

AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM ÔMEGA-3 DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL SOB PARÂMETROS CARDIOVASCULARES

EVALUATION OF TREATMENT WITH OMEGA-3 DURING PREGNANCY IN CARDIOVASCULAR PARAMETERS

JOSÉ AUGUSTO POCHAPSKI¹, ANA PAULA PRESTES², VANESSA KOVALSKI², FLÁVIA DE BRITO PEDROSO², JÉSSICA LOPES FONTOURA¹, LEA ROSA CHIOCA³, MARCELO MACHADO FERRO⁴, DANIEL FERNANDES⁵, EDMAR MIYOSHI^{5*}

1. Mestrando em Ciências Biomédicas, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG); 2. Mestrando em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG); 3. Odontóloga, Doutora em Farmacologia pela Universidade Federal do Paraná; 4. Docente do Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Ponta Grossa; 5. Docente do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Ponta Grossa;

* Universidade Estadual de Ponta Grossa, Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Av. Carlos Cavalcanti, 4748, CEP 84030-900, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. edmar@uepg.br

Recebido em 03/03/2015. Aceito para publicação em 15/04/2015

RESUMO

As doenças cardiovasculares (DCVs) são atualmente as principais causas de morte na população mundial. Pesquisas a partir de meados da década de 1970 demonstram a importância da inclusão de ácidos graxos ômega-3 (ω -3) na dieta para prevenção de DCVs. O presente estudo buscou avaliar os efeitos do consumo de ω -3 durante a gestação e possíveis alterações em parâmetros cardiovasculares e metabólicos em suas proles. Para isso, 40 ratas fêmeas foram divididas em 4 grupos experimentais: controle, tratadas com ω -3 nas concentrações de 150, 300 e 600 mg/kg/dia durante todo o período gestacional. Ao completarem 3 meses, 10 filhotes de cada grupo foram aleatoriamente selecionados e submetidos a análise de parâmetros cardiovasculares a partir da aplicação de diferentes doses de fenilefrina, acetilcolina e nitroprussiato de sódio. Os grupos ω -3 (150 e 300 mg/kg/dia) apresentaram maior peso após o nascimento. Sob condições basais, o grupo ω -3 (600 mg/kg/dia) apresentou valores de pressão arterial média e pressão diastólica mais elevados em relação ao controle, apresentando também menor variação da pressão arterial média após aplicação de 30 nmol/kg de fenilefrina. Concluímos que o tratamento com ω -3 durante o período gestacional pode influenciar o peso após o nascimento e a função endotelial dos filhotes, entretanto mais estudos fazem-se necessários para esclarecer o mecanismo.

PALAVRAS-CHAVE: Ômega-3, doenças cardiovasculares, gestação.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases (CVDs) are currently the leading cause of death in the world population. Researches from the 1970s to date demonstrate the importance of diet, especially the protective role of omega-3 (ω -3) in the prevention of CVD. This study aimed to evaluate the effects of ω -3 intake during pregnancy and the possible changes in cardiovascular and metabolic parameters in their offspring. For this purpose 40 female rats were divided into 4 experimental groups: control, treated with ω -3 at concentrations of 150, 300 and 600 mg/kg/day, throughout the gestational period. On completing 3 months, 10 female rats from each group were randomly selected and subjected to analysis of cardiovascular parameters from the application of different dosages of phenylephrine, acetylcholine and sodium nitroprusside. The ω -3 groups (150 and 300 mg/kg/day) showed a higher weight after birth. At basal conditions, ω -3 group (600 mg/kg/day) presented higher mean blood pressure values and higher diastolic pressure significantly compared to control, and also presented a smaller variation in mean blood pressure ($p < 0.05$) after administration of 30 nmol/kg of phenylephrine. We conclude that treatment with ω -3 during pregnancy may influence on pups' weight after birth and endothelial function, but more studies are required in order to clarify the mechanism.

KEYWORDS: Omega-3, cardiovascular diseases, pregnancy.

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças cardiovasculares (DCVs) são a maior causa de mortes em todo o mundo, sendo atribuídas as DCVs um terço (aproximadamente 17 milhões) de todas as mortes

globais. Estas proporcionam um enorme fardo econômico as nações, com um impacto anual em torno 475 bilhões de dólares na economia mundial¹⁻³.

DCVs podem ser definidas como qualquer doença que afete o sistema cardiovascular, tais como doenças cardíacas, doenças vasculares cerebrais e renais e doenças arteriais periféricas⁴⁻⁶. Geralmente, as DCVs se desenvolvem a partir da aterosclerose, porém são relatadas outras mudanças no sistema arterial, como aneurismas, disfunções endoteliais, e diferentes patologias cardíacas como alterações no funcionamento valvular, cardiomiopatias, entre outras. Estas alterações funcionais cardíacas e arteriais frequentemente acompanham mudanças estruturais, as quais ao longo dos anos culminam em desfechos clínicos secundários como infarto, acidente vascular cerebral (AVC) e até mesmo a morte, antes mesmo que o paciente tenha um diagnóstico detalhado de seu quadro⁵⁻⁸.

O desenvolvimento de DCVs está diretamente atrelado a fatores de risco clássicos como tabagismo, sedentarismo, hipertensão, idade, obesidade, histórico familiar de DCVs e a fatores de risco não clássicos como, resistência à insulina, dislipidemia, estresse oxidativo, entre outros, tendo estes fatores de risco relação direta com a ocorrência ou não das DCVs^{2,5,9-13}.

Atualmente políticas intervencionistas de prevenção primária vêm buscando minimizar os efeitos destes fatores de risco, assim podendo ter um enorme potencial mediador para com a incidência de DCVs¹³. Para isso, alterações no estilo de vida, como maiores índices de atividade física e alterações na dieta, podem contribuir significativamente para a redução dos fatores de risco para DCVs e subsequentemente a incidência da mesma^{6,14}.

