Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública
Departamento de Nutrição

Efeito do ácido graxo ômega 3 sobre a composição corporal, controle glicêmico e risco cardiovascular de indivíduos adultos e idosos

Flávia De Conti Cartolano

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientador: Prof^a. Dr^a. Nágila Raquel Teixeira Damasceno

São Paulo
2014

Efeito do ácido graxo ômega 3 sobre a composição corporal, controle glicêmico e risco cardiovascular de indivíduos adultos e idosos

Flávia De Conti Cartolano

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientador: Prof^a. Dr^a. Nágila Raquel Teixeira Damasceno

São Paulo
2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da tese.

“A persistência é o menor caminho do êxito”

Charles Chaplin

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo **Etienne**, por seu companheirismo e apoio incondicional. Sua paciência, incentivo e, sobretudo, por sempre acreditar nos meus sonhos, torna mais fácil o caminho a ser percorrido.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Nágila, pela orientação e dedicação na condução deste trabalho e acima de tudo, por acreditar, confiar, ensinar, insistir e persistir sempre, dando o exemplo de amor à arte da pesquisa e da educação, além de todas as oportunidades concedidas;

À minha família, por serem responsáveis diretamente por cada conquista alcançada;

A Deus, por sempre iluminar cada momento da minha vida;

Aos companheiros de pesquisa do Laboratório de Nutrição Humana, pelo companheirismo e pela contribuição para a realização deste trabalho;

Às técnicas de laboratório Geni e Rosana pela ajuda valiosa durante os experimentos;

Às professoras Elisabeth Torres, Sayuri Miamoto e Dulcinéia Abdalla, pela disponibilização de seus respectivos laboratórios para a realização das análises;

Aos profissionais do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário pela imensurável ajuda na coleta de dados;

Aos funcionários da Faculdade de Saúde Pública, que ajudaram em inúmeras situações;

Aos voluntários do projeto, que se disponibilizaram a participar desse estudo; sem eles, nada seria possível;

À Fundação de Amparo à Pesquisa – FAPESP, ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Fluidos Complexos – INCT-FCx e ao Núcleo de Pesquisa em Fluidos Complexos – NAP-FCx, por todo subsídio financeiro.

À Faculdade de Saúde Pública que me acolheu desde a minha graduação e, definitivamente, transformou a minha vida;

RESUMO

CARTOLANO, FC. Efeito do ácido graxo ômega 3 sobre a composição corporal, controle glicêmico e escore de risco cardiovascular de indivíduos adultos e idosos. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2014.

Introdução: Os benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 (ω -3) no metabolismo lipídico e na saúde cardiovascular são amplamente aceitos. Entretanto, o impacto do ω -3 na composição corpórea, na homeostase da glicose e consequente modificação do risco cardiovascular não tem sido foco dos desfechos primários da maioria dos estudos clínicos. **Objetivo:** Avaliar o impacto da suplementação de ω -3 sobre a composição corporal, o controle glicêmico e o nível de risco cardiovascular em indivíduos adultos. **Métodos:** A partir de uma sub-amostra do estudo CARDIONUTRI (estudo clínico, randomizado, controlado e duplo cego com seguimento de 2 meses) foram selecionados 86 indivíduos (grupo ω -6, 3g de óleo de girassol/d) e 88 indivíduos (grupo ω 3, 3g de óleo de peixe/d – 60% EPA/DHA). O efeito das intervenções foi monitorado nos tempos basal e T=8 (oito semanas). Nestes períodos foram coletadas informações demográficas, clínicas, atividade física, dieta, antropométricas e de composição corporal. Amostras de sangue foram coletadas após jejum de 12h e a partir do plasma/soro foram avaliados glicemia, insulina, colesterol total e associado a LDL e HDL, triacilgliceróis e as apolipoproteína AI e B utilizando métodos comerciais. O nível de risco cardiovascular dos indivíduos foi estimado pelo Escore de Risco de Framingham (ERF). Os resultados do efeito do tempo, da intervenção e das interações entre parâmetros monitorados e os desfechos foram analisados por meio do programa SPSS 20.0, sendo o nível de significância adotado de $p < 0,05$. **Resultados:** A maioria dos indivíduos incluídos foram do sexo feminino e da raça branca, sem diferença entre os grupos. As doenças mais prevalentes em ambos os grupos foram a hipertensão arterial, o diabetes *mellitus* e as dislipidemias. Não foram observadas mudanças na glicemia e insulina de jejum, HOMA-IR e HOMA 2-%S, com a suplementação de ω -3, exceto nos indivíduos com risco cardiovascular intermediário, segundo o ERF, que apresentaram redução significativa nos valores de insulina de jejum e HOMA-IR. Em relação aos parâmetros antropométricos e de composição corporal, a população feminina do grupo ω -3 apresentou redução do percentual de massa gorda ao longo do tempo e intervenção, assim como, foi também observada tal redução entre os indivíduos com alto risco cardiovascular. Não foi constatada variação na distribuição do ERF, apesar da melhora de seus componentes (colesterol total e HDL-C). **Conclusões:** A suplementação com ω -3 foi capaz de promover efeitos benéficos no perfil lipídico, na insulinemia de jejum, na resistência à insulina e no percentual de gordura corporal de indivíduos adultos e idosos, sendo que a magnitude desse efeito dependente do sexo e do nível de risco cardiovascular.

Descritores: Composição corporal; Controle glicêmico; Ômega-3; Risco cardiovascular.

ABSTRACT

CARTOLANO, FC. Effect of omega 3 fat acid on body composition, glycemic control and cardiovascular risk score in adults and elderly. [Dissertation]. Sao Paulo: School of Public Health of University of Sao Paulo; 2014.

Introduction: The benefits of polyunsaturated omega 3 (n-3) on lipid metabolism and cardiovascular health fatty acids are widely accepted. However, the impact of n-3 in body composition, glucose homeostasis and consequent modification of cardiovascular risk has not been the focus of the primary outcomes of most clinical trials. **Aim:** To evaluate the impact of n-3 supplementation on body composition, glycemic control and the level of cardiovascular risk in adults. **Methods:** From a subsample of CARDIONUTRI study were selected (clinical, randomized, controlled, double blind study with follow-up of 2 months) 86 patients (group n-6, 3g of sunflower oil/d) and 88 individuals (n-3 group, 3g fish oil/d - 60 % EPA/DHA). The effect of the interventions was monitored at baseline and T = 8 (eight weeks). In these periods were collected demographic information, clinical, physical activity, diet, anthropometric and body composition. After 12h fasting, blood samples were collected and, from plasma/serum, were evaluated glucose, insulin, total cholesterol, cholesterol associated with LDL and HDL, triacylglycerol, apolipoprotein AI and B using standard methods. The level of cardiovascular risk of individuals was estimated by the Framingham Risk Score (FRS). The results of the effect of the time of the intervention and the interactions between monitored parameters and outcomes were analyzed using the SPSS 20.0 program and the level of significance of $p < 0.05$. **Results:** The majority of individuals included were female and white, with no difference between groups. The most prevalent diseases in both groups were hypertension, diabetes *mellitus* and dyslipidemia. No change was observed in glucose and fasting insulin, HOMA-IR and HOMA 2-%S, with supplementation with n-3, except in patients with intermediate cardiovascular risk, according to the FRS, which showed a significant reduction in the values of fasting insulin and HOMA-IR. Regarding the anthropometric and body composition parameters, the n-3 group showed a reduction in the percentage of fat mass among females over time and intervention, as was also observed that reduction among individuals at high cardiovascular risk. There was no variation in the distribution of the FRS, despite the improvement of its components (total cholesterol and HDL-C). **Conclusions:** Supplementation with n-3 was able to promote beneficial effects on lipid profile, fasting insulin, insulin resistance and body fat percentage in adults and elderly subjects, and the magnitude of this effect depends on the gender and the level of risk cardiovascular.

