

# Influência da Suplementação com Ácidos Graxos n-3 no Desenvolvimento do Estresse Oxidativo em Camundongos

## Influence of n-3 Fatty Acid Supplementation on Oxidative Stress Development in Mice

Stepheny Carneiro de Campos<sup>a\*</sup>; Lígia Vourakis Bortoloti<sup>a</sup>; Veronica Cristina Gomes Soares<sup>a</sup>;

Luciana Helena de Santis<sup>b</sup>; Fábio Henrique Ramos Fagundes<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Universidade Paulista, São Paulo, Brasil

<sup>b</sup>Universidade Paulista, Centro Universitário Padre Anchieta, São Paulo, Brasil

\*E-mail: stepheny campos@yahoo.com.br

Recebido: 13 de julho de 2011; Aceito: 14 de setembro de 2011.

### Resumo

Os radicais livres são espécies químicas altamente reativas à presença de um par de elétrons livres, formados num cenário de reações de oxido-redução, por meio do metabolismo aeróbico e por processos patológicos como inflamações ou estresse. Acredita-se que os ácidos graxos poliinsaturados possam funcionar como antioxidantes importantes para evitar a peroxidação lipídica de membranas. Ácidos graxos Omega-3 tais como eicosapentaenóico e docosahexaenóico fornecem substrato ao ataque dos radicais livres, minimizando o ataque destes aos sistemas biológicos importantes como o sistema nervoso central. Camundongos da linhagem Balb/C foram divididos em quatro grupos de cinco animais e suplementados durante vinte e um dias com ácido graxo sendo: Grupo 1: 100 µl de Omega-3 (DHA+EPA); Grupo 2: 200 µl de Omega-3 (DHA+EPA); Grupo 3: 100 µl de ácido oleico; Grupo 4: 200 µl de água. Após esse período, foi realizada a dosagem de lipoproteínas plasmáticas (HDL, LDL, VLDL e Colesterol total) e triglicérides e a dosagem de malondialdeído (MDA) a partir do homogenato de cérebro e do plasma sanguíneo para avaliação da peroxidação lipídica. A suplementação com Omega-3 e ácido oleico apresentou diminuição de triglicérides, colesterol total e suas frações quando comparados ao grupo basal e o grupo tratado com água. Comparando os níveis de malondialdeído, todos os grupos apresentaram redução nos níveis de malondialdeído cerebral comparados ao basal. Baseando-se nos resultados encontrados, a suplementação de ácidos graxos Omega-3 pode ajudar na proteção da peroxidação lipídica no sistema nervoso central e a diminuir a concentração plasmática de TG e LDL.

**Palavras-chave:** Estresse Oxidativo. Malondialdeído. Peroxidação de Lipídios.

### Abstract

*Free radicals are chemical species highly reactive to the presence of a pair of free electrons. These radicals are produced in redox scenery, through aerobic metabolism and pathological processes, such as inflammation and stress. It is believed that polyunsaturated fatty acids may work as an important antioxidant to avoid membrane lipid peroxidation. Omega-3 (or n-3) fatty acids, such as eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid provide substratum to free radicals attack, preventing important biological systems, such as central nervous system, from this attack. Mice (Balb/C) were divided in four groups with five animals each one and were supplemented during 21 days with n-3 fatty acids. The groups were divided into: Group 1: 100 µl of Omega-3 (DHA+EPA); Group 2: 200 µl of Omega-3 (DHA+EPA); Group 3: 100 µl of oleic acid; Group 4: 200 µl of water. After this period plasmatic lipoproteins (HDL, LDL, VLDL and total cholesterol) and triglycerides and also malondialdehyde levels in brain homogenate and in plasma were measured, in order to evaluate lipid peroxidation. The n-3 fatty acids and oleic acid supplementation showed lower triglycerides, total cholesterol and its fractions when compared with the basal group and the water-treated group. When malondialdehyde levels were compared, all groups presented lower levels of brain malondialdehyde, compared with the basal group. Based on these results, N-3 fatty acid supplementation may help prevent lipid peroxidation in the central nervous system and lower plasmatic concentration of TG and LDL.*

**Keywords:** Oxidative Stress. Malondialdehyde. Lipid Peroxidation.

### 1 Introdução

Os radicais livres (RL) são espécies químicas altamente reativas à presença de um par de elétrons livres. O que lhes confere essa reatividade é o não-emparelhamento de elétrons na última camada eletrônica<sup>1</sup>.

