

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA**

**INFLUÊNCIA DOS DIFERENTES ÁCIDOS GRAXOS  
DA DIETA SOBRE UM MODELO ANIMAL DE MANIA  
INDUZIDO POR ANFETAMINA EM RATOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Fabíola Trevizol**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2010**

**INFLUÊNCIA DOS DIFERENTES ÁCIDOS GRAXOS DA  
DIETA SOBRE UM MODELO ANIMAL DE MANIA  
INDUZIDO POR ANFETAMINA EM RATOS**

**por**

**Fabíola Trevizol**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Bioquímica Toxicológica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Bioquímica Toxicológica**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilise Escobar Bürger**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2010**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica  
Toxicológica**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
Aprova a Dissertação de Mestrado

**INFLUÊNCIA DOS DIFERENTES ÁCIDOS GRAXOS DA DIETA  
SOBRE UM MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO POR  
ANFETAMINA EM RATOS**

elaborada por  
**Fabíola Trevizol**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Bioquímica Toxicológica**

**Comissão Examinadora**

---

**Marilise Escobar Bürger, Dr<sup>a</sup>.**  
(Presidente/Orientadora)

---

**Lisiane Oliveira Porciúncula, Dr<sup>a</sup>.** (UFRGS)

---

**Cristina Wayne Nogueira, Dr<sup>a</sup>.** (UFSM)

Santa Maria, 22 de abril de 2010.

À Deus, pela minha vida,  
pela minha família e  
pelas oportunidades concedidas.

## AGRADECIMENTOS

Nenhuma palavra aqui escrita é capaz de descrever todo o carinho e eterno agradecimento aos que estiveram presentes ao longo desta etapa. Pessoas grandiosas, que tornaram mais fácil a execução das tarefas que nos são confiadas e entram em nossa vida deixando ensinamentos e exemplos valiosos e que sem elas, muitas coisas seriam inviáveis e impraticáveis.

Aos meus pais, Aristeu e Rosani, por todo amor e apoio, pelo esforço para minha formação, pela oportunidade de crescimento e pela minha felicidade. Obrigada pela confiança que sempre depositaram em mim. Amo vocês.

Ao Juliano, pelo amor, carinho, companheirismo e incentivo sempre, por me fazer acreditar que este desafio era possível, e pela compreensão nas minhas ausências. A você e a toda a sua família, o meu muito obrigada.

As minhas amadas irmãs, Rochelle e Tanise, pelo apoio e carinho.

À professora Marilise, minha orientadora, pela dedicação, pela oportunidade de trabalhar e aprender com ela, pela confiança em mim depositada e pelo incentivo nos momentos de desafio. OBRIGADA POR TUDO.

Aos meus amigos e colegas de laboratório Angélica, Camila, Dalila, Geisa, Hecson, Nardeli, Patrícia, Raquel e Verônica, que com suas presenças tornaram meus dias de trabalho tão especiais, com vocês divido os méritos deste trabalho, já que foram parceiros incansáveis nas muitas horas de laboratório e também na descontração. Muito obrigada de coração.

Ao prof João Batista Teixeira da Rocha, por estar sempre disposto em me ajudar, pela amizade, pelo exemplo, pelos ensinamentos e pelas estimáveis sugestões apresentadas. E também a Romaina, minha querida amiga, pela disposição de me ajudar sempre, muito obrigada.

À CAPES, pela bolsa de mestrado concedida.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências biológicas(Bioquímica Toxicológica) pela possibilidade de realização desse curso.

Satisfaction of one's curiosity is one of the greatest  
sources of happiness in life.

Linus Pauling

1901-1994

## RESUMO

Dissertação de mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica  
Universidade Federal de Santa Maria

### **INFLUÊNCIA DOS DIFERENTES ÁCIDOS GRAXOS DA DIETA SOBRE UM MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO POR ANFETAMINA EM RATOS**

AUTORA: Fabíola Trevizol  
ORIENTADORA: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marilise Escobar Bürger

LOCAL E DATA DA DEFESA: Santa Maria, abril de 2010

Ácidos graxos (AG) são constituintes importantes das membranas fosfolipídicas neuronais e desempenham importantes funções no desenvolvimento e funcionamento do cérebro. Durante as últimas décadas foram observadas mudanças nos hábitos alimentares de países ocidentais, com aumento do consumo de AG *trans* e ômega-6 (n-6) em detrimento do consumo de ácidos graxos ômega-3 (n-3), cujas conseqüências podem estar relacionadas a um aumento dos danos oxidativos, facilitando o desenvolvimento de doenças neuropsiquiátricas. A influência da suplementação com AG n-6 (óleo de soja-OS), *trans* (gordura vegetal hidrogenada-GVH) e n-3 (óleo de peixe-OP) sobre parâmetros comportamentais e de estresse oxidativo (EO) foram estudados em um modelo animal de mania. Ratos tratados oralmente com suspensões de OS, GVH e OP, junto à água de beber durante 8 semanas, receberam nos últimos sete dias administrações diárias de anfetamina (ANF-4mg/kg, ip) ou veículo. Atividade locomotora, os níveis de vitamina C (VIT C) plasmático, marcadores de oxidação de proteínas e a viabilidade de fatias do estriado e córtex foram determinados. Animais suplementados com GVH mostraram um aumento da atividade locomotora, maior nível de proteínas carbonil no córtex, e menor viabilidade nas fatias do estriado e córtex, demonstrando efeitos prejudiciais *per se*. O tratamento com ANF aumentou a atividade locomotora dos animais de todos os grupos experimentais, porém este efeito mostrou maior intensidade nos animais que receberam a suplementação com GVH (456%). Semelhante, a ANF aumentou a carbonilação de proteínas no estriado (39.5%) e córtex (78%) dos animais suplementados com GVH, enquanto OS e OP preveniram o dano causado pela ANF no córtex. O tratamento com ANF diminuiu a viabilidade mitocondrial nos tecidos cerebrais de todos os grupos, entretanto o grupo suplementado com GVH apresentou maiores danos (46 e 44% de viabilidade no estriado e córtex, respectivamente). A ANF diminuiu os níveis de VIT C no plasma dos animais suplementados com OS e GVH (22.5 e 22.4%, respectivamente), e este parâmetro antioxidante não foi alterado nos ratos tratados com OP. Os resultados do presente estudo sugerem que os ácidos graxos *trans* presentes na GVH podem aumentar os danos oxidativos *per se*, deixando os animais mais expostos aos danos da ANF. A suplementação com ácidos graxos n-3 presentes no OP mostraram efeitos protetores sutis, representados pela preservação dos níveis de VIT C plasmático e menor oxidação de proteínas no córtex. Maiores estudos devem ser realizados para determinar a influência do consumo de

ácidos graxos trans sobre a atividade neuronal, e conseqüentemente sobre a suscetibilidade para o desenvolvimento de desordens psiquiátricas entre estas, o transtorno bipolar.

Palavras-chave: ácidos graxos *trans*; ácidos graxos n-6; ácidos graxos n-3; mania; transtorno bipolar e estresse oxidativo.



## ABSTRACT

Master Dissertation  
Graduate Course in Biological Sciences: Toxicological Biochemistry  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### **INFLUENCE DIFFERENT FATTY ACID OF THE DIET ON AN ANIMAL MODEL OF MANIA INDUCED BY AMPHETAMINE IN RATS**

AUTHOR: Fabíola Trevizol  
ADVISOR: Marilise Escobar Bürger  
DATE AND PLACE OF THE DEFENSE: Santa Maria, April, 22<sup>th</sup>, 2010.

Fatty acids (FA) are constituent important of the neuronal phospholipids membranes and they carry out important functions in the development and function of the brain. During the last decades changes were observed in the feeding habits of western countries, with an increase of the *trans* FA and omega-6 (n-6) and detriment of omega-3 fatty acids (n-3) consumption, contributing to increase the oxidative stress (OS) generation and development of neuropsychiatric disorders. The influence of FA supplementation containing n-6 (soybean oil-SO), *trans* (hydrogenated vegetable fat-HVF) and n-3 (fish oil-FO) on behavioral parameters and OS were studied in an animal model of mania. Rats were orally treated for 8 weeks with suspensions of SO, HVF and FO in place of drinking water, and treated with seven daily administrations of amphetamine (AMPH-mg/kg, ip) or vehicle, in the last week of oral treatment. Locomotor activity, vitamin C (VIT C) levels, protein oxidation and mitochondrial slices in striatum and cortex were evaluated. HVF supplemented rats showed an increase in the locomotor activity, higher levels of carbonyl protein in the cortex, and lower mitochondrial viability in the striatum and cortex, showing harmful effects *per se*. AMPH treatment increased the locomotor activity of all groups, but this effect showed greater intensity in the rats orally treated with HVF (456%). Similarly, AMPH increased the carbonyl protein levels in striatum (39.5%) and cortex (78%) of the animals orally treated with HVF, while SO and FO prevented it in the cortex. AMPH treatment decreased the mitochondrial viability in cortex and striatum of supplemented rats with all the FA; however the HVF group showed greater damage (46 and 44% of viability in the striatum and cortex, respectively). AMPH reduced the VIT C plasma levels of the HVF and SO groups (22.5 and 22.4% respectively), and this antioxidant parameter has not been changed in the FO treated rats. Here, we suggest that the *trans* FA contained in the HVF may increase the oxidative damages *per se*, leaving the rats more vulnerable to AMPH damage. FA n-3 contained in the FO showed subtle protecting effects, which were observed by preservation of the VIT C levels and lower levels of carbonyl protein in the cortex. Further studies should be conducted to evaluate the influence of the *trans* fatty acids consumption on neuronal activity, and consequently on the susceptibility to psychiatric disorders development among them the bipolar disorder.

**Key-words:** *trans* fatty acids; n-6 fatty acids; n-3 fatty acids; mania; bipolar disorder and oxidative stress.

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ácido Araquidônico - AA

Ácido Docosahexaenóico – DHA

Ácido Eicosapentaenóico – EPA

Ácido Graxo – AG

Ácido Graxo saturado – AGS

Ácido Graxo *Trans* – AGT

Ácido Linoléico – LA

Ácido  $\alpha$ -linolênico – ALA

Ácido Graxo Poliinsaturado – PUFA (em inglês polyunsaturated fatty acids)

Ácido Graxo Essencial – EFA (em inglês essential fatty acids)

Anfetamina – ANF

Catalase – CAT

Dopamina – DA

Espécies Reativas do Oxigênio - EROs

Estresse Oxidativo – EO

Glutathione Peroxidase – GPx

Gordura Vegetal Hidrogenada – GVH

Neuroprotectina D1 – NPD1

Óleo de peixe – OP

Óleo de soja – OS

Ômega 3 – n-3

Ômega 6 - n-6

Radicais Livres – RL

Sistema Nervoso Central – SNC

Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico - TBARS (em inglês thiobarbituric acid reactive substances)

Superóxido Dismutase – SOD

Transtorno Bipolar – TB

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	13
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	17
2.1. <b>Objetivo Geral</b> .....	17
2.2. <b>Objetivos Específicos</b> .....	17
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
<b>3.1. Lipídeos</b> .....	18
<b>3.2 Ácidos graxos essenciais</b> .....	19
3.2.1. Ácidos Graxos Essenciais e Funções Cerebrais.....	21
3.2.2. Carência de EFAs e a suscetibilidade às doenças .....	23
<b>3.3. Ácidos graxos <i>trans</i></b> .....	24
3.3.1. Ácidos graxos <i>trans</i> e ações sobre as funções celulares .....	26
3.3.2. Ácidos graxos <i>trans</i> e o desenvolvimento de doenças.....	27
<b>3.4. Consumo de ácidos graxos essenciais X ácidos graxos <i>trans</i></b> .....	28
<b>3.5. Transtorno bipolar</b> .....	29
3.5.1. Modelo animal de mania.....	32
<b>4. MANUSCRITO</b> .....	34
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	54
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	56
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	57

## APRESENTAÇÃO

Nos itens **INTRODUÇÃO** e **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**, constam uma revisão sucinta da literatura sobre os temas trabalhados nesta dissertação.

A metodologia realizada e os resultados obtidos que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de um manuscrito, que se encontra no item **MANUSCRITO**. No mesmo contam as seções: Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas.

Os itens **DISCUSSÃO** e **CONCLUSÕES**, encontradas no final desta dissertação, apresentam descrições, interpretações e comentários gerais sobre os resultados do manuscrito presente neste trabalho.

As **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens **INTRODUÇÃO**, **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**, **DISCUSSÃO** e **CONCLUSÕES** desta dissertação.

## 1- INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, foi observado um aumento do consumo de alimentos industrializados nos países ocidentais (BAGGIO e BRAGAGNOLO, 2006). Estes alimentos contêm quantidades significativas de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados (PUFAs, do inglês “polyunsaturated fatty acids”) da série ômega-6 (n-6) (BAGGIO e BRAGAGNOLO, 2006; SAGUY e DANA, 2003), bem como concentrações consideráveis de ácidos graxos *trans* (AGT) (HULSHOF e cols., 1999; ALLISON e cols., 1999). Essa mudança nos hábitos alimentares promoveu um aumento da relação entre PUFAs n-6/n-3, principalmente pela ingestão reduzida de ácidos graxos ômega-3 (n-3) (AILHAUD e cols., 2006). O aumento do consumo de AGT representa uma perda no valor nutricional dos alimentos, e o impacto desta condição na saúde humana precisa ser monitorado.

Os PUFAs n-3 e n-6 são denominados ácidos graxos essenciais (EFA, do inglês “Essential Fatty Acids”). De modo geral, os EFAs n-6 são abundantemente encontrados nos óleos vegetais, enquanto os EFAs n-3 estão presentes em oleaginosas como nozes, castanhas, em alguns óleos vegetais (linhaça e canola), e nos peixes de águas frias e profundas como a sardinha e o salmão. Os EFAs são os principais componentes das membranas fosfolipídicas e a sua ingestão da dieta reflete a composição das membranas fosfolipídicas neuronais (HAAG, 2003; YEHUDA e cols., 2005), o que afeta importantes funções fisiológicas, dentre estas: a influência na resposta inflamatória e geração de radicais livres, fluidez e permeabilidade da membrana neuronal, densidade e responsividade dos receptores de membrana, transdução de sinais, entre outros (YEHUDA, 2003; DAS, 2003; YEHUDA e cols., 2005).

PUFAs n-6, como o ácido araquidônico, são precursores de eicosanóides com maior propriedade pró-inflamatória, a qual se relaciona a dor, inflamação e gênese tumoral (BORSONELO e GALDURÓZ, 2008). Já os PUFAs n-3 estão relacionados com a síntese de eicosanóides menos pró-inflamatórios, neuroprotectinas e resolvinas (antioxidantes nutricionais), e também influenciam a transdução de sinais, controlando a atividade de neurotransmissores (dopamina, serotonina e glutamato) (YEHUDA, 2003; CHALON e cols., 2001) e de segundos mensageiros (NATALIE e cols. 2009).

Os AGT presentes na dieta são oriundos principalmente de AG parcialmente hidrogenados de ampla utilização em alimentos industrializados (CANTWELL e cols., 2005; MOZAFFARIAN e cols., 2006), de óleos refinados, e em menores proporções na carne, leite

e produtos derivados de ruminantes (PRECHT e MOLKENTIN, 1996; STENDER e cols., 2008).

Um alto consumo de AGT em uma dieta deficiente de EFAs conduz a substituição destes pelos AGT nas membranas fosfolipídicas celulares, causando alterações na fluidez de membrana e nas respostas de seus receptores (GURR e HARWOOD, 1991; ROACH e cols., 2004), além de um aumento nos marcadores de inflamação (MOZAFFARIAN, 2006). As conseqüências associadas ao consumo desproporcional de alimentos ricos em AGT incluem deficiências do sistema imunológico (ENIG, 2000), disfunções sexuais, aumento do risco para doenças cardiovasculares (SUN e cols., 2007; MENSINK e cols., 2003; CÓLON-RAMOS e cols., 2006; WILLETT, 2006) e diabetes (SALMERÓN e cols., 2001; HU e cols., 2001). Sugere-se ainda que os ácidos graxos *trans* possam afetar o desenvolvimento fetal por inibição da biossíntese de EFAs (DECSI e KOLETZKO, 1995), além de causar uma redução sérica da vitamina E após o nascimento (KOLETZKO, 1992; CASSAGNO e cols., 2005).

Levando em consideração as mudanças dos hábitos alimentares, estudos associam baixas concentrações de EFAs n-3 a diferentes desordens de natureza neurológica e psiquiátrica (PEET e STOKES, 2005; RICHARDSON, 2006; BORSONELO e GALDURÓZ, 2008), especialmente depressão, hiperatividade, doença de Hüntington, esquizofrenia, transtorno bipolar (TB) (STOLL e cols., 1999; CLIFFORD e cols., 2002; BOURRE, 2004; DAS, 2004; YEHUDA e cols., 1987; 2005; PARKER e cols., 2006), entre outras.

O TB é caracterizado pela oscilação crônica do humor entre dois pólos (depressão e mania) (WEISSMAN e cols., 1996; GRANT e cols., 2005; MÜLLER-OERLINGHAUSEN, BERHOFER e BAUER 2002). Apesar do elevado impacto social, pouco se sabe a respeito da fisiopatologia do TB, cujas bases biológicas incluem estudos relacionados às vias neuro-hormonais, neuro-transmissão, vias de transcrição de sinal, regulação da expressão gênica, estresse oxidativo (EO), entre outros (SHALTIEL, CHEN e MANJI, 2006).