Keywords: Body composition; glycemic control; Omega-3; Cardiovascular Risk.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 EPIDEMIOLOGIA E DEFINIÇÃO DAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES.....	16
1.2 FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR E OBESIDADE.....	18
1.3 ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS E DOENÇAS CARDIOVASCULARES..	23
1.4 ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 E COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	25
1.5 ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 E GLICEMIA	33
2. JUSTIFICATIVA	36
3. HIPÓTESE DO ESTUDO.....	37
4. OBJETIVO	38
5. MATERIAL E MÉTODO	39
5.1 CASUÍSTICA	39
5.2 CÁLCULO AMOSTRAL.....	39
5.3 ANÁLISE DE RISCO E BENEFÍCIOS	40
5.4 DELINEAMENTO CLÍNICO DO ESTUDO	40
5.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	44
5.6 CRITÉRIOS DE NÃO INCLUSÃO	44
5.7 AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA E CLÍNICA.....	45
5.8 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	45
5.8.1 COMPOSIÇÃO CORPORAL SEGUNDO VETORES BIOELÉTRICOS (BIVA)	48
5.9 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR	48
5.10 AVALIAÇÃO DA ADESÃO À INTERVENÇÃO	50
5.11 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	50
5.11.1 OBTENÇÃO DE SANGUE	50
5.11.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE GLICOSE E INSULINA DE JEJUM	51
5.11.3 MARCADORES DO METABOLISMO LIPÍDICO	51
5.11.4 ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS NO PLASMA.....	52
5.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	55
5.13 ASPECTOS ÉTICOS	55
6. RESULTADOS	56
6.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA E PERFIL CLÍNICO.....	56
6.2 AVALIAÇÃO DA ADESÃO À INTERVENÇÃO	59

6.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA E DO CONSUMO ALIMENTAR	61
6.4	PERFIL BIOQUÍMICO E PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA.....	64
6.5	ESCORE DE RISCO DE FRAMINGHAM	65
6.6	GLICEMIA, INSULINA, HOMA-IR E HOMA 2-%S	66
6.7	COMPOSIÇÃO CORPORAL	70
6.7.1	COMPOSIÇÃO CORPORAL SEGUNDO VETORES BIOELÉTRICOS (BIVA)	73
7.	DISCUSSÃO.....	75
8.	CONCLUSÃO.....	87
9.	REFERÊNCIAS BLIBLIOGRÁFICAS	88
10.	ANEXOS.....	108
	ANEXO 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	109
	ANEXO 2: LIVRO DO PACIENTE.....	111
	ANEXO 3: CÁLCULO DE ESCORE DE RISCO DE FRAMINGHAM.....	117
	ANEXO 4: QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO E CLÍNICO.....	118
	ANEXO 5: QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL ...	120
	ANEXO 6: COMPOSIÇÃO CORPORAL, ELETROCARDIOGRAMA E PRESSÃO ARTERIAL.....	122
	ANEXO 7: PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS	123
	ANEXO 8: RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24H.....	124
	ANEXO 9: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA.....	125
	ANEXO 10: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO.....	126
	ANEXO 11: ARTIGO – THE LIPID ACCUMULATION PRODUCT IS ASSOCIATED WITH CLASSICAL AND NEW CARDIOVASCULAR BIOMARKERS	127

Lista de Quadros

QUADRO 1 – ESTUDOS DE INTERVENÇÃO QUE AVALIARAM OS EFEITOS DA INGESTÃO DE ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 SOBRE O PESO OU A COMPOSIÇÃO CORPORAL.	29
QUADRO 2 – VALORES DE REFERÊNCIA PARA O ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMC) EM ADULTOS E IDOSOS.	46
QUADRO 3 – VALORES DE REFERÊNCIA DE CIRCUNFERÊNCIA DA CINTURA (CC) PARA CLASSIFICAÇÃO DE COMPLICAÇÕES METABÓLICAS ASSOCIADAS À OBESIDADE.	47

Lista de Figuras

FIGURA 1 – MECANISMO DE DESENVOLVIMENTO DA INFLAMAÇÃO CRÔNICA DE BAIXA INTENSIDADE NA PRESENÇA DE EXCESSO DE GORDURA CORPORAL.	22
FIGURA 2 – EFEITOS INTEGRADOS DO EPA E DHA NO METABOLISMO DO FÍGADO, MÚSCULO ESQUELÉTICO E TECIDO ADIPOSEO.	33
FIGURA 3 – FLUXOGRAMA DA COLETA DE DADOS.	41
FIGURA 4 – ATIVIDADES PROPOSTAS EM CADA ETAPA.....	42
FIGURA 5 - ANÁLISE DO CONTEÚDO DE ÁCIDOS GRAXOS DAS CÁPSULAS E PADRÕES EXTERNOS	54
FIGURA 6 – VARIAÇÃO DO PERCENTUAL DE ÁCIDOS GRAXOS NO PLASMA, SEGUNDO INTERVENÇÃO.....	60
FIGURA 7 – VARIAÇÃO DOS VALORES DE PRESSÃO ARTERIAL E PERFIL BIOQUÍMICO DA POPULAÇÃO, SEGUNDO INTERVENÇÃO.....	65
FIGURA 8– VARIAÇÃO NOS VALORES DE GLICEMIA, INSULINA, HOMA-IR E HOMA 2-%S SEGUNDO TIPO DE INTERVENÇÃO E ESCORE DE RISCO DE FRAMINGHAM	69
FIGURA 9 – VARIAÇÃO DOS VALORES DE PESO, ÍNDICE DE MASSA CORPORAL, CIRCUNFERÊNCIA DA CINTURA E PERCENTUAL DE GORDURA CORPORAL, SEGUNDO SEXO E INTERVENÇÃO.....	72
FIGURA 10 – ANÁLISE VETORIAL DA IMPEDÂNCIA BIOELÉTRICA.....	74

Lista de Tabelas

TABELA 1 – CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO, SEGUNDO TIPO DE INTERVENÇÃO.....	56
TABELA 2 – PERFIL CLÍNICO, USO DE MEDICAMENTOS DA POPULAÇÃO E ANTECEDENTES FAMILIARES, SEGUNDO TIPO DE INTERVENÇÃO.....	58
TABELA 3 – PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO PLASMA, SEGUNDO TEMPO E TIPO DE INTERVENÇÃO.....	59
TABELA 4 - RESULTADOS DE ATIVIDADE FÍSICA OCUPACIONAL, DE LAZER E DE LOCOMOÇÃO DA POPULAÇÃO, SEGUNDO TEMPO E TIPO DE INTERVENÇÃO.....	61
TABELA 5 – AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR, SEGUNDO TEMPO E INTERVENÇÃO...	63
TABELA 6 – VALORES DE PRESSÃO ARTERIAL E DO PERFIL BIOQUÍMICO DA POPULAÇÃO, SEGUNDO TEMPO E TIPO DE INTERVENÇÃO.	64
TABELA 7 – ESTRATIFICAÇÃO DO ESCORE DE RISCO DE FRAMINGHAM, SEGUNDO TEMPO E TIPO DE INTERVENÇÃO.	66
TABELA 8 – VALORES DE GLICEMIA, INSULINA, HOMA-IR E HOMA 2-%S DA POPULAÇÃO, SEGUNDO TEMPO E TIPO DE INTERVENÇÃO.	67
TABELA 9 - VALORES DE GLICÊMICO, INSULINA, HOMA-IR E HOMA2-%S DA POPULAÇÃO, SEGUNDO TEMPO, TIPO DE INTERVENÇÃO E ESCORE DE RISCO DE FRAMINGHAM.....	68
TABELA 10 – CLASSIFICAÇÃO DOS VALORES DE GLICEMIA, INSULINA E HOMA-IR, SEGUNDO TEMPO E TIPO DE INTERVENÇÃO.	70
TABELA 11 – VALORES DE PESO, ÍNDICE DE MASSA CORPORAL, CIRCUNFERÊNCIA DA CINTURA E PERCENTUAL DE MASSA GORDA, SEGUNDO SEXO, TEMPO E TIPO DE INTERVENÇÃO.....	71

