UNIVERSIDADE DO BRASIL
UFRJ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE PEIXE EM ADOLESCENTES COM ACNE VULGAR: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

FELIPE DE SOUZA CARDOSO

RIO DE JANEIRO
2019

UNIVERSIDADE DO BRASIL
UFRJ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE PEIXE EM ADOLESCENTES COM ACNE VULGAR: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Felipe de Souza Cardoso

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de **doutor em Ciências Nutricionais**.

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Tavares do Carmo

Rio de Janeiro

Maio 2019

SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE PEIXE EM ADOLESCENTES COM ACNE VULGAR: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Felipe de Souza Cardoso

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO DO INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS NUTRICIONAIS

Examinada por:

Profª Drª Fátima Lúcia de Carvalho Sardinha - Examinadora titular (Revisora),
Doutora em Ciências – UNIFESP

Profª Drª Marta Citelli dos Reis - Examinadora titular,
Doutora em Ciências – UFRJ

Profª Drª Wilza Arantes Ferreira Peres - Examinadora titular,
Doutora em Doutora em Ciências – UFRJ

Profª Drª Marcia Soares da Mota e Silva Lopes – Examinadora titular,
Doutora em Ciências – UFRJ

Profª Drª Tatiana de Almeida Simão - Examinadora titular,
Doutora em Biociências nucleares - UERJ

Profª Drª Eliane de Abreu Soares – Suplente externa,
Doutora em Ciência de alimentos – USP

Profª Drª Eliane Lopes Rosado – Suplente interna,
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFV

Profª Drª Maria das Graças Tavares do Carmo – orientadora e Presidente da banca,
Doutora em Farmacologia- UNIFESP

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MAIO 2019

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Maria, que foi uma “mãe acadêmica”, ao aceitar esse desafio comigo... Amiga, parceira de piano... Sempre deixando tudo mais leve e divertido... MUITO OBRIGADO pelo seu carinho, por tornar esse momento possível... MUITO OBRIGADO pela boa cerveja gelada, acompanhada de nobres conselhos sobre a vida... MUITO OBRIGADO por ser humana e tocar meu coração.

À minha mãe, Neusa, que é minha base e referência... Mãe, nunca pensei que seria possível chegar até aqui. Estou em lágrimas, aqui, lembrando de todas as dificuldades, que só você sabe. Obrigado por não me deixar desistir da vida. AMO VOCÊ!

À amiga e companheira nesse projeto, dermatologista, Ana Mósca, por me acolher, dando toda condição para que esse projeto pudesse ser desenvolvido. Sem palavras para agradecer tanta consideração... Agradecimento ENORME à equipe do Hospital Municipal Jesus. OBRIGADO POR TUDO!

À minha professora e revisora dessa tese, Fátima, MUITO OBRIGADO por toda dedicação e carinho com o material. Obrigado por acreditar nesse trabalho e contribuir de forma tão ÍMPAR, para que ele finalizasse da melhor maneira possível.

À Pat, por ser companheira, durante os 4 anos e por toda a ajuda na análise dos ácidos graxos. Amiga, MUITO OBRIGADO!!!

À Karla, por me apoiar, desde o início, com análises no laboratório... Sempre prestativa e atenciosa comigo... MUITO OBRIGADO!!!

À Universidade do Estado do Rio de Janeiro por todo apoio na execução de etapas desse projeto.

À direção e à coordenação do Colégio Bezerra de Araújo, pelo apoio na captação de pacientes para o hospital... MUITO OBRIGADO!!!

Ao meu amigo Rafael Teixeira por toda força dada até o último momento dessa tese. Muito obrigado, querido amigo!!!

À banca examinadora, MUITO OBRIGADO por participarem desse momento tão especial da minha vida!!!

Aos meus alunos, meu MUITO OBRIGADO por todo carinho!

Aos meus amigos professores, que sempre estiveram me dando forças, MUITO OBRIGADO!!!

Ao meu irmão, que não se encontra mais aqui na terra... Juca, essa vitória é nossa e para nossa pequena Gabriela!!!

MUITO AGRADECIDO, sempre, ao universo, que contribui para minha evolução energética... OBRIGADOOOOOO!!!!

Resumo da tese apresentada ao PPGN/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de **doutor em Ciências Nutricionais**.

SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE PEIXE EM ADOLESCENTES COM ACNE VULGAR: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Felipe de Souza Cardoso

Maio/2019

Orientadora: Profª Drª Maria das Graças Tavares do Carmo

RESUMO

Objetivo. Revisar a literatura sobre intervenções dietéticas na acne vulgar, a fim de apoiar o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes na prática clínica e investigar, em adolescentes do sexo masculino, os efeitos do consumo de óleo de peixe sobre a melhora clínica das lesões da acne vulgar, composição corporal, mediadores bioquímicos, associados ao metabolismo lipídico e à homeostase glicêmica, marcadores inflamatórios, estado nutricional de micronutrientes e parâmetros hormonais. **Material e Métodos.** Revisão sistemática da literatura, de ensaios clínicos nos últimos cinco anos, disponível no Pub Med e no SciELO, selecionados e analisados de acordo com a escala de Jadad, CONSORT e risco de viés, utilizando o protocolo Cochrane. O ensaio clínico contemplou vinte adolescentes do sexo masculino com acne vulgar, avaliados em estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. O grupo suplementado (OP) (n=10) recebeu cápsulas de óleo de peixe (1 g, contendo os ácidos graxos (AG) docosahexaenoico (DHA, 700 mg) e eicosapentaenoico (EPA, 100 mg), enquanto o grupo placebo (P) (n=10), cápsulas contendo 1 g de óleo mineral. Todas as cápsulas foram fornecidas para consumo diário ao longo de 60 dias. Recordatório de 24 horas e questionário de frequência alimentar foram aplicados no início e ao final do estudo para avaliação do consumo alimentar. Foram avaliadas: medidas antropométricas e de composição corporal [massa corporal total, índice de massa corporal (IMC), gordura visceral, perímetro da cintura e gordura corporal total], utilizando técnicas previamente padronizadas e *Dual Energy X-ray Absorptiometry* (DEXA). Também foi avaliado o conteúdo sérico de lipoproteínas, glicose, insulina, testosterona, frutosamina, hemoglobina glicada, fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α), proteína C reativa (PCR), magnésio, cobalamina, folato, homocisteína, retinol, zinco plasmático e 25(OH) colecalciferol, empregando-se kits comerciais específicos. Amostras de plasma foram utilizadas para análise do perfil de AG, por meio de cromatografia gasosa. A evolução clínica das lesões acneicas foi avaliada por meio da escala analógica visual e do emprego do sistema global de classificação para gravidade da acne vulgar, antes e após a suplementação. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro (parecer 1.558.238), publicado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR-5csqm4) e cadastrado no Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE: 48827615.1.0000.5279). Os dados foram organizados e analisados utilizando-se o *software Statistical Package for the Social Sciences* versão 19.0 for Windows (SPSS Inc Chicago). A comparação das variáveis foi realizada intergrupos (OP vs P) e intragrupo (antes vs após 60 dias de intervenção), através dos testes de Mann Whitney e Wilcoxon, com nível de significância menor que 5 % (P valor < 0,05). **Resultados.** A revisão indicou que suplementação com ácidos graxos n-3, *Camellia sinensis*, *Berberis vulgaris*, cromo, selênio e

probióticos foi significativa, mas os resultados foram limitados para o tratamento da acne vulgar. O consumo de alimentos com maior carga glicêmica e chocolate indicou uma correlação com o aumento das lesões acneiformes. O CONSORT indicou que a maior parte da pontuação das evidências foi atribuída nos títulos, resumos e alguns dos métodos. Em particular, os métodos dos estudos avaliados, quando faltam detalhes, receberam pontuações reduzidas. O ensaio clínico indicou que a suplementação com óleo de peixe promoveu no grupo OP, comparado ao P, redução significativa da massa corporal total (P=0,035) e IMC (P=0,005) bem como dos teores séricos de TNF-α (P=0,001), PCR (P=0,005) e testosterona (P=0,035), acompanhada por efeitos hipocolesterolêmico, hipotrigliceridêmico, hipoglicêmico, hipoinsulinêmico e elevação das concentrações séricas de 25(OH) colecalciferol, zinco e magnésio. Adicionalmente, foi verificado aumento significativo no conteúdo plasmático de AG n-3 totais e redução do ácido araquidônico bem como redução de 50% no número de lesões da acne vulgar (P< 0,001) no grupo OP, comparado ao P. **Conclusão**. Há necessidade de aumentar a quantidade e a qualidade das evidências científicas sobre o tratamento nutricional da acne vulgar, a fim de orientar de maneira mais efetiva e segura as ações nutricionais da prática clínica atual. Considerando o estudo clínico desenvolvido, a suplementação de adolescentes com acne vulgar, correspondente a 700 mg de DHA e 100 mg de EPA, promoveu redução das lesões acneicas e da testosterona sérica, melhora nos parâmetros relacionados à composição corporal, ao metabolismo lipídico, à homeostase glicêmica e inflamação bem como aumento na concentração de micronutrientes circulantes, envolvidos na redução do estresse oxidativo e inflamação. Estes achados são sugestivos da boa aplicabilidade do suplemento dietético, na prática clínica diária, em adolescentes com acne vulgar.

Palavras-chave: ácidos graxos n-3, acne vulgar, inflamação, suplementação dietética, adolescentes, nutrição, dermatologia.

FISH OIL SUPPLEMENTATION ON ADOLESCENTS WITH ACNE VULGARIS: A RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

Felipe de Souza Cardoso

May/2019

Advisor: Profª Drª Maria das Graças Tavares do Carmo

ABSTRACT

Objetive. To review the literature on dietary interventions in acne vulgaris to support the development of more effective treatments in clinical practice and to investigate, in adolescent, male gender, the effects of fish oil consumption on the clinical improvement of vulgar acne lesions, body composition, biochemical mediators, associated with lipid metabolism and glycemic homeostasis, inflammatory markers, nutritional status of micronutrients and hormonal parameters. **Material and methods.** Systematic literature review of clinical trials in the last five years, available in Pub Med and SciELO, selected and analyzed according to the Jadad scale, CONSORT and risk of bias using the Cochrane protocol. The clinical trial included twenty adolescents, male gender, with acne vulgaris, evaluated in a randomized, double-blind, placebo-controlled study. The supplemented group (OP) (n = 10) received fish oil capsules (1 g containing docosahexaenoic fatty acids (DHA, 700 mg) and eicosapentaenoic acid (EPA, 100 mg), while the placebo group) and capsules containing 1 g of mineral oil, all of which were given for daily consumption over a period of 60 days, to assess total body mass, body mass index (BMI), visceral fat, waist circumference and total body fat), using standardized techniques and Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA and 24-hour recall and food frequency questionnaire were applied at the beginning and at the end of the study. The serum content of lipoproteins, glucose, insulin, testosterone, fructosamine, glycated hemoglobin, tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), C-reactive protein (CRP), magnesium, cobalamin, folate, homocysteine in, retinol, plasma zinc and 25 (OH) cholecalciferol, using specific commercial kits. Plasma samples were used for analysis of the GA profile by means of gas chromatography. The clinical evolution of the acneic lesions was evaluated through the visual analogue scale and the use of the global classification system for acne vulgaris severity, before and after the supplementation. The study was approved by the Research Ethics Committee of the State Health Department of Rio de Janeiro (1.558.238), published in the Brazilian Registry of Clinical Trials (RBR-5csqm4) and registered at the National Research Ethics Council (CAAE): 48827615.1.0000.5279). The data were organized and analyzed using the Statistical Package for Social Sciences software version 19.0 for Windows (SPSS Inc Chicago). Intergroups (OP vs P) and intragroup (before vs after 60 days of intervention) were performed using the Mann Whitney and Wilcoxon tests, with a significance level lower than 5% (P value < 0.05). **Results.** The review indicated that supplementation with n-3 fatty acids, *Camellia sinensis*, *Berberis vulgaris*, chromium, selenium and probiotics was significant, but the results were limited for the treatment of acne vulgaris. The consumption of foods with higher glycemic load and chocolate indicated a correlation with the increase of acneiform lesions. CONSORT indicated that most of the evidence score was attributed to titles, abstracts, and some of the methods. The methods of the studies evaluated, when missing details, received reduced scores. The clinical trial indicated that supplementation with fish oil promoted a significant reduction in total body mass (P =

0.035) and BMI ($P = 0.005$) and serum TNF-α ($P = 0.035$), followed by reduced cholesterol, triglyceride, glycemia, insulinemia and elevated serum concentrations of 25(OH) cholecalciferol, zinc and magnesium. In addition, there was a significant increase in the plasma content of total n-3 GA and reduction of arachidonic acid as well as a 50% reduction in the number of acne vulgaris lesions ($P < 0.001$) in the OP group compared to P. **Conclusion.** There is a need to increase the quantity and quality of scientific evidence on the nutritional treatment of acne vulgaris to more effectively and safely guide the nutritional actions of current clinical practice. Considering the clinical study developed, supplementation of adolescents with acne vulgaris, corresponding to 700 mg of DHA and 100 mg of EPA, promoted reduction of acneic lesions and serum testosterone, improvement in parameters related to body composition, lipid metabolism, glycemic homeostasis and inflammation as well as increase in the concentration of circulating micronutrients involved in the reduction of oxidative stress and inflammation. These findings are suggestive of the good applicability of the dietary supplement, in daily clinical practice, in adolescents with acne vulgaris.

Keywords: n-3 fatty acids, acne vulgaris, inflammation, dietary supplementation, adolescents, nutrition, dermatology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Fotografia autorizada de voluntário do estudo com indicações da presença de pústulas, pápulas e comedões	**6**
Figura 2.	Representação esquemática do folículo piloso, envolvido na fisiopatologia da acne vulgar, indicando comedões, como exemplos de lesões elementares	**7**
Figura 3.	Representação esquemática do metabolismo dos ácidos graxos essenciais	**13**
Figura 4.	Representação esquemática da presença de lipídios (ceramidas) em regiões da pele, como epiderme e derme	**14**
Figura 5.	Representação esquemática das etapas do estudo	**21**
Figura 1. (manuscrito 1)	Summary of the main systematizing steps of this review.	**42**
Figura 2. (manuscrito 1)	Percentage of positive responses, after an analysis of scientific evidence, using the CONSORT (2010) protocol.	**49**
Figura 3. (manuscrito 1)	Evidence evaluated according to the Jadad (1996) scale	**50**
Figura 1 (manuscrito 2)	Representação esquemática das etapas do estudo e perdas de acompanhamento de voluntários captados.	**57**
Figura 2 (manuscrito 2)	Classificação da gravidade da acne vulgar entre os adolescentes suplementados com óleo de peixe (N=10) ou placebo (N=10), antes e após 60 dias do tratamento.	**63**

Figura 3 (manuscrito 2)	Fotografias autorizadas de voluntários suplementados com óleo de peixe ou placebo, ilustrativas das lesões elementares da acne vulgar, antes e após 60 dias do tratamento.	**64**
Figura 4 (manuscrito 2)	Frequência de consumo semanal de alimentos, categorizados em diferentes grupos, dos adolescentes tratados com o óleo de peixe (A) ou placebo (B), antes e após o período de sessenta dias da intervenção.	**77**

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Tipos de ácidos graxos, segundo comprimento da cadeia de carbono; número de duplas ligações na cadeia de carbono e configuração das duplas ligações. **11**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. (manuscrito1)	Risk of bias according to Cochrane method	**43**
Tabela 2. (manuscrito 1)	Important variables in the clinical trials for the treatment of acne vulgaris	**44**
Tabela 1. (manuscrito 2)	Composição percentual de ácidos graxos do suplemento de óleo de peixe	**55**
Tabela 2. (manuscrito 2)	Idade, maturação sexual e fototipo dos adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe ou placebo, avaliados antes da intervenção	**60**
Tabela 3. (manuscrito 2)	Perfil de ácidos graxos no plasma de adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe (OP) ou placebo (P), avaliados antes e após sessenta dias da intervenção	**61**
Tabela 4 (manuscrito 2)	Perfil bioquímico e hormonal de adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe (OP) ou placebo (P), avaliados antes e após sessenta dias da intervenção.	**66**
Tabela 5. (manuscrito 2)	Caracterização antropométrica e do conteúdo de gordura corporal de adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe (OP) ou placebo (P), avaliados antes e após sessenta dias da	**69**

intervenção.

Tabela 6. (manuscrito 2) Estimativas das quantidades diárias de energia total e macronutrientes consumidas por adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe ou placebo, avaliados antes e após sessenta dias da intervenção. **72**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA = ácido araquidônico
AG = ácido graxo
AGE = *ácido graxo essencial*
AGPI = ácido graxo poli-insaturado
AGPICL = ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa
ALA = ácido linolênico
CEP = Comitê de Ética em Pesquisa
ChREBP = *Carbohydrate Sensitive Response Element Binding Protein*
CONEP = Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
COX = *cicloxigenase,* enzima cicloxigenase
DHA = *docosahexaenoic acid,* ácido docosahexaenoico
DGLA = *gamma-linolenic acid*, ácidos di-homo gamalinolênico
EO = estresse oxidativo
EPA = *eicosapentaenoic acid*, ácido eicosapentaenoico
HDL = *high density lipoprotein,* lipoproteína de alta densidade
IGF1= *insulin-like growth fator* 1, fator de crescimento semelhantes à insulina 1
IL = *interleukin,* interleucina
IMC = índice de massa corporal
LA = *linoleic acid,* ácido linoleico
LOX = *lipoxygenase*, lipoxigenase
LDL = *low density lipoprotein*, lipoproteína de baixa densidade
mTORC1 = *mammalian target of rapamycin complex 1*
NF-kB = *nuclear factor kappa B,* fator nuclear kappa B
PCR = *C-reactive protein,* proteína C reativa
PLA2 = *phospholipase A2*, fosfolipase A2
PGE = *prostaglandins*, prostaglandinas
PPAR = *peroxisome proliferator activated receptor-alpha*
RL = radicais livres
RNA = *ribonucleic acid***,** ácido ribonucleico
ROS = *reactive oxigen species,* espécies reativas de oxigênio
SREBP = *Sterol Regulatory Element-Binding Protein*
TA = tecido adiposo
TCLE = termo de consentimento livre e esclarecido
TG = *triglycerides*, triglicerídeos
TLR = *toll-like receptors*, receptores do tipo Toll
TNF-α = *tumour necrosis factor alpha,* fator de necrose tumoral alfa
TxB = *thromboxanes*, tromboxanos
UFRJ = Universidade Federal do Rio de Janeiro
VLDL = *very low density lipoprotein,* lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO **1**

2 INTRODUÇÃO **3**

3. REFERENCIAL TEÓRICO **5**

3.1 Acne vulgar **5**

3.2 Ácidos graxos **10**

3.3 Suplementação de ácidos graxos de cadeia longa na Acne vulgar **15**

4 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE **17**

5 OBJETIVOS **18**

5.1 Objetivo geral **18**

5.2 Objetivos específicos **18**

6 MATERIAL E MÉTODOS **19**

6.1 Delineamento do estudo e aspectos éticos **19**

6.2 Critérios de elegibilidade e de exclusão **19**

6.3 Intervenção **20**

6.4 Coleta de sangue **21**

6.4.1Avaliação laboratorial do sangue **22**

6.5 Maturação sexual **22**

6.5.1 Avaliação por estágio de Tanner **22**

6.6 Análise do perfil de ácidos graxos do suplemento e do plasma **22**

6.7 Avaliação clínica **23**

6.7.1 Gravidade da acne **23**

6.7.2 Avaliação subjetiva da acne vulgar **24**

6.8 Massa corporal, estatura e índice de massa corporal **24**

6.9 Perímetros corporais **25**

6.10 Absorciometria de dupla-emissão de raios x **25**

6.11 Avaliação do consumo **25**

6.12 Análise estatística **26**

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO **28**

7,1 Manuscrito 1 – Revisão sistemática **28**

7.2 Manuscrito 2 – Artigo de dados **51**

8.0 CONCLUSÕES **84**

REFERÊNCIAS **86**

ANEXOS **99**

ANEXO A. Parecer de aprovação do CEP **99**

ANEXO B. Termo de consentimento livre e esclarecido **103**

ANEXO C. Termo de consentimento livre e esclarecido para adolescentes **106**

APÊNDICE. Comprovante de submissão do manuscrito 1 **109**

1 APRESENTAÇÃO

O presente estudo faz parte de um projeto de pesquisa maior, em parceria com o Hospital Municipal Jesus, especificamente a Unidade do Serviço de Dermatologia do referido hospital, em colaboração com a dermatologista, Dra. Ana Maria Mósca de Cerqueira (CRM – RJ 5237258-0). Dentre os objetivos, originalmente estabelecidos pela equipe de pesquisadores envolvida, incluíam-se a suplementação com óleo de peixe, fonte de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPICL) n-3, principalmente o ácido docosahexaenoico (DHA); assim como a suplementação com extrato seco de *Camellia sinensis*, contendo epigalocatequinas galato, associada com possível resposta anti-inflamatória, entre voluntários adolescentes do gênero masculino, diagnosticados com acne vulgar, buscando testar a hipótese de que estes suplementos poderiam evitar ou minimizar o incremento da inflamação, de maneira diferenciada.

Inúmeros empecilhos, entretanto, retardaram o início do desenvolvimento desta tese, inviabilizando maior período de recrutamento dos voluntários. O cadastro (CAAE: 48827615.1.0000.5279), e tramitação do projeto até sua aprovação final, no Conselho Nacional de Saúde (CONEP), via o sistema Plataforma Brasil, se estendeu consideravelmente (ANEXO A). Por se tratar de pesquisa envolvendo suplementação nutricional, acompanhamento e coleta de amostras biológicas, no início e no final do estudo, entre voluntários adolescentes atendidos no Hospital Municipal Jesus, foi exigida aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) desta Instituição coparticipante, emitido pela Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro. O parecer positivo (número 1.558.238) somente foi emitido em 24 de maio de 2016 (ANEXO B). Adicionalmente, a aquisição dos suplementos e placebos, doados pela Empresa Global Sports®, também constituiu etapa que demandou alguns meses.

Por estas razões, o efetivo recrutamento dos voluntários somente foi iniciado após o recebimento dos suplementos, a organização da logística do projeto, incluindo reuniões e treinamentos, junto aos farmacêuticos, técnicos em análises clínicas e dermatologistas, para o estabelecimento da dinâmica da coleta de dados bem como a data de aprovação do projeto. Ademais, ressalta-se que apesar de os esforços de toda equipe, no sentido de manter contato constante com os voluntários, a adesão, até o final deste estudo, foi bastante reduzida, inviabilizando os testes que envolveriam a suplementação com o extrato seco de *Camellia sinensis*, inseridos no projeto de pesquisa maior, referido inicialmente.

O período de acompanhamento dos adolescentes, relativamente longo (60 dias), implicou em perdas de segmento, inerentes ao desenho do estudo e, portanto, todas as dificuldades apontadas acabaram determinando o limitado tamanho amostral final da presente tese. Apesar disso, mantivemos a intenção de testar, de modo inédito entre adolescentes brasileiros com acne vulgar, a hipótese de que a suplementação com óleo de peixe é capaz de reduzir a inflamação cutânea nestes indivíduos. As moléculas bioativas, presentes no óleo de peixe, desempenham funções como mediadores e reguladores da inflamação e da imunidade. Assim, a produção de eicosanoides pró e anti-inflamatórios constitui um dos mecanismos que associa os ácidos graxos (AG) à regulação da inflamação. Na pele, os AG n-3 podem se inserir na estrutura de fosfolipídios de membrana ou como constituintes da gordura produzida no estrato granuloso e glândula sebácea. A quantidade e a qualidade de lipídios cutâneos influenciam, significativamente, a fisiologia do sistema tegumentar (COSTA et al., 2010; CALDER, 2011). Portanto, é o foco central dessa tese investigar se a suplementação com óleo de peixe está associada com o estado clínico geral, nutricional, bioquímico e metabólico, com algum impacto sobre a qualidade de vida dos pacientes.

2 INTRODUÇÃO

A acne vulgar é uma dermatose crônica, cuja prevalência na população ocidental alcança 85 %. O distúrbio é comum em adolescentes, e mais tardio no sexo masculino, grupo que apresenta as formas mais intensas e graves. A doença é caracterizada por hiperqueratinização folicular, hipersseborreia, inflamação, supercrescimento e colonização folicular pela espécie *Propionibacterium acnes*, com liberação de mediadores inflamatórios no folículo e na derme adjacente. Pode apresentar-se em diferentes estágios, com pápulas, pústulas e comedões, resultando, inclusive, em cicatrizes, decorrentes de profunda alteração na estrutura dérmica, em que fibroblastos - células que produzem fibras colágenas, elásticas e substância fundamental amorfa - estão inseridos (COSTA et al., 2008). Apesar da abordagem usual como "problema estético", a acne vulgar repercute na qualidade de vida dos pacientes. O caráter depreciativo atribuído às lesões produzidas pela doença pode contribuir para a baixa autoestima, especialmente entre adolescentes, podendo gerar prejuízos emocionais persistentes (RIBAS et al., 2008; MENESES; BOUZAS, 2009; FIGUEIREDO et al., 2011).

Ainda que vasto arsenal medicamentoso esteja disponível para o tratamento da acne vulgar, incluindo, antibióticos, anti-inflamatórios, terapia hormonal e tretinoínas, são conhecidos inúmeros efeitos colaterais, graves, associados a alguns fármacos, além da crescente resistência bacteriana (PASCHOAL; ISMAEL, 2010). A eficácia do tratamento depende, ainda, da motivação e perseverança do paciente para adesão a estes medicamentos. Desta forma, terapêuticas alternativas estão sendo investigadas e uma possibilidade, nessa abordagem, é a terapia/intervenção nutricional (KATTA; DESAI, 2014).

Há evidências, ainda que escassas, acerca dos benefícios do consumo de alimentos/nutrientes/compostos bioativos específicos sobre enfermidades da pele. A literatura refere diferentes intervenções incluindo, quantidades e tipos distintos de chocolate; cargas glicêmicas; gorduras; cacau; extrato seco da espécie *Camellia sinensis* (chá verde), contendo epigalocatequinas; frutos vermelhos, contendo taninos e flavonoides; retinol; alfa tocoferol; ácido fólico; cobalamina; probióticos; zinco; selênio; cromo; inositol; óleo de peixe, que contém AGPICL, entre outras (KAMAL; POLAT, 2015; DELOST et al., 2016; FABBROCINI et al., 2016; JAMILIAN et al., 2016; KIM et al., 2016; LU; HSU, 2016; RAZAVI et al., 2016).

Ácidos graxos constituem parte fundamental dos lipídios corpóreos e representam 30 % do total de energia ingerida por humanos. Denomina-se ácidos graxos essenciais (AGE) aqueles AG que o organismo não tem capacidade de produzir, como é o caso dos ácidos linoleico (C18:2 n-6, LA) e alfa-linolênico (C18:3 n-3, ALA), sendo, portanto, necessária sua ingestão dietética (CALDER, 2006). Estes compostos são requeridos em diferentes funções fisiológicas incluindo a barreira epidérmica (SPECTOR, 1999). Após ingestão, uma série de reações enzimáticas, envolvendo dessaturação (incorporação de duplas ligações) e elongação (adição de dois átomos de carbono), origina AGPICL, como os ácidos di-homo gamalinolênico (C20:3n-6, DGLA), araquidônico (C20:4 n-6, AA), eicosapentaenoico (C22:5 n-3, EPA) e DHA (C22:6 n-3). Ressalta-se que, entretanto, o consumo de algas, peixes e óleos de peixes pode fornecer EPA e DHA (CALDER, 2006; COSTA et al., 2010; TACO, 2011; SBC, 2013; KENDALL et al., 2017).

Componentes estruturais das membranas fosfolipídicas, AGE e AGPICL regulam as propriedades físico-químicas dessas estruturas, como fluidez e plasticidade. Estes compostos lipídicos são precursores de moléculas regulatórias, denominadas eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclinas, tromboxanos e leucotrienos), envolvidas em numerosos processos fisiológicos, incluindo modulação inflamatória (SCHMITZ; ECKER, 2008; TOSI et al., 2014; BIERVLIET; STRANDVIK, 2015). Sintetizado a partir da membrana celular, pela ação da enzima fosfolipase A2 (PLA2), o AA é degradado pelas enzimas ciclooxigenase (COX) e lipooxigenase (LOX), dando origem aos eicosanoides com ação pró-inflamatória (prostaglandinas E2 - PGE2, tromboxanos 2 - TxB2 e leucotrienos B4 - LTB4). De outro modo, a metabolização dos AGPICL n-3 produz compostos de ação inflamatória mais atenuada (PGE3, TxB3 e LTB5). Assim, o desequilíbrio no metabolismo dos AGE, com redução dos metabólitos da série n-3 e aumento daqueles derivados da série n-6, pode desencadear o estímulo para produção de eicosanoides com ação inflamatória mais potente (BAGGA et al., 2003; INNES; CALDER, 2018).

Khayef et al. (2012) sugerem que a suplementação com o óleo de peixe poderia estar associada à melhora na gravidade global da acne vulgar, em especial para os indivíduos com acne moderada e grave. Em razão da sociedade ocidental consumir dieta contendo proporções bem mais elevadas de AGPICL da série n-6 do que n-3, parece existir favorecimento para enfermidades inflamatórias, incluindo a acne vulgar. Esta situação não é observada naquelas sociedades em que a fração de AG n-3 na dieta é

mais elevada (JUNG et al., 2014). Stark et al. (2016) indicaram consumo reduzido de AG n-3, avaliado por meio do conteúdo eritrocitário de EPA e DHA, em diferentes regiões do mundo. O reduzido percentual (≤ 4), identificado para a população brasileira, foi similar ao de outros países, incluindo Estados Unidos e Canadá, entre outros países localizados nos demais continentes do planeta.

Neste contexto, lipídios dietéticos e suplementação com AGPICL n-3, entre brasileiros com acne vulgar, indica interesse investigativo. No entanto, relatos na literatura científica acerca do impacto da suplementação com AG n-3, entre humanos com acne, ainda são escassos. Assim, no presente estudo, foram investigados adolescentes, diagnosticados com acne vulgar, buscando-se testar a hipótese de que AGPICL n-3 estimulam vias bioquímicas e processos fisiológicos relacionados às respostas inflamatórias do organismo, com desfechos positivos sobre a saúde da pele e melhora das lesões acneiformes. Medidas de intervenção dietética, quando na presença de pacientes diagnosticados com acne vulgar, podem vir a ser estabelecidas a partir dos resultados deste estudo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Acne vulgar

A acne vulgar é uma doença crônica da pele, multifatorial, caracterizada pela presença de lesões elementares, não inflamatórias (comedões) e inflamatórias (pápulas e pústulas) (ZOUBOULIS, 2013; CLAUDEL et al., 2018). Melnik (2018) indica que a acne vulgar é uma doença inflamatória do folículo sebáceo humano, epidêmica, representando a enfermidade de pele mais comum, entre adolescentes ocidentais. Lauermann et al. (2016) ressaltaram a importância do comprometimento psicológico, em função das cicatrizes formadas, após o período de lesões e inflamação. Atualmente, existe número reduzido de evidências, considerando a epidemiologia cicatricial pós-acne.

