

Avaliação da taxa de peroxidação lipídica em ratos suplementados com óleo de peixe e óleo de fígado de tubarão

Valesca Anschau*
Fabíola Iagher**

Resumo

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (ω -3) são conhecidos por apresentarem benefícios a indivíduos portadores de doenças inflamatórias crônicas por prevenirem doenças cardíacas, diminuírem o crescimento de muitos tumores, auxiliarem na manutenção do Sistema Nervoso Central, entre outras enfermidades. Esses ácidos graxos poli-insaturados são encontrados no óleo de peixe e no óleo de fígado de tubarão; são disponibilizados para a população em forma de cápsulas. Apesar dos vários benefícios oferecidos, ácidos graxos ω -3 incorporados na membrana plasmática das células são constante alvo para o ataque de espécies reativas de oxigênio (EROs), levando à geração de hidroperóxidos lipídicos em um processo chamado de peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica pode causar danos graves às células, e ainda desencadear morte celular por apoptose.

Palavras-chave: Peroxidação lipídica. Óleo de peixe. Óleo de fígado de tubarão. Radicais livres.

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos poli-insaturados são constituintes estruturais das membranas celulares e possuem diversas funções no organismo. Estudos têm demonstrado que uma maior ingestão de ácidos graxos ômega-3 (ω -3), presentes em grande quantidade no óleo de peixe, reduz os riscos de doenças crônico-degenerativas; esses ácidos apresentam atividade anti-inflamatória e contribuem para a redução ou melhoramento de doenças cardiovasculares (SIMOPOULOS, 2002). Há, também, evidências de que o óleo de fígado de tubarão, quando utilizado como suplemento alimentar, apresenta elevada atividade biológica, melhorando a atividade imunitária e reduzindo a velocidade de crescimento de tumores. O óleo de fígado de tubarão também apresenta ácidos graxos poli-insaturados ω -3, além de elevada concentração de éteres lipídicos denominados alquilgliceróis (PUGLIESE et al.,1998).

Nos tecidos, a poderosa reatividade das espécies reativas de oxigênio (EROs) representa um impacto abrangente na saúde humana, pois danifica diversas moléculas nos sistemas biológicos, podendo iniciar a mutagênese, a carcinogênese, os distúrbios circulatórios, entre outras enfermidades que se desenvolvem com a idade (GUEDES, 2006). Ácidos graxos poli-insaturados apresentam insaturações na cadeia hidrocarbônica suscetíveis à ação oxidante das EROs, levando a um processo denominado peroxidação lipídica (GODWIN, 2006). Esses ácidos graxos tornam-se suscetíveis ao ataque de EROs, pois, quando ingeridos, podem ser incorporados nas bicamadas lipídicas de diferentes tecidos.

* Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade do Oeste de Santa Catarina (Unoesc) mestranda do Curso de Pós-graduação em Ciência Animal pela Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) Rua Amandio Sperb, 147, Herval d'Oeste, SC; valesca_jba@yahoo.com.br

** Professora da Universidade do Oeste de Santa Catarina (Unoesc) fabiola.iagher@unoesc.edu.br

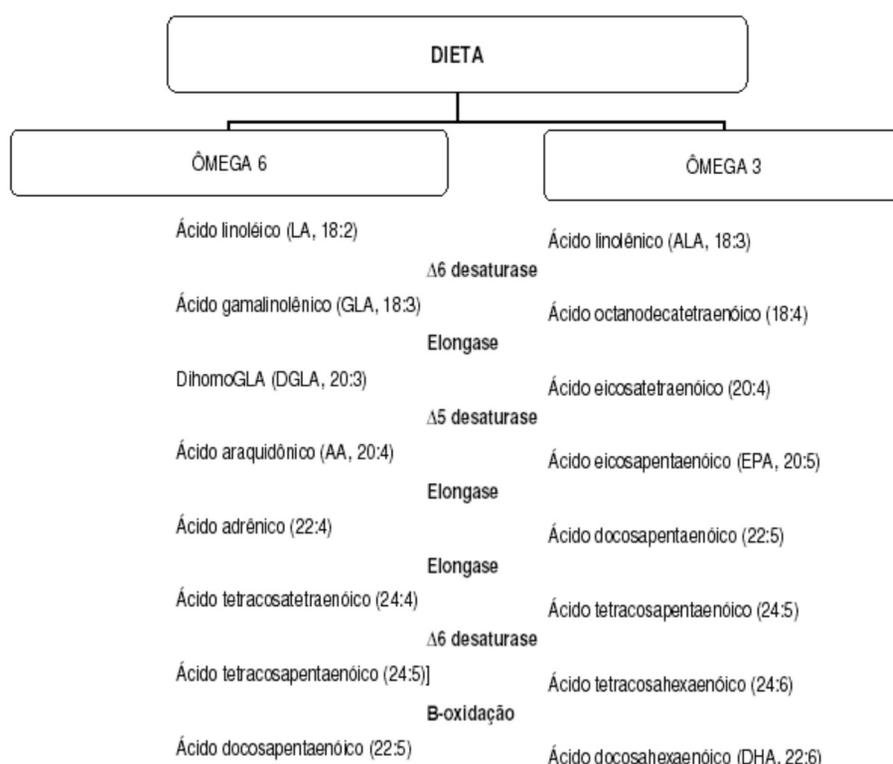
Apesar de existirem muitos benefícios com a ingestão de óleo de peixe e de óleo de fígado de tubarão para a saúde humana, há a necessidade de investigar se a suplementação crônica com esses dois óleos pode fornecer substrato para a peroxidação lipídica em órgãos metabólicos importantes, e com isso, oferecer risco para a saúde. Este trabalho teve como objetivo avaliar se o consumo de óleo de peixe e de óleo de fígado de tubarão em dose elevada poderia ocasionar dano oxidativo em tecidos saudáveis de um indivíduo.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos estão presentes em nossa alimentação, principalmente na forma de triacilgliceróis. O consumo de lipídeos é fundamental para a realização de muitas funções importantes no organismo, como a manutenção da integridade de membranas celulares e a comunicação celular; são excelente fonte de energia e também precursores para numerosos compostos biologicamente ativos (AIKAWA, 2004). De acordo com Smith, Marks e Lieberman (2007), os ácidos graxos são cadeias alifáticas retas com um grupo metila (CH_3), em uma das extremidades (cujo átomo de carbono se denomina carbono ω) e um grupo carboxila na outra (COOH).

