

Marco Aurélio Ramirez Vinolo

Efeito dos ácidos graxos de cadeia curta sobre neutrófilos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Rui Curi

São Paulo
2010

RESUMO

VINOLO, M. A. R. **Efeito dos ácidos graxos de cadeia curta sobre neutrófilos**. 2010, 165f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) acetato, propionato e butirato são produtos da fermentação bacteriana de carboidratos, sendo encontrados em altas concentrações no trato gastrintestinal (TGI). O interesse inicial sobre o efeito dos AGCC no processo inflamatório surgiu do fato de que a ingestão de fibras, fonte desses ácidos graxos, reduz a incidência de doenças inflamatórias no TGI. Além dos trabalhos que focavam no efeito dos AGCC como agentes antiinflamatórios, outros grupos sugeriram que esses ácidos graxos, que são produzidos em altas quantidades por bactérias anaeróbias causadoras de periodontites (por exemplo, *Porphyromonas gingivalis*), iniciariam e/ou intensificariam o processo inflamatório na cavidade oral. Neste estudo avaliamos *in vitro* o efeito dos AGCC (acetato, propionato e butirato) sobre o recrutamento de neutrófilos e parâmetros funcionais dessas células (produção de espécies reativas de oxigênio [ERO], citocinas e óxido nítrico, capacidade de fagocitose e destruição de *Candida albicans*). Além disso, investigamos os mecanismos envolvidos: modulação da ativação do fator de transcrição NFκB, inibição de histonas desacetilases (HDAC) e a participação do receptor GPR43. Os AGCC afetaram diferentes funções de neutrófilos e interferiram com o processo inflamatório. Acetato e butirato alteraram a produção de ERO por neutrófilos; o primeiro aumentou a produção não estimulada de peróxido de hidrogênio, enquanto o butirato inibiu a produção de ERO estimulada por fMLP ou PMA. O butirato reduziu a fagocitose e *killing* de leveduras, efeito esse que pode ou não ter relação com a redução na produção de ERO. Propionato e butirato reduziram a produção de TNF-α, CINC-2αβ e óxido nítrico (NO) e aumentaram a síntese de IL-1β por neutrófilos estimulados com LPS. Esses efeitos decorreram, ao menos em parte, de ação a nível transcricional e parecem envolver inibição da atividade de HDAC e, como consequência direta ou indireta, atenuação da ativação do fator de transcrição NFκB. Com relação ao recrutamento de leucócitos, os AGCC aumentaram a migração de

neutrófilos *in vitro* (ensaios de quimiotaxia) e *in vivo* (ensaio da bolsa e análise da interação leucócito-endotélio por microscopia intravital). Esses efeitos decorreram, ao menos em parte, de aumento da produção de CINC-2 $\alpha\beta$ (quimioatraente para neutrófilos) pelo tecido e da ação direta dos AGCC via receptores GPR43. Os resultados ora relatados são indicativos de que os AGCC apresentam ações pró- (aumento da migração leucocitária) e antiinflamatórias (redução da produção de citocinas pró-inflamatórias) dependendo do parâmetro analisado. Esses resultados podem ter implicações na resposta imune a bactérias anaeróbias e nas doenças inflamatórias que afetam o TGI.

Palavras-chave: Ácidos graxos de cadeia curta. Neutrófilos. Inflamação.
Ácidos graxos.

ABSTRACT

VINOLO, M. A. R. **Effect of short chain fatty acids on neutrophils function.** 2010, 165p. Thesis (Ph. D. in Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

The short-chain fatty acids (SCFA) acetate, propionate and butyrate are produced by bacterial fermentation of carbohydrates and are found in high concentrations in the gastrointestinal (GI) tract. The initial concern about the effect of SCFA in the inflammatory process arose from the fact that the intake of fiber, an important source of these fatty acids, reduces the incidence of inflammatory diseases of the GI tract. Besides the works that focused on the effect of SCFA as anti-inflammatory agents, other groups have suggested that these fatty acids, which are produced in high quantities by anaerobic bacteria that cause periodontitis (e.g. *Porphyromonas gingivalis*), would initiate and/or intensify the inflammatory process in oral cavity. We evaluated *in vitro* the effect of SCFA (acetate, propionate and butyrate) on the recruitment of neutrophils and functional parameters of these cells (production of reactive oxygen species [ROS], cytokines and nitric oxide [NO], phagocytosis capacity and killing of *Candida albicans*). Furthermore, we investigated the mechanisms involved: modulation of NF κ B activation, inhibition of histone deacetylases (HDAC) and the involvement of the receptor GPR43. The SCFA affected different functions of neutrophils and interfered with the inflammatory process. Acetate and butyrate altered ROS production by neutrophils, the former increased the unstimulated production of hydrogen peroxide, whereas butyrate inhibited ROS production stimulated by fMLP or PMA. Butyrate reduced the phagocytosis and killing of yeast, an effect which may or may not be related to the attenuation of ROS production. Propionate and butyrate reduced the release of TNF- α , CINC-2 $\alpha\beta$ and NO and increased the synthesis of IL-1 β by LPS-stimulated neutrophils. These effects are due, at least in part, by modulation at the transcriptional level and seem to involve inhibition of HDAC and, as a direct or indirect consequence of it, attenuation of NF κ B activation. With regard to the recruitment of leukocytes, the SCFA increased migration of neutrophils *in vitro* (chemotaxis assays) and *in vivo* (air pouch assay and analysis of leukocyte-endothelium interaction by intravital microscopy). These effects are due, at least in part, to an increased

1 INTRODUÇÃO

1.1 Ácidos graxos de cadeia curta

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) são compostos orgânicos que possuem em sua estrutura de 1 a 6 átomos de carbono ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_x\text{-COOH}$; $1 < x < 6$). Podem ser obtidos endógena- (metabolismo de gorduras e carboidratos) ou exogenamente (absorção dos produtos formados pela fermentação bacteriana de carboidratos), sendo essa última a principal fonte de AGCC no organismo. Em certas condições, como no jejum prolongado (SCHEPPACH et al., 1991), intolerância à glicose (WOLEVER et al., 1997) e diabetes (AKANJI e HOCKADAY, 1990), nas quais há aumento considerável da oxidação de gorduras, e após ingestão de álcool (aumento de 10 vezes na concentração de acetato no sangue) (SILER et al., 1999), a via endógena contribui de maneira importante para as concentrações plasmáticas de AGCC.

As fibras provenientes da dieta são compostas, principalmente, por polissacarídeos e em menor parte por oligossacarídeos, que não são digeridos pelas enzimas intrínsecas do estômago e intestino humano. Durante a passagem das fibras pelo trato gastrointestinal (TGI), as mesmas são em grande parte degradadas pela microbiota intestinal, havendo formação e liberação de AGCC (acetato, propionato e butirato, mais abundantes) como subprodutos do processo. Além disso, parte dos AGCC formados no intestino é proveniente da fermentação de amido e alguns aminoácidos (TOPPING e CLIFTON, 2001). Outros ácidos graxos encontrados no TGI, como ácidos dicarboxílicos, ácidos carboxílicos (ácido pirúvico) e hidróxi-ácidos (ácido láctico), estão presentes em concentrações muito baixas (CUMMINGS, 1995).

A relação entre hospedeiro e microbiota é do ponto de vista nutricional mutuamente benéfica. A digestão microbiana de polímeros de carboidratos fornece ao hospedeiro nutrientes importantes para a manutenção do TGI. Por outro lado, os microorganismos que colonizam o TGI têm acesso a quantidades abundantes de fontes de carbono (HOOPER et al., 2002).

O processo de fermentação bacteriana de carboidratos (Figura 1) tem como principais produtos finais acetato, propionato e butirato. A produção diária de AGCC em humanos é de cerca de 100 a 200 mM (COOK e SELLIN, 1998; TOPPING e CLIFTON, 2001). A razão da concentração desses compostos no intestino é de, aproximadamente, 70:20:10, e suas concentrações estimadas no cólon proximal variam de 70 a 140 mM (COOK e SELLIN, 1998; TOPPING e

CLIFTON, 2001) e caem para 20 a 70 mM no cólon distal (TOPPING e CLIFTON, 2001). Esses valores são influenciados pela dieta, porção do intestino e tipo de microbiota presente (HOOPER, MIDTVEDT et al., 2002). Vale ressaltar que a fermentação de alguns aminoácidos, particularmente daqueles de cadeia ramificada e metionina, também pode contribuir para as concentrações de AGCC encontradas no TGI (MACFARLANE et al., 1986).

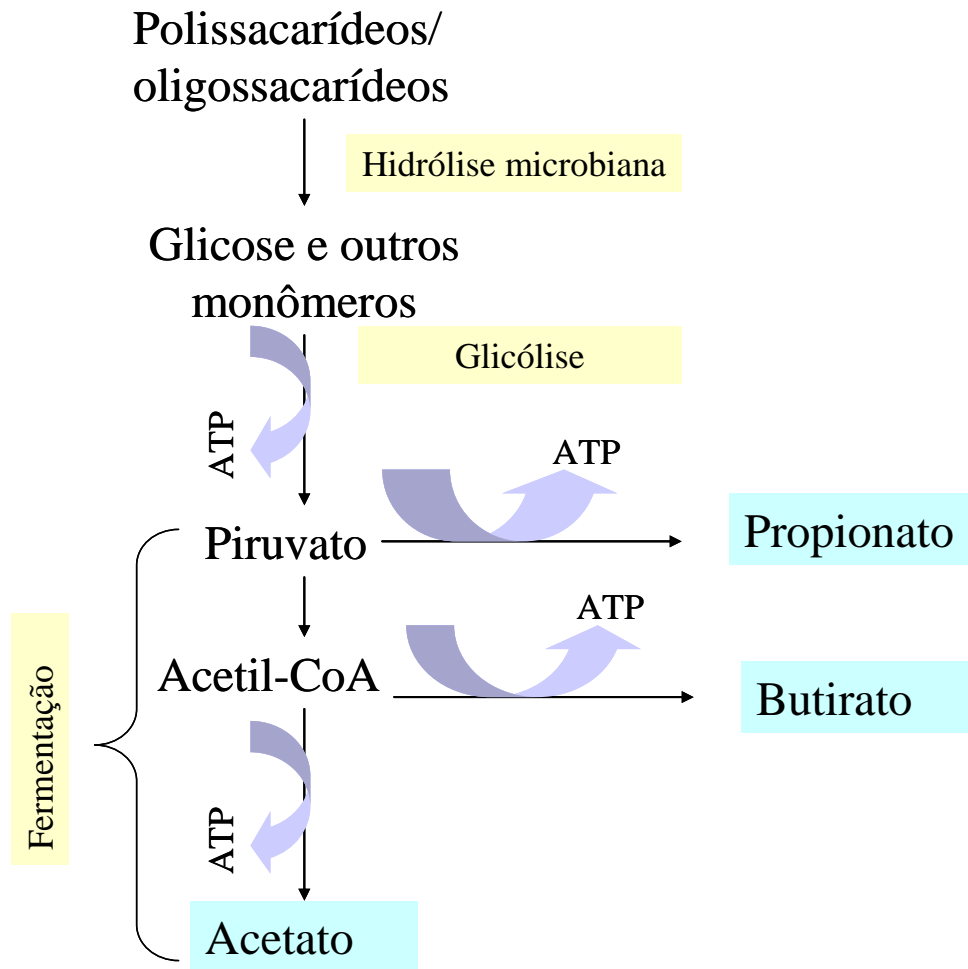


Figura 1. Processo de fermentação das fibras no TGI e formação dos AGCC.
Fonte: Adaptado de Hooper et al. (2002).

