

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL EM RATOS SUPLEMENTADOS DE FORMA
CRÔNICA COM ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS**

CURITIBA

Dezembro/2008

Fernando Augusto Malavazzi Casare

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL EM RATOS SUPLEMENTADOS DE FORMA
CRÔNICA COM ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências
Biológicas para a obtenção do título de
Bacharel na Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof^o. Dr. Ricardo Fernandez Perez

Curitiba 2008

AGRADECIMENTOS

Gostaria de usar o espaço aqui reservado para dedicatórias e agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma tomaram parte desse longo processo que chamamos de vida acadêmica, mas não devemos nos esquecer das batalhas foram vencidas para que este momento fosse possível.

Agradeço aos meus pais e irmã pela esperança e fé investida em mim, aos amigos pela companhia nos passos da longa caminhada, principalmente aqueles que permaneceram ao meu lado nas horas mais difíceis.

Aos professores, principalmente aquele que se tornou meu orientador, agradeço a dedicação em ensinar e demonstrar as belezas dos mais diversos conhecimentos.

O ser humano não é perfeito e, portanto está sujeito a falhas principalmente em momentos como esse, então gostaria também de agradecer a todos que de alguma forma tomaram parte destes momentos, mas que por falha da memória não foram citados nas linhas acima, sintam-se todos igualmente agradecidos.

“A mente que se abre a uma nova
idéia jamais voltará ao seu tamanho
original.”

ALBERT AINSTEN

RESUMO

O objetivo principal deste projeto foi avaliar se a suplementação crônica com ácidos graxos ômega-3 (ω -3) (óleo de peixe) pode modificar a função renal de ratos Wistar saudáveis. Foram utilizados ratos Wistar machos divididos em 3 grupos: i. controle (C) (n=9), e suplementados por 70 dias com 1g/kg peso corporal: ii. de óleo de peixe (PUFa n-3) (OP) (n=8), iii. gordura de coco (OC) (n=9). Durante o experimento os animais foram pesados a cada 2 dias para monitoramento de ganho de peso, ao atingirem 90 dias de idade, foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais por 3 dias afim de monitorar: ingestão de água e diurese. No último dia foram realizados clearances de creatinina, lítio e coleta de sangue e urina para determinação da concentração de proteínas totais, uréia, Na^+ , K^+ e osmolaridade.

Não foram observadas alterações nos parâmetros: ganho de peso corporal que foi equivalente nos três grupos, independentemente da suplementação: $334,6 \pm 9,1\text{g}$ em C, $330,5 \pm 19,27\text{g}$ em OP, e $339,8 \pm 14,3\text{g}$ em OC. O peso do rim direito também semelhante: $1,169 \pm 0,054\text{g}$ em C, $1,194 \pm 0,053\text{g}$ em OP, e $1,120 \pm 0,046\text{g}$ em OC, e também não houve alterações na ingestão diária de água. As concentrações plasmáticas de proteínas totais foram semelhantes: C = $6,32 \pm 0,53\text{g/dL}$, OP = $5,76 \pm 0,28\text{g/dL}$ e GC = $6,23 \pm 0,41\text{g/dL}$, assim como sua excreção urinária diária: C = $0,339 \pm 0,08\text{mg/dia}$, OP = $0,252 \pm 0,06\text{mg/dia}$ e GC = $0,282 \pm 0,098\text{mg/dia}$. A Filtração Glomerular também não apresentou alterações, mantendo-se em: $1,81 \pm 0,32\text{mL/min/kg}$ em C, $1,64 \pm 0,27\text{mL/min/kg}$ em OP e $2,45 \pm 0,61\text{mL/min/kg}$ em GC. Da mesma forma, a concentração de uréia no plasma se manteve inalterada: C = $38,93 \pm 1,70\text{mg/dL}$, OP = $40,58 \pm 3,94\text{mg/dL}$ e GC = $37,41 \pm 1,13\text{mg/dL}$. A osmolaridade plasmática e urinária não se alterou entre os grupos estudados. Apesar disto os animais suplementados com óleo de peixe apresentaram uma redução do *Clearance* de água livre, porém esta não demonstrou diferença significativa: $-0,0282 \pm 0,0064\text{ml/min}$ em OP, $-0,0164 \pm 0,003\text{ml/min}$ em C, e $-0,0273 \pm 0,0062\text{ml/min}$ em OC. A suplementação com óleo de peixe também reduziu a fração de excreção de Na^+ (FE_{Na^+}), C: $0,722 \pm 0,173\%$, OP: $0,579 \pm 0,140\%$, e OC: $0,370 \pm 0,084\%$ ($p > 0,05$); e a fração de excreção de K^+ (FE_{K^+}), C: $22,056 \pm 5,816\%$, OP: $12,240 \pm 3,521\%$, e OC: $9,598 \pm 3,227\%$, mas não apontaram diferenças significativas.

Em resumo, os resultados apresentados sugerem que a suplementação crônica com PUFa n-3 (óleo de peixe) interfere em alguns parâmetros da função renal.

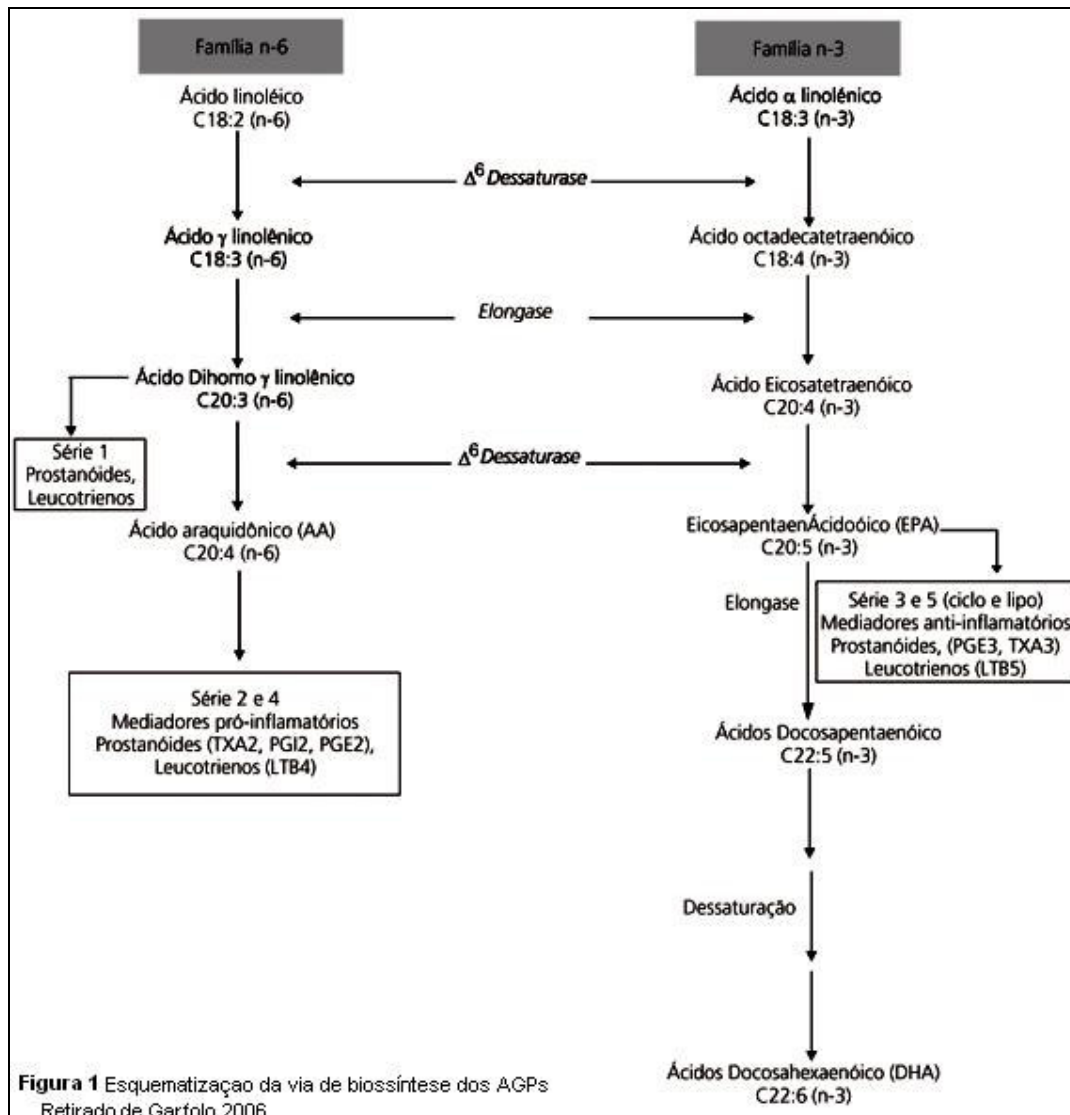
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS.....	6
METODOLOGIA	7
RESULTADOS	11
DISCUSSÃO	17
CONCLUSÕES.....	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

