolado foi observado diminuição da mortalidade ( $p<0.001$ ), da taxa de aquisição de novas infecções e menor permanência hospitalar ( $p<0.005$ ). Ressalva para o fato que o grupo controle recebia dieta rica em AGPI n-6, não usualmente utilizada na prática clínica.

Na tabela 1 estão citados os estudos clínicos com resultados de pacientes submetidos a suplementação enteral ou parenteral de n-3.

**Tabela 1.** Estudos clínicos avaliando o efeito da administração parenteral ou enteral de ácidos graxos de cadeia longa da família n-3 em pacientes críticos

<b>Estudo</b>	<b>Desenho</b>	<b>População</b>	<b>Intervenção</b>	<b>Resultado</b>
Hall <i>et al</i> , 2014	Prospectivo, randomizado	Pacientes com sepse (n = 60) Idade grupo tratado: 63,8 ± 11,7 (DP) e controle: 64,5 ± 13,4 (DP)	Via de administração: EV. Não computado nas necessidades calóricas. Omegaven® 0,2g/Kg/dia, por 14 dias ou até alta da UTI. Grupo controle sem placebo.	Diminuição do número de disfunções orgânicas ( $\Delta$ SOFA) (p=0,005), do SOFA máximo (p=0,041) e da proteína C reativa máxima (p=0,019) no grupo tratado. Sem diferença na mortalidade, tempo de permanência hospitalar. Diminuição da mortalidade em pacientes menos graves (risco de óbito pelo APACHE < 40%) p=0,042.
Barbosa <i>et al</i> , 2010	Prospectivo, randomizado	Pacientes com SIRS ou sepse, com necessidade de nutrição parenteral (n = 23) Idade do grupo óleo de peixe (54 a 80) e controle (32 a 79)	Via de administração: EV Emulsão utilizada como nutrição, por 5 dias. Emulsão com ácidos graxos de cadeia média e óleo de soja (50:50) - n= 10 e grupo óleo de peixe (50:40:10 ácidos graxos cadeia média/óleo de soja/óleo de peixe - n = 13. Citocinas avaliadas no D1 e D6.	Aumento da concentração de EPA na fosfatidilcolina plasmática no grupo óleo de peixe (p<0,001), diminuição mais significativa da IL-6 e IL-10 no grupo óleo de peixe (p<0,001). Melhora da relação PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> no grupo óleo de peixe (p=0,047) no D6. Mortalidade, tempo de permanência em UTI e dias de ventilação mecânica sem diferença estatística.
Barros <i>et al</i> , 2013 <sup>a</sup>	Prospectivo, randomizado	Pacientes críticos idosos de 60 a 80 anos (n = 49)	Via de administração: EV Não computada nas necessidades calóricas Grupo controle com 34 e grupo intervenção com 15 pacientes. Omegaven® 0,2g/Kg/dia EV, por 3 dias.	Aumento da concentração de EPA, DHA e AGPI n-3 total (p<0,001) e diminuição da concentração do ARA e AGPI n-6 total na fosfatidilcolina plasmática no grupo que recebeu o óleo de peixe (p<0,001). Melhora da relação PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> em 72h após a terceira dose de emulsão lipídica (p=0,001) Maioria dos pacientes apresentavam sepse (47%)

**Tabela 1. Continuação**

<b>Estudo</b>	<b>Desenho</b>	<b>População</b>	<b>Intervenção</b>	<b>Resultado</b>
Friesecke <i>et al</i> , 2008	Prospectivo, randomizado	Pacientes críticos com e sem SIRS, com necessidade de nutrição parenteral. (n = 166) Idade dos pacientes: grupos intervenção: 63 ± 13 (DP) e controle: 66 ± 11 (DP)	Via de administração: EV Emulsão utilizada na nutrição (parenteral), por pelo menos 6 dias. Randomizados para receber emulsão com ácidos graxos de cadeia média e cadeia longa (1:1) com n-3/n-6 de 1:7 ou a mesma emulsão adicionada de óleo de peixe (n-3/n-6: 1:2)	Sem alterações significativas na concentração de IL-6, na incidência de infecções, no tempo de ventilação mecânica, de internação na UTI e na mortalidade de 28 dias. Sem aumento do risco de sangramento.
Mayer <i>et al</i> , 2003	Prospectivo, randomizado	21 pacientes com sepse com indicação de nutrição parenteral e 6 adultos saudáveis (controle) (n = 21) Pacientes com mais de 18 anos	Via de administração: EV Emulsão administrada para nutrição, associada a nutrição parenteral. Randomizados para receber EL rica em n-3 (Omegaven®) ou a EL rica em n-6 (Lipoven®), 350ml em 24h por 5 dias. Realizada cultura de leucócitos.	Alteração da composição de AG livres do plasma: ARA aumentado cerca de 6 vezes nos pacientes com sepse comparado com o grupo controle .Aumento do EPA e DHA no grupo n-3 em menos de 2 dias (p<0,05) no plasma e membrana dos leucócitos. Produção de citocinas pro-inflamatórias (TNF, IL-1, IL-6, IL-8) aumentada na administração de AGPI n-6 e suprimida na administração de AGPI n-3 ( <i>ex-vivo</i> ), ambas de forma significativa (p<0,05) durante a infusão da emulsão voltando aos valores basais (por volta do sexto dia).
Wohlmuth <i>et al</i> , 2010	Retrospectivo	Pacientes com sepse de foco abdominal (n = 194) Idade média: 74 (mínima: 66 e máxima:81)	Via de administração: EV Não contabilizado nas necessidades calóricas Pacientes recebendo dieta enteral e grupo intervenção recebeu emulsão de óleo de peixe (Omegaven® a 10% 100mL/dia) – n=42. Controle sem placebo. Escore de propensão (dados demográficos) – grupo óleo de peixe = 29 e controle = 29	Sem diferença significativa de número de disfunções orgânicas, SOFA máximo, PCR, duração da ventilação mecânica, tempo de permanência na UTI e mortalidade hospitalar.



**Tabela 1.** Continuação

<b>Estudo</b>	<b>Desenho</b>	<b>População</b>	<b>Intervenção</b>	<b>Resultado</b>
Khor <i>et al</i> , 2011	Prospectivo, randomizado, duplo cego	Pacientes com sepse (n = 28) Idade: grupos suplementado: 64,8 ± 17,4 (DP) e 73,8 ± 14,2 (DP)	Via de administração: EV Não contabilizado nas necessidades calóricas Grupo placebo – solução salina (n=14) ou grupo óleo de peixe (n=14) – Omegaven® 10%, 100mL/dia por 5 dias.	Grupo óleo de peixe – diminuição do valor do APACHE II no D3 (p=0,004), no D5 (p=0,032) e no D7 (p=0,03). Procalcitonina menor no Grupo óleo de peixe no D3 (p=0,018), D5 (p=0,011) e D6 (p=0,028). TNF-α, tempo de internação em UTI e hospitalar não houve diferença entre os grupos.
Verleijen <i>et al</i> , 2011	Prospectivo, randomizado	Indivíduos saudáveis (n=8) Idade média: 39 anos (mínima: 23 e máxima: 61)	Via de administração: EV Não contabilizado nas necessidades calóricas Grupo solução salina (0,9%), emulsão lipídica rica em óleo de soja (Lipovenus® 10%) ou EL rica em óleo de peixe (Omegaven® 10%) EV em 1h (0,2g/Kg) por 3 dias. Amostras T0, T4 e T11. <i>Cross-over</i> e repetido após 3 semanas.	Infusão de emulsão lipídica rica em AGPI n-3 aumentou concentração de AGPI n-3 e diminuição AGPI n-6 nos fosfolipídios plasmáticos e membrana dos monócitos circulantes. Não houve diferença significativa na função imune e no balanço antioxidante.
Pontes-Arruda <i>et al</i> , 2006	Prospectivo, randomizado, duplo cego em 3 UTI's	Pacientes com sepse grave ou choque séptico em VM e com SDRA (n = 165) Idade: Grupos suplementado: 66 ± 20 e controle: 64,3 ± 18,7	Dieta enteral enriquecida com EPA, ácido gama linolênico e vitaminas antioxidantes comparada com dieta enteral padrão	Menor mortalidade no grupo tratado (p=0,037), melhora da oxigenação e menor tempo de ventilação mecânica (p<0,001) e menor desenvolvimento de nova disfunção orgânica (p<0,001)

<b>Estudo</b>	<b>Desenho</b>	<b>População</b>	<b>Intervenção</b>	<b>Resultado</b>
Kief <i>et al</i> , 2005	Prospectivo, randomizado, duplo cego, 2 UTI's	Pacientes críticos de UTI geral. Excluídos pacientes em hemodiálise (n = 597) Idade: 49 a 74 anos	Dieta enteral enriquecida com arginina, glutamina, antioxidantes, fibra e AGPI n-3	Sem alterações nos desfechos clínicos nos dois grupos.
Galbán <i>et al</i> , 2000	Prospectivo, randomizado, multicêntrico	Pacientes com sepse (n = 176) Idade grupos Impact: 53,9 ± 18,5 e controle: 57,7 ± 16,9	Randomizados para receber dieta enteral rica em arginina, nucleotídeos e AGPI n-3 (Impact®) (n=89) e grupo controle recebendo dieta padrão hiperproteica (n=87)	Diminuição dos eventos de bacteremia (p=0,01), de incidência de nova infecção hospitalar (p=0,01) e de mortalidade em pacientes com APACHE II entre 10-15 (p=0,02) no grupo que recebeu dieta imunomoduladora.

EL: emulsão lipídica

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar as alterações sobre os parâmetros clínicos e bioquímicos, e em especial sobre o perfil de ácidos graxos de pacientes com sepse grave e choque séptico, internados em uma Unidade de Terapia Intensiva geral, suplementados com 0,2g/Kg/dia de emulsão lipídica de óleo de peixe durante seis horas por três dias consecutivos.

### **2.2 Específicos**

Avaliar os seguintes parâmetros em indivíduos com diagnóstico de sepse grave ou choque séptico após a administração parenteral de emulsão lipídica de óleo de peixe, rica em AGPI n-3:

- a) Parâmetros bioquímicos: concentração sanguínea de colesterol total e frações, triglicerídeos, proteína C reativa, lactato, albumina sérica, bilirrubinas, leucograma, plaquetas, tempo de protrombina, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT);
- b) Composição de ácidos graxos no plasma e eritrócitos;
- c) Tempo de internação em UTI;
- d) Tempo de hospitalização;
- e) Porcentagem de sobrevivência em UTI;
- f) Porcentagem de sobrevivência em 28 dias;
- g) Porcentagem de sobrevivência hospitalar;
- h) Porcentagem de sobrevivência em 3 meses após alta da UTI;
- i) Dias de ventilação mecânica;
- j) Ocorrência de novas infecções após o evento de sepse.

Comparar o perfil de ácidos graxos do plasma e dos eritrócitos de indivíduos com quadro de sepse grave e choque séptico com o perfil de pacientes saudáveis da mesma faixa etária.

### **3. MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 Amostra do estudo**

O estudo foi realizado na Unidade de Terapia Intensiva Adulto do Hospital Universitário São Francisco da Providência de Deus. A UTI conta com 10 leitos e caracteriza-se como uma unidade mista, com internação de pacientes clínicos e cirúrgicos. Pacientes internados com diagnóstico de sepse grave e choque séptico foram triados para avaliar se poderiam participar do estudo durante o período de novembro de 2012 a agosto de 2014. O projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade São Francisco e foi aprovado sob o CAAE 08510212.7.0000.5514 e foi realizada de acordo com a Declaração de Helsinki.

O diagnóstico de sepse grave ou choque séptico foi confirmado baseado nos critérios definidos em 2001 durante Conferência Internacional para definição da sepse (Levy *et al*, 2003) já descritos anteriormente. Todos os pacientes foram submetidos a assistência baseada no protocolo institucional de tratamento de sepse grave e choque séptico, sendo que este segue as diretrizes da Campanha Sobrevivendo a Sepse (*Surviving Sepsis Campaign*) (Dellinger *et al*, 2013).

A primeira versão aprovada do projeto de pesquisa tinha como critérios de inclusão: indivíduos de 18 a 80 anos admitidos com diagnóstico de sepse grave ou choque séptico ou que evoluíram com o diagnóstico durante permanência na UTI; após estabilização hemodinâmica, em ventilação mecânica e em uso de nutrição enteral. Os critérios de exclusão foram definidos como: pacientes em pós operatório de cirurgias eletivas, em pós operatório de cirurgias do trato gastrointestinal quando não houvesse possibilidade de nutrição enteral em período inferior a 48 horas, pacientes oncológicos, hepatopatas, com insuficiência renal crônica em terapia renal substitutiva, imunossuprimidos, com distúrbio hemorrágico grave e pacientes alérgicos a proteína do ovo ou a peixe. Durante o desenvolvimento da pesquisa, houve uma dificuldade de inclusão de pacientes por limitação com relação aos critérios de inclusão e exclusão. Após revisão de literatura e do projeto, foi solicitada alteração deste, com alteração dos critérios de inclusão também para pacientes em ventilação espontânea e diminuição dos critérios de exclusão com possibilidade de inclusão de pacientes em pós operatório de cirurgia eletiva que evoluíssem com o diagnóstico de sepse grave ou choque séptico

durante a internação na unidade, pacientes em uso de dieta oral e pacientes com neoplasia. A nova versão foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa em maio de 2014 (CAAE 08510212.7.0000.5514).

Indivíduos que possuíam todos os critérios de inclusão e não tivessem critério de exclusão eram considerados elegíveis para participação do estudo. Foi aplicado termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) aos pacientes ou seus responsáveis legais (Anexo 1).