Esses radicais são formados num cenário de reações de oxido-redução, tanto através do metabolismo aeróbico quanto por alguns processos patológicos como, por exemplo, inflamações, estresse emocional ou psicológico. Essas espécies podem ser denominadas também como “espécies reativas do oxigênio” (ERO) e são encontradas em todos os sistemas biológicos<sup>1,2</sup>.

As espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que seriam as principais responsáveis pelos danos oxidativos são: ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), radical hidroxila (HO<sup>\*</sup>) e peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>)<sup>3</sup>. Para neutralizar o ataque das EROs, as células vivas têm um sistema de defesa biológico composto de antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos<sup>4,5</sup>. Um distúrbio no balanço “pró-oxidante/antioxidante” em favor do primeiro conduz a potenciais danos, sendo essa condição comumente conhecida por estresse oxidativo<sup>3,6</sup>. O estresse oxidativo pode alcançar diversas moléculas-alvo como DNA, proteínas, carboidratos e lipídios, tendo papel importante na progressão de diversas patologias<sup>7</sup>.

A superprodução de EROs além de comprometer a homeostase também interfere na estrutura de ácidos graxos poliinsaturados. Os lipídios são fundamentais na estrutura e funcionamento do sistema nervoso central e são vulneráveis à oxidação (peroxidação lipídica)<sup>8</sup>.

O ataque das EROs leva a peroxidação lipídica de membrana gerando produtos oxidativos tóxicos<sup>9</sup>, nesse processo os lipídios de membrana sofrem danos dos radicais livres, que provocam modificações em suas estruturas e fazem com que a membrana seja afetada em suas funções<sup>1</sup>. Os RLs e a peroxidação lipídica estão associados com o estresse oxidativo.

As células são capazes de sintetizar ácidos graxos a partir do Acetil-CoA, porém não são capazes de sintetizar os ácidos graxos essenciais (Omega-3, Omega-6 e Omega-9) que são obtidos através da alimentação<sup>2,10</sup>.

Acredita-se que os ácidos graxos poliinsaturados possam funcionar como antioxidantes importantes principalmente para evitar a peroxidação de lipídeos de membranas, uma vez que as moléculas de lipídios, contendo maior número de duplas ligações, são mais susceptíveis a perda do hidrogênio para as EROs, pois as ligações  $\pi$  são mais fracas e sua energia é menor que a das ligações  $\sigma$ <sup>11,12</sup>. Estudos recentes mostram que o tratamento *in vitro* com ácidos graxos poliinsaturados reduz significativamente os níveis de EROs<sup>9</sup>.

Geralmente, quanto maior o número de duplas ligações que estão presentes em um ácido graxo insaturado, maior será sua susceptibilidade a oxidar em sistemas biológicos<sup>13</sup>. Ácidos graxos poliinsaturados Omega-3 tais como eicosapentaenoico (C20:5n-3, EPA) e docosahexaenoico (C22:6n-3, DHA) possuem cinco e seis duplas ligações respectivamente em sua estrutura, portanto fornecem mais substrato ao ataque dos radicais livres, impedindo ou minimizando o ataque destes radicais livres a sistemas biológicos importantes como o sistema nervoso central.

O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da ingestão de ácidos graxos poliinsaturados Omega-3 na produção de biomarcadores indiretos para a formação de EROs. Para tanto foram avaliadas as alterações em lipoproteínas séricas como triglicérides, colesterol total e suas frações (HDL, LDL e VLDL). Foram ainda verificados os biomarcadores secundários do estresse oxidativo como o malondialdeído (MDA) (produto da oxidação de ácido araquidônico, EPA e DHA) no plasma e no homogenato de cérebro de camundongos suplementados com Omega-3 e ácido oleico.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Animais experimentais

Foram utilizados camundongos isogênicos fêmeas com cinco semanas de idade da linhagem Balb/c, provenientes do Biotério de Criação e Experimentação da Faculdade Estadual de Campinas. Os camundongos permaneceram acondicionados em gaiolas de plástico com grades de aço em

ambiente com temperatura de 22-24 °C, umidade relativa de 5± 10%, ciclo claro/escuro de 12 horas e consumo *ad libitum* de água e ração comercial.

O experimento foi certificado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Paulista – UNIP, de acordo com o protocolo de número 016/09 CEPIICS/UNIP.

