

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

MÁRIO FLÁVIO CARDOSO DE LIMA

**Efeitos da suplementação de óleo de peixe na inflamação subclínica e resistência
insulínica em indivíduos com excesso de peso resistentes à insulina**

Juiz de Fora

2024

MÁRIO FLÁVIO CARDOSO DE LIMA

**Efeitos da suplementação de óleo de peixe na inflamação subclínica e resistência
insulínica em indivíduos com excesso de peso resistentes à insulina**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Juiz de Fora como parte dos
requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor
em Saúde. Área de concentração: Pesquisa em Saúde
Humana

Orientador: Prof. Dr. Claudio 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)

Lima, Mário Flávio Cardoso de.

Efeitos da suplementação de óleo de peixe na inflamação subclínica e resistência insulínica em indivíduos com excesso de peso resistentes à insulina / Mário Flávio Cardoso de Lima. -- 2024. 88 p.

Orientador: Claudio Teodoro de Souza

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

1. Ácidos graxos ômega-3. 2. Diabetes mellitus tipo 2. 3. Mediadores da inflamação. 4. Óleos de peixe. 5. Doença crônica. I. Souza, Claudio Teodoro de, orient. II. Título.

MÁRIO FLÁVIO CARDOSO DE LIMA

**Efeitos da suplementação de óleo de peixe na inflamação subclínica e resistência
insulínica em indivíduos com excesso de peso resistentes à insulina**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Juiz de Fora como parte dos
requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor
em Saúde. Área de concentração: Pesquisa em Saúde
Humana

Aprovada em 20 de setembro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Dr. Claudio Teodoro de Souza - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dra. Lize Vargas Ferreira
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dra. Ana Paula Boroni Moreira
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dra. Regiane Lopes de Sales
Universidade Federal de Viçosa –
Campus Rio Paranaíba

Dra. Maria Sebastiana Silva
Universidade Federal de Goiás

*Dedico todo esse trabalho a minha esposa, Priscila,
que me ensinou a fazer tudo com amor e dedicação,
além de ter sido meu apoio em todos os dias difíceis
nunca me deixando desistir dos meus sonhos.*

AGRADECIMENTOS

À minha esposa, amiga, companheira e maior incentivadora, Priscila Roque, por todo o seu amor, por estar ao meu lado sempre e por acreditar que eu poderia superar as adversidades e conquistar esse sonho. Obrigado por ser meu ponto de apoio nas horas difíceis e pelos risos em momentos felizes. Sem você em minha vida não teria chegado até aqui. Obrigado por nunca desistir de mim. Te amo incondicionalmente.

Ao meu orientador, amigo e parceiro de pedaladas, Dr. Claudio Teodoro de Souza, por acreditar no meu potencial mesmo quando eu mesmo não acreditava. Obrigado por toda disposição em dividir seus conhecimentos, por estar sempre presente nesse processo e por todos os ensinamentos e orientação recebidos na condução desse doutorado.

Aos meus pais, Waldey e Elza Helena, por acreditarem em meus sonhos e me incentivarem a buscar meu caminho mesmo que significasse ficar mais longe de casa. Obrigado pela paciência, confiança, pela presença e, claro, por todo amor incondicional que sempre recebi.

Aos meus irmãos Leandro e Waldey Junior por serem meus maiores incentivadores na vida e proporcionarem condições para uma excelente educação. Obrigado por todo amor, amizade, companheirismo e por sempre me incentivarem a aprimorar minha carreira. Obrigado também ao meu irmão Alexandre por todo apoio e carinho de sempre. Agradeço também a minha querida cunhada e irmã Marcela Veiga pelo carinho e atenção de sempre.

À minha querida avó Maria, pelas orações, carinho e amor sempre.

À família que Minas Gerais me deu, Geraldo (meu sogro), Ana (minha sogra) e Vinícius (meu cunhado). Obrigado por me acolherem desde sempre, pelos fins de semana que tanto me descansam e me deixam mais leve quando estamos juntos e por todo carinho que sempre recebi. Vocês foram essenciais para tornar minha nova vida em Minas Gerais mais tranquila e feliz e por fazer sentir que Mirai também é minha casa.

Aos colegas do NEFASM por todos os conhecimentos compartilhados em nossas discussões. Agradeço em especial aos grandes amigos Henrique e Erika por todas as risadas e companheirismo nessa jornada.

À grande amiga e parceira de doutorado Marina Guedes (vulgo Criaturinha). Obrigado por estar ao meu lado nessa caminhada sempre compartilhado dos seus grandes conhecimentos e pelos momentos de descontração durante nossa trajetória. Obrigado também pela oportunidade de conhecer poder dar grandes risadas com Rita (sua mãe) e Paulo (seu padrasto). Vocês são parte importante da minha família de Juiz de Fora.

Aos amigos queridos e eternos amigos/irmãos de vida Pedro Henrique, Daniel Alves, Letícia Estrela, Hélio Bastos, Raphael Augusto e tantos outros que, apesar da distância, sempre estiveram presentes durante minha jornada, incentivando-me com palavras sinceras e amigas, fazendo-me dar risadas mesmo em momentos de pura tensão na realização deste trabalho. Obrigador por compreenderem minha ausência e por nunca desistirem de nossa amizade.

À toda amizade e carinho que recebi em Juiz de Fora pelas maravilhosas pessoas que conheci. As queridas amigas Luciana (a qual me atura desde meu primeiro dia de trabalho), Raphaela e Camila por serem uma equipe de trabalho sem igual que me inspira com suas histórias de vida e caráter. Obrigado pelas risadas, puxões de orelha e por fazerem meu ambiente de trabalho mais leve. À querida madrinha (e vó de coração) Leslie pelo acolhimento desde os meus primeiros dias em Juiz de Fora. Obrigado por ter colocado o Adão (seu marido) e Samuka (seu filho) em minha vida. O amor de vocês me fortalece sempre. À querida amiga Luciane, pela amizade e risada desde meus primeiros dias de trabalho. À querida amiga Daniela, pelos momentos de risada e acolhimento. Obrigado por ser importante ponto de apoio durante meus momentos de aflição. Aos lindos Alana e Átila pelos deliciosos encontros regados a risadas e jogatina. Obrigado por me deixar fazer parte da vida e família de vocês. Por fim, agradeço a todos os demais amigos e amigas que Juiz de Fora colocou em minha vida durante essa trajetória.

A toda equipe do Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFJF por toda a presteza no acolhimento dos nossos voluntários e na realização das nossas análises bioquímicas. Aos demais colegas do HU-UFJF pela inspiração profissional e por todo auxílio dado na condução do meu doutorado. Agradeço protocolarmente a EBSEH pela licença fornecida para realização das disciplinas.

A Paula e Milena por carinhosamente terem me acolhido durante suas rotinas e me permitirem usar dos seus conhecimentos para melhorar minha pesquisa na realização de nossas análises. Ao professor Dr. Eugenio Hottz por gentilmente nos ceder um espaço no Laboratório de Imunotrombose para realização de nossas análises. A minha ex-residente, orientanda e atual amiga Cinara por todo auxílio na condução e análises em nosso projeto.

Às professoras e doutoras Marciane, Sheyla e Maria Sebastina pelos excelentes aconselhamentos durante o processo de qualificação. Agradeço também as professoras Lize Vargas, Ana Paula Boroni, Regiane Sales, Maria Sebastiana, Aline Aguiar e Camila Ramos pelo aceite em contribuir com seus conhecimentos nessa tese e por aceitarem a participação em minha banca de defesa. Agradeço em especial a professora Ana Paula Boroni por ter me

incentivado a entrar no doutorado e por toda a colaboração e amizade em nossos projetos. Agradeço em especial também a professora Maria Sebastiana pela presença em meus primeiros passos acadêmicos e por ter me contagiado com toda sua competência e jeito carinhoso de acolher seus alunos. Graças a seus ensinamentos eu conquistei todos os títulos que tenho.

À minha psicóloga Tereza Batalha por todo acolhimento nos momentos de angústia e por me fazer reconhecer todo meu valor e grandiosidade de minha trajetória.

A todos os voluntários e voluntárias que se doaram para que essa pesquisa pudesse ser concluída.

À Universidade Federal de Juiz de Fora e ao Programa de Pós-graduação em Saúde da UFJF pela oportunidade. A todos os professores e professoras das disciplinas que me foram ministradas durante esses anos, muito obrigado por todo o conhecimento compartilhado. Aos sempre simpáticos e Sônia e Fabiano por todo o auxílio.

À Deus, por ter trilhado meu caminho até aqui, dando-me forças para superar as dificuldades e fazendo de cada desafio uma oportunidade nova para aprimorar meus conhecimentos, possibilitando assim, meu desenvolvimento pessoal e profissional.

“Se você não aceita o conselho, te respeito
Resolveu seguir, ir atrás, cara e coragem
Só que você sai em desvantagem se você não tem fé
Se você não tem fé
...
A fé na vitória tem que ser inabalável”

Anjos - Marcelo Falcão

RESUMO

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE NA INFLAMAÇÃO SUBCLÍNICA E RESISTÊNCIA INSULÍNICA EM INDIVÍDUOS COM EXCESSO DE PESO RESISTENTES À INSULINA

Introdução: O diabetes do tipo 2 (DM2) é uma doença de grande importância para a saúde pública devido a sua alta incidência e mortalidade. A doença se caracteriza pela incapacidade de manutenção dos níveis glicêmicos mesmo na suficiência de insulina. O estado de inflamação subclínica observada no excesso de peso é um dos mecanismos mais aceitos como a ligação entre a obesidade e a resistência à insulina (RI), sendo uma importante via de intervenção terapêutica no DM2. Os ácidos graxos ômega-3 (ômega-3) possuem efeitos anti-inflamatórios que podem contribuir no tratamento de doenças crônicas e metabólicas. A suplementação de ômega-3 pode colaborar na redução da inflamação subclínica e consequentemente na melhora da sensibilidade insulínica do DM2. Contudo, seus efeitos necessitam ser mais bem esclarecidos. **Objetivo:** O presente estudo buscou avaliar os efeitos da suplementação de óleo de peixe rico em ômega-3 sobre marcadores da inflamação subclínica e de resistência insulínica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina. **Métodos:** Foi avaliada a suplementação de 4g de óleo de peixe (2,4g/dia de ômega-3) em comparação a 4g de óleo de soja em 24 indivíduos (divididos igualmente entre os grupos) durante 8 semanas. Foram recrutados indivíduos adultos, com excesso de peso e resistência insulínica. Foram avaliados o impacto da suplementação em citocinas inflamatórias (TNF α e IFN γ) e anti-inflamatórias (IL10 e IL4); na RI (Glicemia; insulina; HbA1C; HOMA-IR e HOMA- β), no perfil lipídico e na peroxidação lipídica. **Resultados:** Os 24 indivíduos completaram todo o protocolo do estudo. A suplementação com ômega-3 promoveu redução dos níveis de IFN γ após as 8 semanas e em relação ao grupo controle. Foi observada uma correlação linear forte, positiva ($r_s^2=0,748$) e significativa ($p=0,005$) entre a concentração de eritrócitos e a IL10 após as 8 semanas de suplementação. Não foram observadas alterações nos demais marcadores de inflamação subclínica, RI, perfil lipídico e peroxidação lipídica analisados. **Conclusão:** A suplementação com ômega-3 promoveu redução de marcadores da inflamação subclínica sem alterar a RI em indivíduos com excesso de peso e resistentes a insulina. Mais estudos são necessários para avaliar seus efeitos nas diferentes alterações metabólicas, sobretudo, relacionadas ao DM2.

Linha da pesquisa: Nutriente e Exercício Físico Aplicados à Síndrome Metabólica

Palavras-chave: Ácidos Graxos Ômega-3; Diabetes Mellitus Tipo 2; Mediadores da Inflamação; Óleos de Peixe; Doença Crônica

ABSTRACT

EFFECTS OF FISH OIL SUPPLEMENTATION ON SUBCLINICAL INFLAMMATION AND INSULIN RESISTANCE IN OVERWEIGHT, INSULIN-RESISTANT INDIVIDUALS

Introduction: Type 2 diabetes (T2D) is a disease of great public health importance due to its high incidence and mortality rates. The disease is characterized by the inability to maintain glycemic levels even in the presence of sufficient insulin. The state of subclinical inflammation observed in overweight individuals is one of the most accepted mechanisms linking obesity and insulin resistance (IR), making it an important therapeutic intervention pathway in T2D. Omega-3 fatty acids have anti-inflammatory effects that may contribute to the treatment of chronic and metabolic diseases. Omega-3 supplementation may help reduce subclinical inflammation and consequently improve insulin sensitivity in T2D. However, its effects need to be better clarified. **Objective:** Thus, the present study aimed to evaluate the effects of omega-3-rich fish oil supplementation on markers of subclinical inflammation and insulin resistance in overweight and insulin-resistant individuals. **Methods:** The study evaluated the supplementation of 4g of fish oil (2.4g/day of omega-3) compared to 4g of soybean oil in 24 individuals (equally divided between groups) over 8 weeks. Adults with overweight and insulin resistance were recruited. The impact of supplementation on inflammatory cytokines (TNF α and IFN γ) and anti-inflammatory cytokines (IL10 and IL4); on IR (Glucose; insulin; HbA1C; HOMA-IR, and HOMA- β); lipid profile; and lipid peroxidation was assessed. **Results:** All 24 individuals completed the entire study protocol. Omega-3 supplementation led to a reduction in IFN γ levels after 8 weeks and compared to the control group. A strong, positive ($r^2=0.748$) and significant ($p=0.005$) linear correlation was observed between erythrocyte concentration and IL10 after 8 weeks of supplementation. No changes were observed in the other markers of subclinical inflammation, IR, lipid profile, and lipid peroxidation analyzed. **Conclusion:** Omega-3 supplementation reduced markers of subclinical inflammation without altering IR in overweight and insulin-resistant individuals. More studies are needed to evaluate its effects on different metabolic alterations, particularly those related to T2D.

Keywords: Omega 3 Fatty Acid; Diabetes Mellitus Type 2; Inflammation Mediators; Fish Oils; Chronic Disease.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL	Ácidos graxos livres
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos poli-insaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
ALA	Ácido α -linolênico (<i>alpha-linolenic acid</i>)
ALT	Alanina aminotransferase
AS160	Substrato de Akt 160 (<i>Akt substrate</i>)
AST	Aspartato aminotransferase
BSA	Albumina sérica bovina (<i>Albumin Bovine Serum</i>)
CD68	Marcador para macrófagos tipo M1
COX2	Cyclooxygenases 2
CT	<i>Colesterol total</i>
DAG	Diacilglicerol
DHA	Ácido docosahexaenóico (<i>docosahexaenoic acid</i>)
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DP	Desvio padrão
ELISA	Ensaio imuno enzimático (<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
EO	Estresse oxidativo
EPA	Ácido eicosapentaenoico (<i>eicosapentaenoic acid</i>)
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FPP	Força de preensão palmar
GJ	Glicemia de jejum
GLUT4	Transportador de glicose 4 (<i>glucose transporter type 4</i>)
GPR120	Receptor acoplado a proteína G 120 (<i>G Protein Coupled Receptor 120</i>)
HbA1C	Hemoglobina glicada
HDL	Lipoproteína de alta densidade (<i>High-density lipoprotein</i>)
HIF-1	Fator 1-alfa induzível por hipóxia (<i>hypoxia-inducible factor 1</i>)
HOMA-IR	Modelo de avaliação da homeostase da resistência insulínica (<i>Homeostasis model assessment of insulin resistance</i>)
HOMA- β	Modelo da avaliação da homeostase da função das células <i>beta</i> (<i>Homeostasis model assessment of beta cell function</i>)

IAP	Índice aterogênico do plasma
IO3	Índice de ômega-3
IDF	International Diabetes Federation
IFN- γ	Interferon-gama
IIQ	Intervalo interquartil
IL10	Interleucina 10
IL1 β	Interleucina 1 beta
IL4	Interleucina 4
IL6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
IPAQ	Questionário Internacional de Atividade Física (<i>International Physical Activity Questionnaire</i>)
IR	Receptor de insulina (<i>insulin receptor</i>)
IRS1	Substratos do receptor de insulina 1 (<i>insulin receptor substrate 1</i>)
IRS2	Substratos do receptor de insulina 2 (<i>insulin receptor substrate 2</i>)
I κ B	Quinase inibidora do fator <i>kappa</i> B (<i>inhibitor of kappa-B kinase</i>)
I κ K	Quinase de IkappaB (<i>IkappaB kinase</i>)
JNK	Quinase C-Jun n-terminal (<i>c-Jun N-terminal kinase</i>)
LDL	Lipoproteína de baixa densidade (<i>Low-density lipoprotein</i>)
LPL	lipoproteína lipase
LPS	Lipopolissacarídeos
M1	Macrófagos de fenótipo M1
M2	Macrófagos de fenótipo M2
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos (<i>monocyte chemoattractant protein-1</i>)
MDA	Malondialdeído
NF κ B	Fator nuclear <i>kappa</i> B (<i>nuclear factor kappa B</i>)
Ômega-3	Ácidos graxos ômega-3
Ômega-6	Ácidos graxos ômega-6
PBMC	Células mononucleares de sangue periférico (<i>peripheral blood mononuclear cells</i>)
PBS	Solução salina tamponada com fosfato (<i>Saline Buffer Phosphate</i>)
PC	Perímetro da cintura

PDK1	Proteína quinase dependente de fosfoinosítideos (<i>phosphoinositide-dependent kinase-1</i>)
PI3k	Fosfatidilinositol 3 quinase
PIP2	Fosfatidilinositol 3,4 difosfato (<i>phosphatidylinositol 3,4 disphosphate</i>)
PIP3	Fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (<i>phosphatidylinositol 3,4,5 trisphosphate</i>)
PKB	Proteína quinase B
PPAR α	Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma <i>alpha</i> (<i>peroxisome proliferator-activated receptor alpha</i>)
PPAR γ	Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma <i>gamma</i> (<i>peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>)
PQ	Perímetro do quadril
RA24	Registro alimentar de 24h
RCQ	Relação entre os perímetros da cintura e do quadril
RI	Resistência insulínica
SPMs	Mediadores lipídicos de pró-resolução (<i>pro-resolving lipid mediators</i>)
TAB	Proteína ligadora da quinase ativadora de fator de transformação do crescimento <i>beta</i> (<i>transforming growth factor beta activated kinase binding protein</i>)
TAK	Quinase ativadora do fator de transformação do crescimento <i>beta</i> (<i>transforming growth factor beta activated kinase</i>)
TG	Triglicérides
TLR4	Receptor do tipo toll 4 (<i>toll-like receptor 4</i>)
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa (<i>Tumor necrosis factor alpha</i>)
TSH	Hormônio estimulador da tiroide (<i>thyroid-stimulating hormone</i>)
Vigitel	Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

LISTA DE TABELAS, FIGURAS E QUADROS

Tabelas

- Tabela 1** Avaliação do tempo de tratamento ao final do estudo e da antropometria, composição corporal e nível de atividade física na linha de base.
- Tabela 2** Caracterização dos indivíduos recrutados em relação a antropometria, nível de atividade física, resistência insulínica e risco aterogênico no início do estudo
- Tabela 3** Avaliação do consumo alimentar e comparação em relação ao tempo de tratamento e entre os diferentes tratamentos
- Tabela 4** Avaliação das variáveis relacionadas a RI, perfil lipídico, índices aterogênicos, função tireoidiana, hepática e renal, citocinas e MDA e comparação em relação ao tempo de tratamento e entre os diferentes tratamentos
- Tabela 5** Correlação entre as concentrações de eritrócitos nos tratamentos e tempos analisados com os marcadores de inflamação subclínica.

Figuras

- Figura 1** Representação da diferença do tecido adiposo no indivíduo magro (1) e obeso (2)
- Figura 2** Representação da via de sinalização da insulina (1), vias inflamatórias que promovem a RI (2) e dos mecanismos anti-inflamatórios do ômega-3 (3)
- Figura 3** Desenho do estudo
- Figura 4** Fluxograma de seleção de voluntários para o estudo
- Figura 5** Média (Erro padrão) dos marcadores de inflamação subclínica e peroxidação lipídica

Quadro

- Quadro 1** Características Nutricionais de 4 g de óleo de peixe e óleo de soja utilizados no estudo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1	Diabetes mellitus tipo 2.....	18
2.2	Adiposidade, inflamação e estresse oxidativo relacionados à resistência à insulina.....	19
2.3	Omega-3 e sua ação no processo inflamatório e estresse oxidativo relacionado à resistência à insulina.....	24
2.4	Suplementação de ômega-3 em parâmetros clínicos da resistência insulínica e perfil lipídico.....	29
3	JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO.....	32
4	OBJETIVO.....	32
4.1	Objetivo geral.....	32
4.2	Objetivos específicos.....	33
5	MATERIAIS E METODOS.....	33
5.1	Cálculo amostral e aleatorização dos voluntários.....	33
5.2	Delineamento do estudo.....	33
5.3	Seleção da amostra.....	35
<i>5.3.1</i>	<i>Critérios de inclusão do estudo.....</i>	<i>35</i>
<i>5.3.2</i>	<i>Critérios de exclusão do estudo.....</i>	<i>36</i>
5.4	Coleta de dados.....	37
<i>5.4.1</i>	<i>Recrutamento do voluntário (T0)</i>	<i>37</i>
<i>5.4.2</i>	<i>Avaliações iniciais (linha de base-T1)</i>	<i>37</i>
<i>5.4.3</i>	<i>Avaliações Finais (T3)</i>	<i>38</i>
5.5	Cápsulas de ômega-3 e placebo.....	38
5.6	Avaliação Antropométrica e Composição Corporal.....	39
5.7	Monitoramento do consumo alimentar e nível de atividade física.....	40
5.8	Dosagens plasmáticas e índices bioquímicos.....	41
5.9	Análise Estatística.....	44
6	RESULTADOS.....	44
7	DISCUSSÃO.....	52
	CONCLUSÃO.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62
	ANEXOS E APÊNDICES.....	69

1 INTRODUÇÃO

No ano de 2045 seremos uma população com 783 milhões de pessoas com diabetes, sendo mais de 90% com diabetes do tipo 2 (DM2). Somente no Brasil, no ano de 2023, 10,2% da população adulta referiram diagnóstico de diabetes (BRASIL, 2023). Além disso, estima-se que em 2021, 6,7 milhões de adultos entre 20 e 79 anos morreram em decorrência do diabetes ou de suas complicações, o que corresponde a 12,2% das mortes globais por todas as causas (International Diabetes Federation, 2021). A gravidade da doença está relacionada ao fato de que o DM2 ocorre em conjunto com outras comorbidades como a obesidade, hipertensão arterial e dislipidemias, aumentando o risco de complicações como neuropatias, infarto, doença arterial periférica, doença hepática esteatótica associada a disfunção metabólica, artrite reumatoide, entre outras (International Diabetes Federation, 2021; Rohm *et al.*, 2022). O diabetes é caracterizado pela incapacidade de manutenção dos níveis glicêmicos adequados (na suficiência ou não do hormônio insulina), com aumento progressivo da glicemia de jejum (GJ). Embora os dados epidemiológicos deixem claro a relação entre o DM2 e o estilo de vida, ainda não há um consenso quanto as reais causas do seu surgimento. Contudo, o consumo de alimentos hipercalóricos (principalmente ricos em carboidratos e lipídeos) associa-se com uma menor capacidade a longo prazo de ação do hormônio insulina além de promoverem o ganho de peso (Rohm *et al.*, 2022).

Normalmente, o DM2 é precedido por um estado de pré-diabetes e, aproximadamente 25% dos casos progride para um estado grave e crônico caracterizado principalmente pela elevação anormal da glicose sanguínea (hiperglicemia) em decorrência da incapacidade de o hormônio insulina manter seu controle (seja por sua dificuldade de ação, ausência ou baixa produção) (Elsayed *et al.*, 2023; Rodacki *et al.*, 2023). Essa resposta subnormal da insulina em tecidos periféricos como o músculo, tecido adiposo e fígado, reduz as atividades metabólicas e é conhecida como resistência insulínica (RI) (Aronis e Mantzoros, 2012). O excesso de peso parece ter papel importante na gênese da RI. A expansão do tecido adiposo, decorrente do consumo excessivo de nutrientes promove alterações metabólicas que levam ao aumento da inflamação no tecido.

