

ALCIONE LESCANO DE SOUZA JUNIOR

Efeito do Pré-Tratamento com Óleo de Peixe sobre o  
Infarto Agudo do Miocárdio em Ratos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Rui Curi

Versão original

São Paulo  
2013

## RESUMO

De Souza Jr AL. Efeito do pré-tratamento com óleo de peixe sobre o infarto agudo do miocárdio em ratos. [tese (Doutorado em Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2013.

Os efeitos do pré-tratamento com o óleo de peixe sobre a área de infarto e alterações inflamatórias, metabólicas e de fluxo coronariano associadas ao infarto agudo do miocárdio (IAM) foram avaliados. A hipótese de que os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) ômega-3, presentes no óleo de peixe, reduziriam a área de infarto devido aos efeitos anti-inflamatórios foi testada. Como referência, os dados foram comparados com aqueles obtidos pela administração de óleo de soja (rico em AGPI ômega 6 que têm efeitos pró-inflamatórios). Ratos Wistar machos foram suplementados com salina, óleos de peixe ou soja na dose de 3g/Kg de peso corpóreo por via intragástrica durante 20 dias antes da indução do IAM. O IAM foi induzido por ligamento da artéria descendente. Foram avaliados 24 horas após a indução do infarto a área de infarto, parâmetros inflamatórios (conteúdos de citocinas no ventrículo esquerdo e fígado e de C3, C4 e PCR no plasma) e parâmetros metabólicos (glicogênio, lactato e ATP) no ventrículo esquerdo. A área de infarto, determinada por ecocardiografia, foi menor no grupo suplementado com óleo de peixe comparada aos grupos salina ou soja. Foi observada menor atividade da creatina quinase no plasma e da caspase 3 no ventrículo esquerdo (VE) de animais infartados pré-tratados com óleo de peixe. Houve aumento na incorporação de AGPI n-3 e diminuição de AGPI n-6 (determinado por cromatografia gasosa) no VE dos animais suplementados com óleo de peixe. Os conteúdos de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , CINC 2 $\alpha/\beta$ , IL-6 e VEGF- $\alpha$ , determinadas por ELISA, no VE e de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , MIP-3, IL-6 e VEGF- $\alpha$  no fígado de animais infartados aumentou quando suplementados com óleo de soja. O pré-tratamento com óleo de peixe aumentou o conteúdo de ATP e de lactato e diminuiu de glicogênio no VE. A redução do fluxo coronariano no VE dos animais infartados (determinado pela técnica de infusão vascular de microesferas coloridas) foi prevenida pelo óleo de peixe. O pré-tratamento com óleo de peixe aumentou a expressão gênica da iNOS, eNOS, HIF-1 $\alpha$ , GLUT-1, VEGF- $\alpha$ , p53 e Bax2 no VE dos animais infartados. A função sistólica dos animais infartados, determinada pela fração de ejeção, fração de encurtamento e velocidade de encurtamento das fibras cardíacas, foi melhor no grupo suplementado com óleo de peixe comparado ao grupo salina. Portanto, o tratamento com óleo de peixe induziu um estado de pré-condicionamento que conferiu proteção do miocárdio à injúria isquêmica.

Palavras-chave: Infarto agudo do miocárdio. Ácidos graxos ômega-3. Metabolismo de glicose. Inflamação. Fluxo sanguíneo coronariano.

## ABSTRACT

De Souza Jr AL. Effect of the pretreatment with fish oil on myocardial infarction in rats. [Ph. D. thesis (Human Physiology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2013.

The effects of the pretreatment with fish oil on size infarction, coronary blood flow, inflammatory and metabolic parameters associated with myocardial infarction (MI) were investigated. The hypothesis that omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) may provide protective effect on heart from ischemic injury due antiinflammatory properties was tested. Fish oil effects were compared with those of soybean oil effects (rich in proinflammatory omega-6 fatty acid). The rats were supplemented with saline, fish or soybean oils, by gavage, 3g/Kg b.w., for 20 days before MI induction. The rats underwent MI induction by left coronary artery ligation. Twenty four hours post-MI, the infarcted area was determined by echocardiography. Coronary blood flow, inflammatory state in the LV and liver and metabolic parameters (glycogen, lactate, and ATP in the LV and liver) were also measured. There was increase in PUFA n-3 and decreased in PUFA n-6 incorporation in the LV by pretreatment with fish oil. The echocardiographic evaluation showed significant reduction of the infarct size in the infarcted group pretreated with fish oil as compared with saline or soybean oil. Fish oil augmented ATP, lactate and attenuated caspase 3 activity in the LV. Plasma CK activity was lowered in the fish oil when compared with saline or soybean oil groups. The contents of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , CINC 2 $\alpha/\beta$ , IL-6, VEGF- $\alpha$  in the LV and IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , MIP-3, IL-6, VEGF- $\alpha$  in the liver were increased by soybean oil supplementation. Fish oil supplementation prevented the decrease in the coronary blood flow in the LV of infarcted rats. The mRNA contents of iNOS, eNOS, HIF-1 $\alpha$ , GLUT 1, VEGF- $\alpha$ , p53 and Bax2 in the VE of infarcted rats were increased by fish oil. Systolic function in the infarcted heart as indicated by fraction ejection, fractional shortening and velocity of circumferential fiber-shortening, was ameliorated by fish oil supplementation. So, treatment with fish oil leads to a preconditioning state that protected the heart from MI injury.

Keywords: Myocardial infarction. Omega-3 fatty acids. Inflammation. Glucose metabolism. Coronary blood flow.

# 1 REVISÃO DE LITERATURA

## 1.1 O Infarto agudo do miocárdio

As doenças cardiovasculares são responsáveis por 16,7 milhões de mortes por ano no mundo. Dentre essas, 7,2 milhões correspondem a doenças coronarianas, cujos principais fatores de risco são: fumo, obesidade, hipertensão arterial, disposição hereditária, processos inflamatórios, inatividade física e diabetes (World Health Organization - WHO, 2011). Esta ocorrência deve aumentar nos próximos anos devido ao envelhecimento da população (WHO, 2011). No Brasil, o infarto agudo do miocárdio (IAM) é responsável por 25% dos óbitos decorrentes de problemas de saúde. No período de 2001 a 2010, o coeficiente de mortalidade por IAM cresceu de 46,1 para 52,4 mortes por 100 mil habitantes (DATASUS – [www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br)). O aumento está relacionado com as mudanças de hábito de vida do brasileiro. Em estudo realizado com 9.211 pessoas, entre 30 a 69 anos, distribuídas em 16 capitais do Brasil, demonstrou-se que a combinação de fatores de risco para doenças cardiovasculares, tais como, tabagismo, hipertensão, inatividade física e obesidade, ocorrem em mais de 25% de homens e mulheres (Pereira et al., 2009).

O IAM é definido como dano celular irreversível no coração decorrente da baixa ou falta de perfusão tecidual. A privação de oxigênio para o miocárdio provoca morte celular que leva a mudanças funcionais do coração. O infarto ocasiona redução de diversas variáveis hemodinâmicas como: débito cardíaco, volume sistólico, pressão sistólica do ventrículo esquerdo, primeira derivada positiva e derivada negativa de pressão, e, em contraposição, a pressão diastólica final do VE aumenta (De Felice et al., 1989; Pfeffer et al., 1979).

Em condições de baixa atividade, o miocárdio extrai quase todo conteúdo de oxigênio do sangue (75%) que passa através dos capilares sanguíneos (Tune et al., 2004). Assim, durante o aumento na atividade do músculo cardíaco o fornecimento de oxigênio necessário para atender o consumo depende quase exclusivamente da capacidade das artérias coronárias se dilatarem, processo esse denominado reserva coronariana (Tune et al., 2004). Na doença aterosclerótica, que é a principal causa de IAM, a redução na luz da artéria coronária e a disfunção endotelial presente na região acometida pela placa de ateroma impedem a artéria de ajustar-se às necessidades

de oxigênio (diminuição da reserva coronariana), instalando assim a isquemia e, conseqüentemente, o infarto agudo do miocárdio (WHO, 2011).

## 1.2 A área de infarto

No IAM, observa-se um núcleo de tecido necrótico circundado por uma área com células viáveis, porém sob-baixa tensão de oxigênio, denominada área de risco (Hearse, 1998). A relação entre o núcleo de tecido necrótico e a área de risco aumenta com a progressão temporal da isquemia, fenômeno denominado expansão do infarto (Hearse, 1998). Em 1979, Reimer e Jennings demonstraram, em cães, que o núcleo necrótico corresponde a 28, 70 e 72% da área de risco em 40 minutos, 3 e 6 horas, respectivamente, atingido 79% no quarto dia de isquemia. O fenômeno de expansão também ocorre em humanos e sua intensidade é determinada, em parte, pela presença de vasos colaterais (Ortiz-Pérez et al., 2007; Piek, Becker, 1988). A região endocárdica é mais suscetível à isquemia do que o epicárdio devido ao maior requerimento energético pelo endocárdio e a menor perfusão sanguínea durante a sístole ventricular (Hearse, 1998). Porém, em ratos, devido a escassa circulação colateral, os infartos por ligadura permanente da artéria descendente esquerda (LAD) acometem toda a parede ventricular (transmural) e raramente compromete somente a região endocárdica (Zornoff et al., 2009).

## 1.3 A concepção de cardioproteção

Nas décadas de 40 e 50, ocorreram avanços importantes na eletrocardiografia e na enzimologia. Neste período, as arritmias eram consideradas como principal causa de óbito nos pacientes infartados, o que levou, ao longo dos anos de 1960, o surgimento de Unidades de Cuidados Intensivos para coronarianos destinadas à monitoração e tratamento das arritmias (Ferreira, 2010).

Durante as décadas de 1980 e 1990, novas descobertas modificaram o entendimento da patologia do infarto. O conhecimento dos mecanismos moleculares de morte e defesa à agressão isquêmica possibilitou a investigação e identificação de drogas e nutrientes com potencial para reduzir a área de infarto (Kroner, Longacre, 2011). Estabeleceu-se assim o conceito de cardioproteção, que pode ser enunciado como: qualquer intervenção que aumenta a tolerância do músculo cardíaco à isquemia (Herse, 2001; Maroko et al., 1971).