Evidências mostram o envolvimento de espécies reativas de oxigênio (EROS) nos transtornos neurológicos e psiquiátricos devido a elevada vulnerabilidade do sistema nervoso central ao estresse oxidativo (TAKUMA, BABA e MATSUDA 2004). Estudos recentes têm mostrado alterações na atividade das enzimas antioxidantes de pacientes com TB, bem como maiores danos oxidativos (MACHADO-VIEIRA, 2007; OZCAN e cols., 2004; RANJEKAR e cols., 2003; KULOGLU e cols., 2002).

Neste contexto, a mudança dos hábitos alimentares nos países ocidentais (SIMOPOLOUS, 2006), motivada principalmente pelo consumo de “fast foods” e alimentos pré-prontos congelados, e o aumento da incidência de desordens neuro-psiquiátricas (HAAG,

2003) têm despertado o interesse e o debate no meio científico. No entanto, tais observações carecem de estudos experimentais e clínicos, raramente encontrados na literatura. Diferentemente, estudos de outra natureza, tais como a influência desta mudança de hábito alimentar (consumo elevado de gordura *trans* e pobre em gordura insaturada) sobre o desenvolvimento de doenças hiperlipidêmicas, cardiovasculares, obesidade e diabetes (SUN e cols., 2007; MENSINK e cols, 2003; CÓLON-RAMOS e cols, 2006; WILLET, 2006; SALMERÓN e cols, 2001; HU e cols, 2001), são facilmente encontrados na literatura. Tais observações foram o estímulo inicial para o desenvolvimento do presente estudo.

## **2. OBJETIVOS:**

### **2.1. Objetivo geral:**

O objetivo deste estudo foi investigar a influência da suplementação de gordura vegetal hidrogenada (rico em AG trans), óleo de soja (rico AG n-6) e óleo de peixe (rico em AG n-3), sobre parâmetros de comportamento e marcadores de estresse oxidativo em ratos, bem como a influência do consumo destes ácidos graxos sobre o desenvolvimento de desordens neuropsiquiátricas, avaliado através de um modelo animal de mania.

### **2.2. Objetivos específicos:**

- Tratar ratos Wistar com diferentes ácidos graxos a partir do desmame (21 dias de idade) e avaliar sua influência sobre parâmetros de comportamento e alterações bioquímicas (danos oxidativos e defesas antioxidantes);
- Tratar ratos Wistar com diferentes ácidos graxos a partir do desmame (21 dias de idade) e avaliar a suscetibilidade dos mesmos para o desenvolvimento de mania induzida por anfetamina;
- Avaliar o efeito dos diferentes AG suplementados na dieta sobre níveis plasmáticos de vitamina C, e sobre os níveis de carbonilação de proteínas em tecidos do cérebro (córtex e estriado), bem como a viabilidade mitocondrial, determinada nos mesmos tecidos cerebrais;
- Avaliar o efeito da administração de anfetamina sobre níveis plasmáticos de vitamina C, e sobre os níveis de carbonilação de proteínas e a viabilidade mitocondrial em córtex e estriado dos animais tratados com as diferentes suplementações;



### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA:**

#### **3.1. Lipídeos**

Os alimentos possuem quantidades significativas de lipídios (triglicerídios, diglicerídeos, monoglicerídeos, colesterol, ésteres de colesterol, ácidos graxos e fosfolipídios) (SALEM, 1999), os quais, juntos com proteínas e hidratos de carbono fornecem energia ao corpo, mantendo outros processos celulares vitais.

Quimicamente, os lipídeos são misturas de glicerídeos que, por sua vez, são estruturas formadas pela associação química entre o glicerol e uma, duas ou três moléculas de ácidos graxos. Os ácidos graxos (AG) são formados por uma cadeia hidrocarbonada (2 a 20 ou mais átomos de carbono), com uma carboxila ( $\text{HO-C=O}$ ) em um extremo da cadeia e uma metila ( $\text{CH}_3$ ) no outro, cuja classificação envolve a sua estrutura química e o comprimento da cadeia carbônica, podendo ser saturados (sem dupla ligação na cadeia), monoinsaturados (uma dupla ligação) ou poliinsaturados (duas ou mais duplas ligações).

Os AG saturados se encontram, predominantemente, em alimentos como carne, ovos, queijo, leite, manteiga, óleos de coco e palma e também em óleos vegetais hidrogenados. O ácido oléico é o mais comum dos AG monoinsaturados e se encontra na maioria das gorduras animais, incluindo carne de aves, de vaca e cordeiro, bem como em azeitonas, sementes e nozes.

Uma alimentação equilibrada deve conter até 30% do total diário das calorias, em forma de lipídeos. AG são fundamentais em muitos processos vitais, sendo que alguns destes podem ser destacados: produção hormonal; transporte de vitaminas; envolvimento nas membranas celulares; participação nas funções imunológica e pró/anti-inflamatórias; redução do esvaziamento gástrico com influência no poder de saciedade das dietas; participação no sabor e textura dos alimentos.

### 3.2. Ácidos Graxos Essenciais

Os PUFAS são considerados ácidos graxos essenciais por não serem sintetizados em mamíferos e necessários para compor a membrana fosfolipídica neuronal (SOLFRIZZI e cols., 2005; YEHUDA e cols., 2005; HONSTRA, 2001), o que requer a sua ingestão a partir da dieta. Podem ser classificados principalmente nas séries ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3), que se diferenciam na posição da primeira dupla ligação contando a partir do grupo metílico terminal da cadeia. O ácido linoléico (LA, 18:2 n-6) (figura 1), representante da série n-6, está presente em abundância nos óleos vegetais de girassol, milho, soja, algodão entre outros (SANGIOVANNI e CHEW, 2005). Os AG da série n-3 como o ácido  $\alpha$ -linolênico (ALA, 18:3 n-3) (figura 2) é encontrado em quantidades apreciáveis nas nozes e sementes oleaginosas como a linhaça, canola e soja (DZIEZAK, 1989; HULBERT e cols., 2004). Já os ácidos eicosapentaenóico (EPA, 20:5 n-3) (figura 2) e docosahexaenóico (DHA, 22:6 n-3) (figura 2), os quais são considerados AG de cadeia muito longa (LC-PUFA do inglês “Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids”), são encontrados em algas, microalgas, fitoplâncton e peixes (salmão, sardinha, truta...) de águas salgadas frias e profundas (WAINWRIGHT, 1992; HULBERT e cols., 2004).

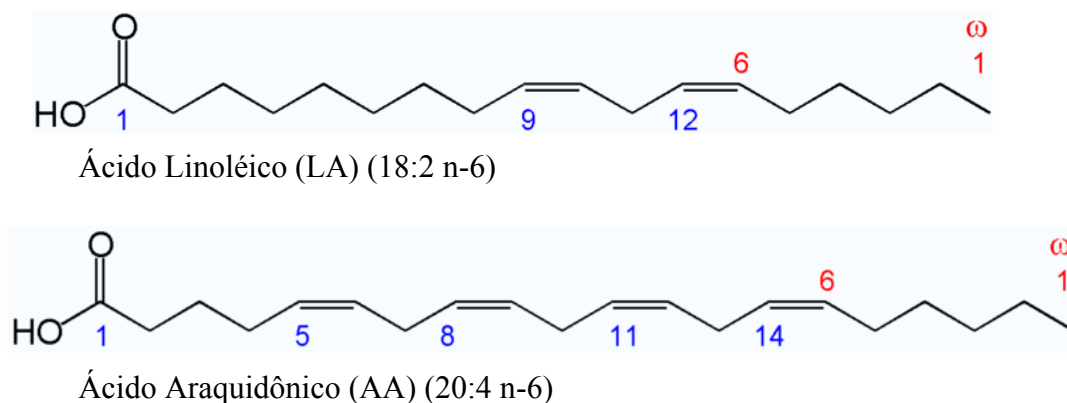


Figura 1 : Ácidos Graxos Essenciais Poliinsaturados Ômega 6 (n-6)

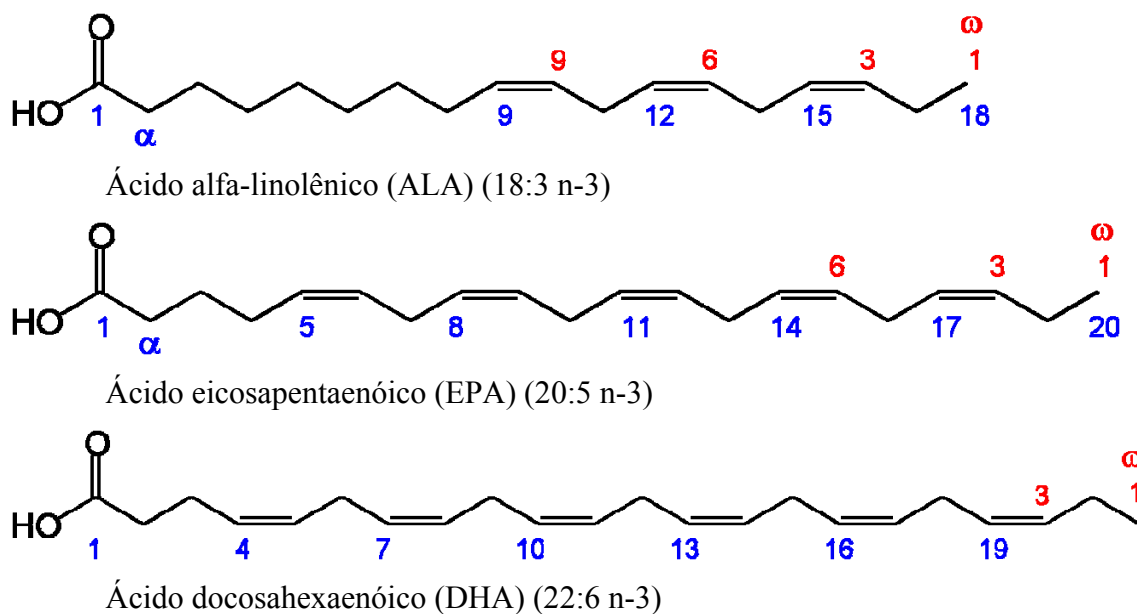


Figura 2. Ácidos Graxos Essenciais Poliinsaturados Ômega 3 (n-3)

Os ácidos linolêico e  $\alpha$ -linolênico, quando consumidos, podem ser alongados em cadeias de pelo menos 20 ou 22 carbonos (Figura 3). O LA pode ser metabolizado em outros AG da série n-6, incluindo o ácido araquidônico (AA, 20:4 n-6). O ALA é metabolizado em outros AG n-3, entre eles o EPA e o DHA, tendo sido demonstrado que os níveis teciduais de EPA podem ser aumentados com a maior ingestão de alimentos ricos em ALA, porém os níveis de DHA não são alterados (MANTZIORIS e cols., 2000). Este processo metabólico é mediado por enzimas conhecidas como alongases (adição de duas unidades de carbono) e dessaturases (adição de dupla ligação), as quais participam na formação dos LC-PUFAs, n-6 e n-3, resultando em uma competição metabólica entre os dois grupos (SALEM, 1999). Como resultado dessa competição, EMKEN e cols. (1994) mostraram que a conversão de ALA em metabólitos LC-PUFAS pelas dessaturases, ficou reduzido em  $\approx 50\%$  quando o consumo de LA foi duplicado, considerando o consumo total de energia diária. Neste sentido, um excesso de LA poderá dificultar a transformação de ALA nos derivados EPA e DHA, e vice-versa. O equilíbrio do consumo desses dois sub-tipos de ácidos graxos é necessário para a manutenção adequada de suas diferentes funções fisiológicas (SALEM, 1999).

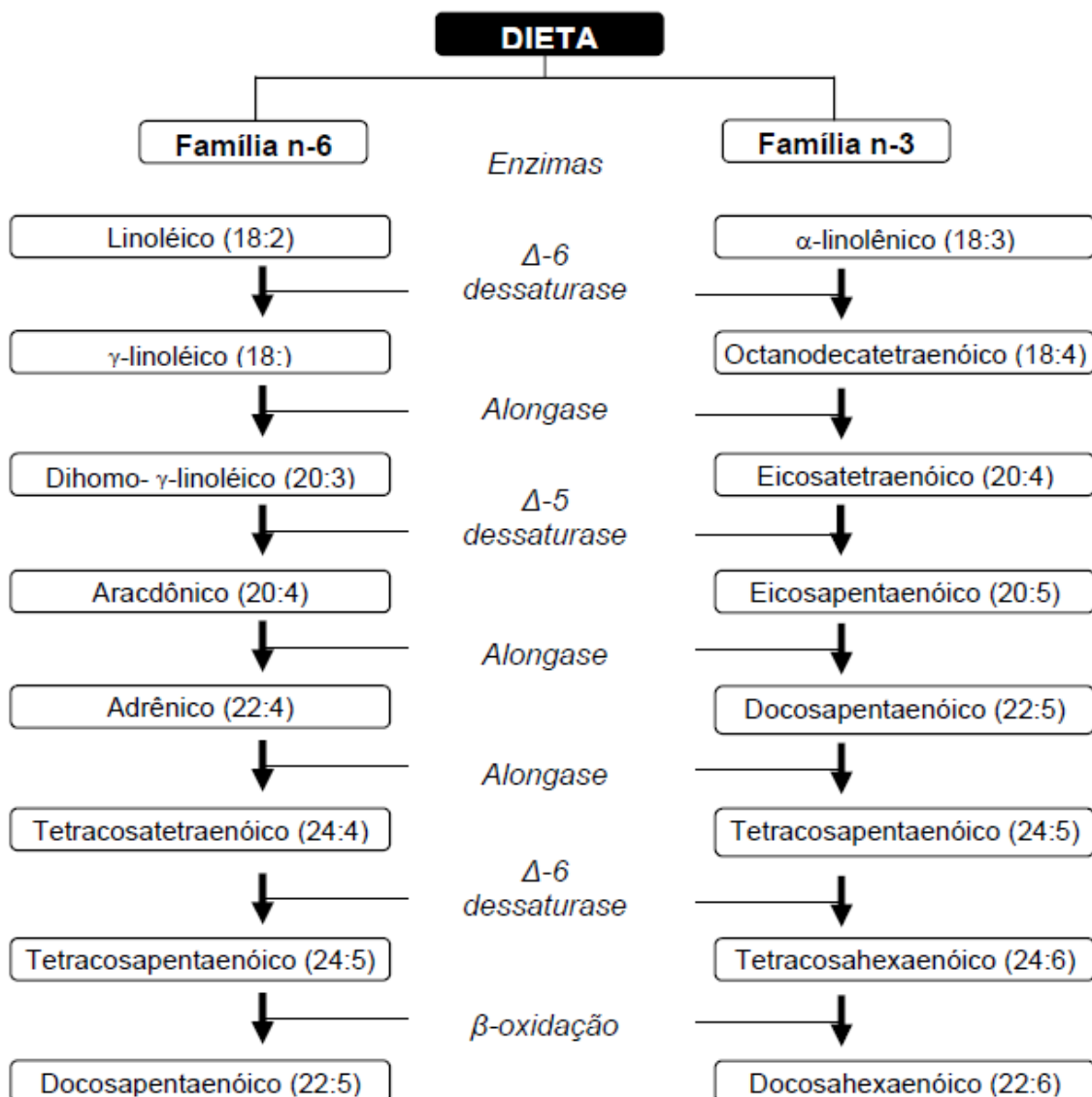


Figura 3. Competição metabólica entre as séries ômega-6 (n-6) e ômega-3 (n-3) (LAURITZEN e cols., 2001).

### 3.2.1. Ácidos graxos essenciais e funções cerebrais

O sistema nervoso central (SNC) é único quando comparado a outros sistemas, principalmente porque não utiliza os ácidos graxos ALA e LA para incorporação nas membranas neuronais, mas apenas seus produtos de dessaturação e alongamento, como DHA, EPA e AA (DAS e VADDADI, 2004; MAZZA e cols., 2007).

O cérebro necessita aporte adequado de ácidos graxos para manter sua integridade estrutural e conseqüentemente suas funções normais, principalmente por apresentar elevado

teor de lipídeos de membranas, que corresponde à 50% do seu peso seco, e entre estes, 25% são EFAs (MARTEINSDOTTIR e cols, 1998; UAUY e DANGOUR, 2006),

Muitas funções fisiológicas foram atribuídas aos EFAs, dentre as quais podemos destacar a participação na composição das membranas fosfolipídicas celulares (HÖGYES e cols., 2003; HICHAMI e cols., 2007; SUMIYOSHI e cols., 2008), a modulação da expressão gênica (HORROCKS e FAROOQUI, 2004; MAZZA e cols., 2007), o envolvimento nos processos de transdução de sinais (FARKAS e cols., 2002; McNAMARA e CARLSON, 2006), a geração de segundos mensageiros e regulação de canais iônicos e de receptores (FAROOQUI, HORROCKS e FAROOQUI, 2000). Também, a modificação da atividade da proteína-kinase C, influência na síntese de radicais livres e óxido nítrico (YEHUDA, 2003; DAS, 2003), redução da agregação plaquetária (CLARKE e cols., 2005), geração de eicosanóides (CLARKE e cols., 2005; MAZZA e cols., 2007), e sua importância no desenvolvimento neuronal (LEVANT, RADEL e CARLSON, 2004).

Sabe-se que o PUFA AA (n-6) é essencial para o crescimento normal, e é criticamente importante por sua função na sinalização e divisão celular, bem como precursor dos eicosanóides da série 2 e leucotrienos da série 3, que além de potentes agentes pró-inflamatórios também desempenham funções na transmissão sináptica (ELIAS e INIS, 2001).