O tecido adiposo é conhecido como um importante órgão endócrino, capaz de sinalizar em células do próprio tecido ou em tecidos periféricos por meio de hormônios, citocinas e quimiocinas (Kojta *et al.*, 2020). Em decorrência da sua expansão descontrolada, esse tecido passa a produzir excessivamente citocinas que aumentam o estado inflamatório como o fator

de necrose tumoral alfa (*Tumor necrosis factor alpha*-TNF α), interleucina 6 (IL6), interferon-gama (IFN- γ) e interleucina 1 beta (IL1 β) que agem de modo local e sistêmico, diminuindo a sensibilidade a insulina nos tecidos. Citocinas como o TNF α exercem importante papel na interrupção do sinal da insulina estimulando vias inflamatórias que ativam a via de produção do fator nuclear *kappa* B (*nuclear factor kappa B*-NF κ B). O NF κ B interage com receptores nucleares estimulando a propagação do sinal inflamatório aumentando a produção de várias citocinas. A produção de citocinas inflamatórias estimuladas pelo NF κ B são capazes de ativar vias inflamatórias próprias, que propagam o sinal inflamatório de maneira descontrolada no tecido adiposo. Essas citocinas inflamatórias interferem em várias etapas da via de sinalização de insulina, reduzindo a captação glicose e, clinicamente, promovendo a hiperglicemia. Esse estado inflamatório é conhecido por ser crônico, subclínico e de baixo grau e é considerado um dos mecanismos mais aceitos hoje que relacionam a obesidade à RI.

Diferentes terapias farmacológicas são implementadas com o objetivo de controle ou reversão da RI. Contudo, as projeções preocupantes de incidência do DM2 para os próximos anos, demonstram que tais terapias, isoladamente, são insuficientes para seu controle. As modificações de estilo de vida como a adoção de hábitos alimentares saudáveis, são essenciais para o controle e prevenção do DM2. Nesse contexto, o consumo de alimentos e/ou nutrientes específicos que promovam melhora em parâmetros da RI têm sido cada vez mais estudados. Os ácidos graxos ômega-3 (ômega-3) são reconhecidos pela sua importante função anti-inflamatória, sendo os mais estudados o ácido α -linolênico (ALA) (C18:3), de origem vegetal (principalmente em óleos vegetais purificados como a linhaça), e os eicosapentaenoico (EPA) (C20:5) e docosahexaenóico (DHA) (C22:6) de origem animal (alguns peixes e crustáceos) (Ishihara *et al.*, 2019). A capacidade anti-inflamatória dos ômega-3 tem sido bastante explorada na literatura e se destacam: seu papel como precursores de eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos) anti-inflamatórios; a competição pelas mesmas enzimas cyclooxygenases e lipoxygenases bem como dos receptores celulares de ação dos eicosanoides produzido a partir dos ácidos graxos ômega-6 (reconhecidamente inflamatórios) e ativação de receptores celulares que desencadeiam uma série de respostas anti-inflamatórias (Ishihara *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2017; Videla *et al.*, 2023). Todos esses mecanismos colaboram com a redução da inflamação e conseqüentemente melhora da RI. Contudo, mesmo a atividade anti-inflamatória do ômega-3 sendo bem descrita na literatura, os resultados clínicos relevantes em pacientes com DM2 ainda são conflitantes e carecem de análise criteriosa.

A eficácia do ômega-3 para a prevenção de doenças cardiovasculares é um tópico de debate contínuo. A suplementação entre 2 e 4 gramas por dia de ômega-3 tem sido recomendada como adjuvante no tratamento da hipertrigliceridemia grave (Izar *et al.*, 2021). A hipertrigliceridemia está associada ao DM2 e à obesidade como componentes da síndrome metabólica e aumento do risco de doenças cardiovasculares. A melhora do metabolismo lipídico e conseqüentemente dos níveis plasmáticos de triglicérides (TG) contribuem para redução de complicações cardiovasculares. Contudo, seus efeitos sobre outros parâmetros lipídicos também são controversos tendo sido observado aumento colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (High-density lipoprotein-HDL) e lipoproteína de baixa densidade (Low-density lipoprotein-LDL) com o seu consumo em alguns estudos (Bhat *et al.*, 2023; Mazaherioun *et al.*, 2018).

Os inconsistentes efeitos do ômega-3 no tratamento coadjuvante do DM2 podem estar ligados ao fato de que a doença se manifesta em diferentes indivíduos com as mais variadas complicações metabólicas. Uma menor incidência de DM2 está associado aos níveis plasmáticos de ômega-3 (principalmente EPA e DHA), e esses efeitos protetores estariam diretamente ligados aos já citados efeitos anti-inflamatórios, estabilização da membrana celular e a influência na ativação de receptores nucleares (Qian *et al.*, 2021). Entretanto, ensaios clínicos que suplementaram o ômega-3 com metodologias e populações similares de indivíduos com DM2, apresentam efeitos controversos em relação a melhoras clínicas como a redução da GJ e de hemoglobina glicada (HbA1c) (Abbott *et al.*, 2020; Clark *et al.*, 2016; Mazaherioun *et al.*, 2018; Sarbolouki *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2020). Tais questionamentos trazem a luz a necessidade de mais estudos controlados para se avaliar o efeito clínico dos ômega-3 no DM2.

Compreendendo que o DM2 é uma patologia de grande relevância devido a sua alta mortalidade e custos a saúde pública, o estudo de terapias como a suplementação de ômega-3 que colaborem com a mudança desse quadro são imprescindíveis. Entretanto, a dificuldade em se determinar os efeitos terapêuticos do ômega-3 em pacientes com DM2 se relacionam principalmente com a complexidade da doença e dos vários fatores inflamatórios que podem se relacionar com a RI. Assim, torna-se importante avaliar a efetividade terapêutica do ômega-3 na melhora de parâmetros clínicos e inflamatórios que possam contribuir para a menor incidência da doença e redução da progressão dos sintomas de indivíduos com DM2.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Diabetes mellitus tipo 2

“Um das emergências globais de mais rápido crescimento em 2021”. Trata-se de uma citação do último atlas divulgado pela Federação Internacional do Diabetes (International Diabetes Federation-IDF) em que se destaca um preocupante aumento de 151 para 537 milhões de pessoas entre 20 e 79 anos com diabetes entre os anos de 2000 e 2021 (International Diabetes Federation, 2021). Tais dados, tornam-se ainda mais preocupantes quando observamos que as projeções para 2045 são de que 783 milhões de pessoas estarão com a doença (um aumento de mais de 46%) e que a maioria dos casos (entre 90 e 95%) são relativos ao DM2, um quadro em que se inicia com a incapacidade de manutenção dos níveis glicêmicos adequados, mesmo na suficiência de insulina, com aumento progressivo da glicemia de jejum. No Brasil, dados divulgados no último relatório do Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) em 2023 demonstram que 10,2% da população adulta (>18 anos) nas capitais referem diagnóstico de diabetes (BRASIL, 2023). Além disso, a prevalência de diabetes em adultos é acompanhada por 61,4% de excesso de peso (índice de massa corporal ≥ 25 kg/m²), 37% de prática insuficiente de atividade física e 17,7% de consumo alto de alimentos ultraprocessados (BRASIL, 2023).

O excesso de peso (sobretudo a obesidade), o aumento da idade, fatores ambientais e comportamentais como o sedentarismo e a hiperalimentação (principalmente com ingestão de altas quantidades de carboidratos, lipídeos e colesterol e baixo em fibras) são determinantes na progressão e ocorrência do DM2 (International Diabetes Federation, 2021). A ocorrência do DM2 em conjunto com outras comorbidades como a obesidade, hipertensão arterial e dislipidemias aumenta o risco de complicações macro e microvasculares como retinopatias, nefropatias, neuropatias, infarto, doença arterial periférica, doença hepática gordurosa não alcoólica, artrite reumatoide, entre outras (International Diabetes Federation, 2021; Rohm *et al.*, 2022; Souza, 2018). Devido a essas características, a epidemia global de diabetes (em especial DM2) pode ser bem observada e estudada na população brasileira, tornando-se uma grande preocupação de saúde pública, levando em 2021 a um custo 42,9 bilhões de dólares, posicionando o Brasil como terceiro entre os países com maiores gastos com saúde relacionados ao diabetes (International Diabetes Federation, 2021).

Normalmente, o DM2 é precedido por um estado de pré-diabetes, caracterizado pela GJ se apresentando com valores entre 100 a 125 mg/dL e a hemoglobina glicada (HbA1C) entre 5,7 e 6,4% (Giacaglia *et al.*, 2023). Contudo, a doença progride para um estado grave e crônico caracterizado principalmente pela elevação anormal da glicose sanguínea (hiperglicemia) em decorrência da incapacidade de o hormônio insulina manter seu controle (seja por sua dificuldade de ação, ausência ou baixa produção) (Elsayed *et al.*, 2023; Rodacki *et al.*, 2023). De modo geral, o diabetes pode ser diagnosticado com base nos valores de GJ ≥ 126 mg/dL ou ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L) durante o teste de tolerância oral a glicose (Elsayed *et al.*, 2023). Valores de glicemia maiores ≥ 200 mg/dL obtidos aleatoriamente ou de HbA1C $\geq 6,5\%$ em jejum também pode ser usados como critério de diagnóstico (Elsayed *et al.*, 2023; Giacaglia *et al.*, 2023).

A prática regular de atividade física e alimentação saudável são fundamentais para melhora do DM2. Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes, 25% dos pacientes com pré-diabetes progridem para DM2 e 25% retornam à normalidade (Giacaglia *et al.*, 2023). Entretanto, somente no ano de 2021, estima-se que 6,7 milhões de adultos entre 20 e 79 morreram em decorrência do diabetes ou de suas complicações, o que corresponde a 12,2% das mortes globais por todas as causas (International Diabetes Federation, 2021). Medidas como a perda de pelo menos 5% do peso corporal, é recomendada para a prevenção do DM2 para todas as pessoas com pré-diabetes e contribui na prevenção de complicações relacionadas a doença (Giacaglia *et al.*, 2023). Assim, devido a sua importância em termos de saúde pública (em âmbito local e global) e considerando que o DM2 possui sua etiologia relacionada a fatores de estilo de vida modificáveis, torna-se importante o investimento em pesquisas para maior conhecimento quanto a intervenções que possam melhorar o quadro atual da doença.

2.2 Adiposidade, inflamação e estresse oxidativo relacionados à resistência à insulina

Embora os dados epidemiológicos deixem claro a relação entre o DM2 e o estilo de vida, ainda não há um consenso quanto as reais causas do seu surgimento. A exposição a uma alta carga de nutrientes na alimentação (principalmente carboidratos, lipídeos e colesterol), associa-se com uma menor capacidade a longo prazo de ação do hormônio insulina além de promoverem o ganho de peso podendo levar a um estado patológico do acúmulo de gordura corporal conhecido como obesidade (Rohm *et al.*, 2022). A insulina é um hormônio produzido e secretado pelas células β pancreáticas e atua na regulação de diferentes vias metabólicas

auxiliando na captação de glicose pelo músculo e tecido adiposo; aumento da oxidação de glicose, estímulo da glicogênese e lipogênese, redução da gliconeogênese e lipólise e regulação da síntese proteica (Kojta *et al.*, 2020). Entretanto, a resposta subnormal da insulina em tecidos periféricos como o músculo, tecido adiposo e fígado, reduzindo as atividades metabólicas desse hormônio, precede o DM2 e é conhecida como RI (Aronis e Mantzoros, 2012). Clinicamente, a RI é caracterizada por glicemia de jejum entre 100 e 126 mg/dl (ou entre 140 e 200 mg/dl após o teste de tolerância oral) ou por HbA1c entre 5,7% e 6,5% (Cobas *et al.*, 2023; International Diabetes Federation, 2021).

Esse acúmulo de glicose no sangue é decorrente da incapacidade dos tecidos periféricos captarem a glicose e do aumento da gliconeogênese hepática devido a sinalização prejudicada da insulina (Kojta *et al.*, 2020). Os mecanismos de desenvolvimento da RI não são claros. Entretanto, o excesso de peso (principalmente a obesidade) parece ter papel importante na gênese da RI. A expansão do tecido adiposo (tanto por hipertrofia quanto por hiperplasia), decorrente do consumo excessivo de nutrientes promove alterações metabólicas importantes.

O tecido adiposo é conhecido como um importante órgão endócrino (e não somente de armazenamento energético), capaz de sinalizar em células do próprio tecido ou em tecidos periféricos por meio de hormônios, citocinas e quimiocinas (Kojta *et al.*, 2020). Sua expansão descontrolada excede a capacidade de armazenamento do tecido adiposo subcutâneo, aumentando a deposição de gordura em outros tecidos (gordura ectópica) dando origem ao tecido adiposo visceral (Kojta *et al.*, 2020). O excesso de tecido adiposo (principalmente visceral), é acompanhado de maior liberação de citocinas inflamatórias, espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e quimiocinas como a proteína quimiotática de monócitos (*monocyte chemoattractant protein-1* - MCP-1) que promove maior migração de monócitos para o tecido (Rohm *et al.*, 2022; Souza, 2018). Além disso, a expansão é acompanhada de menor angiogênese e redução da densidade capilar que, associada ao consumo excessivo de oxigênio pelo tecido, culmina em hipóxia. Em estado de hipóxia o tecido adiposo produz fator 1-alfa induzível por hipóxia (*hypoxia-inducible factor 1* - HIF-1), que aumenta a quimiotaxia de macrófagos para o tecido adiposo (Rohm *et al.*, 2022).

A população de macrófagos passa de 10% das células do tecido adiposo no indivíduo magro para até 50% no obeso grave (Li *et al.*, 2022). Esse estado inflamatório é caracterizado por intensa produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF α , IL6, IFN- γ e IL1 β que agem de modo local e sistêmico, diminuindo a sensibilidade à insulina nos tecidos. Além disso, a alta ingestão de lipídeos (sobretudo os saturados), acompanhada de intensa atividade lipolítica do

tecido adiposo, elevando as concentrações de ácidos graxos livres (AGL) também aumentam a resposta inflamatória. A intensa atividade inflamatória, a hipóxia, a presença de AGL em abundância no tecido decorrente da lipólise constante e as concentrações aumentadas de citocinas como $TNF\alpha$ e $IFN-\gamma$ promove a diferenciação dos macrófagos do tecido em um fenótipo do tipo M1, conhecido como mais inflamatório em comparação com o fenótipo M2 (Kojta *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Martinez e Gordon, 2014; Rohm *et al.*, 2022; Videla *et al.*, 2023). Os macrófagos no tecido adiposo podem formar estruturas semelhantes a coroas ao redor dos adipócitos necróticos, que contribui para a morte celular nesse tecido e consequente aumento da inflamação local (Spencer *et al.*, 2013) (Figura 1). Esse estado inflamatório diferencia-se da clássica inflamação aguda (caracterizada pelos sinais de dor, rubor, tumor, calor e perda de perfusão) e é conhecida por ser crônica, subclínica e de baixo grau. Essa inflamação é o mecanismo molecular mais aceito hoje que relaciona a obesidade à RI.

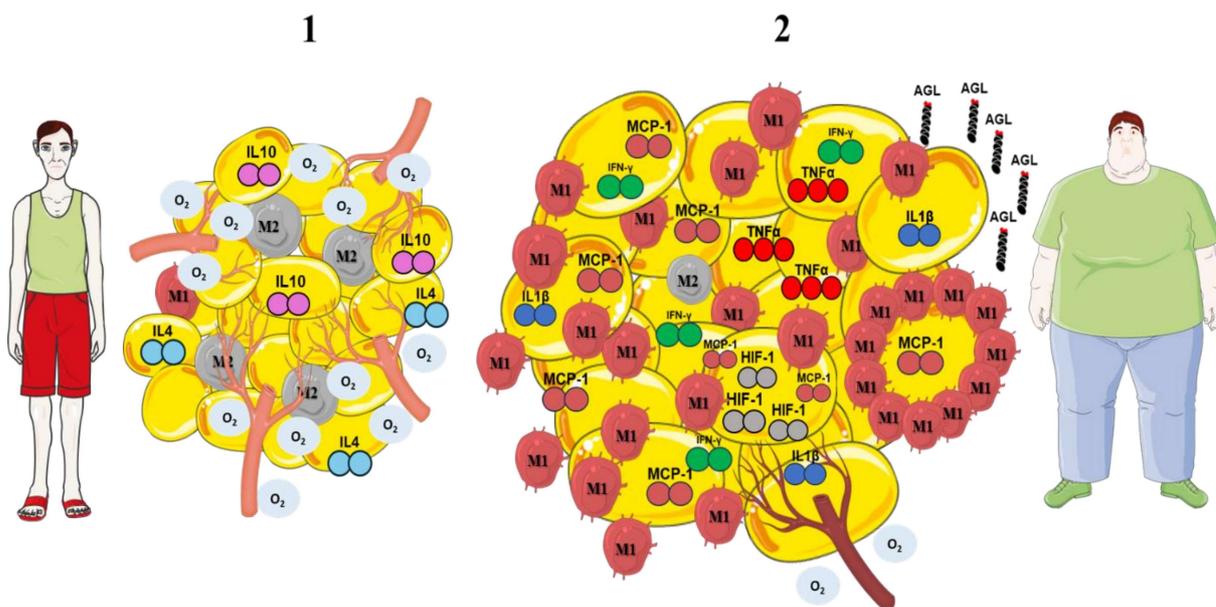


Figura 1. Representação da diferença do estado inflamatório do tecido adiposo no indivíduo magro (1) e obeso (2)

(1) Tecido adiposo predominantemente subcutâneo possui maior perfusão de oxigênio (O_2) e maior atividade metabólica. O tecido apresenta maior número de macrófagos de perfil anti-inflamatório (M2) e maior liberação de citocinas anti-inflamatórias como a IL10 e IL4. (2) Tecido subcutâneo e visceral, apresenta hipertrofia descontrolada, com menor perfusão de O_2 aumentando a hipóxia e liberação de HIF1. O HIF1 promove a atração de macrófagos com perfil inflamatório (M1) chegando a 50% das células do tecido. A presença de macrófagos M1 estimula a liberação de citocinas inflamatórias como o $TNF\alpha$, IL6, $IFN-\gamma$ e IL1 β que aumentam a inflamação do tecido e de MCP1, que atraem mais macrófagos para o tecido. Os macrófagos formam estruturas semelhantes a coroas ao redor de adipócitos promovendo sua apoptose aumentando a inflamação; a redução da capacidade de armazenamento no tecido aumenta os níveis de AGL circulantes.

Para compreensão de como o estado inflamatório do tecido adiposo no indivíduo obeso se relacionada com a RI faz-se importante o entendimento de como esse hormônio sinaliza nas

células. A insulina liga-se a um receptor específico na membrana (*Insulin Receptor* - IR), uma proteína com atividade quinase intrínseca que se autofosforila em resíduos de tirosina aumentando sua atividade quinase. Sua ativação fosforila uma série de moléculas à jusante em cascata como a fosforilação em tirosina dos substratos do receptor de insulina 1 e 2 (*insulin receptor substrate 1 and 2* – IRS1 e IRS2). A fosforilação do IRS2 ativa a fosfatidilinositol 3 quinase (PI3k) que catalisa a fosforilação do fosfatidilinositol 3,4 difosfatos (PIP2) em fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (PIP3). O PIP3 regula a proteína quinase dependente de 3-fosfoinositídeos (PDK1), uma proteína serina/treonina quinase que fosforila e ativa outra serina/treonina quinase conhecida como Akt ou proteína quinase B (PKB). A ativação da Akt é ponto crucial para ação da insulina pois são responsáveis pelos efeitos metabólicos da insulina. Entre seus efeitos principais está a fosforilação do substrato de Akt 160 (*Akt Substrate* - AS160), molécula que se liga às vesículas do GLUT4. A fosforilação da AS160 promove dissociação da mesma com as vesículas de GLUT4, permitindo sua translocação e exocitose na membrana, aumentando a expressão de GLUT4 e conseqüentemente a captação de glicose (Saltiel e Kahn, 2001).

Apesar de complexa, o entendimento das vias de sinalização da insulina e ativação da Akt são de grande importância no entendimento da RI. Qualquer atividade que interrompa, mesmo que parcialmente o sinal da insulina, confere alterações metabólicas importantes ao tecido alvo, bem como aumento da glicose e AGL circulantes (Li *et al.*, 2022). O TNF α exerce importante papel na interrupção do sinal da insulina. Essa citocina é produzida por macrófagos (M2 e mais intensamente M1) e excretado no tecido adiposo onde se liga a um receptor próprio na parede celular (superfamília de receptor de TNF α), promovendo uma cascata de sinalização ativando a quinase indutora de *kappa* B (IkK). A IkK por sua vez promove a dissociação da quinase inibidora do fator *kappa* B (IkB) do NF κ B. A via IkK/IkB/NF κ B tem sido bastante estudada como mecanismo de melhora da sinalização insulínica. Uma vez dissociado, o NF κ B transloca para o núcleo celular, aumentando a expressão de várias citocinas, quimiocinas (como o TNF α , IL6, MCP-1, entre outras) e ativa o complexo proteico multimérico denominado inflamassoma, responsável pela produção de IL1 β propagando e retroalimentando o sinal inflamatório local e sistêmico (Rohm *et al.*, 2022). Outra via ativada pela sinalização do TNF α é a da serina quinase C-Jun n-terminal (JNK). Tanto a JNK quando a IkK possuem atividade serina quinase capaz de fosforilar em serina a PI3k e os IRS1 e 2, respectivamente, interrompendo o sinal do IR (Li *et al.*, 2022; Rohm *et al.*, 2022). Cada citocina é capaz de ativar vias inflamatórias próprias, que propagam o sinal inflamatório de maneira descontrolada no

tecido adiposo, levando a apoptose celular com conseqüente extravasamento do conteúdo celular e aumento da inflamação (Figura 2).

Como visto, a inflamação no tecido adiposo, parece ser determinante na RI. Entretanto Rohm *et al.* (2022), relatam que a concentração circulante de TNF α no indivíduo obeso, seria insuficiente para gerar a RI em tecidos periféricos. Segundo os autores, o acúmulo de gordura em outros órgãos (acúmulo ectópico) como fígado, músculo e pâncreas contribui para o recrutamento e diferenciação de macrófagos do tipo M1 nesses tecidos, ativando as vias inflamatórias (Rohm *et al.*, 2022). Outro fator importante é a alta concentração de AGL decorrentes da ingestão excessiva ou da lipólise aumentada no tecido adiposo. Os AGL, principalmente os saturados são capazes de ativar em macrófagos e adipócitos o receptor do tipo toll 4 (*toll-like receptor 4* – TLR4), um receptor da família de receptores reconhecedores de patógenos, que são responsáveis pelo reconhecimento das moléculas de lipopolissacarídeos (LPS) de membrana de bactérias gram-negativas, e por sua vez, ativarem resposta imune. Devido à similaridade molecular da fração lipídica do LPS com moléculas de ácidos graxos saturados (AGS), eles podem equivocadamente ativar os TLR4, aumentando ainda mais a resposta inflamatória. A ativação do TLR4 promove ativação da via I κ K/I κ B/NF κ B, de modo similar ao TNF α , aumentando a atividade inflamatória e a RI no tecido (Lancaster *et al.*, 2018).

