



ARTIGO ORIGINAL

ASSOCIAÇÃO DO USO PROLONGADO DE ÔMEGA-3 NA PREVENÇÃO DE LESÕES HEPÁTICAS EM RATOS WISTAR DESDE O DESMAME

Lucas França Cortez¹, Ana Laura Faria de Guarnieri Pereira², Alvaro Lopes Morais³, Rogério Mendes Grande⁴

RESUMO

Objetivo: Avaliar a proteção fornecida pelo ômega-3 no desenvolvimento de lesões hepáticas em ratos sob alimentação hiperlipídica desde o desmame. **Método:** Estudo experimental com Wistars (n=40) divididos em 4 grupos: Normal Controle (NC), Normal Ômega (NO), Hipercalórico Controle (HC) e Hipercalórico Ômega (HO). NC e HC receberam dieta comercial e de padaria respectivamente, associada a óleo mineral; NO e HO na mesma ordem, porém associada a ingestão de Ômega-3. Ao final, realizou-se coleta e análise histológica do fígado, além das análises estatísticas dos dados antropométricos e bioquímicos obtidos. **Resultados:** Análise histológica revelou esteatose hepática nos grupos com dieta hipercalórica, sem diferenças significativas entre eles. Quanto ao peso e o crescimento, grupos com dieta comercial apresentaram maior ganho de peso e crescimento em comparação com os grupos de dieta hipercalórica. Não houve diferença significativa nos parâmetros bioquímicos, exceto pelos níveis de triglicérides, maiores nos grupos de dieta normal. **Conclusão:** O ômega-3 não demonstrou associação preventiva em relação aos danos hepáticos causados por dieta hiperlipídica desde o desmame, sugerindo necessidade de estudos abrangentes.

Palavras-chave: Ácido Graxo Ômega 3; Antropometria; Histologia; Síndrome Metabólica.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the protection provided by omega-3 in the development of liver damage in rats fed a high-fat diet since weaning. **Method:** Experimental study with Wistars (n=40) divided into 4 groups: Normal Control (NC), Normal Omega (NO), Hypercaloric Control (HC) and Hypercaloric Omega (HO). NC and HC received commercial and bakery diets respectively, associated with mineral oil; NO and HO in the same order, but associated with Omega-3 intake. At the end, histological collection and analysis of the liver were performed, in addition to statistical analyses of the anthropometric and biochemical data obtained. **Results:** Histological analysis revealed hepatic steatosis in the groups with a high-calorie diet, with no significant differences between them. Regarding weight and growth, groups on a commercial diet showed greater weight gain and growth compared to groups on a high-calorie diet. There was no significant difference in biochemical parameters, except for triglyceride levels, which were higher in groups on a normal diet. **Conclusion:** Omega-3 did not demonstrate a preventive association with liver damage caused by a high-fat diet from weaning onwards, suggesting the need for comprehensive studies.

Keywords: Histology; Anthropometry; Omega 3 Fatty Acid; Metabolic Syndrome.

¹ Discente da Faculdade de Medicina de Itajubá, FMIT-Afya, Itajubá, Brasil

² Discente da Faculdade de Medicina de Itajubá, FMIT-Afya, Itajubá, Brasil

³ Discente da Faculdade de Medicina de Itajubá, FMIT-Afya, Itajubá, Brasil

⁴ Docente da Faculdade de Medicina de Itajubá, FMIT-Afya, Itajubá, Brasil

1. INTRODUÇÃO

Com o advento da Revolução Industrial no século XVIII, ocorreram mudanças desfavoráveis nos hábitos alimentares e no nível de atividade física diária. Observou-se um aumento no consumo de alimentos ultraprocessados, bem como um crescimento dos comportamentos sedentários. Essa combinação resultou em um desequilíbrio energético positivo, caracterizado pela ingestão calórica superior ao gasto energético, o que pode contribuir para o desenvolvimento da obesidade (Faludi et al., 2017; Izar et al., 2021; Gusso et al., 2018).

Nas últimas quatro décadas, verificou-se um aumento epidêmico na prevalência da obesidade em todas as faixas etárias (Lima, 2022; Melo et al., 2020). De acordo com dados da Pesquisa Nacional de Saúde, mais da metade dos adultos apresentam excesso de peso, sendo mais de um quarto da população classificada como obesa (IBGE, 2020).

Essa condição acarreta repercussões significativas à saúde, resultando em perda substancial na qualidade de vida, além de contribuir para o aumento de comorbidades (Faludi et al., 2017). O acúmulo central de gordura corporal está associado a condições como resistência à insulina e processos inflamatórios, sendo o componente mais frequentemente observado na síndrome metabólica (Engin et al., 2017).

A síndrome metabólica caracteriza-se pela presença concomitante de obesidade abdominal, dislipidemia, hiperglicemia e hipertensão. Esse conjunto de fatores de risco, quando manifestado em um indivíduo, eleva a probabilidade de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes (Engin et al., 2017; Yki-Jarvinen et al., 2014; Godoy-Matos et al., 2005).

Neste estado de balanço energético positivo, o tecido adiposo demanda plasticidade, incluindo a adaptação física dos espaços anatômicos para sua expansão. No entanto, a recorrência e persistência desse balanço dificultam a adaptação, resultando em dois fenômenos deletérios: o crescimento hipertrófico dos adipócitos, que se rompem

com maior frequência, e a deposição de gordura em órgãos além do tecido adiposo, principalmente no fígado. Essas condições podem acarretar consequências locais, como a doença hepática gordurosa não alcoólica, e sistêmicas, como a resistência à insulina (Monteiro et al., 2010).