A reperfusão coronariana imediata após o IAM é a intervenção mais eficiente em reduzir a área de infarto (Kloner, Longrace, 2011). Contudo, outras intervenções mostraram-se efetivas em promover cardioproteção. A administração de adenosina logo após o evento isquêmico e o pré-condicionamento isquêmico, como terapia adjuvante à reperfusão, reduzem em até 30% a área do núcleo necrótico (Kloner, Longrace, 2011). Estas medidas cardioprotetoras retardam a expansão do infarto por restabelecerem o fluxo sanguíneo e/ou por conferirem tolerância contra a isquemia às células miocárdicas.

Existem mecanismos cardioprotetores naturais. Fatores como adenosina, opióides e bradicinina são liberados no tecido cardíaco imediatamente após o IAM e ligam-se a receptores acoplados a proteína G ativando vias de sinalização envolvidas nos mecanismos de sobrevivência celular à isquemia (Liu et al., 2011).

Vias como a da fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K), proteína quinase C (PKC), *agammaglobulinaemia tyrosine kinase* (Akt), proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e canal de potássio mitocondrial ATP sensível ( $K_{ATP}$ ), quando ativadas, apresentam efeitos anti-apoptóticos nos cardiomiócitos (Liu et al., 2011).

Após este período inicial, ocorre uma segunda resposta cardioprotetora, que permanece por vários dias após o infarto. Esta envolve fatores de crescimento como: fator de crescimento endotelial (VEGF), fator de crescimento como a insulina (ILGF), fator de crescimento de hepatócito (HGF) e fator derivado da célula estromal I (SDF-I). Estes participam da angiogênese, reparação tecidual e ativam vias de sobrevivência celular como a PI3K/Akt (Liu et al., 2011).

Respostas cardioprotetoras sistêmicas também ocorrem no IAM. Fator de crescimento de fibroblasto 21 (FGF21) e *trefoil factor 3* (TFF3) secretados pelo fígado agem no coração ativando vias de sobrevivência (Liu et al., 2011).

Murry e colaboradores (1986) demonstraram em cães que períodos breves de isquemia, seguidos de períodos curtos de reperfusão (4 seções de 5 minutos de isquemia com 5 minutos de reperfusão), confere ao miocárdio menor área de lesão quando submetido a uma isquemia mais prolongada (30 a 60 minutos). Este fenômeno denominado “pré-condicionamento isquêmico” ocorre também em ratos, camundongos, coelhos e humanos (Yang et al., 2010). Os efeitos cardioprotetores do pré-condicionamento isquêmico são atribuídos a menor depleção de ATP durante a isquemia (Jennings et al., 2001), redução de lactato e íons  $H^+$  (Fleet et al., 1985) e aumento na utilização de glicogênio pelo músculo cardíaco (Soares et al., 1997). Além

destes efeitos metabólicos, o pré-condicionamento isquêmico ativa vias de sobrevivência do cardiomiócito que envolve fosforilação da Akt, ativação da PKC $\epsilon$ , eNOS, iNOS e produção de óxido nítrico (Li et al., 2000; Xia, Vanhoutte, 2011). Em adição, Cai e colaboradores (2013) demonstraram ausência de efeito cardioprotetor pelo pré-condicionamento isquêmico em camundongos *knockout* para fator induzido por hipóxia 1 (HIF-1). Desta forma, o músculo cardíaco é passível de condicionamento que o torna mais resistente a condição de baixa tensão de oxigênio.

#### 1.4 Inflamação e a expansão do infarto

O processo de reparo do tecido infartado é dividido em três fases que se sobrepõem, são elas: 1) inflamatória; 2) proliferativa e 3) maturativa (Frangogiannis 2006). As células ao morrerem por necrose liberam conteúdo intracelular (ADP, K<sup>+</sup>, fosfolipase, Ca<sup>++</sup>, etc) que iniciam a resposta inflamatória e quanto maior o número de células comprometidas pela isquemia maior será esta resposta (Frangogiannis, 2006).

Em humanos, a inflamação é intensa entre 1 a 2 semanas e entra em declínio entre 3 a 4 semanas após o infarto (Sun, 2009). Em ratos e camundongos, o período inflamatório é mais curto do que em humanos, ocorrendo entre 3 a 72 horas, atingindo o pico em 48 horas (Frangogiannis, 2006).

A inflamação inicia-se pela ativação de metaloproteinases que degradam a matrix extracelular e pela infiltração de neutrófilos e monócitos/macrófagos. Estas últimas células removem o tecido necrosado e debris de matrix extracelular que, enquanto presentes, impedem a cicatrização (Frangogiannis, 2006).

Deve haver equilíbrio entre a intensidade da agressão e a resposta inflamatória. A inflamação excessiva pode expandir a área de necrose e agravar a disfunção sistólica causada pelo infarto (Cleutjens et al., 1995a; Frangogiannis, 2013; Kempf et al., 2012). Neutrófilos secretam enzimas como elastases, colagenases e oxidases, que fragilizam a parede do ventrículo infartado, com risco de ruptura (Anzai, 2013). Ainda, macrófagos secretam uma variedade de citocinas pró-inflamatórias que em excesso podem agravar a lesão tecidual causada pelo infarto (Anzai, 2013). As primeiras citocinas liberadas no tecido cardíaco (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e CINC 2 $\alpha/\beta$ ) exercem efeitos pró-inflamatórios tais como: aumento na expressão de moléculas de adesão, ativação de fagócitos, vasodilatação e permanecem elevadas entre o primeiro e quarto dias pós infarto. Por sua vez as concentrações no coração de IL-10, TGF $\beta$  e VEGF

elevadas a partir do quinto dia de infarto estão envolvidas com a angiogênese e formação de tecido cicatricial (Kempf et al., 2012). Portanto, a conduta terapêutica com drogas antiinflamatórias é controversa, pois a inflamação que surge após o IAM é um processo necessário, participando do processo de reparo do miocárdio necrosado, mas quando excessiva e/ou prolongada pode causar danos.

Na fase proliferativa, ocorre ativação de miofibroblastos, formação de vasos sanguíneos e fibrinogênese. A fibrogênese caracteriza-se pela síntese de colágeno dos tipo III e I que continua na fase maturativa, onde ocorre reorganização das fibras tornando-as mais resistentes (Tuner, Poter, 2013). Nesta fase, há aumento na expressão de genes de fatores de crescimento (TGF- $\alpha$  e  $\beta$ , bFGF, Angio II, IGF-1, ET-1 e VEGF) que estão ativos normalmente durante a vida fetal e encontram-se reprimidos no coração de adultos (Cleutjens et al., 1995b; Swynghedauw, 2006). Estes mediadores levam à alteração anatômica adaptativa do ventrículo (denominada remodelamento ventricular), caracterizada por hipertrofia das áreas não afetadas pelo infarto que compensam a perda da força contrátil do miocárdio isquêmico. Contudo, como ocorre na inflamação excessiva, o aumento na espessura das paredes ventriculares pode levar a diminuição da cavidade de enchimento do ventrículo (hipertrofia concêntrica) e prejudicar a função cardíaca, desencadeando, em longo prazo, insuficiência cardíaca (Swynghedauw, 2006). O IAM é responsável por 50% das Insuficiências cardíacas diagnosticadas (Colucci, Brounwald, 2003).

### 1.5 Metabolismo energético do coração e IAM

O coração utiliza como fonte energética ácidos graxos, glicose, corpos cetônicos, piruvato, aminoácidos e proteína intracelular (Fillmore, Lopaschuk, 2013). O metabolismo energético do músculo cardíaco é um fator determinante da extensão da área de infarto e das complicações pós-infarto (Horowitz et al., 2010). O músculo cardíaco obtém energia na forma de ATP principalmente pela oxidação de ácidos graxos (Taegtmeyer, 2004). Contudo, durante um processo isquêmico, como no IAM, a oxidação da glicose torna-se muito ativa, pois pode produzir ATP mesmo na ausência de oxigênio (Abozguia, 2009). Existem duas fontes de glicose para o músculo cardíaco: 1) meio extracelular; esta fonte depende da concentração plasmática de glicose, produção hepática e do fluxo coronariano e 2) da reserva de glicogênio no cardiomiócito. Existem evidências de que a concentração plasmática



elevada de glicose tem efeito cardioprotetor. Schaffer e colaboradores (2000) observaram que cardiomiócitos cultivados com glicose na concentração de 25 mM durante 3 dias resistem à apoptose pela prevenção do acúmulo de cálcio no citoplasma que ocorre durante a hipóxia. Posteriormente, Xu e colaboradores (2004) observaram que animais infartados com quatro semanas de diabetes, induzida por estreptozotocina, apresentam uma área de infarto de cerca de 20% menor se comparadas com os animais infartados não diabéticos. Malfitano e colaboradores (2010) observaram menor área de infarto, melhor função cardíaca, redução de citocinas pró-inflamatória e maior angiogênese em coração de ratos diabéticos e infartados. Estes autores atribuíram esses efeitos a hiperglicemia presente nos ratos diabéticos.

Há evidências de que o glicogênio é um metabólito cardioprotetor durante condições isquêmicas (Doenst et al., 1996; Lagerstom et al., 1988; Scheur, Stezoski 1970). Coração isolado de ratos submetidos ao jejum por 24 horas apresentam maior conteúdo de glicogênio do que os alimentados e apresentam ainda menor morte celular quando avaliado pela liberação de CK (Schaefer, Ramasamy, 1997). Schneider and Taegtmeyer (1991) utilizando modelo de isquemia em coração isolado de rato, demonstraram que o aumento no conteúdo de glicogênio no músculo cardíaco induzido pelo jejum melhora a função cardíaca e reduz a morte de cardiomiócitos por necrose. Estes achados apontam para estratégias terapêuticas a serem utilizadas no IAM baseadas em medidas que aumentam a disponibilidade de glicose para o tecido cardíaco, seja através da maior oferta plasmática desta ou da utilização do glicogênio.