Uma vez instalada a inflamação sistêmica, acompanhada da RI nos diferentes tecidos, a resposta metabólica contribui na gênese de diversas patologias relacionadas ao DM2. O tecido adiposo diminui a excreção de adiponectina e aumenta a de resistina, com conseqüente redução da sensibilidade insulínica, redução da oxidação de glicose no músculo e adipócitos, aumentando o estímulo para a gliconeogênese e glicogenólise (Kojta *et al.*, 2020). Além disso, a dificuldade de captação de glicose para fornecimento de energia aumenta a captação de AGL pelas células. A oxidação constante de ácidos graxos pela mitocôndria aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN). Aliada à baixa disponibilidade de mecanismos de defesa antioxidantes endógenos (superóxido dismutase, glutatona peroxidase, etc.) ou exógenos (vitaminas A, E, C, etc.), o tecido entra em estresse oxidativo (EO), levando a danos celulares, aumentando a inflamação e a RI (Urakawa *et al.*, 2003). Embora marcadores do EO estejam presentes em pacientes obesos com DM2, seu papel na etiologia da doença, ainda precisa ser melhor esclarecido (Ishihara *et al.*, 2019). Não é possível estabelecer uma ligação direta entre o EO e a RI, contudo, uma interação mútua entre a inflamação e o EO parece sempre ocorrer (Souza, 2018; Urakawa *et al.*, 2003). Além desse fato, o acúmulo de ácidos graxos na célula também leva a produção de produtos lipídicos capazes de aumentar a

inflamação e a RI como o diacilglicerol (DAG) e ceramidas, mecanismo conhecido como lipotoxicidade (Kojta *et al.*, 2020).

A redução da glicemia tem sido alvo terapêutico na maioria dos pacientes com DM2. Contudo, dada a complexidade dos mecanismos celulares que promovem a RI, em decorrência da inflamação subclínica de baixo grau, principalmente no tecido adiposo, mais estratégias são necessárias além das hipoglicemiantes para controle do DM2. Drogas como a metformina, são recomendadas ainda nos estágios iniciais da RI, sendo capaz de estimularem a translocação das vesículas de GLUT4 de modo independente da ativação do receptor de insulina reduzindo a hiperglicemia podendo também impactar na melhora da inflamação (Bharath e Nikolajczyk, 2021; Giacaglia *et al.*, 2023). Contudo, mesmo que algumas medicações possam impactar minimamente a inflamação subclínica, e que várias estratégias farmacológicas sejam implementadas com o objetivo de controle ou reversão da RI, o crescente número de indivíduos com DM2 e as projeções preocupantes para os próximos anos, demonstram que tais terapias, isoladamente, são insuficientes e ineficazes, e estratégias não farmacológicas ainda são essenciais para seu controle.

Sendo assim, as modificações de estilo de vida, tais como a prática regular de atividade física, redução do estresse, redução do consumo de álcool e tabaco, além de hábitos alimentares saudáveis, são essenciais para o controle e prevenção da DM2. Em adição, o consumo de alimentos e/ou nutrientes específicos que, promovam melhora em parâmetros da RI e consequentemente no DM2 têm sido cada vez mais estudados.

2.3 Ômega-3 e sua ação no processo inflamatório e estresse oxidativo relacionado à resistência à insulina

Os ômega-3 são reconhecidos pela sua importante função anti-inflamatória, sendo os mais estudados o ALA (C18:3), de origem vegetal (principalmente em óleos vegetais purificados como a linhaça), e os EPA (C20:5) e DHA (C22:6), de origem animal (alguns peixes e crustáceos), os quais possuem maior atividade biológica (Ishihara *et al.*, 2019).

São propostas algumas hipóteses para a ação mecânica dos ômega-3. Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) são precursores de mediadores da resposta inflamatória conhecidos como eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos), sendo de série par e pró-inflamatório os derivados dos ácidos graxos ômega-6 (ômega-6) ou ímpar e anti-inflamatório os derivados dos ômega-3 (Ishihara *et al.*, 2019). A exemplo, o leucotrieno B4 é derivado do

ácido araquidônico que, de modo semelhante ao MCP1, promove a quimiotaxia de macrófagos para o tecido adiposo e sua diferenciação em M1 (Videla *et al.*, 2023). A competição exercida pelos ômega-3 pelas mesmas enzimas cyclooxygenases e lipoxygenases bem como dos receptores celulares de ação dos eicosanoides, reduzindo a inflamação exercida pelos ômega-6. A cyclooxygenase 2 (COX2), é uma importante molécula na síntese de prostaglandinas altamente oxidantes, responsáveis pela peroxidação lipídica no tecido adiposo e produção de moléculas altamente inflamatórias como as lipoproteínas de baixa densidade oxidada e malondialdeído (MDA). O DHA age como importante inibidor de COX2, reduzindo os produtos de peroxidação lipídica. Além disso, alguns estudos demonstram que a suplementação de ômega-3 tem papel em diferentes linhas de defesa antioxidante como no aumento da capacidade antioxidante total do plasma, reduzindo a proporção de ômega-6 na membrana plasmática (mais suscetíveis a peroxidação lipídica e produção de MDA) e ativação de enzimas como a glutathione peroxidase (Heshmati *et al.*, 2019).

Os mediadores lipídicos de pró-resolução (*pro-resolving mediators* - SPMs) sintetizados a partir dos ômega-3 (resolvinas, maresinas e protectinas) e produzidos nos leucócitos polimorfonucleares apresentam importante ação da resolução da inflamação sistêmica promovendo a redução da infiltração de células do sistema imune nos tecidos. Eles estimulam a produção de citocinas como a interleucina 10 (IL10) e 4 (IL4) que estimulam a polarização de macrófagos M1 para o fenótipo M2 (perfil anti-inflamatório), reduzindo a produção de ROS pelos macrófagos contribuindo para redução da RI (Ishihara *et al.*, 2019; Videla *et al.*, 2023). Entretanto, a capacidade de resolução da inflamação no tecido adiposo pelos ômega-3 em humanos necessita de mais esclarecimentos. Spencer *et al.* (2013) em ensaio clínico observaram que indivíduos com sobrepeso ou obesidade e algum grau de RI após 12 semanas de tratamento com 4 gramas de óleo de peixe rico em ômega-3 apresentam significativa redução de MCP-1 no plasma e da expressão de RNA mensageiro (mRNA) de MCP-1, CD68 (marcador para macrófagos tipo M1), do número de macrófagos e das estruturas em coroas no tecido adiposo dos voluntários. Nesse mesmo estudo, a incubação de monócitos da linhagem THP-1 com os três principais tipos de ômega-3 (ALA, EPA e DHA), reduziu significativamente a expressão de MCP-1. Em contrapartida, Hames *et al.* (2017) em ensaio similar, não identificaram alterações nos macrófagos (tanto em M1 quanto para M2) em tecido adiposo de indivíduos obesos com RI após 6 meses de ingestão de 4,2 gramas de ômega-3.

Apesar do papel anti-inflamatório dos ômega-3 na competição pelas enzimas responsáveis pela produção de eicosanoides, a descoberta de receptores específicos para ácidos

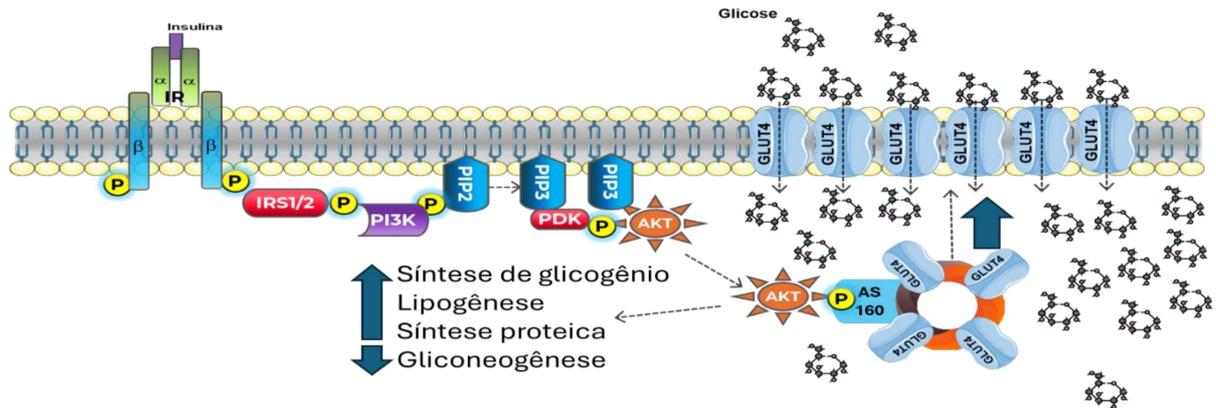
graxos na célula promoveu importantes descobertas sobre o eficiente papel anti-inflamatório desses lipídeos (Song *et al.*, 2017). O receptor acoplado a proteína G 120 (G Protein Coupled Receptor 120 – GPR120) é ativado na presença de ácidos graxos de cadeia longa. Os ômega-3, em especial o EPA e DHA, são importantes ativadores desse receptor, desencadeando uma série de respostas anti-inflamatórias e que colaboram na melhora da RI (Figura 2). A ligação do ômega-3 com o GPR120 promove uma interação com a molécula β -arrestina, responsável pelo recrutamento da proteína ligadora da quinase ativadora de TGF- β (transforming growth factor- β -activated kinase binding protein - TAB). A TAB é responsável pela ativação da quinase ativadora de TGF- β (TAK), que por sua vez, ativa a via do I κ K/I κ B/NF κ B e conseqüentemente o complexo inflamassoma (Rohm *et al.*, 2022). Como descrito anteriormente, o I κ K é uma das moléculas responsáveis pela fosforilação em serina do IRS e reduzir o sinal da insulina. Assim, ao inibir a via do I κ K/I κ B/NF κ B, os ômega-3 são capazes não só de suprimirem a resposta inflamatória (reduzindo TNF α , IL6, MCP-1), mas também de melhorar a RI (Albracht-Schulte *et al.*, 2018). Em ensaio clínico em indivíduos com DM2, a suplementação de 1800 miligramas de ômega-3 foi suficiente para reduzir os níveis plasmáticos de MCP-1 em 10 semanas, porém, sem alterarem os níveis de resistina (Mazaherioun *et al.*, 2018). Além disso, o consumo de ômega-3 está associado a ativação de importantes fatores de transcrição nuclear como os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR). Tanto o GPR120 quando o DHA apresentam grande afinidade de ligação ao PPAR gamma (PPAR γ), estimulando a adipogênese e angiogênese no tecido adiposo, reduzindo a produção de IL6, a hipóxia e promovendo a polarização de macrófagos M1 para M2 (aumentando a produção de IL10) contribuindo para desinflamação do tecido e melhora da RI (Albracht-Schulte *et al.*, 2018; Satoh-Asahara *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2017).

A ligação com o PPAR γ parece fundamental para que os ômega-3 exerçam plenamente sua função anti-inflamatória. Tanto o EPA quanto o DHA se mostram como importantes agonistas desse fator. A adiponectina é um alvo bem descrito da ativação de PPAR γ . Entre os efeitos já citados na melhora da RI, a adiponectina induzida por EPA, se correlaciona com uma maior expressão e secreção de IL10. A ativação de PPAR γ por EPA em linhagens de monócitos THP-1, ativa significativamente a transcrição de IL10 ligando-se ao seu promotor (Satoh-Asahara *et al.*, 2012). A IL10 apresenta-se em menores concentrações em indivíduos com obesidade e DM2 associados em relação a indivíduos somente com obesidade, refletindo sua importância da evolução da RI (Satoh *et al.*, 2010). O aumento da produção de IL10 é correlacionada significativamente com redução de HbA1c em pacientes obesos após o consumo de EPA. Além disso, o IL10 regula negativamente a produção de citocinas pró-

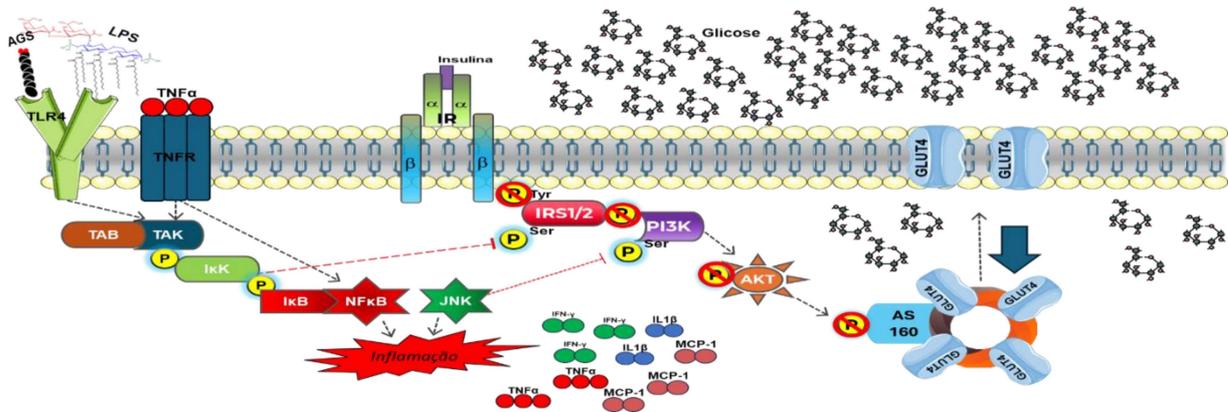
inflamatórias em monócitos além de promover maior diferenciação de macrófagos em tipo M2 ao mesmo tempo que atenua a população de macrófagos do tipo M1 (Satoh-Asahara *et al.*, 2012). Satoh *et al.* (2010), observaram que após 3 meses de tratamento com pioglitazona (um agonista de PPAR γ) pacientes obesos com DM2 apresentam redução da expressão de IL6 e aumento de IL10, além de maiores proporções de macrófagos do tipo M2 em relação ao M1. Esses resultados vieram acompanhados de melhora na GJ, HbA1c e modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina (homeostasis model assessment of insulin resistance-HOMA-IR) nos pacientes avaliados. Tendo em vista os importantes efeitos do PPAR γ em mecanismos que possam melhorar a RI, o estudo dos ômega-3, em especial o EPA e DHA ganham ainda maior relevância clínica como seus agonistas.

Os prováveis mecanismos anti-inflamatórios do ômega-3 são bem descritos na literatura, contudo, mesmo o conhecimento atual quanto a relação entre inflamação subclínica de baixo grau e RI, os resultados clínicos relevantes em pacientes com DM2 (redução dos níveis glicêmicos, insulinêmicos e de HbA1c por exemplo) ainda são conflitantes e carecem de análise criteriosa. Em ensaio clínico duplo cego, randomizado e placebo controlado, a suplementação diária de 2000 miligramas de óleo de peixe (600mg de EPA + DHA) por 6 semanas em gestantes com diabetes gestacional foi suficiente para redução da expressão de TNF α e de aumento da expressão de PPAR γ em células mononucleares de sangue periférico (*peripheral blood mononuclear cells* - PBMC), porém, tais modificações não foram acompanhadas por melhora na glicemia de jejum ou no modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina (HOMA-IR) (Jamilian *et al.*, 2018). Outro trabalho conduzido com suplementação de 2 gramas de óleo de peixe rico em EPA (95%) por 12 meses em 32 de adultos com DM2, foi capaz de demonstrar melhora na glicemia de jejum, insulina, HbA1c e HOMA-IR, além de aumento de níveis plasmáticos de EPA, no entanto, não fizeram referências ao perfil inflamatório (Sarbolouki *et al.*, 2013). Em um estudo de metanálise de 21 estudos sobre a relação entre o ômega-3 e biomarcadores da DM2, foi observada importante relação entre o consumo de doses entre 1000 e 2000 miligramas de ômega-3 por período mínimo de 8 semanas para resultados significativos na melhora da glicemia de jejum, HbA1c e HOMA-IR. Nesse mesmo estudo, não foi observada redução significativa do TNF α no DM2 (Khalili *et al.*, 2021). Em um estudo de pré e pós intervenção conduzido por nosso grupo de pesquisa, 2400 miligramas de ômega-3 foi suplementado por oitos semanas a 32 indivíduos com excesso de peso e diagnóstico de DM2. Esse protocolo foi satisfatório para redução significativa de TNF α , IL1 β e IL6 plasmáticas, seguida de melhora significativa do HOMA-IR (Souza *et al.*, 2020). Entretanto, esse estudo apresentou limitantes tal como ausência do grupo placebo e controle, importantes para avaliar quanto aos verdadeiros efeitos anti-inflamatórios da suplementação de ômega-3.

1



2



3

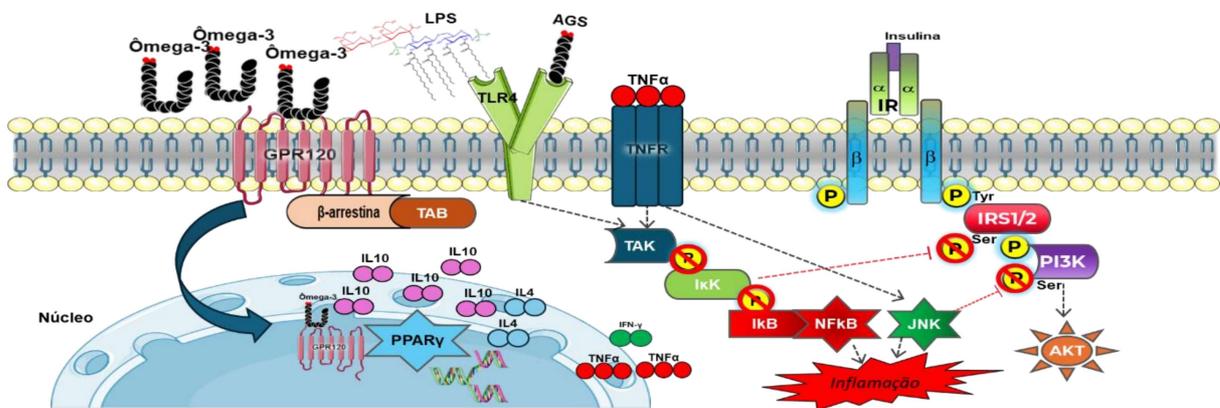


Figura 2. Representação da via de sinalização da insulina (1), vias inflamatórias que promovem a RI (2) e dos mecanismos anti-inflamatórios do ômega-3 (3)

(1) A insulina se liga e ativa seu receptor que promove uma fosforilação à jusante em cascata do IRS1 e IRS2, PI3k, PIP2, PIP3 e PDK1, resultando na ativação da Akt. A ativação da Akt promove vários efeitos metabólicos da insulina, entre os principais está fosforilação do AS160 e liberação do GLUT4, permitindo sua translocação e exocitose na membrana, aumentando a sua expressão, maior captação de glicose e consequente redução da hiperglicemia. (2) A ativação do TLR4 (por LPS ou AGL) e do TNFR (TNF α) promove uma cascata de sinalização da via I κ K/I κ B/NF κ B e da JNK. O NF κ B transloca para o núcleo celular, aumentando a expressão de várias citocinas e quimiocinas como o TNF α , IL6, IL1 β e MCP-1. O I κ K e a JNK fosforilam o IRS1 e 2 e PI3K, respectivamente, interrompendo o sinal do receptor de insulina impedindo a cascata que leva a fosforilação de Akt e consequente liberação de GLUT4 para a membrana resultando em hiperglicemia. (3) O ômega-3 ativa o GPR120 interagindo com a β -arrestina, que por sua vez recruta a TAB. A TAB é responsável pela ativação da TAK, que inativa a via I κ K/I κ B/NF κ B, suprimindo a resposta inflamatória e impedindo a fosforilação em serina do IRS1 e 2 e PI3K, permitindo a fosforilação e ativação da Akt. O GPR120 e o ômega-3 se ligam ao PPAR γ estimulando a produção de citocinas anti-inflamatórias (como o IL10 e IL4) e reduzindo a produção de inflamatórias (como TNF α e IFN γ).

2.4 Suplementação de ômega-3 em parâmetros clínicos da resistência insulínica e perfil lipídico

O consumo de fontes de ômega-3 tem sido estimulado devido aos seus benefícios anti-inflamatórios e possíveis implicações clínicas. Embora possam ser obtidos por processos bioquímicos de dessaturação e alongamento de cadeia a partir do ALA, os ácidos EPA e DHA ainda possuem necessidade de serem ingeridos pela alimentação ou suplementação uma vez que essa taxa de conversão é limitada (Bhat *et al.*, 2023). A incorporação do ômega-3 na dieta (sobretudo de fonte animal e marinha) tem sido estudada como um fator de proteção contra distúrbios metabólicos importantes, incluindo DM2 e hiperlipidemia, que têm consequências indiretas na fisiopatologia cardiovascular (Bhat *et al.*, 2023). Contudo, as metodologias de avaliação de ingestão desses lipídeos são imprecisas em determinar as quantidades realmente consumidas por indivíduos ou populações. Sabe-se que o consumo de ômega-3 é acompanhado por aumento nos seus níveis plasmáticos e na membrana de células como as PBMC e eritrócitos. Especificamente, a composição lipídica dos eritrócitos reflete a composição de ácidos graxos das membranas celulares de todo o corpo (Fielding, 2017). Pequenas doses de ômega-3 já são capazes de modificar biomarcadores sanguíneos relacionados a esses lipídeos. O consumo subsequente de ômega-3 (EPA+DHA) na dose de 0,25 e 0,5g/dia por (4 semanas em cada dosagem) e 1g/dia por 8 semanas foi suficiente para promover aumento contínuo e linear do conteúdo de ômega-3 entre no sangue total, entre os fosfolipídeos plasmáticos e nos eritrócitos de 20 indivíduos saudáveis (Patterson *et al.*, 2015). Assim, a avaliação da concentração de ômega-3 (EPA+DHA) eritrocitário tem sido utilizado como um eficiente marcador de consumo desses lipídios e para avaliação de fatores de risco em doenças crônicas (Abbott *et al.*, 2016; Harris, 2010). O índice de ômega-3 (IO3) é obtido por meio da razão entre o total de EPA e DHA e o total de lipídeos (ambos medidos na membrana eritrocitária) expresso em percentual e é altamente sensível ao consumo de ômega-3 da dieta. Valores acima de 8% do IO3 são considerados ótimos ou desejáveis, entre 4 e 8% como risco intermediário e abaixo de 4% como indesejável e mais associado a doenças cardiovasculares (Harris, 2010). A eficácia do ômega-3 para a prevenção de doenças cardiovasculares é um tópico de debate contínuo. O último posicionamento sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia orienta que a suplementação entre 2 e 4 gramas por dia de ômega-3 de origem marinha é recomendada como adjuvante no tratamento da hipertrigliceridemia grave podendo também contribuir com a redução de eventos isquêmicos nesses pacientes (Izar *et al.*, 2021).

Por outro lado, os autores reforçam que a literatura até então não permitia inferir sobre os benefícios desse consumo em fatores relacionados ao DM2.