As duas principais famílias de gorduras poli-insaturadas são as gorduras ômega-6 (ω -6) e ômega-3 (ω -3). As gorduras ômega 6 e 3 são consideradas "essenciais", ou seja, o corpo não consegue produzi-las, é preciso obtê-las na dieta (SIMOPOULOS, 2002). Para cada família há um ácido graxo precursor específico, o qual é convertido em outros ácidos graxos da mesma série por meio de sucessivas reações enzimática (Esquema 1), em que ocorre a adição de novos carbonos e insaturações à cadeia original (SILVA, 2007).



Esquema 1: Etapas bioquímicas para a síntese de ácidos graxos ω -6 e ω -3
 Fonte: Silva (2007).

1.2 ÓLEO DE PEIXE

Os principais componentes biologicamente ativos, representantes da família ω -3, são o ácido α -linolênico ou ALA, que apresenta 18 carbonos e 3 duplas ligações ($18:3n-3$); o ácido eicosapentaenoico ou EPA ($20:5n-3$) e o ácido docosahexaenoico ou DHA ($22:6n-3$) (ANDRADE; CARMO, 2006; SILVA, 2007) (Desenho 1). O ácido α -linolênico é encontrado em peixes de águas frias e profundas, possui elevado teor de gordura, como salmão, arenque, sardinha e bacalhau, e apresenta em torno de 22 a 35% de seus lipídeos do tipo ω -3 (MORAES, 2006). Já nos óleos vegetais, a quantidade é um pouco menor, como o óleo de canola, que apresenta apenas 10%, e o óleo de soja, 8% (SILVA, 2007). Os ácidos graxos de cadeia longa da família ω -3, EPA e DHA, são sintetizados nos seres humanos a partir do ácido α -linolênico por meio de reações enzimáticas (RODRÍGUEZ; MEGÍAS; BAENA, 2003).

Esses nutrientes essenciais vêm se escasseando na dieta humana ao longo do tempo, em grande parte substituídos por grãos e outros alimentos ricos em ácidos graxos ω -6. Na alimentação de nossos ancestrais, os ácidos graxos essenciais ω -3 e ω -6 estiveram nas proporções de 1 para 1 na dieta (SIMOPOULOS, 2002). O ácido graxo α -linolênico (ω -3) é essencial para a função celular normal, age como precursor para a síntese de outros ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) ω -3, como o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA), melhora a fluidez da membrana (eritrócitos) e promove mudanças no endotélio vascular, resultantes da produção de compostos anti-inflamatórios (FETT, 2001).

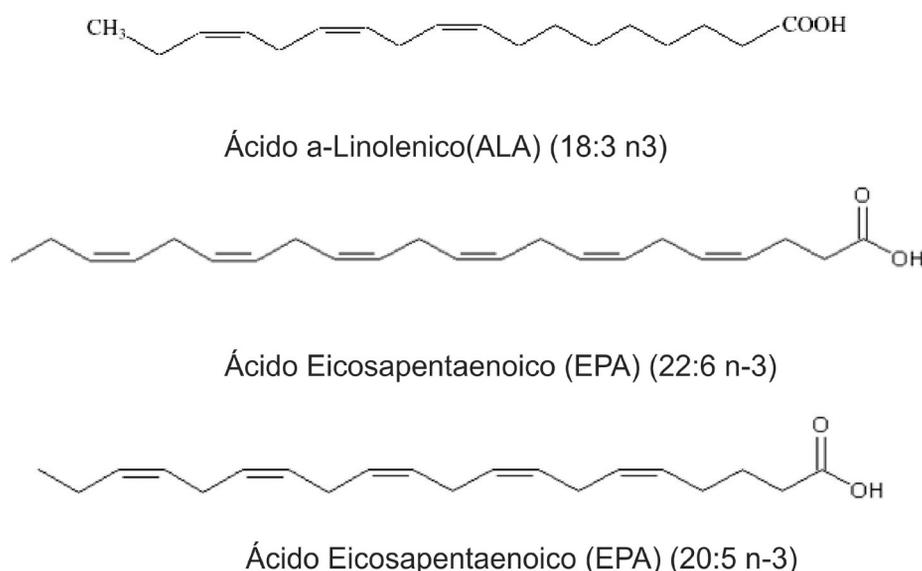
Os ácidos graxos ω -3 mais encontrados no óleo de peixe, EPA e DHA, desempenham papéis importantes no desenvolvimento e manutenção do sistema nervoso central (MACLEAN, 2005), produzem efeitos benéficos em doenças associadas a reações inflamatórias, como artrite reumatoide ou doença intestinal inflamatória (ROMBEAU, 2005), e auxiliam no tratamento e prevenção de doenças do coração e câncer por reduzirem a concentração de mediadores proinflamatórios produzidos nas células (MORAES; COLLA, 2006). O EPA e o DHA também parecem atuar na prevenção da doença de Alzheimer (FETT, 2001; MORAES; COLLA, 2006). O óleo de peixe tem sido atualmente ingerido como uma forma não farmacológica para corrigir algumas doenças citadas anteriormente, mas os ácidos graxos ω -3 devem ser consumidos em uma proporção equilibrada (MORAES; COLLA, 2006). Existem preocupações quanto à possibilidade de aumento da peroxidação lipídica em razão da suplementação exagerada com óleo de peixe (PEDERSEN, 2003).