De acordo com Holzer et al. (2016), a prevalência aumentada de acne na adolescência não parece poder ser explicada exclusivamente pela predominância de fatores genéticos. Apesar de a acne vulgar poder constituir sinal de hiperandrogenismo cutâneo, é possível atribuir à dieta ocidental importante função na etiologia desta

enfermidade da pele. Já foi reconhecida relação entre esse tipo de dieta e o favorecimento da estimulação de quinases, sensíveis aos fatores de crescimento, como o *mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1), associado, também, ao aumento da dihidrotestosterona na pele. A atividade aumentada do mTORC1 parece ser detectada na pele e nas glândulas sebáceas de pacientes com acne. O aumento da sinalização, mediada por mTORC1, é uma característica da resistência à insulina, entre outros desfechos crônicos, como obesidade e diabetes *mellitus* tipo 2. Embora a síndrome metabólica não indique, classicamente, diagnóstico dermatológico, algumas manifestações clínicas sinalizam possíveis correlações. Assim, a acne vulgar é considerada como "a síndrome metabólica" do folículo sebáceo e o manejo clínico dessas doenças deve ser integrativo. A figura 1 ilustra as principais lesões elementares, consideradas na clínica da acne vulgar.

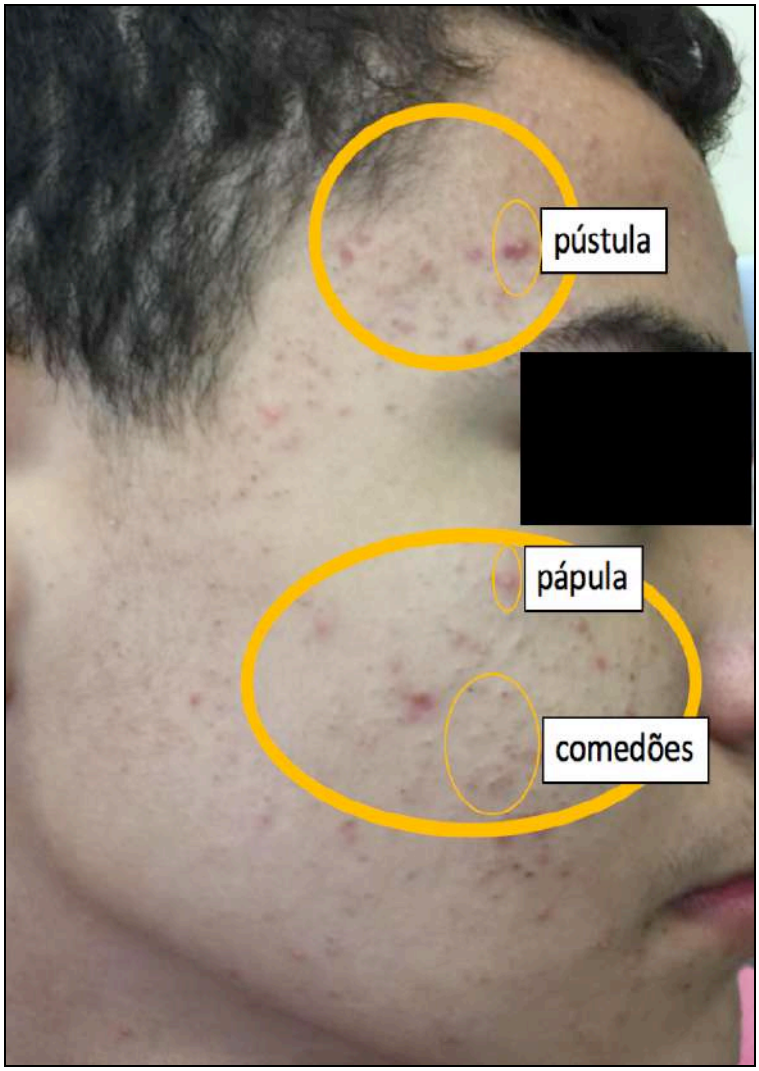


Figura 1 - Fotografia autorizada de voluntário do estudo com indicações da presença de pústula, pápula e comedões.

A pele, muitas vezes colonizada pela espécie bacteriana *Propionibacterium acnes*, aumenta a proliferação dos queratinócitos epidérmicos, reduzindo o orifício (região infundibular), para drenagem sebácea, entre folículo piloso e queratinócitos. A glândula sebácea acumula conteúdo gorduroso e se expande para o interior da derme, podendo estimular resposta inflamatória local. Vários mediadores inflamatórios, incluindo citocinas, têm potencial para caracterizar o ambiente cutâneo, podendo existir maior sensibilização de receptores do tipo *Toll-like*. A figura 2 representa um folículo piloso, envolvido na patogênese da acne vulgar, indicando comedões, como exemplos de lesões elementares (CHIM, 2016).

Figura 2 – Representação esquemática do folículo piloso, envolvido na fisiopatologia da acne vulgar, indicando comedões, como exemplos de lesões elementares.
Fonte: Adaptada de Chim (2016).

Diferentes fatores etiológicos já foram apontados como importantes no desenvolvimento da acne vulgar, incluindo-se, entre outros, a poluição do ar, o uso de cosméticos, sem orientação de um dermatologista; alguns fármacos, alterações hormonais e estresse, além da hereditariedade. As mudanças nos padrões de morbimortalidade da população também parecem ter contribuído para o aumento da incidência de acne moderada ou grave (AL-MUTAIRI, 2011). Assim, nas últimas décadas, o aparecimento das lesões da acne vulgar tem sido associado mais fortemente ao estilo de vida e, especificamente, aos diferentes aspectos da alimentação dos

indivíduos. O consumo excessivo de produtos lácteos e alimentos com carga glicêmica elevada, são os temas mais discutidos (MCCUSKER; SIDBURY, 2016).

Grossi et al. (2016) pesquisaram sobre a influência de fatores dietéticos e seu possível impacto sobre a gravidade da acne vulgar. Os resultados indicaram que a acne moderada ou grave poderia estar associada ao consumo aumentado de leite, queijo, iogurte, doces, bolos e chocolate bem como consumo reduzido de peixes, frutas e legumes. Os autores também apontaram associação com história familiar, considerando parentes de primeiro grau e, ainda, obesidade (índice de massa corporal, IMC, igual ou superior a 30 kg/m^2). A obesidade parece estar envolvida em razão de constituir estado inflamatório sistêmico, ainda que de intensidade reduzida, em geral acompanhado de resistência à insulina e, portanto, possivelmente associado à hiperinsulinemia. No entanto, segundo Claudel et al. (2018), pesquisas clínicas e translacionais devem ser estimuladas, para confirmação dessa associação plausível.

Soguktas et al. (2018), buscando identificar a influência de polimorfismos na suscetibilidade ao desenvolvimento da acne vulgar, também indicaram a obesidade como possível influenciadora desse processo. Adipocinas inflamatórias específicas, como leptina e resistina, assim como aquelas que promovem efeitos anti-inflamatórios, como adiponectina e omentina, parecem ter correlação com a patogênese da acne. Os autores demonstraram redução dos teores séricos de omentina, em função do polimorfismo, e relação inversa com o IMC. Concluíram, portanto, que o polimorfismo no gene desta adipocina é capaz de influenciar sua função. De fato, o conteúdo circulante de omentina encontra-se reduzido nos indivíduos obesos ou com transtornos metabólicos, como a resistência à insulina, de modo que alterações no conteúdo desta adipocina podem constituir marcador do quadro clínico da acne vulgar, enquanto as alterações hormonais seriam os principais influenciadores.

Associação entre polimorfismo dos genes TNF-α (Fator de Necrose Tumoral alfa) e IL-10 (Interleucina 10) e suscetibilidade bem como gravidade da acne vulgar também foi investigada. Al-Shobaili et al. (2012) estudaram indivíduos de ambos os gêneros com idade média de aproximadamente 22 anos. As frequências de variantes genotípicas, para TNF-α-308, foram significativamente diferentes, entre os casos de acne, quando comparados aos 390 controles saudáveis. As diferenças nas frequências das variantes genotípicas para IL-10-1082, entre os casos e os controles, não indicaram significância estatística. Os autores concluíram que as variantes polimórficas do TNF-α-

308 podem aumentar a suscetibilidade para acne vulgar, sem correlação com a gravidade das lesões.

Alterações em hormônios sexuais também podem estar associadas à obesidade e resistência à insulina e, por conseguinte, a algumas doenças de pele, como a acne vulgar, cuja prevalência aumentada pode estar relacionada a elevação destas doenças crônicas não transmissíveis. Na resistência à insulina é possível identificar concentrações reduzidas de globulina ligadora de hormônios sexuais, produzida pelo fígado, que tem grande afinidade pela testosterona. Com o aumento do conteúdo biodisponível deste esteroide derivado do colesterol, dada a redução da globulina, ocorre maior fluxo através das camadas fosfolipídicas das membranas celulares da pele. Nestas circunstâncias é possível que, por ação da enzima 5-alfa-redutase, haja síntese de di-hidrotestosterona, esteroide sexual envolvido em diferentes funções biológicas e estéticas, incluindo acne e seborreia (ROTH et al., 2018). Assim, resistência à insulina está associada, possivelmente, à clínica do paciente com acne vulgar.

Alan e Cenesizoglu (2014) correlacionaram IMC, gravidade da acne e variações hormonais. Estes autores encontraram teores médios de testosterona livre, testosterona total, sulfato de dehidroepiandrosterona e prolactina mais elevados no grupo com acne vulgar, em comparação ao controle. O IMC aumentado correlaciona-se à maior predisposição à resistência à insulina e essa à maior quantidade livre dos andrógenos. Estes resultados sugerem que concentrações de andrógenos e IMC têm importância na patogênese da acne vulgar (HACIVELIOGLU et al., 2013; LAU; HÖGER, 2013; ALAN; CENESIZOGLU, 2014). Não há, entretanto, consenso a este respeito. Outros autores encontraram associação entre o desenvolvimento da acne vulgar, entre adolescentes do gênero masculino, e maturação sexual, mas não com a obesidade (BHATE; WILLIAMS, 2013; ROBEVA et al., 2013).

Assim como para os andrógenos, acima mencionados, foi demonstrado que o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1, *insulin-like growth*-1) apresenta expressão significativamente aumentada em tecidos cutâneos com acne vulgar, quando em comparação ao tecido sem acne, tanto em regiões epidérmicas quanto em regiões pilossebáceas. Adicionalmente, foi verificada associação significativa entre IGF-1 aumentado e IMC igual ou superior a 30 kg/m^2 (SELEIT et al., 2014). De outro modo, já foi sugerido que a composição de produtos lácteos pode contribuir para alterações hormonais e desfechos clínicos, associados à acne vulgar, considerando resultados indicativos de associação significativa entre ingestão destes alimentos e agravamento da

acne. Fisiopatologicamente, o IGF-1 poderia estimular a proliferação de queratinócitos, a lipogênese sebácea assim como a síntese androgênica. Estes achados reforçam a importância da atenção aos hábitos alimentares, entre pacientes com acne (ADEBAMOWO et al., 2005; ADEBAMOWO et al., 2006; VEITH; SILVERBERG, 2011).

Abulnaja (2009) investigou parâmetros bioquímicos entre mulheres eutróficas e obesas, com e sem acne. Concentrações séricas significativamente mais elevadas de triglicerídeos (TG), lipoproteínas de baixa densidade (*Low Density Lipoproteins,* LDL) e apolipoproteína B e, mais reduzidas, de lipoproteínas de alta densidade (*High Density Lipoproteins,* HDL) e apolipoproteína A1 foram verificadas no grupo de obesas com acne, comparado aos demais. Os teores séricos de testosterona, insulina e leptina mostraram-se significativamente superiores entre as obesas, comparadas as eutróficas, independentemente da presença de acne em ambos os grupos. De outro modo, a interleucina 1b se apresentou mais elevada no soro das mulheres com acne, independente do IMC. Em conjunto, estes achados revelam a existência de relação entre IMC e a acne vulgar, ocorrendo que alguns marcadores bioquímicos podem se encontar característica e exclusivamente alterados entre indivíduos obesos que apresentam esta dermatose.

Adicionalmente aos fatores já explicitados, envolvidos no desenvolvimento da acne vulgar, ressalta-se a importância do equilíbrio da microbiota cutânea. Apesar da grande diversidade do microbioma humano, cada nicho específico contém composição única de microrganismos, que guarda relação com os hábitos de vida do indivíduo bem como seu equilíbrio fisiológico. Uso excessivo de antibióticos e consumo de excesso de açúcar, gordura saturada e *trans*, aditivos alimentares e agrotóxicos representam aumento de risco para desequilíbrio da microbiota, capaz de favorecer diferentes distúrbios, incluindo, doença inflamatória intestinal, câncer, obesidade, dermatite atópica, psoríase e, também, acne vulgar (MUSZER et al. (2015).

3.2 Ácidos graxos

Ácidos graxos são compostos formados por uma cadeia carbonada e um grupo carboxila terminal, podendo ser classificados de acordo com o número de carbonos, presentes na sua estrutura. Estas moléculas são consideradas de cadeia curta, quando apresentam entre dois e seis átomos de carbono; de cadeia média, quando têm entre oito

e 14 átomos de carbono; e cadeia longa, quando há mais do que 14 átomos de carbono. Adicionalmente, podem ser categorizados como ácidos graxos saturados, quando apresentam apenas ligações simples, entre os carbonos; ácidos graxos monoinsaturados, quando apresentam uma única dupla ligação; ou ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), quando contêm duas ou mais duplas ligações. Ácidos graxos poli-insaturados podem, ainda, ser classificados em n-3 e n-6, de acordo com a localização da primeira instauração, em relação ao seu grupamento metil, da região terminal, na cadeia de carbonos (CALDER, 2011; TACO, 2011; SBC, 2013) (quadro 1).

Ácidos Graxos	Nome Sistemático	Nome Comum
Ácidos graxos saturados		
4:0	Butanóico	Butírico
6:0	Hexanóico	Capróico
8:0	Octanóico	Caprílico
10:0	Decanóico	Cáprico
12:0	Dodecanóico	Láurico
14:0	Tetradecanóico	Mirístico
16:0	Hexadecanóico	Palmítico
18:0	Octadecanóico	Esteárico
20:0	Eicosanóico	Araquídico
22:0	Docosanóico	Behênico
24:0	Tetracosanóico	Lignocérico
Ácidos graxos monoinsaturados		
14:1	Tetradecenoico	Miristoléico
16:1	Hexadecenóico	Palmitoléico
18:1	Octadecenóico	Oléico
20:1	Eicosenóico	Gadoléico
22:1	Docosenóico	Erúcico
24:1	Tetracosenóico	Nervônico
Ácidos graxos polinsaturados		
18:2	Octadecadienóico	Linoléico
18:3	Octadecatrienóico	Linolênico
18:4	Octadecatetraenóico	Parinárico
20:2	Eicosadienóico	
20:3	Eicosatrienóico	
20:4	Eicosatetraenóico	Araquidônico
20:5	Eicosapentaenóico (EPA)	Timnodônico
22:5	Docosapentaenóico (DPA)	Clupanodônico
22:6	Docosahexaenóico (DHA)	
Ácidos graxos trans		
18:1 t	*Trans*-octadecenóico	Elaídico
18:2 t	*Trans*-octadecadienóico	

Quadro 1- Tipos de ácidos graxos, segundo comprimento da cadeia de carbono; número de duplas ligações na cadeia de carbono e configuração das duplas ligações. Fonte: TACO, 2011.

Quase todos os AG podem ser sintetizados pelo organismo humano a partir da lipogênese de novo, exceto os ácidos linoleico e linolênico, portanto, considerados essenciais. Os mamíferos são capazes de alongar e dessaturar estes AGPI, formando AGPICL. Ácido linoleico pode ser convertido em AA e DGLA, enquanto o ácido

linolênico, em EPA, ácido docosapentaenoico (DPA, C22:5 n-3) e DHA (BENATTI et al., 2004; BIERVLIET; STRANDVIK, 2015; GREUPNER et al., 2018). A disponibilidade de AGPICL resulta na possibilidade da sua metabolização, pelas enzimas cicloxigenase e lipoxinagese, formando eicosanoides. A maior parte dos eicosanoides derivados do AA tem atividade inflamatória potente, como a prostaglandina E2, produzida com a participação da COX, e o leucotrieno B4, resultante da ação da LOX. Por outro lado, EPA, ao ser metabolizado pela COX, dá origem aos prostanoides da série 3 e, ao sofrer ação da LOX, produz leucotrienos da série 5, ambos com função inflamatória atenuada (CALDER, 2011). Estas enzimas são capazes, também, de atuar sobre o EPA, produzindo resolvinas da série E, de ação anti-inflamatória. Outro AGPICL metabolizado pela LOX é o DHA, que é convertido em resolvinas e protectinas da série D, cujos efeitos são igualmente anti-inflamatórios (SERHAN; CHIANG; VAN DYKE, 2008; BIERVLIET; STRANDVIK, 2015). Ressalta-se que o compartilhamento da COX e LOX, para formação de metabólitos, provenientes de AGPICL, entre as séries n-3 e n-6, determina que a maior disponibilidade de AG de uma destas séries resulte na redução dos eicosanoides provenientes da outra (CALDER, 2011). Por outro lado, na própria síntese de AGPICL de ambas as séries estão envolvidas as mesmas enzimas (dessaturases), configurando competição entre ALA e LA, para formação de seus derivados de cadeia longa. Assim, o aumento da disponibilidade dietética de LA tem como consequência a redução da formação de EPA, DPA e DHA (TOSI et al., 2014; BIERVLIET; STRANDVIK, 2015) (figura 3).

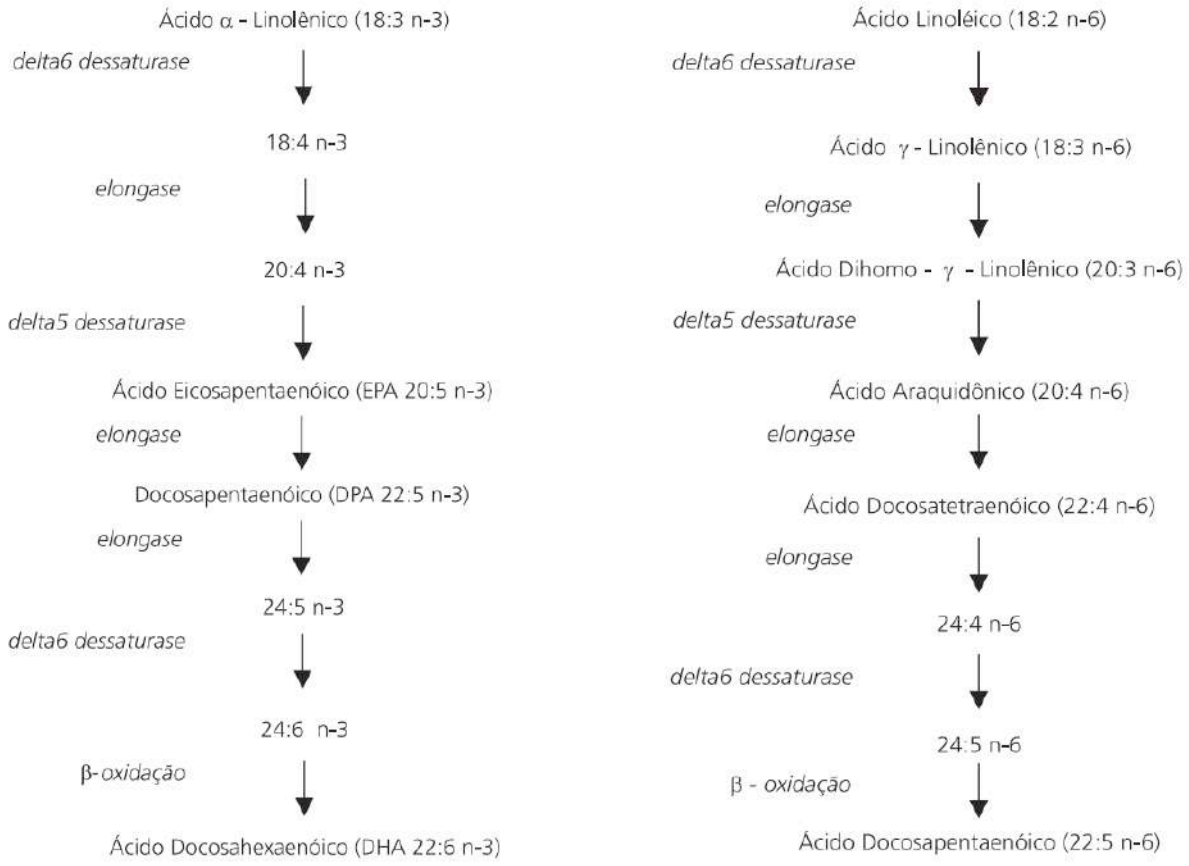


Figura 3 - Representação esquemática do metabolismo dos ácidos graxos essenciais.
Fonte: Vaz et al. (2006).

A natureza dos AG dos fosfolipídios, constituintes das membranas plasmáticas, interfere significativamente na atividade celular (GUARDAMAGNA; CAGLIERO, 2016). A redução do "empacotamento" dos fosfolipídios, controlando a viscosidade das membranas celulares, decorre dos AGPI, que compõem estas estruturas. Este efeito repercute sobre a posição, integração e ação de receptores, canais iônicos e ligantes, localizados nas membranas. Em razão do maior número de insaturações, os AGPICL contribuem de forma mais substancial para a fluidez das membranas e, consequentemente, para o adequado funcionamento das células e da comunicação entre elas (FRISARDI et al., 2011). Na pele, AGPICL podem integrar estruturas epidérmicas e dérmicas, que contêm lipídios, como o estrato granuloso, fazendo parte das lamelas e entre os fibroblastos da derme. Assim, dependendo da natureza química do AG disponibilizado para essas estruturas, há favorecimento, ou não, de resposta anti-inflamatória (KENDALL et al., 2017) (figura 4).

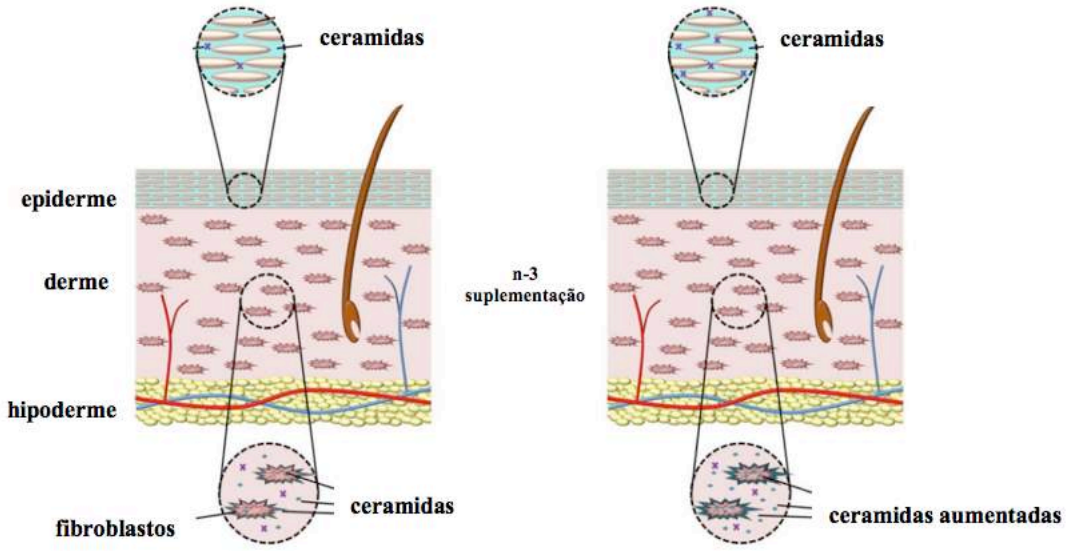


Figura 4 - Representação esquemática da presença de lipídios (ceramidas) em regiões da pele, como epiderme e derme.
Fonte: adaptada de Kendall et al. (2017).

Adicionalmente, devido a sua característica lipofílica, os AG e seus metabólitos podem atravessar membranas celulares, por difusão simples ou facilitada, e ligar-se diretamente a fatores de transcrição, promovendo modulações na expressão de genes (CLARKE et al., 2002). A este respeito é reconhecida a ação dos AGPICL n-3, e seus metabólitos, como ligantes de receptores de ácido retinoico, receptores retinoide X, proteínas de ligação ao elemento de resposta do AMP-cíclico e receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (*peroxisome proliferator-activated receptor*, PPAR). Assim, por meio da sua ligação a estas estruturas, estes AG são capazes de regular genes, responsáveis por diversos processos, envolvidos em diferentes funções celulares (BALOGUN; CHEEMA, 2014). Outras evidências indicam que AGPICL atuam nos pré-adipócitos e, por meio de sua ligação com PPAR, regulam a expressão de genes, relacionados ao metabolismo lipídico e adipogênese (BERGER; MOLLER, 2002). Neste contexto, o AA tem sido identificado como promotor da adipogênese, enquanto aos AGPICL n-3 se tem atribuído, principalmente, efeitos anti-obesogênicos (MUHLHAUSLER; AILHAUD, 2013; BELCHIOR et al., 2015).

Conjuntamente, estes achados permitem considerar que, especialmente, os AGPICL da série n-3 podem produzir efeitos favoráveis à atenuação da resposta inflamatória. Essa família de AGPI afeta vários aspectos funcionais dos monócitos e inibe a ativação das células T bem como reduz os teores circulantes de granulócitos,

com inibição da secreção de citocinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-19 e TNF-alfa), que são os principais mediadores de inflamação da acne vulgar (LOGAN et al., 2003; MOCHTAR et al., 2018A Associação Americana de Diabetes (ADA) indica o consumo de óleo de peixe, fonte de EPA e DHA, ou oleaginosas, fontes de ALA, para prevenção de doenças cardiovasculares (ADA, 2017).

3.3 Suplementação de ácidos graxos de cadeia longa na acne vulgar

Atualmente são escassas as evidências que relacionam possíveis efeitos da suplementação com ácidos graxos sobre a acne vulgar. Golandam et al. (2012), em estudo não randomizado assim como não controlado por placebo, abordaram esta temática. Nesta investigação, 13 homens americanos com acne vulgar, com idade entre 18 e 40 anos receberam três cápsulas diárias de óleo de peixe, totalizando ingestão de 930 mg de EPA, 720 mg de DHA e 174 mg de DPA, durante três meses. Os autores buscaram testar a hipótese de que a suplementação com AGPICL n-3 seria capaz de reduzir as lesões elementares da acne vulgar, como comedões, pápulas e pústulas. Não houve alteração significativa na classificação do quadro (gravidade da acne vulgar) quando comparados os dados obtidos antes e ao final das 12 semanas de suplementação. No entanto, ocorreu ampla gama de respostas individuais à intervenção. Oito participantes (62 %) apresentaram melhora na gravidade da acne, quatro (31 %) manifestaram aumento e um (7 %) não indicou alteração. A classificação inicial da gravidade da acne, entretanto, foi considerada limitação do estudo. Aproximadamente 40 % dos voluntários iniciaram a intervenção com quadro considerado leve. Os autores ponderaram se a resposta à suplementação com AGPI n-3 dependeria da gravidade da acne vulgar, sugerindo melhor responsividade à intervenção para os estágios moderado ou grave da doença. Adicionalmente, estes investigadores consideraram a pertinência da avaliação subjetiva do próprio paciente bem como do aumento da dose de EPA suplementar (3-6 g/dia, ao invés de 930 mg) para alcance de resultados mais significativos.

Jung et al. (2014) realizaram um ensaio clínico randomizado, controlado e duplo-cego, envolvendo 45 voluntários coreanos que apresentavam acne, de ambos os gêneros (36 homens, 9 mulheres), com faixa etária variando entre 18 e 33 anos. Estes indivíduos foram distribuídos em três grupos, submetidos a distintos tratamentos durante 10 semanas. Um grupo recebeu 2 g de suplemento diário contendo 1 g de EPA e

1 g de DHA; outro recebeu 2 g de suplemento diário contendo 2 g de óleo de borragem, contendo 400 mg de GLA (ácido gamalinoleico, 18:3 n-6*),* enquanto o terceiro grupo (controle) não recebeu suplementação. A composição nutricional das dietas, incluindo seu conteúdo energético e carga glicêmica foi avaliada e se mostrou semelhante entre os participantes. Após o período de tratamento, a contagem média das lesões inflamatórias e não inflamatórias da acne apresentou redução significativa em ambos os grupos suplementados, não sendo observadas alterações no grupo controle. Adicionalmente, os autores não verificaram diferenças significativas entre os resultados observados para os grupos suplementados, indicando que o tratamento tanto com EPA e DHA ou GLA produzem efeitos semelhantes na redução de quadros inflamatórios.

Estudos de natureza semelhante, envolvendo voluntários brasileiros são absolutamente escassos. Somente foram encontradas duas publicações anteriores de autores que investigaram essa temática. Costa et al. (2013) avaliaram os efeitos do emprego de antibiótico e/ou da suplementação com AG sobre o perfil de AG presente em amostras de pústulas coletadas de 45 homens brasileiros, com média de idade de 18,3 anos, diagnosticados com acne vulgar. O tempo médio de duração da dermatose alcançava 5,8 anos. Os voluntários foram distribuídos em três grupos, recebendo um dos seguintes tratamentos, diariamente, durante de 90 dias: grupo 1, suplemento contendo 300 mg de limeciclina (antibiótico); grupo 2, suplemento contendo 540 mg de ácido γ-linolênico (C18:3 n-6) mais 1.200 mg de LA (C18:2 n-6) e 510 mg de ácido oleico (C18:1 n-9); e grupo 3, recebeu os suplementos oferecidos aos grupos 1 e 2, conjuntamente. A comparação dos resultados obtidos antes e ao final dos tratamentos mostrou que tanto a limeciclina quanto os AG suplementados não foram capazes de afetar de forma significativa o perfil lipídico do sebo.

Costa et al. (2007) também investigaram voluntários brasileiros. Neste estudo, 16 voluntários receberam durante três meses, suplementos diários contendo 3 g de AGPI mais 3 mg de vitamina E, enquanto outros 15 indivíduos foram tratados com placebo. Ao final do tratamento foram avaliados os resultados relativos ao exame clínico, à autoavaliação realizada pelos voluntários (escore subjetivo) e à imagem digital. Nenhuma diferença significativa foi identificada entre o grupo suplementado e o que recebeu placebo, sendo verificada correlação positiva entre as análises patológicas e imagens digitais. Este estudo apresentou, no entanto, limitações em relação às avaliações clínicas.

4 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

A acne vulgar pode cursar com processo inflamatório intenso, resultando na formação de cicatrizes profundas, produzindo impacto negativo na qualidade de vida dos indivíduos suscetíveis. As propostas terapêuticas utilizadas, na atualidade, podem causar ressecamento da pele e das mucosas, alopecia, comprometimento hepático, entre outras alterações clínicas, nutricionais, bioquímicas e metabólicas. Portanto, novas condutas são estimuladas, como orientações dietoterápicas específicas, supostamente capazes de modular processos inflamatórios crônicos. Assim, o tratamento usual da acne poderia ser otimizado, com redução, por exemplo, da sua duração e/ou de seus efeitos adversos.

Neste contexto, se reconhece que AGPI n-3 são promotores de resposta inflamatória atenuada, quando incorporados nos fosfolipídios das membranas celulares, no lugar do ácido araquidônico, servindo como substrato para COX-2, bem como para a 5-LOX. Dessa forma, é possível supor que o consumo de proporções mais elevadas de AGPI n-6 frente aos da série n-3, favorecendo maior incorporação de n-6 nas membranas plasmáticas, seria capaz de predispor à acne vulgar, considerando a resposta inflamatória mais potente atribuída aos metabólitos derivados desta família de AG. O equilíbrio entre estes AG poderia reduzir o número de agudizações infecciosas, assim como o uso excessivo de anti-inflamatórios e antibióticos, prevenindo a disbiose, melhorando, assim, a qualidade de vida dos pacientes.

Há, entretanto, escassez de estudos acerca do impacto da suplementação com AGPICL n-3 sobre a patogênese e fisiopatologia da acne vulgar, com melhora dos desfechos clínicos, bioquímicos e metabólicos. Portanto, na presente tese, buscamos testar a hipótese de que a suplementação com o óleo de peixe, fonte de AGPICL n-3 é capaz de reduzir a resposta inflamatória e as lesões elementares (comedões, pápulas e pústulas), que caracterizam a acne vulgar e, ainda, que estas alterações podem estar correlacionadas ao estado clínico geral, nutricional, bioquímico e metabólico.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da suplementação com óleo de peixe sobre a evolução clínica, estado nutricional e metabólico de adolescentes do gênero masculino, com acne vulgar.