### 2.2 Suplementação dos animais

Os animais foram pesados e divididos aleatoriamente em cinco grupos da seguinte forma: um grupo com quatro animais denominado Grupo 0 (G0) foi sacrificado no mesmo dia do início do tratamento dos outros grupos, para obtenção dos valores basais. Os demais grupos foram formados com cinco animais cada. Os camundongos foram submetidos à gavagens diárias por período de vinte e um dias, de acordo com o esquema de suplementação abaixo.

Grupo 1 (G1): 100 µl de Omega-3 (DHA+EPA);

Grupo 2 (G2): 200 µl de Omega-3 (DHA+EPA);

Grupo 3 (G3): 100 µl de ácido oleico; e

Grupo 4 (G4): 200 µl de água.

### 2.3 Coleta de sangue e preparação do homogenato de cérebro

Passados os vinte e um dias de suplementação, os animais foram sacrificados para a coleta de sangue e do cérebro. Antes da coleta do sangue, realizada por punção cardíaca, os animais foram anestesiados com 100 µL de solução contendo cloridrato de xilazina a 2%, cloridrato de cetamina a 10% e acepromazina a 0,2% e somente após a verificação de que os animais estavam anestesiados foi realizada a punção cardíaca.

O sangue foi coletado e logo após foi centrifugado a 4.000 rpm durante 10 minutos para a separação do plasma. Uma alíquota foi separada e congelada para posterior dosagem de malondialdeído (MDA). O restante do plasma foi utilizado para dosagem de colesterol total e suas frações e concentração de triglicérides.

Após a coleta do sangue, os animais foram perfundidos com cloreto de sódio 0,9% à temperatura de 5 °C para a retirada do sangue restante. O cérebro foi coletado e em seguida pesado e homogeneizado da seguinte maneira: o cérebro foi macerado com quatro volumes de solução tampão fosfato de sódio pH: 7,4 de acordo com o peso de cada cérebro. Após a homogeneização essa mistura foi centrifugada a 4.000 rpm durante quinze minutos a 4 °C e o sobrenadante foi separado em tubo *ependorf* para dosagem de MDA.

### 2.4 Dosagem de triglicérides, colesterol total e HDL

As dosagens bioquímicas de colesterol total, triglicérides e lipoproteína de alta densidade (HDL) foram feitas com kits comerciais específicos (Laborlab – Guarulhos – SP - Brasil) de acordo com o fabricante. A leitura foi feita por meio de espectrofotometria e para isso utilizou-se um leitor de placa modelo Versamax da Molecular Devices.

## 2.5 Dosagem de malondialdeído

A quantificação de malondialdeído foi realizada por meio do método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando os reagentes 1,1,3,3 - tetraetoxipropano Fluka® e 2,4 - dinitrofenilhidrazina adquiridos da Sigma Chemical Company (St. Louis, EUA). A Acetonitrila grau HPLC foi fornecida pela Merck (Darmstadt, Alemanha). O Ácido acético, ácido clorídrico, ácido sulfúrico e ácido perclórico foram adquiridos da Sigma Chemical Company. A Água foi obtida por destilação e deionização e purificada adicionalmente com um sistema de água ultrapura (MILLI-Q). A solução estoque de MDA (10 mM) foi preparada como descrito em Sim *et al.*<sup>14</sup>, a partir de 1,1,3,3 - tetraetoxipropano e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% (v/v). A solução derivatizante foi preparada pela adição de 25,5 mg de 2,4-dinitrofenilhidrazina em HCl 2M, no volume final de 25 mL e armazenada em alíquotas de 2 mL a -20 °C. As soluções de trabalho de MDA nas concentrações de 10 e 100 µM foram preparadas através de sucessivas diluições a partir da solução-mãe com água purificada. A fase móvel foi preparada através da adição de 620 mL de água ultra-purificada, acidificada com ácido acético 0,2% (p/v) pH 3,0 e filtrada em membrana de acetato de celulose 0,45 µm (Schleicher e Schuell, Alemanha),

a 380 mL de acetonitrila. A fase móvel foi desgaseificada por sonicação em banho ultrasônico antes da sua utilização<sup>15</sup>.

As análises para dosagem do MDA foram feitas por meio de gradiente linear de metanol e água a um fluxo de 1.0 ml/minuto a temperatura ambiente. As amostras foram aplicadas em um loop de 200 µL e os picos identificados por comparação dos tempos de retenção com os padrões conhecidos. A quantificação foi baseada na área dos picos medidas a 310 nm comparadas com uma curva de calibração feita com concentrações conhecidas de MDA. A curva de calibração realizada pela regressão linear a partir das áreas dos picos obtidos da cromatografia de 1,1,3,3-Tetramethoxypropane nas seguintes concentrações, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0 µM e feitas em triplicata.

Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM) para n=5 animais. Os resultados foram analisados por análise da variância (ANOVA) seguida pelo teste modificado de Bonferroni. Valores de P<0,05 foram considerados significativos.

## 3 Resultados e Discussão

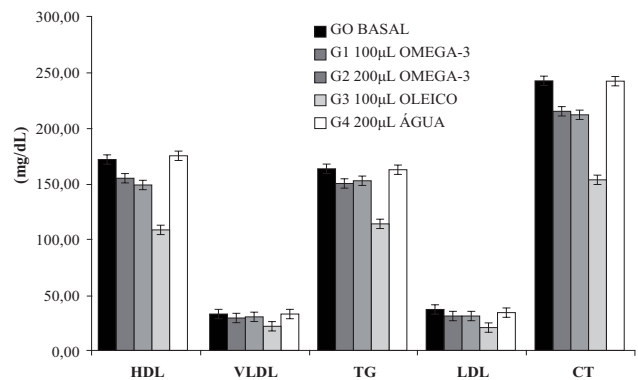
O perfil sérico de lipídios dos camundongos após vinte e um dias de tratamento está demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1:** Perfil sérico de lipídios em camundongos que receberam dieta padrão, controle com água e tratamentos com 100µL de OMEGA-3, 200µL de OMEGA-3 e 100µL de ÁCIDO OLEICO. Valores expressam a média de cada grupo estudado ± o desvio padrão

Parâmetros lipídicos	Tratamentos				
	G0 BASAL	G1-100µL OMEGA-3	G2-200µL OMEGA-3	G3-100µL OLEICO	G4-200µL ÁGUA
Triglicérides (mg/dL)	164,24±8,12	150,62±7,53*	152,90±7,64*	114,02±5,70*	163,55±8,17
HDL (mg/dL)	172,17±8,6	154,30±7,71*	149,19±7,45*	109,19±5,45*	175,08±8,75
VLDL (mg/dL)	32,85±1,64	30,12±1,50*	30,58±1,52*	22,80±1,14*	32,71±1,63
LDL (mg/dL)	37,84±1,89	31,47±1,47*	32,20±1,61*	21,77±1,08*	35,10±1,75
Colesterol-Total (mg/dL)	242,86±12,43	215,89±10,79*	211,96±10,59*	153,76±7,68*	242,90±12,14

\*p<0,05

O grupo basal, sacrificado no começo do experimento, quando comparado com o grupo que recebeu água não apresentou diferenças significativas nos resultados obtidos. Na comparação com o grupo tratado com 100µL de Omega-3 observa-se redução de 8,29% nos triglicérides, 10,37% de HDL, 8,3% de VLDL, 16,3 % de LDL e 11,10% de colesterol total. O tratamento com 200µL Omega-3 apresentou redução de 6,9% de triglicérides, 13,34% de HDL, 6,9 % de VLDL, 14,9 % de LDL e 12,7% de colesterol total. O tratamento com ácido oleico obteve melhores reduções com 30,5% de redução de triglicérides, 36,5% de HDL, 30,5% de VLDL, 42,4% de LDL e 36,6% de colesterol total. Esses resultados estão demonstrados na Figura 1.



\*p<0,05

**Figura 1:** Níveis séricos de HDL, VLDL, Triglicerídeos, LDL e colesterol total, em camundongos com dieta padrão, controle com água e tratados com 100µL OMEGA-3, 200µL OMEGA-3 e 100µL OLEICO. Cada coluna representa a média de n=5 ± o erro padrão da média de 5 animais

A segunda etapa compreendeu a dosagem de malondialdeído pela cromatografia líquida de alta eficiência em que a concentração de MDA foi determinada pela equação de regressão ( $y=1.89+0.73x$ ) ( $R^2 = 0,99625$ ;  $n=6$ ;  $p$ -value  $<0.0001$ ) obtida pelos valores de área e concentração das amostras padrão de 1,1,3,3-Tetramethoxypropane.