De acordo com Pacheco (2005), os ácidos graxos poli-insaturados ω -3 são mais propensos à oxidação por apresentarem muitas duplas ligações que atuam como alvo para o ataque de espécies reativas oxidantes (radicais livres). Estudos evidenciaram que gorduras oxidadas e produtos da peroxidação lipídica (hidroperóxidos lipídicos) na dieta podem contribuir para o aparecimento de doenças, uma vez que esses compostos são absorvidos pelo intestino e transportados pela corrente sanguínea. Os ácidos graxos ω -3 incorporados na membrana das células e oxidados por radicais livres, podem danificar outros lipídeos, proteínas e também DNA celular, levando até mesmo ao processo de apoptose (GONZÁLEZ, 1996). Além disso, os produtos da peroxidação lipídica podem atuar como indutores também da carcinogênese (PACHECO, 2005).

1.3 ÓLEO DE FÍGADO DE TUBARÃO

O óleo de fígado de tubarão tem sido estudado desde 1950, e aproximadamente 20% de seu conteúdo lipídico são alquilgliceróis, gorduras formadas por uma cadeia hidrocarbônica, saturada ou insaturada, unida por ligação do tipo éter a uma das hidroxilas do glicerol (IAGHER, 2008). Éteres lipídicos são substâncias químicas com pronunciada atividade biológica (BROHULT, 1963, 1977).

Os alquilgliceróis são encontrados em pequenas quantidades nos produtos naturais. Em órgãos hematopoiéticos de mamíferos, especialmente na medula óssea, e também no leite materno, mas são mais abundantes na natureza em algumas espécies de tubarão (BROHULT, 1978, 1979). Em todas as fontes naturais os alquilgliceróis são encontrados principalmente sob forma esterificada, ou seja, ligados a ácidos graxos, principalmente poli-insaturados, unidos por ligações do tipo éster a duas hidroxilas livres do glicerol, assim também denominados alquildiacilgliceróis (BROHULT, 1963, 1970) (Desenho 2).



Desenho 1: Estrutura molecular de ácidos graxos poli-insaturados ω -3
Fonte: adaptado de Silva (2007).

Como ácidos graxos poli-insaturados são moléculas suscetíveis à peroxidação, é possível que a suplementação com óleo de fígado de tubarão, que apresenta alquildiacilgliceróis, interfira na quantidade de hidroperóxidos lipídicos formados nos tecidos, mas isso não tem sido investigado.

O óleo de fígado de tubarão é consumido pelas pessoas por apresentar efeitos benéficos devido aos alquilgliceróis e também a outros componentes presentes no óleo, como as vitaminas A e D, juntamente com esqualeno, vitamina E, esqualamina e sais minerais como ferro, cobre e zinco (PUGLIESE, 1998). Os alquilgliceróis têm sido objeto de grande atenção devido às suas funções fisiológicas nos seres humanos (BROHULT, 1977). O óleo de fígado de tubarão tem sido utilizado por mais de 40 anos como um agente terapêutico e preventivo (PUGLIESE, 1998). Os primeiros estudos ocorreram com experimentos em crianças com leucemia, utilizando a fração insaponificável (constituída de alquilgliceróis) da gordura da medula óssea de bovinos como suplementação (BROHULT, 1963). Nesses estudos foi observada significativa melhora no quadro clínico das crianças, o que estimulou outras investigações a respeito dos alquilgliceróis. Ao longo dos últimos 30 anos, estes têm demonstrado várias ações benéficas, e por isso têm sido extensivamente estudados, tanto *in vivo* quanto *in vitro* (PUGLIESE, 1998).

Na molécula de alquilglicerol, a presença de grupo metóxi (-OCH₃), no início da cadeia alifática, em substituição ao hidrogênio, confere estimulação da resposta imunológica e imunomodulação, atividade antifúngica, e em culturas de células demonstrou efeitos citotóxicos sobre células tumorais e redução de metástases (BROHULT et al., 1986; NOWICKI; BARANSKA-RIBAK, 2007; MELLO, 2007). Os alquilgliceróis presentes no óleo de fígado de tubarão apresentam capacidade de evitar a diminuição de glóbulos brancos e plaquetas no sangue e de aumentar a taxa de sobrevivência em ratos

com carcinoma uterino, reduzindo a frequência de lesões causadas por doenças malignas. O óleo de fígado de tubarão mostrou-se eficaz em reduzir leucopenia e trombocitopenia em pacientes sob tratamento radioterápico, quando administrado na dose de 1 a 2 gramas ao dia, durante 1 a 2 meses (BROHULT, 1963, 1979).