INTRODUÇÃO

A base da dieta humana há algumas centenas de anos atrás era constituída basicamente frutas, verduras e sementes, ricas em óleos vegetais e ácidos graxos poliinsaturados (AGPs), nesse período havia um equilíbrio entre a ingestão de ácidos graxos poliinsaturados das famílias n-6 e n-3, os chamados Ômega-6 (ω -6) e Ômega-3 (ω -3). Mantendo-se um equilíbrio na ingestão destes AGPs de aproximadamente 1:1 ou 2:1 (WILLET & STAMPFER, 2003), nossos ancestrais mantinham um padrão de dieta considerada saudável, e que aparentemente combatia doenças crônicas como: diabetes, hipertensão arterial, aterosclerose, obesidade e câncer. A incidência dessas doenças vem aumentando consideravelmente nas últimas décadas, e esse fato pode estar ligado à alimentação da população, que graças há uma mudança nos padrões de consumo agora as proporções entre AGPs da família Omega-6 e Omega-3, chega a uma proporção de 17:1 em países ocidentais, entretanto esta proporção ainda se mantém em 4:1 em países orientais devido ao alto consumo de pescados (FELÍCIO, 2005). Os peixes e animais marinhos são ótimas fontes de AGPs, principalmente o ω -3 e talvez estes sejam os responsáveis pela baixa incidência de doenças cardíacas em esquimós e japoneses (VISENTAINER et al., 2000). Em adição a dieta também ocorreu alterações no hábito de vida das pessoas, por exemplo: aumento do sedentarismo, e a exposição crônica a substâncias nocivas (tabaco, poluentes, etc.). Estes fatores interagem com processos bioquímicos, que são controlados geneticamente, levando a formação das doenças crônicas (LEONARD, 2002).

Os ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 são metabolizados formando ácidos graxos de cadeia longa como: o Ácido Eicosapentaenóico (EPA 20:5 n-3), Docosaexaenóico (DHA, 22:6 n-3) ou Ácido Araquidônico (AA) dependendo de sua família (ARONSON, 2001) (ver Figura 1). Os AGPs n-6, uma vez convertidos em AA, resultam na formação de prostaglandinas e tromboxanas da série 2 (PG_2 e TB_2) e leucotrienos da série 4 (LT_4) (CAPONE et al., 1997; JIANG et al., 1998). Estes eicosanóides desempenham papéis importantes na regulação da inflamação, imunidade, migração celular e agregação plaquetária bem como na pressão arterial. As ações pró-inflamatórias incluem: febre, eritema, aumento da permeabilidade vascular e vasodilatação, causando dor e favorecendo o edema, formação de trombos e ateroma e aumento da proliferação celular (CALDER, 1997b; SIMOPOULOS, 1999a). O ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido

docosaenoico (DHA) metabolizados dos AGPs n-3, levam à síntese de prostaglandinas e tromboxanas da série 3 (PG₃ e TB₃) e leucotrienos da série 5 (LT₅), os quais apresentam efeitos biológicos com menor potência quando comparados aos dos eicosanóides sintetizados a partir dos AGPs n-6 (CAPONE et al., 1997; CALDER, 1997a). Os ω-3 são competidores do Ácido Araquidônico para cascata de reação inflamatória, e com a abundância de AGPs ω-3 a conversão do Ácido Araquidônico em Prostaglandinas (PGs) e Tromboxanas (TX) de série 2 e Leucotrienos (LTs) da série 4, diminuem e aumentam a produção PGs e TXs da série 3, e dos LTs de série 5, que provocam uma reação antiinflamatória mais branda (GARÓFOLO & PETRILLI, 2006), modulando a resposta antiinflamatória e antitrombótica já que os subprodutos também promovem uma menor força de agregação plaquetária. As maiores quedas são registradas se encontram entre as PGI₃ renal. (SIMOPOULUS, 2002; KASISKE et al., 1989).



Alimentos como óleos de soja e outros óleos vegetais que substituíram o uso de gordura animal, são ricos em Ácido Linoléico (ω -6), alguns óleos até possuem Ácido Linolênico (ω -3), mas em proporções bem menores. Peixes marinhos são boas fontes de ômega-3, pois são ricos em Ácido Eicosapentaenóico e Ácido Docosaexaenóico (VISENTAINER et al., 2000; HIRAYAMA et al., 2006). A tabela 1 demonstra uma porcentagem destes ácidos em diversas espécies de peixes marinhos.

Tabela 1. Valores da composição em porcentagem de Ácidos Graxos: Docosaexaenóico - DHA e Ácido Eicosapentaenóico - EPA das diferentes espécies de peixes marinhos da costa brasileira. Adaptado de VISENTAINER 2000.

PEIXES	DHA \pm DP (%)	EPA \pm DP (%)
Atum	16,25 \pm 0,55	9,48 \pm 0,18
Bonito	16,50 \pm 0,19	14,00 \pm 0,11
Olho de Boi	10,37 \pm 0,09	2,90 \pm 0,11
Cavalinha	12,71 \pm 0,30	4,81 \pm 0,21
Sardinha	13,77 \pm 0,19	18,68 \pm 0,21
Serra	15,39 \pm 0,19	4,99 \pm 0,10

Devido ao aumento no consumo de ácidos graxos n-6 na dieta ocidental, os eicosanóides produzidos a partir do AA, são formados em maior quantidade do que os eicosanóides formados a partir dos AGPs n-3, principalmente o EPA (NIXON, 1996; SLATERRY, 1997; CAPONE et al., 1997; JIANG et al., 1998; SIMOPOULOS 1999a; ROSE & CONOLLY, 1999; ARONSON, 2001). Portanto, com uma dieta rica em AGPs n-6 contribui para a formação de um estado fisiopatológico prótrombótico e próagregador, com aumento na viscosidade sangüínea, vasoespasmos, vasoconstrição (SIMOPOULOS, 1999b), além da possibilidade de promover certos tipos de câncer (KROMHOUT, 1990; JIANG et al., 1998). Em contraste, como já demonstrado em alguns estudos os AGPs ω -3 tem a capacidade de combater e até prevenir diversas doenças crônico-degenerativas (SIMOPOULOS, 1999b), AGPs n-3 parecem até mesmo poder evitar o câncer por influenciarem na atividade de enzimas e proteínas relacionadas à sinalização intracelular e proliferação celular (CALDER, 2001) e conseguem diminuir e estabilizar a perda de peso em pacientes com câncer de pâncreas, por exemplo. (BOUDREAU et al., 1991; TASHIRO et al., 1998; BARBER, 1999) Dados recentes de estudos realizados por grupos de pesquisadores demonstraram que o óleo de peixe é capaz de diminuir a taxa de crescimento tumoral, o grau de caquexia em indivíduos com câncer, alterar a resposta

imunitária, melhorar a função renal e o balanço hidro-eletrolítico em animais caquéticos, além de provavelmente estar relacionado com a prevenção de doenças cardíacas. (TOGNI et al., 2003; PINTO et al., 2004; FERNANDEZ et al., 2004; SAUER et al., 2000)

Os AGPs também podem ser utilizados no combate a formação de trombos no organismo, trombos são massas de células sanguíneas que se solidificam dentro dos vasos obstruindo-os, muitas vezes podem se desprender e causar tromboembolia, principal patologia causadora de infartos e isquemias. Foi comprovado que pacientes dependentes da hemodiálise sofrem um grande risco de formação de trombos em curto prazo, menos de um ano, porém o tratamento com Óleo de Peixe, que é rico em ômega-3 já demonstrou resultados positivos no combate a esse fator (ITO et al, 1988), bem como outras doenças de caráter renal.