5.2 Objetivos específicos

Entre voluntários adolescentes do gênero masculino que apresentam acne vulgar, comparar, antes e após 60 dias de suplementação com óleo de peixe (grupo suplementado) ou óleo mineral (grupo placebo), as seguintes variáveis:

(i) avaliação laboratorial do sangue (bioquímica e hormônios);
(ii) perfil de AG do plasma;
(iii) gravidade das lesões de acne vulgar (comedões, pápulas e pústulas);
(iv) avaliação subjetiva dos voluntários sobre as lesões;
(v) antropometria e composição corporal;
(vi) consumo alimentar.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Delineamento do estudo e aspectos éticos

O presente estudo constituiu ensaio clínico randomizado, placebo controlado e duplo-cego, envolvendo amostra de conveniência que incluiu 20 voluntários adolescentes, captados no ambulatório de dermatologia do Hospital Municipal Jesus, localizado na cidade do Rio de Janeiro. O projeto foi cadastrado no CONEP (CAAE: 48827615.1.0000.5279, ANEXO A) e obteve aprovação do CEP da Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro, em 24 de maio de 2016 (parecer 1.558.238, ANEXO B). O estudo foi publicado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC), sob código de acesso RBR-5csqm4.

Para efetiva participação no estudo, os voluntários elegíveis foram esclarecidos acerca dos objetivos bem como das etapas do projeto, sendo solicitada leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Para os menores de 18 anos de idade, o TCLE foi assinado em duas vias, uma pelo responsável e outra pelo adolescente (ANEXO C).

6.2 Critérios de elegibilidade e de exclusão

Foram considerados elegíveis adolescentes do gênero masculino, com idade entre 12 e 20 anos (Brasil, 2013; Sawyer et al., 2018), diagnosticados com acne vulgar, pelo serviço de dermatologia do Hospital Municipal Jesus, que atendessem aos seguintes critérios de inclusão: (i) sem relato de outras doenças dermatológicas; (ii) sem doenças crônicas (doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus*, hipertensão arterial sistêmica, qualquer tipo de câncer; (iii) sem histórico conhecido de hipersensibilidade aos suplementos em teste; (iv) não usuários de suplementos alimentares, com exceção para o óleo de peixe; (v) não usuários de medicamentos tópicos e orais nos últimos seis meses e (vi) não usuários de cosméticos.

Os critérios de exclusão considerados foram: voluntários que relataram diagnóstico, ou tiveram relato feito por seus responsáveis, para hepatopatias, neuropatias e nefropatias; aqueles que não compareceram, sucessivamente, às consultas marcadas, durante a intervenção; aqueles que se tornaram inacessíveis para os contatos necessários; não executaram, de forma correta, as orientações para participação e aqueles que passaram a não atender nossa solicitação durante o estudo.

6.3 Intervenção[1]

Os voluntários elegíveis que atenderam aos critérios de inclusão para participação no estudo foram randomizados, por meio de um sistema de sorteio simples[1], conforme empregado por Kim et al. (2017), passando a ser identificados por códigos, designados pelo investigador principal, e integrados a um dos dois grupos constituídos. O grupo denominado "intervenção" foi suplementado com cápsulas gelatinosas e desodorizadas contendo óleo de peixe (1.000 mg; Softech Supra Ômega DHA70®; lote 005918), incluindo 700 mg de DHA mais 100 mg de EPA. De outro modo, o grupo designado "placebo" recebeu cápsulas gelatinosas contendo óleo mineral (1.000 mg; lote 005515).

O período de intervenção correspondeu a 60 dias consecutivos. Todas as cápsulas foram obtidas da empresa Softech Brasil SA, permanecendo armazenadas em local fresco e protegido da luz até seu envasamento nos frascos fornecidos aos voluntários. De modo a garantir o caráter duplo-cego da intervenção, as 60 cápsulas foram fornecidas a cada adolescente, de ambos os grupos, em frascos brancos de plástico, numerados, de modo que não podiam ser identificados como intervenção ou placebo, tanto pelo voluntário, quanto pelo pesquisador.

A identificação e captação de voluntários elegíveis foi iniciada em janeiro de 2017, procedendo-se a coleta de dados sociodemográficos, antropométricos e clínicos bem como de amostras biológicas. Informações pessoais (nome, endereço residencial, e-mail, telefone residencial e celular) e sociodemográficas (data de nascimento e gênero) foram obtidas por meio de entrevistas, e registradas em formulário especificamente elaborado para a pesquisa. A avaliação do fototipo (FITZPATRICK, 1988), segundo classificação de Fitzpatrick, foi realizada por dermatologista.

Todos os participantes receberam orientações gerais sobre alimentos, com base na pirâmide alimentar[22], juntamente ao reforço nas considerações sobre as restrições ao uso de cosméticos, medicamentos e consumo de suplementos. Por ocasião do fornecimento dos frascos contendo as cápsulas, os adolescentes foram orientados a ingerir somente uma unidade pela manhã, acompanhada de água (300 mL), diariamente, até completar 60 dias de tratamento. (figura 7).

No final do primeiro mês, os voluntários foram orientados a comparecer ao

[1] *http://www.random.org*

hospital, para controle da adesão à intervenção, portando seus frascos, assim como o calendário disponibilizado para marcação diária do horário da ingestão das cápsulas. A adesão ao tratamento também foi monitorada por meio de contato telefônico (ligações e mensagens). Os adolescentes que não respeitaram as orientações foram excluídos do estudo.

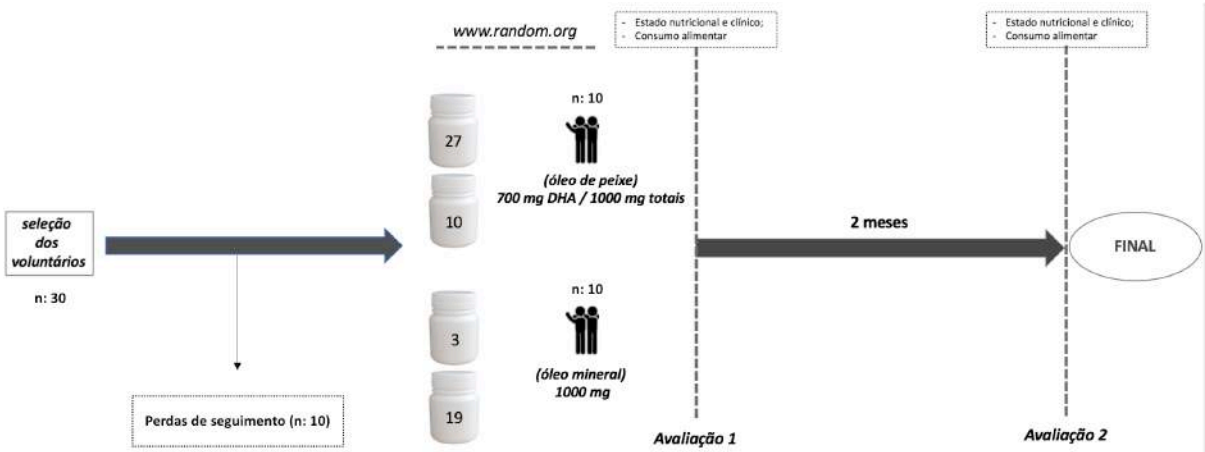


Figura 5 – Representação esquemática das etapas do estudo.

6.4 Coleta de sangue

Todo material biológico utilizado nas análises foi coletado imediatamente antes e ao final do período de suplementação (sessenta dias depois), de ambos os grupos (óleo de peixe e placebo). Para a coleta de sangue, aproximadamente 3 tubos de 6 mL, realizada no laboratório de análises clínicas do hospital Municipal Jesus, os voluntários foram previamente orientados, pelo próprio serviço do hospital, a comparecerem em jejum. O sangue foi centrifugado, para separação do soro ou plasma, seguindo protocolos em kits de reagentes da BIOCLIN, utilizados nos testes para quantificação dos parâmetros bioquímicos investigados (glicose, insulina, frutosamina, hemoglobina glicada, testosterona biodisponível, TNF-α, proteína C reativa (PCR), magnésio, cobalamina, folato, homocisteína, colesterol total (CT), LDL, TG, HDL, retinol, zinco e 25-hidroxi-colecalciferol). Alíquotas de plasma foram transportadas em nitrogênio líquido, para a UFRJ, e separadas para as análises cromatográficas do perfil de AG, realizadas no laboratório de bioquímica nutricional do Instituto de Nutrição Josué de Castro, armazenadas em freezer -80°C.

6.4.1 Avaliação laboratorial do sangue

Todos os procedimentos relativos às análises bioquímicas sanguíneas foram executados por técnicos e farmacêuticos do laboratório de análises clínicas do Hospital Municipal Jesus, onde foram conduzidos os testes. Foram utilizados kits comerciais específicos, previamente testados nesse laboratório.

6.5 Maturação sexual

6.5.1 Avaliação por estágios de Tanner

Os adolescentes foram classificados em relação aos estágios de desenvolvimento puberal, segundo os critérios de Tanner (TANNER; WHITEHOUSE, 1976). Foi solicitado que o participante identificasse imagens, específicas para os estádios de maturação sexual de Tanner (pelos pubianos e formato da genitália masculina), que melhor indicariam seu estágio atual de desenvolvimento.

6.6 Análise do perfil de AG do suplemento e do plasma

Para quantificação dos AG, presentes nos lipídios totais do suplemento e do plasma dos voluntários, as amostras foram submetidas à metilação direta alcalina, de acordo com o método Ce2b-11, preconizado pela *American Oil Chemists' Society* (AOCS, 2011). Foram pesadas em balança digital analítica SHIMADZU, modelo AUY220, alíquotas do óleo de peixe (100 mg) e de plasma, transferidas para tubos Pirex® e homogeneizadas em 5 mL de NaOH/metanol 0,5 M com o auxílio de bastões de vidro. Posteriormente foi adicionado 1 mL de padrão interno [(C13:0 (Sigma-Aldrich) em hexano PA; 5,0 mg/mL)] e aquecido a 100 ºC por 15 minutos. Após este período, os tubos foram imediatamente imersos em gelo por aproximadamente cinco minutos e receberam 5 mL de trifluoreto de boro 14 % metanol sob leve agitação, novamente aquecidos a 100 ºC, durante dois minutos, e resfriados em gelo. Em seguida, foram adicionados 3 mL de NaCL saturado e 4 mL de hexano a cada tubo, sob agitação suave, permanecendo em repouso por uma hora para a separação das fases. Os ésteres metílicos formados na parte superior do tubo foram filtrados e coletados em vials de 1 mL, próprios para amostrador automático de cromatógrafo a gás, contendo 50 mg de sulfato de sódio anidro, e estocados em freezer -20 ºC até a análise do perfil de AG.

Cromatografia gasosa foi empregada para a análise dos teores relativos de AG dos lipídios totais das amostras, utilizando equipamento Agilent Technologies 7890A CG System, equipado com detector de chama ionizável (FID), acoplado ao software

EZChrom Elite CDS (Agilent Technologies, Inc., C.A., U.S.A.). As soluções de ésteres metílicos foram inseridas no equipamento por meio de injetor automático, no volume de 1 µL/amostra, corridas integralmente (*splitless*). Os ésteres metílicos foram separados em coluna capilar de sílica fundida SP-2560 de bis-cianopropilpolisiloxano (Supelco Inc., PA, USA) com 100 m de comprimento x 0,25 µm x 0,2 µm de diâmetro interno, cuja programação de temperatura inicial foi estabelecida em 100 °C, alcançando, na rampa 1, temperatura de 140 °C, com taxa de aumento de 3 °C/minuto. Na rampa 2, a taxa de aumento da temperatura foi de 0,5 °C/minuto até alcançar 170 °C. Em seguida, na rampa 3, 3,2 °C/ minuto até 220 °C, permanecendo nesta temperatura por 35 minutos. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 ºC. Os fluxos de gases (Linde Gases, RJ, BR) foram de 0,75 mL/minuto para o gás de arraste (hidrogênio); 25 mL/ minuto para o gás auxiliar (nitrogênio); 30 mL/minuto e 400 mL/minuto para o hidrogênio e para o ar sintético da chama, respectivamente. Os AG metilados foram identificados, com base na comparação com o tempo de retenção relativo dos picos do padrão (Nu-ChekPrep. Inc., mistura de ésteres metílicos 463), e a quantificação de cada AG foi realizada utilizando-se o padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich), como referência

6.7 Avaliação clínica

6.7.1 Gravidade da acne vulgar

Para a avaliação clínica da acne vulgar foi empregado o sistema de classificação de gravidade da doença proposto por (aqui caberia citar uma referencia), que atribui um fator para cada área corporal afetada, conforme a seguinte descrição: testa (fator 2), bochechas direita e esquerda (fator 2), nariz (fator 1), queixo (fator 1), tórax (me parece mais adequado que "peito") e região superior do dorso (fator 3). Para cada tipo de lesão também é atribuído um valor, correspondente a sua gravidade, equivalente a 0, na inexistência de lesões; 1, na existência de comedões; 2, na existência de pápulas; 3, na existência de pústulas e 4, na existência de nódulos. O *score* de cada área é calculado multiplicando-se o fator, correspondente à própria área, pelo valor referente à gravidade das lesões. A pontuação global é, então, calculada pela soma dos *escores* de cada área, conforme descrição a seguir: (testa; fator 2 x valor da gravidade da lesão) + (bochechas direita; fator 2 x valor da gravidade da lesão) + (bochechas esquerda; fator 2 x valor da gravidade da lesão) + (nariz; fator 1 x valor da gravidade da lesão) + (queixo; fator 1 x valor da gravidade da lesão) + (tórax e região superior do dorso; fator 3 x valor da gravidade da lesão). O sistema propõe que pontuações globais entre 1 e 18, definem

grau leve da acne vulgar, entre 19 e 30, moderado; entre 31 e 38, grave e acima de 39, muito grave. A gravidade da acne vulgar de todos os adolescentes foi assim classificada, em consulta que antecedeu o início da suplementação e ao final do período de tratamento (60 dias depois). As avaliações foram feitas por dois pesquisadores, envolvidos na pesquisa, sendo um deles dermatologista.

6.7.2 Avaliação subjetiva da acne vulgar

Na consulta inicial os voluntários foram informados acerca da sua classificação na escala analógica visual, variável entre 0 (zero - pele livre de acne) e 10 (dez - pele em estado inflamatório, com acne). Nesta ocasião, todos os participantes foram classificados com a pontuação máxima (10,0). Em nova consulta, ao final da intervenção, foram convidados a realizar autoanálise, considerando o aspecto da pele acneica, usando a mesma escala. Nesse método, quando a acne vulgar é agravada, em comparação à consulta inicial, as pontuações da escala analógica visual podem exceder a pontuação 10,0, entretanto, esta situação não foi verificada no presente estudo (JUNG et al., 2014).

6.8 Massa corporal, estatura e índice de massa corporal

Na rotina de avaliação antropométrica foram consideradas as seguintes medidas: (i) massa corporal total, utilizando balança eletrônica de bioimpedância (marca Bioland, modelo EF912, escala de graduação de 100 g e capacidade máxima para 200 kg) e (ii) estatura autorrelatada e confirmada com estadiômetro portátil (marca Alturaexata®, variação de 0,1 cm). Os adolescentes foram posicionados no centro da balança, com as costas voltadas para o pesquisador, pés unidos, descalços e braços estendidos ao longo do corpo, utilizando roupas leves e sem objetos pessoais. No estadiômetro, os voluntários foram posicionados de frente para avaliador, descalços, joelhos esticados, calcanhares unidos, coluna vertebral encostada na régua, cabeça erguida, sem adereços nos cabelos e mirando em plano horizontal de Frankfurt (LOHMAN, 1988). Foram realizadas duas medidas de estatura, com variação máxima aceitável de 0,5 cm, que foram utilizadas para cálculo da média.

As medidas de massa corporal e estatura foram empregadas no cálculo do IMC [(massa corporal total (kg) / estatura^2 (m^2)]. Para definir "excesso de peso" foi adotado critério preconizado pela Organização Mundial da Saúde (valores de z-escore para IMC superiores a + 1) (ONIS et al., 2007

6.9 Perímetros corporais

A medida do perímetro da cintura foi efetuada utilizando-se fita métrica inelástica, de comprimento máximo de 150 cm e variação de 0,1 cm. A avaliação foi realizada com o adolescente em posição ereta, pés ligeiramente afastados, braços estendidos ao longo do corpo e abdômen relaxado. A medida foi realizada no menor perímetro do tronco, em duplicata, admitindo-se variação máxima de 1,0 cm entre ambos os valores apurados (FELLER et al., 2010).

6.10 Absorciometria de dupla-emissão de raios X

A avaliação da composição corporal foi obtida, também, a partir do emprego da técnica de absorciometria de dupla-emissão de raios X, utilizando o equipamento iDXA - Lunar, *software* enCore Rf2008, versão 14.20, GE Healthcare, Madison, WI, USA, calibrado, diariamente, de acordo com o protocolo estabelecido pelo fabricante. A medida foi realizada sempre pelo mesmo técnico especializado e treinado, em parceria com o Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional do Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Os voluntários, orientados a vestir roupas leves, foram dispostos em decúbito dorsal, posição na qual são obtidas as imagens de escaneamento do corpo inteiro, com os pés descalços, desprovidos de quaisquer adereços metálicos (botões, zíper, entre outros) que pudessem interferir na análise e, assim, alertados a permanecerem imóveis, até que o equipamento terminasse todo o escaneamento, realizado entre o topo da cabeça e os pés. A duração total do exame foi, em média, de 20 minutos. As variáveis analisadas, recomendadas em diretriz da Sociedade Internacional de Densitometria Clínica, incluíram: massa corporal total, massa de gordura corporal total e visceral (KAUL et al., 2012; KELLY, 2012; MICKLESFIELD et al., 2012; PETAK et al., 2013; ROTHNEY et al., 2013).

6.11 Avaliação do consumo alimentar

Os dados nutricionais foram obtidos com a aplicação do recordatório de 24 horas, no início do estudo e ao final dos dois meses do tratamento, seguindo o mesmo protocolo. Este inquérito alimentar foi relativo à ingestão de alimentos e líquidos, pelo voluntário, nas últimas 24 horas do dia anterior, tanto em um dia de rotina na semana quanto um dia do final de semana; sendo composto por três questões básicas: (i)

refeição e horário; (ii) alimento consumido e (iii) quantidade em medida caseira. Para favorecer a qualidade das informações obtidas foram empregados álbuns de fotografias, modelos tridimensionais de alimentos, tabelas de composição de alimentos e de medidas caseiras e marcas comerciais de alimentos tradicionais (FISBERG et al., 2009). Assim, para auxiliar o preenchimento do recordatório de 24 horas, fotografias de utensílios e porções foram utilizadas, facilitando a compreensão das quantidades consumidas (LOPES; BOTELHO, 2008).

As informações foram registradas como medidas caseiras e, posteriormente, convertidas em gramas e mililitros, utilizando tabelas de composição de alimentos, como por exemplo a TACO, 2011. Os ingredientes das preparações mais elaboradas foram considerados separadamente, possibilitando análise da composição da refeição, assim como da quantidade de óleo acrescida que, por sua vez, foi avaliada segundo o modo de preparo dos alimentos (PINHEIRO et al., 2004). Posteriormente, foi construído um banco de dados, incluindo nutrientes de interesse, utilizando o programa Microsoft® Excel®. Foram consideradas as seguintes variáveis relacionadas à composição nutricional da dieta dos voluntários: carboidratos, proteínas, lipídios e energia.

A frequência de consumo semanal de alimentos, categorizados em diferentes grupos, também foi estimada por meio de questionário de frequência alimentar. O questionário foi preenchido pelo próprio voluntário, após orientações, permitindo posterior análise qualitativa (SISVAN, 2008), sendo identificado para cada grupo de alimento, o número de vezes de consumo na semana. Os grupos de alimentos considerados, incluíram, salada crua, legumes e verduras cozidos, frutas frescas e salada de fruta, feijão, leite e iogurte; batata frita, salgados de pacote e salgados fritos, hambúrguer e embutidos, bolachas, biscoitos doces ou recheados, doces, balas e chocolates, refrigerante (SISVAN, 2008).

6.12 Análise estatística

Para a construção do banco de dados e respectivas análises, foi utilizado o software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 19.0 for Windows; SPSS Inc Chicago). As variáveis contínuas foram descritas como mediana, média aritmética e desvio-padrão. Foram aplicados testes não paramétricos, em função do reduzido tamanho amostral. O teste de Wilcoxon, pareado, foi utilizado para avaliar existência de diferença entre o início e o final do estudo, dentro de um mesmo grupo.

Também foi empregado o teste Mann Whitney, para avaliar a existência de diferença significativa, entre dois grupos independentes (suplementado e placebo), antes e após o período do estudo. Para variações, dentro de cada um dos dois grupos, foram realizadas as razões (final / inicial) das variáveis investigadas. Para significância estatística e rejeição da hipótese de igualdade, considerou-se o *P* valor

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Manuscrito 1

Title: Nutritional interventions in the treatment of acne vulgaris: a systematic review of clinical trials

Author's names: Felipe Cardoso[1*]; Patricia Coelho De Velasco[1]; Maria das Graças Tavares-do-Carmo[1]

[1] Laboratório de Bioquímica Nutricional, Instituto de Nutrição Josué de Castro, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Name, mailing address, email address, telephone and fax numbers for the author responsible for correspondence about the manuscript:

Dr. Felipe Cardoso

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Av. Carlos Chagas Filho, 373

Edifício do Centro de Ciências da Saúde, Bloco J, 2 andar, sala 021

CEP: 21941-902 Ilha do Fundão, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Tel: +55 21 3938-6596 / +55 21 994329392

e-mail address: felipe.souza.cardoso@hotmail.com

A shortened version of the title:

Nutritional treatments on acne vulgaris

Keywords:

acne vulgaris; nutritional supplementation; bioactive compounds; inflammation; dermatology

Abstract

The aim of this study is to review the literature about dietary interventions on acne vulgaris to support the development of more effective treatments in clinical practice. A systematic review of the literature, from clinical trials over the last five years, available in *Pub Med* and *SciELO*. The selected articles were analyzed according to the Jadad scale, CONSORT and risk of bias using the Cochrane protocol. CONSORT indicated that most of the evidence score was attributed in the titles, abstracts and some of the methods. In particular, the methods of the studies evaluated, when lacking detail, received lower scores, among the evidence, expressed as a percentage. The results, after using the Jadad scale, indicated a similar profile to that obtained with the CONSORT protocol. However, this tool is limited with regard to randomization and blinding. Using the Cochrane method, the risk of bias was evaluated. Results corroborated the evaluations by CONSORT and Jadad scale. Supplementation with n-3 fatty acids, *Camellia sinensis*, *Berberis vulgaris*, chromium, selenium and probiotics were significant, but results were limited for the treatment of acne vulgaris. Consumption of foods with increased glycemic load and chocolate indicated a correlation with an increase in acneiform lesions. Changes in nutritional status of alfa-tocopherol, cobalamin and folic acid were associated with the use of isotretinoin. There is a need to increase the quantity and quality of scientific evidence on the nutritional treatment of acne vulgaris in order to more effectively and safely guide the nutritional actions of clinical practice today.

Introduction

Acne vulgaris is a chronic dermatosis, highly prevalent in the western population, and common among adolescents. It is characterized by follicular keratinization, intense secretion of sebum, colonization of *Propionibacterium acnes*, with intrafollicular overgrowth and inflammation. There are different stages of lesions: open and closed comedones (noninflammatory lesions), papules and pustules (inflammatory lesions). This acne, then, which is usually approached as an aesthetic problem, can have repercussions for a lifetime, such as low self-esteem, with emotional and social consequences, which may compromise quality of life[1,2,3,4]. It is estimated that approximately 9.4% of the world population has acne vulgaris, ranking it as the eighth most prevalent global disease. Acne vulgaris occurs mainly during adolescence, due to hormonal changes, but also affects up to 64% of young adults, where the increase in body fat mass could, consequently, lead to insulin resistance and obesity[5]. The main etiological factors, currently accepted in the literature, are genetics (heredity), age (hormonal changes in adolescence), physical condition (body composition and insulin resistance) and, recently, nutrition (diet, supplementation and phytotherapy). Among these, physical condition and nutrition are the possibly modifiable factors. Individuals with increased fat mass and reduced fat-free mass may, through physical activity, exercise and nutrition, modify body composition, reduce systemic inflammatory status and improve, for example, insulin resistance[6]. The classic treatments for acne vulgaris are diverse, including, mainly, antibiotics and reducers of the sebaceous production (oral and topical). These are efficient, but may also allow relapse, and can lead to various adverse effects and nutritional impairments in the body, such as intestinal dysbiosis, blood loss of cobalamin, folic acid and alpha tocopherol, resistance to other antibiotics, xerosis, cheilitis, alopecias, onicopathies and general dryness of the skin, among others. In this context, nutrition has been indicative of possible beneficial interactions, in conjunction with synthetic allopathic drugs, and direct effects on the lesions observed in the clinic[3,7,8,9,10,11]. The evidence correlating nutrition and dermatology is still scarce, but it already suggests possible clinical interventions. Given this context, the aim of this article is to review the literature on dietary interventions for the treatment of acne vulgaris in order to support the development of more effective and safe treatments in clinical practice.

Methods

We carried out a systematic review of the literature from clinical trials over the last five years available in *PubMed* and *SciELO*. The descriptors used were: *Acne vulgaris, Propionibacterium acnes, acne treatment, acne diet, acne oil, acne nutrition, acne nutrients, acne food, acne supplements, green tea acne, omega-3 acne, fatty acids acne*. Articles that addressed oral nutrition were included in the study and repeated ones were excluded. The selected articles were analyzed according to the Jadad scale (1996), CONSORT (2010) and Cochrane by two researchers, independently. A general analysis of each clinical trial was carried out, including article title, author and year, scientific journal, impact factor, experimental design, randomization, blinding structure type, placebo control, sample number, gender, ethnicity, age, intervention and type of control, duration, methods used in the analysis, significant results and risk of bias. After the initial analysis, the Jadad scale was used to evaluate the quality of the articles using parameters such as randomization, proper execution and blinding. We used a three-point questionnaire, which attributes a single point for positive answers. There is also the possibility of an additional single point. The latter may lower the score of articles that have negative answers. The CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) checklist was used for classification, in which all the questions in the protocol were maintained and, for each evidence analyzed, a final percentage of positive responses was considered. The risk of bias, using the Cochrane protocol, analyzes "random sequence generation", "concealment of allocation", "blindness of participants and professionals", "blindness in the evaluation of results", "incomplete outcome data" and "selective results"[12,13,14]. Figure 1 (below) summarizes the main steps in the systematization process of this review.

---------- INSERT FIGURE 1 ----------

Results and discussion

The articles were analyzed using the Jadad and CONSORT tools. From these tools, with the values obtained in the Jadad scale, the graph was assembled to express the highest scores and qualities of the evidence. The percentages of positive answers were obtained from the CONSORT checklist. The evidence found in the studies with higher scores and percentages, according to the methods used, would be considered as the best study designs and results.

The CONSORT results showed that most of the evidence score was attributed in the titles, abstract and some of the methods. Regarding the methods, some parts need more detail, which contributed to the lower observed score among the evidences, expressed as a percentage. The parts of the method with little information included "who enrolled participants and who assigned interventions", "how blinding was done and who was blinded", "whether there was a placebo group, recording the similarities of interventions" and "enrollment and name of the clinical study recorded on the Clinical Trial website". The evidence that had the highest percentages were[15,16,17,18,19]. The results, in percentages, are shown in Figure 2.

---------- INSERT FIGURE 2 ----------

The results, after using the classic Jadad scale, presented a similar profile to that obtained with the CONSORT protocol. However, this tool is limited to detailing randomization and blinding. The study by Fouladi et al. (2012) did not observe the same CONSORT profile because it does not detail the randomization and blindness of the study in their method. The Jadad scale deducts two points for the absence of these descriptions (figure 3).

---------- INSERT FIGURE 3 ----------

Using the Cochrane methodology, the risk of bias was evaluated. The results corroborated the evaluations obtained using CONSORT checklist and Jadad scale. Table 1 presents the analysis, which is indicated by the following codes, representing

the original method: (*) green, (**) yellow, (***) red. Thus, (*) risk of bias is reduced, (**) risk of bias is uncertain and (***) risk of bias is increased.

---------- INSERT TABLE 1 ----------

Nutrition in the treatment of acne vulgaris

n-3 fatty acids

Jung et al. (2014), in their univariate, but not placebo controlled trial, conducted the study with a sample of 45 korean men and women volunteers between 18 and 33 years of age. One group received eicosapentaenoic acid (EPA - 500 mg) and docosahexaenoic acid (DHA - 500 mg) and another received borage oil (1000 mg borage oil with gamma linolenic acid - 200 mg) for a period of 10 weeks. The variables analyzed were: number of lesions, severity, subjective assessment of acne, histopathology, immunohistochemistry and adverse effects. Significant results were the number of inflammatory lesions (n3: 10.1 ± 3.2 to 5.8 ± 3.4, $P < 0.05$; gamma linolenic acid: 9.8 ± 5.2 to 6.6 ± 3.7, $P < 0.05$); noninflammatory (n3: 23.5 ± 9.2 to 18.9 ± 8.3; gamma linolenic acid: 22.8 ± 8.4 to 19.2 ± 7.2, $P < 0.05$); no significant differences between interventions were found in acne severity (n3: 2.4 to 1.7; gamma linolenic acid: 2.3 to 1.8); subjective evaluation (n3: 10.0 to 6.5; gamma linolenic acid: 10 to 6.8; $P <$ 0,05); histopathology (n3: 2.1 to 1.6; gamma linolenic acid: 2.0 to 1.6, $P < 0.05$); IL-8 (n3: 1.9 to 1.5; gamma linolenic acid: 1.8 to 1.4). A small number of volunteers reported gastrointestinal discomfort and diarrhea, which improved in a few days (table 2) [19].

Camellia sinensis

Lu and Hsu (2016) conducted a randomized, double-blinded and placebo-controlled clinical trial with a sample of 64 Chinese women between 25 and 45 years of age. The treated group received 1,500 mg of *Camellia sinensis* dry extract (57% epigallocatechin 3 gallate) and the placebo group received cellulose for a period of 4 weeks. The parameters analyzed were: body mass, blood pressure, heart rate,

biochemical and clinical measures and acne lesions. The results indicated a reduction of total cholesterol in the group treated with *Camellia sinensis* ($P < 0.003$) and lesion counts in the forehead area ($P < 0.04$). The same authors cited another study using a sample of 80 women who received extract of decaffeinated *Camellia sinensis*. Thus, caffeine is probably not be involved in the improvement of acne vulgaris lesions. The results obtained were similar to those previously mentioned. Forest and Rafikhah (2014) also conducted a randomized clinical and placebo-controlled trial with 34 Iranian men and women between 12 and 17 years of age. They treated one group with a dry extract of *Camellia sinensis* (1,500 mg / day) and the placebo group received lactose, both for a period of 4 weeks. After the treatment period, there was a significant reduction in the inflammatory lesions before and after the treatment period ($P < 0.001$), when compared to the placebo group ($P < 0.01$) (table 2) [17,23].

Berberis vulgaris

Fouladi (2012) conducted a randomized, double-blind and placebo-controlled clinical trial with 49 Iranian men and women participants between 12 and 17 years of age. One group received 600 mg of aqueous extract of the *Berberis vulgaris* and the placebo group received lactose for a period of 4 weeks. Statistically significant results indicated that the intervention group, before and after 4 weeks, had reduced non-inflammatory lesions from 20.10 to 11.08 ($P < 0.001$) and inflammatory lesions from 24.28 to 13.24 ($P < 0.001$) (table 2) [15].

