

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE**

MARINA GUEDES FRAGA LOPES

Efeitos da suplementação de óleo de peixe sobre endotoxemia metabólica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina: estudo randomizado, duplo-cego.

JUIZ DE FORA
2024

MARINA GUEDES FRAGA LOPES

Efeitos da suplementação de óleo de peixe sobre endotoxemia metabólica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina: estudo randomizado, duplo-cego.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito à obtenção do título de Doutor em Saúde. Área de concentração: Pesquisa em Saúde Humana

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Teodoro de Souza

JUIZ DE FORA
2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Lopes, Marina Guedes Fraga.

Efeitos da suplementação de óleo de peixe sobre endotoxemia metabólica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina : estudo randomizado, duplo-cego / Marina Guedes Fraga Lopes. -- 2024.

86 p. : il.

Orientador: Cláudio Teodoro de Souza

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2024.

1. Obesidade. 2. Diabetes Mellitus tipo 2. 3. Endotoxemia Metabólica. 4. Ácidos Graxos Ômega-3. I. Souza, Cláudio Teodoro de, orient. II. Título.

MARINA GUEDES FRAGA LOPES

Efeitos da suplementação de óleo de peixe sobre endotoxemia metabólica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina: estudo randomizado, duplo-cego.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito à obtenção do título de Doutor em Saúde. Área de concentração: Pesquisa em Saúde Humana

Aprovada em 08 de outubro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Cláudio Teodoro de Souza - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dra. Ana Paula Boroni Moreira

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dra. Camila de Oliveira Ramos

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dra. Vanessa Moraes de Andrade

Universidade do Extremo Sul Catarinense

Dra. Livia de Almeida Costa

Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Moraes de Andrade, Usuário Externo**, em 08/10/2024, às 17:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Camila de Oliveira Ramos, Usuário Externo**, em 08/10/2024, às 17:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula Boroni Moreira, Professor(a)**, em 10/10/2024, às 14:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Claudio Teodoro de Souza, Professor(a)**, em 11/10/2024, às 09:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Livia de Almeida Costa, Usuário Externo**, em 23/10/2024, às 13:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **2000028** e o código CRC **3611D736**.

Aos meus pais Rita, Paulo Roberto e Paulo César por terem me proporcionado a oportunidade de chegar até aqui, pelo amor dedicado e pelo apoio incondicional nesta longa jornada que exigiu doses extras de compreensão e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e aos bons mentores espirituais por estarem ao meu lado, me inspirando, me guiando e me fortalecendo a cada novo desafio.

À minha mãe, pelo companheirismo, abnegação e por ser a maior incentivadora deste processo e de todas as conquistas da minha vida. Ao meu pai, Paulo César, que sempre esteve ao meu lado, sem questionar. Ao meu segundo pai, Paulo Roberto, por todo o carinho de um verdadeiro pai, pelos conselhos, pelo apoio, pelo exemplo e por todas as discussões políticas, me ajudando a ser uma cidadã mais consciente.

Ao meu irmão Ciro, por me mostrar, com seu jeito único, que os desafios da vida podem ser lidados de forma mais leve. E à minha cunhada, Ester, por me fazer rir de coisas bobas e deixar tudo mais tranquilo. À minha irmã, Laís, que em pouco tempo conseguiu me ensinar muito sobre perseverança e a importância de estarmos sempre unidas.

Às minhas tias, Nádia, Ana, Cláudia, Lúcia, Valentina, Denise, Lúcia Fellet pelas orações, pelo carinho e incentivo. Agradeço também àqueles que não estão mais entre nós (minhas avós Neuza, Vera e Ofélia e aos meus avôs Sebastião e Durval) porque sei que onde estiverem estão vibrando pelas minhas conquistas e guiando meus passos.

Ao meu orientador, Prof. Cláudio, por ter acreditado e confiado em mim, além de todo o conhecimento compartilhado e paciência nessa trajetória. Agradeço infinitamente por ter feito esse processo ser mais leve.

Ao grande amigo, incentivador e parceiro de jornada, Mario. Por ter me estimulado a fazer o doutorado, por não ter largado minha mão em nenhum momento, por me ensinar a ser mais paciente ao não responder as minhas infinitas mensagens a qualquer momento, pelos momentos de descontração e acima de tudo, por ter se tornado um grande irmão de vida. Obrigada também à Pri (esposa do Mario), que me “emprestou” seu esposo em diversos momentos de sufoco e por ter se tornado uma grande amiga, me acolhendo e me fazendo rir.

Aos companheiros do grupo NEFASM, em especial ao Henrique e à Cinara, por toda ajuda no projeto, na análise dos dados, nas trocas de experiências e por todos os bons momentos compartilhados.

Às amigas que fiz pelo caminho, Brenda, Lorrany, Letícia, Marcela, Thays, Isa, Vanessa, Sarah, Thais, Thamiris e Pedro, por estarem presentes, por me compreenderem nos

momentos de dificuldade, por me acolherem, me apoiarem e por me divertirem. Às amigas de longa data, Duda, Dani, Luciana, Bia, Marcella, Nara, Carla, Fernanda, Livia, Rafaela, Natasha, Elisa e André pela cumplicidade, amizade, por me inspirarem e principalmente, por se fazerem presentes mesmo com toda a distância física, deixando que a saudade se tornasse um motivo a mais para valorizarmos os momentos juntos. Não menos importante, tenho que agradecer aos meus pequenos Guilherme, Mariana, Luísa e Maria Luiza, sobrinhos emprestados, que com tão pouco tempo de vida já me faz uma pessoa melhor. À turma de letras de 1982, amigas da minha mãe que me viram nascer e até hoje me apoiam, me divertem e vibram com minhas conquistas.

À equipe da gastroenterologia do HU-UFJF, principalmente ao Dr. Júlio e Dra. Liliana Chebli e à Dra. Livia, por me receberem com tanto carinho como voluntária do ambulatório, sem me conhecer, e com isso me abrirem portas, quando eu mais precisei. Destaco também o Dr. Juliano Machado, por ter sido o primeiro a me incentivar no doutorado. Às professoras da nutrição UFJF, Ana Paula, Sheila e Ana Vlândia por compartilharem seus conhecimentos com tanta generosidade comigo.

Agradeço também a todos os funcionários da UFJF, demais professores e alunos que de alguma forma contribuíram para que este momento se tornasse possível. Especialmente aos funcionários e técnicos do laboratório de análises clínicas do HU por toda a colaboração e paciência durante a pesquisa, às alunas Paula e Milena pela disponibilidade em nos ajudar, pela paciência e pelos momentos descontraídos. Ao professor Eugênio Hottz pelo “empréstimo” do laboratório e pela colaboração com as análises de ELISA.

À Universidade Federal de Juiz de Fora e ao Programa de Pós-Graduação em Saúde por me concederem a oportunidade de realizar este doutorado. Em especial ao Fabiano e a Sônia, da secretaria da pós-graduação, por toda solicitude.

Por fim, agradeço aos nossos voluntários, que colaboraram com a pesquisa e foram parte primordial deste processo.

*“ (...)
Hoje me sinto mais forte
Mais feliz, quem sabe
Só levo a certeza
De que muito pouco sei
Ou nada sei*

(...)

*É preciso amor
Pra poder pulsar
É preciso paz pra poder sorrir
É preciso a chuva para florir*

*Todo mundo ama um dia
Todo mundo chora
Um dia a gente chega
E no outro vai embora*

*Cada um de nós compõe a sua história
E cada ser em si carrega o dom de ser capaz
De ser feliz
(...)”*

(Tocando em Frente - Almir Sater)

RESUMO

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE SOBRE ENDOTOXEMIA METABÓLICA EM INDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO E RESISTENTES À INSULINA: ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO

Introdução: A obesidade e o diabetes mellitus tipo 2 são condições crônicas de saúde intimamente relacionadas que têm alcançado proporções epidêmicas em todo o mundo. A resistência insulínica (RI), fomentada pela inflamação sistêmica de baixo grau, tem sido estudada como a conexão entre ambas as condições. A endotoxemia metabólica, caracterizada pelo aumento nos níveis circulantes de lipopolisacarídeos de membranas de bactérias gram-negativas, é uma importante condição que contribui para o aumento do estado inflamatório e pode ser modulada por fatores relacionados ao estilo de vida. Nesse contexto, alimentos e nutrientes com ação anti-inflamatória como os ácidos graxos ômega-3 parecem contribuir para a melhora deste estado. Contudo, o efeito do seu consumo na endotoxemia em indivíduos com excesso de peso e RI ainda precisa de maior esclarecimento. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de peixe rico em ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 sobre parâmetros relacionados à endotoxemia metabólica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina. **Métodos:** Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. Indivíduos adultos de ambos os sexos, foram randomizados em dois grupos, para receber 4g de óleo de peixe (2,4g de EPA+DHA) ou placebo (óleo de soja), por 8 semanas. Dados relacionados à endotoxemia metabólica (LBP), à inflamação (TNF- α e IL-10), à RI (glicemia, HbA1C, HOMA-IR) e ao perfil lipídico foram coletados no início e ao final do estudo. **Resultados:** Níveis plasmáticos de LBP foram correlacionados com IMC, percentual de gordura corporal e do tronco, colesterol total, TNF- α e IL-10 na amostra composta por 24 indivíduos, porém a comparação entre os grupos não demonstrou efeitos sobre marcadores de inflamação, de RI, perfil lipídico e endotoxemia metabólica. **Conclusão:** A suplementação com 2,4g de ômega-3 por 8 semanas, não promoveu alterações nos parâmetros inflamatórios e de endotoxemia metabólica em nossos voluntários.

Palavras-chave: Obesidade; Diabetes Mellitus Tipo 2; Endotoxemia; Ácidos Graxos Ômega-

ABSTRACT

EFFECTS OF FISH OIL SUPPLEMENTATION ON METABOLIC ENDOTOXEMIA IN OVERWEIGHT AND INSULIN-RESISTANT INDIVIDUALS: A RANDOMIZED, DOUBLE-BLIND STUDY

Background: Obesity and type 2 diabetes mellitus are chronic health conditions closely related and have reached epidemic proportions worldwide. Insulin resistance (IR), driven by low-grade systemic inflammation, has been investigated as the link between both conditions. Metabolic endotoxemia, characterized by increased circulating levels of lipopolysaccharides from Gram-negative bacterial membranes, is a key condition contributing to the heightened inflammatory state and can be modulated by lifestyle factors. In this context, anti-inflammatory foods and nutrients, such as omega-3 fatty acids, appear to help improve this condition. However, the effect of omega-3 consumption on endotoxemia in overweight individuals with IR remains unclear. **Objective:** To analyze the effects of fish oil supplementation, rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids, on parameters related to metabolic endotoxemia in overweight and insulin-resistant individuals. **Methods:** A randomized, double-blind, placebo-controlled study. Adult individuals of both sexes were randomized into two groups to receive either 4g of fish oil (2.4g of EPA+DHA) or a placebo (soybean oil) for 8 weeks. Data related to metabolic endotoxemia (LBP), inflammation (TNF- α and IL-10), IR (glucose, HbA1c, HOMA-IR), and lipid profile were collected at baseline and at the end of the study. **Results:** Plasma LBP levels were correlated with BMI, body fat percentage, trunk fat percentage, total cholesterol, TNF- α , and IL-10 in the sample of 24 individuals. However, the comparison between the groups did not show any effects on markers of inflammation, IR, lipid profile, or metabolic endotoxemia. **Conclusion:** Supplementation with 2.4g of omega-3 for 8 weeks did not promote changes in inflammatory parameters or metabolic endotoxemia in our volunteers.

Keywords: Obesity; Type 2 Diabetes Mellitus; Endotoxemia; Omega-3 Fatty Acids

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Representação esquemática do aumento da permeabilidade intestinal, proporcionando o quadro de endotoxemia metabólica através da entrada de lipopolissacarídeo (LPS) pela barreira intestinal e a formação do complexo LPS/LBP, incluindo a via mediada por CD14 para depuração através de HDL no fígado e via inflamatória com ativação de receptores TLR4.....	23
Quadro 1	– Características nutricionais das cápsulas contendo 4 g de óleo de peixe e óleo de soja utilizados no estudo.....	33
Figura 2	– Delineamento do estudo	34
Figura 3	– Fluxograma de seleção de voluntários para o estudo.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Critérios para não seleção dos voluntários para entrevista online.....	43
Tabela 2	– Características gerais dos indivíduos no início do estudo (T1)	44
Tabela 3	– Comparação de medidas antropométricas e composição corporal entre os tratamentos com óleo de peixe e óleo de soja nos diferentes tempos (T1 e T3).	46
Tabela 4	– Comparação dos parâmetros bioquímicos entre os tratamentos com óleo de peixe e óleo de soja nos diferentes tempos (T1 e T3)	47
Tabela 5	– Comparação da ingestão alimentar entre os tratamentos com óleo de peixe e óleo de soja nos diferentes tempos (T1 e T3)	48
Tabela 6	– Comparação entre grupos óleo de peixe e óleo de soja dos valores dos domínios (dor abdominal, refluxo, indigestão, diarreia, constipação) e da soma total da escala de sintomas gastrointestinais GSRS em T1 e T3.....	50
Tabela 7	– Comparação entre grupos óleo de peixe e óleo de soja em T1 e T3 dos indicadores de inflamação e endotoxemia metabólica.....	51
Tabela 8	– Correlação entre as concentrações plasmáticas de proteína de ligação de lipopolissacarídeos (LBP) e Calprotectina com variáveis antropométricas, de composição corporal, parâmetros bioquímicos, inflamatórios no momento inicial (T1)	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCC	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
AINES	Anti-inflamatórios não Esteroidais
ALA	Ácido <i>alfa</i> -linolênico
ALT	Alanina Aminotransferase
AP-1	<i>Activator Protein-1</i> (Proteína ativadora-1)
AST	Aspartato Aminotransferase
BPI	<i>Bactericidal/Permeability-Increasing Protein</i> (Proteína Bactericida / Aumentadora de Permeabilidade)
BSA	Albumina Sérica Bovina
CHO	Carboidratos
COX	Ciclooxigenase
DAMP	Padrão Molecular Associado a Dano
DHA	Ácido Docosa-hexaenoico
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
GGT	<i>Gamma</i> -Glutamil Transferase
GPR120	Receptor Acoplado à Proteína G120
GPR43	Receptor Acoplado à Proteína G43
GSRS	<i>Gastrointestinal Symptom Rating Scale</i> (Escala de Avaliação de Sintomas Gastrointestinais)
GLUT4	Transportador de Glicose 4
HbA1c	Hemoglobina Glicosilada
HDL	<i>High-Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de alta densidade)
HU-UFJF	Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
IKK β	Quinase Inibitória da Subunidade <i>beta</i> do Fator Nuclear <i>kappa</i> -B
IL-6	Interleucina 6
IL-1 β	Interleucina 1 <i>beta</i>
IL-10	Interleucina 10
IL-18	Interleucina 18
IL-33	Interleucina 33

IMC	Índice de Massa Corporal
IPAQ	Questionário Internacional de Atividade Física
IR	Receptor de Insulina
IRS 1/2	Substratos do Receptor de Insulina 1/2
JNK	Quinase N-terminal c-Jun
LBP	Proteína de Ligação de Lipopolissacarídeo
LDL	<i>Low-Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de baixa densidade)
LIP	Lipídeos
LOX	Lipoxigenase
LPS	Lipopolissacarídeo
MCP-1	Proteínas Químioatraentes de Monócitos – 1
MLCK	Quinase de Cadeia Leve de Miosina
NF- κ B	Fator Nuclear <i>kappa</i> -B
PAMP	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PBS	<i>Saline Buffer Phosphate</i>
PC	Perímetro da Cintura
PPAR	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor</i> (Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma)
PQ	Perímetro do Quadril
PTN	Proteínas
RA	Registro Alimentar
RCE	Relação Cintura/Estatura
SPM	Mediadores Especializados em Pró-Resolução
TAB-1	Proteína de Ligação 1
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGI	Trato Gastro-intestinal
TJ	<i>Tight Junction</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral <i>alfa</i>
TLR4	<i>Toll Like Receptor 4</i> (Receptor Tipo Toll 4)
T0	Tempo Zero – Entrevista Remota
T1	Tempo Um – Primeiro Encontro Presencial
T2	Tempo Dois – Entrega De Cápsulas
T3	Tempo Três – Último Encontro Presencial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. OBESIDADE, RESISTÊNCIA À INSULINA E INFLAMAÇÃO	18
2.2. ENDOTOXEMIA METABÓLICA	20
2.3. ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA-3	24
3. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	28
4. OBJETIVOS	29
4.1. OBJETIVO GERAL	29
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
5. MATERIAIS E MÉTODOS	30
5.1. POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	30
5.1.1. Critérios de inclusão	30
5.1.2. Critérios de exclusão	31
5.2. DELINEAMENTO DO ESTUDO	31
5.2.1. Entrevista remota (T0)	33
5.2.2. Primeiro contato presencial (T1)	34
5.2.3. Entrega de novas cápsulas (T2)	34
5.2.4. Último encontro presencial (T3)	34
5.3. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E COMPOSIÇÃO CORPORAL	35
5.4. AVALIAÇÃO DIETÉTICA	36
5.5. AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA.....	36
5.6. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO GASTROINTESTINAL.....	37
5.7. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E PLASMÁTICOS	37
5.8. QUANTIFICAÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E DE ENDOTOXEMIA METABÓLICA.....	38
5.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39
5.9.1. Cálculo amostral	39
5.9.2. Aleatorização da amostra	40
5.9.3. Análise dos dados	40
6. RESULTADOS	41
6.1. RECRUTAMENTO	41
6.2. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	42

6.3. SINTOMAS GASTROINTESTINAIS	48
6.4. ENDOTOXEMIA METABÓLICA E INFLAMAÇÃO	49
7. DISCUSSÃO:	52
8. CONCLUSÃO	60
9. REFERÊNCIAS	61
APÊNDICES	73
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) 73	
APÊNDICE B - FORMULÁRIO DE RECRUTAMENTO	76
APÊNDICE C - ORIENTAÇÕES PARA EXAME DE SANGUE E TESTE DE BIOIMPEDÂNCIA	77
APÊNDICE D - REGISTRO DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS, COMPOSIÇÃO CORPORAL, FORÇA DE PRENSÃO PALMAR, PRESSÃO ARTERIAL E TESTE DE CONDICIONAMENTO FÍSICO	78
APÊNDICE E - ORIENTAÇÃO PARA O USO DAS CÁPSULAS	79
APÊNDICE F - REGISTRO ALIMENTAR	80
ANEXOS	82
ANEXO A - QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA	82
ANEXO B - GASTROINTESTINAL SYMPTOM RATING SCALE	85

1. INTRODUÇÃO

A obesidade e o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) são condições crônicas de saúde intimamente relacionadas que têm alcançado proporções epidêmicas em todo o mundo, desafiando os sistemas de saúde e impactando a qualidade de vida de milhões de pessoas (González-Muniesa *et al.*, 2017; Blüher, 2019; International Diabetes Federation, 2021; World Obesity Federation, 2022). Frequentemente essas duas condições ocorrem juntas, e segundo dados das federações internacionais de diabetes e obesidade, a obesidade é responsável por cerca de 43% dos casos de diabetes tipo 2, podendo chegar a 85% em algumas populações (International Diabetes Federation; World Obesity Federation, 2022).

A conexão existente entre ambas tem sido estudada ao longo dos anos e as pesquisas revelam que a obesidade serve como um importante impulsionador para o desenvolvimento de resistência periférica à ação da insulina (International Diabetes Federation; World Obesity Federation, 2022; Ruze *et al.*, 2023). Entre os mecanismos estudados que associam a obesidade com a resistência insulínica estão a inflamação sistêmica de baixo grau, causada pelo aumento da infiltração de células imunes pró-inflamatórias, como macrófagos e células T, no tecido adiposo (Hotamisligil, 2006; Klein *et al.*, 2022); diminuição da produção e secreção de adiponectina (Straub; Scherer, 2019); bem como produção exacerbada e contínua de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucinas 6 e 1 β (IL-6 e IL-1 β), estimuladas pelas células imunes, pela presença de ácidos graxos livres (sobretudo saturados) e endotoxinas como os lipopolissacarídeos (LPS) (Souza, 2018; Mohammad; Thiemermann, 2021).

Diversos fatores podem contribuir para o desencadeamento e manutenção deste estado inflamatório crônico, sendo os principais, aqueles relacionados ao ambiente em que os indivíduos estão expostos desde o nascimento (Furman *et al.*, 2019). Pesquisas têm buscado compreender melhor estes mecanismos, uma vez que populações com níveis elevados de atividade física, dieta rica em alimentos *in natura* ou minimamente processados e com ritmos circadianos mais sincronizados possuem menor chance de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (Furman *et al.*, 2019; Fan; Pedersen, 2021). Recentemente, estudos têm associado fatores relacionados ao estilo de vida com o microbioma intestinal e, apesar de incipientes, tem sido observado que dietas ricas em alimentos processados e ultraprocessados, inatividade física e altos níveis de

estresse, podem desencadear uma condição de desequilíbrio do ecossistema bacteriano, denominada disbiose (Kinashi; Hase, 2021). Essa condição, é capaz de gerar aumento de permeabilidade intestinal elevando a chance de ocorrer translocação bacteriana e endotoxemia metabólica (Ahmad *et al.*, 2017; Kinashi; Hase, 2021). Esta endotoxemia metabólica é um fenômeno causado pelo aumento dos níveis circulantes de LPS, uma endotoxina presente na membrana celular de bactérias gram-negativas que pode se ligar a receptores específicos, em células do sistema imune, no tecido adiposo e muscular, ativando cascatas inflamatórias, com produção de citocinas capazes de exacerbar o estado crônico inflamatório (Kaliannan *et al.*, 2015).