## 1.6 Os ácidos graxos

Ácidos graxos (AG) são ácidos carboxílicos representados pela fórmula  $R-CO_2-H$ . Em mamíferos, o radical R é geralmente uma cadeia hidrocarbônica longa, não ramificada, com número par de átomos de carbono. Essas moléculas possuem uma região polar ( $-CO_2-H$ ), insolúvel em lipídios e solúvel em água, e uma porção apolar (R-), insolúvel em água e solúvel em lipídios.

Quanto ao tamanho da cadeia carbônica, os AG podem ser classificados em AG de cadeia curta (contêm dois a quatro átomos de carbono), cadeia média (seis a dez átomos de carbono), cadeia longa (quando contêm mais de doze átomos de carbono) (Curi et al., 2002). Os AG de cadeia curta são hidrossolúveis e absorvidos

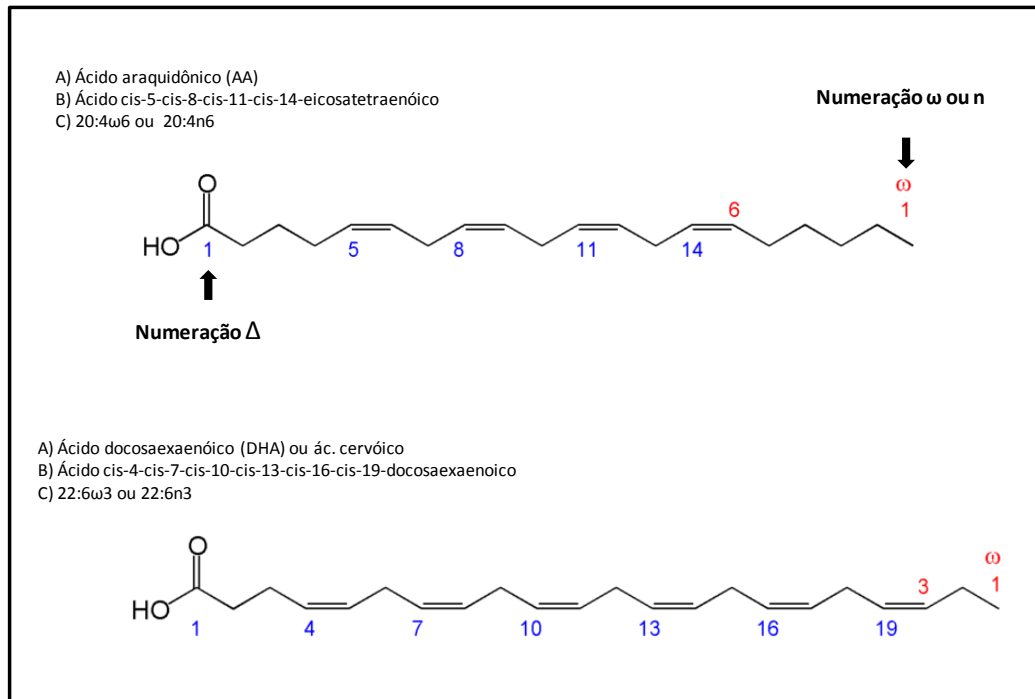
diretamente da luz intestinal para a corrente sanguínea. São formados a partir da degradação bacteriana de carboidratos e bactérias provenientes da dieta. São usualmente metabolizados para fonte imediata de energia. Os AG de cadeia longa são constituintes das membranas celulares e precursores de mediadores de vias de sinalização intracelular além de exercerem efeito nas proteínas de membranas.

As ligações entre dois carbonos podem ser do tipo sigma (ligação simples) e do tipo pi (duplas ligações), denominada também de insaturação. Os ácidos graxos podem ser classificados quanto ao número de insaturações na molécula em: saturados (AGS) – sem insaturações na molécula, monoinsaturados (AGMI) – presença de uma insaturação na cadeia carbônica e poliinsaturados (AGPI) - com mais de uma insaturação (Curi et al., 2002).

Os ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados podem, ainda, serem classificados em *cis* ou *trans*. Quando *cis*, os átomos de hidrogênio ligados aos átomos de carbono adjacentes à dupla ligação estão do mesmo lado da cadeia hidrocarbônica, ao passo que quando o AG é *trans*, os átomos de hidrogênio estão em lados opostos da cadeia. A rigidez da dupla ligação mantém a conformação da molécula e, no caso da conformação *cis*, causa curvamento da cadeia, restringindo a liberdade conformacional do AG. As duplas ligações *trans* não causam curvamento da cadeia hidrocarbônica e por isso AG *trans* apresentam estrutura espacial similar à de AG saturados. Disto resulta que lipídeos compostos majoritariamente por AG insaturados e poliinsaturados apresentam menor ponto de fusão e se encontram no estado líquido à temperatura ambiente, sendo denominados genericamente de óleos. Lipídeos compostos por AG de cadeia saturada apresentam-se sólidos à temperatura ambiente e são chamados de gorduras.

Há três formas de identificar os ácidos graxos, são elas: pelo nome comum, geralmente deriva da fonte onde foi primeiramente isolado; por abreviatura e pelo nome químico conforme o sistema IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). As duas primeiras nomenclaturas são mais usuais nas ciências biológicas e da saúde. O ácido oleico é um exemplo de nome comum. Este ácido é encontrado em altas concentrações no óleo de oliva. Outro exemplo é o ácido araquidônico que foi primeiramente obtido do óleo de amendoim que tem o nome científico *Arachis hypogaea L*, daí o nome araquidônico. No sistema IUPAC, os átomos de carbono recebem números a partir do grupamento carboxílico (numeração  $\Delta$ ). Eles são representados indicando a configuração da dupla ligação (*cis* ou *trans*), seguido das

posições das duplas ligações e do nome que representa o número de carbonos (ex: tetra - 4 carbonos ou eicosa – 20 carbonos). Por fim, o nome deve ser adicionado do sufixo “oico” que indica ser um ácido carboxílico. Desta forma, pelo sistema IUPAC o ácido araquidônico é representado como *ácido cis-5-cis-8-cis-11-cis-14-eicosatetraenóico*. Pelo sistema por abreviaturas, o ácido graxo é representado pelo número de carbonos seguido pelo número de duplas ligações, estes separados por dois pontos, adicionado da posição da primeira dupla ligação mais próxima do carbono do terminal metila, ou carbono  $\omega$ , que pode ser substituído pela letra “n”. Desta forma, o ácido araquidônico é representado como 20:4 $\omega$ 6 ou 20:4n6. Pelo sistema de nomenclatura os ácidos graxos podem ser classificados em 4 classes distintas:  $\omega$ -3,  $\omega$ -6,  $\omega$ -7 e  $\omega$ -9, baseado na localização da primeira dupla ligação (Figura 1).



**Figura 1- Sistema de identificação de ácidos graxos;** A) nome comum, B) nome químico e C) abreviatura.

### 1.7 Ácidos graxos ômega 3 e 6

Os ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 e 6 não podem ser sintetizados pelo organismo humano e são obtidos somente através da dieta (Pompeia, 2000). Estas duas classes de AGs são imprescindível ao organismo. Aron (1918) descreveu a morte de animais submetidos a dietas pobres em lipídios, mas que foi prevenida pela adição de gordura. Essa descoberta levou o pesquisador a sugerir que haveriam AGs essenciais. A partir deste estudo pioneiro, outros autores demonstraram efeitos deletérios em animais e humanos causados pela deficiência dos AGPI ômega 6 (Burr, 1973) e posteriormente do ômega 3 (Holman, 1998; Innis, 1991).

Os ácidos graxos ômega 3 e 6 provenientes da dieta podem ser oxidados nos tecidos, incorporados em fosfolípidos de membrana e/ou serem metabolizados a outros ácidos graxos (Tabelas 1 e 2) e metabólitos biologicamente ativos pela ação da COX e/ou LOX (Figura 2) (Schmitz, Ecker, 2008).

Os ácidos linoleico (18:2n-6) e araquidônico são fontes primárias de AGPI n-6 para os humanos (Calder et al., 2010). O ácido linoleico é encontrado em óleos vegetais, principalmente na semente de girassol, milho e soja (Calder et al., 2010).

Quando metabolizado, o ac. linoléico é inicialmente convertido ao ácido  $\gamma$ -linolênico (18:3n6) pela delta-6 dessaturase. A seguir, este AG é transformado no ácido diomo- $\gamma$ -linolênico 20:3n6) pela elongase 5 (ENLOVL5). O ácido diomo- $\gamma$ -linolênico, sob ação da delta-5-dessaturase, é convertido no ácido araquidônico (20:4n6). Este pode seguir a via sendo transformado em ácido docosapentaenóico (22:5n6) e/ou, sob ação das enzimas COX e LOX, desviar para a síntese de eicosanóides (Figura 2).

Os ácidos docosaexanóico (DHA) e eicosapentaenóico (EPA) são provenientes de fontes marinhas (peixes e mariscos). Por sua vez, o ácido alfa-linolênico (ALA) é encontrado na semente de linhaça, colza, nozes e soja (Calder et al., 2010). Os ácidos EPA e DHA podem ser sintetizados a partir do ácido  $\alpha$ -linolênico (ALA) (Figura 2). Contudo, a taxa de síntese é baixa, menos de 6 e 0,1 % de ALA são convertidos em EPA e DHA, respectivamente (Calder et al., 2010; Harris et al., 2009). O ALA é, inicialmente, transformado em ácido octadecatetraenóico (18:4n3), pela ação da delta-6-dessaturase. Em seguida, pela ação da ELOVL5, o ácido octadecatetraenóico é transformado no ácido eicosatetraenóico (20:4n3) e este em ácido EPA. O EPA pode sofrer ação da COX e/ou LOX e gerar eicosanóides de classes distintas (prostaglandinas e leucotrienos das séries 3 e 5, respectivamente) daquelas geradas a partir do ácido AA (prostaglandinas e leucotrienos das séries 2 e 4, respectivamente). A formação do DHA ocorre nos peroxissomos pela beta oxidação do ácido tetracosaexaenóico (24:6n3)(Russo, 2009).