Chocolate

Delost et al. (2016) also conducted a clinical trial with 54 North American men and women volunteers with mean age of 21.4 years. The objective was to evaluate the effect of milk chocolate (43 grams) on the pathogenesis of acne vulgaris. The control group received jelly beans (15 units), only as control and not as a placebo. The duration of the study was 4 weeks and the data evaluated were number of lesions and photographs. Significant results showed the chocolate group with 4.8 lesions ($P < 0.0001$), compared to the jelly beans group, with less 0.7 lesions (table 2) [21].

Cheongsangbangpoong-tang

Kim et al. (2016) conducted a randomized, double-blinded and placebo-controlled clinical trial with 56 Korean men and women volunteers of 19 years of age. The intervention group received 5 g of Cheongsangbangpoong-tang granules and the control group received a mixture of lactose powder (95.2%), dextrin (2.94%), aromatic herbs (0.7%) and food coloring (1.16%) for a period of 8 weeks. Following the intervention they observed a significant reduction of the inflammatory lesions (intervention: - 32.4 ± 44; control: - 15.1 ± 44.9, $P < 0.05$) (table 2) [18].

Chrome and Selenium

Jamilian et al. (2016) conducted a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial with Iranian women with polycystic ovary syndrome. The women received chromium supplementation (200 mcg) for a period of 8 weeks. After this period, results indicated statistical significance for the prevalence of acne vulgaris (20.0 / - 3.3%, $P = 0.04$). Similarly, Razavi et al. (2016), in the same year, conducted a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial with 64 Iranian women between 18 and 40 years of age with acne caused by polycystic ovary syndrome. The treated group received 200 mcg of selenium and the placebo group received cellulose for a period of 8 weeks. Significant results indicated a reduction of acne vulgaris after the treatment period (46.9 - 12.5%; $P = 0.003$) (table 2) [16,24].

Other supplements for treating acne vulgaris

Shalita et al. (2012) studied a nutritional supplement, composed of nicotinamide, zinc, pyridoxine, copper and folic acid among patients with acne vulgaris. The study was designed as a non-randomized, non-blinded and non-placebo-controlled clinical trial. The study involved 235 men and women participants from North American. The group received between 1 and 4 tablets (composition of the tablets: azerizine 700 mg, zinc 12 mg, pyridoxine 8 mg, copper 2 mg, folic acid 500 mcg) for a period of 8 weeks. After the treatment, the severity of inflammatory acne vulgaris lesions was analyzed and significant results indicated an 88% reduction of inflammation and an 81% improvement in skin appearance with acne vulgaris following the full treatment period (table 2) [25].

Fabbrocini et al. (2016) conducted a non-blinded, non-placebo-controlled clinical trial with 30 young Italian men to test the hypothesis that the nutritional supplement [2000 mg (myoinositol) + 56.25 mg (liposomal magnesium) + folic acid] could be used in the treatment of acne vulgaris. The control group was given an antibiotic and isoenergetic diet (without placebo control). The data evaluated was obtained from the analysis of photographs, anthropometry and biochemical tests. Significant results indicated that there was an improvement in the metabolic profile and insulin resistance among the subjects that presented biochemical changes early in the treatment (table 2) [26].

Similarly, Formuso et al. (2015) studied a nutritional supplement with myoinositol and D-chiro inositol. The clinical trial was placebo-controlled and involved 137 women of childbearing age for a period of 24 weeks. The variables analyzed were menstrual cycles, anthropometry, number of acne lesions and biochemistry. Significant results included improved menstrual cycles, weight gain, insulin resistance and reduced acne lesions (table 2) [27].

---------- INSERT TABLE 2 ----------

Nutrition and adverse effects in medicinal treatment for acne vulgaris

Alpha-tocopherol

Goforoushan et al. (2013) conducted a randomized, placebo-controlled clinical trial with 60 Iranian men and women participants of approximately 21 years of age. The treated group received isotretinoin (0.5 mg / kg) and vitamin E (800 IU) and the placebo group received isotretinoin (0.5 mg / kg) and cod liver oil (vitamin E free) for a period of 6 weeks. The authors evaluated skin and mucous membrane lesions, adverse effects and influence on the blood concentrations of vitamin E. Statistically significant results indicated a reduction in adverse events in the skin and mucosa among the intervention group (with vitamin E) after the sixth week of treatment ($P < 0.037$) [22].

Probiotics

Probiotics were considered in the study by Jung et al. (2013) in a randomized,

non-blinded, non-placebo controlled clinical trial with 25 Canadian women between 18 and 35 years of age. They were divided into three treatment groups: minocycline + probiotic, only minocycline and only probiotic for a period of 12 weeks. After the treatment period, the lesions were counted. The following results showed statistical significance: lesion reduction in all groups after 4 weeks ($P < 0.001$). After 12 weeks, the minocycline + probiotic group had more significant reductions, compared to the only probiotic group ($P < 0.001$) and only minocycline group ($P < 0.01$). The data suggests that there is a synergism between the nutritional supplement and drug, with advantages for the treatment of acne vulgaris, with a possible reduction of adverse effects and improved quality of life of patients[20].

Mixture of nutrients and phytochemicals

Fabbrocini et al. (2014), in a randomized, non-controlled clinical trial with 48 Italian men and women volunteers gave the experimental group a supplement containing isotretinoin and antioxidants (components: gamma linolenic acid, vitamin E and C, beta carotene, coenzyme Q10 and *Vitis vinifera*). The control group received only isotretinoin (20-30 mg/day) for a period of 24 weeks. The authors analyzed the global acne grading system (GAGS) and evaluated the production of sebum and corneometry. Significant results indicated a reduction of side effects of the medication, a reduction of skin and mucosa dryness, improved hydration and a greater adherence to medication as a therapy. Results suggest that nutrition may have a fundamental function in the tolerance of drug treatment and, therefore, influence on the duration of treatment and reduction of financial costs for these drugs[26].

Drugs for acne vulgaris and nutritional impairments

Folic acid and cobalamin

Kamal and Polat (2015) conducted a case-control study with 62 Turkish participants, of both genders, over 18 years of age. Volunteers with moderate to severe acne vulgaris were monitored, as well as a control group with the same number of healthy individuals. Participants with acne vulgaris took isotretinoin (0.5 or 1.0 mg / kg) for a period of 45 days. The authors analyzed changes in the blood of patients by chemiluminescence (immunoassay) and found an increase in homocysteine

concentrations, before and after treatment, in the group 0.5 mg / kg / day of isotretinoin (values between 7 and 8; $P < 0.018$) and in the group 1.0 mg / kg / day of isotretinoin (values between 6 and 8; $P < 0.003$). Total cholesterol increased from 148.1 to 164.4 mg / dL ($P < 0.002$), in the group 1.0 mg / kg / day of isotretinoin. Triglyceride levels indicated significant variation, also, for both isotretinoin dosages. In the group taking 0.5 mg / kg / day of isotretinoin, levels increased from 75 to 77 mg / dL ($P < 0.001$) and among individuals taking 1.0 mg / kg / day of isotretinoin, triglyceride values increased from 90 to 98 mg / dL / day ($P < 0.002$). Javanbakht et al. (2012), in their non-randomized, non-blinded, placebo-controlled clinical trial with 61 Iranian men and women (with a mean age of 23.6 years) treated volunteers with isotretinoin (0.5 mg / kg) for a period of 4 weeks. Following treatment, there was a significant reduction in folic acid concentrations in the blood, from 26.75 nmol / L to 23.6 nmol / L ($P = 0.008$), corroborating the previous findings[30].

Taking into consideration that some patients were overweight or obese, with insulin resistance and/or type 2 diabetes *mellitus* when in treatment for acne vulgaris, nutritional deficiency damages could contribute to an increased susceptibility to cardiometabolic risks. This indicates that nutrition may be important during drug treatments to reduce these risks. Furthermore, there are some patients who cannot use these drugs due to limitations, such as pregnancy.

Alpha-tocopherol

Aktürk et al. (2013) also observed changes in the nutritional status of participants after medication. They conducted a non-randomized, non-blinded, placebo-controlled clinical trial with 46 Turkish men and women participants. The experimental group received isotretinoin (0.6 - 0.8 mg / kg / day) until reaching the final cumulative dose (120 mg / kg / day) for a period of 7 weeks. After the treatment period, blood vitamin E was evaluated and indicated a significant reduction, from 20.22 to 16.24 mg / dL, corroborating the previous findings. These changes suggest a correlation between the use of isotretinoin for the treatment of acne vulgaris and increased oxidative stress. This, therefore, being responsible for the adverse effects of the medication[32].

Limitations of scientific evidence involving nutrition and acne vulgaris

The scientific evidence involving nutrition and acne vulgaris is scarce and there is a heterogeneity between variables, suggesting, therefore, relevant limitations in methods. This fact restricts, for example, a quantitative summary of the variables. However, this does not preclude a descriptive and analytical review.

Some clinical trials are not controlled or do not have a placebo control. Consequently, there is the placebo effect. Thus, the subtration of its influence would result in more real results. Most of the studies involve Iranian, Chinese and Korean subjects. A few involve North Americans, Canadians and Italians. Other populations in the world have not been adequately studied and included in the development of epidemiological indicators, such as morbidity and mortality among Western populations, suggesting an increase in the prevalence of chronic noncommunicable diseases and/or lack of access to care, health and reduced social development, for example. Some studies included in this review involved individuals from a wide age group. This could limit, for example, correlations between critical stages of development, such as hormonal differences between adolescent and adult subjects. The intervention treatments are composed of many compounds and, for this reason, it is very difficult to consider nutrients or non-nutrients and relevant modulatory mechanisms associated with the improvement of the elemental lesions of the skin. The methods usually employed in clinical studies are economical in their correlations with complete anamnesis, physical, anthropometric and dietary evaluation.

There is a need to increase the quantity and quality of scientific evidence with respect to the nutritional treatment of acne vulgaris to more effectively and safely guide the nutritional actions of clinical practice today.

Acknowledgments

Financial Support

This work was supported by grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ.

Conflict of interest

None

Authorship

Felipe Cardoso: contributed to the study conception and design, data collection, assembly, analysis and interpretation, manuscript drafting and the approval of the final version of the manuscript.

Patricia Coelho de Velasco: contributed to data collection, assembly, analysis and interpretation, manuscript drafting and the approval of the final version of the manuscript.

Fátima Lucia de Carvalho Sardinha: contributed to the study conception and design, and the approval of the final version of the manuscript.

Maria das Graças Tavares-do-Carmo: contributed to the study conception and design, data collection, assembly, analysis and interpretation, manuscript drafting and the approval of the final version of the manuscript.

References

1. Costa A, Alchorne MMA, Goldschmidt MCB (2008) Fatores etiopatogênicos da acne. *An Bras Dermatol* **83**, 451-9.

2. Ribas J, Oliveira CMPB (2008) Acne vulgaris and well-being in medical students. *An. Bras. Dermatol* **83**, 520-5.

3. Meneses Z, Bouzas I (2009) Acne vulgaris and adolescence. *Adolescência & Saúde* **6**, 21-3.

4. Figueiredo A, Massa A, Picoto A *et al.* (2011) Avaliação e tratamento do doente com acne – Parte I: Epidemiologia, etiopatogenia, clínica, classificação, impacto psicossocial, mitos e realidades, diagnóstico diferencial e estudos complementares. *Rev Port Clin Geral* **7**, 59-65.

5. Antoniou C, Dessinioti C, Sotiriadis D *et al.* (2016) A multicenter, randomized, split-face clinical trial evaluating the efficacy and safety of chromophore gel-assisted blue light phototherapy for the treatment of acne. *Int J Dermatol* **55**, 1321-8.

6. Kurokawa I, Danby FW, Ju Q *et al.* (2009) New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment. *Exp Dermatol* **18**, 821-32.

7. Reuter J, Merfort I, Schempp CM (2010) Botanicals in dermatology: an evidence-based review. *Am J Clin Dermatol* **11**, 247-67.

8. Bowe WP, Logan AC (2011) Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis - back to the future? *Gut Pathog* **31**, 1.

9. Goforoushan F, Azimi H, Goldust M (2013) Efficacy of Vitamin E to Prevent Dermal Complications of Isotretinoin. *Pak J Biol Sci* **16**, 548-50.

10. Gökalp H, Bulur I, Gürer M (2014) Decreased vitamin B12 and folic Acid concentrations in acne patients after isotretinoin therapy: a controlled study. *Indian J Dermatol* **59**, 630.

11. Kang D, Shi B, Erfe MC *et al.* (2015) Vitamin B12 modulates the transcriptome of the skin microbiota in acne pathogenesis. *Sci Transl Med* **24**, 293ra103.

12. Jadad AR, Moore RA, Carroll D *et al.* (1996) Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* **17**, 1-12.

13. Schulz KF, Altman DG, Moher D, for the CONSORT Group (2010) CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Int Med* **152**.

14. De Carvalho AP, Silva V, Grande J. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. Diagn Tratamento. 2013;18(1):38-44.

15. Fouladi RF (2012) Aqueous extract of dried fruit of *Berberis vulgaris* L. in acne vulgaris, a clinical trial. *J Diet Suppl* **9**, 253-61.

16. Razavi M, Jamilian M, Kashan ZF *et al.* (2016) Selenium Supplementation and the Effects on Reproductive Outcomes, Biomarkers of Inflammation, and Oxidative Stress in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Horm Metab Res* **48**, 185-90.

17. Lu PH, Hsu CH (2016) Does supplementation with green tea extract improve acne in post-adolescent women? A randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical trial. *Complement Ther Med* **25**, 159-63.

18. Kim K, Kim K-II, Lee J (2016) Inhibitory effects of *Cheongsangbangpoong-tang* on both inflammatory acne lesions and facial heat in patients with acne vulgaris: A randomized controlled trial protocol. *BMC Complement Altern Med* **22**, 21.

19. Jung JY, Kwon HH, Hong JS *et al.* (2014) Effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acid and gamma-linolenic acid on acne vulgaris: a randomised, double-blind, controlled trial. *Acta Derm Venereol* **94**, 521-5.

20. Jung GW, Tse JE, Guiha I *et al.* (2013) Prospective, randomized, open-label trial comparing the safety, efficacy, and tolerability of an acne treatment regimen with and without a probiotic supplement and minocycline in subjects with mild to moderate acne. *J Cutan Med Surg* **17**, 114-22.

21. Delost GR, Delost ME, Lloyd J (2016) The impact of chocolate consumption on acne vulgaris in college students: A randomized crossover study. *J Am Acad Dermatol* **75**, 220-222.

22. Goforoushan F, Azimi H, Goldust M (2013) Efficacy of Vitamin E to Prevent Dermal Complications of Isotretinoin. *Pak J Biol Sci* **16**, 548-550.

23. Forest JM, Rafikhah N (2014) Oral Aqueous Green Tea Extract and Acne Vulgaris: A Placebo-Controlled Study. *Asia J Clin Nutr* **6**, 41-46.

24. Jamilian M, Bahmani F, Siavashani MA *et al.* (2016) The Effects of Chromium Supplementation on Endocrine Profiles, Biomarkers of Inflammation, and Oxidative Stress in Women with Polycystic Ovary Syndrome: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Biol Trace Elem Res* **172**, 72-78.

25. Shalita AR, Falcon R, Olansky A *et al.* (2012) Inflammatory acne management with a novel prescription dietary supplement. *J Drugs Dermatol* **11**, 1428-1433.

26. Fabbrocini G, Izzo R, Faggiano A *et al.* (2016) Low glycaemic diet and metformin therapy: a new approach in male subjects with acne resistant to common treatments. *Clin Exp Dermatol* **41**, 38-42.

27. Formuso C, Stracquadanio M, Ciotta L (2015) Myo-inositol vs. D-chiro inositol in PCOS treatment. *Minerva Ginecol* **67**, 321-325.

28. Goforoushan F, Azimi H, Goldust M (2013) Efficacy of Vitamin E to Prevent Dermal Complications of Isotretinoin. *Pak J Biol Sci* **16**, 548-550.

29. Fabbrocini G, De Vita V, Monfrecola A *et al.* (2014) Percutaneous collagen induction: an effective and safe treatment for post-acne scarring in different skin phototypes. *J Dermatolog Treat* **25**, 147-152.

30. Kamal M, Polat M (2015) Effect of different doses of isotretinoin treatment on the levels of serum homocysteine, vitamin B 12 and folic acid in patients with acne vulgaris: A prospective controlled study. *J Pak Med Assoc* **65**, 950-953.

31. Javanbakht AM, Pour HM, Tarrahic MJ (2012) Effects of oral isotretinoin on serum folic acid levels. *J Drugs Dermatol* **11**, e23-24.

32. Aktürk AŞ, Güzel S, Bulca S *et al.* (2013) Effects of isotretinoin on serum vitamin E levels in patients with acne. *Int J Dermatol* **52**, 363-366.

Table 1. Risk of bias according to Cochrane method

	GRS	AC	BPP	BER	IRD	RSR	TOTAL
Jung et al. (2013) (20)	*	***	***	***	*	*	12
Delost et al. (2016) (21)	*	*	**	**	*	*	8
Fouladi et al. (2012) (15)	*	*	*	**	*	*	7
Razavi et al. (2016) (16)	*	*	*	**	*	*	7
Lu and Hsu (2016) (17)	*	*	*	**	*	*	7
Kim et al. (2016) (18)	*	*	*	**	*	*	7
Jung et al. (2014) (19)	*	*	**	**	*	*	8
Goforoushan et al. (2013) (22)	*	*	**	**	*	*	8
Forest and Rafikhah (2014) (23)	*	*	**	**	*	*	8

GRS: generation of random sequence. AC: allocation concealment. BPP: blindness of participants and professionals. BER: blindness in the evaluation of the results. IRD: incomplete result data. RSR: record of selective results.

Table 2. Important variables in the clinical trials for the treatment of acne vulgaris

Author / Year	**N**	**Sex**	**Nationality**	**Age (years)**	**Treatment**	**Duration (weeks)**	**Main Results**
Jung et al. (2013) (20)	45	f	Canadian	18 – 35	Probiotics and minocycline	12	Reduction of lesions in all groups (4 wk; $P < 0.001$). Group probiotics + minocycline reduced (12 wk) and was more significant than the isolated probiotic group ($P < 0.001$) and minocycline alone ($P < 0.01$).
Delost et al. (2016) (21)	54	m/f	North American	21.4	Chocolate (43 g)	4	Chocolate (+ 4.8 lesions) $P < 0.0001$; jelly beans (- 0.7 lesions).
Fouladi et al. (2012) (15)	49	m/f	Iranian	12 - 17	*Berberis vulgaris* (600 mg AE)	4	Intervention group (before and after 4 wk: 20.10 to 11.08 – $P < 0.001$ - noninflammatory; before and after: 24.28 to 13.24 - $P < 0.001$ - inflammatory); Intervention x control 4 wk ($P < 0.001$).
Razavi et al. (2016) (16)	64	f	Iranian	18 – 40	200 µg	8	Pregnancy rate: 18.8% (6/32) x 3.1% (1/32), $P = 0.04$; reduction: alopecia (40.6 x 9.4%, $P = 0.004$) and acne vulgaris (46.9 x 12.5%, $P = 0.003$).

Lu and Hsu (2016) (17)	64	f	Chinese	25 – 45	*Camellia sinensis* (DE) - 1,500 mg - 57% EGCG	4	Reduction in total lesions - CS group $P < 0.003$; number of forehead lesions ($P < 0.04$).
Kim et al. (2016) (18)	56	m/f	Korean	> 19	Cheongsangbangpoong-tang (5 g)	8	Reduction of inflammatory lesions (intervention: -32.4 ± 44, control: -15.1 ± 44.9) $P < 0.05$.
Jung et al. (2014) (19)	45	m/f	Korean	18 – 33	1: 500 mg EPA + 500 mg DHA; 2: 1,000 mg borage oil with 200 mg of gamma linolenic acid	10	Number of inflammatory lesions (Omega 3: 10.1 ± 3.2 to 5.8 ± 3.4, $P < 0.05$); GLA: 9.8 ± 5.2 to 6.6 ± 3.7, $P < 0.05$); noninflammatory Omega 3: 23.5 ± 9.2 to 18.9 ± 8.3; GLA: 22.8 ± 8.4 to 19.2 ± 7.2, $P < 0.05$); no difference between interventions; acne severity (omega 3: 2.4 to 1.7; GLA: 2.3 to 1.8); subjective evaluation (omega 3: 10 to 6.5, GLA: 10 to 6.8, $P < 0.05$); histopathology (omega 3: 2.1 to 1.6; GLA: 2.0 to 1.6, $P < 0.05$); IL-8 (omega 3: 1.9 to 1.5, GLA: 1.8 to 1.4).

Goforoushan et al. (2013) (22)	60	m/f	Iranian	21	Treatment: isotretinoin (0.5 mg / kg) + 800 IU vit E; Control: isotretinoin (0.5 mg / kg) + cod liver oil free vit E	6	Reduction of dermatological signals in the intervention group, sixth week ($P < 0.037$).
Forest and Rafikhah (2014) (23)	34	m/f	Iranian	12 – 17	1,500 mg *Camellia sinensis* (DE)	4	Significant reduction of inflammatory lesions ($P < 0.001$) before and after treatment, compared to the control group ($P < 0.01$).

m: male; f: female; vit: vitamin; wk: weeks; g: gram; mg: milligram; µg: microgram; kg: DE: dry extract; AE: aqueous extract; EPA: eicosapentaenoic acid; DHA: docosahexaenoic acid; IL-8: interleukin 8; GLA: gamma linolenic acid.

FIGURES LEGENDS

Figure 1. Summary of the main systematizing steps of this review.

Figure 2. Percentage of positive responses, after an analysis of scientific evidence, using the CONSORT (2010) protocol.

Figure 3. Evidence evaluated according to the Jadad (1996) scale

FIGURES

Figure 1.

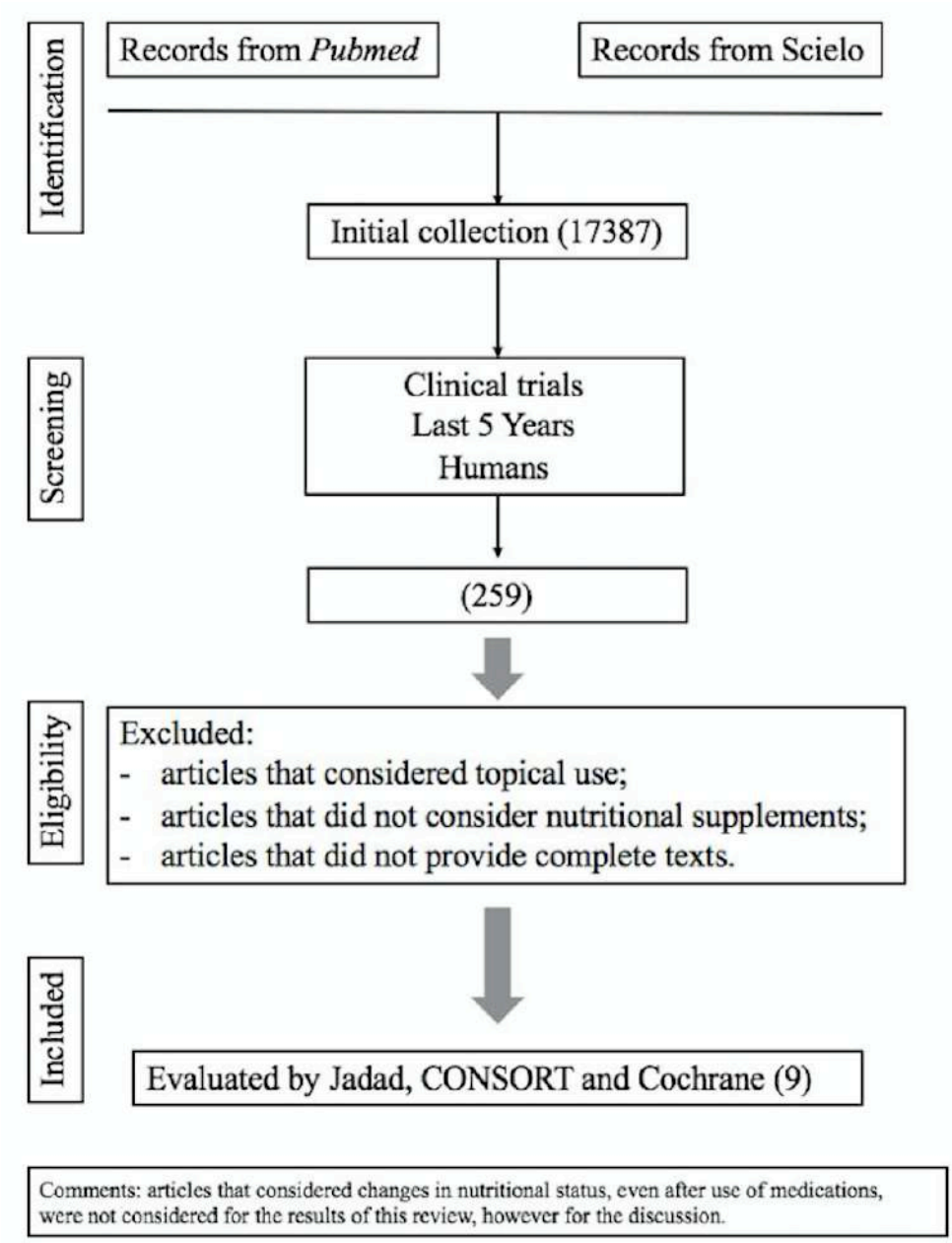


Figure 2.

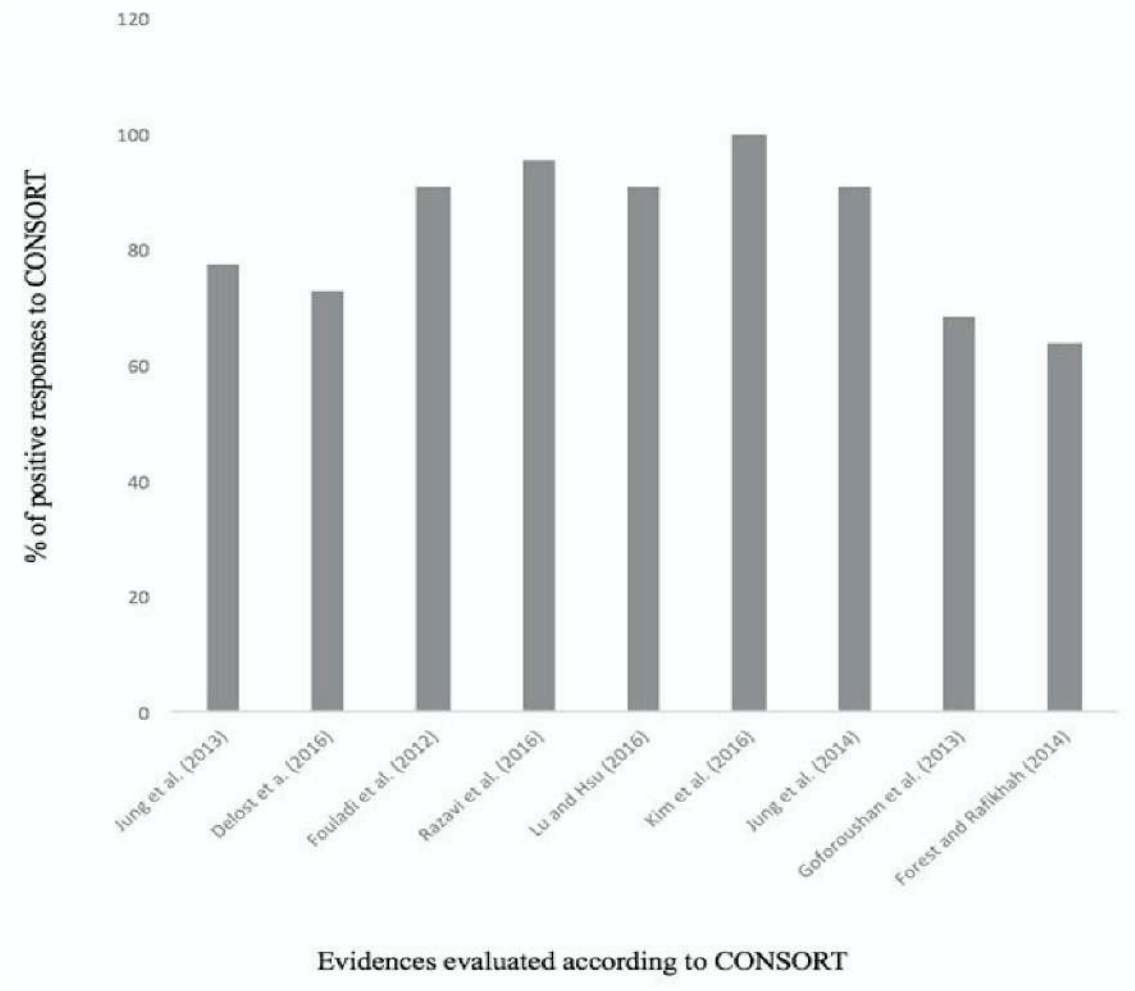
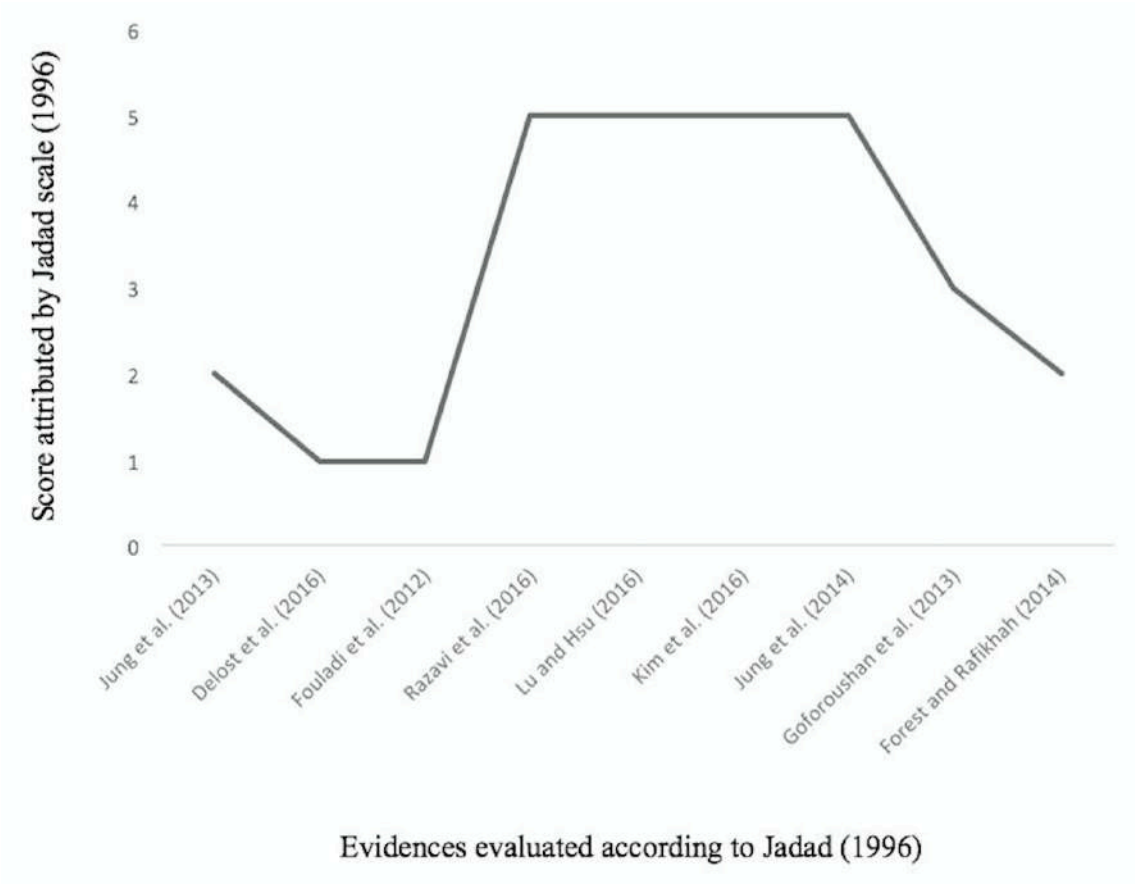

120
100
80
60
40
20
0
% of positive responses to CONSORT
Jung et al. (2013)
Delost et a. (2016)
Fouladi et al. (2012)
Razavi et al. (2016)
Lu and Hsu (2016)
Kim et al. (2016)
Jung et al. (2014)
Goforoushan et al. (2013)
Forest and Rafikhah (2014)
Evidences evaluated according to CONSORT

Figure 3.