TABELA 12 – VALORES ALTERADOS DO ÍNDICE DE MASSA CORPORAL, PERCENTUAL DE GORDURA CORPORAL E CIRCUNFERÊNCIA DA CINTURA DA POPULAÇÃO DE ESTUDO, SEGUNDO TEMPO E INTERVENÇÃO..... 73

Siglas Utilizadas

ACN	Acetonitrila
ADAM	9-antrildiazometano
AFO	Atividade física ocupacional
AHA	<i>American Heart Association</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Apo	Apolipoproteína
AVC	Acidente vascular cerebral
BHT	2,6-di-tert-butil-p-hidroxitolueno
BIA	Impedância bioelétrica
CC	Circunferência da cintura
CT	Colesterol total
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doenças cardiovasculares
DEXA	Densitometria com emissão de raios-X de dupla energia
DHA	Docosaenoico
DLP	Dislipidemias
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DTPA	Ácido dietileno triamino pentacético
ECG	Eletrocardiograma
EDTA	Ácido etileno-diaminotetraacético
EFL	Exercícios físicos de lazer
EPA	Eicosapentaenoico
ERF	Escore de risco de Framingham
ETOH	Etanol
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FSP	Faculdade de Saúde Pública
GRAS	Geralmente aceito como seguro à saúde
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL-C	Colesterol associado à lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA sintetase	Hidroximetilglutaril-Coenzima A sintetase
HOMA	<i>Homeostasis model assessment</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alto desempenho
HU	Hospital Universitário
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL-C	Colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade

MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos 1
MG	Massa gorda
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAD	Pressão arterial diastólica
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio 1
PAS	Pressão arterial sistólica
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonila
PPAR	Receptores ativados por proliferados de peroxissoma
R	Resistência
R24h	Recordatório de 24 horas
RI	Resistência à insulina
TA	Tecido adiposo
TC	Tomografia computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triacilgliceróis
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
USP	Universidade de São Paulo
ω -3	Ácido graxo ômega-3
ω -6	Ácidos graxo ômega-6
Xc	Reactância

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia e Definição das Doenças Cardiovasculares

Atualmente, as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são as principais causas de morte no mundo, matando mais pessoas a cada ano do que todas as outras causas combinadas. Dos 57 milhões de óbitos ocorridos em 2008, 36 milhões (63%) foram devido às DCNT, que inclui, principalmente, as doenças cardiovasculares, o câncer, o diabetes e as doenças crônicas pulmonares (ALWAN et al., 2010).

Estas doenças são decorrentes, em grande parte, de quatro atitudes comportamentais que são aspectos penetrantes de transição econômica, da rápida urbanização e modificações do estilo de vida característico do século 21: uso do tabaco, alimentação rica em lipídios e açúcares, sedentarismo e uso nocivo do álcool. Este cenário leva ao surgimento de fatores de risco como a hipertensão arterial sistêmica (HAS), as dislipidemias (DLP), a intolerância à glicose e o excesso de peso, que são componentes que aceleram o desenvolvimento das DCNT supracitadas.

Ressalta-se o impacto crescente destas doenças entre a população de baixa e média renda. No ano de 2008, quase 80% das mortes causadas pelas DCNT aconteceram em países menos favorecidos, com cerca de 30% ocorrendo antes dos 60 anos de idade. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), nesse mesmo ano, as doenças cardiovasculares (DCV) foram as principais causas de morte entre as DCNT, totalizando 17 milhões (47%) (OMS, 2010).

As doenças cardiovasculares são um grupo de doenças do coração e dos vasos sanguíneos e incluem: a doença coronariana, a doença cerebrovascular, a hipertensão arterial sistêmica, a doença arterial periférica, a doença reumática do coração, a doença cardíaca congênita, a trombose venosa profunda e a embolia pulmonar, sendo as 4 primeiras ocasionadas devido ao processo aterosclerótico, o qual apresenta desenvolvimento lento e gradual ao longo dos anos (OMS, 2011).

Dados da OMS também apontam as DCV como a principal causa de mortalidade não só entre as DCNT, mas sim entre todas as causas de óbitos. Anualmente, 10% da carga global de doenças e, aproximadamente, 30% das mortes são atribuídos as DCV, com 3 milhões de eventos ocorrendo antes dos 60 anos de idade. Estimativas do órgão para o ano 2030 são de 23,6 milhões de óbitos anuais devido as DCV (OMS, 2011).

No Brasil, 74% das mortes ocorridas em 2008 foram atribuídas as DCNT, acometendo tanto homens, como mulheres e uma parcela expressiva de indivíduos abaixo de 60 anos (29%). Semelhante às estimativas mundiais, as DCV foram responsáveis por 33% do total de óbitos naquele ano – seguido pelos óbitos atribuídos ao câncer (16%) e as demais DCNT (14%) (OMS, 2011b). Dados do DATASUS do ano de 2010 relataram que das 1.136.947 mortes ocorridas no Brasil, 326.371 (29%) foram decorrentes das doenças do aparelho circulatório. Dessas, 45.056 eventos aconteceram devido às doenças hipertensivas, 20.287 devido às doenças isquêmicas do coração, 79.668 devido ao infarto agudo do miocárdio e 99.732 devido às doenças cerebrovasculares.

Desta maneira, destaque-se a importância de ações concretas e sustentadas que englobem os componentes-chave de qualquer estratégia nacional ou global: vigilância e monitoramento, prevenção e redução de fatores de risco, e melhorias na gestão e cuidados de saúde, com detecção precoce de doenças e garantia de tratamentos adequados.

1.2 Fatores de Risco Cardiovascular e Obesidade

Na década entre 1956 e 1966, investigadores em Framingham, Massachusetts, definiram a idade, a HAS, o tabagismo, o diabetes *mellitus* (DM), e o colesterol elevado como os principais determinantes da doença coronária, denominando-os como fatores de risco coronariano (DAWBER et al., 1957; DAWBER et al., 1959; KANNEL et al., 1961; DOYLE et al., 1964; DAWBER e KANNEL, 1966). Anos mais tarde, esses marcadores foram então sendo codificados para fazerem parte da avaliação do risco cardiovascular global e, atualmente, são variáveis de equações preditivas utilizadas para se estimar o risco de um evento cardiovascular no período de 10 anos (D'AGOSTINO et al., 2008; MOSCA et al., 2011).

Com o passar do tempo, diversos estudos clínicos e epidemiológicos no campo da medicina cardiovascular apresentaram notável progresso sobre a compreensão dos fatores de risco clássicos para as DCV, com repercussões importantes sobre as taxas de mortalidade (FORD et al., 2007; MANSUR e FAVARATO, 2012). Ford et al. (2007) sugeriram que o aperfeiçoamento da triagem e do tratamento médico destes fatores de risco e ainda, os procedimentos desenvolvidos para se tratar as várias manifestações agudas da DCV poderiam ser responsáveis pela detecção precoce de novos casos, melhora no tratamento e redução nas taxas de mortalidade.