Acredita-se que esses efeitos estejam ligados a abundancia de AGPs ω -3 no organismo, pois estas moléculas tendem a tornar parte da membrana plasmática mesmo em casos de uma suplementação em curto prazo, tornando-se assim concorrentes do Ácido Araquidônico nas cascatas dos processos inflamatórios. (KASISKE et al., 1989).

Ácidos graxos ômega-3 e o Rim

No caso do rim, o sistema enzimático da cicloxigenase é a via mais importante de metabolização do AA. O principal papel fisiológico dos produtos derivados do metabolismo do AA no rim é a modulação da ação dos hormônios, particularmente em relação à ação destas substâncias no tônus vascular, na função glomerular e no manejo tubular de água e eletrólitos (MATTIX & BADR, 2001).

A inibição das vias metabólicas do AA na ausência de hormônios tais como Angiotensina II ou Anti Diurético (ADH), tem pouco efeito na função renal (ZIPSER, 1985; MUNGER & BAYLIS, 1988). Os produtos derivados da ação da ciclooxygenase no AA estão relacionados com mudanças observadas na função renal em várias patologias tais como: dano glomerular, várias formas de insuficiência renal tanto para agudas quanto crônicas, nefrotoxicidade por ciclosporina, síndrome hepatorenal, nefropatia diabética, IgA nefropática e hipertensão essencial (MATTIX & BADR, 2001). Pessoas transplantadas comumente necessitam de imunossupressores, entre estas drogas está a ciclosporina que entre outros fatores pode vir a causar danos renais que variam entre uma reversível diminuição da filtração glomerular até a insuficiência renal crônica. Outra patologia com

mecanismo semelhante é a síndrome hepatorenal que ocorre quando há danos ou perda das funções hepáticas, isso gera uma alteração no fluxo sanguíneo renal e pode provocar queda na filtração glomerular e produção urinária. A nefropatia por IgA ou doença de Berger pode afetar qualquer faixa etária e causando entre outros problemas excreção urinária de eritrócitos, raramente causando danos renais, os danos renais são causados por excesso de IgA que se deposita nos glomérulos, causando proteinúria elevada e podendo evoluir para quadros de insuficiência renal crônica. Uma dieta rica em AGPs n-3 determina uma competição destes substratos com as vias metabólicas do AA, resultando na formação de produtos finais biologicamente menos ativos ou pouco potentes (ERMAN & NASJLETTI, 1984). Conseqüentemente, a suplementação com AGPs tem sido utilizada para alterar a evolução das patologias renais nas quais os derivados do AA estão envolvidos. Na maioria destas patologias a evolução da doença foi significativamente reduzida pela utilização de suplementos dietéticos ricos em óleo de peixe (DONADIO, 2001; NEUMAYER et al., 1992; CLARCK, 1991; VASKONEN et al., 1996; BAYORH et al., 1996; BADALAMENTI et al., 1995; INGRAN et al, 1995; TORRAS et al., 1996, BROWN et al., 2000).

Um estudo recente feito por LeBLANC em 2008, utilizando cachorros saudáveis e suplementados com óleo de peixe, demonstrou uma redução significativa nas concentrações séricas de PGE2 e nas atividades de IL-1 e IL-6, logo após terem seus sistemas imunes desafiados por invasão bacteriana. Isto suporta a idéia da utilização de dietas enriquecidas em EPA e DHA no tratamento de patologias inflamatórias.

Apesar dos claros benefícios que os AGPs ω -3 trazem a pessoas com algumas patologias, seus efeitos em relação às funções renais de indivíduos saudáveis têm sido pouco estudados, e os resultados obtidos em seus estudos são contraditórios, podemos tomar por exemplos disso os trabalhos feitos por dois grupos de pesquisadores: DUSING et al. 1990 e Valente Gamba et al., 2001.

O grupo de DUSING investigou o efeito das prostaglandinas na função e metabolismo renal, através da suplementação durante seis semanas com 6g/dia de AGPs ω -3 (3,6g de EPA e 2,4g de DHA), em 10 voluntários saudáveis com idade entre 21 e 35 anos. Estes indivíduos apresentaram incremento significativo no fluxo plasmático renal, e diminuição na resistência vascular renal. Estas mudanças determinaram incremento

significativo na filtração glomerular, que passou de 97 ± 3 ml/min antes da suplementação para 107 ± 3 ml/min após esta.

No estudo feito por Valente Gamba e seu grupo no ano de 2001, onde foi utilizada uma suplementação com lipídeos que correspondiam a 5% do valor calórico da dieta de ratos até completarem 18 meses de vida, demonstrou-se que suplementação com óleo de peixe é prejudicial aos rins, podendo acelerar o progressivo declínio das funções renais provenientes do envelhecimento, nos grupos suplementados com lipídeos houve um aumento na proteinúria no oitavo mês enquanto no grupo controle este aumento ocorreu por volta do décimo mês de vida. A filtração glomerular também apresentou quedas significativas a partir do nono mês, enquanto no grupo controle só houve um declínio da função por volta do décimo oitavo mês de vida. Uma deterioração da função renal, proteinúria e queda da filtração glomerular, também foram reportadas por LOGAN *et al.* 1992, que após uma suplementação de óleo de peixe mantida por 6 meses em ratos saudáveis testes constataram uma deterioração nas funções renais, sendo estas atribuídas ao aumento da oxidação dos lipídeos Ômega-3 presentes em maior quantidade nas membranas plasmáticas dos grupos suplementados. Estes estudos não apresentaram mais informações sobre o manejo tubular de íons ou o mecanismo de concentração e diluição dos indivíduos suplementados.

OBJETIVOS

Este projeto teve por principal objetivo a avaliação de possíveis modificações nas funções renais em ratos Wistar saudáveis, submetidos a uma suplementação crônica com ácidos graxos ômega-3 (ω -3) (óleo de peixe) e ácidos graxos ômega-6 (ω -6). Focando principalmente nas funções glomerulares e tubulares e o mecanismo de osmorregulação urinária, dos mesmos.

METODOLOGIA

Foram utilizados 26 ratos Wistar machos fornecidos pelo biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro controlado sendo dividido igualmente entre dia e noite (12/12horas), em ambiente com temperatura controlada de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, recebendo ração comercial (composta em macronutrientes de 63,4% de carboidratos, 25,6% de proteínas e 11% de lipídeos, da NUVILAB CR1[®], Nuvital Nutrientes Ltda) e água à vontade. Ao completarem 21 dias de vida os animais foram separados aleatoriamente em três grupos: Controle (C) (n=9), Óleo de Peixe (OP) (n=8), Gordura de Coco (GC) (n=9).

O grupo Controle foi mantido apenas com as rações normais, sem adições alimentares, já os grupos Óleo de Peixe (rico em AGPs ω -3) e Gordura de Coco (rico em AGPs ω -6) receberam suplementação diária seis dias por semana, na porção de 1g/kg de peso corporal, que foi administrada com micropipetas por via oral.