Muitas pessoas têm tomado óleo de fígado de tubarão para diversos males, mas a questão da sua potencial toxicidade em doses habituais não tem sido bem estudada (HARTVIGSEN, 2006). Há possibilidade de que a ingestão demasiada desse óleo possa estar relacionada com a elevação da peroxidação lipídica nas células (GUEDES, 2006).

1.4 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

O oxigênio é uma molécula fundamental para os organismos aeróbios, utilizada tanto na produção de energia por meio da cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria dos eucariotos, quanto na membrana celular de muitas bactérias e em inúmeras vias metabólicas fundamentais (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004; HALLIWELL, 2007). Ao mesmo tempo, seu consumo é capaz de gerar substâncias tóxicas a nível intracelular e extracelular, em razão do balanço existente entre suas vantagens e desvantagens. Essas substâncias tóxicas são geradas durante o transporte de elétrons, reações enzimáticas, de auto-oxidação, ou ainda, pelo grupo heme de proteínas, comumente chamadas de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o oxigênio *singlet* ($^1\text{O}_2$), o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$) (HALLIWELL, 1992, 2006).

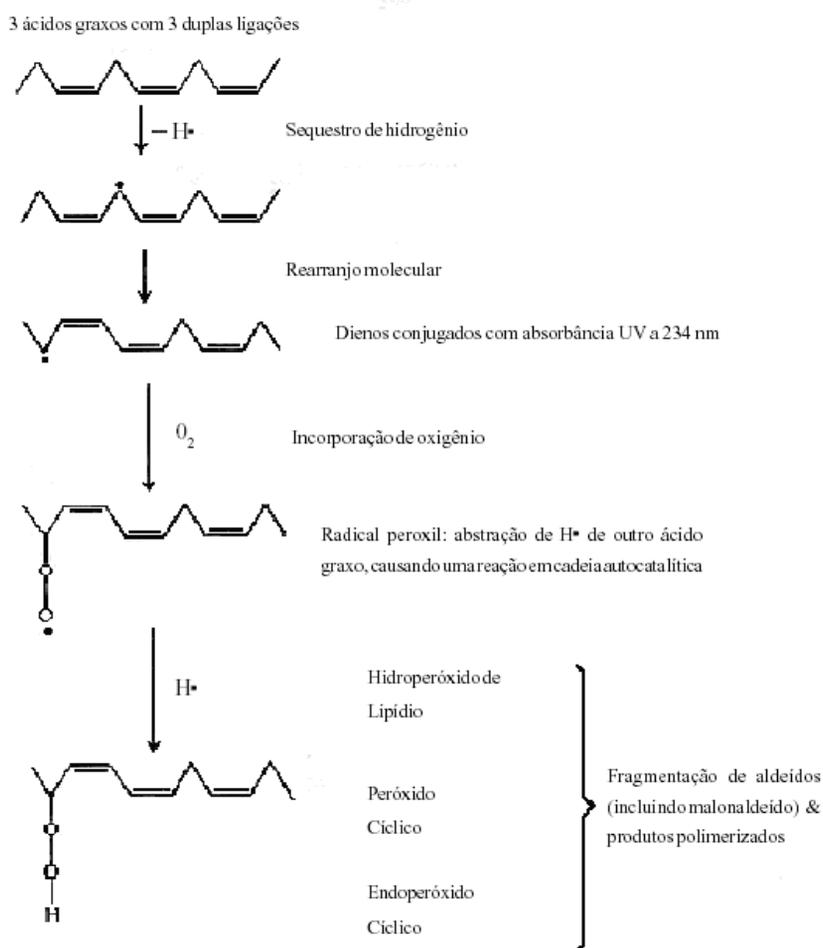
Os sistemas biológicos oferecem condições favoráveis para a ocorrência de reações de caráter oxidativo, devido à existência de ácidos graxos insaturados nas membranas celulares, e pela abundância de reações oxidativas que ocorrem durante o metabolismo normal (JUNIOR, 1998). Um radical livre é definido como um átomo ou molécula de qualquer espécie que contém um ou mais elétrons não pareados (HALLIWELL, 1987). Radicais livres podem ser formados pela perda de um único elétron ou pelo ganho de um elétron de uma substância não radical. A grande maioria dos radicais livres possui como característica uma meia-vida muito curta, indo de minutos a nanossegundos, capazes de reagir rapidamente com vários compostos ou atingir alvos celulares, como as membranas lipídicas (VANNUCCHI, 1998).

Cada vez mais é aceito que os danos resultantes de espécies reativas de oxigênio (EROs) desempenham um papel no processo de envelhecimento. O nível de estresse oxidativo que contribui para o envelhecimento pode variar entre organismos, células e tecidos (GOLDEN; HINERFELD, 2002). Muitas doenças também podem ser ocasionadas pela peroxidação lipídica, como aterosclerose, diabetes *mellitus*, insuficiência renal crônica, artrite reumatoide e doenças neurodegenerativas (ABUJA; ALBERTINI, 2001). O equilíbrio entre a produção e o combate de radicais livres é fundamental para manter a integridade das estruturas moleculares – proteínas, lipídios, carboidratos, nucleotídeos –, necessária para sustentar a homeostase metabólica. A peroxidação lipídica induzida por radicais livres é um dos danos moleculares mais expressivos do processo metabólico degenerativo molecular (SANTOS, 2007).