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) caracteriza-se pelo acúmulo excessivo de gordura no fígado, não relacionado ao consumo de álcool. Nesse contexto, o fígado com acúmulo de gordura produz em excesso dois componentes importantes da síndrome metabólica: glicose e triglicerídeos. A interação entre essas condições destaca o papel crucial do fígado como determinante das anormalidades metabólicas (Yki-Jarvinen et al., 2014; Dietrich et al., 2014).

Em experimentos com animais, o uso de dietas hiperlipídicas ou hipercalóricas tem sido empregado como modelo para induzir a obesidade e simular as respostas metabólicas observadas em humanos (Menezes et al., 2010; Valle et al., 2014).

Os ácidos graxos poli-insaturados n-3 de cadeia longa, como o eicosapentaenoico (EPA) e o docosahexaenoico (DHA), têm sido amplamente estudados devido a sua capacidade de reduzir os níveis plasmáticos de triacilgliceróis, aumentar a lipoproteína de alta densidade (HDL) e diminuir a hipertensão arterial sistêmica. Contudo, é importante ressaltar que a conversão do ácido α -linolênico, de origem vegetal, em EPA e DHA no organismo é limitada, justificando a necessidade de suplementação (Fernandez et al., 2015).

A Sociedade Brasileira de Cardiologia recomenda o consumo de ácidos graxos n-3 em casos de insuficiência cardíaca, e estudos fornecem evidências consistentes sobre os benefícios desses lipídios na proteção vascular, redução da adiposidade visceral e controle da dislipidemia (Lotternberg et al., 2019). Estudos experimentais com roedores demonstraram que a suplementação com ácidos graxos n-3 pode reduzir o acúmulo de gordura, mesmo em dietas hipercalóricas. Contudo, não há informações disponíveis sobre o impacto da suplementação desde o desmame no desenvolvimento de doenças

crônicas degenerativas (Menezes et al., 2010; Valle et al., 2014).

Este estudo tem como objetivo investigar o potencial efeito protetor dos ácidos graxos poli-insaturados n-3 no desenvolvimento de lesões hepáticas em ratos alimentados com uma dieta rica em lipídios desde o período de desmame. Além disso, busca-se analisar indicadores antropométricos e parâmetros bioquímicos para avaliar a possível prevenção das complicações associadas à obesidade.

2. MÉTODOS

O estudo experimental, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina de Itajubá sob o registro nº 01/19, foi realizado entre dezembro de 2019 e fevereiro de 2020. Foram utilizados quarenta animais *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, machos, com 21 dias (pós-desmame), provenientes do biotério da mesma instituição. Os animais foram alocados aleatoriamente em grupos de cinco para garantir melhor conforto, sendo alojados em gaiolas de plástico (49x34x16 cm), forradas com serragem, cobertas por grade metálica vazada e equipadas com dispensador de água. As gaiolas foram então designadas aleatoriamente em quatro grupos experimentais, com duas gaiolas e dez animais por grupo: Normal Controle (NC), Normal Ômega (NO), Hipercalórico Controle (HC) e Hipercalórico Ômega (HO) (Gonçalves et al., 2014; Rosini et al., 2012; Lima-Leopoldo et al., 2014).

As gaiolas foram mantidas em ambiente com temperatura controlada (22°C ± 2°C), com ciclo claro/escuro alternado de doze horas, e os animais tiveram acesso ad libitum a alimentação e água durante 63 dias. Durante esse período, os animais receberam diariamente Ômega 3 (18 EPA / 12 DHA – 1,5:1) ou óleo mineral por gavagem, na dose de 7 g/dia. (Gonçalves et al., 2014) O grupo NC foi alimentado com ração comercial e óleo mineral, o grupo NO com ração comercial e Ômega 3, o grupo HC com dieta hipercalórica e óleo mineral, e o grupo HO com dieta hipercalórica e Ômega 3. A dieta

hipercalórica consistiu em pão com leite condensado oferecido isoladamente (Menezes et al., 2010; Neves et al., 2013).

Foi realizada a pesagem com balança eletrônica e comprimento crânio caudal dos animais com fita métrica duas vezes por semana durante todo o experimento. Ao final, calculou-se o Índice de Lee, obtido através da raiz cúbica do peso dividida pelo comprimento crânio caudal, usado como forma acurada e rápida para determinar obesidade em ratos (Machado et al., 2014).

No 64º dia do experimento, foi realizada a coleta de sangue por sangria axilar para análise bioquímica dos níveis de colesterol total, triglicerídeos, AST e ALT. O material coletado foi alocado em tubos Eppendorf, centrifugado, armazenado em biofreezer e enviado ao laboratório de análises clínicas da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando o software Minitab®. Primeiramente, os dados foram avaliados quanto à normalidade da distribuição pelo teste de Anderson-Darling. Os dados classificados como paramétricos, que incluíam triglicerídeos, ureia e creatinina, foram comparados por meio da análise de variância (ANOVA) e do teste t, que confrontou as diferenças entre as medianas dos grupos. Para as variáveis não paramétricas, como AST, ALT, peso e comprimento crânio-caudal, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis para comparar as médias entre os grupos. Foi adotado um valor de $p < 0,05$ para a significância estatística dos testes utilizados (Castello et al., 2011; Burlamaqui et al., 2014).