Sabe-se que a dieta é um importante fator modulador da endotoxemia metabólica e da inflamação crônica de baixo grau. Portanto, identificar fatores dietéticos que possam desencadear respostas antagônicas ao estado pró-inflamatório, bem como, restaurar o equilíbrio do microbioma intestinal é de suma importância (Kaliannan *et al.*, 2015). Neste sentido, estudos envolvendo dietas ricas ou suplementadas em ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 têm sido desenvolvidos (Kaliannan *et al.*, 2015; Albracht-Schulte *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2020). Tem sido observado que os ômega-3 são capazes de exercerem mudanças nas membranas celulares, reduzindo a produção de eicosanoides pró-inflamatórios devido à competição enzimática entre os ácidos graxos ômega 3 e 6; além disso podem atuar na síntese de resolvinas, maresinas e protectinas (Calvo *et al.*, 2017; Pascoal *et al.*, 2022). Também são capazes de ativar receptores acoplados à proteína G – 120 (GPR-120) associados às vias anti-inflamatórias (Oh *et al.*, 2010); bem como inibir a ativação do inflamassoma NLRP3 (Yan; Jiang; Spinetti; Tian; *et al.*, 2013). Estudos mais recentes, realizados principalmente em modelos animais sugerem uma atuação benéfica dos ômega-3 na microbiota intestinal (Kaliannan *et al.*, 2015; Fu *et al.*, 2021). Porém, em geral, os resultados em humanos ainda são controversos, uma vez que não há padronização de dose e do tempo ofertados, bem como pela heterogeneidade das populações estudadas (Sociedade Brasileira De Cardiologia, 2019).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. OBESIDADE, RESISTÊNCIA À INSULINA E INFLAMAÇÃO

A obesidade é uma condição crônica de saúde, definida, de forma simplificada, pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura que representa risco à saúde do indivíduo (World Health Organization, 2021). Afeta um número crescente de pessoas em todo o mundo e está associada a uma redução da expectativa de vida que varia entre 5 a 20 anos dependendo da gravidade e das comorbidades associadas (Blüher, 2019). É considerada uma epidemia global e segundo o estudo epidemiológico *Global Burden of Disease* (2019); 5,02 milhões de pessoas morreram prematuramente como resultado desta condição (Chong *et al.*, 2023). No Brasil, dados da Pesquisa Nacional de Saúde (2019) demonstraram que em 17 anos, o percentual de adultos obesos mais do que dobrou, saindo de 12,2% em 2002/2003 para 26,8% em 2019, revelando ainda, 96 milhões (60,3%) de indivíduos de 18 anos ou mais com excesso de peso.

A etiologia da obesidade é complexa e diversos fatores biológicos e ambientais contribuem para o seu desenvolvimento, no entanto, a causa fundamental baseia-se no desequilíbrio energético entre a quantidade de calorias consumidas e aquelas que são gastas (Blüher, 2019; World Health Organization, 2021). Razões para este desequilíbrio são encontradas no processo evolutivo da espécie humana, que contribuiu para a seleção de um genótipo que favorecesse a superalimentação, associada ao baixo gasto energético e à inatividade física, devido aos longos períodos em que os indivíduos passavam sem se alimentar (Yanovski, 2018). Somado a isto, o processo de transição nutricional em conjunto ao processo de industrialização mundial, tem sido responsável pelo aumento do consumo de alimentos processados e ultraprocessados, ricos em calorias provenientes de açúcares e gorduras, em detrimento aos alimentos *in natura* ou minimamente processados (Brasil, 2014; Roden; Shulman, 2019).

As consequências da obesidade são variadas. A curto prazo, estes indivíduos podem enfrentar problemas como dificuldade para se movimentar e exercitar, fadiga, dores nas articulações e distúrbios do sono (Center for Disease Control and Prevention, 2022). Além disso, o ganho de peso com o aumento da gordura corporal, causa mudanças fenotípicas no tecido adiposo branco. O aumento do volume e do número de adipócitos de forma descontrolada durante este processo faz com que sua capacidade de

armazenamento seja excedida, proporcionando assim, a formação da gordura ectópica a partir da deposição de gordura em outros tecidos (Hotamisligil, 2006). Associado a isso, esta alteração fenotípica a partir do excesso de tecido adiposo, faz com que os adipócitos passem a secretar de forma exacerbada (local e sistemicamente), citocinas pró-inflamatórias como IL-6, IL-1 β e TNF- α e sinais quimiotáticos que levam ao recrutamento e infiltração de macrófagos. Estes por sua vez, acabam por produzir e liberar mais citocinas inflamatórias, bem como, contribuir para a redução de interleucinas anti-inflamatórias, como IL-10, e adipocinas como adiponectina, gerando um estado de inflamação crônica de baixo grau (Hotamisligil, 2006; González-Muniesa *et al.*, 2017; Souza *et al.*, 2020; Kopp *et al.*, 2023). Este estado inflamatório subclínico é responsável por um risco aumentado de uma série de doenças crônicas, incluindo resistência à ação da insulina e DM2 (World Health Organization, 2021; Center for Disease Control and Prevention, 2022).

O Diabetes Mellitus tipo 2 é uma doença crônica caracterizada por hiperglicemia persistente, resistência periférica à ação da insulina e deficiência relativa à secreção de insulina pelas células β pancreáticas (Robertson, 2023). É considerado um grande problema de saúde que afeta em torno de 537 milhões de adultos, sendo responsável por 6,7 milhões de mortes em todo o mundo, segundo dados do *International Diabetes Federation* (2021). No Brasil, a Pesquisa Nacional de Saúde, publicada em 2019, revelou que 7,7% da população adulta, maior do que 18 anos, referiu ter diabetes. No entanto, estimativas apontam que considerando o percentual de subnotificações 9,2% dos brasileiros possuem DM2 (Muzy *et al.*, 2021).

Acredita-se que a conexão existente entre diabetes e obesidade, seja a resistência insulínica, condição na qual, órgãos como o músculo esquelético, o fígado e o tecido adiposo, entre outros, tornam-se menos responsivos à ação deste hormônio, sendo a inflamação crônica de baixo grau a possível causadora dessas condições uma vez que é comumente observada nesses indivíduos (Gokulakrishnan *et al.*, 2009; Souza, 2018; Moreira *et al.*, 2022; Ruze *et al.*, 2023). Sabe-se que em condições fisiológicas, a insulina liberada em resposta ao aumento da glicemia no sangue, liga-se ao seu receptor específico (*Insulin Receptor* - IR), provocando uma mudança conformacional e autofosforilação dos resíduos de tirosina no IR, aumentando ainda mais sua atividade catalítica. A ativação deste receptor estimula a cascata de sinalização a partir da ativação de substratos do receptor de insulina (IRS), culminando em translocação de transportadores de glicose do tipo GLUT4 para a membrana da célula, captando a glicose circulante (Hotamisligil,

2006; Souza, 2018). No entanto, no estado inflamatório crônico de baixo grau provocado pelo acúmulo excessivo de gordura, os altos níveis de citocinas pró-inflamatórias liberadas por macrófagos infiltrados em tecidos periféricos (principalmente tecido adiposo branco), assim como ácidos graxos circulantes derivados da intensa atividade lipolítica do tecido adiposo, prejudicam a sinalização da insulina, uma vez que ao serem reconhecidas por seus receptores específicos nas células, promovem a fosforilação em serina do IR e/ou de seus substratos (IRS 1 e 2) fazendo com que a transdução do sinal *downstream* desta via seja prejudicada, afetando a captação de glicose pela célula. Além disso, a redução da resposta à insulina, com manutenção de altos níveis de glicose na corrente sanguínea, estimulam cada vez mais a liberação de insulina pelas células β pancreáticas estabelecendo-se assim, o quadro de resistência à ação da insulina e DM2 (Hotamisligil, 2006; Souza, 2018; Moreira *et al.*, 2022; Ruze *et al.*, 2023).

As consequências do DM2 podem ser graves e afetar vários sistemas do organismo. Níveis cronicamente elevados de glicose no sangue podem danificar os vasos sanguíneos, nervos e órgãos, aumentando o risco de complicações como doenças cardíacas, acidente vascular cerebral, problemas renais, perda de visão e amputações (Center for Disease Control and Prevention, 2023; Sociedade Brasileira De Diabetes, 2023; World Health Organization, 2023). Além disso, o diabetes tipo 2 também está associado a um maior risco de outras condições, como doenças hepáticas, distúrbios do sono e certos tipos de câncer (Farmaki *et al.*, 2020; Sociedade Brasileira De Diabetes, 2023). Tanto para obesidade quanto para DM2 e resistência à insulina, o tratamento envolve uma abordagem multidisciplinar. Mudanças no estilo de vida são fundamentais e devem incluir a adoção de uma dieta saudável, controle do peso corporal e prática regular de atividade física (Sociedade Brasileira De Diabetes, 2023).

2.2. ENDOTOXEMIA METABÓLICA

O intestino humano é um órgão subdividido em delgado e grosso, que possui funções de digestão e absorção de nutrientes, além de servir como uma importante barreira de proteção contra micro-organismos invasores, devido à presença de uma camada mucosa produzida por células caliciformes e da capacidade de produzir peptídeos antimicrobianos pelas células de Paneth presentes na parede do intestino delgado (Ahmad *et al.*, 2017; Mohammad; Thiemermann, 2021). Outro ponto importante que contribui com a função de proteção é a capacidade das células intestinais se ligarem fortemente

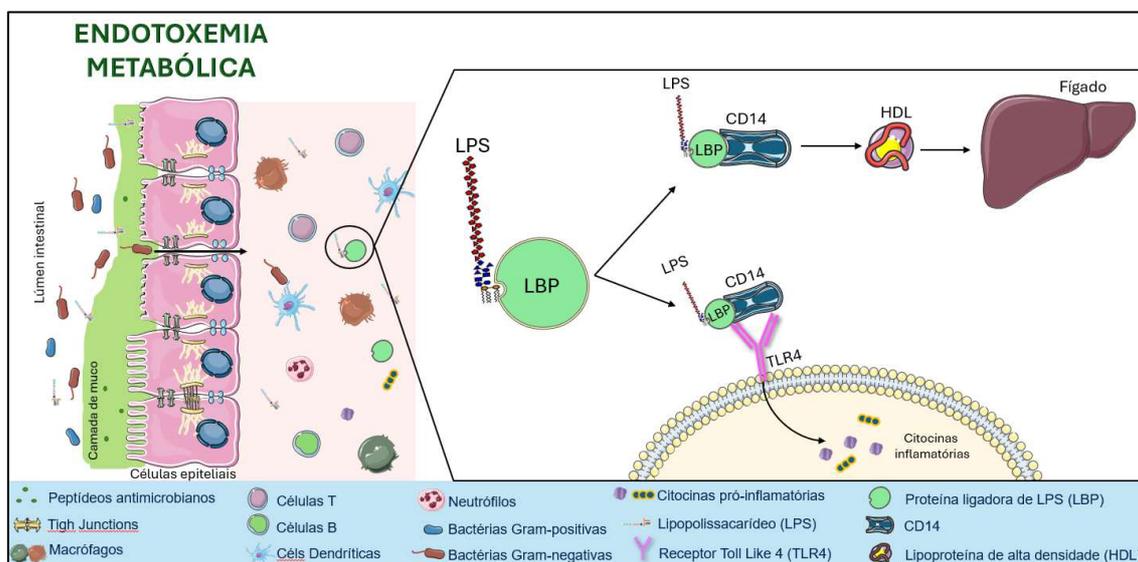
umas às outras através de junções apertadas, ou *tigh junctions* (TJ), permitindo que seja mantida a integridade da barreira física, com difusão apenas de pequenas moléculas, água e íons (Kinashi; Hase, 2021; Mohammad; Thiernemann, 2021).

A manutenção da barreira intestinal íntegra é de suma importância para a saúde do indivíduo, mas alguns fatores que levam ao desequilíbrio microbiano como infecções, inflamações, inatividade física e dieta pobre em fibras, mas rica em gorduras, açúcares e xenobióticos, podem ser capazes de aumentar a permeabilidade desta membrana, levando ao desenvolvimento de doenças (Levy *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018; Guevara-Cruz *et al.*, 2019; Kinashi; Hase, 2021). Apesar da grande compreensão sobre a importância das TJ para manutenção da integridade da barreira intestinal, os mecanismos pelos quais são reguladas ainda não são bem compreendidos. Um dos mecanismos citados na literatura é a ativação de cascatas inflamatórias a partir de receptores do tipo Toll 4 (TLR4) levando a um relaxamento da quinase de cadeia leve de miosina (MLCK) e reduzindo assim a contratilidade das fibras de actina das TJ (Kinashi; Hase, 2021).

A composição de micro-organismos do trato gastrointestinal (TGI) também é fator relevante para manutenção do estado de saúde. Dentre esses micro-organismos encontram-se vírus, fungos, protozoários e, em uma maior quantidade, bactérias (Carvalho; Saad, 2013). Estas bactérias colonizadoras do TGI podem ser classificadas como Gram-positivas e Gram-negativas conforme a espessura da parede de peptídeoglicanos que constituem suas membranas (Willey *et al.*, 2008; Wolf; Underhill, 2018). As Gram-negativas se caracterizam pela presença de moléculas de lipopolissacarídeos (LPS) em sua parede celular, que são capazes de gerar intensa resposta imune ao serem reconhecidos pelas células como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) (Carvalho; Saad, 2013). Quando as barreiras intestinais se tornam mais permeáveis ocorre a translocação de bactérias e a entrada de endotoxinas bacterianas, como LPS, para a corrente sanguínea, sendo este fenômeno chamado de endotoxemia metabólica (Kaliannan *et al.*, 2015; Saad *et al.*, 2016; Mohammad; Thiernemann, 2021). O aumento de LPS circulante, estimula a produção e liberação de sua proteína ligadora, LBP (*Lipopolysaccharide-binding protein*), pelo fígado. Uma vez liberado, o LBP se liga ao LPS circulante e este complexo se une à receptores de diferenciação CD14 presentes nas membranas de monócitos e macrófagos ou livres, em sua forma solúvel, na circulação. O receptor CD14 por sua vez, transporta o complexo LPS/LBP para lipoproteínas de alta densidade (HDL), promovendo a depuração da endotoxina e conseqüente redução da

resposta pró-inflamatória (Banaszewska *et al.*, 2020; Knight *et al.*, 2020). No entanto, o complexo LPS/LBP também ativa o sistema imunológico, desencadeando uma resposta inflamatória através de sua ligação de alta afinidade com receptores do TLR4 e ativação do inflamassoma NLRP3, aumentando assim, a produção e expressão de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , IL-6 e IL-1 β (Figura 1) (Kaliannan *et al.*, 2015; Saad *et al.*, 2016; Levy *et al.*, 2017; Downs *et al.*, 2020).

Figura 1 – Representação esquemática do aumento da permeabilidade intestinal, proporcionando o quadro de endotoxemia metabólica através da entrada de lipopolissacarídeo (LPS) pela barreira intestinal e a formação do complexo LPS/LBP, incluindo a via mediada por CD14 para depuração através de HDL no fígado e via inflamatória com ativação de receptores TLR4.



Fonte: Adaptado de Knight *et al.*, 2020.

É importante destacar que a relação causal entre desequilíbrio do microbioma e desenvolvimento de doenças, tais como obesidade e aumento da resistência à ação da insulina ainda não é totalmente compreendida, porém, estudos vêm demonstrando que em animais e indivíduos com obesidade, os níveis circulantes de LPS estão aumentados; e que este fator pode estar diretamente relacionado ao aumento da permeabilidade intestinal devido à ativação de cascatas de inflamação pelo TLR4 (Carvalho; Saad, 2013; Saad *et al.*, 2016; Levy *et al.*, 2017; Kinashi; Hase, 2021). Além disso, a ativação de TLR4 e do inflamassoma NLRP3 tem papel direto na resistência à insulina relacionada à obesidade, uma vez que o aumento da transcrição

das citocinas pró-inflamatórias leva à fosforilação em serina do IR, reduzindo assim a resposta a este hormônio (Creely *et al.*, 2007; Saad *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2017).

Os indivíduos com aumento da permeabilidade intestinal estão mais susceptíveis a infecções virais que também podem ativar vias de inflamação por meio de receptores de reconhecimento como os TLR4, com a ativação da JNK (quinase N-terminal c-Jun), IKK β (quinase inibitória da subunidade beta do fator nuclear kappa-B) e NF- κ B (fator nuclear kappa-B), aumentando a transcrição de citocinas inflamatórias (Carvalho; Saad, 2013). Vale ressaltar que a depuração de LPS circulante ocorre no fígado, por meio das células de *Kupffer*, mas em indivíduos com hiperinsulinemia há redução da função dessas células fazendo com que haja maior quantidade de LPS na circulação desencadeando maior resposta inflamatória (Creely *et al.*, 2007; Mohammad; Thiernemann, 2021). Além disso, a resposta inflamatória, pode ser potencializada pela liberação de calprotectina por neutrófilos. Esta molécula, consiste em um heterodímero formado por duas proteínas intracelulares, S100A8 e S100A9, encontradas em células de origem mieloide, como neutrófilos, monócitos e macrófagos imaturos (Lylloff *et al.*, 2017). Pode ser considerada um padrão molecular associado a dano (DAMP), capaz de se ligar à TLR4 e induzir a liberação de citocinas inflamatórias, a adesão de neutrófilos ao endotélio e o recrutamento dos mesmos ao local de inflamação (Ehrchen *et al.*, 2009; Lylloff *et al.*, 2017; Koelman *et al.*, 2020). Sua expressão pode ser induzida em diversas condições inflamatórias e por endotoxinas bacterianas (Kunutsor *et al.*, 2018; Lipsey *et al.*, 2019). Estudos em humanos têm demonstrado que níveis plasmáticos elevados desta proteína foram encontrados em indivíduos obesos, com resistência à insulina e com doenças cardiometabólicas (Mortensen *et al.*, 2009; Catalán *et al.*, 2011; Kunutsor *et al.*, 2018).

Desta forma, diversos fatores podem ser responsáveis pelo aumento da permeabilidade intestinal e por isso, tem sido sugerido a existência de uma correlação entre dietas com alto teor de gordura, carboidratos e energia com endotoxemia, uma vez que este padrão alimentar pode causar alterações na diversidade bacteriana, com consequente prejuízo na integridade da parede intestinal (Creely *et al.*, 2007; Fan; Pedersen, 2021; Mohammad; Thiernemann, 2021). No entanto, fatores protetores ou mesmo atenuantes podem ser provenientes da alimentação. Pesquisas em modelos animais e humanos têm proposto que os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 podem ser capazes de auxiliar na regulação da permeabilidade intestinal, na modulação da microbiota e na supressão/redução da resposta

inflamatória (Kaliannan *et al.*, 2015; Cao *et al.*, 2019; Fan; Pedersen, 2021; Żebrowska *et al.*, 2021).

2.3. ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS ÔMEGA-3

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 são uma classe de gorduras essenciais para o funcionamento adequado do organismo humano, que devem ser obtidos de forma exógena, por meio de alimentação ou suplementação (Cholewski *et al.*, 2018). Dentre os ômega-3 mais estudados estão o ácido eicosapentaenoico (EPA), o ácido docosa-hexaenoico (DHA) e o ácido *alfa*-linolênico (ALA). O EPA e o DHA são encontrados principalmente em peixes de águas frias, como salmão, sardinha, atum e cavala, e o ALA em algumas sementes (linhaça, chia), óleos (canola) e nozes (Cholewski *et al.*, 2018; Gutiérrez *et al.*, 2019).

Assim como outros lipídeos, os ômega-3 são componentes essenciais das membranas celulares, contribuindo para integridade e função celular adequada (Żebrowska *et al.*, 2021). No entanto, os ácidos graxos ômega-3 têm se destacado devido ao seu potencial efeito anti-inflamatório e na saúde cardiovascular, uma vez que diversos estudos têm demonstrado que o consumo adequado de EPA e DHA está associado à redução da pressão arterial, dos níveis de triglicerídeos séricos e colesterol LDL (Menni *et al.*, 2017; Pal *et al.*, 2020; Żebrowska *et al.*, 2021).

Vale ressaltar que a inflamação é um mecanismo de defesa do organismo para restauração da homeostase em locais infectados ou danificados, porém em algumas condições, como na obesidade e no DM2, esta resposta pode se tornar patológica, sendo essencial que mecanismos anti-inflamatórios sejam ativados (Calder, 2010). Neste sentido, os ômega-3 têm tido destaque, uma vez que exercem modificações na membrana celular devido ao seu comprimento e grau de insaturação, são capazes de sintetizar mediadores especializados em pró-resolução (SPMs), ativam o receptor acoplado à proteína G120 (GPR120), inibem a ativação do inflamassoma NLRP3, bem como parecem interferir na microbiota intestinal (Yan; Jiang; Spinetti; Tian; *et al.*, 2013; Kaliannan *et al.*, 2015; Calvo *et al.*, 2017; Gutiérrez *et al.*, 2019).

Os ácidos graxos EPA e DHA, possuem longas cadeias de hidrocarbonetos e ligações duplas que são capazes de afetar a fluidez da membrana celular, modificando a distribuição de esteróis, esfingolipídeos e proteínas de ligação em microdomínios dinâmicos, também conhecidos como “jangadas lipídicas” (Calvo *et al.*, 2017). Os ômega-3, principalmente DHA, são capazes de aumentar o tamanho e/ou estabilidades destas “jangadas

lipídicas”, por meio da modulação de interações com outros lipídeos de membrana e/ou suas proteínas (Hou *et al.*, 2016). Desta forma, a incorporação de ômega-3 em membranas celulares pode reduzir a ativação e diferenciação de linfócitos com perfil inflamatório (como em linfócitos T^{CD4+}) (Shaikh, Jolly, Chapkin, 2012; Hou, McMurray, Chapkin, 2016). Vale ressaltar, que são necessários mais estudos que envolvam os reais desfechos a partir da incorporação desses ácidos graxos à membrana das diferentes células, principalmente às do sistema imune.