Os AGCC são liberados na luz intestinal e sua absorção ocorre rapidamente. A absorção de AGCC no ceco e cólon é um processo muito eficiente, sendo que apenas de 5 a 10% é excretado nas fezes (MCNEIL et al., 1978; RUPPIN et al., 1980; ROEDIGER e MOORE, 1981). Há dois mecanismos descritos para a absorção desses ácidos graxos: 1 – difusão simples da forma protonada dos AGCC (responsável por cerca de 60%) e 2 – absorção da forma ionizada dos AGCC envolvendo transporte de Na⁺ e K⁺ (COOK e SELLIN, 1998).

Após sua absorção, os AGCC são metabolizados essencialmente por três tecidos: mucosa intestinal (colonócitos), tecido hepático e tecido muscular, que utiliza, principalmente, acetato, como fonte de energia (COOK e SELLIN, 1998). A microbiota do TGI, através da fermentação e geração de AGCC, afeta o balanço energético do organismo, sendo que a produção desses compostos no TGI tem relação com o desenvolvimento de obesidade (BACKHED et al., 2004; BACKHED et al., 2007).

O butirato é o principal substrato energético utilizado pelos colonócitos. De 70 a 90% do butirato é metabolizado por essas células (COOK e SELLIN, 1998). Por sua vez, cerca de 90% do butirato presente no sangue portal é extraído pelo fígado, de modo que as concentrações plasmáticas deste AGCC são muito baixas (WOLEVER, JOSSE et al., 1997; WOLEVER et al., 2002). A metabolização do butirato ocorre exclusivamente no interior da mitocôndria (fonte de acetil-CoA independente de carnitina) e esse composto também constitui potencial substrato para a cetogênese (CUMMINGS, 1995).

O acetato, AGCC mais abundante, é pouco metabolizado no cólon devido em parte ao fato de ser rapidamente absorvido e transportado para o fígado (COOK e SELLIN, 1998). Após sua absorção, cerca de 75% do acetato é captado e metabolizado no fígado, onde pode ser utilizado por diversas vias: síntese de ácidos graxos de cadeia longa (lipogênese), cetogênese (síntese de corpos cetônicos), produção de colesterol (fonte primária para a síntese de colesterol), glutamina e glutamato. O restante do acetato, que atinge a circulação, é rapidamente captado e oxidado por vários tecidos como músculo e glândulas mamárias (AKANJI e HOCKADAY, 1990).

Apenas 10% do propionato absorvido permanece na corrente sanguínea após a passagem pelo fígado. Neste órgão, esse AGCC é metabolizado, inibe

a síntese de colesterol e pode ser utilizado como substrato, via formação de piruvato, da gliconeogênese (WOLEVER et al., 1991). Esse AGCC pode ser formado no catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada e metionina, sendo que sua concentração plasmática pode estar aumentada em condições nas quais há aumento das taxas de oxidação de aminoácidos (CUMMINGS, 1995).

As concentrações de AGCC no sangue periférico são normalmente muito baixas. O acetato, AGCC encontrado em maior concentração no organismo, está presente em concentrações que variam de 58 a 230 μM no sangue (WOLEVER, JOSSE et al., 1997; WOLEVER, SCHRADE et al., 2002; VOGT, PENCHARZ et al., 2004). Concentrações séricas de 3 a 15 μM e 1 a 28 μM têm sido descritas para propionato e butirato (Tabela 1) (WOLEVER, JOSSE et al., 1997; WOLEVER, SCHRADE et al., 2002; VOGT, PENCHARZ et al., 2004).

Os AGCC também são encontrados na cavidade oral em grandes quantidades (Tabela 1). Diversos trabalhos têm proposto que esses compostos modulam o processo inflamatório e a resposta imune a bactérias anaeróbias. Singer et al. (1988) foi um dos primeiros a indicar que os AGCC poderiam estar envolvidos na doença periodontal; esse grupo demonstra que propionato e butirato estão presentes no sobrenadante de culturas de material obtido da placa em concentrações suficientes para inibir a proliferação de fibroblastos. Posteriormente, outros trabalhos também relataram efeitos deletérios dos AGCC em linfócitos, células epiteliais e queratinócitos da gengiva (KURITA-OCHIAI et al., 1997; POLLANEN et al., 1997; SORKIN e NIEDERMAN, 1998). Após a ingestão e mastigação dos alimentos, as bactérias da cavidade oral produzem os AGCC, cujas concentrações máximas são alcançadas rapidamente (5 a 10 minutos), que permanecem associados a partículas de comida retidas na dentição (KASHKET et al., 1996). O acúmulo de AGCC após ingestão de alimentos e / ou a aplicação direta desses ácidos graxos na gengiva causam aumento significativo da temperatura subgengival e da migração de neutrófilos para o tecido sugerindo que o acetato, propionato e butirato produzidos na cavidade oral estão, ao menos em parte, envolvidos nos efeitos inflamatórios de alimentos ingeridos sobre a gengiva (NIEDERMAN, ZHANG et al., 1997; KASHKET et al., 1998).

Os AGCC produzidos no TGI, além de constituírem fonte energética importante para diferentes células do organismo, também modulam a expressão de genes (OGAWA et al., 2003; RANGANNA et al., 2003; WEBER e KERR, 2006), ativação de fatores de transcrição (SEGAIN et al., 2000; ZAPOLSKA-DOWNAR et al., 2004), diferenciação, maturação e ativação de células (BOHMIG et al., 1999; MILLARD et al., 2002). Esses compostos modulam diferentes aspectos da fisiologia gastrointestinal como a liberação de hormônios (peptídeo Y) (SAMUEL et al., 2008) e absorção de eletrólitos e água (BINDER e MEHTA, 1989). Outros processos como adipogênese/lipólise (GE et al., 2008) e a resposta imune/inflamatória também são alvo da ação dos AGCC.

Tabela 1 - Concentração dos AGCC no organismo.

	Acetato	Propionate	Butirato	Referências
Íleo (mmol/Kg)	8	1,5	2,4	(CUMMINGS et al., 1987)
Ceco (mmol/Kg)	70	25	26	
Cólon (mmol/Kg)	43 - 64	14 - 27	15 - 25	
Plasma (μ M)	58 - 230	3 - 15	1 - 28	(CUMMINGS, POMARE et al., 1987; WOLEVER, JOSSE et al., 1997; WOLEVER, SCHRADE et al., 2002; VOGT, ISHII-SCHRADE et al., 2004; ZHAO et al., 2007)
Fluido do suco gengival (indivíduos com periodontite) (mM)	nq	0,8 - 9,4	0,2 - 2,6	(NIEDERMAN, BUYLE-BODIN et al., 1997)
Saliva (indivíduos sem periodontite) (mM)	31,4 – 307,0	5,9 – 69,2	0 – 2,9	(SILWOOD et al., 2002)

Abreviaturas: não quantificado (nq).

1.2 Processo inflamatório

A inflamação é o mecanismo básico de que o organismo, particularmente os tecidos vascularizados, dispõe para o reparo tecidual após

injúria. Esse processo consiste em uma cascata de eventos celulares e microvasculares, organizados temporalmente, com a finalidade de retirar o estímulo agressor, seja este de caráter infeccioso ou não, degradar o tecido lesado e recuperar a sua integridade. A inflamação envolve a interação entre diferentes tipos celulares, dentre eles os leucócitos e as células endoteliais, sendo reconhecida pelos sinais clínicos clássicos: tumor, calor, rubor, dor e, eventualmente, perda de função (LEY, 2001; SCHMID-SCHONBEIN, 2006).

A inflamação é classicamente categorizada, de acordo com seu período de duração, em: aguda e crônica. A inflamação aguda é uma resposta rápida e curta (minutos a dias) caracterizada por acúmulo de fluido, plasma e granulócitos, e crônica, com duração mais prolongada, influxo de linfócitos e macrófagos e proliferação de fibroblastos. Apesar de o processo inflamatório ser iniciado por diferentes tipos de estímulos, as alterações desencadeadas pela ativação inicial são em geral as mesmas e envolvem:

- vasodilatação, que ocorre após um breve período inicial de vasoconstrição e leva a um aumento da perfusão sanguínea do tecido (calor e rubor);

- aumento da permeabilidade vascular: as células endoteliais das veias se contraem e aumentam o espaço intercelular, facilitando a passagem de proteínas plasmáticas (tumor);

- ativação e recrutamento de leucócitos: diferentes mediadores químicos (dentre eles os derivados lipídicos e quimiocinas) liberados pelas células endoteliais, macrófagos e fibroblastos, ativam os leucócitos, particularmente, no início do processo, os neutrófilos, que atravessam o endotélio e sob a ação de fatores quimiotáticos se dirigem ao local da inflamação;

- febre, que decorre da ação de compostos endógenos, produzidos em resposta ao estímulo inicial, como as citocinas, ou mesmo compostos exógenos, por exemplo, o componente da parede de bactérias gram-negativas, lipopolissacarídeo (LPS), os quais atuam sobre os mecanismos hipotalâmicos reguladores da temperatura corporal.

Caso não haja a total retirada do agente iniciador do processo inflamatório, este pode prosseguir e expandir o seu repertório de mediadores

químicos e componentes celulares, levando ao processo inflamatório crônico (LEY, 2001).