Além disso, foi realizada a necrópsia dos animais, com a obtenção do fígado para pesagem e análise histopatológica. O órgão foi acondicionado em formalina a 10% e submetido a processamento histológico por histotécnico. Os materiais foram embebidos em parafina e cortados com um micrótomo rotativo. As lâminas resultantes foram coradas com hematoxilina e eosina e preparadas para análise histológica. Os parâmetros de esteatose, atividade inflamatória e fibrose foram avaliados pelo médico patologista Rogério Mendes Grande, utilizando uma classificação ordinal para cada parâmetro. Os

dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando o software Jamovi®. Para os dados ordinais, as informações entre os grupos foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis, que revelou diferenças significativas. Em seguida, foram realizadas comparações múltiplas pelo teste Dwass-Steel-Critchlow-Fligner. Em todos os casos, foi adotado um nível de significância de 5%.

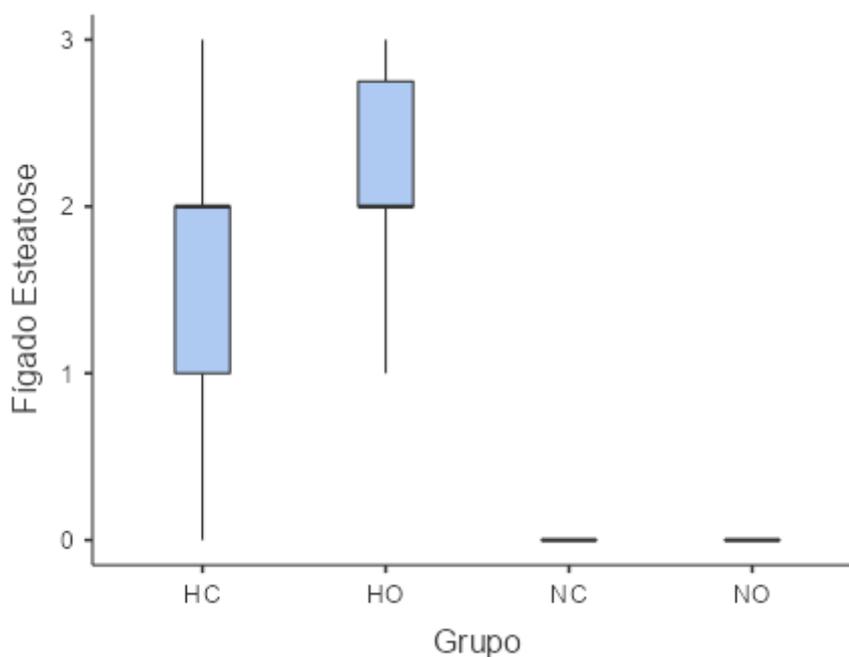
Os dados foram analisados para verificar a associação entre o grau de esteatose hepática e os parâmetros AST, ALT e triglicérides. Para essa análise, utilizou-se o software Jamovi®. Como se tratava de uma análise entre variáveis quantitativas e uma variável qualitativa ordinal, foi aplicado o

teste de correlação de Spearman. Adotou-se um valor de $p < 0,05$ para a significância dos testes.

3. RESULTADOS

A análise histológica do fígado revelou a presença de esteatose hepática nos grupos alimentados com dieta hipercalórica, em comparação com os grupos que receberam dieta normal. Não foi observada diferença significativa entre os grupos submetidos à dieta hipercalórica, conforme mostrado na **Figura 1**. Além disso, não foram identificadas outras alterações, como artefatos, atividade inflamatória ou fibrose.

Figura 1. Presença de esteatose hepática por grupo de ratos wistar.



Fonte: Imagem do autor

Em relação ao peso, o grupo HC apresentou um ganho significativamente menor em comparação ao grupo controle (NC) ($p < 0,0001$), seguido pelo grupo HO ($p = 0,0012$). A análise do comprimento crânio-caudal revelou que o grupo HO teve um crescimento significativamente maior em comparação ao grupo que recebeu dieta normal (NO) ($p < 0,0001$).

Ao comparar as dietas normais, apenas o grupo NC apresentou crescimento crânio-caudal significativo, sem a associação do

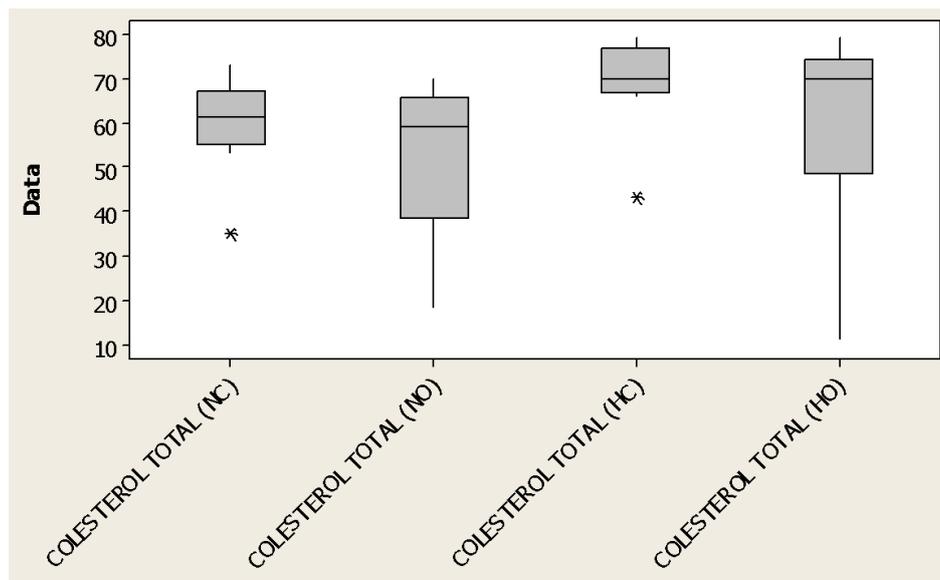
Ômega 3 ($p = 0,0002$). Entre os grupos alimentados com dieta hipercalórica, o grupo HO, que recebeu a associação de Ômega 3, mostrou maior crescimento em comparação ao grupo HC ($p = 0,0001$). Não foram observadas diferenças significativas no Índice de Lee entre as amostras ($p = 0,5253$).