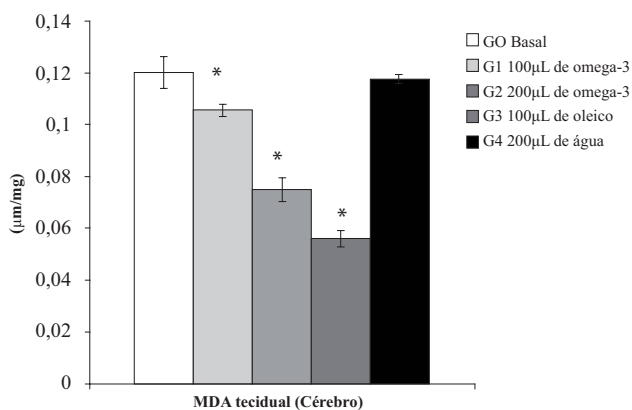
Os resultados da dosagem de malondialdeído no homogenato de cérebro de cada grupo estão representados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Resultados da dosagem de malondialdeído em homogenato de cérebro, expresso pela média de cada grupo estudado  $\pm$  o desvio padrão

Tratamento	$\mu$ M de MDA/mg de tecido
100 $\mu$ L de DHA+EPA	0,105794236 $\pm$ 0,001*
200 $\mu$ L de DHA+EPA	0,074769588 $\pm$ 0,004*
100 $\mu$ L de oleico	0,055894577 $\pm$ 0,003*
200 $\mu$ L de água	0,116865724 $\pm$ 0,002
Grupo Basal	0,120178907 $\pm$ 0,005

\* $p < 0,05$

Os valores mostram que o grupo basal apresentou nível de malondialdeído no tecido de 0,120178907  $\mu$ M/mg tecido e o grupo tratado com água valor de 0,116865724  $\mu$ M/mg tecido. Já os grupos suplementados com 100  $\mu$ L de Omega-3, 200  $\mu$ L de Omega 3 e 100  $\mu$ L de ácido oleico obtiveram redução nos níveis de MDA respectivamente de 14,6%, 28% e 49,5%. Esses resultados estão representados no gráfico da Figura 2.



\* $p < 0,05$

**Figura 2:** Dosagem de malondialdeído (MDA) no cérebro de camundongos com dieta padrão, controle com água e tratados com 100 $\mu$ L OMEGA-3, 200 $\mu$ L OMEGA-3 e 100 $\mu$ L OLEICO. Cada coluna representa as médias  $\pm$  o erro padrão da média de 5 animais

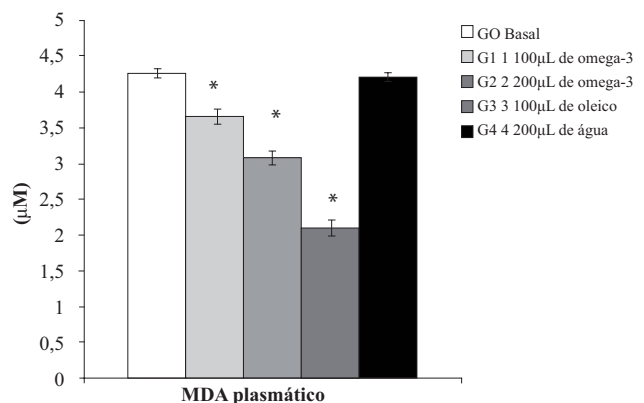
Na dosagem plasmática de malondialdeído, o grupo basal apresentou valores de 4,268845461  $\mu$ M, contra 4,198172353  $\mu$ M do grupo G4 (água). As reduções ocorreram

nos grupos que receberam 100  $\mu$ L Omega-3, 200  $\mu$ L Omega-3 e 100  $\mu$ L ácido oleico, sendo maiores nos dois últimos. As reduções foram de 11,9%, 37,7% e 53,4% respectivamente e estão representados na Tabela 3 e também na Figura 3.

**Tabela 3:** Resultados da dosagem de malondialdeído plasmático, expressos em média de cada grupo estudado  $\pm$  o desvio padrão

Tratamento	MDA Plasmático ( $\mu$ M)
100 $\mu$ L de DHA+EPA	3,642748127 $\pm$ 0,1*
200 $\mu$ L de DHA+EPA	3,075039705 $\pm$ 0,09*
100 $\mu$ L de oleico	2,116145906 $\pm$ 0,09*
200 $\mu$ L de água	4,198172353 $\pm$ 0,07
Grupo Basal	4,268845461 $\pm$ 0,06

\* $p < 0,05$



\*  $p < 0,05$

**Figura 3:** Níveis de malondialdeído (MDA) plasmático em camundongos com dieta padrão, controle com água e tratados com 100 $\mu$ L OMEGA-3, 200 $\mu$ L OMEGA-3 e 100 $\mu$ L OLEICO. Cada coluna representa as médias  $\pm$  o erro padrão da média de 5 animais

A suplementação com Omega-3 é tema controverso e nos últimos anos os seus benefícios para a saúde e prevenção de doenças têm instigado novas pesquisas. Estudo realizado em humanos revelou que a suplementação da dieta com Omega-3 aumenta os níveis plasmáticos de HDL sem alteração nos níveis de LDL, resultado em elevação do colesterol total, juntamente com a redução de TG no plasma<sup>16</sup>.