A hipertrigliceridemia está associada ao DM2 e à obesidade como componentes da síndrome metabólica e aumento do risco de doenças cardiovasculares. A melhora do metabolismo lipídico e conseqüentemente dos níveis plasmáticos de CT, HDL, LDL e TG contribuem para redução de complicações cardiovasculares e podem ser avaliados por índices aterogênicos como o Índice Aterogênico do Plasma (IAP) (calculado a partir dos valores de TG e HDL) e os índices de Castelli 1 (razão entre o CT e HDL) e Castelli 2 (razão entre o LDL e HDL). Os efeitos do ômega-3 na hipertrigliceridemia são mais evidentes em populações com valores basais de TG mais altos. Seus efeitos sobre outros parâmetros lipídicos também são controversos tendo sido observado aumento do CT, LDL e HDL em alguns estudos (Bhat *et al.*, 2023). Em estudo com pacientes adultos com hipertrigliceridemia grave (≥ 500 mg/dL e < 2000 mg/dL) a suplementação de 2 e 4 gramas por dia/dia de ômega-3 (75% de EPA+DHA) associado a uma dieta padrão promoveu redução de 25,9% e 30,9% respectivamente nos valores de TG em comparação ao grupo controle. Além disso, observou-se melhora adicional no aumento do HDL e redução do índice de Castelli 1 (Kastelein *et al.*, 2014). Alguns autores, no entanto, têm argumentado que a suplementação de EPA isoladamente promoveria melhores resultados, sem alterações nos níveis de CT e LDL por exemplo. Em dois estudos multicêntricos e placebo-controlados (Ballantyne *et al.* (2012) e Bays *et al.* (2011)) a suplementação com 4 gramas por dia por 12 semanas de EPA (solução com 96% de concentração) em pacientes também com hipertrigliceridemia grave (≥ 500 mg/dL e < 2000 mg/dL) promoveu redução de 21,5% e 33,1% respectivamente. Além disso, também foram observados ganhos adicionais em ambos os estudos como redução do CT e do colesterol não-HDL. Estudos menores em indivíduos com hipertrigliceridemia não grave (TG > 500 mg/dL) também se observa efeitos semelhantes como no de Souza *et al.* (2020) (32 indivíduos suplementados com 2,4g de ômega-3 por 8 semanas) e Mazaherioun *et al.* (2018) (44 indivíduos suplementados com 2,7g de ômega-3 por 10 semanas). Nesses dois estudos, além da redução dos TG, também se observou aumento do HDL e redução do IAP, contudo, somente o estudo de Souza *et al.* (2020) detectou melhora conjunta em marcadores da RI. Diferente dos níveis de TG, os efeitos da suplementação com ômega-3 sobre as moléculas de LDL precisam ainda ser estudadas, sobretudo em populações de maior risco cardiovascular. Estudos tem observado tanto o aumento quanto maior peroxidação de LDL com suplementação de ômega-3, sendo importante

identificar doses seguras para seu consumo em populações de maior risco (Ishihara *et al.*, 2019; Nicholls *et al.*, 2020).

O processo de resolução da inflamação, por meio do SPSs, reduz às populações de macrófagos M1 e, conseqüentemente, a produção de citocinas como IFN- γ e TNF- α no tecido infiltrado. Além disso, a redução do sinal inflamatório aumenta a produção e translocação dos transportadores de glicose GLUT-4 aumentando a sensibilidade insulínica. A incorporação dos ômega-3 nas membranas celulares aumenta sua fluidez e a conseqüente competição das prostaglandinas da série ímpar com as da série par (inflamatórias) promovendo redução das espécies reativas de oxigênio com conseqüente redução da peroxidação lipídica e agregação plaquetária. Além disso, os ômega-3 diminuem a lipogênese hepática, promovem maior ativação da lipase lipoproteica e aumento da β -oxidação, com conseqüente redução dos triglicérides circulantes (Bhat *et al.*, 2023; Souza *et al.*, 2020).

Os inconsistentes efeitos do ômega-3 no DM2 podem estar ligados ao fato de que a doença se manifesta em diferentes indivíduos com as mais variadas complicações metabólicas, podendo então a suplementação com omegã-3 promover efeitos em parâmetros clínicos específicos. Os níveis plasmáticos de ômega-3 (principalmente EPA e DHA) foram associados à menor incidência de DM2 principalmente em indivíduos com $IMC > 30\text{kg/m}^2$. Esses efeitos protetores estariam diretamente ligados aos já citados efeitos anti-inflamatórios, estabilização da membrana celular e a influência na ativação de receptores nucleares como os PPAR (Qian *et al.*, 2021). Além disso, o IO3 está inversamente associado a incidência da doença e se correlaciona inversamente a marcadores como GJ, HbA1C (Abbott *et al.*, 2016). Entretanto, ensaios clínicos com metodologias e populações similares apresentam efeitos controversos em relação a melhora clínica do DM2 com a suplementação de ômega-3. Isso pode estar relacionado a diferenças como doses (que variam entre 2 a 4g/dia de óleo de peixe) e tempo (entre 8 a 12 semanas) de tratamento observadas nos estudos (Abbott *et al.*, 2020; Clark *et al.*, 2016; Mazaherioun *et al.*, 2018; Sarbolouki *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2020).

Colaborando com os achados, Gao *et al.* (2020) em sua meta-análise concluíram que não é possível atribuir efeitos clínicos relevantes ao DM2 com a suplementação de ômega-3 uma vez que diversos resultados controversos (tanto de melhora quanto de piora na RI) são observados nos estudos. Esses resultados colaboram com o trabalho de Brown *et al.* (2019) que, além de identificarem ausência de efeito na maioria dos parâmetros analisados, ainda concluíram que doses acima de 4g/dia podem gerar efeitos indesejáveis na RI. Em resumo, resultados na HbA1c aparentemente necessitam de pelo menos 3 semanas de tratamento,

enquanto a redução da insulina e melhora do HOMA-IR de doses 4g de óleo de peixe por no mínimo 8 semanas. Redução da glicemia de jejum, no entanto, parece ser difícil de ser observada. Tais questionamentos trazem a luz a necessidade de mais estudos controlados para se avaliar o efeito clínico dos ômega-3 no DM2.

3 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE DO ESTUDO

Considerando o DM2 como uma patologia de grande relevância devido a sua alta mortalidade e custos a saúde pública e que sua etiologia e progressão estão diretamente relacionados a fatores de estilo de vida modificáveis, torna-se imprescindível o estudo de terapias que colaborem com a mudança desse quadro. É de conhecimento também que 25% dos pacientes com pré-diabetes (ou RI) evoluem para o DM2. Sendo assim, a intervenção nesse grupo é de grande importância para reduzir a incidência de novos casos de DM2. Entretanto, a dificuldade em se determinar os efeitos terapêuticos do ômega-3 na população com DM2 se relaciona principalmente com a complexidade da doença e dos vários fatores inflamatórios que podem se relacionar com a RI. Nesse contexto, avaliar a efetividade terapêutica do ômega-3 na melhora tanto nos parâmetros clínicos quanto nos inflamatórios (citocinas pró e anti-inflamatórias), que possam ser avaliadas em nível sanguíneo, faz-se importante para maior conhecimento e redução da progressão dos sintomas do DM2. A hipótese do estudo, foi de que a suplementação com 4g de óleo de peixe com 2,4g de ômega-3 (60% de EPA+DHA) por 8 semanas promove melhora na inflamação subclínica e parâmetros clínicos do DM2 em indivíduos com excesso de peso e resistentes a insulina.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de peixe rico em ômega-3 sobre marcadores da inflamação subclínica e de resistência insulínica em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina.

4.2 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de peixe rico em ômega-3 (2,4g) em indivíduos com excesso de peso e resistentes à insulina sobre:

- Citocinas inflamatórias (TNF α e IFN γ) e anti-inflamatórias (IL10 e IL4) no plasma;
- Glicemia; insulina; HbA1C; HOMA-IR e modelo de homeostase para avaliação da função das células *beta* (homeostasis model assessment of β -cell function - HOMA- β);
- Triglicerídeos; lipoproteína de densidade alta (HDL); lipoproteína de baixa densidade (LDL); índice aterogênico do plasma (IAP), e os índices de Castelli I e Castelli II,
- Os níveis de MDA;

5. MATERIAIS E METODOS

5.1 Cálculo amostral e aleatorização dos voluntários

O cálculo amostral para realização do estudo foi 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 triglicérides com o uso de ômega-3 de 43%, obtido em estudo anterior dos autores (Souza *et al.*, 2020). Assim, obteve-se o quantitativo de 30 indivíduos. Os grupos foram divididos aleatoriamente: ômega-3 (n=15) e controle (n=15). Após o aceite em participar da pesquisa, o voluntário foi alocado em um dos grupos de tratamento proposto. Para alocação do voluntário em um dos tratamentos foi realizada randomização por meio do software Microsoft Excel 365®. Os dois possíveis grupos foram alocados em uma célula da planilha sendo atribuído a cada um deles um número aleatório. Posteriormente os tratamentos foram alocados por ordem numérica sendo estabelecido a ordem de 1 a 40. Após o recrutamento do voluntário, o seu tratamento foi sorteado com auxílio do aplicativo Aleatório UX® versão Android. Os pesquisadores foram cegados quanto ao tratamento oferecido ao voluntário. O cegamento somente seria quebrado em caso de risco à saúde do voluntário.

5.2 Delineamento do estudo

O presente protocolo refere-se a um estudo clínico, duplo cego, unicêntrico, longitudinal, randomizado, realizado no Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz

de Fora (HU-UFJF). Nossos objetivos primários foram avaliar o efeito da intervenção proposta em elevar as concentrações celulares de ômega-3 e promover melhora nos marcadores relacionados à inflamação subclínica como citocinas inflamatórias (TNF α e IFN γ) e anti-inflamatórias (IL10 e IL4) no plasma e na RI (glicemia, insulina, HbA1C, HOMA-IR e HOMA- β). Além disso, como objetivos secundários, objetivou-se também avaliar o efeito do tratamento sobre o perfil lipídico (TG, CT, LDL e HDL) e índices aterogênicos (IAP, Castelli I e Castelli II) e na peroxidação lipídica por meio do marcador MDA. As variáveis de função hepática, renal e tireoidiana foram avaliadas para garantir a segurança do nosso tratamento nos nossos voluntários. As variáveis antropométricas, de composição corporal, nível de atividade física e consumo alimentar foram avaliadas a fim de garantir que fatores externos relevantes não comprometessem nossos resultados (Figura 3). Todo o estudo foi executado nos laboratórios e consultórios do HU-UFJF. Foram recrutados ao todo 24 voluntários que atenderam aos critérios de inclusão e aceitaram participar da pesquisa por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A).

Durante todo o estudo os voluntários foram orientados a permanecerem com seus hábitos dietéticos e estilo de vida regularmente, os quais foram monitorados nos dias de avaliação. Após a triagem, o voluntário foi orientado a comparecer ao HU-UFJF para coleta de sangue e avaliação bioquímica; avaliação antropométrica e da composição corporal; avaliação do consumo alimentar; avaliação do nível de atividade física. De modo a sintetizar a necessidade de preparo do voluntário(a) para realização das avaliações, ele foi orientado(a) a comparecer no dia de coleta tendo realizado jejum alimentar de 12 h, abstenção do consumo de álcool e café nas últimas 24h e de prática de atividades físicas intensas por 72 h. Também foram orientados(as) a comparecerem com roupas leves e a urinarem pelo menos 30 min antes das avaliações. Mulheres em período menstrual tiveram suas avaliações remarcadas. As coletas foram repetidas após 60 dias de intervenção. Após as avaliações realizadas no primeiro dia de coleta, os voluntários foram orientados sobre o consumo das cápsulas (ômega-3 ou controle) por um período de 60 dias e posteriormente retornavam para a reavaliação. Os indivíduos, bem como os pesquisadores envolvidos, foram cegados para ingestão de ômega-3 ou controle. Todos os resultados foram anotados em formulário próprio para posterior análise dos autores (APÊNDICE A).

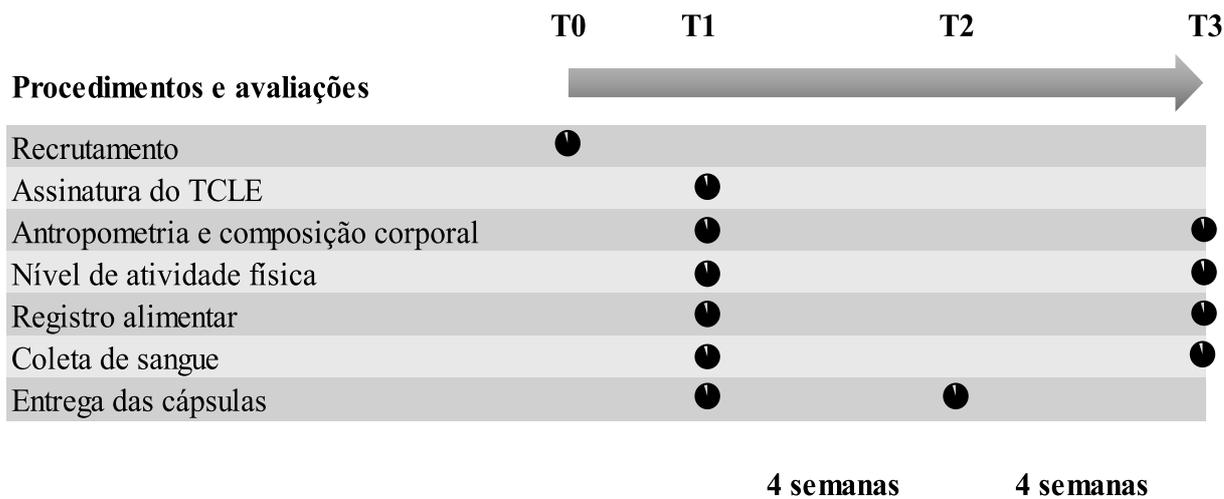


Figura 3. Desenho do estudo

O estudo foi realizado de acordo com os princípios da declaração de Helsinque e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da UFJF sob o parecer de número 4.731.228 (ANEXO B), foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob o número RBR-8cb536g e publicado em revista científica (Lima *et al.*, 2022).

5.3 Seleção da amostra

O recrutamento dos voluntários ocorreu entre os pacientes atendidos no HU-UFJF e pacientes que responderam os formulários online, disponibilizados por meio de divulgação em sites e equipamentos de mídias locais. Após a seleção dos indivíduos pelos formulários, foi agendada uma entrevista para aplicação do questionário de recrutamento com avaliação dos critérios de inclusão e exclusão.

5.3.1 Critérios de inclusão do estudo

Foram adotados os seguintes critérios de inclusão:

1. Indivíduos de ambos os sexos;
2. Idade entre 20 e 59 anos;
3. Índice de massa corporal (IMC) entre 25 e 34,9kg/m² (classificados com sobrepeso ou obesidade grau 1);
4. Em tratamento medicamentoso para pré-diabetes ou DM2 exclusivamente com metformina ou metformina associada a alguma sulfonilureia (glibenclamida, gliclazida, glimepirida e glipizida) por pelo menos 6 meses e sem alteração de dosagem nesse período;

5. Que não estivessem ou não tenham feito uso de anti-inflamatórios não esteroidais ou corticoides no mês anterior ao recrutamento;
6. Que não estivessem em uso de suplementos contendo ômega-3 em sua formulação no mínimo 2 meses antes do início do estudo;
7. Que não estivessem em uso contínuo de orlistat ou fibratos;
8. Mulheres que não estivessem em gravidez ou em fase de lactação;

5.3.2 Critérios de exclusão do estudo

Foram adotados os seguintes critérios de exclusão:

1. Indivíduos que apresentassem glicemia de jejum superior a 300 mg/dL nos exames realizados na linha de base;
2. Portadores de doença genética e hormonal limitante (hipotireoidismo, hipertireoidismo, erros inatos do metabolismo etc.);
3. Em uso abusivo de bebidas alcoólicas (cinco ou mais doses para homens e quatro ou mais para mulheres em uma única ocasião no mesmo dia nos últimos 30 dias) ou uso de qualquer droga considerada ilícita;
4. Com insuficiência renal, cirrose hepática ou doenças inflamatórias intestinais;
5. Transplantados;
6. Com perda de peso significativa (>5%) nos últimos 3 meses (voluntária ou involuntária) ou estejam participando como voluntários de outros estudos na data do arrolamento;
7. Que descontinuem o uso do ômega-3/placebo por 3 dias consecutivos;
8. Que iniciassem o uso de outras medicações para tratamento de DM2, anti-inflamatórios não esteroidais, corticoides, orlistat, fibratos ou qualquer suplemento que contenha ômega-3;
9. Que iniciassem gravidez, manifestasse interesse em sair do estudo ou qualquer outra razão clínica a critério da equipe de investigação.

5.4 Coleta de dados

5.4.1 Recrutamento do voluntário (T0)

O recrutamento foi realizado de modo presencial e online conforme disponibilidade do voluntário. Durante o recrutamento o voluntário foi informado quanto aos riscos, benefícios e propósito do estudo. Foram coletados dados pessoais (nome, data de nascimento, idade, gênero, estado civil, endereço e contato) e sociais (ocupação e escolaridade). Também foram questionados alguns aspectos de saúde como presença de doenças intestinais, cardíacas, neurológicas, ou câncer, funcionamento intestinal e de medicações de uso diário e no último mês e possíveis alergias alimentares. As mulheres entrevistadas foram questionadas se estavam em estado gestacional ou lactação. Foram obtidos também por relato o peso e estatura dos voluntários. Sobre os hábitos de vida, foram questionados quando a rotina de atividade física, consumo de bebida alcoólica, tabagismo e sobre o consumo de suplementos de ômega-3. Os pacientes recrutados receberam um material informativo sobre o preparo para as coletas de dados e agendados para as avaliações (APENDICE B).

5.4.2 Avaliações iniciais (linha de base-T1)

Os voluntários compareceram ao HU-UFJF após o preparo necessário para realização da coleta de sangue e avaliação da composição corporal. Antes do início das coletas foi solicitado ao voluntário leitura e assinatura do TCLE. Após a coleta de sangue os voluntários foram direcionados para uma sala reservada para realização das demais avaliações. Foram realizadas as avaliações: antropométrica e composição corporal; nível de atividade física. Após a realização das avaliações os voluntários receberam as cápsulas suficientes para o consumo em 30 dias (480 cápsulas). Os voluntários receberam material informativo com orientações sobre o uso das cápsulas e agendamento dos próximos encontros (APÊNDICE C) e os formulários com orientações para preenchimento de três registros alimentares de 24h (APÊNDICE D). Durante o período de 30 dias os voluntários foram abordados semanalmente para incentivo do consumo das cápsulas e relato de possíveis intercorrências. Também já eram agendadas as datas para as demais etapas da pesquisa com o voluntário. Após 30 dias os voluntários compareceram ao HU-UFJF para entrega dos registros alimentares preenchidos no período e entrega de cápsulas para mais 30 dias de consumo.

5.4.3 Avaliações finais (T3)

Os voluntários compareceram ao HU-UFJF após o preparo necessário para realização da coleta de sangue e avaliação da composição corporal. Novamente, após a coleta de sangue os voluntários foram direcionados para uma sala reservada para realização das demais avaliações. Foram realizadas as avaliações: antropométrica e composição corporal; consumo alimentar; nível de atividade física. Após a realização das avaliações os voluntários receberam os resultados iniciais de exames e avaliações, bem como das avaliações realizadas. Aos voluntários que manifestaram interesse, foi agendado consulta para acompanhamento no ambulatório de nutrição clínica do HU-UFJF.

5.5 Cápsulas de ômega-3 e placebo

As cápsulas de óleo de peixe foram usadas como fonte de ômega-3. Foi prescrita uma dose de 4 cápsulas diárias a serem consumidas preferencialmente em um único momento do dia com a aproximadamente 4 gramas de óleo de peixe e dose total de EPA e DHA de 2,4 g. O óleo de soja foi escolhido como controle devido ao seu consumo frequente na população. As cápsulas do grupo controle foram produzidas com tamanho, cor e odor semelhantes as capsulas de óleo de peixe e orientados aos voluntários o consumo de 4 cápsulas ao dia em protocolo idêntico ao grupo óleo de peixe. As cápsulas de óleo de peixe e controle foram adquiridas da empresa Essential Nutrition®, São José, SC, Brasil e suas características nutricionais estão descritas no quadro 1.

Como modo de garantir o correto uso das cápsulas pelos voluntários, foi solicitado aos mesmos que soprassem um papel filtro todos os dias após consumirem todas as cápsulas com intuito de avaliação do conteúdo de óleo consumido ao final do estudo. O papel soprado era guardado em embalagem de plástico que deveria ser entregue com todos ao final do experimento. Todas as embalagens recebidas foram devidamente contabilizadas e descartadas após a entrega pelo voluntário.

Quadro 1. Características Nutricionais de 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: <i>Eicosapentaenoic acid</i> ; DHA: <i>docosahexaenoic acid</i>		
Fonte: Informações fornecidas pela Essencial Nutrition®		

5.6 Avaliação Antropométrica e Composição Corporal

A avaliação antropométrica e da composição corporal foram realizadas nos tempos T1 e T3. Para realização dessas avaliações foi garantido que os voluntários comparecessem no dia da coleta com jejum mínimo de 4 h, com bexiga esvaziada e não terem se exercitado ou consumido café no dia anterior e álcool a 48 h antes das coletas. O agendamento das avaliações foi realizado de modo a não coincidir com o período menstrual das voluntárias (Lopes e Ribeiro, 2014). Durante toda a avaliação o voluntário permaneceu descalço, com roupas leves e sem objetos de metal em contato com o corpo. Para obtenção das medidas de massa corporal e da composição corporal foi utilizada uma 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). Essas medidas foram obtidas com o indivíduo de pé no centro da balança, com os braços relaxados ao longo do corpo segurando as alavancas com os eletrodos de mão. A ativação e leitura dos dados foi realizado por meio do software da balança. A massa corporal foi mensurada em quilogramas (kg). A estatura foi obtida em metros (m) por meio de um estadiômetro vertical portátil (Sanny®, modelo Personal Caprice) com o voluntário em superfície plana, ereto, com pés unidos, com calcanhares, nádegas e escapula em

contato com o estadiômetro e a cabeça orientada no plano de Frankfurt. A medida foi obtida após uma expiração normal com os estadiômetro em contato com o vértice da cabeça.

Os perímetros corporais foram mensurados em centímetros (cm), com auxílio de uma trena antropométrica (Cescorf®) com o indivíduo em superfície plana, ereto, com pés unidos e braços cruzados, sendo a leitura realizada imediatamente após uma expiração normal. O perímetro da cintura (PC) foi obtido na mesma linha da cicatriz umbilical o perímetro do quadril (PQ) foi mensurado entorno dos quadris, no nível de maior protuberância dos glúteos. As medidas antropométricas foram obtidas em triplicada, utilizando a mediana para avaliação. Todo o protocolo foi realizado por um antropometrista treinado, seguindo os procedimentos estabelecidos pela sociedade internacional de avanço em cineantropometria (Stewart *et al.*, 2011).

O índice de massa corporal (IMC) foi obtido por meio da relação entre a massa corporal e o quadrado da estatura e classificado conforme os pontos de corte da Organização Mundial da Saúde para adultos (WHO, 1997). A relação entre os perímetros da cintura e do quadril (RCQ) foi obtida por meio da relação entre o PC e PQ e classificados entre os sexos (Bray e Gray, 1988). As medidas de composição corporal foram obtidas após a realização do exame de bioimpedância por meio da leitura no Software Tanita Healthy Edge (Tanita®, Versão 2.13.2). Foram obtidos o percentual de gordura (%) e a massa muscular (kg) total.

5.7 Monitoramento do consumo alimentar e nível de atividade física

Para a avaliação e caracterização do perfil alimentar e monitoramento do consumo habitual dos voluntários durante o período de 8 semanas do experimento foi utilizado o registro alimentar de 24h (RA24) (Fisberg *et al.*, 2009). O seu preenchimento foi realizado em formulário próprio, por três dias não consecutivos, incluindo um dia de final de semana; durante a primeira e oitava semanas de estudo (APENDICE D). O voluntário foi orientado a registrar todo o alimento e bebida ingeridos, incluindo quantidade / volume em medidas caseiras e horários / local de realização das refeições. Após o registro de cada dia, o voluntário foi orientado a encaminhar as anotações via aplicativo de telefone para os pesquisadores do estudo. Os erros de preenchimento ou dúvidas sobre o preenchimento foram corrigidos em contato com os voluntários. Os RA24 foram quantificados com auxílio do software online (Ingrediente Solução em Nutrição©) e obtidos os valores de energia (kcal), macronutrientes (proteínas

totais; carboidratos totais; lipídeos totais; ácidos graxos poli-insaturados; ácidos graxos monoinsaturados; ácidos graxos saturados e fibras totais).