Inúmeros estudos apontam uma íntima relação entre a dieta e as DCVs, esta podendo potencializar a sua incidência, tal como preveni-la¹⁵. Atualmente a expansão das práticas alimentares típicas ocidentais, ricas em gorduras, carboidratos e sódio, associada a um baixo consumo de peixes, frutas e vegetais vem aumentando os fatores de risco de desenvolvimento das DCVs^{14,16}. Desta forma, dietas pouco balanceadas, contendo elevadas quantidades de gorduras saturadas, sal ou carboidratos, associadas a um baixo consumo de frutas e vegetais, podem contribuir diretamente para o surgimento de DCVs¹⁷.

A partir da década de 1970, inúmeros estudos têm reiteraram a importância da alimentação no combate das DCVs. A partir de dados coletados em populações esquimós na Groelândia, pôde-se concluir que esta possuía baixos índices de incidência de DCVs. Essa característica foi associada à sua alimentação, rica em peixes de águas frias e outros mamíferos marinhos, ricos em ácidos graxos poli-insaturados da família do ômega-3(ω -3), como o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido doco-

sahexaenoico (DHA)¹⁸.

Posteriormente, inúmeros trabalhos vêm demonstrando os benefícios do ômega-3 sobre as funções cardiovasculares¹⁹⁻²⁴. Atualmente, é amplamente recomendado o consumo regular de peixes, sendo que o seu consumo diário (entre 40-60 g) por pacientes com alto risco de desenvolvimento de DCVs pode diminuir em 50% o seu risco de morte por doença cardíaca coronária¹⁷.

O consumo do ω -3 é amplamente recomendado tanto no tratamento primário quanto no tratamento secundário de DCVs^{21,25,26}. Os seus benefícios nestes pacientes envolvem proteção contra aterosclerose^{2,25,27}, AVC^{28,29}, infarto do miocárdio²⁵, morte súbita^{27,30}, insuficiência cardíaca²⁸ e angina²⁹.

Além disso, o consumo de ω -3 pode promover ações positivas na prevenção de disfunções endoteliais^{25,31,32}, obesidade^{20,33}, resistência à insulina²⁸, normalização dos níveis de triglicerídeos^{2,25,28} e controle da homeostase lipídica^{2,31,32}, possui efeito antiarritmico^{3,31}, anti-hipertensivo^{28,30}, antitrombótico^{29,32}, anti-inflamatório^{2,30,32,34} e anti-aterogênico³⁰.

Há também na literatura a indicação de que os efeitos protetores do ω -3 contra DCVs podem se iniciar durante a gestação e estender-se até a idade adulta³⁵. A partir disso, o presente estudo buscou avaliar o efeito do consumo do ω -3 e sob parâmetros cardiovasculares em filhotes cujas mães tiveram dieta suplementada com ω -3 ao longo do período gestacional. Também foram avaliados o ganho de peso das mães durante a gestação, tal como a duração da gestação, quantidade e peso dos filhotes após o nascimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para realização desse estudo, utilizou-se 40 ratos Wistar fêmeas (10 por grupo) e 10 ratos Wistar machos (usados para o acasalamento), com 3 meses de idade, procedentes do biotério central da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), as quais foram mantidas em biotério climatizado ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), com ciclo claro/escuro de 12 horas (ciclo claro inicia às 07h), com comida e água *ad libitum*. Os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEPG (número da aprovação 012/2013).

Para a realização do estudo, estes animais foram tratados com diferentes doses de ω -3 (oriundo de cápsulas de óleo de peixe contendo 36,23% de DHA e 14,49% de EPA, HERBARIUM LABORATÓRIO BOTÂNICO LTDA.) nas doses de 150mg/kg/dia, 300 mg/kg/dia e 600 mg/kg/dia por via gavagem. Os animais do grupo controle foram tratados com ração comercial. O tratamento com o ω -3 foi realizado durante todo o período gestacional. Para que houvesse uma confirmação da prenhez e um melhor controle do período de tratamento, após um período de 12 horas de acasalamento, as fêmeas

foram submetidas a um lavado vaginal com 10 μ L de salina para posterior visualização deste em **microscópio**. Havendo a presença de espermatozoides no lavado vaginal este dia foi considerado como o dia 0 de gestação destas fêmeas, iniciando assim o tratamento com o ω -3. Não havendo a visualização de espermatozoides neste lavado, o procedimento de acasalamento foi repetido até que houvesse a visualização de espermatozoides no lavado vaginal e assim a confirmação da prenhez. Durante todo o período gestacional, os pesos das ratas foram registrados semanalmente para o cálculo da dose a ser administrada e posterior avaliação de possíveis alterações no ganho de peso durante a prenhez. Fêmeas que após um período médio de 20 dias não apresentaram características morfológicas típicas de fêmeas prenhas, como ganho de peso e aumento da circunferência abdominal foram excluídas do estudo.

Após o nascimento, foram coletadas as informações referentes ao número de filhotes por fêmea e o peso destes filhotes recém-nascidos. No decorrer do estudo nenhum tratamento foi realizado com os filhotes após o seu nascimento. Os filhotes foram posteriormente separados das suas mães e entre os gêneros após completarem 19 dias. Para a continuidade deste estudo foram utilizados somente as fêmeas.

Após completarem 3 meses, as fêmeas foram aleatoriamente selecionadas em uma proporção de 10 por grupo para serem submetidas a avaliação de parâmetros cardiovasculares. A análise destes parâmetros consistiu na mensuração basal da pressão arterial média (mmHg), pressão arterial sistólica (mmHg) e pressão arterial diastólica (mmHg) e da frequência cardíaca (batimentos por minuto; b.p.m), e sequentemente a análise da resposta endotelial aos agentes vasodilatadores acetilcolina e nitroprussiato de sódio e do agente vasoconstritor fenilefrina.