Além de incorporarem à membrana das células, os ômega-3 podem sofrer modificações a partir de COX (cicloxigenases) e LOX (lipoxigenases) e produzirem SPMs como as resolvinas, as maresinas e as protectinas, capazes de promover imunorresolução a partir da sua ligação com receptores específicos (Serhan *et al.*, 2008; Miao *et al.*, 2021). As resolvinas da série E, derivadas de EPA, são capazes de induzir fagocitose de macrófagos, eliminar detritos, provocar mudanças fenotípicas de macrófagos ativados (pró-inflamatórios) para não ativados (anti-inflamatórios) e diminuir quimiotaxia e infiltração de neutrófilos para áreas de lesão (Miao *et al.*, 2021). Já as resolvinas da série D (maresinas e protectinas), sintetizadas a partir de DHA, diminuem a concentração de monócitos no local da lesão através da redução de proteínas quimioatraentes de monócitos – 1 (MCP-1), aumentam a depuração de neutrófilos e diminuem a produção de prostaglandinas inflamatórias (Al-Shaer *et al.*, 2021; Miao *et al.*, 2021). Apesar deste mecanismo não estar muito bem estabelecido, já se tem observado que dietas ocidentais, ricas em gorduras e com forte desequilíbrio na relação de ômega-6 e ômega-3, são capazes de alterar as concentrações em SPMs em indivíduos obesos e com DM2 (Al-Shaer *et al.*, 2021). As hipóteses para isso convergem em três pontos distintos, mas que podem estar ligados entre si. O primeiro ponto seria a existência de uma competição entre ambos pela esterificação no pool de fosfolipídeos de membrana, afetando a biodisponibilidade de ácidos graxos para síntese de SPMs (Pal *et al.*, 2020; Al-Shaer *et al.*, 2021). O segundo ponto em questão, envolve o fato de que as características da dieta ocidental poderiam estar levando a redução da expressão e/ou atividade de enzimas para produção de SPMs; e por último, o simples fato de estar ocorrendo baixa ingestão de ômega-3 seria capaz de afetar a oferta de substratos para produção de SPMs (Stark *et al.*, 2016; Al-Shaer *et al.*, 2021). Desta forma, o aumento da ingestão de ômega-3, melhorando a proporção entre ômega-6 e -3, torna-se um fator de relevância para esta população.

Dentre os mecanismos pelos quais os ômega-3 são envolvidos, deve-se ressaltar a sua capacidade de se ligarem ao receptor de membrana de GPR120 em diversas células como em adipócitos e macrófagos (Oh *et al.*, 2010). Este receptor está envolvido em diversos

processos homeostáticos, incluindo processos anti-inflamatórios e ao aumento da sensibilidade à insulina com consequente maior captação de glicose (Glass; Olefsky, 2012). Ao se ligarem aos receptores GPR120, os ômega-3 estimulam a associação do receptor com uma proteína adaptadora chamada β -arrestina-2 com subsequente deslocamento deste complexo para o citosol e associação com a proteína de ligação TAB-1, que por sua vez, reduz a sinalização pró-inflamatória *downstream* para IKK β /NF- κ B e JNK/AP-1 (Oh *et al.*, 2010; Glass; Olefsky, 2012; Song *et al.*, 2017).

Outro mecanismo anti-inflamatório atribuído ao ômega-3 é sua capacidade de inibir a ativação do inflamassoma NLRP3. O inflamassoma é um complexo proteico citosólico formado em resposta à PAMPs e DAMPs que promove a maturação e liberação de algumas citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-18 e IL-33 (Yan; Jiang; Spinetti; Tian; *et al.*, 2013). Apesar de ser um mecanismo importante de combate à danos no organismo, quando não há uma fina regulação ocorre ativação exacerbada deste inflamassoma, gerando resposta inflamatória em excesso, potencializando diversos distúrbios como obesidade e DM2 (Ding *et al.*, 2019). Os mecanismos envolvidos na regulação do inflamassoma NLRP3 ainda não estão claros, mas tem-se observado que o aumento dos níveis circulantes de LPS podem promover sua ativação, enquanto que os ômega-3 podem inibir a ativação deste mecanismo por meio da interação endógena entre β -arrestina-2 e NLRP3 via ativação de receptores GPR120 (Yan; Jiang; Spinetti; Tian; *et al.*, 2013; Downs *et al.*, 2020).

Apesar de estudos envolvendo microbiota intestinal serem recentes, já é sabido que impactos que resultem em condições de disbiose são capazes de afetar negativamente a saúde do hospedeiro (Zhang *et al.*, 2020; Fan; Pedersen, 2021). Além disso, sabe-se também, que a dieta de forma em geral, e nutrientes específicos, são capazes de influenciar diretamente a composição desta microbiota (Parolini, 2019; Fan; Pedersen, 2021; Mohammad; Thiemermann, 2021). O conhecimento acerca das conexões entre ômega-3 e microbiota intestinal é limitado, porém diversos estudos em modelos experimentais e com humanos vêm demonstrando seus efeitos na modulação do tipo e abundância das espécies microbianas no intestino; regulação dos níveis de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como o butirato, produzidos por determinadas espécies bacterianas; na redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias e endotoxinas (LPS); bem como no aumento da produção do peptídeo antimicrobiano conhecido como fosfatase alcalina intestinal (Kaliannan *et al.*, 2015; Parolini, 2019; Fu *et al.*, 2021). Estudos realizados, principalmente em modelos animais, na última década têm demonstrado que o consumo de dietas ricas em ômega-3 têm aumentado a abundância de bactérias benéficas como as *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Akkermansia*, e

reduzindo o crescimento de bactérias gram-negativas patogênicas como as *Enterobactérias* (Kaliannan *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2020; Fu *et al.*, 2021).

A capacidade de modulação do tipo e quantidade das bactérias intestinais, faz com que os ômega-3 influenciem também na produção de AGCC (Parolini, 2019; Mohammad; Thiernemann, 2021) e na expressão de seus receptores GPR43 (Cao *et al.*, 2019). O butirato é um AGCC produzido a partir de bactérias capazes de fermentar fibras dietéticas em ácido butírico e este é considerado fonte de energia para manutenção da mucosa colônica, além disso, por meio de sua ligação com GPR43 há estímulo para produção de mucina pelas células caliciformes, interferindo diretamente na integridade da barreira intestinal, agindo como fator protetor ao aumento da permeabilidade (Cao *et al.*, 2019). Somado a isto, tem sido observado que uma dieta com melhor relação entre o consumo de ômega-3 e ômega-6 é capaz de aumentar a produção de uma enzima, também considerada um peptídeo antimicrobiano chamado fosfatase alcalina intestinal, conhecida por manter a homeostase intestinal, uma vez que suprime o crescimento de *E.coli* e inativa LPS (Kaliannan *et al.*, 2015).

Desta forma, é possível perceber que os ômega-3 estão relacionados a diversos mecanismos envolvidos no combate à inflamação e que estes mecanismos podem atuar diretamente na endotoxemia metabólica, no entanto, mais estudos em humanos, com doses e fontes de ômega-3 que sejam efetivas para essa condição precisam ser conduzidos na tentativa de preencher esta lacuna do conhecimento.

3. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

Na mesma magnitude em que crescem as opções de alimentos ultraprocessados, ricos em açúcares, gorduras, sal e diversos outros aditivos, cresce também a preocupação com o aumento da incidência e prevalência da obesidade no Brasil e no mundo. É importante destacar que as implicações sociais e econômicas desta epidemia são extensas e englobam o aumento dos gastos diretos em saúde, dos custos indiretos relacionados ao absenteísmo e à perda de produtividade, mas também o aumento de doenças associadas como DM2 e da mortalidade. Sendo assim, o desenvolvimento de estratégias que possam reduzir os efeitos da obesidade e da incidência de comorbidades associadas é de extrema relevância. Portanto, identificar componentes da dieta, que possam atuar na melhora da inflamação e da endotoxemia metabólica será crucial para o tratamento e prevenção destas doenças crônicas. Desta forma, avaliar os efeitos anti-inflamatórios e os benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 na endotoxemia metabólica em indivíduos com excesso de peso e resistência à insulina, faz-se necessário. Sendo assim, o presente estudo tem a hipótese de que a oferta de suplementação de 4g de óleo de peixe, rico em ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (EPA+DHA), por 8 semanas, será capaz de contribuir na melhora de parâmetros relacionados à inflamação subclínica e à endotoxemia metabólica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de peixe rico em ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 sobre parâmetros relacionados à endotoxemia metabólica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar, em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina, os efeitos da suplementação de óleo de peixe rico em ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, sobre:

- Marcador de endotoxemia metabólica: proteína de ligação de LPS (LBP), plasmática;
- Marcadores inflamatórios e anti-inflamatórios: TNF α , IL-10 e calprotectina plasmáticos.
- Marcadores bioquímicos: glicose de jejum, insulina de jejum, hemoglobina glicosilada (HbA1c), HOMA-IR, colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídeos.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. POPULAÇÃO DO ESTUDO

Para o desenvolvimento da presente pesquisa foram avaliados 24 indivíduos adultos, com sobrepeso ou obesidade grau I, de ambos os sexos, com idades entre 20 e 59 anos. Os voluntários foram recrutados nos ambulatórios de nutrição e endocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU-UFJF), bem como através da divulgação de links eletrônicos vinculados a matérias, em jornais e redes sociais. O estudo foi realizado de acordo com os princípios da declaração de Helsinque e possui aprovação pelo Comitê de ética de pesquisa com humanos do HU-UFJF sob o protocolo de número 4.731.228. Além disso, foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob o número RBR-8cb536g.

Os voluntários que atenderam aos critérios de elegibilidade foram incluídos no estudo após a assinatura do termo de consentimento livre esclarecido (TCLE – APÊNDICE A).

5.1.1. Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo indivíduos de ambos os sexos; com idade entre 20 e 59 anos; que possuíssem diagnóstico de sobrepeso ou obesidade grau I (IMC entre 25 e 34,9 kg/m²); em tratamento medicamentoso com metformina, associada ou não a alguma sulfoniluréia, por pelo menos 6 meses e sem alteração de dosagem neste período; que não estivessem fazendo ou não tenham feito uso de antibióticos, anti-inflamatórios não esteroidais ou corticoides no último mês antes do recrutamento; que não estivesse em uso contínuo de fibratos ou orlistat; que não estivesse em uso de suplementos que contivessem ômega-3 em sua formulação; que não relatassem ou apresentassem qualquer evidência de doenças intestinais (síndrome do intestino curto, síndrome do intestino irritável, doença de Chron, retocolite ulcerativa); que aceitassem participar do estudo por meio da assinatura do TCLE. Além disso, somente foram incluídos indivíduos do sexo feminino que não estivessem gestantes ou lactantes no momento do recrutamento.

5.1.2. Critérios de exclusão

Os critérios adotados para exclusão do estudo foram: indivíduos com glicemia de jejum superior a 300 mg/dL após a realização dos exames iniciais; que começassem o uso de insulina ou qualquer outra medicação hipoglicemiante antes do início ou durante o andamento do estudo; indivíduos portadores de doença genética e hormonal limitante, como hipo ou hipertireoidismo e erros inatos do metabolismo; transplantados; que estivessem em uso abusivo de álcool (consumo de 4 ou mais doses de 14g de álcool para mulheres e 5 ou mais para homens (Brasil, 2023)) e outras drogas; que possuíssem insuficiência renal ou hepática; que apresentassem perda de peso nos últimos 3 meses (voluntária ou involuntária) ou que estivessem participando de outro estudo experimental na data do arrolamento. Além disso, seriam excluídos indivíduos que descontinuassem ou utilizassem de modo irregular a suplementação (óleo de soja ou óleo de peixe), que manifestassem desejo de sair do estudo e voluntárias que iniciassem gravidez no período do protocolo.

5.2. DELINEAMENTO DO ESTUDO

O presente estudo é de caráter clínico, duplo-cego, randomizado, unicêntrico, longitudinal e foi realizado no Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU-UFJF). Foram recrutados e distribuídos aleatoriamente, 24 indivíduos, em dois grupos: *i*) ômega-3 (n=12); *ii*) óleo de soja (n=12). Para ambos os grupos, foram ofertadas 04 cápsulas ao dia (4g/dia) de mesmo tamanho, formato e cor. O grupo ômega-3, recebeu 4g de óleo de peixe contendo 2,4g de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (1440mg de EPA e 960mg de DHA). Para o grupo óleo de soja, foram ofertadas cápsulas contendo 4g de óleo de soja (Quadro 1). Todas as cápsulas utilizadas no estudo foram adquiridas da empresa Essential Nutrition®, São José, SC, Brasil.

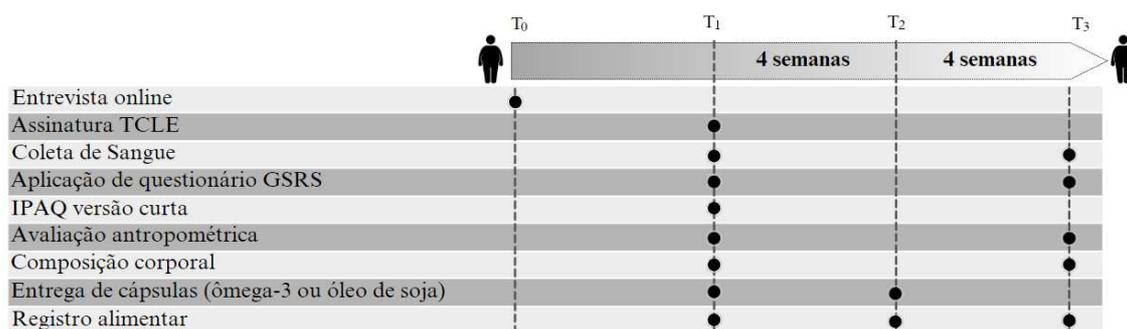
Quadro 1 – Características nutricionais das cápsulas contendo 4 g de óleo de peixe e óleo de soja utilizados no estudo

	Óleo de peixe (Grupo ômega-3)	Óleo de Soja (Grupo placebo)
Valor energético (kcal)	36,00	35,70
Gorduras totais (g)	4,00	4,00
Gorduras saturadas (g)	0,00	0,60
Gorduras trans (g)	0,00	0,00
Gorduras monoinsaturadas (g)	0,00	0,90
Gorduras poli-insaturadas (g)	3,40	2,30
<i>Ômega-3 (g)</i>	2,40	0,23
<i>EPA (g)</i>	1,44	0,00
<i>DHA (g)</i>	0,96	0,00
Vitamina E (mg)	6,40	0,60
EPA: Eicosapentaenoic acid; DHA: docosahexaenoic acid		

Fonte: Essential Nutrition®

O protocolo do estudo (Figura 2) foi baseado em um acompanhamento clínico e nutricional, com suplementação com óleo de peixe/óleo de soja, por um período de oito semanas. Após o preenchimento do formulário de recrutamento disponibilizado via sites, e-mails ou aplicativo de mensagens (APÊNDICE B), o primeiro contato (T0) com os voluntários foi feito remotamente por meio de uma entrevista online de forma que os pesquisadores pudessem verificar se o voluntário atenderia aos critérios de elegibilidade da pesquisa. Uma vez selecionados, os participantes foram avaliados presencialmente no HU-UFJF em dois momentos (T1 e T3), sendo que todos os testes e análises utilizados no estudo foram realizados antes (pré-teste) e após o período específico de intervenção (pós-teste) sendo conduzidos por profissionais devidamente capacitados. Durante todo o período do estudo, o voluntário foi orientado a manter hábitos dietéticos e de estilo de vida como de costume.

Figura 2 – Delineamento do estudo



TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; IPAQ versão curta - Questionário Internacional de Atividade Física; GSRS - Gastrointestinal Symptom Rating Scale

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

5.2.1. Entrevista remota (T0)

Durante o período de divulgação da pesquisa, para os voluntários interessados em participar da pesquisa, foi disponibilizado um link de um formulário online (APÊNDICE B) contendo perguntas a respeito da idade, peso referido, altura referida, utilização ou não de metformina e outras medicações de uso contínuo, bem como informações para contato. A partir do preenchimento destes dados iniciais, foi realizada a primeira seleção de voluntários que atendiam aos critérios principais de inclusão.

Após a seleção do possível voluntário, os pesquisadores entraram em contato via telefone ou aplicativo de mensagens para agendamento de uma entrevista online (T0), com a finalidade de explicar os objetivos e protocolos da pesquisa, bem como avaliar os demais critérios de elegibilidade. Neste momento, foram coletados dados pessoais, como nome, data de nascimento, gênero, estado civil, endereço, ocupação e escolaridade; assim como alguns dados relacionados à saúde do indivíduo, como presença de doenças cardíacas, intestinais, neurológicas e câncer; e informações relacionadas às medicações em uso, incluindo suplementações alimentares. Nesta avaliação foram confirmados dados antropométricos de peso e altura referidos para cálculo do IMC, bem como informações referentes à prática de atividade física e consumo de tabaco e álcool.

Após verificar que o voluntário atendia aos critérios de elegibilidade, foi acordado uma data para realização de exames de sangue, antropometria e aplicação de questionários, juntamente com a orientação verbal e escrita referente ao preparo a ser seguido (APÊNDICE C).

5.2.2. Primeiro contato presencial (T1)

O primeiro encontro presencial (T1) foi realizado no HU-UFJF e após consentimento em participar da pesquisa por meio da assinatura do TCLE, os voluntários foram submetidos à coleta de sangue para posterior análise bioquímica, plasmática e eritrocitária; bem como à avaliação nutricional, antropométrica e composição corporal (APÊNDICE D); além de receberem toda a orientação sobre o uso correto das cápsulas de óleo de peixe/óleo de soja (APÊNDICE E) e preenchimento de registros alimentares (APÊNDICE F). Neste momento, foram aplicados questionários para avaliação do nível de atividade física (Questionário Internacional de Atividade Física – IPAQ versão curta – ANEXO A) e da função gastrointestinal (Brazilian Portuguese Version of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale – GSRS – ANEXO B). Ao final das avaliações iniciais, foram entregues aos voluntários, as cápsulas de óleo de peixe/soja para consumo por 4 semanas (30 dias) e orientação para preenchimento de registro alimentar de 3 dias não consecutivos da primeira semana de intervenção.

5.2.3. Entrega de novas cápsulas (T2)

O segundo encontro presencial (T2) foi realizado apenas para entrega de novas cápsulas para uso por mais 4 semanas (30 dias), bem como para entrega de novas folhas para preenchimento de registro alimentar do período intermediário e da última semana do estudo. Além disso, neste momento, os voluntários foram questionados sobre dúvidas ou dificuldades que pudessem estar ocorrendo durante o uso das cápsulas.

5.2.4. Último encontro presencial (T3)

No terceiro, e último, encontro presencial (T3) os voluntários foram questionados sobre possíveis alterações observadas com uso das cápsulas, além de terem sido repetidas a coleta de sangue, a avaliação antropométrica e de composição corporal, bem como o questionário de função gastrointestinal, realizados no primeiro encontro, exceto pelo IPAQ versão curta.

Durante todo o estudo, semanalmente, os pesquisadores mantiveram contato com os voluntários por meio de ligações ou aplicativos de mensagem para sanar quaisquer

dúvidas e garantir a adesão ao tratamento. Ao final da pesquisa, todos os resultados bioquímicos e antropométricos foram entregues aos voluntários; e para aqueles que necessitassem/se interessassem, foi realizado o encaminhamento ao atendimento nutricional individualizado no ambulatório de nutrição do HU-UFJF.

5.3. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E COMPOSIÇÃO CORPORAL

A avaliação antropométrica foi realizada no primeiro e último contato presencial (T1 e T3) com os voluntários e incluiu a medida do peso corporal atual; altura; índice de massa corporal (IMC); perímetro da cintura (PC) e do quadril (PQ) e relação cintura/estatura (RCE).

Para medida do peso corporal, foi utilizada a balança de bioimpedância tetrapolar (Tanita®, modelo IRONMEN BC1500, com capacidade máxima de 150kg e precisão de 100g), com auxílio do Software Tanita Healthy Edge (Versão 2.13.2) e a medida foi realizada com o indivíduo descalço, ereto, no centro da plataforma com os braços juntos ao corpo e com o olhar fixo em um ponto a sua frente (de modo a evitar oscilações na leitura da medida), portando roupas leves e sem objetos de metal em contato com o corpo.

A estatura foi aferida em uma única avaliação (T1), por meio de um estadiômetro vertical portátil (Sanny®, modelo Personal Caprice), com os indivíduos de pé, em superfície plana, descalços, de costas para seu marcador, com os calcanhares unidos, os pés formando um ângulo de 45°, os braços estendidos ao longo do corpo, com a cabeça erguida e olhando para um ponto fixo na altura dos olhos. O IMC foi calculado pela razão entre peso corporal (kg) e altura² (m). Os valores obtidos foram classificados de acordo com as referências da Organização Mundial da Saúde (1997) para adultos.

O perímetro da cintura (PC) foi aferido com o voluntário de pé, em superfície plana, aferido na linha da cicatriz umbilical e o perímetro do quadril foi aferido na maior circunferência observada em torno dos quadris. As medidas foram mensuradas em triplicata, através de uma trena antropométrica (Cescorf®), com precisão de 1mm. A relação entre PC e estatura foi estabelecida por meio da divisão entre PC(cm) e estatura (m) e valores acima de 0,50 foram adotados como preditores de risco cardiovascular (Ashwell; Hsieh, 2005).

A composição corporal, foi obtida por meio da análise de percentual de gordura (%), massa de gordura corporal (kg), massa muscular corporal (kg); a partir de

análise bioimpedância elétrica tetrapolar (Tanita®, modelo IRONMEN BC1500), por meio da leitura no Software Tanita Healthy Edge (Tanita®, Versão 2.13.2), seguindo orientações de estar em jejum por pelo menos 4h antes do teste, não ter se exercitado nas 24h anteriores, estar de “bexiga vazia”, não ter ingerido café no dia anterior ao exame, sendo solicitado a retirada de todos objetos e adornos metálicos que o voluntário pudesse estar usando.

5.4. AVALIAÇÃO DIETÉTICA

A avaliação dietética foi utilizada para controle de possíveis vieses e fatores de confusão que pudessem afetar os resultados encontrados. Para monitoramento do consumo atual foi utilizado o Registro Alimentar de três dias não consecutivos (RA – APÊNDICE D).

O registro alimentar, foi preenchido pelos voluntários em três momentos distintos, na primeira, quarta/quinta e oitava semana de intervenção. Nos momentos T1 e T2, foram entregues as folhas com orientações sobre o preenchimento correto do registro, com solicitação de inclusão de alimento ingerido, quantidade em medidas caseiras, horário e local da refeição. Além disso, os voluntários foram orientados a registrarem a alimentação por 3 dias não consecutivos, incluindo um registro de final de semana (sábado ou domingo). Foi ressaltada a importância da manutenção da alimentação habitual, sem alterações realizadas apenas para o preenchimento do registro ou para o período do estudo. Os pesquisadores ficaram à disposição para quaisquer dúvidas durante o preenchimento dos registros e após o recebimento dos mesmos todos os possíveis erros foram corrigidos. Os RA foram quantificados com auxílio do software online (AVANUTRI©) com determinação dos valores de energia (kcal) e macronutrientes (proteínas totais; carboidratos totais; lipídeos totais; lipídeos poli-insaturados, monoinsaturados e saturados; fibras totais).

5.5. AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA

Todos os voluntários tiveram seu nível de atividade física avaliado no primeiro encontro presencial (T1) através do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) na versão curta, validado para população brasileira (Pardini *et al.*, 2001).