Os eicosanóides formados a partir de PUFAs n-3 são estruturalmente semelhantes aos conhecidos eicosanóides derivados do AA, mas com uma fraca ação inflamatória e agregante plaquetária (SEE LEE e cols., 1984). Isto contrasta com a biossíntese e as ações dos membros das famílias de resolvinas e protectinas que apresentam ações biológicas potentes, já demonstradas *in vitro* e *in vivo*. Os PUFAs n-3 são mediadores de pró-resolvinas que incluem: resolvinas da série E sintetizadas a partir do EPA; resolvinas da série D sintetizadas a partir do DHA e as neuroprotectinas / protectinas sintetizadas do DHA. Recentemente, Lukiw e cols. (2005) mostraram que o derivado endógeno do DHA (neuroprotectina D1- NPD1) exerce atividade regulatória, neuroprotetora e antiinflamatória neuronal, além de estar envolvido na programação dos genes de expressão e atividade anti-apoptótica, promovendo a sobrevivência dos neurônios que estão sob estresse oxidativo.

O conteúdo de DHA em muitas regiões cerebrais é 30 a 50% maior que o AA, exercendo um papel crítico no funcionamento do sistema nervoso central (particularmente membrana sináptica) e retina. Estudos realizados em recém-nascidos primatas (não humanos) e humanos, indicam que o DHA é essencial para o desenvolvimento e o funcionamento normal da retina e do cérebro (BIRCH e cols., 2002; 2002; SANGIOVANNI e cols., 2000; NEURINGER, 2000; CHAMPUX e cols., 2002). Acredita-se que deficiências de DHA

durante desenvolvimento pré e pós-natal afetam a acuidade visual, as funções cognitivas e, possivelmente, o comportamento e a suscetibilidade às desordens psiquiátricas (FUGH-BERMAN e COTT, 1999).

Estudos com animais de laboratório demonstraram que o DHA e EPA são antioxidantes nutricionais e reduzem a formação de peróxidos de lipídeos no cérebro (HOSSAIN e cols., 1999; CHOI-KWON e cols., 2004) e no fígado de ratos (YILMAZ e cols., 2004). A atividade neuroprotetora do DHA também foi evidenciada através das propriedades antioxidantes *in vivo* (HASHIMOTO e cols., 2002; YAVIN e cols., 2002; CALON e cols., 2004; WU e cols., 2004; BAZAN, 2005), através do aumento da atividade da glutathione redutase (HASHIMOTO, 2002), diminuição da oxidação de proteínas (CALON e cols., 2004; WU e cols., 2004) e dos níveis de peróxidos de lipídios e espécies reativas de oxigênio (EROs) (HASHIMOTO e cols., 2002; 2006). Estudos demonstraram também que o DHA participa diretamente da modulação da expressão gênica, em processos que envolvem estresse oxidativo, sinalização e divisão celular, crescimento e apoptose (SIMOPOULOS, 2006; YAVIN, 2006).

Foi demonstrado que a incorporação de DHA na membrana celular também aumenta a fluidez da membrana (plasticidade sináptica), a qual pode contribuir para as funções cerebrais via habilidades delas de ligar e iniciar o processo de transdução de sinal (MITCHELL e cols., 2003; MURPHY, 1990). DHA e EPA também podem influenciar nas funções cerebrais afetando a produção e a função de neurotransmissores tais como a serotonina e a dopamina (DU BOIS e cols., 2006; FENTON e cols., 2000), inibição da fosfolipase A<sub>2</sub> (BENNET e HORROBIN, 2000), e inibição da proteína kinase C (SEUNG e cols., 2001).

Em síntese, DHA e EPA participam de numerosas funções celulares, incluindo a fluidez de membrana, atividade enzimática de membrana e síntese de eicosanóides, os quais são essenciais para o desenvolvimento cerebral de crianças, e necessários na manutenção das funções cerebrais (MAZZA e cols., 2007).

### 3.2.2. Carência de EFAs e a suscetibilidade às doenças

Como já mencionado, EFAs são componentes estruturais e das funções celulares, principalmente cerebrais, desde a infância até o envelhecimento, estando envolvidos no desenvolvimento de muitas doenças. Alguns sintomas da deficiência de EFAs incluem

fadiga, problemas dermatológicos, deficiência imune, desordens gastrointestinais, problemas cardíacos e circulatórios, retardo no crescimento e esterilidade (YEHUDA & MOSTOFISKY, 1997, TAPIERO e cols., 2002). Além destas, deficiências de PUFAs parecem estar implicados no desenvolvimento ou agravamento da artrite reumatóide, asma, câncer de mama e de próstata (SHAPIRO, 2003).

De particular importância para as funções do SNC, a carência de n-3 foi associada à depressão (FERRAZ e cols., 2008), desordens de hiperatividade (BURGESS e cols., 2000), processo de envelhecimento, aprendizado e memória (BOURRE, 2004). Ainda existem poucos estudos sobre os efeitos da deficiência de AG n-3 a longo prazo, mas sugere-se uma contribuição para o desenvolvimento de hipertensão arterial (ARMITAGE e cols., 2003), doença de Huntington (CLIFFORD e cols., 2002), esquizofrenia (DAS, 2004) e transtorno bipolar (STOLL e cols., 1999; PARKER e cols., 2006). Por outro lado, a obtenção de ômega 3 a partir da dieta pode agir sobre parâmetro oxidante/antioxidante em regiões dopaminérgicas cerebrais (SARSILMAZ e cols., 2003) e o hipotálamo (SONGUR e cols., 2004), sugerindo proteção em doenças neurológicas, motoras, bem como nas desordens neuropsiquiátricas (BLACK e cols., 1984).

### **3.3. Ácidos graxos *trans***

Nos reinos animal e vegetal, os AG geralmente possuem insaturações na forma *cis*, que ocorrem quando os hidrogênios ligados aos carbonos da dupla ligação encontram-se no mesmo lado da cadeia carbônica (CHRISTIE, 2003; MARTIN e cols., 2007). Na forma *trans*, estes átomos de hidrogênio localizam-se em lados opostos da cadeia carbônica, formando uma molécula linear, semelhante à um ácido graxo saturado (AGS) (figura 4). A conformação linear é o estado de menor energia e permite um melhor empacotamento das moléculas, ficando mais próximas umas das outras e aumentando a interação entre elas. A consequência disso é o aumento do ponto de fusão dos AGS e AGT, em relação aos ácidos graxos insaturados *cis* (CURI, 2002).

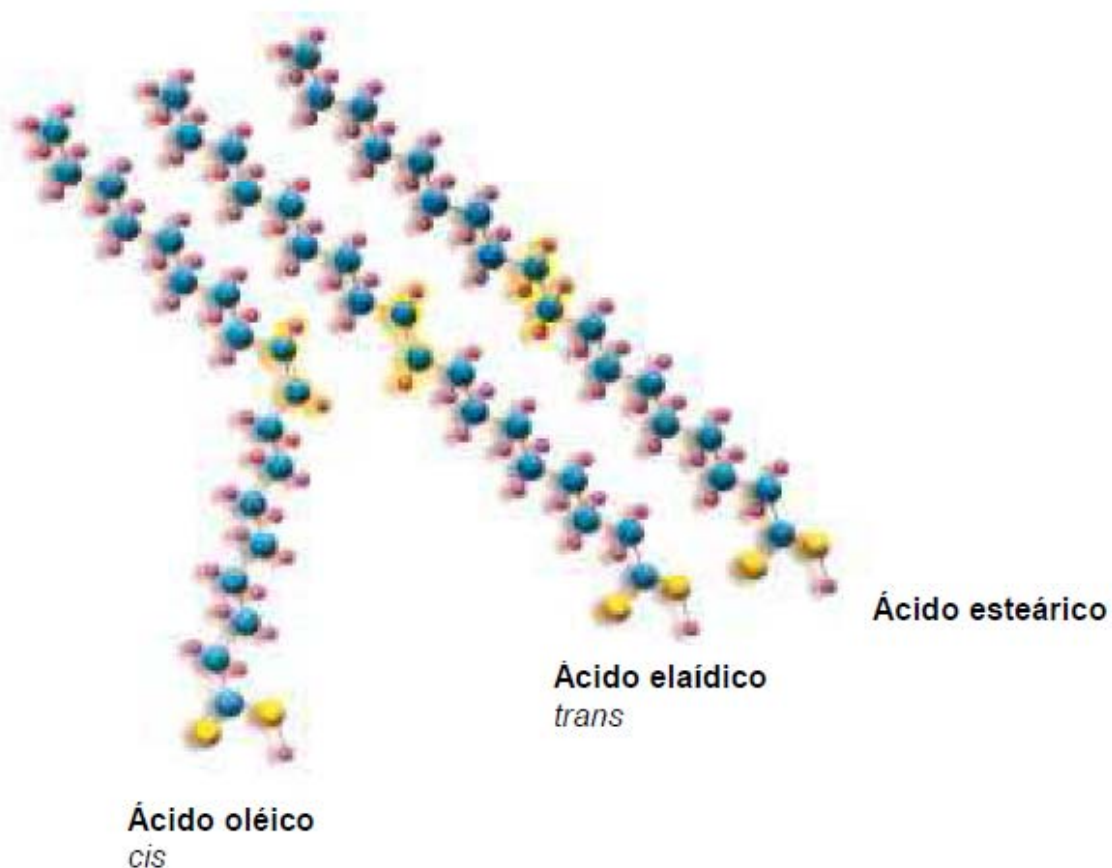


Figura 4: Estrutura química do ácido graxo *cis*-monoinsaturado (oléico), o ácido graxo *trans*-monoinsaturado correspondente (elaídico) e ácido graxo saturado correspondente (esteárico) (STENDER e DYERBERG, 2003).

Os ácidos graxos *trans* (AGT) podem ser produzidos industrialmente, mas também ocorrem naturalmente. Industrialmente, eles são formados durante a hidrogenação parcial de óleos vegetais, quando um hidrogênio é adicionado à dupla ligação carbono-carbono dos AG na presença de catalisadores, o que converte óleos vegetais líquidos em gorduras semi-sólidas (MOZAFFARIAN e cols., 2006). Naturalmente, os AGT estão presentes na carne, leite e derivados de ruminantes, e são resultantes da bio-hidrogenação de PUFAs, pela presença de bactérias no rúmen desses animais (JAKOBSEN e cols., 2006).

O processo de hidrogenação parcial concede algumas propriedades físicas das gorduras saturadas aos óleos vegetais, tais como consistência mais firme, maior ponto de fusão e estado físico semi-sólido à temperatura ambiente. Tais mudanças aumentam a estabilidade oxidativa destes óleos, conferindo maior resistência frente à deteriorização dos sabores e aromas. A presença destes óleos nos alimentos também melhora a estabilidade das gorduras durante a fritura, prolongando a vida de prateleira dos alimentos (CURI, 2002; TARRAGO-TRANI e cols., 2006; ECKEL e cols., 2007).



Os AGT estão presentes em quantidades variadas em diferentes produtos, mas principalmente nos alimentos processados com óleos parcialmente hidrogenados, como recheios de biscoitos, formulações de bases para sopas e cremes, sorvetes, batata frita, salgadinhos de pacotes, pipoca para microondas, margarinas, empanados de frango, pães, lanches de preparação rápida (“fast-foods”), bolos, tortas industrializadas e assados (SEMMA, 2002)

Apesar de sua utilidade tecnológica, os efeitos do consumo desses ácidos graxos nos alimentos têm sido objeto de grande controvérsia no que diz respeito aos aspectos do seu metabolismo, absorção, acúmulo no organismo e os seus efeitos nas funções enzimáticas, formação de prostaglandinas, transporte e deposição de colesterol nas artérias, doenças cardíacas e câncer. (MANCINI e CHEMIN, 1996).

### 3.3.1. Os ácidos graxos *trans* e as funções celulares

Os AGT da dieta são absorvidos e transportados até as células, onde são utilizados como fonte de energia ou depositados nos tecidos para utilização futura (CURI, 2002). Nos tecidos humanos, a absorção, o transporte, a incorporação e a excreção dos AGT ocorrem de forma similar a outros AG da dieta (IOM, 2002), competindo inclusive pelos mesmos sistemas enzimáticos envolvidos na síntese de PUFAs (MAHFOUZ e KUMMEROW, 1999), porém, estes não apresentam a mesma atividade dos EFAs (KHOSLA e HAYES, 1996). Aparentemente, as concentrações de AGT incorporados aos tecidos refletem seu consumo. Estudos relacionados a incorporação dos AGT em tecidos de ratos, mostraram que os teores de isômeros *trans* adicionados nas dietas foram suficientemente incorporados e metabolizados, alterando o perfil de AG nos tecidos desses animais (LOÏ e cols., 2000; SABARENSE e MANCINI-FILHO, 2003).

Os AGT são capazes de modular a função celular, alterando a fluidez de membrana (menos fluída) e as respostas dos receptores de membrana, quando incorporados aos fosfolípidios de membranas celulares (GURR e HARWOOD, 1991; ROACH e cols., 2004). Em uma revisão sobre possíveis mecanismos moleculares dos AGT, foi sugerido que os AGT poderiam afetar as funções e repostas celulares devido à sua capacidade de ligação e modulação dos receptores nucleares, os quais regulam a transcrição de genes, (MOZAFFARIAN e cols., 2006).

A relação entre os AGT e os mecanismos pró-inflamatórios e pró-apoptóticos não estão bem estabelecidos. Teoricamente, os AGT modulariam as respostas de macrófagos e monócitos em humanos, aumentando a produção do fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina-6, bem como os níveis de proteína quimio-atrativa de monócito 1 (indicadores de inflamação). Os AGT também afetariam a função vascular, pois parecem aumentar os níveis circulantes de biomarcadores da disfunção endotelial, bem como influenciar o metabolismo de AG nos adipócitos (MOZAFFARIAN e cols., 2006). Estudos associaram positivamente a alta ingestão de AGT e o aumento da atividade do sistema TNF e aumento de interleucina-6 e proteína C reativa. Neste estudo, alta ingestão de AGT foi associada com maiores níveis de marcadores da disfunção endotelial (E-selectina), sugerindo que uma alta ingestão de AGT pode afetar adversamente a função celular endotelial (LOPEZ-GARCIA e cols, 2005).

Estudos mostram também que os AGT inibem a reação de dessaturação dos LA e ALA para AA, DHA e EPA, favorecendo o metabolismo de AGT monoméricos e de AG n-6 ou n-3 em isômeros incomuns que se incorporados aos tecidos, alteram as funções das membranas ou dos eicosanóides (INNIS e KING, 1999; INNIS, 2006).

### 3.3.2. Ácidos graxos *trans* e o desenvolvimento de doenças

Como já citado, evidências recentes indicam que os AGT promovem inflamação. A inflamação é um fator de risco para aterosclerose, morte cardíaca súbita e diabetes, assim, os efeitos pró-inflamatórios dos AGT podem explicar em parte seus efeitos sobre a saúde cardiovascular (MAZAFFARIAN e cols., 2006). Estudos sugerem também que os AGT podem causar disfunção endotelial (MAZAFFARIAN e cols., 2006), e essa tem papel importante no desenvolvimento e progressão da aterosclerose e outras doenças cardiovasculares (LOPEZ-GARCIA e cols., 2005; ZAPOLSKA-DOWNAR e cols., 2006).

Vários estudos já demonstraram que um alto consumo de AGT aumenta os riscos de doenças cardiovasculares, aumentam as concentrações plasmáticas de LDL e reduzem significativamente a concentrações do HDL (SUN e cols., 2007; MENSINK e cols., 2003; CÓLON-RAMOS e cols., 2006; WILLETT, 2006). Estudos mostram também a associação positiva entre a ingestão de AGT e os riscos para diabetes (SALMERÓN e cols., 2001; HU e cols., 2001). Embora seja sugerido que o aumento de risco para o câncer é causado pelos

AGT, seus efeitos sobre o câncer ainda são contraditórios (STENDER e DYERBERG, 2004; KOHLMEIER e cols., 1997).

A alteração na composição dos fosfolípidios de membrana neuronal também está associada com a fisiopatologia de doenças neurológicas e psiquiátricas, incluindo hiperatividade, esquizofrenia, depressão e transtorno bipolar (COTT, 1999). Desta forma, a incorporação dos AGT nos fosfolípidios da membrana neuronal também pode estar relacionada às desordens neurológicas, mas estas relações carecem de dados na literatura, conduzindo maiores estudos.

### **3.4. Consumo de ácidos graxos essenciais X ácidos graxos *trans***

Pesquisas sugeriram que alterações no processo de industrialização de alimentos, particularmente nos países desenvolvidos, são umas das causas na mudança dos hábitos alimentares, os quais levaram à uma redução na ingestão de PUFAs, principalmente n-3, e aumento no consumo de n-6 e AGT (BORSONELO e GALDURÓZ, 2008).

Estudos nutricionais sugerem que a dieta ocidental está deficiente em PUFAs n-3. Em particular, a razão n-6/n-3 aumentou de 2-4:1 no século passado para mais que 20:1 atualmente (TIEMEIER cols de e., 2003). O consumo dietético de AG afeta a composição de AG na membrana fosfolipídica neuronal, e essa composição altera a concentração dos metabólitos formados (eicosanóides), pois o AA e EPA competem pelas mesmas enzimas (ciclooxigenases e lipooxigenases), cujo metabolismo produz eicosanóides.