Contudo, o consumo excessivo de alimentos processados na atualidade, de baixo valor nutricional e altamente energético combinado com um estilo de vida sedentário têm contribuído para o surgimento de um novo fator de risco para as DCV: a obesidade (LICHTENSTEIN et al., 2006; ARTINIAN et al., 2010). Assim, tem sido proposto que o avanço alcançado no que diz respeito ao manejo dos fatores de risco cardiovascular clássicos, poderia ser minimizado pelo estilo de vida atual (FORD et al., 2007), que é responsável, em grande parte, pela alta taxa de obesidade mundial.

Apesar de estabelecido há bastante tempo, a associação de fatores de risco clássicos como HAS, DM e DLP com as DCV, atualmente, sabe-se que, mesmo após o controle desses fatores, o risco de eventos cardiovasculares permanece elevado em indivíduos obesos (HASLAM e JAMES, 2005), com alguns estudos relacionando o Índice de Massa Corporal (IMC) com prevalência de morbidade e/ou mortalidade em uma curva exponencial (MANSON et al., 1995; BERRINGTON DE GONZALEZ et al., 2010).

Ainda na década de 90, um grupo de pesquisadores em um estudo de coorte prospectivo demonstrou a importância de tal associação, quando, em mulheres com idade entre 30 e 55 anos, após o controle e ajuste de fatores de risco clássicos, verificou-se aumento do risco relativo para eventos cardiovasculares fatais ou não diretamente proporcional aos valores de IMC (MANSON et al., 1990; MANSON et al., 1995).

Mais recentemente, em uma meta-análise, onde foram incluídos 33 estudos sobre o tema, perfazendo 310.283 indivíduos inclusos, demonstrou-se associação positiva entre valores de IMC e o risco da ocorrência de acidente vascular cerebral

(AVC) isquêmico ou hemorrágico e da doença isquêmica do coração. Além disso, verificou-se também que a redução de 2kg/m^2 no IMC esteve associada à diminuição de 12%, 8% e 11% no risco do desenvolvimento de um AVC isquêmico, AVC hemorrágico e doença isquêmica do coração, respectivamente (NI MHURCHU et al., 2004). Esta relação fica evidente também quando se leva em consideração a obesidade abdominal. Kragelund et al. (2005), apesar de não terem encontrado nenhuma associação entre IMC e mortalidade cardiovascular, demonstraram que em 6.676 indivíduos de ambos os sexos com história prévia de infarto agudo do miocárdio, houve associação positiva entre a relação cintura-quadril e mortalidade na população masculina, porém não significativa entre as mulheres. Contudo, deve-se ressaltar que as inconsistências encontradas em diversos estudos podem ser resultado de algumas variáveis de confusão como uso do tabaco, doença prévia, diferença de idade e o tempo de acompanhamento da população de cada estudo, bem como o uso de diferentes critérios de classificação de IMC.

Um importante mecanismo subjacente pelo qual o excesso de gordura corporal pode favorecer o desenvolvimento de alterações metabólicas e DCV é a presença da resistência à insulina (RI). Essa é definida como a resposta inadequada dos tecidos sensíveis a insulina aos níveis normais circulantes deste hormônio (OLEFSKY e GLASS, 2010).

O tecido adiposo (TA) é o maior local de armazenamento do excesso de energia corporal. Ele é composto por adipócitos, matriz extracelular, tecidos vasculares e neurais, pré-adipócitos e células do sistema imune, como os macrófagos e os linfócitos T (IBRAHIM, 2010). Ele é responsável pela secreção de inúmeros peptídeos bioativos conhecidos como adipocinas – leptina, adiponectina, resistina,

apelina e visfatina – que estão envolvidas no balanço energético e homeostase de glicose. O TA é um local também de produção e liberação de citocinas pró- (interleucina-6 e o fator de necrose tumoral alfa - TNF α) e anti-inflamatórias, como a interleucina-10 (IL-10) (KIM e MOUSTAID-MOUSSA, 2000; OLEFSKY e GLASS, 2010). Assim, o TA é um dinâmico órgão endócrino com papel central no balanço energético, homeostase de glicose, regulação da pressão arterial e função imune (ALEXAKI et al., 2009)

Contudo, o excesso de gordura corporal, principalmente aquele na região intra-abdominal ou visceral, irá promover disfunção do padrão secretório do TA, favorecendo diminuição na secreção da IL-10 e adiponectina – mediador sabidamente relacionado ao aumento da sensibilidade insulínica (HU et al., 1996) – em detrimento do aumento na liberação de citocinas como IL-6, TNF α e resistina – relacionadas com a resistência à insulina (MCTERMAN et al., 2002). Esse desequilíbrio favorece o desenvolvimento de uma inflamação crônica de baixa intensidade (XU et al., 2003; WELLEN e HOTAMISLIGIL, 2005), também denominada atualmente como meta-inflamação (HOTAMISLIGIL, 2006). Esta inflamação é considerada um dos fatores chave na patogênese da RI associada à obesidade (OLEFSKY e GLASS, 2010) e, conseqüentemente, no desenvolvimento das DCV (**Figura 1**).

Assim, com o crescente número de indivíduos obesos, adicionou-se este fator de risco não clássico como fundamental na avaliação e manejo do risco cardiovascular. Em acordo com tal cenário, a *American Heart Association* (AHA) vem publicando constantemente diversos documentos posicionando-se sobre os

riscos à saúde cardiovascular relacionados com a obesidade (KLIEN et al., 2004; POIRIER et al., 2006; CORNIER et al., 2011).

FIGURA 1 – Mecanismo de desenvolvimento da inflamação crônica de baixa intensidade na presença de excesso de gordura corporal (Modificado de KALUPAHANA et al., 2011).

Ang – angiotensina; IL – interleucina; INF – interferon; TNF – fator de necrose tumoral.

O acúmulo excessivo de triacilgliceróis nos adipócitos, como resultado de um balanço energético positivo, leva à hipertrofia dos adipócitos, à remodelação do tecido adiposo, à hipóxia relativa e ao estresse do retículo endoplasmático. Esse quadro culmina com aumento da produção de citocinas e adipocinas pró-inflamatórias. Ressalta-se que, embora os adipócitos sejam uma fonte dessas citocinas, os pré-adipócitos e os macrófagos são também responsáveis pela elevação dos níveis das citocinas produzidas pelo tecido adiposo.

Dados de 2008 estimaram a prevalência mundial de 35% de excesso de peso em indivíduos acima de 20 anos de idade, com 10% dos homens e 14% das mulheres apresentando obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Essa prevalência praticamente dobrou desde o ano de 1980, quando 5% dos homens e 8% das mulheres eram obesos (OMS, 2010). No Brasil, aproximadamente 48,5% e 15,8% da população adulta apresentam excesso de peso e algum grau de obesidade, respectivamente (VIGITEL, 2011).

Visto que a problemática do excesso de peso é algo que pode ser, em grande parte dos casos, controlado por meio da modificação do estilo de vida, onde se inclui a adoção de alimentação saudável em termo de qualidade e quantidade, esta variável tornou-se então um fator de risco passível de modificação. Desta maneira, com a epidemia global da obesidade e seus efeitos deletérios para a saúde, esforços para se encontrar medidas eficazes de promover a perda de peso e a sua manutenção têm sido foco de estudo e de políticas públicas, tendo as intervenções direcionadas aos múltiplos fatores de risco cardiovascular e metabólico adquirido grande ênfase (HILL et al., 2007).