Os leucócitos são particularmente importantes no processo inflamatório uma vez que são as células responsáveis pela destruição e remoção de patógenos, no caso em que a inflamação é decorrente da presença ou ação de um agente infeccioso. Além disso, liberam mediadores químicos que estimulam o crescimento celular e a regeneração tecidual (SCHMID-SCHONBEIN, 2006).

Os neutrófilos são produzidos em humanos adultos na medula óssea a partir de células precursoras denominadas mieloblastos. Estas células passam por processo de diferenciação e maturação altamente regulado por diferentes fatores como citocinas, fatores de crescimento e hormônios, além da estreita relação célula-célula e célula-estroma. Os neutrófilos constituem de 40 a 50% da população de leucócitos circulantes em humanos adultos. Morfologicamente, são caracterizados em humanos como células esféricas que apresentam de 12 a 15 μm de diâmetro, com núcleo segmentado em 3 a 5 lóbulos. Apresentam em seu citoplasma quatro tipos de grânulos:

- azurófilos ou primários, que possuem ampla gama de enzimas com ação antimicrobiana, por exemplo, a mieloperoxidase, catepsina, elastase, proteinase-3 e lisozima,
- específicos ou secundários, grânulos que, assim como os primários, contêm substâncias antimicrobianas dentre elas a lisozima e os quelantes de ferro e cobre (lactoferrina e transcobalamina),
- terciários, grânulos que são caracterizados por, assim como no caso dos secundários, serem peroxidase negativos (ausência de mieloperoxidase em seu interior) e constituem importante fonte de proteínas que degradam a matriz extracelular (por exemplo, a metaloprotease-9) e de receptores de membrana necessários durante o processo de extravasamento e diapedese dos neutrófilos (dentre eles o receptor de fMLP (FPR) e CD11b),
- vesículas secretórias, que constituem um *pool* de reserva de receptores de membrana, que são incorporados a membrana plasmática após a liberação do grânulo. Dentre os receptores abundantes nessas vesículas vale ressaltar as β 2-integrinas, CD14, CD16 e o FPR (SEGAL, 2005).

1.2.1 Migração dos leucócitos durante o processo inflamatório

Uma etapa fundamental do processo inflamatório é a migração dos leucócitos da circulação sanguínea para o tecido inflamado. O recrutamento de leucócitos ocorre via interação entre moléculas de adesão presentes nos mesmos e nas células endoteliais e de quimioatraentes endógenos (por exemplo, leucotrieno-B4 e interleucina-8) ou exógenos (por exemplo, formil metionil-leucil-fenilalanina (fMLP)), com seus respectivos receptores nos leucócitos.

Três famílias de moléculas de adesão participam do recrutamento dos leucócitos:

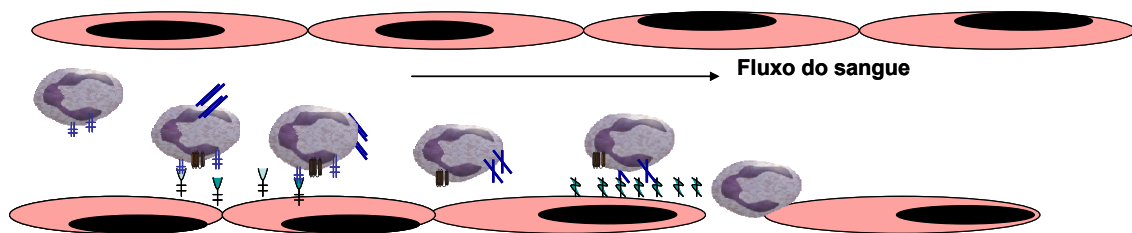
- **Selectinas** – glicoproteínas de membrana com domínio distal semelhante à lectina que interagem com grupos específicos de carboidratos. Essa classe de moléculas de adesão é particularmente importante no início das interações leucócitos-endotélio. Os leucócitos expressam a L-selectina (CD62L), enquanto que as células endoteliais, quando ativadas, expressam P-selectina (CD62P) e E-selectina (CD62E). A interação das selectinas presentes nessas células com seus respectivos ligantes diminui a velocidade dos leucócitos, o que aumenta a probabilidade de ativação dessas células pelos quimioatraentes presentes na camada endotelial e conseqüente adesão via integrinas (PETRI et al., 2008).

- **Integrinas** – são proteínas heterodiméricas contendo duas cadeias α e β . São receptores que permitem a interação intercelular e de células com componentes da matriz extracelular. Uma das maneiras de categorizar essas proteínas é separá-las de acordo com o tipo de cadeia β . As β 1-integrinas são expressas em diferentes células e estão envolvidas na interação célula-matriz extracelular (colágeno e fibronectina, por exemplo). Já as β 2-integrinas são expressas nos leucócitos e interagem com as moléculas de adesão intercelular (ICAMs) expressas no endotélio. A interação entre as β 2-integrinas e as ICAMs permite a adesão firme dos leucócitos ao endotélio.

Durante o processo inflamatório, há indução de moléculas de adesão no endotélio e leucócitos, além da produção e liberação de quimioatraentes por macrófagos e outros tipos celulares, culminando na passagem de grande número de leucócitos, inicialmente neutrófilos e depois monócitos, da circulação sanguínea para os tecidos. A migração de leucócitos do sangue

para os tecidos não ocorre da mesma maneira nos diferentes tecidos do organismo. Por exemplo, sabe-se que nos pulmões o processo independe do rolamento inicial, enquanto que em outros tecidos como mesentério essa etapa é fundamental. Além disso, diferentes agentes indutores de migração (quimiocinas ou compostos liberados após a lise celular) podem desencadear a migração de leucócitos por mecanismos distintos. Por exemplo, a migração de leucócitos para os tecidos pode ocorrer predominantemente pela via transcelular (passando pelo interior das células endoteliais) ou paracelular (via junções entre as células endoteliais) dependendo do tipo de quimiocina liberado no local do processo inflamatório (PETRI, PHILLIPSON et al., 2008).

O paradigma de migração leucocitária conforme apresentado na Figura 2 consiste de uma etapa inicial, nas quais os leucócitos rolam sobre a superfície endotelial (processo dependente da interação de selectinas e β 2-integrinas com seus ligantes), são ativados por citocinas e outros mediadores “apresentados” pelas células endoteliais, aderem firmemente ao endotélio e, posteriormente, realizam a migração transendotelial.



Contato inicial e rolamento	Ativação	Adesão firme	Transmigração	
Ligantes de selectina e $\alpha 4$ integrina	Receptores acoplados a proteína G	Integrinas ($\beta 2$ - e $\alpha 4$ -integrina)	Integrinas	Leucócito
Selectinas e CAMs	Quimiocinas	CAMs (p.ex. ICAM 1 e 2, VCAM)	CAMs, JAMs, ESAM, CD99	Endotélio

Figura 2. Esquema geral da interação entre endotélio e neutrófilos durante o recrutamento desses para o foco inflamatório. Abreviaturas: moléculas de adesão celular (CAMs), moléculas de adesão intercelular (ICAM), moléculas de adesão celular vascular (VCAM), molécula de adesão juncional (JAM), molécula de adesão específica de células endoteliais (ESAM).

Devido ao fato das moléculas de adesão (selectinas, integrinas e ICAMs) serem essenciais ao processo de migração leucocitária, elas têm sido amplamente estudadas como possíveis alvos para o desenvolvimento de novas classes de drogas antiinflamatórias (MACKAY, 2008).

1.2.2 Mecanismos efetores dos neutrófilos

Neutrófilos destroem microrganismos basicamente através de dois mecanismos: 1) retirando fatores essenciais ao crescimento das bactérias (ação de enzimas como a lactoferrina, lipocalina-2 e transcobalamina) e 2) liberando compostos tóxicos às mesmas (produção de espécies reativas, liberação de proteases e outras enzimas com ação microbicida) (SEGAL, 2005; NATHAN, 2006). Além disso, os neutrófilos induzem a migração de outras células para o foco inflamatório (monócitos, células apresentadoras de antígenos (APC) e linfócitos), que contribuem para a destruição do microrganismo (NATHAN, 2006).

O complexo NADPH oxidase apresenta participação essencial no *Killing* de microrganismos. O complexo enzimático responsável pela produção de

espécies reativas de oxigênio (ERO) é mantido inativo. Quando o neutrófilo é ativado, os componentes citossólicos ($p40^{\text{phox}}$, $p47^{\text{phox}}$, $p67^{\text{phox}}$ e Rac) e de membrana (Rap1A e citocromo b_{558} , complexo $p22^{\text{phox}}$ e $gp91^{\text{phox}}$) desse sistema são reorganizados (Figura 3). Com a ativação da célula, que pode ocorrer por ação de diferentes estímulos (por exemplo, acetato de forbol miristato (PMA), formil metil-leucil-fenilalanina (fMLP), leucotrieno-B4 ou partículas opsonizadas) e envolver diferentes vias de sinalização, como a da proteína G (fMLP) ou a ativação direta da proteína quinase C (PMA), as proteínas $p47^{\text{phox}}$ e $p67^{\text{phox}}$ são fosforiladas pela proteína quinase C (PKC) e as subunidades citossólicas migram para a membrana, onde se associam ao citocromo b_{558} (BABIOR, 1999).

A associação do citocromo b_{558} com os componentes citossólicos torna a oxidase ativa, que catalisa a transferência de elétrons do NADPH para o oxigênio molecular gerando superóxido (BABIOR, 1999; SHEPPARD et al., 2005) (Figura 3).

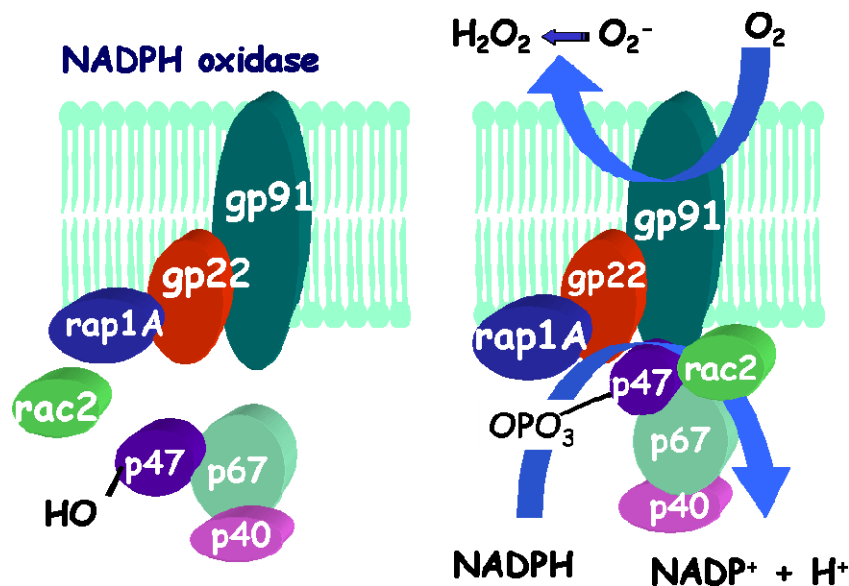


Figura 3. Acoplamento dos componentes do sistema NADPH oxidase após ativação dos neutrófilos. Fonte: modificado de BABIOR, 1999.