Score attributed by Jadad scale (1996)
6
5
4
3
2
1
0
Jung et al. (2013)
Delost et al. (2016)
Fouladi et al. (2012)
Razavi et al. (2016)
Lu and Hsu (2016)
Kim et al. (2016)
Jung et al. (2014)
Goforoushan et al. (2013)
Forest and Rafikhah (2014)
Evidences evaluated according to Jadad (1996)

7.2 Manuscrito 2

Título: **Suplementação de óleo de peixe em adolescentes com acne vulgar: um ensaio clínico randomizado**

Resumo

Objetivo. Investigar, em adolescentes do sexo masculino, os efeitos do consumo de óleo de peixe sobre a melhora clínica das lesões da acne vulgar, composição corporal, mediadores bioquímicos associados ao metabolismo lipídico e à homeostase glicêmica, marcadores inflamatórios, estado nutricional de micronutrientes e parâmetros hormonais. **Material e Métodos.** Vinte adolescentes do sexo masculino com acne vulgar foram avaliados em estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. O grupo suplementado (OP) (n=10) recebeu cápsulas de óleo de peixe (1 g, contendo os ácidos graxos (AG) docosahexaenoico (DHA, 700 mg) e eicosapentaenoico (EPA, 100 mg), enquanto o grupo placebo (P) (n=10), cápsulas contendo 1 g de óleo mineral. Todas as cápsulas foram fornecidas para consumo diário ao longo de 60 dias. Recordatório de 24 horas e questionário de frequência alimentar foram aplicados no início e ao final do estudo para avaliação do consumo alimentar. Foram avaliadas medidas antropométricas e de composição corporal [massa corporal total, índice de massa corporal (IMC), massa de gordura corporal total e visceral e perímetro da cintura], utilizando técnicas previamente padronizadas e *Dual Energy X-ray Absorptiometry* (DEXA). Também foi avaliado o conteúdo sérico de lipoproteínas, glicose, insulina, testosterona, frutosamina, hemoglobina glicada, fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α), proteína C reativa (PCR), magnésio, cobalamina, folato, homocisteína, retinol, zinco plasmático e 25-hidroxi-colecalciferol, empregando-se kits comerciais específicos. Amostras de plasma foram utilizadas para análise do perfil de AG, por meio de cromatografia gasosa. A evolução clínica das lesões acneicas foi avaliada por meio da escala analógica visual e do emprego do sistema global de classificação para gravidade da acne vulgar, antes e após a suplementação. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro (parecer 1.558.238), publicado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR-5csqm4) e cadastrado no Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE: 48827615.1.0000.5279). Os dados foram organizados e analisados utilizando-se o *software Statistical Package for the Social Sciences* versão 19.0 for Windows (SPSS Inc Chicago). A comparação das variáveis foi realizada intergrupos (OP vs P) e intragrupo (antes vs após 60 dias de intervenção), através dos testes de Mann Whitney e Wilcoxon, com nível de significância menor que 5 % (*P* valor < 0,05). **Resultados.** A suplementação com óleo de peixe promoveu no grupo OP, comparado ao P, redução significativa da massa corporal total (P=0,035) e IMC (P=0,005) bem como dos teores séricos de TNF-α (P=0,001), PCR (P=0,005) e testosterona (P=0,035), acompanhada por efeitos hipocolesterolêmico, hipotrigliceridêmico, hipoglicêmico, hipoinsulinêmico e elevação das concentrações séricas de 25-hidroxi-colecalciferol, zinco e magnésio. Adicionalmente, foi verificado aumento significativo no conteúdo plasmático de AG n-3 totais e redução do ácido araquidônico bem como redução da gravidade acne vulgar (P< 0,001) no grupo OP, comparado ao P. **Conclusão**. A suplementação de adolescentes com acne vulgar, correspondente a 700 mg de DHA mais 100 mg de EPA, promoveu redução das lesões acneicas e da testosterona sérica, melhora nos parâmetros relacionados à composição corporal, ao metabolismo lipídico, à homeostase glicêmica e

inflamação bem como aumento na concentração de micronutrientes circulantes, envolvidos na redução do estresse oxidativo e inflamação. Estes achados são sugestivos da boa aplicabilidade do suplemento dietético, na prática clínica diária, em adolescentes com acne vulgar.

Palavras-chave: ácidos graxos n-3, acne vulgar, inflamação, suplementação dietética, adolescentes.

Introdução

Acne vulgar é uma dermatose crônica, muito comum entre os adolescentes, embora também presente em adultos e crianças. A doença é caracterizada por supercrescimento e colonização folicular pela espécie *Propionibacterium acnes*, hiperqueratinização folicular e aumento da produção de sebo, podendo estimular resposta inflamatória ou não. Pode ser classificada em diferentes estágios, incluindo pápulas e pústulas, como lesões inflamatórias, e comedões, como lesões não inflamatórias[1-3].

Embora existam medicamentos com eficácia no mercado, como antibióticos, anti-inflamatórios, terapia hormonal e retinoides, muitos estão correlacionados a efeitos colaterais graves. Os recursos terapêuticos que têm sido empregados podem causar ressecamento da pele e das mucosas, alopecia e alterações hepáticas, resultando em comprometimentos metabólicos e outras implicações clínicas[4]. Portanto, a identificação de terapias alternativas ao tratamento clássico da acne vulgar é estimulada, buscando reduzir a duração do período de intervenção e seus possíveis efeitos colaterais.

Neste contexto, há evidências, ainda que escassas, acerca dos benefícios do consumo de alimentos, compostos bioativos ou nutrientes específicos sobre enfermidades da pele. A literatura refere diferentes intervenções, incluindo, entre outras, oferta de alimentos com reduzida carga glicêmica[5]; epigalocatequinas, presentes no chá verde[6]; ervas[7]; retinol[8]; selênio[9] e cromo[10]. Destaca-se, ademais, o emprego de óleo de peixe, que contém ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPICL) da série n-3, reconhecidos por seu potencial atenuador da inflamação, razão pela qual vem sendo alvo de maior investigação[11-13].

Ácidos graxos (AG) constituem parte fundamental dos lipídios corporais e representam 30% do total de energia ingerida por humanos. Dada a inabilidade orgânica para a produção dos ácidos linoleico (C18:2 n-6, LA) e alfa-linolênico (C18:3 n-3, ALA), é necessária sua ingestão dietética, posto que são requeridos em diferentes

funções fisiológicas, incluindo composição da barreira epidérmica[14]. Após ingestão, diferentes sistemas enzimáticos envolvidos nas vias de dessaturação e alongamento desses compostos origina AGPICL, compreendendo, entre outros, os ácidos araquidônicos (C20:4 n-6, AA), eicosapentaenoico (C22:5 n-3, EPA) e docosahexaenoico (C22:6 n-3, DHA), que são precursores de eicosanoides implicados na modulação inflamatória[15-17].

Maior disponibilidade de AGPICL n-3, frente aos da série n-6, promoveria maior incorporação de DHA/EPA aos fosfolipídios das membranas celulares, servindo como substrato para ciclooxigenase-2 (COX-2), assim como para a 5-lipoxigenase (5-LOX), no lugar do AA. Como resultado ocorreria produção de compostos de ação inflamatória mais atenuada (prostaglandinas E3 - PGE3, tromboxanos 3 - TxB3 e leucotrienos B5-LTB5), ao invés daqueles reconhecidos como potentes agentes de inflamação (PGE2, TxB2 e LTB4)[18-19].

Dessa forma, cabe supor que desproporção no conteúdo dietético de AG, que favoreça redução dos metabólitos da série n-3 e aumento daqueles derivados da série n-6, pode predispor à acne vulgar. De outro modo, o equilíbrio entre ambas as séries de AG seria capaz de favorecer a imunidade, prevenir a colonização bacteriana e reduzir o número de lesões acneiformes. No entanto, ainda são escassos os relatos na literatura científica acerca do impacto da suplementação com AG n-3 sobre a patogênese e fisiopatologia da acne vulgar, incluindo desfechos clínicos, metabólicos e nutricionais.

Assim, no presente estudo, buscou-se testar a hipótese de que a suplementação com o óleo de peixe, fonte de AGPICL n-3, é capaz de reduzir a resposta inflamatória e as lesões elementares (comedões, pápulas e pústulas), que caracterizam a acne vulgar. Neste sentido, foram avaliados os efeitos do consumo de cápsulas de óleo de peixe, contendo 700 mg de DHA mais 100 mg de EPA, ou placebo (óleo mineral) sobre a evolução clínica, estado nutricional e metabólico de adolescentes apresentando a enfermidade.

Métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro (parecer 1.558.238), publicado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR-5csqm4) e cadastrado no Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE: 48827615.1.0000.5279). Neste ensaio clínico randomizado, placebo controlado e duplo-cego, vinte adolescentes do sexo masculino com acne

vulgar, foram recrutados no Serviço de Dermatologia do Hospital Municipal Jesus (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Os pacientes, com idade entre 12 e 20 anos, foram randomizados, por meio de um sistema de sorteio simples[20], passando a integrar um dos dois grupos de tratamento constituídos, cada um composto por 10 adolescentes. O grupo "Óleo de Peixe" foi suplementado com cápsulas gelatinosas e desodorizadas contendo óleo de peixe (1.000 mg; Softech Supra Ômega DHA70®; lote 005918), incluindo 700 mg de DHA mais 100 mg de EPA. De outro modo, o grupo "Placebo" recebeu cápsulas gelatinosas contendo óleo mineral (1.000 mg; lote 005515), isento de AG da série n-3. O período de intervenção correspondeu a 60 dias consecutivos. Para garantia do caráter duplo-cego da intervenção, as 60 cápsulas foram fornecidas a cada adolescente, de ambos os grupos, em frascos brancos de plástico, numerados, de modo que seu conteúdo não podia ser identificado.

A composição de AG das cápsulas contendo óleo de peixe, avaliada por cromatografia gasosa antes do início da intervenção, confirmou elevado percentual de AGPICL n-3 (DHA e EPA), acompanhado de menor proporção de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) n-6, ácidos graxos saturados (AGS) e ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) (tabela 1).

Tabela 1. **Composição percentual de ácidos graxos do suplemento de óleo de peixe**

Ácidos graxos	%
Σ AGS	0,47 ± 0,03
C16:0	0,09 ± 0,02
C18:0	0,04 ± 0,01
Σ AGMI	2,13 ± 0,03
C18:1 n-9 (Oleico)	0,26 ± 0,03
Σ AGPI	97,40 ± 0,06
C18:2 n-6 (LA)	0,15 ± 0,04
C20:4 n-6 (AA)	0,69 ± 0,00
C22:5 n-6 (DPA)	6,68 ± 0,02

Σ AGPI n-6	10,44 ± 0,03
C18:3 n-3 (ALA)	1,05 ± 0,00
C20:5 n-3 (EPA)	8,37 ± 0,03
C22:6 n-3 (DHA)	73,51 ± 0,04
Σ AGPI n-3	85,15 ± 0,03
n-6 / n-3	0,12 ± 0,001

Valores correspondem a média ± erro padrão da média do percentual de ácidos graxos quantificados em quatro amostras de cápsulas de óleo de peixe fornecidas aos adolescentes voluntários (1.000 mg; Softech Supra Ômega DHA70®; lote 005918). Σ= somatório. AGS=ácidos graxos saturados. AGMI=ácidos graxos monoinsaturados. AGPI=ácidos graxos poli-insaturados. LA=ácido linoleico. AA=ácido araquidônico. DPA= ácido docosapentaenoico. ALA=ácido linolênico. EPA=ácido eicosapentaenoico. DHA=ácido docohexaenoico.

A identificação e captação de voluntários elegíveis foi iniciada em janeiro de 2017, procedendo-se a coleta de dados sociodemográficos, antropométricos e clínicos bem como de amostras biológicas. Informações pessoais (nome, endereço residencial, e-mail, telefone residencial e celular) e sociodemográficas (data de nascimento e gênero) foram obtidas por meio de entrevistas, e registradas em formulário especificamente elaborado para a pesquisa. A avaliação do fototipo, segundo classificação de Fitzpatrick[21], foi realizada por dermatologista.

Todos os participantes receberam orientações gerais sobre alimentos, com base na pirâmide alimentar[22], juntamente ao reforço nas considerações sobre as restrições ao uso de cosméticos, medicamentos e consumo de suplementos. Por ocasião do fornecimento dos frascos contendo as cápsulas, os adolescentes foram orientados a ingerir somente uma unidade pela manhã, acompanhada de água (300 mL), diariamente, até completar 60 dias de tratamento. No final do primeiro mês, os voluntários foram orientados a comparecer ao hospital, para controle da adesão à intervenção, portando seus frascos, assim como o calendário disponibilizado para marcação diária do horário da ingestão das cápsulas. A adesão ao tratamento também foi monitorada por meio de contato telefônico (ligações e mensagens).

Imediatamente antes, e ao final do período de suplementação (sessenta dias depois), todos os voluntários foram previamente orientados a comparecer no laboratório de análises clínicas do Hospital Municipal Jesus, em jejum, para a coleta de sangue, utilizado nas medidas bioquímicas e de AG realizadas. Alíquotas de soro foram

separadas para quantificação dos parâmetros bioquímicos investigados (fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α), proteína C reativa (PCR), glicose, insulina, frutosamina, hemoglobina glicada, colesterol total (CT), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), triglicerídeos (TG), lipoproteínas de alta densidade (HDL), testosterona biodisponível, cobalamina, ácido fólico, retinol, 25-hidroxi-colecalciferol, zinco, magnésio e homocisteína), cujos testes foram executados por técnicos e farmacêuticos do mesmo laboratório, que utilizaram kits comerciais específicos, previamente testados, de uso na rotina do Hospital. Para as análises do perfil de AG foram separadas e congeladas alíquotas de plasma, mantidas em freezer -80^{0}C até a realização dos procedimentos de metilação e cromatografia gasosa, em laboratório da Universidade Federal do Rio de Janeiro (Rio de janeiro, Brasil).

Os adolescentes que não respeitaram as orientações foram excluídos do estudo. A **figura 1** apresenta representação esquemática das etapas do estudo bem como das perdas de acompanhamento de voluntários captados.

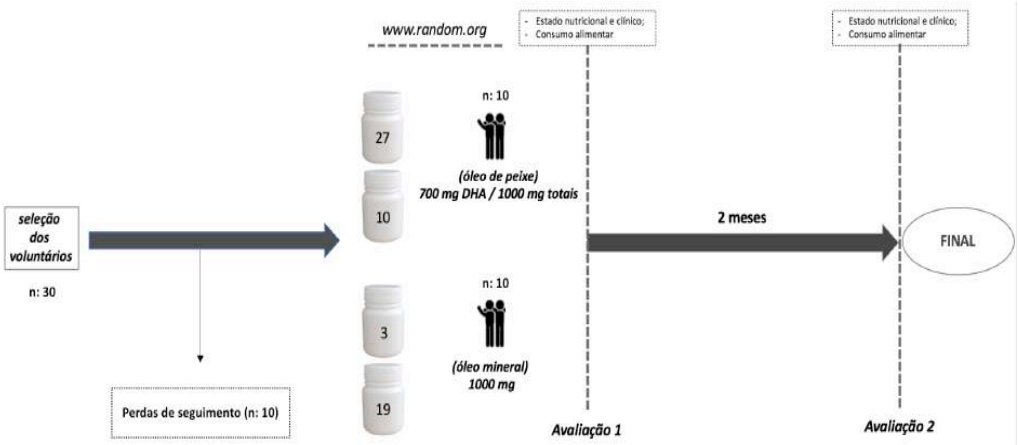


Figura 1. Representação esquemática das etapas do estudo e perdas de acompanhamento de voluntários captados.

O estágio de desenvolvimento puberal dos adolescentes foi classificado de acordo com os estádios de maturação sexual preconizados por Tanner[23]. Foi solicitado que o participante identificasse imagens que melhor indicassem seu estágio atual de desenvolvimento.

Para quantificação dos AG, presentes nos lipídios totais das amostras de plasma dos voluntários, e do óleo de peixe suplementado, foi empregado o método Ce2b-11,

preconizado pela American Oil Chemists' Society[24], que promove metilação direta alcalina .Os ésteres metílicos de AG, assim obtidos, foram separados e quantificados em cromatógrafo Agilent Technologies 7890A CG System, equipado com detector de ionização de chama de hidrogênio (FID) e coluna capilar de sílica fundida SP-2560 (bis-cianopropilpolisiloxano, 100 m x 0,25 µm x 0,2 µm, Supelco Inc., PA, USA), acoplado ao software EZChrom Elite CDS (Agilent Technologies, Inc., C.A., U.S.A.). As condições cromatográficas foram semelhantes às descritas por Fonseca e colaboradores[25]. Os ácidos graxos metilados foram identificados, com base na comparação com o tempo de retenção relativo dos picos dos padrões de referência (mistura de ésteres metílicos GLC 463, Nu-ChekPrep. Inc.Elysian, MN, EUA) e a quantificação de cada AG, por comparação com o padrão interno C13:0 (Sigma-Aldrich).

Para a avaliação clínica da acne vulgar foi empregado o sistema de classificação de gravidade da doença proposto por Doshi, Zaheer e Stiller[26], que atribui um fator para cada área corporal afetada, conforme a seguinte descrição: testa (fator 2), bochechas direita e esquerda (fator 2), nariz (fator 1), queixo (fator 1), tórax e região superior do dorso (fator 3). Para cada tipo de lesão também é atribuído um valor, correspondente a sua gravidade, equivalente a 0, na inexistência de lesões; 1, na existência de comedões; 2, na existência de pápulas; 3, na existência de pústulas e 4, na existência de nódulos. O *score* de cada área é calculado multiplicando-se o fator, correspondente à própria área, pelo valor referente à gravidade das lesões. A pontuação global é, então, calculada pela soma dos *escores* de cada área, conforme descrição a seguir: (testa; fator 2 x valor da gravidade da lesão) + (bochechas direita; fator 2 x valor da gravidade da lesão) + (bochechas esquerda; fator 2 x valor da gravidade da lesão) + (nariz; fator 1 x valor da gravidade da lesão) + (queixo; fator 1 x valor da gravidade da lesão) + (tórax e região superior do dorso; fator 3 x valor da gravidade da lesão). O sistema propõe que pontuações globais entre 1 e 18, definem grau leve da acne vulgar, entre 19 e 30, moderado; entre 31 e 38, grave e acima de 39, muito grave. A gravidade da acne vulgar de todos os adolescentes foi assim classificada, em consulta que antecedeu o início da suplementação e ao final do período de tratamento (60 dias depois).

Avaliação subjetiva da acne vulgar[11] também foi realizada. Na consulta inicial, todos os voluntários foram informados ter recebido pontuação máxima (10), segundo a escala analógica visual, que varia entre zero (pele livre de acne) e 10 (pele em estado inflamatório, com acne). Em nova consulta, ao final da intervenção, os adolescentes

foram convidados a realizar autoanálise, considerando o aspecto da pele acneica, usando a mesma escala, de modo a quantificar de maneira subjetiva o grau de satisfação com a pele após a intervenção[27]. Os resultados desta avaliação foram expressos como média e desvio padrão da média dos valores atribuídos pelos dez voluntários em cada grupo.

Na avaliação antropométrica foram consideradas as medidas relativas à massa corporal total, obtida em balança eletrônica de bioimpedância (Bioland®, modelo EF912), e à estatura, medida em estadiômetro portátil (Alturaexata®), empregadas no cálculo do índice de massa corporal [IMC = massa corporal total (kg) / estatura^2 (m^2)]. Adicionalmente, foi tomada medida do perímetro da cintura, por meio de fita métrica inelástica[28].

Absorciometria de dupla-emissão de raios X (iDXA - Lunar, *software* enCore Rf2008, versão 14.20, GE Healthcare, Madison, WI, USA) também foi empregada para a avaliação da composição corporal[29,30]. As variáveis analisadas, recomendadas em diretriz da Sociedade Internacional de Densitometria Clínica, incluíram, massa corporal total, massa de gordura corporal total e visceral[31].

Informações referentes ao consumo de energia e macronutrientes foram obtidas com a aplicação de dois recordatórios de 24 horas, no início do estudo, e mais dois, ao final dos sessenta dias da intervenção. O inquérito alimentar foi relativo à ingestão de alimentos pelo adolescente nas últimas 24 horas do dia anterior a sua realização, contemplando um dia no meio da semana e um sábado ou domingo. Para favorecer a qualidade das informações coletadas, fotografias de utensílios e porções, modelos tridimensionais de alimentos e de medidas caseiras foram utilizados, facilitando a identificação das quantidades consumidas[32]. Os dados foram registrados como medidas caseiras e, posteriormente, convertidos em gramas e mililitros, e a estimativa da composição de nutrientes [(energia (kcal)[33], macronutrientes (g e % da energia total consumida) e fibras (g)] foi estabelecida utilizando-se tabelas de composição dos alimentos[34]. A frequência de consumo semanal de alimentos, categorizados em diferentes grupos, também foi estimada por meio de questionário de frequência alimentar, referente a semana que antecedeu ao encontro presencial dos voluntários com o pesquisador. O questionário foi preenchido pelo próprio voluntário, após orientações, permitindo posterior análise qualitativa, sendo identificado para cada grupo de alimento, o número de vezes de consumo na semana. Os grupos de alimentos considerados, incluíram, salada crua, legumes e verduras cozidos, frutas frescas e salada de fruta, feijão, leite e iogurte; batata frita, salgados de pacote e salgados fritos, hambúrguer e

embutidos, bolachas, biscoitos doces ou recheados, doces, balas e chocolates, refrigerante[35].

Os dados foram organizados e analisados utilizando-se o *software Statistical Package for the Social Sciences* versão 19.0 for Windows (SPSS Inc Chicago). Para a descrição das variáveis foram calculados seus respectivos valores médios e desvio padrão, mediana, valores mínimos e máximos. Foram empregados testes não paramétricos em razão do reduzido tamanho amostral. A comparação das variáveis foi realizada intergrupos (OP vs. P) e intragrupo (antes vs. após 60 dias de intervenção) por meio da utilização dos testes de Mann Whitney, para amostras independentes e, Wilcoxon, pareado, respectivamente, com nível de significância menor que 5 % (*P* valor < 0,05).

Resultados

A caracterização quanto a idade, maturação sexual e fototipo dos 20 adolescentes que completaram a pesquisa, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe ou placebo, encontra-se descrita na tabela 2. Considerados estes parâmetros, nenhuma diferença significativa foi identificada entre os grupos.

Tabela 2. Idade, maturação sexual e fototipo dos adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe ou placebo, avaliados antes da intervenção

Variáveis	**Óleo de Peixe (n = 10)**	**Placebo (n = 10)**	***P* valor**
Idade (anos)			
Média (DP)	16,0 (2,2)	16,0 (2,6)	0,912
Mediana (min. – max.)	16,5 (12,0 – 20,0)	16,0 (12,0 – 20,0)	
Maturação sexual (Tanner)			
Média (DP)	3,6 (0,8)	3,2 (0,6)	0,315
Mediana (min. – max.)	3,0 (3,0 – 5,0)	3,0 (3,0 – 5,0)	

Fototipo de pele (Fitzpatrick)			
Média (DP)	3,1 (0,9)	3,3 (0,5)	0,436
Mediana (min. – max.)	3,0 (2,0 – 5,0)	3,0 (3,0 – 4,0)	

n= número de voluntários em cada grupo. DP=desvio padrão. min. – max.=valores mínimo e máximo. Diferenças não significativas, após emprego do teste de Mann Whitney.

O perfil de AG no plasma dos adolescentes tratados com óleo de peixe ou placebo está descrito na **tabela 3**. Antes da intervenção, ambos os grupos apresentavam conteúdo semelhante entre todos os AG analisados, representantes dos AGS, AGMI e das séries n-6 e n-3 dos AGPI. Ao final do período de suplementação, entretanto, o grupo óleo de peixe, comparado ao placebo, mostrou teores expressivamente mais reduzidos relativos aos totais de AGS, AGMI e AGPI n-6, acompanhados de seus principais representantes, enquanto mais elevados, de AGPI n-3, incluindo ALA, EPA e DHA.

Alterações significativas também foram verificadas, quando o perfil de AG inicial de cada grupo foi comparado com seus respectivos valores finais (após o período de 60 dias de suplementação). Assim, a suplementação com AG n-3 implicou em aumento do somatório das concentrações plasmáticas de AGPI e AGPI-n3, incluindo a elevação nos teores de ALA, EPA e DHA, e também de ácido docosapentaenoico (C22:5 n-6, DPA). De outro modo, promoveu redução nas concentrações totais de AGS, incluindo diminuição do conteúdo dos ácidos palmítico e esteárico; de AGMI, incluindo o ácido oleico; e de AGPI-n-6, englobando LA e AA. Consequentemente, as razões AGS/AGPI totais e n-6/n-3 também se apresentaram significativamente reduzidas. De outro modo, o grupo placebo apresentou, ao final do estudo, concentrações significativamente maiores relativas aos totais de AGPI e AGPI n-6, ao AA, e razão AGS/AGPI, comparadas aos valores anteriores à intervenção.

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos no plasma de adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe (OP) ou placebo (P), avaliados antes e após sessenta dias da intervenção

Ácidos graxos (mg/100g AG)	**Óleo de Peixe**		**Placebo**	
	Antes da intervenção	**Após 60 dias**	**Antes da intervenção**	**Após 60 dias**

Σ AGS	38,79 ± 1,38 [ac]	2,64 ± 0,25[d]	37,82 ± 1,14[a]	32,78 ± 2,17 [ab]
C16:0 (palmítico)	28,63 ± 1,00 [a]	1,70 ± 0,18 [b]	28,60 ± 0,78 [a]	27,48 ± 0,80 [a]
C18:0 (esteárico)	7,41 ± 0,43 [a]	0,41 ± 0,07 [b]	7,41 ± 1,05 [a]	6,16 ± 0,0 [a]
Σ AGMI	40,25 ± 0,50 [a]	4,39 ± 040 [b]	41,92 ± 0,34 [a]	40,69 ± 0,95 [a]
C18:1 n-9 (oleico)	18,73 ± 1,42 [a]	1,08 ± 0,11 [b]	20,62 ± 1,85 [a]	16,50 ± 0,16 [a]
Σ AGPI	21,28 ± 1,28 [a]	92,97 ± 0,65 [c]	20,26 ± 1,27 [a]	26,53 ± 1,22 [b]
C18:2 n-6 (LA)	12,81 ± 1,54 [a]	1,33 ± 0,20 [b]	11,48 ± 1,65 [a]	15,98 ± 1,34 [a]
C20:4 n-6 (AA)	4,09 ± 0,16 [a]	1,66 ± 0,10 [c]	4,08 ± 0,29 [a]	4,83 ± 0,18 [b]
C22:5 n-6 (DPA)	0,15 ± 0,04 [a]	1,70 ± 0,01 [b]	0,14 ± 0,04 [a]	0,18 ± 0,01 [a]
Σ AGPI n-6	17,44 ± 1,53 [a]	6,80 ± 0,28 [c]	16,23 ± 1,64 [a]	21,90 ± 1,41 [b]
C18:3 n-3 (ALA)	0,81 ± 0,10 [a]	1,26 ± 0,01 [b]	0,71 ± 0,08 [a]	0,94 ± 0,02 [a]
C20:5 n-3 (EPA)	0,23 ± 0,01 [a]	10,79 ± 0,19 [b]	0,20 ± 0,01 [a]	0,36 ± 0,01 [a]
C22:6 n-3 (DHA)	0,44 ± 0,02 [a]	66,60 ± 0,73 [b]	0,54 ± 0,03 [a]	0,80 ± 0,09 [a]
Σ AGPI n-3	1,78 ± 0,12 [a]	84,31 ± 0,93 [b]	1,74 ± 0,10 [a]	2,74 ± 0,06 [a]
Σ AGS/ Σ AGPI	1,85 ± 0,18 [a]	0,03 ± 0,00 [c]	1,89 ± 0,17 [a]	1,24 ± 0,14 [b]
n-6 / n-3	9,99 ± 1,36 [a]	0,08 ± 0,00 [b]	9,48 ± 1,54 [a]	8,02 ± 0,70 [a]

Valores correspondem a média ± erro padrão da média. N=4-6. OP=grupo suplementado com óleo de peixe (700 mg de DHA e 100 mg de EPA). P= grupo suplementado com placebo (óleo mineral isento de ômega 3). AG=ácidos graxos. Σ= somatório. AGS=ácidos graxos saturados. AGMI=ácidos graxos monoinsaturados. AGPI=ácidos graxos poli-insaturados. LA=ácido linoleico. AA=ácido araquidônico. DPA= ácido docosapentaenoico. ALA=ácido linolênico. EPA=ácido eicosapentaenoico. DHA=ácido docohexaenoico. Letras diferentes representam valores significativamente diferentes (P <0,05) para valores da mesma linha, após teste de Wilcoxon.

Na **figura 2** está representado o resultado da avaliação da gravidade da acne vulgar, realizada imediatamente antes e após 60 dias de suplementação com óleo de peixe ou óleo mineral. Todos os adolescentes iniciaram o estudo com pontuação igualmente correspondente ao grau moderado da doença. Verifica-se, no entanto, que ao final da intervenção o grupo tratado com AG n-3 apresentou pontuação

significativamente inferior àquela estabelecida no início do estudo (14,2 ± 2,7 vs. 27,0 ± 2,7, respectivamente, P = 0,005), passando à categoria equivalente ao grau leve da acne vulgar. Esta pontuação também diferiu significativamente daquela apurada para o grupo placebo (25,5 ± 3,9, P < 0,001), que se manteve com valor semelhante ao do início do tratamento. As fotografias reproduzidas na **figura 3** são ilustrativas das lesões elementares da acne vulgar, apresentadas pelos adolescentes, antes e após os 60 dias do tratamento. É possível visualizar redução das lesões e melhora clínica após a suplementação com óleo de peixe, quando comparadas à evolução do grupo placebo, ratificando o diagnóstico estabelecido pela classificação da gravidade empregada no estudo.