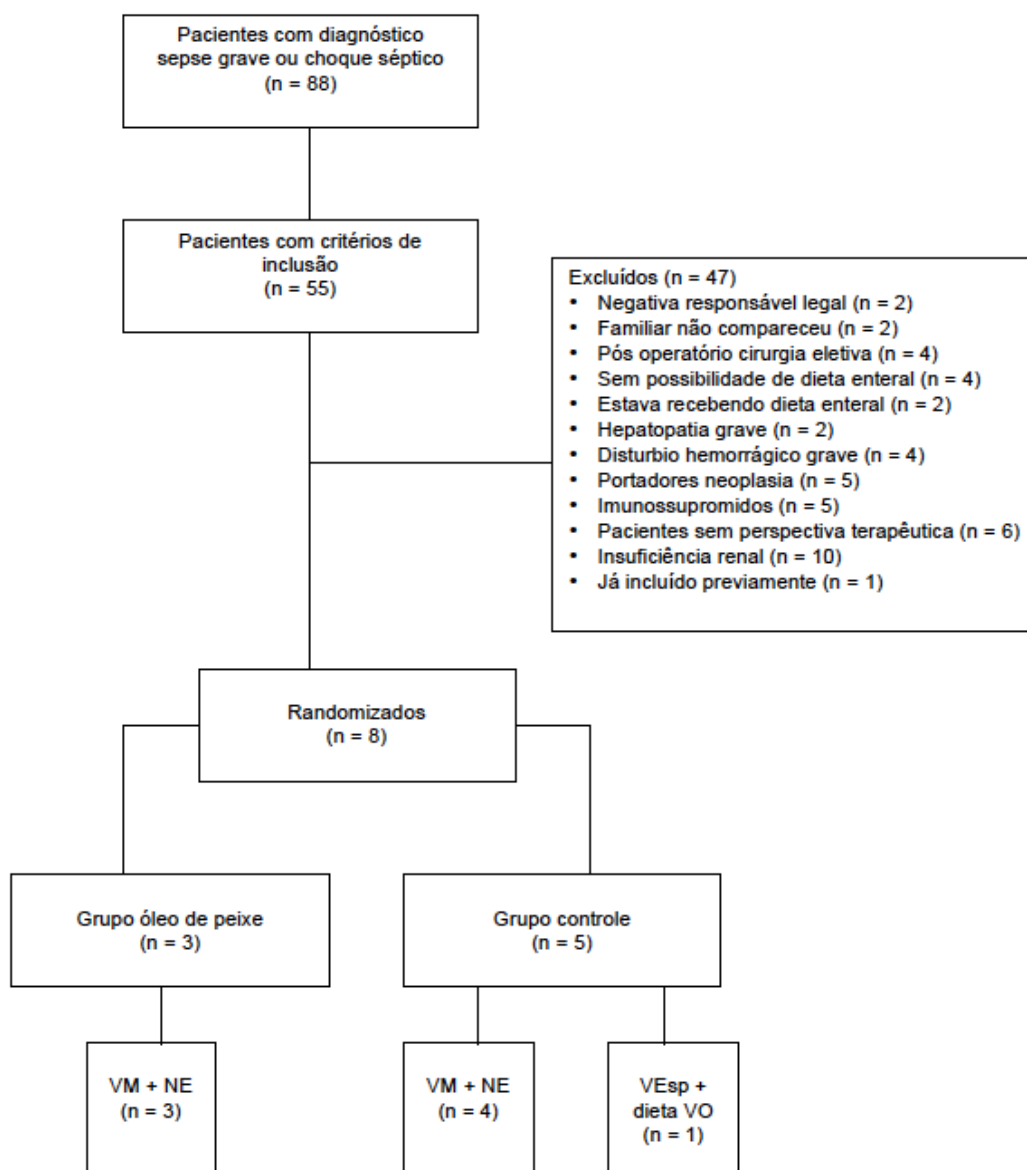
### **3.2 Grupos do estudo**

Foram triados 88 pacientes, com diagnóstico de sepse grave ou choque séptico no período, sendo que 55 deles preenchiam os critérios de inclusão. Destes somente oito não apresentavam nenhum critério de exclusão.

A figura 8 mostra o fluxo de avaliação para inclusão dos pacientes. Os critérios de inclusão e exclusão foram alterados em 29 de maio de 2014. Após essa alteração, foi incluído um indivíduo o qual não atendia os critérios anteriores. Este indivíduo não apresentava necessidade de ventilação mecânica e não foi submetido a terapia nutricional enteral. A Unidade de Terapia Intensiva faz uso de uma ferramenta de gestão (Epimed®) que permite avaliação de indicadores de qualidade da Unidade, desde meados de março do ano de dois mil e treze. Segundo relatório extraído desta ferramenta de gestão o resultado da pesquisa do número de pacientes com diagnóstico de sepse grave e choque séptico, foi de 77 pacientes neste período (Anexo 2). A triagem no estudo teve um número maior, pois a pesquisa iniciou em novembro de 2012, três meses anteriores ao início do uso do ferramenta.

Após aceitação para participação do estudo, os pacientes foram alocados randomicamente em dois grupos de estudo assim definidos: **1) Grupo óleo de peixe (GOP)**, cujos integrantes receberam a emulsão lipídica de óleo de peixe por acesso venoso periférico na dosagem de 0,2g/kg/dia durante 6 horas, por três dias consecutivos. **2) Grupo controle (GC)**, sem ingestão de placebo. As informações dos indivíduos foram anotadas em ficha de coleta de dados clínicos (Anexo 3).

A randomização inicialmente foi feita por sorteio. A emulsão lipídica foi administrada como farmaconutrição e não foi computada nas necessidades nutricionais diárias. Na tabela 2 estão descritas informações sobre os pacientes.



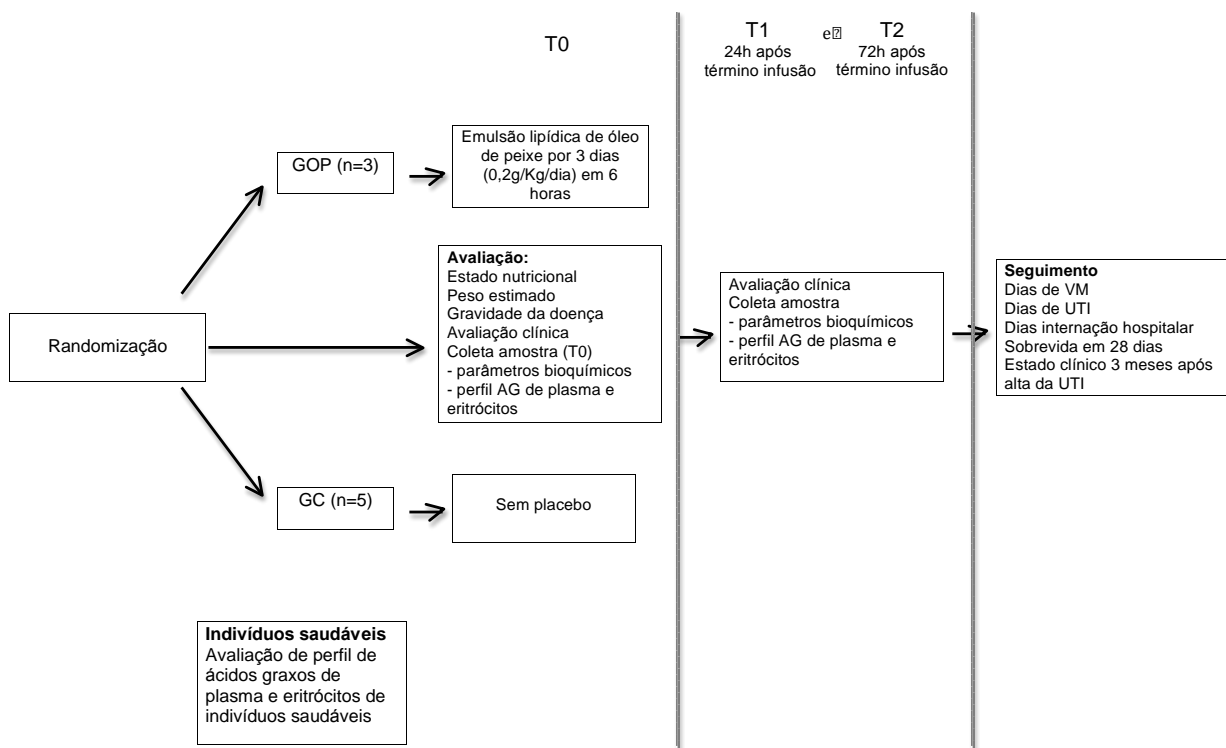
**Figura 8.** Triagem, pacientes incluídos e causas de exclusão de pacientes com diagnóstico de sepse grave ou choque séptico no período de novembro de 2012 a setembro de 2014; VM: ventilação mecânica, NE: nutrição enteral, VEsp: ventilação espontânea, VO: via oral

**Tabela 2.** Dados dos indivíduos incluídos no estudo: idade, sexo, peso, IMC, diagnóstico, foco de infecção, necessidade de ventilação mecânica, e via de administração de nutrição

Grupo óleo de peixe								
Nº identificação	Sexo	Idade	Peso (Kg)	IMC	Diagnóstico	Foco infecção	VM	Via nutrição
1	M	45	74	23,6	choque séptico	pneumonia	S	enteral
3	M	57	60	20,5	choque séptico	pneumonia	S	enteral
6	M	23	80	24,7	sepsis grave	pneumonia	S	enteral
Grupo controle								
Nº identificação	Sexo	Idade	Peso (Kg)	IMC	Diagnóstico	Foco infecção	VM	Via nutrição
2	M	50	85	29,4	sepsis grave	pneumonia	S	enteral
4	M	53	52	18,6	choque séptico	pneumonia	S	enteral
5	M	71	96	29,0	choque séptico	pneumonia	S	enteral
7	F	54	68	23,0	sepsis grave	pneumonia	S	enteral
8	M	62	80	27,7	choque séptico	pneumonia	N	oral

### 3.3 Desenho do estudo

Após os pacientes serem randomizados em um dos grupos do estudo, o estudo dividiu-se em três momentos: **T0, T1 e T2**, conforme Figura 9.



**Figura 9.** Desenho do estudo

No T0, antes da suplementação, foram realizadas as primeiras coletas de sangue para avaliação dos parâmetros bioquímicos e de composição de ácidos graxos do plasma e eritrócitos. Também foi realizada a avaliação do estado nutricional, cálculo de peso estimado, diagnóstico clínico e avaliação da gravidade da doença. Os indivíduos alocados no grupo suplementado receberam a infusão da emulsão de óleo de peixe (três dias consecutivos) e após 24 e 72 horas foram realizadas a segunda e terceira coleta respectivamente, de ambos os grupos. Nos tempos T1 e T2, foram coletas amostras de sangue, e novamente os mesmos parâmetros foram avaliados. Também foram avaliados, nos dois tempos, os dias de ventilação mecânica e tempo de internação em UTI. Após três meses de alta da UTI, foi realizado o contato com os



pacientes para coletar informações do estado clínico referente ao retorno às atividades normais e possíveis sequelas.

Para atender as necessidades nutricionais, os indivíduos, de ambos os grupos foram submetidos a terapia nutricional enteral (Nutrison® marca Support) para aporte nutricional durante o tempo de internação na UTI. Essa dieta é a padronizada para uso no HUSF e contém em sua fórmula EPA + DHA (total de 33,5mg por 100mL da solução), provenientes do óleo de peixe.

Também foram utilizados no estudo amostras de sangue de seis pacientes saudáveis da mesma faixa etária, os quais foram selecionados de banco de dados do Laboratório de Análises Clínicas São José do HUSF.

### **3.4 Caracterização da emulsão lipídica de óleo de peixe**

A emulsão lipídica de óleo de peixe (Omegaven®) utilizada na suplementação foi adquirida da Fresenius Kabi. Segundo informação do fabricante, o óleo de peixe utilizado é um triglicéride puro. O alfa-tocoferol (0,015 – 0,0296 g) é adicionado ao óleo de peixe como um antioxidante durante a última etapa de fabricação a fim de aumentar a estabilidade da matéria-prima. A quantidade de lecitina de ovo é limitada a 12g/L de emulsão. As partículas lipídicas administradas por infusão com Omegaven são similares em tamanho e eliminação em quilomicrons fisiológicos. Em voluntários sadios do sexo masculino, foi descrita uma meia-vida de triglicérides para Omegaven de 54 minutos.

Na tabela 3 encontra-se a composição de ácidos graxos da emulsão lipídica composta de óleo de peixe altamente refinado (10%) usada na suplementação, segundo informações do fabricante.

**Tabela 3.** Composição de ácidos graxos da emulsão lipídica de óleo de peixe (Omegaven® da Fresenius Kabi)

Composição em ácidos graxos	Gramas
ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 n-3)	1,25 - 2,82
ácido docosahexaenóico (DHA) (C22:6 n-3)	1,44 - 3,09
ácido mirístico (C14:0)	0,1 - 0,6
ácido palmítico (C16:0)	0,25 - 1,0
ácido palmitoléico (C16:1)	0,3 - 0,9
ácido esteárico (C18:0)	0,05 - 0,2
ácido oleico (C18:1 n-9)	0,6 - 1,3
ácido linoleico (C18:2 n-6)	0,1 - 0,7
ácido linolênico (ALA) (C18:3 n-3)	≤ 0,2
ácido octadecatetraenóico	0,05 – 0,65
ácido eicosaenóico (C20:1 n-9)	0,05 – 0,3
ácido araquidônico (C20:4 n-6)	0,1 – 0,4
ácido docosaenóico (C22:1 n-9)	≤ 0,15
ácido docosapentaenóico (C22:5 n-6)	0,15 – 0,45

Informações para cada 100mL de emulsão: 112 Kcal.

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

### 3.5 Cálculo das necessidades nutricionais

As necessidades nutricionais foram calculadas com a fórmula de 25 kcal/Kg/dia. A nutrição enteral foi administrada em sistema fechado e em infusão contínua sem pausa noturna. A terapia nutricional enteral foi iniciada assim que os pacientes apresentaram estabilidade hemodinâmica e no caso de terapia enteral, a dieta utilizada foi a Nutrison® da Support. A dieta enteral inclui em sua formulação carotenoides e mix de lipídeos, contendo AGPI n-3 num total de 33,5mg/100mL, sendo 19,5mg/100mL de EPA e 14mg/100mL de DHA. Na tabela 4 encontra-se a composição nutricional da dieta enteral administrada.

**Tabela 4.** Composição nutricional da dieta enteral Nutrison® (Support)

Composição	Quantidade
Proteínas (16%)	4,0g
Carboidratos (49%)	12,0g
Lipídeos (35%)	3,9g
Gorduras totais	3,9g
Saturadas	1,0g
Monoinsaturadas	2,2g
Poliinsaturadas	0,7g
DHA + EPA	33,5mg
EPA	19,5mg
DHA	14mg
Fibras	0,0g
Cálcio	80,0mg
Ferro	1,6mg
Sódio	100,0mg
Potássio	150,0mg
Cloro	125,0mg
Fósforo	72,0mg
Magnésio	23,0mg
Zinco	1,2mg
Cobre	180,0mg
Manganês	0,33mg
Flúor	0,1mg
Molibdênio	10,0mcg
Selênio	5,7mcg
Cromo	6,7mcg
Iodo	13,0mcg
Vitamina A	82mcg
Carotenoides	0,2mcg
Vitamina D	1,0mcg
Vitamina E	1,3mg
Vitamina K	5,3mcg
Vitamina B1	0,15mg
Vitamina D2	0,16mg
Niacina	1,8mg
Ácido pantotênico	0,53mg
Vitamina B6	0,17mg
Ácido fólico	27,0mcg
Vitamina B12	0,21mcg
Biotina	4,0mcg
Vitamina C	10,0mg
Colina	37,0mg


Informações para cada 100ml da solução. Fonte de lipídeos: óleo de girassol (42,6%), óleo de canola (37,5%), TCM (17,4%) e óleo de peixe (2,5%). Relação ômega-6:ômega-3 – 2,9:1. Valor calórico: 100kcal/100mL.