O nível de atividade física foi avaliado em T1, por meio de um recordatório das atividades físicas realizadas na semana anterior a coleta de dados e aplicação do Questionário Internacional de Atividade Física (International Physical Activity Questionnaire-IPAQ) versão curta (ANEXO C), traduzido e validado para a população brasileira (Ainsworth *et al.*, 2000; Pardini *et al.*, 2001). O nível de atividade física dos voluntários foi monitorado nos tempos T1 e T3, com a avaliação indireta do consumo máximo de oxigênio (VO₂max) obtida com auxílio de um monitor de frequência cardíaca (Polar®, modelo RCX5). O teste para avaliação do VO₂max foi aplicado com o voluntário em repouso, e com o sensor de monitoramento da frequência cardíaca ajustado no peitoral. O teste é uma função pré-programada do monitor de frequência cardíaca iniciada após a inserção dos dados de idade, sexo, altura e peso. O voluntário permaneceu sentado, com as costas eretas, em repouso, e em silêncio por um período de 5 minutos de avaliação. Nesse intervalo foi anotado também a menor frequência cardíaca observada. Ao final das avaliações realizadas em repouso, foi avaliada a força de preensão palmar (FPP), com auxílio de um dinamômetro manual hidráulico (Saehan®, modelo SH5001). O teste foi realizado na mão dominante, com o indivíduo sentado, pés apoiados no chão, com o braço junto ao tórax, cotovelo fletido a 90° sem estar apoiado. A tomada da medida foi feita em triplicata, com intervalo de 1 minuto entre as medidas, e considerada a medida de maior valor para o resultado (Cruz-Jentoft *et al.*, 2019).

5.8 Dosagens plasmáticas e índices bioquímicos

Os indivíduos tiveram amostras de sangue periférico coletados nos períodos de T1 e T3 do estudo. As coletas foram feitas mediante jejum de 12 horas, não consumo de álcool no dia anterior e período de 72 horas anteriores sem realização de atividades físicas intensas. A coleta de sangue foi realizada por um profissional e dentro das dependências do Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFJF. Foram obtidas quantidades de sangue suficientes para as análises realizadas no próprio laboratório (seguindo os protocolos da própria instituição). Adicionalmente foi solicitado que os profissionais do laboratório colhessem o volume de 9 mL de sangue em tubo contendo anticoagulante heparina (sem gel separador) para as análises adicionais a serem realizadas. O sangue analisado no próprio laboratório foi destinado para avaliação em jejum da glicemia; insulina; HbA1C; triglicérides; HDL; aspartato

aminotransferase (AST); alanina aminotransferase (ALT); Creatinina; hormônio estimulador da tireoide (thyroid-stimulating hormone-TSH). Adicionalmente, a lipoproteína de baixa densidade (Low-density lipoprotein - LDL) foi calculada por meio da equação de Friedwald (Friedewald *et al.*, 1972) (APÊNDICE E). Também foram calculados o IAP e os índices de Castelli I e Castelli II. Foram avaliados também os valores do HOMA-IR e HOMA- β (APÊNDICE E). A glicemia e a HbA1c foram classificadas conforme os pontos de corte da Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes (Cobas *et al.*, 2023). Os resultados de HOMA-IR foram considerados como resistência insulínica quando maiores que 2,71 (Sociedade Brasileira De Diabetes, 2019). Para os valores de HOMA- β foi considerado normal quando entre 167 e 175 sendo, valores abaixo ou acima considerados como algum grau de disfunção (Wallace *et al.*, 2004). O perfil lipídico foi classificado conforme os pontos de corte da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2019). O índice de Castelli I foi considerado alterado quando acima de 5,1 para homens e 4,4 para mulheres, enquanto o Castelli II acima de 3,3 para homens ou 2,9 para mulheres (Azevedo *et al.*, 2023). O IAP foi classificado como risco baixo quando menor que 0,11, risco moderado entre 0,11 e 0,21 e risco aumentado acima de 0,21 (Azevedo *et al.*, 2023). A concentração de eritrócitos foi utilizada como um parâmetro indireto para avaliação da incorporação de ômega-3 uma vez que se correlacionam fortemente com o IO3 (Harris, 2010).

O volume adicional de 9 mL de sangue foi protegido da exposição a luz imediatamente após a coleta até a centrifugação. O plasma foi separado da série vermelha por meio de centrifugação (3000rpm por 10min). Após a centrifugação, o tubo foi novamente protegido da exposição a luz e levado para alíquotagem em sala escura. Posteriormente com auxílio de uma micropipeta, foram separadas alíquotas de plasma para dosagem do MDA armazenadas em microtubo âmbar e para dosagem das citocinas (TNF α , IFN γ , IL4 e IL10) armazenadas em microtubo transparente. Também foram coletados com auxílio de uma pipeta de Pasteur o concentrado de hemácia em microtubo transparente para avaliação dos níveis de ômega-3 em membrana eritrocitária e cálculo do índice de ômega-3 (Fielding, 2017). Todas as amostras foram armazenadas em ultra freezer a temperatura de -80°C para posterior análise dos parâmetros citados. As análises de TNF α , IFN γ , IL4, IL10 e MDA foram realizadas no Laboratório de Imunotrombose do Instituto de Ciências Biológicas da UFJF.

As dosagens de TNF α , IL10, IL4 e IFN γ foram feitas pela técnica de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) no formato sanduiche, na qual dois anticorpos distintos são utilizados para capturar o antígeno. O ensaio para determinação de todas as citocinas seguiu os

critérios do fabricante dos kits (R&D Systems, Mineápolis, MN, EUA e Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA).

Foram utilizadas placas de 96 poços com capacidade de 50µL/poço. As placas foram cobertas com anticorpo de captura diluído em PBS (Saline Buffer Phosphate) e em seguida incubadas por 18-24h (overnight), a 4°C. Em seguida, as placas foram lavadas 3 vezes com solução de PBS + Tween20 e enxugadas com papel toalha. Para bloquear ligações não específicas de cada anticorpo, foram colocados 25µL/poço de solução contendo BSA (Albumin Bovine Serum) e PBS a 1% por 1 hora em temperatura ambiente. Após este processo, as placas foram novamente lavadas 3 vezes em PBS+Tween20. Os primeiros 16 poços das placas foram utilizados para curva padrão e o branco e nos 48 poços seguintes, foram adicionados 25µL de amostra diluídas em PBS e as placas foram armazenadas em temperatura ambiente por mais 10-15 horas. A aspiração do conteúdo e lavagem com PBS+Tween20 foi novamente realizada e em cada poço foi adicionado Estreptavidina-HRP com posterior incubação em temperatura ambiente por 20 min. Em seguida, as placas foram novamente lavadas e 25µL de solução de H₂O₂+tetrametilbenzidina foram adicionadas para posterior nova incubação, em temperatura ambiente, sem incidência direta de luz, por até 1h até que os poços atingissem coloração azulada. Após este processo, a reação foi interrompida com 25µL de H₂SO₄ e as placas foram lidas em espectrofotômetro ajustado para 450nm. Os resultados foram expressos em picogramas/mL e todos os valores negativos foram considerados como zero, ou seja, sem presença de citocina por estarem indetectáveis.

O níveis de MDA foram utilizados como marcador de peroxidação lipídica. Para análise amostras de plasma foram descongeladas até atingirem a temperatura de 37°C e cerca de 1 mL de cada amostra foi misturado com 2 mL de ácido tricloroacético a 15%, ácido tiobarbitúrico a 0,375% e ácido clorídrico 0,25 N e depois foi aquecido em banho seco por 15 minutos. Após resfriamento, o precipitado foi processado por centrifuga a 1.000 g por 10 minutos. A absorvância do sobrenadante foi medida a um comprimento de onda de 535 nm utilizando um espectrofotômetro Milton Roy Spectronic 601 (Milton Roy, Ivyland, PA). A concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi determinada considerando o coeficiente de absorvidade molar do produto ($E_{535} = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), e os resultados são expressos em nmol de MDA por litro.

5.9 Análise Estatística

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Para caracterização da amostra foram utilizados valores de média e desvio padrão (DP) para variáveis paramétricas, mediana e intervalo interquartil (IIQ) para não paramétricas, além dos valores mínimo e máximo. As variáveis categóricas foram representadas em frequência absoluta e relativa. A avaliação da diferença entre os resultados em ambos os tratamentos nos períodos T1 (linha de base) e T3 (após 8 semanas) foram avaliados por teste de *t* de Student para amostras pareadas (dados paramétricos) ou teste de Wilcoxon (dados não paramétricos). A diferença dos resultados entre os tratamentos foi avaliada pelo teste *t* de Student para amostras pareadas (dados paramétricos) ou teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos). A correlação entre os marcadores de inflamação subclínica com a concentração de eritrócitos foi analisada por meio da correlação de Spearman. As análises estatísticas foram efetuadas por meio do software SPSS® (versão 27.0; SPSS Inc., EUA). O nível de significância adotado para os resultados foi de $p > 0,05$.

6 RESULTADOS

Foram avaliados 24 indivíduos de ambos os sexos, idade entre 29 e 59 anos com excesso de peso e resistência insulínica. O uso de metformina devidamente prescrita por um médico após diagnóstico de diabetes ou pré-diabetes por pelo menos 6 meses foi utilizado como critério para resistência insulínica, sendo que 83,3% dos voluntários faziam uso exclusivo dessa medicação como hipoglicemiante. A maioria dos indivíduos foram classificados com sobrepeso (54,2%) pela avaliação do IMC e todos apresentaram algum grau de risco relacionado ao perímetro abdominal, sendo 87,5% com risco muito aumentado. Sobre o nível de atividades física, 54,2% foram classificados como sedentários ou irregularmente ativos. Em relação as características relacionada a resistência insulínica, 79,2% foram classificados com diabetes ou pré-diabetes pela avaliação da glicemia e 62,5% pela avaliação da HbA1c. Todos os indivíduos apresentavam pelo menos uma alteração nos parâmetros avaliados (glicemia de jejum, HbA1C, HOMA-IR ou HOMA-β). As características dos indivíduos recrutados estão apresentadas na Tabela 1 e 2.

Durante o recrutamento 25 voluntários foram selecionados por meio dos critérios de inclusão. Contudo, 1 voluntário foi excluído do estudo devido a necessidade de início de nova medicação para o DM2. Ao final, 12 indivíduos em cada um dos grupos completaram todo o

protocolo do estudo. O fluxograma do recrutamento está representado na Figura 4. Somente a eructação com sabor de peixe foi o único efeito colateral relatado por um voluntário ao final do estudo. Foram observados níveis de colesterol total e LDL maiores no grupo óleo de peixe na linha de base. Entretanto essa diferença manteve-se ao final do tratamento e nenhuma diferença foi observada nos índices aterogênicos. Não foram observadas nenhuma diferença em todos os demais parâmetros avaliados entre os grupos no início do estudo. Também não foram observadas diferenças no consumo alimentar (Tabela 3) e nas variáveis relacionadas ao nível de atividade física (VO_{2max} e FPP) entre os tempos T1 e T3 em ambos os grupos, indicando a manutenção dos hábitos durante a realização do estudo pelos voluntários. A mediana(IQ) do tempo de uso das cápsulas não diferiu entre os grupos sendo de 56,0(5,0) dias para o grupo OS e de 57(4,0) dias para o grupo OP. Nenhum dos tratamentos demonstrou alterações nos marcadores de função hepática, renal ou tireoidiano avaliados (Tabela 4).

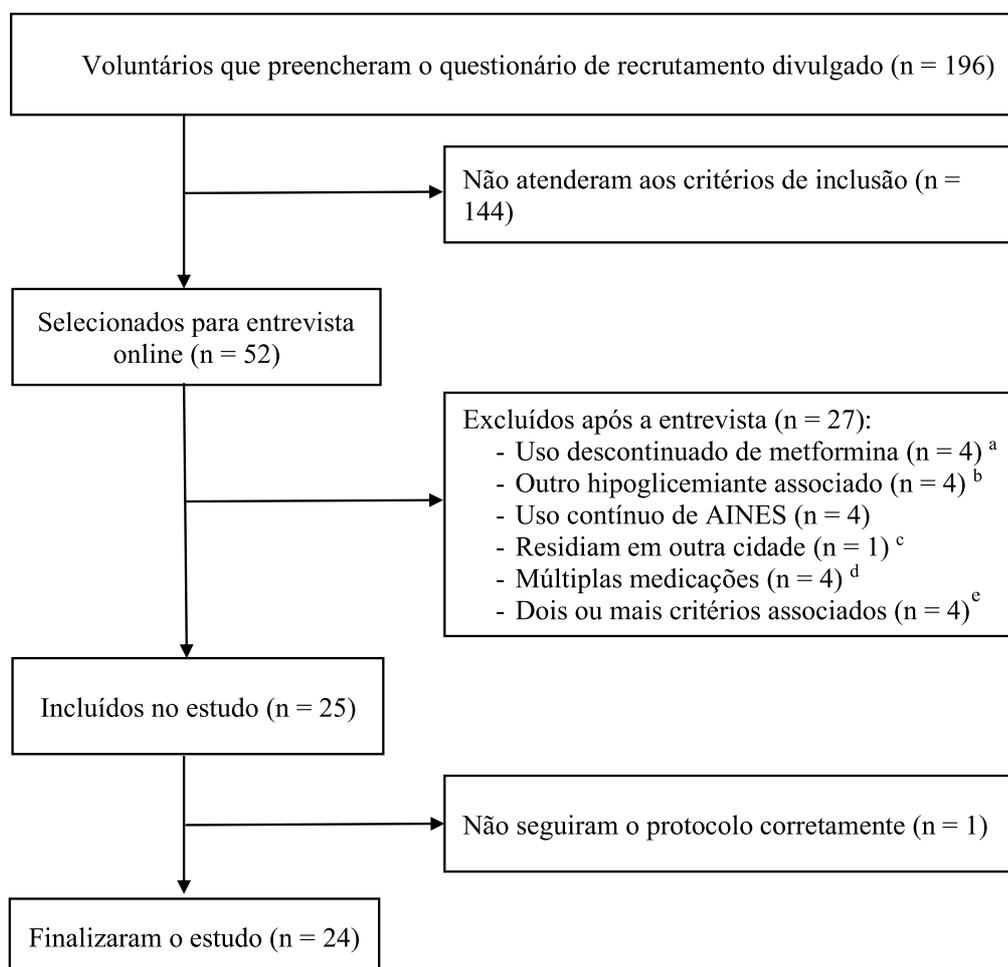


Figura 4. Fluxograma de seleção de voluntários para o estudo

^aIndivíduos 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 sulfonilurêias; ^cIndivíduos que residiam em outras cidades, sem possibilidade de deslocamento para os encontros presenciais; ^dUso 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

Tabela 1. Avaliação do tempo de tratamento ao final do estudo e da antropometria, composição corporal e nível de atividade física na linha de base.

Variável	Óleo de soja (n=12)				Óleo de peixe (n=12)				P
	Média(DP)	Mediana(IQ)	Mín	Máx	Média(DP)	Mediana(IQ)	Mín	Máx	
Tempo (dias)	58,0(3,7)	56,0(5,0)	55,0	65,0	57,8(2,2)	57,0(4,0)	56,0	62,0	0,509 ⁺
Idade (anos) ^b	50,8(8,1)	53,5(7,0)	29,0	58,0	49,2(6,9)	49,0(12,5)	39,0	59,0	0,385 ⁺
Estatura (m) ^{ab}	1,64(0,09)	1,63(0,11)	1,54	1,81	1,65(0,06)	1,64(0,09)	1,55	1,76	0,776 [#]
Peso (kg) ^{ab}	79,6(10,2)	81,7(16,4)	62,7	94,6	83,4(10,1)	81,6(9,3)	72,2	104,5	0,370 [#]
IMC (kg/m ²) ^{ab}	29,6(2,4)	29,4(4,7)	26,4	33,4	30,6(2,7)	31,1(5,5)	26,7	33,9	0,319 [#]
PC (cm) ^{ab}	101,8(7,2)	102,1(13,6)	91,6	114,0	103,4(7,1)	103,3(9,5)	92,0	119,1	0,581 [#]
RCQ ^b	1,0(0,6)	0,9(0,1)	0,8	3,0	0,9(0,1)	0,9(0,2)	0,8	1,0	0,685 ⁺
Gordura (%) ^b	34,7(6,1)	37,7(9,2)	23,1	40,4	36,6(7,5)	38,0(11,6)	23,3	44,4	0,326 ⁺
MM (kg) ^a	52,2(9,5)	50,5(14,1)	38,6	67,6	53,0(10,0)	47,9(17,3)	43,3	71,7	0,977 ⁺
FPP (kgf)	37,0(7,3)	35,0(14,5)	28,0	46,0	36,0(9,1)	33,5(16,8)	28,0	52,0	0,728 ⁺
VO _{2max} (l/min) ^{ab}	28,1(7,1)	25,5(11,0)	20,0	45,0	28,6(6,1)	28,0(6,0)	19,0	40,0	0,844 [#]

DP: Desvio padrão; IQ: Intervalo interquartil IMC: Índice de Massa Corporal; PC: Perímetro da Cintura; RCQ: Relação Cintura-Quadril; MM: Massa Muscular; FPP: Força de Preensão Palmar.

^aMedidas com distribuição normal no grupo óleo de soja; ^bMedidas com distribuição normal no grupo óleo de peixe; [#]Teste-t de Student para amostras independentes entre os tratamentos; ⁺Teste U de Mann-Whitney entre os tratamentos

Em relação aos desfechos pesquisados, o tratamento de 8 semanas com óleo de peixe não promoveu nenhuma alteração nas variáveis antropométricas, composição corporal, bioquímicas, resistência insulínica ou nos índices aterogênicos avaliados (Tabela 4). Foi observada uma redução na concentração de IFN- γ no plasma após o tratamento com o óleo de peixe e uma diferença em relação ao grupo OS tanto no início quanto após o tratamento. As demais citocinas e o MDA plasmáticos não foram afetados pelos tratamento ou tempo do experimento (Figura 3). Foi observada uma correlação linear forte, positiva ($r_s^2=0,748$) e significativa ($p=0,005$) entre a concentração de eritrócitos e a IL10 no tempo T3 com a suplementação de ômega-3. Essa correlação apresentou coeficiente de determinação (r_s^2) entre essas variáveis foi de 56%. Não foram observados mais correlações significativas entre as concentrações de eritrócitos e as demais citocinas analisadas (Tabela 5).

Tabela 2. Caracterização dos indivíduos recrutados em relação a antropometria, nível de atividade física, resistência insulínica e risco aterogênico no início do estudo

	Classificação	n	%
Índice de massa corporal	Sobrepeso	13	54,20%
	Obesidade	11	45,80%
Perímetro abdominal	Risco aumentado	3	12,50%
	Risco muito aumentado	21	87,50%
IPAQ	Sedentário	9	37,50%
	Irregularmente Ativo	4	16,70%
	Ativo	8	33,30%
	Muito Ativo	3	12,50%
Glicemia de jejum	Normal	5	20,80%
	Pré-diabetes	9	37,50%
	Diabetes	10	41,70%
HbA1C	Normal	9	37,50%
	Pré-diabetes	7	29,20%
	Diabetes	8	33,30%
HOMA-IR	Normal	10	41,70%
	Alterado	14	58,30%
HOMA- β	Função baixa	23	95,80%
	Função excessiva	1	4,20%
Colesterol Total	Desejável	12	50,00%
	Limítrofe	6	25,00%
	Alto	6	25,00%
LDL	Desejável	13	54,20%
	Limítrofe	5	20,80%
	Alto	4	16,70%
	Muito alto	2	8,30%
HDL	Risco alto	3	12,50%
	Risco moderado	16	66,70%
	Risco baixo	5	20,80%
Triglicérides	Normal	15	62,50%
	Alterado	9	37,50%
Castelli 1	Normal	17	70,80%
	Alterado	7	29,20%
Castelli 2	Normal	17	70,80%
	Alterado	7	29,20%
Índice aterogênico do plasma	Risco intermediário	1	4,20%
	Risco aumentado	23	95,80%

IPAQ: International physical activity questionnaire (questionário internacional de atividade física); HbA1C: Hemoglobina Glicosilada; HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance (Modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina); HOMA- β : Homeostasis model assessment of beta-cell function (Modelo de avaliação da homeostase da função das células β); HDL: High-density lipoprotein (Lipoproteína de alta densidade); LDL: Low-density lipoprotein (Lipoproteína de baixa densidade);

Tabela 3. Avaliação do consumo alimentar e comparação em relação ao tempo de tratamento e entre os diferentes tratamentos

	T	Óleo de soja (n=12)						Óleo de peixe (n=12)								
		Média(DP)	Mediana(IQ)	Mín	Máx	<i>p1</i>	Média(DP)	Mediana(IQ)	Mín	Máx	<i>p1</i>	<i>p2</i>				
Energia (kcal)	T1 ^{ab}	1861,9	535,1	1923,1	704,8	775,4	2479,6	0,180 [£]	1679,1	450,6	1760,3	729,3	965,3	2284,1	0,799 [¥]	0,420 [#]
	T3 ^a	1629,7	484,5	1570,0	799,9	968,4	2537,6		1735,7	674,4	1544,7	507,1	1234,9	3644,6		0,944 ⁺
Carboidratos (g)	T1 ^{ab}	232,3	73,3	236,3	90,1	115,7	382,9	0,426 [£]	217,1	88,3	204,9	174,9	104,6	344,2	0,661 [£]	0,680 [#]
	T3 ^{ab}	208,5	61,3	191,0	101,1	139,5	318,1		202,8	61,5	187,8	123,1	122,1	297,6		0,833 [#]
Proteínas (g)	T1 ^{ab}	87,5	31,7	91,7	36,9	30,6	138,1	0,094 [£]	77,0	26,3	75,8	42,3	40,0	119,5	0,959 [¥]	0,429 [#]
	T3 ^a	70,1	20,4	71,3	40,3	41,2	98,9		79,4	45,9	68,0	30,9	44,5	211,1		0,888 ⁺
Lipídeos (g)	T1 ^{ab}	64,7	22,5	67,8	39,3	21,1	92,1	0,095 [£]	55,6	18,8	52,0	26,7	30,4	94,0	0,721 [¥]	0,336 [#]
	T3 ^a	57,2	20,8	54,8	34,3	27,3	96,6		67,5	41,8	63,4	20,8	34,1	185,8		0,778 ⁺
Carboidratos (%)	T1 ^{ab}	50,7	5,7	49,4	11,5	44,8	59,8	0,805 [£]	50,3	11,0	52,3	19,1	34,0	67,9	0,822 [£]	0,918 [#]
	T3 ^{ab}	51,2	5,3	50,6	9,1	43,5	58,6		49,8	10,5	46,8	17,3	34,7	68,0		0,702 [#]
Proteínas (%)	T1 ^{ab}	18,5	2,4	18,6	4,5	14,7	22,1	0,463 [£]	19,1	4,7	19,4	8,1	11,6	26,3	0,219 [£]	0,720 [#]
	T3 ^{ab}	17,6	3,1	17,1	3,8	12,6	22,6		17,6	3,8	16,8	6,6	11,7	23,3		0,979 [#]
Lipídeos (%)	T1 ^{ab}	30,8	5,1	32,8	10,3	22,3	36,8	0,688 [£]	30,6	9,4	27,7	12,3	20,5	51,9	0,637 [£]	0,951 [#]
	T3 ^{ab}	31,3	4,5	31,3	6,5	24,7	40,1		32,4	7,6	33,3	13,7	20,3	42,0		0,695 [#]
AGMI (g)	T1 ^{ab}	20,4	8,4	21,6	14,6	6,6	31,5	0,007 ^{£*}	17,9	6,7	15,7	11,5	9,8	30,7	0,721 [¥]	0,480 [#]
	T3 ^a	16,1	6,5	15,7	9,3	6,3	26,6		22,5	16,4	22,1	13,4	10,1	68,0		0,622 ⁺
AGPI (g)	T1 ^{ab}	12,1	5,0	14,6	8,7	4,1	17,6	0,121 [£]	8,7	3,5	8,3	5,3	4,2	14,8	0,575 [¥]	0,086 [#]
	T3	10,3	4,7	9,5	8,5	3,1	17,0		10,8	7,7	7,7	5,7	5,7	32,5		0,549 ⁺
AGS (g)	T1 ^{ab}	22,1	9,1	21,2	14,1	7,6	37,0	0,646 [¥]	19,8	6,3	18,1	8,1	11,9	34,1	0,878 [¥]	0,521 [#]
	T3	73,8	177,8	17,3	10,4	8,9	579,6		22,4	12,5	19,6	8,9	12,5	57,1		0,805 ⁺
Fibras (g)	T1 ^{ab}	23,0	10,1	20,5	13,5	11,3	43,1	0,569 [£]	19,0	11,6	18,4	15,7	5,5	40,5	0,285 [¥]	0,425 [#]
	T3 ^a	20,5	9,4	19,7	11,5	4,6	40,2		20,0	14,3	14,2	14,5	6,7	55,9		0,307 ⁺

DP: Desvio padrão; IQ: Intervalo interquartil; Mín: Valores mínimos; Máx: Valores Máximos; T: Tempo; T1: Linha de base; T3: Após 8 semanas; AGMI: Ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: Ácidos graxos poli-insaturados; AGS: Ácidos graxos saturados.

