

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO HUMANO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÔMEGA-3 E DO EXERCÍCIO
SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO E PROTEÍNA C REATIVA
EM DIABÉTICOS TIPO 2.**

KATIUCE BORGES SAPATA

Orientador

ALVARO REISCHAK DE OLIVEIRA

Co-Orientador

ROGÉRIO FRIEDMAN

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Ciências do
Movimento Humano, da Escola de
Educação Física da Universidade
Federal do rio Grande do Sul, como
requisito parcial para a obtenção do
grau de mestre.

PORTO ALEGRE, 2008

S241e Sapata, Katiuce Borges
Efeitos da suplementação de ômega-3 e do exercício sobre parâmetros de estresse oxidativo e proteína C reativa em diabéticos tipo 2. / Katiuce Borges Sapata. - Porto Alegre: Escola de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
69 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de Educação Física. Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano, Porto Alegre, BR-RS, 2008.

1. Fisiologia do exercício. 2. Bioquímica. 3. Ômega-3. 4. Estresse oxidativo. I. Título. II. Oliveira, Álvaro Reischak de, orientador.

CDU: 796.012:612

" O mundo está nas mãos daqueles que tem a coragem de sonhar e correr o risco de viver seus sonhos. "

Paulo Coelho

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não seria possível se não fosse à colaboração e dedicação de algumas pessoas as quais gostaria de demonstrar minha enorme gratidão.

Ao meu querido orientador, Prof. Álvaro Reischak de Oliveira, pela oportunidade, confiança e amizade.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Rogério Friedman, que abraçou este projeto junto comigo e me apoiou sempre que preciso.

Aos meus colegas do GEFEX, em especial ao Giovani Cunha, pela amizade e companheirismo demonstrado nesta trajetória.

Ao Prof. Paulo Ivo Homem de Bittencourt Jr. e aos integrantes do FISCEL (Juliane, Augustus, João e Mauricio) que me acolheram com muito carinho e não mediram esforços para me ajudar.

Ao Prof. José Cláudio Fonseca Moreira e ao mestrando Ricardo Rocha, pela ajuda e disponibilidade na realização dos experimentos.

Aos funcionários do PPGCMH e ao Dr. Belmar pela ajuda profissional oferecida para a realização deste projeto.

A futura nutricionista Ana Rosa Bartelle que foi muito mais do que uma estagiária, tornou-se uma grande amiga e companheira.

A minha amiga Ana Paula Fayh que mesmo não estando tão presente durante o período de realização do mestrado, foi à pessoa que me inseriu no mundo acadêmico e me mostrou o valor da pesquisa.

Aos meus amigos (as) Muriel, Daiane, Eleonora e Pablo pelo colo amigo e carinhoso, pelas palavras doces e de incentivo que recebi quando mais precisei, pelas alegrias e felicidades compartilhadas durante a vida.

Ao meu namorado Wagner pela compreensão, amor, amizade e paciência que dedicou a mim nesta trajetória.

A minha família, em especial a minha mãe, por acreditar nos meus sonhos e me ajudar a conquistá-los.

Aos voluntários que literalmente doaram sangue e tempo em pró da pesquisa.

Ao apoio financeiro da CAPES e FIPE.

A todos muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE ANEXOS	10
CAPÍTULO I	11
<i>APRESENTAÇÃO</i>	<i>11</i>
CAPÍTULO II.....	12
<i>RESUMO</i>	<i>12</i>
CAPÍTULO III	13
<i>INTRODUÇÃO</i>	<i>13</i>
CAPÍTULO IV.....	15
<i>REFERENCIAL TEÓRICO.....</i>	<i>15</i>
Ácidos graxos poliinsaturados	15
Diabetes	20
<i>Diabetes mellitus tipo 2</i>	<i>21</i>
<i>Critérios para diagnóstico e tratamento do diabetes.....</i>	<i>22</i>
Estresse oxidativo	24
<i>Espécies reativas de oxigênio</i>	<i>24</i>
<i>Formação das espécies reativas de oxigênio</i>	<i>25</i>
<i>Sistema de defesa antioxidante</i>	<i>27</i>
<i>Estresse oxidativo.....</i>	<i>28</i>
<i>Diabete, estresse oxidativos e exercício</i>	<i>29</i>
Ômega-3 e diabetes	30
Referências	32
CAPÍTULO V	41
<i>OBJETIVOS.....</i>	<i>41</i>
Objetivo geral	41
Objetivos específicos.....	41
<i>HIPÓTESES.....</i>	<i>41</i>
<i>DEFINIÇÕES OPERACIONAIS DE TERMOS.....</i>	<i>42</i>
CAPÍTULO VI.....	43

<i>ARTIGO ORIGINAL: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÔMEGA-3 E DO EXERCÍCIO SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO E PROTEÍNA C REATIVA EM DIABÉTICOS TIPO 2</i>	43
CAPÍTULO VI	66
<i>CONSIDERAÇÕES FINAIS</i>	66
ANEXOS	67

LISTA DE ABREVIATURAS

- CRP-hs** - Proteína C reativa ultra-sensível (*high-sensitivity C-reactive protein*)
- DHA** - Ácido decosaheptaenóico (*docosahexaenoic acid*)
- EPA** - Ácido eicosapentaenóico (*eicosapentaenoic acid*)
- FC** - Frequência cardíaca
- HbA_{1c}** - Hemoglobina glicada
- HCPA** - Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- IMC** - Índice de massa corporal
- LAPEX** - Laboratório de Pesquisa do Exercício da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
- LV2** - 2º limiar ventilatório
- n-3** - Ômega-3
- PUFA** - Ácido graxo poliinsaturado (*polyunsaturated fatty acid*)
- SOD** - Superóxido dismutase (superoxide dismutase)
- TBARS** - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid-reacting substances*)
- TRAP** - Capacidade antioxidante total (*total reactive antioxidant potentials*)
- UA** - ácido úrico (*uric acid*)
- VO_{2pico}** - Consumo de oxigênio de pico
- LT** - Leucotrienos
- PG** - Prostaglandinas
- TX** - Tromboxanos
- HPETE** - Ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos
- HETE** - Ácidos hidroxieicosatetraenóicos

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO IV

Figura 1: Estrutura dos ácidos linoleico (n-6) e α -linolênico (n-3).....	16
Figura 2: Esquema ilustrativo da biossíntese dos ácidos graxos poliinsaturados.....	17
Figura 3: Síntese de eicosanóides derivados dos ácidos araquidônico e eicosapentaenóico.....	18

CAPÍTULO VI

Figura 1: Esquema ilustrativo do cronograma.....	47
Figura 2 - Resultados do TBARS e F2-Isoprostanos.....	53
Figura 3 - Resultados de TRAP.....	54
Figura 4 - Resultados do UA e SOD.....	54

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO IV**

Tabela 1 - Recomendação (g/dia) de ácido α -linolênico (n3).....	19
Tabela 2 - Principais fontes alimentares de ácidos graxos ômega-3.....	20
Tabela 3 – Valores de glicose plasmática (em mg/dl) para diagnóstico de diabetes <i>mellitus</i> e seus estágios pré-clínicos.....	23
Tabela 4 - Espécies Reativas de Oxigênio	26

CAPÍTULO VI

Tabela 1 – Caracterização dos grupos.....	51
Tabela 2 – Resultados do teste máximo.....	51
Tabela 3 – Resultados dos exames de sangue e de urina.....	52
Tabela 4 – Resultados da proteína C reativa ultra-sensível.....	55

LISTA DE ANEXOS

ANEXO I – EXAMES BIOQUÍMICOS.....	67
ANEXO II – REGISTRO ALIMENTAR.....	68
ANEXO III – REFEIÇÕES PRÉ TESTES SUBMÁXIMO.....	69

CAPÍTULO I

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado está estruturada da seguinte forma:

Uma introdução onde são apresentados à justificativa, os aspectos relevantes e o problema de pesquisa;

Uma revisão de literatura onde são abordadas algumas informações importantes para o entendimento do assunto e os principais estudos publicados em literatura científica e que apresentam relação com o tema do estudo, seguido pela apresentação dos objetivos e hipóteses da pesquisa;

Após é apresentado um manuscrito original intitulado: “*Efeitos da suplementação de ômega-3 e do exercício sobre parâmetros de estresse oxidativo e CRP-hs em diabéticos tipo 2* “ que será traduzido e submetido à revista *Diabetes Care*. Observação: algumas siglas são apresentadas conforme versão em inglês, visando à tradução futura;

Por fim, uma conclusão com os desfechos do estudo realizado.

CAPÍTULO II

RESUMO

OBJETIVOS - Verificar o efeito do exercício agudo e da suplementação com PUFA n-3 sobre parâmetros de estresse oxidativo e inflamatórios em pacientes diabéticos tipo 2.

DESENHO DA PESQUISA E MÉTODOS - Participaram do estudo 30 diabéticos tipo 2 sem complicações decorrentes da doença. Realizou-se coleta de sangue em jejum de 12 h e de urina para análises bioquímicas. Após foram submetidos a eletrocardiograma concomitante ao teste de cargas progressivas. Na semana seguinte foi realizado o 1º teste submáximo com coleta de sangue antes e após o exercício para análise de estresse oxidativo e proteína C reativa ultra-sensível (CRP-hs). Organizou-se aleatoriamente 2 grupos: placebo (recebeu cápsulas contendo gelatina) e PUFA n-3 (recebeu cápsulas ricas em ômega-3). Após período de suplementação de 8 semanas foi repetido o protocolo do teste submáximo.

RESULTADOS - Não foram verificadas alterações significativas no HDL, LDL, COL, glicemia e HbA1C. Após o período de suplementação, o grupo PUFA n-3 reduziu significativamente os valores de triglicerídeos ($p=0,005$) e VLDL ($p=0,003$) e aumentou a capacidade antioxidante total ($p=0,047$) e a atividade da enzima superóxido dismutase ($p=0,017$). Não foram verificadas alterações nos marcadores de lipoperoxidação e ácido úrico. A CRP-hs aumentou após o exercício em ambos os grupos, e não alterou-se com a suplementação.

CONCLUSÕES - Uma única sessão de exercício não foi capaz de gerar danos oxidativos, no entanto proporcionou aumento de CRP-hs. A suplementação com PUFA n-3 reduziu os níveis de triglicerídeos e aumentou as defesas antioxidantes sem alterar parâmetros oxidativos.

Palavras-chave: Omega-3, exercício agudo, estresse oxidativo, proteína C reativa.

CAPÍTULO III

INTRODUÇÃO

As doenças crônicas são a maior causa de morte no mundo, liderados pelas doenças cardiovasculares (17 milhões de mortes em 2002), seguido pelo câncer (7 milhões de mortes), doenças crônicas do pulmão (4 milhões), e diabetes *mellitus* (aproximadamente 1 milhão) (1).

No mundo, segundo a *International Diabetes Federation*, (2), 5,1% (194 milhões de pessoas) da população adulta são diabéticos. Números muito significativos para uma população total aproximada de 6,3 bilhões. A perspectiva para o ano de 2025 é que estes números cresçam ainda mais, chegando a aproximadamente 333 milhões de diabéticos.

No Brasil, no ano de 2000 já existiam 5,7 milhões de diabéticos na faixa etária de 20 a 79 anos. As perspectivas para o ano de 2025 são alarmantes, com aproximadamente 10,7 milhões de brasileiros com esta patologia (2).

O diabetes *mellitus* é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas pela hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, na ação da insulina ou de ambos. A hiperglicemia crônica está associada com danos a longo prazo, como alterações micro e macrovasculares que levam a disfunção, dano ou falência de vários órgãos (3).

O aumento do metabolismo da glicose está relacionado com uma maior formação de radicais livres por intermédio de vias metabólicas, tais como, da auto-oxidação da glicose, da glicosilação de proteínas e da ativação da via do poli-ol (4). Um incremento no estresse oxidativo tem sido observado nos pacientes diabéticos podendo ser diagnosticados pelo aumento na produção de radicais livres, peroxidação lipídica e diminuição no *status* antioxidante (5, 6).

Além da maior produção de estresse oxidativo, os diabéticos também apresentam uma suscetibilidade aumentada aos processos inflamatórios (7). Marcadores inflamatórios conhecidos, como, por exemplo, a proteína C reativa (CRP), podem predispor o aumento do risco para doenças cardiovasculares e ser um sinalizador importante no controle do diabetes (8-10).

Alguns nutrientes têm sido estudados com o propósito de diminuir os níveis de estresse oxidativo e de inflamação que se encontram elevados tanto em pacientes com doenças cardiovasculares, quanto em diabéticos. Um destes nutrientes é o ácido graxo poliinsaturado ômega-3 (PUFA n-3) (11-13). Este ácido graxo está relacionado com a

diminuição de marcadores inflamatórios, produção de citocinas, coagulação e função endotelial (14, 15). É bem descrita a importância do PUFA n-3 no tratamento de hipertrigliceridemia (16, 17), no entanto, sua relação com a peroxidação lipídica e com os mecanismos de defesa antioxidante não estão bem estabelecidos.

Além do manejo nutricional, os exercícios também podem ser utilizados para melhorar a qualidade de vida dos pacientes diabéticos. Os exercícios regulares têm sido associados com a redução do risco para doenças cardiovasculares (18-20), e tem sido recomendado para diabéticos devido ao aumento da sensibilidade à insulina, melhora na tolerância a glicose, diminuição dos níveis de triglicérides plasmáticos, melhora nos níveis do colesterol HDL (21-24), melhora na função endotelial (25) e redução dos riscos para desenvolvimento de síndrome metabólica (26). Sabe-se também que a atividade física é reconhecida promotora de estresse oxidativo, no entanto se realizada sistematicamente promove adaptações nos sistemas de defesa do organismo que se contrapõe a produção radicalar. Contudo, pouco se sabe em relação aos efeitos que sessões agudas de exercício podem proporcionar nesta população.

O PUFA n-3 tem sido estudado atualmente na prevenção de doenças cardiovasculares, no entanto são poucos os estudos que relacionam o consumo desse ácido graxo com estresse oxidativo e marcadores inflamatórios em pacientes diabéticos.

Baseado nos pressupostos descritos anteriormente foi formulada o seguinte problema de pesquisa: a suplementação com PUFA n-3 é capaz de melhorar os níveis de CRP-hs e marcadores lipídicos sem causar danos oxidativos em repouso e frente ao exercício físico em diabéticos tipo 2.

CAPÍTULO IV

REFERENCIAL TEÓRICO

A revisão de literatura está dividida em três partes: inicialmente abordou-se os ácidos graxos poliinsaturados, em especial os PUFA n-3. Em um segundo momento falou-se sobre o diabetes *mellitus*, dando ênfase ao diabetes *mellitus* tipo 2. Após, abordou-se questão referente ao estresse oxidativo e sua relação com diabetes *mellitus* e com o exercício. Ao longo da revisão foram apresentados alguns trabalhos científicos desenvolvidos com pacientes diabéticos e com a suplementação de PUFA n-3.

Ácidos graxos poliinsaturados

Os ácidos graxos são fundamentais para a realização de diversas funções no organismo humano, como a manutenção da integridade das membranas celulares e síntese de hormônios esteróides. Além de fornecerem energia, são também precursores para numerosos compostos biologicamente ativos (27).

São ácidos carboxílicos com longas cadeias de hidrocarbonetos que podem ser classificados de acordo com a presença ou ausência de insaturações (duplas ligações). Sendo assim, os ácidos graxos podem ser saturados (isento de duplas ligações) e insaturados (com presença de duplas ligações). Estes últimos também podem ser subdivididos em ácidos graxos monoinsaturados (onde encontramos apenas uma dupla ligação) e poliinsaturados (com duas ou mais duplas ligações) (28).

Os PUFAs são classificados em ômega-3 (n-3), ômega-6 (n-6), ômega-7 (n-7) e ômega-9 (n-9). Destes, estaremos dando um enfoque especial ao n-3 e n-6. São classificados em n-3, quando a primeira insaturação encontra-se entre os carbonos 3-4 do lado metila, e n-6, quando a primeira insaturação está entre os carbonos 6-7 do lado metila. A letra grega “ ω ” também pode ser usada para descrever a terminação metila no lugar da letra “n” (29).

A família n-6 é derivada do ácido graxo linoleico (18:2n-6) e a família n-3 do ácido graxo α -linolênico (18:3n-3) (figura 1). Essas duas famílias são interconvertíveis em mamíferos, pois a enzima que converte o ácido linoleico em α -linolênico está presente apenas em plantas (30). Sendo assim, são denominados “ácidos graxos essenciais” para os seres humanos, devendo fazer parte da alimentação.

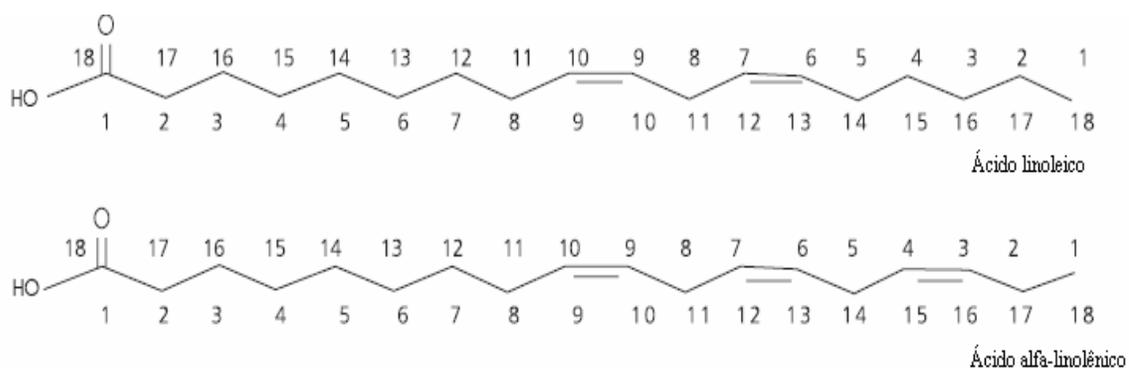


Figura 1: Estrutura dos ácidos linoleico (n-6) e α -linolênico (n-3).