### **3.6 Avaliação do estado nutricional e cálculo de peso estimado**

Foram avaliados os parâmetros relação PCR/albumina, contagem total de linfócitos, índice de massa corporal, peso e altura estimados. Para o cálculo de peso estimado, medidas antropométricas como circunferência do braço e altura do joelho foram realizadas e aplicadas a equação de peso estimado de Chumlea *et al* (1988). Este procedimento foi realizado pela equipe de nutricionistas do hospital.

### **3.7 Gravidade da doença, diagnóstico e acompanhamento clínico, dias de ventilação mecânica e tempo de internação em UTI**

A gravidade da doença foi avaliada com o uso dos índices prognósticos SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) e APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*), que são índices prognósticos utilizados na terapia intensiva para avaliar a gravidade dos doentes com determinação de um escore que reflete a gravidade da doença. O escore SOFA é realizado diariamente, com informações apresentadas na figura 10. Os valores dos sistemas variam de 0 a 4, sendo considerado ausência de disfunção (valor 0), e maior disfunção e, portanto gravidade, valores maiores. O valor mínimo de SOFA é zero e o maior de 24. Para realização do APACHE II, são utilizados parâmetros clínicos e bioquímicos nas primeiras 24 horas de internação na UTI, associados a idade e patologias de base, como insuficiência cardíaca classe funcional IV, cirrose hepática, insuficiência renal em terapia renal substitutiva, neoplasias, imunossupressão e pneumopatia com uso de oxigênio domiciliar, conforme informações apresentadas na figura 11. O escore máximo do APACHE II é de 71 pontos. Os dados foram coletados durante a evolução clínica dos pacientes sendo eles: diagnóstico clínico, foco da infecção, comorbidades, realização de procedimentos invasivos (traqueostomia, terapia renal substitutiva), nutrição prescrita e administrada, dias de ventilação mecânica e porcentagem de sobrevivência na UTI, hospitalar e em três meses. Foram monitoradas o valor prescrito e infundido de dieta e as intercorrências relacionadas à esta (vômitos e diarreia).

<b>Respiratório (PaO2/FiO2)</b>	<input checked="" type="radio"/> >= 400 <input type="radio"/> 300 - 399 <input type="radio"/> 200 - 299 <input type="radio"/> 100 - 199 + Sup. Vent. <input type="radio"/> < 100 + Sup. Vent.
<b>Cardiovascular</b>	<input checked="" type="radio"/> Sem hipotensão <input type="radio"/> PAM < 70 mmHg <input type="radio"/> Dopa <= 5 ou Dobuta (qq dose) <input type="radio"/> Dopa > 5 ou Noradr/Adr <= 0.1 <input type="radio"/> Dopa > 15 ou Noradr/Adr > 0.1
<b>Hematológico (Plaquetas x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)</b>	<input checked="" type="radio"/> >= 150 <input type="radio"/> 100 - 149 <input type="radio"/> 50 - 99 <input type="radio"/> 20 - 49 <input type="radio"/> < 20
<b>Renal (Creat. mg/dL - diurese 24h)</b>	<input checked="" type="radio"/> < 1,2 <input type="radio"/> 1,2 - 1,9 <input type="radio"/> 2,0 - 3,4 <input type="radio"/> 3,5 - 4,9 ou < 500ml/24h <input type="radio"/> >= 5,0 ou < 200ml/24h ou Suporte Renal
<b>Hepático (Bilirrubinas totais mg/dL)</b>	<input checked="" type="radio"/> < 1.2 <input type="radio"/> 1.2 - 1.9 <input type="radio"/> 2.0 - 5.9 <input type="radio"/> 6.0-11.9 <input type="radio"/> >= 12
<b>Neurológico (Escala Coma Glasgow) </b>	<input checked="" type="radio"/> 15 <input type="radio"/> 13 - 14 <input type="radio"/> 10 - 12 <input type="radio"/> 6 - 9 <input type="radio"/> < 6
<input type="button" value="Salvar"/> <input type="button" value="Cancelar"/>	

**Figura 10.** Variáveis para cálculo do escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) (Fonte: Epimed Monitor®, [www.epimedmonitor.com](http://www.epimedmonitor.com))

Assinale o Pior Resultado nas Primeiras 24 Horas de Internação na Unidade					
Variáveis fisiológicas			Variáveis laboratoriais		
Variável	Maior valor	Menor valor	Variável	Maior valor	Menor valor
PA (mmHg)	<input type="text"/> x <input type="text"/>	<input type="text"/> x <input type="text"/>	Hematócrito (%)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Freq. cardíaca (bpm)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Hemoglobina (g/dL)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Freq. respiratória (l/rpm)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Temperatura axilar ( $^{\circ}\text{C}$ )	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Plaquetas ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Escala de Coma de Glasgow (pontos)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	INR	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diurese (ml/24h)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Creatinina (mg/dL)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Gasometria arterial			Uréia (mg/dL)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
pH	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Sódio (mEq/L)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Potássio (mEq/L)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Bilirrubinas totais (mg/dL)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
HCO <sub>3</sub> (mEq/L)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Albumina (g/dL)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
FiO <sub>2</sub> (%)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	PCR-t (mg/dL)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Lactato arterial (mmol/L)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Aminas Vasoativas		
			Noradrenalina/Adrenalina ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ )	<input type="text"/>	<input type="text"/>
			Dobutamina ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ )	<input type="text"/>	<input type="text"/>
			Dopamina ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ )	<input type="text"/>	<input type="text"/>

**Figura 11.** Variáveis para cálculo do escore APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) (Fonte: Epimed Monitor®, www.epimedmonitor.com)

### 3.8 Coleta de sangue

As coletas de sangue foram realizadas nos três tempos (T0, T1 e T2) para ambos os grupos. Nos tempos descritos, foram coletados dois tubos com EDTA com 4ml de sangue cada, utilizados para a avaliação do perfil de ácidos graxos do plasma e eritrócitos. As amostras foram centrifugadas a 2500 r.p.m por 15 minutos para separação dos eritrócitos e do plasma, de onde foram retiradas alíquotas armazenadas em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Além destas amostras, foram coletados os tubos para realização dos exames bioquímicos realizados no Laboratório de Análises Clínicas São José do HUSF.

Para a avaliação do perfil de ácidos graxos do plasma e eritrócitos foram utilizados amostras de sangue de seis pacientes saudáveis, da mesma faixa etária, selecionados do banco de dados do Laboratório de Análises Clínicas São José do HUSF .

### **3.9 Exames bioquímicos**

As concentrações séricas de proteína C reativa foram obtidas de acordo com o método de turbidimetria, albumina sérica por método colorimétrico e lactato por enzimático colorimétrico, glicemia por método enzimático de referência com hexoquinase, bilirrubina total e frações por método colorimétrico (DIAZO), ALT e AST por enzimático UV. O colesterol total e os triglicérides foram medidos por método colorimétrico enzimático e o colesterol HDL por método enzimático direto. O colesterol LDL foi calculado pela Fórmula de Friedewald ( $LDL = CT - HDL - TG/5$ ). As dosagens bioquímicas foram realizadas em equipamento COBAS INTEGRA da Roche. O hemograma e leucograma pelo método de citometria de fluxo, impedância e citoquímica, em equipamento PENTA 120 da Horiba Medical. O tempo de protombina (TP) e TTPA foi medido através de leitura óptica, no equipamento ACL Elite PRO, da Instrumentation Laboratory, Bedford, Massachusetts.

### **3.10 Extração de lípidos totais**

Para análise da composição de ácidos graxos do plasma e eritrócitos, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente. A extração total dos lipídeos foi realizada através do tratamento das amostras com clorofórmio: metanol (2:1, v/v) em temperatura ambiente de acordo com o procedimento descrito por Folch *et al* (1957). A cada 0,8 mL de amostra foi adicionado 5mL da mistura clorofórmio:metanol contendo 50 mg/L de BHT (antioxidante), levados a agitação por 10 minutos, e posteriormente adicionado mais 0,5 mL de NaCl 1M e levado ao vórtex por mais 30 segundos. Após centrifugação (2000 rpm por 10 min) a camada inferior contendo os lípidos totais foi coletada em tudo seco, seca em atmosfera de nitrogênio e armazenada em freezer até sua utilização.

### **3.11 Determinação do perfil de ácidos graxos por cromatografia a gás**

Os lipídios totais do plasma e eritrócitos foram levados para a reação de transesterificação onde os ácidos graxos foram convertidos em ésteres metílicos de ácidos graxos usando  $\text{BF}_3$  metanol como reagente esterificante (AOCS, 1993). Os ésteres metílicos diluídos em hexano foram analisados por cromatografia à gás usando cromatógrafo CHROMPACK® chromatographer (model CP 9001) com o detector de ionização em chama e a coluna capilar CP-Sil 88 (Chrompack, WCOT Fused Silica 59 m x 0.25 mm). As temperaturas do detector foram de 280°C e a do injetor foi de 250°C. A temperatura inicial da coluna foi de 180°C por 2 minutos, programado para aumentar 10°C por minuto até 210°C no tempo total de corrida de 30 minutos. O gás de arraste usado foi o hidrogênio na frequência de fluxo de 2,0 mL/ minuto. A identificação dos ácidos graxos foi realizada por comparação do tempo de retenção dos componentes das amostras com padrões autênticos de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco) injetados sob as mesmas condições de análise. A composição dos ácidos graxos foi expressa em relação ao percentual dos ácidos graxos totais, calculada segundo o valor de área de cada pico usando o software N2000.

### **3.12 Análise estatística**

A análise estatística foi realizadas utilizando o programa InStat (versão 2.0) e para a análise e elaboração dos gráficos foi utilizado o programa Prism (GrandPad Software, São Diego, CA). Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão. Para comparação de dados demográficos, clínicos, laboratoriais e escores entre os grupos foram utilizados testes não paramétricos. Para avaliação entre os grupos, foi utilizado o Teste de Mann-Whitney. Para análise entre os grupos, de dados qualitativos, foi utilizado o Teste Exato de Fisher. A análise dos dois grupos nos diferentes tempos de coleta de dados foi realizado o Teste de Friedman para dados pareados e o Teste de Kruskal-Wallis para dados não pareados. O  $p < 0,05$  foi considerado significativo.



## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Dados demográficos e clínicos dos indivíduos**

No estudo foram incluídos 8 indivíduos, sendo que 7 do sexo masculino e 1 do sexo feminino. Três (3) pacientes foram randomizados para o grupo óleo de peixe e cinco (5) para o grupo controle. A idade média foi de  $41,7 \pm 17,2$  no GOP e  $58,0 \pm 8,5$  no GC ( $p=0.25$ ).

Com relação as demais características: Índice de massa corporal (IMC), gravidade da doença (APACHE II, SOFA) comorbidades, diagnóstico de sepse grave ou choque séptico, presença de insuficiência renal aguda, síndrome do desconforto ventilatório agudo, necessidade de ventilação mecânica e foco de infecção, não houve diferença entre os grupos. As comorbidades observadas foram arritmia, hipertensão arterial, diabetes, dislipidemia, tabagismo e etilismo, sendo que todos os pacientes do GC apresentavam pelo menos uma comorbidade e dois indivíduos apresentaram mais de uma comorbidade e somente um indivíduo do GOP apresentava uma comorbidade (etilismo). A análise entre os grupos de indivíduos com comorbidade e com mais de uma comorbidade não apresentou significância estatística ( $p=0.375$  e  $p=0.464$  respectivamente).

Os resultados referentes aos dados demográficos e clínicos estão apresentados na tabela 5. Os dois grupos apresentavam características semelhantes em relação aos dados demográficos (idade e sexo), à gravidade (APACHE II e SOFA) e outros dados clínicos.

**Tabela 5.** Dados demográficos e clínicos no momento T0 nos grupos controle e suplementado com emulsão lipídica de óleo de peixe

	Grupo suplementado (n=3)	Grupo controle (n=5)	P
Sexo (masc : fem)	3 : 0	4 : 1	1.00
Idade (média ± DP)	41,7 ± 17,2	58,0 ± 8,5	0.25
IMC (média ± DP)	22,9 ± 2,2	25,5 ± 4,6	0.57
Sepse grave, n (%)	1 (33,3)	2 (40,0)	1.00
Choque séptico, n (%)	2 (66,7)	3 (60,0)	1.00
APACHE II (média ± DP)	16 ± 7,8	13,8 ± 6	0.79
SOFA (média ± DP)	7.67 ± 2.52	8.20 ± 1.92	0.79
Insuficiência renal aguda, n (%)	0	1 (20,0)	1.00
SDRA, n (%)	1 (33,3)	2 (40,0)	1.00
Necessidade VM, n (%)	3 (100)	4 (80,0)	1.00
Foco infecção (pneumonia), n (%)	3 (100)	4 (80,0)	1.00
Cultura: gram positivo / negativo (n)	1 / 1	2 / 0	1.00
Comorbidades, n (%)	2 (66,7)	5 (100)	0.37
Arritmia	0	1 (20,0)	1.00
Hipertensão arterial	0	2 (40,0)	0.46
Diabetes	0	2 (40,0)	0.46
Dislipidemia	0	1 (20,0)	1.00
Tabagismo	0	2 (40,0)	0.46
Etilismo	1 (33,3)	0	0.11
Pacientes com mais de uma comorbidade, n (%)	0	2 (40,0)	0,46

IMC: Índice de massa corporal; APACHE: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*; SOFA: *Sequential Organ Failure Assessement*; SDRA: Síndrome do desconforto ventilatório agudo; VM: ventilação mecânica (Teste de Fisher)

## 4.2 Dados bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos avaliados no T0 foram comparados entre os grupos e nenhum deles apresentou diferença significativa, conforme apresentado na tabela 6.