^aMedidas com distribuição normal no grupo óleo de soja; ^bMedidas com distribuição normal no grupo óleo de peixe; *p1*: Comparação das variáveis entre os tempos T1 e T3; *p2*: Comparação das variáveis entre os diferentes tratamentos; [#]Teste-t de Student para amostras independentes entre os tratamentos; ⁺Teste U de Mann-Whitney entre os tratamentos; [£]Teste-t para amostras pareadas; [¥]Teste de Wilcoxon; *Diferença estatística (p<0,05)

Tabela 4. Avaliação das variáveis relacionadas a RI, perfil lipídico, índices aterogênicos, função tireoidiana, hepática e renal, citocinas e MDA e comparação em relação ao tempo de tratamento e entre os diferentes tratamentos (Parte 1)

	T	Óleo de soja (n=12)					Óleo de Peixe (n=12)					
		Média(DP)	Mediana(IIQ)	Mín	Máx	p1	Média(DP)	Mediana(IIQ)	Mín	Máx	p1	p2
Glicemia (mg/dL)	T1 ^{ab}	121,6(28,8)	113,5(44,5)	92,0	181,0	0,071 [£]	133,1(33,7)	129,5(41,5)	93,0	213,0	0,441 [¥]	0,378 [#]
	T3 ^a	114,1(19,4)	109,0(25,8)	93,0	159,0		133,5(52,8)	120,5(53,5)	90,0	283,0		
Insulina (µU/mL)	T1 ^a	10,1(4,2)	9,9(6,7)	5,8	17,5	0,462 [£]	14,2(13,1)	10,1(7,8)	6,4	54,1	0,657 [¥]	0,355 ⁺
	T3 ^a	11,0(5,9)	9,9(11,4)	4,1	20,1		13,9(8,1)	11,7(8,7)	6,3	30,3		
HbA1C (%)	T1 ^{ab}	6,1(0,6)	6,1(1,2)	5,2	7,2	0,614 [£]	6,3(1,3)	6,0(1,8)	5,0	9,3	0,128 [£]	0,590 [#]
	T3 ^{ab}	6,2(0,7)	6,0(1,0)	5,4	7,4		6,5(1,6)	6,1(2,3)	4,9	10,3		
HOMA-IR	T1	3,1(2,0)	2,4(2,5)	1,4	7,6	0,875 [¥]	4,5(4,6)	3,2(2,1)	2,1	18,9	0,424 [¥]	0,204 ⁺
	T3 ^{ab}	3,2(2,1)	2,4(3,7)	0,9	7,7		4,3(2,3)	3,6(3,9)	1,6	8,6		
HOMA-β	T1 ^{ab}	68,7(28,8)	67,4(35,6)	29,9	139,5	0,241 [£]	87,0(67,8)	64,2(109,9)	22,4	237,9	0,477 [¥]	0,404 [#]
	T3 ^a	79,0(37,0)	70,4(54,7)	34,8	158,3		103,8(92,6)	80,3(96,9)	17,9	352,9		
CT (mg/dL)	T1 ^{ab}	174,8(48,9)	186,5(60,0)	52,0	242,0	0,074 [£]	236,1(52,7)	244,0(86,8)	133,0	300,0	0,386 [£]	0,007 ^{**}
	T3 ^{ab}	193,1(26,6)	191,0(46,5)	162,0	240,0		245,8(43,6)	250,5(76,8)	185,0	312,0		
LDL (mg/dL)	T1 ^{ab}	106,0(25,1)	107,5(42,0)	63,0	135,0	0,170 [£]	147,5(45,9)	159,5(66,3)	70,0	217,0	0,725 [£]	0,012 ^{**}
	T3 ^{ab}	112,6(30,3)	105,0(60,5)	70,0	158,0		150,6(42,7)	151,0(46,0)	80,0	236,0		
HDL (mg/dL)	T1 ^{ab}	47,0(11,0)	47,0(14,8)	29,0	66,0	0,403 [£]	54,6(12,5)	52,0(17,8)	33,0	79,0	0,198 [£]	0,129 [#]
	T3 ^{ab}	48,8(13,4)	45,5(23,3)	28,0	67,0		57,3(13,6)	57,0(18,5)	33,0	81,0		

DP: Desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil; Min: Valores mínimos; Max: Valores Máximos; T: Tempo; T1: Linha de base; T3: Após 8 semanas; HbA1C: Hemoglobina Glicosilada; HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance (Modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina); HOMA-β: Homeostasis model assessment of beta-cell function (Modelo de avaliação da homeostase da função das células β); CT: Colesterol total; HDL: High-density lipoprotein (Lipoproteína de alta densidade); LDL: Low-density lipoprotein (Lipoproteína de baixa densidade); TG: Triglicérides; IAP: Índice aterogênico do plasma; AST: Aspartato aminotransferase; ALT: Alanina aminotransferase;

^aMedidas com distribuição normal no grupo óleo de soja; ^bMedidas com distribuição normal no grupo óleo de peixe; ^{p1}: Comparação das variáveis entre os tempos T1 e T3; ^{p2}: Comparação das variáveis entre os diferentes tratamentos; [#]Teste-t de Student para amostras independentes entre os tratamentos; ⁺Teste U de Mann-Whitney entre os tratamentos; [£]Teste-t para amostras pareadas; [¥]Teste de Wilcoxon; *Diferença estatística (p<0,05)

Tabela 4. Avaliação das variáveis relacionadas a RI, perfil lipídico, índices aterogênicos, função tireoidiana, hepática e renal, citocinas e MDA e comparação em relação ao tempo de tratamento e entre os diferentes tratamentos (Parte 2)

	T	Óleo de soja (n=12)					Óleo de Peixe (n=12)					
		Média (DP)	Mediana (IIQ)	Mín	Máx	<i>p1</i>	Média (DP)	Mediana (IIQ)	Mín	Máx	<i>p1</i>	<i>p2</i>
TG (mg/dL)	T1 ^a	150,2(60,2)	145,5(96,3)	66,0	259,0	0,867 ^ε	170,6(110,3)	134,0(112,3)	83,0	481,0	0,838 [¥]	0,908 ⁺
	T3 ^{ab}	152,6(42,0)	160,5(69,0)	85,0	224,0		189,6(124,1)	163,0(201,8)	63,0	481,0		
Castelli 1	T1 ^{ab}	4,0(1,5)	4,1(1,3)	0,8	7,3	0,219 ^ε	4,4(1,1)	4,2(1,0)	2,9	6,7	0,945 ^ε	0,423 [#]
	T3 ^{ab}	4,3(1,4)	4,1(2,3)	2,5	7,4		4,4(1,0)	4,0(1,7)	3,0	6,3		
Castelli 2	T1 ^{ab}	2,4(1,0)	2,5(1,2)	1,0	4,7	0,539 ^ε	2,7(0,8)	2,6(0,9)	1,5	4,8	0,922 ^ε	0,444 [#]
	T3 ^{ab}	2,5(1,3)	2,2(2,1)	1,0	5,1		2,7(0,8)	2,5(1,2)	1,6	4,5		
IAP	T1 ^a	0,5(0,2)	0,4(0,3)	0,1	0,9	0,779 ^ε	0,4(0,3)	0,4(0,2)	0,2	1,2	0,894 [¥]	0,285 ⁺
	T3 ^{ab}	0,5(0,2)	0,5(0,2)	0,2	0,8		0,5(0,3)	0,4(0,4)	0,0	1,2		
TSH (μU/mL)	T1 ^a	2,0(1,1)	2,0(1,9)	0,5	3,9	0,388 ^ε	2,2(3,0)	1,5(1,3)	0,1	11,5	0,374 ^ε	0,273 ⁺
	T3 ^a	2,2(1,8)	1,5(2,2)	0,7	7,0		2,3(2,9)	1,6(0,9)	0,4	11,5		
AST (U/L)	T1 ^a	23,7(6,6)	21,0(12,5)	17,0	36,0	0,126 [¥]	43,3(57,1)	25,0(11,3)	21,0	224,0	0,593 [¥]	0,082 ⁺
	T3 ^a	27,4(12,1)	23,0(7,3)	17,0	60,0		43,3(51,0)	26,0(16,8)	20,0	203,0		
ALT (U/L)	T1	20,2(8,3)	18,0(6,3)	11,0	40,0	0,329 [¥]	50,7(78,4)	26,0(16,5)	19,0	298,0	0,929 [¥]	0,400 ⁺
	T3	22,4(9,4)	20,5(16,3)	10,0	40,0		52,3(63,9)	27,0(36,3)	12,0	243,0		
Creatinina (mg/dL)	T1 ^{ab}	0,84(0,20)	0,80(0,20)	0,50	1,30	0,726 ^ε	0,77(0,12)	0,80(0,25)	0,60	0,97	0,796 [¥]	0,304 [#]
	T3 ^a	0,85(0,16)	0,90(0,25)	0,60	1,10		0,83(0,12)	0,90(0,10)	0,60	0,99		

DP: Desvio padrão; IIQ: Intervalo interquartil; Min: Valores mínimos; Max: Valores Máximos; T: Tempo; T1: Linha de base; T3: Após 8 semanas; HbA1C: Hemoglobina Glicosilada; HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance (Modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina); HOMA-β: Homeostasis model assessment of beta-cell function (Modelo de avaliação da homeostase da função das células β); CT: Colesterol total; HDL: High-density lipoprotein (Lipoproteína de alta densidade); LDL: Low-density lipoprotein (Lipoproteína de baixa densidade); TG: Triglicérides; IAP: Índice aterogênico do plasma; AST: Aspartato aminotransferase; ALT: Alanina aminotransferase;

^aMedidas com distribuição normal no grupo óleo de soja; ^bMedidas com distribuição normal no grupo óleo de peixe; *p1*: Comparação das variáveis entre os tempos T1 e T3; *p2*: Comparação das variáveis entre os diferentes tratamentos; [#]Teste-t de Student para amostras independentes entre os tratamentos; ⁺Teste U de Mann-Whitney entre os tratamentos; ^εTeste-t para amostras pareadas; [¥]Teste de Wilcoxon; *Diferença estatística (*p*<0,05)

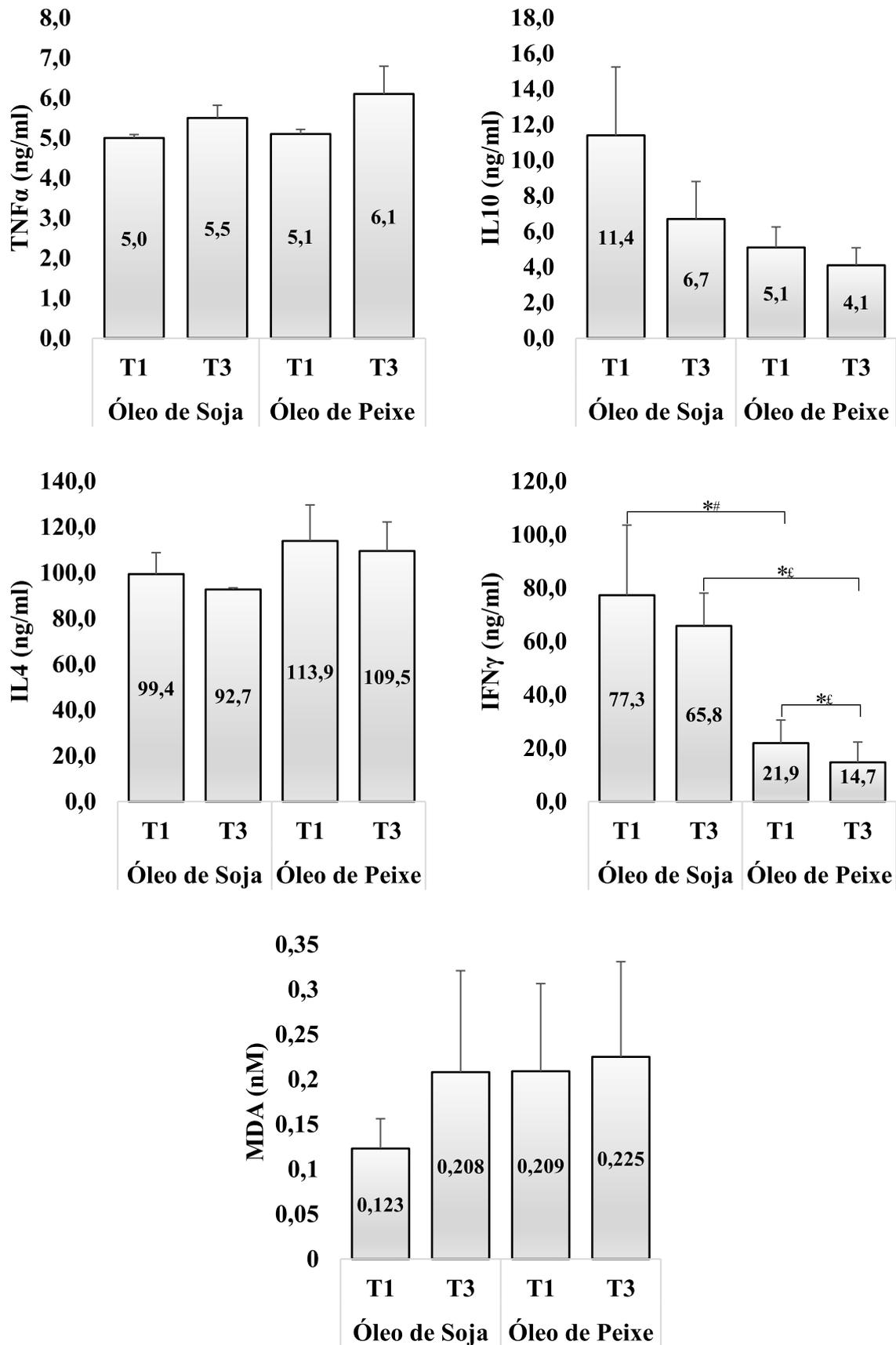


Figura 5. Média (Erro padrão) dos marcadores de inflamação subclínica e peroxidação lipídica
[#]Teste-t de Student para amostras independentes; [‡]Teste-t para amostras pareadas; *Diferença estatística ($p > 0,05$)

Tabela 5. Correlação entre as concentrações de eritrócitos nos tratamentos e tempos analisados com os marcadores de inflamação subclínica.

		Óleo de soja (n=12)		Óleo de peixe (n=12)	
		T1	T3	T1	T3
TNF α (ng/ml)	r_s	-0,497	-0,238	0,084	0,434
	p	0,101	0,457	0,795	0,159
IFN γ (ng/ml)	r_s	-0,460	0,168	-0,770	-0,176
	p	0,888	0,602	0,812	0,584
IL10 (ng/ml)	r_s	0,280	0,028	0,217	0,748 ^c
	p	0,931	0,931	0,499	0,005**
IL4 (ng/ml)	r_s	-0,105	-0,438	-0,336	-0,252
	p	0,746	0,155	0,286	0,430

TNF α : Fator de necrose tumoral alfa (Tumor necrosis factor alpha); IFN γ : Interferon gamma; IL10: Interleucina 10; IL4: Interleucina 4.

r_s : Coeficiente de correlação de Spearman; **Correlação significativa a nível de $p < 0,01$; ^cCoeficiente de determinação (r_s^2) = 56%

7 DISCUSSÃO

O presente estudo teve por objetivos avaliar o efeito da suplementação de 2,4g/dia de ômega-3 (EPA+DHA) por 8 semanas, na melhora de parâmetros inflamatórios e de RI. Para isso, selecionamos uma população de indivíduos com excesso de peso e RI que já faziam uso de medicação hipoglicemiante. O protocolo proposto foi capaz de promover redução dos níveis plasmáticos de IFN γ , contudo, sem afetar os demais desfechos analisados principalmente inflamação subclínica e RI. Em adição, também não observamos modificação em características antropométricas e de composição corporal (que necessitariam de um balanço calórico negativo para ocorrerem).

A inflamação, embora seja um processo natural de defesa do organismo, necessita ser regulada. Em eventual falha dos processos de regulação, essa inflamação torna-se persistente e crônica, levando a danos em tecidos e perpetuação do sinal inflamatório. Nesse contexto, os processos de resolução da inflamação são responsáveis pelo controle da homeostase no tecido inflamado e são mediados pelos SPMs (Liu *et al.*, 2024; Shan *et al.*, 2020). As resolvinas D1 e D2 são alguns mediadores lipídicos derivados de DHA com efeitos anti-inflamatórios modulando a ativação de células do sistema imune como os macrófagos, em especial pela mudança na polarização de M1 para M2 (Liu *et al.*, 2024; Shan *et al.*, 2020). Além disso, essas resolvinas estimulam maior secreção de IL10 em M2 e redução de IFN γ (Shan *et al.*, 2020). A redução dos níveis de IFN γ observadas em nosso estudo pode indicar o início desse processo

de resolução da inflamação. O IFN γ é uma citocina pró-inflamatória também utilizada como marcador do processo de polarização dos macrófagos M2 para o fenótipo M1 (Martinez e Gordon, 2014). Embora não tenha sido observado nenhuma modificação nos níveis de IL4 (marcador do processo de polarização de M1 para M2), a redução de IFN γ pode indicar um estímulo inicial para resolução da inflamação na qual acarretaria redução da população de macrófagos M1 e conseqüente redução da produção de citocinas inflamatórias no tecido adiposo. No ensaio multicêntrico para prevenção de doenças cardiovasculares, PREDIMED, conduzido com 280 indivíduos na população espanhola idosa, observou-se que o ômega-3 na membrana celular correlacionou-se negativamente com os níveis de IFN γ (Muralidharan *et al.*, 2019). Stupin *et al.* (2020) avaliaram os efeitos do consumo de ovos de galinha enriquecidos com ômega-3 (1053mg/dia) em 19 indivíduos saudáveis durante 3 semanas. O tratamento promoveu redução dos níveis de IFN γ e aumento de IL10. Entretanto, a suplementação de 2g/dia de ômega-3 por 4 semanas em indivíduos com hipertrigliceridemia no estudo de Krysiak *et al.* (2011) não produziu o mesmo efeito tanto nos níveis de IFN γ (e também TNF α), apesar de promoverem redução dos TG. Embora os níveis de IFN γ pareçam responder aos tratamentos com ômega-3, esses resultados ainda são conflitantes na literatura. Nosso ensaio clínico parece ter sido o primeiro a demonstrar uma redução significativa do IFN γ em indivíduos com RI e excesso de peso.

O efeito anti-inflamatório do ômega-3 se justifica também pela sua função de estabilização da membrana celular e de sinalização por meio do receptor GPR120, o que promove ativação de receptores nucleares como os PPAR e conseqüente redução de sinalização da via do NF κ B resultando na redução da produção de citocinas em células como os macrófagos (Qian *et al.*, 2021). O tecido adiposo branco, principalmente o visceral, parece desempenhar importante papel na RI e disfunções metabólicas. A inflamação nesse tecido parece ter relação com a infiltração e diferenciação de macrófagos no fenótipo M1. Nesse contexto, a perda de peso parece fundamental para que ocorram melhoras no perfil inflamatório do indivíduo obeso e conseqüentemente em suas comorbidades. Bakker e colaboradores não observaram redução no peso e IMC ou melhora em níveis séricos de insulina, glicose, IL6, IL10 e TNF α em mulheres com obesidade (IMC médio de 43kg/m²) após intervenção de 4 semanas com suplementação de 3,36g de ômega-3 associado a uma dieta de até 2000kcal (Bakker *et al.*, 2023). Embora as médias de TNF α (18,9pg/ml) fossem mais elevadas do que as observadas em nosso estudo (5,1pg/ml), a perda de peso parece importante para que seja observada melhora do estado inflamatório. Nesse mesmo estudo, em uma amostra de sangue estimulada com LPS,

foi observado aumento nos níveis de IL10 o que pode indicar um estímulo de resolução dessa inflamação, mas que dependeria de outros fatores para ser continuada. No ensaio clínico de Kabir *et al.* (2007), os voluntários apresentaram média de TNF α (5,5pg/ml) mais próximos das observadas em nosso estudo. No referido estudo, a suplementação com 1,8g de ômega-3 por 2 semanas não promoveu nenhum resultado nesse e em outros marcadores de inflamação. Os autores reforçam quanto a necessidade da redução da adiposidade para melhora do perfil inflamatório. Entretanto, devido a meia vida curta de algumas citocinas, esse efeito não seria observado dentro do tempo proposto em alterações plasmáticas de citocinas como o TNF α por exemplo (Levitsky *et al.*, 2022). Embora seja muito aceito na literatura que a inflamação subclínica é uma característica presente em indivíduos com RI e excesso de peso, a avaliação de marcadores como os utilizados em nosso estudo em nível plasmático pode não apresentar diferenças em relação a indivíduos saudáveis. A comparação dos níveis de citocinas entre 359 indivíduos com e sem RI (estimada por HOMA-IR) não demonstrou diferenças nos níveis de TNF α e IL10, mesmo que o grupo com RI apresentasse IMC maior (Bersch-Ferreira *et al.*, 2018). A manutenção de níveis mais altos de IL10 (descrito pelos autores) em ambos os grupos pode ter colaborado pela manutenção de baixos valores de TNF α . Os valores dessas citocinas são similares ao observados em nosso estudo podendo indicar que, mesmo em estado de RI, nossa população apresentasse um estado inflamatório mais próximo do basal, embora com possíveis implicações clínicas a longo prazo. A relação observada entre a incorporação de ômega-3 e IL10 (citocina anti-inflamatória), a redução do IFN γ (possivelmente relacionada ao processo de resolução da inflamação) e a manutenção nos níveis de TNF α sugerem que os voluntários do nosso estudo estivessem em estado menos inflamatório do que o possivelmente observado em populações com IMC mais elevado e maior número de comorbidades associadas.

Não foi possível dosar o ômega-3 nos eritrócitos e calcular o IO3 em nosso estudo. Contudo, utilizamos os valores obtidos de hemácias como um parâmetro indireto uma vez que se correlacionam fortemente com o IO3 (Harris, 2010). Foi observada uma correlação forte, positiva e significativa ($r=0,748$; $p=0,005$) entre os níveis de hemácias e o IL10 no grupo óleo de peixe após as 8 semanas. Essa correlação não foi observada na linha de base, indicando que a associação entre esses dois marcadores possa ter ocorrido em função de maior incorporação de ômega-3 na membrana eritrocitária dos voluntários após o protocolo do estudo. Além disso, a IL10 é uma importante citocina no processo de resolução da inflamação, essa correlação também pode indicar possíveis efeitos relacionados com as SPSs. Um estudo com camundongos observou elevação do IO3 a níveis cardioprotetores associado ao aumento nas

concentrações de resolvina D1 uma dieta rica em EPA e DHA (Bürgin-Maunders *et al.*, 2016). Entretanto, sabemos que a correlação direta do IO3 dos nossos voluntários com as citocinas analisadas ainda é essencial para atestar quanto a esses efeitos anti-inflamatórios.

