

BETTINA MORITZ DOS SANTOS

**INTERFERÊNCIA DOS ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 NOS LIPÍDEOS
SANGÜÍNEOS DE RATOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO FÍSICO
(NADO)**

FLORIANÓPOLIS-SC
2006

BETTINA MORITZ DOS SANTOS

**INTERFERÊNCIA DOS ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 NOS LIPÍDEOS
SANGÜÍNEOS DE RATOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO FÍSICO
(NADO)**

Dissertação apresentada como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientadora: Prof^a Dr^a Elisabeth Wazlawik

FLORIANÓPOLIS-SC
2006

Bettina Moritz dos Santos

**INTERFERÊNCIA DOS ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 NOS LIPÍDEOS
SANGÜÍNEOS DE RATOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO FÍSICO
(NADO)**

Dissertação apresentada como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a Dr^a Elisabeth Wazlawik – Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a Dr^a Rosa Maria Ribeiro do Valle Nicolau
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Édson Luiz da Silva
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a Dr^a Patrícia Faria Di Pietro (suplente)
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que contribuíram, de alguma forma, na elaboração deste trabalho, especialmente...

... aos meus pais, que muito me ajudaram e deram forças, mesmo distantes, para a realização deste trabalho;

...à minha orientadora, Prof^a Elisabeth Wazlawik, que soube da melhor forma conduzir-me nesta longa jornada;

...às bolsistas Jaqueline Minatti e Rafaela Miranda, que muito me ajudaram na execução da pesquisa;

...às minhas amigas e ajudantes especiais Intrauth Ern, Ariana Ern Schmitd, Ana Luiza e Vilma Panza, que também me auxiliaram muito;

...ao Ms. Gérson Faccin, que teve grande participação na realização deste trabalho;

...à Ms. Lina Sant'Ana, minha colega, que por várias vezes na execução deste trabalho;

...ao Prof. Dr. Luis Beirão, pelo fornecimento das cápsulas de óleo de peixe;

...ao Sr. Fernando Pirolli, pelo auxílio prestado nas avaliações dos parâmetros bioquímicos;

...e a todos que de certa forma me ajudaram na execução deste trabalho.

RESUMO

O desequilíbrio das concentrações de lipídeos no sangue tem sido relacionado com processos ateroscleróticos, sendo ainda postulado que a ingestão de óleo de peixe pode interferir na referida alteração. O objetivo do presente trabalho foi investigar os efeitos da suplementação com ácido graxo w-3, nas doses de 0,5 e 1,0g/kg/dia, nos lipídeos sanguíneos de ratos machos Wistar, submetidos ou não ao teste do nado. No protocolo de 0,5g/kg/dia, quando os valores finais de cada grupo experimental foram comparados aos iniciais em relação às concentrações de colesterol total, foi observada redução significativa proporcionalmente maior nos suplementados, com destaque ao grupo w-3+nado, apesar de o controle+nado também ter apresentado diminuição. No ensaio de 1,0g/kg/dia, todos os grupos apresentaram diminuição, que foi maior, no w-3+nado e, a seguir, no w-3. Quanto aos triglicérides, foram encontradas reduções em todos os grupos experimentais do protocolo de 0,5g/kg/diano último dia, enquanto que, no de 1,0g/kg/dia, a diminuição foi significativa nos grupos w-3 e w-3+nado. Quanto ao HDL-colesterol, no protocolo de 0,5g/kg/dia, foi encontrado aumento nos animais que não foram suplementados, enquanto que em todos os grupos de 1,0g/kg/dia houve uma diminuição do HDL-colesterol. Estudos adicionais com outras doses também são necessários para a compreensão da relação entre a ingestão de óleo de peixe e as concentrações de lipídeos sanguíneos.

Palavras-chave: ácidos graxos ômega-3, lipídeos sanguíneos, nado, ratos.

ABSTRACT

The imbalance in blood lipid concentrations has been related to atherosclerotic processes with it also being postulated that the intake of fish oil might interfere in such an alteration. The objective of the present study was to investigate the effects of fatty acid w-3 supplementation, at doses of 0.5 and 1.0g/kg/day, on blood lipids of Wistar male rats subjected or not to a swim test. In the 0.5g/kg/day protocol, when final values of each experimental group were compared to initial ones, regarding total cholesterol concentrations, a proportionally larger significant reduction was observed in the supplemented animals, mainly in the w-3+swim group, although control+swim also presented a decrease. In the 1.0g/kg/day experiment, all groups presented a decrease, which was larger, respectively, in w-3+swim, followed by w-3. As for triglycerides, decreases were found in all experimental groups of the 0.5g/kg/day protocol, on the last day, whereas in the 1.0g/kg/day protocol, the decrease was significant in groups w-3 and w-3+swim. As for the HDL-cholesterol, in the 0.5g/kg/day protocol, an increase was found in animals that were not supplemented, whereas in all 1.0g/kg/day groups there was a decrease of HDL-cholesterol. Further studies, including other doses, are necessary to understand the relationship between fish oil intake and blood lipid concentrations.

Keywords: Omega-3 fatty acids, blood lipids, swim, rats.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Justificativa	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	Ácidos graxos	18
<u>2.1.1</u>	<u>Classificação</u>	<u>18</u>
<u>2.1.2</u>	<u>Ácidos graxos essenciais</u>	<u>19</u>
<u>2.1.3</u>	<u>Ácidos graxos ômega</u>	<u>20</u>
2.2	Ácidos graxos e resposta inflamatória	23
<u>2.2.1</u>	<u>Processos inflamatórios em doenças</u>	<u>27</u>
2.3	Interferência do ômega-3 nos lipídeos sanguíneos	31
2.4	Exercícios físicos	37
<u>2.4.1</u>	<u>Estudos realizados com animais submetidos ao exercício</u>	<u>39</u>
3	OBJETIVOS	41
3.1	Objetivo geral	41
3.2	Objetivos específicos	41
4	MÉTODO	42
4.1	Animais	42
4.2	Análise da ração	42
<u>4.2.1</u>	<u>Umidade</u>	<u>43</u>
<u>4.2.2</u>	<u>Cinzas</u>	<u>44</u>
<u>4.2.3</u>	<u>Lipídeos</u>	<u>44</u>
<u>4.2.4</u>	<u>Proteínas</u>	<u>45</u>
<u>4.2.5</u>	<u>Carboidratos</u>	<u>46</u>
4.3	Tratamento com ácido graxo ômega-3	46
<u>4.3.1</u>	<u>Grupos experimentais</u>	<u>47</u>
4.4	Teste do nado	47
4.5	Avaliação dos parâmetros fisiológicos	48
<u>4.5.1</u>	<u>Ingestão alimentar</u>	<u>48</u>
<u>4.5.2</u>	<u>Peso corporal</u>	<u>48</u>
4.6	Coleta de sangue	48
4.7	Análise bioquímica do sangue	49
4.8	Sacrifício e dissecação dos animais	49
4.9	Análise estatística	50
5	RESULTADOS	51
5.1	Composição centesimal da ração comercial	51
5.2	Ingestão alimentar	52

5.3	Peso dos animais	55
5.4	Avaliação dos parâmetros bioquímicos	57
<u>5.4.1</u>	<u>Colesterol total.....</u>	<u>58</u>
<u>5.4.2</u>	<u>Triglicerídeos.....</u>	<u>62</u>
<u>5.4.3</u>	<u>HDL-colesterol</u>	<u>66</u>
5.5	Peso do fígado	68
6	DISCUSSAO	70
7	CONCLUSÃO.....	84
	REFERÊNCIAS	85

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Composição centesimal da ração comercial da marca FRI-RIBE S.A. fornecido pelo Biotério Central da UFSC..... 51
- Tabela 2 - Composição em ácidos graxos da ração comercial da marca FRI-RIBE S.A. fornecido pelo biotério central da UFSC..... 52
- Tabela 3 - Estimativa de consumo médio diário de ração comercial (g), nos diferentes grupos experimentais..... 53
- Tabela 4 – Estimativa de consumo diário de macronutrientes e composição de ácidos graxos advindos da ração comercial (g), por animal, nos diferentes experimentos.....53
- Tabela 5 – Concentrações plasmáticas de colesterol total (mg/dl) de ratos submetidos à administração, por gavagem, de ácidos graxos w-3, na dose de 0,5g/kg/dia ou 1,0g/kg/dia ou água e submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam as médias \pm EPM de 10 a 12 animais por grupo. 62
- Tabela 6– Concentrações plasmáticas de triglicerídeos (mg/dl) de ratos submetidos à administração, por gavagem, de ácidos graxos w-3, na dose de 0,5g/kg/dia ou 1,0g/kg/dia ou água e submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam as médias \pm EPM de 10 a 12 animais por grupo. 66
- Tabela 7 – Concentrações plasmáticas de HDL-colesterol (mg/dl) de ratos submetidos à administração, por gavagem, de ácidos graxos w-3, na dose de 0,5g/kg/dia ou 1,0g/kg/dia ou água e submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam as médias \pm EPM de 10 a 12 animais por grupo. 68

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Estrutura química do ácido oléico, ácido linoléico e α -linolênico. 20
- Figura 2 – Esquema do metabolismo dos ácidos graxos linoléico (esquerda) e α -linolênico (direita). 21
- Figura 3 – Esquema da produção de eicosanóides a partir do ácido araquidônico (AA) e do ácido eicosapentanoico (EPA). LT – leucotrienos; PG – prostaglandinas, TX – tromboxanos. 25
- Figura 4 - Peso corporal médio (g) de ratos a serem submetidos à administração de gavagem diária de ácido graxo ω -3 (w-3), na dose de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B), ou água, e, a serem submetidos ou não ao teste do nado, por 28 dias. Os resultados representam a média \pm EPM de 10-12 animais por grupo, antes de qualquer procedimento experimental (ANOVA + Tukey). 55
- Figura 5 - Efeito da administração de ácido graxo ω -3 (w-3), por gavagem, na dose de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B), ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado, após 28 dias, no peso corporal (g). Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. *p<0,05 comparado ao grupo basal e controle (ANOVA + Tukey). 56
- Figura 6 - Efeito da administração de ácido graxo ω -3 (w-3), por gavagem, na dose de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B), ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado, por 28 dias, no ganho de peso (g). Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. *p<0,05 comparado ao grupo basal e w-3; ** p<0,05 comparado ao grupo w-3; *** p<0,05 comparado ao basal e controle (ANOVA + Tukey). 57
- Figura 7 – Concentrações plasmáticas de colesterol total (mg/dl), no tempo zero, de ratos a serem submetidos à administração de gavagem diária de ω -3 (w-3), na doses de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B), ou água, e, a serem submetidos ou não ao teste do nado durante 28 dias. Os valores representam a média \pm EPM 10-12 animais por grupo (ANOVA + Tukey). 58
- Figura 8 - Efeito da administração de ácido graxo ω -3 (w-3), por gavagem, na dose de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B), ou água, em ratos a serem submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias, sobre as concentrações plasmáticas de colesterol total (mg/dl), no último dia dos procedimentos experimentais. Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * p<0,05 comparado ao grupo basal. (ANOVA + Tukey). 59

- Figura 9 – Concentrações plasmáticas de colesterol total (mg/dl), antes (início) e após (final) os procedimentos experimentais, para avaliar o efeito da administração de ácidos graxos w-3, por gavagem, na dose de 0,5g/kg/dia ou água, de ratos submetidos ou não ao teste do nado por 28 dias. A: grupo controle+nado, que recebeu água por gavagem e foi submetido ao teste do nado; B: grupo w-3, não submetido ao teste do nado; C: grupo w-3+nado, tratado com ácido graxo w-3 e submetido ao teste do nado. * p<0,05 comparado ao início (teste t de Student). 60
- Figura 10 – Concentrações plasmáticas de colesterol total (mg/dl), antes (início) e após (final) os procedimentos experimentais, para avaliar o efeito da administração de ácido graxo w-3, por gavagem, na dose 1,0g/kg/dia ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado por 28 dias. A: grupo basal, sem tratamento e não submetido ao teste do nado; B: grupo controle, que recebeu água por gavagem e não foi submetido ao teste do nado; C: grupo controle+nado, que recebeu água por gavagem e foi submetido ao teste do nado; D: grupo w-3, não submetido ao nado; E: grupo w-3+nado, tratado com ácido graxo w-3 e submetido ao nado. *p<0,05 comparado ao início (teste t de Student). 61
- Figura 11– Concentrações plasmáticas de triglicerídeos (mg/dl), no tempo zero, de ratos a serem submetidos à administração de gavagem diária de ácido graxo ômega-3 (w-3), na doses de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B) ou água, e a serem submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam a média ± EPM de 10-12 animais por grupo (ANOVA + Tukey). 62
- Figura 12 - Efeito da administração de ácido graxo ômega-3 (w-3), por gavagem, na dose de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B), ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias, sobre as concentrações plasmáticas de triglicerídeos (mg/dl), no último dia dos procedimentos experimentais. Os resultados são expressos como média ± EPM de 10-12 animais por grupo. * p<0,05 comparado com o grupo basal (ANOVA + Tukey). 63
- Figura 13 – Concentrações plasmáticas de triglicerídeos (mg/dl), antes (início) e após (final) os procedimentos experimentais, para avaliar o efeito da administração de ácido graxo w-3, por gavagem, na dose de 0,5g/kg/dia ou água, de ratos submetidos ou não ao teste do nado por 28 dias. A: grupo basal, sem tratamento e não submetidos ao teste do nado; B: grupo controle, que recebeu água por gavagem e não foi submetido ao teste do nado; C: grupo controle+nado, que recebeu água por gavagem e foi submetido ao teste do nado; D: grupo w-3 não submetido ao teste do nado; E: grupo w-3+nado, que recebeu ácidos graxos w-3 por gavagem e foi submetido ao nado.* p<0,05 comparado ao início (teste t de Student). 64
- Figura 14 – Concentrações plasmáticas de triglicerídeos (mg/dl), antes (início) e após (final) os procedimentos experimentais, para avaliar o efeito da administração de ácido graxo w-3, por gavagem, na dose de 1,0g/kg/dia ou água, de ratos submetidos ou não ao teste do nado por 28 dias. A: grupo basal, sem tratamento e não submetido ao teste do nado; B: grupo w-3, não submetido ao teste do nado; C: grupo w-3+nado que recebeu ácidos graxos w-3 por gavagem e foi submetido ao nado. * p<0,05 comparado ao início (teste t de Student). 65

- Figura 15– Concentrações plasmáticas de HDL-colesterol (mg/dl), no tempo zero, de ratos a serem submetidos à administração de gavagem diária de ácido graxo ômega-3 (w-3), nas doses de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B) ou água, e a serem submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam a média \pm EPM de 10-12 animais por grupo (ANOVA + Tukey). 66
- Figura 16 – Efeito da administração de ácido graxo ômega-3 (w-3), por gavagem, na dose de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B), ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias, sobre as concentrações plasmáticas de HDL-colesterol (mg/dl), no último dia dos procedimentos experimentais. Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo basal (ANOVA + Tukey). 67
- Figura 17- Efeito da administração de ácido graxo ômega-3 (w-3), por gavagem, na dose de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B), no peso do fígado (g) de ratos, submetidos ou não ao teste do nado, por 28 dias. Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo w-3; ** $p < 0,05$ comparado aos grupos basal, controle e w-3 (ANOVA + Tukey). 69

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidônico
AG	Ácido(s) Graxo(s)
AGMI	Ácido Graxo Monoinsaturado
AGPI	Ácido Graxo Poliinsaturado
ApoB	Apolipoproteína B
CHO	Carboidratos
CT	Colesterol Total
CT:HDL-col	Relação Colesterol Total / HDL-colesterol
DHA	Ácido Docosahexanóico
EPA	Ácido Eicosapentanóico
GLA	Ácido Gama Linoléico
GSH	Glutationa Peroxidase
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de Alta Densidade)
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de Baixa Densidade)
LDL:HDL	Relação LDL-colesterol/HDL-colesterol
LIP	Lípídeos
LPL	Lípase Lipoprotéica
LT	Leucotrienos
LTB4	Leucotrieno da série B4
mg	miligramas
µg	microgramas
PAF	Fator de Agregação Plaquetária
PG	Prostaglandinas
PPARs	Receptor Ativado por proliferadores de peroxissoma
PTN	Proteínas
TG	Triglicerídeos
TX	Tromboxanos
VCAM-1	Moléculas de adesão de células vasculares -1
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade)
w-3	Ácidos Graxos Ômega-3
w-6	Ácidos Graxos Omega-6

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos (AG) ômega-3 (w-3), obtidos através da dieta alimentar, são essenciais à saúde humana e não podem ser sintetizados em tecidos de mamíferos. Estudos sugerem que o consumo adequado desses AG esteja relacionado à prevenção de doenças cardiovasculares, sendo proposto que possam melhorar o perfil lipídico plasmático (SOCCOL; OETTERER, 2003), beneficiar pacientes com arritmias cardíacas, diminuir processos inflamatórios, apresentar propriedades antitrombóticas (KRIS-ETHERTON et al., 2000; COVINGTON, 2004) e efeitos antiateroscleróticos (MIDDAUGH, 1990; ERISTLAND et al., 1994; DE CATARINA; ZAMPOLLI, 2001).

As doenças cardiovasculares têm sido consideradas um dos mais significativos problemas de saúde no mundo devido à alta taxa de mortalidade dos portadores. Essas patologias (vasculopatias, coronariopatias, arritmias, trombose) foram responsáveis pela morte de 70% a 80% dos indivíduos acima de 65 anos, no final da década de 90 (ÁGUILA; APFEL; MANDARIM-DE-LACERDA, 1997).

Sugere-se que os hábitos relacionados ao estilo de vida, como as dietas desequilibradas nutricionalmente (por exemplo, ricas em gordura saturada, trans, colesterol e pobres em fibras, gorduras polinsaturadas e monoinsaturadas) e o sedentarismo são fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (LIMA et al., 2000; GUEDES; GUEDES, 2001). Baró et al. (2003) consideram que são vários os fatores de risco influenciados pela má alimentação e associados com as doenças cardiovasculares, sendo ressaltada a concentração aumentada de colesterol total (CT) e LDL-colesterol (LDL-col) e baixas concentrações de HDL-colesterol (HDL-col).

A relação entre os lipídeos e as doenças cardiovasculares tem sido estudada desde 1847, quando Vogel detectou a presença de colesterol nas placas de atheroma (LIMA et al.,

2000). O desequilíbrio no metabolismo lipídico parece predispor ao desenvolvimento da aterosclerose, visto que os fatores dietéticos, como dietas ricas em gordura saturada, trans ou colesterol, desempenham um papel importante, pois podem proporcionar a progressão da doença (BITTENCOURT JUNIOR; SENNA, 2002).

É sabido que as dietas que contêm altas concentrações de gorduras saturadas e colesterol aumentam significativamente as concentrações de CT e LDL-col e estão relacionadas com o aumento da incidência de infarto do miocárdio, sendo os AG láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) os que apresentam maior relação com o aumento do colesterol sérico (HU et al., 1999). Pressupõe-se que, quando estes AG saturados (AGS) são substituídos na dieta por AG poliinsaturados (AGPI) ou monoinsaturados (AGMI), ocorra uma melhora no perfil lipídico, o que, por sua vez, teria um efeito benéfico sob ponto de vista cardíaco. Atualmente, têm merecido destaque os efeitos dos AG w-3 sobre o sistema cardiovascular (ÁGUILA; APFEL; MANDARIM-DE-LACERDA, 1997), havendo ainda, no entanto, considerável controvérsia concernente à relativa importância dos AGPI na prevenção de doenças cardiovasculares.

Além disso, estudos desenvolvidos tanto em humanos quanto em animais têm revelado uma associação negativa entre a ingestão de AGMI e AGPI e a incidência de doenças cardiovasculares (LIMA et al., 2000). Trabalhos desenvolvidos com óleo de peixe (fonte de w-3) e azeite de oliva (fonte de ômega-9) parecem demonstrar efeitos positivos sobre o sistema cardiovascular, como nas dislipidemias e nas arritmias. Por sua vez, o consumo excessivo de AG linoléico (w-6) ou AGS parece estar relacionado com a predisposição a processos inflamatórios, com a formação de trombos e, conseqüentemente, ao aumento do processo aterosclerótico (VENKATRAMAN et al., 1998; COVINGTON, 2004).

Atualmente, a população ocidental apresenta uma dieta com elevado consumo de AGS e w-6. Tem sido sugerido que esse padrão alimentar poderia reduzir a eficiência do ácido alfa-

linolênico (w-3), e que as grandes proporções de AGS e/ou w-6 poderiam interferir na eficácia da conversão do w-3 em ácido eicosapentanóico (EPA) e ácido docosahexanóico (DHA) (LAIDLAW; HOLUB, 2003).

Por outro lado, alguns estudos demonstraram um aumento na peroxidação lipídica e um aumento na produção de radicais livres, quando consumidas maiores quantidades de AGPI (w-3 ou w-6) e quando comparados ao consumo elevado de AGMI ou AGS. Além disso, é considerado que aumentos significativos na peroxidação lipídica da parede arterial e um aumento nas concentrações de LDL-col, com conseqüente comprometimento da função endotelial, pode favorecer o desenvolvimento da aterosclerose (JORGE et al., 1997).

A prática de exercícios físicos também tem sido apontada como essencial na prevenção de doenças cardiovasculares. É preconizado que os exercícios físicos praticados na intensidade leve a moderada possam beneficiar os indivíduos, destacando-se o fato de propiciarem a diminuição da adiposidade corporal e a melhora do perfil lipídico dos indivíduos (DURANT; LINDER; MAHONEY, 1983), além de contribuir com o sistema de defesa antioxidante (KIRAN; SUBRAMANYAM; DEVI, 2004).

Assim, de acordo com o apresentado, supõe-se que a prática regular de exercícios físicos e o consumo de dietas adequadas podem auxiliar na prevenção de doenças cardiovasculares (GUEDES; GUEDES, 2001).

1.1 Justificativa

Existe controvérsia no que diz respeito aos benefícios do consumo aumentado de AG w-3 sobre a função cardiovascular e seus fatores de risco como as dislipidemias, ocorrendo uma grande variabilidade nas respostas encontradas nos diferentes estudos (ARTEAGA et al.,

1993). Esses resultados contraditórios podem ter ocorrido, pelo menos em parte, devido aos diferentes ensaios biológicos, além das distintas doses de lipídeos utilizadas, em combinação ou não com antioxidantes.

Os trabalhos com humanos tornam-se difíceis por apresentarem uma enorme variabilidade genética e grande dificuldade no controle da dieta alimentar. O animal mais adequado para a utilização em modelos experimentais é o porco, pois apresenta o metabolismo das lipoproteínas semelhante ao do ser humano. Os hamsters também são considerados bons modelos animais para avaliar o metabolismo de lipoproteínas, em razão de sua semelhança com humanos (HARRIS, 1997), assim como os coelhos, que são considerados bons modelos para essa avaliação (FRAGOSO; BROWN, 1998) – apesar de pequenas diferenças no metabolismo das lipoproteínas, especialmente na produção de VLDL, é considerada conveniente para modelos para aterosclerose, que é fácil e rapidamente induzida nessa espécie (DE CATARINA; ZAMPOLLI, 2001).

Em virtude da dificuldade de manipulação e do pequeno espaço disponível, a utilização das espécies animais acima citadas tornou-se inviável; assim, foram utilizados ratos no presente estudo.

O teste do nado é utilizado para avaliar adaptações cardiovasculares induzidas pelo exercício em animais, e pode ser utilizado em ratos por serem considerados bons nadadores (GEENEN; BUTTRICK; SCHEURER, 1988).

A proposta do presente estudo foi a de analisar e comparar a relação entre a suplementação de AG w-3 e as concentrações de lipídeos sanguíneos em ratos submetidos ou não ao exercício físico, no caso, o teste do nado. Destaca-se que são raros os estudos na literatura que relacionam, especificamente, os três parâmetros: o consumo de AG w-3, o teste do nado e as concentrações plasmáticas de lipídeos – colesterol total, triglicerídeos e HDL-

colesterol – em animais experimentais (VENKATRAMAN et al., 1998; PELLIZZON et al., 2002, QUILLES et al., 2003; ESTADELLA et al., 2004).

As alterações nas concentrações plasmáticas de lipídeos podem contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, consideradas graves problemas de saúde pública, e que, atualmente, apresentam um aumento progressivo, elevando os índices de mortalidade e prejudicando a qualidade de vida.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ácidos graxos

Os ácidos graxos (AG) são compostos insolúveis em água e ricos em energia, podendo fornecer 9 quilocalorias por grama. São indispensáveis na alimentação humana: além da função energética, eles conferem sabor, sensação de saciedade, veiculam vitaminas lipossolúveis e exercem também funções estruturais e hormonais nos seres vivos (SANTOS, 1998).

2.1.1 Classificação

Os AG são ácidos carboxílicos que geralmente apresentam uma cadeia carbônica longa, não ramificada, com número par de átomos de carbono. De acordo com o número de átomos de carbono, os AG podem ser classificados como: a) AG de cadeia curta (4 – 6 carbonos); b) AG de cadeia média (8 – 12 carbonos); c) AG de cadeia longa (14 – 18 carbonos); e d) AG de cadeia muito longa (20 carbonos ou mais) (POMPÉIA, 2002, MATAIX, 2002).

Os AG podem ser classificados como saturados (AGS) ou insaturados. Os AG insaturados são ainda subdivididos nas categorias monoinsaturados (AGMI) (uma única dupla ligação) ou poliinsaturados (AGPI) (mais de uma dupla ligação). Nos AG de ligações simples (AGS), a disposição espacial da molécula apresenta-se na forma *trans*, enquanto que as duplas ligações adotam quase sempre uma conformação *cis*. Essas diferentes conformações modificam o ângulo espacial da estrutura, e as duplas ligações são responsáveis pelo aparecimento de uma curvatura na molécula, o que modifica a conformação dos triglicerídeos (TG) e fosfolipídios da membrana. Essa modificação angular é responsável ainda pela

alteração das propriedades biológicas dos diferentes AG, face ao papel exercido por certos AG, como nos processos metabólicos e no sistema imune. Na membrana plasmática, o aumento da concentração de AGPI repercute na melhora da permeabilidade e fluidez da membrana (INNIS, 1991; MATAIX, 2002).