O óleo de peixe é um preparado farmacêutico comercializado em cápsulas de 1g de MaxEPA, contendo 180mg de EPA (Ácido Eicosapentaenóico) e 120mg de DHA (Ácido Docosaexaenóico) (Herbarium Ltda.), já a gordura de coco foi obtida em uma loja de produtos naturais especializada em derivados do coco. Os animais foram pesados a cada dois dias durante toda a fase de experimentação para dados sobre o ganho de peso entre os grupos.

A suplementação durou desde o desmame do animal, por volta dos 21 dias de vida até próxima a sua idade adulta aos 90 dias, totalizando cerca de 70 dias de suplementação.

Ao atingirem a fase adulta os animais foram mantidos por três dias em gaiolas metabólicas individuais a fim de estimar a ingestão de comida e água, volume urinário e coleta de urina, esta sendo feita apenas no ultimo dia.

Todos os animais receberam 1 ml de Cloreto de Lítio a 60 mM/100g peso corporal para que posteriormente fosse estimado o *Clearance* de Lítio (C_{Li}), esta medida pode ser

utilizada como marcador da reabsorção de Na^+ pelo túbulo proximal em animais submetidos a uma dieta com valores normais de ingestão de sódio e potássio. (THOMSEN & SHIRLEY, 1997). Os canais de sódio apresentam permeabilidade tanto para os íons de Na^+ quanto para os de Li^+ , sendo este o principal mecanismo da reabsorção dos mesmos nos túbulos proximais. Mesmo ambos possuindo o mesmo mecanismo de reabsorção, possuem diferentes vias de excreção no organismo, sendo as bombas Na^+/K^+ -ATPase para o Sódio e trocadores Na/H^+ para o Lítio (THOMSEN & SHIRLEY, 2006). Um estudo realizado por THOMSEN et al. em 1993, onde foi feito tanto *Clearance* quanto micropunção em animais mantidos sob dietas normais de Na^+ e K^+ demonstraram que o *Clearance* de Lítio é um eficiente marcador para a reabsorção de sódio nos túbulos proximais.

O *Clearance* de Lítio foi determinado utilizando a seguinte fórmula:

$$C_{\text{Li}} = (U_{\text{Li}} \times V_u / P_{\text{Li}}) \times M_a$$

Onde:

U_{Li} = Concentração Urinária de Lítio (mEq/l);

V_u = Volume Urinário (ml/min);

P_{Li} = Concentração Plasmática lítio (mEq/l);

M_a = peso do animal (kg).

Desta forma o *Clearance* de Lítio pode fornecer alguns dados quanto ao aporte de Na^+ nos rins, calculando-se a Reabsorção Proximal Fracional de Sódio (RPF_{Na^+}) utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{RPF}_{\text{Na}^+} = [\text{CF}_{\text{Na}} - (C_{\text{Li}} \times P_{\text{Na}})] / \text{CF}_{\text{Na}} \times 100 \quad (\%)$$

Onde:

CF_{Na} = carga filtrada de sódio;

C_{Li} = *Clearance* de lítio;

P_{Na} = concentração plasmática de Na^+ .

A coleta de sangue foi feita através de punção cardíaca com animais anestesiados por pentobarbital sódico, o volume sanguíneo extraído variou entre 5 a 8 ml dependendo do animal. Para evitar a coagulação foi utilizado um pequeno volume de

solução de heparina 5.000ui diluída em PBS. O sangue retirado foi então centrifugado e o plasma obtido foi transferido e armazenado em eppendorf e armazenadas em freezer para dosagens posteriores. As ortotanasias foram realizadas por doses letais de pentobarbital sódico, ocorrendo logo após a coleta de sangue dos animais. Com o animal morto o rim direito foi removido e pesado em balança de precisão (Bioprecisa, FA2104N).

As determinações da concentração de creatinina foram feitas por colorimetria utilizando Ácido Pírico, método de Jaffe modificado (HENRY et al., 1974), as proteínas totais pelo método de Biureto (HENRY et al., 1974), e Uréia pelo método enzimático-colorimétrico de Urease (BERGMEYER, 1985). Em todos os casos foram utilizados Kits comerciais (Labtest), e a leitura realizada em espectrofotômetro (*Ultraspec 2.000, Pharmacia Biotech, Germany*).

Os valores de creatinina urinária e plasmática foram utilizados para calcular o *Clearance* de Creatinina (C_{cr}) o qual fornece um valor equivalente a velocidade de filtração glomerular (VFG). A fórmula utilizada foi:

$$C_{cr} = (U_{cr} \times V_u / P_{cr}) \times M_a$$

Onde:

U_{cr} = concentração urinária creatinina (mg/dl);

V_u = volume urinário (ml/min);

P_{cr} = concentração plasmática de creatinina (mg/dl);

M_a = peso do animal (kg).

Uma vez que a velocidade de filtração glomerular pode ser alterada em função do tamanho do animal, decidimos normalizar os resultados expressando os mesmos em ml/min/kg de peso corporal. Para essa padronização os valores de *Clearance* foram multiplicado pelo peso do animal em Quilogramas.

As concentrações plasmáticas e urinárias de sódio, potássio e lítio foram determinadas por fotometria de chama (CELM FC180), e a osmolaridade pelo método de pressão de vapor (MicroOsmômetro – Vapro5520[®] – Vapor Pressure Osmometer, WESCOR-USA). Com as concentrações plasmáticas e urinárias de Sódio e Potássio foram determinadas as Frações de Excreção de Na^+ e K^+ (FE_{Na^+} e FE_{K^+}), estes

parâmetros servem para avaliar o manuseio renal de íons, o cálculo utiliza as seguintes formulas:

$$FE_{ion} = U_{ion} \times V_u / P_{ion} \times Ccr \quad (\%)$$

Onde:

U_{ion} = Concentração Urinária de Na^+ , K^+ , Li^+ (mEq/l);

Ccr = Clearance de Creatinina (ml/min);

P_{ion} = Concentração Plasmática de Na^+ , K^+ , Li^+ (mEq/l);

V_u = volume urinário (ml/min).

Os valores das osmolaridades foram utilizados para determinar o *Clearance* Osmolar (C_{osm}) e o *Clearance* de água livre (C_{H_2O}), de acordo as seguintes fórmulas:

$$C_{osm} = (U_{osm} \times V_u / P_{osm}) \times M_a$$

$$C_{H_2O} = C_{osm} - V_u$$

Onde:

U_{osm} = Osmolaridade da Urina (mOsm/l);

V_u = Volume Urinário (ml/min);

P_{osm} = Osmolaridade Plasmática (mOsm/l);

M_a = peso do animal (kg).

Análise Estatística

Os resultados são reportados como valores médios com seu erro padrão. Foi utilizado o teste *t* de *student* para comparar dois grupos, e quando se compararam mais de dois grupos foi utilizado a Análise de Variância de uma via seguida do teste de *Student-Newman-Keulls*. O critério de significância estatística se obtém com valores de $p < 0.05$.

RESULTADOS

O peso dos animais ao longo do experimento foi monitorado e os resultados são apresentados na tabela 2. O peso dos animais aos 21 dias de vida foi considerado o peso inicial, pois foi quando se iniciou a suplementação. O peso dos animais aos 90 dias de vida é considerado o peso final, quando eles são considerados adultos.

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos estudados. O ganho de peso nos grupos suplementados foi semelhante ao observado no grupo controle. Da mesma forma, o peso renal também não apresentou alterações devido às suplementações. Amostras do tecido renal foram guardadas para teste de HPLC, para determinação dos tipos de ácidos graxos presentes entre os lipídeos totais do tecido renal, porém não foi possível sua realização antes da finalização deste trabalho.

TABELA 2. Medida dos Pesos Iniciais e Finais dos animais e do peso do Rim direito, para os seguintes grupos: Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem à média \pm EP.