Os ácidos graxos essenciais podem sofrer uma série de reações, formando ácidos graxos com mais de 18 átomos de carbono. Neste processo, estão envolvidas enzimas de dessaturação e alongação. A dessaturação é caracterizada pela introdução de uma dupla ligação na cadeia de carbono e a alongação, pela introdução de dois novos átomos de carbono (31). Através destes processos, o ácido linoleico é convertido a ácido araquidônico (20:4n-6) e o ácido α -linolênico aos ácidos eicosapentaenóico (EPA) (20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA) (22:6n-3), que são comumente encontrados no óleo de peixe (figura 2).

Os PUFA n-3 e n-6 são capazes de gerar substâncias chamadas eicosanóides. Os eicosanóides atuam como moduladores químicos em diversos processos biológicos, como na resposta inflamatória, agregação plaquetária, permeabilidade vascular e na formação de interleucinas. São classificados como moléculas bioativas com 20 átomos de carbono, que incluem leucotrienos (LT), prostaciclina, prostaglandinas (PG) e tromboxanos (TX), lipoxinas, ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos (HPETE) e ácidos hidroxieicosatetraenóicos (HETE) (32).

Cada família de PUFA dá origem a uma série diferente de eicosanóides. O ácido araquidônico é precursor de PG e TX da série 2, quando há atuação da enzima ciclooxigenase e dos LT da série 4, HPETE e HETE das séries 5, 12 e 15, quando a enzima atuante for a lipoxigenase. Já o EPA é o precursor de PG e TX da série 3 via ciclooxigenase e dos LT e HEPE da série 5 através da enzima lipoxigenase (33). Os eicosanóides derivados do n-6 são geralmente proinflamatórios e pró-agregatórios, enquanto que os derivados do n-3 são predominantemente antiinflamatórios e inibidores da agregação plaquetária (figura 3) (34).

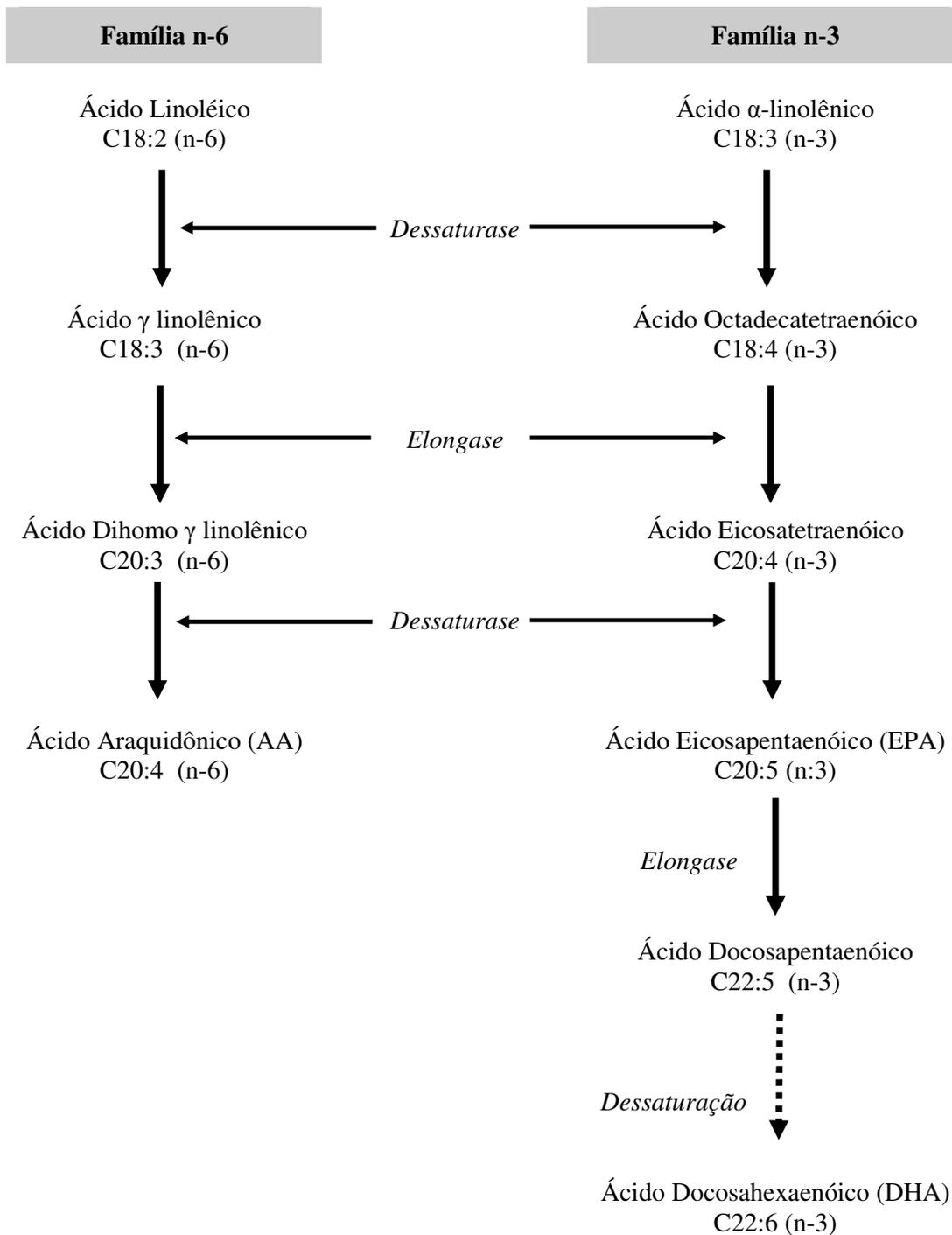


Figura 2: Esquema ilustrativo da biossíntese dos ácidos graxos poliinsaturados ômega-6 e ômega-3. Adaptado de Calder (2003).

Os ácidos linoleico e α -linolênico são substratos das mesmas dessaturases, de forma que as famílias n-3 e n-6 competem entre si pelas mesmas enzimas na via metabólica, sendo que os ácidos graxos derivados da família n-3 apresentam maior afinidade por estas enzimas. Assim, uma dieta rica em n-3 é capaz de diminuir a conversão do ácido linoleico em ácido araquidônico, elevando a quantidade de EPA e DHA, promovendo a formação de PG da série 3 e LT da série 5, que são mediadores inflamatórios menos ativos (34, 35).

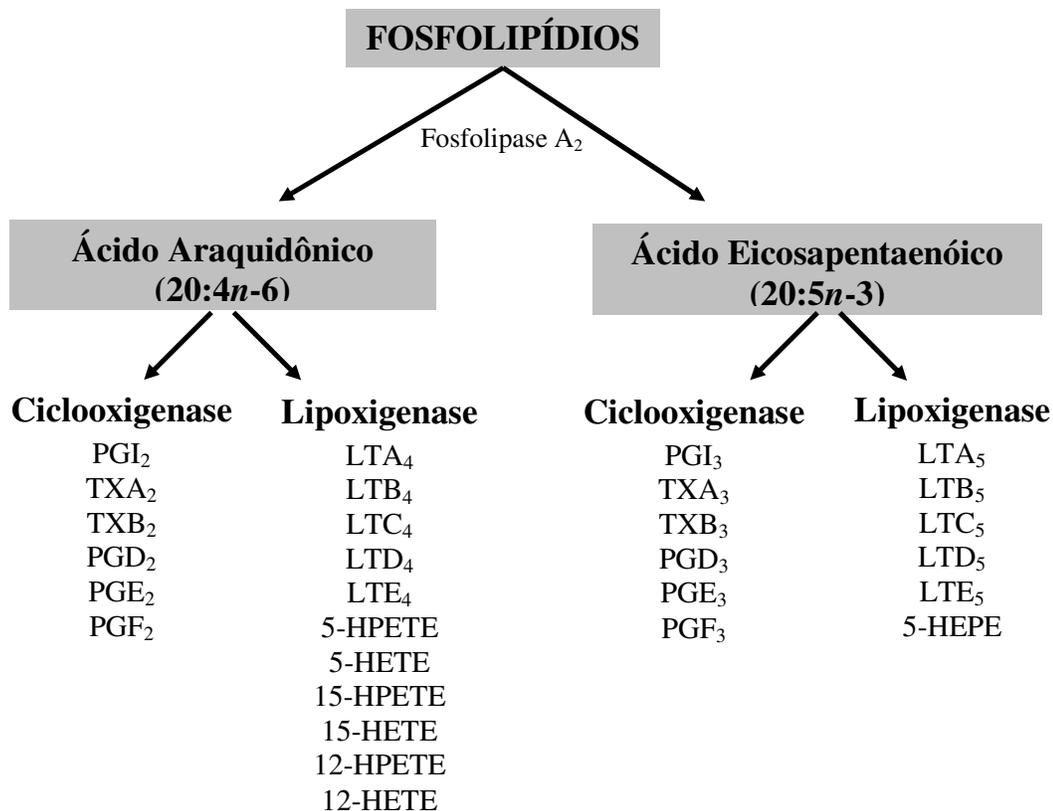


Figura 3: Síntese de eicosanóides derivados dos ácidos araquidônico e eicosapentaenóico. Prostaglandinas (PG); tromboxanos (TX); leucotrienos (LT); ácidos hidroperoxieicosatetraenóicos (HPETE) e ácidos hidroxieicosatetraenóicos (HETE). Adaptado de Calder (1998).

Estudos têm demonstrado que o consumo de PUFA n-3 é capaz de proporcionar efeitos benéficos em diversas doenças, agindo na diminuição dos sintomas ou até mesmo reduzindo sua progressão. Os trabalhos mais conhecidos incluem as doenças cardiovasculares (36), dislipidemia (37), doenças inflamatórias crônicas como o diabetes *mellitus* (38), artrite reumatóide (39) e até mesmo a depressão (40). No entanto os mecanismos de ação não estão totalmente esclarecidos.

Questões referentes à relação dos PUFA n-3 com estresse oxidativo também tem sido abordados na literatura (41). A insaturação dos PUFAs favorecem a ação dos radicais livres, consequentemente aumentando a lipoperoxidação. Sendo assim, alguns trabalhos com suplementação de PUFA n-3 tem descrito aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (42). No entanto, o aumento da lipoperoxidação não é um consenso na literatura, (38, 43, 44).

Devido aos diversos efeitos benéficos proporcionados pelo consumo de PUFA n-3, os órgãos americanos e europeus têm incentivado o consumo de peixes de 2 a 3 vezes por semana. Níveis de ingestão adequada de ácidos graxos essenciais foram estabelecidos pelo *Institute of Medicine*, por meio das quantidades dietéticas de referência, baseadas na ingestão média da população americana (45). A tabela 1 descreve as quantidades recomendadas para o consumo do ácido α -linolênico de acordo com a idade e sexo.

Tabela 1 - Recomendação (g/dia) de ácido α -linolênico (n-3)

IDADE (ANOS)	SEXO	ÔMEGA-3
0-1	Masculino e feminino	0,5
1-3	Masculino e feminino	0,7
4-8	Masculino e feminino	0,9
9-13	Masculino	1,2
9-13	Feminino	1,0
>14	Masculino	1,6
>14	Feminino	1,1
	Gestantes	1,4
	Lactantes	1,3

Fonte: *Institute of Medicine* (2002).

Segundo a *American Heart Association* em 2002, o uso de cápsulas contendo ácido graxo n-3 é indicado para indivíduos com doenças cardiovasculares que não conseguem atingir as quantidades recomendadas deste nutriente somente com a dieta e para pessoas que possuem hipertrigliceridemia, pois necessitam ingerir uma quantidade elevada de EPA e DHA por dia (13).

Fontes ricas de n-3 são encontradas em peixes de águas frias como a sardinha e o salmão, mas também podem ser encontrados nos vegetais de folhas verdes e nos óleos de soja e canola, nozes, linhaça, germe de trigo e leguminosas, como descritos na tabela 2 (46).

Tabela 2 - Principais fontes alimentares de ácidos graxos ômega-3

FONTE	Gramas de <i>n</i> -3 em 100g de alimento
Linhaça	16,51
Óleo de Canola	10,0
Óleo de Soja	7,0
Noz	5,0
Cavala	1,8-5,3
Arenque	1,2-3,1
Salmão	1,0-2,0
Atum	0,5-1,6
Camarão	0,2-0,4
Lagosta	0,3-0,4
Bacalhau	0,2-0,3

Fonte: Adaptado de Schmidit (2000)

Deve-se ressaltar que doses excessivas de PUFA *n*-3 podem ser deletérias para a saúde pelo fato desse lipídeo suprimir a produção de agentes inflamatórios, podendo levar a uma diminuição exagerada da resposta do sistema imunológico, diminuir a coagulação sangüínea e ainda aumentar o tempo de sangramento (47).

Diabetes

O diabetes *mellitus* não é uma única doença, mas um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia. Essa hiperglicemia é o resultado de defeitos na ação e/ou na secreção de insulina (48).

A classificação do diabetes proposta pela *American Diabetes Association* (49) e endossada pela Sociedade Brasileira de Diabetes (48) inclui quatro classes clínicas: diabetes *mellitus* tipo 1, diabetes *mellitus* tipo 2, outros tipos específicos de diabetes e diabetes *mellitus* gestacional. Ainda existem duas categorias, referidas como pré-diabetes, que são a glicemia de jejum alterada e a tolerância à glicose diminuída.

No mundo, segundo a *International Diabetes Federation*, (2), 5,1% (194 milhões de pessoas) da população adulta é diabética. Números muito significativos para uma população total aproximada de 6,3 bilhões. A perspectiva para o ano de 2025 é que estes números cresçam ainda mais, chegando a aproximadamente 333 milhões de diabéticos.

O Brasil encontra-se entre os dez países com maior incidência de diabéticos. No ano de 2000 já eram 5,7 milhões de diabéticos na faixa etária de 20 a 79 anos. As

perspectivas para o ano de 2025 são alarmantes, com aproximadamente 10,7 milhões de brasileiros com diabetes (2).

O diabetes *mellitus* tipo 2 é a forma mais presente de diabetes, representando 90-95% dos casos, enquanto que a prevalência de diabetes tipo 1 é de aproximadamente 05-10%. O diabetes gestacional, uma condição transitória durante a gravidez ocorre em 1 a 14% de todas as gestações, dependendo da população estudada (50).

Diabetes mellitus tipo 2

O diabetes *mellitus* tipo 2 caracteriza-se por defeitos na ação e na secreção da insulina. Em geral ambos os defeitos estão presentes quando a hiperglicemia se manifesta, porém pode haver predomínio de um deles. A maioria dos pacientes com esta forma de diabetes apresenta sobrepeso ou obesidade. Geralmente é diagnosticada após os 40 anos, no entanto a incidência em adolescentes tem aumentado drasticamente na última década, principalmente por causa da obesidade (48).

São alguns fatores de risco para o desenvolvimento do diabetes tipo 2: índice de massa corporal $\geq 25 \text{ kg/m}^2$, histórico familiar positivo para diabetes, histórico cardiovascular, inatividade física, níveis de HDL colesterol $< 35 \text{ mg/dl}$ e/ou níveis de triglicérides $> 250 \text{ mg/dl}$ (48, 51).

A evolução para diabetes tipo 2 ocorre ao longo de um período de tempo variável, passando por estágios intermediários que recebem o nome de glicemia de jejum alterada e tolerância à glicose diminuída. Tais estágios seriam decorrentes de uma combinação de resistência à ação da insulina e disfunção das células beta. Os mecanismos envolvidos na perda da função destas células permanecem obscuros, entretanto já se sabe que o envelhecimento, o estresse oxidativo, a glicotoxicidade e a lipotoxicidade fazem parte deste quadro.

O principal desencadeador do diabetes é o sobrepeso, que pode levar a um aumento de mediadores pró-inflamatórios expressos pelo tecido adiposo. Este quadro tem sido relacionado à resistência a insulina e possivelmente leva a um processo contínuo de destruição das células betas. (52).

O tecido adiposo, o qual abrange diversos tipos celulares (adipócitos, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos), por muito tempo foi considerado apenas um tecido passivo. No entanto, funções endócrinas têm sido atribuídas a este tecido que é capaz de secretar diversas citocinas, chamadas adipocinas (53). Estas citocinas induzem o fígado a

produzir as proteínas da fase aguda, como a CRP, e ao mesmo tempo podem agir nas ilhotas pancreáticas e prejudicar a função secretora das células beta (54).

A CRP é um marcador sensível de inflamação e sua determinação possui um elevado valor informativo para diagnóstico, terapia e monitorização da evolução de processos inflamatórios e das doenças a eles associados. Concentrações elevadas desta proteína têm sido encontradas em pacientes portadores de diversas doenças, entre elas a síndrome metabólica (55), hipertensão (56), doenças cardiovasculares (57, 58), diabetes *mellitus* tipo 1 (59) e diabetes *mellitus* tipo 2 (60).

Os resultados de CRP mensurados nos intervalos de medição altamente sensíveis (CRP-hs) podem servir como marcador de risco independente para a identificação de pessoas com risco para doenças cardiovasculares. A CRP é formada pelo fígado e, normalmente, está presente no soro e plasma sob a forma de oligoproteínas.