A avaliação do nível de atividade física foi realizada com o intuito de reduzir possíveis vieses que pudessem estar relacionados aos resultados encontrados. Ao final da arguição, os indivíduos foram classificados como: *i)* muito ativos; *ii)* ativos; *iii)* irregularmente ativos; ou *iv)* sedentários.

5.6. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO GASTROINTESTINAL

Todos os voluntários do estudo foram avaliados com relação ao funcionamento gastrointestinal antes (T1) e após (T3) a intervenção. Para esta avaliação, foi utilizada a Escala de Avaliação de Sintomas Gastrointestinais (GSRS) validada para população brasileira (Souza *et al.*, 2016). Este é um instrumento autoaplicável, de curta duração, composto por 15 perguntas divididas em 5 domínios relacionados ao sistema gastrointestinal (diarreia, constipação, dor abdominal, refluxo e má digestão). Durante a realização do estudo, para cada pergunta, o voluntário atribuiu uma nota, baseada em uma escala Likert de 7 pontos, na qual a pontuação “01” indica ausência e “07” maior frequência ou intensidade dos sintomas. Ao final a média de cada categoria também foi avaliada para identificar possíveis sintomas exacerbados relacionados ao TGI.

5.7. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E PLASMÁTICOS

Os voluntários que participam do estudo tiveram amostras de sangue periférico coletado antes (T1) e 8 semanas após a intervenção (T3). As coletas foram feitas mediante jejum de 12 horas, o não consumo de álcool e sem realização de atividades físicas intensas nas 72 horas anteriores. Estas coletas foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFJF, buscando sempre que possível, que o mesmo técnico fizesse todas as coletas. Foram colhidas quantidades suficientes de sangue para a análises realizadas no laboratório, seguindo os protocolos da própria instituição, para dosagem de glicose de jejum, insulina de jejum, HbA1c, LDL, HDL, colesterol total e triglicerídeos; alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gamma-glutamyl transferase (GGT).

A avaliação de resistência à insulina e de função das células pancreáticas foi avaliada através dos cálculos dos índices HOMA-IR e HOMA- β . A glicemia e a HbA1c foram classificadas conforme os pontos de corte da Diretriz da Sociedade Brasileira de

Diabetes (2023), glicemia plasmática de jejum ≥ 126 mg/dL e HbA1c $\geq 6,5\%$. Os resultados obtidos de HOMA-IR foram considerados como resistência insulínica quando maiores que 2,71 (Sociedade Brasileira De Diabetes, 2023). Para a análise de HOMA- β foi considerado normal quando os valores estiverem entre 167 e 175 sendo, resultados abaixo ou acima considerados como algum grau de disfunção (Wallace *et al.*, 2004).

Além disso, foi solicitada a coleta de sangue em um tubo (9mL) heparinizado para análise plasmática de calprotectina, proteína de ligação de LPS (LBP), TNF- α , IL-10. Imediatamente após a coleta sanguínea, o tubo heparinizado foi centrifugado em 3000rpm por 10 minutos. Após a centrifugação e fracionamento em eppendorffs, as amostras foram congeladas, imediatamente em ultrafreezer a -80°C para posterior análises.

5.8. QUANTIFICAÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E DE ENDOTOXEMIA METABÓLICA

As concentrações dos mediadores inflamatórios e dos sinalizadores de endotoxemia metabólica foram quantificadas por ensaio imunoenzimático ELISA (do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*) do tipo sanduiche, de acordo com as instruções do fabricante. Para análise de TNF- α e IL-10 foram utilizados os kits da Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA; e para calprotectina e LBP os da R&D Systems, Mineápolis, MN, EUA. Todas as dosagens foram realizadas em placas de 96 poços com metade da área.

A duração dos testes ELISA foi de 3 dias e para dosagem de calprotectina e LBP foi necessário realizar diluição das amostras em 1:400 e 1:500, respectivamente. No primeiro dia, as placas foram cobertas com anticorpo de captura, disponível nos kits, diluído em PBS (do inglês, *Saline Buffer Phosphate*) e em seguida incubadas durante a noite em temperatura ambiente. No segundo dia, inicialmente o conteúdo de cada placa foi vertido e todas foram lavadas três vezes com solução de PBS+Tween-20 e posteriormente secas com papel toalha. Em seguida, para bloquear reações inespecíficas de cada anticorpo, foram utilizados reagentes preparados conforme orientação dos kits (BSA – Albumin Bovine Serum + PBS a 1% para TNF- α , IL-10 e LBP; e Tris+CaCl+NaCl+0,05%Brij® para calprotectina) por 1 hora em temperatura ambiente. Após este período as placas foram novamente vertidas e lavadas por 3 vezes para que a amostra fosse adicionada às placas. Os primeiros 16 poços de cada placa foram utilizados

para curva padrão e o branco, enquanto nos 48 poços seguintes foram adicionadas as amostras diluídas em PBS, ao final deste dia, as placas foram envoltas por papel filme e armazenadas em temperatura de geladeira, 4°C, durante à noite. No terceiro dia, as placas foram inicialmente vertidas e lavadas novamente com PBS+Tween-20 e em cada poço foi adicionada Estreptavidina-HRP diluída (exceto para IL-10, na qual foi utilizada Avidina-HRP) para detecção de moléculas biotiniladas e em seguida armazenadas em temperatura ambiente por 20 minutos. Transcorrido este tempo, as placas foram mais uma vez vertidas e lavadas para posterior adição de solução de H₂O₂ (peróxido de hidrogênio) + tetrametilbenzidina. As placas foram mantidas em temperatura ambiente, sem incidência direta de luz por até 30 minutos, para que atingissem a coloração azul. Após este processo, as reações foram interrompidas com H₂SO₄ (ácido sulfúrico) e as placas lidas em espectrofotômetro (SpectraMax M2, Molecular Devices, EUA) com ajuste de densidade ótica de 450nm.

Os limites de detecção estabelecidos a partir da curva padrão de cada uma das citocinas foi de:

- TNF- α : 4 a 500pg/mL
- IL-10: 2 a 300pg/mL
- Calprotectina: 93,8 a 6000pg/mL
- LBP: 0,781 a 50ng/mL

5.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

5.9.1. Cálculo amostral

Para realização do estudo, o tamanho da amostra foi de 33 indivíduos após realização de cálculo amostral obtido com auxílio do Software GPower (versão 3.1.9.4), considerando um α de 0,05, um poder de 75% e um tamanho de efeito sobre a redução sérica de triglicerídeos com o uso de ômega-3 de 43%, obtido através de um estudo anterior dos autores (Souza *et al.*, 2020).

5.9.2. Aleatorização da amostra

A alocação dos voluntários nos grupos (óleo de peixe e óleo de soja) foi realizada a partir da randomização feita por meio do software Microsoft Excel 365®; em que os dois grupos possíveis foram alocados em uma célula da planilha após a atribuição de um número para cada um. Em seguida, os tratamentos foram alocados por ordem numérica em uma ordem de 1 a 24. A partir do momento em que o voluntário era recrutado, o grupo que seria alocado era sorteado com auxílio do aplicativo Aleatório UX® versão Android.

5.9.3. Análise dos dados

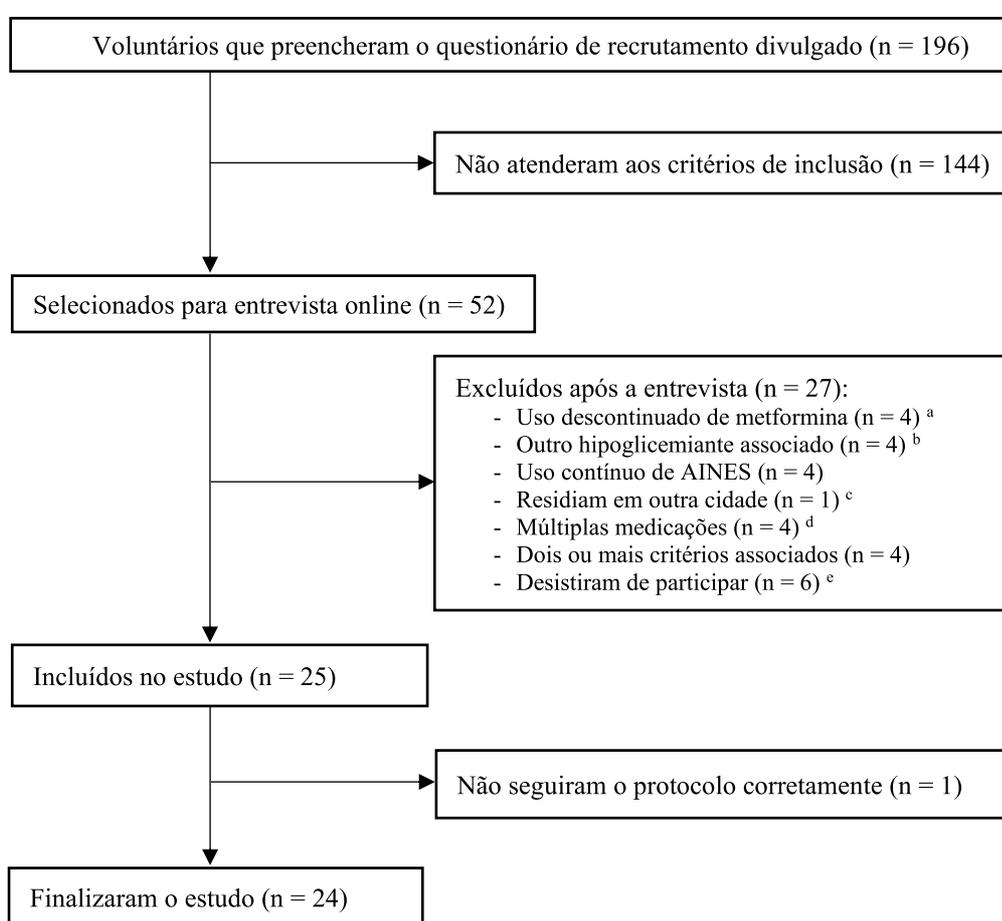
Os resultados obtidos com as análises pré e pós-intervenção de cada grupo foram testados quanto a normalidade por teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias por teste de Levene. Para os resultados com distribuição normal e igualdade de variância, os valores médios entre os grupos foram comparados por teste T-Student para amostras pareadas. Já os dados com distribuição não paramétrica, as medianas foram comparadas por teste U de Mann-Whitney. Para a comparação de resultados entre os tempos 1 e 3, foram utilizados teste T pareado para aqueles com distribuição normal e teste de Wilcoxon para os dados com distribuição não paramétrica. Para as análises de correlações foi empregado o coeficiente de correlação de Spearman, por meio do programa Statistical Package for the Social Science® (SPSS®) versão 27.0.1.0. Finalmente, após as análises estatísticas, os dados foram apresentados em formatos de gráficos e tabelas, sendo os gráficos produzidos com auxílio do programa Microsoft Excel®.

6. RESULTADOS

6.1. RECRUTAMENTO

Entre os meses de setembro de 2022 e dezembro de 2023, vinte e cinco indivíduos atenderam aos critérios de elegibilidade e iniciaram o protocolo de estudo, no entanto, um precisou ser excluído por não ter usado corretamente as cápsulas ofertadas, conforme demonstrado na figura 3. Cada grupo de intervenção foi composto por 12 indivíduos aleatoriamente alocados.

Figura 3 – Fluxograma de seleção de voluntários para o estudo



^a Indivíduos que possuíam prescrição médica de metformina, mas interromperam o uso por conta própria ou a medicação foi suspensa pelo médico antes da entrevista online. ^b Uso de hipoglicemiante associado à metformina, exceto sulfoniluréias; ^c Indivíduos que residiam em outras cidades, sem possibilidade de deslocamento para os encontros presenciais; ^d Uso de múltiplas medicações que poderiam interferir nos resultados do estudo. ^e Indivíduos que desistiram de participar do estudo após explicação do protocolo a ser seguido. AINES: Anti-inflamatórios não esteroidais

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Dentre os critérios para não inclusão dos voluntários no estudo a partir do preenchimento inicial do questionário online de recrutamento, o IMC elevado (acima de 35kg/m²) e o não uso de metformina foram os mais prevalentes. Além disso, vinte e seis indivíduos eram idosos (idade superior a 60 anos) e mais vinte e seis não atendiam a dois ou mais critérios de elegibilidade, conforme demonstrado na tabela 1.

Tabela 1 – Critérios para não seleção dos voluntários para entrevista online

Critérios	n
IMC ≥ 35kg/m ²	31
Não estavam em uso de metformina	29
Idade ≥ 60 anos	26
Utilização de outras medicações que pudessem interferir nos resultados do estudo (Fibratos, AINES)	14
Impossibilidade de comparecimento aos encontros presenciais *	9
Uso de outras medicações para DM2 **	9
Presença de dois ou mais critérios para não inclusão	26
Total	144

AINES: Anti-inflamatórios não esteroidais; * Falta de disponibilidade de horário, residência em outro município;

** Indivíduos em uso de insulina, dopaglifozina ou semaglutida.

6.2. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Dos vinte e quatro indivíduos incluídos no estudo, a maioria era do sexo feminino (n=15; 62,5%), com sobrepeso (n=13; 54,2%), porém com risco muito aumentado para doenças cardiovasculares conforme a medida do perímetro da cintura (n=21; 87,5%). Além disso, a maior parte dos indivíduos utilizava exclusivamente a metformina (n=20; 83,3%) como medicação para controle glicêmico, apresentavam glicemia acima de 99mg/dL (n=19; 79,2%) e hemoglobina glicada acima de 5,7% (n=15; 62,5%). Em relação ao perfil lipídico, metade dos voluntários apresentava colesterol total alterado, dezenove apresentavam baixos níveis de HDL (79,2%) e dezenove (79,2%) apresentavam valores de LDL acima do recomendado a partir da análise de estratificação de risco cardiovascular (Tabela 2).

Tabela 2 – Características gerais dos indivíduos no início do estudo (T1).

	Total	Óleo de Peixe	Óleo de Soja
	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)
Gênero			
Feminino	15(62,5)	8(66,7)	7(58,3)
Masculino	9(37,5)	4(33,3)	5(41,7)
IMC			
Sobrepeso	13(54,2)	6(50,0)	7(58,3)
Obesidade	11(45,8)	6(50,0)	5(41,7)
Perímetro da Cintura			
Risco aumentado	3(12,5)	1(8,3)	2(16,7)
Risco muito aumentado	21(87,5)	11(91,7)	10(83,3)
IPAQ			
Sedentário	9(37,5)	5(41,7)	4(33,3)
Irregularmente Ativo	4(16,7)	2(16,7)	2(16,7)
Ativo	8(33,3)	3(25)	5(41,7)
Muito Ativo	3(12,5)	2(16,7)	1(8,3)
Hipoglicemiantes			
Metformina	20(83,3)	10(83,3)	10(83,3)
Metformina + Sulfonilureia	4(16,7)	2(16,7)	2(16,7)
Glicemia			
Normal	5(20,8)	1(8,3)	4(33,3)
Pré-diabetes	9(37,5)	5(41,7)	4(33,3)
Diabetes	10(41,7)	6(50,0)	4(33,3)
HbA1C			
Normal	9(37,5)	5(41,7)	4(33,3)
Pré-diabetes	7(29,2)	2(16,7)	5(41,7)
Diabetes	8(33,3)	5(41,7)	3(25,0)
HOMA-IR			
Normal	10(41,7)	4(33,3)	6(50,0)
Alterado	14(58,3)	8(66,7)	6(50,0)
HOMA-β			
Função baixa	23(95,8)	11(91,7)	12(100,0)
Função excessiva	1(4,2)	1(8,3)	-
Estatinas			
Sim	5 (20,8)	3 (25,0)	2 (16,7)
Não	19 (79,2)	9 (75,0)	10 (83,3)
Colesterol Total			
Desejável	12(50,0)	4(33,3)	8(66,7)

Limítrofe	6(25,0)	3(25,0)	3(25,0)
Alto	6(25,0)	5(41,7)	1(8,3)
LDL			
Desejável	5(20,8)	2(16,7)	3(25,0)
Acima da meta	19(79,2)	10(83,3)	9(75,0)
HDL			
Alto risco	3(12,5)	1(8,3)	2(16,7)
Risco moderado	16(66,7)	7(58,3)	9(75,0)
Baixo risco	5(20,8)	4(33,3)	1(8,3)
Triglicerídeos			
Normal	15(62,5)	8(66,7)	7(58,3)
Alterado	9(37,5)	4(33,3)	5(41,7)
Risco Cardiovascular*			
Muito alto	1(4,2)	1(4,2)	0
Alto	8(33,3)	1(8,3)	7(58,3)
Intermediário	13(54,2)	7(58,3)	5(41,7)
Baixo	2(8,3)	2(8,3)	0

IMC: índice de massa corporal; IPAQ: Questionário Internacional de Atividade Física; Hb1AC: hemoglobina glicada; LDL: lipoproteína de baixa densidade; HDL: lipoproteína de alta densidade; *Risco cardiovascular segundo a Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2019).

Em relação à idade, os vinte e quatro indivíduos incluídos no estudo tinham em média $50,04 \pm 7,39$ anos (variando entre 29 e 59 anos); não havendo diferença estatística entre grupos. O tempo de intervenção e a dose ofertada de óleo por peso corporal também não diferiu entre os grupos. Além disso, como demonstrado na tabela 3, os parâmetros antropométricos e de composição corporal entre os grupos, antes e após a intervenção, também não apresentaram diferenças estatísticas.

Tabela 3 – Comparação de medidas antropométricas e composição corporal entre os tratamentos com óleo de peixe e óleo de soja nos diferentes tempos (T1 e T3)

	Óleo de Peixe		<i>p1</i>	Óleo de Soja		<i>p1</i>	<i>p2</i>	
	(n=12)			(n=12)				
	Média±DP	Med(IIQ)		Média±DP	Med(IIQ)			
Idade (anos)	49,25±6,89	49,00(13,0)		50,83±8,09	53,50(7,0)		0,836 [¥]	
Intervenção								
Duração (dias)	57,83±2,21	57,00(3,80)		57,83±3,35	56,00(4,80)		0,208 [¥]	
Dose(mL)/Peso(kg)	0,05±0,01	0,05(0,01)		0,05±0,01	0,05(0,01)		0,665 [¥]	
Medidas Antropométricas								
Estatura (m)	1,65±0,06	1,64(0,09)		1,64±0,09	1,63(0,11)		0,959 [¥]	
Peso (kg)	T1	83,42±10,06	81,55(9,3)	0,207 [‡]	79,64±10,16	81,65(16,4)	0,707 [‡]	0,758 [¥]
	T3	83,93±10,41	81,35(10,9)		79,37±10,95	84,60(17,6)		0,623 [¥]
IMC (kg/m ²)	T1	30,63±2,69	31,08(5,4)	0,211 [‡]	29,56±2,45	29,37(4,7)	0,248 [‡]	0,686 [¥]
	T3	30,81±2,83	30,94(5,1)		29,19±2,44	28,89(4,9)		0,515 ⁺
PC (cm)	T1	103,40±7,12	103,25(9,5)	0,225 [‡]	101,76±7,25	102,08(13,6)	0,894 [‡]	0,912 [¥]
	T3	104,13±6,92	103,45(8,0)		100,49±7,99	101,10(14,55)		1,000 ⁺
RCE	T1	0,57±0,04	0,57(0,08)	0,218 [‡]	0,58±0,03	0,56(0,06)	0,091 [‡]	0,600 [¥]
	T3	0,58±0,04	0,58(0,06)		0,56±0,03	0,57(0,06)		0,965 ⁺
Composição Corporal								
Gordura (%)	T1	36,63±7,52	37,95(11,6)	0,486 [‡]	34,72±6,08	37,70(9,2)	0,182 [‡]	0,408 ⁺
	T3	36,20±6,31	37,85(9,7)		34,65±6,04	35,80(10,7)		0,798 [¥]
Gordura (kg)	T1	30,42±6,43	32,70(11,6)	0,743 [‡]	27,48±4,99	27,40(7,3)	0,172 [‡]	0,473 [¥]
	T3	30,25±5,71	31,85(10,5)		27,30±5,08	28,40(6,7)		0,636 [¥]
GTronco (%)	T1	35,34±6,31	38,20(11,6)	0,896 [‡]	33,77±4,02	35,75(5,4)	0,142 [‡]	0,460 ⁺
	T3	35,45±5,08	36,15(9,8)		34,67±4,35	36,20(5,4)		0,689 [¥]
MMusc (kg)	T1	50,33±9,50	45,45(16,4)	0,432 [‡]	49,53±9,05	50,50(13,6)	0,268 [‡]	0,534 ⁺
	T3	50,96±9,05	46,75(15,4)		49,44±9,51	48,80(16,2)		0,859 ⁺

Med: Mediana; DP: desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil; IMC: índice de massa corporal; PC: Perímetro da Cintura; RCE: Relação Cintura/Estatura; GTronco: Gordura do Tronco; MMusc: Massa Muscular; *p1*: Comparação das variáveis do mesmo tratamento entre os diferentes tempos T1 e T3 (‡: Teste de Wilcoxon e †: Teste T para amostras pareadas); *p2*: Comparação das variáveis entre os tratamentos (¥: Teste T de Student e +: Teste U de Mann-Whitney). * Diferença estatística entre T1 e T3 (p<0,05).

Em relação aos parâmetros bioquímicos relacionados à resistência insulínica, não foram observadas diferenças entre os grupos e nem no mesmo grupo antes e após a intervenção. Sobre o perfil lipídico, foi observado que os integrantes do grupo óleo de

soja apresentavam menores valores de colesterol total em relação aos do grupo óleo de peixe ($p=0,014$) e esta diferença se manteve mesmo após a intervenção ($p=0,005$). Os níveis de LDL também se diferiram entre os grupos no momento inicial ($p=0,019$) e a diferença foi mantida ao final do estudo ($p=0,028$). A avaliação da função hepática indicou que as intervenções não afetaram significativamente os níveis de AST, ALT e GGT, no entanto, mesmo não tendo sido mantida, foi observado uma diferença nos níveis de ALT no início do estudo entre os grupos ($p=0,004$) (Tabela 4).