Os AGPI podem ainda passar por transformação química – a hidrogenação – e apresentar moléculas de hidrogênios ligados aos carbonos de uma insaturação em lados opostos, tornando-se com conformação *trans* (MARTIN; MATSHUSHITA; SOUZA, 2004). Tem sido demonstrado que o consumo aumentado de AG *trans* através dos alimentos ocasiona malefícios à saúde humana, entre os quais destaca-se o aumento nas concentrações plasmáticas de LDL-colesterol (MENSINK; KATAN, 1990; LICHTENSTEIN et al., 1999), além da inibição das enzimas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ desaturase, bloqueando o metabolismo dos AG essenciais (KIRSTEIN; HOY; HOLMER, 1983).

2.1.2 Ácidos graxos essenciais

Os AG essenciais são o ácido α -linolênico e o ácido linoléico. O uso do termo “essencial” refere-se ao fato de os AG desempenharem importantes funções e não poderem ser sintetizados pelo organismo por meio de substâncias denominadas precursoras (COVINGTON, 2004). Pela falta de AG essenciais podem ocorrer sérias deficiências orgânicas, como problemas dermatológicos, neurológicos e visuais (POMPÉIA, 2002).

Os AG essenciais do tipo ômega-3 (w-3) e ômega-6 (w-6) compõem a formação de estruturas de membranas e da matriz estrutural de todas as células, podendo influenciar várias funções relacionadas à membrana, como a ligação de hormônios associada a transportadores e enzimas, e participar no crescimento e desenvolvimento da estrutura de neurônios e na síntese da bainha de mielina (BURR; BURR, 1930; INNIS, 1991; HOLMAN, 1998).

2.1.3 Ácidos graxos ômega

Os AG da família ômega têm essa denominação devido à posição metila na molécula do AG, correspondendo à distância entre o radical metila terminal e a primeira dupla ligação da molécula (ligação ômega). Os principais representantes desse grupo são o ω -3 (ácido α -linolênico), o ω -6 (ácido linoléico e ácido araquidônico) e o ômega-9 (ácido oléico) (MATAIX, 2002).

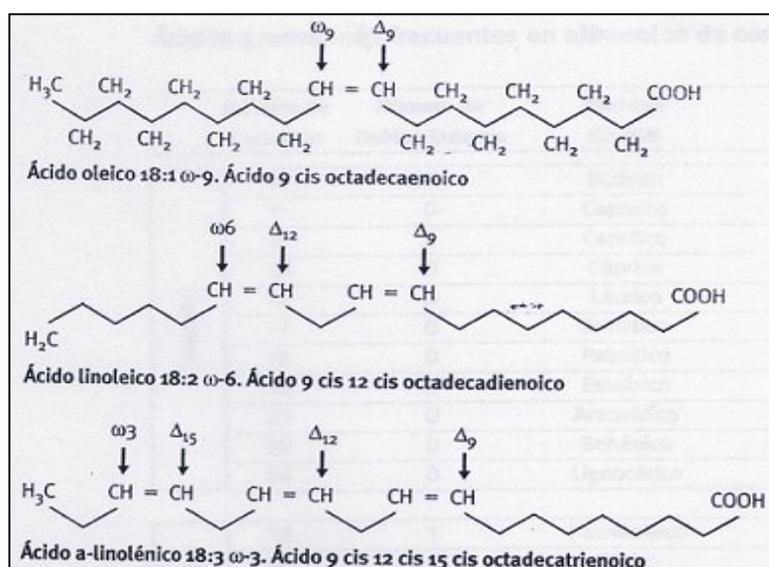


Figura 1 – Estrutura química do ácido oléico, ácido linoléico e α -linolênico.
Fonte: Mataix, 2002, p.16.

2.1.3.1 Ácidos graxos ômega-3

Os AG essenciais ω -3 são caracterizados pela presença de uma dupla ligação no carbono 3. Existem 2 subgrupos do ω -3, um derivado de óleos vegetais, compostos por 18 átomos de carbono e 3 duplas ligações, denominado ácido α -linolênico, e outro subgrupo derivado dos óleos de peixe, composto em sua maioria de eicosapentanóides (EPA-20:5n-3) e

docosahexanóides (DHA – 22:6n-3) (HEPBURN; EXLER; WEIHRAUCH, 1986; SCHMIDT et al., 2001). O subgrupo composto pelo EPA e DHA também pode ser formado, no organismo humano, a partir de dessaturação e alongamento da cadeia do ácido α -linolênico, porém essa conversão no homem ocorre de forma lenta. A cascata de eventos do metabolismo dos AG linoléico e α -linolênico pode ser visualizada na Figura 2.

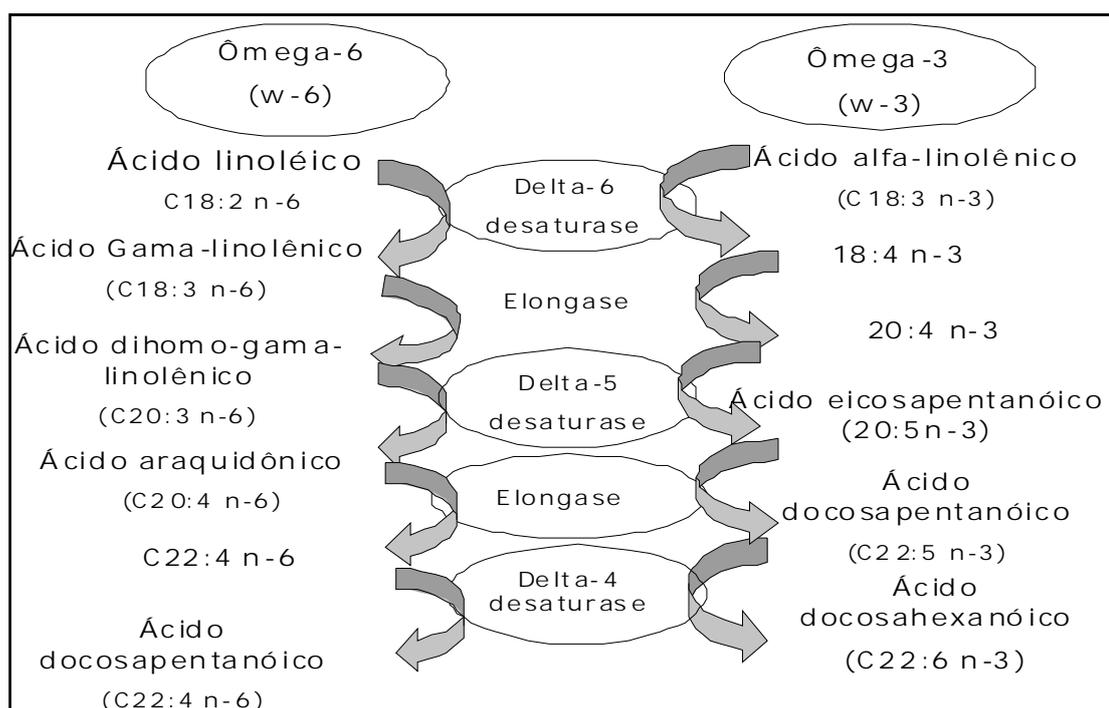


Figura 2 – Esquema do metabolismo dos ácidos graxos linoléico (esquerda) e α -linolênico (direita).
Fonte: Adaptado de De Catarina e Basta (2001, p. 44).

Como fontes vegetais consideráveis de AG w-3 destacam-se os óleos de gérmen de trigo (6,9%), de soja (7%), de canola (10%), de nozes (10,4%) e de linhaça (53%) (percentual proporcional à concentração total de lipídeos do alimento) (SIMOPOULOS, 2001; SOCCOL; OETTERER, 2003). Nos peixes, os AG w-3 são encontrados em maiores concentrações nos marinhos que são provenientes de águas frias e profundas, com a quantidade de w-3: 1 a 2 g no salmão, 0,5 g na truta e no atum e 0,5 g a 1,6 g na sardinha em cada 100g de peixe (SCHMIDT et al., 2001).

Os AG w-6 são geralmente consumidos na forma de ácido linoléico, transformado em γ -linoléico e após em ácido araquidônico (AA). Em humanos os AG w-3 não são convertidos em AG w-6, e sua presença e concentração (falta ou excesso) influenciam no metabolismo dos AG w-6; da mesma forma, os AG w-6 não podem ser convertidos em w-3, mas influenciam no seu metabolismo, por utilizarem a mesma via metabólica, regida pela atividade da enzima Δ -6-desaturase. Portanto, o consumo de w-3/w-6 deve ser equilibrado (TULEY, 1995).

A recomendação do consumo de AGPI, principalmente no que se refere aos AG w-3, é ainda controversa. Segundo as DRI's (*Dietary Reference Intakes*), o consumo de AG w-3 deve perfazer 0,6% - 1,2% do consumo energético total diário (TRUMBO et al., 2002). No Brasil, a Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN) sugere que o consumo de w-6 perfaça de 1% a 2% do consumo total energético da dieta, enquanto que os AG w-3 devem compreender de 10% a 20% dos AGPI da dieta (VANNUCCHI et al., 1990). Nos Estados Unidos, recomenda-se o consumo de AGPI na proporção de 10 partes de AG w-6 para 1 parte de AG w-3. No Canadá, a recomendação cai para a proporção de 4:1 (LIMA, et al. 2000). As novas recomendações da *American Heart Association* (AHA, Associação Americana do Coração) sugerem o consumo de 0,5g/dia a 1,8g/dia de EPA+DHA ou o consumo de 1,5g/dia a 3g/dia de ácido α -linolênico. A AHA recomenda também que adultos saudáveis devem consumir peixe duas vezes na semana. Foi sugerido que os indivíduos com doenças cardiovasculares (arritmias, hipertensão, coronariopatias, entre outras) deveriam suplementar sua alimentação com 1g de EPA+DHA por dia, e pacientes com hipertrigliceridemia deveriam consumir de 2g/dia a 4g/dia de EPA+DHA (KRIS-ETHERTON; HARRIS; APPEL, 2003). Ressalta-se que a relação de consumo atual, nos países ocidentais, alcança 20 partes de w-6 para apenas 1 de w-3, demonstrando assim que há um consumo desequilibrado desses AG (LIMA et al., 2000).

Os AG w-3 e w-6, por fazerem parte de estruturas de membranas, competem pela incorporação dos AG nos fosfolipídios de membrana. A afinidade de incorporação obedece à seguinte ordem: ácido linolênico (w-3), ácido linoléico (w-6) e ácido oléico (w-9). O ácido eicosapentanóico (EPA) e o ácido araquidônico (AA) também podem ser incorporados aos fosfolipídios, mas os AG EPA têm maior afinidade para tal, melhorando a permeabilidade e a fluidez da membrana celular (MURPHY, 1990).

Vários estudos têm demonstrado efeitos benéficos do w-3 por diminuírem a sintomatologia ou até a progressão de várias doenças, como as cardiovasculares (FAN; RAMOS; CHAPKIN, 2001; LEMAITRE et al., 2003), as dislipidemias (MORVAN et al., 2002; PARK; HARRIS, 2003; PAN et al., 2004), as doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatóide (VENKATRAMAN; CHU, 1999), a colite ulcerativa (CAMPOS et al., 2002) e a depressão (PEET; HORROBIN, 2002), entre outras (VENKATRAMAN, et al., 1998).

Deve-se ressaltar que doses excessivas de w-3 podem ser deletérias para a saúde pelo fato de esse lipídeo suprimir a produção de agentes inflamatórios, podendo levar a uma diminuição exagerada da resposta do sistema imunológico (AZEVEDO et al., 2002), diminuir a coagulação sanguínea e ainda aumentar o tempo de sangramento (THORNGREN; SHAFI; BORN, 1984; CLARKE et al., 2005).

2.2 Ácidos graxos e resposta inflamatória

A inflamação pode ser definida como a reação de um tecido vivo vascularizado a um dano localizado, e tem um papel tanto nas reações normais de reparo quanto na patogenia da doença (DE CATARINA; BASTA, 2001). As inflamações podem ser agudas (durando minutos ou horas), com liberação de proteínas no plasma e migração de leucócitos, ou crônicas (com duração longa), histologicamente associadas à presença de linfócitos e

macrófagos (DE CATERINA; BASTA, 2001). Podem ser ainda divididas em dois tipos: a) reações inflamatórias causadas por agentes não específicos e b) reações inflamatórias imuno-mediadas, associadas intimamente com inflamações crônicas, como ocorre na artrite reumatóide, psoríase, aterosclerose, asma e doença inflamatória intestinal, entre outras (POMPÉIA; PROCOPIO; CURI, 1999).

A resposta inflamatória é controlada por componentes celulares e moleculares, incluindo neste último os lipídeos, como os eicosanóides produzidos nas vias metabólicas do AA, que abrangem produtos da via da ciclooxygenase – as prostaglandinas (PG) e os tromboxanos (TX) – e da via da lipooxygenase – os leucotrienos (LT) e as lipoxinas (AZEVEDO et al., 2002; NATHOO; BARNETT; GOLUBIC, 2003). A maior parte dos eicosanóides são derivados do AA, mas alguns são formados a partir do ácido di-homo-gama-linolênico e outros do ácido eicosapentanóico. Esses eicosanóides apresentam uma série de efeitos sobre o organismo, agindo sobre os sistemas cardiovascular, renal, digestivo, reprodutor e imune, entre outros (DE CATERINA; BASTA, 2001).

As prostaglandinas são mediadores inflamatórios, e sua produção pode ser alterada pela dieta alimentar ou pela redução da atividade da enzima $\Delta 6$ -desaturase. As PG são responsáveis pela modulação de secreções do sistema digestivo, reprodutivo, circulatório e imune (RIBEIRO, 1990).

Os leucotrienos são moduladores lipídicos bioativos, formados a partir das lipoxigenases, que, quando produzidos pelo AA (série 4), apresentam efeito similar ao dos tromboxanos, que mostram ação na vasoconstrição. Estão envolvidos em funções pulmonares por sua ação bronco-constritora (asma e alergias), na quimiotaxia, em respostas inflamatórias e em funções imunológicas (STEJERNSCHANTZ, 1984).

Existem PG, TX e LT de várias séries produzidos no organismo, e alguns deles podem apresentar maior potencial inflamatório que outros. A suplementação com w-3 parece criar

uma competição entre EPA e AA como precursora da síntese de PG, LT e TX. Essa competição entre AG w-3 e AA ocorre na via da 5-lipoxigenase e suprime a formação dos mediadores pró-inflamatórios como LT da série 4 e TX da série 2, favorecendo a produção das séries com menor potencial inflamatório como as séries 5 e 3 (Quadro 3) (CALDER, 1996).

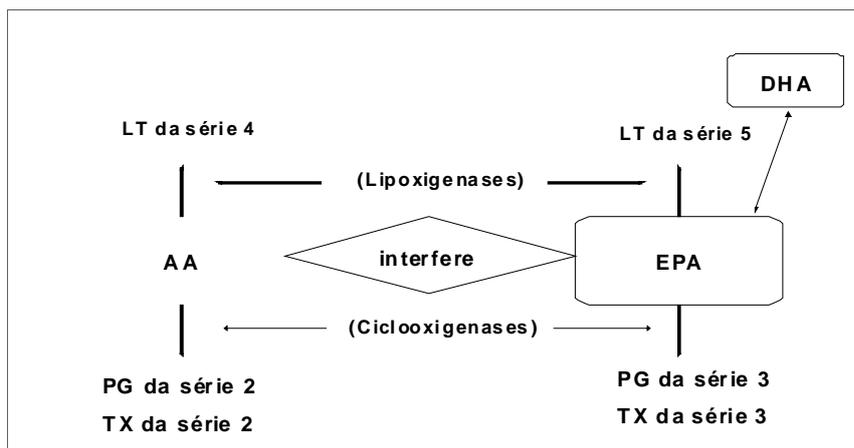


Figura 3 – Esquema da produção de eicosanóides a partir do ácido araquidônico (AA) e do ácido eicosapentanoico (EPA). LT – leucotrienos; PG – prostaglandinas, TX - tromboxanos.

Fonte: Adaptado de De Catarina e Basta, 2001, p.D46.

A liberação de LT da série B4 (LTB₄) fica diminuída em dietas ricas em w-3, o que pode ser benéfico em determinadas situações, pois esse mediador induz a liberação de enzimas lisossomais, a geração de espécies reativas de oxigênio e a agregação de neutrófilos e monócitos, bem como o aumento da resposta quimiotática de eosinófilos em humanos. Além disso, essas dietas parecem inibir a autoamplificação da resposta inflamatória pela diminuição da produção de LTB₄, devido à inativação da enzima formadora desse LT e pela inibição da quimiotaxia induzida por LTB₄ e do fator de agregação plaquetária (PAF) (DE CATARINA; BASTA, 2001; AZEVEDO et al., 2002).

A fosfolipase A2 é a enzima-chave para o metabolismo dos eicosanóides, pois está envolvida na liberação do AA livre na posição Sn-2 da membrana dos fosfolipídeos. O EPA também compete com o AA pelas enzimas lipooxigenase e ciclooxigenase, responsáveis pela

regulação dos sinais pró-inflamatórios. Além disso, o EPA inibe o fator de transcrição nuclear Kappa- β (NFk- β), resultando na diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF) (DE CATARINA; BASTA, 2001; JHO et al., 2004).

Esses efeitos dos AG w-3 na diminuição da produção de eicosanóides e citocinas pró-inflamatórias pode ser observado no estudo desenvolvido por Mickeborough et al. (2003), em que 10 atletas de elite foram suplementados com óleo de peixe (3,2gEPA+ 2,2gDHA) por 3 semanas e submetidos à prática diária de corrida até à exaustão. Após esse período foi avaliada a concentração de LT na urina e de interleucinas e TNF- α no sangue. Foi constatado que a produção de eicosanóides (LTE4, PGD2, LTB4) e citocinas proinflamatórias (TNF- α e IL-1B) foram diminuídos com a suplementação de óleo de peixe, sendo sugerido que esse óleo tenha um efeito benéfico na redução da indução da broncoconstrição causada pelo exercício físico. Posteriormente, os mesmos indivíduos receberam suplementação com a mesma dose de óleo de oliva, e foram novamente submetidos ao mesmo protocolo de exercício. Então foi constatado que, com o tratamento com o óleo de oliva, os valores de citocinas pró-inflamatórias e dos LT foi semelhante ao valor inicial encontrado antes da suplementação com óleo de peixe. Com isso pode-se aventar que atletas de elite ou de endurance serão beneficiados com alterações na dieta que incluam uma maior ingestão de óleo de peixe. Além disso, atletas de outras modalidades, quando submetidos a treinos intensivos e exaustivos em períodos pré-competitivos também poderiam ser beneficiados com pequenas modificações na alimentação relacionadas a uma maior ingestão de AG w-3.

Além da produção de eicosanóides, os AG podem atuar sobre a inflamação por meio da modulação da atividade de fosfolipases, proteínas quinases, proteínas-G, adenilato e guanilato ciclases, canais iônicos e outros mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta celular. Adicionalmente, os AGPI podem influenciar na ativação de receptores e enzimas

(com papel fundamental na sinalização celular) e interferir na afinidade por hormônios. Os AGPI podem modular a inflamação de distintas formas, uma vez que atuam como ligantes dos receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs), os quais são fatores de transcrição gênica; ainda há, entre outros efeitos, a quebra de LTs, limitando a duração da inflamação (BARBER; ROSS; FEARON, 1998).

2.2.1 Processos inflamatórios em doenças

Os processos inflamatórios, agudos ou crônicos, envolvidos em diferentes doenças, parecem ser modulados por lipídeos. Por sua vez, a ingestão alimentar (quantidade e qualidade) e a nutrição individual (capacidade de absorção, utilização e excreção, que são dependentes da condição orgânica do indivíduo) podem estar relacionados à imunidade (FERNANDEZ; PALLARO; SLOBODIANIK, 2001).

É postulado que, em muitos países, o aumento do consumo de AGPI w-6, aliado ao baixo consumo de AGPI w-3, pode levar a uma maior incidência de doenças inflamatórias crônicas. O consumo de óleo de peixe parece exercer efeitos benéficos na aterosclerose, asma, psoríase, doença de Crohn, colite ulcerativa, queimaduras, adenocarcinomas, artrite reumatóide, entre outras enfermidades. A importância das dietas ricas em w-3 na redução da inflamação crônica deve-se principalmente à competição gerada entre esse AG e o ácido araquidônico, que, na via da 5-lipoxigenase, suprime a formação dos mediadores pró-inflamatórios, como leucotrienos da série 4, tromboxanos e prostaglandinas da série 2, e favorece a produção das séries de menor potencial inflamatório (séries 3 e 5); além disso, o consumo aumentado de w-3 leva à diminuição da infiltração celular, com menor adesão de linfócitos no endotélio, inibição da atividade das células natural killer e redução da produção de IL-2, IL-6, IL-10, IL-12 e TNF- α , importantes mediadores que estimulam o processo

inflamatório (VENKATRAMAN; CHU, 1999; CAMPOS et al., 2002; SIMOPOULOS, 2001; MIZOCK; DEMICHELE, 2004).

Algumas doenças autoimunes, incluindo a artrite reumatóide e o lúpus eritematoso sistêmico, são caracterizadas pelo aumento da aterosclerose e, conseqüentemente, pelos maiores níveis de morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares, por produzirem reações inflamatórias (SHERER; SHOENFELD, 2006).

Na aterosclerose, há um maior número de moléculas de adesão por células endoteliais, o que acarreta a exacerbação da resposta inflamatória, com conseqüente aumento da lesão tecidual (BITTENCOURT JÚNIOR; SENNA, 2002).

Considera-se que o estresse (de forma geral) poderia estimular a aterosclerose, com o aumento da resposta inflamatória, o que, por sua vez, elevaria a concentração de lipídeos plasmáticos, aumentando o risco de modificação dessas partículas, como a oxidação, outros danos endoteliais e maior agregação plaquetária. Portanto, é possível que o estresse em episódios repetidos possa agravar o processo de aterosclerose (BLACK; GARBUTT, 2002).

Por outro lado, o exercício físico crônico, realizado de forma sistemática e contínua, de intensidade leve a moderada, poderia auxiliar na melhora do perfil lipídico e na diminuição do estresse fisiológico e psicológico (FOX; HASKELL, 1968).

2.2.1.1 Aterosclerose

A aterosclerose é um processo de aterogênese caracterizado por uma sucessão de distúrbios nas camadas íntima e média das paredes dos vasos. Apesar de ainda não estar bem compreendida a seqüência dos eventos que levam à aterosclerose, o processo parece ser decorrente de alterações provocadas nas células endoteliais por estímulos como a hipercolesterolemia, a ativação imunológica (como a liberação de substâncias pró-

inflamatórias), a hipertensão e a anóxia, entre outros (ROSS, 1986; SCHMITZ; HANKOWITZ; KOVACS, 1991). Recentemente, estudos têm reforçado a hipótese de que a inflamação está relacionada com a aterosclerose (HANSSON, 2005; SHERER; SHOENFELD, 2006).

Entre os fatores de risco da aterosclerose influenciados pela dieta destacam-se: concentrações plasmáticas aumentadas de CT, LDL-col, hiperhomocisteinemia, hipertensão, diabetes e baixas concentrações plasmáticas de HDL-col e de antioxidantes (BARÓ et al., 2003). A hipercolesterolemia, por sua vez, propicia o espessamento e acúmulo de lipídeos na camada íntima de vasos, que produzem estrias gordurosas e placas de ateroma (NAPOLI et al., 2000).

Existe uma correlação direta entre a incidência e a gravidade de lesões ateromatosas e a concentração plasmática de CT, e em especial a LDL-col, que é o principal fator de risco para o processo aterosclerótico (ROSS, 1986). Por outro lado, a concentração aumentada de HDL no plasma correlaciona-se negativamente com a incidência de aterosclerose (RIDKER; GLYNN; HENNEKENS, 1998).

A partícula de LDL pode ser modificada por oxidação, glicação (diabetes) e agregação, associados com proteínas ou incorporados em imunocomplexos (KHOO et al., 1988; STEINBERG, 1997). Quando partículas de LDL ficam presas nas artérias podem progredir para a oxidação e ser internalizadas por macrófagos por meios de receptores (KHOO et al., 1992). Essa internalização leva à formação de peróxidos lipídicos e facilita o acúmulo de ésteres de colesterol, resultando na formação da célula espumosa (NAVAB et al., 1996; GRIENDLING; ALEXANDER, 1997).

O fato de o AG w-3 ser incorporado às membranas pode acarretar algumas modificações na estrutura e função delas, como o aumento da sua fluidez e melhora da absorção de nutrientes. Foi sugerido que a substituição de dietas convencionais (ricas em

AGS e/ou AGPI w-6) por ricas em AG w-3 poderia ter um efeito hipotrigliceridemiante e/ou hipocolesterolemiaante significativo, impedindo, dessa forma, a evolução da aterosclerose (QUILES et al., 2003).

Os estudos com dietas ricas em w-3 demonstraram efeitos antitrombóticos (QUILES et al., 2003) e hipotensores, bem como uma modificação na reatividade e função das estruturas do miocárdio em humanos (ARTEAGA et al., 1993). Esses efeitos parecem ser devidos, pelo menos em parte, à inibição da agregação plaquetária, ao aumento do tempo de coagulação e à diminuição da permeabilidade endotelial (LERAY et al., 2001). As plaquetas são as primeiras células sangüíneas que iniciam a ativação endotelial, portanto, uma inibição dessa adesão pode reduzir a infiltração de leucócitos e a aterosclerose (MASSBERG et al., 2002).

Outro papel dos AGPI w-3 na prevenção da aterosclerose parece ser a redução da expressão de molécula de adesão de células vasculares (VCAM-1), que é a principal molécula de adesão responsável pela interação entre os monócitos e a parede vascular, além da participação nas interações entre leucócitos e células endoteliais da microcirculação (POMPÉIA et al., 2000). A molécula VCAM-1 parece ter uma íntima relação com o desenvolvimento da aterosclerose, pois a expressão precoce dela em células endoteliais foi observada em modelos experimentais de coelhos alimentados com dietas ricas em colesterol, antes mesmo do aparecimento das células espumosas de macrófagos na camada íntima, no desenvolvimento da estria gordurosa (DE CATARINA; ZAMPOLLI, 2001).