<b>TABELA 1 - Ácidos graxos ômega 6</b>		
<b>Nome comum</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Nome químico</b>
Ác. $\alpha$ -linoléico (LA)	18:2 n-6	all-cis-9,12-octadecadienóico
Ác. $\gamma$ -linolênico (GLA)	18:3 n-6	all-cis-6,9,12-octadecatrienóico
Ác. diomo- $\gamma$ -linolênico (DGLA)	20:3 n-6	all-cis-8,11,14-eicosatrienóico
Ác. araquidônico (AA)	20:4 n-6	all-cis-5,8,11,14-eicosatetraenóico
Ác. docosatetraenóico (DTA)	22:4 n-6	all-cis-7,10,13,16,-docosatetraenóico
Ác. docosapentaenóico (DPA)	22:5 n-6	all-cis-4,7,10,13,16-docosapentaenóico

<b>TABELA 2 - Ácidos graxos ômega 3</b>		
<b>Nome comum</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Nome químico</b>
Ác. Alfa linolênico (ALA)	18:3 n-3	all-cis-9,12,15-octadecatrienóico
Ác. octadecatetraenóico	18:4 n-3	all-cis-6,9,12,15-octadecatetraenóico
Ác. eicosatetraenóico (ETA)	20:4 n-3	all-cis-8,11,14,17-eicosatetraenóico
Ác. eicosapentaenóico (EPA)	20:5 n-3	all-cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenóico
Ác. docosapentaenóico (DPA)	22:5 n-3	all-cis-7,10,13,16,19-docosapentaenóico
Ác. docosaexanóico (DHA)	22:6 n-3	all-cis-4,7,10,13,16,19-docosaexanóico
Ác. tetracosapentaenóico (TPA)	24:5 n-3	all-cis-9,12,15,18,21-tetracosapentaenóico
Ác. tetracosaxanóico (THA)	24:6 n-3	all-cis-6,9,12,15,18,21-tetracosenóico

(Adaptado de Russo, 2009)

## 1.8 Ácidos graxos ômega 3 e cardioproteção

Desde os estudos pioneiros de Dyerberg e colaboradores (1975) e Bang e colaboradores (1976) mostrando que a ingestão de ácidos graxos ômega 3 protegia os povos Inuits que habitam a região ártica de doenças cardiovasculares, outros foram realizados para elucidar os mecanismos cardioprotetores envolvidos (Adkins, Kelley, 2010; Culp et al., 1980; Hock et al., 1990; Oskarsson et al., 1993; Ogita et al., 2003; Zhu et al., 1994).

Os ácidos graxos tais como DHA e EPA apresentam efeitos antiinflamatórios conhecidos (Calder, 2010, 2013). O efeito antiinflamatório do AGPI ômega 3 ocorre, pelo menos em grande parte, pelo antagonismo exercido pelos eicosanoides gerados a partir do EPA ( $\text{PGE}_3$ ,  $\text{PGI}_3$ ,  $\text{TXA}_3$ ,  $\text{LTB}_5$ ,  $\text{LTC}_5$  e  $\text{LTE}_5$ ) sobre os eicosanoides provenientes do AA (Schmitz, Ecker, 2008). Recentemente, foi demonstrado que macrófagos e adipócitos expressam o receptor GPR120 em grandes quantidades (Oh et al., 2010). Este receptor está acoplado a proteína G e tem como ligante principal ácidos graxos de cadeia longa (Hirasawa et al., 2005). Oh e colaboradores (2010)

demonstraram que EPA e DHA, ligantes deste receptor, apresentam efeito anti-inflamatório por inibir a via de sinalização do “Toll like receptor” (TLR) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) no macrófago, além de diminuir a resistência à insulina em camundongos obesos. Desta forma, os ácidos graxos da família ômega-3 também apresenta efeito anti-inflamatório que independem da formação de mediadores inflamatórios lipídicos.

Propriedades antitrombótica, antioxidante, antiarrítmica e vasodilatadora contribuem para a ação cardioprotetora do AGPI ômega 3 (Adkins, Kelley, 2010; Culp et al., 1980; Hock et al., 1990; Oskarsson et al., 1993; Ogita et al., 2003; Zhu et al., 1994). Okuda e colaboradores (1997) demonstraram redução na área de infarto em coração de coelhos suplementados com EPA. Este efeito foi abolido pela administração de L-NAME (inibidor da NO sintase) antes da indução do infarto. Yanasigawa e Lefer (1987) utilizando artérias isoladas de coelhos e gatos demonstraram ação vasodilatadora do EPA independente da inibição da COX e LOX. Isso indica que EPA tem efeito vasodilatador independente da formação de eicosanóides. O EPA parece ter efeito cardioprotetor em períodos curtos de suplementação. McGuinness e colaboradores (2006) observaram que a infusão venosa de uma emulsão contendo EPA durante quatro dias, antes da indução de infarto, protege o coração de coelhos da injúria causada pela isquemia/reperfusão. Neste estudo, foi observado aumento na expressão da proteína HSP72 no coração dos animais suplementados com EPA antes da indução do infarto. O aumento na expressão das HSPs (*heat shock proteins*) no coração tem sido usado como indicador de pré-condicionamento e cardioproteção (Hutter et al., 1994).

Apesar de haver muitas evidências experimentais de que AGPI n-3 confere cardioproteção, estudos epidemiológicos não são conclusivos quanto a este efeito. Estudos observacionais evidenciam forte relação entre o consumo de peixe com a baixa mortalidade ou morbidade por doenças isquêmicas do coração (Dolecek, 1992; Kromhout et al., 1985; Rodriguez et al., 1996). Contudo, em trabalhos de intervenção clínica de prevenção secundária dos AGPI n-3 no IAM os resultados são divergentes. Nos estudos GISSI-Prevenzione Investigators (1999) e DART (1989) foi observada redução na mortalidade em pacientes infartados suplementados com óleo de peixe em relação aos que receberam placebo. Porém, nos ensaios ORIGIN Trial Investigators (2012), Omega (2010), Alpha-Omega (2010) e SU.FOL.OM3 (2010) não foram observados efeitos benéficos dos AGPI n-3 nas doenças isquêmicas do

coração. A presença de comorbidades como diabetes e hipertensão, uso de estatinas e anticoagulantes, diferentes doses de AGPI n-3 e diferenças genética entre as populações estudadas são alguns fatores que levaram à resultados divergentes nestes estudos (Barringer, 2012).

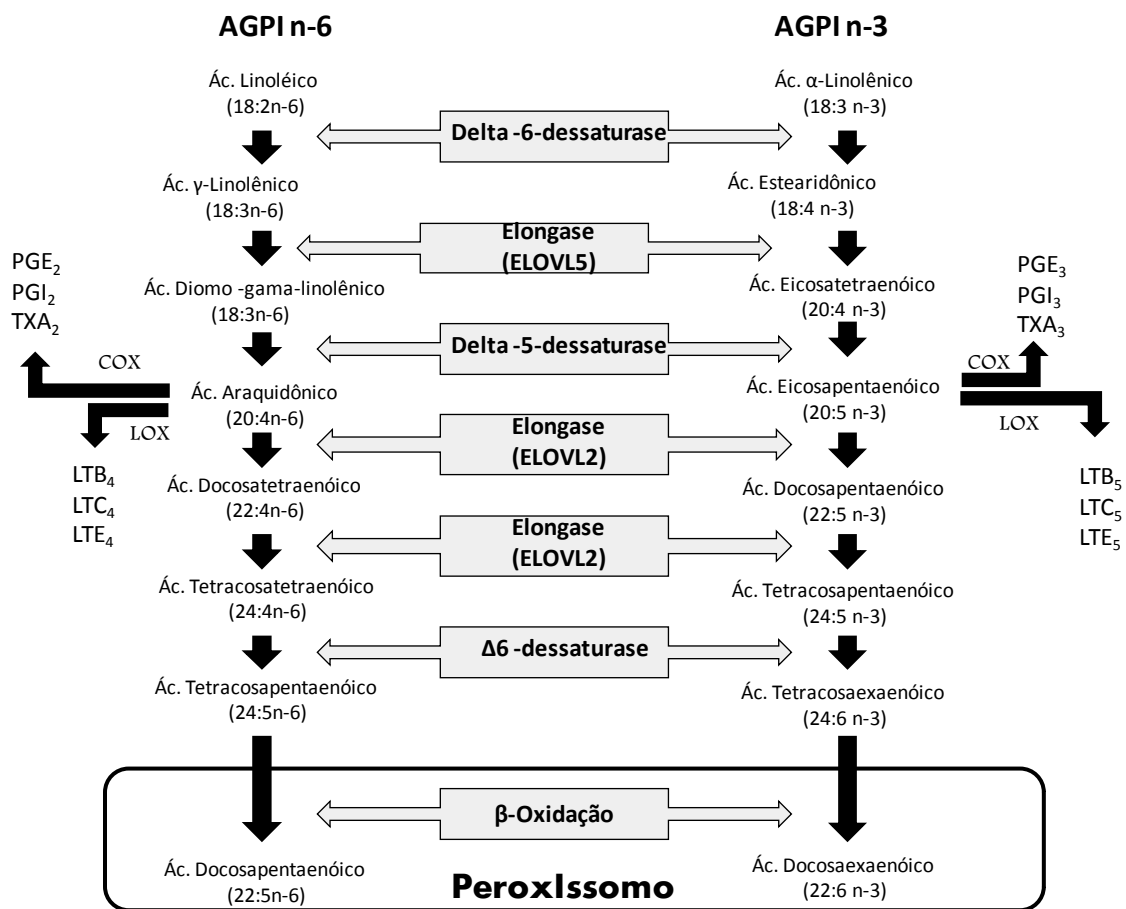


Figura 2 – Vias de metabolização dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 6 e 3. COX- ciclooxigenase, LOX – lipooxigenase (Adaptado de Schmitz, Ecker, 2008)

### 1.9 O modelo de infarto

O modelo por ligadura permanente da artéria descendente (LAD) foi inicialmente descrito por Heimburger em 1946. A técnica baseia-se na ligadura da coronária esquerda descendente com fio de sutura (descrição da técnica ver item 4.9).