Tabela 4 – Comparação dos parâmetros bioquímicos entre os tratamentos com óleo de peixe e óleo de soja nos diferentes tempos (T1 e T3)

		Óleo de Peixe		<i>p1</i>	Óleo de Soja		<i>p1</i>	<i>p2</i>
		(n=12)			(n=12)			
		Média±DP	Med(IQ)		Média±DP	Med(IQ)		
Glicemia (mg/dL)	T1	133,08±33,65	129,5(41,5)	0,441 [‡]	124,50±30,70	113,5(51,5)	0,071 [‡]	0,940 [¥]
	T3	133,50±52,76	120,5(53,5)		116,20±20,62	112,0(30,3)		0,657 ⁺
Hb1AC (%)	T1	6,28±1,27	5,9(1,8)	0,128 [‡]	6,20±0,59	6,1(0,9)	0,614 [‡]	0,511 [¥]
	T3	6,53±1,59	6,1(2,3)		6,26±0,67	6,1(1,0)		0,787 [¥]
Insulina (μU/mL)	T1	14,17±13,06	10,1(7,8)	0,657 [‡]	10,23±4,29	9,9(7,2)	0,462 [‡]	0,515 ⁺
	T3	13,92±8,06	11,7(8,7)		12,07±5,86	11,5(11,1)		0,594 ⁺
HOMA-IR	T1	4,52±4,62	3,2(2,1)	0,424 [‡]	3,25±2,07	2,4(3,0)	0,875 [‡]	0,286 ⁺
	T3	4,27±2,31	3,6(3,9)		3,53±2,15	3,1(3,6)		0,662 [¥]
HOMA-β	T1	86,95±67,79	64,2(109,9)	0,477 [‡]	67,59±30,80	67,4(33,9)	0,241 [‡]	0,246 [¥]
	T3	103,82±92,64	80,3(96,9)		84,54±39,25	76,4(65,1)		0,897 ⁺
CT (mg/dL)	T1	236,08±52,69	244,0(86,8) ^a	0,386 [‡]	180,00±52,36	194,0(48,0) ^a	0,074 [‡]	0,020 [¥]
	T3	245,75±43,65	250,5(76,8) ^b		197,40±27,24	198,5(53,0) ^b		0,013 [¥]
LDL (mg/dL)	T1	147,50±45,95	159,5(66,3) ^a	0,725 [‡]	112,30±21,78	115,0(34,0) ^a	0,170 [‡]	0,022 [¥]
	T3	150,58±42,73	151,0(46,0) ^b		118,30±29,28	112,5(67,5) ^b		0,040 [¥]
HDL (mg/dL)	T1	54,58±12,49	52,0(17,8)	0,198 [‡]	46,50±11,75	47,0(17,0)	0,403 [‡]	0,181 [¥]
	T3	57,33±13,55	57,0(15,8)		47,30±13,40	44,5(23,5)		0,180 [¥]
TG (mg/dL)	T1	170,58±110,3	134,0(112,3)	0,838 [‡]	155,90±63,67	149,5(108,0)	0,867 [‡]	0,897 ⁺
	T3	189,58±124,1	163,0(201,8)		151,80±46,38	166,0(75,8)		0,817 [¥]
AST (U/L)	T1	43,33±57,14	25,0(11,3)	0,593 [‡]	23,40±6,67	21,0(11,3)	0,126 [‡]	0,055 ⁺
	T3	43,33±50,96	26,0(16,8)		28,30±13,04	23,0(10,5)		0,122 ⁺
ALT (mg/dL)	T1	50,67±78,67	26,0(16,5) ^a	0,929 [‡]	19,10±8,03	18,0(4,8) ^a	0,329 [‡]	0,021 ⁺
	T3	52,25±63,93	27,0(36,3)		22,40±9,32	20,5(13,5)		0,146 ⁺

GGT	T1	45,50±51,51	29,5(22,5)	0,099 [‡]	43,40±32,81	30,5(40,5)	0,905 [‡]	0,408 ⁺
(U/L)	T3	57,83±71,53	29,5(48,5)		41,40±28,54	32,0(39,3)		0,696 ⁺

Med: Mediana; DP: Desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil; Hb1AC: Hemoglobina glicada; CT: Colesterol total; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; HDL: Lipoproteína de alta densidade; TG: Triglicerídeos; AST: Aspartato aminotransferase; ALT: Alanina aminotransferase; GGT: Gama glutamiltransferase; T1: Momento inicial; T3: Momento final; *p1*: Comparação das variáveis do mesmo tratamento entre os diferentes tempos T1 e T3 (‡: Teste de Wilcoxon e †: Teste T para amostras pareadas); *p2*: Comparação das variáveis entre os tratamentos (¥: Teste T de Student e +: Teste U de Mann-Whitney). * Diferença estatística entre T1 e T3 (p<0,05); ^a: Diferença estatística entre grupos no T1 (p<0,05); ^b: Diferença estatística entre grupos no T3 (p<0,05).

A ingestão alimentar avaliada pelo registro alimentar no momento inicial e final, não foi significativamente diferente para nenhum dos parâmetros avaliados, apenas no grupo óleo de soja que foi observado um aumento significativo de ácidos graxos monoinsaturados (p=0,017) ao final do estudo quando comparado com o quantificado no início. Porém entre os grupos, nenhum dos parâmetros avaliados foi significante, demonstrando que na amostra avaliada, a alimentação foi semelhante entre os diferentes tratamentos e se manteve como o padrão habitual conforme foi solicitado pelos pesquisadores (Tabela 5).

Tabela 5 – Comparação da ingestão alimentar entre os tratamentos com óleo de peixe e óleo de soja nos diferentes tempos (T1 e T3)

		Óleo de Peixe		<i>p1</i>	Óleo de Soja		<i>p1</i>	<i>p2</i>
		(n=12)			(n=12)			
		Média±DP	Med(IIQ)		Média±DP	Med(IIQ)		
Energia (kcal)	T1	1679,1±450,6	1760,3(729,3)	0,799 [‡]	1861,9±535,1	1923,1(704,8)	0,180 [†]	0,349 [¥]
	T3	1735,7±674,4	1544,7(507,0)		1629,7±484,5	1544,4(507,0)		0,829 ⁺
CHO (g)	T1	217,1±88,4	204,9(174,9)	0,662 [†]	232,3±73,3	236,3(90,1)	0,426 [†]	0,466 [¥]
	T3	202,8±61,5	187,8(123,2)		202,8±61,5	187,8(123,2)		0,817 [¥]
PTN (g)	T1	76,9±26,3	75,7(42,3)	0,959 [‡]	87,5±31,7	91,6(36,9)	0,094 [†]	0,319 [¥]
	T3	79,4±45,9	67,9(30,9)		79,4±45,9	67,9(30,9)		0,696 ⁺
LIP (g)	T1	55,6±18,8	51,9(26,7)	0,721 [‡]	64,7±22,5	67,7(39,2)	0,094 [†]	0,488 [¥]
	T3	67,5±41,8	63,4(20,8)		67,5±41,8	63,4(20,8)		0,696 ⁺
CHO (%)	T1	50,3±11,0	52,3(19,0)	0,825 [†]	50,7±5,7	49,4(11,4)	0,804 [†]	0,683 [¥]
	T3	49,7±10,5	46,8(17,2)		49,7±10,5	46,8(17,2)		0,967 [¥]
PTN (%)	T1	19,1±4,7	19,3(8,1)	0,221 [†]	18,5±2,4	18,5(4,5)	0,466 [†]	0,946 [¥]
	T3	17,6±3,8	16,8(6,6)		17,6±3,8	16,8(6,6)		0,252 [¥]

LIP (%)	T1	30,6±9,4	27,7(12,3)	0,643 [‡]	30,8±5,1	32,7(10,3)	0,680 [‡]	0,653 [¥]
	T3	32,3±7,6	33,3(13,7)		32,3±7,6	33,3(13,7)		0,665 [¥]
AGMI(g)	T1	17,9±6,7	15,7(11,5)	0,646 [‡]	20,4±8,4	21,6(14,6)*	0,007 [‡]	0,525 [¥]
	T3	22,5±16,4	22,1(13,4)		22,5±16,4	22,1(13,4)*		0,829 ⁺
AGPI (g)	T1	8,7±3,5	8,3(5,3)	0,575 [‡]	12,1±4,9	14,6(8,6)	0,121 [‡]	0,243 [¥]
	T3	10,8±7,8	7,7(5,7)		10,8±7,8	7,7(5,7)		0,762 ⁺
AGS (g)	T1	19,8±6,3	18,0(8,1)	0,878 [‡]	22,1±9,2	21,2(14,1)	0,646 [‡]	0,782 [¥]
	T3	22,4±12,5	19,6(8,9)		22,4±12,5	19,6(8,9)		0,696 ⁺
Colest (g)	T1	285,1±217,4	237,1(214,7)	0,241 [‡]	348,3±203,5	346,7(268,6)	0,247 [‡]	0,315 ⁺
	T3	340,9±183,5	342,9(290,5)		340,9±183,5	342,5(290,5)		0,428 [¥]
Fibras (g)	T1	19,0±11,6	18,4(15,6)	0,285 [‡]	22,9±10,1	20,4(13,5)	0,570 [‡]	0,159 [¥]
	T3	19,9±14,3	14,2(14,5)		19,9±14,2	14,2(14,5)		0,460 ⁺

Med: Mediana; DP: desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil; T1: momento inicial; T3 momento final; *p1*: Comparação das variáveis do mesmo tratamento entre os diferentes tempos T1 e T3; CHO: Carboidratos; PTN: Proteínas; LIP: Lipídeos; AGMI: Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: Ácidos graxos poli-insaturados; AGS: Gordura saturada; Colest: Colesterol; *p1*: Comparação das variáveis do mesmo tratamento entre os diferentes tempos T1 e T3 (‡: Teste de Wilcoxon e †: Teste T para amostras pareadas); *p2*: Comparação das variáveis entre os tratamentos (¥: Teste T de Student e +: Teste U de Mann-Whitney). * Diferença estatística entre T1 e T3 ($p < 0,05$).

6.3. SINTOMAS GASTROINTESTINAIS

O questionário de sintomas gastrointestinais foi aplicado no início e ao final do tratamento com a finalidade de observar mudanças na percepção individual sobre dor abdominal, refluxo, indigestão, diarreia e constipação. Foi observado que não houve diferença estatística entre os tratamentos para nenhum dos sintomas avaliados em nenhum dos dois momentos, porém no grupo óleo de peixe houve redução da pontuação atribuída para dor abdominal ($p=0,022$), significando que houve diminuição da percepção deste sintoma ao final do acompanhamento. No grupo que recebeu óleo de soja, foi observado diferença estatística ($p=0,043$) para o sintoma de indigestão, sendo atribuída menor pontuação para esse sintoma ao final do tratamento (Tabela 6).

Tabela 6 – Comparação entre grupos óleo de peixe e óleo de soja dos valores dos domínios (dor abdominal, refluxo, indigestão, diarreia, constipação) e da soma total da escala de sintomas gastrointestinais GSRS em T1 e T3.

		Óleo de Peixe		<i>p1</i>	Óleo de Soja		<i>p1</i>	<i>p2</i>
		(n= 12)			(n=9)			
		Média±DP	Med(IIQ)		Média±DP	Med(IIQ)		
Dor abdominal	T1	2,22±1,11	1,84(1,67)*	0,042‡	1,87±0,67	2,00(1,42)	0,140‡	0,369¥
	T3	1,33±0,54	1,33(0,84)*		1,67±0,49	1,67(0,84)		0,457+
Refluxo	T1	2,17±1,27	1,75(2,00)	0,107‡	1,45±0,55	1,25(1,00)*	0,014‡	0,181+
	T3	1,50±0,56	1,50(0,50)		2,05±1,01	2,00(1,13)*		0,054+
Indigestão	T1	2,65±1,17	2,75(1,88)	0,271‡	2,65±1,24	3,00(1,88)	0,253‡	0,994¥
	T3	2,29±1,06	2,13(1,19)		2,38±1,09	2,13(1,06)		0,791+
Diarreia	T1	2,53±1,40	2,00(2,84)	0,204‡	2,30±1,18	2,17(1,76)	0,778‡	0,685¥
	T3	2,14±1,08	1,67(1,92)		2,20±0,65	2,17(1,08)		0,887¥
Constipação	T1	2,78±1,63	2,50(2,58)	0,120‡	2,17±1,15	1,84(2,08)	0,706‡	0,313¥
	T3	2,33±1,15	2,00(1,83)		2,36±1,20	2,50(1,67)		0,950¥
Total	T1	37,50±15,34	36,0(24,3)	0,051‡	32,50±9,19	30,0(16,5)	0,948‡	0,358¥
	T3	30,00±11,05	26,5(14,5)		32,30±5,25	32,5(9,25)		0,531¥

Med: Mediana; DP: desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil; T1: momento inicial; T3 momento final; *p1*: Comparação das variáveis do mesmo tratamento entre os diferentes tempos T1 e T3 (‡: Teste de Wilcoxon e †: Teste T para amostras pareadas); *p2*: Comparação das variáveis entre os tratamentos (¥: Teste T de Student e +: Teste U de Mann-Whitney). * Diferença estatística entre T1 e T3 (p<0,05).

6.4. ENDOTOXEMIA METABÓLICA E INFLAMAÇÃO

Na amostra analisada foi observado, em relação às citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias, não houve diferença estatística entre os grupos em nenhum dos tempos T1 e T3. Além disso, também não foram observadas diferenças antes e após a intervenção dentro de cada grupo individualmente (Tabela 7).

Outro ponto observado, foi que no momento inicial (T1), os grupos se diferiram apenas em relação aos níveis de LBP (p=0,004), indicando que os indivíduos do grupo óleo de peixe apresentavam maiores valores de LBP em relação ao grupo óleo de soja. Porém esta diferença não foi mantida após a intervenção.

Além disso, ao comparar as medianas dentro de cada grupo nos diferentes momentos (T1 e T3), observamos que apenas no grupo óleo de soja houve aumento

significativo de LBP após a intervenção, sendo que o aumento observado no grupo óleo de peixe não foi significativo.

Tabela 7 – Comparação entre grupos óleo de peixe e óleo de soja em T1 e T3 dos indicadores de inflamação e endotoxemia metabólica.

		Óleo de Peixe		<i>p1</i>	Óleo de Soja		<i>p1</i>	<i>p2</i>
		(n= 12)			(n=12)			
		Média±DP	Med(IIQ)		Média±DP	Med(IIQ)		
TNF- α (pg/mL)	T1	5,07±0,43	5,02(0,67)	0,182	5,00±0,34	4,89(0,57)	0,272	0,680 [¥]
	T3	6,09±2,37	5,14(0,55)		5,55±1,11	5,09(1,51)		0,729 ⁺
IL-10 (pg/mL)	T1	5,09±3,96	4,17(4,40)	0,937	11,45±13,3	4,70(17,83)	0,433	0,488 ⁺
	T3	4,10±3,40	2,87(6,05)		6,69±7,29	3,65(7,58)		0,282 [¥]
LBP (μ g/mL)	T1	5,91±3,56	4,54(6,37) ^a	0,388	2,37±1,98	1,46(2,76) ^{a*}	0,006	0,004 ⁺
	T3	14,06±23,16	6,04(12,14)		14,35±16,49	6,91(19,86) [*]		0,583 ⁺
Calprotectina (μ g/mL)	T1	3,60±2,88	2,65(2,83)	0,182	3,25±1,98	2,70(2,22)	0,182	0,954 ⁺
	T3	2,22±1,60	1,55(2,53)		2,02±1,18	2,20(2,25)		0,741 [¥]

Med: Mediana; DP: desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil; T1: momento inicial; T3 momento final; TNF- α : Fator de Necrose Tumoral α ; IL-10: Interleucina 10; LBP: Lipoproteína de ligação de lipopolissacarídeo; *p1*: Comparação das variáveis do mesmo tratamento entre os diferentes tempos T1 e T3 pelo teste de Willcoxon; *p2*: Comparação das variáveis entre os tratamentos (¥ Teste T de Student e + Teste U de Mann-Whitney). * Diferença estatística entre T1 e T3 ($p < 0,05$). ^a: Diferença estatística entre grupos no T1 ($p < 0,05$).

Os valores basais e finais de LBP plasmática foram correlacionados com parâmetros antropométricos, de composição corporal, bioquímicos, inflamatórios e alimentares. A análise de correlação entre a parâmetros acima e abaixo da mediana das concentrações plasmáticas de LBP demonstraram que no número total de indivíduos (n=24), houve correlação positiva com IMC ($r=0,406$; $p=0,049$), percentual de gordura corporal ($r=0,463$; $p=0,023$); percentual de gordura na região do tronco ($r=0,411$; $p=0,046$), colesterol total ($r=0,481$; $p=0,017$) e TNF- α ($r=0,488$; $p=0,016$). Além disso, houve correlação negativa a citocina anti-inflamatória IL-10 ($r= -0,513$; $p=0,010$) (Tabela 8). Considerando a calprotectina como um parâmetro inflamatório, também foram avaliadas as correlações com os mesmos parâmetros, porém só foi identificada uma correlação negativa nos níveis de HDL colesterol ($r=0,482$; $p=0,017$).

Tabela 8 – Correlação entre as concentrações plasmáticas de proteína de ligação de lipopolissacarídeos (LBP) e Calprotectina com variáveis antropométricas, de composição corporal, parâmetros bioquímicos, inflamatórios no momento inicial (T1).

	LBP (n=24)		Calprotectina (n=24)	
	r	p	r	p
Antropometria				
Peso (kg)	0,023	0,913	0,354	0,090
IMC (kg/m ²)	0,406*	0,049	0,122	0,571
PC (cm)	0,191	0,370	0,308	0,144
RCE	0,366	0,079	0,210	0,326
Composição Corporal				
Gordura Total (%)	0,463*	0,023	-0,250	0,239
Gordura no Tronco (%)	0,411*	0,046	-0,094	0,662
Massa Muscular (kg)	-0,145	0,498	0,426	0,052
Parâmetros Bioquímicos				
Glicemia (mg/dL)	0,063	0,768	0,134	0,534
Hb1AC (%)	0,253	0,232	-0,147	0,492
HOMA-IR	0,203	0,342	0,118	0,582
CT (mg/dL)	0,481*	0,017	-0,257	0,226
LDL (mg/dL)	0,381	0,067	-0,261	0,218
HDL (mg/dL)	0,258	0,223	-0,482*	0,017
TG (mg/dL)	0,197	0,357	-0,070	0,744
Parâmetros Inflamatórios				
TNF- α (pg/mL)	0,488*	0,016	-0,105	0,626
IL-10 (pg/mL)	-0,513*	0,010	0,097	0,651
Calprotectina (μ g/mL)	-0,156	0,468	-	-
LBP (μ g/mL)	-	-	-0,156	0,468

IMC: Índice de Massa Corporal; PC: Perímetro da cintura; Relação Cintura/Estatura; Hb1AC:

Hemoglobina glicada; CT: Colesterol Total; LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade; HDL:

Lipoproteína de Alta Densidade; TG: Triglicerídeos; TNF- α : Fator de Necrose Tumoral α ; IL-

10: Interleucina 10; IL-6: Interleucina 6; r: Coeficiente de correlação de Spearman; p: nível de

significância ($p < 0,05$); *: Diferença estatística.

7. DISCUSSÃO:

No presente estudo foram avaliados 24 indivíduos com sobrepeso ou obesidade grau I, resistentes à insulina em uso de metformina ou metformina associada à sulfonilureias. Nossos voluntários foram divididos em 2 grupos de forma aleatória e randomizada, de forma que foram ofertados 4g de óleo de peixe (2,4g de EPA+DHA) para um grupo e a mesma quantidade de óleo de soja para outro, por 8 semanas, com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação de óleo rico em ácidos graxos EPA e DHA sobre parâmetros relacionados à endotoxemia metabólica nestes indivíduos. Apesar da suplementação com óleo de peixe rico em ácidos graxos ômega-3 ser objeto de estudo de várias pesquisas científicas por seus efeitos potenciais na endotoxemia metabólica, os resultados do presente estudo não foram capazes de demonstrar diferenças significativas entre o grupo suplementado com óleo de peixe e com óleo de soja. No entanto, foram encontradas correlações dos níveis de LBP plasmáticos com parâmetros antropométricos (IMC), de composição corporal (percentual de gordura total e na região do tronco), bioquímicos (colesterol total) e inflamatórios/anti-inflamatórios (TNF- α e IL-10).

Até o presente momento, está bem estabelecido que a permeabilidade intestinal é afetada na obesidade, contribuindo para a endotoxemia metabólica e, conseqüentemente, para a exacerbação da inflamação de baixo grau. A disfunção da barreira intestinal com aumento de permeabilidade leva a um aumento nos níveis circulatórios de LPS (Kaliannan *et al.*, 2015; Kinashi; Hase, 2021). Porém, devido às dificuldades documentadas na medição do LPS em fluidos biológicos, a proteína ligadora de LPS – LBP, tem sido proposta como um marcador clínico de endotoxemia (Sun *et al.*, 2010; Gonzalez-Quintela *et al.*, 2013; Metz *et al.*, 2023). Desta forma, optamos por usar neste estudo a dosagem plasmática do LBP como marcador desta condição em nossos indivíduos. Vale ressaltar também, que estudos sobre a distribuição de LBP na população em geral são escassos e, portanto, não existem pontos de corte específicos desta proteína para diagnóstico e classificação da condição de endotoxemia (Gomes *et al.*, 2017). No estudo transversal realizado por Gonzalez-Quintela *et al.* (2013), com 420 indivíduos adultos, foi identificada uma mediana de 6,46 $\mu\text{g/mL}$ naqueles com idades entre 18 e 50 anos e 7,58 $\mu\text{g/mL}$ para aqueles com mais de 50 anos. Os autores também observaram uma tendência de aumento das concentrações de LBP com o aumento das categorias de IMC (mediana de 7,29 $\mu\text{g/mL}$ para indivíduos com sobrepeso e 7,75 $\mu\text{g/mL}$ para aqueles com obesidade) (Gonzalez-Quintela *et al.*, 2013). Ainda neste estudo, os autores

encontraram correlação dos valores de LBP com citocinas inflamatórias, como IL-6 (mas não com TNF- α ; $r=0,125$ e $p=0,01$) e com enzimas hepáticas ALT e GGT, sendo que a correlação entre LBP e GGT foi mais forte em indivíduos obesos do que aqueles com sobrepeso ($r=0,215$ e $p=0,01$ versus $r=0,103$ e $p=0,16$) (Gonzalez-Quintela *et al.*, 2013).