Peso dos animais e do rim direito			
Grupos	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Peso Rim (g)
C	50,9 \pm 1,148	334,6 \pm 9,115	1,169 \pm 0,054
OP	53,5 \pm 1,615	330,5 \pm 19,27	1,194 \pm 0,053
GC	51,4 \pm 1,804	339,8 \pm 14,34	1,120 \pm 0,046

O fluxo urinário que demonstra o volume de urina produzida por minuto apresentou uma queda significativa no grupo suplementado com óleo de peixe se comparado com o grupo controle: C = 0,018 \pm 0,002mL/min, OP = 0,011 \pm 0,001mL/min ($p < 0.05$) e GC 0,014 \pm 0,002mL/min (Figura 2).

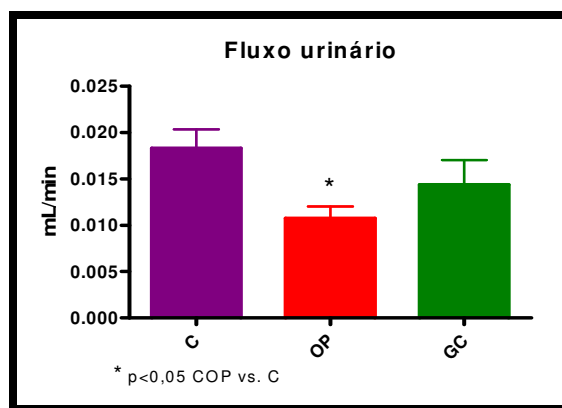


FIGURA 2. Volume de Fluxo Urinário, expresso em mL/min. Grupos Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem à média \pm EP. O * indica uma diferença significativa entre os valores do grupo OP em relação ao C.

As proteínas totais plasmáticas apresentaram seguintes valores como: C = $6,32 \pm 0,53$ g/dL, OP = $5,76 \pm 0,28$ g/dL e GC = $6,23 \pm 0,41$ g/dL, não demonstrando diferença entre os grupos (Figura 3). A taxa de proteína excretada ao longo do dia foi: C = $0,339 \pm 0,08$ mg/dia, OP = $0,252 \pm 0,06$ mg/dia e GC = $0,282 \pm 0,098$ mg/dia, que também não apresentou alteração (Figura 4). A grande diferença nas médias das concentrações entre proteínas plasmáticas e a excretada ocorre, pois as proteínas não passam pelos capilares, ou seja, chegam a fazer parte do filtrado glomerular em condições normais, e, portanto essa baixa quantidade de proteínas excretadas.

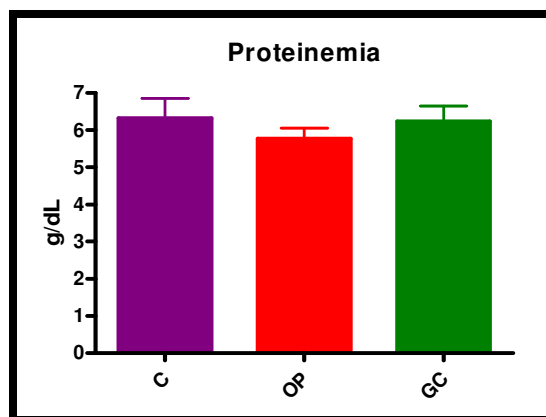


FIGURA 3. Concentração total das Proteínas Plasmáticas, expressa em g/dL. Grupos: Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem às Médias \pm EP.

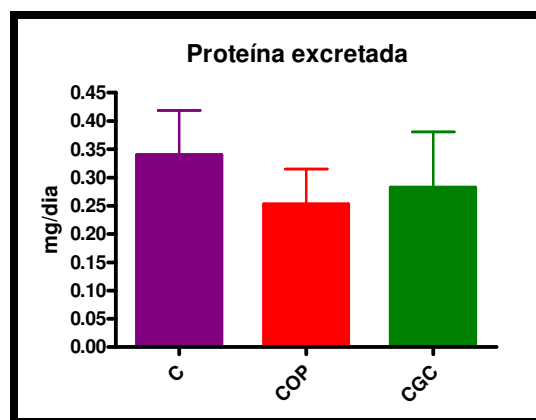


FIGURA 4. Quantidade total de Proteínas Excretadas, expressa em mg/dia. Grupos: Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem às Médias \pm EP.

As concentrações plasmáticas de creatinina não apresentaram nenhuma diferença significativa, sendo os valores: C = $1,38 \pm 0,32$ mg/dL, OP = $1,11 \pm 0,28$ mg/dL e GC = $1,15 \pm 0,41$ mg/dL. Estes valores sugerem que a filtração glomerular não foi prejudicada, esta idéia pode ser apoiada pelos valores normais no cálculo de *Clearance* de Creatinina, que serve para avaliar o processo de filtração glomerular. A Filtração Glomerular também não apresentou nenhuma diferença significativa entre os grupos: C = $1,81 \pm 0,32$ mL/min/kg, OP = $1,64 \pm 0,27$ mL/min/kg, GC = $2,45 \pm 0,61$ mL/min/kg (Figura 5).

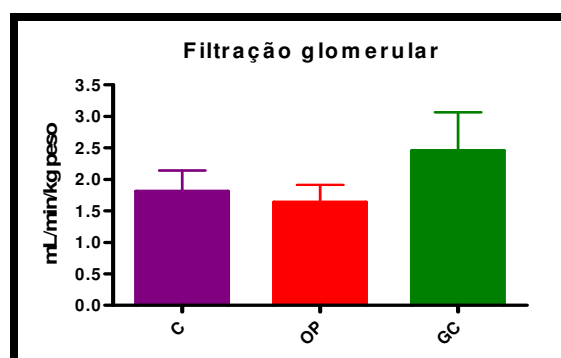


FIGURA 5. Filtração Glomerular expressa em mL/min/Kg peso Grupos: Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem às Médias \pm EP.

Outro fator que pode servir como um indicador indireto das funções renais é a uréia plasmática, um aumento em sua concentração pode indicar comprometimento das funções renais ou até mesmo lesões renais. As medidas de uréia plasmática foram: C = $38,93 \pm 1,70$ mg/dL, OP = $40,58 \pm 3,94$ mg/dL e GC = $37,41 \pm 1,13$ mg/dL (Figura 6). Os valores não apresentaram variações entre os grupos.

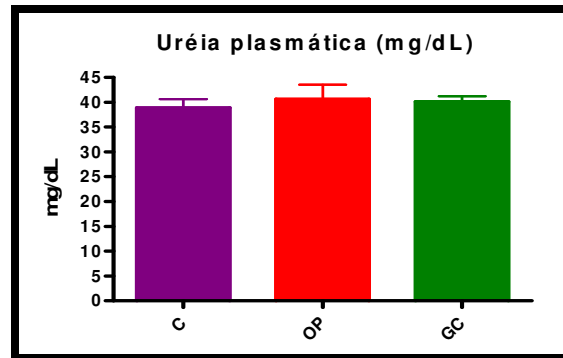


FIGURA 6. Concentração Plasmática de Uréia expressa em mg/dL. Grupos: Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem às Médias \pm EP.

As concentrações plasmáticas dos íons sódio e potássio não apresentaram nenhuma alteração significativa. Os valores encontrados para Na^+ foram: C = $152,2 \pm 5,1$ mEq/L, OP = $142,3 \pm 2,4$ mEq/L e GC = $146,9 \pm 2,1$ mEq/L (Figura 7); e as de K^+ foram: C = $3,55 \pm 0,20$ mEq/L, OP = $4,13 \pm 0,35$ mEq/L e GC = $4,01 \pm 0,19$ mEq/L (Figura 8).

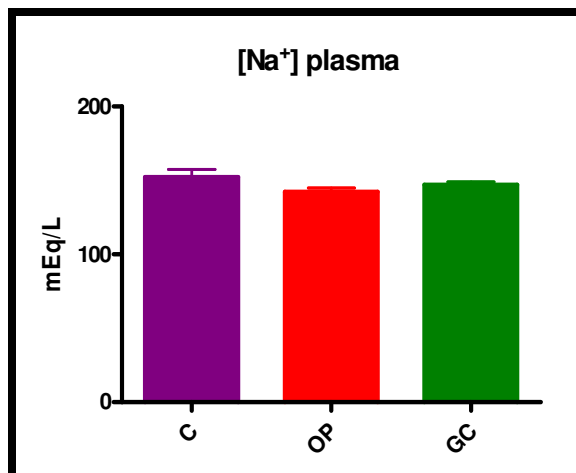


FIGURA 7. Concentração plasmática de Na^+ , expresso em mEq/L. Grupos: Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Valores correspondentes às Médias \pm EP.