Para a análise destes parâmetros inicialmente os animais foram anestesiados e sedados com uma combinação de quetamina (75 mg/Kg) e de xilazina (15 mg/Kg), injetados via intramuscular. Uma vez anestesiados, os animais foram posicionados em decúbito dorsal sobre uma mesa cirúrgica aquecida (temperatura situada em torno dos 35°C). Em seguida, a veia femoral foi localizada e nela ocorreu a inserção de uma agulha acoplada a uma cânula de polietileno (PE 50) e seringa. Esse acesso venoso serviu para administração dos compostos que foram utilizados no estudo. Em seguida, a artéria carótida esquerda foi localizada e, de maneira cuidadosa e rápida, separada do nervo vago e tecidos adjacentes. Foi realizada então, a inserção de um catéter de polietileno (Angiocath[®], número 19), devidamente heparinizado, o qual foi firmemente amarrado na artéria e conectado a um transdutor de pressão acoplado ao PowerLab 8/30 (AD Instruments Pty Ltd., Castle Hill, Austrália). Os valores de pressão arterial média (mmHg),

pressão arterial sistólica (mmHg) e pressão arterial diastólica (mmHg) e da frequência cardíaca (batimentos por minuto) foram registrados por um software de integração (ChartPro7[®]). Após um período de 30 minutos de estabilização, a reatividade vascular foi analisada através da injeção (subsequente) de doses crescentes de fenilefrina (3, 10 e 30 nmol/kg), acetilcolina (1, 3 e 10 nmol/kg) e nitroprussiato de sódio (3, 10 e 30 nmol/kg). Ao final do experimento os animais foram sacrificados por sobredosagem anestésica – quetamina e xilazina.

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m). Os resultados referentes às possíveis alterações nas ratas durante a prenhez (duração e ganho de peso), e a quantidade e peso dos filhotes foram analisados por análise de variância de uma via (ANOVA de uma via) seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey. Já os parâmetros cardiovasculares foram analisados por análise de variância de duas vias (ANOVA de duas vias) seguida pelo teste *post-hoc* de Bonferroni. A probabilidade aceita como indicativo da existência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos foi de $p < 0,05$. Todos os testes foram realizados utilizando o software estatístico GraphPad Prism versão 5.01, San Diego, Califórnia, EUA.

3. RESULTADOS

O tratamento com ω -3 nas concentrações de 150 mg/kg/dia, 300 mg/kg/dia e 600 mg/kg/dia não alteraram a duração da prenhez, em comparação ao grupo Controle, assim como não influenciaram o ganho de peso das ratas durante a prenhez (Figura 1).

O tratamento com o ω -3 150 mg/kg/dia, 300 mg/kg/dia e 600 mg/kg/dia não provocaram diferença no peso após o nascimento dos ratos em comparação com o grupo controle. Porém, os grupos o ω -3 150 mg/kg/dia e ω -3 300 mg/kg/dia apresentaram valores de peso após o nascimento significativamente maiores ($p < 0,05$) em comparação com o grupo ω -3 600 mg/kg/dia em relação ao (Figura 1-C). Em relação à quantidade de filhotes por fêmea, não houve nenhuma diferença significativa entre os grupos analisados (Figura 1-D).

Para a realização das análises dos parâmetros cardiovasculares foram aleatoriamente selecionadas 10 ratas de cada um dos grupos experimentais. Porém, no decorrer do procedimento experimental houve inesperadamente uma elevada taxa de mortalidade, fazendo com que alguns animais fossem excluídos do experimento. A quantidade de animais remanescentes correspondeu a um número de 5, 7, 5 e 4 animais respectivamente dos grupos controle, ω -3 (150mg/kg/dia), ω -3 (300mg/kg/dia) e ω -3 (600 mg/kg/dia).

Valores referentes a frequência cardíaca basal foram inicialmente analisados, porém, os valores obtidos não apresentaram nenhuma diferença significativa entre os

grupos (Figura 2-A).

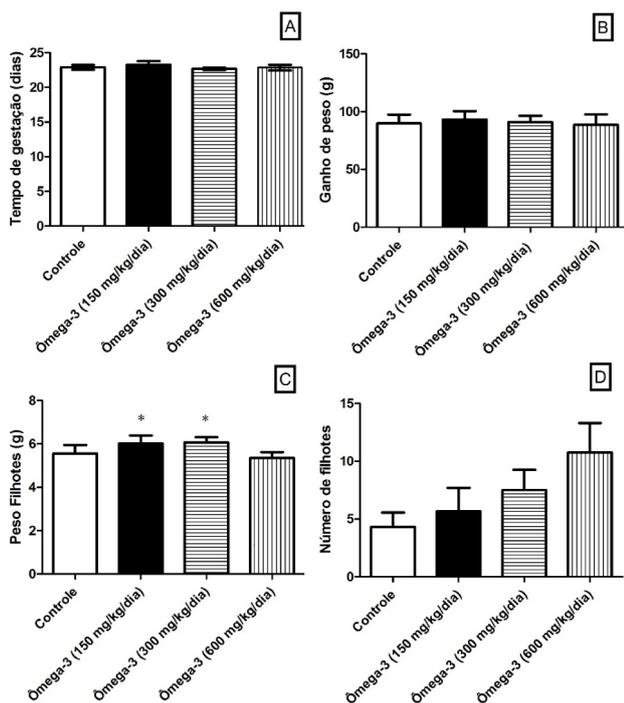


Figura 1. Avaliação do efeito do tratamento com ω -3 sobre a duração e o ganho de peso durante a prenhez, peso e quantidade de filhotes após o nascimento. Os valores referentes ao tempo de duração da prenhez (figura 1-A) e ganho de peso durante a prenhez (figura 1-B) foram analisados nos grupos controle (n=9), e tratados com o ω -3 nas concentrações de 150/mg/kg/dia (n=8), 300 mg/kg/dia (n=9) e 600 mg/kg/dia (n=7), o peso dos filhotes após o nascimento (figura 1-C) e a quantidade de filhotes por rata (figura 1-D) foram analisados nos grupos controle (n= 6 mães e 26 filhotes), ω -3 150 mg/kg/dia (n= 3 mães e 17 filhotes), 300 mg/kg/dia (n= 4 mães e 30 filhotes) e 600 mg/kg/dia (n=4 mães e 41 filhotes). As barras representam médias mais o erro padrão da média (ANOVA de uma, seguido do *post hoc* de Tukey). * $p < 0,05$ comparado o grupo ω -3 (600 mg/kg/dia).