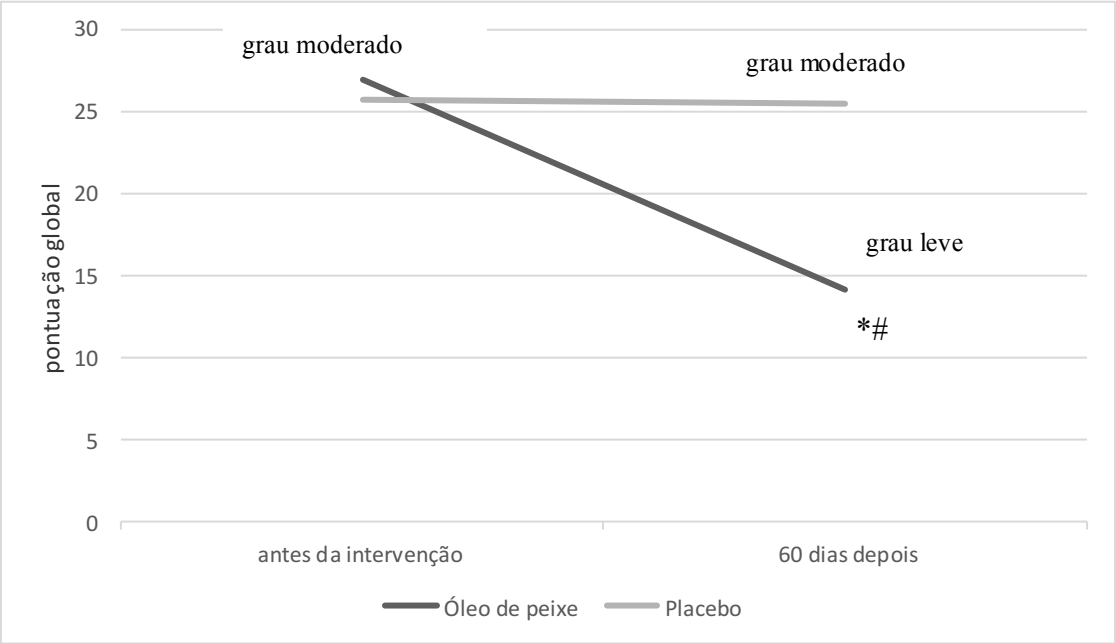


Figura 2. Classificação da gravidade da acne vulgar entre os adolescentes suplementados com óleo de peixe (N=10) ou placebo (N=10), antes e após 60 dias do tratamento. A pontuação global corresponde aos valores calculados por meio da soma de *escores,* definidos conforme a área das lesões e a presença ou não de comedões, pápulas, pústulas e nódulos[26]. * indica redução significativa (P < 0,001 em relação ao grupo Placebo, após teste de Mann Whitney. # indica redução significativa (P=0,005) em relação ao início do tratamento, após teste de Wilcoxon.

Figura 3. Fotografias autorizadas de voluntários suplementados com óleo de peixe ou placebo, ilustrativas das lesões elementares da acne vulgar, antes e após 60 dias do tratamento.

Os resultados relativos a avaliação subjetiva da acne, realizada pelos adolescentes ao final da intervenção, indicaram que o grupo suplementado com óleo de peixe, comparado ao placebo, pontuou suas lesões com valores significativamente menores, na escala analógica visual (5,0 ± 1,5 vs. 8,0 ± 1,0, respectivamente, $P < 0,001$).

Todos os adolescentes iniciaram o estudo com teores séricos semelhantes relativos ao conjunto de parâmetros bioquímicos investigados. No entanto, quando comparados ao final do período de suplementação, o grupo tratado com AG n-3 apresentou concentrações circulantes significativamente inferiores ao do grupo placebo, relacionadas aos marcadores de inflamação (TNF-α e PCR) e da homeostase glicêmica (glicemia e insulinemia de jejum, HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment-Insulin Resistance*), frutosamina e hemoglobina glicada), ao perfil lipídico (CT, LDL e TG) assim como ao hormônio testosterona. Apenas para o teor do mineral magnésio foi verificada concentração significativamente superior àquela dos adolescentes tratados com placebo (**tabela 4**).

Estes mesmos parâmetros séricos, obtidos antes e após a suplementação, também foram comparados intragrupos (**tabela 4**). Enquanto para o grupo placebo, nenhuma variável bioquímica investigada foi modificada, no grupo que recebeu AGPICL n-3, após os 60 dias da suplementação, foi observado o mesmo padrão de variação indicado na comparação realizada entre os grupos. Assim, foram verificadas reduções significativas nos teores séricos dos marcadores de inflamação (TNF alfa e PCR) e da homeostase glicêmica (glicemia e insulinemia de jejum, HOMA-IR, frutosamina e hemoglobina glicada), de lipídios (CT, LDL e TG) e também do hormônio testosterona. Adicionalmente, também foi identificado aumento significativo no teor de magnésio e, ainda, nas concentrações de zinco e do composto vitamínico 25-hidroxi-colecalciferol, quando todas essas variáveis foram comparadas aos seus respectivos valores obtidos antes do tratamento do grupo.

Tabela 4. Perfil bioquímico e hormonal de adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe (OP) ou placebo (P), avaliados antes e após sessenta dias da intervenção.

Indicadores bioquímicos e hormonais no soro	**Óleo de Peixe (n = 10)**		***P* valor[1]**	**Placebo (n = 10)**		***P* valor[1]**	**P valor[2] antes OP x P**	**P valor[3] depois OP x P**
Inflamação	**Antes da intervenção**	**Após 60 dias**		**Antes da intervenção**	**Após 60 dias**			
TNF-α (pg/mL)	8,5 ± 1,1	5,7 ± 1,3	**0,007**	9,1 ± 1,2	9,3 ± 0,9	0,584	0,353	**0,001**
PCR (mg/dL)	0,9 ± 0,2	0,4 ± 0,2	**0,003**	0,9 ± 0,6	0,9± 0,5	0,518	0,481	**0,005**
Vitaminas/minerais/homocisteína								
Cobalamina (pg/mL)	278 ± 33,4	297,7 ± 27,4	0,888	276,2 ± 29,1	264,3 ± 31,6	0,475	0,912	0,190
Ácido fólico (mg/mL)	11,7 ± 1,2	11,1 ± 1,6	0,088	12,0 ± 1,7	11,4 ± 1,9	0,538	0,971	0,579
Retinol (µmol/L)	3,0 ± 0,7	3,1 ± 0,8	0,357	3,1 ± 0,8	3,0 ± 0,6	0,506	0,853	0,796
Vitamina D3 (ng/L)[4]	19,5 ± 7,0	26,6 ± 8,1	**0,005**	19,9 ± 4,5	21,8 ± 2,9	0,280	0,912	0,247
Zinco (µg/dL)	70,6 ± 17,1	82,3 ± 17,2	**0,005**	69,7 ± 19,4	71,4 ± 18,5	0,414	0,912	0,123
Magnésio (mEq/L)	1,3 ± 0,3	2,1 ± 0,2	**0,014**	1,3 ± 0,4	1,3 ± 0,3	0,655	1,000	**0,007**
Homocisteína (mmol/L)	18,5 ± 1,6	18,3 ± 1,7	0,888	18,6 ± 1,8	19,0 ± 1,8	0,518	0,853	0,280
Homeostase glicêmica e perfil lipídico								
Glicemia de jejum (mg/dL)	95,4 ± 7,1	87,2 ± 4,8	**0,005**	95,2 ± 6,4	94,9 ± 4,0	0,919	1,000	**0,001**
Insulina de jejum (mU/L)	8,5 ± 2,3	6,2 ± 1,2)	**0,008**	8,4 ± 2,6	8,3 ± 2,1	0,722	0,912	**0,011**
HOMA-IR	2,0 ± 0,7	1,3 ± 0,3	**0,005**	2,0 ± 0,7	1,9 ± 0,5	0,444	0,684	**0,003**
HOMA beta	96,3 ± 26,5	96,4 ± 25,4	0,333	97,1 ± 36,2	96,2 ± 28,5	0,799	0,912	0,912
Frutosamina (nmol/L)	3,4 ± 0,4	2,3 ± 0,5	**0,005**	3,3 ± 0,5	3,3 ± 0,6	0,377	0,853	**0,001**
Hemoglobina glicada (%)	5,8 ± 0,3	5,0 ± 0,3	**0,005**	5,9 ± 0,4	5,8 ± 0,4	0,437	0,739	**0,001**
CT (mg/dL)	160,3 ± 8,7	143,4 ±7,3	**0,005**	159,5 ±5,2	159,4 ±5,4	0,903	0,796	**0,001**
LDL (mg/dL)	119,7 ± 6,1	101,9 ± 7,5	**0,005**	118,4 ± 4,2	119,3 ± 5,2	0,959	0,739	**0,001**
TG (mg/dL)	120,1 ± 6,7	96,0 ± 4,2	**0,005**	118,0 ± 4,3	119,2 ± 3,4	0,573	0,529	**0,001**
HDL (mg/dL)	45,0 ± 3,9	46,0 ± 4,4	0,573	43,2 ± 2,8	43,8 ± 2,5	0,569	0,190	0,393
Testosterona biodisponível (ng/dL)	484,3 ± 113,8	396, 0 ± 65,3	**0,007**	481,4 ± 111,3	484,9 ± 112,7	0,959	0,853	**0,035**

Os valores estão expressos como média ± desvio padrão da média. [1]referente às diferenças de valores obtidos antes e após 60 dias de intervenção com óleo de peixe (700 mg de DHA e 100 mg de EPA) ou placebo (óleo mineral isento de ômega 3), determinado pelo teste de Wilcoxon. [2]referente às diferenças entre ambos os grupos, antes da intervenção, determinado pelo teste de Mann Whitney). [3] referente às diferenças entre ambos os grupos, ao final do período de 60 dias de intervenção, determinado pelo teste de Mann Whitney. [4] D_{25} hidroxi-colecalciferol. n= número de voluntários em cada grupo. OP=grupo suplementado com óleo de peixe. P= grupo suplementado com placebo. TNF-α= fator de necrose tumoral-alfa. PCR=proteína C reativa. HOMA-IR= Homeostatic Model *Assessment-Insulin Resistance* [(glicemia jejum (mmol/L) x insulinemia jejum (UI/mL)/22,5]. HOMA beta= [(20 x insulinemia (UI/mL) / (glicemia (mmol/L) - 3,5. CT=colesterol total. LDL=lipoproteínas de baixa densidade. TG=triglicerídeos. HDL=lipoproteínas de alta densidade.

Variáveis antropométricas e relativas ao conteúdo de gordura corporal dos adolescentes de ambos os grupos foram avaliadas antes e após o período de sessenta dias da intervenção (**tabela 5**). O grupo que recebeu óleo de peixe iniciou o tratamento com massa corporal total média significativamente superior (70,9 ±3,9 kg) a do grupo tratado com placebo (66,1 ± 4,8 kg), assim como também tendeu a apresentar IMC mais elevado (23,0 ± 1,2 vs. 20,8 ± 1,5 kg/m2, respectivamente). Ao final da intervenção, no entanto, estas diferenças, entre ambos os grupos, não foram mais identificadas.

As medidas obtidas antes e após a suplementação, também foram comparadas, considerando-se o mesmo grupo de tratamento. Enquanto para o grupo placebo, nenhuma variável investigada foi modificada, no grupo que recebeu AGPICL n-3, após o término do período de suplementação, foram observadas reduções significativas nos valores médios relativos à massa corporal total, ao IMC e perímetro da cintura bem como à massa de gordura corporal total e visceral.

Tabela 5. Caracterização antropométrica e do conteúdo de gordura corporal de adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe (OP) ou placebo (P), avaliados antes e após sessenta dias da intervenção

Variáveis	Óleo de Peixe (n = 10)		*P* valor[1]	Placebo (n = 10)		*P* valor[1]	P valor[2] antes OP x P	P valor[3] depois OP x P
Massa corporal total (kg)	**Antes da intervenção**	**Após 60 dias**		**Antes da intervenção**	**Após 60 dias**			
Média (DP)	70,9 (3,9)	60,4 (6,0)	**0,009**	66,1 (4,8)	65,3 (6,4)	0,445	**0,035**	0,143
Mediana (min. – max.)	71,5 (65,2 – 77,8)	60,1 (49,1 – 68,0)		66,9 (59,5 – 76,2)	64,8 (56,4 – 75,0)			
Estatura (m)								
Média (DP)	1,76 (0,04)	1,76 (0,03))	0,089	1,78 (0,03)	1,78 (0,03)	0,189	0,089	0,089
Mediana (min. – max.)	1,75 (1,70 – 1,80)	1,75 (1,70 – 1,80)		1,80 (1,70 – 1,82)	1,80 (1,70 – 1,82)			
IMC (kg/m^2)								
Média (DP)	23,0 (1,2)	19,6 (1,4)	**0,001**	20,8 (1,5)	20,5 (1,6)	0,465	**0,005**	0,218
Mediana (min. – max.)	23,4 (20,9 – 24,2)	19,4 (17,0 – 22,0)		21,0 (18,7 – 23,0)	20,5 (18,0 – 22,9)			
Perímetro da cintura (cm)								
Média (DP)	91,5 (5,3)	84,8 (5,6)	**0,005**	90,5 (2,5)	90,0 (2,7)	0,375	0,393	0,052
Mediana (min. – max.)	91,5 (80,0 – 98,0)	84,0 (77,0 – 93,0)		90,0 (87,0 – 95,0)	90,0 (85,0 – 95,0)			
Gordura corporal total (kg)								
Média (DP)	21,1 (1,2)	18,5 (2,2)	**0,005**	20,3 (1,1)	19,9 (1,0)	0,128	0,123	0,105
Mediana (min. – max.)	21,0 (19,9 – 18,9)	18,8 (14,3 – 21,9)		20,0 (18,9 – 22,4)	19,9 (18,2 – 22,0)			
Gordura visceral (g)								
Média (DP)	79,7 (13,7)	72,7 (11,1)	**0,016**	80,8 (9,3)	79,2 (10,7)	0,08	0,912	0,315
Mediana (min. – max.)	81,0 (53,0 – 99,0)	70,5 (47,0 – 87,0)		81,5 (65,0 – 95,0)	81,0 (62,0 – 98,0)			

n= número de voluntários em cada grupo. OP=grupo suplementado com óleo de peixe (700 mg de DHA e 100 mg de EPA). P= grupo suplementado com placebo (óleo mineral isento de ômega 3). DP=desvio padrão. min. – max.=valores mínimo e máximo. IMC=índice de massa corporal. [1]referente às diferenças de valores obtidos antes e após 60 dias de intervenção com óleo de peixe ou placebo, determinado pelo teste de Wilcoxon. [2]referente às diferenças entre ambos os grupos, antes da intervenção, determinado pelo teste de Mann Whitney. [3] referente

às diferenças entre ambos os grupos, ao final do período de 60 dias de intervenção, determinado pelo teste de Mann Whitney.

A quantidade diária de energia total e macronutrientes, pelos adolescentes de ambos os grupos, foi estimada, por meio de recordatórios de 24 horas, realizados antes e após o período de sessenta dias da intervenção (**tabela 6**). O grupo tratado com óleo de peixe iniciou o estudo com ingestão energética total significativamente inferior a do grupo placebo (2.215 ± 72 vs. 2.327 ± 63 Kcal, respectivamente, P = 0,002). Ao final do período de intervenção, os valores relativos ao consumo energético total mantiveram o mesmo comportamento do início do estudo, sendo significativamente mais reduzidos para o grupo suplementado com AGPICL n-3 em relação ao placebo (2.240 ± 72 vs. 2.334 ± 78 Kcal, respectivamente, P = 0,023). Nenhuma outra variável dietética avaliada foi diferente entre os grupos, considerando-se as comparações das estimativas no início e ao final da intervenção. As estimativas obtidas antes e após a suplementação, considerando-se o mesmo grupo de tratamento, também foram comparadas. Nenhuma variável investigada foi modificada, em ambos os grupos. O consumo de macronutrientes, expresso como percentual da ingestão energética total, indicou valores médios aproximados correspondentes a 12 e 13% de proteínas, 28 e 30 % de lipídios bem como 59 e 62 % de carboidratos, para os grupos placebo e óleo de peixe, respectivamente, tanto antes quanto ao final do tratamento.

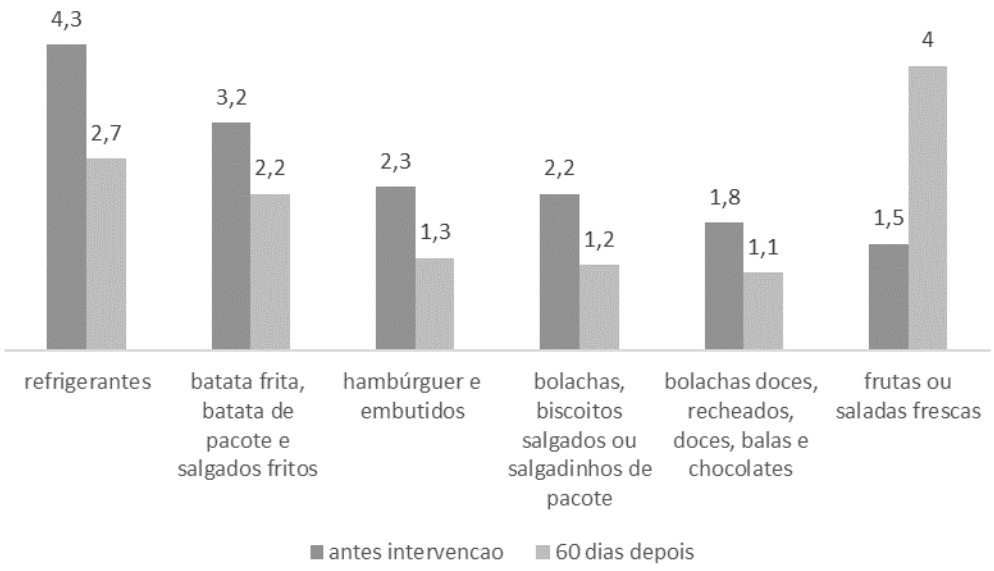
Tabela 6. Estimativas das quantidades diárias de energia total e macronutrientes consumidas por adolescentes com acne vulgar, randomizados nos grupos suplementados com óleo de peixe ou placebo, avaliados antes e após sessenta dias da intervenção.

Variáveis	Óleo de Peixe (n = 10)		*P* valor[1]	Placebo (n = 10)		*P* valor[1]	P valor[2] antes OP x P	P valor depois OP x P
Energia (Kcal)	**Antes da intervenção**	**Após 60 dias**		**Antes da intervenção**	**Após 60 dias**			
Média (DP)	2.215 (72)	2.240 (72)	0,050	2.327 (63)	2.334 (78)	0,878	**0,002**	**0,023**
Mediana (min. – max.)	2.225 (2.112 – 2.299)	2.240 (2.120 – 2.331)		2.335 (2.217 – 2.433)	2.342 (2.232 – 2.447)			
Carboidratos (g)								
Média (DP)	346,1 (10,0)	346,7 (9,3)	0,232	345,1 (9,0)	345,4 (9,2)	0,944	0,853	0,971
Mediana (min. – max.)	345,0 (330,0 – 360,0)	346,3 (330,0 – 359,0)		347,0 (332,0 – 358,5)	347,0 (332,5 – 360,0)			
Lipídios (g)								
Média (DP)	72,6 (5,6)	73,9 (5,3)	0,064	73,2 (5,3)	74,0 (6,7)	0,759	0,912	1,000
Mediana (min. – máx.)	72,5 (65,0 – 81,0)	74,0 (65,0 – 80,5)		75,0 (65,0 – 81,0)	74,5 (63,0 – 83,0)			
Proteínas (g)								
Média (DP)	71,4 (3,2)	71,3 (3,5)	0,655	71,9 (4,1)	71,8 (3,5)	1,000	0,393	0,796
Mediana (min. – max.)	70,5 (65,0 – 75,0)	71,3 (65,0 – 75,0)		72,0 (62,0 – 76,0)	72,0 (66,0 – 76,0)			

n= número de voluntários em cada grupo. OP=grupo suplementado com óleo de peixe (700 mg de DHA e 100 mg de EPA). P= grupo suplementado com placebo (óleo mineral isento de ômega- 3). DP=desvio padrão. min. – max.=valores mínimo e máximo. Kcal=quilocalorias. Os dados foram obtidos por meio de quatro recordatórios de 24 horas, aplicados antes (dois) e após (dois) a intervenção. [1]referente às diferenças de valores obtidos antes e após 60 dias de intervenção com óleo de peixe ou placebo, determinado pelo teste de Wilcoxon. [2]referente às diferenças entre ambos os grupos, antes da intervenção, determinado pelo teste de Mann Whitney. [3] referente às diferenças entre ambos os grupos, ao final do período de 60 dias de intervenção, determinado pelo teste de Mann Whitney.

A **figura 4** ilustra a frequência de consumo semanal de alimentos, categorizados em diferentes grupos, dos adolescentes tratados com o óleo de peixe (A) ou placebo (B), antes e após o período de sessenta dias da intervenção. Foram identificadas mudanças significativas no perfil de consumo de ambos os grupos, exclusivamente quando comparados os dados relativos ao período que antecedeu a intervenção e após sessenta dias do tratamento, incluindo aumento expressivo no número de vezes na semana com consumo de frutas ou saladas frescas e redução de diferentes categorias de alimentos processados.

A



B

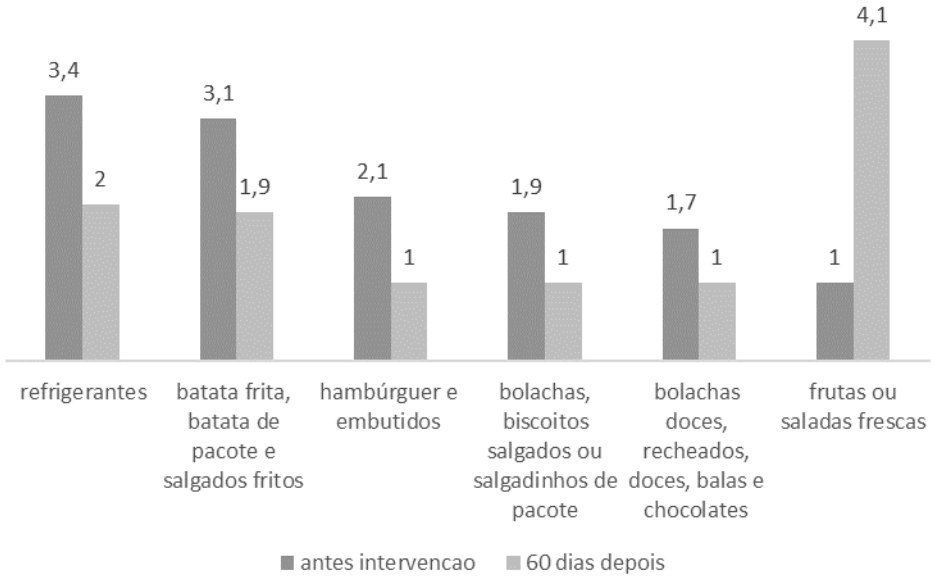


Figura 4. Estimativa da frequência (número de vezes) de consumo semanal de

alimentos, categorizados em diferentes grupos, dos adolescentes tratados com o óleo de peixe (A) ou placebo (B), antes e após o período de sessenta dias da intervenção. Todas as diferenças foram significativas, após teste.

Discussão

A acne vulgar é uma dermatose crônica, multifatorial e apresenta elevada prevalência no Brasil e no mundo. A incidência entre adolescentes do sexo masculino frequentemente é alta, no período que se estende entre os 14 e 19 anos de vida, devido a influência androgênica[36-40]. A doença merece especial atenção uma vez que, quando não tratada, pode gerar cicatrizes indeléveis e morbidade psicológica. Hiperproliferação dos queratinócitos basais, aumento da produção sebácea, colonização por *Propionibacterium acnes* e inflamação constituem mecanismos fundamentais envolvidos na patogênese dessa enfermidade da pele[41,42]. As condutas terapêuticas usuais incluem uso de antibióticos, entretanto, a resistência bacteriana decorrente do emprego deste medicamento implica na redução da eficácia do tratamento e modificação da microbiota intestinal[2]. Assim, considerando o componente inflamatório das lesões acneicas, no presente estudo, buscamos investigar, em adolescentes do gênero masculino, a ação atenuante da resposta inflamatória, promovida por ácidos graxos da série n-3, implicando na melhora clínica das lesões da acne e no favorecimento de alterações positivas em diferentes parâmetros metabólicos e do estado nutricional, incluindo composição corporal, mediadores bioquímicos associados à inflamação, metabolismo lipídico, homeostase glicêmica, indicadores hormonais e estado nutricional de micronutrientes. Neste sentido, foi realizado ensaio clínico randomizado, placebo controlado e duplo-cego, envolvendo suplementação diária de adolescentes, apresentando acne vulgar em diferentes estágios da doença, com óleo de peixe (cápsulas contendo 700 mg de DHA mais 100 mg de EPA) ou placebo (cápsulas contendo óleo mineral isento de AG n-3), ao longo de 60 dias consecutivos.

A suplementação com o óleo de peixe promoveu aumento dos teores plasmáticos dos AGPICL n-3, EPA e DHA, e redução do conteúdo de AA, da série n-6, e de AGS. Este mesmo perfil não foi observado no grupo placebo. A avaliação da qualidade dos alimentos mais frequentemente consumidos por ambos os grupos indicou ingestão restrita de fontes de AG n-3, assim, o ensaio clínico proposto refletiu a ingestão dietética do AG n-3 suplementar, proporcionando teores circulantes mais

elevados destes lipídios. Considerando este novo perfil de AG, é possível supor que as alterações clínicas e metabólicas identificadas entre os adolescentes suplementados com o óleo de peixe sejam decorrentes dos efeitos moduladores de diferentes processos, atribuídos aos AGPICL n-3[11,17]. Costa e colaboradores[2] identificaram mudanças na quantidade e qualidade de AG, avaliados nas pústulas (sebo cutâneo) de 45 voluntários, com quadro de acne vulgar inflamatória, que receberam suplementos diários, por três meses, contendo 540 mg de ácido γ-linolênico n-6 ou 1.200 mg de ácido linoleico n-6 mais 510 mg de ácido oleico n-9. Esses autores sugeriram a possibilidade da incorporação de AG específicos às membranas das células especializadas na produção de sebo, das glândulas sebáceas na pele, mediando mecanismos inflamatórios e anti-inflamatórios.

As concentrações plasmáticas de DHA e EPA, significativamente mais elevadas ao final do tratamento com óleo de peixe, parecem ter influenciado a melhora clínica da acne vulgar. A gravidade da enfermidade, inicialmente categorizada moderada, passou ao grau leve neste grupo de adolescentes. Adicionalmente, finalizada a intervenção, estes voluntários, por meio de autoanálise, também consideraram o aspecto da pele acneica mais satisfatório do que o grupo que recebeu placebo.

Diferentes mecanismos relacionados ao controle de processos inflamatórios podem justificar a influência dos AG n-3 na redução das lesões acneicas inflamatórias da pele. Assim, AGPICL n-3 podem competir com AA, resultando na sua incorporação ao fosfolípidios da membrana das células, servindo como substrato para COX-2 e 5-LOX[43]. Com isso, ocorre redução da síntese dos metabólitos PGE2, tromboxanos e leucotrieno B4, que são potentes agentes efetores de inflamação[44]. Também já foi descrito que AGPICL n-3 diminuem o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), que tem sido implicado na exacerbação da acne[45]. Adicionalmente, EPA inibe, em queratinócitos humanos, a expressão de metaloproteinases, induzida por TNF-α, implicadas no desenvolvimento das cicatrizes da acne[46]. Ressalta-se que TNF-α é considerado o principal mediador da inflamação desta enfermidade da pele[47]. Descreve-se, ainda, que os derivados de cadeia longa da série de AG n-3 alteram o conteúdo dos receptores tipo *toll (*TLR, *Toll-Like Receptor*)-2 e TLR-4. Sabe-se que *Propionibacterium acnes* induz a ativação de TLR-2 e TLR-4, responsáveis pela continuidade da inflamação em queratinócitos durante o desenvolvimento da acne[48].

A resposta clínica observada no grupo suplementado com AGPI n-3 foi acompanhada por variações positivas nos parâmetros bioquímicos avaliados no soro

destes adolescentes. Foram verificadas reduções significativas nos marcadores de inflamação TNF-α e PCR, suportando a hipótese de que o consumo de óleo de peixe favorece a diminuição de citocinas e proteínas de fase aguda, relacionadas à resposta inflamatória, no organismo de pacientes com acne vulgar, com consequente melhoria das lesões.

Neste estudo a suplementação de AG n-3 também se mostrou capaz de modular o metabolismo das lipoproteínas. Exceto para a HDL, os demais indicadores do perfil lipídico circulante (TG, LDL e CT) apresentaram redução significativa ao final da intervenção, sem que este comportamento tenha sido verificado no grupo placebo. O efeito hipotrigliceridêmico dos AGPI n-3, dose dependente e persistente, foi recentemente ratificado em estudo de revisão, que reuniu resultados de diferentes investigações epidemiológicas[49]. Também já foi reconhecido, para esta série de AG, potencial redutor das concentrações de TG, por meio da diminuição na produção endógena de VLDL[50]. Quanto ao resultado hipocolesterolêmico, tanto EPA quanto DHA se mostraram eficazes em estimular a atividade do receptor da LDL no tecido hepático de camundongos, contribuindo para a captação e consequente redução das concentrações circulantes de LDL[51]. Adicionalmente, também foi demonstrado que o efeito supressor da atividade da enzima HMG-CoA (*3-hydroxy-3-methyglutary-CoA*) redutase, promovido por AG n-3, resulta na diminuição da síntese hepática de colesterol[52].

A insulina constitui hormônio que apresenta importante efeito sobre processos metabólicos de natureza anabólica, sendo reconhecido que hiperinsulinemia influencia o crescimento epitelial folicular, a queratinização e, também, a secreção sebácea, estreitamente relacionada à acne vulgar[53]. Adicionalmente, o estado hiperinsulinêmico, associado à presença secundária de IGF-1, estimularia a síntese de andrógenos, como por exemplo a testosterona, que por sua vez aumentam ainda mais a produção de sebo[54]. Testosterona biodisponível pode ser convertida em dihidrotestosterona, por meio da ação da enzima 5-alfa redutase, sendo um marcador de lipogênese, na pele, como em glândulas sebáceas e estrato granuloso da epiderme[55]. No presente estudo, a dose suplementar diária de AGPICL n-3 promoveu nos adolescentes com acne, ao final de 60 dias, redução significativa da glicemia e insulinemia de jejum, do índice HOMA-IR, dos teores sanguíneos de frutosamina, hemoglobina glicada e do hormônio andrógeno testosterona. Novamente, estes efeitos não foram observados no grupo tratado com placebo. Conteúdo elevado de testosterona total constitui característica hormonal

esperada entre adolescentes do sexo masculino. Ademais, já foi descrita correlação positiva entre teores circulantes de testosterona total e livre, gravidade da acne vulgar e IMC. Assim, pode-se esperar que entre adolescentes com maior massa de gordura corporal, por exemplo, e maiores concentrações de testosterona biodisponível, a progressão das lesões inflamatórias de acne vulgar estaria favorecida[56-58]. Neste contexto, é esperado que medidas capazes de promover redução da gordura corporal bem como do andrógeno, possam estar correlacionadas à contribuição na melhora das lesões inflamatórias. De fato, neste estudo, a suplementação com óleo de peixe ocasionou redução significativa na massa corporal total, IMC, massa de gordura total e visceral, perímetro cintura assim como no score apurado na avaliação da gravidade da acne vulgar. De outro modo, no grupo placebo, as medidas destas variáveis permaneceram semelhantes, antes e após os 60 dias de intervenção, inclusive sem alteração da categorização da gravidade das lesões acneicas deste grupo.