Em contrapartida, os AGPI possuem duplas ligações e por isso apresentam maior susceptibilidade para peroxidações. Estudos têm sugerido que as dietas ricas em w-3 podem diminuir a concentração de vitamina E no plasma (44 a 70%) e nos tecidos de animais, como o fígado (40 a 74%) e rins (21 a 28%). Essa redução poderia levar a um aumento na formação de radicais livres, que, dependendo da situação e das concentrações de w-3 empregadas,

poderia contribuir para o desenvolvimento da aterosclerose (SONG; FUJIMOTO; MIYAZAWA, 2000).

Leray et al. (2001) estudaram os efeitos do óleo de linhaça e do óleo de peixe na ação antioxidante do fígado e nos parâmetros de coagulação do plasma de ratos. Os animais que receberam dieta enriquecida com EPA e DHA (20mg/dia por 4 dias) demonstraram uma diminuição da coagulação já após uma semana e um concomitante aumento na peroxidação lipídica, aumentando também o conteúdo de tocoferolquinona (metabólito final do α -tocoferol) no fígado.

2.3 Interferência do ômega-3 nos lipídeos sanguíneos

As pesquisas em relação aos efeitos do AG w-3 sobre os lipídeos sanguíneos demonstraram, tanto em animais quanto com seres humanos, resultados não conclusivos.

Rievellse et al. (2003) avaliaram os efeitos de diferentes tipos de dietas, ricas em AGMI ou AGS e acrescidas de w-3 (3,6g/dia) ou placebo, nas concentrações plasmáticas de lipoproteínas de jejum, no tamanho da partícula de LDL e lipídeos pós-prandiais em indivíduos saudáveis. Fizeram parte do estudo 162 pessoas de ambos os sexos, com idade entre 30 e 65 anos, que foram orientadas a seguir uma dieta rica em AGMI (com 8% de AGS, 23% de AGMI e 6% de AGPI) ou rica em AGS (com 17% de AGS, 14% de AGMI e 6% de AGPI), acrescidos de w-3 (3,6g/dia) ou placebo, por 90 dias. O grupo submetido à dieta rica em AGS demonstrou maior concentração plasmática de LDL-col e TG. A suplementação com óleo de peixe (w-3) foi capaz de reduzir as concentrações de TG em jejum ou pós-prandial. Apesar disso, foi possível observar um aumento das concentrações de LDL-col no plasma, tanto no grupo que recebeu a suplementação associada à dieta rica em AGMI, quanto à associada à dieta rica em AGS.

No estudo realizado por Baró et al. (2003), foram avaliados os efeitos do leite enriquecido com w-3 (4,1% do total de lipídeos), ácido oléico (56,8% do total de lipídeos), vitamina E (1,5mg/100g), B₆ (0,3mg/100g) e ácido fólico (30µg/100g) sobre os fatores de risco para doenças cardiovasculares (LDL-col, homocisteína, LDL-col oxidada). Participaram desse estudo 30 homens e mulheres saudáveis, que receberam 500ml de leite semidesnatado ao dia por 4 semanas. Num segundo momento, esses indivíduos receberam 500ml de leite teste (rico em AG w-3, ácido oléico e as vitaminas acima citadas) por 8 semanas, ao invés do utilizado na etapa anterior. O consumo do leite rico em w-3 (0,39g de w-3, correspondente a 4,1% do total de lipídeos, em 500ml de leite) e ácido oléico demonstrou uma significativa diminuição nas concentrações de CT, LDL-col, homocisteína e da expressão da VCAM-1, em relação aos resultados obtidos nas 4 primeiras semanas (sem leite enriquecido), não sendo observada nesse trabalho modificação na concentração de TG plasmático. Destaca-se que no estudo pode ter havido um efeito sinérgico entre os nutrientes adicionados.

Com relação aos estudos desenvolvidos em animais, Halvorsen, Rustan e Christiansen (1995) submeteram ratos à dieta rica em AG w-3 (6,5%) + banha (13%), perfazendo no total 19,5% de lipídeos, ou dieta rica em banha (19,5%). Os animais submetidos à dieta rica em w-3, demonstraram menores concentrações plasmáticas de TG (75%), CT (20%) e fosfolipídeos (40%), comparados aos submetidos à dieta rica em banha, quando avaliados em estado pós-prandial. Destaca-se que, nesse estudo, o grupo w-3 demonstrou um aumento de 2,4 vezes na peroxidação lipídica no fígado.

Em um estudo realizado por Carvajal e Angulo (1997), a ingestão de 3g de óleo de salmão em indivíduos hipercolesterolêmicos e hipertrigliceridêmicos, por 4 semanas, propiciou uma diminuição significativa do CT, LDL-col e TG e um aumento no HDL-col plasmático. Entretanto, os indivíduos normolipidêmicos apresentaram somente um aumento

do HDL-col. Verificou-se, portanto, um efeito mais expressivo da suplementação dos AG w-3 sobre o perfil lipídico de indivíduos hipercolesterolêmicos ou hipertrigliceridêmicos.

Por outro lado, num estudo realizado com camundongos, foi demonstrado que as dietas ricas em AG w-3 reduziram a concentração de HDL-col no soro, aumentando a sua concentração no fígado. Morvan et al. (2002) observaram uma redução nas concentrações plasmáticas de HDL-col, além da diminuição de TG, fosfolipídios e CT em camundongos suplementados com w-3 (3,33% adicionados à ração comercial que continha 5% de lipídeos). Foi verificado ainda um aumento na transferência de ésteres de colesterol de HDL para o fígado. Nesse estudo houve um aumento de 2 a 3 vezes na expressão do gene para o receptor *scavenger* da classe B-1, sugerindo que a dieta rica em w-3 interfere no transporte reverso do colesterol em camundongos, provavelmente pelo aumento desses receptores.

Gaíva et al. (2003) submeteram ratos ao tratamento com ração comercial (Nuvilab[®] - com 4% de lipídeos) adicionadas de óleo de peixe (15%), com ração comercial adicionada de óleo de soja (15%) ou com ração comercial adicionada de óleo de soja + óleo de peixe (15%, na proporção de 5:1). Após um período de 8 semanas foi observado que o grupo que recebeu apenas uma dieta rica em óleo de peixe apresentou uma menor concentração plasmática de lipídeos totais no plasma, CT e HDL-col em relação a todos os outros grupos. Já os animais alimentados com uma dieta rica em óleo de peixe e de soja demonstraram um aumento no HDL-col em relação aos grupos controle e óleo de peixe e uma menor relação entre o CT:HDL-col quando comparados aos demais grupos. Nesse estudo foi observado que dietas enriquecidas somente com AG w-3 reduziram as concentrações de lipídeos circulantes, mas aumentaram a sua deposição no fígado.

No estudo desenvolvido por Diniz et al. (2004), que avaliaram os efeitos da dieta rica em AGS (25%) e AGPI (25%) no metabolismo e sua relação com o estresse oxidativo de ratos Wistar, foi verificado que os animais tratados com uma dieta rica em AGPI

apresentaram menores concentrações de TG, CT, LDL-col e relação CT:HDL. Além disso, esses animais tiveram níveis aumentados de lipoperoxidação do miocárdio e hidroperoxidação lipídica e uma diminuição da atividade das enzimas superóxido dismutase e catalase.

Jorge et al. (1997) verificaram o efeito dos AG w-3 sobre a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia, sobre as concentrações plasmáticas de CT, HDL-col, LDL-col, TG e sobre a peroxidação lipídica das partículas de LDL e parede arterial de coelhos hipercolesterolêmicos, alimentados com ração comercial adicionada de 0,5% de colesterol + 2% de gordura de coco, por 15 dias. Após, os animais foram suplementados com 300mg/kg/dia de w-3 por gavagem. Foi verificado que os coelhos suplementados com w-3 apresentaram maior concentração de CT e VLDL-col e uma redução significativa dos TG plasmáticos, além de um prejuízo no relaxamento dependente do endotélio, comparados ao grupo-controle (que recebeu a mesma dieta, mas não foi suplementado com w-3). Supõe-se que a suplementação com AG w-3 não tenha sido suficiente para promover um relaxamento no endotélio.

Em um estudo realizado por Song, Fujimoto e Miyazawa (2000), foi testado o efeito de óleos enriquecidos com DHA (15g/100g de óleo) sobre as concentrações plasmáticas de TG e fosfolipídios, e observado o estado de peroxidação no rim, fígado e plasma. Nesse estudo foi verificado que as dietas ricas em DHA aumentaram significativamente as concentrações de DHA no plasma, fígado e rins, enquanto houve uma concomitante redução no AA nos referidos tecidos, o que poderia interferir na fluidez das membranas. Além disso, a suplementação com DHA foi capaz de reduzir as concentrações de TG no plasma e no fígado. Em contrapartida, os animais suplementados com DHA apresentaram maior acúmulo de hidroperóxidos de fosfolipídios no plasma, fígado e rins, enquanto que as concentrações de α -tocoferol foram concomitantemente reduzidas. Ou seja, os ratos alimentados com óleos ricos em DHA tiveram maior susceptibilidade à peroxidação lipídica.

Como já relatado até aqui, existe muita controvérsia quanto aos efeitos dos AG w-3 nos lipídeos sanguíneos. Segundo Pan et al. (2004), não está bem esclarecida a forma como os AG w-3 diminuem as concentrações dos lipídeos sanguíneos, como CT e TG. Os autores supõem que esse AG provindo de óleo de peixe estimula um novo caminho para a degradação da Apolipoproteína B100. Essa apolipoproteína é uma molécula presente na capa de fosfolipídeos, especialmente em partículas de LDL-col, VLDL-col e lipoproteína a (Lpa), que serve como porção ligante para o receptor das lipoproteínas. A produção de ApoB100 está intimamente relacionada com a síntese endógena de colesterol (PRINSEN et al., 2003).

Pan et al. (2004) investigaram a bioquímica desse “novo caminho” de degradação da ApoB100 e descobriram que ele parece requerer um aumento do produto lipídico peroxidado, pois os AGPI tiveram maior degradação da ApoB100 recém sintetizada e apresentaram aumento na peroxidação lipídica. Em contrapartida, quando esses mesmos AG foram incubados com antioxidantes como vitamina E, houve uma diminuição significativa na degradação da apolipoproteína. Os testes realizados *in vivo* e *in vitro* apresentaram resultados semelhantes, indicando evidências da degradação de ApoB100 pelo aumento do produto de peroxidação de lipídeos.

De acordo com Pan et al. (2004), parece haver uma estreita relação entre o aumento da peroxidação lipídica e a maior degradação da ApoB100 recém sintetizada, que poderia interferir com a quantidade de partículas aterogênicas na circulação. Assim, de acordo com o exposto, pode-se reforçar a importância de uma adequada recomendação de consumo alimentar de macro e micronutrientes, principalmente quando associados à ingestão de AGPI.

Park e Harris (2003) também encontraram uma redução significativa na concentração de ApoB100 (24%) e ApoB-48 (28%), quando os animais foram suplementados com 4g de EPA ou 4g de DHA. Foi verificado que a meia-vida dos TG do quilomícron, no estado alimentado (pós-prandial), apresentava-se reduzida após o tratamento com w-3. Além disso,

observaram um aumento na atividade da enzima lipase lipoprotéica (LPL). De acordo com o estudo, foi proposto que o w-3 acelera a liberação do TG dos quilomícrons pelo aumento da lipólise mediada pela LPL. Nesse estudo foi observado ainda que, com dosagens iguais de EPA e DHA (4g cada), os resultados foram semelhantes. Foi sugerido que os AGPI podem deslocar a LPL, melhorando sua liberação para a circulação e estimulando, assim, uma maior degradação dos lipídeos circulantes. Isso poderia explicar, por sua vez, a diminuição do colesterol e dos TG plasmáticos em alguns estudos com w-3.

É ainda destacado que o óleo de peixe, rico AG w-3, pode diminuir a concentração plasmática de TG, possivelmente por reduzir a síntese de TG pelo fígado (MORVAN et al., 2002). Além disso, o óleo de peixe aumentaria a atividade da LPL, acelerando o catabolismo da VLDL e dos quilomícrons, contribuindo para a diminuição da trigliceridemia pós-prandial (PARK; HARRIS, 2003).

Os mecanismos moleculares de ação do w-3 tinham permanecido especulativos até recentemente, quando foi demonstrado que esses lipídeos controlam a transcrição de genes específicos no fígado, tais como a síntese de AG, proteína S14 e LPL. Além disso, “um caminho” parece depender da direta ligação desses componentes ao receptor ativado por proliferadores de peroxissomas (PPARs), enquanto o “outro caminho” pode efetivar-se devido a uma diminuição da regulação da via *steroid receptor element binding protein* (SREBP) do RNAm (KIM; TAKAHASHI; EZAKI, 1999).

Existe considerável controvérsia concernente à relativa importância do AGPI w-3 e w-6 na prevenção de doenças cardiovasculares. Alguns estudos têm revelado associação negativa entre a ingestão de AGMI e AGPI e a incidência de doenças cardiovasculares (LIMA, et al. 2000). Assim, alguns pesquisadores sugerem que dietas ricas em AG w-3 podem prevenir a aterosclerose em animais (KINSELLA; LOKESH; STONE, 1990;

HARRIS, 1997), enquanto Jorge et al. (1997) referem que o aumento da formação de radicais livres propiciaria o processo da aterosclerose em coelhos.

2.4 Exercícios físicos

Os exercícios físicos, segundo as acepções mencionadas no Dicionário da Ciência e do Esporte (*Dictionary of Sport Science*), são entendidos como formas de movimento humano para atingir um dos seguintes objetivos: manter um certo nível da função física, desenvolver capacidades físicas funcionais, restaurar alguma perda da capacidade funcional e desenvolver novas capacidades funcionais para compensar a perda de outras anteriormente existentes (BEYR, 1992).

Os avanços tecnológicos levaram a uma civilização altamente mecanizada, em que as máquinas dispensam o trabalho físico, induzindo o indivíduo ao sedentarismo, provocando assim uma atrofia progressiva e uma perda das funções orgânicas. Ao mesmo tempo em que trouxe confortos, o desenvolvimento também foi responsável por tornar as pessoas mais sedentárias e diminuir as suas necessidades energéticas diárias (TREMBLAY, 1998).

Pesquisadores alemães descreveram uma série de sinais e sintomas que afetam os sistemas cardiorespiratório e locomotor em decorrência de doenças hipocinéticas provenientes do sedentarismo crônico, ressaltando ainda que a falta de condicionamento físico, com o passar dos anos, leva à redução do consumo máximo de oxigênio e da reserva coronária e a uma maior tendência à hipóxia coronariana, além de outros prejuízos (MARTINEZ, 1997).

Nas últimas décadas, estudos epidemiológicos importantes (WOOD; HASKELL, 1976; ANDER; CASTELLI, 1980; GRUNDY, 1994) relacionaram uma maior frequência na prática de exercícios físicos regulares com uma menor incidência de doença cardiovascular, e a inatividade física foi considerada um significativo fator de risco cardiovascular em pacientes portadores de doenças metabólicas (obesidade, dislipidemia e diabetes mellitus).

A prática regular de exercício físico aeróbico aumenta o HDL e a sensibilidade à insulina, reduz a pressão arterial de repouso, colabora no controle do peso corporal, além de diminuir os triglicerídeos plasmáticos. Essas reduções podem ser atribuídas ao aumento da atividade da lipoproteína lipase (LPL) na musculatura esquelética e/ou no tecido adiposo e a um possível decréscimo da síntese hepática de triglicerídeos com a prática de exercícios físicos (HASKELL, 1984). Alguns estudiosos da área (CARVALHO, 1995; CORREIA, 1996; HORTON, 1996) propõem ainda que esses exercícios auxiliam na redução do estresse.

O estresse é considerado um estado de ameaça provocado por um agente estressor psicológico, ambiental ou fisiológico. De forma aguda ou crônica, esse estresse pode levar a uma resposta inflamatória com a ativação de macrófagos e formação de radicais livres, aumentar as concentrações de lipídeos plasmáticos, alterar o fluxo sanguíneo, aumentar a pressão arterial, contribuir na formação de células espumosas e na ativação de eventos trombóticos, estimulando dessa forma a aterosclerose (BLACK; GARBUTT, 2002)

Existem indicadores de que o exercício físico é o fator-chave na preservação da capacidade funcional para realização das atividades cotidianas (SHARP; JACKSON; WHITE, 1997). Isso reforça a enorme importância que têm os exercícios físicos frente à manutenção da saúde da população adulta; pois, quando bem monitorados, poderão amenizar os efeitos do envelhecimento, de forma geral, nos indivíduos. Como conseqüências do envelhecimento podem-se citar a atrofia muscular, a diminuição do volume sanguíneo, a redução da imunidade e o declínio da aptidão física (ALLISON; KELLER, 1997).

O nado tem sido utilizado como modelo de exercícios físicos em ratos para avaliação de adaptações cardiovasculares ao exercício. Esse tipo de exercício parece gerar adaptações na performance dos animais, com melhor resposta na contratibilidade da adenosina trifosfato (ATPase) e na atividade do retículo sarcoplasmático quando comparado a testes de corrida (GEENEN; BUTTRICK; SCHEURER, 1988).

Os ratos são considerados exímios nadadores, e quando submetidos a esse tipo de exercício são capazes de se adaptar bioquímica e fisiologicamente, melhorando a sua função cardíaca. De acordo com Devi, Prathima e Subramanyam (2003), o modelo do nado ocasiona um nível de estresse inferior em animais quando comparado aos modelos de corrida, e também por isso é utilizado no nosso estudo.

2.4.1 Estudos realizados com animais submetidos ao exercício

O aumento da ingestão de dietas ricas em gordura saturada e a diminuição da prática de atividade física estão diretamente relacionados ao risco de doenças cardiovasculares. Ou seja, a prática de exercícios físicos de leve a moderada intensidade, aliados a uma dieta equilibrada, são os maiores fatores de proteção contra o surgimento e/ou progressão de doenças cardiovasculares (GUEDES; GUEDES, 2001).

Os exercícios físicos são capazes de diminuir o número de eventos cardiovasculares por aumentar a vascularização coronária colateral, aumentar a eficiência do miocárdio (contração), melhorar a circulação sanguínea periférica, bem como o retorno venoso, aumentar a capacidade fibrinolítica, a concentração de HDL-col no plasma, a quantidade e volume de células vermelhas do sangue e a tolerância ao estresse, além de diminuir as concentrações de lipídeos no soro (CT e TG), a tolerância à glicose, a pressão arterial, entre outros resultados benéficos (FOX; HASKELL, 1968; KARVONEN, 1984).

O exercício físico praticado de forma aguda produz quantidades aumentadas de radicais livres e aumenta o estresse, enquanto que o exercício físico crônico, praticado de forma regular e bem orientado, apesar de poder produzir uma quantidade aumentada de radicais livres e espécies reativas de oxigênio, melhora o sistema de defesa antioxidante, diminuindo, assim, o estresse oxidativo. Entretanto, os efeitos interativos da dieta e exercício

nas atividades de enzimas hepáticas antioxidantes ainda não estão bem estabelecidos (VENKATRAMAN et al., 1998).

Na pesquisa de Estadella et al. (2004), ratos da raça Wistar receberam dietas normais (ração comercial), hiperlipídicas (adicionadas de amendoim, chocolate ao leite e biscoito doce, perfazendo no total 20% de lipídeos) ou alternadas (normais/hiperlipídicas – 20%), com ou sem execução de exercício físico (nado) por 90 min ao dia, 5 vezes por semana, com 8 semanas de tratamento). Verificou-se que os animais que consumiram a dieta hiperlipídica ou alternada apresentaram obesidade, mas que o exercício físico atenuou o ganho de peso, a adiposidade corporal (carcaça) e tornou a concentração plasmática de lipídeos mais adequada.

Quiles et al. (2003) investigaram os efeitos do consumo de dieta rica em óleo de oliva (8%) ou rica em óleo de girassol (8%), por 8 semanas, sobre a *performance* no exercício físico, e concentrações plasmáticas de TG e CT em ratos. Os animais que receberam dieta rica em óleo de girassol ou óleo de oliva foram ainda submetidos a corridas de 40min/dia, à velocidade de 35m/min (após o período prévio de adaptação realizado nas 2 primeiras semanas). Os grupos exercitados que foram tratados com dieta rica em óleo de oliva ou óleo de girassol demonstraram menores concentrações de CT e TG, comparados aos sedentários. Além disso, os animais sedentários alimentados com óleo de girassol tiveram maiores concentrações de CT e TG comparados ao grupo sedentário que recebeu óleo de oliva.

Apesar de alguns estudos sugerirem efeitos positivos das dietas ricas em AGPI w-3 sobre o perfil lipídico, outros parecem contraditórios, provavelmente devido ao uso de diferentes protocolos e de doses experimentais. Portanto, o estudo dos efeitos de uma dieta rica em AG w-3 sobre os lipídeos sanguíneos de animais experimentais submetidos ao exercício físico (teste do nado) poderá contribuir para a compreensão da relação do exercício físico com AG e doença cardiovascular.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos da suplementação de ácidos graxos ômega-3 (EPA+DHA) nos lipídeos sanguíneos de ratos submetidos ou não ao exercício físico: teste do nado.

3.2 Objetivos específicos

- Observar o efeito do tratamento com ácido graxo ômega-3 (EPA+DHA), nas doses de 0,5 e 1,0g/kg/dia, nos parâmetros fisiológicos de ingestão alimentar e peso corporal, em ratos submetidos ou não ao nado;
- Analisar a composição centesimal e a de ácidos graxos da ração consumida pelos animais;
- Determinar o efeito do tratamento, por 28 dias, com 0,5 ou 1,0g/kg/dia de ácido graxo ômega-3, nas concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicerídeos e HDL-colesterol em ratos submetidos ou não ao nado;
- Verificar o peso do fígado dos ratos submetidos aos diferentes procedimentos experimentais.

4 MÉTODO

4.1 Animais

Foram utilizados ratos *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, machos, com 1 ½ mês de idade e peso entre 150g e 200g, obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os animais foram transferidos para biotério setorial do Laboratório de Nutrição Clínica, CCS, UFSC, acondicionados, no número de 5 ou 6 animais por caixa plástica (42 cm x 34 cm x 17 cm) e mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), com ciclo alternado de claro/escuro de 12 horas. A dieta comercial (ração) e a água foram oferecidas *ad libitum* até momentos antes das condições experimentais.

Os ensaios biológicos foram realizados de acordo com o Guia de Uso e Cuidados com Animais Laboratoriais do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e o protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA nº 280/04).

4.2 Análise da ração

Os animais receberam a ração comercial denominada FRI-LAB RATOS, indicada para consumo de ratos e camundongos de laboratório, da marca FRI-RIBE S.A.[®]. De acordo com a embalagem, a ração continha: premix vitamínico-mineral, farelo de soja, calcário calcítico, farelo de trigo, fosfato bicálcico, milho integral moído, cloreto de sódio e alguns eventuais substitutivos: farelo de arroz desengordurado, farelo de girassol, farelo de glúten de milho, óleo de soja degomado, amido de mandioca, sorgo integral moído, gérmen de milho.

Conforme informações do fabricante, eram garantidas concentrações máximas de 12% de umidade, 9% de matéria fibrosa, 10% de matéria mineral, 1,25% de cálcio e no mínimo 23% de proteína bruta, 5% de extrato etéreo e 0,80% de fósforo.

A análise da composição centesimal da ração comercial foi realizada de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), como descrito a seguir. Inicialmente, foi realizada a determinação de umidade e cinzas, seguida pela análise centesimal de lipídeos e proteínas. A determinação do teor de carboidratos foi realizada por cálculo. Todas as análises foram feitas em duplicata pela mestrandia Lina Cláudia Sant'Anna, no Laboratório de Nutrição Experimental da UFSC/CCS, sob supervisão do técnico de laboratório Gerson Luis Faccin.

4.2.1 Umidade

Foram colocados 2 cadinhos na estufa a 105°C por 6 horas. Após esse período, eles foram levados ao dessecador por aproximadamente 30 min para esfriar, em temperatura ambiente. Esse procedimento foi realizado para garantir que não houvesse qualquer umidade no recipiente. Em seguida, os cadinhos foram pesados em uma balança analítica e colocados 2g de amostra (ração comercial) em cada cadinho. A seguir, foram recolocados na estufa a 105°C por 6 horas e em seguida no dessecador por 30 min, sendo então feita a primeira pesagem. Os cadinhos foram novamente colocados na estufa a 105° e, após resfriados no dessecador por 30 min, foi realizada a segunda pesagem. Como o peso manteve-se constante, não foi necessária uma terceira pesagem. Para determinação do resultado final da umidade foi utilizada a seguinte fórmula:

- $$\text{g\% de umidade} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final} \times 100}{\text{peso da amostra}}$$

4.2.2 Cinzas

Para a determinação das cinzas o mesmo procedimento inicial da umidade foi realizado. Também dois cadinhos foram necessários, devido ao fato de o experimento ter sido feito em duplicata. Então, foram colocados 2 g de amostra em cada cadinho e em seguida eles foram incinerados em Bico de Bunsen por aproximadamente 20 minutos, até a amostra ficar carbonizada. Esse procedimento foi realizado em uma capela. Posteriormente os cadinhos foram colocados em uma mufla a 550°C por 6 horas. A seguir, foram diretamente para a estufa a 105°C, pelo período de 6 horas e em seguida colocados no dessecador por 30 min. Após esse procedimento, foi realizada a primeira pesagem. Os cadinhos voltaram novamente para a estufa a 105°C por 6 horas e depois de estarem no dessecador por 30 min, foi realizada a segunda pesagem. Como os valores mantiveram-se constantes, não foi necessária uma terceira pesagem. Para o resultado final da determinação de cinzas foi utilizada a fórmula:

- $$\text{g\% de cinzas} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final} \times 100}{\text{peso da amostra}}$$

4.2.3 Lipídeos

O tubo de ensaio do aparelho de Soxhlet foi colocado na estufa a 70°C por 6 horas para retirar a umidade e após colocado no dessecador por 30 min. Esse tubo foi pesado. Colocou-se em um cartucho de vidro uma amostra de 1 a 1,5g de ração, entre dois chumaços de algodão desengordurado. Dentro do tubo de ensaio foram adicionados 40ml de éter etílico. O cartucho de vidro e o tubo de ensaio foram então acoplados ao aparelho de Soxhlet. O éter ficou a 50°C no bloco, no qual evaporou, condensou e finalmente lavou a amostra, retirando-lhe a gordura. O tubo de ensaio foi para a estufa a 70°C por 6 horas e em seguida para o dessecador por 30 min, sendo finalmente realizada a primeira pesagem. O tubo foi recolocado

na estufa e no dessecador pelo mesmo tempo e realizada a segunda pesagem. Para determinação final de lipídeo foi utilizada a seguinte fórmula:

- $\text{g\% de lipídeos} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso da amostra}} \times 100$

4.2.3.1 *Composição de ácidos graxos da ração*

A composição dos ácidos graxos da ração foi analisada através do método oficial da American Oil Chemists Society (AOCS), pelo professor Dr Renato Grimaldi, no Laboratório de óleos e gorduras da UNICAMP/FEA. A análise dos ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa capilar (CGC Agilent 6850 Series GC System).