Durante este procedimento foram também avaliados valores basais da pressão arterial média, pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica. A dose mais alta de ω -3 (600mg/kg/dia) aumentou os valores de pressão arterial média e sistólica. ($p < 0.05$) (Figura 2-B e C), em comparação ao grupo controle. Entretanto, esta mesma dose não foi capaz de alterar a pressão arterial diastólica. (Figura 2-D). Os animais dos grupos ω -3 (150 mg/kg/dia) e ω -3 (300 mg/kg/dia) e não apresentaram diferenças significativas em relação aos valores basais da pressão arterial média, pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica (Figuras 2-B, C e D).

Os resultados referentes às variações da pressão arterial média sob efeito da fenilefrina estão expressos na figura 3. O grupo ω -3 (600 mg/kg/dia) apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) da variação da pressão arterial média quando submetido a uma dose de 30 nmol/kg de fenilefrina em comparação ao grupo controle. O grupo ω -3 (600 mg/kg/dia) também apresentou uma tendência de redução da variação da pressão arterial mé-

dia quando exposto as doses de 3 e 10 nmol/kg de fenilefrina, porém as mesmas não foram estatisticamente significativas.

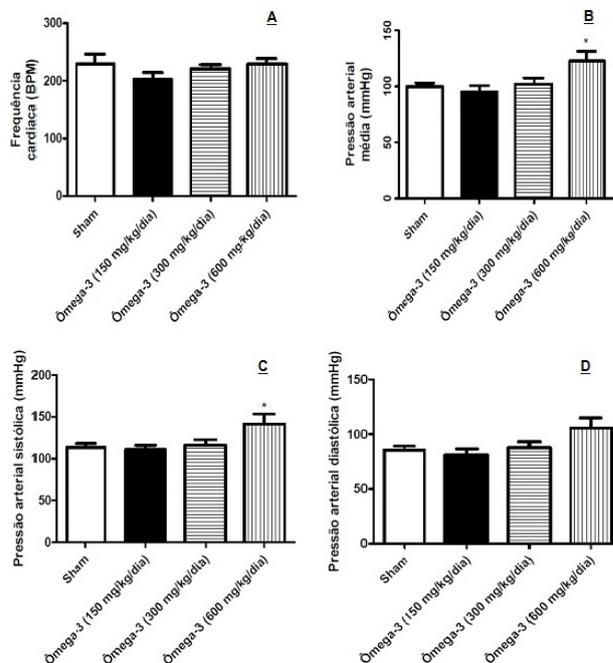


Figura 2. Avaliação do efeito do tratamento com ω -3 sob parâmetros hemodinâmicos basais. Asratas dos grupos tratados com o ω -3 nas concentrações de 150 mg/kg/dia (n=7), 300 mg/kg/dia (n=5) e 600 mg/kg/dia (n=4) foram submetidas a análise de alguns parâmetros hemodinâmicos como a frequência cardíaca (b.p.m.) (figura 2-A), pressão arterial média (figura 2-B), pressão arterial sistólica (figura 2-C) e pressão arterial diastólica (figura 2-D) (ambas em mmHg). As médias foram apresentadas na forma de barras mais erro padrão da média (ANOVA de duas vias, seguido do teste *post hoc* de Bonferroni). * $p < 0.05$ comparado com ω -3 com o grupo controle.

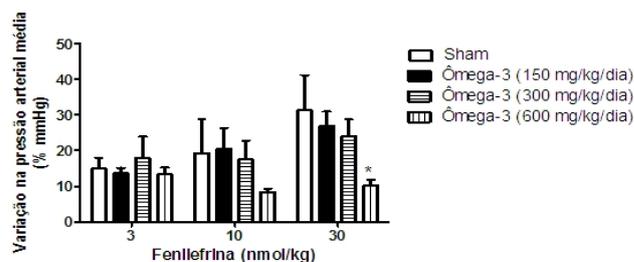


Figura 3. Efeito do ω -3 em relação à variação da pressão arterial média (mmHg) em animais submetidos a ação do agente vasoconstritor fenilefrina. Animais pertencentes aos grupos ω -3 (150mg/kg/dia) (n=7), ω -3 (300 mg/kg/dia) (n=5) e ω -3 (600mg/kg/dia) (n=4) e grupo controle (n=5) submetidas a doses crescentes de fenilefrina (3, 10 e 30 nmol/Kg). O percentual de variação da pressão arterial média foi comparado utilizando ANOVA de duas vias, seguido de teste *post hoc* de Bonferroni. As barras representam as médias mais o erro padrão da média. * $p < 0.05$ comparado os grupos tratados com ω -3 e o grupo controle).

Não houve alteração na resposta pressórica da fenilefrina nos grupos ω -3 (150 mg/kg/dia) e ω -3 (300 mg/kg/dia) (Figura 3).

As variações da pressão arterial média a partir da ação vasodilatadora da acetilcolina (1, 3 e 10 nmol/kg) não apresentaram nenhuma diferença estatisticamente significativa nos grupos ω -3 (150, 300 e 600 mg/kg/dia). (Figura 4).