Em função do aumento da ingestão de AG n-6 em países ocidentais, os eicosanóides produzidos pelo metabolismo do AA, especificamente prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, ácidos graxos hidroxil e lipoxinas, são formados em maiores quantidades, em relação aos oriundos de AG n-3, especificamente pelo EPA (SOMOPOULOS, 1999). Os eicosanóides formados a partir do AA são biologicamente mais ativos (mais pró-inflamatórios), e em grandes quantidades, contribuem para formação de trombos e ateromas, alergias e desordens inflamatórias, especialmente em pessoas suscetíveis. Assim, uma dieta rica em AG n-6, altera o estado fisiológico, com atividades pró-trombótica e pró-agregante, com aumento da viscosidade sanguínea, vasoespasmo, vasoconstrição, e redução do tempo de sangramento. Desta forma, o mecanismo proposto dos AG n-3 para o benefício à saúde parece estar relacionado com a incorporação desses AG na membrana fosfolipídica (CLANDININ e

cols., 1994). Isso resultaria no aumento da produção de eicosanóides da série n-3, Prostaglandina I<sub>3</sub>, tromboxano A<sub>3</sub> e leucotrienos B<sub>5</sub> pela via das ciclooxigenases e lipooxigenases (SIMPOULOS, 1999, 2002).

Segundo LARQUÉ, ZAMORA e GIL (2001), os alimentos contendo gordura parcialmente hidrogenada contribuem com cerca de 80% a 90% da ingestão diária de AGT. Para os alimentos provenientes dos animais ruminantes, esta contribuição é bem menor, em torno de 2 a 8%, óleos refinados, em torno de 1% a 1,5%, mas quando reutilizado para frituras estes valores podem contribuir significativamente na ingestão diária de AGT.

A incorporação de AGT aos tecidos pode ser influenciada pelos níveis de ingestão diária de EFAs. Os AGT interagem de forma competitiva no metabolismo dos EFAs, inibindo sua incorporação nos fosfolípidos de membrana e reduzindo sua conversão à eicosanóides nas células. Todavia, esse efeito dos AGT ocorrerá se as concentrações de EFA estiverem baixas, ou seja, ingestões inadequadas dos EFA permitem maior incorporação dos isômeros *trans*.

Considerando o alto consumo de alimentos industrializados nos países ocidentais, onde também se observa uma baixa ingestão de AGE devido à destruição do LA e ALA durante a hidrogenação parcial dos óleos vegetais, existe uma real diminuição dos teores de ácidos graxos essenciais como LA e principalmente de ALA (INNIS, 2006) nesta dieta. Vários estudos epidemiológicos têm reportado baixas concentrações plasmáticas de DHA e EPA em indivíduos com esquizofrenia, déficits de atenção, dislexia, desordens de personalidade, depressão e transtorno bipolar (PEET e STOKES, 2005; RICHARDSON, 2006). O declínio da ingestão de AG n-3 nas últimas décadas pode estar relacionado com o aumento da prevalência dessas desordens neuro-psiquiátricas (HAAG, 2003).

### **3.5. Transtorno bipolar**

O transtorno bipolar (TB) é uma doença mental crônica que acomete aproximadamente 1% da população mundial ( $\pm$  14 milhões de pessoas) (WEISSMAN, 1996), entretanto, quando são também consideradas formas mais leves deste transtorno (o chamado espectro bipolar), estudos indicam uma prevalência de até 6% na população geral (GAZALLE e cols, 2005). A organização mundial da saúde (OMS) considera o TB como uma das dez principais causas de incapacitação do mundo (LOPEZ e MURRAY, 1998), e talvez a mais

letal das doenças mentais, com uma taxa de suicídio 30 vezes maior do que a encontrada na população geral para casos não tratados (HILTY, BRADY E HALES, 1999).

O termo bipolar expressa dois pólos do humor ou de estados afetivos que se alternam: a depressão e seu oposto, a mania ou a hipomania. Seu curso clínico é crônico, usualmente caracterizado por períodos de exacerbação dos sintomas (episódios agudos) intercalados por períodos sub-sindrômicos e períodos de remissão (eutimia).

O diagnóstico de TB baseia-se pela ocorrência de pelo menos um episódio maníaco ou hipomaníaco durante a vida, na qual a presença de um ou mais episódios maníacos ou a alternância de humor com pelo menos um episódio de depressão maior, confere o diagnóstico de TB tipo I, enquanto que a presença de um ou mais episódios de depressão maior e pelo menos um episódio hipomaníaco confere o diagnóstico de TB tipo II (MÜLLER-OERLINGHAUSEN, BERGHÖFER e BAUER, 2002). A presença de um episódio maníaco é definida por uma elevação persistente do humor (humor eufórico ou irritável), acompanhado por pelo menos três dos seguintes sintomas: aumento da autoconfiança e grandiosidade, pressão por falar, diminuição da necessidade do sono, pensamento acelerado ou fuga de idéias, distratibilidade, alteração do comportamento dirigido para atividades prazerosas, freqüentemente imprudentes ou perigosas, ou agitação psicomotora. Além disso, o episódio deve ser suficientemente severo para causar prejuízo significativo no âmbito familiar, social ou ocupacional, ou ter presença de sintomas psicóticos com necessidade de hospitalização (American Psychiatric Association 2000).

As medicações de maior evidência no manejo de episódios agudos de depressão e mania, e no tratamento de manutenção e/ou prevenção são: lítio, ácido valpróico e carbamazepina, bem como alguns medicamentos de segunda escolha como antipsicóticos (clorpromazina e halperidol) e atípicos (olanzapina e risperidona) (YATHAM e cols., 2005).

Entretanto, os índices de recorrência e de resistência aos medicamentos de primeira linha são bastante elevados (POSTE e cols., 2003; DENNEHY e cols., 2005), isso se deve, pelo menos em parte, pelo pouco conhecimento sobre mecanismos fisiopatológicos (estudos relacionados à genética, às vias neuro-hormonais, neurotransmissão, vias de transcrição de sinal, regulação da expressão gênica, estresse oxidativo, entre outros) causadores deste transtorno (ZARATE Jr. e cols., 2006), o que é essencial para o desenvolvimento de terapias específicas, que são mais efetivas, agem rapidamente e são mais toleráveis que as terapias existentes. Seguindo essa linha, alguns estudos demonstraram o possível benefício da suplementação com AG n-3 no controle de sintomas de pacientes com TB (TURNBULL, CULLEN-DRILL e SMALDONE, 2008)

Estudos neuro-funcionais, baseados em ressonância magnética e tomografia por emissão de pósitrons, apontam para uma diminuição significativa do metabolismo no córtex pré-frontal durante a depressão com subsequente aumento em algumas regiões da mesma estrutura durante a fase maníaca (MALHI e cols., 2004; STRAKOWSKI, DELBELLO E ADLER, 2005). Além disso, estas ações parecem estar acompanhadas de um aumento no metabolismo na amígdala e estriado, sugerindo que alterações em regiões dopaminérgicas como o córtex pré-frontal, sistema límbico e gânglios da base podem estar associadas à fisiopatologia do TB.

Nos últimos anos o aumento dos estudos relacionados às disfunções mitocondriais e, conseqüentemente a geração de radicais livres (RL), estão envolvidos nos distúrbios neuropsiquiátricos como o TB (KATO & KATO, 2000; KULOGLU et al., 2002; SUN e cols., 2006; ANDREZZA e cols., 2006; MACHADO-VIEIRA e cols., 2007; FREY e cols., 2006e). A disfunção mitocondrial resulta em anormalidades no metabolismo energético celular e aumento da produção de EROs. KATO & KATO (2000) encontrou mutações no DNA mitocondrial em córtex cerebral *post mortem* de pacientes com TB, enquanto outros pesquisadores observaram estes danos no DNA do sangue destes pacientes (ANDREZZA e cols., 2006). Coerentemente com esses achados, foi observado uma redução dos níveis plasmáticos das enzimas superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT) (enzimas antioxidantes), e aumento dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, produto da peroxidação lipídica) em pacientes com TB em diferentes fases da doença (mania, depressão e eutimia) (KULOGLU e cols., 2002; OZCAN e cols., 2004; RANJEKAR e cols., 2003).

MACHADO-VIEIRA e cols., (2007) observaram peroxidação lipídica e aumentos da atividade das enzimas SOD e CAT em indivíduos bipolares na fase inicial de mania, contudo, o tratamento com lítio reduziu todos os parâmetros. Portanto a neuroproteção contra o estresse oxidativo (EO) pode ser um importante mecanismo envolvido na ação dos estabilizadores de humor, freqüentemente empregados no tratamento do TB (MACHADO-VIEIRA e cols., 2007).

Estudos recentes sugerem que as alterações neuropatológicas seguem um padrão de alteração de neurodesenvolvimento e de neuroplasticidade, e não um padrão de degeneração cerebral como se pensava previamente (RAJKOWSKA, 2003). Os estabilizadores do humor disponíveis na atualidade parecem inibir o sistema de transdução de sinal (ou segundo mensageiro), apoiando a hipótese de que a super ativação da sinalização celular está envolvida no processo patológico do TB (STOLL e cols., 2001; CHEN e cols., 1999; 2000;

MANJI e cols., 1996). Estudos mostraram que os estabilizadores do humor possuem mecanismo de ação em comum, como inibição da glicogênio sintase quinase 3-beta, uma proteína que regula vias de sobrevivência, morte celular e diminuição de inositol, um precursor da via de sinalização do fosfatidilinositol (COYLE e MANJI, 2002; WILLIAMS e cols., 2002). Anos atrás, se pensava que transtornos do humor seriam causados por uma deficiência de monoaminas, particularmente de serotonina e noradrenalina (SCHILDEKRAUT, 1965). Atualmente se acredita que estes distúrbios estão associados às alterações do sistema de comunicação entre circuitos cerebrais reguladores do humor, e que antidepressivos e estabilizadores do humor ativam cascatas de sinalização que regulam a plasticidade e sobrevivência celular, com subsequente melhora gradativa da transmissão da informação nestes mesmos circuitos (CASTRÉN, 2005; COYLE e DUMAN, 2003; NESTLER e cols., 2002; MANJI e cols., 2001).

### 3.5.1. Modelo animal de mania

O TB é uma doença particularmente desafiadora, no sentido de desenvolver um modelo animal adequado. Até o presente, não existe um modelo animal ideal para o estudo desse transtorno (GOULD E EINAT, 2007; EINAT E MANJI, 2006; MACHADO-VIEIRA e cols., 2004), uma vez que apresenta padrão crônico e oscilatório (mania, depressão e estados mistos).

A solução para esse problema tem sido o desenvolvimento de modelos animais que reproduzam determinados aspectos do quadro clínico do TB. Foram desenvolvidos vários modelos animais de depressão (NESTLER e cols., 2002), mas a maioria dos modelos animais de TB tem focalizado o quadro clínico de mania, o qual possui como dificuldade principal, a reprodução do sintoma central, que é o humor elevado ou euforia. Sendo assim, os modelos animais de mania geralmente avaliam a atividade locomotora, agressividade ou comportamento de risco ou recompensa (EINAT e cols., 2000; MACHADO-VIEIRA e cols., 2004). Neste sentido, o modelo de hiperatividade induzido por psicoestimulantes (usualmente anfetamina e cocaína) é considerado o modelo animal de mania mais bem estabelecido e aceito até o momento (MACHADO-VIEIRA e cols., 2004; GOULD e cols., 2004; NESTLER e cols., 2002, Frey e cols., 2006<sup>a,b,c,d</sup>).

Já foi demonstrado que a administração de drogas que aumentam os níveis de dopamina no SNC, como anfetamina (ANF) e L-dopa, induzem sintomas maníacos tanto em pacientes com TB, quanto em indivíduos saudáveis (MURPHY e cols., 1971; GERNER e cols., 1976; JACOBS e SILVERSTONE, 1986). A ANF aumenta significativamente a concentração de dopamina (DA) na fenda sináptica, principalmente por facilitar a liberação de DA das vesículas pré-sinápticas, mas também por bloquear a recaptção de DA a partir dos transportadores neuronais pré-sinápticos (SULZER e cols., 1995). Este aumento de DA, aumentaria também a desaminação oxidativa, catalisada pela enzima monoamino oxidase (MAO) bem como sua auto-oxidação. Este metabolismo leva à respectiva formação de  $H_2O_2$  e dopamino-quinonas, que pode ser convertidos ao radical hidroxil, altamente tóxico, via reação de Fenton. (GRAHAM, 1978; CHIUEH e cols., 1992). Estes radicais iniciam processos oxidativos nos lipídeos de membranas celulares (peroxidação lipídica), bem como a oxidação de cadeias de aminoácidos das proteínas e danificam o DNA e outras biomoléculas vitais (FINKEL e cols., 2000; VALKO e cols., 2004; 2007).

Estudos recentes sugerem que a variação do gene do transportador de DA podem estar envolvidos na suscetibilidade ao desenvolvimento do TB (GREENWOOD e cols., 2006). Níveis elevados de DA foram encontrados em pacientes na fase maníaca (JOYCE e cols., 1995). Sabe-se também, que drogas que bloqueiam os receptores dopaminérgicos D2 são consideradas agentes de primeira escolha no tratamento da mania aguda (YATHAM e cols., 2005).

Estudos anteriores já caracterizaram bem o modelo animal de mania induzido por administrações repetidas de ANF (FREY e cols., 2006 a,b,c), mostrando também que drogas estabilizadoras do humor foram capazes de reverter e prevenir a hiperatividade, bem como as atividades das enzimas antioxidantes (SOD, GPx e CAT) e o aumento da peroxidação lipídica induzidos por esse psicoestimulante (GOULD e cols., 2001; FREY e cols., 2006d). No presente estudo, adotamos a administração repetida de ANF como um modelo animal de mania, para o estudo do TB.



#### **4. MANUSCRITO**

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de manuscrito. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas, encontram-se inclusos no manuscrito, o qual está disposto na forma em que será submetido para publicação.

Manuscrito

**Comparative study between n-6, *trans* and n-3 fatty acid on repeated amphetamine exposure: possible factor for the development of mania**

Fabiola Trevizol<sup>a</sup>, Dalila M. Benvegnú<sup>b</sup>, Raquel C. S. Barcelos<sup>b</sup>, Nardeli Boufleur<sup>c</sup>, Liz G Müller<sup>c</sup>, Camila S. Pase<sup>c</sup>, Patrícia Reckziegel<sup>b</sup>, Verônica T. Dias<sup>c</sup>; Hecson Segat<sup>c</sup>; Angélica M. Teixeira<sup>b</sup>, Tatiana Emanuelli<sup>ab</sup>, João Batista T. Rocha<sup>a</sup>, Marilise E. Bürger<sup>abc</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS, Brazil.

<sup>b</sup>Programa de Pós-Graduação em Farmacologia- UFSM, RS, Brazil.

<sup>c</sup>Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFSM, RS, Brazil.

Number of text Pages: 22 (included 3 figures plus 2 tables)

Number of figures: 03

Number of tables: 02

\*Corresponding author:

Bürger, M.E.

Universidade Federal de Santa Maria

CEP 97105-900 Santa Maria, RS, BRAZIL

Phone: +55-55 3220-7686 Fax: +55-55 3220-8241

E-mail: [mariliseeb@yahoo.com.br](mailto:mariliseeb@yahoo.com.br)

Acknowledgements: Pró-Reitoria de Pós Graduação e Pesquisa (PRPGP-UFSM) and CNPq (F.T; T.E; JBTR; MEB are fellowship recipients)

**Key-words:** *trans* fatty acids; n-3 fatty acids; mania, bipolar disorder, oxidative stress.

## Abstract

During the last decades, the food rich in *n*-3 fatty acids (FA) have been replaced by *n*-6 and *trans* FA, which are abundantly found in processed foods. The central nervous system is rich in long-chain polyunsaturated fatty acid (PUFA) of the *n*-6 and *n*-3 series, which are important for the brain function. Nutritional PUFAs has been implicated as important factors in mood disorders. The influence of *n*-6 (soybean oil-SO), *trans* (hydrogenated vegetable fat-HVF) and *n*-3 (fish oil-FO) fatty acids supplementation on behavioral and oxidative stress (OS) parameters were studied in an animal model of mania. Rats were orally treated with SO, HVF and FO suspension (0.1%) in the drinking water for 8 weeks. Then daily injections of amphetamine were administered (AMPH-4mg/kg/mL-ip) or vehicle during the last week of oral supplementation. The ingestion of HVF was associated with hyperactivity, with increase in protein carbonyl levels in cortex and with a decrease in mitochondrial viability in striatum and cortex. AMPH treatment increased the locomotion and decreased the mitochondrial viability in all groups. However, the neurotoxicity AMPH was higher in HVF group. Similarly, AMPH increased the protein carbonyl levels in striatum and cortex of HVF supplemented rats, reduced the plasma vitamin C levels in SO and HVF fed rats, but not changed this parameter in FO group. The present findings suggest that *trans* FA could increase the oxidative damages *per se*, as well as exacerbated the AMPH effects. The impact of *trans* fatty acids consumption on brain functions can be continuously evaluated.