4.2.4 Proteínas

Dentro de um tubo de ensaio especial para o aparelho de Kjeldhal foram colocados aproximadamente 500mg de amostra. Neles foi adicionado 1,5g de mistura catalítica (composição: 3,6g de selenito de sódio, 4 g de sulfato de cobre e 48,5g de sulfato de sódio) e 10ml de ácido sulfúrico concentrado, este último colocado com pipetador automático. O tubo foi colocado no bloco digestor a 300°C dentro da capela, até a completa digestão da amostra (adquirindo coloração verde-claro). A amostra foi destilada no aparelho de Kjeldhal, utilizando-se hidróxido de sódio a 50% (para neutralizar o ácido) e ácido bórico a 2% para receber os vapores de amônia. Essa amostra passou por titulação com ácido clorídrico a 0,1N, e foi anotado o valor de ácido clorídrico gasto na titulação. Todo o procedimento foi posteriormente repetido (análise em duplicata). Para o resultado final da determinação de proteína foi utilizada a fórmula:

- $\text{g\% de proteína} = \frac{\text{volume de HCl} \times 0,87543^*}{\text{peso da amostra}}$

* Normalidade do HCl (0,1N) x 14,007 x 0,625 = 0,87543

4.2.5 Carboidratos

Para a determinação da fração glicídica foi utilizada a fórmula:

- $\text{g\% de carboidrato} = 100 - (\text{lípídeos} + \text{proteínas} + \text{umidade} + \text{cinzas})$

4.3 Tratamento com ácido graxo ômega-3

Para tratamento dos animais foram utilizadas cápsulas de óleo de peixe da marca Phytomare®, na apresentação de 500mg, com composição de 20mg de vitamina E e 480mg de óleo de peixe contendo 0,141mg de w-3 (2/3 de EPA, 1/3 de DHA), 0,16g de AGS e 1mg de colesterol. As cápsulas foram partidas ao meio com auxílio de tesoura estéril, e seu conteúdo foi colocado em béquer de vidro. O óleo foi então aspirado, imediatamente após a abertura da cápsula, por uma seringa de 1ml. A quantidade administrada a cada rato foi relacionada com o peso do animal, e os diferentes grupos receberam 0,5 ou 1,0g/kg de peso, durante o período de 28 dias. O w-3 foi administrado em todos os dias do tratamento, às 8h30min, por gavagem, com agulhas curvadas e apropriadas para ratos. Os animais-controle foram submetidos ao mesmo procedimento, no entanto o w-3 foi substituído por água. A administração da água e do w-3 ocorreu 5 horas antes do início do teste do nado. O volume de água ou de w-3 foi corrigido a cada dois dias, de acordo com o peso dos animais. Foram abertas somente as cápsulas necessárias para o tratamento imediato dos animais com o intuito de evitar a oxidação do óleo. Essas cápsulas foram doadas pelo professor Dr. Luis Beirão, do Departamento de Tecnologia de Alimentos (CCA/UFSC).

4.3.1 Grupos experimentais

- a) grupo basal: sem qualquer tratamento por gavagem, mantido na gaiola moradia (caixas plásticas), sem ser submetido ao teste do nado.
- b) grupo-controle: tratado por gavagem com água, não submetido ao teste do nado.
- c) grupo-controle + nado: tratado por gavagem com água e submetido ao teste do nado.
- d) grupo w-3: tratado por gavagem com w-3, não submetido ao teste do nado.
- e) grupo w-3 + nado: tratado por gavagem com w-3 e submetido ao teste do nado.

4.4 Teste do nado

Os ratos foram submetidos ao modelo do nado proposto inicialmente por Porsold et al., (1977) e colocados individualmente em cilindros plásticos (altura = 46cm, diâmetro = 20cm), contendo 38 cm de água (PORSOLD et al., 1990). Os animais foram submetidos ao nado por 28 dias, 5 horas após a administração de w-3 ou água, por gavagem. Nos três primeiros dias, os ratos permaneceram por 10 minutos na água, para adaptação ao meio (DEVI; PRATHIMA; SUBRAMANYAM, 2002; ESTADELLA et al., 2004), e a seguir, do 4º ao 28º dia, os animais foram submetidos ao nado por 20 minutos. Esse período de tempo foi adotado a partir dos resultados observados por Kiran, Subramanyam e Devi (2004), que verificaram uma melhora no perfil lipídico (diminuição significativa do colesterol total, LDL-colesterol, triglicérides e aumento no HDL-colesterol) de ratos submetidos ao teste do nado, com intensidade leve, por 20min, realizado 5 vezes na semana. Além disso, esse período demonstrou-se adequado para a adaptação do sistema de defesa antioxidante dos ratos, de acordo com os autores. A cada sessão de nado, para cada animal a água foi trocada. O início do nado ocorreu diariamente às 13h30min. A água na qual os animais foram mantidos para nadar apresentava temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Essa temperatura foi adotada em diferentes estudos (ABEL, 1993; DEVI; PRATHIMA, SUBRAMANYAM, 2002) e por ter sido

constatado em experimentos piloto anteriores que temperaturas mais elevadas estimulavam os animais a nadarem menos.

4.5 Avaliação dos parâmetros fisiológicos

4.5.1 Ingestão alimentar

A ração comercial foi fornecida aos animais três vezes por semana, de modo que eles obtivessem quantidade suficiente para o consumo (*ad libidum*) durante o período. A pesagem das sobras do alimento, em gramas, ocorria as segundas, quartas e sextas-feiras, às 8 horas da manhã, até o último dia do teste.

4.5.2 Peso corporal

O peso dos ratos foi avaliado no início e, posteriormente, três vezes por semana, às segundas, quartas e sextas-feiras, até o final do experimento (28 dias). O peso final de cada animal foi subtraído do peso do início do experimento, sendo o resultado considerado a alteração de peso do animal.

4.6 Coleta de sangue

No tempo zero, isto é, uma semana antes de iniciar o tratamento e o teste do nado e após o término desses procedimentos experimentais (28^o dia de tratamento e/ou nado), os animais foram submetidos ao jejum de 12 horas. Após esse período, o sangue foi coletado por punção cardíaca, estando os animais anestesiados com éter etílico. Foi coletado aproximadamente 1ml de sangue com agulhas descartáveis de 25 x 7 mm e seringas de 5ml. Cada amostra de sangue foi colocada num tubo de ensaio com heparina (1 gota) e, em seguida, centrifugada. O plasma foi separado com pipeta, acondicionado em *eppendorf* e colocado em freezer para posterior análise.

4.7 Análise bioquímica do sangue

A avaliação das concentrações plasmáticas de triglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol ocorreu antes e após os procedimentos experimentais com os ratos.

A análise bioquímica do sangue (triglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol) foi realizada por cromatografia líquida, com auxílio de máquina automatizada da marca Cobas®Mira e verificada a absorvância dos analitos. Para a análise dos triglicerídeos e colesterol total, foram pipetados 100µl de plasma, acondicionados em eppendorf e colocados na máquina para análise.

Para a determinação do HDL-colesterol foi adicionado 100µl de plasma e 100µl de precipitante nos tubos de ensaio, que foram agitados e centrifugados a 4000rpm durante 15 minutos, para obter-se um sobrenadante límpido. O sobrenadante límpido foi pipetado imediatamente após a centrifugação e acondicionado em eppendorf para avaliação automatizada.

Para a análise de todos os parâmetros bioquímicos foram utilizados reagentes da marca Labtest®. Esse procedimento foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas Genesis®, sob supervisão do farmacêutico-bioquímico Fernando Pirolli.

4.8 Sacrifício e dissecação dos animais

Após a coleta de sangue, cada animal foi mantido anestesiado com éter etílico e, após a morte, foi realizada uma pequena incisão transversal e em seguida uma incisão toraco-abdominal longa. Os procedimentos foram realizados de acordo com as normas de vivissecação do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e em seguida foi retirado e pesado o fígado para observar uma possível interferência do ácido graxo ômega-3 na variação do peso e modificações estruturais do órgão visíveis macroscopicamente.

4.9 Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados por meio de média e erro-padrão e testados na curva de normalidade (kolmogorov-smirnov); posteriormente foram analisados empregando-se o teste t de Student pareado ou a análise de variância ANOVA de uma via, com nível de significância $p < 0,05$, seguida pelo teste de Tukey. Para avaliação dos dados foi utilizado o *software* INSTAT, versão 3.01.

5 RESULTADOS

5.1 Composição centesimal da ração comercial

As concentrações de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos da ração comercial marca FRI-RIBE S.A.[®], fornecida pelo Biotério Central da UFSC, foram analisadas de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985), modificadas no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição, do Centro de Ciências da Saúde da UFSC. Os resultados da análise da composição da ração são visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição centesimal da ração comercial da marca FRI-RIBE S.A. fornecida pelo Biotério Central da UFSC.

Composição	(%)
Umidade	8,37
Cinzas	6,81
Carboidratos*	62,8
Lipídeos	3,83
Proteínas	18,19

* inclui também fibra alimentar

Destaca-se que, apesar de constar na embalagem da ração um valor mínimo de 23% de proteína bruta, isso não foi observado na análise da sua composição centesimal realizada no Laboratório de Nutrição Experimental, conforme apresentado na Tabela 1.

Através do lipídeo extraído da ração comercial foi também avaliada a composição de ácidos graxos. A análise da composição centesimal de ácidos graxos está representada na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição em ácidos graxos da ração comercial da marca FRI-RIBE S.A. fornecido pelo biotério central da UFSC

Ácido Graxo		(%)
C14:0	Mirístico	0,10
C16:0	Palmítico	13,58
C16:1	Palmitoléico	0,14
C18:0	Estearico	3,14
C18:1	Oléico	26,72
C18:2 Trans	Linoelaídico	0,15
C18:2	Linoléico	51,16
C18:3 Trans	Translinolênico	0,27*
C18:3	Linolênico	3,57*
C20:0	Araquídico	0,50
C20:1	Gadoléico	0,33
C22:0	Behênico	0,33

*ácidos graxos ômega-3

Ao observar a Tabela 2, verifica-se que 3,84% do lipídeo da ração comercial era constituída de ácidos graxos w-3, advindos do ácido linolênico (3,57%*) e do ácido translinolênico (0,27%*).

5.2 Ingestão alimentar

De acordo com o valor médio de ingestão de ração comercial, em gramas, por grupo de animais, não houve diferença significativa entre os diferentes grupos experimentais. Ou seja, o tratamento com o AG w-3, bem como o nado, parecem não ter influenciado no

consumo alimentar. Os resultados da estimativa de consumo médio de ração comercial dos grupos nos diferentes experimentos estão representados na Tabela 3.

Tabela 3 - Estimativa de consumo médio diário de ração comercial (g), nos diferentes grupos experimentais.

Grupos experimentais	Tratamento	
	0,5g/kg/dia de w-3	1,0g/kg/dia de w-3
Basal	23,94g	23,10g
Controle (H ₂ O)	23,76g	23,17g
Controle+nado	22,55g	23,63g
W-3	21,20g	24,73g
W-3 + nado	22,19g	24,50g

O valor médio de consumo diário dos diferentes grupos experimentais, por protocolo, foi utilizado para o cálculo dos macronutrientes consumidos na ração comercial. A partir da quantidade de lipídeos consumidos pela ração pode-se calcular a quantidade dos diferentes tipos de AG consumidos (Tabela 4).

Tabela 4 – Estimativa de consumo diário de macronutrientes e composição de ácidos graxos advindos da ração comercial (g), por animal, nos diferentes experimentos.

Nutrientes da ração	Tratamento	
	0,5g/kg/dia de w-3	1,0g/kg/dia de w-3
Carboidratos	14,26g	14,95g
Proteínas	4,13g	4,33g
Lipídeos		
-Ácido α -linolênico	0,033g	0,035g
-Ácido linoléico	0,446g	0,467g
-AGMI	0,236g	0,247g
-AGS	0,153g	0,16g

Deve ser destacado que, além da referida quantidade média de lipídeos consumidos na ração, o grupo suplementado com 0,5g/kg/dia de óleo de peixe por gavagem ingeriu, em

média, 0,10g de EPA e 0,06g de DHA. Os animais tratados 1,0g/kg/dia de óleo de peixe consumiram em média 0,17g de EPA e 0,11g de DHA.

Com relação ao protocolo em que foi utilizado 0,5g/kg/dia de w-3, o consumo alimentar médio de ração comercial entre os diferentes grupos experimentais foi de 22,72g/dia. Os animais dos grupos w-3 e w-3+nado, que foram suplementados com 0,5g/kg/dia de óleo de peixe por gavagem consumiram 0,16g de w-3 e, no total, 0,19g/dia de w-3, incluindo o ácido α -linolênico proveniente da ração comercial. Os animais que ingeriram somente ração comercial (grupos basal, controle e controle+nado) obtiveram um teor de lipídeos da ração comercial de 3,83%; já os suplementados com 0,5g/kg/dia de óleo de peixe chegaram a 6,1% de lipídeos totais na dieta.

No protocolo de 1,0g/kg/dia, a estimativa de consumo médio de ração entre os grupos foi de 23,82g/dia. Depois de obtida a quantidade total suplementada diariamente por gavagem e depois de calculada a média de consumo de óleo de peixe dos grupos w-3 e w-3+nado, foi estimado 0,28g de w-3 (sendo 0,17g de EPA e 0,11g de DHA) por animal, totalizando um consumo diário de 0,31g de w-3/dia, o que representa no total 7,2% de lipídeos, enquanto que os grupos não suplementados com óleo receberam um percentual de 3,83% advindos da ração comercial.

Considerando-se o percentual de consumo de macronutrientes da ração comercial (utilizada em ambos os experimentos do presente estudo) em relação ao seu valor calórico total, após a análise de sua composição centesimal, constatou-se que 70,08% das calorias foram fornecidas por CHO, 20,29% por PTN e 9,61% por lipídeos.

5.3 Peso dos animais

Os ratos foram pareados, antes de qualquer procedimento, de forma que, em todos os grupos, no início do experimento, os valores médios de peso corporal por grupo fossem semelhantes, como pode ser visualizado na Figura 4.

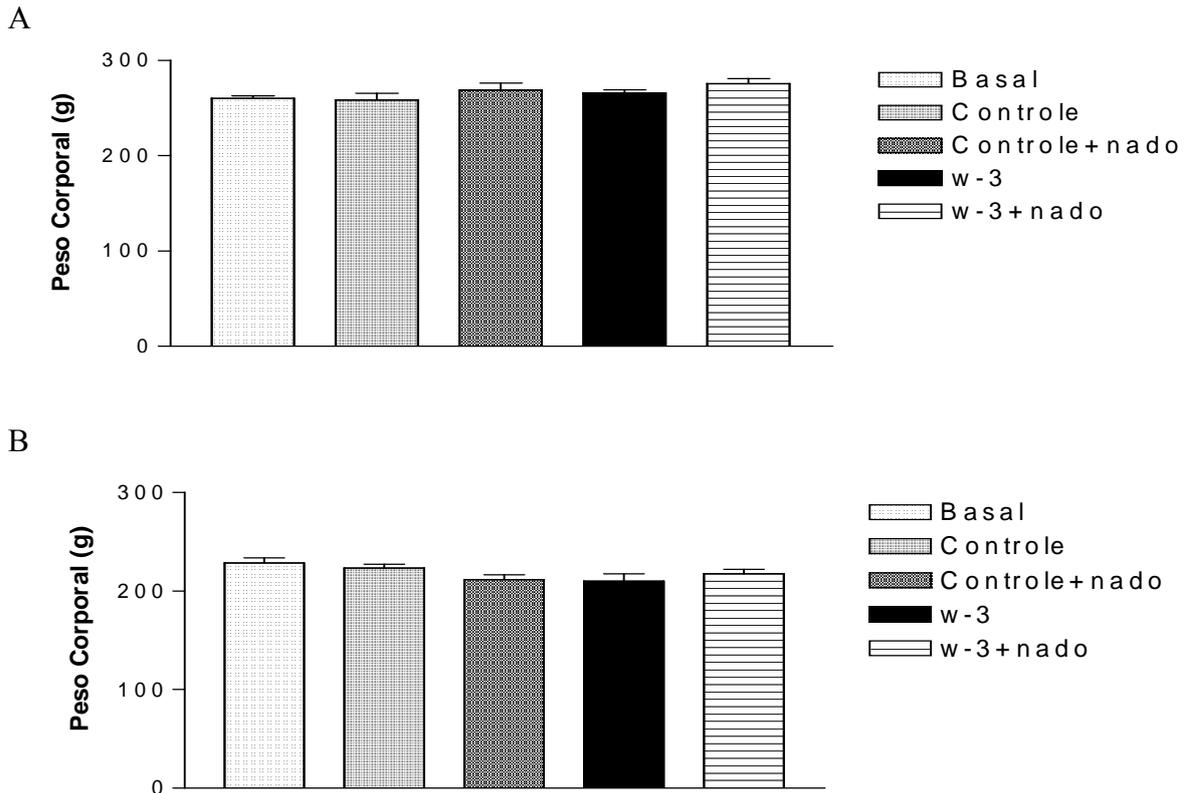


Figura 4 - Peso corporal médio (g) de ratos a serem submetidos à administração de gavagem diária de **ácido graxo ômega-3** (w-3), na dose de **0,5g/kg/dia** (A) ou **1,0g/kg/dia** (B), ou água, e a serem submetidos ou não ao teste do nado, por 28 dias. Os resultados representam a média \pm EPM de 10-12 animais por grupo, **antes** de qualquer procedimento experimental (ANOVA + Tukey).

O peso corporal dos animais no 28º dia de experimento está representado na Figura 5. Ao final do tratamento com 0,5g/kg/dia de AG w-3, não houve diferença no peso médio dos diferentes grupos. Entretanto, no 28º dia dos procedimentos experimentais o grupo-controle+nado (que recebeu água por gavagem e foi submetido ao teste do nado), do protocolo de 1,0g/kg/dia de w-3, apresentou um peso corporal menor ($p=0,0047$) do que o grupo basal e grupo-controle (que recebeu água e não foi submetido ao teste do nado).

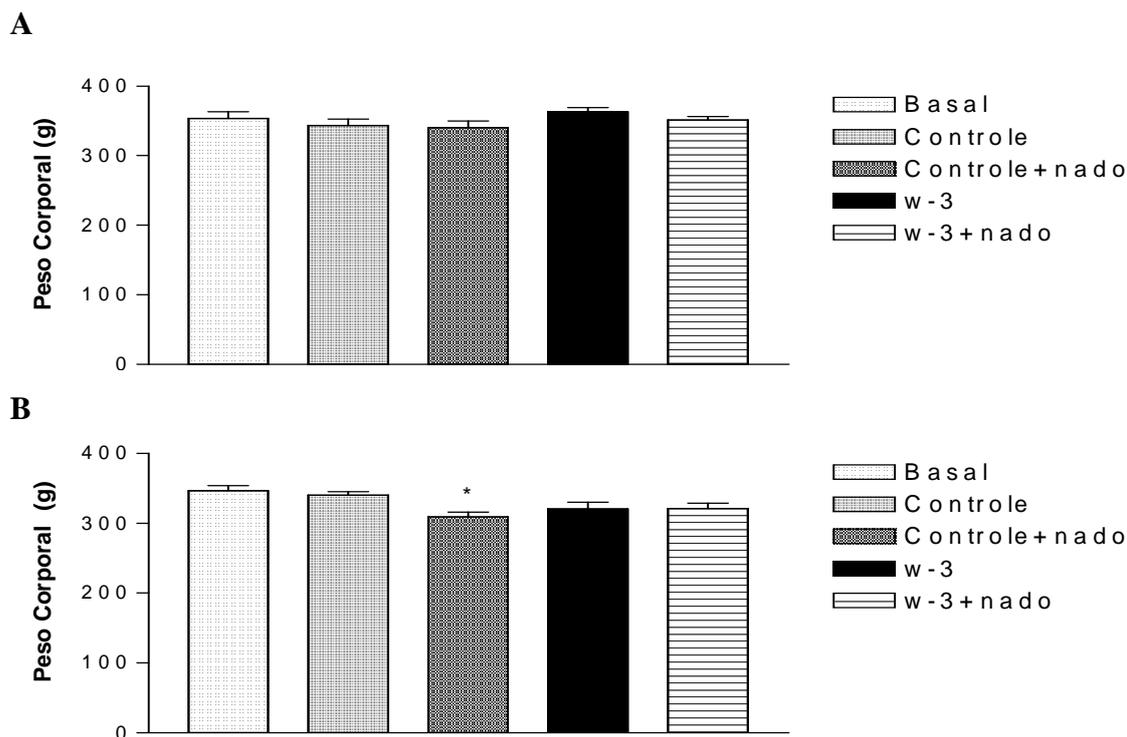


Figura 5 - Efeito da administração de **ácido graxo ômega-3** (w-3), por gavagem, na dose de **0,5g/kg/dia** (A) ou **1,0g/kg/dia** (B), ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado, após 28 dias, no peso corporal (g). Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo basal e controle (ANOVA + Tukey).

Em relação ao valor médio de ganho de peso corporal (calculado a partir da diferença de peso – inicial e final) (Figura 6), dos diferentes grupos, no 28º dia, no protocolo de 0,5g/kg/dia de w-3, os animais que foram submetidos ao teste do nado, tanto os do grupo-controle+nado quanto os do grupo w-3+nado, apresentaram menor ganho ponderal ($p=0,0025$), quando comparados aos grupos basal e w-3 (que não foram submetidos ao teste do nado). E, no ensaio em que foi utilizado 1,0g/kg/dia de w-3, o grupo-controle+nado apresentou um ganho de peso menor ($p=0,0123$), se comparado aos grupos basal e controle.

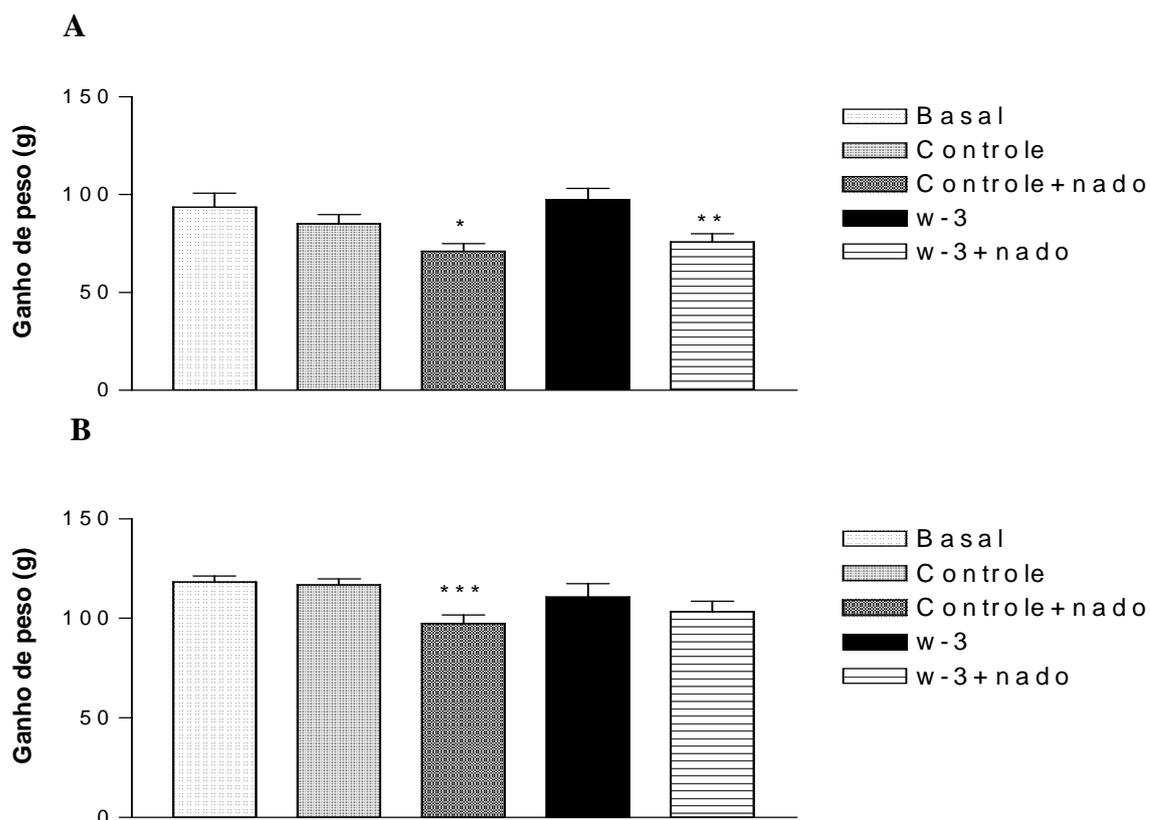


Figura 6 - Efeito da administração de **ácido graxo ômega-3** (w-3), por gavagem, na dose de **0,5g/kg/dia** (A) ou **1,0g/kg/dia** (B), ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado, por 28 dias, no **ganho de peso** (g). Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo basal e w-3; ** $p < 0,05$ comparado ao grupo w-3; *** $p < 0,05$ comparado ao basal e controle (ANOVA + Tukey).

5.4 Avaliação dos parâmetros bioquímicos

As concentrações plasmáticas de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG) e HDL-colesterol (HDL-col) foram avaliadas, após 12 horas de jejum, antes do início (tempo zero) e um dia após o término dos experimentos (29º dia). No tempo zero, antes do início da administração de AG w-3 e do teste do nado, foi feito um pareamento dos animais de modo que os diferentes grupos experimentais apresentassem valores médios de CT, TG e HDL-col semelhantes (Figuras 7, 11 e 15).