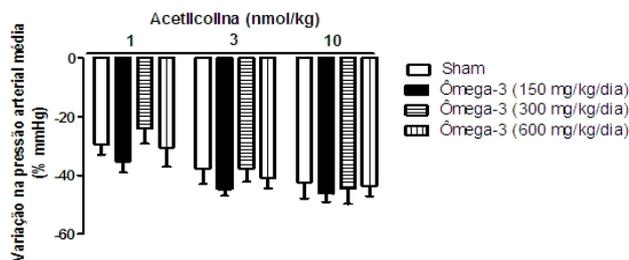


Figura 4. Efeito do ω -3 em relação à variação da pressão arterial média (mmHg) em animais submetidos a ação do agente vasodilatador acetilcolina. Animais pertencentes aos grupos ω -3 (150mg/kg/dia) (n=7), ω -3 (300 mg/kg/dia) (n=5) e ω -3 (600mg/kg/dia) (n=4) e grupo controle (n=5) submetidos a doses crescentes de acetilcolina (1, 3, 10 nmol/Kg). O percentual de variação da pressão arterial média foi comparado utilizando ANOVA de duas vias, seguido de teste *post hoc* de Bonferroni. As barras representam as médias mais o erro padrão da média.

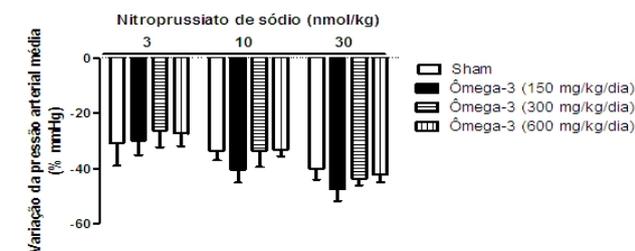


Figura 5. Efeito do ω -3 em relação à variação da pressão arterial média (mmHg) em animais submetidos a ação do agente vasodilatador nitroprussiato de sódio. Animais pertencentes aos grupos ω -3 (150mg/kg/dia) (n=7), ω -3 (300 mg/kg/dia) (n=5) e ω -3 (600 mg/kg/dia) (n=4) e grupo controle (n=5) submetidos a doses crescentes de nitroprussiato de sódio (3, 10, 30 nmol/Kg). O percentual de variação da pressão arterial média foi comparado utilizando ANOVA de duas vias, seguido de teste *post hoc* de Bonferroni. As barras representam as médias mais o erro padrão da média.

A Figura 5 representa a variação da pressão arterial média após a aplicação do agente vasodilatador nitroprussiato de sódio. Tal como a acetilcolina, o nitroprussiato de sódio, em suas diferentes doses (3, 10 e 30 nmol/kg), não apresentou nenhuma diferença estatisticamente significativa nos grupos ω -3 (150, 300 e 600 mg/kg/dia). Apesar dos grupos tratados com o ω -3 apresentarem uma tendência de maior variação da pressão arterial média após a administração de 30 nmol/kg de nitroprussiato de sódio, esta não foi significativa em relação ao grupo controle.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo buscou avaliar os efeitos do tratamento com ω -3 durante a gestação sob parâmetros metabólicos e cardiovasculares. O período gestacional e a

primeira infância são fases críticas para o desenvolvimento, assim, deve-se ter um grande enfoque no aporte nutricional que é dado a estas crianças³⁶. Deve-se salientar que durante a gestação uma má nutrição por parte da mãe pode culminar em prejuízos no desenvolvimento do feto, reiterando a importância de uma alimentação materna balanceada³⁷. Desta forma, o consumo de ω -3 durante a gestação é descrito como benéfico pela, isto pelo fato do mesmo ser um nutriente importante para o desenvolvimento fetal em uma ampla gama de estruturas e sistemas³⁸.

A partir da análise dos resultados foi possível constatar concordâncias e discordâncias com estudos previamente publicados. O presente estudo demonstrou que o consumo de ω -3 não influencia na duração da gestação, corroborando com estudos prévios³⁹. Entretanto, outros estudos^{40,41} demonstram o consumo de ω -3 prolongando o tempo de gestação, reiterando assim a necessidade de mais estudos para que haja um consenso sobre o tema.

Em função do ganho de peso durante a gestação possuir implicações na saúde tanto das mães quanto dos seus filhos⁴², o presente estudo avaliou os parâmetros metabólicos referentes ao ganho de peso pelas fêmeas durante a prenhez, porém não foram detectadas diferenças entre os grupos. Baseados na literatura³³, esperávamos que o ω -3 promovesse uma redução do peso, o que não foi confirmado. Esta possível redução seria causada na capacidade do ω -3 de promover alterações morfológicas no tecido adiposo, na expressão gênica e aumentar a oxidação de lipídios²⁰. Tal como a importância da avaliação das alterações no peso destes animais se deu pelo fato do sobrepeso e a obesidade serem fatores de risco muito importantes no desenvolvimento de DCVs, assim os estudos dos efeitos do consumo do ω -3 podem nos proporcionar uma melhor visão sobre a sua ação protetora sobre este fator de risco^{28,33}.

Após a análise do peso após o nascimento, pode-se observar que os filhotes cujas mães foram tratadas com ω -3 nas concentrações de 150 e 300 mg/kg/dia apresentaram valores superiores do que os filhotes cujas mães foram tratadas com o ω -3 na concentração de 600 mg/kg/dia. Apesar dos valores referentes a quantidade de filhotes não terem apresentado diferença significativa entre os grupos, nós hipotizamos que esta diferença no peso após o nascimento existente entre os grupos tratados com o ω -3 pode ser decorrente da quantidade de filhotes por mãe, sendo que a média da quantidade de filhotes por fêmea foi de 5, 6, 7,5, 10,2 para os grupos ω -3 150, 300 e 600 mg/kg/dia, respectivamente. Este fator também pode ter causado o menor peso dos filhotes deste grupo após o nascimento. Existe grande divergência entre avaliações deste parâmetro na literatura. Enquanto Moltó-Puigmartí e colaboradores relatam um maior peso após o nascimento a partir do tratamento com o ω -3⁴⁰, Oken e colaboradores apontam o oposto³⁹,

havendo assim a necessidade de mais estudos nesta área.