1.3 Ácidos Graxos Poli-insaturados e Doenças Cardiovasculares

As doenças cardiovasculares e a obesidade podem ser tratadas não só por meio de agentes farmacológicos e procedimentos cirúrgicos, mas também com modificações do estilo de vida, onde se destaca o consumo alimentar (BRAVATA et al., 2003; LAYMAN et al., 2003; LAYMAN et al., 2003b; SAMAHA et al., 2003). Atualmente, sabe-se que a alimentação desempenha papel particularmente importante na redução do risco destas doenças, além de ser ferramenta essencial em todos os protocolos de tratamento.

O perfil ideal da alimentação tem sido extensamente discutido em termos de proteínas e carboidratos, tanto em relação à proporção desses macronutrientes, como sua qualidade e fonte (BRAVATA et al., 2003; LAYMAN et al., 2003; JOHNSTON et al., 2002). Desde as décadas de 70 e 80, tem-se estudado a importância dos ácidos graxos e, mais especificamente, dos ácidos graxos poli e monoinsaturados no processo saúde e doença (BANG e DYERBERG, 1972; DYERBERG et al., 1975; BANG et al., 1976; DYERBERG et al., 1977; DYERBERG et al., 1978; DYERBERG e BANG, 1978; DYERBERG e BANG, 1979; ACKMAN et al., 1980; BANG et al., 1980; BANG e DYERBERG, 1980).

Os lipídios são potentes reguladores da expressão gênica, com os ácidos graxos poli-insaturados desempenhando papel importante no metabolismo energético e de gorduras, bem como, na regulação da formação de adipócitos (CLARKE, 2001; WANG et al., 2002).

Dentre os diversos tipos de ácidos graxos, especial atenção tem sido dada aos ácidos graxos ômega-3 (ω -3) que pertencem a família dos ácidos graxos poli-insaturados. Sua nomenclatura é baseada no fato de sua primeira dupla ligação estar localizada no terceiro carbono da cadeia contado a partir de carbono mais distante da carboxila. As principais fontes dos ácidos graxos ω -3 (α -linolênico, eicosapentaenoico - EPA e docosahexaenoico - DHA) são, os óleos vegetais (soja, canola e linhaça), no caso do α -linolênico, e óleos e peixes de águas frias (cavala, sardinha, salmão e arenque), no caso do EPA e DHA.

Evidências epidemiológicas mostram que o alto consumo de ω -3 é benéfico na prevenção do desenvolvimento das DCV e do DM do tipo 2 (BROWNING et al., 2007). Resultados de diversos estudos suportam a ideia de uma relação inversa entre

o consumo de ω -3 e a taxa de mortalidade por doenças coronarianas (MOZAFFARIAN e RIMM, 2006). O consumo regular de ω -3, particularmente de DHA, possui a capacidade de atenuar diversos fatores de risco cardiovascular (MORI e WOODMAN, 2006), como redução dos triacilgliceróis (TG) plasmáticos (BELALCAZAR et al., 2010), aumento da lipoproteína de alta densidade (MORI et al., 1999; MORI et al., 2000; BELALCAZAR et al., 2010) e diminuição da HAS (APPEL et al., 1993; MORRIS et al., 1993; BAO et al., 1998; GELEIJINSE et al., 2002; USHEMA et al., 2007; EBRAHIMI et al., 2009).

Contudo, apesar dos consideráveis esforços direcionados na investigação dos efeitos benéficos do consumo dos ácidos graxos ω -3 nos fatores de risco clássicos para a DCV, pouca atenção tem sido dada ao potencial efeito antiobesidade do ω -3, particularmente, do EPA e do DHA, sobretudo nos estudos clínicos. Em adição, as pesquisas sobre os efeitos deste ácido graxo sobre a sensibilidade e/ou resistência à insulina são ainda controversos (BORKMAN et al., 1989; FRIDAY et al., 1989; FRIEDBERG et al., 1998; MONTORI et al., 2000, KABIR et al., 2007; FAKHRZADEH, 2010) e quase em sua totalidade realizados em indivíduos sob atenção secundária, ou seja, que já apresentaram um evento cardiovascular clinicamente documentado.

1.4 Ácidos graxos ômega-3 e composição corporal

Estudos experimentais com roedores têm demonstrado que a incorporação de ácidos graxos ω -3 na ração destes animais pode levar a redução do acúmulo de gordura, mesmo quando fornecida uma alimentação com alto teor de lipídios (CUNNANE et al., 1986; BELZUNG et al., 1993; HAINAULT et al., 1993;

BAILLIE et al., 1999; RUZICKOVA et al., 2004). Entretanto, mais recentemente foi descrito que ratos diabéticos suplementados com ω -3 apresentaram ganho de peso (TODORIC et al., 2006).

Ainda na década de 90, Hainault et al. (1993) demonstraram que a substituição de 15% dos lipídios de uma dieta com alto teor de lipídios (50%) por óleo de peixe durante 16-20 dias, foi capaz de reduzir, após o período de estudo, o acúmulo em 20% e 30% no TA subcutâneo (inguinal) e TA visceral (retroperitoneal e epididimal) de ratos, respectivamente, quando comparado ao grupo controle. Esses resultados sugerem que o óleo de peixe pode apresentar efeito protetor contra o acúmulo de gordura corporal. Esta redução na deposição de lipídios no TA visceral de modelos experimentais foi confirmada subsequentemente em 2 outros estudos, e associada principalmente à presença de DHA (BAILLIE et al., 1999; RUZICKOVA et al., 2004). Huang et al. (2004) também demonstraram que o consumo de óleo de peixe levou a redução da gordura corporal em ratos previamente obesos.

Em humanos, alguns grandes estudos prospectivos têm examinado os efeitos dos ácidos graxos ω -3 na saúde cardiovascular, contudo, até o momento, nenhum teve por objeto específico analisar os efeitos do consumo no peso e na gordura corporal. Não obstante, dados do *Health Professional Follow-Up Study*, quando foi estudado o efeito do consumo de ácidos graxos ω -3 e o risco de infarto em 43.671 homens, com seguimento de 12 anos, mostrou que os indivíduos com maior consumo de peixes estavam menos propensos a apresentarem excesso de peso e o número de indivíduo com sobrepeso foi inversamente proporcional ao consumo de ω -3 (HE et al., 2002). Inversamente, no *Nurses's Healthy Study*, onde foi avaliada a relação entre o consumo de peixes e ácidos graxos ω -3 e risco de infarto em 79.839 mulheres

em um período de 14 anos de acompanhamento, notou-se que o maior consumo de peixe estava associado com uma maior prevalência de obesidade nesta população (ISO et al., 2001).

Neste cenário, as limitadas evidências disponíveis de grandes estudos de coorte prospectivos que tenham analisado a relação potencial entre o consumo de EPA e DHA e peso corporal são ainda conflitantes. Não está claro se as diferenças encontradas nestes dois estudos foram devido a variáveis de confusão ou diferenças inerente entre os gêneros. Igualmente, ensaios randomizados e controlados são relativamente poucos e, de modo semelhante aos estudos prospectivos, controversos (**Quadro 1**).