**Tabela 6.** Dados bioquímicos no momento T0 nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe

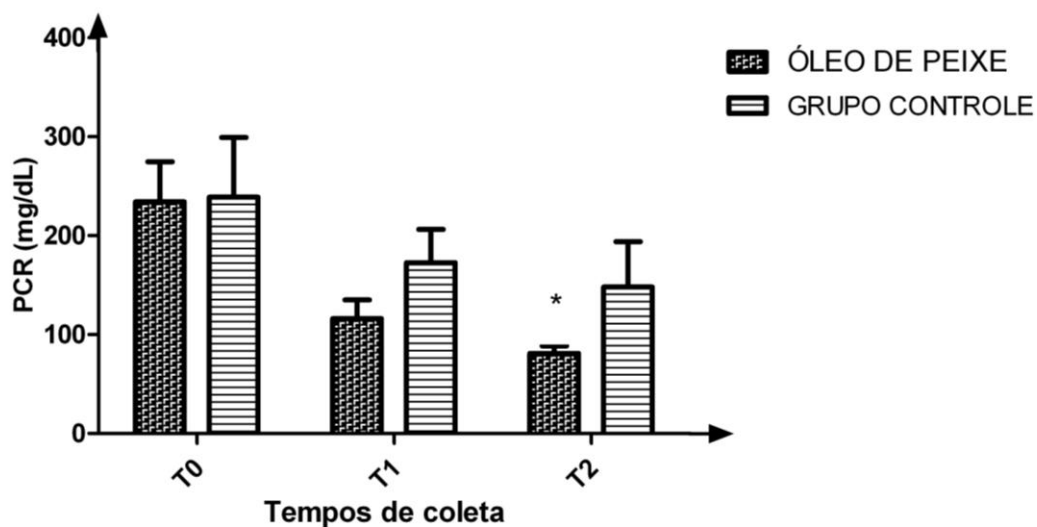
	Grupo óleo de peixe (n=3)	Grupo controle (n=5)	P
Relação PCR/albumina (média ± DP)	89,4 ± 33,3	81,8 ± 49,0	0.79
Contagem de linfócitos/mm <sup>3</sup> (média±DP)	1038 ± 319,8	1147,2 ± 619,8	> 0.99
Contagem linfócitos (% do total) %	9.67 ± 1.53	13.2 ± 8.58	> 0.99
Proteína C reativa (mg/dl)	234,1 ± 70,6	238,8 ± 134,92	> 0.99
Relação PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	308,67 ± 50,85	195,80 ± 107,72	0.25
Lactato (mg/dl)	8,87 ± 6,70	10,76 ± 6,65	0.79
Leucócitos (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	10,68 ± 26,13	11,65 ± 39,72	0.79
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	179,3 ± 107,3	195.8 ± 59,2	0.57
INR	1.38 ± 0.29	1.32 ± 0,37	0.57
Alaninoaminotransferase (ALT) (mg/dL)	30,3 ± 11,1	46,4 ± 51,7	0.79
Aspartatoaminotranferase (AST)	63,33 ± 23,71	50,20 ± 36,29	0.57
Bilirrubinas totais (mg/dL)	1,47 ± 1,76	0,56 ± 0,17	>0.99
Colesterol total (mg/dL)	131,00 ± 74,02	98,80 ± 38,73	>0.99
HDL (mg/dL)	20,33 ± 12,34	21,60 ± 13,16	>0.99
Triglicérides (mg/dl)	118,67 ± 85,58	157,20 ± 69,37	0.39

Os dados representam a média ± DP (Teste de Mann Whitney)

De acordo com o fabricante, os efeitos colaterais que podem acontecer com o uso da emulsão lipídica de óleo de peixe (Omegaven®) são distúrbios eletrolíticos, glicêmicos e distúrbios de coagulação, com alteração de INR, TTPA e sangramento. Nenhum paciente apresentou qualquer alteração eletrolítica ou de coagulação nos dois grupos.

Na tabela 7 estão expressos os resultados dos parâmetros bioquímicos obtidos nos três tempos da coleta dos grupos GC e GOP. Não foram observados diferenças na glicemia, albumina, colesterol total e frações, triglicérides, bilirrubinas total e frações, enzimas hepáticas (alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase), função renal (uréia e creatinina), leucócitos, linfócitos, plaquetas e na oxigenação (relação  $PaO_2/FiO_2$ ). Com relação a monitorização da perfusão com o lactato sérico não houve diferença entre os grupos.

Foi observado diferenças significativas nos valores de PCR entre os períodos T2 e T0 do GOP ( $p=0.03$ ), não sendo encontrado variação significativa no GC, conforme mostrado na figura 12.



**Figura 12.** Níveis de proteína C reativa nos três tempos de coleta (T0, T1 e T2) nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe, \* $p=0.03$  entre o período T2 e T0 do grupo óleo de peixe (teste de Friedman)

**Tabela 7.** Parâmetros bioquímicos nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe, nos tempos de coleta T0 (antes do início da infusão da emulsão de óleo de peixe), T1 e T2 (24 e 72 horas após o término da infusão, respectivamente)

	T0		T1		T2	
	Grupo controle	Grupo óleo de peixe	Grupo controle	Grupo óleo de peixe	Grupo controle	Grupo óleo de peixe
Glicemia (mg/dL)	130.40 ± 11.33	109.33 ± 12.22	146.20 ± 81.25	110.00 ± 15.39	117.80 ± 21.43	134.33 ± 12.10
Albumina (g/dL)	2.95 ± 0.11	2.69 ± 0.39	-	-	2.41 ± 0.49	2.92 ± 0.60
Relação PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	195.80 ± 107.72	308.67 ± 50.85	244.75 ± 139.68	235.00 ± 110.87	251.25 ± 135.55	325.33 ± 232.08
Lactato (mg/dL)	10.76 ± 6.65	8.87 ± 6.70	10.68 ± 7.83	10.00 ± 3.61	10.90 ± 5.75	7.00 ± 1.73
Proteína C reativa (mg/L)	238.80 ± 134.92	234.07 ± 70.57	172.70 ± 75.27	116.61 ± 32.61	148.16 ± 102.17	80.97 ± 13.15*
Linfócitos (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	1.37 ± 0.50	1.04 ± 0.32	1.32 ± 0.71	1.36 ± 0.23	1.16 ± 0.58	1.38 ± 0.36
Linfócitos (% relativa do total)	13.2 ± 8.58	9.67 ± 1.53	13.00 ± 6.44	13.33 ± 5.77	10.40 ± 7.50	10.33 ± 4.51
Leucócitos (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	9.60 ± 6.17	10,68 ± 2,61	10.85 ± 2.50	9.77 ± 1.88	10.98 ± 2.85	9.10 ± 6.17
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	195.80 ± 59.25	179.33 ± 107.30	193.80 ± 91.21	268.00 ± 140.27	274.85 ± 100.85	319.33 ± 207.93
INR	1.32 ± 0.37	1.38 ± 0.29	1.27 ± 0.19	1.35 ± 0.23	1.18 ± 0.09	1.33 ± 0.40
HDL	21.60 ± 13.16	20.33 ± 12.34	22.20 ± 16.60	20.00 ± 15.10	22.40 ± 16.73	23.00 ± 14.42
LDL	45.60 ± 27.24	87.00 ± 61.24	49.20 ± 22.54	74.67 ± 42.02	51.20 ± 21.99	117.67 ± 21.22
Triglicérides (mg/dL)	157.20 ± 69.37	118.67 ± 85.58	119.8 ± 53.21	125.33 ± 53.16	115.60 ± 47.63	112.33 ± 28.04
Bilirrubina total (mg/dL)	0.56 ± 0.17	1.47 ± 1.76	0.46 ± 0.05	1.67 ± 2.02	0.42 ± 0.08	1.7 ± 2.25
ALT (U/L)	46.40 ± 51.69	30.33 ± 11.15	54.80 ± 48.51	30.33 ± 10.41	41.00 ± 25.74	53.66 ± 31.50
AST (U/L)	50.20 ± 36.29	63.33 ± 23.71	36.80 ± 12.91	67.00 ± 58.03	36.60 ± 12.01	105.00 ± 103.12
Creatinina (mg/dL)	1.08 ± 0.38	0.71 ± 0.23	1.24 ± 0.93	0.46 ± 0.20	1.23 ± 0.84	0.44 ± 0.11
Uréia (mg/dL)	56.27 ± 22.41	32.47 ± 22.43	43.84 ± 19.73	23.40 ± 13.55	47.34 ± 18.79	25.73 ± 4.74

Os dados representam a média ± DP. INR: Razão normalizada internacional (*International Normalized Ratio*); HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade. \*Diferença entre T0 e T2 no grupo óleo de peixe (p=0.03) (Teste de Friedman)

### **4.3 Composição de ácidos graxos no plasma e eritrócitos dos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe**

A composição de ácidos graxos foi determinada no plasma e eritrócitos, por cromatografia a gás, após processo de extração e esterificação dos lípides totais. As concentrações, expressas em porcentagem relativa de cada ácido graxo em relação ao total, estão mostradas nas tabelas 8 e 9.

Em relação ao plasma (tabela 8) não foram encontradas diferenças no total de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e AGPI n-6 entre os grupos e nos diferentes tempos de avaliação (T0, T1 e T2). Por outro lado, os níveis de EPA e DHA foram acrescidos de cerca de 3,5 a 2 vezes respectivamente após 24 horas de suplementação (T1) no GOP comparado ao GC. Este acréscimo refletiu no aumento significativo da somatória dos AGPI n-3 (ácidos linolênico – 18:3, eicosapentaenoico (EPA) – 20:5, docosapentaenóico (DPA) – 22:5 e docosahexaenóico (DHA) – 22:6) após 24 horas da infusão (T1) no GOP ( $4,13 \pm 0,54\%$ ) comparada aos valores do GC ( $2,71 \pm 1,36\%$ ) e comparada ao mesmo grupo antes da suplementação, T0 ( $2,35 \pm 0,55\%$ ). É possível observar que nos diferentes tempos de avaliação (T0, T1 e T2), há uma redução significativa da relação entre os AGPI n-6/AGPI n-3, evidenciado principalmente no T1 no GOP (Figura 13).

Em relação aos eritrócitos (tabela 9) não foram encontradas diferenças nas concentrações totais de ácidos graxos monoinsaturados e AGPI n-6 entre os grupos e nos diferentes tempos de avaliação (T0, T1 e T2) exceto na redução dos níveis de ácido linoleico (18:2 n-6) observado no GOP no T0 comparado ao respectivo GC. Em relação aos ácidos saturados, foi observado acréscimo do ácido esteárico (18:0) no GOP nos tempos de avaliação T1 e T2. Com relação aos AGPI n-3 foi observado aumento significativo na concentração de EPA no T1 do GOP ( $1,25 \pm 0,29$ ), comparado ao GC ( $0,73 \pm 0,35$ ) e no T2 do GOP ( $1,09 \pm 0,38$ ), comparado ao GC ( $0,31 \pm 0,21$ ). A relação entre os AGPI n-6/AGPI n-3 nos eritrócitos não foi alterada com a suplementação conforme a figura 14.

**Tabela 8.** Composição de ácidos graxos (% relativa do total) de lípides totais do plasma nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe, nos tempos de coleta T0 (antes do início da infusão da emulsão de óleo de peixe), T1 e T2 (24 e 72 horas após o término da infusão, respectivamente)

Ácidos graxos	T0		T1		T2	
	Grupo controle	Grupo óleo de peixe	Grupo Controle	Grupo óleo de peixe	Grupo Controle	Grupo óleo de peixe
16:0	25,17 ± 2,92	24,98 ± 2,57	23,18 ± 3,07	23,74 ± 2,25	22,81 ± 2,92	23,80 ± 1,65
18:0	8,19 ± 0,75	8,81 ± 1,35	9,44 ± 1,52	7,97 ± 3,45	8,43 ± 1,29	9,36 ± 2,17
<b>∑ AG saturados</b>	<b>33,34 ± 3,26</b>	<b>33,79 ± 1,38</b>	<b>32,84 ± 4,22</b>	<b>31,70 ± 4,90</b>	<b>31,13 ± 2,59</b>	<b>32,48 ± 2,31</b>
16:1 n-7	4,30 ± 1,49	4,70 ± 0,69	3,13 ± 1,11	4,33 ± 1,11	3,04 ± 1,19	4,04 ± 1,05
18:1 n-9	25,14 ± 1,78	24,827 ± 2,01	29,02 ± 5,54	25,92 ± 4,62	30,20 ± 5,52	27,08 ± 3,18
<b>∑ AG monoinsaturados</b>	<b>28,60 ± 4,49</b>	<b>29,52 ± 2,49</b>	<b>31,50 ± 6,17</b>	<b>30,25 ± 5,46</b>	<b>32,32 ± 6,00</b>	<b>31,12 ± 4,20</b>
18:2 n-6	23,49 ± 4,50	26,52 ± 4,08	28,66 ± 3,28	27,47 ± 5,70	29,20 ± 3,06	25,55 ± 4,47
20:4 n-6 (ARA)	5,44 ± 2,71	7,07 ± 1,52	4,80 ± 2,73	7,16 ± 1,70	4,13 ± 1,75	5,56 ± 1,29
<b>∑ AGPI n-6</b>	<b>35,01 ± 4,60</b>	<b>33,56 ± 2,29</b>	<b>33,11 ± 5,11</b>	<b>33,78 ± 7,04</b>	<b>33,22 ± 3,45</b>	<b>31,24 ± 5,33</b>
18:3 n-3	0,46 ± 0,19	0,36 ± 0,11	0,56 ± 0,35	0,31 ± 0,18	0,38 ± 0,12	0,44 ± 0,28
20:5 n-3 (EPA)	0,25 ± 0,21	0,39 ± 0,16	0,47 ± 0,30	1,61 ± 0,87** <sup>a</sup>	0,27 ± 0,21	1,03 ± 0,30**
22:5 n-3 (DPA)	0,58 ± 0,30	0,47 ± 0,14	0,76 ± 0,57	0,53 ± 0,25	0,42 ± 0,28	0,31 ± 0,06
22:6 n-3 (DHA)	0,85 ± 0,37	1,19 ± 0,44	0,88 ± 0,57	1,65 ± 0,50*	0,73 ± 0,52	1,13 ± 0,34*
<b>∑AGPI n-3</b>	<b>2,02 ± 0,85</b>	<b>2,35 ± 0,55</b>	<b>2,71 ± 1,36</b>	<b>4,13 ± 0,54<sup>a</sup></b>	<b>1,89 ± 0,88</b>	<b>2,84 ± 0,41</b>
<b>∑AGPI n-6/∑ AGPI n-3</b>	<b>19,21 ± 6,04</b>	<b>14,89 ± 3,26</b>	<b>14,68 ± 6,98</b>	<b>8,34 ± 2,45<sup>a</sup></b>	<b>21,67 ± 9,55</b>	<b>11,18 ± 2,25*</b>

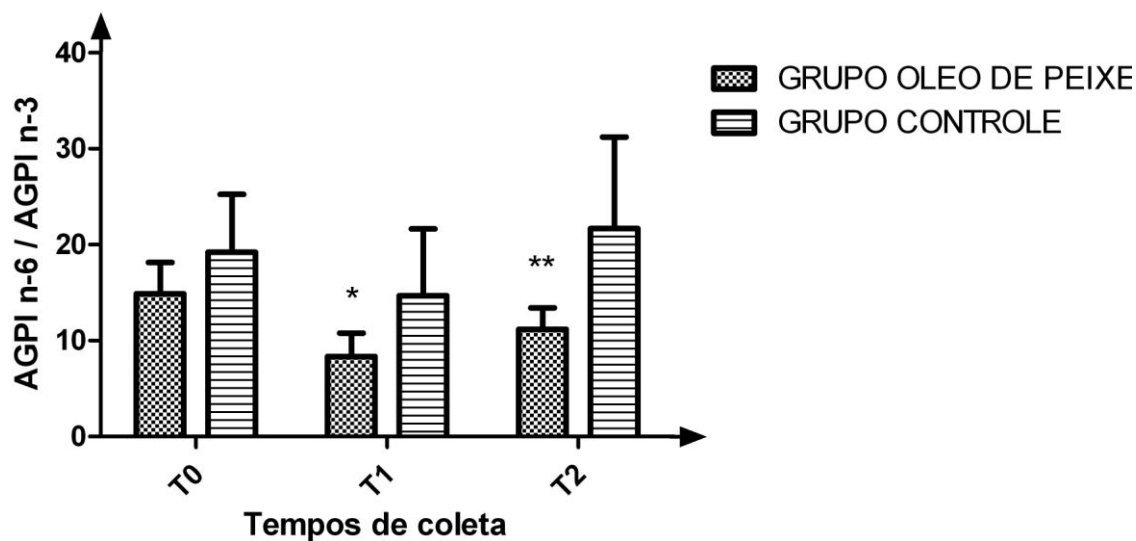
Os dados representam a média ± DP, \*p<0.05 entre os grupos suplementado e controle no mesmo tempo, \*\* p<0.01 entre os grupos suplementado e controle no mesmo tempo (Teste Mann-Whitney), <sup>a</sup>p<0,05 entre T1 e T0 do grupo suplementado (Teste de Friedman)