Em relação à média de colesterol, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ($p = 0,0830$), conforme mostrado na **Figura 2**. A média de triglicérides foi significativamente maior no

grupo NO em comparação ao grupo HO ($p < 0,001$) e no grupo NC em comparação ao grupo HC ($p = 0,012$), conforme evidenciado na **Figura 3**. Quanto à transaminase AST, o grupo HC apresentou o menor valor estatisticamente significativo em comparação aos outros grupos, como mostrado na **Figura 4**. Não foram observadas diferenças

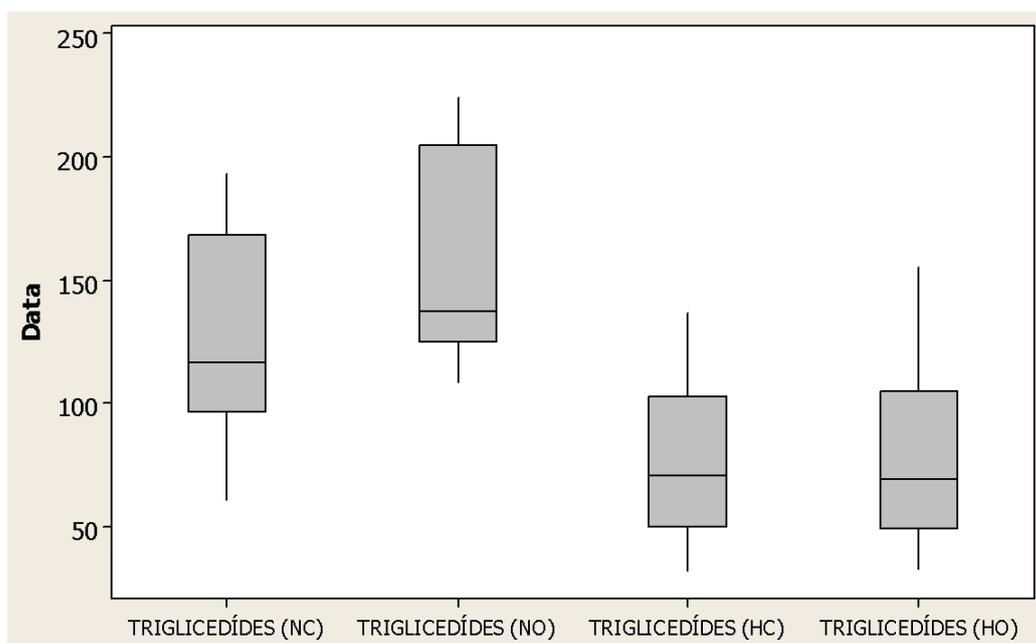
significativas nos outros parâmetros comparados. Em relação à ALT, a dosagem média foi maior no grupo NO em comparação ao grupo HO ($p = 0,019$), e o grupo HC apresentou o menor valor estatisticamente significativo em comparação aos demais grupos, conforme observado na **Figura 5**.