O recrutamento da nossa amostra com RI foi realizado adotando-se como critério o uso da metformina por pelo menos 6 meses antes do início do estudo e devidamente prescrita por um profissional médico. Além dos já conhecidos efeitos na redução da RI, sendo utilizada em muitos casos como primeira linha de tratamento no DM2, essa medicação possui efeitos anti-inflamatórios em nível de produção de citocinas, como a redução de IFN γ e TNF α e aumento de IL10 e IL4 em macrófagos. Além disso, promovem melhora do estresse oxidativo por meio da redução da ação de enzimas como a COX2 (Bharath e Nikolajczyk, 2021; Hyun *et al.*, 2013). Nesse contexto, é possível que os pacientes do presente estudo tenham iniciado o protocolo em um estado de inflamação subclínica e RI menor do que o esperado para essa população.

A suplementação com ômega-3 em nosso estudo mantiveram estáveis os níveis de MDA durante as 8 semanas. Tais resultados são positivos considerando que a literatura sobre os efeitos do ômega-3 na peroxidação lipídica são controversos. A peroxidação lipídica é um processo pelo qual as ERO capturam elétrons de moléculas lipídicas nas membranas celulares (Heshmati *et al.*, 2019). O MDA é o produto desse processo originado a partir da quebra dos ômega-6 na membrana celular. Seus níveis elevados em condições metabólicas como o DM2, demonstram sua importância nos processos de RI (Heshmati *et al.*, 2019). Ishihara *et al.* (2019) em meta-análise, avaliaram 25 ensaios clínicos sobre o efeito da suplementação de ômega-3 em diversas populações sobre os níveis de MDA. Embora os autores tenham concluído que o ômega-3 exerça efeitos positivos no MDA em populações com DM2, diversos estudos sem resultados ou que demonstraram aumento no MDA foram identificados. Pooya *et al.* (2010) suplementaram durante 2 meses com 2714mg/dia de ômega-3 (EPA+DHA) indivíduos com DM2 (n=40) e não observaram nenhum resultado nos níveis de MDA. Entretanto, Jazayeri *et al.* (2012) suplementando uma pequena dose de ômega-3 por 8 semanas (500mg de EPA/dia) identificaram aumento significativo no MDA em indivíduos com DM2. Por possuírem maior número de duplas ligações, os AGPI seriam mais susceptíveis a peroxidação (Pooya *et al.*, 2010). Embora pareça exercer importante papel na melhora da inflamação, os resultados no EO, sobretudo nos níveis de MDA necessitam de mais estudos.

A melhora da RI com a suplementação de ômega-3 é um assunto controverso na literatura. Tais resultados conflitantes podem ser devido aos diferentes protocolos de

tratamento, heterogeneidade das populações nos diversos estudos e, principalmente, do modo como a doença se manifesta com as mais variadas complicações metabólicas (Brown *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2020). Entretanto, vários estudos colaboram com resultados clínicos favoráveis no DM2. Em uma coorte com 65147 participantes, os níveis plasmáticos de ômega-3 (principalmente EPA e DHA) foram associados a menor incidência de DM2 principalmente em indivíduos com IMC > 30kg/m² (Qian *et al.*, 2021). Em ensaio clínico pré/pós realizado com 32 indivíduos com DM2, excesso de peso (IMC médio de 31,97kg/m²) e hipertrigliceridemia, a suplementação por 8 semanas com 2,4g de ômega-3 promoveu redução do HOMA-IR (Souza *et al.*, 2020). Estudos com tempo maior de intervenção demonstram resultados ainda mais consistentes no DM2. Um protocolo duplo-cego, randomizado e placebo controlado com suplementação de óleo de peixe rico em DHA (980mg/dia por 12 semanas) em indivíduos com obesidade abdominal e DM2 demonstrou redução significativa na insulina e no HOMA-IR, mas não na glicemia de jejum (Abbott *et al.*, 2020). Em outro estudo clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo com tempo similar de tratamento (3 meses), a suplementação de 2g de EPA em 32 indivíduos com DM2 e sobrepeso promoveu redução significativa da glicemia em jejum, insulina, HbA1c e HOMA-IR, quando comparado ao grupo placebo (Sarbolouki *et al.*, 2013).

Contudo, a grande variedade entre os protocolos clínicos ainda deixa dúvida quanto aos possíveis efeitos clínicos da suplementação de ômega-3 no DM2. Em meta-análise Brown *et al.* (2019), analisaram 66 estudos com suplementação de ômega-3 e seus resultados sugerem que doses maiores que 4,4g/dia podem acarretar em resultados negativos no controle do DM2 (sobretudo em níveis de HbA1C, HOMA-IR e GJ) e que doses menores que 4,4g/d promoveriam pouco ou nenhum efeito. Além disso, o tempo de tratamento não faria diferença para obtenção de melhores resultados. Entretanto, os autores são cuidadosos em afirmar que não é possível atribuir nenhum efeito negativo unicamente pela suplementação de ômega-3 nos estudos analisados. Em outra revisão, publicada na base de dados da Cochrane, a análise de 15 ensaios clínicos (totalizando 848 indivíduos) demonstrou que a suplementação com ômega-3 não promoveu melhora na HbA1C e GJ em indivíduos com DM2 (Hartweg *et al.*, 2008). Em um estudo prospectivo (*Women's Health Study*), a avaliação do consumo diário de ômega-3 marinho (EPA+DHA) de 36328 mulheres (acompanhadas por um período de 12,4 anos) demonstrou que a ingestão habitual média de 0,2g/dia aumentou o risco de desenvolvimento de DM2 (Djoussé *et al.*, 2011).

Mostad *et al.* (2006) realizaram um ensaio clínico, controlado e duplo-cego com suplementação de 17,6ml de óleo de peixe (5,9g de ômega-3) em 26 indivíduos com DM2 durante 9 semanas. O não uso de insulina como terapia e a ausência de hipertrigliceridemia foram usados como critérios de inclusão. Foi observado que o tratamento promoveu um aumento moderado da glicemia e redução da sensibilidade à insulina (medida por meio do peptídeo C e de clamp euglicêmico-hiperinsulinêmico). Os autores destacam a relevância do ômega-3 no tratamento da hipertrigliceridemia e que a melhora dessa condição geralmente acompanha melhora nos marcadores de RI. Contudo, em indivíduos com TG normais, mesmo com DM2, essa suplementação deve ser desencorajada. Similarmente, em ensaio clínico, controlado e duplo cego, Kabir *et al.* (2007) avaliaram a suplementação por 2 semanas de 1,8g de ômega-3 em mulheres com DM2, excesso de peso (IMC entre 27 e 40kg/m²) e sem hipertrigliceridemia. Embora as voluntárias tenham iniciado já com níveis normais de TG, foi observado melhora nesse parâmetro, porém, sem alterações na GJ, HbA1c, HOMA-β, HOMA-IR ou no clamp euglicêmico-hiperinsulinêmico. Em nosso trabalho, a manutenção das medidas antropométricas pode ter colaborado com os resultados observados na RI, uma vez que a perda de peso é uma recomendação de tratamento no DM2. Além disso, apesar da maior parte dos nossos voluntários apresentaram alterações na GJ (n=19) e HbA1C (n=16), somente 9 indivíduos apresentaram hipertrigliceridemia. A melhora dos níveis elevados de TG parecem exercer importante papel na melhora da RI, relacionada a suplementação de ômega-3 e a normalidade desse parâmetros na maioria da nossa amostra pode ter colaborado para a manutenção dos resultados após o tratamento.

O grande número (em quantidade e variedade) de estudos com resultados conflitantes deixa claro os questionamentos sobre os benefícios da suplementação de ômega-3 no DM2. Contudo, todos os estudos citados com resultados desfavoráveis reforçam de algum modo que os achados não incentivam a proibição do consumo de ômega-3 ou mesmo descartam seus importantes efeitos na saúde como na prevenção de eventos cardiovasculares, principalmente na redução de TG (Brown *et al.*, 2019; Djoussé *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2020; Kabir *et al.*, 2007; Mostad *et al.*, 2006). O consumo em quantidades acima das recomendadas com tempo de tratamento insuficiente ou muito acima da média da literatura parecem ser determinantes para esses resultados desfavoráveis na RI e DM2. Todos os autores reforçam a necessidade de estudos contínuos para melhor compreensão dos efeitos da suplementação de ômega-3 na clínica do DM2 (Brown *et al.*, 2019; Kabir *et al.*, 2007; Mostad *et al.*, 2006).

Outras características dos nossos voluntários podem ter contribuído para ausência de resultados na RI. Alguns indivíduos já apresentavam normalidade da glicemia de jejum (n=5), HbA1C (n=9) e HOMA-IR (n=10) na linha de base do estudo provavelmente em decorrência já do uso de medicação hipoglicemiante. Somente o HOMA- β foi o parâmetro que estava alterado em todos os voluntários desde o início do estudo. Contudo, este parâmetro por sua vez não é utilizado como padrão para diagnóstico e monitoramento do pré-diabetes ou RI. Além disso, o tempo de intervenção (8 semanas) pode ter sido insuficiente para avaliação da HbA1C por exemplo (Liu *et al.*, 2022). A maioria dos estudos que demonstraram melhora de variáveis relacionadas a RI utilizaram critérios de inclusão baseado no diagnóstico de DM2 como glicemia de jejum >100 mg/dL e HbA1C > 7% ou confirmação médica de diagnóstico da doença (Burhop *et al.*, 2022; Souza *et al.*, 2020; Werida *et al.*, 2023).

Não observamos alterações no perfil lipídico ou índices aterogênicos analisados. Os resultados no perfil lipídico, principalmente em relação ao TG (consequentemente do IAP), são bem observados em indivíduos com ou sem hipertrigliceridemia, embora essa seja uma condição de saúde na qual a suplementação de ômega-3 é recomendada (Ballantyne *et al.*, 2012; Bays *et al.*, 2011; Kastelein *et al.*, 2014). Os trabalhos de Souza *et al.* (2020) (32 indivíduos suplementados com 2,4g de ômega-3 por 8 semanas) e Mazaherioun *et al.* (2018) (44 indivíduos suplementados com 2,7g de ômega-3 por 10 semanas) compartilham resultados semelhantes em indivíduos com DM2 e excesso de peso na redução de TG e IAP. No entanto, em ambos os estudos os voluntários do tratamento com ômega-3 apresentavam médias elevadas de TG no início do estudo (>200mg/dL e >300mg/dL respectivamente) em comparação com nossos voluntários (170,6mg/dL), o que pode ter colaborado com os resultados observados. Entretanto, alguns resultados ainda são conflitantes quando avaliam o efeito da suplementação de ômega-3 no perfil lipídico (Bhat *et al.*, 2023). O ensaio clínico duplo-cego, randomizado e multicêntrico STRENGTH (*Study to Assess Statin Residual Risk with Epanova in High Cardiovascular Risk Patients with Hypertriglyceridemia*) é um dos maiores estudos conduzidos com a suplementação de ômega-3. Neste ensaio a suplementação de 4g/dia de ômega em 6539 indivíduos adultos com alto risco cardiovascular por um tempo máximo de 5 anos promoveu aumento de LDL e HDL e nenhum benefício cardiovascular (Nicholls *et al.*, 2020).

Os mecanismos para controle da RI com o ômega-3 dependem em grande parte da melhora da inflamação subclínica. Contudo, o controle da hipertrigliceridemia é impactada pela capacidade do ômega-3 em reduzir a síntese hepática de TG e aumentar a expressão e atividade da lipoproteína lipase (LPL) e de receptores celulares como o PPAR, aumentando a captação

de ácidos graxos livres para armazenamento e oxidação nos tecidos periféricos (Backes *et al.*, 2016; Moon *et al.*, 2022; Muralidharan *et al.*, 2019). Embora a insulina exerça importante papel ao induzir a expressão e atividade da LPL, o controle dos níveis de TG parece ocorrer independente da melhora da RI mesmo em pacientes com DM2 (Gao *et al.*, 2020). Entretanto, o impacto no ômega-3 nas outras partículas lipídicas ainda é controverso em especial sobre o LDL. Doses de ômega-3 acima das recomendações usuais (entre 4 e 5g/dia) além de aumentarem a síntese de LDL (em parte pela capacidade do DHA promover a hidrólise de moléculas de lipoproteína de densidade muito baixa), promoveriam maior peroxidação dessa molécula (Backes *et al.*, 2016; Pooya *et al.*, 2010). Nesse contexto, a dose de ômega-3 oferecida em nosso estudo (2,4g/dia) foi segura em manter os níveis de LDL estáveis durante as 8 semanas considerando que a maioria dos voluntários apresentavam níveis limítrofes ou normais dessa lipoproteína (n=18).

Acreditamos que nossa principal limitação foi não ser possível realizar o recrutamento dos voluntários com base em critérios clínicos para avaliação da RI em adultos, tendo nossa amostra apresentado indivíduos com controle da maioria dos parâmetros analisados já na linha de base. O estado inflamatório dos nossos voluntários também poderia estar abaixo do esperado para uma população com níveis inflamatórios consideravelmente maiores. Desse modo, uma amostra somente com indivíduos obesos e/ou com outras comorbidades associadas, poderiam responder melhor aos efeitos anti-inflamatórios do ômega-3. Além disso, a inclusão de um grupo controle eutrófico de RI poderia colaborar para identificar um estado inflamatório mais exacerbado em nossos voluntários. Também não completamos o número de indivíduos determinado pelo nosso cálculo amostral (n=30), uma vez que a avaliação dos resultados obtidos com nossas variáveis de desfecho primário não tenham apresentado diferença estatística que justificassem o recrutamento de mais voluntários além de que os dados indicaram que nossa população não apresentassem um grau elevado de inflamação subclínica. Entretanto, tivemos o cuidado de estabelecer uma dose de ômega-3 (2,4g/dia) já testada anteriormente protocolo similar, porém com indivíduos com maior número de comorbidades (excesso de peso, DM2 e hipertrigliceridemia) no estudo de Souza *et al.* (2020), no qual não foram identificados nenhum efeito colateral. Além disso, a dose utilizada em nosso estudo estava em acordo com a recomendação da Sociedade Brasileira de Cardiologia para tratamento de hipertrigliceridemia grave (2 a 4g/dia), única recomendação oficial brasileira para o tratamento de alguma patologia atribuída ao ômega-3 (Izar *et al.*, 2021). Diferente de outros estudos que utilizaram substâncias inertes como glicerina ou óleo mineral (que podem superestimar resultados observados com a

suplementação de ômega-3), utilizamos cápsulas com óleo de soja (produto amplamente consumido na população brasileira) com aparência e textura muito semelhantes as cápsulas de óleo de peixe, contribuindo para o bom cegamento e avaliação final dos resultados.

Nosso estudo também parece ser um dos poucos a observar os efeitos do ômega-3 na redução do IFN γ plasmático em indivíduos com RI e excesso de peso. A análise das demais citocinas também foi de grande relevância pois observamos que mesmo indivíduos com algum grau de RI, ainda mantém esses marcadores em níveis similares ao observado em populações saudáveis em outros estudos (Bersch-Ferreira *et al.*, 2018; Kabir *et al.*, 2007). Embora não existam doses seguras recomendadas especificamente para o tratamento do DM2, nosso trabalho foi cuidadoso em monitorar o efeito do tratamento em marcadores da função renal, hepática e tireoidiana, os quais não variaram durante o estudo. Além disso, a eructação no grupo óleo de peixe, foi o único efeito adverso relatado durante todo o estudo. Enquanto outras medicações, sobretudo para o controle glicêmico e do perfil lipídico (como metformina, fibratos, estatinas, niacina e orlistat) apresentem interação medicamentosa e efeitos colaterais bem relatados, o ômega-3 tem se mostrado seguro dentro das doses recomendadas. Os resultados na inflamação de baixo grau observados no nosso e em outros estudos, demonstram que a suplementação de ômega-3 pode funcionar como terapia adjuvante em terapias que tenham com alvo essas moléculas e futuramente colaborar com o tratamento de condições como a RI, dislipidemia e outros distúrbios metabólicos. Contudo, quando discutimos nossos achados comparando ao estado da arte literal, parece que o uso desse óleo demonstra maiores efeitos positivos quando o paciente se encontra num estágio mais avançado e descompensado da doença. Mais ensaios clínicos com populações mais inflamadas e/ou com grupo de controle são importante para melhor definição de tempo e dose necessários para o tratamento, em especial, da inflamação subclínica e RI com o ômega-3

CONCLUSÃO

A suplementação com ômega-3 promoveu melhora da inflamação subclínica com redução dos níveis de IFN γ nos indivíduos com excesso de peso e resistentes a insulina. Além disso, foi observada correlação forte, positiva e significativa dos níveis de eritrócitos (marcadores indiretos da incorporação do ômega-3) e IL10 após o consumo de ômega-3. Entretanto, não foram observadas alterações nos marcadores de RI. Estudos futuros em populações mais inflamadas (indivíduos com obesidade e/ou comorbidades associadas) e com adoção de um grupo controle eutrófico (com grau de inflamação menor) podem contribuir para melhor conhecimento e eficácia do ômega-3 no tratamento da inflamação subclínica e de doenças relacionadas como o DM2.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, K. A.; BURROWS, T. L.; ACHARYA, S.; THOTA, R. N. *et al.* DHA-enriched fish oil reduces insulin resistance in overweight and obese adults. **Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids.**, 159, n. 102154, 2020.

ABBOTT, K. A.; VEYSEY, M.; LUCOCK, M.; NIBLETT, S. *et al.* Sex-dependent association between erythrocyte n-3 PUFA and type 2 diabetes in older overweight people. **The British journal of nutrition**, 115, n. 8, p. 1379-1386, 2016.

AINSWORTH, B. E.; BASSETT-JR, D. R.; STRATH, S. J.; SWARTZ, A. M. *et al.* Comparison of three methods for measuring the time spent in physical activity. **Medicine Science and Sports Exercise**, 32, n. Suppl 9, p. s457-s464, 2000.

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.

ARONIS, K. N.; MANTZOROS, C. S. A brief history of insulin resistance: from the first insulin radioimmunoassay to selectively targeting protein kinase C pathways. **Metabolism: clinical and experimental**, 61, n. 4, p. 445-449, 2012.

AZEVEDO, A. C. S. F.; LIMA, M. F. C.; RAMOS, E. L. L.; MOREIRA, A. P. B. *et al.* Efeitos da suplementação de óleo de abacate sobre o perfil lipídico e índices aterogênicos em intervenção duplo-cego e randomizada em pacientes com síndrome metabólica. **Demetra: Alimentação, Nutrição e Saúde**, 18, p. 1-11, 2023.

BACKES, J.; ANZALONE, D.; HILLEMANN, D.; CATINI, J. The clinical relevance of omega-3 fatty acids in the management of hypertriglyceridemia. **Lipids in health and disease**, 15, n. 118, p. 1-12, 2016.

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, n. 2023, p. 1-9, 2023.

BALLANTYNE, C. M.; BAYS, H. E.; KASTELEIN, J. J.; STEIN, E. *et al.* Efficacy and Safety of Eicosapentaenoic Acid Ethyl Ester (AMR101) Therapy in Statin-Treated Patients With Persistent High Triglycerides (from the ANCHOR Study). **Preventive Cardiology**, 110, n. 7, p. 984-992, 2012.

BAYS, H. E.; BALLANTYNE, C. M.; KASTELEIN, J. J.; ISAACSOHN, J. L. *et al.* Eicosapentaenoic Acid Ethyl Ester (AMR101) Therapy in Patients With Very High Triglyceride Levels (from the Multi-center, placebo-controlled, Randomized, double-blind, 12-week study with an open-label Extension [MARINE] Trial). **Preventive Cardiology**, 108, n. 5, p. 682-690, 2011.

BERSCH-FERREIRA, Â. C.; SAMPAIO, G. R.; GEHRINGER, M. O.; TORRES, E. A. F. S. *et al.* Association between plasma fatty acids and inflammatory markers in patients with and without insulin resistance and in secondary prevention of cardiovascular disease, a cross-sectional study. **Nutrition journal**, 17, n. 2018, p. 1-10, 2018.

BHARATH, L. P.; NIKOLAJCZYK, B. S. The intersection of metformin and inflammation. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, 320, n. 5, p. 873-879, 2021.

BHAT, S.; SARKAR, S.; ZAFFAR, D.; DANDONA, P. *et al.* Omega-3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease and Diabetes: a Review of Recent Evidence. **Current cardiology reports**, 25, n. 2, p. 51-65, 2023.

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. 131 p.

BRAY, G. A.; GRAY, D. S. Obesity. Part I--Pathogenesis. **Western Journal Medicine**, 149, n. 4, p. 429-441, 1988.

BROWN, T. J.; BRAINARD, J.; SONG, F.; WANG, X. *et al.* Omega-3, omega-6, and total dietary polyunsaturated fat for prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **BMJ : British medical journal**, 366, n. 2019, 2019.

BÜRGIN-MAUNDER, C. S.; NATAATMADJA, M.; VELLA, R. K.; FENNING, A. S. *et al.* Investigation of long chain omega-3 PUFAs on arterial blood pressure, vascular reactivity and survival in angiotensin II-infused Apolipoprotein E-knockout mice. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, 43, n. 2, p. 174-181, 2016.

BURHOP, M.; SCHUCHARDT, J. P.; NEBL, J.; MÜLLER, M. *et al.* Marine Oil from *C. finmarchicus* Enhances Glucose Homeostasis and Liver Insulin Resistance in Obese Prediabetic Individuals. **Nutrients**, 14, n. 2, p. 1-14, 2022.

CLARK, L. F.; THIVIERGE, M. C.; KIDD, C. A.; MCGEOCH, S. C. *et al.* Fish oil supplemented for 9 months does not improve glycaemic control or insulin sensitivity in subjects with impaired glucose regulation: a parallel randomised controlled trial. **The British journal of nutrition**, 115, n. 1, p. 75-86, 2016.

COBAS, R.; RODACKI, M.; GIACAGLIA, L.; CALLIARI, L. *et al.* Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2. *In*: BERTOLUCI, M. (Ed.). **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022)**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Diabetes, 2023.

CRUZ-JENTOFT, A. J.; BAHAT, G.; BAUER, J.; BOIRIE, Y. *et al.* Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. **Age and ageing**, 48, n. 1, p. 16-31, 2019.

DJOUSSÉ, L.; GAZIANO, J. M.; BURING, J. E.; LEE, I.-M. Dietary omega-3 fatty acids and fish consumption and risk of type 2 diabetes. **The American journal of clinical nutrition**, 93, n. 1, p. 143-150, 2011.

ELSAYED, N. A.; ALEPPO, G.; ARODA, V. R.; BANNURU, R. R. *et al.* 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2023. **Diabetes Care**, 46, n. Suppl 1, p. S19-S40, 2023.

FIELDING, B. A. Ω -3 index as a prognosis tool in cardiovascular disease. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, 20, n. 5, p. 360-365, 2017.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L.; COLUCCI, A. C. A. Avaliação do consumo alimentar e da ingestão de nutrientes na prática clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, 53, n. 5, p. 617-624, 2009.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical chemistry**, 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

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. 87, p. 1-10, 2020.

GIACAGLIA, L. R.; BARCELLOS, C. R. G.; GENESTRETI, P. R.; SILVA, M. E. R. *et al.* Tratamento farmacológico do pré-diabetes. In: BERTOLUCI, M. (Ed.). **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2023)**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Diabetes, 2023.

HAMES, K. C.; MORGAN-BATHKE, M.; HARTENECK, D. A.; ZHOU, L. *et al.* Very-long-chain ω -3 fatty acid supplements and adipose tissue functions: a randomized controlled trial. **The American journal of clinical nutrition**, 105, n. 6, p. 1552-1558, 2017.

HARRIS, W. S. The Omega-3 Index: Clinical Utility for Therapeutic Intervention. **Current cardiology reports**, 12, p. 503-508, 2010.

HARTWEG, J.; PERERA, R.; MONTORI, V. M.; DINNEEN, S. F. *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. **The Cochrane database of systematic reviews**, 2008, n. 1, p. 1-49, 2008.

HESHMATI, J.; MORVARIDZADEH, M.; MAROUFIZADEH, S.; AKBARI, A. *et al.* Omega-3 fatty acids supplementation and oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. **Pharmacological Research**, 149, 2019.