Diferente do infarto induzido por fármaco (isoproterenol), onde ocorrem áreas difusas de necrose, o IAM induzido por LAD gera um núcleo necrótico circundado por



uma região de risco que pode ser quantificada por métodos histoquímicos ou ecocardiográfico (Santos et al., 2009). Outra vantagem deste método é a rapidez com que o infarto se instala o que possibilita investigar alterações metabólicas, inflamatórias e de função imediatas após a indução do infarto. Uma área esbranquiçada surge imediatamente após o bloqueio do fluxo sanguíneo e aparecem disfunções sistólica e diastólica já nas primeiras 3 horas após a oclusão coronariana (De Felice et al., 1989).

Existem dois tipos de ligaduras, a permanente da artéria descendente e a temporária chamada de isquemia e reperfusão. Na isquemia e reperfusão, bloqueia-se o fluxo coronariano por alguns minutos (fase de isquemia) e se restabelece o mesmo em seguida (fase de reperfusão). Embora a reperfusão restaure o suprimento de oxigênio, nutrientes e drena os produtos do metabolismo celular que se acumulam na isquemia, ela pode desencadear um processo conhecido como “lesão de reperfusão”, que exacerba o dano tecidual provocado pela isquemia (Sanada et al., 2011). No infarto por ligadura permanente, o dano tecidual, assim como as alterações metabólicas e inflamatórias decorrentes do infarto, são consequências unicamente do processo isquêmico, sem a interferência das alterações provocadas pela reperfusão. Isso permite avaliar os efeitos de drogas, nutrientes e/ou procedimentos sobre a tolerância do tecido cardíaco à isquemia.

A taxa elevada de mortalidade, entre 40 a 60 %, é uma desvantagem do modelo de ligadura permanente da coronária. A principal causa de óbito neste modelo é a prevalência alta de arritmias, como a taquicardia e fibrilação ventricular (Zornoff et al., 2009). Outro fator a ser considerado é a variabilidade no tamanho do infarto. A oclusão muito próxima da origem da artéria descendente esquerda pode gerar área de infarto muito grande, maior que 65% do ventrículo esquerdo, que obviamente, provoca taxa alta de mortalidade (Zornoff et al., 2009). Contudo, quando consideradas as medidas adequadas de suporte pós-cirúrgicos e a habilidade cirúrgica do experimentador estas desvantagens são minimizadas. Apesar disso, modelo de ligadura permanente continua sendo amplamente utilizado para avaliar função cardíaca (Fosshaugetal et al., 2011), controle autonômico (de La Fuente et al., 2013), resposta ao exercício físico (Rodrigues et al., 2012), processo inflamatório (Malfitano et al., 2010) e o metabolismo energético (Wan et al., 2010) no IAM.

## **2 CONCLUSÃO**

Neste trabalho concluímos que a suplementação com óleo de peixe durante 20 dias confere alterações metabólicas e de fluxo coronariano no ventrículo esquerdo que associa-se com menor área de infarto e melhora na função sistólica 24h após a indução do infarto.

## REFERENCIAS<sup>1</sup>

Abdukeyum GG, Owen AJ, McLennan PL. Dietary (n-3) long-chain polyunsaturated fatty acids inhibit ischemia and reperfusion arrhythmias and infarction in rat heart not enhanced by ischemic preconditioning. *J Nutr*. 2008 Oct;138(10):1902-9.

Abeywardena MY, Patten GS. Role of  $\omega$ 3 long chain polyunsaturated fatty acids in reducing cardio-metabolic risk factors. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2011 Sep 1;11(3):232-46.

Abozguia K, Nallur Shivu G, Ahmed I, Phan TT, Frenneaux MP. The heart metabolism: pathophysiological aspects in ischaemia and heart failure. *Curr Pharm Des*. 2009;15(8):827-35.

Adkins Y, Kelley DS. Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *J Nutr Biochem*. 2010 Sep;21(9):781-92.

Akbar M, Kim HY, "Protective effects of docosahexaenoic acid in staurosporine-induced apoptosis: involvement of phosphatidylinositol-3 kinase pathway." *Journal of Neurochemistry*. 2002 Aug;82(3):655-65.

Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*. 1974 Apr;20(4):470-5.

Alp PR, Newsholme EA, Zammit VA. Activities of citrate synthase and NAD<sup>+</sup>-linked and NADP<sup>+</sup>-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. *Biochem J*. 1976 Mar;154(3):689-700.

Amador E, Dorfman LE, Wacker WE. Serum lactic dehydrogenase activity: an analytical assessment of current assays. *Clin Chem*. 1963 Aug;12:391-9.

Anzai T. Post-Infarction inflammation and left ventricular remodeling. *Circ J*. 2013; 77(3):580-7.

Balakumar P, Taneja G. Fish oil and vascular endothelial protection: Bench to bedside. *Free Radic Biol Med*. 2012 Jul;53(2):271-9.

Balligand J, Kelly RA, Marsden PA, Smith TW, Michel T. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993 Jan 1;90(1):347-51.

Bang HO, Dyerberg J, Hjorne N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med Scand*. 1976;200(1-2):69-73.

---

<sup>1</sup> De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to *Biomedical Journal*: sample references. [updated 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.icmje.org>

Barceló-Coblijn G, Collison LW, Jolly CA, Murphy EJ. Dietary alpha-linolenic acid increases brain but not heart and liver docosahexaenoic acid levels. *Lipids*. 2005 Aug;40(8):787-98.

Barringer TA. Do omega-3 Fatty acids have a role in prevention of cardiovascular disease? *Front Physiol*. 2012 Oct 5;3:395.

Barth JH, Jackson BM, Farrin AJ, Efthymiou M, Worthy G, Copeland J, Bailey KM, Romaine SPR, Balmforth AJ, McCormack T, Whitehead A, Flather MD, Nixon J, Hall AS. Change in serum lipids after acute coronary syndromes: secondary analysis of SPACE ROCKET study data and a comparative literature review. *Clin Chem*. 2010 Oct;56(10):1592-98.

Bilheimer DW, Buja M, Parkey RW, Bonte FJ, Willerson JT. Fatty acid accumulation and abnormal lipid deposition in peripheral and border zones of experimental myocardial infarcts. *J Nucl Med*. 1978 Mar;19(3):276-83.

Blanchard H, Pédrone F, Boulier-Monthéan N, Catheline D, Rioux V, Legrand P. Comparative effects of well-balanced diets enriched in  $\alpha$ -linolenic or linoleic acids on LC-PUFA metabolism in rat tissues. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013 May;88(5):383-9.

Borsonelo EC, Vieira L, Galduróz JCF. The influence of the polyunsaturated fatty acids on body weight and anxiolytic-like behavior in female rats. *Nutr Neurosci*. 2013 Jan;16(1):2-5.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976 May 7;72:248-54.

Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation methods. *Enzymol*. 1978;52:302 - 10.

Burr GO, Burr MM. Nutrition classics from *The Journal of Biological Chemistry* 82:345-67, 1929. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *Nutr Rev*. 1973 Aug;31(8):248-9.

Burdge GC, Calder PC. Conversion of  $\alpha$ -linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reprod Nutr Dev*. 2005 Sep-Oct;45(5):581- 97.

Burkard N, Williams T, Czolbe M, Blömer N, Panther F, Link M, Fraccarollo D, Widder JD, Hu K, Han H, Hofmann U, Frantz S, Nordbeck P, Bulla J, Schuh K, Ritter O. Conditional over expression of neuronal nitric oxide synthase is cardioprotective in Ischemia/Reperfusion. *Circulation*. 2010 Oct;122(16):1588- 603.

Cai Z, Luo W, Zhan H, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is required for remote ischemic preconditioning of heart. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013 Oct 22;110(43):17462-7.

Calder PC, Dangour AD, Diekmann C, Eilander A, Koletzko B, Meijer GW, Mozaffarian D, Niinikoski H, Osendarp SJ, Pietinen P, Schuit J, Uauy R. Essential fats for future

health. Proceedings of the 9th Unilever Nutrition Symposium. Eur J Clin Nutr. 2010 Dec;64(4):S1-13.

Calder PC. n-3 fatty acid, inflammation and immunity new mechanisms to explain old actions. Proc Nutr Soc. 2013 Aug;72(3):326-36.

Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. Nutrients. 2010 Mar; 2(3):355-74.

Cleutjens JP, Kandala JC, Guarda E, Guntaka RV, Weber KT. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. J Mol Cell Cardiol. 1995a Jun; 27(6):1281-92.

Cleutjens JP, Verluyten MJA, Smits JFM, Daemen MJAP. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. Am J of Pathol. 1995b Aug; 147(2): 325-38.

Colucci WS, Braunwald E. Fisiopatologia da insuficiência cardíaca. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P. Tratado de medicina cardiovascular. 6ª edição. Sao Paulo: Roca; 2003. v. 1, p. 506-38.

Culp BR, Lands WE, Lucches BR, Pitt B, Romson J. The effect of dietary supplementation of fish oil on experimental myocardial infarction. Prostaglandins. 1980 Dec;20(6):1021-31.

Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK. Procópio, J (editores). Entendendo a gordura: os ácidos graxos. Manole, São Paulo, 2002. Capítulo Estrutura química e classificação dos ácidos graxos (Fabiana Graziola, Victor Sotero Solis e Rui Curi).

De Felice A, Frering R, Horan P. Time course of hemodynamic changes in rats with healed severe myocardial infarction. Am J Physiol. 1989 Jul;257:H289-96.

De La Fuente RN, Rodrigues B, Moraes-Silva IC, Souza LE, Sirvente R, Mostarda C, De Angelis K, Soares PP, Lacchini S, Consolim-Colombo F, Irigoyen MC. Cholinergic stimulation with pyridostigmine improves autonomic function in infarcted rats. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2013 Sep;40(9):610-6.