**Tabela 9.** Composição de ácidos graxos (% relativa do total) de lípidos totais nos eritrócitos nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe, nos tempos de coleta T0 (antes do início da infusão da emulsão de óleo de peixe), T1 e T2 (24 e 72 horas após o término da infusão, respectivamente)

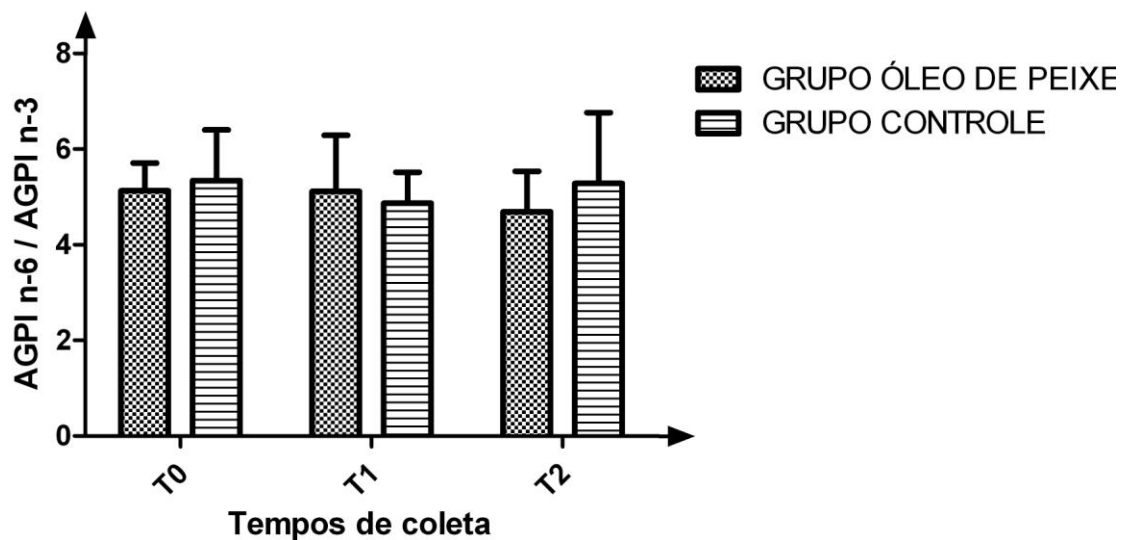
Ácidos graxos	T0		T1		T2	
	Grupo controle	Grupo óleo de peixe	Grupo Controle	Grupo óleo de peixe	Grupo controle	Grupo óleo de peixe
16:0	25.57 ± 4.68	28.34 ± 1.33	25.04 ± 2.81	27.71 ± 1.45	25.49 ± 2.87	26.95 ± 1.39
18:0	14.33 ± 1.59	18.15 ± 3.41	14.29 ± 2.08	21.17 ± 0.96**	16.26 ± 1.52	21.39 ± 2.90**
<b>AGs saturados</b>	<b>39.90 ± 4.40</b>	<b>46.92 ± 3.67</b>	<b>39.33 ± 3.90</b>	<b>45.03 ± 10.86</b>	<b>41.75 ± 2.95</b>	<b>48.93 ± 2.09**</b>
16:1 n-7	1.30 ± 0.32	1.44 ± 0.29	1.93 ± 0.71 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.32	1.92 ± 0.85	1.40 ± 0.67
18:1 n-9	18.89 ± 1.85	16.55 ± 1.65	18.47 ± 2.11	17.49 ± 1.71	19.83 ± 2.39	19.40 ± 2.29
<b>∑ AGs monoinsaturados</b>	<b>20.20 ± 1.93</b>	<b>17.96 ± 1.95</b>	<b>20.40 ± 1.81</b>	<b>18.48 ± 1.17</b>	<b>21.75 ± 2.37</b>	<b>20.33 ± 2.18</b>
18:2 n-6	16.30 ± 1.87	13.40 ± 0.93*	14.40 ± 2.08	13.28 ± 0.64	13.11 ± 4.15	14.23 ± 0.93
20:4 n-6 (ARA)	12.09 ± 2.62	14.65 ± 1.65	14.02 ± 1.67	13.05 ± 1.35	13.46 ± 3.13	13.19 ± 1.74
<b>∑ AGPI n-6</b>	<b>28.39 ± 1.74</b>	<b>27.95 ± 1.79</b>	<b>28.42 ± 3.34</b>	<b>26.34 ± 1.78</b>	<b>26.58 ± 6.00</b>	<b>27.97 ± 1.55</b>
18:3 n-3	0.43 ± 0.33	0.34 ± 0.06	0.26 ± 0.10	0.38 ± 0.17	0.32 ± 0.17	0.34 ± 0.06
20:5 n-3 (EPA)	0.40 ± 0.07	0.57 ± 0.20	0.73 ± 0.35	1.25 ± 0.29 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.21	1.09 ± 0.38 <sup>**b</sup>
22:5 n-3 (DPA)	1.58 ± 0.67	1.54 ± 0.20	2.11 ± 0.82	1.50 ± 0.23	1.76 ± 0.88	1.48 ± 0.30
22:6 n-3 (DHA)	2.16 ± 0.71	1.83 ± 0.22	2.29 ± 0.91	1.92 ± 0.36	1.95 ± 0.94	2.09 ± 0.43
<b>∑AGPI n-3</b>	<b>5.47 ± 1.34</b>	<b>5.55 ± 0.51</b>	<b>6.12 ± 1.94</b>	<b>5.61 ± 1.29</b>	<b>5.13 ± 2.07</b>	<b>6.07 ± 0.80</b>
<b>∑AGPI n-6/∑ AGPI n-3</b>	<b>5.34 ± 1.06</b>	<b>5.13 ± 0.58</b>	<b>4.87 ± 0.65</b>	<b>5.12 ± 1.17</b>	<b>5.28 ± 1.48</b>	<b>4.69 ± 0.85</b>

Os dados representam a média ± DP, \*p<0.05 entre os grupos suplementado e controle no mesmo tempo, \*\* p<0.01 entre os grupos suplementado e controle no mesmo tempo (Teste Mann-Whitney), <sup>a</sup>p<0,05 entre T1 e T0 do grupo suplementado <sup>b</sup>p<0.05 entre T2 e T0 do grupo suplementado (Teste de Friedman)





**Figura 13.** Relação da somatória da AGPI n-6/AGPI n-3 nos lípides totais no plasma nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe nos tempos de coleta T0, T1 e T2; \* $p < 0.05$  entre T1 e T0 grupo suplementado (Teste de Friedman); \*\* $p = 0.04$  entre grupo suplementado e controle no momento T2 (Teste de Mann-Whitney)



**Figura 14.** Relação da somatória da AGPI n-6/AGPI n-3 nos lípides totais nos eritrócitos nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe nos tempos de coleta T0, T1 e T2 (Testes de Friedman e Mann Whitney)

#### **4.4 Composição dos ácidos graxos dos lípides totais do plasma e eritrócitos de indivíduos saudáveis e com sepse grave e choque séptico**

A composição de ácidos graxos no plasma e eritrócitos de pacientes saudáveis (n=6) foi comparada com a de pacientes com diagnóstico de sepse selecionados no presente estudo (n=6) antes da suplementação da emulsão de óleo de peixe. Para a avaliação foram usados três pacientes randomizados para o GC (n=3) e três para o grupo GOP (n=3). Os resultados estão apresentados na tabela 10.

Os pacientes com diagnóstico de sepse e choque séptico mostraram diferenças significativas nos teores de AGMI e de AGPI n-6 quando comparados com indivíduos saudáveis. Foi observado aumento dos teores de AGMI no plasma, em especial de ácido oléico (18:1 n-9), e redução da somatória de AGPI n-6 no plasma ( $p=0,0116$ ) e nos eritrócitos ( $p= 0,0005$ ). Pode-se observar uma redução dos níveis de ácido linoléico (18:2 n-6) e de ARA (20:4 n-6), embora sem significância, no plasma e nos eritrócitos dos pacientes com sepse grave ou choque séptico. As porcentagens de ácidos graxos saturados e de AGPI n-3 não mostraram diferenças significativas entre os grupos.

**Tabela 10.** Composição de ácidos graxos dos lípidos totais do plasma e eritrócitos de indivíduos saudáveis (n=6) e indivíduos com sepse grave e choque séptico (n=6)

Ácidos graxos	Pacientes saudáveis (n=6)		Pacientes com sepse (n=6) <sup>a</sup>	
	Plasma	Eritrócitos	Plasma	Eritrócitos
16:0	26,61 ± 3,54	25,63 ± 2,87	24,23 ± 1,74	28,79 ± 2,54
18:0	8,32 ± 1,52	15,31 ± 3,04	9,13 ± 0,95	16,56 ± 2,79
<b>∑ AGs saturados</b>	<b>34,93 ± 2,54</b>	<b>40,95 ± 5,27</b>	<b>33,36 ± 3,21</b>	<b>45,35 ± 1,89</b>
16:1 n-7	4,18 ± 0,92	1,37 ± 0,38	4,38 ± 1,08	1,48 ± 0,73
18:1 n-9	19,50 ± 2,83	16,48 ± 2,45	25,67 ± 2,76*	18,65 ± 1,14
			(p=0,012)	
<b>∑ AGs monoinsaturados</b>	<b>23,68 ± 1,74</b>	<b>17,85 ± 1,93</b>	<b>30,05 ± 3,07*</b>	<b>20,13 ± 3,01</b>
			<b>(p=0,014)</b>	
18:2 n-6	29,62 ± 2,27	17,81 ± 1,94	26,68 ± 4,67	15,14 ± 0,69
20:4 n-6 (ARA)	7,93 ± 2,46	16,12 ± 3,17	5,89 ± 3,89	13,32 ± 2,08
<b>∑ AGPI n-6</b>	<b>37,55 ± 1,69</b>	<b>33,93 ± 2,28</b>	<b>32,57 ± 3,18*</b>	<b>28,46 ± 1,37*</b>
			<b>(p=0,0116)</b>	<b>(p=0,005)</b>
18:3 n-3	0,83 ± 0,55	0,39 ± 0,23	0,44 ± 0,37	0,43 ± 0,33
20:5 n-3 (EPA)	0,39 ± 0,09	0,54 ± 0,18	0,36 ± 0,15	0,44 ± 0,08
22:5 n-3 (DPA)	0,48 ± 0,29	1,92 ± 0,74	0,57 ± 0,32	1,68 ± 0,47
22:6 n-3 (DHA)	1,57 ± 0,47	2,85 ± 0,79	1,06 ± 0,53	2,16 ± 0,78
<b>∑AGPI n-3</b>	<b>3,27 ± 0,54</b>	<b>5,70 ± 1,38</b>	<b>2,43 ± 1,78</b>	<b>4,71 ± 1,34</b>
<b>∑AGPI n-6/∑ AGPI n-3</b>	<b>11,48 ± 2,94</b>	<b>5,95 ± 2,54</b>	<b>13,40 ± 3,95</b>	<b>6,04 ± 2,15</b>

Os dados representam a média ± DP. Dados dos pacientes com sepse e choque séptico antes da suplementação (T0), sendo 3 pacientes do GC e 3 pacientes do GOP \* diferença entre os grupos (Teste Mann-Whitney)

#### 4.5 Desfechos clínicos

A Tabela 11 mostra os desfechos clínicos encontrados nos grupos controle e suplementado com emulsão lipídica de óleo de peixe. Foram analisados dias de ventilação mecânica, dias de internação em UTI, dias de internação hospitalar e necessidade de hemodiálise. Destas variáveis avaliadas nenhuma apresentou diferença significativa entre os grupos e entre os tempos.

A análise do balanço hídrico acumulado foi realizada somando-se os ganhos no período (medicações, soluções para hidratação, soluções para diluição de drogas e dieta), e subtraindo as perdas (predominantemente a diurese). Não houve diferença entre os grupos ao final de T2.

A porcentagem de pacientes do GC que apresentou um novo evento de infecção foi 60% (3 de 5 pacientes), sendo que um deles apresentou dois eventos, sendo elas: infecção do trato urinário (no D6, referente ao T2) e pneumonia associada a ventilação mecânica (no D12). Os outros dois pacientes apresentaram traqueobronquite (no D6, referente ao T2) e pneumonia (no D40). No GOP nenhum paciente apresentou infecção ( $p=0.196$ ).

Com relação ao 28<sup>o</sup> dia após a internação, os três pacientes do GOP e GC haviam recebido alta hospitalar e dois pacientes do grupo GC continuavam internados ( $p = 0.46$ ).

As informações obtidas com os indivíduos ou familiares, após 3 meses da alta da UTI, foram: dois pacientes do GOP (67%) e um do GC (20%) haviam voltado ao trabalho ( $p=0.142$ ). Não há informação de diferença do estado pré-internação (“sequela” permanente ou transitória) no GOP (contato com dois pacientes). Três pacientes do GC apresentaram diferença no estado clínico pós internação (60%) no momento de 3 meses após a alta, sendo um deles, dificuldade para andar, o outro dispnéia aos esforços e o terceiro indivíduo estava em desmame da traqueostomia.