Mesmo que o tratamento com ω -3 não tenha apresentado efeito sobre a frequência cardíaca basal, estudos demonstram a redução da frequência cardíaca após tratamento com ω -3, este efeito sendo possivelmente mediado pela capacidade do ω -3 alterar as propriedades da membrana celular, e subsequente modulação de canais iônicos, principalmente os canais de sódio, com isso modulando a excitabilidade cardíaca^{3,43}. Em relação à avaliação do efeito do ω -3 sob os outros parâmetros cardiovasculares analisados, demonstrou-se aumento dos valores basais de pressão arterial média e pressão arterial sistólica do grupo ω -3-600 mg/kg/dia, tal como uma menor vasorreatividade após a utilização de uma dose de 30 nmol/kg de fenilefrina. O emprego dos agentes vasoativos fenilefrina, acetilcolina e do nitroprussiato de sódio é comumente utilizado para a avaliação da função endotelial⁴⁴⁻⁴⁶. Esta avaliação é dada principalmente pelo uso de agentes vasodilatadores dependentes de endotélio, como a acetilcolina, e independente de endotélio, como o nitroprussiato de sódio^{44,48}. A acetilcolina ao atuar em receptores específicos na membrana da célula endotelial aumenta atividade da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS ou NOS-3) levando a um aumento na produção de óxido nítrico que atua de forma parácrina na célula muscular lisa gerando vasodilatação. Já o nitroprussiato de sódio libera o óxido nítrico que atua diretamente na célula de músculo liso promovendo relaxamento de forma independente do endotélio. O ω -3 não alterou as respostas a estes agentes vasodilatadores, indicando que tanto as células endoteliais como as células de músculo liso não foram afetadas.

É importante lembrar que o NO além importante regulador dos tonos vascular, inibe a adesão e migração de leucócitos, a agregação plaquetária, a proliferação de células musculares lisas bem como a apoptose de células endoteliais (Garcia e Stein, *Semin Pediatr Infect Dis.* 2006). Desta forma o NO tem um importante papel em vários eventos vasculares, e, portanto a redução da sua produção representa um maior risco de complicações cardiovasculares.

O mesmo autor ainda relata que ação de agentes vasoconstritores como a fenilefrina tem a sua ação aprimorada a partir do decréscimo nos níveis de NO, como no quadro da disfunção endotelial.

A menor resposta endotelial apresentada pelo grupo ω -3 (600 mg/kg/dia) a partir da administração de 30 nmol/kg de fenilefrina foi inesperada. Nossa hipótese é que esta diminuição da resposta pode ter sido influenciada pelos valores basais de pressão arterial média e da pressão arterial sistólica, os quais já se apresentavam mais elevados em relação ao grupo controle. Outra possível explicação é uma possível alteração no ganho de peso no destes filhotes a partir do nascimento até a realização do experimento, o qual poderia ter alterado o

perfil lipídico e assim levar a alterações nos valores da pressão arterial basal. Porém não podemos descartar a possibilidade de que ω -3 tenha gerado alguma alteração na via de sinalização da fenilefrina. Salientando-se que o baixo número de animais submetidos a ação dos agentes vasoativos, decorrente da alta taxa de mortalidade, também pode ter tido efeito direto na análise da resposta aos mesmos.

5. CONCLUSÃO

O tratamento com as diferentes doses de ω -3 não causou nenhuma alteração quanto ao ganho de peso durante a prenhez, tal como nenhuma alteração sobre a duração da prenhez. Observamos também um maior peso ao nascer a partir do tratamento com o ω -3 (150 mg/kg/dia) e ω -3 (300 mg/kg/dia) em relação ao grupo ω -3 (600 mg/kg/dia), porém, isto provavelmente sendo resultado da maior quantidade de filhotes por fêmea. Em relação aos parâmetros cardiovasculares, o grupo ω -3 (600 mg/kg/dia) apresentou valores basais elevados da pressão arterial média e da pressão arterial sistólica, tal como uma menor vasorreatividade após a administração do agente vasoconstritor fenilefrina. Entretanto, a partir das discrepâncias apresentadas em relação a alguns dados apresentados na literatura, somadas a limitações do presente estudo, como o baixo número de animais testados, fazem-se necessários mais estudos para que haja uma maior compreensão dos efeitos do tratamento com o ω -3 durante a gestação para com os parâmetros metabólicos e cardiovasculares na idade adulta.

FINANCIAMENTO

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

AGRADECIMENTOS

Ao Herbarium Laboratório Botânico Ltda por doar o ômega-3 utilizado no experimento.