Quando as citocinas são produzidas localmente na placa inflamada, como frequentemente ocorre em diabéticos mal controlados, exercem efeitos protrombóticos nas células endoteliais, podendo aumentar diretamente a permeabilidade capilar e causar estresse oxidativo e disfunção endotelial, agravando o processo aterosclerótico (61). Estes danos levam ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, que concomitante com o quadro do diabetes pode levar a morte.

Crítérios para diagnóstico e tratamento do diabetes

Os critérios para diagnóstico do diabetes foi modificado em 1997 pela *American Diabetes Association* (62) e posteriormente aceito pela Organização Mundial da Saúde e pela Sociedade Brasileira de Diabetes. Em 2003, a ADA sugeriu novas modificações para o diagnóstico do quadro de glicemia de jejum alterada (63).

Segundo estes critérios a glicemia é descrita como normal quando seus valores encontram-se entre 70mg/dl e 99mg/dl em jejum e inferior a 140mg/dl duas horas a pós a sobrecarga de glicose.

Para o diagnóstico do diabetes é necessário à presença de pelo menos um desses fatores:

- Presença de sintomas do diabetes e a glicemia casual $\geq 200\text{mg/dl}$.

A mensuração da glicemia casual é realizada em qualquer período do dia sem considerar o tempo desde a última refeição. Os sintomas clássicos do diabetes incluem poliúria, polidipsia e involuntária diminuição de peso.

- Glicemia de jejum ≥ 126 mg/dl.

Jejum é definido como um período de no mínimo 8 horas sem consumir calorias. Em caso de pequenas elevações da glicemia, o diagnóstico deve ser confirmado pela repetição do teste em outro dia.

- Glicemia de 2 horas pós-sobrecarga de glicose ≥ 200 mg/dl.

Este teste tem maior sensibilidade que a glicemia de jejum. Para a sua realização é necessário um jejum de 8 horas e a ingestão de 75 g de glicose anidra dissolvida em água.

É diagnóstica a glicemia de jejum alterada quando a glicemia encontra-se entre 100mg/dl e 125mg/dl e tolerância à glicose diminuída quando após uma sobrecarga de 75g de glicose, o valor da glicemia de 2 horas se situar entre 140mg/dl e 199mg/dl.

Os dados para diagnóstico do diabetes são descritos resumidamente na tabela 3.

Tabela 3 – Valores de glicose plasmática (em mg/dl) para diagnóstico de diabetes *mellitus* e seus estágios pré-clínicos

Categoria	Jejum*	2h após 75g de glicose	Casual**
Glicemia normal	< 100	< 140	
Tolerância à glicose diminuída	> 100 a < 126	≥ 140 a < 200	
Diabetes <i>mellitus</i>	≥ 126	≥ 200	≥ 200 (com sintomas clássicos)***

* O jejum é definido como a falta de ingestão de calorias por no mínimo 8 horas; ** glicemia plasmática casual é aquela realizada a qualquer hora do dia, sem se observar o intervalo desde a última refeição; *** os sintomas clássicos de diabetes *mellitus* incluem poliúria, polidipsia e perda não-explicada de peso.

O tratamento do diabetes requer mudanças nos hábitos de vida. A primeira estratégia é a reeducação alimentar e o combate ao sedentarismo com o objetivo de redução ou manutenção do peso corporal e controle dos níveis glicêmicos. Quando o paciente diabético tipo 2 não responde ou deixa de responder adequadamente às medidas não-medicamentosas, indica-se um ou mais agentes antidiabéticos. O tratamento medicamentoso pode variar desde o uso agentes antidiabéticos orais e/ou uso de insulina.

O exercício físico faz parte do tratamento do diabetes por proporcionar diversos benefícios a curto e longo prazo, melhorando a qualidade de vida desses pacientes. Os exercícios regulares têm sido associados com a redução do risco para doenças cardiovasculares (64, 65), assim como aumento da sensibilidade à insulina, melhora na tolerância a glicose (66, 67), diminuição dos níveis de triglicérides plasmáticos, aumento dos níveis do colesterol HDL (64), melhora na função endotelial (25) e redução dos riscos

para desenvolvimento de síndrome metabólica (26). Além destes benefícios ainda contribui para redução de peso e melhora da auto-estima.

O *American College of Sports Medicine* (68) recomenda a realização de atividade física programada 3 a 4 vezes por semana com duração de 20 a 60 minutos, em intensidade equivalente a 50 – 80% do $VO_{2m\acute{a}x}$ ou utilizar a frequência cardíaca de reserva. Exercícios de força também são recomendados, devendo iniciar com séries de 10 – 15 repetições com cargas equivalentes a 40 – 60% de 1 repetição máxima, progredindo com o treinamento.

Estresse oxidativo

O oxigênio é considerado indispensável para a produção eficiente de energia tanto nos animais quanto nas plantas. Porém, assim como é indispensável para a vida, pode resultar em danos reversíveis ou até mesmo irreversíveis quando os seres vivos são expostos a ele em concentrações superiores às encontradas na atmosfera, podendo inclusive levar a morte celular. Isso é chamado de paradoxo do oxigênio (69, 70). Por isso existem mecanismos para combater estes efeitos deletérios conhecidos como sistemas de defesa antioxidantes. Os danos ao organismo podem variar consideravelmente de acordo com o estado fisiológico do indivíduo, a efetividade das suas defesas antioxidantes e seus hábitos alimentares (71).

Espécies reativas de oxigênio

As espécies reativas de oxigênio (ERO) ou também chamadas espécies derivadas de oxigênio incluem os radicais livres e outras espécies não-radicais. Além das ERO, temos uma ampla gama de radicais livres como os radicais centrados no carbono, enxofre, cloro e nitrogênio (71).

Um radical livre é definido como um átomo, grupo de átomos ou moléculas, com um ou mais elétrons desemparelhados na última camada e capaz de existência independente (71). O não emparelhamento dos elétrons confere alta reatividade aos átomos ou moléculas. São produzidos naturalmente em nosso organismo dentro dos processos metabólicos, e muitas vezes são de extrema utilidade, como nas situações onde há necessidade de ativação do sistema imunológico, na detoxificação de drogas, nos processos de sinalização celular e nas respostas mitóticas (72).

Formação das espécies reativas de oxigênio

No processo respiratório formam-se espécies intermediárias de oxigênio, as ERO. Com isso, o metabolismo dos seres aeróbios depara-se com um paradoxo vital: a imprescindibilidade do oxigênio (O₂) para a manutenção da vida e, por outro lado, seu potencial de toxicidade, diante de vias oxidativas defectíveis no processo respiratório.

Na cadeia de transporte de elétrons, grande parte do oxigênio é reduzida à água, em uma reação tetravalente estável, catalisada pela enzima citocromo-oxidase, condicionando a reação a ocorrer em uma única etapa, sem a formação de intermediários (reação 1).

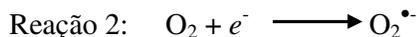
Reação 1 – Redução tetravalente do oxigênio



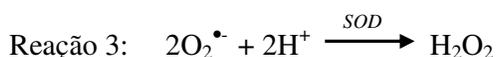
Entretanto, uma pequena parte (2-5%) deste oxigênio pode sofrer redução univalente seqüencial, formando ERO, como por exemplo, o radical superóxido (O₂^{•-}), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radical hidroxil (OH[•]).

Em razão de sua configuração eletrônica, o oxigênio tem uma forte tendência a receber um elétron de cada vez. A conversão univalente do oxigênio à água processa-se da seguinte maneira:

(a) A adição de um elétron a uma molécula de oxigênio no estado fundamental gera a formação do radical superóxido (O₂^{•-}) (reação 2).

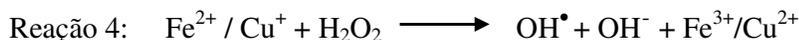


(b) O superóxido ao receber mais um elétron e dois íons hidrogênio, forma peróxido de hidrogênio (H₂O₂), através do processo chamado dismutação. Essa reação é catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD) que é encontrada em quantidades elevadas nas células de mamíferos e que acelera a reação a 10⁴ vezes a frequência para dismutação espontânea num pH fisiológico (reação 3).

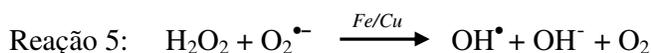


(c) Quando o peróxido de hidrogênio recebe mais um elétron e um íon hidrogênio, é formado o radical hidroxil (OH^\bullet), que é o mais reativo dos intermediários, pois pode reagir e alterar qualquer estrutura celular que esteja próxima, e assim influenciar enzimas, membranas ou ácidos nucleicos (73).

O radical hidroxil pode ser formado quando o peróxido de hidrogênio reage com íons ferro ou cobre (reação 4). A reação é conhecida como Reação de Fenton.



Os íons de metais de transição podem também catalisar a reação entre peróxido de hidrogênio e superóxido, conduzindo à produção de radical hidroxil (reação 5), a chamada Reação de Haber-Weiss.



Os radicais superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e hidroxil (OH^\bullet) têm elétrons desemparelhados em sua órbita mais externa e são, portanto, chamados radicais livres. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) não é um radical livre: representa um metabólito de oxigênio parcialmente reduzido. Outras espécies reativas de interesse são os oxigênios singletes, que são formas de oxigênio spin-alterada. Esses metabólitos derivados do oxigênio, considerados em conjunto, são denominados espécies reativas de oxigênio (tabela 4) em função da sua aumentada reatividade para as biomoléculas, e em geral alteram o tamanho e a forma dos compostos com quem eles interagem.

Tabela 4 - Espécies Reativas de Oxigênio

Radicais Livres	Não Radicais
Superóxido, $\text{O}_2^{\bullet-}$	Peróxido de hidrogênio, H_2O_2
Hidroxil, OH^\bullet	Ácido hipocloroso, HOCl
Peroxil, RO_2^\bullet	Ozônio, O_3
Alcoxil, RO^\bullet	Oxigênio singlet, O_2^1
Hidroperoxil, HO_2^\bullet	Peroxinitrito, ONOO^-

*O ponto sobrescrito (\bullet) é usado para simbolizar um radical

Além disso, o radical superóxido pode reagir diretamente com o óxido nítrico (NO), um radical livre centrado no nitrogênio, gerando peroxinitrito. Este pode levar à formação de um oxidante com características do radical hidroxil (reação 6).



Cada ERO tem suas próprias características, mostrando diferentes reatividades e tempos de meia-vida.

Sistema de defesa antioxidante

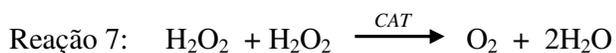
A produção contínua de radicais livres durante processos metabólicos levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos. Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células.

Um antioxidante pode ser definido como uma substância que, quando presente em baixa concentração em comparação com a concentração de um substrato oxidável previne ou retarda significativamente a oxidação deste substrato(71).

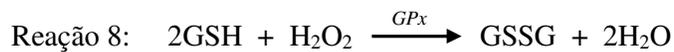
As substâncias que neutralizam o efeito deletério dos radicais livres no organismo podem ser agrupadas nos sistemas de defesa antioxidante. Os antioxidantes podem atuar em três níveis diferentes: prevenindo a iniciação das reações em cadeia, por remoção dos radicais livres; seqüestrando radicais livres gerados nas reações em cadeia, interrompendo-as; e removendo peróxidos, prevenindo a geração de mais radicais livres.

O sistema de defesa antioxidante está dividido em enzimático e não enzimático. O primeiro inclui a SOD, catalase (CAT) e glutaciona peroxidase (GPx).

A CAT desempenha importante papel na eliminação do H₂O₂, promovendo a sua catálise até água.



A GPx também funciona como mecanismo de proteção contra o estresse oxidativo, convertendo a glutaciona reduzida (GSH) à glutaciona oxidada (GSSG), removendo H₂O₂ e formando água (reação 8) (74).



Dessa forma, tanto a CAT quanto a GPx evitam o acúmulo de radical superóxido e de peróxido de hidrogênio para que não haja produção de radical hidroxil, contra o qual não existe sistema enzimático de defesa. O perfeito equilíbrio entre as enzimas antioxidantes é importante para a manutenção da integridade celular.

Já o sistema não enzimático inclui compostos sintetizados pelo organismo humano como bilirrubina, ceruloplasmina, hormônios sexuais, melatonina, coenzima Q, ácido úrico, e outros, ingeridos através da dieta regular ou via suplementação como ácido ascórbico (vitamina C), *a*-tocoferol (vitamina E), *b*-caroteno (precursor de vitamina A) e grupos fenóis de plantas (flavonóides) (71).

Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes (71). Um dos principais mecanismos de lesão é a lipoperoxidação, ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular. Além disso, o estresse oxidativo pode gerar danos a proteínas e ao DNA, provocando diversas alterações na função celular e, portanto, tecidual (71)

A ocorrência de um estresse oxidativo moderado, freqüentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção de uma grande quantidade de radicais livres pode causar danos e morte celular.

Diversos métodos podem ser utilizados para avaliar os níveis de estresse oxidativo nos sistemas biológicos. No entanto os mais utilizados são os que envolvem os danos a lipídios de membranas que podem ser subdivididos em produtos primários e secundários da oxidação. Os primeiros incluem mensuração de dienos conjugados e hidroperóxidos lipídicos, enquanto que os segundos envolvem a mensuração do malondialdeído que é usualmente mensurado como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), F2-isoprostanos (isoprostanos são produtos tóxicos da lipoperoxidação, formados durante a peroxidação do ácido araquidônico) e a análise de gases expirados (75).

Diabete, estresse oxidativos e exercício

Muitas vias metabólicas associadas com a hiperglicemia, tais como a auto-oxidação da glicose, a glicosilação de proteínas e a ativação da via do poliol aumentam a produção de radicais livres. Em adição, há um desbalanço celular entre a oxidação/redução e diminuição dos sistemas de defesas antioxidantes (4, 76). O aumento das espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio e os distúrbios no sistema de defesas antioxidantes tem sido considerados fatores participantes na iniciação e evolução das complicações micro e macrovasculares do diabetes (77). No entanto, o mecanismo pelo qual deve-se este aumento não está totalmente esclarecido.

A correlação entre a hiperglicemia e o aumento da peroxidação lipídica tem sido relatada em diversos estudos. Níveis elevados de TBARS são encontrados tanto em diabéticos tipo 1 (78) quanto em diabéticos tipo 2 (43). Há evidências também da diminuição na capacidade antioxidante total nos diabéticos (79). Outro marcador de estresse oxidativo bastante utilizado é o F2-isoprostanos. Este marcador pode ser mensurado tanto no plasma humano quanto na urina e níveis elevados deste marcador foram relatados em pacientes diabéticos tipo 1 e 2 (80, 81).

O exercício, mesmo sendo recomendado no tratamento do diabetes é reconhecidamente uma forma de estresse fisiológico, fato que deve ser analisado cuidadosamente. O exercício tem uma relação única com a teoria dos radicais livres. Em 1982, Davies e colaboradores (82) foram um dos primeiros a demonstrar que o exercício era capaz de aumentar a produção dos radicais livres. A demanda energética, durante o exercício pode superar em 35 vezes a demanda de repouso. Dessa forma, durante a sua realização ocorre um grande aumento no consumo de oxigênio, na sua maior parte em decorrência do aumento de trabalho muscular. Pelo fato das espécies reativas de oxigênio serem produzidas através do metabolismo intermediário, o exercício provoca aumento da sua produção. Durante o esforço físico, com o aumento de O₂, isto pode aumentar de dez a quinze vezes (71).

Durante o exercício exaustivo, ocorre a degradação de adenosina trifosfato (ATP) indicada pela liberação da xantina e hipoxantina do músculo esquelético. A enzima xantina oxidase pode gerar radicais superóxido na presença de hipoxantina e oxigênio. Então, quando os produtos da degradação do ATP se acumulam, a xantina oxidase pode gerar radicais livres (75). Lembrando que a possibilidade de ocorrer lesão oxidativa nos tecidos

durante o exercício vai depender do desequilíbrio entre a geração de radicais livres e a eficácia dos mecanismos antioxidantes (71).

Por outro lado, sabe-se que a atividade física é uma conhecida forma de estresse e a exposição crônica a ela, chamada treinamento físico, é capaz de disparar adaptações em resposta a uma maior produção destes radicais livres. Sendo assim, o exercício realizado regularmente pode ser interpretado como um agente protetor, minimizando as complicações decorrentes da evolução do quadro do diabetes, como a instalação de doenças cardiovasculares (83).

Sabe-se que uma única sessão de exercício é capaz de reduzir os níveis glicêmicos e os episódios de hiperglicemia em pacientes diabéticos (84). Contudo, pouco se sabe em relação ao comportamento dos parâmetros oxidativos e antioxidantes nestas situações. Desta forma, tornam-se importantes maiores investigações utilizando o exercício agudo.

Ômega-3 e diabetes

A relação entre o consumo de PUFA n-3 e doenças cardiovasculares originou-se através de observações, realizadas na Groelândia com populações de esquimós, que revelaram uma baixa prevalência de doenças coronarianas quando comparadas a sujeitos escandinavos (85). Populações do Alasca também foram estudadas e apresentaram índices muito baixos de doenças cardiovasculares e diabetes *mellitus* tipo 2 (86). Esses achados foram relacionados com as dietas consumidas pelas populações locais, que possuem um conteúdo extremamente alto de peixes e produtos derivados, abundantes em PUFA n-3, mais especificamente de EPA e DHA (87).

Os benéficos proporcionados pelo consumo de PUFA n-3 para os diabéticos estão relacionados principalmente com as alterações no perfil lipídico (88), mas também existem relatos de melhora na pressão arterial (44), na função endotelial (89) e diminuição de marcadores inflamatórios (90).