Diferentemente dos humanos, os animais vêm demonstrando comportamento no qual se observa a redução dos níveis plasmáticos de colesterol total e de suas frações, bem como os TG quando tratados com Omega-3<sup>17-19</sup>. Contudo, autores têm encontrado reduções no TG e aumento no colesterol total<sup>20</sup>. Tal fato demonstra que apesar de muitos estudos, poucas conclusões foram efetivas.

Os resultados apresentados nesse estudo mostram redução nos níveis de lipoproteínas plasmáticas (HDL, LDL e VLDL), bem como de TG em todos os animais tratados com Omega-3 e com ácido oleico, quando comparados com o grupo basal e



o tratado com água (Figura 1). Apesar da suplementação com ácido oleico ser mais significativa em reduzir os parâmetros bioquímicos avaliados, esse efeito já havia sido descrito e, no contexto desse estudo, foi utilizado como controle para determinar se não havia erros de experimentação, ou seja, controle positivo de tratamento<sup>21-24</sup>.

A redução de TG e colesterol no plasma de animais tratados com Omega-3 está relacionada com o efeito combinado de maior oxidação dos ácidos graxos por ativação de  $\alpha$ -peroxissomos, via regulação do fator de transcrição “peroxisome proliferator activated receptors” (PPARS) e inibição da lipogênese com diminuição da secreção de VLDL pelo fígado<sup>25,26</sup>.

Para as condições avaliadas nesse estudo, o Omega-3 reduziu a concentração plasmática de LDL, o provável mecanismo está relacionado ao aumento da expressão de receptores hepáticos para essa fração do colesterol (LRP-“LDL receptor-related protein”), que gera aumento da afinidade do LDL pela membrana dos hepatócitos e diminui a concentração dessa fração no plasma sanguíneo<sup>18,21,25</sup>.

Os resultados indicaram redução na concentração plasmática de HDL, o que não seria de grande benefício, no entanto, estudo realizado por Morvan *et al.*<sup>27</sup> demonstrou que apesar da diminuição da concentração plasmática de HDL há aumento da concentração de éster de HDL no fígado, quando os animais foram tratados com Omega-3. A conclusão sobre o efeito do ômega-3 na fração HDL ainda continua sendo um tema controverso.

No presente estudo os resultados demonstram possível efeito benéfico dos Omega-3 na concentração de TG e colesterol LDL no plasma, sugerindo que a ingestão de Omega-3 poderia resultar na redução da concentração plasmática desses fatores ajudando na prevenção de doenças relacionadas aos mesmos, como as cardiovasculares.

Para a avaliação da peroxidação lipídica foi realizada a dosagem de malondialdeído (MDA) no plasma e no cérebro dos camundongos como marcador do estresse oxidativo, revelando que a suplementação com Omega-3 foi eficiente na proteção contra a lipoperoxidação.

O malondialdeído é produto das principais reações em cadeia relacionadas com a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados (peróxido de lipídios plasmáticos). Estudos demonstram que o malondialdeído possui ação citotóxica e genotóxica sendo encontrado em níveis elevados em patologias associadas ao estresse oxidativo<sup>28-30</sup>. Portanto, a variação de sua concentração demonstra diferentes níveis de destruição celular e por essa razão é utilizado como marcador do estresse oxidativo<sup>8</sup>.

O fato do aumento da ingestão de ácidos graxos poliinsaturados reduzirem ou não o estresse oxidativo observado por meio de biomarcadores do mesmo é tema controverso. Há estudos<sup>31</sup> que demonstram ter sido encontrado aumento, outros<sup>32</sup> redução; ainda há estudos que demonstram não haver alteração<sup>13,33</sup> desses biomarcadores.

Em pesquisa realizada por Monteiro<sup>34</sup> em humanos suplementados com ácidos graxos poliinsaturados Omega-3 mostrou que a concentração de MDA plasmática aumentou após seis semanas de suplementação. O mesmo estudo revela que em animais (ratos Wistar), suplementados com Omega-3, a concentração de MDA plasmático e no homogenato de cérebro não alterou significativamente. Hipóteses são determinadas para essa diferença de resultados e uma delas é que o metabolismo de roedores pode ser distinto dos humanos com relação ao stress oxidativo.