Um outro estudo, conduzido por Metz *et al.* (2023) em 40 mulheres com eutrofia ou sobrepeso, foram identificados maiores concentrações de LBP naquelas com sobrepeso, com correlação moderada entre a proteína e o IMC ($r=0,435$ e $p=0,005$) e a citocina inflamatória IL-6 ($r=0,338$ e $p=0,033$). Em nossa amostra os valores de mediana encontrados de LBP no momento inicial foram menores do que outros estudos analisados ($3,08 \mu\text{g/mL}$ versus $6,46 \mu\text{g/mL}$), porém ainda assim, conseguimos encontrar correlações positivas moderadas com o IMC ($r=0,406$; $p=0,049$), percentual de gordura corporal ($r=0,463$; $p=0,023$), percentual de gordura na região do tronco ($r=0,411$; $p=0,046$), colesterol total ($r=0,430$; $p=0,036$) e TNF- α ($r=0,488$; $p=0,016$) e correlações negativas com IL-10 ($r=-0,459$; $p=0,024$). Estes resultados demonstram que mesmo encontrando valores plasmáticos relativamente menores do que os observados em outros estudos, as alterações de LBP identificadas em nossa amostra foram correlacionadas com variáveis inflamatórias, lipídicas e de composição corporal, corroborando com os resultados de estudos que demonstram que a exposição crônica ao LPS pode estar associada ao aumento do risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Asada *et al.*, 2019).

Além disso, apesar da randomização dos grupos não ter sido capaz de manter os grupos pareados em relação às medianas de LBP no grupo óleo de peixe e de soja ($4,54 \mu\text{g/mL}$ versus $1,46 \mu\text{g/mL}$), após o tratamento essas diferenças deixaram de existir. No entanto o aumento nas concentrações de LBP no T3, só foi realmente significativo para o grupo óleo de soja ($p=0,006$). Resultados semelhantes foram encontrados por Awoyemia *et al.* (2019), em um estudo prospectivo, randomizado, composto por 484 homens idosos. Neste estudo, os participantes foram randomizados para quatro grupos: *i*) aconselhamento dietético; *ii*) suplementação com 2,4g de ômega-3 (35% EPA e 20% DHA); *iii*) ambas as intervenções associadas ou *iv*) placebo (2,4g de óleo de milho), por 36 meses. Em relação aos níveis de LBP, foram identificados aumentos significativos em todos os grupos, independente da intervenção proposta, sem ter havido diferença significativa entre os grupos que receberam ômega-3 ou orientação alimentar e seus respectivos controles. No entanto, os autores identificaram que indivíduos com concentrações plasmáticas acima da mediana tiveram risco aumentado, quase 2 vezes, para o desenvolvimento de eventos

cardiovasculares, reforçando a hipótese de que valores circulatórios reduzidos de LBP e consequentemente de LPS são desejáveis.

Em 2023, o estudo multicêntrico, randomizado e controlado, LIBRE-1 (Lifestyle Intervention Study in Women with Hereditary Breast and Ovarian Cancer), teve o objetivo de testar o efeito de um programa de intervenção no estilo de vida com foco na dieta mediterrânea e aumento da atividade física, em 68 mulheres com alto risco para câncer de mama e ovário, por 12 meses (Seethaler *et al.*, 2023). Os autores identificaram que a intervenção proposta, após 1 ano foi capaz de aumentar a proporção plasmática de ômega-3 (DHA) e reduzir de ômega-6 (ácido araquidônico), melhorando a razão ômega-3/-6 no grupo intervenção. Além disso, ao final do estudo, observaram redução de LBP plasmática no grupo intervenção, enquanto o grupo controle teve uma redução nestes parâmetros após 3 meses, mas retorno aos valores basais após 12 meses (Seethaler *et al.*, 2023). Desta forma, é importante ressaltar que os efeitos atribuídos aos ômega-3 sobre a permeabilidade intestinal e endotoxemia metabólica podem ser mais proeminentes quando acompanhados de mudanças no estilo de vida, com alteração de hábitos alimentares e de atividade física. Para os nossos voluntários, solicitamos que não alterassem hábitos alimentares e de atividade física, além disso, o tempo de intervenção foi menor do que o de outros estudos, desta forma a ausência de resultados expressivos em nossa população pode estar relacionada a estes fatores.

Outro ponto que necessita ser discutido é o fato de que medicações hipoglicemiantes como a metformina, parecem reduzir os efeitos inflamatórios provocados por LPS, ao aumentar os níveis de um peptídeo antimicrobiano chamado Proteína Bactericida/Aumentadora de Permeabilidade (do inglês, *Bactericidal/Permeability-Increasing Protein* - BPI) (Gubern *et al.*, 2006). Este peptídeo antimicrobiano é capaz de se ligar ao LPS circulante assim como o LBP, não ativando vias inflamatórias (Gomes *et al.*, 2017). Desta forma o uso de metformina pelos voluntários de nosso estudo, pode ser um dos fatores responsáveis por níveis mais baixos de LBP e citocinas inflamatórias.

É importante destacar que o questionário de sintomas gastrointestinais (GSRS) foi aplicado em nossos voluntários para avaliar possíveis transtornos percebidos que pudessem desestimular o uso da suplementação de ômega-3. A partir da análise do GSRS, os voluntários do grupo óleo de peixe perceberam redução do sintoma “dor abdominal” ao término do estudo, enquanto o grupo óleo de soja identificou um aumento do sintoma “refluxo”. O aumento da sensação de “refluxo” pode estar relacionado ao

aumento, mesmo que discreto, de óleo, uma vez que lipídeos podem retardar o tempo de digestão diminuindo o tempo de esvaziamento gástrico; além de poderem estimular a produção de ácido clorídrico pelo estômago, aumentando a acidez e em alguns casos, estimularem o relaxamento do esfíncter esofágico inferior (El-Serag *et al.*, 2005). Já a redução da dor abdominal percebida por indivíduos do grupo óleo de peixe, pode ter associação com a ingestão de ômega-3, Dai e colaboradores em 2023, utilizaram randomização mendeliana para analisar a relação causal entre as concentrações de ácidos graxos poli-insaturados circulantes, incluindo ômega-3, ômega-6, ácido linoleico e DHA, juntamente com a proporção ômega-6:ômega-3 e dor em oito locais, incluindo dor abdominal. Os autores foram capazes de identificar correlação negativa entre ômega-3 e dor abdominal e pélvica, atribuindo este resultado à redução da inflamação (Dai *et al.*, 2023).

Indivíduos com excesso de peso podem apresentar aumento de citocinas inflamatórias como o TNF- α , devido ao grau de inflamação crônica subclínica. Além disso, este aumento de citocinas pode prejudicar a sinalização da insulina pela modulação pós-transducional dos substratos do seu receptor causando um quadro de resistência à ação deste hormônio (Souza, 2018). Somado a este efeito, o aumento de TNF- α também pode ser responsável por induzir lipólise nos adipócitos, levando ao aumento de ácidos graxos livres, exacerbando o quadro inflamatório (Souza, 2018; Li *et al.*, 2022). Ademais, diversos ensaios clínicos indicam que a suplementação de ômega-3, principalmente de fontes marinhas, pode afetar as concentrações séricas de biomarcadores inflamatórios, incluindo os níveis de TNF- α e IL-6, através da modulação da expressão gênica dessas citocinas; alteração da produção de mediadores inflamatórios, como os eicosanoides; e estabilização de membranas celulares com redução da produção de espécies reativas de oxigênio (Khalili *et al.*, 2021).

Apesar das diferentes vias de atuação do ômega-3 sobre parâmetros inflamatórios terem sido estudadas, os resultados em humanos ainda são muito heterogêneos. Em uma revisão sistemática conduzida por Rangel-Huerta *et al.* (2012), foram revisados 26 estudos clínicos randomizados com suplementação de ômega-3 ao longo de 10 anos com indivíduos saudáveis e com doenças crônicas. Nos participantes saudáveis não foram notados efeitos sobre citocinas inflamatórias e nos indivíduos com doenças crônicas, observaram redução de IL-6 após aproximadamente 12 semanas de suplementação, mas efeitos sobre TNF- α não foram similares (Rangel-Huerta *et al.*, 2012). Já a meta-análise publicada por Li *et al.* (2014), incluindo 68 estudos clínicos

randomizados, identificou redução significativa de TNF- α e IL-6 em indivíduos saudáveis (principalmente acima de 55 anos) e com doenças crônicas, porém a redução foi mais eficaz em indivíduos não obesos. Em uma meta-análise mais abrangente, produzida por Kavyani *et al.* (2022), incluindo 32 meta-análises com indivíduos de várias condições de saúde, foram observadas reduções nos níveis de TNF- α , porém o grau de heterogeneidade entre os estudos foi maior do que 60%. Em nosso estudo, observamos que a suplementação com óleo de peixe não alterou os níveis de TNF- α . Isso pode ser devido, em parte, ao nível plasmático de TNF- α no tempo inicial ($5,07 \pm 0,43$ pg/mL) ser similar ao observado em indivíduos saudáveis em outros estudos (Bakker *et al.*, 2023). Estes níveis basais menores podem ter ocorrido em nossa população pelo uso da metformina como medicação hipoglicemiante, uma vez que alguns autores já demonstraram efeitos deste medicamento sobre parâmetros inflamatórios, como TNF- α (Fidan *et al.*, 2011; Tao Zhu 1, 2024). Além disso, é importante ressaltar que as doses e o tempo da suplementação de ômega-3, bem como a forma de dosagem das citocinas inflamatórias são muito variadas, o que pode contribuir diretamente para a maioria dos achados nos marcadores inflamatórios, uma vez que não se sabe ao certo o tempo necessário para que haja incorporação completa dos ácidos graxos nos fosfolípidos de membrana e que alguns métodos para análise das citocinas são mais sensíveis do que outros (Endres *et al.*, 1989; Ferguson *et al.*, 2014; Natto *et al.*, 2019).

Em nosso estudo também dosamos no plasma os níveis de calprotectina, um heterodímero formado pelas proteínas S100A8/A9 capaz de auxiliar no recrutamento de leucócitos e facilitar o transporte de ácido araquidônico e ácidos graxos insaturados para locais de inflamação (Jukic *et al.*, 2021). Acredita-se que quando liberada extracelularmente, a calprotectina contida no citosol de neutrófilos e monócitos passe a atuar como um DAMP, ativando a via do receptor TLR4, induzindo a secreção de citocinas inflamatórias (Sprenkeler *et al.*, 2022). Níveis elevados de S100A8/A9 já foram detectados em pacientes com obesidade e DM2, Pedersen *et al.* (2014) identificaram uma concentração plasmática mediana de $3,754 \mu\text{g/mL}$ em 305 indivíduos com IMC acima de $32,2 \pm 5,8 \text{ kg/m}^2$, sendo 243 destes indivíduos com síndrome metabólica. Além disso, estes autores identificaram correlação positiva destes valores com IMC, peso, circunferência da cintura e do quadril, insulina de jejum e HOMA-IR e negativa com HDL colesterol indicando que há aumento deste heterodímero em relação à uma população de referência não obesa e não resistente (Pedersen *et al.*, 2014). Em nossos achados, os níveis basais de calprotectina foram menores ($2,654 \mu\text{g/mL}$ versus $3,754$

µg/mL), mas ainda assim foi possível identificar uma correlação inversa com níveis de HDL colesterol.

Apesar de, em nosso estudo, não termos identificado diferenças significativas nos valores de calprotectina plasmática após a suplementação com ômega-3, estudos avaliando esta interação têm surgido na última década. Shah *et al.* (2017) observaram que a suplementação de ômega-3 levou expressão aumentada de S100A8 e A9 em adipócitos em resposta a um estímulo agudo de LPS e no cenário de inflamação crônica, porém estes dados foram associados a uma redução na resposta inflamatória em indivíduos obesos. As explicações para este fato ainda precisam ser elucidadas, porém um possível mecanismo é que os ômega-3 podem ser capazes de se ligar ao heterodímero levando ao seu sequestro para o interior dos adipócitos, ocasionando um aumento no recrutamento de macrófagos e uma resolução mais rápida da inflamação sistêmica (Shah *et al.*, 2017). Além disso, os ômega-3 podem regular negativamente S100A8 e A9 em monócitos e macrófagos pró-inflamatórios, atenuando assim os efeitos inflamatórios (Riuzzi *et al.*, 2020). Vale ressaltar que os mecanismos, bem como a atuação de ômega-3 sobre calprotectina plasmática ainda precisam ser mais esclarecidos para que possa ser estabelecida uma relação causal na melhora de parâmetros inflamatórios a partir desta interação.

Outro aspecto relevante sobre a ação dos ômega-3 está relacionado à prevenção de doenças cardiovasculares e esta relação vem sendo alvo de estudo há muitos anos, pois além do seu efeito sobre parâmetros inflamatórios, tem-se observado redução de triglicerídeos e colesterol plasmáticos. Os mecanismos pelos quais os ômega-3 atuam sobre esses parâmetros envolvem a oxidação aumentada de ácidos graxos, bem como a ativação de PPARs (Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma), principalmente PPAR- α , reduzindo assim os triglicerídeos e aumentando HDL (Sherratt *et al.*, 2023). No entanto, apesar de proeminentes, esses resultados ainda são controversos, uma vez que a variabilidade quanto às dosagens e tempo de uso da suplementação é muito grande (Duttaroy, 2022; Sherratt *et al.*, 2023). Uma revisão sistemática com meta-análise produzida por Wang *et al.* (2023), encontrou reduções de triglicerídeos naqueles indivíduos que já apresentavam status hiperlipidêmico somado ao sobrepeso/obesidade antes da suplementação e que os melhores resultados foram encontrados com doses de ômega-3 maiores do que 2g/dia. Além disso, identificou que o uso de estatina potencializou os efeitos, principalmente em relação ao aumento de HDL (Wang *et al.*, 2023). Em nosso estudo, apesar dos indivíduos estarem com sobrepeso/obesidade, a

maior parte da amostra (62,5%) foi composta por indivíduos com níveis de triglicerídeos normais e a menor parte fazia uso contínuo de estatina (20,8%), tendo assim, menor chance de haver efeitos sobre esses parâmetros.

Apesar de muito promissoras, as evidências científicas que apontam o potencial terapêutico dos ácidos graxos ômega-3 sob resistência à insulina ainda são inconsistentes. Dados em animais e culturas de células têm demonstrado que os ômega-3 atuam na prevenção do DM2 por seus efeitos anti-inflamatórios melhorando a sinalização da insulina em seu receptor e pelo controle da expressão de genes do metabolismo da glicose (González-Pérez *et al.*, 2009; Yan; Jiang; Spinetti; Tardivel; *et al.*, 2013). Porém em humanos os resultados não são tão robustos. Em uma meta-análise com 33 estudos, avaliando suplementação de EPA ou DHA, com duração de 2 a 48 semanas e doses entre 400 a 4800mg/dia, sobre parâmetros da síndrome metabólica, realizada em 2021 por Zhang e colaboradores, identificou que nenhum dos dois ácidos graxos foi capaz de alterar índices HOMA-IR, além disso, em um subgrupo com indivíduos com menos de 60 anos, suplementados com DHA por menos de 3 meses, houve aumento nos níveis séricos de insulina (Zhang *et al.*, 2021). Outra meta-análise com 12 estudos randomizados e controlados, com suplementação de óleo de peixe variando de 0,3 a 10,08g/dia por 3 a 6 semanas, também não identificou associação entre suplementação com óleo de peixe e níveis de controle da glicemia (Gao *et al.*, 2020).

No entanto, a meta-análise conduzida por Ma *et al.* (2021), com inclusão de 8 estudos caso-controle, apesar de uma heterogeneidade > 75%, identificou uma relação inversa entre índice de ômega-3 e DM2, principalmente no subgrupo de população asiática (Ma *et al.*, 2021). Outros estudos como o ensaio clínico pré/pós, conduzido por Souza *et al.* (2020), com suplementação de 2,4g de ômega-3 por 8 semanas, realizado com 32 indivíduos com DM2, excesso de peso e hipertrigliceridemia obteve redução do HOMA-IR. Em 2021, um estudo englobando 20 coortes, com 65.147 participantes, identificou que os maiores níveis plasmáticos de ômega-3 (EPA e/ou DHA) foram associados a menor risco de DM2 (Qian *et al.*, 2021). No estudo atual, buscamos avaliar os efeitos dos ômega-3 em indivíduos com resistência à insulina comprovada pelo uso de medicação hipoglicemiante e não por critérios clínicos, tendo sido recrutados indivíduos com valores normais de glicemia e HbA1c logo no início do estudo. Apesar de nossos dados corroborarem com a maior parte das meta-análises existentes, sabe-se que a realização de estudos com período menor a 12 semanas pode impactar a análise de dados glicêmicos, principalmente HbA1C. Além disso, é necessário considerar que nossa

amostra foi pequena e apesar de 79,2% dos indivíduos terem apresentado valores alterados de glicemia de jejum e 62,5% de HbA1C, não tivemos alterações de medidas antropométricas, que poderiam ter influenciado diretamente esses resultados. Vale considerar também que existe uma relação entre hipertrigliceridemia e resistência à insulina, sendo duas condições que podem coexistir e serem potencializadas uma pela outra. Em vários estudos com redução dos níveis de triglicerídeos, foi observada melhora ou tendência à redução dos parâmetros de resistência à insulina (Mazaherioun *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2020). Considerando que nossa amostra, em sua maioria, possuía valores normais de triglicerídeos, este pode ser um dos fatores associados à inalteração de parâmetros glicêmicos.

Em síntese, acreditamos que os voluntários, incluídos no estudo, na linha de base já não apresentavam estado inflamatório conforme o esperado para a população estudada. E por isso, uma população maior e um grupo com indivíduos com maior grau de obesidade ou a adoção de um grupo controle poderiam revelar desfechos mais proeminentes aos apresentados. Vale ressaltar que mesmo em uma amostra menor, conseguimos um bom pareamento entre os grupos devido ao rigor metodológico aplicado e que a escolha do óleo de soja encapsulado como o óleo de peixe permitiu manter o cegamento do estudo. Além disso, a escolha da dose de ômega-3 (EPA+DHA) utilizada no presente estudo (2,4g/dia) foi realizada por já ter sido testada em estudos prévios (Souza *et al.*, 2020), além de estar em consonância com o posicionamento da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o tratamento de hipertrigliceridemia grave (2 a 4g/dia) (Izar *et al.*, 2021) e com a recomendação do FDA (US Food and Drug Administration) que considera seguro o uso de 3g/dia de EPA e DHA combinados (Krupa *et al.*, 2024).

8. CONCLUSÃO

No presente estudo, observamos que o tratamento com 4g de óleo de peixe composto de 2,4g de EPA+DHA, por 8 semanas, não foi capaz de promover alterações nos parâmetros de endotoxemia metabólica, inflamatórios e bioquímicos em nossos voluntários. Sendo assim, sugerimos que novos estudos com maior tempo de duração, maior tamanho amostral e adoção de grupo controle possam ser conduzidos a fim de confirmar a eficácia deste nutracêutico.

9. REFERÊNCIAS

AHMAD, R.; SORRELL, M.; BATRA, S.; DHAWAN, P. *et al.* Gut permeability and mucosal inflammation: bad, good or context dependent. **Mucosal Immunology**, 10, n. 2, p. 307-317, 2017.

AL-SHAER, A. E.; BUDDENBAUM, N.; SHAIKH, S. R. Polyunsaturated fatty acids, specialized pro-resolving mediators, and targeting inflammation resolution in the age of precision nutrition. **Biochimica et biophysica acta. Molecular and cell biology of lipids**, 1866, n. 7, p. 158936, 2021.

ALBRACHT-SCHULTE, K.; KALUPAHANA, N. S.; RAMALINGAM, L.; WANG, S. *et al.* Omega-3 fatty acids in obesity and metabolic syndrome: a mechanistic update. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, 58, p. 1-16, 2018.

ASADA, M.; OISHI, E.; SAKATA, S.; HATA, J. *et al.* Serum Lipopolysaccharide-Binding Protein Levels and the Incidence of Cardiovascular Disease in a General Japanese Population: The Hisayama Study. **Journal of the American Heart Association**, 8, n. 21, p. e013628, 2019.

ASHWELL, M.; HSIEH, S. D. Six reasons why the waist-to-height ratio is a rapid and effective global indicator for health risks of obesity and how its use could simplify the international public health message on obesity. **International journal of food sciences and nutrition**, 56, n. 5, p. 303-307, 2005.

AWOYEMIA, A.; TRØSEID, M.; ARNESENA, H.; SOLHEIMA, S. *et al.* Effects of dietary intervention and n-3 PUFA supplementation on markers of gut-related inflammation and their association with cardiovascular events in a high-risk population. **Atherosclerosis**, 286, p. 53-59, 2019.

BAKKER, N.; HICKEY, M.; SHAMS, R.; RIVERA, C. F. *et al.* Oral ω -3 PUFA supplementation modulates inflammation in adipose tissue depots in morbidly obese women: A randomized trial. **Nutrition**, 111, p. 112055, 2023.

BANASZEWSKA, B.; SIAKOWSKA, M.; CHUDZICKA-STRUGALA, I.; CHANG, R. J. *et al.* Elevation of markers of endotoxemia in women with polycystic ovary syndrome. **Human Reproduction**, 35, n. 10, p. 2303-2311, 2020.

BLÜHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature reviews. Endocrinology**, 15, n. 5, p. 288-298, 2019.

BRASIL. MINISTERIO DA SAÚDE. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia Alimentar para a População Brasileira. Brasília, DF, 2014. 156p.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente & Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. VIGITEL BRASIL 2023: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico: Estimativas Sobre Frequência e Distribuição Sociodemográfica de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas nas Capitais dos 26 Estados Brasileiros e no Distrito Federal em 2023. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2023.

BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Pesquisa nacional de saúde : 2019 : atenção primária à saúde e informações antropométricas** Rio de Janeiro: Ministério da Saúde. IBGE: Coordenação de Trabalho e Rendimento, 2019. 57 p.

CALDER, P. C. Omega-3 Fatty Acids and Inflammatory Processes. **Nutrients**, 2, n. 3, p. 355-374, 2010.

CALVO, M. J.; MARTÍNEZ, M. S.; TORRES, W.; CHÁVEZ-CASTILLO, M. *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular health: a molecular view into structure and function. **Vessel Plus**, 1, p. 116-128, 2017.

CAO, W.; WANG, C.; CHIN, Y.; CHEN, X. *et al.* DHA-phospholipids (DHA-PL) and EPA-phospholipids (EPA-PL) prevent intestinal dysfunction induced by chronic stress. **Food & function**, 10, n. 1, p. 277-288, 2019.