O superóxido formado é rapidamente convertido espontaneamente ou via ação da superóxido dismutase (SOD) e mieloperoxidase (principalmente, no caso dos neutrófilos) a espécies reativas de oxigênio (ERO) mais tóxicas tais como: ácido hipocloroso ($HOCl$) e radical hidroxila ($OH\cdot$) (SEGAL, 2005).

Neutr3filos tamb3m possuem a isoforma induz3vel da enzima 3xido n3trico sintase (iNOS ou NOS 2), que, ap3s o processo de ativa33o da c3lula por, por exemplo, int3rferon- γ (IFN- γ), lipopolissacar3deo (LPS) ou fator de necrose tumoral (TNF), converte L-arginina a L-citrulina e 3xido n3trico (NO). O NO 3 uma dos principais mecanismos antimicrobianos de macr3fagos e neutr3filos. Essa mol3cula reage com ERO (Figura 4) dando origem a compostos extremamente t3xicos, como o peroxinitrito (ONOO⁻), que oxidam grupamentos SH, lip3deos e DNA e, dessa forma, exercem efeito t3xico (BECKMAN et al., 1990; MACMICKING et al., 1997).

O 3xido n3trico pode afetar diversas respostas celulares e sua produ33o por fag3citos tem fun33o importante no processo de *killing* de microrganismos, na destru33o de c3lulas tumorais e no controle da prolifera33o de linf3citos durante a resposta imune (MACMICKING, XIE et al., 1997). Vale ressaltar que, assim como as ERO (particularmente, o per3xido de hidr3g3nio), o NO atua como sinalizador intercelular, regulando a express3o de receptores de membrana, prote3nas ligadoras de GTP, canais i3nicos, fatores de transcri33o e tirosinas quinases (FIALKOW et al., 2007).

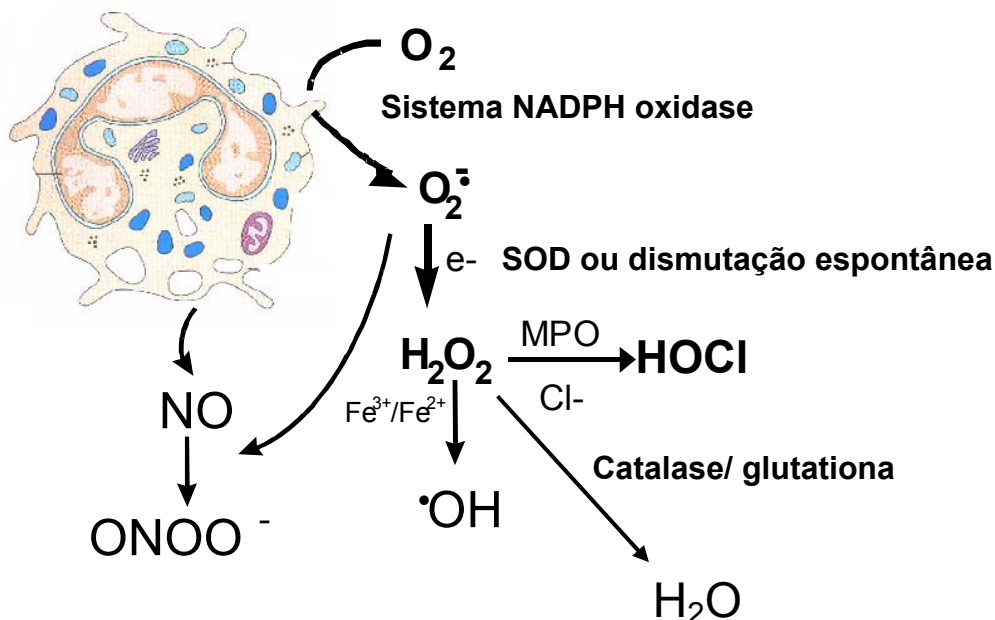


Figura 4. Poss3veis esp3cies oxidantes produzidas pelos neutr3filos humanos ap3s ativa33o do sistema NADPH oxidase (HAMPTON et al., 1998).
Abreviaturas: mieloperoxidase (MPO), super3xio dismutase (SOD).

Neutr3filos foram por muito tempo considerados c3lulas sem atividade transcricional e com reduzida capacidade de s3ntese de prote3nas. Acreditava-

se que apenas participavam do processo inflamatório realizando fagocitose e destruição de microrganismos via produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e desgranulação. Entretanto, essa visão reducionista da ação dos neutrófilos no processo inflamatório mudou com a demonstração de que os mesmos produzem diversas citocinas. Atualmente sabe-se que, durante a inflamação, os fagócitos migram para o local inflamado, produzem e secretam diversas citocinas e mediadores lipídicos que modulam sua função e a de outras células como linfócitos e células endoteliais (CASSATELLA, 1995).

Apesar de os neutrófilos produzirem menos citocina por célula do que os macrófagos, se considerarmos o processo inflamatório agudo, no qual há predomínio inicial de neutrófilos, essas células constituem fonte importante de citocinas. Os neutrófilos produzem diversas citocinas cuja principal ação é recrutar leucócitos para o foco inflamatório (quimiocinas) como interleucina-8 (IL-8 ou CXCL8), proteína inflamatória de macrófagos (MIP-2 α ou CXCL2) e citocina indutora de quimiotaxia de neutrófilos (CINC ou CXCL3), que recrutam, principalmente, neutrófilos; proteína de 10 KDa induzida por int feron (IP10 ou CXCL10), monocina induzida por int feron (MIG ou CXCL9) e quimioatraente de células T induzido por int feron (ITAC ou CXCL11) , cujo principal alvo são os linfócitos Th1; e as MIPs-1 α (também conhecida como CCL3) e -1 β (CCL4), que têm a o mais ampla (eosinófilos, basófilos e monócitos) (SCAPINI *et al.*, 2000). Além disso, essas células também constituem fonte importante de citocinas pró-inflamatórias como fator de necrose tumoral (TNF- α) e interleucina-1 β (IL-1 β) e antiinflamatórias como antagonista do receptor de IL-1 (IL-1ra), fator de crescimento tumoral- β (TGF- β) e interleucina-10 (IL-10) (CASSATELLA, 1995).

Macrófagos e neutrófilos reconhecem estruturas presentes em microrganismos, denominadas PAMP (padrões moleculares associados   patógenos). Dentre os PAMP vale ressaltar o lipopolissacarídeo (LPS). Esse componente da parede celular de bactérias gram-negativas interage com receptores presentes na membrana celular de neutrófilos e macrófagos (CD14 e receptor Toll like-4/MD-2), que ativam diversas vias de sinaliza o intracelular e fatores de transcri o como o fator nuclear kappa B (NF κ B), culminando em intensa produ o e libera o de citocinas (PALSSON-MCDERMOTT e

O'NEILL, 2004). O fator de transcrição NFκB modula a expressão de diversas proteínas envolvidas no processo inflamatório (Tabela 2).

Tabela 2 - Genes regulados pelo NFκB. Fonte: modificado de Neurath et al., 1998.

Citocinas e fatores de crescimento	TNF-α, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, intérferon-β, GM-CSF e G-CSF
Moléculas de adesão	ELAM, VCAM-1 ICAM-1, E-selectina
Fatores de transcrição	c-rel c-myc
Outros	iNOS, transportador de peptídeos TAP-1, cadeias α e β do TCR

Abreviaturas: fator estimulador de colônias grânulo- monocíticas (GM-CSF), fator estimulador de colônias granulocíticas (G-CSF), forma induzida da óxido nítrico sintetase, (iNOS), molécula de adesão intercelular (ICAM), molécula endotelial de adesão leucocitária (ELAM), molécula de adesão vascular (VCAM), receptor de linfócitos T (TCR).

1.3 Efeitos dos AGCC sobre o processo inflamatório

O interesse inicial a respeito do efeito dos AGCC no processo inflamatório surgiu do fato de que a ingestão de fibras reduz a incidência de doenças inflamatórias no TGI. Posteriormente, mostrou-se que esse efeito benéfico se devia aos AGCC gerados no processo de fermentação das fibras e que o uso de enemas ou outras formas farmacêuticas contendo esses ácidos graxos pode ser benéfico em condições inflamatórias do TGI (WONG et al., 2006). Além dos trabalhos que focavam no efeito dos AGCC como agentes antiinflamatórios, outros grupos sugeriram que esses ácidos graxos, os quais são produzidos em altas quantidades por bactérias anaeróbias causadoras de periodontites (por exemplo, bactéria *Porphyromonas gingivalis*) e iniciariam e ou intensificariam o processo inflamatório na cavidade oral (NIEDERMAN, BUYLE-BODIN et al., 1997; NIEDERMAN, ZHANG et al., 1997).

A maior parte dos estudos realizados com AGCC utilizou células isoladas para avaliar a ação desses compostos (SEGAIN, RAINGEARD DE LA BLETIERE et al., 2000; MILLARD, MERTES et al., 2002; RODRIGUEZ-CABEZAS et al., 2002; HUUSKONEN et al., 2004; WEBER e KERR, 2006). Os

AGCC atuam sobre diferentes tipos celulares envolvidos no processo inflamatório e resposta imune e podem ser moduladores importantes do processo *in vivo*, tendo ações pró- (NIEDERMAN, BUYLE-BODIN et al., 1997; BOCKER et al., 2003) e antiinflamatórias (RODRIGUEZ-CABEZAS, GALVEZ et al., 2002; HUUSKONEN, SUURONEN et al., 2004; DIANZANI et al., 2006), dependendo da função e tipo celular analisados.