Dados da década de 80 ao início da década de 90 relatavam aumento dos níveis glicêmico, mensurados pela glicemia de jejum e hemoglobina glicada e baixa atividade insulínica em sujeitos diabéticos tipo 2 que consumiam grandes quantidades (em torno de 10g/dia) de óleo de peixe (91, 92). Com o avançar das pesquisas, observou-se que quantidades menores de PUFA n-3, em torno de 1 a 4g/dia, eram capazes de proporcionar benefícios ao organismo sem provocar elevações nos parâmetros glicêmicos (93, 94).

Em relação ao metabolismo lipídico há alterações importantes com o consumo regular de PUFA n-3. Os efeitos hipotriglicéidêmicos são relatados em diversos estudos, apresentando reduções significativas dos triglicérides tanto em indivíduos saudáveis (95, 96) quanto em pacientes diabéticos (42, 97). Os dados referentes ao HDL colesterol ainda são divergentes. Enquanto que em alguns estudos foram verificados aumentos nos níveis de HDL (42, 43), em outros a suplementação com PUFA n-3 não foi capaz de modificá-los (93, 95). Quando analisados o colesterol total e LDL colesterol, grande parte dos estudos não verificaram alterações significativas (43, 94, 98). A meta-análise realizada por Hartweg e colaboradores (88), utilizou 23 estudos controlados e randomizados com pacientes diabéticos tipo 2 para os quais foram oferecidos quantidades aproximadas de 3,5g/dia de ômega-3 pelo período médio de 9 semanas, demonstrando redução nos triglicérides e VLDL colesterol, sem alterações nos demais parâmetros lipídicos e glicêmicos analisados.

O aumento de PUFA n-3 está associado com diversos benefícios aos pacientes diabéticos tipo 2, no entanto, o ômega-3 é altamente insaturado, e por isso tem sido relacionado com o aumento da formação de espécies reativas de oxigênio. Pedersen e colaboradores (42) sugerem que a suplementação com 4g/dia de óleo de peixe leva a um aumento de estresse oxidativo em vivo e em vitro em pacientes diabéticos tipo 2. No entanto, outros estudos com suplementação de PUFA n-3, tem apresentado alterações benéficas nos parâmetros oxidativos (38, 43, 44).

Se os PUFA n-3 forem capazes de proporcionar os diversos benefícios citados anteriormente sem gerar aumento de estresse oxidativo aos pacientes diabéticos, sua capacidade funcional seria ainda mais importante para esta população. No entanto são escassos os trabalhos científicos que tenham estudado tais efeitos.

Referências

1. World Health Organization (WHO): *The World Health Report 2003*. Geneva, 2003
2. International Diabetes Federation (IDF): *Diabetes Atlas 2003*. Brussels, International Diabetes Federation, 2003
3. American Diabetes Association (ADA): Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 30 Suppl 1:S42-47, 2007
4. Wajchenberg BL: Disfunção endotelial no diabetes do tipo 2. *Arq Bras Endocrinologia Metab* 46:514-519, 2002
5. Kalousova M, Fialova L, Skrha J, Zima T, Soukupova J, Malbohan IM, Stipek S: Oxidative stress, inflammation and autoimmune reaction in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Prague Med Rep* 105:21-28, 2004
6. Martin-Gallan P, Carrascosa A, Gussinye M, Dominguez C: Estimation of lipoperoxidative damage and antioxidant status in diabetic children: relationship with individual antioxidants. *Free Radic Res* 39:933-942, 2005
7. Kempf K, Rose B, Herder C, Kleophas U, Martin S, Kolb H: Inflammation in metabolic syndrome and type 2 diabetes: Impact of dietary glucose. *Ann N Y Acad Sci* 1084:30-48, 2006
8. Pickup JC: Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27:813-823, 2004
9. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N: C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 342:836-843, 2000
10. Bennet AM, Prince JA, Fei GZ, Lyrenas L, Huang Y, Wiman B, Frostegard J, Faire U: Interleukin-6 serum levels and genotypes influence the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis* 171:359-367, 2003
11. Sirtori CR, Crepaldi G, Manzato E, Mancini M, Rivellese A, Paoletti R, Pazzucconi F, Pamparana F, Stragliotto E: One-year treatment with ethyl esters of n-3 fatty acids in patients with hypertriglyceridemia and glucose intolerance: reduced triglyceridemia, total cholesterol and increased HDL-C without glycemicalterations. *Atherosclerosis* 137:419-427, 1998

12. Hu FB, van Dam RM, Liu S: Diet and risk of Type II diabetes: the role of types of fat and carbohydrate. *Diabetologia* 44:805-817, 2001
13. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ: Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 106:2747-2757, 2002
14. Connor SL, Connor WE: Are fish oils beneficial in the prevention and treatment of coronary artery disease? *Am J Clin Nutr* 66:1020S-1031S, 1997
15. Mori TA, Beilin LJ: Long-chain omega 3 fatty acids, blood lipids and cardiovascular risk reduction. *Curr Opin Lipidol* 12:11-17, 2001
16. Zak A, Zeman M, Tvrzicka E, Stolba P: [The effect of fish oil on metabolic parameters in patients with type 2 diabetes mellitus associated with dyslipidemia]. *Cas Lek Cesk* 135:354-359, 1996
17. McManus RM, Jumpson J, Finegood DT, Clandinin MT, Ryan EA: A comparison of the effects of n-3 fatty acids from linseed oil and fish oil in well-controlled type II diabetes. *Diabetes Care* 19:463-467, 1996
18. Sacco RL, Gan R, Boden-Albala B, Lin IF, Kargman DE, Hauser WA, Shea S, Paik MC: Leisure-time physical activity and ischemic stroke risk: the Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke* 29:380-387, 1998
19. Blair SN, Brodney S: Effects of physical inactivity and obesity on morbidity and mortality: current evidence and research issues. *Med Sci Sports Exerc* 31:S646-662, 1999
20. Kurl S, Laukkanen JA, Rauramaa R, Lakka TA, Sivenius J, Salonen JT: Cardiorespiratory fitness and the risk for stroke in men. *Arch Intern Med* 163:1682-1688, 2003
21. Wilmore JH, Despres JP, Stanforth PR, Mandel S, Rice T, Gagnon J, Leon AS, Rao D, Skinner JS, Bouchard C: Alterations in body weight and composition consequent to 20 wk of endurance training: the HERITAGE Family Study. *Am J Clin Nutr* 70:346-352, 1999
22. Kokkinos PF, Narayan P, Papademetriou V: Exercise as hypertension therapy. *Cardiol Clin* 19:507-516, 2001
23. Shephard RJ: Cytokine responses to physical activity, with particular reference to IL-6: sources, actions, and clinical implications. *Crit Rev Immunol* 22:165-182, 2002
24. Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, Berra K, Blair SN, Costa F, Franklin B, Fletcher GF, Gordon NF, Pate RR, Rodriguez BL, Yancey

- AK, Wenger NK: Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation* 107:3109-3116, 2003
25. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, Linke A, Hofer J, Erbs S, Schoene N, Schuler G: Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 342:454-460, 2000
26. Laaksonen DE, Lakka HM, Salonen JT, Niskanen LK, Rauramaa R, Lakka TA: Low levels of leisure-time physical activity and cardiorespiratory fitness predict development of the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 25:1612-1618, 2002
27. Psota TL, Gebauer SK, Kris-Etherton P: Dietary omega-3 fatty acid intake and cardiovascular risk. *Am J Cardiol* 98:3i-18i, 2006
28. Voet D, Voet JG, Pratt C: *Fundamentals of Biochemistry*. New York, Wiley, 1999
29. Curi R, Pompéia C, Miyasaka C, Procopio J: *Entendendo a gordura: os ácidos graxos*. São Paulo, Manole, 2002
30. Simopoulos AP: The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* 56:365-379, 2002
31. Calder PC: N-3 polyunsaturated fatty acids and immune cell function. *Adv Enzyme Regul* 37:197-237, 1997
32. Simopoulos AP: Omega-3 fatty acids in the prevention-management of cardiovascular disease. *Can J Physiol Pharmacol* 75:234-239, 1997
33. Calder PC: Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Braz J Med Biol Res* 31:467-490, 1998
34. Simopoulos AP: Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr* 21:495-505, 2002
35. Kelley DS: Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. *Nutrition* 17:669-673, 2001
36. Marchioli R, Barzi F, Bomba E, Chieffo C, Di Gregorio D, Di Mascio R, Franzosi MG, Geraci E, Levantesi G, Maggioni AP, Mantini L, Marfisi RM, Mastrogiuseppe G, Mininni N, Nicolosi GL, Santini M, Schweiger C, Tavazzi L, Tognoni G, Tucci C, Valagussa F:

Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. *Circulation* 105:1897-1903, 2002

37. Accinni R, Rosina M, Bamonti F, Della Noce C, Tonini A, Bernacchi F, Campolo J, Caruso R, Novembrino C, Gherzi L, Lonati S, Grossi S, Ippolito S, Lorenzano E, Ciani A, Gorini M: Effects of combined dietary supplementation on oxidative and inflammatory status in dyslipidemic subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16:121-127, 2006

38. Mori TA, Woodman RJ, Burke V, Puddey IB, Croft KD, Beilin LJ: Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treated-hypertensive type 2 diabetic subjects. *Free Radic Biol Med* 35:772-781, 2003

39. Volker D, Fitzgerald P, Major G, Garg M: Efficacy of fish oil concentrate in the treatment of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 27:2343-2346, 2000

40. Hallahan B, Hibbeln JR, Davis JM, Garland MR: Omega-3 fatty acid supplementation in patients with recurrent self-harm. Single-centre double-blind randomised controlled trial. *Br J Psychiatry* 190:118-122, 2007

41. Nansen C, Vessby B, Berglund L, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellesse A, Storlien L, Erkkila A, Yla-Herttuala S, Tapsell L, Basu S: Dietary (n-3) fatty acids reduce plasma F2-isoprostanes but not prostaglandin F2alpha in healthy humans. *J Nutr* 136:1222-1228, 2006

42. Pedersen H, Petersen M, Major-Pedersen A, Jensen T, Nielsen NS, Lauridsen ST, Marckmann P: Influence of fish oil supplementation on in vivo and in vitro oxidation resistance of low-density lipoprotein in type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr* 57:713-720, 2003

43. Kesavulu MM, Kameswararao B, Apparao C, Kumar EG, Harinarayan CV: Effect of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab* 28:20-26, 2002

44. Jain S, Gaiha M, Bhattacharjee J, Anuradha S: Effects of low-dose omega-3 fatty acid substitution in type-2 diabetes mellitus with special reference to oxidative stress--a prospective preliminary study. *J Assoc Physicians India* 50:1028-1033, 2002

45. Institute of Medicine (IOM): *Dietary Reference Intakes for Energy and Macronutrients*. Washington, DC, National Academy Press, 2002
46. Krauss RM, Eckel RH, Howard B, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, Erdman JW, Jr., Kris-Etherton P, Goldberg IJ, Kotchen TA, Lichtenstein AH, Mitch WE, Mullis R, Robinson K, Wylie-Rosett J, St Jeor S, Suttie J, Tribble DL, Bazzarre TL: AHA Dietary Guidelines: revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation* 102:2284-2299, 2000
47. Clarke J, Herzberg G, Peeling J, Buist R, Corbett D: Dietary supplementation of omega-3 polyunsaturated fatty acids worsens forelimb motor function after intracerebral hemorrhage in rats. *Exp Neurol* 191:119-127, 2005
48. Sociedade Brasileira de Diabetes: *Tratamento e acompanhamento de Diabetes mellitus. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes*. Rio de Janeiro, Diagraphic editora, 2007
49. Standards of medical care in diabetes - 2008. *Diabetes Care* 31 Suppl 1:S12-54, 2008
50. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 31 Suppl 1:S55-60, 2008
51. Mayor S: International Diabetes Federation consensus on prevention of type 2 diabetes. *Int J Clin Pract* 61:1773-1775, 2007
52. Kershaw EE, Flier JS: Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2548-2556, 2004
53. Murdolo G, Smith U: The dysregulated adipose tissue: a connecting link between insulin resistance, type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16 Suppl 1:S35-38, 2006
54. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Bandyopadhyay A: The potential influence of inflammation and insulin resistance on the pathogenesis and treatment of atherosclerosis-related complications in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2422-2429, 2003
55. Aronson D, Sella R, Sheikh-Ahmad M, Kerner A, Avizohar O, Rispler S, Bartha P, Markiewicz W, Levy Y, Brook GJ: The association between cardiorespiratory fitness and C-reactive protein in subjects with the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol* 44:2003-2007, 2004
56. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM: C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *Jama* 290:2945-2951, 2003

57. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR: Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 347:1557-1565, 2002
58. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N: C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 107:391-397, 2003
59. Targher G, Bertolini L, Zoppini G, Zenari L, Falezza G: Increased plasma markers of inflammation and endothelial dysfunction and their association with microvascular complications in Type 1 diabetic patients without clinically manifest macroangiopathy. *Diabet Med* 22:999-1004, 2005
60. Thorand B, Baumert J, Kolb H, Meisinger C, Chambless L, Koenig W, Herder C: Sex differences in the prediction of type 2 diabetes by inflammatory markers: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Diabetes Care* 30:854-860, 2007
61. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A: Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 25:4-7, 2004
62. American Diabetes Association (ADA): Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 20:1183-1197, 1997
63. Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, Kitzmiller J, Knowler WC, Lebovitz H, Lernmark A, Nathan D, Palmer J, Rizza R, Saudek C, Shaw J, Steffes M, Stern M, Tuomilehto J, Zimmet P: Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 26:3160-3167, 2003
64. Fritz T, Wandell P, Aberg H, Engfeldt P: Walking for exercise--does three times per week influence risk factors in type 2 diabetes? *Diabetes Res Clin Pract* 71:21-27, 2006
65. Smith TC, Wingard DL, Smith B, Kritz-Silverstein D, Barrett-Connor E: Walking decreased risk of cardiovascular disease mortality in older adults with diabetes. *J Clin Epidemiol* 60:309-317, 2007
66. Sigal RJ, Kenny GP, Boule NG, Wells GA, Prud'homme D, Fortier M, Reid RD, Tulloch H, Coyle D, Phillips P, Jennings A, Jaffey J: Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 147:357-369, 2007

67. Bell LM, Watts K, Siafarikas A, Thompson A, Ratnam N, Bulsara M, Finn J, O'Driscoll G, Green DJ, Jones TW, Davis EA: Exercise alone reduces insulin resistance in obese children independently of changes in body composition. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007
68. American College Of Sports and Medicine: *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. . Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2005
69. Latham F: The oxygen paradox. Experiments on the effects of oxygen in human anoxia. *Lancet* 1:77-81, 1951
70. Clanton T: Yet another oxygen paradox. *J Appl Physiol* 99:1245-1246, 2005
71. Halliwell B, Gutteridge J: *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York, Oxford, 1999
72. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39:44-84, 2007
73. Jenkins RR: Free radical chemistry. Relationship to exercise. *Sports Med* 5:156-170, 1988
74. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Guarnieri C, Caldarera CM, Albertini A, Visioli O: Oxygen-mediated myocardial damage during ischaemia and reperfusion: role of the cellular defences against oxygen toxicity. *J Mol Cell Cardiol* 17:937-945, 1985
75. Finaud J, Lac G, Filaire E: Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports Med* 36:327-358, 2006
76. Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M: A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother* 59:365-373, 2005
77. Bonnefont-Rousselot D: Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5:561-568, 2002
78. Peerapatdit T, Likidlilid A, Patchanans N, Somkasetrin A: Antioxidant status and lipid peroxidation end products in patients of type 1 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai* 89 Suppl 5:S141-146, 2006

79. Santini SA, Marra G, Giardina B, Cotroneo P, Mordente A, Martorana GE, Manto A, Ghirlanda G: Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes* 46:1853-1858, 1997
80. Davi G, Chiarelli F, Santilli F, Pomilio M, Vigneri S, Falco A, Basili S, Ciabattone G, Patrono C: Enhanced lipid peroxidation and platelet activation in the early phase of type 1 diabetes mellitus: role of interleukin-6 and disease duration. *Circulation* 107:3199-3203, 2003
81. Davi G, Ciabattone G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, Pennese E, Vitacolonna E, Bucciarelli T, Costantini F, Capani F, Patrono C: In vivo formation of 8-iso-prostaglandin f₂α and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation* 99:224-229, 1999
82. Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L: Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 107:1198-1205, 1982
83. Nojima H, Watanabe H, Yamane K, Kitahara Y, Sekikawa K, Yamamoto H, Yokoyama A, Inamizu T, Asahara T, Kohno N: Effect of aerobic exercise training on oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 57:170-176, 2008
84. Praet SF, Manders RJ, Lievever AG, Kuipers H, Stehouwer CD, Keizer HA, van Loon LJ: Influence of acute exercise on hyperglycemia in insulin-treated type 2 diabetes. *Med Sci Sports Exerc* 38:2037-2044, 2006
85. Kromann N, Green A: Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. Incidence of some chronic diseases 1950-1974. *Acta Med Scand* 208:401-406, 1980
86. Mouratoff GJ, Carroll NV, Scott EM: Diabetes mellitus in Athabaskan Indians in Alaska. *Diabetes* 18:29-32, 1969
87. Bang HO, Dyerberg J, Hjoorne N: The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med Scand* 200:69-73, 1976
88. Hartweg J, Perera R, Montori V, Dinneen S, Neil HA, Farmer A: Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*:CD003205, 2008
89. Abe Y, El-Masri B, Kimball KT, Pownall H, Reilly CF, Osmundsen K, Smith CW, Ballantyne CM: Soluble cell adhesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:723-731, 1998

90. Ferrucci L, Cherubini A, Bandinelli S, Bartali B, Corsi A, Lauretani F, Martin A, Andres-Lacueva C, Senin U, Guralnik JM: Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers. *J Clin Endocrinol Metab* 91:439-446, 2006
91. Borkman M, Chisholm DJ, Furler SM, Storlien LH, Kraegen EW, Simons LA, Chesterman CN: Effects of fish oil supplementation on glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Diabetes* 38:1314-1319, 1989
92. Hendra TJ, Britton ME, Roper DR, Wagaine-Twabwe D, Jeremy JY, Dandona P, Haines AP, Yudkin JS: Effects of fish oil supplements in NIDDM subjects. Controlled study. *Diabetes Care* 13:821-829, 1990
93. Luo J, Rizkalla SW, Vidal H, Oppert JM, Colas C, Boussairi A, Guerre-Millo M, Chapuis AS, Chevalier A, Durand G, Slama G: Moderate intake of n-3 fatty acids for 2 months has no detrimental effect on glucose metabolism and could ameliorate the lipid profile in type 2 diabetic men. Results of a controlled study. *Diabetes Care* 21:717-724, 1998
94. Petersen M, Pedersen H, Major-Pedersen A, Jensen T, Marckmann P: Effect of fish oil versus corn oil supplementation on LDL and HDL subclasses in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 25:1704-1708, 2002
95. Moore CS, Bryant SP, Mishra GD, Krebs JD, Browning LM, Miller GJ, Jebb SA: Oily fish reduces plasma triacylglycerols: a primary prevention study in overweight men and women. *Nutrition* 22:1012-1024, 2006
96. Thomas TR, Smith BK, Donahue OM, Altena TS, James-Kracke M, Sun GY: Effects of omega-3 fatty acid supplementation and exercise on low-density lipoprotein and high-density lipoprotein subfractions. *Metabolism* 53:749-754, 2004
97. Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S: Effects of eicosapentaenoic acid on platelet activation markers and cell adhesion molecules in hyperlipidemic patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 17:153-159, 2003
98. Surette ME, Edens M, Chilton FH, Tramposch KM: Dietary echium oil increases plasma and neutrophil long-chain (n-3) fatty acids and lowers serum triacylglycerols in hypertriglyceridemic humans. *J Nutr* 134:1406-1411, 2004

CAPÍTULO V

OBJETIVOS

Objetivo geral

Verificar o efeito do exercício agudo e da suplementação com PUFA n-3 sobre parâmetros de estresse oxidativo e inflamatórios em pacientes diabéticos tipo 2.