5.4.1 Colesterol total

Os valores de CT antes do início dos experimentos são apresentados na Figura 4.

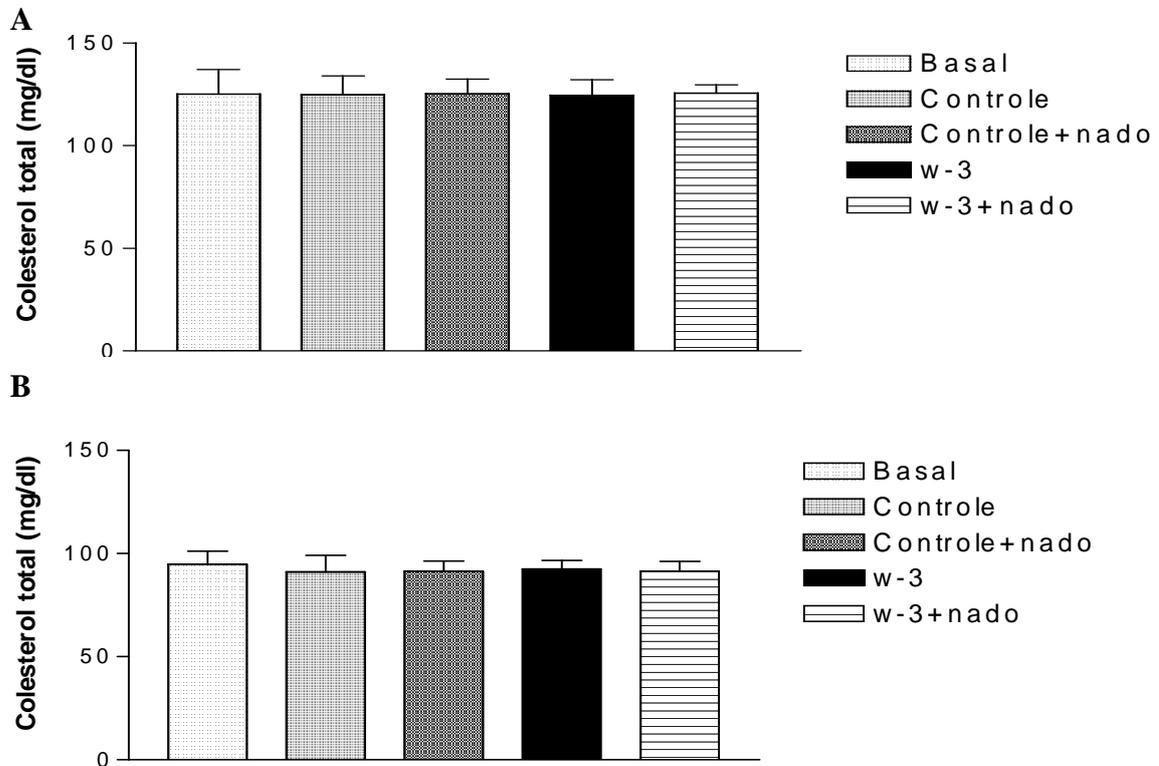


Figura 7 – Concentrações plasmáticas de **colesterol total** (mg/dl), no tempo zero, de ratos a serem submetidos à administração de gavagem diária de ômega-3 (w-3), na doses de **0,5g/kg/dia** (A) ou **1,0g/kg/dia** (B), ou água, e, a serem submetidos ou não ao teste do nado durante 28 dias. Os valores representam a média \pm EPM 10-12 animais por grupo (ANOVA + Tukey).

O efeito do tratamento com 0,5g/kg/dia e 1,0g/kg/dia de AG w-3 sobre o CT plasmático de ratos submetidos ou não ao teste do nado é apresentado na Figura 8.

A análise dos resultados demonstrou uma redução significativa do CT ($p=0,026$) do grupo w-3+nado, quando comparado ao basal no experimento onde foi utilizado 0,5g/kg/dia, após os procedimentos experimentais. Já no experimento com 1,0g/kg/dia não foi observada diferença significativa ($p=0,188$).

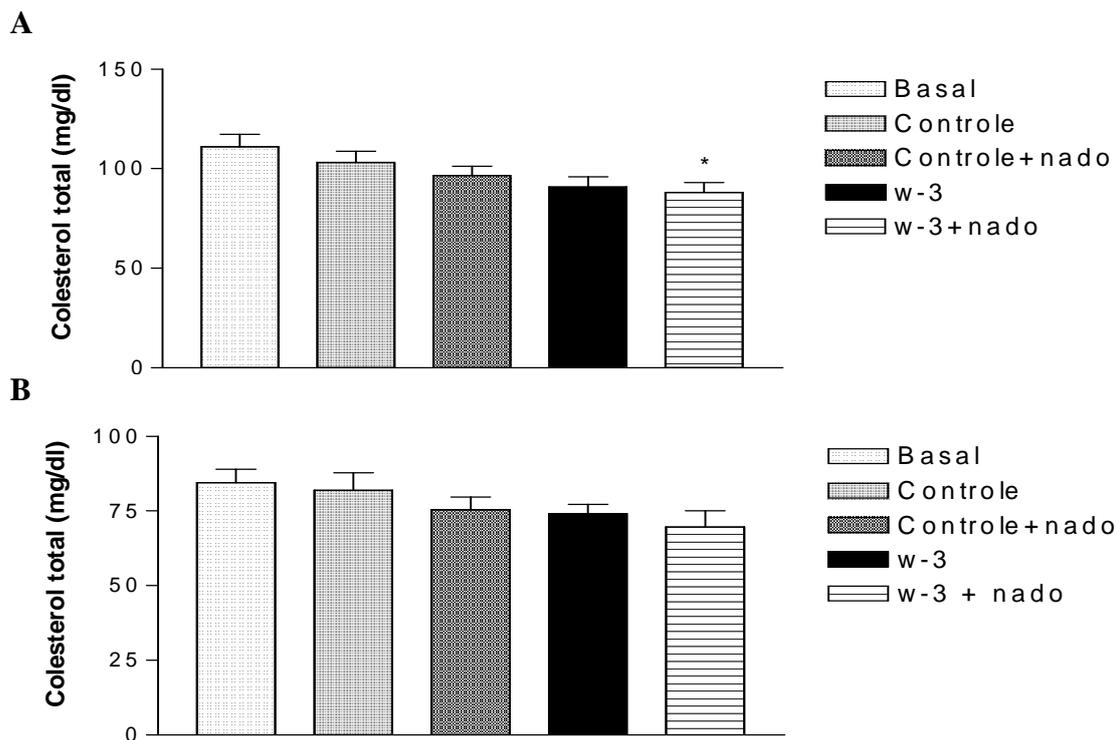


Figura 8 - Efeito da administração de **ácido graxo ômega-3 (w-3)**, por gavagem, na dose de **0,5g/kg/dia (A)** ou **1,0g/kg/dia (B)**, ou água, em ratos a serem submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias, sobre as concentrações plasmáticas de **colesterol total (mg/dl)**, no último dia dos procedimentos experimentais. Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo basal. (ANOVA + Tukey).

Quando comparados os valores iniciais aos valores finais de CT de cada grupo, por intermédio do teste *t*, com relação ao experimento onde foi administrado 0,5g/kg/dia de w-3, foi verificada uma redução estatisticamente significativa nos grupos: controle + nado ($p = 0,003$), w-3 ($p = 0,0015$) e no grupo w-3 + nado ($p < 0,0001$). Os demais grupos não apresentaram diferença. A comparação dos resultados na dose de 0,5g/kg/dia, antes e ao final do experimento, pode ser visualizada na Figura 9.

Destaca-se que o grupo w-3+nado, que recebeu w-3 por gavagem e foi submetido ao teste do nado, apresentou uma redução de 29,88% dos valores de CT plasmático, comparando-se os valores finais aos iniciais (tempo zero). Ressalta-se ainda que o grupo w-3 apresentou uma redução de 27% nos valores de CT, enquanto que o grupo-controle+nado apresentou uma redução de 22,78%, quando os valores finais foram comparados aos iniciais.

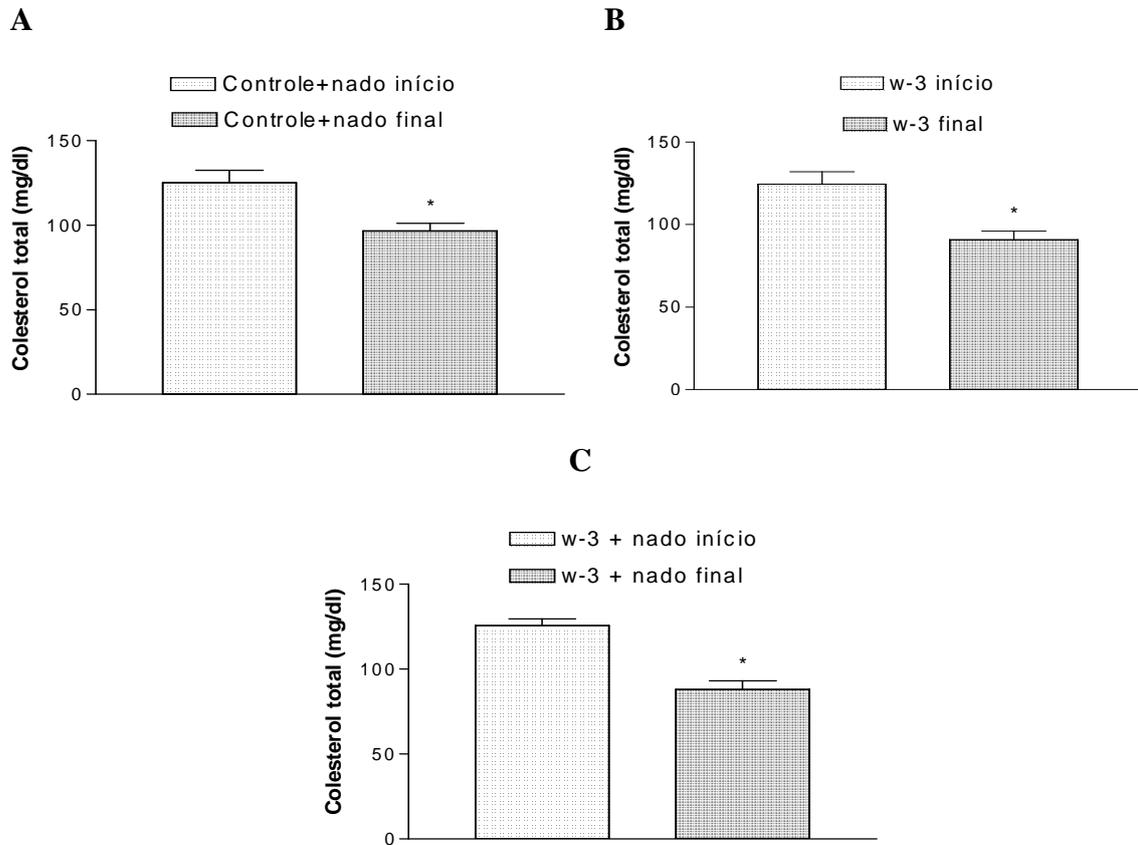


Figura 9 – Concentrações plasmáticas de **colesterol total** (mg/dl), **antes** (início) e **após** (final) os procedimentos experimentais, para avaliar o efeito da administração de **ácidos graxos w-3**, por gavagem, na dose de **0,5g/kg/dia** ou água, de ratos submetidos ou não ao teste do nado por 28 dias. **A: grupo controle+nado**, que recebeu água por gavagem e foi submetido ao teste do nado; **B: grupo w-3**, não submetido ao teste do nado; **C: grupo w-3+nado**, tratado com ácido graxo w-3 e submetido ao teste do nado. * $p < 0,05$ comparado ao início (teste *t* de Student).

A comparação dos resultados, antes e ao final do experimento, na dose de 1,0g/kg/dia, pode ser visualizada na Figura 10.

No experimento em que foi utilizada a dose de 1,0g/kg/dia de w-3 observou-se uma redução significativa das concentrações de CT em todos os grupos experimentais; entretanto, as mais significativas foram apresentadas pelos grupos w-3 e w-3+nado, com $p < 0,0001$ (Figura 10). Encontrou-se uma redução média na concentração plasmática de CT de 10,10% tanto no grupo basal quanto no grupo-controle, 17,41% no grupo-controle+nado, 19,80% no grupo w-3 e 23,65% no grupo w-3+nado.

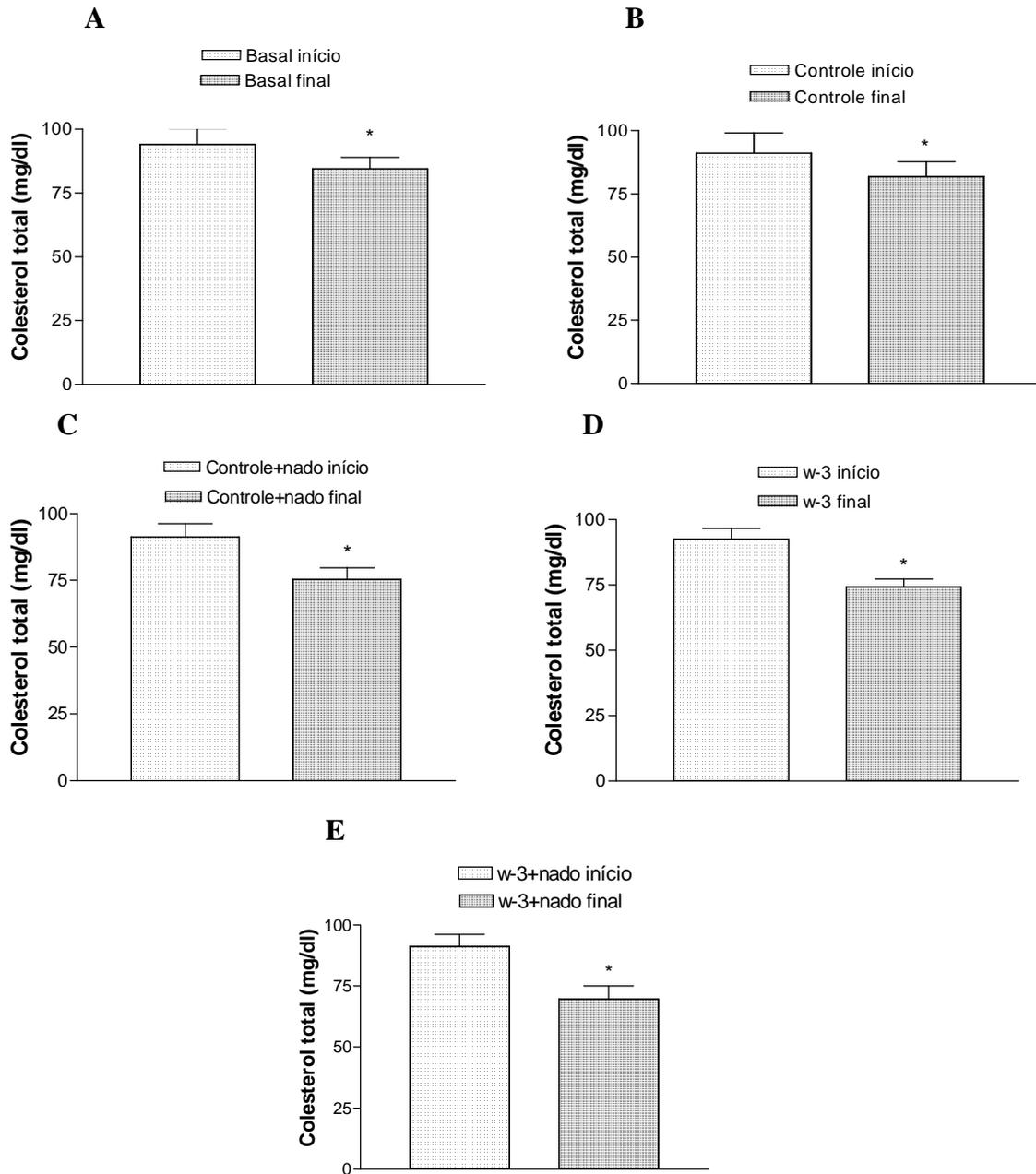


Figura 10 – Concentrações plasmáticas de **colesterol total** (mg/dl), **antes** (início) e **após** (final) os procedimentos experimentais, para avaliar o efeito da administração de **ácido graxo w-3**, por gavagem, na dose **1,0g/kg/dia** ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado por 28 dias. **A: grupo basal**, sem tratamento e não submetido ao teste do nado; **B: grupo controle**, que recebeu água por gavagem e não foi submetido ao teste do nado; **C: grupo controle+nado**, que recebeu água por gavagem e foi submetido ao teste do nado; **D: grupo w-3**, não submetido ao nado; **E: grupo w-3+nado**, tratado com ácido graxo w-3 e submetido ao nado. * $p < 0,05$ comparado ao início (teste *t* de Student).

As concentrações plasmáticas de CT no início (tempo zero) e no final (29º dia) de ambos os protocolos (0,5 e 1,0g/kg/dia) dos diferentes grupos experimentais estão representadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Concentrações plasmáticas de colesterol total (mg/dl) de ratos submetidos à administração, por gavagem, de ácidos graxos w-3, na dose de 0,5g/kg/dia ou 1,0g/kg/dia ou água e submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam as médias \pm EPM de 10 a 12 animais por grupo.

Grupos experimentais	0,5g/kg/dia (média \pm EPM)		1,0g/kg/dia (média \pm EPM)	
	início	final	início	final
Basal	125,0 \pm 12,15	111,0 \pm 6,30	94,0 \pm 6,29	84,5 \pm 4,44*
Controle	124,6 \pm 9,46	103,1 \pm 5,68	91,1 \pm 8,13	81,9 \pm 5,88*
Controle +nado	125,1 \pm 7,27	96,6 \pm 4,49*	91,36 \pm 4,90	75,45 \pm 4,27*
w-3	124,4 \pm 7,56	90,8 \pm 5,18*	92,4 \pm 4,248	74,1 \pm 3,19*
w-3 + nado	125,5 \pm 4,05	88,0 \pm 5,10*	91,2 \pm 4,94	69,63 \pm 5,40*

* $p < 0,05$, comparado ao início do respectivo protocolo (0,5 ou 1,0g/kg/dia de w-3).

5.4.2 Triglicerídeos

As concentrações plasmáticas de TG, no início (tempo zero), de ratos submetidos ao tratamento com AG w-3 na dose de 0,5 ou 1,0g/kg/dia ou água e submetidos ou não ao teste do nado estão representadas na Figura 11.

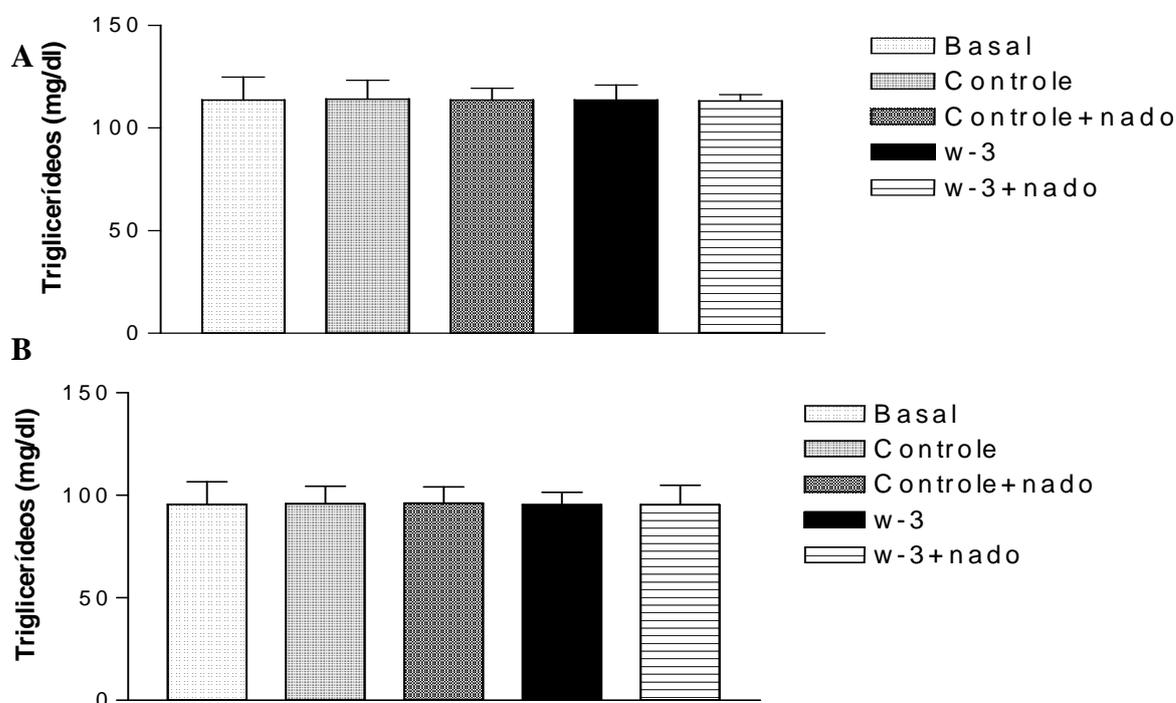


Figura 11– Concentrações plasmáticas de **triglicerídeos** (mg/dl), no **tempo zero**, de ratos a serem submetidos à administração de gavagem diária de **ácido graxo ômega-3** (w-3), na doses de **0,5g/kg/dia** (A) ou **1,0g/kg/dia** (B) ou água, e a serem submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam a média \pm EPM de 10-12 animais por grupo (ANOVA + Tukey).

O efeito do tratamento com 0,5 ou 1,0g/kg/dia de ácido graxo w-3, por 28 dias, sobre as concentrações plasmáticas de TG em ratos pode ser visualizado na Figura 12. Não foi observada diferença significativa entre os grupos experimentais na dose de 0,5g/kg/dia nos valores médios de triglicerídeos plasmáticos. Já na Figura 12B (referente à dose de 1,0g/kg/dia), pode-se perceber uma diminuição estatisticamente significativa das concentrações plasmáticas de TG nos diferentes grupos em relação ao grupo basal ($p < 0,0001$).

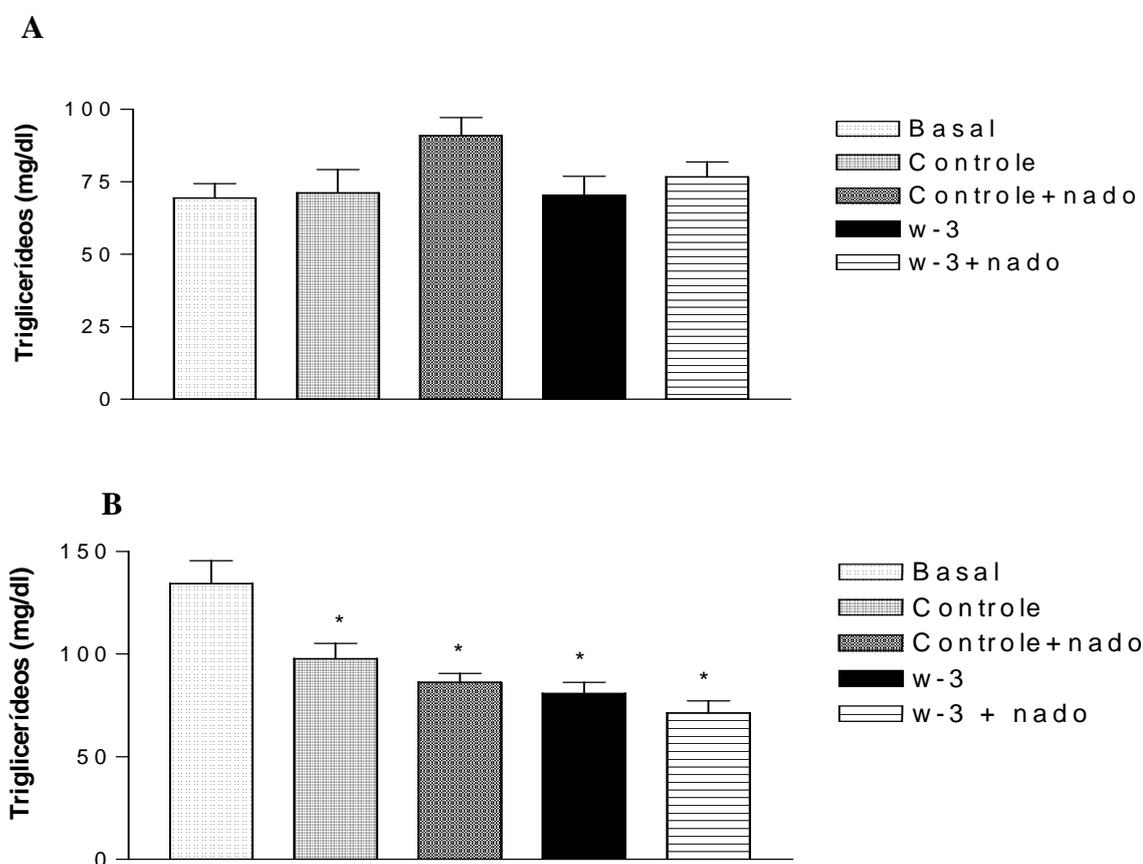


Figura 12 - Efeito da administração de ácido graxo ômega-3 (w-3), por gavagem, na dose de **0,5g/kg/dia** (A) ou **1,0g/kg/dia** (B), ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias, sobre as concentrações plasmáticas de **triglicerídeos** (mg/dl), no **último dia** dos procedimentos experimentais. Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado com o grupo basal (ANOVA + Tukey).

A comparação dos resultados de TG, de cada grupo, antes e ao final do experimento, através do teste *t*, na dose de 0,5g/kg/dia, pode ser visualizada na Figura 13.

No experimento em que foi utilizado 0,5g/kg/dia de w-3, observou-se redução significativa nas concentrações plasmáticas de TG, quando foram comparados os valores finais aos iniciais, em todos os grupos: basal ($p=0,0013$), controle ($p=0,002$), controle+nado ($p=0,008$), w-3 ($p=0,0015$), e, w-3+nado ($p<0,0001$). Esses resultados sugerem que a suplementação com AG w-3 ou nado não foram a única causa da redução dos valores da concentração plasmática de TG.