REFERÊNCIAS

- [1]. World Health Organization. A Global Brief on Hypertension. Silent killer, global public health crisis [Internet]. World Health Day 2013. [cited 2015 Mar 23]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79059/1/WHO_DCO_WHD_2013.2_eng.pdf?ua=1
- [2]. Adkins Y, Kelley DS. Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem* [Internet]. Elsevier B.V.; 2010;21(9):781-92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.12.004>
- [3]. Leaf A, Xiao Y, Kang JX, Billman GE. Membrane Effects of the n-3 Fish Oil Fatty Acids, which Prevent

- Fatal Ventricular Arrhythmias. *J Membr Biol.* 2005;139:129–39.
- [4]. Folsom AR, Yatsuya H, Nettleton J a., Lutsey PL, Cushman M, Rosamond WD. Community prevalence of ideal cardiovascular health, by the american heart association definition, and relationship with cardiovascular disease incidence. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;57(16):1690–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2010.11.041>
 - [5]. Beck HC, Overgaard M, Melholt L. Plasma proteomics to identify biomarkers – application to cardiovascular diseases. *Biochem Pharmacol* [Internet]. Elsevier B.V.; 2015;1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trprot.2015.01.001>
 - [6]. Gill SK. Cardiovascular Risk Factors and Disease in Women. *Med Clin NA* [Internet]. Elsevier Inc; 2015; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2015.01.007>
 - [7]. Cohn JN. Identifying the Risk and Preventing the Consequences of Cardiovascular Disease. *Hear Lung Circ* [Internet]. Australasian Society of Cardiac and Thoracic Surgeons and The Cardiac Society of Australia and New Zealand; 2013;22(7):512–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hlc.2013.03.083>
 - [8]. Chang VYP, Handa KK, Fernandes M, Yacoub C, Pastana A, Caramelli B, et al. Improving cardiovascular prevention through patient awareness. *Rev Assoc Med Bras.* 2012;58:550–6.
 - [9]. Weijmans M, Graaf Y Van Der, Reitsma JB, Visseren FLJ. Paternal or maternal history of cardiovascular disease and the risk of cardiovascular disease in offspring . A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol* [Internet]. Elsevier B.V.; 2015;179:409–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.11.017>
 - [10]. Amor AJ, Masana L, Soriguer F, Goday A, Calle-pascual A, Valde S, et al. Estimating Cardiovascular Risk in Spain by the European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Rev Esp Cardiol.* 2014;
 - [11]. Bomhof-roordink H, Seldenrijk A, Hout HPJ Van, Marwijk HWJ Van, Diamant M, Penninx BWJH. Associations between life stress and subclinical cardiovascular disease are partly mediated by depressive and anxiety symptoms. *J Psychosom Res* [Internet]. Elsevier Inc.; 2015;78(4):332–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychores.2015.02.009>
 - [12]. Appelman Y, Rijn BB Van, Monique E, Boersma E, Peters SAE. Sex differences in cardiovascular risk factors and disease prevention. *Atherosclerosis* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.027>
 - [13]. Voegtly LM, Neatrou DM, Decewicz DJ, Burke A, Haberkorn MJ, Lechak F, et al. Cardiometabolic risk reduction in an intensive cardiovascular health program. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. Elsevier Ltd; 2013;23(7):662–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2012.01.012>
 - [14]. Raine KD. Addressing poor nutrition to promote heart health: Moving upstream. *Can J Cardiol* [Internet]. Elsevier; 2010;26:21–4. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0828-282X\(10\)71078-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0828-282X(10)71078-3)
 - [15]. Crichton GE, Alkerwi A. Dairy food intake is positively associated with cardiovascular health: findings from Observation of Cardiovascular Risk Factors in Luxembourg study. *Nutr Res* [Internet]. Elsevier Inc.; 2014;34(12):1–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S027153171400499>
 - [16]. Celermajer DS, Chow CK, Marijon E, Anstey NM, Woo KS. Cardiovascular disease in the developing world: Prevalences, patterns, and the potential of early disease detection. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012;60(14):1207–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2012.03.074>
 - [17]. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. [Internet]. Report of the Joint WHO/FAO Expert Consultation. 2013 [cited 2015 Mar 20]. Available from: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/trs916/download/en/>.
 - [18]. Dyerberg J, Bang HO, Hjorne N. Fatty acid composition of the plasma lipids in hypothyroid subjects. *Am J Clin Nutr.* 1975;958–66.
 - [19]. Lauritzen L, Hansen HS, Jørgensen MH, Michaelsen KF. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. 2001;40.
 - [20]. Buckley JD, Howe PRC. Anti-obesity effects of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Obes Rev.* 2009;10:648–59.
 - [21]. Laidlaw M, Cockerline CA, Rowe WJ. A randomized clinical trial to determine the efficacy of manufacturers' recommended doses of omega-3 fatty acids from different sources in facilitating cardiovascular disease risk reduction. *Lipids Health Dis.* 2014;13(1):1–13.
 - [22]. Wu JHY, Lemaitre RN, King IB, Song X, Sacks FM, Rimm EB, et al. Association of Plasma Phospholipid Long-Chain Omega-3 Fatty Acids With Incident Atrial Fibrillation in. *Circulation.* 2012;1083–95.
 - [23]. Baum SJ, Kris-etherton PM, Willett WC, Lichtenstein AH, Rudel LL, Maki KC, et al. Fatty acids in cardiovascular health and disease: A comprehensive update. *J Clin Lipidol* [Internet]. Mosby, Inc; 2012;6(3):216–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2012.04.077>
 - [24]. Molinari C, Risé P, Guerra C, Mauro N, Piani C, Bosi E, et al. Eight-week consumption of milk enriched with omega 3 fatty acids raises their blood concentrations yet does not affect lipids and cardiovascular disease risk factors in adult healthy volunteers. *PharmaNutrition* [Internet]. 2014;2:141–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213434414000206>
 - [25]. Tousoulis D, Plastiras A, Siasos G, Oikonomou E, Verveniotis A, Kokkou E, et al. Omega-3 PUFAs improved endothelial function and arterial stiffness with a parallel anti-inflammatory effect in adults with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;232(1):10–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.014>
 - [26]. Mozaffarian D, Wu JHY. (n-3) Fatty Acids and Cardiovascular Health : Are Effects of EPA and DHA Shared or Complementary? *J Nutr.* 2012;614–25.