Objetivos específicos

- ❖ Avaliar os efeitos do exercício agudo sobre parâmetros de estresse oxidativo, através da medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), F2-isoprostanos, TRAP, SOD e UA e de marcadores inflamatórios, através da mensuração da CRP-hs.
- ❖ Avaliar os efeitos da suplementação, a curto prazo, com PUFA n-3 sobre parâmetros de estresse oxidativo, através da medida do TBARS, F2-isoprostanos, TRAP, SOD e UA e de marcadores inflamatórios, através da mensuração da CRP-hs.
- ❖ Avaliar o efeito da suplementação com PUFA n-3 sobre parâmetros glicêmicos e lipídicos antes e após a suplementação.
- ❖ Avaliar os efeitos do exercício físico sobre os parâmetros de estresse oxidativo e marcadores inflamatórios antes e após a suplementação com PUFA n-3.

HIPÓTESES

H1 - O exercício agudo induzirá aumento de estresse oxidativo e CRP-hs;

H2 – A suplementação com PUFA n-3 diminuirá os níveis de CRP-hs e não promoverá danos oxidativos;

H3 - A suplementação com PUFA n-3 diminuirá os níveis de triglicerídeos e não alterará os níveis glicêmicos;

DEFINIÇÕES OPERACIONAIS DE TERMOS

Diabéticos: indivíduos com diabetes tipo 2, de ambos os sexos, com idades entre 33 a 59 anos, sem complicações decorrentes da doença.

Parâmetros bioquímicos oxidativos: correspondem à medida de lipoperoxidação, quantificada através da análise do TBARS, a partir da reação do malondialdeído (MDA) com o TBA (ácido tiobarbitúrico) e do F2-isoprostanos através da mensuração do 8-epi PGF2 α .

Parâmetros bioquímicos antioxidantes: correspondem à medida da capacidade antioxidante total (TRAP), e das defesas antioxidantes enzimáticas, através da enzima superóxido dismutase (SOD), e não enzimáticas, através do ácido úrico (UA).

Perfil lipídico: análise de triglicerídeos (TG), colesterol total (COL), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL).

Parâmetros inflamatórios: análise de proteína C reativa ultra-sensível (CRP-hs).

Exercício: exercício em cicloergômetro realizado em intensidade equivalente ao segundo limiar ventilatório, determinado a partir de um teste de cargas progressivas, com duração de 30 minutos ou até exaustão do voluntário.

Grupo PUFA n-3: grupo que consumiu cápsulas contendo ácido graxo poliinsaturado ômega-3.

Grupo Placebo: grupo que consumiu cápsulas contendo gelatina.

CAPÍTULO VI

ARTIGO ORIGINAL: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÔMEGA-3 E DO EXERCÍCIO SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO E PROTEÍNA C REATIVA EM DIABÉTICOS TIPO 2.

RESUMO

OBJETIVOS - Verificar o efeito do exercício agudo e da suplementação com PUFA n-3 sobre o perfil lipídico e glicêmico, parâmetros de estresse oxidativo e inflamatórios em pacientes diabéticos tipo 2.

DELINEAMENTO DA PESQUISA - Participaram do estudo 30 diabéticos tipo 2 sem complicações decorrentes da doença. Realizou-se coleta de sangue em jejum de 12 h e de urina para análises bioquímicas. Após foram submetidos a eletrocardiograma durante o teste de cargas progressivas. Na semana seguinte foi realizado o 1º teste submáximo com coleta de sangue antes e imediatamente após o exercício para análise de estresse oxidativo e proteína C reativa ultra-sensível (CRP-hs). Os participantes foram aleatoriamente alocados em 2 grupos: placebo (recebeu cápsulas contendo gelatina) e PUFA n-3 (recebeu cápsulas contendo 180mg de ácido eicosapentaenóico, 120mg de ácido docosahexaenóico e 2mg de vitamina E). Foram consumidas 3 cápsulas ao dia pelo período de 8 semanas. Após este período, o protocolo de exames e teste submáximo foi repetido.

RESULTADOS - Não foram verificadas alterações significativas nos níveis de HDL, LDL, COL, glicemia e HbA1c após a suplementação. Após o período de suplementação, o grupo PUFA n-3 reduziu significativamente os valores de triglicérides ($p=0,005$) e VLDL ($p=0,003$) e aumentou a capacidade antioxidante total ($p=0,047$) e a atividade da enzima superóxido dismutase ($p=0,017$). Não foram verificadas alterações nos marcadores de lipoperoxidação e ácido úrico. A CRP-hs aumentou após o exercício em ambos os grupos, e não se alterou com a suplementação.

CONCLUSÕES - Uma única sessão de exercício não foi capaz de gerar danos oxidativos, no entanto proporcionou aumento de CRP-hs. A suplementação com PUFA n-3 reduziu os níveis de triglicérides e aumentou as defesas antioxidantes sem alterar parâmetros oxidativos.

Palavras-chave: Omega-3, exercício agudo, estresse oxidativo, proteína C reativa.

ORIGINAL PAPER: EFFECTS OF OMEGA-3 SUPPLEMENTATION AND EXERCISE UPON OXIDATIVE STRESS PARAMETERS AND C-REACTIVE PROTEIN IN TYPE 2 DIABETICS

ABSTRACT

OBJECTIVES – To verify the effect of acute exercise and PUFA n-3 supplementation on lipid and glycaemic profile, oxidative stress and inflammatory parameters in type 2 diabetic patients.

RESEARCH DESIGN – Thirty type 2 diabetic patients, without chronic complications, took part in this study. Blood and urine samples were collected after 12h-fasting state for biochemical analysis. Thereafter, electrocardiogram measurements were taken during incremental exercising test. On the following week, participants performed the first submaximal test with blood samples taken before and immediately after exercise for measurement of oxidative stress and C-reactive protein (CRP-hs). Participants were randomly allocated into two groups: placebo (capsules containing gelatin) and PUFA n-3 (capsules containing 180mg of eicosapentaenoic acid, 120mg of docosahexaenoic acid and 2mg of vitamin E). Three capsules were ingested per day for an eight-week period. After this period, the examination protocol and the submaximal test were repeated.

RESULTS - There were no changes on HDL, LDL, COL, glycaemia, and HbA1c levels after supplementation. After the supplementation period, PUFA n-3 group showed a decrease in triglycerides ($p=0.005$) and VLDL levels ($p=0.003$), whereas total antioxidant capacity ($p=0.047$) and superoxide dismutase increased ($p=0.017$). There were no differences in lipid peroxidation markers and uric acid. CRP-hs increased after exercise in both groups, however, no changes were observed after supplementation.

CONCLUSIONS – Despite an increase in CRP-hs, a single exercise session did not cause oxidative damage in type 2 diabetic patients. PUFA n-3 supplementation reduced triglycerides and improved antioxidant defense without affecting oxidative parameters.

Key-words: Omega-3, acute exercise, oxidative stress, C reactive protein.

INTRODUÇÃO

A hiperglicemia é a causa reconhecida das desordens metabólicas e inúmeras complicações nos indivíduos com diabetes. O aumento da oxidação da glicose está associado a uma maior formação de radicais livres por intermédio de vias metabólicas, tais como, da auto-oxidação da glicose, da glicosilação de proteínas e da ativação da via dos polióis (1). O aumento na formação de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio e os distúrbios no sistema de defesas antioxidantes têm sido considerados fatores participantes na iniciação e evolução das complicações micro e macrovasculares do diabetes (2). No entanto, o mecanismo associado a este aumento não está totalmente esclarecido.

A relação entre a hiperglicemia e o aumento da peroxidação lipídica tem sido relatada em diversos estudos (3-6). Níveis elevados de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) tem sido descritos tanto em diabéticos tipo 1 (3) quanto em diabéticos tipo 2 (4). Outro marcador de lipoperoxidação bastante utilizado é o F2-isoprostano. Isoprostanos são produtos tóxicos da lipoperoxidação, formados durante a peroxidação do ácido araquidônico. Este marcador, que pode ser mensurado tanto no plasma humano quanto na urina, tem se mostrado elevado em pacientes diabéticos tipo 2 (5, 6).

Além da maior produção de estresse oxidativo, os diabéticos também apresentam uma suscetibilidade aumentada aos processos inflamatórios. Marcadores inflamatórios conhecidos, como, por exemplo, a proteína C reativa ultra sensível (CRP-hs), podem predispor ao aumento do risco para doenças cardiovasculares e serem sinalizadores importantes no controle do diabetes e prevenção de complicações decorrentes da doença (7-9).

Para se obter melhores resultados no manejo do diabetes, deve-se aliar o controle bioquímico a prática de exercício e hábitos alimentares saudáveis. O exercício físico faz parte do tratamento do diabetes por proporcionar diversos benefícios a curto e longo prazo, melhorando a qualidade de vida desses pacientes (10-13). No entanto, sabe-se que a atividade física é uma forma promotora de estresse. A exposição crônica ao exercício, chamada treinamento físico, é capaz de promover adaptações em resposta a uma maior produção destes radicais livres. Contudo, pouco se sabe em relação ao comportamento dos parâmetros oxidativos e antioxidantes proporcionados por uma única sessão de exercício.

Em relação à alimentação, numerosos estudos têm demonstrado efeitos benéficos dos ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (PUFA n-3) no tratamento de diversas doenças,

dentre elas, o diabetes (14-16). Os seus efeitos biológicos incluem principalmente alterações no metabolismo das lipoproteínas, na função plaquetária e endotelial e na produção de eicosanóides antiinflamatórios. Os PUFA n-3 são fundamentais para a manutenção da integridade das membranas celulares e são considerados ácidos graxos essenciais para os seres humanos, devendo ser provenientes da dieta (17, 18).

Questões referentes à relação dos PUFA n-3 com estresse oxidativo também tem sido abordados na literatura (14). A insaturação dos ácidos graxos favorece a ação dos radicais livres, conseqüentemente aumentando a lipoperoxidação. Sendo assim, alguns trabalhos com suplementação de PUFA n-3 têm descrito aumento na formação de espécies reativas de oxigênio (19). No entanto, o aumento de estresse oxidativo não é um consenso na literatura, (4, 20, 21).

O objetivo do presente estudo foi verificar as respostas geradas pelo exercício agudo sobre os marcadores de estresse oxidativo e da CRP-hs, além dos efeitos da suplementação com PUFA n-3 sobre o perfil glicêmico, lipídico, parâmetros oxidativos e antioxidantes e inflamatórios em pacientes diabéticos tipo 2.

DESENHO DA PESQUISA E MÉTODOS

Participantes

Foram recrutados para participar deste estudo 90 pacientes diabéticos tipo 2, com idades entre 30 a 60 anos, provenientes do Ambulatório de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Destes pacientes, apenas 30 estavam adequados aos critérios de participação do projeto. Os critérios de exclusão incluíam tabagismo, complicações decorrentes do diabetes, índice de massa corporal (IMC) superior a 34,9 kg/m², hemoglobina glicada (HbA_{1C}) acima de 9%, uso de medicamentos hipolipemiantes, ácido acetil salicílico e de insulina, LDL colesterol igual ou superior a 190 mg/dl e triglicérides igual ou superior a 500 mg/dl. Todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Informado e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA (06-252), estando adequado a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Procedimentos

O estudo foi composto por seis etapas: 1) Entrevista no ambulatório de endocrinologia do HCPA; 2) Realização de exames de sangue e urina no HCPA; 3) Avaliação antropométrica, eletrocardiograma e teste máximo no Laboratório de Pesquisa

do Exercício da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (LAPEX); 4) Realização do primeiro teste submáximo no LAPEX; 5) Após oito semanas, realização de novos exames de sangue e urina no HCPA e 6) Realização do segundo teste submáximo no LAPEX (figura 1).

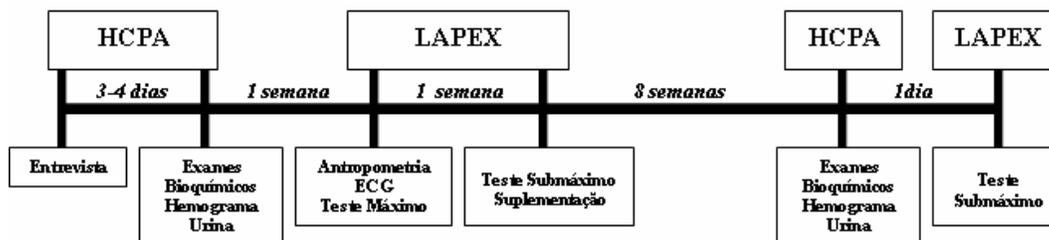


Figura 1 - Esquema ilustrativo referente aos procedimentos realizados pelos voluntários durante a participação no estudo.

Após consulta realizada no HCPA foi agendado um retorno para realização de exames de sangue (HDL, LDL, colesterol total, VLDL, triglicerídeos, HbA_{1C}, glicemia de jejum e hemograma) e de urina (albuminúria urinária) para os quais deveriam ser feito jejum de 12h. Após a obtenção dos resultados dos exames, o participante era encaminhado ao LAPEX. Na primeira visita, foram realizados os seguintes procedimentos: avaliação antropométrica para determinação do percentual de gordura (22) e da relação cintura/quadril; eletrocardiograma de repouso; verificação da glicemia capilar e pressão arterial; eletrocardiograma de esforço concomitante ao teste máximo em cicloergômetro. A segunda visita ao LAPEX ocorreu uma semana após a primeira. Neste dia, foi realizado o primeiro teste submáximo, com coleta de sangue (10 ml), antes e após o exercício, para análises da CRP-hs e marcadores de estresse oxidativo. A pressão arterial foi verificada antes e após o exercício, a frequência cardíaca (FC) a cada minuto durante o exercício e a glicemia capilar antes, no 15º minuto, no final do teste e após 15 minutos de repouso. Neste mesmo dia o participante recebia as cápsulas de suplementação que deveriam ser consumidas diariamente por oito semanas.

Os participantes foram alocados aleatoriamente em dois grupos: (1) grupo placebo e (2) grupo PUFA n-3. Após o período de suplementação, todos deveriam retornar ao HCPA para realização dos exames bioquímicos e após, ao LAPEX, para realização do segundo teste submáximo, seguindo o mesmo protocolo do primeiro teste. Todos os testes físicos foram acompanhados por um cardiologista.

Protocolo de testes

O protocolo de avaliações foi composto por um teste máximo e dois testes submáximos, estes intercalados por um período de oito semanas. Os testes foram realizados em cicloergômetro (The Byke, Cybex, USA) juntamente com a realização da ergoespirometria (Medical Graphics Corporation, CPX-D, USA) para a análise do consumo de oxigênio de pico ($VO_{2\text{pico}}$) e do 2º limiar ventilatório (LV2), determinado como a mínima carga em que o VE/VO_2 apresenta um aumento concomitante com VE/VCO_2 (23).

O protocolo do teste máximo consistiu de uma carga inicial de 25 watts (w), com incrementos de $25 \text{ w} \cdot \text{min}^{-1}$ até a exaustão, e recuperação de 3 minutos a 25 w. A cadência de pedalada deveria ser mantida entre 60 e 90 rpm, ou seja, a rotação na qual o participante se sentisse mais confortável (24). O teste poderia ser interrompido a qualquer momento pelo participante ou pelo avaliador se o participante apresentasse incapacidade de manutenção da rotação, platô na curva do VO_2 , FC próxima da máxima predita (220-idade) ou qualquer outra situação que colocasse em risco sua integridade.