CARVALHO, B. M.; SAAD, M. J. A. Influence of Gut Microbiota on Subclinical Inflammation and Insulin Resistance. **Mediators of Inflammation**, 2013, p. 986734, 2013.

CATALÁN, V.; GÓMEZ-AMBROSI, J.; RODRÍGUEZ, A.; RAMÍREZ, B. *et al.* Increased levels of calprotectin in obesity are related to macrophage content: impact on inflammation and effect of weight loss. **Molecular medicine**, 17, n. 11-12, p. 1157-1167, 2011.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Consequences of Obesity**. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/obesity/basics/consequences.html#References>. Acesso em: 19/06.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Type 2 Diabetes**. 2023. Disponível em: <https://www.cdc.gov/diabetes/basics/type2.html#:~:text=Healthy%20eating%20is%20your%20recipe,adults%20are%20also%20developing%20it>. Acesso em: 06/20.

CHOLEWSKI, M.; TOMCZYKOWA, M.; TOMCZYK, M. A Comprehensive Review of Chemistry, Sources and Bioavailability of Omega-3 Fatty Acids. **Nutrients**, 11, 10, p. 1662, 2018.

CHONG, B.; JAYABASKARAN, J.; KONG, G.; CHAN, Y. H. *et al.* Trends and predictions of malnutrition and obesity in 204 countries and territories: an analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. **EClinicalMedicine**, 57, 2023.

CREELY, S. J.; MCTERNAN, P. G.; KUSMINSKI, C. M.; FISHER, F. M. *et al.* Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. **American Physiological Society**, 292, n. 3, p. E740-747, 2007.

DAI, Y.; CHEN, Y.; GU, R.; ZHANG, C. *et al.* Causal association of polyunsaturated fatty acids with chronic pain: a two-sample Mendelian randomization study. **Frontiers in Nutrition**, 10, p. 1265928, 2023.

DING, S.; XU, S.; MA, Y.; LIU, G. *et al.* Modulatory Mechanisms of the NLRP3 Inflammasomes in Diabetes. **Biomolecules**, 9, n. 12, p. 850, 2019.

DOWNS, K. P.; NGUYEN, H.; DORFLEUTNER, A.; STEHLIK, C. An overview of the non-canonical inflammasome. **Molecular aspects of medicine**, 76, p. 100924, 2020.

DUTTAROY, A. K. Update on Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Health. **Nutrients**, 14, n. 23, p. 5146, 2022.

EHRCHEN, J. M.; SUNDERKÖTTER, C.; FOELL, D.; VOGL, T. *et al.* The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity, and cancer. **Journal of leukocyte biology**, 86, n. 3, p. 557-566, 2009.

EL-SERAG, H. B.; SATIA, A.; RABENECK, L. Dietary intake and the risk of gastro-oesophageal reflux disease: a cross sectional study in volunteers. **Gut**, 54, n. 1, p. 11-17, 2005.

ENDRES, S.; GHORBANI, R.; KELLEY, V. E.; GEORGILIS, K. *et al.* The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. **The New England journal of medicine**, 320, n. 5, p. 265-271, 1989.

FAN, Y.; PEDERSEN, O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. **Nature Reviews Microbiology**, 19, p. 55-71, 2021.

FARMAKI, P.; DAMASKOS, C.; GARMPIS, N.; GARMPI, A. *et al.* Complications of the Type 2 Diabetes Mellitus. **Current Cardiology Reviews**, 16, n. 4, p. 249-251, 2020.

FERGUSON, J. F.; MULVEY, C. K.; PATEL, P. N.; SHAH, R. Y. *et al.* Omega-3 PUFA supplementation and the response to evoked endotoxemia in healthy volunteers. **Molecular nutrition & food research**, 58, n. 3, p. 601-613, 2014.

FIDAN, E.; ERSOZ, H. O.; YILMAZ, M.; YILMAZ, H. *et al.* The effects of rosiglitazone and metformin on inflammation and endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. **Acta diabetologica**, 4, 48, p. 297-302, 2011.

FU, Y.; WANG, Y.; GAO, H.; DONGHUA *et al.* Associations among Dietary Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, the Gut Microbiota, and Intestinal Immunity. **Mediators of Inflammation**, n. 8879227, 2021.

FURMAN, D.; CAMPISI, J.; VERDIN, E.; CARRERA-BASTOS, P. *et al.* Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. **Nature Medicine**, 25, p. 1822–1832, 2019.

GAO, C.; LIU, Y.; GAN, Y.; BAO, W. *et al.* Effects of fish oil supplementation on glucose control and lipid levels among patients with type 2 diabetes mellitus: a Meta-analysis of randomized controlled trials. **Lipids in Health and Disease**, 19, n. 1, p. 87, 2020.

GLASS, C. K.; OLEFSKY, J. M. Inflammation and Lipid Signaling in the Etiology of Insulin Resistance. **Cell Metabolism**, 15, n. 5, p. 635-645, 2012.

GOKULAKRISHNAN, K.; MOHANAVALI, K. T.; MONICKARAJ, F.; MOHAN, V. *et al.* Subclinical inflammation/oxidation as revealed by altered gene expression profiles in subjects with impaired glucose tolerance and Type 2 diabetes patients. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 324, n. 1-2, p. 173-181, 2009.

GOMES, J. M. G.; COSTA, J. d. A.; ALFENAS, R. d. C. G. Metabolic endotoxemia and diabetes mellitus: A systematic review. **Metabolism: clinical and experimental**, 68, p. 133-144, 2017.

GONZÁLEZ-MUNIESA, P.; MÁRTINEZ-GONZÁLEZ, M.-A.; HU, F. B.; DESPRÉS, J.-P. *et al.* Obesity. **Nature Reviews Disease Primers**, 3, n. 2017, p. 17034, 2017.

GONZÁLEZ-PÉRIZ, A.; HERRILLO, R.; FERRÉ, N.; GRONERT, K. *et al.* Obesity-induced insulin resistance and hepatic steatosis are alleviated by ω -3 fatty acids: a role for resolvins and protectins. **The FASEB Journal**, 23, n. 6, p. 1946-1957, 2009.

GONZALEZ-QUINTELA, A.; ALONSO, M.; CAMPOS, J.; VIZCAINO, L. *et al.* Determinants of Serum Concentrations of Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP) in the Adult Population: The Role of Obesity. **PLoS One**, 8, n. 1, p. e54600, 2013.

GUBERN, C.; LÓPEZ-BERMEJO, A.; BIARNÉS, J.; VENDRELL, J. *et al.* Natural Antibiotics and Insulin Sensitivity: The Role of Bactericidal/Permeability-Increasing Protein. **Diabetes**, 55, n. 1, p. 216-224, 2006.

GUEVARA-CRUZ, M.; FLORES-LÓPEZ, A. G.; AGUILAR-LÓPEZ, M.; SÁNCHEZ-TAPIA, M. *et al.* Improvement of Lipoprotein Profile and Metabolic Endotoxemia by a Lifestyle Intervention That Modifies the Gut Microbiota in Subjects With Metabolic Syndrome. **Journal of the American Heart Association**, 8, n. 17, p. e012401, 2019.

GUTIÉRREZ, S.; SVAHN, S. L.; JOHANSSON, M. E. Effects of Omega-3 Fatty Acids on Immune Cells. **International journal of molecular sciences**, 20, n. 20, p. 5028, 2019.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, 444, p. 860-867, 2006.

HOU, T. Y.; MCMURRAY, D. N.; CHAPKIN, R. S. Omega-3 fatty acids, lipid rafts, and T cell signaling. **European journal of pharmacology**, n. 785, p. 2-9, 2016.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas: 10th edition**. 10 ed. Bruxelas, Belgica: International Diabetes Federation, 2021.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION; WORLD OBESITY FEDERATION. **Obesity and Type 2 Diabetes: a Joint Approach to Halt the Rise**. 2022. 16 p.

IZAR, M. C. d. O.; LOTTENBERG, A. M.; GIRALDEZ, V. Z. R.; FILHO, R. D. d. S. *et al.* Posicionamento sobre o Consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular – 2021. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 116, n. 1, p. 160-212, 2021.

JUKIC, A.; BAKIRI, L.; WAGNER, E. F.; TILG, H. *et al.* Calprotectin: from biomarker to biological function. **Gut**, 70, n. 10, p. 1978-1988, 2021.

KALIANNAN, K.; WANG, B.; LI, X.-Y.; KIM, K.-J. *et al.* A host-microbiome interaction mediates the opposing effects of omega-6 and omega-3 fatty acids on metabolic endotoxemia. **Scientific Reports**, 5, n. 11276, 2015.

KAVYANI, Z.; MUSAZADEH, V.; FATHI, S.; FAGHFOURI, A. H. *et al.* Efficacy of the omega-3 fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: An umbrella meta-analysis. **International Immunopharmacology**, 111, p. 109104, 2022.

KHALILI, L.; VALDES-RAMOS, R.; HARBIGE, L. S. Effect of n-3 (Omega-3) Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation on Metabolic and Inflammatory

Biomarkers and Body Weight in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of RCTs. **Metabolites**, 11, n. 11, p. 742, 2021.

KINASHI, Y.; HASE, K. Partners in Leaky Gut Syndrome: Intestinal Dysbiosis and Autoimmunity. **Frontiers in Immunology**, 12, n. 673708, 2021.

KLEIN, S.; GASTALDELLI, A.; YKI-JÄRVINEN, H.; PHILIPP E. SCHERER. Why Does Obesity Cause Diabetes? **Cell Metabolism**, 34, n. 1, p. 11-20, 2022.

KNIGHT, E. L.; MAJD, M.; GRAHAM-ENGELAND, J. E.; SMYTH, J. M. *et al.* Gender differences in the link between depressive symptoms and ex vivo inflammatory responses are associated with markers of endotoxemia. **Brain, behavior, & immunity - health**, 2, p. 100013, 2020.

KOELMAN, L.; GRUNE, T.; PFEIFFER, A. F. H.; RUDOVICH, N. N. *et al.* In pursuit of novel biomarkers reflecting intestinal inflammation: temporal variability and phenotypic characterisation of serum calprotectin and lactoferrin. **Journal of Laboratory and Precision Medicine**, 5, p. 11, 2020.

KOPP, L.; SCHWEINLIN, A.; TINGÖ, L.; HUTCHINSON, A. N. *et al.* Potential Modulation of Inflammation and Physical Function by Combined Probiotics, Omega-3 Supplementation and Vitamin D Supplementation in Overweight/Obese Patients with Chronic Low-Grade Inflammation: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. **International journal of molecular sciences**, 24, n. 10, p. 8567, 2023.

KRUPA, K. N.; FRITZ, K.; PARMAR, M. **Omega-3 Fatty Acids**. StatPearls [Internet], Treasure Island (FL), 2024.

KUNUTSOR, S. K.; FLORES-GUERRERO, J. L.; KIENEKER, L. M.; SEIDU, S. *et al.* Plasma calprotectin and risk of cardiovascular disease: Findings from the PREVEND prospective cohort study. **Atherosclerosis**, 275, p. 205-213, 2018.

LEVY, M.; KOLODZIEJCZYK, A. A.; THAISS, C. A.; ELINAV, E. Dysbiosis and the immune system. **Nature Reviews Immunology**, 17, n. 4, p. 219-232, 2017.

LI, H.; MENG, Y.; HE, S.; TAN, X. *et al.* Macrophages, Chronic Inflammation, and Insulin Resistance. **Cells**, 11, n. 19, p. 1-24, 2022.

LI, K.; HUANG, T.; ZHENG, J.; WU, K. *et al.* Effect of Marine-Derived n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on C-Reactive Protein, Interleukin 6 and Tumor Necrosis Factor α : A Meta-Analysis. **PLoS One**, 9, n. 2, p. e88103, 2014.

LIPCSEY, M.; HANSLIN, K.; STÅLBERG, J.; SMEKAL, D. *et al.* The time course of calprotectin liberation from human neutrophil granulocytes after Escherichia coli and endotoxin challenge. **Innate immunity**, 25, n. 6, p. 369-373, 2019.

LIU, T.; ZHANG, L.; JOO, D.; SUN, S.-C. NF- κ B signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, 2, n. 17023, 2017.

LYLLOFF, L.; BATHUM, L.; MADSBAD, S.; GRUNDTVIG, J. L. G. *et al.* S100A8/A9 (Calprotectin), Interleukin-6, and C-Reactive Protein in Obesity and Diabetes before and after Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery. **Obesity facts**, 10, n. 4, p. 386-395, 2017.

MA, M.-y.; LI, K.-l.; ZHENG, H.; DOU, Y.-l. *et al.* Omega-3 index and type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis. **Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids**, 174, p. 102361, 2021.

MAZAHERIOUN, M.; DJALALI, M.; KOOHDANI, F.; JAVANBAKHT, M. H. *et al.* Beneficial Effects of n-3 Fatty Acids on Cardiometabolic and Inflammatory Markers in Type 2 Diabetes Mellitus: A Clinical Trial. **Medical principles and practice**, 26, n. 6, p. 535-541, 2018.

MENNI, C.; ZIERER, J.; PALLISTER, T.; JACKSON, M. A. *et al.* Omega-3 fatty acids correlate with gut microbiome diversity and production of N-carbamylglutamate in middle aged and elderly women. **Scientific Reports**, 7, n. 11079, 2017.

METZ, C. N.; XUE, X.; CHATTERJEE, P. K.; ADELSON, R. P. *et al.* Increased plasma lipopolysaccharide-binding protein and altered inflammatory mediators in overweight women suggest a state of subclinical endotoxemia. **bioRxiv : the preprint server for biology.**, Version 2, 2023.

MIAO, Z.; SCHULTZBERG, M.; WANG, X.; ZHAO, Y. Role of polyunsaturated fatty acids in ischemic stroke - A perspective of specialized pro-resolving mediators. **Clinical nutrition: official journal of the European Society of Parenteral and Enteral Nutrition**, 40, n. 5, p. 2974-2987, 2021.

MOHAMMAD, S.; THIEMERMANN, C. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions. **Frontiers in Immunology**, 11, n. 594150, 2021.

MOREIRA, A. P. B.; LOPES, M. G. F.; LIMA, M. F. C. d.; PERALVA, B. L. *et al.* Nutrientes, Compostos Bioativos e Sistema Imune no Diabetes Melito Tipo 2. *In*: GRANCIERI, M. e MARTINO, H. S. D. **Imunologia Aplicada à Nutrição**. 1 ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2022. cap. 21, p. 327-350.

MORTENSEN, O. H.; NIELSEN, A. R.; ERIKSTRUP, C.; PLOMGAARD, P. *et al.* Calprotectin — A Novel Marker of Obesity. **PLoS One**, 4, n. 10, p. e7419, 2009.

MUZY, J.; CAMPOS, M. R.; EMMERICK, I.; SILVA, R. S. d. *et al.* Prevalence of diabetes mellitus and its complications and characterization of healthcare gaps based on triangulation of studies. **Cadernos de Saúde Pública**, 37, n. 5, p. e00076120, 2021.

NATTO, Z. S.; YAGHMOOR, W.; ALSHAERI, H. K.; DYKE, T. E. V. Omega-3 Fatty Acids Effects on Inflammatory Biomarkers and Lipid Profiles among Diabetic and Cardiovascular Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Scientific Reports**, 9, p. 18867, 2019.

OH, D. Y.; TALUKDAR, S.; BAE, E. J.; IMAMURA, T. *et al.* GPR120 is an Omega-3 Fatty Acid Receptor Mediating Potent Anti-Inflammatory and Insulin Sensitizing Effects. **Cell**, 142, n. 5, p. 687-698, 2010.

PAL, A.; METHEREL, A. H.; FIABANE, L.; BUDDENBAUM, N. *et al.* Do Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid Have the Potential to Compete against Each Other? **Nutrients**, 12, n. 12, p. 3718, 2020.

PARDINI, R.; MATSUDO, S.; ARAÚJO, T.; MATSUDO, V. *et al.* Validação do questionário internacional de nível de atividade física (IPAQ - versão 6): estudo piloto em adultos jovens brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, 9, n. 3, p. 45-51, 2001.

PAROLINI, C. Effects of Fish n-3 PUFAs on Intestinal Microbiota and Immune System. **Marine Drugs**, 17, n. 6, p. 374, 2019.

PASCOAL, L. B.; PALMA, B. B.; CHAIM, F. H. M.; CASTRO, M. M. d. *et al.* New translational and experimental insights into the role of pro-resolving lipid mediators in inflammatory bowel disease. **World Journal of Experimental Medicine**, 12, n. 1, p. 1-15, 2022.

PEDERSEN, L.; NYBO, M.; POULSEN, M. K.; HENRIKSEN, J. E. *et al.* Plasma calprotectin and its association with cardiovascular disease manifestations, obesity and the metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus patients. **BMC cardiovascular disorders**, 14, p. 196, 2014.

QIAN, F.; KORAT, A. V. A.; IMAMURA, F.; MARKLUND, M. *et al.* n-3 Fatty Acid Biomarkers and Incident Type 2 Diabetes: An Individual Participant-Level Pooling Project of 20 Prospective Cohort Studies **Diabetes Care**, 44, n. 5, p. 1133–1142, 2021.

RANGEL-HUERTA, O. D.; AGUILERA, C. M.; MESA, M. D.; GIL, A. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: a

systematic review of randomised clinical trials. **The British journal of nutrition**, Suppl 2, 107, p. S159-170, 2012.

RIUZZI, F.; CHIAPPALUPI, S.; ARCURI, C.; GIAMBANCO, I. *et al.* S100 proteins in obesity: liaisons dangereuses. **Cellular and molecular life sciences**, 77, p. 129-147, 2020.

ROBERTSON, R. P. **Type 2 diabetes mellitus: Prevalence and risk factors.** UpToDate, 2023. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/type-2-diabetes-mellitus-prevalence-and-risk-factors>. Acesso em: 20/06.

RODEN, M.; SHULMAN, G. I. The integrative biology of type 2 diabetes. **Nature**, 576, n. 7785, p. 51-60, 2019.

RUZE, R.; LIU, T.; ZOU, X.; SONG, J. *et al.* Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments. **Frontiers in Endocrinology**, 14, n. 1161521, 2023.

SAAD, M. J. A.; SANTOS, A.; PRADA, P. O. Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. **Physiology**, 31, n. 4, p. 283-293, 2016.

SEETHALER, B.; LEHNERT, K.; YAHIAOUI-DOKTOR, M.; BASRAI, M. *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids improve intestinal barrier integrity—albeit to a lesser degree than short-chain fatty acids: an exploratory analysis of the randomized controlled LIBRE trial. **European journal of nutrition**, 32, n. 7, p. 2779-2791, 2023.

SERHAN, C. N.; CHIANG, N.; DYKE, T. E. V. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. **Nature Reviews Immunology**, 8, n. 5, p. 349-361, 2008.

SHAH, R. D.; XUE, C.; ZHANG, H.; TUTEJA, S. *et al.* Expression of Calgranulin Genes S100A8, S100A9 and S100A12 Is Modulated by n-3 PUFA during Inflammation in Adipose Tissue and Mononuclear Cells. **PLoS One**, 12, n. 1, p. e0169614, 2017.

SHERRATT, S. C. R.; LIBBY, P.; BUDOFF, M. J.; BHATT, D. L. *et al.* Role of Omega-3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease: the Debate Continues. **Current atherosclerosis reports**, 25, n. 1, p. 1-17, 2023.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Updated Cardiovascular Prevention Guideline of the Brazilian Society of Cardiology - 2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 113, n. 4, p. 787-891, 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**. São Paulo, Update 1 2023. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/>. Acesso em: 25/06.

SONG, T.; YANG, Y.; ZHOU, Y.; WEI, H. *et al.* GPR120: a critical role in adipogenesis, inflammation, and energy metabolism in adipose tissue. **Cellular and molecular life sciences**, 74, n. 15, p. 2723-2733, 2017.

SOUZA, C. T. Envolvimento da inflamação subclínica e do estresse oxidativo na resistência à insulina associada a obesidade. **HU Revista**, 44, n. 2, p. 211-220, 2018.

SOUZA, D. R.; PIERI, B. L. S.; COMIM, V. H.; MARQUES, S. O. *et al.* Fish oil reduces subclinical inflammation, insulin resistance, and atherogenic factors in overweight/obese type 2 diabetes mellitus patients: A pre-post pilot study. **Journal of Diabetes Complications**, 34, n. 5, p. 1-6, 2020.

SOUZA, G. S.; SARDÁ, F. A. H.; GIUNTINI, E. B.; GUMBREVICIUS, I. *et al.* Translation and Validation of The Brazilian Portuguese Version of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) Questionnaire. **Arquivos de gastroenterologia**, 53, n. 3, p. 146-151, 2016.

SPRENKELER, E. G. G.; ZANDSTRA, J.; KLEEF, N. D. v.; GOETSCHALCKX, I. *et al.* S100A8/A9 Is a Marker for the Release of Neutrophil Extracellular Traps and Induces Neutrophil Activation. **Cell**, 11, n. 2, p. 236, 2022.

STARK, K. D.; ELSWYK, M. E. V.; HIGGINS, M. R.; WEATHERFORD, C. A. *et al.* Global survey of the omega-3 fatty acids, docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in the blood stream of healthy adults. **Progress in lipid research**, 63, p. 132-152, 2016.

STRAUB, L. G.; SCHERER, P. E. Metabolic Messengers: Adiponectin. **Nature Metabolism**, 1, n. 3, p. 334-339, 2019.

SUN, L.; YU, Z.; YE, X.; ZOU, S. *et al.* A Marker of Endotoxemia Is Associated With Obesity and Related Metabolic Disorders in Apparently Healthy Chinese. **Diabetes Care**, 33, n. 9, p. 1925-1932, 2010.

TAO ZHU 1, L. J., Zhen Gao 2, Jia Ren 2, Yufang Ji 2, Jinling Miao Acupotomy combined with metformin hydrochloride tablet for type 2 diabetes mellitus and its effect on serum inflammatory factors. **Zhongguo zhen jiu = Chinese acupuncture & moxibustion**, 44, n. 3, p. 245-250, 2024.

WALLACE, T. M.; LEVY, J. C.; MATTHEWS, D. R. Use and abuse of HOMA modeling. **Diabetes Care**, 27, n. 6, p. 1487-1495, 2004.