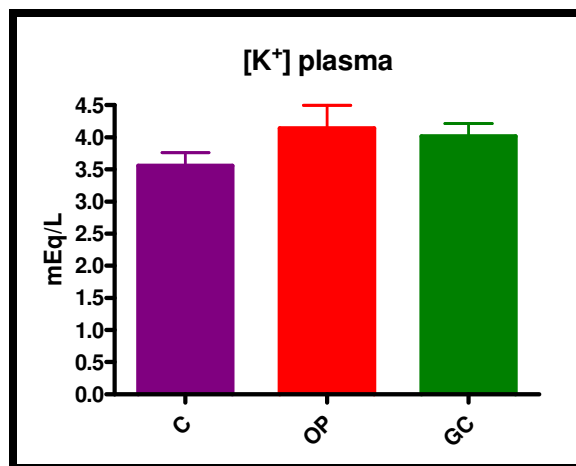


FIGURA 8. Concentração plasmática de K^+ , expresso em mEq/L. Grupos: Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem às Médias \pm EP.

Uma forma de avaliar o manejo renal de íons consiste em comparar a excreção urinária com a carga filtrada, calculando o parâmetro conhecido como Fração de Excreção (FE). Os resultados da Fração de Excreção de Na^+ e K^+ são apresentados na tabela 3. As FE de Na^+ e K^+ apresentaram uma queda nos grupos suplementados, tanto

no óleo de peixe quanto no óleo de coco, entretanto não foi observada como diferença estatística.

TABELA 3. Fração de Excreção de Sódio e Potássio (FE_{Na^+} e FE_{K^+}) expressa em porcentagem. Grupos Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem à Média \pm EP.

Fração de Excreção (FE) de Na^+ e K^+ (%)			
Grupos	C	OP	GC
FE Na^+ (%)	0,722 \pm 0,173	0,579 \pm 0,140	0,370 \pm 0,084
FE K^+ (%)	22,056 \pm 5,816	12,240 \pm 3,521	9,598 \pm 3,227

Os resultados obtidos para o *Clearance* de Lítio foram: C = 2,09 \pm 0,28 mL/min/kg, OP = 1,67 \pm 0,102 mL/min/kg e GC = 0,85 \pm 0,14 mL/min/kg (Figura 9), o grupo Gordura de Coco apresentou uma queda significativa. A partir dos valores de *Clearance* de Lítio e as concentrações plasmáticas de Na^+ é possível calcular outros parâmetros tais como a Fração de excreção de Lítio (FE_{Li^+}) e a Reabsorção Proximal Fracional de Na^+ (RPF_{Na^+}), que permitem estimar o manuseio de sódio pelo túbulo proximal. Entretanto, visto o baixo número de amostras em um dos grupos decidimos não apresentar estes dados.

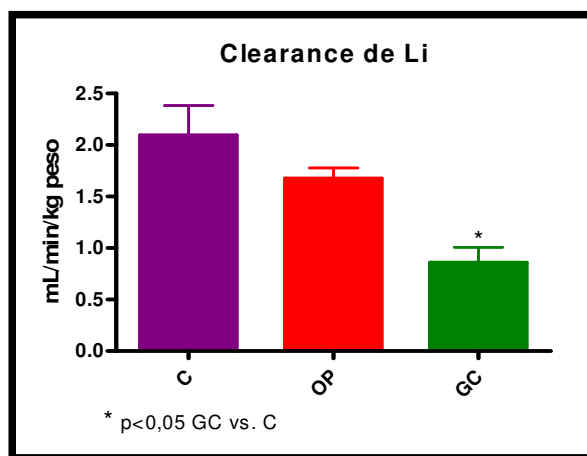


FIGURA 9. *Clearance* de Lítio (C_{Li}) expresso em mL/min/Kg peso. Grupos Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=4). Os valores correspondem à Média \pm EP. * indica uma diferença significativa entre os valores do grupo GC em relação ao C.

Os valores obtidos para as Osmolaridades plasmáticas e urinária, assim como os *Clearance* Osmolar e de Água Livre estão apresentados na Tabela 4. A osmolaridade plasmática demonstrou-se semelhante entre os grupos estudados. Entretanto, os animais suplementados apresentaram uma redução significativa no valor de *Clearance* Osmolar (tabela 4). Finalmente, os valores de *clearance* de H₂O livre não foram significativamente diferentes.

TABELA 4. Valores das Osmolaridades Plasmática e Urinária expressas em mOsm/KgH₂O, *Clearance* Osmolar e de H₂O Livre expressas em mL/min. Grupos Controle (C, n=9), Óleo de Peixe (OP, n=8) e Gordura de Coco (GC, n=9). Os valores correspondem à Média ± EP. **O *** indica os grupos em que foi encontrada diferença significativa.

	Osmolaridade Plasmática (mOsm/kgH₂O)	Osmolaridade Urinária (mOsm/kgH₂O)	<i>Clearance</i> Osmolar (mL/min)	<i>Clearance</i> de H₂O livre (mL/min)
C	290,4 ± 6,5	756,7 ± 113,3	0,0456 ± 0,0070	-0,0282 ± 0,0064
OP	293,0 ± 4,8	744,6 ± 86,2	0,0271 ± 0,0035*	-0,0164 ± 0,0030
GC	299,7 ± 11,1	875,3 ± 198,4	0,0300 ± 0,0019*	-0,0273 ± 0,0062

DISCUSSÃO

A suplementação utilizada foi de 1g/Kg de peso, não apresentando uma significância calórica acentuada para os animais, outros estudos onde foram utilizadas as mesmas doses também não demonstraram variação no peso dos animais devido à suplementação (PINTO et al., 2004; MUND et al., 2007; FERNANDEZ et al., 2004).

A Proteinúria e Concentrações de Uréia e Creatinina Plasmáticas são parâmetros que podem ser utilizados para avaliar o funcionamento renal, uma proteinúria aumentada pode significar danos aos glomérulos, enquanto as concentrações de uréia e creatinina servem como indicadores indiretos de danos renais, sendo considerados indiretos, pois há outros fatores que podem estar envolvidos em seus aumentos de concentração plasmática. Os níveis destes três parâmetros foram semelhantes entre os grupos estudados o que sugere que não houve dano nos tecidos renais e tão pouco distúrbios

metabólicos que pudessem causar alterações nos mesmos. Amostras do tecido renal foram processadas para histologia e serão analisadas no futuro.

Apesar dos resultados serem positivos, alguns estudos reportaram queda na filtração glomerular em animais suplementados com óleo de Peixe (LOGAN *et al.*, 1992; VALENTE GAMBA *et al.*, 2001; KASISKE *et al.*, 1989). No estudo de KASISKE e colegas em 1989, foram extraídos rins dos ratos que receberam suplementação por 4 semanas, os rins foram isolados e perfundidos, no estudo houve uma queda na filtração glomerular nos rins dos ratos suplementados, fato que pode ter ocorrido devido a danos às estruturas renais, sendo que estes foram atribuídos principalmente a lesões isquêmicas. Os danos provenientes de isquemia são basicamente causados devido a atividade de reações de oxidações, portanto poderia estar relacionado com o aumento da concentração de ômega-3 nas membranas plasmáticas renais, mas o artigo não faz menção exata ao fator causador dos danos apenas atribui as lesões como danos isquêmicos.