Figura 2. Valores de colesterol por grupo de ratos wistar



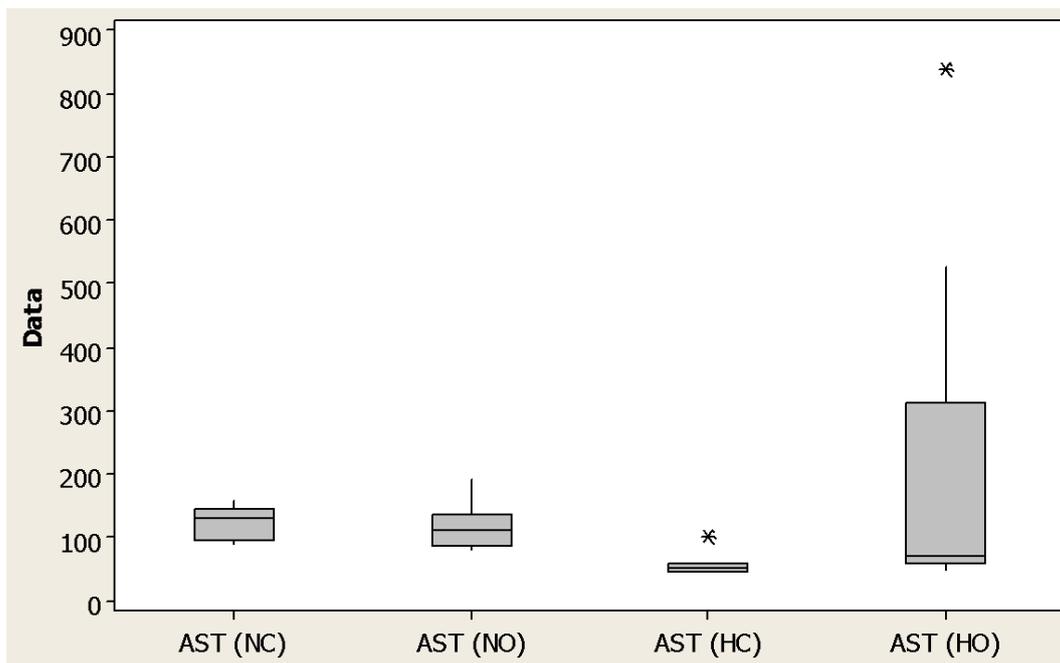
Fonte: Imagem do autor

Figura 3. Valores de triglicérides por grupo de ratos wistar



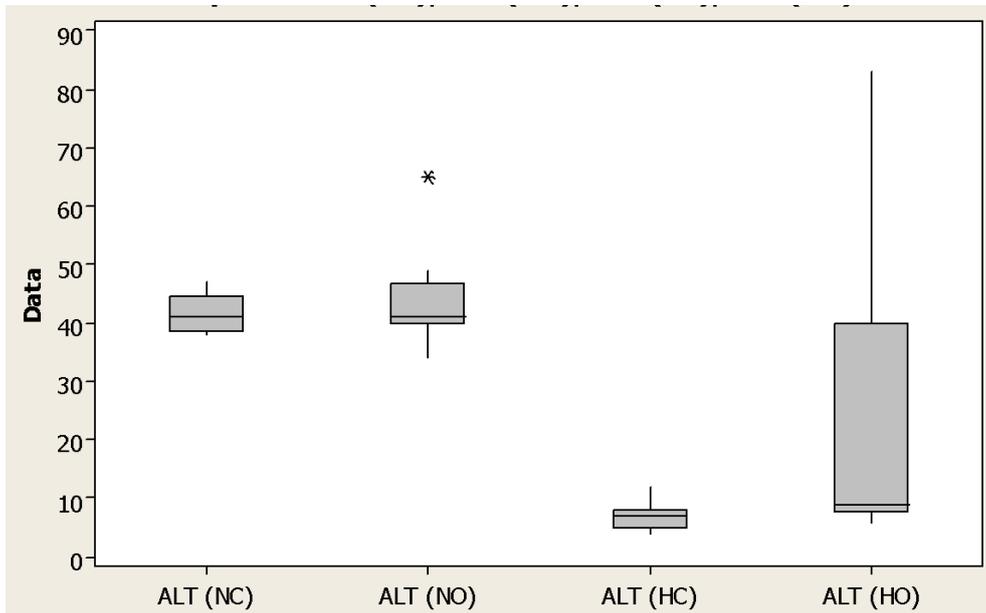
Fonte: Imagem do autor

Figura 4. Valores de AST por grupo de ratos wistar



Fonte: Imagem do autor

Figura 5. Valores de ALT por grupo de ratos wistar



Fonte: Imagem do autor

Em relação à comparação do parâmetro esteatose hepática com os níveis de AST, ALT e triglicérides, observou-se que os níveis de triglicérides e ALT apresentaram um coeficiente de correlação moderado com o nível de esteatose, embora

com correlação inversa. Por outro lado, o AST mostrou um coeficiente de correlação fraco com o nível de esteatose, também com correlação inversa. Esses resultados estão detalhados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Comparação dados bioquímicos com o nível de esteatose hepática

		Triglicerídeos	AST	ALT
Esteatose Hepática	Rho de Spearman	-0.583***	-0.393*	-0.530***
	p-value	< .001	0.015	<.001

Nota. * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

4. DISCUSSÃO

A patogênese da hepatopatia esteatótica não alcoólica (HENA) é um processo complexo, envolvendo alterações metabólicas, inflamatórias e de estresse oxidativo (Albert et al., 2020). Essas alterações incluem o acúmulo excessivo de triglicerídeos (TG) no citoplasma dos hepatócitos e a formação de radicais livres (Yang et al., 2019).

Diversos fatores estão envolvidos no desenvolvimento da hepatopatia esteatótica não alcoólica (HENA). A obesidade, por exemplo, aumenta a síntese de ácidos graxos e reduz sua oxidação. O diabetes mellitus tipo 2 e a resistência à insulina também contribuem para o aumento da quebra de lipídios no tecido adiposo e para a subsequente síntese de ácidos graxos. Quando o fígado não consegue exportar triglicerídeos adequadamente, o acúmulo excessivo de ácidos graxos contribui para o desenvolvimento da esteatose hepática (Martins et al., 2016; Norris, 2021).

As diretrizes atuais recomendam o uso de ômega-3 devido a sua capacidade de reduzir a mortalidade, melhorar os desfechos coronarianos e diminuir os níveis de triglicerídeos.³ Além disso, foram estabelecidos efeitos benéficos do ômega-3 em diversas condições de saúde, incluindo, doenças cardiovasculares, síndromes metabólicas, doenças inflamatórias, doenças psiquiátricas e neurodegenerativas, bem como doenças renais e hepáticas (Izar et al., 2021).