Com relação aos neutrófilos, os AGCC causam: alteração do pH intracelular, mobilização de cálcio intracelular, produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, fagocitose e *killing* de microrganismos e distribuição de proteínas do citoesqueleto (EFTIMIADI et al., 1987; ROTSTEIN et al., 1989; TONETTI et al., 1991; BRUNKHORST et al., 1992; ROTSTEIN, 1993; NAKAO et al., 1998). A ação dos AGCC sobre fagócitos é até certo ponto paradoxal uma vez que alguns parâmetros funcionais são inibidos como, a desgranulação (EFTIMIADI, BUZZI et al., 1987) e a capacidade fagocítica e de destruição de bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (EFTIMIADI, BUZZI et al., 1987; ROTSTEIN, VITTORINI et al., 1989), enquanto outros, como alteração no estado da actina, mobilização de cálcio e mudanças no metabolismo de oxigênio, são ativados (EFTIMIADI, BUZZI et al., 1987; TONETTI, CAVALLERO et al., 1991; BRUNKHORST, KRAUS et al., 1992; NAKAO, MORIYA et al., 1998). Esse paradoxo pode ser explicado em parte devido ao fato dos AGCC atuarem sobre essas células por diferentes mecanismos e de diferenças técnicas entre os estudos. Por exemplo, enquanto em alguns trabalhos os AGCC são utilizados isoladamente, em outros, o sobrenadante de culturas de bactérias anaeróbias, que contém os diferentes AGCC, são empregadas.

O butirato é o ácido graxo de cadeia curta mais estudado. Esse AGCC altera a produção e liberação de citocinas pró- e antiinflamatórias, regula o processo de apoptose e diferenciação, maturação e função de leucócitos, particularmente, dos monócitos/macrófagos (CHAKRAVORTTY et al., 2000; SAEMANN et al., 2000; PARK et al., 2007). Esse AGCC inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6 e IL-12) e óxido nítrico e aumenta a liberação de IL-10 (citocina com ações antiinflamatórias) por macrófagos (CHAKRAVORTTY, KOIDE et al., 2000; SAEMANN, BOHMIG et al., 2000; PARK, LEE et al., 2007). Um dos mecanismos envolvidos nessas ações parece

ser a inibição da ativação do fator de transcrição NFκB (CHAKRAVORTTY, KOIDE et al., 2000; PARK, LEE et al., 2007).

Recentemente, em trabalho realizado com monócitos isolados do sangue de humanos e tratados com acetato, propionato ou butirato *in vitro*, mostrou-se que esses AGCC são capazes de estimular, tanto na presença quanto na ausência de LPS, a produção de prostaglandina E2 (PGE2), sem qualquer efeito sobre a produção de outros mediadores lipídicos como prostaciclina I2 (PGI2), tromboxano B2 (TXB2) e leucotrieno B4 (LTB4) (COX et al., 2009). Esse efeito foi abolido pela toxina pertussis (inibidor de proteína Gi) e inibidor da ciclooxigenase 1 (COX-1), evidenciando que outros mecanismos participam na ação dos AGCC em leucócitos.

Os AGCC modificam diferentes aspectos funcionais de linfócitos: proliferação de células T: o butirato inibe a proliferação de linfócitos em resposta a diferentes estímulos, como a concanavalina- A e anticorpo monoclonal anti-CD3 (BOHMIG, KRIEGER et al., 1999; CAVAGLIERI et al., 2003); produção de citocinas: o butirato *in vitro* reduz a liberação de interleucina-2 (citocina que estimula a proliferação, diferenciação e sobrevivência de linfócitos T) e intérferon-γ (IFN-γ), que tem ações imunomodulatórias, sendo, particularmente, importante na resposta à infecção viral, células tumorais e em condições auto-imunes. Por outro lado, o butirato apresenta efeitos opostos sobre a produção de citocinas antiinflamatórias como interleucina-10 (IL-10) por linfócitos (CAVAGLIERI, NISHIYAMA et al., 2003).

Em neutrófilos, o efeito dos AGCC sobre a produção de mediadores inflamatórios foi investigado apenas em um estudo (TEDELIND et al., 2007). Os autores mostraram que não apenas butirato, mas também acetato e propionato inibem a produção de TNF-α por neutrófilos. Contudo, os mecanismos envolvidos nesse efeito não foram avaliados em neutrófilos (TEDELIND, WESTBERG et al., 2007).

Além de afetarem a produção de mediadores inflamatórios por neutrófilos, os AGCC também podem modificar o recrutamento dessas células para o processo inflamatório uma vez que alteram a expressão de moléculas de adesão expressas nas células endoteliais (ZAPOLSKA-DOWNAR, SIENNICKA et al., 2004; MILLER et al., 2005) e induzem *in vitro* a quimiotaxia de neutrófilos (LE POUL et al., 2003). Os AGCC têm função importante no

recrutamento de neutrófilos para o TGI durante doença inflamatória intestinal. A ativação do receptor de membrana GPR43, o qual será discutido no próximo tópico, pelos AGCC também pode regular o recrutamento e resolução do processo inflamatório em diferentes condições como artrite reumatóide e asma (MASLOWSKI et al., 2009; SINA et al., 2009).

1.3.1 Mecanismos de ação dos AGCC em leucócitos

Dentre os mecanismos propostos para as ações dos AGCC em leucócitos está a inibição de histonas desacetilases (HDAC) e a ativação do receptor de membrana GPR43.

O DNA nuclear encontra-se envolto por uma estrutura formada por proteínas denominadas histonas (duas moléculas de cada subunidade H2A, H2B, H3 e H4). Uma das estratégias utilizadas para modificar a expressão gênica em células eucarióticas envolve alteração do estado das histonas, sendo que a acetilação e a desacetilação dessas proteínas são um dos mecanismos importantes nesse controle.

No núcleo, existem enzimas denominadas histonas acetilases (acetila as histonas) e histonas desacetilases (retira o grupamento acetil das histonas) que regulam o estado das histonas com relação à acetilação. A acetilação das histonas em geral está relacionada com aumento da expressão gênica, contudo, a hiperacetilação também pode levar à supressão da expressão de certos genes (KIM et al., 2001; TONG et al., 2004). Isso em parte é devido ao fato de que proteínas não-histonas, particularmente, fatores de transcrição, também são reversivelmente acetilados, processo esse que pode modular as suas funções (KIM, KWON et al., 2001; YU et al., 2002; TONG, YIN et al., 2004). Um dos fatores de transcrição cuja atividade é em parte regulada pela acetilação é o NFκB que conforme descrito anteriormente possui participação destacada no processo inflamatório. A acetilação desse fator de transcrição regula diversas propriedades do mesmo, como a capacidade de ligação a seu elemento responsivo no DNA e de ativar a transcrição de genes, além de modular a ligação do NFκB ao IκBα e com isso a sua inativação (CHEN et al., 2003; KIERNAN et al., 2003).

Os AGCC, principalmente butirato, mas também propionato inibem as histonas desacetilases (HDAC) e com isso aumentam a acetilação de histonas

(BENJAMIN e JOST, 2001; HINNEBUSCH et al., 2002). Além dessa ação, diversos grupos (SEGAIN, RAINGEARD DE LA BLETIERE et al., 2000; ZAPOLSKA-DOWNAR, SIENNICKA et al., 2004; PARK, LEE et al., 2007; STEMPELJ et al., 2007) mostraram que ambos ácidos graxos modulam a atividade do fator NF κ B, o que pode decorrer ou não da inibição de HDAC.

Outro mecanismo pelo qual os AGCC podem atuar em leucócitos é via ativação do receptor de membrana GPR43. Esse receptor pertence a família de receptores acoplados a proteína G inicialmente descrita por Swazdargo et al. (1997). Dessa família também fazem parte os receptores GPR 40, 41 e 42 (SAWZDARGO et al., 1997). O receptor GPR 43 é expresso em leucócitos, principalmente em neutrófilos e em menor abundância em células mononucleares do sangue, monócitos e linfócitos (BROWN et al., 2003; LE POUL, LOISON et al., 2003; NILSSON et al., 2003), sendo ativado pelos AGCC (BROWN, GOLDSWORTHY et al., 2003; LE POUL, LOISON et al., 2003; HONG et al., 2005).

O GPR43 está acoplado, não apenas a proteína Gi/o, mas também a proteína Gq. A ativação da proteína Gi/o leva à diminuição das concentrações de AMP cíclico por inibição da adenilato ciclase (algumas isoformas não são inibidas) e ativação dos GIRK (canais de potássio regulados pela proteína G). A proteína Gq ativa a fosfolipase C, levando à formação do inositol trisfosfato e diacilglicerol, os quais aumentam as concentrações intracelulares de cálcio e ativam a proteína quinase C, respectivamente (BROWN, GOLDSWORTHY et al., 2003; LE POUL, LOISON et al., 2003; HONG, NISHIMURA et al., 2005). Le Poul et al. (2003) sugerem que a ativação do GPR43 é responsável pelas ações dos AGCC sobre os neutrófilos (quimiotaxia) e que esse receptor apresenta função similar à do receptor de fMLP no recrutamento de leucócitos para o local da infecção e ativação dos mesmos.

A farmacologia do GPR43 e sua distribuição específica em neutrófilos sugerem que este deve atuar no início do processo inflamatório, com possível envolvimento em doenças inflamatórias, principalmente do TGI (LE POUL, LOISON et al., 2003; SINA, GAVRILOVA et al., 2009).

1.4 Justificativa para a realização do estudo

Os AGCC apresentam importantes ações imunorregulatórias, as quais podem ter implicações fisiológicas, particularmente, no TGI, e em condições patológicas (infecções por bactérias anaeróbias). Contudo, não há trabalhos conclusivos sobre o efeito desses ácidos graxos em neutrófilos e os mecanismos envolvidos. A elucidação dos mecanismos de ação dos AGCC sobre neutrófilos, particularmente na produção de mediadores inflamatórios e quimiotaxia, pode ser a base para o entendimento da ação desses compostos em processos patológicos e o passo inicial no desenvolvimento de novas alternativas para o tratamento de doenças inflamatórias.

6 CONCLUSÃO

Os AGCC afetam diferentes aspectos funcionais de neutrófilos e interferem com o processo inflamatório.