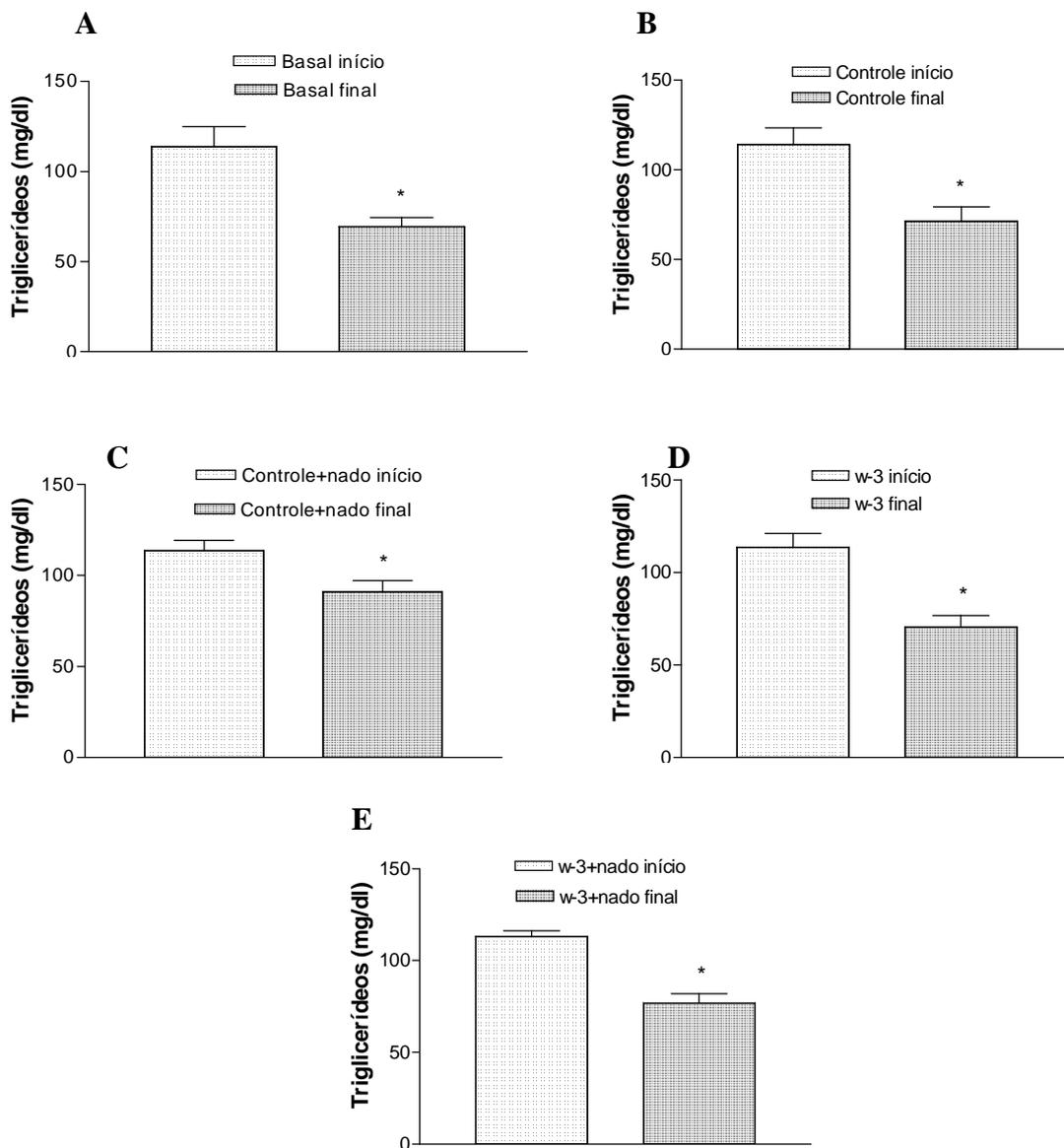


Figura 13 – Concentrações plasmáticas de **triglicerídeos** (mg/dl), **antes** (início) e **após** (final) os procedimentos experimentais, para avaliar o efeito da administração de **ácido graxo w-3**, por gavagem, na dose de **0,5g/kg/dia** ou água, de ratos submetidos ou não ao teste do nado por 28 dias. **A: grupo basal**, sem tratamento e não submetidos ao teste do nado; **B: grupo controle**, que recebeu água por gavagem e não foi submetido ao teste do nado; **C: grupo controle+nado**, que recebeu água por gavagem e foi submetido ao teste do nado; **D: grupo w-3** não submetido ao teste do nado; **E: grupo w-3+nado**, que recebeu ácidos graxos w-3 por gavagem e foi submetido ao nado. * $p<0,05$ comparado ao início (teste *t* de Student).

Já quando os grupos experimentais do protocolo com 1,0g/kg/dia de w-3 foram submetidos ao teste *t*, com a intenção de comparar os valores obtidos para TG no tempo zero e após 28 dias de tratamento, observou-se um aumento de 40,48% no grupo basal, considerado estatisticamente significativo ($p=0,0015$), e redução de 15,3% e 25,13% nos grupos w-3 ($p=0,0463$) e w-3 + nado ($p=0,0065$), respectivamente, que podem ser observados na Figura 14. Ou seja, o tratamento com 1,0g/kg/dia de AG w-3, associado ou não ao nado, interferiu nas concentrações plasmáticas de TG após o período de 28 dias; entretanto, a diferença foi maior, entre o início e o final, quando a ingestão de w-3 foi associada ao nado.

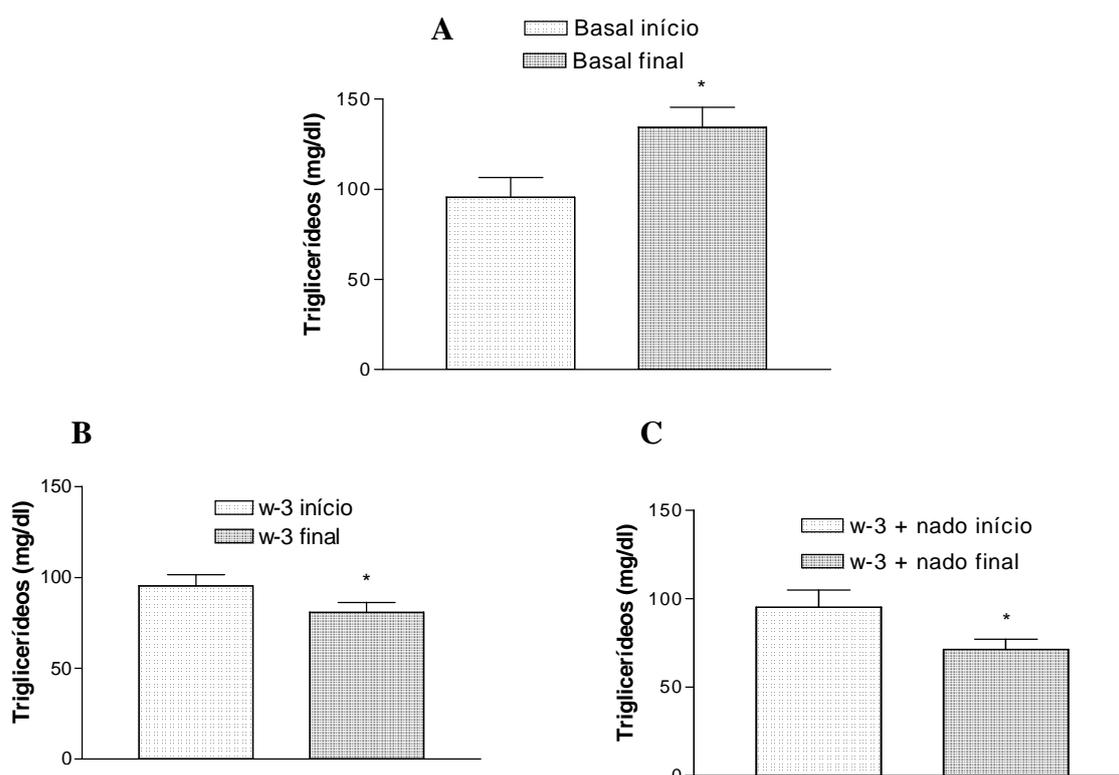


Figura 14 – Concentrações plasmáticas de **triglicerídeos** (mg/dl), **antes** (início) e **após** (final) os procedimentos experimentais, para avaliar o efeito da administração de **ácido graxo w-3**, por gavagem, na dose de **1,0g/kg/dia** ou água, de ratos submetidos ou não ao teste do nado por 28 dias. **A: grupo basal**, sem tratamento e não submetido ao teste do nado; **B: grupo w-3**, não submetido ao teste do nado; **C: grupo w-3+nado** que recebeu ácidos graxos w-3 por gavagem e foi submetido ao nado. * $p<0,05$ comparado ao início (teste *t* de Student).

Os valores das concentrações plasmáticas de TG de cada grupo, referentes aos experimentos com 0,5 ou 1,0g/kg/dia de AG w-3, estão representados na Tabela 6.

Tabela 6– Concentrações plasmáticas de triglicerídeos (mg/dl) de ratos submetidos à administração, por gavagem, de ácidos graxos w-3, na dose de 0,5g/kg/dia ou 1,0g/kg/dia ou água e submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam as médias \pm EPM de 10 a 12 animais por grupo.

Grupos experimentais	0,5g/kg/dia (média \pm EPM)		1,0g/kg/dia (média \pm EPM)	
	Início	final	início	final
	Basal	113,6 \pm 11,15	69,45 \pm 4,95*	95,6 \pm 10,97
Controle	114,0 \pm 9,24	71,2 \pm 8,09*	95,8 \pm 8,58	97,7 \pm 24,04
Controle+nado	113,6 \pm 5,66	90,9 \pm 6,30*	96,1 \pm 8,00	86,1 \pm 4,39
W-3	113,6 \pm 7,39	70,4 \pm 6,40*	95,4 \pm 6,19	80,8 \pm 5,46*
W-3+nado	113,1 \pm 3,14	76,75 \pm 5,21*	95,2 \pm 9,60	71,27 \pm 5,87*

*p<0,05, comparado ao início do respectivo protocolo (0,5 ou 1,0g/kg/dia de w-3).

5.4.3 HDL-colesterol

As concentrações plasmáticas de HDL-col, no início (tempo zero), de ratos, submetidos ao tratamento com AG w-3 na dose de 0,5 ou 1,0g/kg/dia ou água e submetidos ou não ao teste do nado são visualizados na Figura 15.

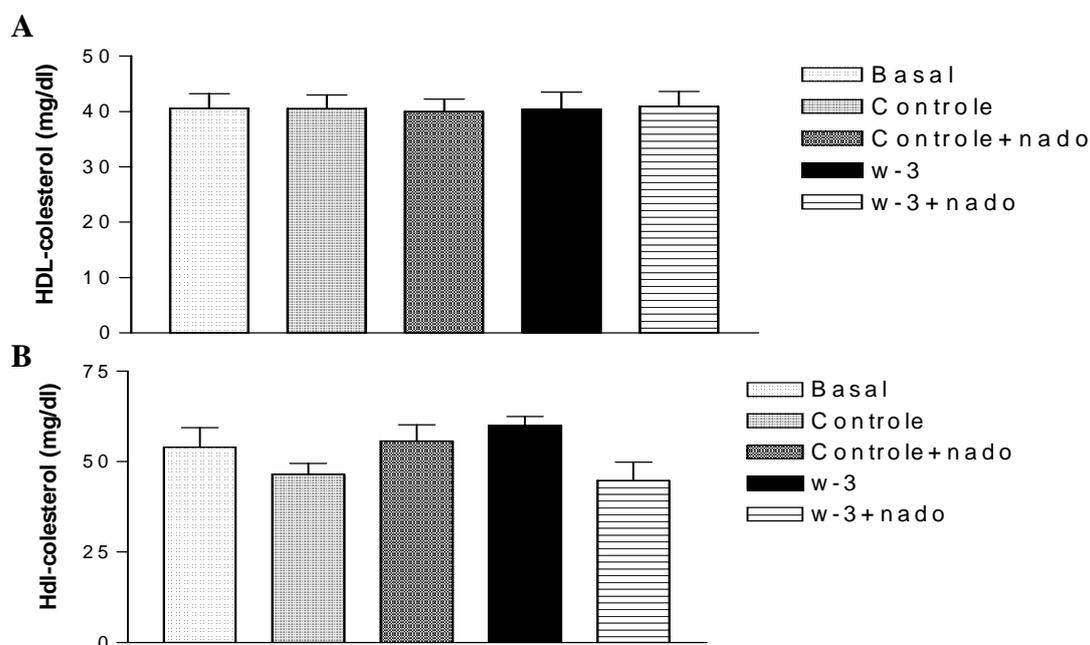


Figura 15– Concentrações plasmáticas de HDL-colesterol (mg/dl), no tempo zero, de ratos a serem submetidos à administração de gavagem diária de ácido graxo ômega-3 (w-3), nas doses de 0,5g/kg/dia (A) ou 1,0g/kg/dia (B) ou água, e a serem submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam a média \pm EPM de 10-12 animais por grupo (ANOVA + Tukey).

O efeito do tratamento com 0,5 ou 1,0g/kg/dia de AG w-3, por 28 dias, sobre as concentrações plasmáticas de HDL-col, em ratos, está representado na Figura 16. Na dose de 0,5g/kg/dia de w-3, foi possível observar uma diferença significativa, pois o grupo basal apresentou maior concentração de HDL-col ($p=0,0004$), comparado aos grupos controle+nado, w-3 e w-3+nado. Ressalta-se que, no protocolo de 1,0g/kg/dia, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na comparação entre os grupos para esse parâmetro.

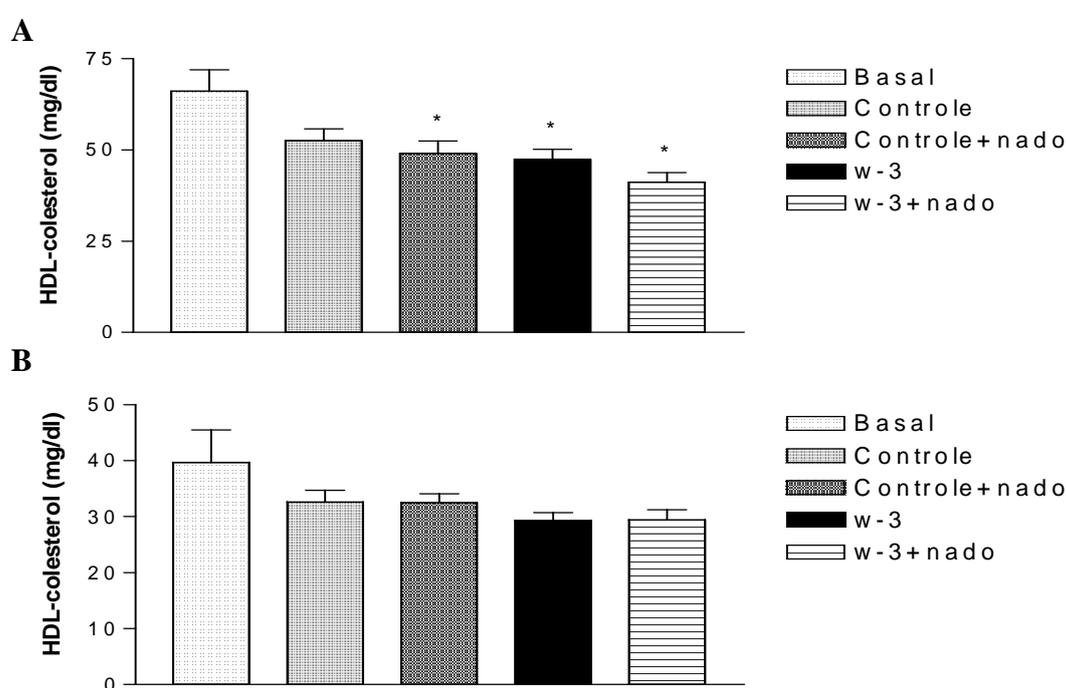


Figura 16 – Efeito da administração de **ácido graxo ômega-3 (w-3)**, por gavagem, na dose de **0,5g/kg/dia (A)** ou **1,0g/kg/dia (B)**, ou água, em ratos submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias, sobre as concentrações plasmáticas de **HDL-colesterol (mg/dl)**, no último dia dos procedimentos experimentais. Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * $p<0,05$ comparado ao grupo basal (ANOVA + Tukey).

No experimento no qual os animais foram tratados com 0,5g/kg/dia de w-3, os grupos experimentais basal, controle e controle+nado, quando comparados os valores iniciais aos finais pelo teste *t*, apresentaram aumento significativo nas concentrações plasmáticas de HDL-col, sendo sua significância $p=0,0007$, $p=0,0124$ e $p=0,0087$, respectivamente.

Já no experimento em que foi utilizado o tratamento de 1,0g/kg/dia de w-3 ou água, quando comparados os valores iniciais aos finais por meio do teste *t*, foram observadas reduções significativas em todos os grupos experimentais (basal, $p=0,0273$; controle, $p=0,0051$; controle+nado, $p=0,0004$; w-3, $p<0,0001$; e, w-3+nado, $p=0,0156$). Os valores da avaliação das concentrações plasmáticas de HDL-col de cada grupo nos diferentes experimentos (0,5 e 1,0g/kg/dia) podem ser visualizados na Tabela 7.

Tabela 7 – Concentrações plasmáticas de HDL-colesterol (mg/dl) de ratos submetidos à administração, por gavagem, de ácidos graxos w-3, na dose de 0,5g/kg/dia ou 1,0g/kg/dia ou água e submetidos ou não ao teste do nado, durante 28 dias. Os valores representam as médias \pm EPM de 10 a 12 animais por grupo.

Grupos experimentais	0,5g/kg/dia		1,0g/kg/dia	
	(média \pm EPM)		(média \pm EPM)	
	início	final	início	final
Basal	40,5 \pm 2,63	66,1 \pm 5,83*	54,0 \pm 5,40	39,6 \pm 5,83*
Controle	40,5 \pm 2,45	52,5 \pm 3,28*	46,5 \pm 3,00	32,6 \pm 2,14*
Controle + nado	39,96 \pm 2,32	49,0 \pm 3,44*	55,7 \pm 4,51	32,5 \pm 1,58*
W-3	40,4 \pm 3,09	47,5 \pm 2,63	60,1 \pm 2,41	29,3 \pm 1,42*
W-3 + nado	40,9 \pm 2,68	41,2 \pm 2,55	44,7 \pm 5,11	29,4 \pm 1,80*

* $p<0,05$, comparado ao início do respectivo protocolo (0,5 ou 1,0g/kg/dia de w-3).

5.5 Peso do fígado

O peso do fígado dos animais foi avaliado ao final dos experimentos (Figura 17).

Com relação ao experimento que utilizou 0,5g/kg/dia de AG w-3, o grupo-controle+nado apresentou média de peso do fígado significativamente menor ($p=0,0024$) quando comparado ao grupo w-3. Da mesma forma, no experimento com 1,0g/kg/dia de w-3 também foi verificado menor peso do fígado ($p=0,003$) no grupo-controle+nado, quando comparado aos grupos basal, controle e w-3.

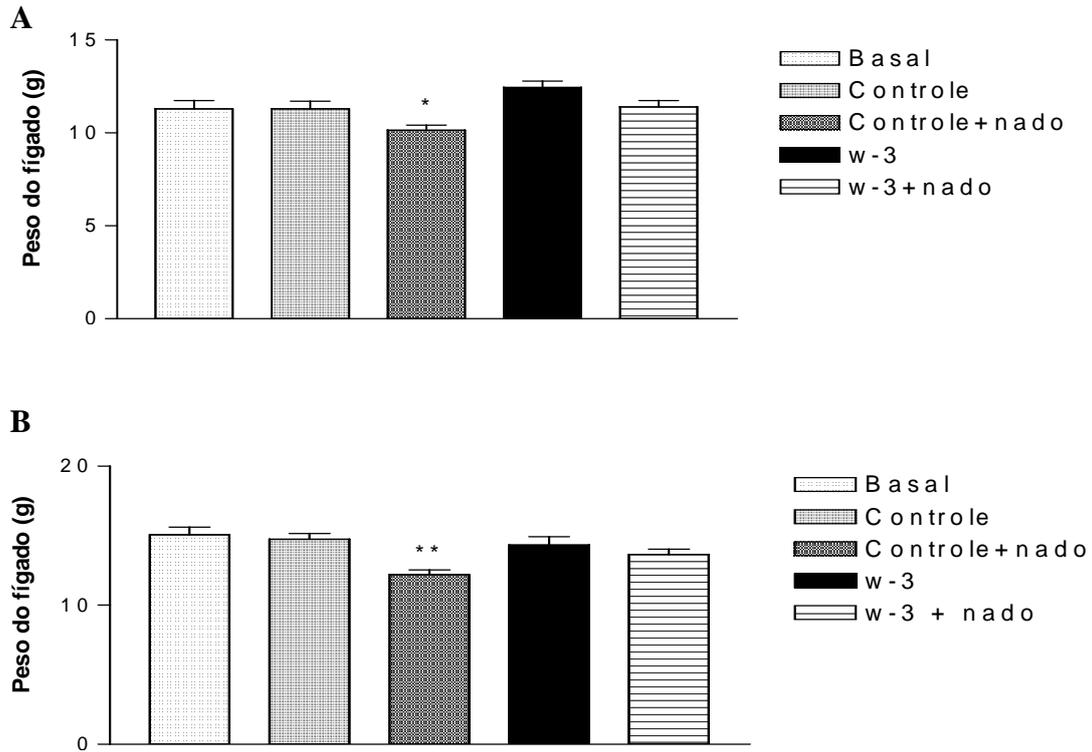


Figura 17- Efeito da administração de **ácido graxo ômega-3 (w-3)**, por gavagem, na dose de **0,5g/kg/dia (A)** ou **1,0g/kg/dia (B)**, no **peso do fígado (g)** de ratos, submetidos ou não ao teste do nado, por 28 dias. Os resultados são expressos como média \pm EPM de 10-12 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo w-3; ** $p < 0,05$ comparado aos grupos basal, controle e w-3 (ANOVA + Tukey).

6 DISCUSSAO

Diversos fatores de risco estão associados à maior susceptibilidade de doenças cardiovasculares, destacando-se entre eles a obesidade, o aumento de lipídeos plasmáticos, o sedentarismo, a inadequação dietética, a hipertensão e o fumo (CERVATO et al., 1997). O aumento do consumo de AGPI na dieta, especialmente de AG w-3, tem sido relacionado com efeitos positivos sobre doenças cardíacas desde a década de 70, quando Dyberg e Bang (1979) verificaram que a baixa incidência de doenças decorrentes da aterosclerose entre esquimós estava associada a um elevado consumo de peixes marinhos – ricos em w-3 – por esses indivíduos. Corroborando essas observações, estudos posteriores demonstraram que dietas ricas em AG w-3 podem exercer efeitos positivos sobre as doenças cardíacas, destacando-se os efeitos antiateroscleróticos (DE CATARINA; ZAMPOLLI, 2001), antitrombóticos (KRISTENSEN; IVERSEN; SCHMIDT, 2001) e anti-hipertensivos (PRISCO et al., 1998; ENGLER et al., 1999; KIMURA et al., 2002). Além disso, o elevado consumo dietético de w-3 está relacionado com reduções substanciais no risco de morte (ERKKILA; LEHTO; PYORALA; USITUPA, 2003). Assim, diversos autores sugerem que dietas acrescidas de AG w-3 poderiam melhorar o perfil lipídico tanto em humanos quanto em animais, e, conseqüentemente, reduzir o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (CARVAJAL; ÂNGULO, 1997; ÁGUILA; APFEL; MANDARIM-DE-LACERDA, 1997; PELLIZZON et al., 2002).

Apesar de, com o presente estudo, não termos tido a intenção de associar o desenvolvimento de doenças cardiovasculares com o consumo de AG do tipo w-3, pretendemos relacionar a ingestão dele com as concentrações plasmáticas de TG, CT e HDL-col, que são considerados fatores de risco para várias doenças. Na confrontação com a

literatura, os resultados obtidos são por vezes contraditórios, destacando-se a diminuição das concentrações plasmáticas de TG (RIEVELLESE et al., 2003), de CT (AGUILA et al., 2002; GAIVA et al., 2003) ou de ambas (HALVORSEN; RUSTAN; CHRISTIANSEN, 1995; CARVAJAL; ÂNGULO, 1997).

Com relação à estimativa de consumo alimentar médio dos grupos experimentais da ração comercial, em gramas, não foi observado diferença significativa tanto no protocolo em que foi administrada a dose de 0,5g/kg/dia de AG w-3 quanto no de 1,0g/kg/dia.

Já com relação à quantidade média de macronutrientes consumidos por meio da ração comercial, encontrou-se diferença quando foram comparados aos recomendados pelo Instituto Americano de Nutrição (AIN, *American Institute of Nutrition*), quanto à necessidade diária de ratos adultos (AIN-93M). Considerando-se o percentual de consumo de macronutrientes da ração comercial (utilizada em ambos os experimentos do presente estudo), em relação ao seu valor calórico total após a análise de sua composição centesimal, constatou-se que em torno de 70,08% das calorias foram fornecidas por CHO, 20,29% por proteínas e 9,61% por lipídeos. Já o AIN recomenda que 75,9% da energia sejam fornecidos por CHO, 14,1% por proteínas e 10% por lipídeos (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). Com isso, verificou-se que somente a quantidade de lipídeos encontrada apresentou valor próximo ao recomendado na AIN-93M. Já em relação aos demais macronutrientes, constatou-se que as calorias fornecidas por CHO foram menores que aquela recomendação, enquanto que as provindas de proteínas foram maiores.

Quando analisada a composição de AG da ração comercial utilizada no presente estudo, encontrou-se 0,672g de AGS, 1,041g de AGMI, 0,147 de AGPI w-3 e 1,695g de AGPI w-6, enquanto que o recomendado pela AIN-93M é de 0,62g de AGS, 0,93g de AGMI, 0,27g de AGPI w-3 e 1,04g de AGPI w-6. Verificou-se, com isso, que o teor de AGMI e AGPI w-6 foi superior e de AGPI w-3 inferior às concentrações recomendadas. Ressalta-se

que os grupos suplementados com óleo de peixe no protocolo de 0,5g/kg/dia, consumiram adicionalmente 0,55g de lipídeos (contendo 0,16g de EPA+DHA), correspondendo a 6,1% de lipídeos totais na dieta, enquanto que os grupos que somente consumiram ração comercial (grupos basal, controle e controle+nado) obtiveram um teor de lipídeos, da ração comercial, de 3,83%. Já no protocolo de 1,0g/kg/dia, os grupos suplementados receberam adicionalmente, por animal, 0,95g/dia de óleo de peixe (que continha 0,28g de EPA + DHA), representando no total 7,2% de lipídeos, enquanto que os grupos não suplementados com óleo também receberam um percentual de 3,83% de lipídeos advindos da ração comercial.