No que diz respeito à capacidade da EPA e DHA em reduzir a progressão da

hepatopatia esteatótica não alcoólica (HEPA), a literatura não apresenta consenso. Masterton et al., em 2010, demonstraram que uma dieta rica em ômega-3 foi capaz de diminuir a esteatose hepática (Masterton et al., 2010). Em contrapartida, Scorlett et al., em 2018, relataram benefícios na redução dos triglicerídeos hepáticos em ensaios clínicos, mas não observaram redução nas características da esteatose (Scorletti et al., 2018). Yang et al., em 2019, destacaram a controvérsia sobre a capacidade dos ácidos graxos poli-insaturados n-3 em reduzir o estresse oxidativo e impactar a evolução da doença (Yang et al., 2019).

Neste estudo, que acompanhou ratos Wistar desde o nascimento, os dados histológicos revelaram o desenvolvimento de esteatose hepática nos grupos que receberam dieta de padaria, independentemente do uso de ômega-3. Além disso, esses grupos apresentaram níveis menores de triglicerídeos. Esses resultados estão alinhados com os achados relatados por Scorlett et al. em 2018 (Scorletti et al., 2018).

No entanto, não foi identificada a presença de atividade inflamatória ou fibrose em nenhum dos grupos, o que está em consonância com os níveis de AST e ALT. Isso impossibilita a determinação de uma associação de proteção ou estímulo do ômega-3 nesses processos. É importante ressaltar que essas observações podem ter sido influenciadas pelo curto período do estudo e pelo tamanho limitado da amostra utilizada.

Ao examinar os dados antropométricos, observou-se que os grupos

alimentados com dieta comercial apresentaram um maior ganho de peso e crescimento em comparação com os animais que seguiram o regime hipercalórico. Os grupos NO e HO mostraram um menor aumento de peso em relação ao grupo NC. Estudos anteriores sugerem que dietas ricas em ômega-3 podem proteger contra o ganho de peso subsequente a dietas hipercalóricas, reduzindo o número de células no tecido adiposo e diminuindo a lipogênese, resultando em uma menor acumulação de gordura (Menezes et al., 2010; Fernandez et al., 2015; Burlamaqui et al., 2014; Tostes et al., 2021).

Foi observada uma correlação significativa no comprimento dos grupos NO e HO, com a dieta comercial resultando em um crescimento mais expressivo. Esse crescimento pode ser atribuído a um melhor aporte nutricional dessa dieta. No entanto, após o cálculo do Índice de Lee, as amostras não apresentaram diferença significativa, impossibilitando a comparação entre os grupos. Isso evidencia que os resultados ainda são controversos (Fernandez et al., 2015; Burlamaqui et al., 2014; Tostes et al., 2021).

Devido às propriedades antioxidantes, antiplaquetárias, antitrombóticas, anti-inflamatórias e vasodilatadoras das lipoproteínas de alta densidade (HDL), é descrito em pesquisas um efeito antiaterogênico associado. Alguns autores sugerem que o aumento na proporção de HDL e a alteração no colesterol total induzidos pelo ômega-3 podem potencializar efeitos anti-inflamatórios e melhorar o metabolismo lipídico, resultando na redução dos triglicerídeos no sangue (Pappiani et al., 2016).

Entretanto, nossa pesquisa obteve resultados contraditórios em relação ao efeito do ômega-3 na redução do colesterol total e dos triglicerídeos, apesar de utilizarmos a mesma proporção de 1,5:1 (EPA/DHA). Isso contrasta com os resultados obtidos por Laura Luís et al. em 2013,³¹ que suplementaram ratos Wistar por 13 semanas e não observaram diferenças no perfil lipídico entre os grupos que receberam proporções de EPA/DHA de 1:1, 2:1, 1:2 e óleo de soja de linhaça. No entanto, diferenças significativas foram

encontradas nas proporções 1:1 e 2:1, isoladamente e em combinação com óleo de soja, em relação às lipoproteínas associadas à proteção cardiovascular. Como não investigamos lipoproteínas séricas em nosso estudo, não podemos abordar esse aspecto. É importante destacar também que o ômega-3 não influenciou os níveis séricos de colesterol, independentemente da dieta fornecida, mas aumentou os níveis de triglicerídeos em animais alimentados com ração comercial em comparação com a dieta de padaria, possivelmente devido à composição distinta dos nutrientes (Faludi et al., 2017; Fernandez et al., 2011; Lluís et al., 2013; Tostes et al., 2021).

Uma possível explicação para a discrepância em relação ao estudo de Rahmani et al. em 2016 (Tostes et al., 2021), pode ser atribuída ao tipo de ômega-3 utilizado, uma vez que nossa pesquisa não incluiu vitamina E, ao contrário do estudo mencionado. Outros experimentos indicam que a ausência de vitamina E pode levar à peroxidação lipídica do ômega-3, comprometendo sua eficácia e potencialmente tornando-o prejudicial. Estudos em animais associam o consumo de lipídios oxidados a danos em órgãos, inflamação, desenvolvimento de câncer e aterosclerose (Rahmani et al., 2017).

5. CONCLUSÕES

Estudos fornecem evidências sobre os efeitos benéficos do ômega-3 em doenças associadas à obesidade, tanto na prevenção quanto no tratamento. No entanto, neste estudo, conduzido com ratos desde o período de desmame, não foi observada uma associação protetora do ômega-3 contra os danos hepáticos causados por uma dieta hipercalórica.

Além disso, os grupos alimentados com dietas hipercalóricas apresentaram menor ganho de peso em comparação com aqueles que receberam dieta normal, independentemente do uso de ômega-3 na dose de 7 g/dia. O uso prolongado do ômega-3 também resultou em maior crescimento crânio-caudal nos grupos com dieta hipercalórica em relação às outras dietas. No

entanto, não foram observadas alterações no Índice de Lee, o que impossibilita a determinação do risco de síndrome metabólica e suas possíveis consequências, como doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, doenças hepáticas e renais crônicas.