HYUN, B.; SHIN, S.; LEE, A.; LEE, S. *et al.* Metformin Down-regulates TNF- α Secretion via Suppression of Scavenger Receptors in Macrophages. **Immune network**, 13, n. 4, p. 123-132, 2013.

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

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

ISHIHARA, T.; YOSHIDA, M.; ARITA, M. Omega-3 fatty acid-derived mediators that control inflammation and tissue homeostasis **International Immunology**, 31, n. 9, p. 559-567, 2019.

IZAR, M. C. O.; LOTTENBERG, A. M.; GIRALDEZ, V. Z. R.; FILHO, R. 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.

JAMILIAN, M.; SAMIMI, M.; MIRHOSSEINI, N.; EBRAHIMI, F. A. *et al.* A Randomized Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial Investigating the Effect of Fish Oil Supplementation on Gene Expression Related to Insulin Action, Blood Lipids, and Inflammation in Gestational Diabetes Mellitus-Fish Oil Supplementation and Gestational Diabetes. **Nutrients**, 10, n. 2, p. 1-12, 2018.

JAZAYERY, A.; JALALI, M.; KESHAVARZ, S. A.; MAHMOUDABADI, M. M. S. *et al.* Inflammatory biomarkers, antioxidant enzyme activities, and oxidative stress in Iranian male

patients with type 2 diabetes mellitus: Effects of eicosapentaenoic acid and vitamin C supplementation. **Journal of Research in Medical Sciences**, 17, n. 1, p. S38-S41, 2012.

KABIR, M.; SKURNIK, G.; NAOUR, N.; PECHTNER, V. *et al.* Treatment for 2 mo with n-3 polyunsaturated fatty acids reduces adiposity and some atherogenic factors but does not improve insulin sensitivity in women with type 2 diabetes: a randomized controlled study. **The American journal of clinical nutrition**, 86, n. 6, p. 1670-1679, 2007.

KASTELEIN, J. J. P.; MAKI, K. C.; SUSEKOV, A.; MACHIELSE, B. N. *et al.* Omega-3 free fatty acids for the treatment of severe hypertriglyceridemia: The EpanoVa fOr Lowering Very high triglyceridEs (EVOLVE) trial. **Journal of Clinical Lipidology**, 8, n. 1, p. 94-106, 2014.

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. 1-22, 2021.

KOJTA, I.; CHACIŃSKA, M.; BŁACHNIO-ZABIELSKA, A. Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. **Nutrients**, 12, n. 5, p. 1305, 2020.

KRYSIAK, R.; GDULA-DYMEK, A.; OKOPIEN, B. The effect of bezafibrate and omega-3 fatty acids on lymphocyte cytokine release and systemic inflammation in patients with isolated hypertriglyceridemia. **European journal of clinical pharmacology**, 67, n. 11, p. 1109-1117, 2011.

LANCASTER, G. I.; LANGLEY, K. G.; BERGLUND, N. A.; KAMMOUN, H. L. *et al.* Evidence that TLR4 Is Not a Receptor for Saturated Fatty Acids but Mediates Lipid-Induced Inflammation by Reprogramming Macrophage Metabolism. **Cell Metabolism**, 27, n. 5, p. 1096-1110, 2018.

LEVITSKY, L. L.; DREWS, K. L.; HAYMOND, M.; GLUBITOSI-KLUG, R. A. *et al.* The obesity paradox: Retinopathy, obesity, and circulating risk markers in youth with type 2 diabetes in the TODAY Study. **Journal of Diabetes Complications**, 36, n. 11, p. 1-8, 2022.

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

LIMA, M. F. C.; LOPES, M. G. F.; NETO, W. H. J.; SOUZA, C. T. Efeitos da suplementação de ômega-3 associado à atividade física em pacientes obesos portadores de diabetes mellitus do tipo 2: protocolo de estudo. **Revista Ciências em Saúde**, 12, n. 4, p. 28-34, 2022.

LIU, H.; WANG, F.; LIU, X.; XIE, Y. *et al.* Effects of marine-derived and plant-derived omega-3 polyunsaturated fatty acids on erythrocyte fatty acid composition in type 2 diabetic patients. **Lipids in health and disease**, 21, n. 2023, 2022.

LIU, X.; TANG, Y.; LUO, Y.; GAO, Y. *et al.* Role and mechanism of specialized pro-resolving mediators in obesity-associated insulin resistance. 23, n. 2024, p. 1-18, 2024.

LOPES, A. L.; RIBEIRO, G. S. Análise da Composição Corporal. *In*: LOPES, A. L. e RIBEIRO, G. S. (Ed.). **Antropometria Aplicada à Saúde e ao Desempenho Esportivo**. Rio de Janeiro: Rubio, 2014. cap. 4, p. 41-57.

MARTINEZ, F. O.; GORDON, S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. **F1000Prime Reports**, 6, n. 13, p. 1-13, 2014.

- 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.
- MOON, J. H.; KIM, K.; CHOI, S. H. Lipoprotein Lipase: Is It a Magic Target for the Treatment of Hypertriglyceridemia. **Endocrinology and metabolism**, 37, n. 4, p. 575-586, 2022.
- MOSTAD, I. L.; BJERVE, K. S.; BJORGAAS, M. R.; LYDERSEN, S. *et al.* Effects of n-3 fatty acids in subjects with type 2 diabetes: reduction of insulin sensitivity and time-dependent alteration from carbohydrate to fat oxidation. **The American journal of clinical nutrition**, 84, n. 3, p. 540-550, 2006.
- MURALIDHARAN, J.; PAPANDREOU, C.; SALA-VILA, A.; ROSIQUE-ESTEBAN, N. *et al.* Fatty Acids Composition of Blood Cell Membranes and Peripheral Inflammation in the PREDIMED Study: A Cross-Sectional Analysis. **Nutrients**, 11, n. 3, p. 1-10, 2019.
- NICHOLLS, S. J.; LINCOFF, A. M.; GARCIA, M.; BASH, D. *et al.* Effect of High-Dose Omega-3 Fatty Acids vs Corn Oil on Major Adverse Cardiovascular Events in Patients at High Cardiovascular Risk: The STRENGTH Randomized Clinical Trial. **JAMA**, 324, n. 22, p. 2268-2280, 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.
- PATTERSON, A. C.; CHALIL, A.; HENAO, J. J. A.; STREIT, I. T. *et al.* Omega-3 polyunsaturated fatty acid blood biomarkers increase linearly in men and women after tightly controlled intakes of 0.25, 0.5, and 1 g/d of EPA + DHA. **Nutrition research**, 35, n. 12, p. 1040-1051, 2015.
- POOYA, S.; JALALI, M. D.; JAZAYERY, A. D.; SAEDISOMEOLIA, A. *et al.* The efficacy of omega-3 fatty acid supplementation on plasma homocysteine and malondialdehyde levels of type 2 diabetic patients. **Nutrition, metabolism & cardiovascular diseases**, 20, n. 5, p. 326-331, 2010.
- 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.
- RODACKI, M.; TELES, M.; GABBAY, M.; LAMOUNIER, R. Classificação do diabetes. *In*: BERTOLUCI, M. (Ed.). **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2023)**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Diabetes, 2023.
- ROHM, T. V.; MEIER, D. T.; OLEFSKY, J. M.; DONATH, M. Y. Inflammation in Obesity, Diabetes and related Disorders. **Immunity**, 55, n. 1, p. 31-55, 2022.
- SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, 414, n. 6865, p. 799-806, 2001.
- SARBOLOUKI, S.; JAVANBAKHT, M. H.; DERAKHSHANIAN, H.; HOSSEINZADEH, P. *et al.* Eicosapentaenoic acid improves insulin sensitivity and blood sugar in overweight type 2 diabetes mellitus patients: a double-blind randomised clinical trial. **Singapore Medical Journal**, 54, n. 7, p. 387-390, 2013.

SATOH-ASAHARA, N.; SHIMATSU, A.; SASAKI, Y.; NAKAOKA, H. *et al.* Highly Purified Eicosapentaenoic Acid Increases Interleukin-10 Levels of Peripheral Blood Monocytes in Obese Patients With Dyslipidemia. **Diabetes Care**, 35, n. 12, p. 2631-2639, 2012.

SATOH, N.; SHIMATSU, A.; HIMENO, A.; SASAKI, Y. *et al.* Unbalanced M1/M2 Phenotype of Peripheral Blood Monocytes in Obese Diabetic Patients: Effect of pioglitazone **Diabetes Care**, 33, n. 1, p. e7, 2010.

SHAN, K.; FENG, N.; CUI, J.; WANG, S. *et al.* Resolvin D1 and D2 inhibit tumour growth and inflammation via modulating macrophage polarization. **Journal of cellular and molecular medicine**, 24, n. 14, p. 8045–8056, 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 113, n. 4, p. 105, 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020**. São Paulo: Clannad, 2019. 489 p.

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, 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.

SPENCER, M.; FINLIN, B. S.; UNAL, R.; ZHU, B. *et al.* Omega-3 Fatty Acids Reduce Adipose Tissue Macrophages in Human Subjects With Insulin Resistance. **Diabetes**, 62, n. 5, p. 1709-1717, 2013.

STEWART, A.; MARFELL-JONES, M.; OLDS, T.; RIDDER, H. **Padrões Internacionais para Avaliação Antropométrica**. Tradução SEHL, P. L. Murcia, Espanha: ISAK, 2011. 115 p.

STUPIN, A.; MIHALJ, M.; KOLOBARIĆ, N.; ŠUŠNJARA, P. *et al.* Anti-Inflammatory Potential of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids Enriched Hen Eggs Consumption in Improving Microvascular Endothelial Function of Healthy Individuals—Clinical Trial. **International Journal of Molecular Sciences**, 21, n. 11, p. 1-20, 2020.

URAKAWA, H.; KATSUKI, A.; SUMIDA, Y.; GABAZZA, E. C. *et al.* Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, 88, n. 10, p. 4673-4676, 2003.

VIDELA, L. A.; VALENZUELA, R.; CAMPO, A. D.; ZÚÑIGA-HERNÁNDEZ, J. Omega-3 Lipid Mediators: Modulation of the M1/M2 Macrophage Phenotype and Its Protective Role in Chronic Liver Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, 24, n. 21, p. 1-17, 2023.

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

WERIDA, R. H.; RAMZY, A.; EBRAHIM, Y. N.; HELMY, M. W. Effect of coadministration of omega-3 fatty acids with glimepiride on glycemic control, lipid profile, irisin, and sirtuin-1 in type 2 diabetes mellitus patients: a randomized controlled trial. **BMC Endocrine Disorders**, 23, n. 2023, p. 1-10, 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. DIVISION OF NONCOMMUNICABLE DISEASES & WORLD HEALTH ORGANIZATION. PROGRAMME OF NUTRITION, F. a. R. H. **Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO Consultation on Obesity**. Geneva, Switzerland: WHO Consultation on Obesity 1997.

ANEXOS E APÊNDICES

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

	<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 morbimortalidade. 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



UFJF - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
JUIZ DE FORA - MG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Efeitos da suplementação de ômega-3, associado ou não ao treinamento físico de alta intensidade sobre parâmetros antropométricos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares em pacientes com síndrome metabólica

Pesquisador: Claudio Teodoro de Souza

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 35230620.5.0000.5133

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA UFJF

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLOGICO
Universidade Federal de Juiz de Fora UFJF
Financiamento Próprio
EMPRESA BRASILEIRA DE SERVICOS HOSPITALARES - EBSEH

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.731.228

Apresentação do Projeto:

Envio de emenda referente ao projeto "Efeitos da suplementação de ômega-3, associado ou não ao treinamento físico de alta intensidade sobre parâmetros antropométricos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares em pacientes com síndrome metabólica".

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos do presente projeto sofreu algumas modificações que estão abaixo descritas.

1. Objetivos geral:

Versão aprovada do projeto:

Avaliar os efeitos de uma intervenção randomizada em indivíduos com síndrome metabólica tratados com ômega-3, associado ou não com treinamento físico de alta intensidade sobre parâmetros antropométricos, lipídicos, glicêmicos, insulínêmicos, inflamatórios e estresse de retículo séricos e celulares.

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4009-5217

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

Continuação do Parecer: 4.731.228

Modificado para:

Avaliar os efeitos de uma intervenção randomizada em indivíduos com síndrome metabólica tratados com ômega-3, associado ou não ao protocolo de atividade física remoto sobre parâmetros antropométricos, lipídicos, glicêmicos, insulinêmicos, inflamatórios, estresse de retículo séricos e celulares e do microbioma intestinal.

2. Objetivos específicos:

Versão aprovada do projeto:

- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não com o HIT sobre medidas antropométricas (estatura, massa corporal, perímetros corporais e dobras cutâneas), composição corporal (gordura corporal e massa magra), índice de massa corporal, relação cintura-quadril de pacientes com SM;
- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não com o HIT sobre o perfil lipídico plasmático (triglicerídeo, colesterol total, HDLc, LDLc), índices de Castelli I e II e Índice aterogênico plasmático; perfil glicêmico, biomarcadores de glicação e sensibilidade à insulina (glicemia de jejum, insulina de jejum, hemoglobina glicada, sensibilidade à insulina (HOMA), adiponectina e leptina); e nos níveis séricos de PCR, Ureia, Creatinina, CK, TGO e TGP de pacientes com SM.
- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não com o HIT sobre biomarcadores pró e anti-inflamatórios (TNF, IL-1, IL-6, IL-10, IL-15, e MCP-1 plasmático; e JNK, pJNK, TLR4, pNFB p65, pIB, IB, Myd88, PIKK e IKK em extrato proteico de células mononucleares – Western blot) de sangue periférico dos pacientes com SM;
- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não com o HIT sobre níveis proteicos e fosforilação das moléculas biomarcadoras de estresse de retículo (PERK, pPERK, pIRE1, IRE1, XBP1, e as chaperonas –GRP78, GRP94, e HSP90 em extrato proteico de células mononucleares) de sangue periférico dos pacientes com SM.
- Avaliar a correlação da dose individualizada de ômega-3 (mg de ômega-3/kg de massa corporal) na variação dos parâmetros avaliados em pacientes com SM.

Modificado para:

- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não ao protocolo de atividade física remoto sobre medidas antropométricas (estatura, massa corporal,

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4009-5217

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



Continuação do Parecer: 4.731.228

perímetros corporais e dobras cutâneas), composição corporal (gordura corporal e massa magra), índice de massa corporal, relação cintura-quadril de pacientes com SM;

- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não ao protocolo de atividade física remoto sobre o perfil lipídico plasmático (triglicerídeo, colesterol total, HDLc, LDLc), índices de Castelli I e II e Índice aterogênico plasmático; perfil glicêmico, biomarcadores de glicação e sensibilidade à insulina (glicemia de jejum, insulina de jejum, hemoglobina glicada, sensibilidade à insulina (HOMA), adiponectina e leptina); e nos níveis séricos de PCR, Ureia, Creatinina, CK, TGO e TGP de pacientes com SM.
- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não ao protocolo de atividade física remoto sobre biomarcadores pró e anti-inflamatórios (TNF, IL-1, IL-6, IL-10, IL-15, e MCP-1 plasmático; JNK, pJNK, TLR4, pNFB p65, pIB, Myd88, PIKK e IKK em extrato proteico de células mononucleares – Western blot) de sangue periférico dos pacientes com SM;
- Avaliar a correlação da dose individualizada de ômega-3 (mg de ômega-3/kg de massa corporal) na variação dos parâmetros avaliados em pacientes com SM.
- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não ao protocolo de atividade física remoto sobre as diversidades alfa e beta comparativamente entre os grupos estudados, bem como os perfis taxonômicos e a abundância relativa dos principais filos e gêneros encontrados na microbiota intestinal dos indivíduos estudados;
- Avaliar os efeitos do ômega-3 associado ou não ao protocolo de atividade física remoto sobre a relação entre concentração plasmática de lipopolissacarídeo (LPS).
- Avaliar o perfil imunológico através de imunofenotipagem por citometria de fluxo

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Ressalta-se que os riscos envolvidos no estudo são inerentes ao exercício físico proposto, porém

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4009-5217

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



UFJF - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
JUIZ DE FORA - MG



Continuação do Parecer: 4.731.228

para isso todos os pacientes serão submetidos a testes cardiológicos prévios conduzidos por um profissional médico cardiologista, além de posteriormente serem avaliados por um profissional endocrinologista (ambos médicos do corpo clínico do HU-UFJF). O aval clínico de ambos os profissionais será necessário para a realização do protocolo de exercícios. Além disso, todos os pacientes submetidos ao protocolo de exercícios serão acompanhados durante sua realização por uma equipe treinada para orientação da prática correta do exercício, bem como para o atendimento emergencial se necessário. A suplementação do ômega-3 ou do placebo não implicam em riscos conhecidos, exceto por aqueles relacionados a possível reação alérgica a algum componente da fórmula. Nesta situação o voluntário será excluído do estudo. Os riscos inerentes a coleta de sangue, tais como dor, hematoma ou outro desconforto no local da coleta, serão minimizados uma vez que as coletas serão realizadas por profissionais de setor especializado para tal. Dessa forma, justifica-se que todo o protocolo do presente estudo zelará pela saúde e integridade do voluntário, sendo o mesmo 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.

Benefícios:

Ao final do estudo, será garantido a todos os voluntários que manifestarem interesse, o acompanhamento no ambulatório de Nutrição do HUUFJF, bem como acesso a conduta nutricional individualizada, além de orientação por profissional educador físico, quanto a prática regular de exercícios físicos. Por fim, todos os voluntários terão acesso aos resultados dos testes e exames realizados ao final do estudo. Além disso, aqueles identificados com necessidade de acompanhamento clínico receberão encaminhamentos para os serviços do HUUFJF.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Foi encaminhado ao CEP/HU/UFJF foi encaminhada emenda do estudo “Efeitos da suplementação de ômega-3, associado ou não ao treinamento físico de alta intensidade sobre parâmetros antropométricos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares em pacientes com síndrome metabólica” que foi justificada com base em

“O cenário mundial diante da pandemia de COVID-19, obriga que os projetos de pesquisa sejam adaptados para que os voluntários e pesquisadores não sejam expostos desnecessariamente a

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4009-5217

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



Continuação do Parecer: 4.731.228

maiores riscos. Apesar disso, os pesquisadores entendem que as intervenções propostas, prática de atividade física associada ao consumo de suplementos ricos em ômega-3, sejam benéficas em algum grau para indivíduos obesos e diabéticos tipo 2. Diante disto, para que ambas intervenções sejam viáveis no atual cenário mundial, adaptações acerca da atividade física inicialmente proposta serão necessárias. Além disso, pretendemos incluir análises metodológicas de forma a explorar mais amplamente os resultados acerca de tais intervenções. Na tentativa de adequação da métodos empregados para o desenvolvimento dos objetivos propostos no projeto de pesquisa aprovado pelo CEP identificamos as seguintes possibilidades:

- Substituir o exercício intervalado de alta intensidade presencial para um protocolo de exercícios físicos remoto com supervisão online de profissional de educação física capacitado.
- Incluir análise de imunofenotipagem e do perfil da microbiota intestinal através de coleta fecal para avaliação mais global dos indivíduos e dos tratamentos propostos.”

As demais modificações, objetivos, metodologia e resultados esperados foram encaminhados e analisados para a elaboração do presente parecer.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A presente emenda foi instruída com os seguintes termos de apresentação obrigatória que foram apreciados e analisados por este CEP/HU/UFJF para a elaboração do presente parecer.

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1739766_E1.pdf

Emenda_CEP.pdf

Projeto_CEP_HUUFJF_Projeto_Omega.pdf

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1739766	29/04/2021		Aceito

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4009-5217

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

Continuação do Parecer: 4.731.228

Básicas do Projeto	_E1.pdf	14:23:43		Aceito
Outros	Emenda_CEP.pdf	29/04/2021 14:21:46	Marina Guedes Fraga Lopes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEP_HUUFJF_Projeto_Omega. pdf	29/04/2021 14:20:22	Marina Guedes Fraga Lopes	Aceito
Outros	Carta_resposta_CEP.pdf	06/10/2020 15:36:17	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	06/10/2020 15:35:26	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Orçamento	Currículo_Lattes_Wellington.PDF	02/10/2020 14:56:31	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Marina.pdf	02/10/2020 14:56:14	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_L attes_Claudio_Teodoro_de_Souza.pdf	02/10/2020 14:55:26	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Curriculo_Ana_Paula_Boroni_Moreira.p df	02/10/2020 14:54:15	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_02_10_20.pdf	02/10/2020 14:49:44	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_Omega.pdf	02/10/2020 13:56:47	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_ CEP_4253757.pdf	02/10/2020 13:56:01	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Carta_Resposta_Viabilidade_Economica .pdf	16/07/2020 20:55:55	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Carta_de_Encaminhamento_Projeto_O mega.pdf	16/07/2020 20:54:12	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Parecer_Comissao_Permanente_de_Av aliacao_e_Viabilidade_Economica_e_Fi nanqueira.pdf	16/07/2020 15:38:49	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Declaracao_Procedimento_de_Submiss ao_COVID_19.pdf	15/07/2020 17:04:00	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Termo_de_Confidencialidade_e_Sigilo.p df	15/07/2020 17:01:44	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Infraestrutura_Clinica_Medi ca_CBR.pdf	15/07/2020 16:59:39	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Mario_Flavio_Cardoso de_Lima.pdf	15/07/2020 16:56:26	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito
Outros	Cadastro_de_Projetos_GEP_Projeto_O mega.pdf	15/07/2020 16:46:58	Mário Flávio Cardoso de Lima	Aceito

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4009-5217

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



UFJF - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
JUIZ DE FORA - MG



Continuação do Parecer: 4.731.228

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 25 de Maio de 2021

Assinado por:

**João Beccon de Almeida Neto
(Coordenador(a))**

Endereço: Rua Catulo Breviglieri, s/n

Bairro: Santa Catarina

CEP: 36.036-110

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)4009-5217

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

ANEXO C - 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: ≥ 5 dias/sem e ≥ 30 minutos por sessão

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

2. ATIVO: aquele que cumpriu as recomendações de:

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

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

c) Qualquer atividade somada: ≥ 5 dias/sem e ≥ 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

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DO VOLUNTÁRIO

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: _____

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: _____

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 C - ORIENTAÇÕES PARA USO DA CÁPSULA

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).

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

APÊNDICE E - EQUAÇÕES UTILIZADAS NO ESTUDO

Índice de Massa Corporal (WHO, 1998)	$IMC_{kg/m^2} = \frac{massa\ corpora_{kg}}{(estatura_m)^2}$
Lipoproteína de baixa densidade (Friedewald <i>et al.</i> , 1972)	$LDL_{mg/dL} = (CT_{mg/dL} - HDL_{mg/dL}) - \frac{TG_{mg/dL}}{5}$
Índice Aterogênico do Plasma (Azevedo <i>et al.</i> , 2023)	$IAP = \log\left(\frac{TG_{mg/dL}}{HDL_{mg/dL}}\right)$
Índice de Castelli I (Azevedo <i>et al.</i> , 2023)	$Castelli_I = \frac{TG_{mg/dL}}{HDL_{mg/dL}}$
Índice de Castelli II (Azevedo <i>et al.</i> , 2023)	$Castelli_{II} = \frac{LDL_{mg/dL}}{HDL_{mg/dL}}$
Índice de ômega 3 (Fielding, 2017)	$I\omega_3 = \frac{Total\ de\ \omega_3\ Eritrocit\u00e1rio}{Total\ de\ Lip\u00eddeos\ Eritrocit\u00e1rio}$
HOMA-IR (Wallace <i>et al.</i> , 2004)	$HOMA_{IR} = \frac{IJ_{UI/mL} \times GJ_{mg/dL}}{22,5}$
HOMA- β (Wallace <i>et al.</i> , 2004)	$HOMA_{\beta} = \frac{(20 \times IJ_{UI/mL})}{GJ_{mg/dL} - 3,5}$