Os mecanismos pelos quais os AGPICL n-3 atuariam promovendo redução da massa corporal total ainda estão sob investigação. A hipótese mais sugestiva atribui efeito modulador da oxidação de AG em detrimento do seu armazenamento. Os derivados de cadeia longa dos AGPI n-3, especialmente EPA e DHA, atuam como ativadores de receptores ativados por proliferador de peroxissoma-alfa (PPAR-α, *peroxisome proliferator activated receptor-alpha*)[59]. No tecido hepático, este processo pode estar associado à redução da massa corporal, assim como, no músculo esquelético, aos efeitos hipoglicemiantes. Também se descreve o efeito potencial dos AGPI n-3 sobre a redução de citocinas pró-inflamatórias bem como do estresse oxidativo nos adipócitos, produzindo menor taxa de acúmulo lipídico ectópico no fígado[60]. Os teores de gordura hepática são regulados, por sua vez, por fatores de transcrição, como a proteína reguladora do elemento esterol-1 (SREBP-1, *Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1*) e a proteína de ligação a elemento de resposta de carboidrato (ChREBP, *Carbohydrate Sensitive Response Element Binding Protein*), diminuindo assim a lipogênese de novo[60], alterando o balanço entre a oxidação e a produção lipídica hepática, favorecendo a oxidação e, consequentemente, diminuindo os teores de gordura neste tecido. A redução da taxa de lipogênese de novo também resulta em diminuição concomitante na liberação para a circulação de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), ricas em TG, reduzindo efetivamente o conteúdo deste lipídio no sangue[60]. Em conjunto, estes mecanismos estão inter-relacionados e indicam alterações moduladas por AG n-3, capazes de justificar os efeitos positivos sobre parâmetros

metabólicos e clínicos, verificados entre os adolescentes com acne, tratados com o suplemento contendo óleo de peixe.

Na investigação relativa ao conteúdo circulante de micronutrientes, o grupo suplementado com óleo de peixe apresentou, ao final da intervenção, elevação nas concentrações séricas de 25-hidroxi-colecalciferol, zinco e magnésio, enquanto nenhuma alteração foi identificada no grupo tratado com óleo mineral. A vitamina D está envolvida na regulação do sistema imunológico bem como da proliferação e diferenciação de queratinócitos e sebócitos, já tendo sido descritas propriedades antioxidantes e anti-comedogênicas atribuídas a esse nutriente[61,62]. Adicionalmente, há relato de que a estrutura ativa desta vitamina, o composto 1, 25-dihidroxi-colecalciferol, suprime a lipogênese e, portanto, a síntese de TG das células produtoras de sebo das glândulas sebáceas[63]. Assim, teores muito reduzidos de vitamina D podem facilitar a patogênese da acne. Por sua vez, o zinco é capaz de minimizar processos oxidativos, aumentando a expressão de metalotioneínas, responsáveis pela manutenção da homeostase celular e citoproteção[64]. Estudos *in vitro* mostraram que este mineral reduz a ativação do fator de transcrição nuclear de NFk-B (*factor nuclear kappa B*), iniciada pela enzima fosfodiesterase, refletindo em diminuição do fluxo da expressão gênica de TNF-α e interleucina 1b (IL-1b). Além disso, poderia aumentar a expressão gênica de PPARα, que também está correlacionado ao estímulo lipolítico, em células que acumulam gordura[64-66]. Vitamina A e zinco representam nutrientes que têm sido amplamente utilizados e valorizados no tratamento da acne, por seus respectivos efeitos inibidores na comedogênese[42]. Com relação ao mineral magnésio, entretanto, apesar do reconhecimento do seu impacto sobre o sistema imunológico, diminuindo a resposta inflamatória do organismo[67], não foram encontrados relatos da sua aplicação na redução da inflamação relacionada a acne vulgar. Do mesmo modo, também não foram identificados estudos tratando da possibilidade da existência de mecanismos capazes de relacionar DHA e EPA ao aumento dos teores circulantes destes micronutrientes em pacientes com acne. De todo modo, dado o envolvimento destes nutrientes em processos envolvidos no controle do estresse oxidativo e da inflamação, é possível supor que o DHA ative vias biomoleculares relacionadas à manutenção de teores circulantes suficientes destes compostos. São necessários, entretanto, estudos capazes de respaldar essa hipótese.

A análise dos dados dietéticos indicou que os adolescentes suplementados com óleo de peixe iniciaram o estudo ingerindo, em média, menos 112 Kcal por dia,

comparados aos voluntários do grupo placebo. Após 60 dias de intervenção, o grupo tratado com AG n-3 continuava ingerindo conteúdo inferior de energia (94 Kcal/dia), comparado aos adolescentes tratados com óleo mineral. Apesar de as diferenças entre estas estimativas ter alcançado significância estatística, seu significado fisiológico não parece ser expressivo. Ademais ressalta-se as reconhecidas limitações relacionadas à confiabilidade dos inquéritos dietéticos, principalmente quando envolvida amostragem reduzida[68].

Quando considerados os resultados relativos à frequência de consumo de alimentos, categorizados em diferentes grupos, foi possível identificar, entre todos os adolescentes, no início do estudo, padrão cujas características já foram associadas a predisposição à acne vulgar, incluindo ingestão frequente de carboidratos com elevado índice glicêmico, consumo reduzido de frutas e legumes assim como de fontes de AG n-3, em detrimento de elevada ingestão de AG n-6. É reconhecido que o consumo frequente de carboidratos que apresentam elevado índice glicêmico pode expor o organismo a repetidos episódios de hiperinsulinemia aguda que, em consequência, influencia o crescimento epitelial folicular, a queratinização e, também, a secreção sebácea. O aumento de IGF-I, decorrente da hiperinsulinemia, promoveria estímulo da proliferação de queratinócitos basais[69]. Adicionalmente, elevação da insulina circulante é capaz de induzir formação de tecido e aumento da síntese de androgênio, contribuindo, assim, para o estabelecimento e gravidade da acne[70]. Ao final do período de intervenção, no entanto, ambos os grupos relataram diminuição significativa na frequência de consumo de alimentos processados, indicando provável redução na ingestão de AG n-6, tendo em vista o elevado teor deste tipo de AG neste grupo de alimentos[71]. Ainda que a mudança observada no padrão de ingestão de alimentos reflita a orientação nutricional fornecida aos adolescentes no início do estudo, maior consumo dietético de AG n-3 poderia ser benéfico, de modo que no grupo não suplementado com este tipo de AG, também pudesse ser favorecida a redução da razão n-6/n-3 plasmática, associada a menor produção de citocinas inflamatórias[72].

Em conclusão, este estudo mostrou a eficácia da suplementação com óleo de peixe, contendo 700 mg de DHA mais 100 mg de EPA, por período de 60 dias consecutivos, na redução da gravidade da acne vulgar e melhora de parâmetros metabólicos, nutricionais e clínicos. Estudos adicionais, envolvendo diferentes grupos e amostragem ampliada permanecem sendo necessários para confirmar os resultados encorajadores da presente investigação, de modo que terapia envolvendo a

suplementação com AGPICL n-3 possa ser recomendada para o tratamento clínico da acne vulgar em adolescentes.

O reduzido tamanho amostral constituiu a principal limitação deste estudo, somado ao curto período da intervenção.

Referências

1. Costa A, Alchorne MMA, Goldschmidt MCB. Etiopathogenic features of acne vulgaris. An Bras Dermatol. 2008;83(5):451-9.
2. Costa A, Talarico AS, Duarte COP, Pereira CS, Weimann ETS, De Matos LS et al. Evaluation of the quantitative and qualitative alterations in the fatty acid contents of the sebum of patients with inflammatory acne during treatment with systemic lymecycline and/or oral fatty acid supplementation. Dermatol Res Pract. 2013;2013:120475.
3. Zaenglein AL, Pathy AL, Schlosser BJ, Alikhan A, Baldwin HE, Berson DS et al. Guidelines of care for the management of acne vulgaris. J Am Acad Dermatol. 2016;74(5):945-73.e33.
4. Paschoal FM, Ismael APPB. The effect of light in the treatment of acne vulgaris. Surg Cosmet Dermatol. 2010;2(2)117-23.
5. Fabbrocini G, Izzo R, Faggiano A, Del Prete M, Donnarumma M, Marasca C et al. Low glycaemic diet and metformin therapy: a new approach in male subjects with acne resistant to common treatments. Clin Exp Dermatol. 2016;41(1):38-42.
6. Lu PH, Hsu CH. Does supplementation with green tea extract improve acne in post-adolescent women? A randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical trial. Complement Ther Med. 2016; 25:159-63.
7. Kim K, Kim KI, Lee J. Inhibitory effects of *Cheongsangbangpoong-tang* on both inflammatory acne lesions and facial heat in patients with acne vulgaris: A randomized controlled trial protocol. BMC Complement Altern Med. 2016;22(16): 21.
8. Kamal M, Polat M. Effect of different doses of isotretinoin treatment on the levels of serum homocysteine, vitamin B12 and folic acid in patients with acne vulgaris: A prospective controlled study. J Pak Med Assoc. 2015;65(9):950-3.
9. Razavi M, Jamilian M, Kashan ZF, Heidar Z, Mohseni M, Ghandi Y et al. Selenium supplementation and the effects on reproductive outcomes, biomarkers of inflammation, and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome. Horm Metab Res. 2016;48(3):185-90.
10. Jamilian M, Bahmani F, Siavashani MA, Mazloomi M, Asemi Z, Esmaillzadeh A. The effects of chromium supplementation on endocrine profiles, biomarkers of inflammation, and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Biol Trace Elem Res. 2016;172(1):72-8.
11. Jung JY, Kwon HH, Hong JS, Yoon JY, Park MS, Jang MY et al. Effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acid and gamma-linolenic acid on acne vulgaris: a randomised, double-blind, controlled trial. Acta Derm Venereol. 2014 Sep;94(5):521-5.
12. Kendall AC, Kiezel-Tsugunova M, Brownbridge LC, Harwood JL, Nicolaou A.

Lipid functions in skin: Differential effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on cutaneous ceramides, in a human skin organ culture model. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2017;1859(9 Pt B):1679-89.
13. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. Am J Clin Nutr. 2006;83(6 Suppl):1505S-19S.
14. Spector AA. Essentiality of fatty acids. Lipids. 1999;34:1S-3S.
15. Tosi F, Sartori F, Guarini P, Olivieri O, Martinelli N. Delta-5 and delta-6 desaturases: crucial enzymes in polyunsaturated fatty acid-related pathways with pleiotropic influences in health and disease. Adv Exp Med Biol. 2014;824:61-81.
16. Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2018;132:41-48.
17. Calder PC. Very long-chain n-3 fatty acids and human health: fact, fiction and the future. Proc Nutr Soc. 2018;77(1):52-72.
18. Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. Biomed Pharmacother. 2002;56(8):365-79.
19. Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R, Glaspy JA, Reddy ST. Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100(4):1751-6.
20. Kim MH, Lee KY, Park S, Kim SI, Park HS, Yoo YC. Effects of systemic lidocaine versus magnesium administration on postoperative functional recovery and chronic pain in patients undergoing breast cancer surgery: A prospective, randomized, double-blind, comparative clinical trial. PLoS One. 2017;12(3):e0173026.
21. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. Arch Dermatol. 1988;124(6):869-71.
22. Philippi ST, Latterza AR, Cruz ATR, Ribeiro LC. Pirâmide alimentar adaptada: guia para escolha dos alimentos. Rev Nutr Campinas. 1999;12(1): 65-80.
23. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. Arch Dis Child. 1976;51(3):170-9.
24. American Oil Chemists' Society (AOCS), Official method Ce 2b-11. Direct methylation of lipids in foods by alkali hydrolysis, 2011. Disponivel em: <https://www.aocs.org/attain-lab-services/methods/methods/method-detail?productId=112493>. Acesso em: 10 Outubro 2017.
25. Fonseca FCPD, Mucci DB, Assumpção RP, Marcondes H, Sardinha FLC, Silva SV et al. Differential long-chain polyunsaturated fatty acids status and placental transport in adolescent pregnancies. Nutrients. 2018;10(2):E220.
26. Doshi A, Zaheer A, Stiller MJ. A comparison of current acne grading systems and proposal of a novel system. Int J Dermatol. 1997;36(6):416-8.
27. Ryuichi F, da Silva MM, Scasni KS. O uso do LED para o tratamento da acne. Surg Cosmet Dermatol. 2017;9(4):316-23.
28. Feller S, Boeing H, Pischon T. Body mass index, waist circumference, and the risk of type 2 diabetes mellitus. implications for routine clinical practice. Dtsch Arztebl Int. 2010;107(26): 470-6.
29. Blake GM, Fogelman I. Technical principles of dual energy x-ray absorptiometry. Semin Nucl Med. 1997;27(3):210-28.
30. Kaul S, Rothney MP, Peters DM, Wacker WK, Davis CE, Shapiro MD et al. Dual-energy X-ray absorptiometry for quantification of visceral fat. Obesity

(Silver Spring). 2012;20(6):1313-8.
31. Petak S, Barbu CG, Yu EW, Fielding R, Mulligan K, Sabowitz B et al. The official positions of the International Society for Clinical Densitometry: body composition analysis reporting. J Clin Densitom. 2013;16(4):508-19.
32. Fisberg RM, Slater B, Marchioni IDML, Martini LA. Inquéritos alimentares - métodos e bases científicas. Manole, Barueri, 2005.
33. National Research Council (NRC) Diet and Health: Implications for reducing chronic disease risk. Committee on Diet and Health. Washington, National Academies Press (USA), 1989.
34. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos / NEPA – UNICAMP – 4. Ed. Rev. ampl. – Campinas, NEPA – UNICAMP, 2011.
35. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Protocolos do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN na assistência à saúde. Brasília, 2008.
36. Bagatin E, Timpano DL, Guadanhim LRS, Nogueira VMA, Terzian LR, Steiner D et al. Acne vulgaris: prevalence and clinical forms in adolescents from São Paulo, Brazil. An Bras Dermatol. 2014;89(3):428-35.
37. Shen Y, Wang T, Zhou C, Wang X, Ding X, Tian S et al. Prevalence of acne vulgaris in Chinese adolescents and adults: a community- based study of 17,345 subjects in six cities. Acta Derm Venereol. 2012;92:40-4.
38. Bhate K, Williams HC. Epidemiology of acne vulgaris. Br J Dermatol. 2013;168(3):474-85.
39. Dreno B, Poli F. Epidemiology of acne. Dermatology. 2003;206(1):7-10. Influencia androgênica
40. Sobral Filho JF, Nunes Maia HGS, Fonseca ESVB, Damiao RS. Aspectos epidemiológicos da acne vulgar em universitários de Joao Pessoa - PB. An Bras Dermatol. 1993;68(4):225-8.
41. Scipioni G, Monteiro GM, Soldateli B. Acne e dieta: uma revisão. Nutrire. 2015;40(1):104-9.
42. Costa A, Lage D, Moises TA. Acne e dieta: verdade ou mito? An Bras Dermatol. 2010;85(3):346-53.
43. Fischer R, Konkel A, Mehling H, Blossey K, Gapelyuk A, Wessel N et al. Dietary omega-3 fatty acids modulate the eicosanoid profile in man primarily via the CYP-epoxygenase pathway. J Lipid Res. 2014; 55(6):1150-64.
44. Logan AC. Omega-3 fatty acids and acne. Arch Dermatol. 2003;139 (7):941-2.
45. Bowe WP, Joshi SS, Shalita AR. Diet and acne. J Am Acad Dermatol. 2010;63(1):124-41.
46. Kim HH, Lee Y, Eun HC, Chung JH. Eicosapentaenoic acid inhibits TNF-alpha induced matrix metalloproteinase-9 expression in human keratinocytes, HaCaT cells. Biochem Biophys Res Commun. 2008;368(2):343-9.
47. Leyden J. How does our increased understanding of the role of inflammation and innate immunity in acne impact treatment approaches? J Dermatolog Treat. 2016;27 (Suppl 1):S1-S3.
48. Graham GM, Farrar MD, Cruse-Sawyer JE, Holland KT, Ingham E. Proinflammatory cytokine production by human keratinocytes stimulated with Propionibacterium acnes and P. acnes GroEL. Br J Dermatol. 2004;150(3):421-8).
49. Arca M, Borghi C, Pontremoli R, De Ferrari GM, Colivicchi F, Desideri G et al. Hypertriglyceridemia and omega-3 fatty acids: Their often overlooked role in cardiovascular disease prevention. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2018;28(3):197-

205.
50. Baker PW, Gibbons GF. Effect of dietary fish oil on the sensitivity of hepatic lipid metabolism to regulation by insulin. J Lipid Res. 2000;41(5):719-26.
51. Vasandani C, Kafrouni AI, Caronna A, Bashmakov Y, Gotthardt M, Horton JD et al. Upregulation of hepatic LDL transport by n-3 fatty acids in LDL receptor knockout mice. J Lipid Res. 2002;43(5):772-84.
52. Du C, Sato A, Watanabe S, Wu CZ, Ikemoto A, Ando K et al. Cholesterol synthesis in mice is suppressed but lipofuscin formation is not affected by long-term feeding of n-3 fatty acid-enriched oils compared with lard and n-6 fatty acid-enriched oils. Biol Pharm Bull. 2003;26(6):766-70.
53. Kaymak Y, Adisen E, Ilter N, Bideci A, Gurler D, Celik B. Dietary glycemic index and glucose, insulin, insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein 3, and leptin levels in patients with acne. J Am Acad Dermatol. 2007;57(5):819-23.
54. Domínguez-Ugalde MG, Jurado-Santa Cruz F, Peralta-Pedrero ML, Morales-Sánchez MA. Niveles de insulina en adolescentes con acné comedónico. Gac Med Mex. 2015;151(4):438-42.
55. Thiboutot D, Knaggs H, Gilliland K, Lin G. Activity of 5-alpha-reductase and 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the infrainfundibulum of subjects with and without acne vulgaris. Dermatology.1998;196(1):38-42.
56. Hacivelioglu S, Gungor AN, Gencer M, Uysal A, Hizli D, Koc E, Cosar E. Acne severity and the Global Acne Grading System in polycystic ovary syndrome. Int J Gynaecol Obstet. 2013 Oct;123(1):33-6.
57. Lau K, Höger PH. Skin diseases associated with obesity in children. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2013 Apr;56(4):539-42.
58. Alan S, Cenesizoglu E. Effects of hyperandrogenism and high body mass index on acne severity in women. Saudi Med J. 2014 Aug;35(8):886-9.
59. Motawi TM, Hashem RM, Rashed LA, El-Razek SM. Comparative study between the effect of the peroxisome proliferator activated receptor-alpha ligands fenofibrate and n-3 polyunsaturated fatty acids on activation of 5'-AMP-activated protein kinase-alpha1 in high-fat fed rats. J Pharm Pharmacol 2009;61(10):1339-46.
60. Scorletti E, Byrne CD. Omega-3 fatty acids and non-alcoholic fatty liver disease: Evidence of efficacy and mechanism of action. Mol Asp Med. 2018;64:135-46.
61. Mousa A, Misso M, Teede H, Scragg R, Courten B. Effect of vitamin D supplementation on inflammation: protocol for a systematic review. BMJ Open. 2016;6:e010804.
62. Bowe WP, Logan AC. Clinical implications of lipid peroxidation in acne vulgaris: old wine in new bottles. Lipids Health Dis. 2010;9:141.
63. Umar M, Konduru S, Sastry F, Al-Khulaifi AM, Wang E, Aouatef I et al. Vitamin D and the pathophysiology of inflammatory skin diseases. Skin Pharmacol Physiol. 2018; 31(2):74-86.
64. Prasad AS. Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: its role in human health. Front Nutr. 2014;1:14.
65. Contreras AV, Torres N, Tovar AR. PPAR-α as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation. Adv Nutr. 2013;4(4):439-52.
66. Jarosz M, Olbert M, Wyszogrodzka G, Młyniec K, Librowski T. Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF-kB signalling.

Inflammopharmacol. 2017;25(1):11-24.
67. Nielsen FH. Magnesium deficiency and increased inflammation: current perspectives. J Inflamm Res. 2018;11:25-34.
68. Institute of Medicine (IOM). Committee on dietary risk assessment in the WIC Program, Food and Nutrition Board, 2002.
69. Pérez-Cotapos MLS, Salomone C, Burgos CS, Nicklas DC. Influencia de la dieta en el acné: revisión de la literatura. Rev Chilena Dermatol. 2011;27(1):82-5.
70. Aghasi M, Golzarand M, Shab-Bidar S, Aminianfar A, Omidian M, Taheri F1. Dairy intake and acne development: A meta-analysis of observational studies. Clin Nutr. 2019;38(3):1067-75.
71. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. J Am Coll Nutr. 2002;21(6):495-505.
72. Wyrzykowska N, Wyrzykowski M, Zaba RW, Silny W, Grzymisławski M. Diet and acne vulgaris. Prz Gastroenterol 2013;8(2):93e7.

8 CONCLUSÕES

O conjunto de resultados, obtidos antes e após 60 dias de intervenção, permite-nos concluir que a suplementação de óleo de peixe, rico em ácidos graxos poli-insaturados n-3, em adolescentes com acne vulgar, pode promover:

1 – Modificação positiva no perfil de AG plasmáticos, com aumento da série n-3 e diminuição da n-6, definindo reduzida razão n-6/n-3, associada ao favorecimento de processos que resultam em resposta inflamatória atenuada;

2 – Redução da gravidade das lesões cutâneas, acompanhada por diminuição das concentrações séricas de marcadores inflamatórios;

3- Melhora do perfil lipoproteico, incluindo redução nas concentrações de LDL, TG e CT;

4- Melhora na homeostase glicêmica, incluindo redução da glicemia e insulinemia de jejum, do índice HOMA-IR e dos teores circulantes de frutosamina e hemoglobina glicada;

5- Alterações na composição corporal, incluindo redução da massa corporal total, IMC, massa de gordura total e visceral bem como do perímetro da cintura;

6- Hipoandrogenia, em razão de diminuição das concentrações séricas de testosterona biodisponível.

Neste contexto, maior oferta de AG n-3, dietética ou suplementar, parece constituir terapêutica útil para adolescentes que apresentam acne vulgar, uma vez que pode influenciar diferentes processos metabólicos capazes de justificar as alterações observadas no presente estudo. Pesquisas adicionais permanecem sendo necessárias para confirmar os resultados da presente investigação. As incorporações, ao desenho experimental realizado, de grupo em tratamento convencional com antibiótico, além da ampliação do tamanho amostral, representam alternativas para futuros estudos, destinados a amplificar as possibilidades de avaliação da magnitude da resposta da suplementação no tratamento clínico da acne vulgar em adolescentes.

REFERÊNCIAS

ANTONIOU, C. et al. A multicenter, randomized, split-face clinical trial evaluating the efficacy and safety of chromophore gel-assisted blue light phototherapy for the treatment of acne. **International Journal of Dermatology**, v.55, p.1321-1328, 2016.

AKT ÜK, A.Ş. et al. Effects of isotretinoin on serum vitamin E levels in patients with acne. **International Journal of Dermatology**, v.52, p.363-366, 2013.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS), Official method Ce 2b-11. **Direct methylation of lipids in foods by alkali hydrolysis,** 2011. Disponivel em: <https://www.aocs.org/attain-lab-services/methods/methods/method-detail?productId=112493>. Acesso em: 10 Out. 2017.

ARCA, M. et al. Hypertriglyceridemia and omega-3 fatty acids: Their often overlooked role in cardiovascular disease prevention. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases,** v.28, n.3, p.197-205, 2018.

ALAN, S.; CENESIZOGLU, E. Effects of hyperandrogenism and high body mass index on acne severity in women. **Saudi Medical Journal**, v.35, n.8, p. 886-889, 2014.

AGHASI, M. et al. Dairy intake and acne development: A meta-analysis of observational studies. **Clinical Nutrition**, v.38, n.3, p.1067-1075, 2019.

AL-SHOBAILI, H. et al. Tumor necrosis factor-α - 308 G/A and interleukin 10 - 1082 A/G gene polymorphisms in patients with acne vulgaris. **Journal of Dermatological Science**, v.68, n.1, p.52-55, 2012.

AL-MUTAIRI, N. Associated cutaneous diseases in obese adult patients: a prospective study from a skin referral care center. **Medical Principles and Practice**. v.20, n.3, p.248-52, 2011.

ABULNAJA, K. Changes in the hormone and lipid profile of obese adolescent Saudi females with acne vulgaris. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.42, n.6, p.501-505, 2009.

BAGATIN, E. et al. Acne vulgaris: prevalence and clinical forms in adolescents from São Paulo, Brazil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.89, n.3, p.428-435, 2014.

BAGGA, D. Differential effects of prostaglandin derived from omega-6 and omega-3 polyunsaturatd fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.100, n.4, p.1751-1756, 2003.

BHATE, K.; WILLIAMS, H.C. Epidemiology of acne vulgaris. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v.168, n.3, P.474-485, 2013.

BAKER, P.W.; GIBBONS, G.F. Effect of dietary fish oil on the sensitivity of hepatic lipid metabolism to regulation by insulin. **The Journal of Lipid Research**, v.41, n.5, p.719-726, 2000.

BLAKE, G.M.; FOGELMAN, I. Technical principles of dual energy x-ray absorptiometry. **Seminars in Nuclear Medicine**. v. 27, n.3, p.210-228, 1997.

BOWE, W.P.; JOSHI, S.S.; SHALITA, A.R. Diet and acne. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.63, n.1, p. 124 -141, 2010.

BOWE, W.P.; LOGAN, A.C. Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis - back to the future? **Gut Pathogens**, v. 31, v.1, 2011.

BOWE, W.P.; LOGAN, A.C. Clinical implications of lipid peroxidation in acne vulgaris: old wine in new bottles. **Lipids in Health and Disease**. v.9, p.141, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Protocolos do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN na assistência à saúde**. Brasília, 2008.

CALDER, P.C. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.83, n.6, p. 1505-1519, 2006.

CALDER PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 2006;83(6 Suppl):1505S-19S.

CALDER PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 2006;83(6 Suppl):1505S-19S.

CALDER, P.C. Very long-chain n-3 fatty acids and human health: fact, fiction and the future. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 77, n.1, p.52-72, 2018.

CIRILLO, T. et al. Natural weight-loss products and acne induction in a patient with thyroid dysfunction. **Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia**, v.152, n.3, p.316, 2017.

CLAUDEL, J.P. et al. Acne and nutrition: hypotheses, myths and facts. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**. v.32, n.10, P.1631-1637, 2018.

CONTRERAS, A.V.; TORRES, N.; TOVAR, A.R. PPAR-α as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation. **Dermatology Research and Practice**. v.4, n.4, p.439-452, 2013.

COSTA, A.; ALCHORNE, M.M.A.; GOLDSCHMIDT, M.C.B. Etiopathogenic features of acne vulgaris. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, n.83, n.5, p.451-459, 2008.

COSTA, A.; LAGE, D.; MOISES, T.A. Acne e dieta: verdade ou mito? **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v.85, n.3, P.346-353, 2010.

DE CARVALHO, A.P.; SILVA, V.; GRANDE, J. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. **Diagnóstico e tratamento**, v.18, n.1, p.38-44, 2013.

DELOST, G.R.; DELOST, M.E.; LLOYD, J. The impact of chocolate consumption on acne vulgaris in college students: A randomized crossover study. **Journal of The American Academy of Dermatology**, v.75, p.220-222, 2016.

DOMÍNGUES-UGALDE, M.G. et al. Niveles de insulina en adolescentes con acné comedónico. **Gaceta medica de Mexico**, v.151, n.4, p.438-442, 2015.

DOSHI, A.; ZAHER, A.; STILLER, M.J. A comparison of current acne grading systems and proposal of a novel system. **International Journal of Dermatology**, v.36, n.6, p.416-418, 1997.

DRENO, B.; POLI, F. Epidemiology of acne. **Dermatology**, v.206, n.1, p.7-10, 2013.

DU, C. et al. Cholesterol synthesis in mice is suppressed but lipofuscin formation is not affected by long-term feeding of n-3 fatty acid-enriched oils compared with lard and n-6 fatty acid-enriched oils**. Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.26, n.6, p.766-770, 2003.

FABBROCINI, G. et al. Percutaneous collagen induction: an effective and safe treatment for post-acne scarring in different skin phototypes. **Journal of Dermatological Treatment**, v.25, p.147-152, 2014.

FABBROCINI, G. et al. Low glycaemic diet and metformin therapy: a new approach in male subjects with acne resistant to common treatments. **Clinical and Experimental Dermatology**, v.41, n.1, p.38-42, 2016.

FELLER, S.; BOEING, H.; PISCHON, T. Body mass index, waist circumference, and the risk of type 2 diabetes mellitus. implications for routine clinical practice. **Deutsches Ärzteblatt international**, v.10, n.26, p.470-476, 2010.

FIGUEIREDO, A. et al. Avaliação e tratamento do doente com acne – Parte I:

Epidemiologia, etiopatogenia, clínica, classificação, impacto psicossocial, mitos e realidades, diagnóstico diferencial e estudos complementares. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v.7, p.9-65, 2011.

FISBERG, R.M. et al. Inquéritos alimentares - métodos e bases científicas. **Manole,** Barueri, 2005.

FISCHER, R. et al. Dietary omega-3 fatty acids modulate the eicosanoid profile in man primarily via the CYP-epoxygenase pathway. **The Journal of Lipid Research**, v.55, n.6, p. 1150-1164, 2014.

FITZPATRICK, T.B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Archives of Dermatology**, v.124, n.6, p.869-871,1988.

FONSECA, F.C.P.D. et al. Differential long-chain polyunsaturated fatty acids status and placental transport in adolescent pregnancies. **Nutrients**, v.10, n.2, p.220, 2018.

FOREST, J.M.; RAFIKHAH, N. Oral Aqueous Green Tea Extract and Acne Vulgaris: A Placebo-Controlled Study. **Asian Journal of Clinical Nutrition**, v.6, p.41-46, 2014.

FORMUSO, C.; STRACQUADANIO, M.; CIOTTA, L. Myo-inositol vs. D-chiro inositol in PCOS treatment. **Minerva Ginecologica**, v.67, p.321-325, 2015.

FOULADI, R.F. Aqueous extract of dried fruit of Berberis vulgaris L. in acne vulgaris, a clinical trial. **Journal of Dietary Supplements**, v.9, p.253-261, 2012.

GOFOROUSHAN, F.; AZIMI, H.; GOLDUST, M. Efficacy of Vitamin E to Prevent Dermal Complications of Isotretinoin. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.16, p.548-550, 2013.

GOKLP, H.; BULUR, I.; GURER, M. Decreased vitamin B12 and folic Acid concentrations in acne patients after isotretinoin therapy: a controlled study. **Indian Journal of Dermatology**, v. 59, p.630, 2014.

GOFOROUSHAN, F.; AZIMI, H.; GOLDEUST, M. Efficacy of Vitamin E to Prevent Dermal Complications of Isotretinoin. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.16, p.548-550, 2013.

GRAHAN, G.M. et al. Proinflammatory cytokine production by human keratinocytes stimulated with Propionibacterium acnes and P. acnes GroEL. **British Journal of Dermatology**, v.150, n.3, p.421-428, 2004.

GROSSI, E. et al. The constellation of dietary factors in adolescent acne: a semantic connectivity map approach. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v.30, n.1, p.96-100, 2016.

GREUPENER, T. et al. Effects of a low and a high dietary LA/ALA ratio on long-chain PUFA concentrations in red blood cells. **Journal of Functional Foods.** v.19, n.9, p.4742-4754, 2018.

HACIVELIOGLU, S. et al. Acne severity and the Global Acne Grading System in polycystic ovary syndrome. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v.123, n.1, p.33-36, 2013.

HOLZER, G.; STRABEGGER, B.; VOLC-PLATZER, B. Cutaneous manifestations of metabolic syndrome. **Hautarzt**, v.67, n.12, p.982-988, 2016.

HOUSMAN, E.; REYNOLDS, R.V. Polycystic ovary syndrome: a review for dermatologists: Part I. Diagnosis and manifestations. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.71, n.5, p.847-858, 2014.

INNES, J.K.; CALDER, P.C. Omega-6 fatty acids and inflammation. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v.132, p.41-48, 2018.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). Committee on dietary risk assessment in the WIC Program, **Food and Nutrition Board**, 2002.

JADAD, A.R. et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? **Controlled Clinical Trials**, v.17, p.1-12, 1996.

JAMILIAN, M. et al. The effects of chromium supplementation on endocrine profiles, biomarkers of inflammation, and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Biological Trace Element Research**, v.172, n.1, p.72-78, 2016.