Couet et al. (1997) conduziram um estudo de intervenção simples-cego no qual 6 indivíduos adultos (5 homens e 1 mulher) consumiram uma dieta controle (52% de carboidratos, 16% de proteínas e 32% de lipídios) por 3 semanas. Após um período de 10-12 semanas de *washout*, este mesmo grupo seguiu a mesma dieta, mas com a substituição por 6g/dia dos lipídeos por óleo de peixe (1,1g/dia EPA e 0,7g/dia de DHA). No início e ao final de cada período de dieta, a taxa metabólica de repouso e a oxidação de gordura foram mensuradas com calorimetria indireta e a composição corporal avaliada com auxílio da densitometria com emissão de raios-X de dupla energia (DEXA). Os recordatórios de consumo alimentar e atividade física foram preenchidos 2 semanas antes do início de cada etapa a fim de monitorar modificações nesta duas variáveis. Como resultados, verificou-se aumento da oxidação lipídica de repouso (22%) e diminuição da gordura corporal (-0,88kg) na dieta com suplementação de óleo de peixe.

Subsequentemente, Kabir et al. (2007) em um estudo randomizado e duplo-cego, estudaram os efeitos da suplementação com óleo de peixe na composição corporal em 27 mulheres com excesso de peso ou obesas, na menopausa e com DM do tipo 2. Os indivíduos foram randomizados e pareados para consumirem 3g/dia de óleo de peixe rico em EPA (1,08g) e DHA (0,72g) ou 3g/dia de óleo mineral por 2 meses. A composição corporal foi avaliada pelo DEXA e os tecidos adiposos subcutâneo e visceral foram determinados pela tomografia computadorizada (TC) ao nível das vértebras L4-L5. Uma biópsia do TA subcutâneo periumbilical foi realizada. Ao final do estudo, nem o grupo controle, nem o grupo intervenção apresentou redução do peso corporal e não houve diferenças no TA subcutâneo e visceral. Contudo, o grupo intervenção teve redução significativa na massa gorda (-1,6kg), sendo essa principalmente na região do tronco. Os participantes randomizados no grupo que recebeu óleo de peixe também obtiveram redução no diâmetro dos adipócitos.

QUADRO 1 – Estudos de intervenção que avaliaram os efeitos da ingestão de ácidos graxos ômega-3 sobre o peso ou a composição corporal.

ANO	PARTICIPANTE	DESENHO	DURAÇÃO	INTERVENÇÃO	DESFECHO
Couet et al. 1997	5 ♂ + 1 ♀ Saudáveis	<i>Crossover</i> : 2 x 3 semanas	6 semanas 10-12 semanas <i>washout</i>	Controle: 3 sem = dieta controle (<i>ad libitum</i>) 10-12 semanas <i>washout</i> Intervenção: 3 sem = substituição de 6g de lipídios da dieta controle por 6g óleo de peixe (1,1g/d EPA + 0,7g/d DHA)	Sem diferenças na perda de peso entre controle e intervenção. Intervenção: maior taxa metabólica de repouso absoluta, de oxidação lipídica e maior redução na massa gorda.
Krebs et al. 2006	93 ♀ Idade >21 e < 69 anos IMC > 27kg/m ² Hiperinsulinemia (insulina plasmática de jejum > 70 pmol/l)	Randomizado Duplo-cego	24 semanas	Grupo 1 = sem programa perda de peso + 5g óleo placebo (2,8g linoleico e 1,4g oleico) Grupo 2 = com programa perda de peso + 5g óleo placebo (2,8g linoleico e 1,4g oleico) Grupo 3 = com programa perda de peso + 5g óleo de peixe (1,3g EPA e 2,9g DHA)	Grupo 2 e 3: perda de peso significativa, com redução CC e massa gorda vs grupo 1. Grupo 3: aumento significativo da adiponectina vs grupo 1.
Kunešová et al. 2006	20 ♀ Obesidade mórbida	Paralelo, controlado e randomizado	4 semanas (1 semana estabilização + 3 intervenção)	Grupo 1 = 525kcal + exercícios físico + solução salina Grupo 2 = Grupo 1 = 525kcal + exercícios físico + 2,8g ω-3 (EPA:DHA – 2:1)	Grupo 2 = perda de peso e diminuição do IMC mais significativo.
Thordsdottir et al. 2007	120 ♂ + 158 ♀ Idade > 20 e < 40 anos IMC > 27,5 e < 32,5kg/m ² CC ≥ 94cm (H) CC ≥ 80cm (M)	Randomizado e controlado	8 semanas	Restrição calórica Grupo 1 = 6 cápsulas placebo/dia Grupo 2 = 150g bacalhau 3x/semana (0,3g/dia ω-3) Grupo 3 = 150g salmão 3x/semana (3g/dia ω-3) Grupo 4 = 6 cápsulas de óleo de peixe/dia (1,5g/dia ω-3)	A perda de peso foi significativamente maior, apenas no sexo masculino, no grupo recebendo peixe (grupo 2 e 3) e óleo de peixe (grupo 4) vs o grupo 1.

Quadro 1 – Estudos de intervenção que avaliaram os efeitos da ingestão de ácidos graxos ômega-3 sobre o peso ou a composição corporal
(continuação).

ANO	PARTICIPANTE	DESENHO	DURAÇÃO	INTERVENÇÃO	DESFECHO
Kabir et al. 2007	26 ♀ Idade > 40 e < 60 anos IMC > 27 e < 40kg/m ² Diabetes <i>mellitus</i> Pós-menopausa	Randomizado, duplo-cego e paralelo	8 semanas	Grupo 1 = 3g/dia óleo de peixe (1,08g EPA + 0,72g DHA) Grupo 2 = placebo (óleo mineral)	Sem alterações no peso corporal. Grupo 1 = redução significativa da massa gorda, principalmente na região do tronco, e do diâmetro do adipócito subcutâneo.
Hill et al. 2007	24 ♂ + 41 ♀ Idade > 25 e < 65 anos IMC > 25kg/m ² Fator de risco DCV Sedentarismo	Duplo-cego, paralelo, randomizado e controlado	12 semanas	Grupo 1 = 6g placebo (óleo de girassol) Grupo 2 = 6g óleo de peixe (1560mg DHA + 360mg EPA) Grupo 3 = 6g placebo (óleo de girassol) + exercício físico Grupo 4 = 6g óleo de peixe (1560mg DHA + 360mg EPA) + exercício físico	A suplementação com o óleo de peixe e o exercício físico significantemente reduziram a massa gorda, porém o mesmo não foi observado em relação ao peso corporal.
Parra et al. 2008	233 ♂ e ♀ Idade > 20 e < 40 anos IMC > 27,5 e < 32,5kg/m ²	Randomizado	8 semanas	Grupo 1 = 6 cápsulas placebo/dia Grupo 2 = 150g bacalhau 3x/semana (0,3g/dia ω-3) Grupo 3 = 150g salmão 3x/semana (3g/dia ω-3) Grupo 4 = 6 cápsulas de óleo de peixe/dia (1,5g/dia ω-3)	Grupo 3 e 4 – redução do apetite e aumento da saciedade imediatamente após o jantar e após 2h da refeição.
Ebrahimi et al. 2009	11 ♂ + 79 ♀ Idade > 40 e < 70 anos Síndrome Metabólica	Randomizado	6 meses	Grupo 1 = Orientação nutricional inicial Grupo 2 = Orientação nutricional inicial + 180mg EPA e 120mg DHA	Grupo 2 = Perda de peso significativa, o que não foi encontrado no grupo 1.
DeFina et al. 2011	40 ♂ + 88 ♀ Idade > 30 e < 60 anos IMC ≥ 26 e < 40kgm ² Sem doenças prévias	Randomizado, placebo- controle	6 meses	Grupo 1 = 5 cápsulas com óleo de soja e de milho 1:1 Grupo 2 = 5 cápsulas com 3g EPA + DHA 5:1, em 60% de [], composto por óleo de peixe e ácidos graxos ω-3 Exercícios aeróbicos e acons. dietético	Nenhum benefício significativo foi encontrado na redução de peso com o adição de ácidos graxos ω-3.