Os resultados sobre manuseio iônico apesar de ter demonstrado uma queda nos grupos suplementados não foi considerada significativa, talvez pela grande variação entre os valores, que pode ser proveniente de erros nos procedimentos para a obtenção dos dados, ou o número de amostras analisadas. Um dos poucos trabalhos consultados que demonstra dados sobre regulação iônica foi feito por FERNANDEZ e colaboradores no ano de 2004, o estudo demonstrou uma pequena queda na Fração de Excreção de sódio para o grupo suplementado com óleo de peixe, mas esta também não foi significativa. Outro fator afetado foi o *Clearance* de Lítio que é utilizado como indicador da reabsorção de Na^+ e água nas porções do túbulo proximal, mas este apresentou uma diminuição apenas no grupo suplementado com gordura de coco. Apesar do *Clearance* de Lítio ter demonstrando queda nos animais estudados do grupo GC, os valores de Na^+ plasmáticos foram semelhante ao dos outros grupos, indicando que mesmo que estes animais estejam com deficiência na reabsorção de sódio no túbulo proximal de alguma forma o transporte tubular nos segmentos distais do néfron estão compensando, permitindo que a FE_{Na^+} neste grupo seja semelhante ao controle.

O estudo conduzido sobre o *Clearance* de Lítio no grupo gordura de coco contou com apenas 4 animais, uma amostra muito pequena e que impediu a coleta confiável de mais dados sobre o manuseio de sódio, já que estas estariam sujeitas a grandes variações com uma amostra tão pequena.

Mesmo não havendo alterações entre os grupos na questão de manuseio iônico os animais suplementados apresentaram uma redução significativa no valor de *Clearance* Osmolar, que por si só não possui grande valor significativo, servindo principalmente para calcular os valores de *Clearance* de água livre. Valores negativos de *Clearance* de água livre indicam que os animais estão retendo água por reabsorção nos segmentos distais do néfron. Apesar dos testes não terem indicado nenhum resultado significativo há uma perceptível queda no grupo OP o que pode representar uma dificuldade de reabsorção renal de água por parte dos animais desse grupo, uma vez que seu valor de *Clearance* Osmolar é semelhante ao do grupo GC e seu *Clearance* de Água livre foi quase metade do encontrado no grupo GC.

Entre as medidas que se mostraram alteradas está o Fluxo urinário no grupo OP que demonstrou uma queda significativa, mesmo o nível de ingestão de água tendo sido igual para todos os grupos. A diminuição no Fluxo Urinário pode ser proveniente da alteração da cascata do ácido aracdônico causada pelo ômega-3. Tem sido comprovada a sua capacidade de alterar esta cascata e assim diminuir as concentrações de Prostaglandinas de série 2 principalmente na região renal (BOUDREAU et al., 1991; KASISKE, 1989). Talvez esse tenha sido o fator responsável pela queda no fluxo urinário, entretanto esta é apenas uma das hipóteses já que o mecanismo de atuação não foi esclarecido.

CONCLUSÕES

O estudo baseou-se em diversas bibliografias que indicavam melhoras significativas em indivíduos com determinadas patologias de caráter crônico tais como: câncer, doenças auto-imunes e cardíacas, como já foi mencionado anteriormente, porém em indivíduos normais os efeitos da suplementação têm sido pouco estudados.

Durante todo o experimento os animais foram mantidos sob as mesmas condições ambientais e com livre acesso a ração e água, sendo uma suplementação a base de ômega-3 ou ômega-6 a única diferença entre eles, e não foi observada nenhuma complicação na saúde dos animais.

Todos os indivíduos submetidos à suplementação estavam saudáveis e não apresentaram alterações drásticas em nenhum dos quadros estudados, apesar disso há vários estudos que demonstram as grandes alterações que uma suplementação com óleo de peixe pode causar. A maioria dos estudos apresentados baseava-se em quadros com animais portadores de patologias crônicas ou com aumento na atividade da cascata pró-inflamatória, sendo assim pode ser que a suplementação com óleo de peixe não cause tantas modificações em uma cascata inflamatória em seu estado fisiológico normal, e sendo assim não foram detectados pelos testes realizados.

Com base nas bibliografias consultadas e o histórico da espécie humana pode-se presumir que uma dieta rica em Ômega-6 pode ser prejudicial em longo prazo, assim como uma dieta muito rica em ômega-3 pode causar danos aos tecidos renais, porém uma dieta equilibrada entre Ômega-6 e Ômega-3 pode ser benéfica à saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARONSON, W. J. Modulation of omega-3/omega-6 polyunsaturated ratios with dietary fish oil in men with prostate cancer. **Urology**. 2001; 58 (2): 283-288

BERGMEYER, H.U. Methods of enzymatic analysis, Tomo 9, pag. 449-453, **VCH Publishers**, 1985.

BADALAMENTI, S.; SALERNO, F.; LORENZANO, E.; PAONE, G.; COMO, G.; FINAZZI, S.; SACCHETTA, A. C.; RIMOLA, A.; GRAZIANI, G.; GALMARINI, D.; PONTICELLI, C. Renal effects of dietary supplementation with fish oil in cyclosporine-treated liver transplant recipients. **Hepatology**. 1995; 22(6):1695

BARBER M. D. The effects of an enteral supplement enriched with fish oil on weight-loss in patients with pancreatic cancer. **British Journal of Cancer**. 1999b; 81(1): 80-86

BAYORH, M. A.; WILLIAMS, E. F.; OGBOLU, E. C.; WALKER, C. E.; MANOR, E. L.; BROWN, L. G.; CHENAULT, V. M. Effects of MaxEPA on salt-induced hypertension: relationship to [3H]nitrobenzylthioinosine binding sites. **Clinical and Experimental hypertension**. 1996; 18(1): 37-49.

BOUDREAU M. D.; CHANMUGAN P. S.; HART S. B. Lack of dose response by dietary n-3 fatty acids at a constant ratio of n-3 to n-6 fatty acids in suppressing eicosanoid synthesis from arachidonic acid. **American Journal of Clinic Nutrition**. 1991; 54(1): 110-117.

BROWN, S.A.; BROWN, C.A.; CROWELL, W.A.; BARSANTI, J.A.; KANG, C.W.; ALLEN, T.; COWELL, C.; FINCO, D.R. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation in early renal insufficiency in dogs. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**. 2000; 135(3): 275-286.

CALDER P. C. N-3 Polyunsaturated fatty acids and cytokines production in health and disease. **Metabolism**, 1997a; 41(4): 203-234.

CALDER P. C. N-3 Polyunsaturated fatty acids as pharmacologic agents: a fishy tale? **Nutrition**, 1997b; (13): 1002-1004.

CALDER P. C. N-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on trouble waters or another fishy tale? **Nutrition Research**, 2001; 21: 309-341.

CAPONE, S.; BAGGA, D.; GLASPY, J. A. Relationship between omega-3 and omega-6 fatty acids ratio and breast cancer. **Nutrition**, 1997; 13(9): 822-824

CLARK, W. F.; PARBTANI, A.; PHILBRICK, D. J.; HOLUB, B. J.; HUFF, M. W. Chronic effects of omega-3 fatty acids (fish oil) in a rat 5/6 renal ablation model. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, 1991; 1(12): 1343-1353.

DONADIO, J. V. n-3 Fatty acids and their role in nephrologic practice. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**. 2001; 10:639-642.

DUSING, R.; STRUCK, A.; GOBEL, B. O.; WEISER, B.; VETTER, H. Effects of n-3 fatty acids on renal function and renal prostaglandin E metabolism. **Kidney International**, 1990; 38(2): 315-319.

ERMAN, A.; NASJLETTI, A. Enhancement of renal medulla prostaglandin synthetase following dexamethasone treatment in the rat. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 1984; 121: 255.

FELÍCIO, P. E. Dieta ocidental e saúde: alguns erros históricos. **Revista ABCZ**. 2005 Maio/Junho.