A reação dessas espécies com os ácidos graxos poli-insaturados presentes nas membranas celulares e nas lipoproteínas inicia um processo em cadeia conhecido como peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO), que pode ser avaliado e utilizado como um indicador do estresse oxidativo celular (LIMA; ABDALLA, 2001). A peroxidação lipídica nos tecidos é um processo degenerativo definido como uma cadeia de eventos bioquímicos envolvendo radicais livres e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) (PAOLINELLI, 2006).

A peroxidação lipídica consiste na incorporação de oxigênio molecular na cauda hidrofóbica de um AGPI para produzir um hidroperóxido lipídico, após sequestro de hidrogênio da cadeia mediado por um radical livre (LIMA; ABDALLA, 2001).

O ataque a cadeias de ácidos graxos poli-insaturados pode ocorrer envolvendo três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação. O começo dessa reação geralmente ocorre por meio da abstração de átomo de hidrogênio de um grupo metileno (CH_2) por intermédio do ataque de uma molécula reativa, como EROs, metais, ou outros radicais livres, formando um radical de carbono (Desenho 3). Este, por sua vez, realizará um rearranjo molecular, formando um dieno conjugado, que pode reagir com moléculas de oxigênio, formando um radical peróxil ($\text{ROO}\cdot$) (LIMA; ABDALLA, 2001; HALLIWELL, 2006). A partir da formação desse radical, ocorre a fase de propagação, em razão da sua capacidade de abstrair átomos de hidrogênio de outros grupos metilenos de cadeias adjacentes (transformando-se em um peróxido lipídico). Estes sofrerão processos de rearranjo molecular, formação de dienos conjugados e posteriormente ataque de moléculas de oxigênio, formando um novo $\text{ROO}\cdot$. Este reiniciará o processo, gerando uma reação oxidativa em cascata.



Desenho 2: Reação em cadeia da peroxidação lipídica
 Fonte: Halliwell e Gutteridge (1991).

A peroxidação lipídica causa alterações estruturais nas bicamadas lipídicas, desestabilização nas membranas biológicas e perda de função de barreira entre o meio intra e extracelular, colocando em risco a integridade de organelas e da própria célula (KÜHN, 2002).

1 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Este estudo envolvendo animais foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Oeste de Santa Catarina, de acordo com a Resolução CNS 196/96-VII. 13.b – Processo/Parecer n. 120/2008. Foram utilizados 12 ratos Wistar machos, com aproximadamente 200 g, provenientes do Biotério da Área de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade do Oeste de Santa Catarina (Unoesc), *Campus* de Joaçaba. Os ratos foram mantidos no biotério, em gaiolas coletivas, com 4 animais por caixa, em ambiente com temperatura controlada de aproximadamente 23 °C. Todos os animais receberam bastante água e ração durante o período de experimentação.

3.2 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os ratos foram separados em 3 grupos, com 4 animais cada grupo; um grupo foi suplementado com óleo de peixe (Herbarium) na dose de 2 g/kg de peso corpóreo; outro grupo foi suplementado com óleo de fígado de tubarão (Ecomer) na mesma dose, e o terceiro não recebeu suplementação, sendo, dessa forma, o grupo controle. Os grupos foram denominados como: (C) – ratos que não receberam nenhum tipo de suplementação; (OP) – ratos que receberam óleo de peixe e (OFT) – ratos que receberam óleo de fígado de tubarão. A suplementação dos ratos foi realizada diariamente, durante quatro semanas, por via oral uma vez ao dia. Após esse período, os ratos receberam anestesia com xilazina 2%/quetamina; foi realizada laparotomia mediana para permitir a retirada do fígado, tecido adiposo epididimal e rim; e, então, armazenado em nitrogênio líquido. Os animais tiveram morte provocada por sobredose de anestésico, seguida de hipovolemia.

3.3 ANÁLISES

3.3.1 Dosagem de hidroperóxidos lipídicos

As amostras foram homogeneizadas em metanol e centrifugadas a 5000 x *g* em centrífuga (4 °C), durante 5 minutos. Em cada microtubo foram colocados 10uL de metanol e 90uL do sobrenadante de cada amostra. Em seguida, foi feita a adição de 900uL de solução de trabalho (metanol 90%, xilenol laranja 100µM, H₂SO₄ 25mM, hidroxitolueno butilado (BHT) 4mM e sulfato ferroso de amônio 250µM em metanol 90%) em todos os microtubos. A leitura foi efetuada em espectrofotômetro em comprimento de onda de 560nm (JIANG; WOOLLARD; WOLF, 1991). Os resultados são expressos em µM de hidroperóxidos/g de tecido. Os dados são expressos como média ± e.p.m, e submetidos à análise de variância ANOVA de uma via, seguida de pós-teste de Tukey, com nível de significância para $P < 0,05$.

4 CONCLUSÃO

O peso corporal dos animais dos três grupos analisados apresentou aumento semelhante durante o período de experimentação de quatro semanas conforme apresentado no Gráfico 1. Não houve incremento significativo de peso corporal causado pela suplementação com óleo de peixe e óleo de fígado de tubarão. Os níveis de hidroperóxidos do tecido adiposo, tecido hepático e tecido renal dos grupos (C), (OP) e (OFT) são demonstrados nos Gráficos 2 e 3, respectivamente. Não foi encontrada diferença estatística entre a concentração de hidroperóxidos dos diferentes grupos, em todos os tecidos analisados ($p > 0,05$).