JAROSZ, M. et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF-kB signalling. **Inflammopharmacology**, v.25, n.1, p.11-24, 2017.

JAVANBAKHT, A.M.; POUR, H.M.; TARRAHIC, M.J. Effects of oral isotretinoin on serum folic acid levels. **Journal of Drugs in Dermatology**, v.11, p.23-24, 2012.

JUNG, G.W. et al. Prospective, randomized, open-label trial comparing the safety, efficacy, and tolerability of an acne treatment regimen with and without a probiotic supplement and minocycline in subjects with mild to moderate acne. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 17, p.114-122, 2013.

JUNG, J.Y. et al. Effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acid and gamma-linolenic acid on acne vulgaris: a randomised, double-blind, controlled trial. **Acta Dermato Venereologica**, v.94, n.5, p.521-525, 2014.

LAU, K.; HOGER, P.H. Skin diseases associated with obesity in children. **Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz**, v.56, n.4, p.539-542, 2013.

LAUERMANN, F.T. et al. Acne scars in 18-year-old male adolescents: a population-based study of prevalence and associated factors. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.91, n.3, p.291-295, 2016.

LEYDEN, J. How does our increased understanding of the role of inflammation and innate immunity in acne impact treatment approaches? **Journal of Dermatological Treatment**, v.27, n.1, p.S1-S3, 2016.

LOGAN, A.C. Omega-3 fatty acids and acne. **Archives of Dermatology**. v. 139, n.7, p.941-942, 2013.

LUA, A.C.Y.; HOW, C.H.; KING, T.F.J. Managing polycystic ovary syndrome in primary care. **Singapore Medical Journal**, v.59, n.11, p.567-571, 2018.

LU, P.H.; HSU, C.H. Does supplementation with green tea extract improve acne in post-adolescent women? A randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical trial. **Complementary Therapies in Medicine**, v.25, p.159-163, 2016

MCCUSKER, M.; SIDBURY, R. Nutrition and skin: Kids are not just little people. **Clinics in Dermatology**. v.34, n.6, p.698-709, 2016.

MELNIK, B.C. Acne vulgaris: The metabolic syndrome of the pilosebaceous follicle. **Clinics in Dermatology**, v.36, n.1, p.29-40, 2018.

MELNIK, B.C. Diet in acne: further evidence for the role of nutrient signalling in acne pathogenesis. **Acta Dermato-Venereologica**, v.92, n.3, p.228-231, 2012.

MELNIK, B.C. Evidence for acne-promoting effects of milk and other insulinotropic dairy products. **Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program**, v.67, p.131-145, 2011.

MENESES, Z.; BOUZAS, I. Acne vulgaris and adolescence. **Adolescência & Saúde**, v. 6, p.21-23, 2009.

MOCHTAR, M. et al. The Difference in Interleukin-19 Serum on Degrees of Acne Vulgaris Severity. **International Journal of Inflammation**, v. 2018, p.4141-4579, 2018.

MOTA, G. T. et al. Acne in late adolescence is not associated with a raised risk of subsequent malignant melanoma among men. **Cancer Epidemiology**, v.51, p.44-48, 2017.

MOTAWI, T.M. et al. Comparative study between the effect of the peroxisome proliferator activated receptor-alpha ligands fenofibrate and n-3 polyunsaturated fatty acids on activation of 5'-AMP-activated protein kinase-alpha1 in high-fat fed rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.61, n.10, p.1339-1346, 2009.

MOUSA, A. et al. Effect of vitamin D supplementation on inflammation: protocol for a systematic review. **BMJ Open**, v.6, p.0108-04, 2016.

MUSZER, M. et al. Human Microbiome: When a Friend Becomes an Enemy**.** **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (Warsz)**, v.63, n.4, p.287-298, 2015.

National Research Council (NRC) Diet and Health: Implications for reducing chronic disease risk. Committee on Diet and Health. **The National Academies Press,** 1989.

NIELSEN, F.H. Magnesium deficiency and increased inflammation: current perspectives**. Journal of Inflammation Research**, v.11, p.25-34, 2018.

PARK, S.Y. et al. Epidemiology and risk factors of childhood acne in Korea: a cross-sectional community based study. **Clinical and Experimental Dermatology**. v.40, n.8, p.844-850, 2015.

PASCHAL, F.M.; ISMAEl, A.P.P.B. The effect of light in the treatment of acne vulgaris. **Surgical and Cosmetic Dermatology**. v.2, n.2, p.117-123, 2010.

PÉREZ-COTAPOS, M.L.S. et al. Influencia de la dieta en el acné: revisión de la literatura. **Revista Chilena de Dermatología**. v.27, n.1, p.82-85, 2011.

PETAK, S. et al. The official positions of the International Society for Clinical Densitometry: body composition analysis reporting. **Journal of Clinical Densitometry**. v.16, n.4, p.508-19, 2013.

PHILIPPI, ST. et al. Pirâmide alimentar adaptada: guia para escolha dos alimentos. **Revista Nutrição Campinas**. v.12, n.1, p.65-80, 1999.

PRASAD, A.S. Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: its role in human health. **Frontiers in Nutrition**, p.1-14, 2014.

RIBAS, J.; OLIVEIRA, C.M.P.B. Acne vulgaris and well-being in medical students.

An. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.83, p.520-525, 2008.

REUTER, J.; MERFORT, I.; SCHEMP, C.M. Botanicals in dermatology: an evidence-based review. **American Journal of Clinical Dermatology,** v.11, p.247-267, 2010.

RAZAVI, M. et al. Selenium supplementation and the effects on reproductive outcomes, biomarkers of inflammation, and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome. **Hormone and Metabolic Research**, v.48, n.3, p.185-190, 2016.

RYUICHI, F.; DA SILVA, M.M.; SCASNI, K.S. O uso do LED para o tratamento da acne. **Surgical And Cosmetic Dermatology**, v.9, n.4, p.316-323, 2017.

ROTH, M.M.; LEADER, N.; KROUMPOUZOS, G. Gynecologic and andrologic dermatology and the metabolic syndrome. **Clinics in Dermatology**, v.36, n.1, p.72-80, 2018.

ROSENFIELD, R.L. The Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome in Adolescents. **Pediatrics**, v.136, n.6, p.1154-1165, 2015.

ROBEVA, R. et al. Acne vulgaris is associated with intensive pubertal development and altitude of residence--a cross-sectional population-based study on 6,200 boys. **European Journal of Pediatrics**, v.172, n.4, p.465-471, 2013.

SBD. Sociedade Brasileira de Diabetes. **Diretriz Brasileira**. 2018.

SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Diretriz Brasileira de consumo de gorduras**. 2013.

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

SCHULZ, K.F.; ALTMAN, D.G.; MOHER, D. For the CONSORT Group CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. **Annals of Internal Medicine,** v.340, 2010.

SCIPIONI, G.; MONTEIRO, G.M.; SOLDATELI, B. Acne e dieta: uma revisão. **Nutrire**, v.40, n.1, p.104-109, 2015.

SCORLETTI, E.; BYNE, C.D. Omega-3 fatty acids and non-alcoholic fatty liver disease: Evidence of efficacy and mechanism of action. **Molecular Aspects of Medicine**, v.64, p.135-146, 2018.

SELEIT, I. et al. Body mass index, selected dietary factors, and acne severity: are they related to in situ expression of insulin-like growth factor-1? **Anal Quant Cytopathol Histpathol**, v.36, n.5, p.267-278, 2014.

SHALITA, A.R. et al. Inflammatory acne management with a novel prescription dietary supplement**. Journal of Drugs in Dermatology**, v.11, p.1428-1433, 2012.

SHEN, Y. et al. Prevalence of acne vulgaris in Chinese adolescents and adults: a community- based study of 17,345 subjects in six cities. **Acta Dermato-Venereologica**, v.92, p.40-44, 2012.

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

SIMOPOULOS, AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **Journal of the American College of Nutrition**. v. 21, n.6, p.495-505, 2002.

SOBRAL, J.F.S. et al. Aspectos epidemiológicos da acne vulgar em universitários de Joao Pessoa - PB. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.68, n.4, p. 225-228, 1993.

SOGUKTAS, H. et al. Omentin Val/Val genotype increases predisposition to acne vulgaris without changing omentin serum level. Cell **Cellular and Molecular Biology**, v.30, n.64, p.81-86, 2018.

SPECTOR, A.A. Essentiality of fatty acids. **Lipids**, v.34, p.1S-3S, 1999.

STARK, K.D. et al. Global survey of the omega-3 fatty acids, docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in the blood stream of healthy adults. **Progress in Lipid Research**. v. 63, p.132-152, 2016.

TOSI, F. et al. Delta-5 and delta-6 desaturases: crucial enzymes in polyunsaturated fatty acid-related pathways with pleiotropic influences in health and disease. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.824, p.61-81, 2014.

TANNER, J.M.; WHITEHOUSE, R.H. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. **Archives of Disease in Childhood**, v.51, n.3, p.170-179, 1976.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS. NEPA – UNICAMP, NEPA – UNICAMP, 4.ed, 2011.

THIBOUTOT, D. et al. Activity of 5-alpha-reductase and 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the infrainfundibulum of subjects with and without acne vulgaris. **Division of Dermatology**, v.196, n.1, p.38-42, 1998.

UMAR, M. et al. Vitamin D and the pathophysiology of inflammatory skin diseases. **Skin Pharmacology and Physiology**, v.31, n.2, p.74-86, 2018.

VASANDANI, C. et al. Upregulation of hepatic LDL transport by n-3 fatty acids in LDL receptor knockout mice. **The Journal of Lipid Research**. v.43, n.5, p.772-784, 2002.

VEITH, W.B.; SILVERBERG, N.B. The association of acne vulgaris with diet. **Cutis**, v.88, n.2, p.84-91, 2011.

WYRZYKOWSKA, N. et al. Diet and acne vulgaris. **Przegląd Gastroenterologiczny**, v.8, n.2, p.93-97, 2013.

ZAENGLEIN, A.L. et al. Guidelines of care for the management of acne vulgaris. **J Am Acad Dermatol**. v.74, n.5, p.945-73e33, 2016.

ZOUBOULIS, C.C. Acne as a chronic systemic disease. **Clinics in Dermatology**, v.32, n.3, p.389-396, 2014.

ANEXO A. Parecer de aprovação do CEP

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DO RIO DE JANEIRO/SMS/ RJ

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos da suplementação do extrato seco de Camellia sinensis e do óleo de peixe sobre o perfil nutricional, bioquímico-inflamatório e metabólico de adolescentes com diferentes graus de acne vulgar

Pesquisador: Ana Maria Mósca de Cerqueira

Área Temática: Genética Humana:
(Haverá armazenamento de material biológico ou dados genéticos humanos no exterior e no País, quando de forma conveniada com instituições estrangeiras ou em instituições comerciais;);

Versão: 4

CAAE: 48827615.1.0000.5279

Instituição Proponente: RIO DE JANEIRO SEC MUNICIPAL DE SAUDE

Patrocinador Principal: RIO DE JANEIRO SEC MUNICIPAL DE SAUDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.558.238

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa intitulado: Efeitos da suplementação do extrato seco de Camellia sinensis e do óleo de peixe sobre o perfil nutricional, bioquímico-inflamatório e metabólico de adolescentes com diferentes graus de acne vulgar que será desenvolvido pelo pesquisador responsável: Ana Maria Mósca de Cerqueira, orientadora do doutorando Felipe Cardoso.

Objetivo da Pesquisa:

* Objetivo geral:

- Avaliar os efeitos da ingestão do extrato seco de Camellia sinensis e dos ácidos graxos n-3 (eicosapentaenóico - EPA e docosahexaenóico - DHA) sobre o perfil nutricional, bioquímico,metabólico de adolescentes com Acne vulgar.

* Objetivos específicos:

- Avaliar os efeitos da suplementação com extrato seco encapsulado de Camelia sinensis e ácidos

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, Sobreloja
Bairro: Centro **CEP:** 20.031-040
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2215-1485 **E-mail:** cepsms@rio.rj.gov.br

graxos da série n-3 (eicosapentaenóico - EPA e docosahexaenóico - DHA) por adolescentes com Acne vulgar sobre (i)parâmetros físicos e antropométricos; (ii)aspectos clínicos dermatológicos;(iii) perfil bioquímico e inflamatório; (iv) metaboloma do sangue.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os autores apontam que segundo dados da literatura, os suplementos testados no estudo, até o momento, não indicaram risco potencial de toxicidade grave, mas havendo a necessidade de monitoramento da saúde hepática por profissional habilitado e, em caso de qualquer sinal e sintoma atípico, o participante deverá, imediatamente, entrar em contato com o pesquisador responsável e verificar a necessidade de suspender o tratamento. E ainda ressalta que, todas as etapas serão conduzidas com ponderação, entre riscos e benefícios, tanto conhecidos como potenciais, individuais ou coletivos, assegurando o máximo de benefícios e o mínimo de danos e riscos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sem comentários.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados todos os termos obrigatórios para apreciação destes, incluindo as modificações indicadas pela CONEP no Termo de Assentimento Livre Esclarecido.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Sr.(a) Pesquisador(a),

Atentamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP/SMS-RJ deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas a este CEP/SMS-RJ, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DO RIO DE JANEIRO/SMS/ RJ

Continuação do Parecer: 1.558.238

justificativas.

Acrescentamos que o sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (item IV.3 .d., da Resolução CNS/MS Nº 466/12) e deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (item IV.5.d., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Ressaltamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_582302.pdf	04/05/2016 09:23:39		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEalterado3adolescentes.pdf	04/05/2016 09:22:55	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEalterado3.pdf	04/05/2016 09:22:28	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito
Orçamento	Orcam2.pdf	24/01/2016 13:20:52	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEalterado2.pdf	24/01/2016 13:16:17	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartaanuenciahmj.pdf	24/01/2016 13:11:35	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito
Cronograma	Cronogramaalterado2.pdf	24/01/2016 13:07:26	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuencia1.pdf	09/12/2015 10:29:20	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito
Outros	Folharosto_B.pdf	31/08/2015 19:43:13	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito
Projeto Detalhado	PD_Plataforma_Brasil.pdf	31/08/2015	Ana Maria Mósca	Aceito

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, Sobreloja
Bairro: Centro **CEP:** 20.031-040
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2215-1485 **E-mail:** cepsms@rio.rj.gov.br

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DO RIO DE JANEIRO/SMS/ RJ

Continuação do Parecer: 1.558.238

/ Brochura Investigador	PD_Plataforma_Brasil.pdf	19:42:23	de Cerqueira	Aceito
Folha de Rosto	Folharosto_A.pdf	31/08/2015 19:36:19	Ana Maria Mósca de Cerqueira	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

RIO DE JANEIRO, 24 de Maio de 2016

Assinado por:
Salesia Felipe de Oliveira
(Coordenador)

Endereço: Rua Evaristo da Veiga, 16, Sobreloja
Bairro: Centro **CEP:** 20.031-040
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2215-1485 **E-mail:** cepsms@rio.rj.gov.br

ANEXO B. Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PESQUISA

"Suplementação do extrato seco de *Camellia sinensis* e do óleo de peixe, rico em n-3 sobre o perfil nutricional, bioquímico-inflamatório e metabólico de adolescentes com diferentes graus de acne vulgar"

ESTE DOCUMENTO LHE DARÁ INFORMAÇÕES E PEDIRÁ O SEU CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR DE UMA PESQUISA QUE ESTÁ SENDO DESENVOLVIDA PELO INSTITUTO DE NUTRIÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO E O AMBULATÓRIO DE DERMATOLOGIA DO HOSPITAL MUNICIPAL JESUS.

Prezado voluntário (a),

Você está sendo convidado a participar, voluntariamente, de uma pesquisa, que visa obter melhor entendimento científico e clínico a respeito do tratamento da acne vulgar, que comumente ocorre em adolescentes. Nesse estudo, serão tomadas medidas de massa, estatura, circunferência da cintura e quadril e estimativa de gordura corporal e massa livre de gordura. Para isso serão utilizados os seguintes equipamentos: balança eletrônica, estadiômetro, fita métrica, plicômetro e ultrassom. Os dados bioquímicos e metabólicos do sangue também serão coletados para análise. O principal objetivo dessa pesquisa será avaliar o perfil clínico e nutricional (anamnese geral, avaliação física e antropométrica, avaliação de composição corporal e inquéritos alimentares), bioquímico-inflamatório e metabólico (glicose, hormônios, ácidos graxos *trans,* ácidos graxos essenciais e de cadeia longa, proteínas viscerais, citocinas e outras provas de função orgânica), associados à ingestão de 2 cápsulas de óleo de peixe (2g) diariamente ou 1 cápsula do extrato seco da *Camelia sinensis,* durante 3 meses. Após este período, vocês ficarão 1 mês sem tratamento, para verificação de possível manutenção do efeito do tratamento anterior. Logo em seguida, vocês seguirão tomando as cápsulas por mais 3 meses, totalizando 7 meses totais.

O material biológico (sangue) será coletado por técnico treinado, com material adequado (agulha estéril e tubos com anticoagulantes), em sala apropriada, no Hospital Municipal Jesus, localizado na rua Oito de Dezembro, 717, bairro Vila Isabel, no Rio de Janeiro. Logo em seguida, armazenada, em condições adequadas, para posterior análise no próprio hospital e a outra será transportada, apropriadamente, para o INJC/UFRJ, no qual serão feitas outras partes das análises do perfil bioquímico-inflamatório e metabólico. Estes materiais serão armazenados e analisados, podendo, no entanto, no futuro, serem analisados novamente, com a necessidade de obtenção de novo termo de consentimento assinado pelos participantes.

Ao final do estudo, em caso de resultados positivos, havendo necessidade para terminar o tratamento, asseguraremos a oferta dos suplementos testados, gratuitamente pela empresa Idealfarma Indústria e Comércio de Produtos Farmacêuticos Ltda, rua VP L1 Qd 14 – s/n It 1, Anápolis – GO, CEP 75024-970, tel.: 0800 701 4424, sob supervisão da equipe de pesquisadores. Além disso, os participantes terão acesso aos resultados dos exames realizados, durante o estudo, ao finalizarem a pesquisa.

O estudo mantém sua ética e respeita o participante, em sua dignidade e autonomia. Reconhece sua vulnerabilidade, assegura sua vontade em contribuir e permanecer ou não na pesquisa, podendo se manifestar livremente e explicitamente.

Segundo dados da literatura, os suplementos testados no estudo, até o momento, não indicaram risco potencial de toxicidade grave, mas havendo a necessidade de monitoramento da saúde hepática por profissional habilitado e, em caso de qualquer sinal e sintoma atípico, o participante deverá, imediatamente, entrar em contato com o pesquisador responsável e verificar a necessidade de suspender o tratamento. Todas as etapas serão conduzidas com ponderação, entre riscos e benefícios, tanto conhecidos como potenciais, individuais ou coletivos, assegurando o máximo de benefícios e o mínimo de danos e riscos, garantindo que os mesmos, previstos, serão evitados.

Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e gradações variados, como o não benefício da suplementação sobre as lesões de acne vulgar e alguns efeitos adversos, como insônia, ansiedade, irritação, diarréia, hematomas cutâneous e gastrite. Entretanto, os benefícios esperados se justificam, pois o atual fármaco utilizado para a cura da acne vulgar, isotretinoína, possui outros potenciais efeitos advesos muito mais graves, danos futuros irreversíveis ao organismo, além de relatos de raras tentativas de suicídio, comprovados cientificamente, expostos em seu inflorme técnico de bula. Então, sendo nossos benefícios comprovados, existe a possibilidade de redução da dose ou desses efeitos adversos ao longo das propostas dermatológicas de tratamento.

Por favor, leia atentamente as informações contidas abaixo antes de assinar esse termo de consentimento:

1. O presente estudo será realizado pelo nutricionista **Felipe Cardoso** (doutorando do INJC/UFRJ) e coordenado pelas **Professoras: Drª Ana Maria Mósca de Cerqueira** do ambulatório de Dermatologia do Hospital Municipal Jesus **e Drª Maria das Graças Tavares do Carmo** (INJC/UFRJ), além de alunos de iniciação científica previamente orientados e treinados;

2. Sua participação é voluntária e está garantida a liberdade da retirada do consentimento e de deixar de participar do estudo a qualquer momento sem nenhuma penalidade;

3. A pesquisa será conduzida por meio de questionários abordando questões sobre composição corporal, consumo alimentar, manifestações clínicas da doença e número de vezes atendido no ambulatório.

4. Serão consultadas nos prontuários as consultas prévias;

5. Serão também coletadas uma pequena amostra do seu sangue (5 mL equivalente a uma colher de chá) para avaliação do perfil metabólico e hormonal;

6. **Esclarecemos que seu sangue será coletado por técnico especializado com material descartável, para evitar possíveis riscos no procedimento;**

7. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação;

8. Sua identidade não será revelada e qualquer informação obtida nesta investigação será confidencial e só será revelada com sua permissão e/ou de seu responsável. Os dados individuais obtidos nesta pesquisa serão fornecidos somente para a pessoa que participou do estudo. Os dados científicos resultantes poderão ser apresentados em congressos e publicados em revistas científicas, sem a identificação dos participantes;

9. A recusa em participar da pesquisa não trará penalidade ou constrangimento ao atendimento recebido na Instituição;

10. Os pesquisadores se comprometem em cumprir com rigor as normas para pesquisas com seres humanos explicitadas na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

11. **Em casos de danos decorrentes do estudo, asseguramos ressarcimento aos voluntários e acompanhantes da pesquisa.**

Você poderá esclarecer dúvidas com os pesquisadores sobre o estudo, e sempre que desejar poderá entrar em contato com as coordenadoras da pesquisa, que pode ser encontrada no endereço: Ambulatório de Dermatologia do Hospital Municipal Jesus: Rua Oito de Dezembro, 717, Em Vila Isabel, no Rio de Janeiro ou Av. Carlos Chagas Filho, 373. Edifício do Centro de Ciências da Saúde, Bloco J, 2° andar, Cidade Universitária. Tel: 2562-6596

Declaro que fui suficientemente esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim. Ficaram claros quais são os propósitos do estudo, assim como o fato de que não haverá nenhum desconforto, nem riscos. Portanto, concordo espontaneamente em participar como voluntário desta pesquisa. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

Rio de Janeiro, ____ de _____de 200 _____.

_____ _____

Assinatura do voluntária ou do responsável legal Registro Geral

_____

Assinatura do Pesquisador – Registro Geral

ANEXO C. Termo de consentimento livre e esclarecido para adolescentes

ASSENTIMENTO PARA OS ADOLESCENTES VOLUNTÁRIOS DO ESTUDO

O assentimento informado para a criança/adolescente não substitui a necessidade de consentimento informado dos pais ou guardiãs. O assentimento assinado pela criança demonstra a sua cooperação na pesquisa.

Assentimento informado para _____

Nome do adolescente _____

Este formulário de assentimento informado é para adolescentes entre as idades de 15 a 18 anos que comparecerão ao Hospital Municipal Jesus e que estamos convidando a participar em pesquisa **"Suplementação do extrato seco de *Camellia sinensis* e do óleo de peixe, rico em n-3 sobre o perfil nutricional, bioquímico-inflamatório e metabólico de adolescentes com diferentes graus de acne vulgar".** Deixamos claro que o consentimento dos pais, independente deste assentimento, é também necessário, e que podem informar a qualquer pessoa sobre a pesquisa, antes de tomarem a decisão.

O presente estudo será realizado pelo nutricionista **Felipe Cardoso** (doutorando do INJC/UFRJ) e coordenado pelas **Professoras: Drª Ana Maria Mósca de Cerqueira** do ambulatório de Dermatologia do Hospital Municipal Jesus **e Drª Maria das Graças Tavares do Carmo** (INJC/UFRJ), além de alunos de iniciação científica previamente orientados e treinados. Eu vou informar você e convidá-lo a participar desta pesquisa. Você pode escolher se quer participar ou não. Discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Se você vai participar na pesquisa, seus pais ou responsáveis também terão que concordar. Mas se você não desejar fazer parte na pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais concordarem. Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir a vontade de conversar. Você pode decidir se quer participar ou não depois de ter conversado sobre a pesquisa e não é preciso decidir imediatamente. Pode haver algumas palavras que não entenda ou coisas que você quer que eu explique mais detalhadamente porque você ficou mais interessado ou preocupado. Por favor, peça que pare a qualquer momento e eu explicarei.

Você está sendo convidado a participar, voluntariamente, de uma pesquisa, que visa obter melhor entendimento a respeito do tratamento da acne vulgar, que comumente ocorre em adolescentes. Nesse estudo, serão tomadas medidas de massa, estatura, circunferência da cintura e quadril e estimativa de gordura corporal e massa livre de gordura. Para isso serão utilizados os seguintes equipamentos: balança eletrônica, estadiômetro, fita métrica, plicômetro e ultrassom. Os dados bioquímicos e metabólicos do sangue também serão coletados para análise. O principal objetivo dessa pesquisa será avaliar o perfil clínico e nutricional (anamnese geral, avaliação física e antropométrica, avaliação de composição corporal e questionamentos alimentares), bioquímico-inflamatório e metabólico (glicose, hormônios, ácidos graxos *trans,* ácidos graxos essenciais e de cadeia longa, proteínas viscerais, citocinas e outras provas de função orgânica), associados à ingestão de 2 cápsulas de óleo de peixe (2g) diariamente ou 1 cápsula do extrato seco da *Camelia sinensis,* durante 3 meses. Após este período, vocês ficarão 1 mês sem tratamento, para verificação de possível manutenção do efeito do tratamento anterior. Logo em seguida, vocês seguirão tomando as cápsulas por mais 3 meses, totalizando 7 meses totais.

O material biológico (sangue) será coletado por técnico treinado, com material adequado (agulha estéril e tubos com anticoagulantes), em sala apropriada, no Hospital Municipal Jesus, localizado na rua Oito de Dezembro, 717, bairro Vila Isabel, no Rio de Janeiro. Logo em seguida, armazenada, em condições adequadas, para

posterior análise no próprio hospital e a outra será transportada, apropriadamente, para o INJC/UFRJ, no qual serão feitas outras partes das análises do perfil bioquímico-inflamatório e metabólico. Estes materiais serão armazenados e analisados, podendo, no entanto, no futuro, serem analisados novamente, com a necessidade de obtenção de novo termo de consentimento assinado pelos participantes.

Ao final do estudo, em caso de resultados positivos, havendo necessidade para terminar o tratamento, asseguraremos a oferta dos suplementos testados, gratuitamente pela empresa Idealfarma Indústria e Comércio de Produtos Farmacêuticos Ltda, rua VP L1 Qd 14 – s/n It 1, Anápolis – GO, CEP 75024-970, tel.: 0800 701 4424, sob supervisão da equipe de pesquisadores. Além disso, os participantes terão acesso aos resultados dos exames realizados, durante o estudo, ao finalizarem a pesquisa.

O estudo mantém sua ética e respeita o participante, em sua dignidade e autonomia. Reconhece sua vulnerabilidade, assegura sua vontade em contribuir e permanecer ou não na pesquisa, podendo se manifestar livremente e explicitamente.

Segundo dados da literatura, os suplementos testados no estudo, até o momento, não indicaram risco potencial de toxicidade grave, mas havendo a necessidade de monitoramento da saúde hepática por profissional habilitado e, em caso de qualquer sinal e sintoma atípico, o participante deverá, imediatamente, entrar em contato com o pesquisador responsável e verificar a necessidade de suspender o tratamento. Todas as etapas serão conduzidas com ponderação, entre riscos e benefícios, tanto conhecidos como potenciais, individuais ou coletivos, assegurando o máximo de benefícios e o mínimo de danos e riscos, garantindo que os mesmos, previstos, serão evitados.

Toda pesquisa com seres humanos envolve risco em tipos e gradações variados, como o não benefício da suplementação sobre as lesões de acne vulgar e alguns efeitos adversos, como insônia, ansiedade, irritação, diarréia, hematomas cutâneous e gastrite. Entretanto, os benefícios esperados se justificam, pois o atual fármaco utilizado para a cura da acne vulgar, isotretinoína, possui outros potenciais efeitos advesos muito mais graves, danos futuros irreversíveis ao organismo, além de relatos de raras tentativas de suicídio, comprovados cientificamente, expostos em seu inflorme técnico de bula. Então, sendo nossos benefícios comprovados, existe a possibilidade de redução da dose ou desses efeitos adversos ao longo das propostas dermatológicas de tratamento.

Sua participação é voluntária e está garantida a liberdade da retirada do assentimento e de deixar de participar do estudo a qualquer momento sem nenhum problema. A pesquisa será conduzida por meio de questionários abordando questões sobre a sua saúde. Serão coletadas pequenas amostras do seu sangue (5 mL equivalente a uma colher de chá) para avaliação clínica. **Esclarecemos que seu sangue será coletado por técnico especializado com material descartável, para evitar possíveis riscos no procedimento.** Não há despesas pessoais para você e seu acompanhante, em qualquer fase do estudo. Também não há pagamento para sua participação. Sua identidade não será revelada e qualquer informação obtida só será revelada com sua permissão e/ou do seu responsável. Os resultados poderão ser apresentados em congressos e publicados em revistas científicas, sem a identificação dos participantes. A recusa em participar da pesquisa não trará penalidade ou constrangimento ao atendimento recebido na Instituição. Os pesquisadores se comprometem em cumprir com rigor as normas para pesquisas com seres humanos explicitadas na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. **Em casos de danos decorrentes do estudo, asseguramos ressarcimento aos voluntários e acompanhantes da pesquisa.**

Você poderá esclarecer dúvidas com os pesquisadores sobre o estudo, e sempre que desejar poderá entrar em contato com as coordenadoras da pesquisa, que pode ser encontrada no endereço: Ambulatório de Dermatologia do Hospital Municipal Jesus: Rua Oito de Dezembro, 717, Em Vila Isabel, no Rio de Janeiro ou Av. Carlos Chagas Filho, 373. Edifício do Centro de Ciências da Saúde, Bloco J, 2º andar, Cidade Universitária. Tel: 2562-6596

Declaro que fui suficientemente esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim. Ficaram claros quais são os propósitos do estudo, assim como o fato de que não haverá nenhum desconforto, nem riscos. Portanto, concordo espontaneamente em participar como voluntário desta pesquisa. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Assinatura da criança/adolescente:_____

Assinatura dos pais/responsáveis:_____

Ass. Pesquisador:_____

Dia/mês/ano:_____

APÊNDICE. Comprovante de submissão do manuscrito 1

22/05/2019 ScholarOne Manuscripts

British Journal of Nutrition

Home

Author

Review

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to
British Journal of Nutrition

Manuscript ID
BJN-RS-19-0540

Title
Nutritional interventions in the treatment of acne vulgaris: a systematic review of clinical trials

Authors
Cardoso, Felipe
de Velasco, Patricia
da Silva, Guilherme
de Cerqueira, Ana Maria
Tavares-do-Carmo, Maria das Graças

Date Submitted
22-May-2019

Nutritional interventions in the treatment of acne vulgaris: a systematic review of clinical trials

Journal:	*British Journal of Nutrition*
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Review-Systematic
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Cardoso, Felipe; Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josue de Castro; Faculdade Bezerra de Araújo - FABA, Departamento de Nutrição; Faculdade Arthur Sá Earp Neto Faculdade de Medicina de Petrópolis, Departamento de Nutrição de Velasco, Patricia; Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josue de Castro da Silva, Guilherme ; Faculdade Bezerra de Araújo - FABA, Departamento de Nutrição de Cerqueira, Ana Maria ; Hospital Municipal Jesus - HMJ, Dermatologia Tavares-do-Carmo, Maria das Graças; Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josue de Castro
Keywords:	acne vulgaris, nutritional supplementation, bioactive compounds, inflammation, dermatology
Subject Category:	Human and Clinical Nutrition

SCHOLARONE™
Manuscripts