## 1- Introduction

*Trans* fatty acids (TFA) in food attract attention of the general public due to their potential adverse effects on human health. Although TFA from ruminant fats have been part of the human diet for thousands of years, during the second part of the 20<sup>th</sup> century, the intake of TFAs increased enormously by the increasing use of hydrogenated vegetable fats (HVF) in processed and fast foods, which are part of the Western diet [25]. These foods often contain large amounts of saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids of the *n*-6 series, [4], as well as considerable amounts of TFA [2]. These changes in alimentary habit increased the ratio of *n*-6/*n*-3 PUFAs intake, mainly as a consequence of intake reduction of *n*-3 fatty acids (FA) [1]. From a dietary point of view, the consumption of TFA represents a loss of essential fatty acids intake, which can have hazardous impact on human health.

$\alpha$ -linolenic acid (LNA; 18:3*n*-3) and linoleic acid (LA, 18:2*n*-6) are essential fatty acids (EFAs), from the omega-3 (*n*-3) and omega-6 (*n*-6) series, respectively, and they play an important role in the biological membranes function [26]. LNA, eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5*n*-3), docosahexaenoic acid (DHA, 22:6*n*-3), and docosapentaenoic acid (DPA; 22:5*n*-3) are the most important *n*-3 EFAs. They are abundantly found in fish oil (EPA and DHA), and in smaller amounts in vegetable oils (LNA and LA). LNA can be converted to long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) such as DHA and EPA, whereas LA can be converted to arachidonic acid (AA). Of particular nutritional importance, the human intake of these EFAs reflects the composition of neuronal cell membrane phospholipids [32], and modulates the brain physiological functions by modifying the cell permeability, synaptic membrane fluidity [17], the number and affinity of receptors, as well as the activity of neurotransmitter systems [32], such as dopamine (DA) [29]. In this sense, the *n*-3 FA supplementation can be considered important in view of its scarcity in diets containing high levels of *n*-6 [27].

Clinical studies have indicated that low intake of *n*-3 FA can be associated with the pathophysiology of neurological and psychiatric diseases, including hyperactivity, schizophrenia, depression and bipolar disorder (BD) [14]. Of potential importance for BD, phosphatidylinositol associated second messenger activity can be suppressed by omega-3 supplementation, indicating a molecular mechanism similar to that of lithium and valproate [18], two current drugs for BD treatments. BD affects about 1% of the world population [7], however its pathophysiology remains unknown. Clinically, the BD management is complex

and can be accomplished by pharmacological agents approved for the treatment of others mental disorders, such as antipsychotics and anticonvulsants [12].

The clinical diagnosis of BD includes maniac symptoms, such as euphoria, irritability and hyperactivity. Therefore, psychostimulants-induced hyperactivity is one the most accepted animal model of mania, and has been widely used for explaining the putative mechanisms involved in BD [22; 19; 10; 11]. Amphetamine (AMPH) is a drug that increases neuronal release of DA and inhibits its vesicular uptake [9] inducing manic symptoms in BD subjects [3]. That exacerbation of dopaminergic transmission can result in DA autoxidation and deamination by MAO, increasing the ROS production [13], which can be hazardous to cells and tissues. In fact, studies of human brain-imaging showed that AMPH can induce DA release in the striatum, and reduce striatal DA transporter density [23], acting favorably to ROS generation.

Oxidative stress (OS) can be associated with an inhibition on of mitochondrial electron transport chain [8], leading to cellular dysfunction. In this sense, ROS are thought to play an important role in the pathogenesis of neurological and psychiatric diseases due to the greater vulnerability of central nervous system (CNS) to OS. Until the time, there are no comparative studies on the influence of the different dietary fatty acids on the neural disorders development, particularly BD. Taking into account the potential modulation of dopamine neurotransmission by dietary FA, the objective of this study was to investigate the influence of the different fatty acids (n-6, *trans* and n-3 FA) found in soybean oil (SO), hydrogenated vegetable fat (HVF) and fish oil (FO), on behavioral and oxidative parameters in an animal model of mania.

## **2. Materials and Methods**

### **Animals**

Experiment was conducted with 64 male Wistar rats weighing between 30-40g at the start of the experiments. Groups of four animals were kept in Plexiglas cages with free access to food and water in a room with controlled temperature ( $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) and on a 12h-light/dark cycle with lights on at 7:00 a.m. All the efforts were employed to minimize pain or discomfort of the animals, which were used in minimum number to obtain relevant results. Experiments should be carried out in accordance with the guidelines of the Brazilian Association for Laboratory Animal Science (COBEA), following international norms of care and animal maintenance.

## Drugs and solutions

DL-amphetamine (Merck, Germany) was dissolved in saline solution (4mg/mL), which was the vehicle.

## Experimental design

Rats with 21 days old were separated into four experimental groups (n=16), and orally treated with tap water (C), 0.1% soybean oil (SO), 0.1% hydrogenated vegetable fat (HVF) or 0.1% fish oil (FO). Vehicle (water), SO, HVF and FO were incorporated to tap water as a homogenous 1% Tween suspension [5], which was daily prepared and offered to the rats in dark bottles in place of drinking water. The consumption of FO, HVF and SO were daily monitored and not differences between the four experimental groups were observed. After 8 weeks of *ad libitum* oral supplementation of FAs, half the rats of each group (n=8) received a single daily injection of AMPH (4mg/kg, ip) for 7 days [10]. Two hours after the last AMPH administration, locomotor activity was determined in an open-field arena (42×42×28 cm) for five minutes. Rats were anesthetized (thiopental-50 mg/kg body weight-ip) and euthanized by exsanguinations (blood was collected by cardiac puncture in heparinized tubes), and plasma obtained by centrifugation at 1310 G, 15 min for vitamin C. The brains were put on ice and cut coronally at the caudal border of the olfactory tubercle. The cortex and striatum were used for biochemical assays.

## Fatty acids composition

Soybean oil, fish oil and hydrogenated vegetable fat were submitted to saponification in methanolic KOH solution and esterification in methanolic H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution [15]. Methylated FAs were analyzed using an Agilent Technologies gas chromatograph (HP 6890) equipped with a Supelco SP-2560 capillary column (100 m x 0.25 mm x 0.20 μm) and flame ionization detector. The temperature of the injector port was set at 250°C and the carrier gas was nitrogen (1.1 ml/min). After injection (1 μL, split ratio 50:1), the oven temperature was kept at 140°C for 5 min and then raised to 240°C at 4°C/min and hold at this temperature for 12 min. Standard fatty acid methyl esters (Sigma, Saint Louis, USA) were subjected to the same conditions and the following retention times were used to identify the FAs. Results were expressed as percentage of total area of the identified FA.

## Measurement of carbonyl protein content

To verify protein carbonyl levels, striatal and cortical tissues were homogenized in 10 volumes (w/v) of 10mM Tris-HCl buffer, pH 7.4 and determined by the method described by

Yan et al. [31], with some modifications. Aliquots of 1 mL of homogenates were mixed with 0.2 mL of 2,4-dinitrophenylhydrazine (10mM DNPH). After incubation at room temperature for 1h in the dark, 0.5 mL of denaturing buffer (150mM sodium phosphate buffer, pH 6.8, containing 3% SDS), 2 mL of heptane (99.5%) and 2 mL of ethanol (99.8%) were added sequentially and mixed with vortex agitation for 40s and centrifuged for 15 min. After that, the protein isolated from the interface was washed twice with 1mL of ethyl acetate/ethanol 1:1 (v/v) and suspended in 1 mL of denaturing buffer. Each sample was measured at 370 nm against the corresponding HCL sample (blank), and total carbonylation calculated using a molar extinction coefficient of  $22,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  according to Levine et al. [21].

#### Plasmatic vitamin C determination

Plasma vitamin C (VIT C) was estimated as described by Jacques-Silva et al., [16]. This method produces an orange chromogen reacting with dinitrophenylhydrazine (DNPH) at 37°C, measured spectrophotometrically at 520 nm. A standard curve using ascorbic acid was used to calculate the content of VIT C and expressed as  $\mu\text{g VIT C/mL plasma}$ .

#### Slices viability

Slices viability from cortex and striatum were quantified by measuring the reduction of [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]- MTT to a dark violet formazan product by mitochondrial dehydrogenases [24]. Slices (0.4 mm) of the brain areas of rats fed with different FA supplementation and repeated treatment with vehicle or AMPH were prepared with a McIlwain chopper. MTT reduction assay were performed in plates containing 500  $\mu\text{L}$  of phosphate buffer saline, and the reaction was started by adding MTT to a final concentration of 0.1mg/mL. After 1h of incubation at 37°C, environment was removed and the slices dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO). The MTT reduction was measured spectrophotometrically by the difference in absorbance between 570 and 630 nm. Data were calculated as a percentage of control values.

#### Statistical analysis

All the data were analyzed by a two-way ANOVA (4(control/soybean oil/trans saturated fat/fish oil) x 2 (vehicle/amphetamine) followed by Duncan's multiple range test, when appropriate.  $P$ -value<0.05 was regarded as statistically significant.

### 3-Results

*The composition of the oils/fats used as dietary supplement are shown in Table 1.* Soybean oil (SO) was used as source of n-6 FA, hydrogenated vegetable fat (HVF) as source of *trans* FA and fish oil (FO) as source of n-3 FA. SO had a high content of n-6 PUFA (about 50%), a low content of n-3 PUFA, and a very low content of *trans* FA. The HVF used had about 20% *trans* FA, 18% n-6 PUFA and 0.5% n-3 PUFA. FO had about 27% n-3 PUFA, 1.7% n-6 PUFA and no detectable levels of *trans* FA.

*The effects of AMPH administration on locomotor activity of rats supplemented with different FA are shown in Figure 1.* Duncan's multiple range test indicated that HVF intake caused a significant increase in locomotor activity in vehicle and AMPH treated rats, when compared to other supplementations (control, soybean and fish oil). Post hoc test indicated that AMPH caused a significant increase in locomotor activity in all supplementation groups.

*The effects of AMPH administration on carbonyl proteins in striatum and cortex of rats supplemented with different fatty acids are shown in Figure 2.*

Post-hoc comparisons indicated that striatal protein carbonyl levels were higher in control and HVF than in SO and FO vehicle treated groups. After AMPH repeated administration, consumption of HVF caused a significant increase in striatal carbonyl levels, when compared to the other groups. Furthermore striatal carbonyl levels were lower in groups supplemented with FO and SO than in control group. AMPH administration tended to increase carbonyl levels in all supplementary treatments; however, the increase was significant only for the AMPH group supplemented with HVF when compared to the vehicle HVF group (Fig. 2A).

Duncan's test indicated that ingestion of HVF caused an increase in carbonyl levels when compared to control and FO groups in vehicle treated groups. In rats treated with AMPH, cortical carbonyl levels were higher in HVF fed diets than other groups. Post-hoc comparison also indicated that AMPH increased carbonyl levels in the control and HVF groups, when compared to their respective vehicle groups (Fig. 2B).

*The effects of AMPH treatment on C vitamin plasmatic levels of rats supplemented with different fatty acids are shown in Figure 3.*

AMPH treatment decreased vitamin C levels in all dietary groups, with exception to FO fed group.



*The effects of AMPH administration upon mitochondrial dehydrogenases activity (MTT assay) in slices of brain tissues of rats supplemented with different fatty acids are shown in Table 2.*

In vehicle treated rats, MTT reduction was impaired in HVF fed rats when compared to the other groups. Furthermore, MTT reduction was lower in cortical slices from SO than in slices from control and FO groups. In AMPH treated rats, MTT reduction was lower in the control and in HVF fed rats when compared to FO group. Repeated administration of AMPH caused a marked decrease in cortical slices viability in all supplemented groups.

In vehicle treated groups, post-hoc comparisons indicated that MTT reduction decreased in HVF and SO groups when compared to control and FO groups. In rats treated with AMPH, MTT reduction in all supplementation groups was lower than in vehicle treated groups. Furthermore, MTT reduction decreased in control and HVF groups when compared to FO and SO.

#### **4- Discussion**

In the present study, we showed that the HVF supplementation caused an increase of about 2 times in the locomotor activity, while the SO and FO did not modify this behavioral parameter. Similarly, the AMPH administration caused an increase of 5.5 times in crossings of rats treated with HVF against 3.9 and 3.71 times in the rats supplemented with SO and FO, respectively. Different studies have indicated the beneficial effects of the *n*-3 FA (omega-3) supplementation on BP symptoms [28, for review]. Here we observed for the first time, greater locomotor activity susceptibility after HVF supplementation in vehicle and AMPH treated rats, which may indicate a greater susceptibility of HVF fed animals to develop manic like symptoms.

AMPH increases the brain levels of DA, facilitating its auto-oxidation and DA-quinones generation. In line with this, LaVoie & Hastings, [20] demonstrated an increase in the binding of DA-quinones to cysteine residues on proteins following methamphetamine administration, which can impair the function of proteins. A recent animal study demonstrated that repeated AMPH administration increased protein carbonyl formation in rat brain, leading to the notion that repeated manic episodes may be associated with brain oxidative damage [10; 11]. Here, it was observed an increase in protein carbonyl content in the cortex of rats supplemented with HVF, whereas carbonyl levels were similar in control, SO and FO groups. Repeated administration of AMPH increased carbonyl levels in striatum and cortex of HVF supplemented animals. Of particular significance, supplementation with FO tended to be

associated with lower levels of protein carbonylation when compared to control and HVF supplemented groups. This was particularly evident in striatum. It was noticed that the consumption of SO decreased striatal protein carbonylation levels. In addition, the supplementation of FO shows some beneficial effects. In fact, the *n*-3 fatty acids present in FO preserved the plasma VIT C level induced by amphetamine, which was decreased in the other supplementations.

Taken together, the increase in protein carbonylation in rats supplemented with HVF indicates that *trans* FA can increase cerebral susceptibility to oxidative damage, which can contribute to neuronal injury. Slices from cortex and striatum obtained from HVF supplemented rats had decreased viability. Of particular significance, the viability of slices obtained from rats supplemented with FO was higher than those supplemented with SO. Repeated administration of AMPH caused a marked decrease in the viability of brain slices and supplementation with FO had a modest neuroprotective effect.

In the literature, the biological effects and safety of *trans* FA consumption are controversial [30]. In this sense, all the observations related to these fatty acids become very important, because they are consumed in rather large amounts in industrialized countries (2-8g /day), which correspond to about 2.5% of total energy [2].

In this sense, the omega-3 FA supplementation becomes especially important because the majority of diets contain great quantity of *n*-6 and insufficiency of *n*-3 fatty acids [27]. In fact, DHA is the precursor of neuroprotectin D1, a potent neuroprotective mediator which attenuates apoptotic processes by OS [6].

In conclusion, this study suggests that the predominance of *trans* FA in the diet can be associated with spontaneous or AMPH-induced hyperactivity, which can indicate behavioral abnormalities linked with maniac symptoms, found in psychiatry diseases. Consequently, further detailed investigations are urgently needed to establish the nutritional safety of *trans* FA in humans. Furthermore, in view of the putative predictability of AMPH-induced hyperactivity as a model of mania, it becomes important to conduct a large epidemiological study to determine a possible link between *trans* FA consumption and bipolar disorders in industrialized societies.

## 5- References

- [1] G. Ailhaud, F. Massiera, P. Weill, P. Legrand, J.M. Alessandri, P. Guesnet, Temporal changes in dietary fats: Role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity, *Prog Lipid Res.* 45 (2006) 203-236.
- [2] D.B. Allison, S.K. Egan, L.M. Barraj, C. Caughman, M. Infante, J.T. Heimbach, Estimated intakes of *trans* fatty and other fatty acids in the US population, *J. Am. Diet. Assoc.* 99 (1999) 166-174.
- [3] A. Anand, P. Verhoeff, N. Seneca, S.S. Zoghbi, J.P. Seibyl, D.S. Charney, R.B. Innis, Brain SPECT imaging of amphetamine-induced dopamine release in euthymic bipolar disorder patients, *Am. J. of Psychiatry.* 157 (2000) 1108-1114.
- [4] S.R. Baggio, N. Bragagnolo, The effect of heat treatment on the cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid contents of processed meat products, *Food Chem.* 95 (2006) 611-617.
- [5] R.C.S. Barcelos, D.M. Benvegnú, N. Bouffleur, P.Reckziegel, L.G. Muller, C. Pase, T. Emanuelli, M.E. Bürger, Effects of x-3 Essential Fatty Acids (x-3 EFAs) on Motor Disorders and Memory Dysfunction Typical Neuroleptic-induced: Behavioral and Biochemical Parameter, *Neuro. Res.* 17 (2009) 228-237.
- [6] N.G. Bazan, Omega-3 fatty acids, pro-inflammatory signaling and neuroprotection, *Clin. Nutr. Metab. Care.* 10 (2007) 136-141.

- [7] R.H. Belmaker, Bipolar disorder, *N. Engl. J. Med.* 351 (2004) 476-486.
- [8] S.B. Berman, T.G. Hastings, Dopamine oxidation alters mitochondrial respiration and induces permeability transition in brain mitochondria: implications for Parkinson's disease, *J. Neurochem.* 73 (1999) 1127-1137.
- [9] J.M. Brown, G.R. Hanson, A.E. Fleckenstein, Methamphetamine rapidly decreases vesicular dopamine uptake, *J. Neurochem.* 74 (2000) 2221-2223.
- [10] B.N. Frey, M.R. Martins, F.C. Petronilho, F. Dal-Pizzol, J. Quevedo, F. Kapezinski, Increased oxidative stress after repeated amphetamine exposure: possible relevance as a model of mania, *Bip. Disorders.* 8 (2006) 275-280.
- [11] B.N. Frey, S.S. Valvassori, G.Z. Réus, M.R. Martins, F.C. Petronilho, K. Bardini, F. Dal-Pizzol, F. Kapezinski, Changes in antioxidant defense enzymes after D-amphetamine exposure: implications as an animal model of mania, *Neurochem. Res.*; 31 (2006) 699-703.
- [12] T.D. Gould, J.A. Quiroz, J. Singh, C.A. Zarate, H.K. Manji, Emerging experimental therapeutics for bipolar disorder: insights from the molecular and cellular actions of current mood stabilizers, *Molec. Psychiatry*, 9 (2004) 734-755.
- [13] D.G. Graham, S.M. Tiffany, W.R. Bell Jr., W.F. Gutknecht, Autoxidation versus covalent binding of quinones as the mechanism of toxicity of dopamine, 6-hydroxydopamine,

and related compounds toward C1300 neuroblastoma cells in vitro, *Mol. Pharmacol.* 14 (1978) 644-653.