- Acetato e butirato alteram a produção de ERO por neutrófilos; o primeiro aumenta a produção não estimulada de peróxido de hidrogênio, efeito esse que provavelmente envolve a ativação do receptor GPR43, enquanto que o butirato inibe a produção de ERO estimulada por fMLP ou PMA. O efeito do butirato pode envolver aumento das concentrações intracelulares de AMP cíclico via GPR43, porém essa ação não explica a inibição da produção de ERO por esse ácido graxo, uma vez que o agonista sintético do receptor GPR43 (CTMB) não apresentou tal efeito. Butirato também reduz a fagocitose e *killing* de levedura, efeito esse que pode ou não ter relação com a redução na produção de ERO.

- Os AGCC propionato e butirato reduzem a produção de TNF- α , CINC-2 $\alpha\beta$ e óxido nítrico (NO) e aumentam a síntese e liberação de IL-1 β por neutrófilos estimulados com LPS. Esse efeito decorre, ao menos em parte, de ação a nível transcricional e envolve inibição da atividade de HDAC e, como consequência direta ou indireta dessa ação, atenuação da ativação do fator de transcrição NF κ B.

- Os AGCC aumentam a migração de neutrófilos *in vitro* (ensaios de quimiotaxia) e *in vivo* (ensaio da bolsa e análise da interação leucócito-endotélio por microscopia intravital). Essas ações decorrem, ao menos em parte, de aumento da produção de CINC-2 $\alpha\beta$ (químioatraente para neutrófilos) pelo tecido e da ação direta dos AGCC via receptores GPR43.

Os resultados ora relatados têm implicações em diversas condições fisiológicas e patológicas como: resposta imune a bactérias anaeróbias, por exemplo, nas doenças periodontais e abscessos, na fisiologia do sistema gastrointestinal (relação entre microbiota e hospedeiro) e nas doenças inflamatórias que afetam esse sistema. Além disso, os resultados obtidos com butirato em relação à produção de mediadores inflamatórios, explicam, em parte, os efeitos benéficos atribuídos a esse ácido graxo no tratamento de doenças inflamatórias e suportam a realização de novos estudos que visem o desenvolvimento de alternativas terapêuticas ao uso de antiinflamatórios convencionais.

REFERÊNCIAS*

ABBAS, A. K. L.; POBER, J. S. **Imunologia celular e molecular**. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2003.

ADAM, E. et al. Potentiation of tumor necrosis factor-induced NF-kappa B activation by deacetylase inhibitors is associated with a delayed cytoplasmic reappearance of I kappa B alpha. **Mol. Cell. Biol.**, v. 23, n. 17, p. 6200-9, 2003.

AKANJI, A. O.; HOCKADAY, T. D. Acetate tolerance and the kinetics of acetate utilization in diabetic and nondiabetic subjects. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 51, n. 1, p. 112-8, 1990.

ALI, H. et al. Differential regulation of formyl peptide and platelet-activating factor receptors. Role of phospholipase Cbeta3 phosphorylation by protein kinase A. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 18, p. 11012-6, 1998.

ANDOH, A. et al. Counter-regulatory effect of sodium butyrate on tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha)-induced complement C3 and factor B biosynthesis in human intestinal epithelial cells. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 118, n. 1, p. 23-9, 1999.

BABIOR, B. M. NADPH oxidase: an update. **Blood**, v. 93, n. 5, p. 1464-76, 1999.

BACKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 101, n. 44, p. 15718-23, 2004.

BACKHED, F. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 104, n. 3, p. 979-84, 2007.

BADOLATO, R. et al. Serum amyloid A is an activator of PMN antimicrobial functions: induction of degranulation, phagocytosis, and enhancement of anti-Candida activity. **J. Leukoc. Biol.**, v. 67, n. 3, p. 381-6, 2000.

BECKMAN, J. S. et al. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 87, n. 4, p. 1620-4, 1990.

BENGIS-GARBER, C.; GRUENER, N. Protein kinase A downregulates the phosphorylation of p47 phox in human neutrophils: a possible pathway for inhibition of the respiratory burst. **Cell Signal**, v. 8, n. 4, p. 291-6, 1996.

BENJAMIN, D.; JOST, J. P. Reversal of methylation-mediated repression with short-chain fatty acids: evidence for an additional mechanism to histone deacetylation. **Nucleic Acids Res.**, v. 29, n. 17, p. 3603-10, 2001.

*De acordo com a Associação brasileira de Normas Técnicas NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro. 2002.

BENNOUNA, S. et al. Cross-talk in the innate immune system: neutrophils instruct recruitment and activation of dendritic cells during microbial infection. **J. Immunol.**, v. 171, n. 11, p. 6052-8, 2003.

BINDER, H. J.; MEHTA, P. Short-chain fatty acids stimulate active sodium and chloride absorption in vitro in the rat distal colon. **Gastroenterology**, v. 96, n. 4, p. 989-96, 1989.

BOCKER, U. et al. Butyrate modulates intestinal epithelial cell-mediated neutrophil migration. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 131, n. 1, p. 53-60, 2003.

BOHMIG, G. A. et al. Stable prodrugs of n-butyric acid: suppression of T cell alloresponses in vitro and prolongation of heart allograft survival in a fully allogeneic rat strain combination. **Transpl. Immunol.**, v. 7, n. 4, p. 221-7, 1999.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248-54, 1976.

BROWN, A. J. et al. The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. **J. Biol. Chem.**, v. 278, n. 13, p. 11312-9, 2003.

BRUNKHORST, B. A. et al. Propionate induces polymorphonuclear leukocyte activation and inhibits formylmethionyl-leucyl-phenylalanine-stimulated activation. **Infect. Immun.**, v. 60, n. 7, p. 2957-68, 1992.

CALAO, M. et al. A pervasive role of histone acetyltransferases and deacetylases in an NF-kappaB-signaling code. **Trends Biochem. Sci.**, v. 33, n. 7, p. 339-49, 2008.

CAO, W. et al. Acetylation of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 inhibits Toll-like receptor signaling. **J. Exp. Med.**, v. 205, n. 6, p. 1491-503, 2008.

CASSATELLA, M. A. The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils. **Immunol. Today**, v. 16, n. 1, p. 21-6, 1995.

CAVAGLIERI, C. R. et al. Differential effects of short-chain fatty acids on proliferation and production of pro- and anti-inflammatory cytokines by cultured lymphocytes. **Life Sci.**, v. 73, n. 13, p. 1683-90, 2003.

CHAKRAVORTTY, D. et al. The inhibitory action of butyrate on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 murine macrophage cells. **J Endotoxin Res.**, v. 6, n. 3, p. 243-7, 2000.

CHEN, J. S. et al. Short-chain fatty acid inhibitors of histone deacetylases: promising anticancer therapeutics? **Curr. Cancer Drug Targets**, v. 3, n. 3, p. 219-36, 2003.

CHEN, L. et al. Duration of nuclear NF-kappaB action regulated by reversible acetylation. **Science**, v. 293, n. 5535, p. 1653-7, 2001.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal. Biochem.**, v. 162, n. 1, p. 156-9, 1987.

COOK, S. I.; SELLIN, J. H. Review article: short chain fatty acids in health and disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 12, n. 6, p. 499-507, 1998.

COX, M. A. et al. Short-chain fatty acids act as antiinflammatory mediators by regulating prostaglandin E(2) and cytokines. **World J. Gastroenterol.**, v. 15, n. 44, p. 5549-57, 2009.

CUMMINGS, J. H. et al. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. **Gut**, v. 28, n. 10, p. 1221-7, 1987.

CUMMINGS, J. H. R.; SAKATA, T. **Physiology and clinical aspects of short chain fatty acids**. Cambridge University Press, 1995.

CURY-BOAVENTURA, M. F. et al. Effect of olive oil-based emulsion on human lymphocyte and neutrophil death. **JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.**, v. 32, n. 1, p. 81-7, 2008.

CURY-BOAVENTURA, M. F. et al. Toxicity of a soybean oil emulsion on human lymphocytes and neutrophils. **JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.**, v. 30, n. 2, p. 115-23, 2006.

DAHLEN, S. E. et al. Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules: in vivo effects with relevance to the acute inflammatory response. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 78, n. 6, p. 3887-91, 1981.

DALMASSO, G. et al. Butyrate transcriptionally enhances peptide transporter PepT1 expression and activity. **PLoS One**, v. 3, n. 6, p. e2476, 2008.

DIANZANI, C. et al. Cholesteryl butyrate solid lipid nanoparticles inhibit adhesion of human neutrophils to endothelial cells. **Br. J. Pharmacol.**, v. 148, n. 5, p. 648-56, 2006.

DING, A. H. et al. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. **J. Immunol.**, v. 141, n. 7, p. 2407-12, 1988.

DING, Z. M. et al. Relative contribution of LFA-1 and Mac-1 to neutrophil adhesion and migration. **J. Immunol.**, v. 163, n. 9, p. 5029-38, 1999.

DYPBUKT, J. M. et al. A sensitive and selective assay for chloramine production by myeloperoxidase. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 39, n. 11, p. 1468-77, 2005.

EDWARDS, J. C. et al. The formation of a structure with the features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an in vivo tissue culture system. **J. Pathol.**, v. 134, n. 2, p. 147-56, 1981.

EFTIMIADI, C. et al. Short-chain fatty acids produced by anaerobic bacteria alter the physiological responses of human neutrophils to chemotactic peptide. **J. Infect.**, v. 14, n. 1, p. 43-53, 1987.

FIALKOW, L. et al. Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 42, n. 2, p. 153-64, 2007.

FILIPPIN, L. I. et al. Redox signalling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 152, n. 3, p. 415-22, 2008.

FINAN, P. et al. An SH3 domain and proline-rich sequence mediate an interaction between two components of the phagocyte NADPH oxidase complex. **J. Biol. Chem.**, v. 269, n. 19, p. 13752-5, 1994.

FUHLER, G. M. et al. Reduced expression of flavocytochrome b558, a component of the NADPH oxidase complex, in neutrophils from patients with myelodysplasia. **Exp. Hematol.**, v. 31, n. 9, p. 752-9, 2003.

FUKAE, J. et al. Butyrate suppresses tumor necrosis factor alpha production by regulating specific messenger RNA degradation mediated through a cis-acting AU-rich element. **Arthritis Rheum.**, v. 52, n. 9, p. 2697-707, 2005.

GE, H. et al. Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids. **Endocrinology**, v. 149, n. 9, p. 4519-26, 2008.

GERRITSEN, M. E. et al. CREB-binding protein/p300 are transcriptional coactivators of p65. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 94, n. 7, p. 2927-32, 1997.