A partir da avaliação do consumo alimentar dos animais foi possível constatar que os ratos suplementados receberam 5,02kcal ou 8,52kcal extras diárias, o que representa um percentual de 6,16% e 9,98% de calorias adicionais nos protocolos de 0,5 e 1,0g/kg/dia, respectivamente. Embora a diferença no consumo alimentar diário entre os grupos pareça mínima, deve-se enfatizar que a estimativa média do valor calórico total ingerido por rato foi de 83,35kcal/dia, após 28 dias, nos grupos não suplementados com óleo de peixe, enquanto que nos grupos suplementados as médias de ingestão energética total por rato foram de 88,37kcal e 91,87kcal para os animais que receberam as doses de w-3 de 0,5g/kg/dia e 1,0g/kg/dia, respectivamente. Esse consumo calórico extra ao final de 28 dias representou um aporte de 2474,36kcal e 2572,36kcal nas doses de 0,5 e 1,0g/kg/dia, respectivamente, enquanto o valor calórico total médio dos grupos não suplementados foi de 2333,80kcal.

Apesar de os grupos suplementados receberem calorias extras diariamente, não foram encontrados aumentos significativos no peso corporal desses animais em relação aos demais; somente verificou-se que os ratos do grupo submetido ao exercício físico, mas não suplementado com óleo de peixe (grupo-controle+nado) apresentaram um menor ganho de peso em relação aos grupos basal e controle no protocolo realizado com 1,0g/kg/dia de w-3. Quanto à variação ponderal por grupo (Figura 6), verificou-se um ganho menor naquele

submetido ao nado e suplementado com ácidos graxos w-3 (w-3+nado) no experimento que utilizou 0,5g/kg/dia de w-3 e nos grupos controle+nado de ambos os protocolos (0,5 e 1,0g/kg/dia). O menor ganho de peso encontrado nos grupos submetidos ao nado no presente estudo pode ser justificado pelo fato de os animais terem sido submetidos ao exercício físico por 20 minutos, no período de 28 dias. Como em ambos os protocolos os grupos controle+nado apresentaram menor ganho de peso, pode-se sugerir que o nado promoveu um gasto energético considerável.

Ressalta-se que o ganho de peso significativamente menor no grupo w-3+nado em relação ao grupo w-3 no protocolo de 0,5g/kg/dia ocorreu provavelmente em função da associação do exercício físico, o que não ocorreu quando se compararam os mesmos grupos do ensaio com 1,0g/kg/dia de w-3 (Figura 6). No grupo suplementado com 1,0g/kg/dia de w-3 e submetido ao nado, o maior consumo calórico talvez possa ter compensado os efeitos de menor ganho de peso resultantes da prática de exercício físico, observado ao se comparar os grupos w-3 e w-3+nado do protocolo de 0,5g/kg/dia.

Tem sido postulado que dietas ricas em AG w-3 podem diminuir a síntese de lipídeos e auxiliar em tratamentos para redução de gordura corporal ou obesidade (KIM; TAKAHASHI; EZAKI, 1999; SAMPATH; NTAMBI, 2005). Com esse efeito na redução da lipogênese, animais suplementados com AG w-3, poderiam talvez apresentar alguma modificação no peso corporal ou ganho de peso. No nosso trabalho, a quantidade administrada de w-3 por meio do óleo de peixe parece não ter sido efetiva *per se* na redução do peso corporal ou ganho de peso de ratos suplementados em ambos os protocolos, uma vez que não foram encontradas diferenças significativas na comparação dos grupos que receberam óleo de peixe e não foram submetidos ao nado (grupo w-3) em relação aos grupos-controle que receberam água por gavagem e não nadaram (Figura 6). Entretanto, no presente estudo não averiguamos o efeito da suplementação de outro tipo de lipídeo em relação ao óleo de

peixe e se alterações no peso corporal ou ganho de peso poderiam ser encontradas se os outros grupos tivessem sido também suplementados com outro tipo de óleo, para assim perfazer um total calórico semelhante entre os grupos.

No estudo realizado por Venkatraman et al. (1998) foi observada uma redução significativa no ganho de peso de ratos submetidos à dieta rica em w-3 (9% de óleo de peixe + 1% de óleo de milho) por dois meses, comparado ao grupo que recebeu dieta rica em w-6 (10% de óleo de milho), independentemente da prática ou não de exercícios físicos (corrida forçada por 30 a 50min, seis vezes por semana). Foi sugerido que esse resultado pode ter ocorrido devido ao maior consumo de AG w-3, que poderia interferir na síntese de lipídeos, levando a um menor ganho de peso. Destaca-se que a suplementação de lipídeos no referido trabalho foi realizada em iguais concentrações em todos os grupos experimentais, não diferindo assim no total de calorias diárias fornecidas.

Na pesquisa realizada por Pellizzon et al. (2002), ratos submetidos ao nado por 2 horas, cinco vezes na semana, por seis semanas (iniciados a partir da 9ª semana de idade) apresentaram menor ganho de peso e adiposidade corporal quando comparados aos grupos sedentários, independentemente do tipo de dieta à qual esses animais foram submetidos: hiperlipídicas e hipercalóricas, (com 33% óleo de peixe + 7% de óleo de soja ou com 33% de óleo de palma + 7% de óleo de soja ou com 40% de óleo de soja) ou normolipídica e normocalórica, denominada dieta-controle, com 7% de óleo de soja. Ressalta-se que não foi observada diferença significativa no consumo calórico diário, independente do tipo de dieta (normo ou hiperlipídica) dos animais submetidos às diferentes dietas, desde a idade fetal e de lactação (através da alimentação da mãe) até à idade adulta (15 meses), mesmo quando esses animais foram submetidos ao exercício físico (nado).

Já o exercício físico (nado) praticado por poucos dias (apenas uma semana) e por período curto (apenas 5 minutos) não afetou o ganho de peso corporal de ratos,

independentemente do tipo de dieta à qual estes animais foram submetidos (dieta hiperlipídica – 20% de lipídeos ou dieta normal – ração comercial) (SOULIS; KITRAKI; GEROZISSIS, 2005).

Apesar de não ser possível precisar qual o tempo necessário de atividade física para interferir no peso corporal de ratos, podemos sugerir, de acordo com os resultados do nosso trabalho, que a prática do nado por 20min, cinco vezes na semana, por 28 dias – o que equivale a um esforço de intensidade leve e de curta duração (VENDITTI; MASULLO; MEO, 1999) –, já pode ser suficiente para interferir no ganho de peso corporal na referida espécie animal.

Com relação ao fígado dos animais, em ambos os protocolos experimentais do presente trabalho foi verificado menor peso nos grupos que receberam água por gavagem e foram submetidos ao nado (grupo-controle+nado) em relação aos w-3, que não nadaram. No ensaio com 1,0g/kg/dia, o grupo-controle+nado ainda apresentou significância com os grupos basal e controle. A suplementação com AG w-3 nas doses de 0,5 ou 1,0g/kg/dia, por 4 semanas, mesmo que tenha aumentado o teor de ingestão de lipídeos de 3,83% (ração comercial) para 6,1% ou 7,2% (ração comercial + óleo de peixe), nos respectivos protocolos, não demonstrou alterações visíveis, macroscopicamente. Por outro lado, o exercício físico, por si só, parece ter repercutido em menor peso hepático (Figura 17).

Diferentes estudos têm apresentado resultados controversos quanto ao peso do fígado de animais submetidos a dietas ricas em AG w-3. Pellizzon et al. (2002) observaram que os animais não submetidos ao exercício físico que receberam dieta rica em AG w-3 (33% de óleo de peixe + 7% de óleo de soja) apresentaram menor peso do fígado quando comparados aos grupos que receberam dieta rica em óleo de palma (33% de óleo de palma + 7% de óleo de soja) ou rica em óleo de soja (40%). Quando os ratos foram submetidos ao nado (2 horas, cinco vezes na semana, por seis semanas), o peso do fígado apresentou-se menor quando

comparados aos dos grupos sedentários. Comparando-se os grupos exercitados, foi observado que os animais dos grupos-controle (7% de óleo de soja) e óleo de peixe apresentaram menor peso e concentração de lipídeos no fígado quando comparados aos demais. Ressalta-se que em nosso estudo não encontramos menor peso do fígado nos grupos exercitados e suplementados com AG w-3 (grupo w-3+nado), comparados aos suplementados não exercitados, provavelmente pelo curto período na qual foram submetidos ao nado (apenas 20min), quando comparado ao realizado no estudo que submeteu os animais a 2 horas de nado.

Em relação às concentrações plasmáticas de CT no presente estudo, foi observada uma diminuição na concentração de CT ($p=0,026$) (Figura 8), após 28 dias de experimento, no grupo que foi suplementado com 0,5g/kg/dia de w-3 e submetido ao exercício físico, em relação ao grupo basal. Da mesma forma, quando os valores finais de CT dos animais do protocolo de 0,5g/kg/dia foram comparados aos valores iniciais (tempo zero) no teste *t*, o grupo w-3+nado demonstrou redução muito significativa ($p<0,0001$). Entretanto, os grupos-controle+nado e w-3 também demonstraram redução estatisticamente significativa ($p=0,003$ e $p=0,0015$, respectivamente).

Ressalta-se que as reduções nas concentrações plasmáticas de CT apresentaram-se maiores quando a suplementação com w-3 foi associada ao nado, podendo isso talvez sugerir um sinergismo da suplementação com óleo de peixe e o nado. Ao analisarmos os valores finais em relação aos iniciais, houve uma maior diferença no grupo w-3, com $p=0,0015$ e redução de 27% no valor de CT, enquanto que no grupo-controle+nado essa redução foi de 22,78%, com valor de $p=0,003$. Ou seja, a suplementação de AG w-3 na dose de 0,5g/kg/dia pareceu indicar um maior impacto do que a prática do nado apenas (grupo-controle+nado) na redução das concentrações plasmáticas de CT.

No experimento realizado com 1,0g/kg/dia de w-3, todos os grupos apresentaram redução das concentrações plasmáticas de CT quando o valor final foi comparado ao inicial (tempo zero). Os grupos w-3 e w-3+nado apresentaram maior redução ($p<0,0001$) das concentrações plasmáticas de CT, correspondendo respectivamente a 19,80% e 23,65%, sendo que, o grupo-controle+nado ($p=0,0238$) apresentou redução de 17,41%.

Conforme referido em ambos os protocolos, os animais suplementados com AG w-3 (0,16g e 0,28g/dia) apresentaram redução das concentrações plasmáticas de CT ao serem comparados os valores finais aos iniciais (tempo zero) (conforme observado nas Figuras 9 e 10). Destaca-se que as reduções pareceram maiores quando a suplementação foi associada ao exercício físico (nado).

Morvan et al. (2002) observaram redução na concentração plasmática de CT em camundongos fêmeas tratadas com 8,33% de lipídeos, sendo 5% advindos da ração comercial e 3,33% de AG w-3 (EPA + DHA), por 16 semanas, comparados ao grupo-controle, que recebeu somente ração comercial. Apesar de o teor de lipídeos utilizados em nosso estudo, quando associado à suplementação com AG w-3 (6,1 ou 7,2%, nos protocolos de 0,5 e 1,0g/kg/dia, respectivamente), ser inferior ao utilizado por Morvan e colaboradores, também se constataram reduções nas concentrações plasmáticas de CT. No presente trabalho, os grupos suplementados com w-3 apresentaram reduções maiores nas concentrações plasmáticas de CT do que os demais grupos.

Efeito benéfico da prática de exercício físico foi constatado no estudo realizado por Quiles et al. (2003), no qual os grupos de ratos submetidos à corrida de 40min/dia, à velocidade de 35m/min, por oito semanas, apresentaram menor concentração sérica de CT quando comparados aos grupos sedentários, independente do tipo de dieta à qual foram submetidos (rica em óleo de girassol a 8% ou rica em óleo de oliva a 8%). Ressalta-se que no presente estudo os animais foram submetidos ao exercício físico diário com 20 min de

duração (cada sessão), realizados por 4 semanas (por período menor e também com menor duração por dia do que o último trabalho referido). Destaca-se que, conforme já mencionado, os animais exercitados e também suplementados com AG w-3 (grupo w-3+nado) apresentaram reduções de CT significativas no nosso trabalho, em ambos os protocolos.

As concentrações plasmáticas elevadas de TG também têm sido associadas com maior risco de doenças coronarianas. Esses TG são encontrados predominantemente nas lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL-col). Alguns estudos têm sugerido que dietas ricas em óleo de peixe podem reduzir as concentrações plasmáticas de TG tanto em pessoas ou animais com hipertrigliceridemia (ARTEAGA et al., 1993; CARVAJAL; ANGULO, 1997) quanto em normolipidêmicos (HALVORSEN; RUSTAN; CHRISTIANSEN, 1995; LERAY et al., 2001; MORVAN et al., 2002; LAIDLAW; HOLUB, 2003; RIEVELLESE et al., 2003).

Verificou-se que, com a ingestão média de 0,55g de óleo de peixe contendo 0,16g de EPA + DHA (dose de 0,5g/kg/dia de w-3), quando comparados os valores finais aos iniciais (tempo zero) no teste *t*, todos os grupos reduziram as concentrações plasmáticas de TG, e a redução mais significativa foi encontrada no grupo submetido ao exercício físico e suplementado com óleo de peixe ($p < 0,0001$) (Figura 13).

Já no protocolo de 1,0g/kg/dia, quando se comparou a concentração inicial à final de TG, foram observadas reduções significativas apenas nos grupos w-3, com redução de 15,3% ($p = 0,046$), e w-3+nado, com redução de 25,13% ($p = 0,0065$), e um aumento significativo (40,48%) foi observado no grupo basal ($p = 0,0015$) (Figura 14). Portanto, a suplementação com AG w-3 pode ter contribuído para a redução das concentrações plasmáticas de TG. Não foi possível precisar qual o motivo que levou ao aumento das concentrações plasmáticas de TG no grupo basal, sendo possível que fatores não explicados até o momento estejam envolvidos.

Em relação à possível interferência de AG w-3 nos lipídeos sanguíneos, Jorge et al. (1997) observaram uma redução de 31% na concentração de TG plasmático de coelhos hipercolesterolêmicos suplementados com apenas 300mg/kg/dia de w-3, por 15 dias, comparados àqueles não suplementados. Destaca-se que todos os animais foram submetidos ao tratamento com dieta hipercolesterolêmica, composta por ração comercial adicionada de 0,5% de colesterol + 2% de gordura de coco (rica em AGS), 15 dias antes do início da suplementação com AG w-3, sendo esta mantida por todo o experimento.

Alguns autores sugerem que a redução das concentrações plasmáticas de TG tem efeito dose-dependente de w-3. Esse efeito pode ser observado no estudo desenvolvido por Harris et al. (1990), no qual indivíduos hipertrigliceridêmicos foram submetidos ao consumo diário de 15ml de óleo de peixe contendo 4,5g de w-3, ou 25ml de óleo de peixe com 7,5g de w-3 ou 40ml de óleo de peixe com 12g de w-3. Foram observadas reduções nas concentrações plasmáticas de TG de 53% com a dose de 4,5g, 54% com a dose de 7,5g e 61% com a dose de 12g de w-3/dia. Entretanto, a dose de 12g de w-3/dia foi capaz de aumentar o tempo de sangramento nesses pacientes, além de ser considerada uma dose de difícil administração diária pela grande quantidade de óleo. A dose de 4,5g de w-3 poderia ser facilmente atingida com o consumo de 250g de peixe rico em w-3, além de poder demonstrar resultado significativo na redução das concentrações de TG.

Hipóteses sobre o mecanismo pelo qual os AGPI são responsáveis pela diminuição das concentrações de CT estão sendo consideradas no sentido de os AGPI serem responsáveis pelo aumento da excreção de colesterol sob a forma de ácidos biliares, redistribuindo dessa forma as concentrações no soro e tecidos, ou pelo aumento de receptores de LDL-col no fígado, levando a uma diminuição na sua concentração plasmática (ERITSLAND, 2000).

Também é sugerido que os AG w-3 são capazes de inibir a síntese de TG no fígado (MORVAN et al., 2002) e/ou acelerar o catabolismo de VLDL-col e quilomícrons pelo

aumento da atividade da enzima lipase lipoprotéica (LPL) (HARRIS et al., 1997; PARK; HARRIS, 2003), o que poderia resultar numa menor concentração plasmática de TG, principalmente no estado pós-prandial.

Outra hipótese está relacionada à ApoB100, uma partícula que serve como porção ligante para o receptor das lipoproteínas, e está intimamente relacionada com a síntese endógena de VLDL-col (PRINSEN et al., 2003). Pan et al. (2004) propuseram que os AG w-3 são capazes de estimular uma nova via de degradação da ApoB100 por meio da elevação da recaptação dessa lipoproteína pelo fígado. Esse mecanismo parece requerer um aumento da peroxidação lipídica, uma vez que, conforme observaram os autores, a adição de antioxidante (vitamina E) ao tratamento com w-3 resultou na diminuição da peroxidação lipídica, assim como na menor degradação da ApoB100 recém-sintetizada. Por outro lado, existem fortes evidências de que o aumento do estresse oxidativo pode aumentar e levar a uma maior concentração de LDL oxidada, propiciando uma possível evolução da aterosclerose (para revisão BATLOUNI, 1997; STOCKER; KEANEY, 2004). Foi proposto ainda que o aumento do estresse oxidativo poderia também induzir a danos no DNA do hepatócito (KIKUGAWA et al., 2003).

Além disso, tem sido sugerido que dietas ricas em AG w-3 podem diminuir a concentração de vitamina E no plasma, fígado e rim de animais, o que poderia levar a um aumento na formação de radicais livres pela diminuição da proteção, pois essa vitamina é responsável pela neutralização desses radicais (SONG; FUJIMOTO; MIYAZAMA, 2000). Sugere-se que a redução nas concentrações de antioxidantes e o aumento da formação de radicais livres podem causar efeitos deletérios no sistema cardiovascular (JORGE et al., 1997; LIMA et al., 2000; LERAY et al., 2001). Portanto, outros estudos adicionais devem ser realizados no intuito de investigar as verdadeiras necessidades de antioxidantes (especialmente a vitamina E) para indivíduos alimentados com uma dieta rica em AG w-3,

pois parece ser de suma importância uma adequada ingestão de macro e micronutrientes para a potencialização dos efeitos benéficos do w-3.

Segundo Mata, Alonso e Mata (2002), dietas ricas em AG w-3 também poderiam diminuir as concentrações plasmáticas de HDL-col. Não estão bem estabelecidos quais os mecanismos responsáveis por essa redução, sendo sugeridas modificações nos receptores das lipoproteínas, nas membranas celulares e em algumas enzimas relacionadas com o metabolismo de HDL-col.

Morvan et al. (2002) suplementaram camundongos com 3,33% de AG w-3 provenientes de óleo de peixe por 16 semanas e observaram uma redução nas concentrações plasmáticas de HDL-col e um aumento das concentrações de éster de HDL-col no fígado, quando comparados a um grupo não tratado. Foi postulado que a suplementação com w-3 pode ter estimulado um passo no transporte reverso do colesterol, provavelmente pelo aumento do receptor *scavenger* classe B-1.

No presente estudo, com o protocolo de 0,5g/kg/dia (0,16g/dia de w-3) foi verificado um aumento significativo nas concentrações plasmáticas de HDL-col somente nos grupos basal, controle e controle+nado. Já no protocolo de 1,0g/kg/dia, observou-se uma redução nas concentrações de HDL-col nos animais de todos os grupos experimentais, mas a redução mais significativa ocorreu nos animais do grupo que recebeu somente w-3 e não foi submetido ao nado ($p < 0,0001$). Destaca-se que, quando a suplementação de w-3 (0,28g/dia) foi associada ao nado, observou-se uma menor redução do que o grupo w-3 ($p = 0,0156$) (Tabela 6). Ou seja, apesar dos diferentes resultados encontrados em ambos os experimentos, os grupos que receberam w-3 por gavagem mantiveram ou reduziram significativamente as concentrações plasmáticas de HDL-col.

É sabido que a prática regular de exercícios físicos é capaz de aumentar as concentrações plasmáticas de HDL-col (JAFARI et al., 2003); apesar disso, no presente

estudo, em ambos os protocolos o exercício físico nado com duração de 20 min e intensidade leve, praticado cinco vezes na semana, não sugeriu um aumento das concentrações plasmáticas de HDL-col quando foi associado à suplementação com w-3 em ambas as doses.

Em estudo de Jorge et al. (1997) não foram observadas modificações nas concentrações plasmáticas de HDL-col quando coelhos hipercolesterolêmicos foram suplementados com 300mg/kg/dia de w-3 e comparados aos não suplementados.

Os efeitos dos AG w-3 sobre os lipídeos e lipoproteínas plasmáticas têm sido contraditórios, existindo uma grande variabilidade de resultados entre os diferentes estudos, possivelmente em função de diferentes desenhos experimentais e das doses utilizadas.

As doses de w-3, quando utilizadas para testes em animais, são geralmente consideradas excessivas quando comparadas às quantidades administradas aos seres humanos. Além disso, a ingestão elevada de w-3 pode causar desconforto gastrointestinal, além de sensação desagradável de “gosto de peixe” após o uso (COVINGTON, 2004). No presente estudo, as doses utilizadas ainda foram elevadas, considerando-se que a dose de 1,0g/kg/dia corresponderia a 70g/dia de w-3 para um homem de 70kg e de 0,5g/kg/dia de w-3, a 35g/dia de w-3 para o mesmo indivíduo.

De acordo com os resultados do presente estudo, a suplementação com o AG w-3 nas doses utilizadas (0,5 e 1,0g/kg/dia) pareceu interferir de forma benéfica nas concentrações plasmáticas de CT e TG em ratos, especialmente quando associada ao nado, mas pesquisas posteriores poderão auxiliar no conhecimento da relação entre a ingestão de óleo de peixe e as concentrações de lipídeos sanguíneos.

Propõe-se que doses menores de AG w-3, associadas ou não à suplementação com antioxidantes (principalmente a vitamina E), sejam utilizadas para investigar as interferências desses nutrientes nos lipídeos sanguíneos de animais experimentais. Investigações quanto aos

efeitos no peso e metabolismo do fígado de pequenas doses de w-3 também deveriam ser realizadas para melhor compreender os efeitos desse AG no referido órgão.

Sugere-se ainda que sejam estudados os efeitos da suplementação de pequenas doses de w-3 no metabolismo lipídico e adiposidade de ratos submetidos a dietas normolipídicas com diferentes tipos de AG (dietas isocalóricas), bem como sua interação com a prática regular de diferentes tipos de exercícios físicos. Esses estudos poderiam ser relacionados posteriormente com uma possível recomendação de ingestão de AG w-3 provenientes dos alimentos em dietas, para benefício da saúde humana.

7 CONCLUSÃO

- A ração comercial utilizada apresentou menor conteúdo de carboidratos e AGPI w-3 e maior de proteína, AGS, AGMI e AGPI w-6 do que o recomendado pela AIN-93M.
- A suplementação com AG w-3, por 4 semanas, não sugeriu alteração em gramas de ração no consumo alimentar nos diferentes grupos experimentais, nos protocolos utilizados.
- O exercício físico (nado), durante 20 minutos e cinco vezes por semana, por 4 semanas proporcionou menor ganho de peso.
- Quanto ao fígado, os animais submetidos ao nado apresentaram menor peso em ambos os experimentos. A ingestão de AG w-3 não sugeriu alterar o peso do fígado dos animais suplementados.
- A suplementação com 0,5 ou 1,0g/kg/dia e/ou o exercício físico nado (realizado por 20min, cinco vezes na semana) sugeriram reduzir as concentrações plasmáticas de CT, redução mais significativa quando a suplementação foi associada ao nado.
- A suplementação de w-3 (0,5 ou 1,0g/kg/dia), associada ao exercício físico, proporcionou concentrações menores de TG plasmáticos, demonstrando um efeito sinérgico entre ambos os parâmetros.
- A suplementação de 1,0g/kg/dia sugeriu reduzir as concentrações de HDL-col, enquanto que a suplementação com 0,5g/kg/dia de w-3 não demonstrou modificações.

REFERÊNCIAS

- ABEL, E. Physical activity does not account for the physiological response to forced swim testing. **Physiol Behavior**, v.56, n.4, p.677-681, 1993.
- ÁGUILA, M. B.; APFEL, M. I. R.; MANDARIN-DE-LACERDA, C. A. Comparação morfológica e bioquímica entre ratos envelhecidos alimentados com dieta hiperlipídica e com óleo de canola. **Arq Bras Cardiol**, v. 68, n.3, p.155-161, 1997.
- AGUILA, M. B.; LOUREIRO, C. C.; PINHEIRO, A. R.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Lipid metabolism in rats fed diets containing different types of lipids. **Arq Bras Cardiol**, v. 78, n.1, p. 32-38, 2002.
- ALISSON, M.; KELLER, C. Physical Activity in the Elderly: benefits and intervention strategies. **Nurse Practitioner**, v.22, p.53-63, 1997.
- ANDER, M.M.; CASTELLI, N.P. Elevated high-density lipoprotein levels in marathon runners. **Jama**, v.243, p.534-536, 1980.
- ARTEAGA, A.; VILLANUEVA, C. L.; SKORIN, C.; GUASCH, V.; OVANDO, F. S.; VELASCO, N.; ACOSTA, A. M.; LEIGHTON, F. Dislipidemicos con cardiopatía coronaria. Efecto de diferentes dosis de ácidos grasos omega 3 sobre los lípidos y lipoproteínas séricas. **Rev Med Chile**, v. 121, p. 618-625, 1993.
- AZEVEDO, R. B.; SILVA, L. P.; LEMOS, A. P. C.; MIYASAKA, C. K.; LACAVAL, Z. G. M. Controle da resposta inflamatória por ácidos graxos. In: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002. p. 379-392.
- BARBER, M. D.; ROSS, J. A.; FEARON, K. C. H. The anti-cachectic effect of fatty acids. **Proc Nutr Soc**, v.57, p.571-576, 1998.
- BARÓ, L.; FONOLLÁ, J.; PEÑA, J. L.; MARTINEZ-FÉREZ, A.; LUCENA, A.; JIMÉNEZ, J.; BOZA, J. J.; LÓPEZ-HUERAS, E. N-3 fatty acids plus oleic acid and vitamin supplemented milk consumption reduces total and LDL cholesterol, homocysteine and levels of endothelial adhesion molecules in healthy humans. **Clin Nutr**, v. 22, n. 2, p. 175-182, 2003.
- BATLOUNI, M. Hipótese oxidativa da aterosclerose e emprego dos antioxidantes na doença arterial coronária. **Arq Bras Cardiol**, v.68, n.1, p. 55-63, 1997.
- BEYR, E. **Dictionary of Sport Science**. Schorndorf: Verlag Karl Hoffmann, 1992.
- BITTENCOURT JÚNIOR, P. I. H.; SENNA, S. M. Ácidos graxos e aterosclerose. In: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. **Entendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002. p. 539-554.