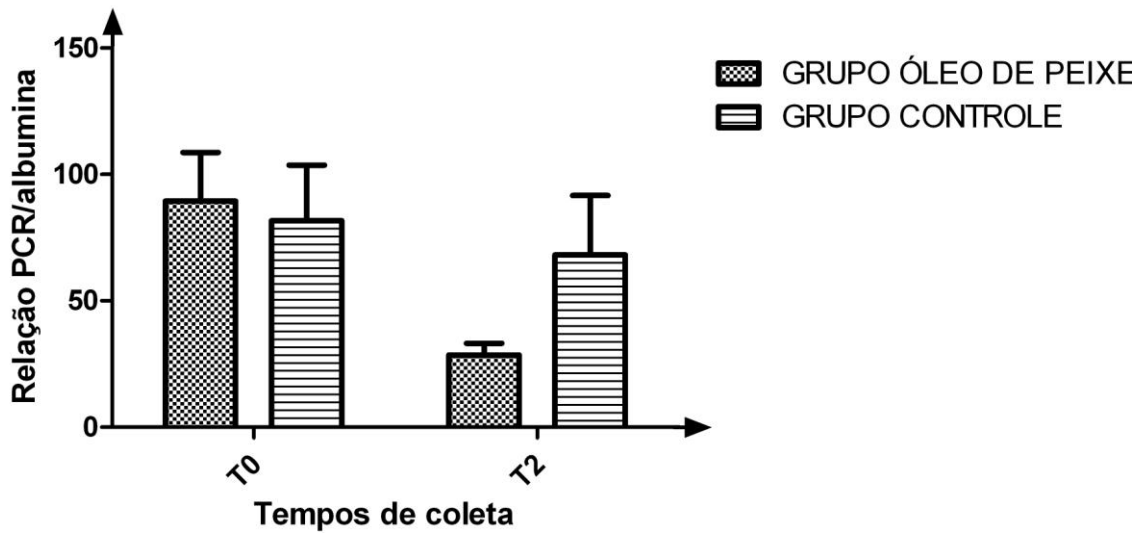
Complicações relacionadas ao trato gastrointestinal foram encontradas em um indivíduo de cada grupo, sendo que no GOP um indivíduo apresentou um episódio de vômito em um dia e no GC um indivíduo apresentou um episódio de fezes líquidas também em apenas dia.

**Tabela 11.** Parâmetros clínicos nos grupos controle e suplementado com emulsão lipídica de óleo de peixe

	Grupo suplementado (n=3)	Grupo controle (n=5)	p
Dias de VM (média ± DP)	8,7 ± 4,6	12,8 ± 9,6	0.571
Dias de VM* (média ± DP)	8,7 ± 4,6	16 ± 7,4	0.229
Dias de UTI (média ± DP)	9,7 ± 4,6	13,6 ± 9,1	0.392
Dias de UTI* (média ± DP)	9,7 ± 4,6	16,8 ± 6,7	0.114
Dias hospital (média ± DP)	17,7 ± 4	28,6 ± 10,4	0.250
Novo evento de infecção <sup>+</sup> , n (%)	0	3 (60,0)	0.196
Necessidade de hemodiálise, n (%)	0	1 (20,0)	1.000
Complicações gastrointestinais <sup>++</sup>	1 (33,3)	1 (20,0)	1.000
Balanço hídrico acumulado no T2 (média Litros ± DP)	10,4 ± 6,4	10,9 ± 7,1	>0.999
Necessidade de traqueostomia, n (%)	0	3 (60,0)	0.196
Alta hospitalar em 28 dias, n (%)	3 (100)	3 (60)	0.46
Estado clínico pós alta (estudo ou trabalho) <sup>+++</sup> , n (%)	2 (67,0)	1 (20,0)	0.142
Estado clínico pós alta (disfunção no 3 <sup>o</sup> mês após alta da UTI), n (%)	0	3 (60,0)	0.427

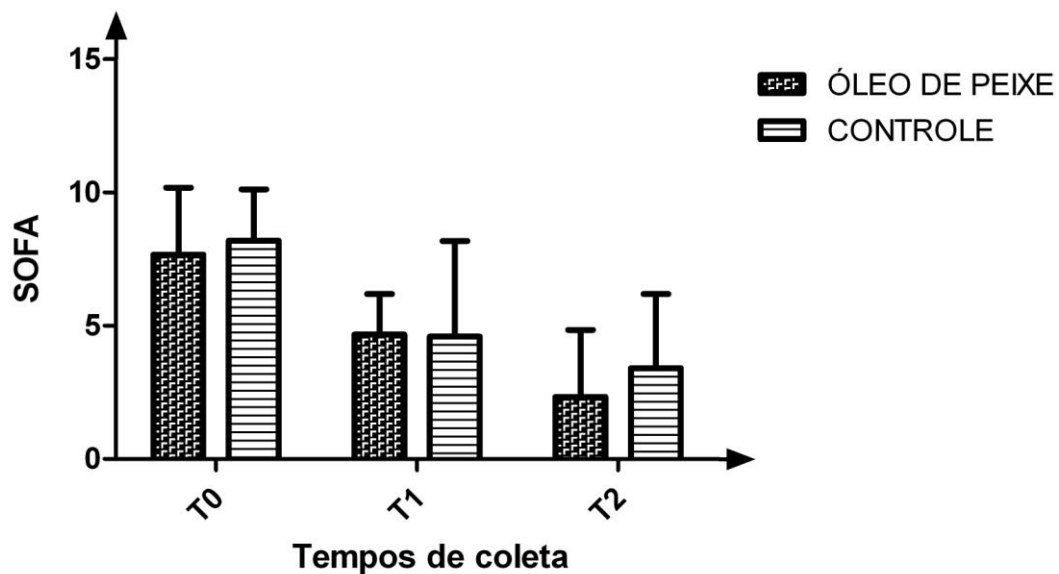
\*Excluído um paciente que não usou ventilação mecânica invasiva; <sup>+</sup>Um paciente com 2 eventos novos de infecção (Infecção do trato urinário + pneumonia associada a ventilação mecânica), um com traqueobronquite e um com pneumonia; <sup>++</sup>Vômito ou diarreia; <sup>+++</sup> Sem sucesso no contato com um paciente do grupo óleo de peixe (Teste de Fisher e Mann Whitney)

Os resultados obtidos da relação PCR/albumina nos tempos T0 e T2 estão mostrados na Figura 15. Pode-se observar uma redução mais acentuada no GOP comparado com o GC, mas sem significado estatístico.



**Figura 15.** Relação PCR/albumina nos tempos T0 e T2 nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe (Teste Wilcoxon)

A Figura 16 mostra os dados do escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) monitorado nos 3 tempos (T0, T1 e T2). Não foi observada diferenças entre os grupos e entre os tempos.



**Figura 16.** Escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessement*) nos grupos controle e suplementado com emulsão de óleo de peixe (Teste Mann Whitney)

## 5. DISCUSSÃO

Trabalhos relatados na literatura sobre a suplementação de AGPI-n3 utilizam diferentes métodos relacionados a via de administração (enteral ou parenteral), dose, momento do início da infusão e tempo de administração, o que limita uma comparação mais efetiva com os dados encontrados no presente trabalho.

Em concordância aos dados já relatados anteriormente (Friebeck *et al*, 2008; Khor *et al*, 2011), a suplementação com a emulsão lipídica de óleo de peixe por via endovenosa como nutrição parenteral ou farmaconutrição respectivamente, em pacientes com sepse mostrou-se segura, sem ocorrência de eventos adversos maiores. Nenhum dos sujeitos da pesquisa que recebeu a suplementação apresentou distúrbios metabólicos, envolvendo eletrólitos (sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo) ou glicose, alteração de enzimas hepáticas, colesterol, triglicérides ou alteração da coagulação com sangramento.

A via de administração escolhida para o presente estudo foi a endovenosa (parenteral), uma vez que trabalhos anteriores mostraram uma rápida incorporação dos AGPI n-3 da emulsão de óleo de peixe por essa via (Mayer *et al*, 2003; Barros *et al*, 2013b). Segundo Barros *et al*, 2013, a via parenteral é mais efetiva em aumentar o EPA e o DHA no plasma, em células brancas do sangue, fígado e coração de camundongos comparada com a via oral. Este resultado foi encontrado com a comparação de três grupos, um que recebeu emulsão lipídica de óleo de peixe endovenosa a 0,2g/Kg/dia por três dias, outro solução salina e outro emulsão lipídica de óleo de soja. A avaliação foi feita 24 horas após o término da última infusão.

O benefício mais frequentemente observado na literatura consultada é a melhora da oxigenação (relação  $PaO_2/FiO_2$ ) tanto na suplementação com dieta enteral imunomoduladora contendo AGPI n-3 e outros nutrientes (selênio, glutamina, arginina) comparada com a dieta enteral padrão quanto na administração parenteral de emulsão lipídica rica em AGPI n-3 comparada a infusão de outras emulsões lipídicas ricas em AGPI n-6 (Barbosa *et al*, 2010) ou com grupos controle (Barros *et al*, 2013a). A melhora da oxigenação não foi evidenciada neste estudo, assim como não houve alterações no tempo de ventilação mecânica, no tempo de permanência em UTI e no hospital.

Na avaliação bioquímica, exceto os níveis séricos de PCR, nenhum dos parâmetros avaliados mostrou alteração em relação aos grupos de estudo (efeito da suplementação) e tempo avaliado após a suplementação. Foi observado diminuição dos níveis séricos de PCR no grupo suplementado entre o T2 e T0 ( $p=0.03$ ). A PCR é uma molécula produzida pelo fígado em resposta a uma resposta inflamatória, considerada uma proteína de fase aguda. Essa diminuição da PCR sugere que há um controle da resposta inflamatória com a administração da emulsão lipídica de óleo de peixe. Este achado confirma os resultados descritos previamente por McDaniel *et al*, 2013 e Gultekin *et al*, 2014. McDaniel *et al*, 2013 avaliaram a suplementação oral de EPA (1,6g) e DHA (1,2g) por quatro semanas, comparado com placebo, em estudo duplo cego, com indivíduos jovens e saudáveis. Amostras de sangue e saliva foram coletadas antes do início da suplementação e após quatro semanas. No sangue foi avaliada a concentração de AGPI e na saliva, a dosagem da PCR, esta com correlação com o valor sérico. Os indivíduos que consumiram EPA e DHA tinham uma correlação negativa da PCR com o aumento dos AGPI n-3, maiores concentrações de AGPI n-3 e menor relação n-6:n-3 ( $p<0.001$ ). Gultekin *et al*, 2014, em estudo com indivíduos com sepse em uso de terapia nutricional parenteral, avaliou a administração de nutrição parenteral com 80% de óleo de oliva, 20% de óleo de soja com associação de 10g de óleo de peixe, comparado com indivíduos que receberam a dieta padrão contendo apenas óleo de oliva. No grupo que recebeu o óleo de peixe, houve diminuição dos níveis de LTB<sub>4</sub> e da PCR ( $p<0.05$ ).

A relação PCR/albumina representa um indicador simplificado que pode ser usado como Índice de Prognóstico Nutricional e Inflamatório (IPIN). Quanto maior esse valor, maior o risco de os pacientes apresentarem complicações e morte. Segundo Corrêa *et al*, 2002, um valor menor que um indica paciente sem inflamação/infecção, valores de 1 a 10 indicam baixo risco de infecção, entre 10 e 20 médio risco, de 21 a 31 alto risco de complicações e maior que 30 indica paciente com risco de óbito (inflamação importante). Sabe-se que a PCR é a proteína positiva da fase aguda indicativa da gravidade da doença inflamatória com ou sem presença de infecção. Os níveis séricos de PCR guardam relação com a atividade de citocinas pró-inflamatórias (Yentis *et al*, 1995) e são proporcionais à área de lesão e, mesmo, à morbimortalidade



dos pacientes (Wolbink *et al*, 1998). Um processo inflamatório tende a reduzir as concentrações séricas de albumina devido à inibição da sua síntese pelas citocinas pró-inflamatórias e ao aumento da permeabilidade vascular, com consequente saída para os espaços extravasculares (Pereira e Burini, 1992). Em pacientes com choque séptico, a saída da albumina para o espaço extravascular pode ter um aumento da ordem de 300% (Fleck *et al*, 1985).

Em relação à composição de ácidos graxos é nítido o aumento dos níveis de AGPI n-3 no plasma dos indivíduos suplementados comparada aos respectivos controles. Há um acréscimo de 1,5 vezes dos níveis de AGPI n-3 no GOP nos tempos T1 e T2 comparados ao respectivo GC. Este efeito refletiu de forma favorável, levando a redução da relação dos AGPI n-6/AGPI n-3 do plasma. A hipótese de que a suplementação de AGPI n-3 poderia diminuir os níveis plasmáticos de ARA e do total de AGPI n-6, como descrito por Barros *et al*, 2013a não foi confirmada em nosso estudo. Uma maior relação dos AGPI n-6/n-3 favorece a manutenção de um estado inflamatório crônico, sustentado pela produção de prostaglandinas, como a PGE2 de características pró-inflamatória. Por outro lado, a redução desta relação pode trazer benefícios uma vez que direciona a produção de eicosanóides como a PGE3, com menor potencial inflamatório (Calder, 2007). Além disso, os AGPI n-3 podem interferir na transdução gênica de fatores de transcrição, como o fator de transcrição nuclear kB (NF-kB) e os receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (PPAR), inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) e portanto, a resposta inflamatória coordenada por estas, caracterizada por valores elevados de PCR e redução das concentrações de albumina plasmática (Chapkin *et al*, 2009).

Barbosa *et al*, 2010 descreveu aumento da concentração de EPA na fosfatidilcolina plasmática em grupo de pacientes com SIRS ou sepse que recebeu emulsão lipídica contendo ácidos graxos de cadeia média, óleo de soja e óleo de peixe (50:40:10), comparado com grupo que recebeu emulsão composta por ácidos graxos de cadeia média e óleo de soja (50:50) ( $p < 0.001$ ). Os autores observaram ainda diminuição na IL-6 e IL-10 ( $p < 0.001$ ).

Yaqoob *et al*, 2000 observaram um pico de incorporação de EPA e DHA em fosfolípidios plasmáticos após quatro semanas de suplementação oral com 9 g/dia de

de óleo de peixe contendo 2,1 g de EPA e 1,1 g de DHA durante 12 semanas em voluntários saudáveis (n = 40). Oito semanas após o término da suplementação, os autores observaram uma queda brusca (7,2 vezes) na concentração de EPA e na concentração de DHA (1,4 vezes). Esses resultados confirmam o baixo acúmulo desses ácidos graxos, especialmente de EPA, implicando em um consumo contínuo para manutenção dos níveis plasmáticos. Mayer *et al*, 2003 relataram aumento dos valores de AGPI n-3 e alteração da relação AGPI n-6/ AGPI n-3 nos ácidos graxos livres do plasma após dois dias de infusão de emulsão lipídica de óleo de peixe (350mL/dia solução a 10%), valores quase três vezes superiores ao utilizado no nosso trabalho. O pico máximo foi alcançado em três dias e retorno aos níveis basais após 12 dias.

Segundo nosso conhecimento há somente dois artigos mostrando as alterações da composição das frações de lípidos de pacientes com sepse. Comparados aos indivíduos saudáveis. Os autores encontraram aumento dos níveis de AGMI (ácidos palmitoléico e oléico) e redução significativa dos AGPI n-6 (ácido linoléico e araquidônico) na fração de ésteres de colesterol e fosfolípidos do plasma e também nos fosfolípidos dos eritrócitos (Novák *et al*, 2010 e Barros *et al*, 2013a), semelhante aos observados em nosso trabalho, com diminuição do ácido oléico nos lípidos totais do plasma e dos AGPI n-6 nos lípidos totais do plasma e eritrócitos. Segundo os autores, esta alteração pode ser justificada por vários fatores, como diminuição da ingestão de ácido linoléico, aumento da necessidade de AGPI, principalmente ARA para a produção de eicosanóides e aumento da oxidação e peroxidação dos ácidos graxos da família n-6 na doença aguda (Novák *et al*, 2010).