Peso Corpóreo Ratos

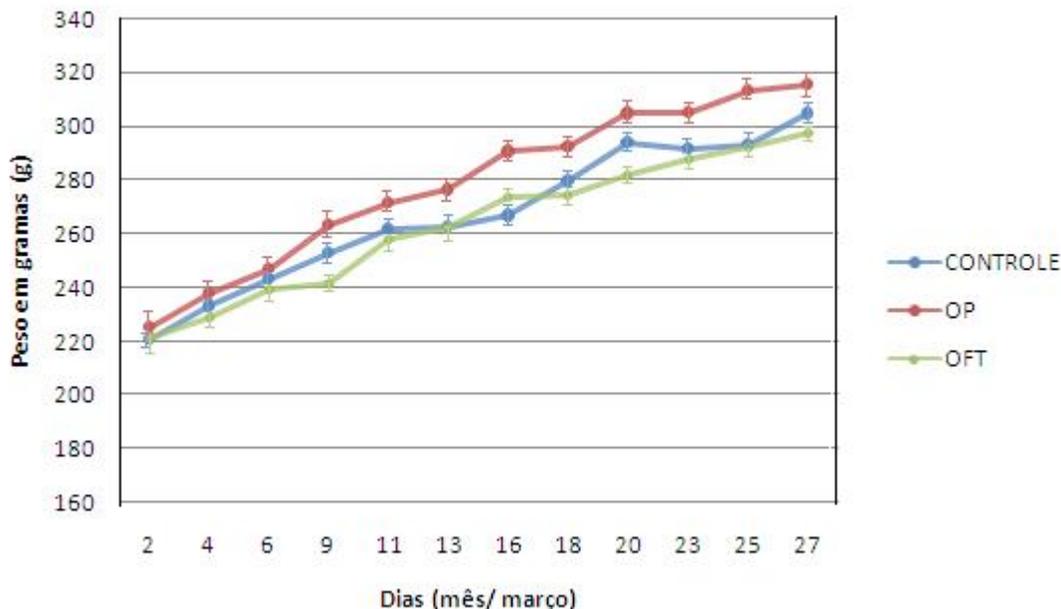


Gráfico 1: Evolução do peso corpóreo dos indivíduos dos grupos alimentados com dieta padrão (C), suplementados com óleo de peixe (OP) óleo de fígado de tubarão (OFT). Os dados estão apresentados como média ± e.p.m. de 4 animais por grupo
 Fonte: as autoras.

Tecido Adiposo

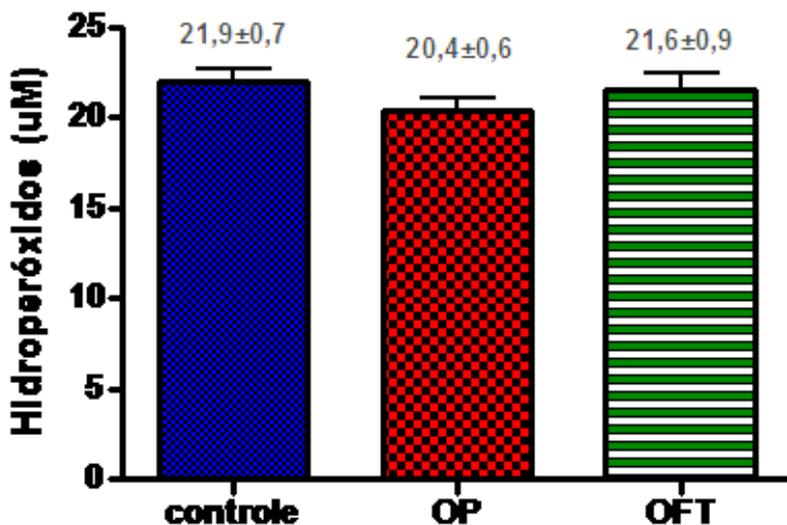


Gráfico 2: Concentração de hidroperóxidos (µM/g de tecido) no tecido adiposo obtido dos animais alimentados com dieta padrão (controle), suplementados com óleo de peixe (OP) óleo de fígado de tubarão (OFT). Os dados estão apresentados como média ± e.p.m. de 4 animais por grupo
 Fonte: as autoras.