BURR, G.O.; BURR, M.M. On the nature and role of the effect of the fatty acids essential in nutrition. **J Biol Chem**, v.86, p.587-621, 1930.

BLACK, P. H.; GARBUTT, L. D. Stress, inflammation and cardiovascular disease. **J Psychosom Res**, v. 52, n. 1, p. 1-23, 2002.

CALDER, P. C. Immunomodulatory and the anti-inflammatory effects of polyunsaturated fatty acids. **Proc Nutr Soc**, v.55, p.737-774, 1996.

CAMPOS, F. G.; WAITZBERG, D. L.; LOGULO, A. F.; TORRINHAS, R. S.; TEIXEIRA, W.G.J.; HABR-GAMA, A. Imunonutrição em colite experimental: efeitos benéficos dos ácidos graxos omega-3. **Arq Gastroenterol**, v.39, n.1, p.48-54, 2002.

CARVAJAL, O.; ÂNGULO, O. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on the lipidic profile of healthy Mexican volunteers. **Salud Publica Mex**, v.39, p. 221-224, 1997.

CARVALHO, T. **Atividade Física e Saúde – orientações básicas sobre atividade física e saúde para profissionais da área de educação e saúde**. Florianópolis, Educação à distância – MEC/MS, 1995.

CERVATO, A. M.; MAZZILLI, R. N.; MARTINS, I. S.; MARUCCI, M. F. N. Dieta habitual e fatores de risco para doenças cardiovasculares. **Rev Saúde Pub**, v.31, n.3, p.227-235, 1997.

CLARKE, J.; HERZBERG, G.; PEELING, J.; BUIST, R.; CORBETT, D. Dietary supplementation of omega-3 polyunsaturated fatty acids worsens forelimb motor function after intracerebral hemorrhage in rats. **Exp Neurol**, v. 191, p. 119-127, 2005.

COVINGTON, M. B. Omega-3 fatty acids. **Am Family Physicin**, v.70, n.1, p.133-140, 2004.

CORREIA, M. I. T. D. **Nutrição, esporte e saúde**. Belo Horizonte: Helth, 1996.

DE CATARINA, R.; BASTA, G. N-3 fatty acids and the inflammatory response – biological background. **Eur Heart J Supplements**, v.3, n. Suppl D, p.D42-D49, 2001.

DE CATARINA, R.; ZAMPOLLI, A. N-3 fatty acids: antiatherosclerotic effects. **Lipids**, v. 36, n.Suppl, p.S69-S78, 2001.

DEVI, S. A. PRATHIMA, S.; SUBRAMANYAM, M. V. V. Dietary vitamin E and physical exercise: I. altered endurance capacity and plasma lipid profile in ageing rats. **Exp Gerontol**, v.38, p.285-290, 2003.

DINIZ, Y. S.; CICOGNA, A. C.; PADOVANI, C. R.; LEA, S. S.; FAINE, L. A.; NOVELLI, E. L. B. Diets rich in saturated and polyunsaturated fatty acids: metabolic shifting and cardiac health. **Nutrition**, v. 20, p. 230-234, 2004.

DURANT, R. H.; LINDER, C. W.; MAHONEY, O. M. Relationship between habitual physical activity and serum lipoprotein levels in white male adolescents. **J Adolesc Health Care**, v. 4, n.4, p. 235-240, 1983.

DYBERG, J.; BANG, H. O. Hemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. **Lancet**, v.2, p.433-435, 1979.

ENGLER, M. M.; ENGLER, M. B.; GOODFRIEND, T. L.; BALL, D. L. YU, Z.; SU, P.; KROETZ, D. L. Docosahexaenoic acid is an antihypertensive nutrient that affects aldosterone production in SHR. **P.S.E.B.M**, v.221, p. 32-38, 1999.

ESTADELLA, D.; OYAMA, L. M.; DAMASO, A. R.; RIBEIRO, E. B.; NASCIMENTO, C. M. O. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, v.20, p. 218-224, 2004.

ERISTLAND, J. Safety considerations of polyunsaturated fatty acids. **Am J Clin Nutr**, v.71, p.197S-201S, 2000.

ERISTLAND, J.; ARNESEN, H.; GRONSETH, K.; FIELD, N.B.; ABDELNOOR, M. Effect of supplementation with n-3 fatty acids on graft patency in patients undergoing coronary artery bypass operation. Results from SHOT study. **Eur Heart J**, v.15, p.29, 1994.

ERKKILA, A. T.; LEHTO, S.; PYORALA, K.; UUSITUPA, M. I. J. N-3 fatty acids and 5-y risks of death and cardiovascular disease events in patients with coronary artery disease. **Am J Clin Nutr**, v.78, p.65-71, 2003.

FAN, Y.; RAMOS, K. S.; CHAPKIN, R. S. Dietary γ -linolenic acid suppresses aortic smooth muscle cell proliferation and modifies atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. **J Nutr**, v. 131, p. 1675-1681, 2001.

FERNANDEZ, i.; PALLARO, A. N.; SLOBODIANIK, N. H. W-3 polyunsaturated fatty acids and maize flour diets. **Nutrition**, v. 17, p. 944-947, 2001.

FOX, S. M.; HASKELL, W. L. Physical activity and the prevention of coronary heart disease. **Bull N Y Acad Med**, v. 44, n.8, 1968.

FRAGOSO, Y. D.; BROWN, A. J. In vivo metabolism of alpha-tocopherol in lipoproteins and liver: studies on rabbits in response to acute cholesterol loading. **Rev Paul Med**, v.116, n.4, p.1753-1759, 1998.

GAÍVA, M. H.; COUTO, R. C.; OYAMA, L. M.; COUTO, G. E. C.; SILVEIRA, V. L. F.; RIBEIRO, E. B.; NASCIMENTO, C. M. O. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. **Nutrition**, v. 19, p. 144-149, 2003.

GEENEN, D.; BUTRICK, P.; SCHEURER, J. Cardiovascular and hormonal responses to swimming and running in the rat. **J Appl Physiol**, v.65, n.1, p. 116-123, 1988.

GUEDES, D. P.; GUEDES, J. E. R. P. Physical activity, cardiorespiratory fitness, dietary content and risk factors that cause a predisposition towards cardiovascular disease. **Arq Bras Cardiol**, v.77, n.3, p.251-257, 2001.

GRIENDLING, K.K.; ALEXANDER, R.W. Oxidative stress and cardiovascular disease. **Circulation**, v.96, p.3264-3265, 1997.

GRUNDY, S. M. Resumo do segundo relatório da comissão de especialistas do National Cholesterol Education Program sobre detecção, avaliação e tratamento da hipercolesterolemia no sangue em adultos. **J Am Med Assoc**, v.4, n.1, 1994

HALVORSEN, B.; RUSTAN, A. C.; CHRISTIANSEN, E. N. Effect of long-chain mon-saturated and n-3 polyunsaturated fatty acids on postprandial blood and liver lipids in rats. **Scand J Clin Lab Invest**, v.55, p.469-475, 1995.

HANSSON, G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. **N Engl J Med**. V.352, n.16, p.1685-1695, 2005.

HARRIS, W. S. N-3 fatty acids and serum lipoproteins: animal studies. **Am J Clin Nutr**, v.65(suppl), p.1611S-1616S, 1997.

HARRIS, W. S.; LU, G.; RAMBJOR, G. S.; WALLEN, A. I.; ONTKO, J. A.; CHENG, Q.; WINDSOR, S. L. Influence of n-3 fatty acid supplementation on the endogenous activities of plasma lipases. **Am J Clin Nutr**, v.66, p.254-260, 1997.

HARRIS, S. H.; ROTHROCK, D. W.; FANNING, A.; INKELES, S. B.; GOODNIGHT, S. H.; ILLINGWORTH, C. R.; CONNOR, W. E. Fish oils in hypertriglyceridemia: adose-response study. **Am J Clin Nutr**, v. 51, p. 399-406, 1990.

HASKELL, W. L. The influence of exercise on the concentration of triglyceride and cholesterol en human plasma. **Exerc Sport Sciences Rev**, v.12, p.205-244, 1984.

HEPBURN, F. N. EXLER, J.; WEIHRAUCH, J. L. Provisional tables on the content of omega-3 fatty acids and other fat components of selected foods. **J Am Diet Assoc**, v.86, p.788-793, 1986.

HOLMAN, R.T. The slow discovery of the importance of w-3 essential fatty acids in human health. **J Nutr**, v. 128, p. 472S-433S, 1998.

HORTON, E. S. N. The devastating disease. **Diabetes Res Clin Pract**, v.28, p.S3-S11, 1996.

HU, f. B.; STAMPFER, M. J.; MANSON, J. E. ; RIMM, E. B. ; WOLK, A. ; COLDITZ, G. A. ; HENNEKENS, C. H. ; WILLETT, W. C. Dietary intake of a-linolenic acid and risk of fatal ischemic heart disease among women. **Am J Clin Nutr**, v.69, v.5, p.890-897, 1999.

INNIS, S.M. Essential fatty acids in growth and development. **Prog Lipid Res**, v.30, p39-103, 1991.

JAFARI, M.; LEAF, D. A.; MACRAE, H.; KASEM, J.; O'CONNOR, P.; PULLINGER, C.; MALLOY, M.; KANE, J. P. The effects of physical exercise on plasma prebeta-1 high-density lipoprotein. **Metabolism**, v.52, n.4, p.437-442, 2003.

JHO, D. H.; COLE, S. M.; LEE, E. M.; ESPAT, N. J. Role of Omega-3 fatty acid supplementation in inflammation and malignancy. **Integrative Cancer Therapies**, v. 3, n.2, p.98-111, 2004.

JORGE, P. A. R.; NEYRA, L. C.; OZAKI, R. M.; ALMEIDA, E. Efeito dos ácidos graxos omega-3 sobre o relaxamento-dependente do endotélio em coelhos hipercolesterolemicos. **Arq Bras Cardiol**, v. 69, n. 1, p. 13-18, 1997.

KARVONEN, M. J. Physical activity and cardiovascular morbidity. **Scand J Work Environ Health**, v.10, p.389-395, 1984.

KHOO, J.C.; MILLER, E.; McLOUGHLIN, P. STEINBERG, D. Enhanced macrophage uptake of low density lipoprotein after self-aggregation. **Arteriosclerosis**, v.8, p. 348-358, 1988.

KHOO, J.C.; MILLER, E.; PIO, F.; STEINBERG, D.; WITZUM, J.L.; Monoclonal antibodies against LDL further enhance macrophage uptake LDL aggregates. **Arterioscler Thromb**, v.12, p.1258-1266, 1992.

KIKUGAWA, K.; YASUHARA, Y.; ANDO, K.; KOYAMA, K.; HIRAMOTO, K.; SUZUKI, M. Effect of supplementation of n-3 polyunsaturated fatty acids on oxidative stress-induced DNA damage of rat hepatocytes. **Biol Pharm Bull**, v.26, n.9, p.1239-1244, 2003.

KIM, H. J.; TAKAHASHI, M.; EZAKI, O. Fish oil feeding decreases mature sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1) by down-regulation of SREBP-1c mRNA in mouse liver. A possible mechanism for down-regulation of lipogenic enzyme mRNAs. **J Biol Chem**, v. 274, p.25892-25898, 1999.

KIMURA, S.; SAITO, H.; MINAMI, M.; TOGASHI, H.; NAKAMURA, N.; UENO, K.; SHIMAMURA, K.; NEMOTO, M.; PARVEZ, H. Docosahexaenoic acid attenuated hypertension and vascular dementia in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Neurotoxicol Teratol**, v.24, p.683-693, 2002.

KINSELLA, J.E.; LOKESH, B.; STONE, R.A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. **Am J Clin Nutr**, v.52, p.1-28, 1990.

KIRAN, T. R., SUBRAMANYAM, M. V. V., DEVI, S. A. Swim exercise training and adaptations in the antioxidant defense system of myocardium of old rats: relationship to swim intensity and duration. **Compar Biochem Physiol Part B**, v.137, p.187-196, 2004.

KIRSTEIN, D.; HOY, C. E.; HOLMER, G. Effect of dietary fats on the delta-6-desaturation and delta-5-desaturation of fatty acids in rat-liver microsomas. **Br J Nutr**, v.50, n.3, p.749-753, 1983.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HARRIS, W. S.; APPEL, L. J. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, p. 151-152, 2003.

KRIS-ETHERTON, P. M.; TAYLOR, D.S.; YU-POTH, S.; MORIARTY, K.; FISHELL, V. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. **Am J Clin Nutr**, v.71, p.179S-188S, 2000.

KRISTENSEN, S. D.; IVERSEN, A. M. B.; SCHMIDT, E. B. N-3 polyunsaturated fatty acids and coronary thrombosis. **Lipids**, v.36, suppl, p. S79-S82, 2001.

LAIDLAW, M.; HOLUB, B. J. Effects of supplementation with fish oil-derived n-3 fatty acids and γ -linolenic on circulating plasma lipids and fatty acid profiles in women. **Am J Clin Nutr**, v.77, p. 37-42, 2003.

LEMAITRE, R.; KING, I. B.; MOZAFFARIAN, D.; KULLER, L. H.; TRACY, R. P.; SISCOVICK, D. S. N-3 polyunsaturated fatty acids, fatal ischemic heart disease, and nonfatal myocardial infarction in older adults: the cardiovascular health study. **Am J Clin Nutr**, v.77, p.319-325, 2003.

LERAY, C.; WIESEL, M. L.; FREUND, M.; CAZENAVE, J. P.; GACHET, C. Long-chain n-3 fatty acids specifically affect rat coagulation factors dependent on vitamin K: relation to peroxidative stress. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 21, p. 459-463, 2001.

LICHTENSTEIN, A. H.; AUSMAN, L. M.; JALBERT, S. M.; SCHAUETER, E. J. Effects of different forms of dietary hydrogenated fats on serum lipoprotein cholesterol levels. **N Engl J Med**, v. 340, n. 25, p.1933-1940, 1999.

LIMA, F. E. L.; MENEZES, T.N.; TAVARES, M.P.; SZARFARC, S.C.; FISBERG, R.M. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. **Rev Nutr, Campinas**, v. 13, n 2, p. 73-80, 2000.

MARTIN, C. A.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E. Ácidos graxos trans: implicações nutricionais e fontes na dieta. **Rev Nutr**, v.17, n.3, p.361-368, 2004.

MARTINEZ, T. L. R. **Conduas Clínica nas Dislipidemias**. Belo Horizonte: Health, 1997.

MASSBERG, S.; BRAND, K.; GRUNER, S. PAGE, S.; MULLER, E.; MULLER, I.; BERGMEIER, W.; RICHTER, T.; LORENZ, M.; KONRAD, I.; NIESWANDT, B.; GAWAZ, M. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. **J Exp Med**, v.196, p.887-896, 2002.

MATA, P.; ALONSO, R.; MATA, N. Los Omega-3 y Omega-9 em la enfermedad cardiovascular. *In*: MATAIX, J.; GIL, A. **Libro blanco de los Omega-3**. Madrid: Instituto Omega-3, 2002. p. 49-62.

MATAIX, J. Lipiodos alimentarios. *In*: MATAIX, J.; GIL, A. **Libro blanco de los Omega-3**. Instituto Omega-3: Madrid, 2002. p. 14-32.

MENSINK, R. P.; KATAN, M.B. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. **N Engl J Med**, v. 323, n. 7, p. 439-445, 1990.

MICKEBOROUGH, T.; MURRAY, R. L.; IONESCU, A. A.; LINDLEY, M. R. Fish oil supplementation reduces severity of exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes. **Am J Respir Crit Care Med**, v.168, p.1181-1189, 2003.

MIDDAUGH, J.P. Cardiovascular deaths among Alaskan natives 1980-1986. **Am J Public Health**, v.80, p.282-285, 1990.

MIZOCK, B. A.; DEMICHELE, S. J. The acute respiratory distress syndrome: role of nutritional modulation of inflammation through dietary lipids. **Nutr Clin Pract**, v.19, p.563-574, 2004.

MORVAN, V.; DUMON, M. F.; PALOS-PINTO, A.; BÉRARD, A. M. N-3 FA increase liver uptake of HDL-cholesterol in mice. **Lipids**, v. 37, n. 8, p. 767-772, 2002.

MURPHY, M. G. Dietary fatty acids and membrane function. **J Nutr Biochem**, v.1, p.68-79, 1990.

NAPOLI, C.; WITZTUM, J. L.; CALARA, F.; NIGRIS, F.; PALINSKI, W. Maternal hypercholesterolemia enhances atherogenesis in normocholesterolemic rabbits, which is inhibited by antioxidant or lipid-lowering intervention during pregnancy: an experimental model of atherogenic mechanisms in human fetuses. **Circ Res**, v. 87, p.946-952, 2000.

NATHOO, N.; BARNETT, G. H.; GOLUBIC, M. The eicosanoid cascade: possible role in gliomas and meningiomas. **J Clin Pathol: Mol Pathol**, v. 57, p.6-13, 2004.

NAVAB, M.; BERLINER, J.A.; WATSON, A.D.; HAMA, S.Y; TERRITO, M.C.; LUSIS, A.J.; SHIH, D.M.; VAN LENTEN, B.J.; FRANK, J.S.; DEMER, L.L.; EDWARDS, P.A.; FOGELMAN, A.M. The yin and yang of oxidation in the development of the fatty streak: a review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial lecture. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.16, p.831-842, 1996.

PAN, M.; CEDERBAUM, A. I.; ZHANG, Y.; GINSBERG, H. N.; WILLIAMS, K. J.; FISHER, E.A. Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. **J Clin Invest**, v.113, n.9, p.1277-1287, 2004.

PARK, Y.; HARRIS, W. S. Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. **J Lipid Res**, v.44, p.455- 463, 2003.

PEET, M.; HORROBIN, D.F. A dose-ranging study of the effects of ethyl-eicosapentaenoate in patients with ongoing depression despite apparently adequate treatment with standard drugs. **Arch Gen Psychiatry**, v.59, p.913-919, 2002.

PELLIZZON, M.; BUISSON, A.; ORDIZ, F.; SANTA ANA, L.; JEN, C. Effects of dietary fatty acids and exercise on body-weight regulation and metabolism in rats. **Obesity Res**, v.10, n.9, p.947-955, 2002.

POMPÉIA, C. Essencialidade dos ácidos graxos. *In*: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. **Entendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002. p. 27-32.

POMPÉIA, C.; LOPES, L.R.; MIYASAKA, C.K.; PROCOPIO, J.; SANNOMIYA, P.; CURI, R. Effect of fatty acids on leukocyte function. **Braz J Med Biol Res**, v.33, p.1255-1268, 2000.

POMPÉIA, C.; PROCOPIO, J.; CURI, R. Fatty acids and the immune system. **Braz J Pharmac Sci**, v.3, p.165-194, 1999.

PORSOLD, R.D.; LE PICHON, M.; JAFRE, M. Depression : a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, p. 730-732, 1977.

PORSOLD, R.D.; MARTIN, P.; LENEGRE, A.; FROMAGE, S.; DRIEU, K. Effects of an extract of Ginkgo Biloba (EGB 761) on "learned helplessness" and other models of stress in rodents. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 36, n.4, p. 963-971, 1990.

PRINSEN, B. H. C. M. T.; ROMIJN, J. A.; BISSCHOP, P. H.; BARSE, M. M. J.; BARRETT, P. H. R.; ACKERMANS, M.; BERGER, R.; RABELINK, T. J.; SAIN-VAN DER VELDEN, M. G. M. Endogenous cholesterol synthesis is associated with VLDL-2 apoB-100 production in healthy humans. **J Lipid Res**, v.44, p. 1341-1348, 2003.

PRISCO, D.; PANICCIA, R.; BANDINELLI, B.; FILIPPINI, M.; FRANCALANCI, I.; GIUSTI, B.; GIURLANI, L.; GENSINI, G. F.; ABBATE, R.; SERNERI, G. G. N. Effect of medium-term supplementation with a moderate dose of n-3 polyunsaturated fatty acids on blood pressure in mild hypertensive patients. **Thrombosis Res**, v. 91, p. 105-112, 1998.

QUILES, J. L.; HUERTAS, J. R.; OCHOA, J. J.; BATTINO, M.; MATAIX, J.; MANAS, M. Dietary fat (virgin olive oil or sunflower oil) and physical training interactions on blood lipids in the rat. **Nutrition**, v. 19, p. 363-368, 2003.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr**, v. 123, p.1939-1951, 1993.

RIBEIRO, L. Prostaglandinas e ácidos omega-3 na prevenção da aterosclerose. **Arq Bras de Cardiol**, v.54, p.279-281, 1990.

RIDKER, P.M.; GLYNN, R.J.; HENNEKENS, C. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. **Circulation**, v.97, p.2007-2011, 1998.

RIVELLESE, A. A.; MAFFETTONE, A.; VESSBY, B.; UUSITUPA, M.; HERMANSEN, K.; BERGLUND, L.; LOUHERANTA, A.; MEYER, B. J.; RICCARDI, G. Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. **Atherosclerosis**, v. 167, p. 149-158, 2003.

ROSS, R.; The pathogenesis of atherosclerosis – an update. **N Engl J Med**, v.314, p. 488-500, 1986.

SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. **Annu Rev Nutr**, v. 25, p. 317-340, 2005.

SANTOS, T. M. Lipídeos. In: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 1998. Pág 87-89.

SCHMIDT, E. B.; CHRISTENSEN, J. H.; AARDESTRUP, I.; MADSEN, T.; RIAHI, S.; HANSEN, V. E.; SKOU, H. A. Marine n-3 fatty acids: basic features and background. **Lipids**, v. 36, suppl.1, p. S65-S68, 2001.

SCHMITZ, G.; HANKOWITZ, J.; KOVACS, E. M.; Cellular processes in atherogenesis: potential targets of Ca²⁺ channel blockers. **Atherosclerosis**, v.88, p.109-132, 1991.

SHARP, P. A. ; JACKSON, K. L.; WHITE, C. Effects of a one year physical activity intervention for older adults at congregaty nutrition sites. **Gerontologist**, v.37, p.208-215, 1997.

SHERER, Y.; SHOENFELD, Y. Mechanisms of disease: atherosclerosis in autoimmune diseases. **Nature Clin Pract**, v.2, n.2, p. 99-106, 2006.

SIMOPOULOS, A. P. n-3 fatty acids and human health: defining strategies for public policy. **Lipids**, v. 36, suppl. 1, p. S83-S89, 2001.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. **J Am Coll Nutr**, v.21, n.6, p.495-505, 2002.

SOCCOL, M. C. H.; OETTERER, M. Seafood as functional food. **Braz Arch Biol Technology**, v. 46, n.3, p. 443-454, 2003.

SONG, J. H.; FUJIMOTO, K. E MIYAZAWA, T. Polyunsaturated (n-3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid-containing oils. **J Nutr**, v. 130, p. 3028-3033, 2000.

SOULIS, G.; KITRAKI, E.; GEROZISSIS, K. Early neuroendocrine alterations in female rats following a diet moderately enriched in fat. **Cell Mol Neurobiol**, v.25, n.5, p. 869-880, 2005.

STEINBERG, D.; Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. **J Biol Chem**, v. 272, p.20963-20966, 1997.

STEJERNSCHANTZ, J. The leukotrienes. **Med Biol**, v.62, p.215-230, 1984.

STOCKER, R.; KEANEY, J. F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiol Rev**, v.84, p.1281-1478, 2004.

THORNGREN, M.; SHAFI, S.; BORN, G. V. R. Delay in primary haemostasis produced by a fish diet without change in local thromboxane A2. **Br J Haematol**, v.58, p.567-578, 1984.

TREMBLAY, A. **British Journal of Nutrition**. Londres: Nutrition Society, v.80, 1998. 215-216.

TRUMBO, P.; SCHLICKER, S.; YATES, A.A.; POOS, M. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. **JADA**, v.102, n.11, p.1621-1630, 2002.

TULEY, L. Functional foods – the technical issues. **Food Manufacture**, v.70, p.30-32, 1995.

VANNUCCHI, H.; MENEZES, E. W.; CAMPANA, A. O.; LAJOLO, F. M. **Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN): Aplicações das recomendações nutricionais adaptadas à população Brasileira**. Ribeirão Preto: Editora Legis Suma Ltda, 1990. p. 61-66.

VENDITTI, P.; MASULLO, P.; MEO, S. Effect of exercise duration on characteristics of mitochondrial population from rat liver. **Arch Biochem Biophysics**, v.368, n.1, p.112-120, 1999.

VENKATRAMAN, J. T.; ANGKEOW, P.; SATSANGI, N.; FERNANDES, G. Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. **J Am Coll Nutr**, v.17,n.6, p. 586-594, 1998.

VENKATRAMAN, J. T.; CHU, W. Effects of dietary w-3 and w-6 lipids and vitamin E on serum cytokines, lipid mediators and anti-DNA antibodies in a mouse model for rheumatoid arthritis. **J Am Coll Nutr**, v. 18, n. 6, p. 602-613, 1999.

WOOD, P. D.; HASKELL, W. Distribution of plasma lipoprotein in middle-aged male runners. **Metabolism**, v.25, p.1249-1257, 1976.