Os mecanismos pelos quais os ácidos graxos ω -3 reduzem a gordura corporal não estão totalmente elucidados (**Figura 2**). Existem evidências baseadas em estudos com animais (TAKAHASHI e IDE, 2000; PÉREZ-MATUTE et al., 2007) e em humanos (PARRA, 2008) que sugerem que o EPA e o DHA poderiam contribuir na melhora da composição corporal e redução do peso pela redução do apetite (PARRA et al., 2008) e estímulo à apoptose dos adipócitos (PÉREZ-MATUTE et al., 2007). Contudo, estudos com animais também indicam que os efeitos no peso e gordura corporal do ácido graxo ω -3 provenientes do óleo de peixe podem ser mediados pela alteração da expressão de genes envolvidos na regulação do metabolismo lipídico em inúmeros tecidos (POWER e NEWSHOLME, 1997; BAILLIE et al., 1999; FLACHS et al., 2005; MORI et al., 2007). Nestes estudos observou-se que a suplementação com EPA e DHA foi capaz de regular positivamente a expressão de genes para a síntese de proteínas envolvidas na oxidação de ácidos graxos no fígado, no intestino, no músculo cardíaco e no músculo esquelético, tais como a carnitina palmitoil transferase I, a proteína desacopladora mitocondrial 3 e a acil-coenzima A oxidase peroxisomal.

Além disso, existem fortes evidências que mostram que estes ácidos graxos e seus metabólitos são potentes ligantes dos receptores ativados por proliferados de peroxissoma (PPAR), especificamente da família alfa (PPAR α) (KREY et al., 1997; PRICE et al., 2000; NESCHEN et al., 2007; EDWARDS e O'FLAHERTY, 2008; GANI, 2008; GANI e SYLTE, 2008). A expressão da lipase lipoproteica (enzima que desempenha papel central na hidrólise dos TG), por exemplo, parece ser regulada pela ativação do PPAR (SCHOONJANS et al., 1996; SCHOONJANS et al., 1996b; ZIMMERMANN et al., 2004), bem como, a existência de elementos

responsivos ao PPAR em genes que codificam a acil-coenzima A oxidase peroxisomal (VARANASI et al., 1996), a carnitina palmitoil transferase (BRANDT et al., 1998), a hidroximetilglutaril-Coenzima A sintetase – HMG-CoA sintetase – (RODRIGUEZ et al., 1994) e as proteínas de desacoplamento mitocondrial (SCHRAUWEN et al., 1999).

Contudo, apesar das evidências e dos progressos de estudos experimentais com modelos animais, o impacto do EPA e do DHA na composição corporal em humanos é ainda incerto e contraditório, o que motiva realização de novos estudos.

FIGURA 2 – Efeitos integrados do EPA e DHA no metabolismo do fígado, músculo esquelético e tecido adiposo (Modificado de KALUPAHANA et al., 2011).

AMPK – adenosina 3,5' monofosfato; DHA – docosahexaenoico; EPA- eicosapentaenoico; AG – ácido graxo; GPR – receptores acoplados à proteína G; PPAR – receptores ativados por proliferados de peroxissoma; SREBP – proteína de ligação a elemento regulador de esterol; TG – triacilgliceróis.

No fígado, o EPA e DHA promovem a oxidação de ácidos graxos e suprimem a lipogênese, reduzindo o acúmulo de triacilgliceróis. No tecido adiposo, o EPA e o DHA também podem aumentar a oxidação de ácidos graxos e regular positivamente a secreção de adiponectina e leptina, além de reduzir a inflamação por meio da ligação com o GPR120. No músculo esquelético, o EPA e DHA promovem a oxidação de ácidos graxos, impedindo o acúmulo também nesse tecido. Todos estes mecanismos são responsáveis pela melhoria na sensibilidade à insulina mediada pelo EPA e DHA.

1.5 Ácidos graxos ômega-3 e glicemia

De modo semelhante aos estudos a respeito da composição corporal, trabalhos relacionando os ácidos graxos ω -3 com a homeostase de glicose e resistência à insulina em humanos ainda são contraditórios e seguem em investigação.

Em um estudo com roedores, Rossi et al. (2005) demonstraram que o consumo de ω -3 (por meio da suplementação da ração com óleo de peixe) aumentou a sensibilidade à insulina em modelos insulino-resistentes, além de reduzir a gordura corporal. Estes resultados podem estar associados à redução da adiposidade. Similarmente, Sener et al. (2009) também descreveram que ratos privados do consumo de ácidos graxos ω -3 durante 3 a 7 meses apresentaram aumento da massa tecido adiposo, das concentrações de glicose e insulina e do índice de resistência à insulina. Tais efeitos na glicemia e na insulina foram revertidos após a adição na ração de 5% de óleo de linhaça.

Em humanos, estudos mais antigos (BORKMAN et al., 1989; FRIDAY et al., 1989) demonstraram que os efeitos benéficos do óleo de peixe nas DVC foram menos valorizados devido seus efeitos deletérios sobre o controle da glicemia em indivíduos diabéticos. Contudo, estes resultados foram observados principalmente nos casos onde o consumo de óleo de peixe foi extremamente elevado (5-18g/dia) e em quantidades não condizentes com o que seria possível com uma alimentação saudável. Posteriormente, Friedberg et al. (1998) e Montori et al. (2000), em suas meta-análises que incluíram somente ensaios randomizados e controlados, constataram que o consumo de óleo de peixe em doses moderadas (3g/dia) promove redução dos TG plasmáticos, importante no risco cardiovascular, sem, no entanto, exercer efeito adverso na glicemia de paciente diabéticos. Em concordância, Kabir et al. (2007), em um estudo onde foram administradas doses de 3g/dia de óleo de peixe rico em EPA (1,08g EPA e 0,72g DHA) não demonstraram nenhuma alteração no controle glicêmico e sensibilidade à insulina em mulheres diabéticas. Mais recentemente, a suplementação com cápsulas de óleo de peixe durante 6 meses

(1g/dia – 180mg EPA e 120mg DHA) em idosos, sem história prévia de diabetes, não resultou em nenhum efeito na sensibilidade à insulina nesta população (FAKHRZADEH et al., 2010).

Hendrich (2010), em sua revisão baseada em estudos clínicos sugeriram que as possíveis causas para esta falta de efeitos do ω -3 na glicemia de indivíduos diabéticos seja devido a dose inadequada utilizada pelos estudos, bem como a falta de controle da dieta prévia da população estudada.

Um possível mecanismo para a melhora da resistência à insulina mediada pelo EPA e DHA seria a própria redução no conteúdo de lipídeos do TA, apesar de existirem evidências demonstrando ações diretas destes ácidos graxos sobre a função do TA (**Figuras 2**). De fato, alguns estudos demonstraram que a sensibilidade à insulina mediada pelo EPA e o DHA pode estar preservada, mesmo na presença de uma massa adiposa aumentada (IDE, 2005). Estes ácidos graxos podem modular a secreção das adipocinas do TA, aumentando a concentração de adiponectina no plasma de roedores (KUDA et al., 2009) e em humanos obesos (KREBS et al., 2006; ITOH et al., 2007). Este aumento de secreção da adiponectina pode ser um potencial mecanismo pelo qual o EPA e o DHA promovem melhora da sensibilidade à insulina. O EPA e o DHA também podem induzir a secreção de leptina e visfatina e reduzir a expressão de várias citocinas pró-inflamatórias do TA, incluindo $\text{TNF}\alpha$, IL-6, proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1) e inibidor do ativador de plasminogênio -1 (PAI-1) (PÉREZ-ECHARRI et al., 2008; PÉREZ-ECHARRI et al., 2009; KALUPAHANA et al., 2010; PUGLISI et al., 2011). As atuais evidências sugerem que as ações de atenuação da inflamação do EPA e do DHA desempenham um papel importante na melhora da resistência à insulina.