Os testes submáximos foram realizados no período da manhã, após 2h do desjejum, sem atividade física de alta intensidade e consumo de alimentos com presença de cafeína na sua formulação e bebidas alcoólicas nas 24h antecedentes. Estes testes foram realizados em uma intensidade que gerasse um VO_2 correspondente ao LV2. Após 3 minutos de repouso, iniciava-se o teste. Nos cinco primeiros minutos ocorriam incrementos de carga com o propósito de atingir uma intensidade aproximada de 55% do LV2. A carga era então ajustada a fim de alcançar 100% do LV2. O participante continuava em exercício até que completasse 30 minutos de teste ou chegasse à exaustão (25).

Controle alimentar

Foram realizados dois tipos de registros alimentares: registro alimentar de três dias e registro alimentar pré-teste. O primeiro constituiu-se do preenchimento de três registros alimentares compostos por três dias cada. Em cada registro deveria constar o consumo alimentar referente a dois dias da semana e um do final de semana. O preenchimento deste documento ocorreu nos seguintes momentos: no período entre a realização do teste máximo e do primeiro teste submáximo, na quarta semana após o início da suplementação e na oitava semana de suplementação. O segundo constituiu-se do registro do consumo

alimentar referente à última refeição realizada antes da execução de cada teste submáximo. Esta refeição deveria ser repetida previamente ao segundo teste submáximo.

Suplementação

A suplementação ocorreu por via oral, através de cápsulas manipuladas. A suplementação foi realizada da seguinte maneira: Grupo Placebo: composto por cápsulas gelatinosas contendo 500 mg de gelatina cada. Grupo PUFA n-3: composto por cápsulas oleosas ricas em PUFA n-3 contendo 180mg de ácido eicosapentaenóico (EPA), 120mg de ácido docosahexaenóico (DHA) e 2mg de vitamina E (alfa-tocoferol) em cada cápsula disponibilizada pela empresa Naturalis[®]. Ambos os grupos deveriam consumir três cápsulas ao dia, distribuídas entre o café da manhã, almoço e jantar pelo período de oito semanas.

Parâmetros bioquímicos

O sangue foi coletado em uma veia da região antecubital, em três momentos:

1. Em jejum de 12 horas, antes e após o período de suplementação.
2. Antes de cada teste submáximo, com o indivíduo em repouso por 15 minutos.
3. Imediatamente após a realização de cada teste submáximo.

Em cada coleta foram retirados 10 ml de sangue que foram distribuídos em tubos com anticoagulante EDTA (8ml) e sem anticoagulante (2ml).

Para a análise de estresse oxidativo, foi utilizada a amostra contida nos tubos com anticoagulante EDTA, sendo imediatamente centrifugada a 4000 rotações por minuto, a 4°C por 5 minutos. O plasma foi aliquotado e armazenado à -75° C até o momento de sua análise.

Para análise de CRP-hs foi utilizada a amostra do tubo sem anticoagulante que foi centrifugada e analisada após o término de cada teste.

Os exames de sangue e de urina foram analisados utilizando os seguintes métodos: enzimático colorimétrico para HDL colesterol, colesterol total e triglicerídeos; enzimático colorimétrico oxidase para glicemia; imunoensaio para HbA_{1C}; impedância para o hemograma; imunoturbidimetria para albuminúria urinária; nefelometria para CRP-hs; e fórmula de Friedwald para LDL e VLDL colesterol.

A lipoperoxidação foi determinada através de duas técnicas: 1) análise do F2-Isoprostanos no plasma, utilizando o kit comercial da Cayman[®] (26); 2) análise do TBARS, com o objetivo de medir os níveis de oxidação dos lipídios a partir da reação do

malondialdeído (produto final da oxidação lipídica) com o ácido tiobarbitúrico (27). As propriedades antioxidantes não enzimáticas foram determinadas por cintilação líquida através da medida da capacidade antioxidante total não enzimática (TRAP) (28). A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi mensurada indiretamente a partir da inibição da autooxidação da adrenalina à adenocromo de acordo com a técnica descrita por Bannister (29). O conteúdo de proteína do plasma foi determinado a partir da técnica proposta por Lowry et al. (30). Para a análise do ácido úrico (UA), utilizou-se o kit comercial Wiener Lab[®] (Uricostat enzimático AA, Rosario, ARG).

Análise estatística

Todo o tratamento dos dados foi realizado no pacote estatístico SPSS versão 14.0 para Windows. Para a verificação da normalidade dos dados, utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk, para a análise da homocedasticidade das variâncias, o teste de Levene. No caso em que os dados não passaram pelos testes de normalidade e homocedasticidade, foram realizados os testes não paramétricos respectivos. Para a comparação dos dados basais entre os grupos, foi utilizado o teste *t* de Student para amostras independentes, para os dados paramétricos e o teste de Mann-Whitney para os dados não paramétricos. Para verificar os efeitos da suplementação e do exercício, utilizou-se a ANOVA para medidas repetidas. Foi realizada transformação logarítmica das variáveis com distribuição assimétrica e ANOVA para medidas repetidas do logaritmo. Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão para os dados paramétricos e através de mediana (mínimo e máximo) para os resultados não paramétricos. O nível de significância aceito foi de 5%.

RESULTADOS

Todos os 30 participantes completaram as oito semanas de intervenção. Das variáveis utilizadas para caracterização da amostra, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos na idade, duração do diabetes, massa corporal, estatura, IMC, percentual de gordura, relação cintura/quadril entre as mulheres e volume de exercício físico semanal. Foi observada diferença significativa entre os grupos apenas na avaliação da relação cintura/quadril dos homens. Dados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização dos grupos

	PLACEBO	PUFA n-3
N	15	15
Sexo (M/F)	4/11	8/7
Idade (anos)	50,67 ± 6,70	50,47 ± 6,06
Duração do diabetes (anos)	8 (1 – 25)	6 (2 – 15)
Tratamento (n)		
Apenas dieta	3	3
Hipoglicemiantes oral		
Biguanidas	4	8
Sulfoniluréias	0	3
Combinado	8	1
Antihipertensivos (n)		
Sim/Não	8/7	5/10
Massa Corporal (kg)	72,49 ± 7,66	77,27 ± 11,65
Estatura (m)	1,59 ± 0,09	1,65 ± 0,08
IMC (kg/m ²)	28,81 ± 4,10	28,22 ± 2,95
% gordura	33,79 ± 10,07	32,93 ± 8,88
Relação cintura/quadril		
Homens	0,88 ± 0,05	0,97 ± 0,05 ^a
Mulheres	0,87 ± 0,05	0,83 ± 0,08
Volume de exercício físico semanal (minutos)	120 (0 – 200)	90 (0 – 200)

Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão para os dados com distribuição simétrica e mediana (mínimo e máximo) para os dados assimétricos. ^a p<0,05 comparado com o grupo placebo

Teste máximo: Os grupos não diferiram no tempo de teste, carga máxima, VO_{2pico}, LV2, FC de repouso, no LV2 e máxima, glicemia capilar inicial e final. O exercício proporcionou diminuição significativa na glicemia em ambos os grupos quando comparados aos seus valores iniciais.

Tabela 2 – Resultados do teste máximo

	PLACEBO n=15	PUFA n-3 n=15
Tempo de teste (minutos)	5,27 ± 1,98	5,93 ± 1,33
Carga máxima (watts)	131,67 ± 49,50	148,33 ± 33,36
VO _{2pico} (ml/kg/min)	22,10 ± 6,87	22,87 ± 5,42
LV2 (ml/kg/min)	15,75 ± 4,71	16,71 ± 4,07
FC (bpm)		
Repouso	82,40 ± 12,65	79,33 ± 16,42
No LV2	127,73 ± 17,10	126,00 ± 17,08
Máxima	153,87 ± 19,98	151,13 ± 20,29
Glicemia capilar (mg/dl)		
Inicial	157,33 ± 32,66	143,93 ± 38,71
Final	147,80 ± 33,94 ^b	130,73 ± 34,74 ^b
Pressão arterial sistólica (mmHg)		
Inicial	130,93 ± 9,23	121,33 ± 5,16 ^a

Final	176,00 ± 20,98 ^b	167,33 ± 17,82 ^b
Pressão arterial diastólica (mmHg)		
Inicial	86,33 ± 5,16	79,33 ± 6,78 ^a
Final	88,87 ± 9,15 ^b	89,00 ± 4,71 ^b

Dados expressos em média ± desvio padrão; ^a P<0,05 comparado ao grupo placebo; ^b P<0,005 comparado aos valores iniciais.

Exames de sangue e urina: Os grupos diferiram inicialmente apenas nos valores da albuminúria urinária (p=0,03), percentual de basófilos (p=0,03), quantidade de monócitos (p=0,03) e de linfócitos (p=0,04). Após o período de suplementação, o grupo PUFA n-3 reduziu significativamente os valores de triglicerídeos em 17% em relação aos valores basais (p=0,005) e em 26% em relação ao grupo placebo (p=0,005). Os valores do VLDL também reduziram significativamente no grupo PUFA n-3 após a suplementação (p=0,003) (Tabela 3). Os demais marcadores do hemograma não apresentaram alterações significativas (ANEXO I).

Tabela 3 – Resultados dos exames de sangue e de urina realizados pelos voluntários dos grupos placebo e PUFA n-3 antes e após o período de suplementação

	GRUPO PLACEBO N = 15		GRUPO PUFA n-3 n = 15	
	Antes	Depois	Antes	Depois
HDL-c (mg/dl)	51,67 ± 12,24	53,87 ± 12,72	49,73 ± 15,86	52,00 ± 15,04
LDL-c (mg/dl)	110,01 ± 35,60	108,80 ± 41,69	105,37 ± 35,27	102,41 ± 41,38
COL-t (mg/dl)	192,27 ± 38,18	193,27 ± 40,39	182,40 ± 41,32	177,07 ± 44,68
VLDL (mg/dl)	30,57 ± 11,90	30,60 ± 11,28	27,29 ± 15,19	22,65 ± 14,28 ^b
Glicemia jejum (mg/dl)	130,78 ± 5,51	122,78 ± 4,60	134,71 ± 10,05	131,07 ± 6,68
HbA _{1c} (%)	7,00 (6,00 – 8,00)	6,00 (5,00 – 7,20)	7,00 (6,00 – 9,00)	6,00 (5,00 – 8,00)
Triglicerídeos (mg/dl)	152,93 ± 59,52	153,00 ± 56,39	136,47 ± 75,94	113,27 ± 71,40 ^{b,c}
Albuminúria (mg/l)	8,10 (2,00 – 21,90)	6,60 (2,00 – 24,90)	4,60 (2,00 – 13,60) ^a	3,90 (2,00 – 9,00)
Basófilos (%)	0,58 ± 0,26	0,62 ± 0,29	0,88 ± 0,41 ^a	0,71 ± 0,48
Monócitos (x10 ⁵ /ul)	0,50 ± 0,13	0,47 ± 0,12	0,37 ± 0,14 ^a	0,44 ± 0,11
Linfócitos (x10 ⁵ /ul)	2,14 ± 0,34	2,27 ± 0,56	1,85 ± 0,32 ^a	2,05 ± 0,43

Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão para os dados com distribuição simétrica e mediana (mínimo e máximo) para os dados assimétricos; ^a p<0,05 comparado ao momento basal do grupo placebo; ^b p<0,005 comparado ao momento basal; ^c p=0,005 comparado ao grupo placebo

Parâmetros nutricionais: Através dos registros alimentares de três dias foi analisado o valor energético total da dieta, a oferta de macronutrientes e a oferta diária de ácidos graxos poliinsaturados, monoinsaturados e saturados, vitaminas A, C e E, zinco,

fibras e colesterol. Para a análise dos dados nutricionais, utilizou-se o programa de Apoio a Nutrição NUTWIN (Versão 1.5 - 2002) da Universidade Federal de São Paulo. Não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos e nos diferentes momentos analisados (Anexo II).

Também foi analisado o valor energético total da refeição realizada antes do primeiro e do segundo teste submáximo com os respectivos macronutrientes. Não foram verificadas diferenças significativas nas variáveis analisadas (Anexo III).

Peroxidação lipídica: Nenhuma alteração significativa foi observada nas concentrações de TBARS e F2-Isoprostanos nos momentos analisados, como demonstrado na figura 2.

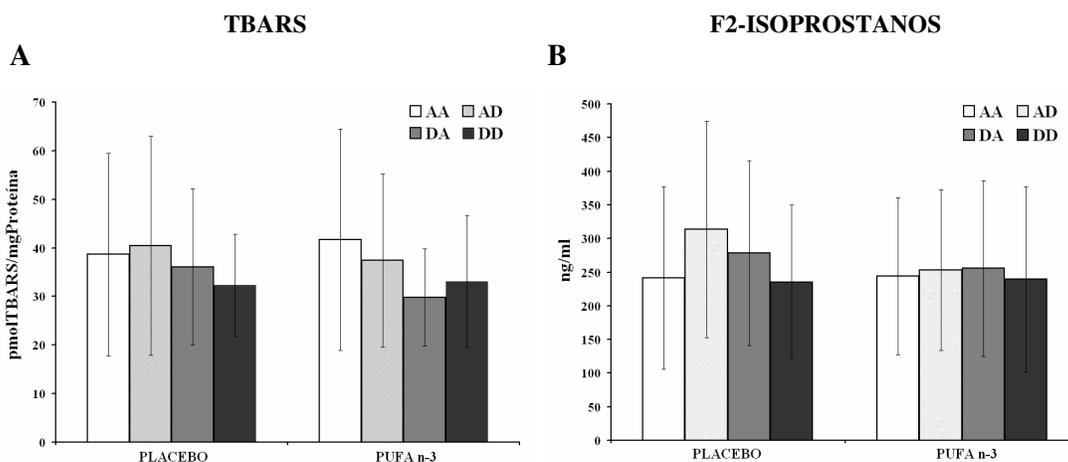


Figura 2 - (A) Resultados do TBARS e (B) F2-Isoprostanos, obtidos em ambos os grupos, placebo e PUFA n-3, nos 4 diferentes momentos (AA: antes da suplementação e do exercício; AD: antes da suplementação e depois do exercício; DA: depois da suplementação e antes do exercício; DD: depois da suplementação e do exercício).

Defesas antioxidantes: O grupo PUFA n-3 apresentou aumento significativo nos valores de TRAP ($p=0,047$) após a suplementação. Quando analisados o efeito do exercício, verificou-se diminuição significativa deste marcador após o período de suplementação apenas no grupo PUFA n-3 ($p=0,033$) (Figura 3).

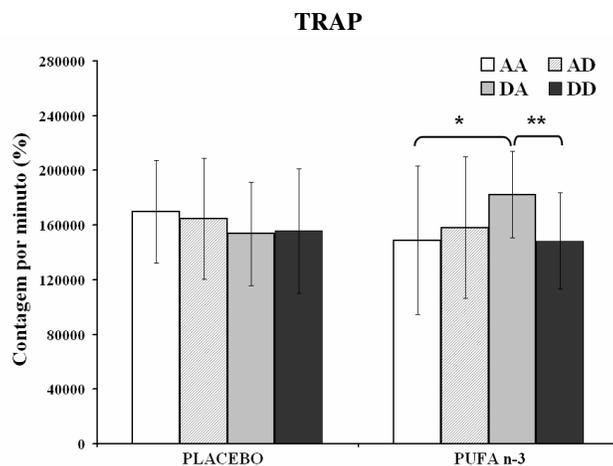


Figura 3 - Resultados de TRAP em ambos os grupos, placebo e PUFA n-3, nos 4 diferentes momentos (AA: antes da suplementação e do exercício; AD: antes da suplementação e depois do exercício; DA: depois da suplementação e antes do exercício; DD: depois da suplementação e do exercício). * $p < 0,05$ comparando o momento AA ao DA, ** $p < 0,05$ comparando o momento DA ao DD.

A capacidade antioxidante não enzimática, representada pela mensuração do ácido úrico mostrou-se aumentada no grupo PUFA n-3 quando comparada ao grupo placebo no momento antes da suplementação e do exercício ($p=0,006$). Não foram verificadas alterações significativas após o período de suplementação e da realização do exercício (Figura 4A). A capacidade antioxidante enzimática, representada pela atividade da enzima SOD, apresentou diferenças significativas após o período de suplementação no grupo PUFA n-3 ($p=0,017$), sem alterações significativas após o exercício (Figura 4B).

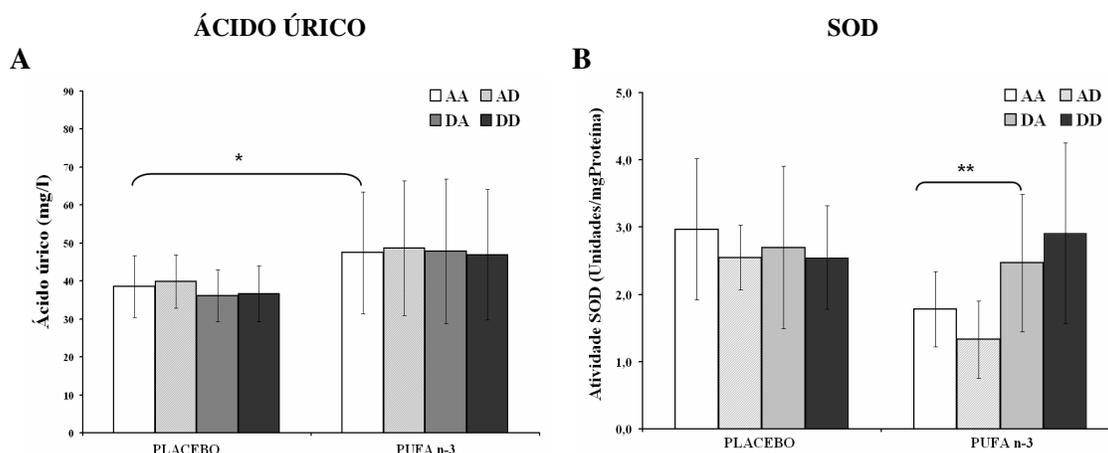


Figura 4 - (A) Resultados do UA e (B) SOD, obtidos nos grupos, placebo e PUFA n-3, nos 4 diferentes momentos (AA: antes da suplementação e do exercício; AD: antes da suplementação e depois do exercício; DA: depois da suplementação e antes do exercício; DD: depois da suplementação e do exercício). * $p < 0,05$ comparando o momento AA do grupo PUFA n-3 e Placebo; ** $p < 0,05$ comparando o momento AA ao DA.