Outro dado encontrado na literatura é a diminuição de aquisição de novas infecções após o evento de sepse (Galbán *et al*, 2000) em pacientes suplementados com óleo de peixe. Neste estudo, apesar de não ter significância, observou-se que no grupo óleo de peixe, nenhum dos três pacientes apresentou um novo evento de infecção. Por outro lado, foi observado em três pacientes do grupo controle pelo menos um novo evento infeccioso (60%).

Alguns sistemas de pontuação, os chamados Índices prognósticos, tais como: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* (APACHE II), *Simplified Acute Physiology Score II* (SAPS II), *Logistic Organ Dysfunction System* (LODS) e *Sequential*

*Organ Failure Assessment* (SOFA) são úteis não só na avaliação do prognóstico dos pacientes em casos de internação, mas também para a avaliação da eficiência das condutas empregadas na UTI (Ho *et al*, 2006). Foi observado que nos pacientes randomizados, altos valores para o escore SOFA nos dois grupos de estudo, indicando alto risco de mortalidade. Não foi encontrada diferença significativa nesta avaliação.

Com relação a desfecho clínico, a maioria dos trabalhos avalia suporte na UTI (ventilação mecânica, necessidade de hemodiálise), e tempo de permanência em UTI, hospital e mortalidade hospitalar. A maioria deles não mostra alteração destes desfechos (Kief *et al*, 2005; Friesecke *et al*, 2008; Barbosa *et al*, 2010; Khor *et al*, 2011). A sepse com a presença de disfunção orgânica pode ser revertida com a terapia adequada, mas existe o risco de sequela pós evento da doença. Os estudos não avaliaram a existência de sequela cognitiva ou funcional no período após a sepse. Nossos dados mostraram que os pacientes do GOP após 3 meses de alta da UTI já haviam voltado a trabalhar e não se queixavam de diferença com relação ao estado pré-internação. Três dos cinco pacientes do grupo controle apresentavam alguma diferença com relação ao período pré-sepse e ainda não haviam voltado a realizar suas atividades rotineiras.

Neste estudo foi encontrada uma dificuldade relacionada à inclusão de pacientes na pesquisa. Os critérios mais rígidos usados para a inclusão dos indivíduos, adotados neste trabalho, têm como objetivo diminuir as diferenças entre os indivíduos da pesquisa, já que vários são os fatores envolvidos na amplitude da resposta inflamatória, entre eles imunossupressão, neoplasia e disfunções crônicas. Uma população-alvo homogênea leva a maior validade interna da pesquisa, uma vez que haverá menos interação das variáveis, e maior certeza na avaliação das hipóteses.

## 6. CONCLUSÃO

Esta pesquisa contribui com evidências de que a emulsão lipídica de óleo de peixe pode ser administrada de forma segura a pacientes com sepse grave e choque séptico, na dose de 0,2g/Kg/dia por três dias, e parece exercer efeito positivo sobre a resposta inflamatória sistêmica e sobre o perfil de ácidos graxos do plasma e dos eritrócitos destes pacientes.

Foi observada a eficácia da suplementação em aumentar os níveis de AGPI n-3 no plasma e eritrócitos dos pacientes. O aumento dos níveis de AGPI n-3 com consequente redução dos níveis de AGPI n-6, compostos de ação inflamatória, os quais estão aumentados nestes pacientes, pode levar a produção de metabólitos lipídicos menos inflamatórios e causar menos disfunções orgânicas nos pacientes acometidos pela patologia.

Outro efeito positivo observado com a suplementação de emulsão lipídica de óleo de peixe foi a redução significativa da PCR, que é uma molécula que indica presença de processo inflamatório agudo não específico. Níveis mantidos e elevados de PCR remetem a manutenção do processo inflamatório.

A suplementação pareceu não exercer influência sobre os desfechos clínicos, como mortalidade, permanência em UTI e hospitalar, tempo de ventilação mecânica e necessidade de droga vasoativa. Os dados clínicos obtidos durante a internação e três meses após a alta da UTI não foram conclusivos.

O número de pacientes incluídos foi pequeno e portanto, para melhor avaliação dos benefícios relacionados a suplementação da emulsão de óleo de peixe a pacientes com sepse grave e choque séptico, faz-se necessário aumento do número de sujeitos da pesquisa.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOCS. American Oil Chemists' Society. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society. 3ª edição. Washington, 1993.

Azevedo, L. C. P.; Machado, F. R. **Sepse**. (CBMI: Clínicas de Medicina Intensiva Brasileira). São Paulo: Ed. Atheneu, 2014. p. 13-20.

Barbosa, V. M.; Miles, E. A.; Calhau, C.; Lafuente, E.; Calder, P. C. Effects of a fish oil containing lipid emulsion on plasma phospholipid fatty acids, inflammatory markers, and clinical outcomes in septic patients: a randomized, controlled clinical trial. **Crit Care**, 14:R5, 2010.

Barros, K. V.; Carvalho, P. O.; Cassulino, A. P.; Andrade, I.; West, A. L.; Miles, E. A.; Calder, P. C.; Silveira, V. L. F. Fatty acids in plasma, white and red blood cells, and tissues after oral or intravenous administration of fish oil in rats. **Clin Nutr**, 32(6):993-998, 2013b.

Barros, K. V.; Cassulino, A. P.; Schalchb, L.; Munhoz, E. D. V.; Maneta, J. A.; Noakes, P. S.; Miles, E. A.; Calder, P. C.; Silveira, V. L. F. Supplemental intravenous n-3 fatty acids and n-3 fatty acid status and outcome in critically ill elderly patients in the ICU receiving enteral nutrition. **ESPEN J**, 32: 599-605, 2013a.

Bernard, G. R.; Vincent, J-L.; Laterre, P-F.; LaRosa, S. P.; Dhainaut, J-F.; Lopez-Rodrigues, A.; Steingrub. J.; Garber, G. E.; Helterbrand, J. D.; Ely, W.; Fisher Jr, C. J. Efficacy and Safety of Recombinant Human Activated Protein C for Severe Sepsis. **N Engl J Med**, 344(10): 699-709, 2001.

Bone, R. C.; Balk, R. A.; Cerra, F. B.; Dellinger, R. P. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the User of Innovative Therapies in Sepsis. **CHEST**, 101(6): 1644-1655, 1992.

Boomer, J. S.; Green, J. M.; Hotchkiss, R. S. The changing immune system in sepsis. Is individualized immuno-modulatory therapy the answer? **Virulence**, 5(1): 45-56, 2014.

Calder, P. C. Immunomodulation by omega-3 fatty acids. **Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acids**, 77: 327-335, 2007.

Calder, P. C. N-3 polyunsaturated fatty acids and immune cell function. **Advan Enzyme Regul**, 37: 197-237, 1997.

Calder, P. C.; Jensen, G. L.; Koletzko, B. V.; Singer, P.; Wanten, G. J. A. Lipid emulsion in parenteral nutrition of intensive care patients: current thinking and future directions. **Intensive Care Med**, 36: 735-749, 2010.

Calder, P. C. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. **Nutrients**, 2:355-374, 2010.

Chapkin, R. S.; Kim, W.; Lupton, J. R.; McMurray, D. N. Dietary docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid: emerging mediators of inflammation. **Acids Prostaglandins Leukot Essent Fatty**, 81:187-91, 2009.

Chuang, T-Y.; Chang, H-T.; Chung, K-P.; Cheng, H-S.; Liu, C-Y.; Liu, Y-C.; Huang, H-H.; Chou, T-C.; Chang, B-L.; Lee, M-R.; Lin, C-J.; Lee, S-W.; Yu, C-J.; Hsueh, P-R. High levels of serum macrophage migration inhibitory factor and interleukin 10 are associated with a rapidly fatal outcome in patients with severe sepsis. **Int J Infect Dis**, 20:13-17, 2014.

Corrêa, C.R.; Angeleli, A. Y. O. Comparação entre a relação PCR/albumina e o índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN). **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 38 (3):183- 190, 2002.

Curi, R.; Pompéia, C.; Miyasaka, C. K.; Procopio, J. **Entendendo a gordura. Os ácidos graxos**. Barueri: Ed. Manole, 2002. p. 7-14; 35-41; 301-320; 441-453.

Decker, T. Sepsis: avoiding its deadly toll. **J Clin Invest**. 113:1387-1389, 2004.

Dellinger, R.P.; Levy, M. M.; Carlet, J. M.; Bion, J.; Parker, M. M.; Jaeschke, R.; Reinhart, K.; Angus, D. C.; Brun-Buisson, C.; Beale, R.; Calandra, T.; Dhainaut, J-F.; Gerlach, H.; Harvey, M.; Marini, J. J.; Marshal, J.; Ranieri, M.; Ramsay, G.; Sevransky, J.; Thompson, B. T.; Townsend, S.; Vender, J. S.; Zimmerman, J. L.; Vincent, J-L. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. **Intensive Care Med**, 34: 17-60, 2008.

Dellinger, R.P.; Levy, M. M.; Rhodes, A.; Annane, D.; Gerlach, H; Opal, S. M.; Sevransky, J. E.; Sprung, C. L.; Douglas, I. S.; Jaeschke, R.; Osborn, T. M.; Nunnally, M. E.; Townsend, S. R.; Reinhart, K.; Kleinpell, R. M.; Angus, D. C.; Deuschman, C. S.; Machado, F. R.; Rubenfeld, G. D.; Webb, S. A.; Beale, R. J.; Vincent, J-L.; Moreno, R.; and the Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. **Intensive Care Med**, 39: 165-228, 2013.

Fleck, A.; Colley, C.M. & Myeres, M.A. Liver export proteins and trauma. **Br Med Bull**, 41(3): 265-73, 1985.

Friesecke, S.; Lotze, C.; Köhler, J.; Heinrich, A.; Felix, S. B.; Abel, P. Fish oil supplementation in the parenteral nutrition of critically ill medical patients: a randomised controlled trial. **Intensive Care Med**, 34:1411–1420, 2008.

Fürst, P.; Kuhn, K. S. Fish oil emulsions: what benefits can they bring? **ESPEN J**, 19(1): 7–14, 2000.

Galbán, C.; Montejo, J. C.; Mesejo, A.; Marco, P.; Celeya, S.; Sánchez-Segura, J.; Farré, M.; Bryg, D. J. An immune-enhancing enteral diet reduces mortality rate and episodes of bacteremia in septic intensive care unit patients. **Crit Care Med**, 28(3): 643-648, 2000.

Gultekin, G.; Sahin, H.; Inanc, N.; Uyanik, F.; Ok, E. Impact of omega-3 e omega-9 fatty acids enriched total parenteral nutrition on blood chemistry and inflammatory markers in septic patients. **Pak J Med Sci**, 30(2):299-304, 2014.

Hall, M.J.; Williams, S. N.; DeFrances, C. J.; Golosinskiy, M. S. Inpatient care for Septicemia or sepsis: A challenge for patients and hospitals. NCHS, 62: 1-8. Disponível em: [www.cdc.gov/nchs/data/databriefs/db62.htm](http://www.cdc.gov/nchs/data/databriefs/db62.htm). Acesso dia 01 de novembro de 2014.

Hall, T. C.; Bilku, D. K.; Al-Leswas, D.; P. Neal, C. P.; Horst, C.; Cooke, J.; Metcalfe, M. S.; Dennison, A. R. A Randomized Controlled Trial Investigating the effects of Parenteral Fish Oil on Survival Outcomes in Critical Ill Patients With Sepsis: A pilot Study. **J Parenter Enteral Nutr**, 2014. DOI 10.1177/0148607113518945.

Heyland, D.; Muscedere, J.; Wischmeyer, P. E.; Cook, D.; Jones, G.; Albert, M.; Elke, G.; Berger, M. M.; Day, A. G. A randomized Trial of Glutamine and Antioxidants in Critically ill Patients. **N Engl J Med**, 368(16): 1489-1497, 2013.

Heyland, D. K.; Novák, F.; Drover, J. W.; Jain, M.; Su, X.; Suchner, U. Should immunonutrition become routine in critically ill patients? **JAMA**, 22(29), 286: 944-953, 2001.

Ho KM, Dobb GJ, Kuiman M, et al. A comparison of admission and worst 24-hour Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II scores in predicting hospital mortality: a retrospective cohort study. **Crit Care**, 10(1):R4, 2006



Hotchiss, R. S.; Tinsley, K. W.; Swanson, P. E.; Schimieg Jr, R. E.; Hui, J. H.; Chang, K. C.; Osborne, D. F.; Freeman, B. D.; Cobby, J. P.; Buchman, T. G.; Karl, I. E. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4 T lymphocytes in humans. **J Immunol**, 166:6952-6963, 2001.

Kieft, H.; Roos, A. N.; Drunen, J. D. E.; Bindels, A. J. G. H.; Bindels, J. G.; Hofman, Z. Clinical outcome of immunonutrition in a heterogenous intensive care population. **Intensive Care Med**, 31:524-532, 2005.

Khor, B-S.; Liaw, S-J.; Shih, H-S.; Wang, L-S. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Fish-oil-based Lipid Emulsion Infusion for Treatment of Critically Ill Patients With Severe Sepsis. **Asian J Surg**, 34 (1):1-10, 2011.

Knobel, E. **Condutas no Paciente Crítico**. 3<sup>a</sup> edição. São Paulo: Atheneu, 2006. P. 61-78.

Latifi, S. Q.; O'Riordan, M. A.; Levine, A. D. Interleukin-10 controls the onset of irreversible septic shock. **Infect Immun**, 70(8): 4441-4446, 2002.

Levy, M. M.; Fink, M. P.; Marshall, J. C.; Abraham, E.; Angus, D.; Cook, D.; Cohen, J.; Opal, S. M.; Vincent, J. L.; Ramsay, G.; for the International Sepsis Definitions Conference. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. **Intensive Care Med**, 29:530–538, 2003.

Lv, S.; Han, M.; Yi, R.; Kwon, S.; Dai, C.; Wang, R. Anti-TNF- $\alpha$  therapy for patients with sepsis: a systematic meta-analysis. **Int J Clin Pract**, 68(4): 520-528, 2014.

Marik, P. E.; Zaloga, G. P. Immunonutrition in critically ill patients: a systematic review and analysis of the literature. **Intensive Care Med**, 34:1980-1990, 2008.

Mayer, K.; Gokorsch, S.; Fegbeutel, C.; Hattar, K.; Rousseau, S.; Walmarath, D.; Seeger, W.; Grimminger, F. Parenteral Nutrition with Fish Oil Modulates Cytokine Response in Patients with Sepsis. **Am J Resp Crit Care Med**, 167:1321-1328, 2003.

Mayer, K.; Seeger W. Fish oil-containing lipid emulsions in patients with sepsis. **Crit Care Med**, 14:128, 2010.

McDaniel, J.; Ickes, E.; Holloman, C. Beneficial n-3 polynsaturated fatty acid level and n6:n3 ratios after 4-week EPA + DHA supplementation associated with reduced CRP: A pilot study in healthy young adults. **Mod Res Inflamm**, 2(4): 59-68, 2013.