FERNANDEZ, R.; PIECHNIK, J.; FABRIS, R.; MALNIC, G.; FERNANDES, L. C. Effect of chronic fish oil supplementation on renal function of normal and cachectic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 2004; 37:1481-1489

GARÓFOLO A. & PETRILLI A. S. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. **Revista Nutrição**. 2006; Setembro/Outubro, Campinas

HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKEKMAN, J. W. **Clinical Chemistry, Principles and Technics**. 2nd. Ed. New York, Harper & Row. 1974.

HIRAYAMA, K. B.; SPERIDIÃO, P. G. L.; NETO, U. F. Ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa. **The Eletronic Journal of Pediatric Gastroenterology, Nutritional and Liver Diseases**, 2006, Setembro.

INGRAM, A. J.; PARBTANI, A.; CLARK, W. F.; SPANNER, E.; HUFF, M. W.; PHILBRICK, D. J. Effects of flaxseed and flax oil diets in a rat 5/6 renal ablation model. **American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation**, 1995, 25(2): 320-329.

ITO, Y; BARCELLI, U; YAMASHITA, W; WEISS, M; GLAS-GREENWALT, P.; POLLAK, V. E. Fish oil has beneficial effects on lipids and renal disease of nephrotic rats. **Metabolism**. 1988 Abril; 37(4): 352-7.

JIANG, W. G.; BRYCE, R. P.; HORROBIN, D. F. Essential fatty acids: molecular and cellular basis of their anti-cancer action and clinical implications. **Oncology Hematology**. 1998, 27: 179-209.

KASISKE, B. L.; O'DONNELL, M. P.; KEANE, W. F. Fish oil diet decreases prostacyclin and increases resistance in isolated rat kidneys. **The American Journal of Physiology**. 1989, Maio; 256(5 Pt 2):F843-51.

KROMHOUT, D. The importance of n-6 and n-3 fatty acids in carcinogenesis. **Medical Oncology Tumor Pharmacother**. 1990, 7(2-3): 173-176.

LeBLANC, D. V. M.; HOROHOV, D. W.; BAUER, J. E.; HOSGOOD, G.; MAULDIN, G. E. Effects of dietary supplementation with fish oil on in vivo production of inflammatory mediators in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research**, 2008, 69 (4) Abril: 486-492.

LEONARD, W. Food for thoughts. **Scientific American**. 2002; dezembro: 74-83.

LOGAN, J. L.; MICHAEL, U. F.; BENSON, B. Dietary fish oil interferes with renal arachidonic acid metabolism in rats: correlations with renal physiology. **Metabolism**, 1992; 41(4): 382-389.

MATTIX, H. J.; BADR, K. F. Arachidonic Acid Metabolites in the Kidney. **In: The Kidney**. Edited by Brenner BM, 2001, Chapter 18.

MUND, R. C.; PIZATO, N.; BONATTO, S.; NUNES, E. A.; VICENZI, T.; TANHOFFER, R.; OLIVEIRA, H. H.; CURI, R.; CALDER, P. C.; FERNANDES, L. C. Decreased tumor growth in Walker 256 tumor-bearing rats chronically supplemented with fish oil involves COX-2 and PGE2 reduction associated with apoptosis and increased peroxidation. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, 2007 Fevereiro; 76(2):113-20.

MUNGER, K. & BAYLIS, C. Sex differences in renal hemodynamics in rats. **The American journal of physiology**, 1988; 254: 223.

NEUMAYER, H. H.; HEINRICH, M.; SCHMISSAS, M.; HALLER, H.; WAGNER, K.; LUFT, F. C. Amelioration of ischemic acute renal failure by dietary fish oil administration in conscious dogs. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, 1992; 3(6): 1312-1320.

NIXON, D. W. Cancer, cancer cachexia and diet: lessons from clinical research. **Nutrition**. 1996; 12(1): 52S-56S.

PINTO-JR, J.; FOLADOR, A.; BONATO, S.; AIKAWA, A.; YAMAZAKI, R.; PIZATO, N.; FACIN, M.; GROHS, H.; OLIVEIRA, H.; NALIWAIKO, K.; FERRAZ, A.; NISHIYAMA, A.; FERNANDEZ, R.; CURI, R. Fish Oil Supplementation In F1 Generation Associated To Naproxen, Clenbuterol And Insulin Administration Reduce Tumor Growth And Cachexia In Walker 256 Tumor-Bearing Rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**. 2004; 15:358.

ROSE, D. P. & CONOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacology and Therapeutics**. 1999; 83: 217-244.

SAUER, L. A.; DAUCHY, R. T.; BLASK, D. E. Mechanism for the antitumor and anticachectic effects of n-3 fatty acids. **Cancer Research**. 2000; 60: 5289-5295.

SIMOPOULOS, A. P. (a) Evolutionary aspects of Ômega-3 fatty acids in the food supply. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. 1999; 60 Maio/Junho, 421-429.

SIMOPOULOS, A. P. (b) Essential fatty acids in health and chronic disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Vol. 70, No. 3, 560-569, Setembro 1999.

SIMOPOULOS, A. P. *Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases*. **Journal of the American College of Nutrition**, 2002; Vol. 21, No. 6, 495-505

SLATERRY, M. Dietary fats and colon cancer: Assessment of risk associated with specific fatty acids. **International Journal of Cancer**. 1997; 73(5): 670-677.

TASHIRO, T.; YAMAMORI, H.; TAKAGI, K.; HAYASHI, N.; FURUKAWA, K.; NAKAJIMA, N. N-3 versus n-6 polyunsaturated fatty acids in critical illness. **Nutrition**. 1998; 14(6): 551-553.

THOMSEN, K.; SHALMI, M.; OLESEN, O. V. Effect of low dietary sodium and potassium on lithium clearance in rats. **Miner Electrolyte Metabolism**, 1993; 19: 91–98

THOMSEN, K. & SHIRLEY, D. G. The validity of lithium clearance as an index of sodium and water delivery from the proximal tubules. **Nephron** 1997; 77: 125–138

THOMSEN, K. & SHIRLEY, D. G. A hypothesis linking sodium and lithium reabsorption in the distal nephron. **Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, 2006; 21: 869–880.

TOGNI, V.; OTA, C.C.C; FOLADOR, A; TCHAIKOVSKI-JR, O.; AIKAWA, J.; YAMAZAKI, R. K.; FREITAS, F. A.; LONGO, R.; MARTINS, E. F.; CALDER, P. C.; CURI, R.; FERNANDES, L. C.; Cancer cachexia and tumor growth reduction in Walker 256 tumor-bearing rats supplemented with n-3 polyunsaturated fatty acids for one generation. **Nutrition and Cancer**. 2003, 46(1):52-58.

TORRAS, J.; SOTO, K.; RIERA, M.; HERRERO, I.; VALLES, J.; CRUZADO, J. M.; ALSINA, J.; GRINYO, J. M. Changes in renal hemodynamics and physiology after normothermic ischemia in animals supplemented with eicosapentaenoic acid. **Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation**. 1996; 9: S455-S459.

VASKONEN, T.; LAAKSO, J.; MERVAALA, E.; SIEVI, E.; KARPPAENEN, H. Interrelationships between salt and fish oil in stroke-prone spontaneously hypertensive rat. **Blood Press**. 1996; 5(3): 178-189.

VALENTE GAMBA, C.; ZERAIB, A. C.; MATSUSHITA, A.; ALVES, G.; DA SILVA, L. N.; NASCIMENTO, G. G., ZALADEK, F. G. Effects of dietary lipids on renal function of aged rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 2001; 34: 265-269.

VISENTAINER, J. V; CARVALHO, P. O.; IKEGAKI, M.; PARK, Y. K.; Concentração de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) em peixes marinhos da costa brasileira. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. 2000; v20 n.1 Abril, Campinas.

WILLET, W.; STAMPFER, M. Rebuilt the food pyramid. **Scientific American**. 2003; Janeiro: 52-59.

ZIPSER, R. D. Effects of selective inhibition of thromboxane inhibition on renal function in humans. **American Journal of Physiology**. 1985; 248: F753.