[14] K. Hamazaki, K.H. Choi, H.Y. Kim, Phospholipid profile in the postmortem hippocampus of patients with schizophrenia and bipolar disorder: No changes in docosahexaenoic acid species, *J. of Psychiatric Res.* In Press (2009).

[15] L. Hartman, B.C. Lago, A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids, *Lab. Pract.* 22 (1973) 475-477.

[16] M.C. Jacques-Silva, C.W. Nogueira, L.C. Broch, E.M. Flores, J.B. Rocha, Diphenyl diselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 88 (2001) 119-125.

[17] D.B. Jump, Dietary polyunsaturated fatty acids and regulation of gene transcription, *Curr. Opin. Lipidol.* 13 (2002) 155-164.

[18] J.E. Kinsella, Lipids, membrane receptors, and enzymes: effects of dietary fatty acids, *J. Parenteral and Enteral. Nutrition.* 14 (1990) 200-217.

[19] Y. Lamberty, D.G. Margineanu, H. Klitgaard, Effect of the new antiepileptic drug leviracetam in an animal model of mania, *Epilepsy Behav.* 2 (2001) 454-459.

[20] M.J. LaVoie, T.G. Hastings, Dopamine quinone formation and protein modification associated with the striatal neurotoxicity of methamphetamine: evidence against a role for extracellular dopamine, *J. Neurosci.* 19 (1999) 1484-1491.

- [21] R.L. Levine, D. Garland, C.N. Oliver, A. Amici, I. Climent, A.G. Lenz, Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 86 (1990) 464–78.
- [22] R. Machado-Vieira, F. Kapczinski, J.C. Soares, Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol.* 28 (2004) 209-224.
- [23] U.D. McCann, D.F. Wong, F. Yokoi, V. Villemagne, R.F. Dannals, G.A. Ricaurte, Reduced striatal dopamine transporter density in abstinent methamphetamine and methcathinone users: evidence from positron emission tomography studies with [<sup>11</sup>C]WIN-35,458, *J. Neurosci.* 18 (1998) 8417-8422.
- [24] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay, *J. Immunol. Methods.* 16 (1983) 55–63.
- [25] M. Pfeuffer, J. Schrezenmeir, Impact of *trans* fatty acids of ruminant origin compared with those from partially hydrogenated vegetable oils on CHD risk. *International Dairy J.* 16 (2006) 1383-1388.
- [26] M. Sarsilmaz, The regulatory role of dietary omega-3 essential fatty acids on oxidant/antioxidant balance in rat hippocampus, *Neurosci. Res. Commun.* 33 (2003) 114-123.
- [27] A.P. Simopoulos, Essential fatty acids in health and chronic disease, *Am. J. Clin. Nutr.* 70 (1999) 560S–569S.

- [28] T. Turnbull, M. Cullen-Drill, A. Smaldone, Efficacy of omega-3 fatty acid supplementation on improvement of bipolar symptoms: a systematic review, *Archives of Psychiatry Nursing*. 22 (2008) 305-311.
- [29] P.E. Wainwright, Dietary essential fatty acids and brain function: a development perspective on mechanisms, *Proc. Nutr. Soc.* 61 (2002) 61-69.
- [30] B. Wandall, The controversy over trans fatty acids: Effects early in life, *Food Chem. Toxicol.* 46 (2008) 3571-3579.
- [31] L.J. Yan, M.G. Traber, L. Packer, Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modified apolipoprotein B of human low-density lipoproteins, *Anal. Biochem.* 228 (1995) 349–51.
- [32] S., Yehuda, S. Rabinovitz, D.I. Mostofsky, Essential fatty acids and stress, In: Yehuda S, Mostofsky DI (Ed.), *Nutrition, stress and medical disorders*, Humana Press, Totowa, NJ, 2005; pp.,99-100.

## Legends for Tables

**Table 1-** Fatty acid composition (% of total identified FA) of the dietary supplementation.

**Table 2-** *-Ex-vivo* brain slices viability in cortex (A) and striatum (B) of supplemented rats with different diets (control-C, soybean oil-SO, hydrogenated vegetable fat-HVF or fish oil-FO) for 8 weeks (n=8). Experiments were performed after seven daily injections of dl-amphetamine (4mg/kg/mL-ip). The lowercase letters show significant differences between the diets within the same treatment; Asterisk show significant differences between the different treatments within the same supplementation. <sup>a</sup>Different from C, ( $P<0.05$ ); <sup>b</sup>Different from HVF ( $P<0.001$ ); <sup>c</sup>Different from FO ( $P<0.05$ ); \*Different from vehicle ( $P<0.001$ ).

## Legends for Figures

**Figure 1-** Spontaneous locomotor activity and the behavioral responsiveness to amphetamine, in open-field (number of crossing responses) of supplemented rats with different diets (control-C, soybean oil-SO, hydrogenated vegetable fat-HVF or fish oil-FO) for 8 weeks (n=8). Behavioral evaluation was carried out 2 hours after the last injection of seven daily injections of dl-amphetamine (4mg/kg/mL-ip). Data are expressed as mean±S.E.M. <sup>b</sup>Different from HVF within the same treatment ( $P<0.05$ ); \*Different from vehicle within the same supplementation ( $P<0.001$ ).

**Figure 2-** Accumulation of protein carbonyl in striatum (A) and cortex (B) of supplemented rats with different diets (control-C, soybean oil-SO, hydrogenated vegetable fat-HVF or fish oil-FO) for 8 weeks (n=8) and treated with seven daily injections of dl-AMPH (4mg/kg/mL-ip). Data are expressed as mean±S.E.M. The lowercase letters show significant differences between the diets within the same treatment; Asterisk shows significant difference between treatments within the same supplementation. <sup>a</sup>Different from control within the same treatment ( $P<0.05$ ), <sup>b</sup>Different from HVF ( $P<0.05$ ); \*Different from vehicle ( $P<0.001$ ).

**Figure 3-** Plasmatic vitamin C levels of supplemented rats with different diets (control-C, soybean oil-SO, hydrogenated vegetable fat-HVF or fish oil-FO) for 8 weeks (n=8) and treated with seven daily injections of dl-AMPH (4mg/kg/mL-ip). Data are expressed as



mean±S.E.M. <sup>a</sup>Different from control within the same treatment ( $P<0.05$ ), <sup>b</sup>Different from HVF within the same treatment ( $P<0.05$ ); \*Different from vehicle within the same supplementation ( $P<0.001$ ).

Table 1: Percentile composition of the fatty acids of the supplementation.

	SO	HVF	FO
Saturated	0,8	25,94	46,10
Monounsaturated	0,11	0,13	-
<i>Trans</i>	0,15	19,79	-
PUFAs n-6	50,21	10,44	27,02
PUFAs n-3	5,48	0,48	26,49

Table 2: Brain slices mitochondrial viability.

	Striatum		Córtex	
	Vehicle	AMPH	Vehicle	AMPH
C	100	40.7± 2.2 <sup>*</sup>	100	55±2.0 <sup>*</sup>
SO	84.8±3.9 <sup>a,b,c</sup>	62.3± 2.6 <sup>a,b,*</sup>	85.3±4.0 <sup>a,b,c</sup>	59±0.8 <sup>*</sup>
HVF	68.2±3.0 <sup>a</sup>	53.7±1.8 <sup>a,*</sup>	73.4±2.9 <sup>a</sup>	55.7±1.4 <sup>*</sup>
FO	93± 0.9 <sup>b</sup>	61.7±0.7 <sup>a,b,*</sup>	95.7±0.6 <sup>b</sup>	63±0.9 <sup>a,b,*</sup>

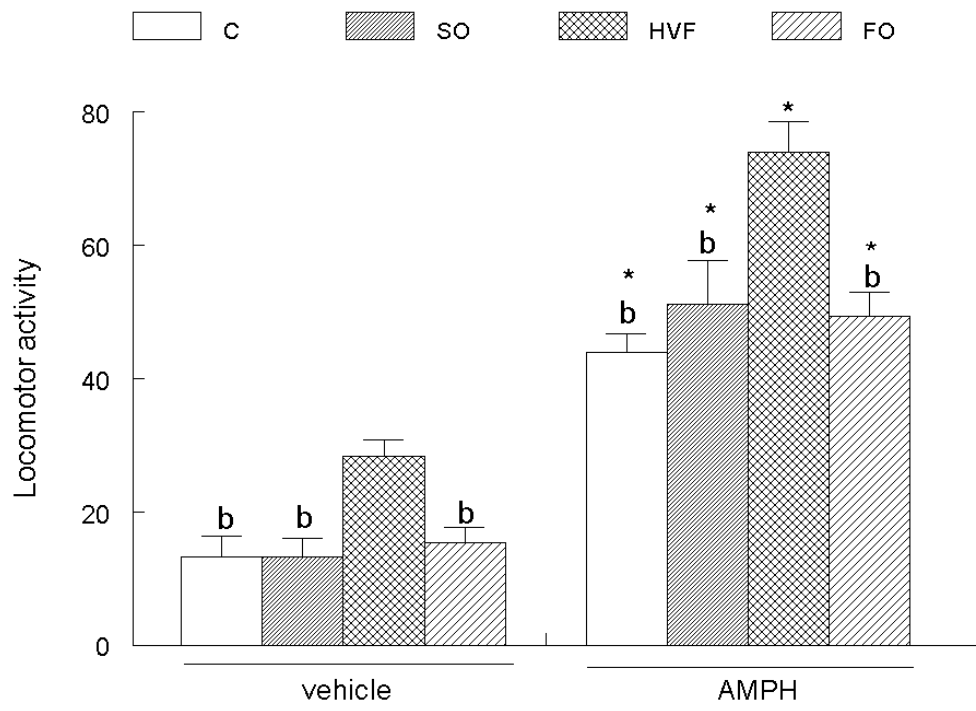


Figure 1

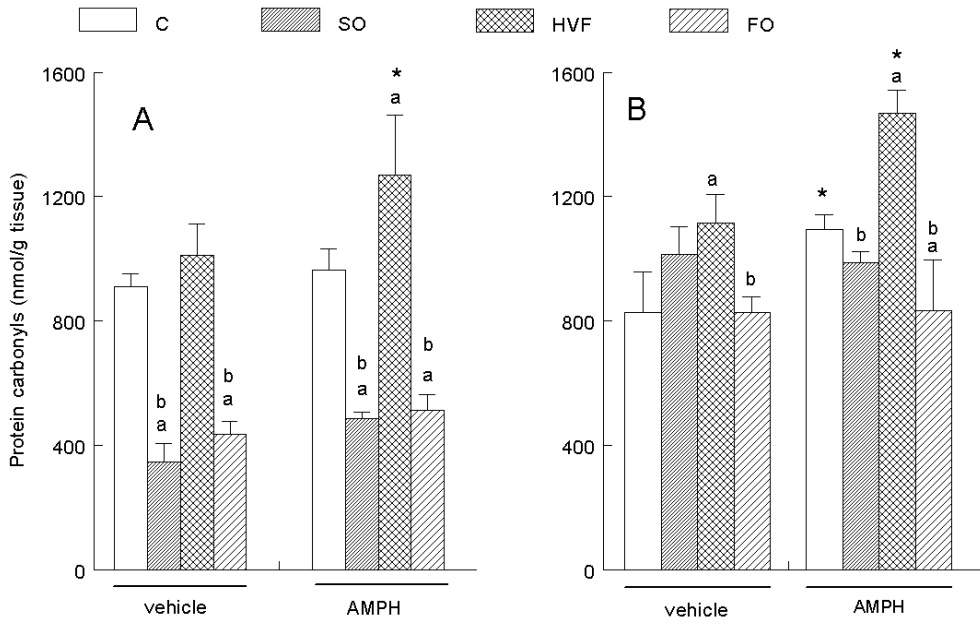


Figure 2

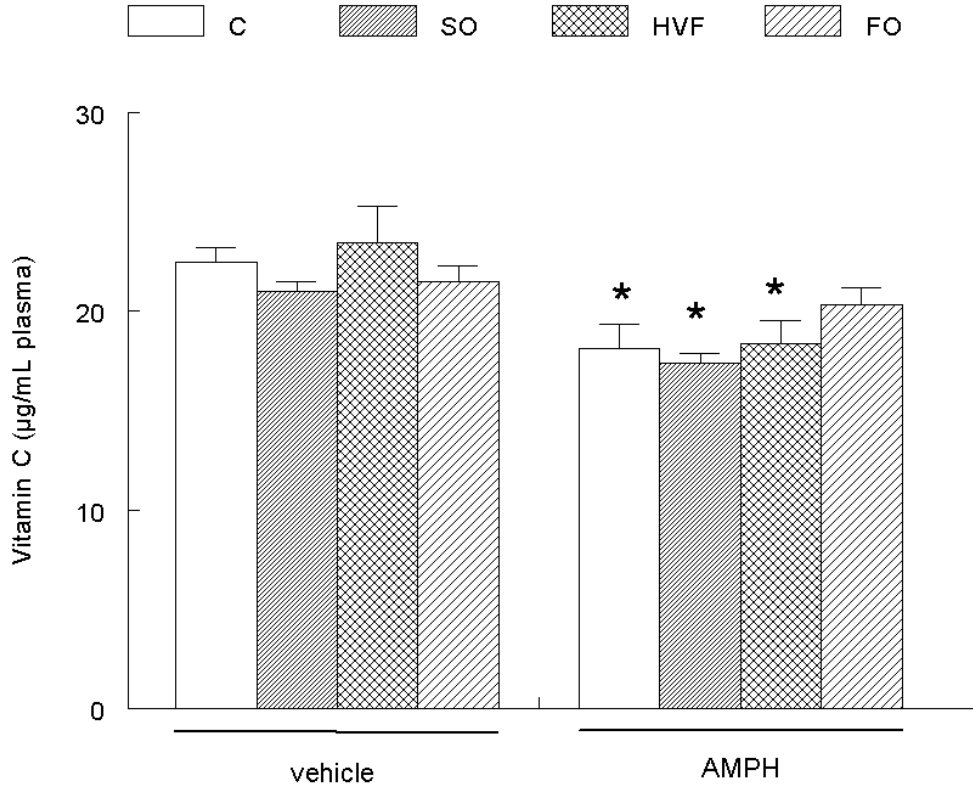


Figure 3

## 5. DISCUSSÃO

O aumento do consumo de produtos industrializados ricos em AGT se deve às suas propriedades de melhorar as características físicas, sensoriais e o tempo de prateleira dos alimentos (AZEVEDO, 1999), porém causa também uma preocupação sobre o impacto desses AG sobre a fisiologia e desenvolvimentos de doenças físicas e neuro-psiquiátricas.

A hiperatividade locomotora induzida por ANF é um parâmetro comportamental avaliado em modelos animais de mania (EINAT e cols., 2000; MACHADO-VIEIRA e cols., 2004). Em nosso estudo, observamos que o grupo experimental suplementado com AGT apresentou um aumento da atividade locomotora (114%) *per se*, a qual foi potencializada (456%) pela administração de anfetamina, enquanto os outros AG utilizados no experimento apresentaram um menor aumento, correspondendo a 286% e 272% para AG n-6 e AG n-3, respectivamente. Estes resultados orientam para uma hipótese que têm ganhado espaço na literatura: o consumo elevado de AGT predispõe o SNC às doenças neurológicas e/ou neuropsiquiátricas, observados pelo crescente aumento de sua incidência nos países ocidentais. Até o momento não existem estudos que comprovem a influência deste AG sobre a fisiologia neuronal, conduzindo à continuidade das pesquisas.

Além destes resultados comportamentais, nós também observamos que os grupos suplementados com AG n-6 e n-3 apresentaram uma redução de 38 e 48% no conteúdo de proteínas carboniladas no estriado, enquanto o grupo suplementado com AGT não modificou este parâmetro. Por outro lado, após a administração de anfetamina, somente os animais suplementados com AGT apresentaram um aumento (39%) da oxidação de proteínas no estriado. Juntos, podemos considerar que os AGT podem modificar neurônios estriatais, predispondo esta região cerebral às agressões externas, incluindo, as drogas psicoestimulantes como a anfetamina.

A suplementação com AGT também causou um aumento *per se* na oxidação de proteínas no córtex, a qual foi potencializada pela administração de anfetamina. Como este efeito da anfetamina foi prevenido pelos outros AGs, podemos considerar que os AGT tornam os tecidos neuronais mais suscetíveis aos danos da anfetamina..

Tem sido demonstrado que os AG n-3 apresentam propriedades anti-apoptóticas (SIMOPOULOS, 2006; YAVIN, 2006). Aqui, nós observamos que o grupo experimental suplementado com AG n-3 apresentou maior viabilidade mitocondrial nos tecidos neuronais avaliados em todos os grupos experimentais, isso pode ser explicado pelo fato da ANF

aumentar a formação de EROs e gerar alterações nas funções basais da mitocôndria o que pode levar a morte celular (GRAHAM, 1978; BERMAN e HASTINGS, 1999). Após o tratamento com ANF, o grupo que apresentou uma maior proteção sobre esse parâmetro também foi o AG n-3.