Doenst T, Guthrie PH, Chemnitz JM, Zech R, Taegtmeyer H. Fasting, lactate and insulin improve ischemia tolerance: a comparison with ischemic preconditioning. Am J Physiol. 1996 May;270:H1607-15.

Dolecek TA. Epidemiological evidence of relationships between dietary polyunsaturated fatty acids and mortality in the multiple risk factor intervention trial. Proc Soc Exp Bio Med. 1992 Jun;200(2):177-82.

Dorn GW 2nd, Diwan A. The rationale for cardiomyocyte resuscitation in myocardial salvage. J Mol Med. 2008 Oct;86(10):1085-95.

Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. Free Radic Biol Med. 1993 Oct;15(4):353-63.

Dyerberg J, Bang HO, Hjorne N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. Am J Clin Nutr. 1975 Sep;28(9):958-66.

Ebbert JO, Jensen MD. Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia. *Nutrients*. 2013 Feb 7;5(2):498-508.

Engel PC, Jones JB. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolite assays involving the use of NAD<sup>+</sup> in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for the assays of L-glutamate, L-lactate, and other metabolites. *Anal Biochem*. 1978 Aug 1;88(2):475-84.

Eslick GD, Howe PR, Smith C, Priest R, Bensoussan A. Benefits of fish oil supplementation in hyperlipidemia: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2009 Jul 24;136(1):4-16.

Fawcett JK, Scott JE. A rapid and precise method for the determination of urea. *J Clin Pathol*. 1960 Mar;13:156-9.

Fayssoil A. Which application for systolic wall stress and circumferential fiber velocity shortening in echocardiography in the tissue Doppler imaging era? *Int J Cardiol*. 2010 Oct;144(2):252-3.

Ferreira R. Redução do tamanho do enfarte – Quarenta anos de investigação. *Rev Port Cardiol*. 2010;29(7-8):1037-53.

Ferrier GR, Redundo I, Zhu J, Murphy MG. Differential effects of docosahexaenoic acid on contractions and L-type Ca<sup>2+</sup> current in adult cardiac myocytes. *Cardiovasc Res*. 2002;54:601–10.

Fillmore N, Lopaschuk GD. Targeting mitochondrial oxidative metabolism as an approach to treat heart failure. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Apr;1833(4):857-65.

Fleet WF, Johnson TA, Graebner CA, Gettes LS. Effect of serial brief ischemic episodes on extracellular K<sup>+</sup>, pH, and activation in the pig. *Circulation*. 1985 Oct;72(4):922-32.

Fosshaug LE, Berge RK, Beitnes JO, Berge K, Vik H, Aukrust P, Gullestad L, Vinge LE, Øie E. Krill oil attenuates left ventricular dilatation after myocardial infarction in rats. *Lipids Health Dis*. 2011 Dec 29;10:245.

Frangogiannis NG. The mechanistic basis of infarct healing. *Antioxid Redox Signal*. 2006 Nov-Dec;8(11-12):1907-39.

Frangogiannis NG. The immune system and the remodeling infarcted heart: cell biological insights and therapeutic opportunities. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2013 Sep 25.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun;18(6):499-502.

Gao JY, Yasuda S, Tsuburaya R, Ito Y, Shioto T, Hao K, Aizawa K, Kikuchi Y, Ito K, Shimokawa H. Long-term treatment with eicosapentaenoic acid ameliorates

myocardial ischemia-reperfusion injury in pigs in vivo. -Involvement of Rho-kinase pathway inhibition. *Circ J*. 2011;75(8):1843-51.

Goldbarg JA, Friedman OM, Pineda EP, Smith EE, Chatterji R, Stein EH, Rutenburg AM. The colorimetric determination of gamma-glutamyl transpeptidase with a synthetic substrate. *Arch Biochem Biophys*. 1960 Nov;91:61-70.

Graziosi P. Análise ecocardiográfica da estrutura e da função sistólica ventricular esquerda na hipertensão arterial. *HiperAtivo*. 1998a;3:161-74.

Graziosi P. Análise ecocardiográfica da função diastólica do ventrículo esquerdo na hipertensão arterial. *HiperAtivo*. 1998b;3:175-88.

Guillou H, Zadavec D, Martin PGP, Jacobsson A. The key roles of elongases and desaturases in mammalian fatty acid metabolism: Insights from transgenic mice. *Progr Lipid Res*. 2010 Apr;49(2):186-99.

Hakkinen JP, Miller MW, Smith AH, Knight DR. Measurement of organ blood flow with coloured microspheres in the rat. *Cardiovasc Res*. 1995 Jan;29(1):74-9.

Hall JCE, Priestley JV, Perry VH, Michael-Titus AT. Docosahexaenoic acid, but not eicosapentaenoic acid, reduces the early inflammatory response following compression spinal cord injury in the rat. *J Neurochem*. 2012;121:738–750.

Harris WS, Lu G, Rambjør GS, Wålen AI, Ontko JA, Cheng Q, Windsor SL. Influence of n-3 fatty acid supplementation on the endogenous activities of plasma lipases. *Am J Clin Nutr*. 1997 Aug;66(2):254-60.

Harris WS, Mozaffarian D, Lefevre M, Toner CD, Colombo J, Cunnane SC, Holden JM, Klurfeld, DM, Morris MC, Whelan J. Towards establishing dietary reference intakes for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *J Nutr*. 2009 Apr;139(4):804S-19.

Hausenloy DJ, Baxter G, Bell R, Bøtker HE, Davidson SM, Downey J, Heusch G, Kitakaze M, Lecour S, Mentzer R, Mocanu MM, Ovize M, Schulz R, Shannon R, Walker M, Walkinshaw G, Yellon DM. Translating novel strategies for cardioprotection: the Hatter Workshop Recommendations. *Basic Res Cardiol*. 2010 Nov;105(6):677-86.

Hearse DJ. Ischaemia, reperfusion and cardioprotection: successes and failures in the journey from molecule to man. *Eur Heart J Supplements*. 2001;3:C11-21.

Hearse DJ. Myocardial protection during ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem*. 1998;186:177-84.

Heimburger RF. Injection into pericardial sac and ligation of coronary artery of the rat. *Arch Surg*. 1946;52:677-89.

Hennig B, Toborek M, Joshi-Barve S, Barger SW, Barve S, Mattson MP, McClain CJ. Linoleic acid activates nuclear transcription factor-kappa B (NF-kappa B) and induces NF-kappa B-dependent transcription in cultured endothelial cells. *Am J Clin Nutr*. 1996 Mar;63(3):322-8.

- Hirasawa A, Tsumaya K, Awaji T, Katsuma S, Adachi T, Yamada M, Sugimoto Y, Miyazaki S, Tsujimoto G. Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120. *Nat Med*. 2005 Jan;11(1):90-4.
- Hochachka PW, Buck LT, Doll CJ, Land SC. Unifying theory of hypoxia tolerance: Molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. *Proc Natl Acad Sci* 1996 Sep;93(18):9493-8.
- Hock CE, Beck LD, Bodine RC, Reibel DK. Influence of dietary n-3 fatty acids on myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1990 Nov;259: H1518-26.
- Holman RT. The slow discovery of the importance of omega 3 essential fatty acids in human health. *J Nutr*. 1998 Feb;128(2):427S-33S.
- Horowitz JD, Chirkov YY, Kennedy JA, Sverdlov AL. Modulation of myocardial metabolism: an emerging therapeutic principle. *Current Opinion in Cardiology*. 2010 Jul;25(4):329–34.
- Hoy SM, Keating GM. Omega-3 ethylester concentrate: a review of its use in secondary prevention post-myocardial infarction and the treatment of hypertriglyceridaemia. *Drugs* 2009 May;69 (8):1077-105.
- Huss JM, Levy FH, Kelly DP. Hypoxia inhibits the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ /retinoid X receptor gene regulatory pathway in cardiac myocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(29):27605–12.
- Hutter MM, Sievers RE, Barbosa V, Wolfe CL. Heat-shock protein induction in rat hearts. A direct correlation between the amount of heat-shock protein induced and the degree of myocardial protection. *Circulation*. 1994 Jan;89(1):355-60.
- Igarashi M, Ma K, Chang L, Bell JM, Rapoport SI. Rat heart cannot synthesize docosahexaenoic acid from circulating  $\alpha$ -linolenic acid because it lacks elongase-2. *Journal of Lipid Research*. 2008 Aug;49(8):1735-45.
- Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res*. 1991;30(1):39-103.
- Jaffé MZ. *Physiol Chem*. 1886;10:391.
- Jennings RB, Sebbag L, Schwartz LM, et al. Metabolism of preconditioned myocardium: effect of loss and reinstatement of cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol*. 2001 Sep;33(9):1571-88.
- Kannel WB, Cupples LA, D'Agostino RB. Sudden death risk in overt coronary heart disease: the Framingham Study. *Am Heart J*. 1987 Mar;113(3):799-804.
- Karmen A. A note on the spectrometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J Clin Invest*. 1955 Jan;34(1):131-3.



Kempf T, Zarbock A, Vestweber D, Wollert KC. Anti-inflammatory mechanisms and therapeutic opportunities in myocardial infarct healing. *J Mol Med.* 2012 Apr; 90(4):361-9.

Kepler D, Decker K. Glycogen Determination with Amyloglucosidase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of Enzymatic Analyses.* 4th ed. Weinheim; Verlag Chemie; 1974. vol 3, p. 1127-31.

Khoynezhad A, Jalali Z, Tortolani AJ. Apoptosis: pathophysiology and therapeutic implications for the cardiac surgeon. *Ann Thorac Surg* 2004 Sep;78(3):1109 -18.

Kinsella JE, Lokesh B, Broughton S, Whelan J. Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoids: potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells: an overview. *Nutrition.* 1990 Jan-Feb;6(1):24-44.

Kleinfeld AM, Prothro D, Brown DL, Davis RC, Richieri GV, Demaria A. Increases in serum unbound free fatty acid levels following coronary angioplasty. *Am J Cardiol.* 1996 Dec;78(12):1350- 4.

Kloner RA, Longrace LS. State of the science of cardioprotection. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Pherapeutics.* 2011 Sep-Dec;16(3-4);223-32.