GYLLENHAMMAR, H. Lucigenin chemiluminescence in the assessment of neutrophil superoxide production. **J. Immunol. Methods**, v. 97, n. 2, p. 209-13, 1987.

HACKER, B. M. et al. Cloning, chromosomal mapping, and regulatory properties of the human type 9 adenylyl cyclase (ADCY9). **Genomics**, v. 50, n. 1, p. 97-104, 1998.

HAMPTON, M. B. et al. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. **Blood**, v. 92, n. 9, p. 3007-17, 1998.

HATANAKA, E. et al. Systematic study on ROS production induced by oleic, linoleic, and gamma-linolenic acids in human and rat neutrophils. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 41, n. 7, p. 1124-32, 2006.

HICKEY, M. J. Role of inducible nitric oxide synthase in the regulation of leucocyte recruitment. **Clin. Sci. (Lond)**, v. 100, n. 1, p. 1-12, 2001.

HIGUCHI, R. et al. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. **Biotechnology (N Y)**, v. 10, n. 4, p. 413-7, 1992.

HINNEBUSCH, B. F. et al. The effects of short-chain fatty acids on human colon cancer cell phenotype are associated with histone hyperacetylation. **J. Nutr.**, v. 132, n. 5, p. 1012-7, 2002.

HONG, Y. H. et al. Acetate and propionate short chain fatty acids stimulate adipogenesis via GPCR43. **Endocrinology**, v. 146, n. 12, p. 5092-9, 2005.

HOOPER, L. V. et al. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 22, p. 283-307, 2002.

HUUSKONEN, J. et al. Regulation of microglial inflammatory response by sodium butyrate and short-chain fatty acids. **Br. J. Pharmacol.**, v. 141, n. 5, p. 874-80, 2004.

KANEGASAKI, S. et al. A novel optical assay system for the quantitative measurement of chemotaxis. **J. Immunol. Methods**, v. 282, n. 1-2, p. 1-11, 2003.

KASHKET, S. et al. Gingival inflammation induced by food and short-chain carboxylic acids. **J. Dent. Res.**, v. 77, n. 2, p. 412-7, 1998.

KASHKET, S. et al. Accumulation of fermentable sugars and metabolic acids in food particles that become entrapped on the dentition. **J. Dent. Res.**, v. 75, n. 11, p. 1885-91, 1996.

KETTLE, A. J. et al. Peroxynitrite and myeloperoxidase leave the same footprint in protein nitration. **Redox Rep.**, v. 3, n. 5-6, p. 257-8, 1997.

KIERNAN, R. et al. Post-activation turn-off of NF-kappa B-dependent transcription is regulated by acetylation of p65. **J. Biol. Chem.**, v. 278, n. 4, p. 2758-66, 2003.

KIM, M. S. et al. Histone deacetylases induce angiogenesis by negative regulation of tumor suppressor genes. **Nat. Med.**, v. 7, n. 4, p. 437-43, 2001.

KLEBANOFF, S. J. Myeloperoxidase: friend and foe. **J. Leukoc. Biol.**, v. 77, n. 5, p. 598-625, 2005.

KURITA-OCHIAI, T. et al. Volatile fatty acids, metabolic by-products of periodontopathic bacteria, inhibit lymphocyte proliferation and cytokine production. **J. Dent. Res.**, v. 74, n. 7, p. 1367-73, 1995.

KURITA-OCHIAI, T. et al. Butyric acid-induced apoptosis of murine thymocytes, splenic T cells, and human Jurkat T cells. **Infect. Immun.**, v. 65, n. 1, p. 35-41, 1997.

LE POUL, E. et al. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. **J. Biol. Chem.**, v. 278, n. 28, p. 25481-9, 2003.

LEE, T. et al. Identification and functional characterization of allosteric agonists for the G protein-coupled receptor FFA2. **Mol. Pharmacol.**, v. 74, n. 6, p. 1599-609, 2008.

LEY, K. **Physiology of inflammation**. Oxford: Oxford University Press, 2001.

LIU, Q. et al. Effect of sodium butyrate on reactive oxygen species generation by human neutrophils. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 36, n. 7, p. 744-50, 2001.

LIU, W.; SAINT, D. A. A new quantitative method of real time reverse transcription polymerase chain reaction assay based on simulation of polymerase chain reaction kinetics. **Anal. Biochem.**, v. 302, n. 1, p. 52-9, 2002.

MACFARLANE, G. T. et al. Protein degradation by human intestinal bacteria. **J. Gen. Microbiol.**, v. 132, n. 6, p. 1647-56, 1986.

MACKAY, C. R. Moving targets: cell migration inhibitors as new anti-inflammatory therapies. **Nat. Immunol.**, v. 9, n. 9, p. 988-98, 2008.

MACMICKING, J. et al. Nitric oxide and macrophage function. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 15, p. 323-50, 1997.

MAHADEO, D. C. et al. A chemoattractant-mediated Gi-coupled pathway activates adenylyl cyclase in human neutrophils. **Mol. Biol. Cell.**, v. 18, n. 2, p. 512-22, 2007.

MASLOWSKI, K. M. et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. **Nature**, v. 461, n. 7268, p. 1282-6, 2009.

MCNEIL, N. I. et al. Short chain fatty acid absorption by the human large intestine. **Gut**, v. 19, n. 9, p. 819-22, 1978.

MILLARD, A. L. et al. Butyrate affects differentiation, maturation and function of human monocyte-derived dendritic cells and macrophages. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 130, n. 2, p. 245-55, 2002.

MILLER, S. J. et al. Short-chain fatty acids modulate gene expression for vascular endothelial cell adhesion molecules. **Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 740-8, 2005.

MILLS, S. W. et al. Evaluation of the effects of short-chain fatty acids and extracellular pH on bovine neutrophil function in vitro. **Am. J. Vet. Res.**, v. 67, n. 11, p. 1901-7, 2006.

MORIKAWA, A. et al. Butyrate enhances the production of nitric oxide in mouse vascular endothelial cells in response to gamma interferon. **J. Endotoxin Res.**, v. 10, n. 1, p. 32-8, 2004.

NA, S. Y. et al. Steroid receptor coactivator-1 interacts with the p50 subunit and coactivates nuclear factor kappaB-mediated transactivations. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 18, p. 10831-4, 1998.

NAKAO, S. et al. Alteration of cytoplasmic Ca²⁺ in resting and stimulated human neutrophils by short-chain carboxylic acids at neutral pH. **Infect. Immun.**, v. 60, n. 12, p. 5307-11, 1992.

NAKAO, S. et al. Propionic acid stimulates superoxide generation in human neutrophils. **Cell Biol. Int.**, v. 22, n. 5, p. 331-7, 1998.

NATHAN, C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 6, n. 3, p. 173-82, 2006.

NICOLETTI, I. et al. A rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. **J. Immunol. Methods**, v. 139, n. 2, p. 271-9, 1991.

NIEDERMAN, R. et al. Short-chain carboxylic acid concentration in human gingival crevicular fluid. **J. Dent. Res.**, v. 76, n. 1, p. 575-9, 1997.

NIEDERMAN, R. et al. Short-chain carboxylic-acid-stimulated, PMN-mediated gingival inflammation. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 8, n. 3, p. 269-90, 1997.

NILSSON, N. E. et al. Identification of a free fatty acid receptor, FFA2R, expressed on leukocytes and activated by short-chain fatty acids. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 303, n. 4, p. 1047-52, 2003.

O'DOWD, Y. M. et al. Inhibition of formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-stimulated respiratory burst in human neutrophils by adrenaline: inhibition of Phospholipase A2 activity but not p47phox phosphorylation and translocation. **Biochem. Pharmacol.**, v. 67, n. 1, p. 183-90, 2004.

OGAWA, H. et al. Butyrate modulates gene and protein expression in human intestinal endothelial cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 309, n. 3, p. 512-9, 2003.

PALSSON-MCDERMOTT, E. M.; O'NEILL, L. A. Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4. **Immunology**, v. 113, n. 2, p. 153-62, 2004.

PARK, J. S. et al. Anti-inflammatory effects of short chain fatty acids in IFN-gamma-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells: involvement of NF-kappaB and ERK signaling pathways. **Int. Immunopharmacol.**, v. 7, n. 1, p. 70-7, 2007.

PARK, J. S. et al. Repression of interferon-gamma-induced inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene expression in microglia by sodium butyrate is mediated through specific inhibition of ERK signaling pathways. **J. Neuroimmunol.**, v. 168, n. 1-2, p. 56-64, 2005.

PETRI, B. et al. The physiology of leukocyte recruitment: an in vivo perspective. **J. Immunol.**, v. 180, n. 10, p. 6439-46, 2008.

PICK, E.; KEISARI, Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. **J. Immunol. Methods**, v. 38, n. 1-2, p. 161-70, 1980.

POLLANEN, M. T. et al. Bacterial metabolites sodium butyrate and propionate inhibit epithelial cell growth in vitro. **J. Periodontal. Res.**, v. 32, n. 3, p. 326-34, 1997.

RANGANNA, K. et al. Gene expression profile of butyrate-inhibited vascular smooth muscle cell proliferation. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 254, n. 1-2, p. 21-36, 2003.

REZAIE, A. et al. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? **Dig. Dis. Sci.**, v. 52, n. 9, p. 2015-21, 2007.

RICKARD, K. L. et al. Short-chain fatty acids reduce expression of specific protein kinase C isoforms in human colonic epithelial cells. **J. Cell. Physiol.**, v. 182, n. 2, p. 222-31, 2000.

RODRIGUEZ-CABEZAS, M. E. et al. Dietary fiber down-regulates colonic tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitic rats. **J. Nutr.**, v. 132, n. 11, p. 3263-71, 2002.

ROEDIGER, W. E.; MOORE, A. Effect of short-chain fatty acid on sodium absorption in isolated human colon perfused through the vascular bed. **Dig. Dis. Sci.**, v. 26, n. 2, p. 100-6, 1981.

ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudos de diversos fatores. **Mem. Inst. Butantan**, v. 20, p. 315-328., 1947.

ROTSTEIN, O. D. Interactions between leukocytes and anaerobic bacteria in polymicrobial surgical infections. **Clin. Infect. Dis.**, v. 16 Suppl 4, p. S190-4, 1993.

ROTSTEIN, O. D. et al. A soluble Bacteroides by-product impairs phagocytic killing of Escherichia coli by neutrophils. **Infect. Immun.**, v. 57, n. 3, p. 745-53, 1989.