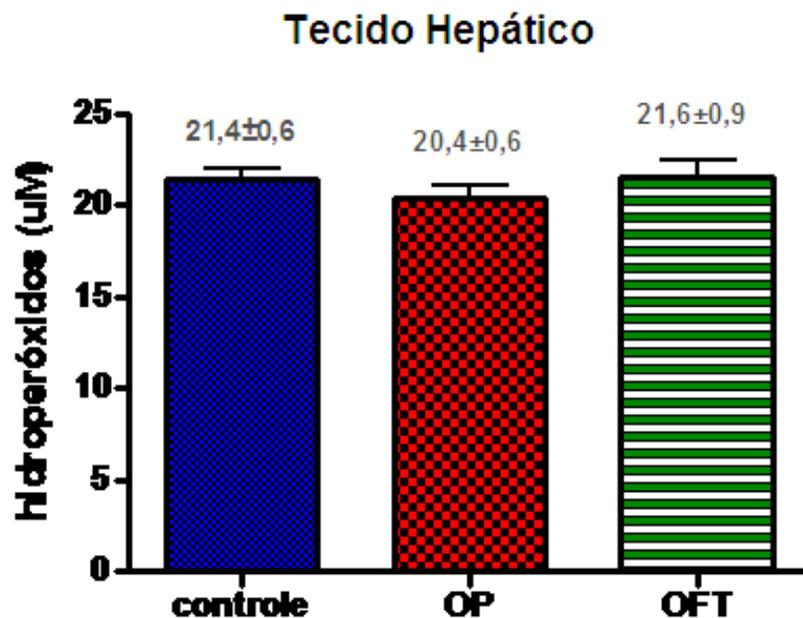


Gráfico 3: Concentração de hidroperóxidos ($\mu\text{M/g}$ de tecido) no tecido hepático obtido dos animais alimentados com dieta padrão (controle), suplementados com óleo de peixe (OP) óleo de fígado de tubarão (OFT). Os dados estão apresentados como média \pm e.p.m. de 4 animais por grupo
Fonte: as autoras.

A suplementação com óleo de peixe (grupo OP) e óleo de fígado de tubarão (grupo OFT) não promoveu alteração no ganho de peso dos animais durante o período de quatro semanas, mesmo sendo ofertada em alta dose (2 g/kg de peso corpóreo); esses grupos apresentaram ganho de massa semelhante ao dos animais do grupo controle (C).

Após a suplementação, durante quatro semanas, não foram encontradas diferenças na concentração de hidroperóxidos lipídicos nos tecidos renal, hepático e adiposo, entre os 3 grupos de animais (C, OP e OFT). Esse resultado é positivo, visto que mesmo em dose de 2 g/kg, bastante elevada para seres humanos, não houve aumento da peroxidação lipídica em diferentes tecidos com grande importância metabólica. Nessa investigação, o uso da suplementação com óleo de peixe e óleo de fígado de tubarão, em alta dose em animais, sem dano tecidual, sugere que pessoas que usam de uma quantidade inferior a 2 g/kg, provavelmente estão livres de danos nos tecidos hepático, renal e adiposo, provocados pelo aumento de ácidos graxos poli-insaturados na dieta.

Novos estudos são necessários para determinar o papel dos AGPI ω -3 sobre a peroxidação lipídica em tecidos normais e de elevada importância metabólica, como os que foram aqui avaliados. Em razão de que este trabalho abrangeu um período de quatro semanas, não se pode afirmar que tais resultados se repetirão no caso de suplementação por período mais longo. O consumo de AGPI ω -3, apesar de ser recomendado para ação adjunta no tratamento de inúmeras patologias, e respaldado pela literatura científica, precisa ser utilizado com cautela, conforme recomendação da *American Heart Association* (AHA), que não garante a utilização segura de ácidos graxos ω -3, porque em longo prazo os benefícios não foram demonstrados (KRAUSS, 1996).

REFERÊNCIAS

ABUJA, Peter; ALBERTINI, Riccardo. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. **Clinica Chimica Acta**, n. 306, p. 1-17, jan. 2001.

AIKAWA, Júlia. **Efeito da suplementação com óleo de peixe sobre a caquexia, o crescimento tumoral e o sistema imunitário em ratos F2**. 2004. 93 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)–Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

ANDRADE, Priscila de Mattos Machado de.; CARMO, Maria das Graças Tavares do. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. **Instituto de nutrição Josué de Castro, Centro de Ciências da Saúde**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. jul./set. 2006.

BROHULT, Astrid. Alkoxyglycerol-ester in irradiation treatment. **Acta Radiol. Suppl.**, n. 223, p. 241-247, 1963.

BROHULT, Astrid; BROHULT, Johan; BROHULT, Sven. Regression of tumor growth after administration of alkoxyglycerols. **Acta Obstetricia et Gynecologia Scandinavica**, v. 57, n. 1, p. 79-83, 1978.

BROHULT, Astrid et al. Biochemical effects of alkoxyglycerols and their use in cancer therapy. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 24, n. 2, p. 730-732, 1970.

_____. Effect of alkoxyglycerols on the frequency of fistulas following radiation therapy for carcinoma of the uterine cervix. **Acta Obstetricia et Gynecologia Scandinavica**, v. 58, n. 203, p. 203-207, 1979.

_____. Effect of alkoxyglycerols on the frequency of injuries following radiation therapy for carcinoma of the uterine cervix. **Acta Obstet. Scandinavica**, v. 56, p. 441-448, 1977.

_____. Reduced mortality in câncer patients after administration of alkoxyglycerols. **Acta Obstetricia et Gynecologia Scandinavica**, v. 65, p. 779-785, 1986.

FETT, Carlos Alexandre. Suplementação de Ácidos Graxos Ômega-3 ou Triglicéridios de Cadeia Média para Indivíduos em Treinamento de Força. **Motriz**, v. 7, n. 2, p. 83-91, 2001.

GODWIN, Angela; PRABHU, H. Ramachandra. Lipid peroxidation of fish oils. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 21, n. 1, p. 202-204, 2006.

GOLDEN, Tâmara R.; HINERFELD, Douglas A.; MELOV, Simon. Oxidative stress and aging: beyond correlation. **Aging Cell**, v. 1, p. 117-123, 2002.