A suplementação com AG n-3 preveniu a redução dos níveis de Vit C induzido pela ANF, esse resultado se relaciona com os baixos níveis de proteína carbonil encontrado nos animais suplementados com os AG n-3, mesmo após o tratamento com a ANF. Os nossos resultados estão de acordo com outros dados apresentados na literatura, quando os AG n-3 mostraram efeitos sobre os parâmetros oxidantes / antioxidantes, prevenindo o desenvolvimento de EO (HASHIMOTO e cols., 2002; YAVIN e cols., 2002; CALON e cols., 2004; WU e cols., 2004; BAZAN, 2005).

A alteração dos padrões alimentares nos países ocidentais também alterou a proporção de ingestão n-6/n-3. Estima-se que na década dos anos 80, a média de ingestão diária de EPA e de DHA nos Estados Unidos era de aproximadamente de 50 mg/pessoa e 80 mg/pessoa, respectivamente (SIMOPOULOS, 2006). Estes valores estão muito abaixo das necessidades recomendadas, que variam de 220- 400 mg para o EPA, e de 400- 900 mg para o DHA (MAZZA e cols., 2007; YODIM, MARTIN e JOSEPH, 2000). Até o momento, não existem estudos no Brasil que reportem a proporção do consumo desses AG pela população, mas acredita-se ser semelhante aos descritos nos Estados Unidos, especialmente nas grandes cidades. Considerando que a ingestão balanceada de AG n-6/n-3 é fundamental para a integridade anatômica e funcional das membranas neuronais (FARKAS e cols., 2002), as alterações destas a partir da dieta podem influenciar no desenvolvimento de doenças, as quais podem ser caracterizadas como neuro-psicopatologias e/ou distúrbios psiquiátricos (SHAPIRO, 2003).

## **6. CONCLUSÕES**

Ao contrário do que foi observado com a suplementação com os AG n-3, os AGT mostraram efeitos nocivos sobre os parâmetros oxidante/antioxidante, sobre a viabilidade mitocondrial e atividade locomotora, o que podemos relacionar com uma pré-disposição ao desenvolvimento de mania, levando em consideração que a mesma é usada como um modelo de TB. Estudos da influência dos AGT em modelos animais de outras desordens neurológicas e/ou neuropsiquiátricas são urgentemente necessários, bem como estudos epidemiológicos para determinar uma possível ligação entre consumo de AGT e a incidência de TB em sociedades industrializadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AILHAUD, G.; e cols. Temporal changes in dietary fats: Role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. **Prog Lipid Res**, v.45, p. 203-236, 2006.

ALLISON, D.B.; e cols. Estimated intakes of *trans* fatty and other fatty acids in the US population. **J Am Diet Assoc**, v.99(2), p. 166-174, 1999.

American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition – Text Revision. American Psychiatric Association; Washington, D.C., 2000.

ANDREAZZA, A.C.; e cols. DNA damage in bipolar disorder. **Psychiatry Research**, v.153, p. 27-32, 2006.

ARMITAGE, J.A.; e cols. Increased blood pressure later in life may be associated with perinatal n-3 fatty acid deficiency. **Lipids**, v.38, p.459-464, 2003.

AZEVEDO, H.C. **Teores de isômeros *trans* em gorduras vegetais hidrogenadas avaliadas por diferentes técnicas instrumentais**. Campinas, 1999. 87f. tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Unicamp.

BAGGIO, S.R.; BRAGAGNOLO, N. The effect of heat treatment on the cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid contents of processed meat products. **Food Chemistry**, v.95, p. 611-617, 2006.

BAZAN, N.G. Neuroprotectin D1 (NPD1): a DHA-derived mediator that protects brain and retina against cell injury-induced oxidative stress. **Brain Pathology**, v. 15, n. 2, p. 159-266, 2005.

BENNETT, C.N.; HORROBIN, D.F. Gene targets related to phospholipids and fatty acid metabolism in schizophrenia and other psychiatric disorders. An update. **Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids**, v.63, p.7-59, 2000.

BIRCH, E.E.; e cols. A randomized controlled trial of long chain polyunsaturated fatty acid supplementation of formula in term infants after weaning at 6 wk of age. **Am J Clin Nutr**, v. 75 (3), p. 570-580, 2002.



BLACK, K.L.; e cols. Eicosapentaenoic acid: effect on brain prostaglandins, cerebral blood flow and edema in ischemic gerbils. **Stroke**, v.15: p.65-69, 1984.

BORSONELO, E.C.; GALDURÓZ, J.C.F. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in development, aging and substance abuse disorders: Review and propositions. **Prostaglandins Leucotrienes & Essential fatty Acids**, v.78, p.237-245, 2008.

BROX, J.H.; e cols. Effects of cod liver oil on platelets and coagulation in familial hypercholesterolemia (type IIa). **Acta Med Scand**, v.213, p.137-144, 1983.

BOURRE, J.M. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during aging. **Journal Nutrition Health Aging**, v.8, p.163-174, 2004.

BURGESS, J.R.; e cols. Long-chain polyunsaturated fatty acids in children with attention-deficit hyperactivity disorder. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.71, p.327S-330S, 2000.

CALON, F. e cols. Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model. **Neuron**, v. 43, p. 633-645, 2004.

CALON, F.; COLE, G. Neuroprotective action of omega-3 polyunsaturated fatty acids against neurodegenerative diseases: Evidence from animal studies. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 77, p. 287-293, 2007.

CANTWELL, M.M.; e cols. Contribution of foods to *trans* unsaturated fatty acid intake in a group of Irish adults. **J Hum Nutr Dietet**, v. 18, p. 377-385, 2005.

CASTRÉN, E. Is mood chemistry? **Nature Reviews Neuroscience**, v.6, p.241-246, 2005.

CASSAGNO, N.; e cols. Low amounts of trans-18:1 fatty acids elevate plasma triacylglycerol but not cholesterol and alter the cellular defence to oxidative stress in mice. **British Journal of Nutrition**, v. 94, p. 346-352, 2005.

CHALON, S.; e cols. Polyunsaturated fatty acids and cerebral functions: focus on monoaminergic neurotransmission. **Lipids**, v.36, p.937-944, 2001.

CHAMPOUX, M.; e cols. Fatty acid formula supplementation and neuromotor development in rhesus monkey neonates. **Pediatr Res**, v. 51(3), p. 273-281, 2002.

CHEN, G.; e cols. Enhancement of hippocampal neurogenesis by lithium. **Journal neurochemistry**, v. 75, p. 1729-1734, 2000.

CHIUEH, C.C.; e cols. Intracranial microdialysis of salicylic acid to detect hydroxyl radical generation through dopamine autooxidation in the caudate nucleus. **Free Radic Biol Med**, v. 13, p.581–583, 1992.

CHOIN-KWON, S.; e cols. Temporal changes in cerebral antioxidant enzyme activities ischemia and reperfusion in a rat focal brain ischemia model: effect of dietary fish oil. **Dev Brain Res**, v. 152, n. 1, p. 11-18, 2004.

CHRISTIE, W.W. Lipid analysis: Isolation, separation, indentification and structural analysis of lipids. 3<sup>a</sup> ed., The Oily Press, v. 15 in The Oily Press Lipid Library, Bridgwater, England,; 2003.

CLANDININ, M.T.; JUMPSSEN, J.; SUCH, M. Relationship between fatty acid accretion, membrane composition, and biologic functions. **J Pediatric**, v.125, p. S25-S32, 1994.

CLARKE, S.D.; JUMP, D.B. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of genes transcription. **Annu Rev Nutr**, v.14, p. 83-98, 1994.

CLARKE, J.; e cols. Dietary supplementation of omega-3 polyunsaturated fatty acids worsens forelimb motor function after intracerebral hemorrhage in rats. **Experimental Neurology**, v. 191, p. 119-127, 2005.

CLIFFORD, J.J.; e cols. Essential fatty acids given from conception prevent topographies of motor deficits in a transgenic model of Huntington's disease. **Neuroscience**, v.109, p. 81-88, 2002.

CÓLON-RAMOS, U.; BAYLIN, A.; CAMPOS, H. The relation between *trans* fatty acid levels and increased risk of myocardial infarction does not hold at lower levels of *trans* fatty acids in the Costa Rican food supply. **The Journal of Nutrition**, v. 136, p. 2887-2892, 2006.

COTT, J. Omega-3 fatty acids and psychiatric disorders. **Alternative Therapies in women's health**; v. 1(13), p. 97-104, 1999.

COYLE, J.T.; MANJI, H.K. Getting balance: drugs for bipolar disorder share target. **Nature Medicine** v.8, p.557-558, 2002.

COYLE, J.T.; DUMAN, R.S. Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. **Neuron**, v.38, p.157-160, 2003.

CURI, R.; e cols. Entendendo a gordura - os ácidos graxos. 1ª ed., Ed. Manole, São Paulo, 2002.

DAS, U.N. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the growth and development of brain and memory. **Nutrition**, v.19, p.62-65, 2003.

DAS, U.N. Can perinatal supplementation of long-chain polyunsaturated fatty acids prevent schizophrenia in adult life? **Med Sci Monit**, v. 10, p. 33-7, 2004.

DAS, U.N.; VADDADI, K.S. Essential fatty acids in Huntington's disease. **Nutrition**, v.20, p. 942-947, 2004.

DECSI, T.; KOLETZKO, B. Do trans fatty acids impair linoleic acid metabolism in children? **Annals Nutrition and Metabolism**, v. 39(1), p. 36-41, 1995.

DENNEHY, E.B.; e cols. Does provider adherence to a treatment guideline change clinical outcomes for patients with bipolar disorder? Results from the Texas medications Algorithm Project. **Psychological Medicine**, v. 35, p.1695-1706, 2005.

DU BOIS, T.M.; e cols. fatty acids differentially affect serotonin receptor and transporter binding in the rat brain. **Neuroscience**, v.139. p. 1397-1403, 2006.

DZIEZAK, J.D. Fats , oils and fat substitutes. **Food Technol**, v.43(7), p.66-74, 1989.

ECKEL, R.H.; e cols. Understanding the complexity of *trans* fatty acid reduction in the American diet. **Circulation**, v. 115, p.2231-2246, 2007

EINAT, H.; KOFMAN, O.; BELMAKER, R.H. Animal models of bipolar disorder: from a single episode to progressive cycling models. In: Myslobodsky M, winer O. (Eds.), Contemporary issues in modeling psychopharmacology. Boston: Kluwer Academic publishers, pp. 164-180, 2000.

EINAT, H.; MANJI, H.K. Cellular plasticity cascades: genes-to-behavior pathways in animal models of bipolar disorder. **Biological Psychiatry**, v.59, p.1160-1171, 2006.

ELIAS, S.L.; INNIS, S.M. Infant plasma *trans*, n-6, and n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation, and birth weight and length. **Am J Clin Nutr**, v.73, p.807-14, 2001.

EMKEN, E.A.; ADLOT, R.O.; GULLEY, R.M. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. **Biochim Biophys Acta**, v.1213, p.277-288, 1994.

ENIG, M.G. *Know Your Fats: The Complete Primer for Understanding the Nutrition of Fats, Oils, and Cholesterol*, Bethesda Press, Silver Spring, MD , 2000.

FARKAS, E.; e cols. Dietary long chain PUFAs differentially affect hippocampal muscarinic 1 and serotonergic 1 A receptors in experimental cerebral hypoperfusion. **Brain Research**, v. 954, p. 32-41, 2002.

FAROOQUI, A.A.; HORROCKS, L.A.; FAROOQUI, T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, function, and involvement in neurological disorders. **Chemistry and Physic of Lipids**, v. 106, p. 1-29, 2000.

FENTON, W.S.; HIBBLEN, J.; KNABLE, M. Essential fatty acids, lipid membrana abnormalities and the diagnosis and treatment of schizophrenia. **Biol Psychiatry**, v.47, p.8-21, 2000.

FERRAZ, A.C.; e cols. The antidepressant role of dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids in two phases in the developing brain. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.78, p. 183-188, 2008.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, p. 239–247, 2000.

FREY, B.N.; e cols. Increased oxidative stress after repeated amphetamine exposure: possible relevance as a model of mania. **Bipolar Disorders**, v. 8, p. 275-280, 2006a.

FREY, B.N.; e cols. Changes in antioxidant defense enzymes after D-amphetamine exposure: implications as an animal model of mania. **Neurochem Res**; v. 31, p. 699-703, 2006b.

FREY, B.N.; e cols. Increased oxidative stress in submitochondrial particles after chronic amphetamine exposure. **Brain Research**, v.1097 (1), p.224-229, 2006c.

FREY, B.N.; e cols. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. **Journal and Psychiatry and Neuroscience**, v.31 (5), p. 326-332, 2006d.

FREY, B.N.; e cols. Increased oxidative stress in submitochondrial particles after chronic amphetamine exposure. **Brain Research**, v. 1097 (1), p. 224-229, 2006e.

FREEMAN, M.P. Omega-3 fatty acids in psychiatry: a review. *Ann Clin Psychiatry*, v.12 (3), p.159-165, 2000.

FUGH-BERMAN, A.; COTT, J.M. Dietary supplementation and natural products as psychotherapeutic agents. **Psychosom Med**, v. 61(5), p. 712-718, 1999.

GAZALLE, F.K.; e cols. Clinical impact of late diagnose of bipolar disorder. **J. Affect. Disord**, v. 86, p. 313–316, 2005.

GERNER, R.H.; POST, R.M.; BUNNEY JR., W.E. A dopaminergic mechanism in mania. **American journal of Psychiatry**, v.133, p.1177-1180, 1976.

GOULD, T.D.; e cols. AR-A014418, a selective GSK-3 inhibitor, produces antidepressant-like effects in the forced swim test. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v.7, p.387-390, 2004.

GOULD, T.D.; EINAT, H. Animal Models of bipolar disorder and mood stabilizer efficacy: A critical need for improvement. **Neuroscience and behavioral Reviews**, v.31, p.825-831, 2007.

GRABER, R.; SUMIDA, C; NUNEZ, E.A. Fatty Acids and cell signal transduction. **J Lipid Mediat Cell Signal**, v.4, p.9-91, 1994.

GRAHAM, D.G. Oxidative pathways for catecholamines in the genesis of neuromelanin and cytotoxic quinines. **Mol Pharmacol**, v.14, p. 633-643, 1978.

GRANT, B.F.; e cols. Prevalence, correlates, and comorbidity of bipolar I disorder and axis I and II disorders: results from the National Epidemiologic Survey on alcohol and related conditions. **Journal of Clinical Psychiatry**, v.66, p.1205-1215, 2005.

GREENWOOD, T.A.; e cols. Identification of additional variants within the human dopamine transporter gene provides further evidence for an association with bipolar disorder in two independent samples. **Molecular Psychiatry**, v.11, p.125-133, 2006.

GURR, M.I.; HARWOOD, J.L. Lipid Biochemistry – an introduction. 4<sup>a</sup> ed., Great Britain, Chaoman & Hall, 1991.

HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P.N., (Ed.) The rumen microbial ecosystem. London: Elsevier Applied Science, p.285-322. 1998.

KATAN, M.B., ZOCK, P.L., MENSINK, R.P. Effects of fats and fatty acid on blood lipids in humans: an overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.60, p.S-1017 S-1022, 1994.

HAAG, M. Essential fatty acids and the brain. **Can. J. Psychiatr**, v. 48, p.195-203, 2003.

HASHIMOTO, M. Chronic administration of docosahexaenoic acid ameliorates the impairment of spatial cognition learning ability in amyloid {beta}-infused rats. **J Nutr**, v. 135, p. 549-555, 2005.

HASHIMOTO, M. e cols. Docosahexaenoic acid provides protection from impairment of learning ability in Alzheimer's disease model rats. **J Neurochem**, v. 81, p. 1084-1091, 2002.

HICHAMI, A.; e cols. Olfactory discrimination ability and brain expression of c fos, Girs and Glut1 mRNA are altered in n-3 fatty acid-depleted rats. **Behavioural Brain Research**, v. 184, p. 1-10, 2007.

HILTY, D.M.; BRADY, K.Y.; HALES, R.E. A Review of Bipolar Disorders Among Adults. **Psychiatric Services**, v. 50, p. 201-213, 1999.

HÖGYES, E.; e cols. Neuroprotective effect of developmental docosahexaenoic acid supplement against excitotoxic brain damage in infant rats. **Neuroscience**, v. 119, p. 999-1012, 2003.

HONSTRA G. Importance of polyunsaturated fatty acids of the n-6 and n-3 families for early human development. **Eur J Lipid Sci Technol**, v.103, p.379-389, 2001.

HORROCKS, L.A.; FAROOQUI, A.A. Docosahexaenoic acid in the diet: its importance in maintenance and restoration of neural membrane function. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 70, p. 361-372, 2004.

HU, F.B.; e cols. Dietary fat intake and the risk of coronary heart diseases in women. **N Engl J Med**, v.335, p.1491-1499, 1997.

HU, F.B.; MANSON, J.E.; STAMPFER, M.J. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. **N Engl J Med**, v. 345, p. 790-797, 2001.

HULBERT, A.J.; e cols. Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. **Biology Reviews**, v. 80, p. 155-169, 2005.