Novák, F.; Borovská, J.; Vecka, M.; Vávrová, L.; Kodydková, J.; Mráckivá, M.; NováKová, O.; Zak, A. Alterations in fatty acid composition of plasma and erythrocyte lipids in critically ill patients during sepsis. **Cas Lek Cesk**, 149(7):324-31, 2010.

Pereira, P.C.M. & Burini, R.C. Reação metabólica à infecção no hospedeiro. Ver. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo, 47:111- 5, 1992.

Pontes-Arruda, A.; Aragão, A. M. A.; Albuquerque, J. D. Effects of enteral feeding with eicosapentaenoic acid, [gamma]-linolenic acid, and antioxidants in mechanically ventilated patients with severe sepsis and septic shock. **Crit Care Med**, 34(9): 2323-2333, 2006.

Ranzani, O. T.; Monteiro, M. B.; Ferreira, E. M.; Santos, S. R.; Machado, F. R.; Noritomi, D. T. Reclasificando o espectro de pacientes sépticos com uso do lactate: sepse grave, choque críptico, choque vasoplégico e choque disóxico. **Rev Bras Ter Intensiva**, 25(4):270-278, 2013.

Reinhart, K.; Karzai, W. Anti-tumor necrosis factor therapy in sepsis: update on clinical trials and lessons learned. **Crit Care Med**, 29(7): S121-125, 2001.

Rivers, E.; Nguyen, B.; Havstad, S.; Ressler, J.; Muzzin, A.; Knoblich, B.; Peterson, E.; Tomlanovich, M.; for Early Goal-Directed Collaborative Group. Early Goal-Directed Therapy in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock. **N Engl J Med**, 345(19):1368-77, 2001.

Roche, L. D. Oxidative stress: the dark side of soybean-oil-based emulsions used in parenteral nutrition. Mini Review. **Oxid Antioxid Med Sci**, 1(1):11-14, 2012.

Roitt, I. M.; Delves, P. J.; Martin, S. J.; Burton, D. R. Fundamentos de Imunologia. 12<sup>a</sup> edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. p. 36-53; 234-271.

Russel, J. A. Management of Sepsis. **N Eng J Med** . 355(16): 1699-1711, 2006.

Sakr, Y.; Maia, V. P.; Santos, C.; Stracke, J.; Zeiden, M.; Bayer, O.; Reinhart, K. Adjuvant selenium supplementation in the form of sodium selenite in postoperative critically ill patients with severe sepsis. **Crit Care**, 18(2):R68. Doi: 10.1186/cc13825, 2014.

Silva, E.; Pedro, M. A.; Sogayar, A. C. B.; Mohovic, T.; Silva, C. L. O.; Janiszewski, M.; Cal, R. G. R.; Sousa, E. F.; Abe, T. P.; Andrade, J.; Matos, J. D.; Rezende, E.; Assunção, M.; Avezum, A.; Rocha, P. C. S.; Matos, G. F. J.; Bento, A. M.; Corrêa, A. D.; Vieira, P. C. B.; Kobel, E. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). **Crit Care**, 8(4): R251-260, 2004.

Tang, B. M.; Huang, S. J.; McLean, A. S. Genome-wide transcription profiling of human sepsis: a systematic review. **Crit Care**, 14(6):R237, 2011.

Vermeulen, M. A.; van de Poll, M. C.; Ligthart-Melis, G. C.; Dejong, C. H.; van den Tol, M. P.; Boelens, P. G.; van Leewen, P. A. Specific amino acids in the critically ill patient-exogenous glutamine/arginine: a common denominator? **Crit Care Med**, 35(9 Suppl): S568-76, 2007.

Versleijen, M. W.; Roelofs, H.; Rombouts, C.; Hermans, P. W.; Naokes, P. S.; Calder, P. C.; Wanten, G. J. Short-term infusion of a fish oil-based lipid emulsion modulates fatty acid status, but not immune function or (anti)oxidant balance: a randomized cross-over study. **Euro J Clin Invest**, 42(3):290-302, 2012

Wanten, G. J. A.; Calder, C. D. Immune modulation by parenteral lipid emulsions. **Am J Clin Nutr**, 85:1171-84, 2007.

Yentis, S.M.; Soni, M. & Sheldon, J. C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive care unit. **Intensive Care Med**, 21: 602-5, 1995

Wohlmuth, C.; Dünser, M. W.; Wurzinger, B.; Deutinger, M.; Ulmer, H.; Togersen, C.; Schmittinger, C. A.; Grander, W.; Hasibeder, W. R. Early Fish Oil Supplementation and Organ Failure in Patients With Septic Shock From Abdominal Infections: A Propensity-Matched Cohort Study. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, 34: 431-437, 2010.

Wolbink, M.C.M.; Thys, L.G. & Hack, E. Complement activation in patients with healthysepsis is in part mediated by C- reactive protein. **J. Infect. Dis**,177: 81-7, 1998.

Yaqoob, P.; Pala, H.S., Cortina-Borja, M.; Newsholme, E.A., Calder P.C. Encapsulated fish oil enriched in a-tocopherol alters plasma phospholipid and mononuclear cell fatty acid compositions but not mononuclear cell functions. **Eur J Clin Invest**, 30(3):260-274, 2000.

Yentis, S.M.; Soni, M. & Sheldon, J. C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive care unit. **Intensive Care Med**, 21: 602-5, 1995.

Zong, Z.; Wang, F.; Ji, S.; Deng, X.; Xia, Z. Selenium supplementation for sepsis: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Emerg Med**, 31(8):1170-75, 2013.

## 8. ANEXOS

### Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

#### TERMO DE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO (1a via)

##### Efeito da administração parenteral de emulsão lipídica rica em ômega-3 em pacientes com sepse grave e choque séptico

Eu,....., RG....., responsável pelo paciente .....

..., dou meu consentimento livre e esclarecido permitindo a participação deste como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, sob a responsabilidade do(s) pesquisador(es) Giovana Colozza Mecatti aluna da pós graduação Mestrado em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco e de Patrícia de Oliveira Carvalho, orientadora da pesquisa.

Assinando este Termo de Consentimento estou ciente de que:

1 - O objetivo da pesquisa é verificar os efeitos da administração de ácidos graxos (lipídios) ricos em omega-3 para pacientes com sepse grave e choque séptico (infecção grave associada a disfunção de órgãos), parecem estar relacionados com uma diminuição da resposta inflamatória, com diminuição de substâncias pró-inflamatórias (promovem inflamação) e aumento de substâncias anti-inflamatórias. A resposta inflamatória exacerbada na sepse grave e choque séptico esta relacionada a maior disfunção de órgãos e maior mortalidade;

2- Durante o estudo os pacientes os pacientes serão divididos (randomizados) em dois grupos, através de sorteio. Nos dois grupos será coletada amostra de sangue após estabilização clínica, antes do início da administração da dieta por sonda enteral. Se o paciente for sorteado para receber a EL (grupo EL Peixe), esta será administrada por três dias consecutivos, na dosagem recomendada (0,2g/Kg/dia), por acesso periférico durante seis horas. Após 24 horas e 72 horas do fim da administração de EL, serão coletadas novas amostras de sangue para avaliação das substâncias inflamatórias, além de exames laboratoriais de rotina realizados em pacientes internados na UTI, como colesterol, glicemia, hemograma, albumina e exames para avaliação da função do fígado. Se o paciente for sorteado para participar do grupo que não receberá a EL (grupo controle), o paciente receberá dieta enteral de acordo com protocolo da Unidade, sendo coletadas amostras de sangue antes do início da dieta enteral, nos dias respectivos do grupo EL, com avaliação dos mesmos itens descritos no grupo EL Peixe. Posteriormente serão avaliados os dados referentes a evolução do paciente, como sobrevida hospitalar e após 3 meses, taxa de nova infecção e tempo de uso de suporte respiratório.

Os possíveis riscos do estudo são: pela coleta de sangue será necessária punção de veia e este procedimento pode levar a formação de sangramento local, manchas arroxeadas e dor. Para diminuir este risco será gerenciado a coleta para que seja realizada preferencialmente no mesmo momento da coleta dos exames laboratoriais realizados diariamente nos pacientes internados na UTI Adulto do HUSF. A emulsão lipídica que será utilizada já possui segurança para utilização na prática clínica, podendo apresentar como efeitos colaterais: distúrbio da coagulação e maior risco de sangramento, ligeira elevação na temperatura corporal, calafrios, vermelhidão da pele ou cianose, enjoo, vômito, falta de ar, aumento ou redução da pressão arterial, reações alérgicas. Caso esses efeitos colaterais ocorram ou no caso do nível de triglicérides durante a infusão de lipídios aumentar acima de 3 mmol/L, a infusão de lipídios será interrompida.

3 - Obtive todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre a minha participação na referida pesquisa;

4- A resposta a este (s) instrumento(s)/ procedimento(s) não causam riscos conhecidos à minha saúde física e mental, não sendo provável, também, que causem desconforto emocional;

5 - Estou livre para interromper a qualquer momento minha participação na pesquisa, o que não me causará nenhum prejuízo;

6 – Meus dados pessoais serão mantidos em sigilo e os resultados gerais obtidos na pesquisa serão utilizados apenas para alcançar os objetivos do trabalho, expostos acima, incluída sua publicação na literatura científica especializada;

7 - Poderei contatar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Francisco para apresentar recursos ou reclamações em relação à pesquisa pelo telefone: 11 - 24548981;

8 - Poderei entrar em contato com o responsável pelo estudo, Giovana Colozza Mecatti, sempre que julgar necessário pelo telefone (11) 24548637 e 24548879;

9- Este Termo de Consentimento é feito em duas vias, sendo que uma permanecerá em meu poder e outra com o pesquisador responsável.

\_\_\_\_\_

Nome do Participante

\_\_\_\_\_

Nome do Representante Legal

\_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura do Representante Legal

\_\_\_\_\_

Nome do Pesquisador

\_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura do Pesquisador

..

## Anexo 2 – Relatório da ferramenta de gestão utilizada na UTI (Epimed Monitor®) do período de março de 2013 a setembro de 2014



Tabela 01 - Características gerais dos eventos infecciosos – Todos os eventos ocorridos no período	N	%
Total de eventos infecciosos ocorridos no período (n)	77	
Momento (n, %)		
À internação na unidade	50	64,94
Durante a internação na unidade	27	35,06
Origem da Infecção (n, %)		
Comunitária	44	57,14
Hospitalar	29	37,66
Extra-Institucional	4	5,19
Gravidade da Infecção (n, %)		
Sepse grave	27	35,06
Choque séptico	50	64,94
Comprovação da Infecção (n, %)		
Clínica	42	54,55
Microbiológica	35	45,45
Infecções por patógenos multirresistentes (n, %)		
Sim	16	20,78
Não	30	38,96
Antibioticoterapia empírica inicial apropriada (n, %)		
Sim	63	81,82
Não	10	12,99
NI	4	5,19

\* Este relatório inclui todos os eventos ocorridos no total de pacientes que permaneceram na unidade (i.e., internações novas e pacientes que já se encontravam internados na unidade) durante o período.

Período: 01/03/2013 - 20/09/2014 - Gravidade da Infecção: Sepse grave, Choque séptico

### Anexo 3 – Ficha de coleta de dados

PROCESSO PACIENTE INCLUÍDO EM ESTUDO “Efeito da administração parenteral de emulsão lipídica rica em ômega-3 em pacientes com sepse grave e choque séptico”

Paciente: \_\_\_\_\_

Nº: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

#### ETAPAS PROTOCOLO

- Inclusão – data e hora \_\_\_\_\_
- nutrição enteral será polimérica, normocalórica e normoprotéica, administrada em sistema fechado e em infusão contínua sem pausa noturna;
- as necessidades nutricionais serão calculadas com a fórmula de 25 kcal/Kg/dia - \_\_\_\_\_. Os pacientes receberão 30ml/h (750kcal) no primeiro dia, 40ml/h (960kcal) no segundo dia e 50ml/h (1200 kcal) no terceiro dia. Será realizada monitorização dos eletrólitos durante a terapia nutricional.
- Presença de hiperglicemia com necessidade de terapia intensiva \_\_\_\_\_
- Peso estimado: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_
- A classificação do estado nutricional:
  - relação albumina/PCR \_\_\_\_\_
  - contagem total de linfócitos \_\_\_\_\_
  - índice de massa corporal \_\_\_\_\_
  - interrogatório alimentar que será realizado com os familiares.
- APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) \_\_\_\_\_
- SAPS III \_\_\_\_\_

#### Coleta das amostras

- Início infusão dieta enteral (data e hora) \_\_\_\_\_
- Infusão EL

	Início (data e hora)	Término (data e hora)
1º dia		
2º dia		
3º dia		

	Data e hora
1ª amostra	
2ª amostra	
3ª amostra	

As coletas de sangue serão realizadas em três tempos: no grupo EL Peixe será realizada, assim que houver estabilidade hemodinâmica, antes da infusão da dieta enteral e do início da infusão da EL e no grupo controle assim que houver estabilidade clínica, antes da infusão da dieta enteral. Posteriormente 24 e 72 horas após término da administração da EL no grupo EL Peixe e nos dias respectivos no grupo controle.



Na coleta, a amostra será de 4ml de sangue, em tubo coletor com EDTA que será imediatamente centrifugada a 2500 r.p.m. por 15 minutos para separação dos eritrócitos e do plasma que será aliquotado e congelado em freezer a -80°C.

**Dados Clínicos:**

- Data internação hospitalar: \_\_\_\_\_
- Data internação UTI: \_\_\_\_\_
- Foco infecção: \_\_\_\_\_
- Cirurgia? \_\_\_\_\_
- Comorbidades:

\_\_\_\_\_

- ATB usado: \_\_\_\_\_
- Evolução:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

- Necessidade de suporte intensivo
  - VM
  - HD
  - DVA
- Uso dispositivo invasivo
  - CVC – local - \_\_\_\_\_
  - SVD
  - TOT
  - DVE / PIC
  - Swan Ganz
  - BIA

**Efeitos adversos:**

- Hematomas, sangramento local e dor – local punção.
  - Coleta junto com rotina laboratorial padrão ( ) sim ( ) não
- prolongamento do tempo de sangramento e/ou inibição da agregação plaquetária,
- ligeira elevação na temperatura corporal, calafrios, rubor ou cianose,
- náusea, vômito,
- dispnéia, aumento ou redução da pressão arterial,
- reações anafiláticas.
- possíveis sinais de sobrecarga metabólica (hepatomegalia com ou sem icterícia, alteração ou redução de alguns parâmetros de coagulação, esplenomegalia, anemia, leucopenia, trombocitopenia, febre, hiperlipidemia, hiperglicemia).
  - Caso esses efeitos colaterais ocorram ou no caso do nível de triglicérides durante a infusão de lipídios aumentar acima de 3 mmol/L, a infusão de lipídios será interrompida.