- GONZÁLEZ, Michael J.; RIORDAN, N. H. The paradoxical role of lipid peroxidation on carcinogenesis and tumor growth: a commentary. **Medical Hypotheses**, n. 46, p. 503-504, 1996.
- GUEDES, Maria do Carmo. Química e bioquímica da peroxidação lipídica. **Revista Científica do IMAPES**. v. 4, n. 4, p.19, 2006.
- HALLIWELL, Barry. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v. 35, n. 5, p. 1147-1150, 2007.
- _____. Free radicals and metal ions in health and disease. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 46, p. 13-26, 1987.
- _____. Oxidative stress and neurodegeneration. Where are we now? **Journal of Neurochemistry**, v. 97, p. 1634-1658, 2006.
- _____. Reactive oxygen species and the central nervous system. **Journal of Neurochemistry**, v. 59, n. 5, p. 1609-1623, 1992.
- HARTVIGSEN, Karsten et al. 1-O-Alkyl-2-(w-oxo)acyl-sn-glycerols from shark oil and human milk fat are potential precursors of PAF mimics and GHB. **Lipids**, v. 41, n. 7, p. 679-693, 2006.
- IAGHER, Fabíola. **Efeito da suplementação conjunta crônica com óleo de peixe e óleo de fígado de tubarão sobre crescimento tumoral, caquexia e atividade linfocitária em ratos portadores de tumor de Walker 256**. 2008. 139 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular)–Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- JIANG, Z.; WOOLLARD, A. C. S.; WOLF, S. P. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with TBA assay and an iodometric method. **Lipids**, v. 26, p. 853-856, 1991.
- JUNIOR, Alceu Afonso Jordão et al. Peroxidação lipídica e etanol: Papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 434-449, jul./set. 1998.
- KRAUSS, Ronald M. Dietary guidelines for healthy American adults – a statement for health professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. **American Heart Association, Inc.**, p. 1795-1800, 1996.

KÜHN, Hartmut; BORCHERT, Astrid. Regulation of enzymatic lipid peroxidation: the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 33, n. 2, p. 154-172, 2002.

LIMA, Émerson Silva; ABDALLA, Dulcineia Saes Parra. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 293-303, set./dez., 2001.

MACLEAN, Catherine H. et al. Effects of Ômega-3 Fatty Acids on Cognitive Function with Aging, Dementia and Neurological Diseases. **Agency for Healthcare Research and Quality**, n. 114, 144 f. fev. 2005.

MELLO, Sergio Ricardo de Brito. **Estudo da suplementação com óleo de peixe associado ao de fígado de tubarão sobre o crescimento tumoral e resposta de macrófagos peritoneais em ratos portadores de tumor de Walker 256**. 2007. 86 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)–Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MORAES, Fernanda P.; COLLA, Luciane M. Alimentos funcionais e nutracênicos: Definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, nov. 2006.

NOWICKI, Roman; [BARAŃSKA-RYBAK, Wioletta](#). Shark liver oil as a supporting therapy in atopic dermatitis. **Polski Merkurusz Lekarski**, v. 22, n. 130, p. 312-313, abril. 2007.

PACHECO, Selma Guidorizzi Antonio. **Estabilidade oxidativa de óleo de peixe encapsulado e acondicionado em diferentes tipos de embalagem em condição ambiente**. 2005. 79 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)–Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

PAOLINELLI, Sonia Torquato; REEN, Rashmeet; MORAES-SANTOS, Tasso. Curcuma longa ingestion protects in vitro hepatocyte membrane peroxidation. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 3, p. 429-435, jul./set. 2006.

PEDERSEN, H. et al. Influence of fish oil supplementation on in vivo and in vitro oxidation resistance of low-density lipoprotein in type 2 diabetes. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, p. 713-720, 2003.

PUGLIESE, Peter T. et al. Some biological actions of alkylglycerols from shark liver oil. **Journal of alternative and complementary medicine**, v. 4, n. 1, p. 87-99, 1998.

RODRÍGUEZ, Manuela Belén Silveira; MEGÍAS, Susana Monereu; BAENA, Begoña Molina. Alimentos Funcionales y Nutrición óptima. **Revista da Espanha de Salud Pública**, v. 77, n. 3, p. 317-331, maio/jun. 2003.

ROMBEAU, John L.; ROLANDELLI, Rolando H. **Nutrição clínica nutrição parenteral**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2005. Disponível em: <<http://books.google.com.br/books>>. Acesso em: 22 ago. 2008.

SANTOS, Greice F. F. et al. Níveis de peroxidação lipídica em trabalhadores rurais. **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. 2007.

SCHNEIDER, Cláudia Dornelles; OLIVEIRA, Álvaro Reischak de. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-313, jul./ago. 2004.

SILVA, Sandra M. Chemin S. da; MURA, Joana D'Arc Pereira. **Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Roca, 2007. 523 p.

SILVA, Ticyana Moralez da. **Depressão na doença de Parkinson; Possibilidades terapêuticas dos ácidos graxos poliinsaturados da família ômega-3**. 2007. 101 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)–Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

SIMOPOULOS, Artemis P. The importance of the ratio of ômega-6/ômega-6 essential fatty acids. **Biomedicine Pharmacother**, v. 56, n. 8, p. 365-379, 2002.

SMITH, Colleen; MARKS, Allan D.; LIEBERMAN, Michael. **Bioquímica médica básica de Marks**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 992 p.

VANNUCCHI, Helio et al. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 31-44, jan./mar. 1998.