HULSHOF, K.F.A.M.; e cols. Intake of fatty acids in Western Europe with emphasis on *trans* fatty acids: the TRANFAIR study. **Eur J Clin Nutr**, v.53, p.143-157, 1999.

HOSSAIN, M.S.; e cols. Antioxidative effects of docosahexaenoic acid in the cerebrum versus cerebellum and brainstem of aged hypercholesterolemic rats. **J Neurochem**, v. 72 (3), p. 1133-1138, 1999.

INNIS, S.M.; GREEN, T.J.; HALSEY, T.K. Variability in the *trans* fatty acid content of foods within a food category: implications for estimation of dietary *trans* fatty acid intakes. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 18 (3), p. 255-260, 1999.

INNIS, S. Trans fatty intakes during pregnancy, infancy and early childhood. **Atherosclerosis Suppl**, v.7, p.17-20, 2006.

IOM – Institute of Medicine. Letter report on dietary reference intakes for *trans* fatty acids, Food Nutrition Board, 2002. Disponível em [Http://www.nap.edu](http://www.nap.edu). Acessado em 12/11/2009.

JACOBS, D.; SILVERSTONE, T. Dextroamphetamine-induced arousal in human subjects as a model of mania. **Psychological Medicine**, v.16, p.323-329, 1986.

JAKOBSEN, M.U.; e cols. Intake of ruminant *trans* fatty acids and risk of coronary heart disease – An overview. **Atherosclerosis Supplements**, v. 7, p. 9-11, 2006.

JOIST, J.H.; BAKER, R.K.; SCHONFELD, G. Increased in vivo and in vitro platelet function in type II- and type IV-hyperlipoproteinemia. **Thromb Res**, v.15, p.95-108, 1979.

JOYCE, P.R.; e cols. Urinary catecholamines and plasma hormones predict mood state in rapid cycling bipolar affective disorder. *Journal of Affective Disorders*, v. 33 (4), p. 233-243, 1995.

KATO, T.; KATO, N. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, v.2, p.180-190, 2000.

KOLETZKO, B. Trans fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturates and growth in man. *Acta Paediatrica*, v. 81(4), p. 302-306, 1992.

KHOSLA, P.; HAYES, K.C. Dietary *trans* monounsaturated fatty acids negatively impact plasma lipids in humans: critical review of the evidence. *Journal American College Nutrition*, v.15 (4), p.325-339, 1996.

KOHLMEIER, L.; e cols. Adipose tissues *trans* fatty acids and breast cancer in the European Community Multicenter Study on antioxidants, myocardial infarction, and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, v. 6, p. 705-710, 1997.

KULOGLU, M.; e cols. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochemistry and Function*, v.20, p.171-175, 2002.

LAURITZEN, L.; e cols. The essentiality of long chain *n-3* fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Progress in Lipid Research*, v. 40, p. 1-94, 2001.

LARQUÉ, E.; ZAMORA, S.; GIL, A. Dietary *trans* fatty acids in early life: a review. *Early Hum Dev*, v. 65, p. S31-S41, 2001.

LEVANT, B.; RADEL, J. D.; CARLSON, S. E. Decreased brain docosahexaenoic acid during development alters dopamine-related behaviors in adult rats are differentially affected by dietary remediation. *Behavioural Brain Research*. V. 152, p. 49-57, 2004.

LIM, S.Y.; DOHERTY, J.D.; SALEM, N.Jr. Lead exposure and (n-3) fatty acid deficiency during rat neonatal development alter liver, plasma, and brain polyunsaturated fatty acid composition. *J Nutr*, v.135, p.1027-1033, 2005.

LOÏ, C.; e cols. Incorporation and metabolism of dietary *trans* isomers of linolenic acid alter the fatty acid profile of rat tissues. *Journal Nutrition*, v. 130, p. 2550-2555, 2000.



LOPEZ, A.D.; MURRAY, C.J.L. The global burden of disease, 1990-2020. **Nature Medicine**, v.4, p.1241-1243, 1998.

LOPEZ-GARCIA, E.; e cols. consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. **The Journal of Nutrition**, v. 135, p. 562-566, 2005.

LUKIW, W.J.; e cols. A role for docosahexaenoic acid-derived neuroprotection D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. **J Clin Invest**, v.115(10), p. 2774-2783, 2005.

MACHADO-VIEIRA, R.; KAPCZINSKI, F.; SOARES, J.C. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.28, p.209-224, 2004.

MACHADO-VIEIRA, R.; e cols. Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode. **Biol Psychiatry**, v. 15;61(2), p.142-4, 2007.

MAHFOUZ, M.M.; KUMMEROW, F.A. Hydrogenated fat high in trans monoenes with an adequate level of linoleic acid has no effect on prostaglandin synthesis in rats. **Journal Nutrition**, v.129, p.15-24, 1999.

MALHI, G.S.; e cols. Bipolaroids: functional imaging in bipolar disorder. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v.110(422), p.46-54, 2004.

MANCINI, J.; CHEMIM, S. **Implicações nutricionais dos ácidos graxos trans**. In: Seminários "Gorduras Modificadas com Baixos Teores de Ácidos Graxos trans: aspectos nutricionais e tecnológicos". Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, São Paulo, 1996

MANJI, H.K.; LENOX, R.H. Signaling cellular insight into the pathophysiology of bipolar disorder. **Biological Psychiatry**, v. 48 (6), p. 518-530, 2000.

MANTZIORIS, F.; CLELAND, L. G.; GIBSON, R. A. Biochemical effects of a diet containing foods enriched with n-3 fatty acids. **Am J Clin Nutr**, v. 72, p. 42-48, 2000.

MARTEINSDOTTIR, I.; e cols. Changes in dietary fatty acids alter phospholipids fatty acid composition in selected regions of rat brain. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Boil. Psychiatry**, v.22, p.1007-1021, 1998.

MARTIN, C.A.; e cols. *Trans* fatty acid-forming process in food: a review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79 (2), p. 343-350, 2007.

MAZZA, M.; e cols. Omega-3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric disease: An overview. **Progress in Neuro- Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.31, p. 12-26, 2007.

McNAMARA, R.K.; CARLSON, S.E. Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, p. 329- 349, 2006.

MENSINK, R.P.; e cols. Effects of dietary acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, p. 1146-1155, 2003.

MITCHELL, S.A.; e cols. The Apaf-1 internal ribosome entry segment attains the correct structural conformation for function via interactions with PTB and unr. **Mol Cell**, v. 11(3), p.757-771, 2003.

MOZAFFARIAN, D.; e cols. *Trans* fatty acids and cardiovascular disease. **The New England Journal of Medicine**, v.354 (15), p. 1601-1613, 2006.

MÜLLER-OERLINGHAUSEN, B.; BERGHÖFER, A.; BAUER, M. Bipolar Disorder. **Lancet**, v.359, p.241–247, 2002.

MURPHY, D.L.; e cols. Regular induction of hypomania by L-dopa in “bipolar” manic-depressive patients. **Nature**, v.229, p.135-136, 1971.

MURPHY, M.G. Dietary fatty acids and membrane protein function. **J Nutr biochem**, v.1, p.68-70, 1990.

NATALIE, J.B.; FLORISN. H.G.M.; BRENDON, J.M. Functionality at the end of a fatty acid chain chemical and biological routes to  $\omega$ -hydroxylated fatty acids. **Lipid Technology**, v. 21(10), p. 216-219, 2009.

NESTLER, E.J.; e cols. Neurobiology of depression. **Neuron**, v.34, p.13-25, 2002.

NEURINGER, M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: methods, results, and implications. **Am J Clin Nutr**, v. 71, p. 256-267, 2000.

OZCAN, M.E.; e cols. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. **International Clinical Psychopharmacology**, v.19, p.89-95, 2004.

PARKER, G.; e cols. Omega-3 fatty acids and mood disorders. **Am J Psychiatry**, v.163, p.969-978, 2006.

PEET, M.; STOKES, C. Omega-3 fatty acids in the treatment of psychiatric disorders **Drugs. Nutr Neurosci**, v.65, p.1051-1059, 2005.

POST, R.M.; e cols. Morbidity in 258 bipolar outpatients followed for 1 year with prospective ratings on the NIMH life chart method. **Journal of Clinical Psychiatry**, v.64, p.680-690, 2003.

PRECHT, D.; MOLKETIN, J. rapid analysis of the isomers of *trans* octadecenoic acid in milk fat. **Int Dairy Journal**, v. 6, p. 791-809, 1996.

RANJEKAR, P.K.; e cols. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. **Psychiatry Research** 121:109-22, 2003.

RICHARDSON, A.J. Omega-3 fatty acids in ADHD and related neurodevelopmental disorders. **Int Rev Psychiatry**, v.18, p.155-172, 2006.

ROACH, C.; e cols. Comparison of *cis* and *trans* fatty acid containing phosphatidylcholines on membrane properties. **Biochemistry**, v. 43, p. 6344-6351, 2004.

SABARENSE, C.M.; MANCINI-FILHO, J. Efeito da gordura vegetal parcialmente hidrogenada sobre a incorporação de ácidos graxos *trans* em tecidos de ratos. **Rev Nutr**, v. 16 (4), p. 399-407, 2003.

SAGUY, I.S., DANA, D. Integrated approach to deep fat frying Engineering, nutrition, health and consumer aspects. **J Food Eng**, v.56, p. 143-152, 2003.

SALEM, J.N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder**, v.3(1), p.1-8, 1999.

SALEM, N.JR.; e cols. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. **Lipids**, v.36, p.945–959, 2001.

SALMERÓN, J.; e cols. Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women. **Am J Clin Nutr**, v. 73, p. 1019-1026, 2001.

SANGIOVANNI, J.P.; e cols. Meta-analysis of dietary essential fatty acids and long-chain polyunsaturated fatty acids as they related to visual resolution acuity in healthy preterm infants. **Pediatrics**, v. 105 (6), p. 1292-1298, 2000.

SANGIOVANNI, J.P.; CHEW, E.Y. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 24, p. 87-138, 2005.

SARSILMAZ, M.; e cols. Potential role of dietary  $\omega$ -3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.69, p.253-259, 2003.

SEMMA, M. Trans fatty acids: properties, benefits and risks. **Journal Health Science**, v.48, p.7-13, 2002.

SCHILDKRAUT, J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. **American Journal of Psychiatry**, v.122, p.509-522, 1965.

SEUNG KIM, H.F.; e cols. Inhibitory effects of omega-3 fatty acids on protein Kinase C activity in vitro. **Mol Psychiatry**, v.6, p.246-248, 2001.

SEMMA, M. *Trans* fatty acids: properties, benefits and risk. **Journal Health Science**, v. 48 (1), p. 7-13, 2002.

SHALTIEL, G.; CHEN, G.; MANJI, H.K.. Neurotrophic signaling cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. **Curr.Opin.Pharmacol**, 2006.

SHAPIRO, H. Could n-3 polyunsaturated fatty acids reduce pathological pain by direct actions on the nervous system? **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, v.68, p.219-224, 2003.

SIMOPOULOS, A.P. Essential fatty acids in health and chronic disease. **Am J Clin Nut**, v.70, p.560-569, 1999.

SIMOPOULOS, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomed Pharmacother**, v.56, p.365-379, 2002.

SIMOPOULOS, A.P. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 60, p. 502-507, 2006.

SOLFRIZZI, V.; e cols. Dietary fatty acids intake: possible role in cognitive decline and dementia. **Experimental Gerontology**, v.40, p.257-270, 2005.

SONGUR, A.; e cols. Hypothalamic superoxide dismutase, xanthine oxidase, nitric oxide and malondialdehyde in rats fed with fish  $\omega$ -3 fatty acids. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v.28, p.693-698, 2004.

STENDER, S.; DYEBERG, J. Influence of *trans* fatty acids on health. 4<sup>a</sup> ed., A report from the Danish Nutrition Council. Publ. n<sup>o</sup>. 34, Copenhagen, 2003.

STENDER, S.; DYEBERG, J. Influence of *trans* fatty acids on health. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 48, p. 61-66, 2004.

STNEDER, S.; ASTRUP, A.; DYERBERG, J. Ruminant and industrially produced *trans* fatty acids: health aspects. **Food & nutrition Research**, v. 52, p. 1651, 2008.

STOLL, A.L.; e cols. Omega 3 Fatty Acids in Bipolar Disorder. **Arch Gen Psychiatry**, v.56, p.407-412, 1999.

STOLL, A.L.; e cols. Neuroimaging in Bipolar Disorders: What have w learned? **Biological Psychiatry**, v. 49(1), p. 80, 2001.

STRAKOWSKI, S.M.; DELBELLO, M.P.; ADLER, C.M. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. **Molecular Psychiatry**, v.10, p.105-116, 2005.

SULZE, R.D.; e cols. Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport. **Journal of Neuroscience**, v.15, p.4102-4108, 1995.

SUMIYOSHI, T.; e cols. Essential polyunsaturated fatty acids and social cognition in schizophrenia. **Psychiatry Research**, v. 157, p. 87-93, 2008.

SUN, X.; e cols. Downregulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v.31, p.189-196, 2006.

SUN, Q.; MA, J.; e cols. A prospective study of *trans* fatty acids in erythrocytes and risk of coronary heart disease. **Circulation**, v. 115, p. 1858-1865, 2007.

TAKUMA, K.; BABA, A.; MATSUDA, T. Astrocyte Apoptosis: implications for neuroprotection. **Progress In Neurobiology**, v.72(2), p.111-127, 2004.

TAPIERO, H.; e cols. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.56(5), p.215-222, 2002.

TARRAGO-TRANI, M.; e cols. New and existing oils and fats used in products with reduced *trans*-fatty acid content. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 106, p. 867-880, 2006.

TIEMEIER, H. Biological risk factors for late life depression. **Eur J Epidemiol**, v. 18, p. 745-750, 2003.

VALKO, M.; e cols. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Mol Cell Biochem**, v. 266, p.37-56, 2004.

VALKO, M.; e cols. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 39, p.44-84, 2007.

WAINWRIGHT, P.E.; XING, H.C.; MUTSAERS, L.; MCCUTCHEON, D.; KYLE, D. Arachidonic acid offsets the effects on mouse brain and behavior of a diet with a low (n-6)/(n-3) ratio and very high levels of docosahexaenoic acid. **J. Nutr**, v.127, p.183, 1997.

UAUY, R.; DANGOUR, A.D. Nutrition in brain development and aging: role of essential fatty acids. **Nutr Rev**, v.64, p.24-33, 2006.

WEBER, P.C.; LEAF, A. Cardiovascular effects of omega-3 fatty acids, Atherosclerosis risk factor modification by omega-3 fatty acids. **World Rev Nutr Diet**, v.66, p.218-232, 1991.

WILLETT, W.C. Trans fatty acids and cardiovascular disease – epidemiological data. **Atherosclerosis Supplements**, v. 7, p. 5-8, 2006.

WAINWRIGHT, P.E. Do essential rational use for n-3 fatty acids play a role in brain and behavioral development? **Neurosci Biobehav Rev**, v. 16, p. 193-205, 1992.

WEISSMAN, M.M.; e cols. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. **Journal of American Medical Association**, v.276, p.293-299, 1996.

WILLIAMS, R.S.; e cols. A common mechanism of action for three mood-stabilizing drugs. **Nature**, v.417, p.292-295, 2002.

WU, C.W.; e cols. Enhanced oxidative stress and aberrant mitochondrial biogenesis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells during methamphetamine induced apoptosis. **Toxicol. Appl Pharmacol**, v. 220: p. 243-251, 2007.

YAVIN, E.; BRAND, A.; GREEN, P. Docosahexaenoic abundance in the brain: a biodevice to combat oxidative stress. **Nutr Neurosci**, v. 5, p. 149-157, 2002.

YAVIN, E. Versatile roles of docosahexaenoic acid in the prenatal brain: from proand anti-oxidant features to regulation of gene expression. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 75, p. 203-211, 2006.

YEHUDA,S.; MOSTOFSKY, D.I. Handbook of essential fatty acids biology: biochemistry, physiology, and behavioral neurobiology. New York: **Humane Press**, p. 427-452, 1997.

YEHUDA, S. Omega-6/omega-3 ratio and brain-related functions, world. **Rev. Nutr. Diet**, 92:37-56, 2003.

YEHUDA, S.; RABINOVITZ, S.; MOSTOFSKY, D. I. Essential fatty acids and the brain: From infancy to aging. **Neurobiology of Aging**, v. 26, p.98-102, 2005.

YATHAM, L.N.; e cols. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) guidelines for the management of patients with bipolar disorder: consensus and controversies. **Bipolar Disorders**, v.7(3), p.5-69, 2005.

YAVIN, E.; BRAND, A.; GREEN, P. Docosahexaenoic abundance in the brain: a biodevice to combat oxidative stress. **Nutr Neurosci**, v. 5, p. 149-157, 2002.

YILMAZ, H. R., e cols. The effects of n-3 polyunsaturated fatty acids by gavage on some metabolic enzymes of rat liver. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 71, p. 131-135, 2004.

YOUUDIM, K.A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J.A. essential fatty acids and the brain: possible health implications. **Journal of Developmental Neuroscience**, v. 18, p. 383-399, 2000.

ZAPOLKA-DOWNAR, D.; KOSMIDER, A.; NARUSZEWICZ, M. *Trans* fatty acids induce apoptosis in human endothelial cells. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56 (4), p. 611-625, 2005.

ZARATE, C.A. JR.; SINGH, J.; MANJI, H.K. Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. **Biol Psychiatry**, v.59, p.1006- 1020, 2006.