Marcador inflamatório: Os valores basais da CRP-hs foram semelhantes. Após o período de suplementação não foram verificadas alterações significativas neste marcador, no entanto o exercício proporcionou aumento em ambos os grupos, placebo e PUFA n-3, após o primeiro teste ($p=0,000$) e após a segunda avaliação ($p=0,003$) (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados da proteína C reativa ultra-sensível no grupo Placebo e PUFA n-3 (mg/l)

		PLACEBO n=15	PUFA n-3 n=15
Antes da Suplementação	Antes do Exercício	1,14 (0,40 – 8,00)	1,87 (0,32 – 4,45)
	Depois do Exercício	1,27 (0,42 – 9,20) ^a	2,04 (0,34 – 4,84) ^a
Depois da Suplementação	Antes do Exercício	0,99 (0,38 – 8,92)	1,53 (0,20 – 4,69)
	Depois do Exercício	1,07 (0,44 – 9,12) ^a	1,68 (0,22 – 4,93) ^a

Dados expressos em mediana (mínimo e máximo). ^a $p<0,005$ comparado ao momento antes do exercício.

DISCUSSÃO

Neste estudo foram avaliadas as respostas geradas pelo exercício agudo sobre os marcadores de estresse oxidativo e da CRP-hs, além dos efeitos da suplementação com PUFA n-3 sobre o perfil glicêmico, lipídico, parâmetros oxidativos e antioxidantes e inflamatórios em pacientes diabéticos tipo 2.

Para melhor controle dos resultados, avaliamos o consumo alimentar dos participantes em três momentos durante a realização do estudo, bem como a mensuração da massa corporal antes e após o período de suplementação. A quantidade energética e de macronutrientes, assim como a massa corporal permaneceram estabilizadas durante as 8 semanas de intervenção.

EFEITOS DO EXERCÍCIO AGUDO:

Quando analisada a capacidade cardiorrespiratória dos participantes, verificamos um $VO_{2\text{pico}}$ de $22,10 \pm 6,87$ e $22,87 \pm 5,42$ $\text{ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ para os grupos Placebo e PUFA n-3, respectivamente. Estes valores são semelhantes aos encontrados por Maiorana et al. (31), que avaliaram 16 diabéticos tipo 2 sedentários (52 ± 2 anos) e encontraram um $VO_{2\text{pico}}$ de $23,1 \pm 1,2$ $\text{ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Já no estudo realizado por Villa Caballero et al. (32) foram avaliados diabéticos tipo 2, com baixa atividade física e foi verificado um VO_2 de $29,5 \pm 3,2$ $\text{ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Este consumo foi superior aos valores encontrados em nosso

estudo, mas também demonstram uma baixa capacidade cardiorrespiratória dos participantes.

Estudos relatam que o aumento do VO_2 proporcionado pela realização do exercício leva a uma maior produção de espécies reativas de oxigênio no plasma e nos tecidos (33, 34). Laaksonen et al. (35) e Atalay et al. (36) demonstraram aumento na produção de espécies reativas de oxigênio após realização de exercício submáximo, em intensidade equivalente a 60% do $VO_{2\text{pico}}$, com duração de 40 minutos em diabéticos tipo 1. Diferentemente, em nosso estudo a realização do exercício em intensidade equivalente a 70-80% do $VO_{2\text{pico}}$, não foi capaz de aumentar a produção de lipoperóxidos mensurada pelas técnicas de TBARS e F2-Isoprostanos. Nossos dados corroboram com os resultados encontrados por Davison et al. (37) que também não verificaram diferenças nas concentrações de malondialdeído após a realização de exercício extenuante. No entanto neste estudo, o exercício avaliado foi um teste de cargas progressivas realizados com diabéticos tipo 1, diferentemente do nosso trabalho que avaliou os marcadores de estresse oxidativo em um teste submáximo. A divergência nos resultados pode estar relacionada aos diferentes protocolos de exercício, duração dos testes e de técnicas bioquímica utilizados nas pesquisas. Em relação aos sistemas de defesa antioxidantes mensurados em nosso trabalho (TRAP, SOD e UA), não foram encontradas alterações significativas, resultados semelhantes aos descritos por Laaksonen et al. (35) e Atalay et al. (36) que demonstraram que indivíduos com diabetes possuem uma defesa antioxidante debilitada quando comparados a saudáveis mas que não há alterações significativas com a realização de exercício agudo. Contudo, ainda são limitadas as informações referentes aos efeitos proporcionados pelo exercício agudo no estresse oxidativo em sujeitos diabéticos tipo 2.

Em relação à CRP-hs, um marcador importante de inflamação, o exercício proporcionou um aumento significativo ($p < 0,005$) em ambos os grupos, placebo e PUFA n-3. Este aumento também foi verificado em alguns estudos realizados principalmente com atletas (38, 39). O exercício de alta intensidade está associado à lesão de células musculares e, por consequência, ao aparecimento da chamada resposta de fase aguda, que envolve o aumento de citocinas, dentre elas a CRP (40). No entanto não há na literatura trabalhos que tenham avaliado o efeito da CRP-hs após exercício agudo em indivíduos diabéticos.

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NO ESTRESSE OXIDATIVO E CRP-hs:

A suplementação com PUFA n-3 proporcionou aumento de TRAP e da atividade da enzima SOD, sem alterar os valores do UA e da lipoperoxidação mensurada pela técnica do F2-Isoprostanos. Contudo, houve uma tendência de redução nos valores do TBARS ($p=0,065$) após a suplementação com PUFA n-3 (de $41,68 \pm 22,83$ para $29,81 \pm 9,99$ pmolTBARS/mgProteína). Assim como em nosso estudo, Accinni et al. (15) verificaram aumento nos valores de TRAP ($p=0,001$), no entanto com uma significativa redução nos níveis de TBARS ($p=0,002$). Diferentemente, Nalsen et al. (14) suplementaram participantes saudáveis por 3 meses utilizando 3,6g/dia de PUFA n-3, e não obtiveram alterações nos valores de TRAP, no entanto verificaram redução significativa ($p=0,015$) na lipoperoxidação mensurada pela técnica do F2-isoprostanos. O aumento da atividade da enzima SOD demonstrado em nosso estudo após a suplementação com PUFA n-3 não foi verificado no trabalho de Kesavulu et al. (4). No entanto, Smaoui et al. (41) demonstraram uma correlação positiva entre a atividade da enzima SOD com concentrações de ácidos graxos poliinsaturados da família ômega-3 presentes em eritrócitos. Erdogan et al. (42) também verificaram aumento da atividade da SOD após suplementar ratos com 0,4g/kg de peso de óleo de peixe por 30 dias. Este aumento da SOD e de TRAP pode ser explicado pela formação da prostaglandinas ciclopentenônicas. A suplementação com PUFA n-3, mais especificamente com EPA e DHA é capaz de desencadear um processo de lipoperoxidação momentâneo levando à formação de prostaglandinas, em especial as ciclopentenônicas. Estas são responsáveis pela dissociação do Keap1/Nrf2 (NF-E2-related factor). O Nrf2 é capaz de ativar enzimas antioxidantes (ex. SOD, catalase, glutathione redutase) além de enzimas da fase 2 (ex. glutathione S transferase, NADPH) e desta forma também aumentar os níveis de TRAP (43, 44). No entanto, a produção de lipoperoxídidos não é considerada significativa a ponto de gerar danos ao organismo, e sim importante por estimular os sistemas de defesa.

Diversos estudos têm demonstrado que sujeitos que desenvolvem diabetes tipo 2 apresentam níveis elevados de marcadores inflamatórios como a CRP quando comparados a sujeitos saudáveis (45-47). A suplementação com PUFA n-3 têm sido sugerida a fim de minimizar processos inflamatórios (48, 49). Em nosso estudo não verificamos esta melhora nos níveis plasmáticos de CRP após a suplementação com PUFA n-3. Nossos achados corroboram com os dados publicados por Madsen et al. (50) que trabalharam com sujeitos saudáveis suplementados com 2 ou 6,6g/dia de PUFA n-3 pelo período de 12 semanas. Ambos os grupos não apresentaram alterações nos valores da CRP. Mori et al. (21)

também não verificaram alterações nos níveis plasmáticos de CRP após suplementação de 4g/dia de EPA ou DHA por 6 semanas em diabéticos tipo 2. Alguns autores sugerem que estes resultados podem ser explicados pela possível redução na sensibilidade à insulina proporcionada pela suplementação com óleo de peixe, que pode ser demonstrado pelo sutil aumento nos valores da glicemia de jejum, levando desta forma a uma maior expressão da CRP (51), no entanto não verificamos este aumento em nosso estudo.

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO NOS PARÂMETROS GLICÊMICOS E LIPÍDICOS

Quando analisado o perfil glicêmico, através dos valores da glicemia de jejum e da HbA1c não verificamos alterações significativas após o período de suplementação. Alguns estudos relataram aumento dos níveis glicêmicos, mensurados pela glicemia de jejum e hemoglobina glicada e baixa atividade insulínica em diabéticos tipo 2, após o consumo de quantidades elevadas de óleo de peixe (em torno de 10g/dia) (52, 53). No entanto, quando administradas quantidades menores de PUFA n-3, em torno de 1 a 4g/dia (3g/dia oferecidas em nosso estudo), não são verificadas alterações nos parâmetros glicêmicos (54, 55).

Em relação ao perfil lipídico, o presente estudo demonstrou redução significativa (17%) nos valores de triglicerídeos plasmáticos após o período de suplementação com PUFA n-3. Estes resultados podem ser explicados pela redução das frações de VLDL, minimizando desta forma a produção hepática de TG, assim como pela possível redução de ácidos graxos livres (56). Assim como em outros estudos, não verificamos alterações significativas nos demais parâmetros lipídicos analisados (54, 55, 57). Na meta-análise realizada por Hartweg et al. (58), que abrangeu estudos entre os anos de 1966 a 2006, também verificou-se redução apenas nos triglicerídeos e VLDL, sem alterações nas demais subfrações lipídicas. Diferentemente, Abe et al. (59), após a suplementação de 6 semanas com 4g/dia de PUFA n-3, verificaram redução de 11% no colesterol total e aumento de 14% no HDL. Estas alterações ainda não são consideradas consenso pela literatura.

RESPOSTAS DO EXERCÍCIO AGUDO APÓS SUPLEMENTAÇÃO:

Após o período de suplementação e de exercício, houve diminuição apenas nos valores de TRAP ($p < 0,05$), proporcionado pelo exercício, apenas no grupo PUFA n-3. Isso

parece ocorrer em função do maior nível de antioxidantes disponíveis (maior concentração de TRAP) para oxidação.

Os demais marcadores de estresse oxidativo e a CRP-hs não sofreram alterações proporcionadas pela suplementação. No que diz respeito à CRP-hs, não encontramos estudos com os quais pudéssemos comparar os nossos resultados. TOFT et al. (60) ao analisar outros marcadores inflamatórios, como a interleucina-6, responsável por estimular a produção hepática de CRP, em 20 maratonistas que receberam suplementação de 3,6g de PUFA n-3 ou placebo por 6 semanas, não verificou alterações neste marcador, o que vai ao encontro dos nossos resultados.

Concluimos que uma única sessão de exercício realizada em intensidade equivalente ao LV2 (70-80% do VO_{2pico}) não é capaz de gerar danos oxidativos, no entanto leva a aumento de CRP-hs, um marcador inflamatório da fase aguda. Em relação à suplementação, o PUFA n-3 é capaz de reduzir os níveis séricos de triglicérides e VLDL e aumentar a capacidade antioxidante total e a atividade da enzima SOD sem alterar parâmetros oxidativos. Estes resultados sugerem um efeito protetor da suplementação de PUFA n-3 em pacientes diabéticos.

Agradecimentos

Este trabalho teve fundos da CAPES e FIPE-HCPA. Agradecemos à empresa Naturalis[®] pelo fornecimento das cápsulas de ômega-3 e suporte técnico oferecido pelo Dr. Belmar Andrade, e aos participantes do estudo.

Referências

1. Wajchenberg BL: Disfunção endotelial no diabetes do tipo 2. *Arq Bras Endocrinologia Metab* 46:514-519, 2002
2. Bonnefont-Rousselot D: Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5:561-568, 2002
3. Peerapatdit T, Likidlilid A, Patchanans N, Somkasetrin A: Antioxidant status and lipid peroxidation end products in patients of type 1 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai* 89 Suppl 5:S141-146, 2006
4. Kesavulu MM, Kameswararao B, Apparao C, Kumar EG, Harinarayan CV: Effect of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab* 28:20-26, 2002
5. Davi G, Chiarelli F, Santilli F, Pomilio M, Vigneri S, Falco A, Basili S, Ciabattoni G, Patrono C: Enhanced lipid peroxidation and platelet activation in the early phase of type 1 diabetes mellitus: role of interleukin-6 and disease duration. *Circulation* 107:3199-3203, 2003
6. Davi G, Ciabattoni G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, Pennese E, Vitacolonna E, Bucciarelli T, Costantini F, Capani F, Patrono C: In vivo formation of 8-iso-prostaglandin f2alpha and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation* 99:224-229, 1999
7. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N: C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 342:836-843, 2000
8. Bennet AM, Prince JA, Fei GZ, Lyrenas L, Huang Y, Wiman B, Frostegard J, Faire U: Interleukin-6 serum levels and genotypes influence the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis* 171:359-367, 2003
9. Pickup JC: Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27:813-823, 2004
10. Fritz T, Wandell P, Aberg H, Engfeldt P: Walking for exercise--does three times per week influence risk factors in type 2 diabetes? *Diabetes Res Clin Pract* 71:21-27, 2006

11. Smith TC, Wingard DL, Smith B, Kritz-Silverstein D, Barrett-Connor E: Walking decreased risk of cardiovascular disease mortality in older adults with diabetes. *J Clin Epidemiol* 60:309-317, 2007
12. Bell LM, Watts K, Siafarikas A, Thompson A, Ratnam N, Bulsara M, Finn J, O'Driscoll G, Green DJ, Jones TW, Davis EA: Exercise alone reduces insulin resistance in obese children independently of changes in body composition. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007
13. Sigal RJ, Kenny GP, Boule NG, Wells GA, Prud'homme D, Fortier M, Reid RD, Tulloch H, Coyle D, Phillips P, Jennings A, Jaffey J: Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 147:357-369, 2007
14. Nansen C, Vessby B, Berglund L, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellesse A, Storlien L, Erkkila A, Yla-Herttuala S, Tapsell L, Basu S: Dietary (n-3) fatty acids reduce plasma F2-isoprostanes but not prostaglandin F2alpha in healthy humans. *J Nutr* 136:1222-1228, 2006
15. Accinni R, Rosina M, Bamonti F, Della Noce C, Tonini A, Bernacchi F, Campolo J, Caruso R, Novembrino C, Gherzi L, Lonati S, Grossi S, Ippolito S, Lorenzano E, Ciani A, Gorini M: Effects of combined dietary supplementation on oxidative and inflammatory status in dyslipidemic subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16:121-127, 2006
16. Simopoulos AP: Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr* 21:495-505, 2002
17. Psota TL, Gebauer SK, Kris-Etherton P: Dietary omega-3 fatty acid intake and cardiovascular risk. *Am J Cardiol* 98:3i-18i, 2006
18. Schmitz G, Ecker J: The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Prog Lipid Res* 47:147-155, 2008
19. Pedersen H, Petersen M, Major-Pedersen A, Jensen T, Nielsen NS, Lauridsen ST, Marckmann P: Influence of fish oil supplementation on in vivo and in vitro oxidation resistance of low-density lipoprotein in type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr* 57:713-720, 2003
20. Jain S, Gaiha M, Bhattacharjee J, Anuradha S: Effects of low-dose omega-3 fatty acid substitution in type-2 diabetes mellitus with special reference to oxidative stress--a prospective preliminary study. *J Assoc Physicians India* 50:1028-1033, 2002