WANG, T.; ZHANG, X.; ZHOU, N.; SHEN, Y. *et al.* Association Between Omega-3 Fatty Acid Intake and Dyslipidemia: A Continuous Dose–Response Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Journal of the American Heart Association**, 12, n. 11, p. e029512, 2023.

WILLEY, J. M.; SHERWOOD, L.; WOOLVERTON, C. J.; PRESCOTT, L. M. **Prescott, Harley, and Klein's Microbiology**. 7 ed. New York: McGraw-Hill, 2008. 1088 p.

WOLF, A. J.; UNDERHILL, D. M. Peptidoglycan recognition by the innate immune system. **Nature Reviews Immunology**, 18, n. 4, p. 243-254, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. DIVISION OF NONCOMMUNICABLE DISEASES & WORLD HEALTH ORGANIZATION. Programme of Nutrition, Family and Reproductive Health,. **Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO Consultation on Obesity**. Geneva, Switzerland: WHO Consultation on Obesity 1997. DOI <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63854>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity and overweight**. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em: 19/06.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diabetes**. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. Acesso em: 19/06.

WORLD OBESITY FEDERATION. **World obesity atlas 2022**. London: World Obesity Federation, 2022. Disponível em: <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=15>.

YAN, Y.; JIANG, W.; SPINETTI, T.; TARDIVEL, A. *et al.* Omega-3 Fatty Acids Prevent Inflammation and Metabolic Disorder through Inhibition of NLRP3 Inflammasome Activation. **Immunity**, 38, n. 6, p. P1154-1163, 2013.

YAN, Y.; JIANG, W.; SPINETTI, T.; TIAN, Z. *et al.* Omega-3 Fatty Acids Prevent Inflammation and Metabolic Disorder through Inhibition of NLRP3 Inflammasome Activation. 38, n. 6, p. 1154-1163, 2013.

YANOVSKI, J. A. Obesity: Trends in underweight and obesity - scale of the problem. **Nature reviews. Endocrinology**, 14, n. 1, p. 5-6, 2018.

ŻEBROWSKA, A.; HALL, B.; STOLECKA-WARZECHA, A.; STANULA, A. *et al.* The Effect of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Serum Adipocytokines, Lipid

Profile and Biochemical Markers of Inflammation in Recreational Runners. **Nutrients**, 13, n. 2, p. 456, 2021.

ZHANG, H.-J.; GAO, X.; GUO, X.-F.; LI, K.-L. *et al.* Effects of dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid supplementation on metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of data from 33 randomized controlled trials. **Clinical nutrition: official journal of the European Society of Parenteral and Enteral Nutrition**, 40, n. 7, p. 4538-4550, 2021.

ZHANG, J.; YI, C.; HAN, J.; MING, T. *et al.* Novel high-docosahexaenoic-acid tuna oil supplementation modulates gut microbiota and alleviates obesity in high-fat diet mice. **Food science & nutrition**, 8, n. 12, p. 6513–6527, 2020.

ZHANG, N.; JU, Z.; ZUO, T. Time for food: The impact of diet on gut microbiota and human health. **Nutrition**, 51-52, p. 80-85, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

	<p>HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HU-UFJF</p>	
---	--	---

NOME DO SERVIÇO DO PESQUISADOR

Pesquisador Responsável: Claudio Teodoro de Souza

Endereço: Alameda Pássaros da Polônia, 45, apto 1104

CEP: 30030-770 Juiz de Fora – MG Telefone: (32) 984181928

E-mail: claudio.t.desouza@gmail.com

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “Efeitos da suplementação de ômega-3, associado ou não ao nível de atividade física, sobre parâmetros antropométricos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares em indivíduos com síndrome metabólica”. Este estudo busca analisar os efeitos do uso do Omega-3, associado ao nível de atividade física, sobre parâmetros inflamatórios e de ação da insulina em uma intervenção duplo-cego e randomizada em indivíduos com excesso de peso e resistência a insulina. O motivo que nos leva a estudar é a elevada piora na qualidade de vida e os elevados riscos de mortalidade associados ao portador de síndrome metabólica (elevada circunferência abdominal, glicemia, hipertensão, níveis de triglicerídeos e ou baixos níveis de HDL). Apesar do grande avanço no conhecimento acerca da fisiopatologia da síndrome metabólica, a incidência e prevalência continua a aumentar no Brasil e no mundo resultando em elevada morbi-mortalidade. Nesse contexto, testar novas intervenções parece ser de grande valia para a qualidade de vida do indivíduo. Achados recentes têm mostrado que o ômega 3, têm potentes ações anti-inflamatórias e parece ter grande benefício nas doenças metabólicas quando associado a maiores níveis de atividade física, pelo menos quando testado em modelos animais.

Voluntários portadores de síndrome metabólica serão divididos em tratamentos que poderão envolver o consumo do ômega-3 ou tratamento controle. Na primeira visita, o voluntário assinará o TCLE, após consentimento e concordância e será submetido à avaliação nutricional, do nível de atividade física, da qualidade de vida, qualidade do sono e funcionamento intestinal. Todos os voluntários terão acesso, durante todo o período da pesquisa, aos profissionais responsáveis para o devido esclarecimento de dúvidas. Na segunda visita o voluntário será submetido à coleta de sangue e receberá os as cápsulas suficientes para trinta dias.

Durante a intervenção o voluntário retornará ao HU após 4 semanas para a entrega de mais capsulas. Finalizadas as 8 semanas de intervenção, o voluntário será submetido

aos mesmos testes iniciais. Durante o período experimental, os voluntários serão orientados a permanecerem com seus hábitos dietéticos e estilo de vida regularmente. Não será pedido qualquer alteração no padrão alimentar aos voluntários. Os voluntários que participarem do estudo terão amostras de sangue coletado antes (pré) e após o início dos tratamentos (60 dias). As coletas serão feitas mediante jejum de 12 horas e o não consumo de álcool nas 72 horas anteriores para realização e exames laboratoriais. Ressalta-se que todo o material biológico (sangue) coletado, armazenado no biorrepositório e analisado estará expressamente vinculado somente a esse projeto de pesquisa. Trata-se de um estudo de risco mínimo, onde serão realizadas todas as avaliações de forma não invasiva e por profissionais treinados. Espera-se com essa pesquisa demonstrar a associação entre o consumo do ômega 3 com a atividade física, em portadores de SM com possíveis efeitos benéficos para redução de morbidade e mortalidade nessa população, repercutindo na progressão da doença e na melhoria da qualidade de vida, visando modificar a história natural da doença.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Sr.(a) tem assegurado o direito a indenização. O Sr. (a) será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr. (a) é atendido (a) pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O(A) Sr(a) não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma via será arquivada pelo pesquisador responsável, em seu escritório, cito Centro de Biologia da Reprodução (CBR) e a outra será fornecida ao Sr.(a).

Ressalta-se que todo o protocolo do presente estudo zelará pela sua saúde e integridade, sendo prontamente informado sobre riscos e modificações do protocolo de pesquisa que possam afetá-lo, principalmente se houver ajuste na condução do estudo, cronograma ou plano de trabalho. Para todos os procedimentos realizados serão seguidos todos os protocolos de biossegurança do HU-UFJF.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo “*Efeitos da suplementação de ômega-3, associado ou não ao nível de atividade física, sobre parâmetros antropométricos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares em indivíduos com síndrome metabólica*”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de _____

Nome e assinatura do(a) participante

Data

Nome e assinatura do(a) pesquisador

Data

Nome e assinatura da testemunha

Data

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o:

CEP HU-UFJF – Comitê de Ética em Pesquisa HU-UFJF

Rua Catulo Breviglieri, s/nº - Bairro Santa Catarina

CEP.: 36036-110 - Juiz de Fora – MG

Telefone: 4009-5217

E-mail: cep.hu@ufjf.edu.br

APÊNDICE B - FORMULÁRIO DE RECRUTAMENTO

FORMULÁRIO DE RECRUTAMENTO ON-LINE

Este é o projeto "Efeitos da suplementação de ômega-3, sobre parâmetros antropométricos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares em pacientes com síndrome metabólica".

O objetivo do projeto é avaliar os efeitos do óleo de peixe rico em ômega-3 na melhora de parâmetros relacionados ao diabetes e excesso de peso. O foco do projeto são indivíduos adultos, com diagnóstico de diabetes do tipo 2, excesso de peso e que ainda não utilizem a insulina. O projeto envolve avaliação nutricional completa dos voluntários (exames bioquímicos, antropometria, composição corporal, consumo alimentar) além de testes de aptidão física. Todos os voluntários também receberão orientações nutricionais individualizadas após o projeto.

Qualquer dúvida entre em contato por mensagem pelos números:

(32) 99905-9005 (Marina);

(31) 99109-1666 (Mario).

1) *Nome:* _____

2) *Idade:* _____

3) *E-mail:* _____

4) *Endereço:* _____

5) *Número de telefone:* _____

6) *Qual o seu peso (kg)?* _____

7) *Qual a sua altura(m)?* _____

8) *Usa insulina?* () *Sim* () *Não*

9) *Usa metformina ou Glifage?* () *Sim* () *Não*

10) *Outras medicações em uso:* _____

Orientações para o Exame de Sangue e o Teste de Bioimpedância

Para a realização do exame de sangue, será feita coleta de sangue por um técnico treinado do Laboratório de Análises Clínicas do HU-CAS

A bioimpedância é uma forma de avaliação da composição corporal, rápida e indolor que será feita pelos pesquisadores.

Para realização dos procedimentos será necessário que você:

- **Compareça em jejum de 12 horas no dia do exame**
- **Não tenha feito uso de anti-inflamatórios nos últimos 30 dias**
- **Não tenha feito atividade física e consumido bebida alcoólica nas últimas 72h (3 dias)**
- **Não beba café no dia anterior ao exame**
- **Compareça de roupas leves e de preferência, sem partes metálicas.**

- **LEVE UMA LISTA DE MEDICAMENTOS EM USO ATUALIZADA!**

APÊNDICE D - REGISTRO DE DADOS ANTROPOMÉTRICOS, COMPOSIÇÃO CORPORAL, FORÇA DE PrensÃO PALMAR, PRESSÃO ARTERIAL E TESTE DE CONDICIONAMENTO FÍSICO

Nome: _____ (Voluntário nº: _____; Tratamento: _____) Idade: _____

Sexo: F () M ()

Data: ____/____/____ Tempo: _____

ANTROPOMETRIA

Peso : _____; _____; _____ (_____)

Estatura: _____; _____; _____ (_____)

PB : _____; _____; _____ (_____)

PCT : _____; _____; _____ (_____)

PC : _____; _____; _____ (_____)

PA : _____; _____; _____ (_____)

PQ : _____; _____; _____ (_____)

Braço D (%) : _____

Braço D (kg) : _____

Abdômen (%) : _____

Abdômen (kg) : _____

Perna E (%) : _____

Perna E (kg) : _____

Perna D (%) : _____

Perna D (kg) : _____

COMPOSIÇÃO CORPORAL

IMC (kg/m²) : _____

Gordura (%) : _____

Gordura (kg) : _____

Massa Magra (kg) : _____

Gordura Visceral : _____

Água corporal (%) : _____

Água Corporal (kg) : _____

Massa muscular (kg) : _____

Metabolismo Basal : _____

Idade Metabólica : _____

Braço E (%) : _____

Braço E (kg) : _____

FORÇA

Braço dominante: () Esquerdo () Direito

FPP : _____; _____; _____ (_____)

PRESSÃO ARTERIAL

PAS : _____

PAD : _____

Pulso : _____

TESTE POLAR (IPAQ: _____)

VO₂ : _____ (_____)

MAX PREVISTO : _____

MENOR FREQUENCIA: _____

Observações: _____

APÊNDICE E - ORIENTAÇÃO PARA O USO DAS CÁPSULAS

Orientação para o uso das cápsulas

Voluntário(a): _____ Data de início das cápsulas:
____ / ____ / ____

Você está recebendo capsulas suficientes para trinta (30) dias de consumo. A data para o recebimento de capsulas para mais trinta dias já estará agendada e o melhor modo de buscá-las ou recebê-las já combinada previamente com os pesquisadores;

- A dose diária é de quatro (4) cápsulas que devem ser consumidas preferencialmente no mesmo horário;
- Você pode sentir um sabor/odor de peixe com o consumo das capsulas, isso é absolutamente normal. Contudo, essa informação NÃO DEVE SER REPASSADA AOS PESQUISADORES para garantir o cegamento do estudo;
- Evite o uso de anti-inflamatórios e antibióticos. Em caso de uso, avisar imediatamente aos pesquisadores para realizarmos possíveis ajustes;
- Não são previstos sintomas adversos com o consumo das capsulas. Contudo, qualquer desconforto gastrointestinal ou sintomas de alergias, por favor comunique os pesquisadores;
- Você está recebendo junto com as cápsulas trinta (30) papeis filtro. Todos os dias após o consumo das cápsulas você deverá soprar o papel e guardar na embalagem correspondente. Isso será utilizado para avaliação do uso correto das cápsulas;
- Para auxiliar no planejamento dos próximos dias de coleta seguem as datas já previamente acordadas para os próximos encontros:

Entrega das próximas cápsulas: ____ / ____ / ____

Coleta do exame de sangue e composição corporal: ____ / ____ / ____ (jejum de 12h)

Novamente agradecemos seu interesse em nos ajudar com esse estudo. Qualquer dúvida entre em contato imediatamente com os pesquisadores: (32) 99905-9005 (Marina); (31) 99109-1666 (Mário).

APÊNDICE F - REGISTRO ALIMENTAR

Este registro diário das refeições é feito com a finalidade de se obter conhecimentos sobre a alimentação, sendo estas informações de fundamental importância, pois juntamente com outros dados irão auxiliar na sua avaliação nutricional.

ORIENTAÇÕES PARA PREENCHIMENTO:

➤ Anotar toda alimentação ingerida no período de três (03) dias **NÃO CONSECUTIVOS** sendo dois dias durante a semana (de segunda a sexta) e um de final de semana (sábado ou domingo).

Exemplo: Segunda, quarta e sábado; Terça, quinta e domingo.

➤ Durante cada dia, anotar toda alimentação, como o que ingeriu no café da manhã, almoço e jantar. Não deixar de anotar grandes refeições, lanches intermediários ou qualquer outro tipo de alimentos ingeridos.

➤ Deve ser anotado o tipo e a quantidade do alimento ingerido:

Exemplo:

-Café da manhã:

Banana – 1 unidade pequena

Leite – 1 xícara cheia

Açúcar- 1 colher de sopa cheia.

Pão francês- 1 unidade ou meio pão.

Pão de forma – 1 ou mais fatias.

Margarina ou doce- informar a quantidade.

-Almoço: Arroz refogado (macarrão, batata, etc.)

Feijão- 3 colheres de sopa.

Galinha cozida- 1 coxa grande + 1 peito pequeno

Salada crua – alface – 2 folhas + tomate – 1 unidade.

Sobremesa – 1 fruta (laranja) grande ou pequena ou 1 colher de gelatina, etc.

-Jantar ou qualquer tipo de lanche – anotar no esquema sugerido acima.

➤ Não deixar de medir e anotar alimentos, como:

- açúcar (usado no café, sucos, refrescos, leite, café, etc.)

- óleo, margarina, manteiga, (usado em pães, bolachas, frituras, saladas, etc.)

➤ Anotar se a preparação é cozida, frita ou assada. Com ou sem sal.

➤ Anotar a quantidade de líquidos tomados nas 24 horas (café, leite, chá, sucos,refrescos - informando a quantidade de frutas utilizadas para fazê-los, etc.).

➤ Não deixe de anotar nenhuma das refeições, até mesmo as que forem feitas fora de casa (hospital, restaurantes, casa de parentes e amigos, etc.).

➤ As frutas deverão ser classificadas como: pequena, média e grande ou fatia /rodela – finas, médias, grossa e assim por diante.

Qualquer dúvida que surgir por favor entre em contato com a equipe de pesquisa:

(32) 99905-9005 (Marina);

(31) 99109-1666 (Mario).

REGISTRO ALIMENTAR

Nome: _____ Data: ____ / ____ / ____

Dia da semana: () Segunda () Terça () Quarta () Quinta () Sexta () Sábado

() Domingo

Refeição/hora	Alimento	Quantidade

ANEXOS

ANEXO A - QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA

Nome: _____ (Voluntário nº: _____; Tratamento: _____)
Idade: _____ Sexo: F () M () Data: ____/____/____

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação à pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são **MUITO** importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação!

Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez.

1a Em quantos dias da última semana você **CAMINHOU** por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

_____ dias por SEMANA () Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

_____ horas: _____ Minutos:

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)

_____ dias por SEMANA () Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

_____ horas: _____ Minutos:

3a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

_____ dias por SEMANA () Nenhum

3b. Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

_____ horas: _____ Minutos:

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

_____ horas: _____ minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?

_____ horas: _____ minutos

CLASSIFICAÇÃO DO NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA IPAQ

1. MUITO ATIVO: aquele que cumpriu as recomendações de:

a) VIGOROSA: ³ 5 dias/sem e ³ 30 minutos por sessão

b) VIGOROSA: ³ 3 dias/sem e ³ 20 minutos por sessão + MODERADA e/ou CAMINHADA: ³ 5 dias/sem e ³ 30 minutos por sessão.

2. ATIVO: aquele que cumpriu as recomendações de:

a) VIGOROSA: ³ 3 dias/sem e ³ 20 minutos por sessão; ou

b) MODERADA ou CAMINHADA: ³ 5 dias/sem e ³ 30 minutos por sessão; ou

c) Qualquer atividade somada: ³ 5 dias/sem e ³ 150 minutos/sem (caminhada + moderada + vigorosa).

3. IRREGULARMENTE ATIVO: aquele que realiza atividade física porém insuficiente para ser classificado como ativo pois não cumpre as recomendações quanto à frequência ou duração. Para realizar essa classificação soma-se a frequência e a duração dos diferentes tipos de atividades (caminhada + moderada + vigorosa). Este grupo foi dividido em dois sub-grupos de acordo com o cumprimento ou não de alguns dos critérios de recomendação:

IRREGULARMENTE ATIVO A: aquele que atinge pelo menos um dos critérios da recomendação quanto à frequência ou quanto à duração da atividade:

a) Frequência: 5 dias / semana ou

b) Duração: 150 min / semana

IRREGULARMENTE ATIVO B: aquele que não atingiu nenhum dos critérios da recomendação quanto à frequência nem quanto à duração.

4. SEDENTÁRIO: aquele que não realizou nenhuma atividade física por pelo menos 10 minutos contínuos durante a semana.

Exemplos:

Indivíduos	Caminhada		Moderada		Vigorosa		Classificação
	F	D	F	D	F	D	
1	-	-	-	-	-	-	Sedentário
2	4	20	1	30	-	-	Irregularmente Ativo A
3	3	30	-	-	-	-	Irregularmente Ativo B
4	3	20	3	20	1	30	Ativo
5	5	45	-	-	-	-	Ativo
6	3	30	3	30	3	20	Muito Ativo
7	-	-	-	-	5	30	Muito Ativo

F = Frequência – D = Duração

CLASSIFICAÇÃO DO VOLUNTÁRIO(A)

- MUITO ATIVO**
- ATIVO**
- IRREGULARMENTE ATIVO A**
- IRREGULARMENTE ATIVO B**
- SEDENTARIO**

ANEXO B - GASTROINTESTINAL SYMPTOM RATING SCALE

Nome: _____ (Voluntário nº: _____; Tratamento: _____)

Data: ____/____/____ Tempo: _____

Questionário semanal sobre funcionamento intestinal – Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS)

Por favor, para cada questão dê uma nota de 1 a 7, conforme a escala abaixo:

Escala de resposta (em intensidade ou frequência):

1. Nenhum desconforto / nenhuma vez
2. Desconforto mínimo / raras vezes
3. Desconforto leve / pouquíssimas vezes
4. Desconforto moderado / poucas vezes
5. Desconforto moderadamente severo / algumas vezes
6. Desconforto forte / muitas vezes
7. Desconforto muito forte / muitíssimas vezes

1. Você teve dores abdominais durante a semana passada? (Dor se refere a todos os tipos de dores no estômago ou de intestino/barriga).

Resposta: _____

2. Você sentiu azia durante a semana passada? (Por azia queremos dizer uma dor em queimação ou desconforto em seu peito).

Resposta: _____

3. Você sentiu refluxo ácido durante a semana passada? (Por refluxo ácido queremos dizer: regurgitação ou fluxo de fluido azedo ou amargo na boca).

Resposta: _____

4. Você sentiu dor de fome no estômago durante a semana passada? (Esta sensação de estômago vazio está associada com a necessidade de comer entre as refeições).

Resposta: _____

5. Você sentiu náuseas durante a semana passada? (Por náuseas queremos dizer uma sensação de mal estar iminente - parece que vai vomitar).

Resposta: _____

6. Seu estômago ou barriga roncou durante a semana passada? (Ronco refere-se a barulhos ou ruídos no estômago).

Resposta: _____

7. Você sentiu o seu estômago cheio de ar durante a semana passada? (Sentir o estômago cheio de ar se refere ao inchaço no estômago ou barriga).

Resposta: _____

8. Você arrotou durante a semana passada? (Arrotar refere-se a trazer ar ou gás através da boca).

Resposta: _____

9. Você eliminou gases ou teve flatulência durante a semana passada? (Eliminar gases ou flatulência refere-se à liberação de ar ou gás a partir do intestino).

Resposta: _____ Observação:

10. Você teve constipação/prisão de ventre durante a semana passada? (Constipação refere-se a uma capacidade reduzida de defecar).

Resposta: _____

11. Você teve diarreia durante a semana passada? (Diarreia refere-se a fezes moles ou líquidas frequentes).

Resposta: _____

12. Você teve/apresentou fezes moles durante a semana passada? (Se as fezes foram alternadamente duras e moles, essa questão refere-se apenas ao quanto você se sentiu incomodado pelas fezes moles).

Resposta: _____

13. Você teve/apresentou fezes duras durante a semana passada? (Se as fezes foram alternadamente duras e moles, essa questão refere-se apenas ao quanto você se sentiu incomodado pelas fezes duras).

Resposta: _____

14. Você sentiu uma necessidade urgente de evacuar durante a semana passada? (Por necessidade urgente entenda-se necessidade de correr ao banheiro para defecar).

Resposta: _____

15. Ao ir ao banheiro durante a semana passada, você teve a sensação de não esvaziar completamente o intestino? (A sensação de que depois de terminar uma defecação, ainda há mais fezes que precisam ser eliminadas).

Resposta: _____