Os resultados demonstraram redução significativa na concentração de MDA plasmático em todos os grupos suplementados com Omega-3 e com ácido oleico (controle positivo). No homogenato de cérebro, a redução nos níveis de MDA foi mais significativa. Esse efeito pode ter fundamento em algumas hipóteses como o fato de que a suplementação com Omega-3 eleva a concentração de  $\alpha$ -tocoferol o que aumentaria a proteção às membranas celulares do sistema nervoso<sup>35</sup>, ou que o Omega-3 aumenta a concentração de catalase dentro dos peroxissomos e no citoplasma aumentando a defesa contra o estresse oxidativo<sup>36</sup>; ou até mesmo que o Omega-3 poderia agir como sequestrador (scavenger) de radicais livres (RL) o que protegeria as células contra os efeitos deletérios dos RLs<sup>32</sup>.

#### 4 Conclusão

Nos ensaios realizados ficou evidente que a suplementação de camundongos com ácidos graxos poliinsaturados Omega-3 é capaz de reduzir os níveis plasmáticos de lipoproteínas plasmáticas e malondialdeído no plasma e SNC. Existem várias hipóteses para a explicação dessa redução após a suplementação, no entanto, a partir dos experimentos executados pode-se apenas afirmar que a suplementação de ácidos graxos poliinsaturados Omega-3 pode ajudar na proteção da peroxidação lipídica no sistema nervoso central e a diminuir a concentração plasmática de TG e LDL.

#### Referências

1. Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Assoc Med Bras* 1997;43(1):61-8.
2. Tsaluchidu S, Cocchi M, Tonello L, Puri B. Fatty acids and oxidative stress in psychiatric disorders. *BMC Psychiatry* (Online) 2008;8(1):S5.
3. Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressam J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr* 2010;23(4):629-43.
4. Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr* 2005;135(5):969-72.
5. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry venid antioxidante capacity assays. *J Agric Food Chem* 2005;53(6):1841-56.
6. Sies H. Oxidative stress: from Basic research to clinical application. *Am J Med* 1991;91(Supl3):31-8.
7. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. New York: Claredo; 1999. p.285-93.
8. Bulut M, Selek S, Gergerlioglu HS, Savas HA, Yilmaz HR,