Quanto aos parâmetros bioquímicos, não foram identificadas alterações significativas. Portanto, com base nos critérios laboratoriais aplicados na fase adulta, o modelo testado não demonstrou uma associação preventiva do ômega-3 na alimentação industrial desde o desmame.

Nesse estudo, foram identificadas limitações relacionadas à composição do produto, à associação com a vitamina E e à medição de diversas variáveis, como

lipoproteínas, hormônio estimulador da tireoide, velocidade de hemossedimentação, proteína C reativa, fator de necrose tumoral α , interleucina 6, interleucina 8, adiponectinas, quimiocinas, fibrinogênio, proteínas amiloides séricas, glicose e insulina. Contudo, o desenho experimental utilizado pode ser reproduzido em outras pesquisas, dada a originalidade da intervenção precoce e a comparação entre grupos com dietas distintas e grupos de controle. Assim, destaca-se a necessidade de conduzir estudos mais abrangentes que avaliem o ômega-3 em uma gama mais ampla de parâmetros de saúde, incluindo dietas com diferentes composições e períodos de acompanhamento mais longos, além de considerar produtos disponíveis no mercado.

6. REFERÊNCIAS

1. ALBERTI, G. et al. Fructose, Omega 3 Fatty Acids, and Vitamin E: Involvement in Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients*, Basel, v. 12, n. 11, article 3531, Nov. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7698421/#:~:text=Additionally%2C%20the%20use%20of%20omega,studied%20to%20be%20universally%20recommended.> Acesso em 6 set 2023.
2. BURLAMAQUI, Idália Maria Brasil. Dietas hiperlipídica, normolipídica e hipolipídica com baixa relação ômega 6/ômega 3 e alta ômega 9/ômega 6 na carcinogênese cólica em ratos. 2014. 137 f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/15356> . Acesso em: 10 dez. 2019.
3. CASTELLO, A. S. et al. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos wistar e camundongos swiss do biotério professor thomas george. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, João Pessoa, v. 15, n. 2, p. 209-214, 2011. Disponível em: <https://periodicos.ufpb.br/index.php/rbcs/article/view/10800>. Acesso em: 1 jan. 2020.
4. DIETRICH, P.; HELLERBRAND, C. Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, [S.l.], v. 28, n. 4, p. 637-653, ago. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521691814000869>. Acesso em: 6 set. 2023.
5. ENGIN, A. The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. In:

- Obesity and Lipotoxicity. Springer, 2017, p. 1-17. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-48382-5_1. Acesso em: 6 set. 2023.
6. FALUDI, A. A. et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo, v. 109, n. 2, supl. 1, p. 1-76, 2017. Disponível em: <https://abccardiol.org/article/atualizacao-da-diretriz-brasileira-de-dislipidemias-e-prevencao-da-aterosclerose-2017/>. Acesso em: 6 set. 2023.
 7. FERNÁNDEZ, L. M. et al. Omega-3 fatty acids and adipose tissue function in obesity and metabolic syndrome. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, [S.l.], v. 121, p. 1-8, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1098882315300046?via%3Dihub>. Acesso em: 6 set. 2023.
 8. GONÇALVES, N. B. Efeitos do ácido alfa-linolêmico em modelo animal de resistência insulínica. 2014. 85 f. Dissertação (Mestrado em...) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Clínica Médica, Ribeirão Preto, 2014. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17138/tde-03112014-075617/publico/DissertacaoDeMestradoNataliaBonissiGoncalves.pdf>. Acesso em 6 set. 2023
 9. GUSSO, G.; LOPES, J. M. C.; DIAS, L. C. Tratado de medicina de família e comunidade - 2 volumes: princípios, formação e prática. 2. ed. Porto Alegre: Grupo A, 2019
 10. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arquivos brasileiros de cardiologia, v. 84, p. 3-28, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/qWzJH647dkF7H5dML8x8Nym/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em 7 set. 2023
 11. IZAR, M. C. O. et al. Posicionamento sobre o Consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo, v. 116, n. 1, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/Yt5zyLkkfG8ms6rKcJ7TNWc/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 6 set. 2023.
 12. LIMA-LEOPOLDO, A. P. et al. A obesidade de longa duração promove alterações na função diastólica induzidas pela redução da fosforilação do fosfolambam na serina-16 sem afetar o manuseio do cálcio. *Jornal de Fisiologia Aplicada (Bethesda, Md.: 1985)*, Bethesda, v. 117, n. 6, p. 669-678, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00088.2014>. Acesso em: 6 set. 2023.
 13. LIMA, A. et al. Estratégia Nacional para Prevenção e Atenção à Obesidade Infantil: orientações técnicas. 1. ed. Silva, D. (Ed.). Secretaria de Atenção Primária à Saúde: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/proteja_estrategia_nacional_obesidade_infantil.pdf. Acesso em: 6 set. 2023.