21. Mori TA, Woodman RJ, Burke V, Puddey IB, Croft KD, Beilin LJ: Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treated-hypertensive type 2 diabetic subjects. *Free Radic Biol Med* 35:772-781, 2003
22. Jackson AS, Pollock ML: Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr* 40:497-504, 1978
23. Wasserman K, McIlroy MB: Detecting the Threshold of Anaerobic Metabolism in Cardiac Patients During Exercise. *Am J Cardiol* 14:844-852, 1964
24. Lucia A, Hoyos J, Perez M, Chicharro JL: Heart rate and performance parameters in elite cyclists: a longitudinal study. *Med Sci Sports Exerc* 32:1777-1782, 2000
25. Ribeiro JP, Hughes V, Fielding RA, Holden W, Evans W, Knuttgen HG: Metabolic and ventilatory responses to steady state exercise relative to lactate thresholds. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55:215-221, 1986
26. Hart CM, Karman RJ, Blackburn TL, Gupta MP, Garcia JG, Mohler ER, 3rd: Role of 8-epi PGF₂α, 8-isoprostane, in H₂O₂-induced derangements of pulmonary artery endothelial cell barrier function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 58:9-16, 1998
27. Draper HH, Hadley M: Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 186:421-431, 1990
28. Lissi E, Salim-Hanna M, Pascual C, del Castillo MD: Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. *Free Radic Biol Med* 18:153-158, 1995
29. Bannister JV, Calabrese L: Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal* 32:279-312, 1987
30. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-275, 1951
31. Maiorana A, O'Driscoll G, Goodman C, Taylor R, Green D: Combined aerobic and resistance exercise improves glycemic control and fitness in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 56:115-123, 2002
32. Villa-Caballero L, Nava-Ocampo AA, Frati-Munari AC, Rodriguez de Leon SM, Becerra-Perez AR, Ceja RM, Campos-Lara MG, Ponce-Monter HA: Hemodynamic and

oxidative stress profile after exercise in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 75:285-291, 2007

33. Ortenblad N, Madsen K, Djurhuus MS: Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *Am J Physiol* 272:R1258-1263, 1997

34. Halliwell B, Gutteridge J: *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York, Oxford, 1999

35. Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen L, Uusitupa M, Hanninen O, Sen CK: Increased resting and exercise-induced oxidative stress in young IDDM men. *Diabetes Care* 19:569-574, 1996

36. Atalay M, Laaksonen DE, Niskanen L, Uusitupa M, Hanninen O, Sen CK: Altered antioxidant enzyme defences in insulin-dependent diabetic men with increased resting and exercise-induced oxidative stress. *Acta Physiol Scand* 161:195-201, 1997

37. Davison GW, George L, Jackson SK, Young IS, Davies B, Bailey DM, Peters JR, Ashton T: Exercise, free radicals, and lipid peroxidation in type 1 diabetes mellitus. *Free Radic Biol Med* 33:1543-1551, 2002

38. Weight LM, Alexander D, Jacobs P: Strenuous exercise: analogous to the acute-phase response? *Clin Sci (Lond)* 81:677-683, 1991

39. Margeli A, Skenderi K, Tsironi M, Hantzi E, Matalas AL, Vrettou C, Kanavakis E, Chrousos G, Papassotiriou I: Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race spartathlon: severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 90:3914-3918, 2005

40. Petersen AM, Pedersen BK: The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 98:1154-1162, 2005

41. Smaoui M, Koubaa N, Hammami S, Abid N, Feki M, Chaaba R, Attia N, Abid M, Hammami M: Association between dietary fat and antioxidant status of Tunisian type 2 diabetic patients. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 74:323-329, 2006

42. Erdogan H, Fadillioglu E, Ozgocmen S, Sogut S, Ozyurt B, Akyol O, Ardicoglu O: Effect of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 71:149-152, 2004

43. Bergamo P, Maurano F, Rossi M: Phase 2 enzyme induction by conjugated linoleic acid improves lupus-associated oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 43:71-79, 2007
44. Gao L, Wang J, Sekhar KR, Yin H, Yared NF, Schneider SN, Sasi S, Dalton TP, Anderson ME, Chan JY, Morrow JD, Freeman ML: Novel n-3 fatty acid oxidation products activate Nrf2 by destabilizing the association between Keap1 and Cullin3. *J Biol Chem* 282:2529-2537, 2007
45. Thorand B, Lowel H, Schneider A, Kolb H, Meisinger C, Frohlich M, Koenig W: C-reactive protein as a predictor for incident diabetes mellitus among middle-aged men: results from the MONICA Augsburg cohort study, 1984-1998. *Arch Intern Med* 163:93-99, 2003
46. Laaksonen DE, Niskanen L, Nyyssonen K, Punnonen K, Tuomainen TP, Valkonen VP, Salonen R, Salonen JT: C-reactive protein and the development of the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. *Diabetologia* 47:1403-1410, 2004
47. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM: C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama* 286:327-334, 2001
48. Calder PC: Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Braz J Med Biol Res* 31:467-490, 1998
49. Calder PC: Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 75:197-202, 2006
50. Madsen T, Christensen JH, Blom M, Schmidt EB: The effect of dietary n-3 fatty acids on serum concentrations of C-reactive protein: a dose-response study. *Br J Nutr* 89:517-522, 2003
51. Campos SP, Baumann H: Insulin is a prominent modulator of the cytokine-stimulated expression of acute-phase plasma protein genes. *Mol Cell Biol* 12:1789-1797, 1992
52. Borkman M, Chisholm DJ, Furler SM, Storlien LH, Kraegen EW, Simons LA, Chesterman CN: Effects of fish oil supplementation on glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Diabetes* 38:1314-1319, 1989
53. Hendra TJ, Britton ME, Roper DR, Wagaine-Twabwe D, Jeremy JY, Dandona P, Haines AP, Yudkin JS: Effects of fish oil supplements in NIDDM subjects. Controlled study. *Diabetes Care* 13:821-829, 1990

54. Luo J, Rizkalla SW, Vidal H, Oppert JM, Colas C, Boussairi A, Guerre-Millo M, Chapuis AS, Chevalier A, Durand G, Slama G: Moderate intake of n-3 fatty acids for 2 months has no detrimental effect on glucose metabolism and could ameliorate the lipid profile in type 2 diabetic men. Results of a controlled study. *Diabetes Care* 21:717-724, 1998
55. Petersen M, Pedersen H, Major-Pedersen A, Jensen T, Marckmann P: Effect of fish oil versus corn oil supplementation on LDL and HDL subclasses in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 25:1704-1708, 2002
56. Rivellese AA, Maffettone A, Iovine C, Di Marino L, Annuzzi G, Mancini M, Riccardi G: Long-term effects of fish oil on insulin resistance and plasma lipoproteins in NIDDM patients with hypertriglyceridemia. *Diabetes Care* 19:1207-1213, 1996
57. Moore CS, Bryant SP, Mishra GD, Krebs JD, Browning LM, Miller GJ, Jebb SA: Oily fish reduces plasma triacylglycerols: a primary prevention study in overweight men and women. *Nutrition* 22:1012-1024, 2006
58. Hartweg J, Farmer AJ, Perera R, Holman RR, Neil HA: Meta-analysis of the effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on lipoproteins and other emerging lipid cardiovascular risk markers in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 50:1593-1602, 2007
59. Abe Y, El-Masri B, Kimball KT, Pownall H, Reilly CF, Osmundsen K, Smith CW, Ballantyne CM: Soluble cell adhesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:723-731, 1998
60. Toft AD, Thorn M, Ostrowski K, Asp S, Moller K, Iversen S, Hermann C, Sondergaard SR, Pedersen BK: N-3 polyunsaturated fatty acids do not affect cytokine response to strenuous exercise. *J Appl Physiol* 89:2401-2406, 2000

CAPÍTULO VI

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados no presente estudo, nos permitem concluir que uma única sessão de exercício realizada em intensidade equivalente a 70-80% do $VO_{2\text{pico}}$ não é capaz de gerar danos oxidativos, no entanto leva a aumento de CRP-hs, um marcador inflamatório da fase aguda. Contudo, outras variáveis de estresse oxidativo e de defesas antioxidantes deveriam ser mensuradas a fim de confirmar estes achados.

A suplementação com PUFA n-3 foi capaz de reduzir os níveis séricos de triglicerídeos e VLDL e aumentar a capacidade antioxidante total e a atividade da enzima SOD sem alterar parâmetros oxidativos. Estes resultados são extremamente relevantes, uma vez que os sujeitos diabéticos possuem suscetibilidade aumentada a hipertrigliceridemia e ao estresse oxidativo.

Em relação as hipótese da pesquisa: as hipóteses 1 e 2 foram confirmadas parcialmente, pois o exercício agudo não foi capaz de gerar danos oxidativos, no entanto aumentou a produção de CRP-hs. Já a suplementação com PUFA n-3 não foi capaz de reduzir os níveis de CRP-hs, no entanto não gerou danos oxidativos. A hipótese 3, que refere redução de triglicerídeos e a não alteração dos níveis glicêmicos após a suplementação com PUFA n-3, foi confirmada integralmente.

Sendo assim conclui-se que a suplementação com PUFA n-3 é benéfica para sujeitos diabéticos, devendo fazer parte da alimentação diária. Vale ressaltar que para obtermos PUFA n-3 não é preciso consumir cápsulas manipuladas, há diversos alimentos fontes deste ácido graxo que podem ser incluídos nas refeições.

ANEXOS

ANEXO I – EXAMES BIOQUÍMICOS

	GRUPO PLACEBO		GRUPO PUFA n-3	
	n = 15		n = 15	
	Antes	Depois	Antes	Depois
HDL-c (mg/dl)	51,67 ± 12,24	53,87 ± 12,72	49,73 ± 15,86	52,00 ± 15,04
LDL-c (mg/dl)	110,01 ± 35,60	108,80 ± 41,69	105,37 ± 35,27	102,41 ± 41,38
COL-t (mg/dl)	192,27 ± 38,18	193,27 ± 40,39	182,40 ± 41,32	177,07 ± 44,68
VLDL (mg/dl)	30,57 ± 11,90	30,60 ± 11,28	27,29 ± 15,19	22,65 ± 14,28 ^b
Glicemia jejum (mg/dl)	130,78 ± 5,51	122,78 ± 4,60	134,71 ± 10,05	131,07 ± 6,68
A1C (%)	7,00 (6,00 – 8,00)	6,00 (5,00 – 7,20)	7,00 (6,00 – 9,00)	6,00 (5,00 – 8,00)
Triglicédeos (mg/dl)	152,93 ± 59,52	153,00 ± 56,39	136,47 ± 75,94	113,27 ± 71,40 ^{b,c}
Albuminúria (mg/l)	8,10 (2,00 – 21,90)	6,60 (2,00 – 24,90)	4,60 (2,00 – 13,60) ^a	3,90 (2,00 – 9,00)
Hemograma				
Eritrócitos (milhões/ul)	4,67 ± 0,63	4,71 ± 0,68	4,58 ± 0,37	4,67 ± 0,43
Hemoglobina (g/dl)	13,50 ± 0,90	13,47 ± 0,99	13,31 ± 1,28	13,79 ± 1,33
Hematócrito (%)	40,61 ± 2,91	41,04 ± 3,35	40,22 ± 3,97	42,29 ± 4,64
CHCM (g/dl)	33,22 ± 0,66	32,82 ± 0,73	33,83 ± 2,82	32,66 ± 0,73
VCM (fL)	87,71 ± 5,89	87,97 ± 5,89	87,82 ± 4,75	90,40 ± 5,45
HCM (pg)	29,13 ± 2,27	28,92 ± 2,35	29,07 ± 1,75	29,53 ± 1,87
RDW (%)	12,54 ± 1,12	13,07 ± 1,31	12,86 ± 0,86	12,77 ± 0,92
Leucócitos ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	6,72 ± 1,10	7,15 ± 1,50	5,83 ± 1,29	6,44 ± 1,23
Neutrófilos (%)	56,66 ± 5,16	57,11 ± 8,12	56,99 ± 6,79	57,21 ± 5,55
Neutrófilos ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	3,83 ± 0,83	4,13 ± 1,26	3,37 ± 1,02	3,70 ± 0,87
Eosinófilos (%)	2,50 (1,90 – 7,10)	2,60 (1,00 – 8,80)	2,90 (1,50 – 7,30)	2,90 (1,70 – 6,30)
Eosinófilos ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	0,21 ± 0,13	0,24 ± 0,16	0,19 ± 0,09	0,21 ± 0,09
Basófilos (%)	0,58 ± 0,26	0,62 ± 0,29	0,88 ± 0,41 ^a	0,71 ± 0,48
Basófilos ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
Monócitos (%)	7,45 ± 1,31	6,59 ± 1,04	6,36 ± 1,39	6,87 ± 1,15
Monócitos ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	0,50 ± 0,13	0,47 ± 0,12	0,37 ± 0,14 ^a	0,44 ± 0,11
Linfócitos (%)	32,12 ± 5,18	32,33 ± 6,85	32,50 ± 6,04	31,97 ± 4,75
Linfócitos ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	2,14 ± 0,34	2,27 ± 0,56	1,85 ± 0,32 ^a	2,05 ± 0,43

Os resultados estão expressos em média ± DP para os dados com distribuição simétrica e mediana (mínimo e máximo) para os dados assimétricos;

^a p<0,05 comparado ao momento basal do grupo placebo;

^b p<0,005 comparado ao momento basal;

^c p=0,005 comparado ao grupo placebo;

ANEXO II – REGISTRO ALIMENTAR

	GRUPO PLACEBO n = 15			GRUPO PUFA n-3 n = 15		
	Antes	Durante	Depois	Antes	Durante	Depois
Valor energético total (kcal/dia)	1962,32 ± 690,16	1733,67 ± 457,77	1743,79 ± 387,47	2027,17 ± 546,18	1738,25 ± 457,23	1836,89 ± 537,07
Carboidratos (%)	47,62 ± 5,75	50,16 ± 6,35	48,90 ± 3,23	48,42 ± 5,07	50,26 ± 6,01	49,02 ± 4,81
Carboidratos (g/kg)	3,30 ± 1,15	3,16 ± 1,17	3,10 ± 0,95	3,14 ± 0,85	2,94 ± 0,88	3,02 ± 0,89
Proteínas (%)	18,63 ± 3,80	19,17 ± 3,41	18,66 ± 2,45	18,14 ± 3,15	20,11 ± 3,87	20,35 ± 4,77
Proteínas (g/kg)	1,28 ± 0,49	1,17 ± 0,29	1,17 ± 0,33	1,23 ± 0,39	1,17 ± 0,36	1,24 ± 0,42
Lipídios (%)	33,75 ± 5,23	30,67 ± 6,82	32,44 ± 4,22	33,44 ± 5,52	29,63 ± 4,32	30,63 ± 4,54
Lipídios (g/kg)	1,06 ± 0,52	0,86 ± 0,36	0,90 ± 0,26	1,00 ± 0,28	0,77 ± 0,19	0,82 ± 0,18
ÁGPI (g/dia)	32,21 ± 35,28	16,52 ± 5,85	18,02 ± 4,70	19,96 ± 16,65	14,52 ± 4,34	16,57 ± 5,01
AGPI n-6 (g/dia)	16,08 ± 6,80	15,24 ± 5,40	16,82 ± 4,32	13,51 ± 4,09	13,31 ± 4,14	15,34 ± 4,72
AGPI n-3 (g/dia)	0,66 ± 0,46	1,09 ± 0,44	1,02 ± 0,42	0,70 ± 0,39	0,93 ± 0,26	1,06 ± 0,58
AGMI (g/dia)	20,63 ± 8,43	20,73 ± 8,79	22,36 ± 5,88	17,29 ± 6,09	19,34 ± 6,38	20,67 ± 6,68
AGS (g/dia)	21,84 ± 12,31	18,06 ± 9,93	17,57 ± 6,36	22,22 ± 6,96	16,83 ± 6,07	18,20 ± 7,25
Vitamina A (µg/dia)	702,09 ± 71,58	861,13 ± 110,79	772,28 ± 80,81	861,05 ± 80,98	790,27 ± 75,51	828,44 ± 4571,77
Vitamina C (mg/dia)	103,51 ± 41,86	126,00 ± 30,10	122,30 ± 27,30	105,32 ± 22,20	113,38 ± 30,79	110,47 ± 20,48
Vitamina E (mg/dia)	16,88 ± 1,19	16,65 ± 1,93	17,94 ± 2,13	14,62 ± 7,73	16,21 ± 1,50	17,83 ± 1,76
Zinco (mg/dia)	12,12 ± 6,84	11,74 ± 3,49	10,89 ± 3,95	12,07 ± 5,52	11,53 ± 4,96	12,13 ± 4,85
Fibras (g/dia)	24,48 ± 10,60	22,52 ± 11,69	22,55 ± 11,20	24,67 ± 10,02	17,72 ± 6,22	21,35 ± 7,13
Colesterol (mg/dia)	163,80 ± 22,21	195,13 ± 90,29	183,94 ± 46,32	191,66 ± 50,18	173,71 ± 79,86	225,08 ± 61,77

Valores expressos em média ± DP. Média dos 3 dias preenchidos em cada registro alimentar.

ANEXO III – REFEIÇÕES PRÉ TESTES SUBMÁXIMO

	GRUPO PLACEBO n = 15		GRUPO PUFA n-3 n = 15	
	TESTE SUBMÁXIMO 01	TESTE SUBMÁXIMO 02	TESTE SUBMÁXIMO 01	TESTE SUBMÁXIMO 02
VET (kcal/dia)	351,42 ± 195,03	256,65 ± 201,74	348,42 ± 238,70	327,40 ± 160,12
Carboidratos (g/kg)	0,64 ± 0,37	0,44 ± 0,37	0,63 ± 0,39	0,52 ± 0,25
Carboidratos (%)	52,55 ± 13,87	47,59 ± 24,92	49,99 ± 23,11	54,35 ± 16,71
Proteínas (g/kg)	0,27 ± 0,26	0,16 ± 0,15	0,20 ± 0,17	0,19 ± 0,13
Proteínas (%)	16,93 ± 6,90	14,96 ± 9,32	14,97 ± 8,84	17,78 ± 6,52
Lipídios (g/kg)	0,155 ± 0,08	0,12 ± 0,10	0,12 ± 0,09	0,15 ± 0,13
Lipídios (%)	29,15 ± 13,51	24,13 ± 15,67	21,72 ± 11,28	27,89 ± 13,41

Valores expressos em média ± DP. Análise da última refeição realizada antes de cada teste submáximo.