RUPPIN, H. et al. Absorption of short-chain fatty acids by the colon. **Gastroenterology**, v. 78, n. 6, p. 1500-7, 1980.

SAEMANN, M. D. et al. Anti-inflammatory effects of sodium butyrate on human monocytes: potent inhibition of IL-12 and up-regulation of IL-10 production. **Faseb J**, v. 14, n. 15, p. 2380-2, 2000.

SAMBROOK, J. R. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SAMPAIO, S. C. et al. Crotalus durissus terrificus snake venom regulates macrophage metabolism and function. **J. Leukoc. Biol.**, v. 70, n. 4, p. 551-8, 2001.

SAMUEL, B. S. et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 105, n. 43, p. 16767-72, 2008.

SANDOVAL, A. et al. Propionate induces pH(i) changes through calcium flux, ERK1/2, p38, and PKC in bovine neutrophils. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 115, n. 3-4, p. 286-98, 2007.

SAWZDARGO, M. et al. A cluster of four novel human G protein-coupled receptor genes occurring in close proximity to CD22 gene on chromosome 19q13.1. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 239, n. 2, p. 543-7, 1997.

SCAPINI, P. et al. The neutrophil as a cellular source of chemokines. **Immunol. Rev.**, v. 177, p. 195-203, 2000.

SCHEPPACH, W. et al. The contribution of the large intestine to blood acetate in man. **Clin. Sci. (Lond)**, v. 80, n. 2, p. 177-82, 1991.

SCHMID-SCHONBEIN, G. W. Analysis of inflammation. **Annu. Rev. Biomed. Eng.**, v. 8, p. 93-131, 2006.

SEGAIN, J. P. et al. Butyrate inhibits inflammatory responses through NFkappaB inhibition: implications for Crohn's disease. **Gut**, v. 47, n. 3, p. 397-403, 2000.

SEGAL, A. W. The electron transport chain of the microbicidal oxidase of phagocytic cells and its involvement in the molecular pathology of chronic granulomatous disease. **J. Clin. Invest.**, v. 83, n. 6, p. 1785-93, 1989.

SEGAL, A. W. How neutrophils kill microbes. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 23, p. 197-223, 2005.

SHANLEY, T. P. et al. Requirement for C-X-C chemokines (macrophage inflammatory protein-2 and cytokine-induced neutrophil chemoattractant) in IgG immune complex-induced lung injury. **J. Immunol.**, v. 158, n. 7, p. 3439-48, 1997.

SHEPPARD, F. R. et al. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. **J. Leukoc. Biol.**, v. 78, n. 5, p. 1025-42, 2005.

SHIBATA, F. et al. Recombinant production and biological properties of rat cytokine-induced neutrophil chemoattractants, GRO/CINC-2 alpha, CINC-2 beta and CINC-3. **Eur. J. Biochem.**, v. 231, n. 2, p. 306-11, 1995.

SHIBATA, F. et al. Gene structure, cDNA cloning, and expression of the rat cytokine-induced neutrophil chemoattractant-2 (CINC-2) gene. **Cytokine**, v. 10, n. 3, p. 169-74, 1998.

SILER, S. Q. et al. De novo lipogenesis, lipid kinetics, and whole-body lipid balances in humans after acute alcohol consumption. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 70, n. 5, p. 928-36, 1999.

SILWOOD, C. J. et al. ¹H and (¹³C) NMR spectroscopic analysis of human saliva. **J. Dent. Res.**, v. 81, n. 6, p. 422-7, 2002.

SIMCHOWITZ, L. et al. Induction of a transient elevation in intracellular levels of adenosine-3',5'-cyclic monophosphate by chemotactic factors: an early event in human neutrophil activation. **J. Immunol.**, v. 124, n. 3, p. 1482-91, 1980.

SINA, C. et al. G protein-coupled receptor 43 is essential for neutrophil recruitment during intestinal inflammation. **J. Immunol.**, v. 183, n. 11, p. 7514-22, 2009.

SORKIN, B. C.; NIEDERMAN, R. Short chain carboxylic acids decrease human gingival keratinocyte proliferation and increase apoptosis and necrosis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 25, n. 4, p. 311-5, 1998.

STEMPELJ, M. et al. Essential role of the JAK/STAT1 signaling pathway in the expression of inducible nitric-oxide synthase in intestinal epithelial cells and its regulation by butyrate. **J. Biol. Chem.**, v. 282, n. 13, p. 9797-804, 2007.

STRINGER, R. E. et al. Sodium butyrate delays neutrophil apoptosis: role of protein biosynthesis in neutrophil survival. **Br. J. Haematol.**, v. 92, n. 1, p. 169-75, 1996.

SUMIMOTO, H. et al. Role of Src homology 3 domains in assembly and activation of the phagocyte NADPH oxidase. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 91, n. 12, p. 5345-9, 1994.

SUZUKI, T. et al. Involvement of the beta gamma subunits of inhibitory GTP-binding protein in chemoattractant receptor-mediated potentiation of cyclic AMP formation in guinea pig neutrophils. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1313, n. 1, p. 72-8, 1996.

SUZUKI, Y. J. et al. Oxidants as stimulators of signal transduction. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 22, n. 1-2, p. 269-85, 1997.

TANG, W. J.; HURLEY, J. H. Catalytic mechanism and regulation of mammalian adenylyl cyclases. **Mol. Pharmacol.**, v. 54, n. 2, p. 231-40, 1998.

TEDELIND, S. et al. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease. **World J. Gastroenterol.**, v. 13, n. 20, p. 2826-32, 2007.

TONETTI, M. et al. Intracellular pH regulates the production of different oxygen metabolites in neutrophils: effects of organic acids produced by anaerobic bacteria. **J. Leukoc. Biol.**, v. 49, n. 2, p. 180-8, 1991.

TONG, X. et al. Butyrate suppresses Cox-2 activation in colon cancer cells through HDAC inhibition. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 317, n. 2, p. 463-71, 2004.

TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiol. Rev.**, v. 81, n. 3, p. 1031-64, 2001.

TOWBIN, H. et al. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 76, n. 9, p. 4350-4, 1979.

TSUDA, Y. et al. Three different neutrophil subsets exhibited in mice with different susceptibilities to infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Immunity**, v. 21, n. 2, p. 215-26, 2004.

ULICH, T. R. et al. Intratracheal administration of endotoxin and cytokines. VI. Antiserum to CINC inhibits acute inflammation. **Am. J. Physiol.**, v. 268, n. 2 Pt 1, p. L245-50, 1995.

USAMI, M. et al. Butyrate and trichostatin A attenuate nuclear factor kappaB activation and tumor necrosis factor alpha secretion and increase prostaglandin E2 secretion in human peripheral blood mononuclear cells. **Nutr. Res.**, v. 28, n. 5, p. 321-8, 2008.

VERDIN, E. et al. Class II histone deacetylases: versatile regulators. **Trends Genet.**, v. 19, n. 5, p. 286-93, 2003.

VOGT, J. A. et al. L-Rhamnose increases serum propionate after long-term supplementation, but lactulose does not raise serum acetate. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 80, n. 5, p. 1254-61, 2004.

VOGT, J. A. et al. L-Rhamnose increases serum propionate in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 80, n. 1, p. 89-94, 2004.

WANG, B. et al. Butyrate inhibits functional differentiation of human monocyte-derived dendritic cells. **Cell Immunol.**, v. 253, n. 1-2, p. 54-8, 2008.

WEBER, T. E.; KERR, B. J. Butyrate differentially regulates cytokines and proliferation in porcine peripheral blood mononuclear cells. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v. 113, n. 1-2, p. 139-47, 2006.

WILSON, A. J. et al. Interleukin-8 stimulates the migration of human colonic epithelial cells in vitro. **Clin. Sci. (Lond)**, v. 97, n. 3, p. 385-90, 1999.

WOLEVER, T. M. et al. Time of day and glucose tolerance status affect serum short-chain fatty acid concentrations in humans. **Metabolism**, v. 46, n. 7, p. 805-11, 1997.

WOLEVER, T. M. et al. Do colonic short-chain fatty acids contribute to the long-term adaptation of blood lipids in subjects with type 2 diabetes consuming a high-fiber diet? **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 75, n. 6, p. 1023-30, 2002.

WOLEVER, T. M. et al. Interaction between colonic acetate and propionate in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 53, n. 3, p. 681-7, 1991.

WONG, J. M. et al. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 40, n. 3, p. 235-43, 2006.

XU, W. S. et al. Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action. **Oncogene**, v. 26, n. 37, p. 5541-52, 2007.

YIN, L. et al. Butyrate suppression of colonocyte NF-kappa B activation and cellular proteasome activity. **J. Biol. Chem.**, v. 276, n. 48, p. 44641-6, 2001.

YOSHIDA, M. et al. Trichostatin A and trapoxin: novel chemical probes for the role of histone acetylation in chromatin structure and function. **Bioessays**, v. 17, n. 5, p. 423-30, 1995.

YU, Z. et al. Histone deacetylases augment cytokine induction of the iNOS gene. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 13, n. 8, p. 2009-17, 2002.

YUZAWA, S. et al. A molecular mechanism for autoinhibition of the tandem SH3 domains of p47phox, the regulatory subunit of the phagocyte NADPH oxidase. **Genes Cells**, v. 9, n. 5, p. 443-56, 2004.

ZAPOLSKA-DOWNAR, D. et al. Butyrate inhibits cytokine-induced VCAM-1 and ICAM-1 expression in cultured endothelial cells: the role of NF-kappaB and PPARalpha. **J. Nutr. Biochem.**, v. 15, n. 4, p. 220-8, 2004.

ZHANG, J. **Gingival inflammation induced by food and short chain carboxylic acids (DMSc thesis)**. Ph. D. Thesis (dentistry) - Harvard University, Cambridge, 1996.

ZHANG, L. T. et al. Sodium butyrate prevents lethality of severe sepsis in rats. **Shock**, v. 27, n. 6, p. 672-7, 2007.

ZHAO, G. et al. Determination of short-chain fatty acids in serum by hollow fiber supported liquid membrane extraction coupled with gas chromatography. **J Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.**, v. 846, n. 1-2, p. 202-8, 2007.

ZICHA, D. et al. Analyzing chemotaxis using the Dunn direct-viewing chamber. **Methods Mol. Biol.**, v. 75, p. 449-57, 1997.