14. LLUÍS, L. et al. Protective effect of the omega-3 polyunsaturated fatty acids: Eicosapentaenoic acid/Docosahexaenoic acid 1:1 ratio on cardiovascular disease risk markers in rats. *Lipids in health and disease*, v. 12, n. 1, 2013. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3850782/>. Acesso em: 15 out. 2019.
15. LOTTENBERG, A. M. et al. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, [S.l.], v. 113, n. 4, p. 22-28, 2019. Disponível em: <http://publicacoes.cardiol.br/portal/abc/portugues/2019/v11304/pdf/11304022.pdf>. Acesso em: 6 set. 2023.
16. MACHADO, J. H. L. et al. Efeito do treinamento concorrente na composição corporal e massa muscular de ratos Wistar. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*, São Caetano do Sul, v. 22, n. 3, p. 34-42, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.18511/0103-1716/rbcm.v22n3p34-42>. Acesso em: 7 set. 2023.
17. MARTINS, M. A. et al. *Clínica Médica, Volume 4: Doenças do Aparelho Digestivo, Nutrição e Doenças Nutricionais*. 2. ed. São Paulo: Editora Manole, 2016.
18. MASTERTON, Graham S.; PLEVRIS, John N.; HAYES, Peter C. Review article: omega-3 fatty acids - a promising novel therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, [S.l.], v. 31, n. 7, p. 679-692, 30 dez. 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2036.2009.04230.x>. Acesso em: 13 jan. 2020.
19. MELO, S. P. et al. Sobrepeso, obesidade e fatores associados aos adultos em uma área urbana carente do Nordeste Brasileiro. *Rev. Bras. Epidemiol.*, [S.l.], v. 23, e200036, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-549720200036>. Acesso em: 6 set. 2023.
20. MENEZES, E. F. Efeito da indução de obesidade pela dieta de cafeteria a partir dos 21 dias de idade sobre a estrutura e o desenvolvimento folicular de ratas wistar. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
21. MONTEIRO, R.; AZEVEDO, I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators of Inflammation*, [S.l.], v. 2010, p. 1-10, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2913796/>. Acesso em: 6 set. 2023.
22. NEVES, S. P.; FILHO, J. M.; MENEZES, E. W. *Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de produção e Experimentação da FCF IQ/USP*. São Paulo, 2013. Disponível em: http://www.fo.usp.br/wp-content/uploads/Manual_Cuidados-com-Animais.pdf. Acesso em: 8 set. 2023.
23. NORRIS, Terry L. *Porth - Fisiopatologia*. 10. ed. São Paulo: Grupo GEN, 2021.

24. PAPPANI, C.; DAMASCENO, N. T. Impacto da suplementação com ácidos graxos ômega-3 nas subfrações da lipoproteína de alta densidade de indivíduos tabagistas. *Revista de Nutrição*, São Paulo, v. 29, n. 4, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415->. Acesso em: 22 jul. 2024.
25. PESQUISA NACIONAL DE SAÚDE: 2019: atenção primária à saúde e informações antropométricas: Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento, 2020. Disponível em: <https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2021/07/Pesquisa-Nacional-de-Saude-2019.pdf>. Acesso em: 6 set. 2023.
26. RAHMANI, E.; SAMIMI, M.; EBRAHIMI, F. A.; FOROOZANFARD, F.; AHMADI, S.; RAHIMI, M.; JAMILIAN, M.; et al. Os efeitos da cosuplementação de ácidos graxos ômega-3 e vitamina E na expressão gênica de lipoproteína(a) e lipoproteína de baixa densidade oxidada, perfis lipídicos e biomarcadores de estresse oxidativo em pacientes com síndrome dos ovários policísticos. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 439, p. 247-255, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S03720716303732?via%3Dihub>. Acesso em: 22 jul. 2024.
27. ROSINI, T. C.; SILVA, A. S. R.; MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. *Revista da Associação Médica Brasileira*, [S.l.], v. 58, n. 3, p. 311-316, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-42302012000300021>. Acesso em: 6 set. 2023.
28. SCORLETTI, E.; BYRNE, C. D. Omega-3 fatty acids and non-alcoholic fatty liver disease: Evidence of efficacy and mechanism of action. *Molecular aspects of medicine*, v. 64, p. 135–146, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29544992/>. Acesso em: 06 set. 2024.
29. TOSTES, C.; CINTRA, M.; CORTEZ, L.; CARNEIRO, E.; CIPULLO, R.; ANDRADE, E. et al. Comparativo de medidas antropométricas a partir do uso prolongado de ômega 3 em ratos. *Revista Ciências Em Saúde*, 2021 Jul 7;10(3):131–6. Disponível em: <https://doi.org/10.21876/rcshci.v10i3.1171>. Acesso em: 05 set. 2022.
30. TOSTES, C.; CINTRA, M.; CORTEZ, L.; CARNEIRO, E.; CIPULLO, R.; ANDRADE, E. et al. Comparativo de parâmetros bioquímicos a partir do uso prolongado de ômega 3 em ratos. *Revista Ciências Em Saúde*, v. 10, n. 3, p. 131-136, jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21876/rcshci.v10i3.1171>. Acesso em: 05 set. 2022.
31. VALLE, P. G. Efeito da associação da dieta, do ômega três e de antioxidantes em cães portadores de doença renal crônica. Universidade

- Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 2014. Disponível em:
<http://hdl.handle.net/10183/25531> . Acesso em: 6 set. 2023.
32. YANG, J. et al. Oxidative Stress and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation. *Nutrients*, Basel, v. 11, n. 4, article 872, Apr. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6521137/> . Acesso em: 07 set. 2023
33. YKI-JÄRVINEN, H. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *The lancet. Diabetes & endocrinology*, v. 2, n. 11, p. 901–910, 2014. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24731669/> . Acesso em: 7 set. 2023.