Kromhout, D., Bosschieter, E. B., and de Lezenne Coulander, C. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med.* 1985 May;312(19):1205–9.

Lagerstrom CF, Walker WE, Taegtmeyer H. Failure of glycogen depletion to improve left ventricular function of the rabbit heart after hypothermic ischemic arrest. *Circ Res.* 1988 Jul;63(1):81-6.

Lands WEM, Libelt B, Morris A, Kramer NC, Prewitt TE, Bowen P, Schmeisser D, Davidson MH, Burns JH. Maintenance of lower proportions of (n-6) eicosanoid precursors in phospholipids of human plasma in response to added dietary (n-3) fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1992 Dec 10;1180(2):147-62.

Leroy C, Tricot S, Lacour B, Grynberg A. Protective effect of eicosapentaenoic acid on palmitate-induced apoptosis in neonatal cardiomyocytes. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Nov-Dec;1781(11-12):685-93.

Li Q, Zhang Q, Wang M, Zhao S, Ma J, Luo N, Li N, Li Y, Xu G, Li J. Eicosapentaenoic acid modifies lipid composition in caveolae and induces translocation of endothelial nitric oxide synthase. *Biochimie.* 2007 Jan;89(1):169-77.

Li RC, Ping P, Zhang J, Wead WB, Cao X, Gao J, Zheng Y, Huang S, Han J, Bolli R. PKCepsilon modulates NF-kappaB and AP-1 via mitogen-activated protein kinases in adult rabbit cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Oct;279(4):H1679-89.

Liou YA, King DJ, Zibrik D, Innis SM. Decreasing linoleic acid with constant  $\alpha$ -linolenic acid in dietary fats increases (n-3) eicosapentaenoic acid in plasma phospholipids in healthy men. *J Nutr.* 2007 Apr;137(4):945-52.

Liou YM; Chang JCH. Differential pH Effect on Calcium-Induced Conformational Changes of Cardiac Troponin C Complexed with Cardiac and Fast Skeletal Isoforms of Troponin I and Troponin T. *J Biochem.* 2004;136:683–92.

Liu SQ, Tefft BJ, Zhang D, Roberts D, Schuster DJ, Wu A. Cardioprotective mechanisms activated in response to myocardial ischemia. *Mol Cell Biomech.* 2011 Dec;8(4):319-38.

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>(-Delta Delta C(T))</sup> Method. *Methods.* 2001 Dec;25(4):402-8.

López D, Orta X, Casós K, Sáiz MP, Puig-Parellada P, Farriol M, Mitjavila MT. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase in rat aorta after ingestion of fish oil-rich diet. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004 Aug;287(2):H567-72.

Lüscher TF, Yang ZH, Diederich D, Bühler FR. Endothelium-derived vasoactive substances: potential role in hypertension, atherosclerosis, and vascular occlusion. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1989;14(6):S63-9.

Maki KC, McKenney JM, Reeves MS, Lubin BC, Dicklin MR. Effects of adding prescription omega-3 acid ethyl esters to simvastatin (20 mg/day) on lipids and lipoprotein particles in men and women with mixed dyslipidemia. *Am J Cardiol.* 2008 Aug 15;102(4):429-33.

Malfitano C, Loureiro TCA, Rodrigues B, Sirvente R, Salemi VMC, Rabechi NB, Lacchini S, Curi R, Irigoyen MCC. Hyperglycaemia protects the heart after myocardial infarction: aspects of programmed cell survival and cell death. *Eur J Heart Fail.* 2010 Jul;12(7):659–67.

Mansour TE. Studies on heart phosphofructokinase. Active and inactive forms of the enzyme. *J Biol Chem.* 1965 May;240:2165-72.

Mantzioris E, James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary substitution with an  $\alpha$ -linolenic acid-rich vegetable oil increases eicosapentaenoic acid concentrations in tissues. *Am J Clin Nutr.* 1994 Jun;59(6):1304-9.

Maroko PR, Kjekshus JK, Sobel BE, Watanabe T, Covell JW, Ross J Jr, Braunwald E. Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions. *Circulation.* 1971 Jan;43(1):67-82.

Martinek RG. Spectrophotometric determination of abnormal hemoglobina pigments in blood. *Clin Chim Acta.* 1965 Feb;11:146-58.

Mather A. Reliability of bilirubin determinations in icterus of the newborn infant. *Pediatrics.* 1960 Sep;26:350-4.

Myerburg RJ, Castellanos A. Cardiac arrest and sudden death. In: Braunwald E, editor. *Textbook of cardiovascular medicine.* 6th ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 2001. p. 890-923.

McGowan MW, Artiss JD, Strandbergh DR, Zak B. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem*. 1983 Mar;29(3):538-42.

McGuinness J, Neilan TG, Sharkasi A, Bouchier-Hayes D, Redmond JM. Myocardial protection using an omega-3 fatty acid infusion: quantification and mechanism of action. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006 Jul;132(1):72-9.

McLennan PL, Abeywardena MY. Membrane basis for fish oil effects on the heart: linking natural hibernators to prevention of human sudden cardiac death. *J Membrane Biol*. 2005 Jul;206(2):85–102.

McLennan PL, Owen AJ, Slee EL, Theiss ML. Myocardial function, ischaemia and n-3 polyunsaturated fatty acids: a membrane basis. *J Cardiovasc Med*. 2007 Sep;8(1):S15-8.

Miyasaka CK, Mendonça JR, Nishiyama A, de Souza JA, Pires de Melo M, Pithon-Curi TC, Curi R. Comparative effects of fish oil given by gavage and fish oil-enriched diet on leukocytes. *Life Sci*. 2001 Aug 31;69(15):1739-51.

Mizuguchi K, Yano T, Tanaka Y, Ishibashi M, Masada A, Mizota M, Fukutake K, Saito Y. Mechanism of the lipid-lowering effect of ethyl all-cis-5,8,11,14,17-icosapentaenoate. *European Journal of Pharmacology*. 1993 Jan 26;231(1):121-7.

Mostarda C, Rodrigues B, Vane M, Moreira ED, Rosa KT, Moraes-Silva IC, Lacchini S, Casarini DE, De Angelis K, Irigoyen MC. Autonomic impairment after myocardial infarction: role in cardiac remodeling and Mortality. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2010; Apr;37(4):447-52.

Mostarda C, Rogow A, Silva IC, De La Fuente RN, Jorge L, Rodrigues B, Heeren MV, Caldini EG, De Angelis K, Irigoyen MC. Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. *Auton Neurosci*. 2009 Jan 28;145(1-2):11-6.

Mozaffarian D, Wu JHY. (n-3) Fatty acids and cardiovascular health: are effects of EPA and DHA shared or complementary? *J Nutr*. 2012 Mar;142(3):614S–25S.

Mukherjee PK, Marcheselli VL, Serhan CN, Bazan NG. “Neuroprotectin D1: a docosahexaenoic acid-derived docosatriene protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative stress.” *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004 Jun 1;101(22):8491-6.

Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986 Nov;74(5):1124-36.

Nasa Y, Sakamoto Y, Sanbe A, Sasaki H, Yamaguchi F, Takeo S. Changes in fatty acid compositions of myocardial lipids in rats with heart failure following myocardial infarction. *Mol Cell Biochem*. 1997 Nov;176(1-2):179-89.

Nielsen S, Karpe F. Determinants of VLDL-triglycerides production. *Curr Opin Lipidol*. 2012 Aug;23(4):321-6.

Ogita H, Node K, Asanuma H, Sanada S, Takashima S, Minamino T, Soma M, Kim J, Hori M, Kitakaze M. Eicosapentaenoic acid reduces myocardial injury induced by

ischemia and reperfusion in rabbit hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2003 Jun;41(6):964-9.

Oh DY, Talukdar S, Bae EJ, Imamura T, Morinaga H, Fan WG, Li P, Lu WJ, Watkins SM, Olefsky JM. GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating a potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*. 2010 Sep;42(5):687-8.

Okuda Y, Kawashima K, Sawada T, Tsurumaru K, Asano M, Suzuki S, Soma M, Nakajima T, Yamashita K. Eicosapentaenoic acid enhances nitric oxide production by cultured human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Mar 17;232(2):487-91.

Omura M, Kobayashi S, Mizukami Y, Mogami K, Todoroki-Ikedab N, Miyake T, Matsuzakia M. Eicosapentaenoic acid (EPA) induces Ca<sup>2++</sup>-independent activation and translocation of endothelial nitric oxide synthase and endothelium-dependent vasorelaxation. *Letters*. 2001 Jan 5;487(3):361-6.

Ortiz-Pérez JT, Meyers SN, Lee DC, Kansal P, Klocke FJ, Holly TA, Davidson CJ, Bonow RO, Wu E. Angiographic estimates of myocardium at risk during acute myocardial infarction: validation study using cardiac magnetic resonance imaging. *Eur Heart J*. 2007 Jul;28(14):1750-8.

Oskarsson HJ, Godwin J, Gunnar RM, Thomas JX. Dietary fish oil supplementation reduces myocardial infarct size in a canine model of ischemia and reperfusion. *J Am Coll Cardiol*. 1993 Apr;21(5):1280-5.

Otsuji S, Shibata N, Hirota H, Akagami H, Wada A. Highly purified eicosapentaenoic acid attenuates tissue damage in experimental myocardial infarction. *Jpn Circ J*. 1993 Apr;57(4):335-43.

Park Y, Jones PG, Harris WS. Triacylglycerol-rich lipoprotein margination: a potential surrogate for whole-body lipoprotein lipase activity and effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Am J Clin Nutr*. 2004 Jul;80(1):45-50.

Pereira JC, Barreto SM, Passos VMA. Perfil de risco cardiovascular e autoavaliação da saúde no Brasil: estudo de base populacional. *Rev Panam Salud Publica*. 2009 Jun;25(6):491-8.