- Yuce M *et al.* Malondialdehyde levels in adult attention-deficit hyperactivity disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2007;32(6):435-8.
9. Kim SJ, Zhang Z, Saha A, Sarkar C, Zhao Z, Xu Y *et al.* Omega-3 and Omega-6 fatty acids suppress ER- and oxidative-stress in cultured neurons and neuronal progenitor cells from mice lacking PPT1. *Neurosci Lett* 2010;479(3):292-6.
  10. Jenkins DJA, Josse AR. Fish oil and omega-3 fatty acids. *CMJA* 2008;178(2). Disponível em <http://www.nationaljewish.org/healthinfo/medications/supplements/fish-oil-and-omega-3/>.
  11. Frankel EN. Lipid oxidation. Bridgewater: Oilys; 2005.
  12. Ergström K, Saldeen AS, Yang B, Mehta JL, Saldeen T. Effect of fish oils containing different amounts of EPA, DHA, and antioxidants on plasma and brain fatty acids and brain nitric oxide synthase activity in rats. *Ups J Med Sci* 2009;114:206-13.
  13. Higdon JV, Du SH, Lee YS, Wu T, Wander RC. Supplementation of postmenopausal women with fish oil does not increase overall oxidation of LDL ex vivo compared to dietary oils rich in oleate and linoleate. *J Lipid Res* 2001;42(3):407-18.
  14. Sim AS, Salonikas C, Naidoo D, Wilcken DEL. Improved method for plasma malondialdehyde measurement by high-performance liquid chromatography using methyl malondialdehyde as an internal standard. *J Chromatogr B* 2003;785(2):337-44.
  15. Antunes MV, Lazzaretti C, Gamaro GD, Linden R. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. *RBCF* 2008;44(2):279-87.
  16. Castro IA, Barroso LP, Sinnecker P. Functional foods for coronary heart disease risk reduction: a meta-analysis using a multivariate approach. *Am J Clin Nutr* 2005;82:32-40.
  17. Frenoux JM, Prost ED, Belleville JL, Prost JL. A polyunsaturated fatty acid diet lowers blood pressure and improves antioxidant status in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr* 2001;131(1):39-45.
  18. Gaíva MH, Couto RC, Oyama LM, Couto GE, Silveira VL, Ribeiro EB *et al.* Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. *Nutrition* 2003;19(2):144-9.
  19. Moritz B, Wazlawik E, Minatti J, Dimbarre de Mirande RC. Omega-3 fatty acids interference on the blood lipids of rats subjected to swimming exercise. *Rev Nutr* 2008;21(6):659-69.
  20. Chang CL, Seo T, Matsuzaki M, Worgall TS, Deckelbaum RJ. N-3 fatty acids reduce arterial LDL-cholesterol delivery and arterial lipoprotein lipase levels and lipase distribution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29(4):555-61.
  21. Dietschy JM. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *J Nutr* 1998;128(Suppl 2):444-8.
  22. Wanders AJ, Brouwer IA, Siebelink E, Katan MB. Effect of a High Intake of Conjugated Linoleic Acid on Lipoprotein Levels in Healthy Human Subjects. *PLoS ONE* 2010;5(2). Disponível em <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0009000>
  23. Bemelmans WJE, Broer J, Feskens EJM *et al.* Effect of an increased intake of  $\alpha$ -linolenic acid and group nutritional education on cardiovascular risk factors: the Mediterranean Alpha-linolenic Enriched Groningen Dietary Intervention (MARGARIN) study. *Am J Clin Nutr* 2002;75:221-7.
  24. Zambon D, Sabaté J, Muñoz S, Campero B, Casals E, Merlos M, *et al.* Substituting walnuts for monounsaturated fat improves the serum lipid profile of hypercholesterolemic men and women: A randomized cross-over trial. *Ann Intern Med* 2000;132:538-46.
  25. Fernandez ML, West KL. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. *J Nutr* 2005;135(9):2075-8.
  26. Botham KM, Zheng X, Napolitano M, Avella M, Cavallari C, Rivabene R *et al.* The effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids delivered in chylomicron remnants on the transcription of genes regulating synthesis and secretion of very-low-density lipoprotein by the liver: modulation by cellular oxidative state. *Exp Biol Med* 2003;228(2):143-51.
  27. Morvan V, Dumon MF, Palos-Pinto A, Bérard AM. N-3 FA increase liver uptake of HDL-cholesterol in mice. *Lipids* 2002;37(8):763-72.
  28. Andrade JR, Souza RB, Santos AS, Andrade DR. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares J *Bras Pneumol* 2005;31(1):60-8.
  29. Stehens JP, Kappel ALV, Denis I, Collombel C. Diaminonaphtalene, a new highly specific reagent for HPLC-UV measurement of total and free malondialdehyde in human plasma or serum. *Free Radical Biol Med* 2001;31(2):242-9.
  30. Bagis S, Tamer L, Bilgin GSR, Guler H, Erdogan BEC. Free radicals and antioxidants in primary fibromyalgia: an oxidative stress disorder? *Rheumatol Int* 2005;25(3):188-90.
  31. Hau MF, Smelt AHM, Bindels AJGH, Sijbrands EJG, Van Der Laarse A, Oonkenhout W *et al.* Effects of fish oil on oxidation resistance of VLDL in hypertriglyceridemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16(9):1197-201.
  32. Barbosa DS, Cecchini R, El Kadri MZ, Rodriguez MAM, Burini RC, Dichi I. Decreased oxidative stress in patients with ulcerative colitis supplemented with fish oil n-3 fatty acids. *Nutrition* 2003;19(10):837-42.
  33. Tholstrup T, Hellgren LI, Petersen M, Basu S, Straarup EM, Schnohr P *et al.* A solid dietary fat containing fish oil redistributes lipoprotein subclasses without increasing oxidative stress in men. *J Nutr* 2007;134(5):1051-7.
  34. Monteiro VCB, Carvalho ACL, Bueno AS, Rogero MM, Castro IA. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on oxidative stress in rats supplemented with different doses of fish oil. *J Food Lipids* 2009;16:345-61.
  35. Chautan M, Calaf R, Leonardi J, Charbonnier M, Andre M, Portugal H *et al.* Inverse modifications of heart and liver alpha-tocopherol status by various dietary  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids ratios. *J Lipid Res* 1990;31:2201-8.
  36. Erdogan H, Fadillioglu E, Ozgocmen S, Sogut S, Ozyurt B, Akyol O *et al.* Effects of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004;71(3):149-52.