- [27]. Wen YT, Dai JH, Gao Q. Nutrition , Metabolism & Cardiovascular Diseases Effects of Omega-3 fatty acid on major cardiovascular events and mortality in patients with coronary heart disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;24(5):470–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2013.12.004>
- [28]. Li J, Huang CJ, Xie D. Anti-obesity effects of conjugated linoleic acid , docosahexaenoic acid , and eicosapentaenoic acid. *Mol Nutr Foods Res.* 2008;52:631–45.
- [29]. Yang Q, Cao W, Zhou X, Cao W, Xie Y, Wang S. Anti-thrombotic effects of α -linolenic acid isolated from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim seeds. *BMC Complement Altern Med.* 2014;14:1–8.
- [30]. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2002;2747–57.
- [31]. Kromhout D, Yasuda S, Geleijnse JM, Shimokawa H. Fish oil and omega-3 fatty acids in cardiovascular disease: Do they really work? *Eur Heart J.* 2012;33:436–43.
- [32]. Mori TA. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: epidemiology and effects on cardiometabolic risk factors. *Food Funct* [Internet]. Royal Society of Chemistry; 2014;5:2004–19. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/C4FO00393D>
- [33]. White PJ, Mitchell PL, Schwab M, Trottier J, Kang JX, Barbier O, et al. Transgenic ω -3 enrichment alters morphology and gene expression profile in adipose tissue of obese mice: Potential role for protectins. *Metabolism* [Internet]. Elsevier B.V.; 2015;1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2015.01.017>
- [34]. Otto MC de O, Wu JHY, Baylin A, Vaidya D, Rich SS, Tsai MY, et al. Circulating and Dietary Omega-3 and Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids and Incidence of CVD in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Am Heart Assoc.* 2010;1–17.
- [35]. Langley-evans SC. Developmental programming of health and disease. *Proc Nutr Soc.* 2006;65(1):97–105.
- [36]. Jacometo CB, Schmitt E, Pfeifer LFM, Schneider A. Linoleic and α -linolenic fatty acid consumption over three generations exert cumulative regulation of hepatic expression of genes related to lipid metabolism. *Genes Nutr.* 2014;9:1–11.
- [37]. Grieger JA, Clifton VL. A Review of the Impact of Dietary Intakes in Human Pregnancy on Infant Birthweight. *Nutrients.* 2015;7:153–78.
- [38]. Jayasooriya AP, Begg DP, Chen N, Mathai ML, Sinclair AJ, Wilkinson-berka J, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation reduces hypertension in TGR (mRen-2) 27 rats. 2008;78:67–72.
- [39]. Oken E, Kleinman KP, Olsen SF, Rich-edwards JW, Matthew W. Associations of Seafood and Elongated n-3 Fatty Acid Intake with Fetal Growth and Length of Gestation: Results from a US Pregnancy Cohort. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2004;160(8):774–83. Available from: <http://aje.oxfordjournals.org/>
- [40]. Moltó-Puigmartí C, Dongen MCJM Van, Dagnelie PC, Plat J, Mensink RP, Tan FES, et al. Maternal but Not Fetal FADS Gene Variants Modify the Association between Maternal Long-Chain PUFA Intake in Pregnancy and Birth Weight. *J Nutr Nutr Require Optimal Nutr.* 2014;1430–7.
- [41]. Saccone G, Berghella V. Omega-3 supplementation to prevent recurrent preterm birth: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2015.03.013>
- [42]. Sridhar SB, Darbinian J, Ehrlich SF, Markman MA, Gunderson EP, Ferrara A, et al. risk for childhood overweight or obesity. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. Elsevier Inc; 2014;211(3):259.e1–259.e8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2014.02.030>
- [43]. Kromhout D, Giltay EJ, Geleijnse JM. n–3 Fatty Acids and Cardiovascular Events after Myocardial Infarction. *N Engl J Med.* 2010;2015–26.
- [44]. Higashi Y, Goto C, Hidaka T, Nakamura S, Fujii Y, Hata T, et al. Oral Infection-Inflammatory Pathway , Periodontitis , Is a Risk Factor for Endothelial Dysfunction in Patients with Coronary Artery Disease. *Atherosclerosis.* 2009;206(2).
- [45]. Yu B, Shahid M, Egorina E, Sovershaev M, Raheer M, Lei C, et al. Scavenging of Nitric Oxide by a Hemoglobin-based Oxygen Carrier. *Anesthesiology.* 2010;(112):586–94.
- [46]. Ng CF, Koon CM, Cheung DWS, Lam MY, Leung PC, Lau CBS, et al. The anti-hypertensive effect of Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) and Gegen (*Pueraria lobata*) formula in rats and its underlying mechanisms of vasorelaxation. *Ethnopharmacology.* 2011;137:1366–72.
- [47]. Forstermann U, Muge A, Alheid U, Haverich A, Frolich JC. Selective Attenuation of Endothelium-Mediated Vasodilation in Atherosclerotic Human Coronary Arteries. *Circ Res.* 1988;62(2):185–90.
- [48]. Fujiwara H, Wake Y, Hashikawa-hobara N, Makino K, Takatori S, Zamami Y, et al. Endothelium-Derived Relaxing Factor – Mediated Vasodilation in Mouse Mesenteric Vascular Beds. *J Pharmacol Sci.* 2012;118:373–81.
- [49]. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Contemporary Reviews in Cardiovascular Medicine Endothelial Function and Dysfunction Testing and Clinical Relevance Endothelium in Normal Vascular Homeostasis. *Circulation.* 2007;(115):1285–95.
- [50]. Ramel A, Ph D, Martinez JA, Ph D, Kiely M, Ph D, et al. Moderate consumption of fatty fish reduces diastolic blood pressure in overweight and obese European young adults during energy restriction. *Nutrition* [Internet]. Elsevier Ltd; 2010;26(2):168–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.002>


 The logo for BJSCR (Brazilian Journal of Surgical and Clinical Research) is displayed in a stylized, bold, yellow font with a slight shadow effect.