Perman JC, Boström P, Lindbom M, Lidberg U, Ståhlman M, Hägg D, Lindskog H, Täng MS, Omerovic E, Hultén LM, Jeppsson A, Petursson P, Herlitz J, Olivecrona G, Strickland DK, Ekroos K, Olofsson S, Borén J. The VLDL receptor promotes lipotoxicity and increases mortality in mice following an acute myocardial infarction. *Clin Invest*. 2011 Jul;121(7):2625-40.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res*. 1979 Apr;44(4):503-12.

Piek JJ, Becker AE. Collateral Blood Supply to the Myocardium at Risk in Human Myocardial Infarction: A Quantitative Postmortem Assessment. *J Am Coll Cardiol*. 1988 Jun;1(6):1290-6.

Pompéia C, Lopes LR, Miyasaka CK, Procópio J, Sannomiya P, Curi R. Effect of fatty acids on leukocyte function. *Braz J Med Biol Res.* 2000 Nov;33(11):1255-68.

Przyklenk K, Maynard M, Darling CE, Whittaker P. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with post-conditioning. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Apr 8;51(14):1393-8.

Reimer KA, Jennings RB. The "wavefront phenomenon" of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest.* 1979 Jun;40(6):633-44.

Rett BS, Whelan J. Increasing dietary linoleic acid does not increase tissue arachidonic acid content in adults consuming Western-type diets: a systematic review. *Nutr Metab.* 2011 Jun;8:36.

Rodrigues B, Jorge L, Mostarda CT, Rosa KT, Medeiros A, Malfitano C, de Souza AL Jr, Viegas KA, Lacchini S, Curi R, Brum PC, De Angelis K, Irigoyen MC. Aerobic exercise training delays cardiac dysfunction and improves autonomic control of circulation in diabetic rats undergoing myocardial infarction. *J Card Fail.* 2012 Sep;18(9):734-44.

Rodrigues HR, Vinolo MAR, Magdalon J, Fujiwara H, Cavalcanti DMH, Farsky SHP, Calder PC, Hatanaka R, Curi R. Dietary free oleic and linoleic acid enhances neutrophil function and modulates the inflammatory response in rats. *Lipids.* 2010 Sep;45(9):809–19.

Rodriguez BL, Sharp DS, Abbott RD, Burchfiel CM, Masaki K, Chyou PH et al. Fish intake may limit the increase in risk of coronary heart disease morbidity and mortality among heavy smokers. The Honolulu heart program. *Circulation.* 1996 Sep 1;94(5):952–6.

Rosenson RS. Myocardial injury: the acute phase response and lipoprotein metabolism. *J Am Coll Cardiol.* 1993 Sep;22(3):933-40.

Rotstein NP, Politi LE, German OL, Girotti R, "Protective effect of docosahexaenoic acid on oxidative stress induced apoptosis of retina photoreceptors." *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003 May;44(5):2252–9.

Rousseau D, Héliès-Toussaint C, Moreau D, Raederstorff D, Grynberg A. Dietary n-3 PUFAs affect the blood pressure rise and cardiac impairments in a hyperinsulinemia rat model in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003 Sep;285(3):H1294–H302.

Ruf T, Arnold W. Effects of polyunsaturated fatty acids on hibernation and torpor: a review and hypothesis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008 Mar;294(3):R1044–R52.

Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical Pharmacology.* 2009 Mar 15;77(6):937-46.

Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301:H1723–H41.

Sanders TAB, Younger KM. The effect of dietary supplements of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids on the fatty acid composition of platelets and plasma choline phosphoglycerides. *Br J Nutr*. 1981 May;45(3):613.

Santos AA, Helber I, Flumignan RL, Antonio EL, Carvalho AC, Paola AA, Tucci PJ, Moises VA. Doppler echocardiographic predictors of mortality in female rats after myocardial infarction. *J Card Fail*. 2009 Mar;15(2):163-8

Schaefer S, Ramasamy R. Glycogen utilization and ischemic injury in the isolated rat heart. *Cardiovas Res*. 1997 Jul;35(1):90-8.

Schaffer SW, Croft CB, Solodushko V. Cardioprotective effect of chronic hyperglycemia: effect on hypoxia-induced apoptosis and necrosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000 Jun;278(6):H1948–H54.

Schneider CA, Taegtmeyer H. Fasting in vivo delays myocardial cell damage after brief periods of ischemia in the isolated working rat heart. *Circ Res*. 1991 Apr;60(4):1045-50.

Scheur J, Stezoski SW. Protective role of increased myocardial glycogen stores in cardiac anoxia in the rat. *Circ Res*. 1970 Nov;27(5):835-49.

Schmitz G, Ecker J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Prog Lipid Res*. 2008 Mar;47(2):147–55.

Serteser M, Koken T, Kahraman A, Yilmaz K, Akbulut G, Dilek ON. Changes in hepatic TNF- $\alpha$  levels, antioxidant status, and oxidation products after renal ischemia/reperfusion injury in mice. *J Surg Res*. 2002 Oct;107(2):234-40.

Shearer GC, Chen J, Chen Y, Harris WS. Myocardial infarction does not affect fatty-acid profiles in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2009 Nov-Dec;81(5-6):411-6.

Skyschally A, van Caster P, Boengler K, Gres P, Musiolik J, Schilawa D, Schulz R, Heusch G. Ischemic postconditioning in pigs: no causal role for RISK activation. *Circ Res*. 2009 Jan 2;104(1):15-8.

Soares PR, de Albuquerque CP, Chacko VP, Gerstenblith G, Weiss RG. Role of preischemic glycogen depletion in the improvement of postischemic metabolic and contractile recovery of ischemia-preconditioned rat hearts. *Circulation*. 1997 Aug;96(3):975-83.

Stalenhoef AF, de Graaf J, Wittekoek ME, Bredie SJ, Demacker PN, Kastelein JJ. The effect of concentrated n-3 fatty acids versus gemfibrozil on plasma lipoproteins, low density lipoprotein heterogeneity and oxidizability in patients with hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis*. 2000 Nov;153(1):129-38.

Sun Y. Myocardial repair/remodelling following infarction: roles of local factors. *Cardiovas Res*. 2009 Feb 15;81(3):482-90.

Swynghedauw B. Phenotypic plasticity of adult myocardium: molecular mechanisms. *J Exp Biol*. 2006 Jun;209(12):2320-7.

Taegtmeyer H. Gycogen in the heart – an expanded view. *J Mol Cell Cardiol*. 2004 Jul;37(1):7-10.

Tanzer ML, Gilvarg C. Creatine and creatine kinase measurement. *J Biol Chem*. 1959 Dec;234:3201-4.

Timerman A, Feitosa GA. Síndromes coronárias agudas. Rio de Janeiro: Atheneu; 2003.

Trinder P. Determination of blood glucose using an oxidaseperoxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J Clin Path*. 1969 Mar;22(2):158-61.

Tune JD, Gorman MW, Feigl EO. Matching coronary blood flow to myocardial oxygen consumption. *J Appl Physiol*. 2004;97:404-15.

Turner NA, Porter KE. Function and fate of myofibroblasts after myocardial infarction. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2013 Mar 1;6(1):5.

Vijaya Padma V, Shyamala Devi CS, Ramkumar KM. Effect of fish oil pretreatment on isoproterenol-induced changes in myocardial membrane phospholipids. *Nutrition*. 2006 Nov-Dec;22(11-12):1171-6.

Wallace FA, Miles EA, Calder PC. Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects. *Br J Nutr*. 2003 May;89(5):679- 89.

Wan R, Ahmet I, Brown M, Cheng A, Kamimura N, Talan M, Mattson MP. Cardioprotective effect of intermittent fasting is associated with an elevation of adiponectin levels in rats. *J Nutr Biochem*. 2010;21:413–7.

Wei MY, Jacobson TA. Effects of eicosapentaenoic acid versus docosahexaenoic acid on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *Curr Atheroscler Rep*. 2011 Dec;13(6):474-83.

Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Pathol*. 1946 Mar;10:40-9.

WHO - World Health Organization (on line). Cardiovascular Disease and Control: Missed Opportunities. 2011. Available from:

[http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/prevention\\_control/en/](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/prevention_control/en/).

Windt LJ, Willems J, Roemen THM, Coumans WA, Reneman RS, Vusse GJV, Bilsen MV. Ischemic-reperfused isolated working mouse hearts: membrane damage and type IIA phospholipase A2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001 Jun;280(6):H2572–H80.

Wroblewski F, Ladue JS. Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac with hepatic disease. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1956 Apr;91(4):569-71.

Xia Z, Vanhoutte PM. Nitric oxide and protection against cardiac ischemia. *Curr Pharm Des.* 2011;17(18):1774-82.

Xiao YF, Gomez AM, Morgan JP, Lederer WJ, Leaf A. Suppression of voltage-gated L-type Ca<sup>2+</sup> currents by polyunsaturated fatty acids in adult and neonatal rat ventricular myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:4182-47.

Xu G, Takashi E, Kudo M, Ishiwata T, Naito Z. Contradictory effects of short- and long-term hyperglycemias on ischemic injury of myocardium via intracellular signaling pathway. *Exp Mol Pathol.* 2004 Feb;76(1):57-65.

Yanagisawa A, Lefer AM. Vasoactive effects of eicosapentaenoic acid on isolated vascular smooth muscle. *Basic Res Cardio.* 1987 Mar-Apr;182(2):186-96.

Yang X, Cohen MV, Downey JM. Mechanism of Cardioprotection by Early Ischemic Preconditioning. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2010 Jun;24(3):225-34.

Zeghichi-Hamri S, de Lorgeril M, Salen P, Chibane M, de Leiris J, Boucher F, Laporte F. Protective effect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on myocardial resistance to ischemia-reperfusion injury in rats. *Nutr Res.* 2010 Dec;30(12):849-57.

Zhu BQ, Sievers RE, Sun YP, Morse-Fisher N, Parmley WW, Wolfe CL. Is the reduction of myocardial infarct size by dietary fish oil the result of altered platelet function? *Am Heart J.* 1994 Apr;127:744-55.

Zornoff LAM, Paiva SAR, Minicucci MF, Spadaro J. Infarto do miocárdio experimental em ratos: análise do modelo. *Arq Bras Cardiol.* 2009 Oct;93(4):434-40.