2. JUSTIFICATIVA

Em virtude da associação entre o excesso de peso e aumento do risco cardiovascular, é indiscutível o papel da obesidade na morbi-mortalidade mundial e nos custos elevados com programas de políticas públicas voltados à prevenção e tratamento dessas doenças. Portanto, a modificação dos fatores de risco ambientais voltados, sobretudo à prevenção, torna-se fundamental.

Apesar dos resultados promissores obtidos a partir de pesquisas conduzidas em modelos animais, onde a suplementação com ω -3 reduziu o acúmulo de gordura e apresentou efeitos positivos na sensibilidade à insulina, em humanos as evidências são menos claras, assim como são relativamente escassos os estudos controlados disponíveis.

Desta forma, as evidências sobre o efeito do consumo de ω -3 na composição corporal, no controle glicêmico e no risco cardiovascular ainda são limitadas e conflitantes.

Diversos estudos prospectivos analisaram o efeito da suplementação de ω -3 na saúde cardiovascular, mas até o momento, poucos foram os que avaliaram simultaneamente a perda de peso e composição corporal e suas consequências sobre o controle glicêmico e o risco cardiovascular.

Além desses aspectos, é fundamental destacar que o efeito do consumo de ω -3 sobre a composição corporal e o controle glicêmico ainda não foram realizados na população brasileira, o que reforça a importância da realização de estudos que tenham esse objetivo.

3. HIPÓTESE DO ESTUDO

Com base na revisão supracitada, a hipótese deste estudo é de que o aumento do consumo de ácidos graxos ômega 3 por indivíduos adultos e idosos em diferentes estratos de risco para eventos cardiovasculares promova efeitos benéficos na redução da gordura corporal, melhora no controle glicêmico e, possivelmente, mudança no nível de risco cardiovascular ou de seus componentes.

4. OBJETIVO

Analisar o impacto da suplementação de ácidos graxos ômega-3 sobre a composição corporal, o controle glicêmico e o nível de risco cardiovascular em indivíduos adultos e idosos.

5. MATERIAL E MÉTODO

5.1 Casuística

A população do estudo foi composta por indivíduos de ambos os sexos sob atendimento ambulatorial do Hospital Universitário (HU) da Universidade de São Paulo (USP) e por indivíduos de procedência externa que demonstraram interesse na participação. Todos os voluntários passaram pelo processo de esclarecimento e, somente após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**Anexo 1**), se realizou a coleta de dados. Todos os procedimentos de obtenção de amostras, análises, divulgação dos resultados e preservação da identidade dos participantes seguiram as normas do Conselho Nacional de Saúde, no que se refere à ética em pesquisa com seres humanos (BRASIL, 1999). Este projeto foi submetido aos Comitês de Ética do HU e da Faculdade de Saúde Pública (FSP), ambos vinculados à USP.

5.2 Cálculo Amostral

Para cálculo do tamanho amostral, foram considerados dados de estudo prévio (KABIR et al., 2007) que também utilizou suplementação de ômega-3 visando a redução do percentual de massa gorda, encontrando-se como resultado uma magnitude de redução de 4,6%. Para o estudo atual, considerou-se a mesma magnitude de efeito e o mesmo desvio padrão do estudo de Kabir et al. (2007). Com o auxílio de uma tabela para cálculo de tamanho de amostra necessária por grupo (utilizando-se o teste t para comparar médias de variáveis contínuas), considerando α de 5% bilateral, poder estatístico de 90% (β de 10%), encontrou-se um número de 34 indivíduos por grupo (BROWNER et al., 2003).

5.3 Análise de risco e benefícios

A pesquisa apresentou caráter intervencional. Entretanto, o risco considerado foi mínimo, pois os produtos utilizados na intervenção fazem parte do hábito alimentar da população brasileira e são considerados GRAS (geralmente aceito como seguro à saúde), além de terem sido previamente aprovados pelo FDA e ANVISA na modalidade de suplemento alimentar. De acordo com a literatura, eventuais efeitos adversos poderiam estar associados ao consumo do óleo de peixe (ômega 3), onde, em raras situações, pode haver redução na ativação plaquetária, aumento na eructação, hálito com odor de peixe e prurido. Destaca-se que essas reações adversas, na maioria das vezes, não é fator indicativo de suspensão do consumo do ômega 3. Esses efeitos foram rigorosamente monitorados durante o estudo, seguindo padrões ético-científico e médico.

Além da disponibilização de meios de contato 24h com a equipe de pesquisadores, ao término do estudo, todos os participantes receberam os resultados dos exames realizados.

5.4 Delineamento Clínico do Estudo

O protocolo se refere a um estudo clínico, aleatorizado, controlado e duplo cego baseado em intervenção nutricional, com seguimento de 2 meses e apresentou delineamento, conforme **Figura 3**.

FIGURA 3 – Fluxograma da coleta de dados.

ECG – Eletrocardiograma; HU – Hospital Universitário; R24h – Recordatório Alimentar de 24 horas; T=0S – tempo 0 semanas de intervenção; T=8S – tempo 8 semanas de intervenção.

Inicialmente, a seleção dos participantes ocorreu com a pesquisa de prontuários de pacientes ambulatoriais do HU e por meio da divulgação de cartazes para o público externo. Posteriormente, foi realizado contato telefônico para identificação e confirmação dos indivíduos com características positivas para o estudo e o agendamento da triagem. Na **Figura 4**, encontram-se as etapas realizadas na coleta de dados.

FIGURA 4 – Atividades propostas em cada etapa.

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; ECG – Eletrocardiograma; PA – Pressão Arterial; FC – Frequência Cardíaca; BIA – Bioimpedância; Q. – Questionário; R24h – Recordatório Alimentar de 24 horas; T=0S – tempo 0 semanas de intervenção; T=8S – tempo 8 semanas de intervenção.

No período T=0 os participantes do estudo receberam, após a entrevista, o suplemento codificado (**3,0 gramas/dia**) sob forma de cápsulas (*Relthy, Indaiatuba, Brasil*). Foram fornecidas as quantidades suficientes a serem consumidas até a próxima consulta.

Cada participante foi orientado a consumir individualmente o suplemento (3 cápsulas/dia), distribuídas do seguinte modo: 1 cápsula no desjejum, 1 cápsula no almoço e 1 cápsula no jantar. No caso da não ingestão acidental por algum motivo, as cápsulas deveriam ser ingeridas a qualquer momento dentro do mesmo dia.

Foi fornecido também um diário (**Anexo 2**) onde o participante registrou o horário de consumo do suplemento, assim como as intercorrências ocorridas durante o período: divisão o suplemento com outra pessoa, esquecimento e sinais e sintomas adversos associados ao consumo. Os participantes foram orientados a retornarem na próxima consulta trazendo consigo o frasco do suplemento, independentemente se vazio ou com cápsulas restantes. Parte da aderência à intervenção foi realizada por meio da contagem de cápsulas que foram devolvidas em cada etapa do estudo.

Os suplementos utilizados no protocolo de intervenção apresentaram as seguintes características:

1. **Grupo ω -6** – Cápsula de óleo de girassol contendo 65% de ácido linoleico.
2. **Grupo ω -3** – Cápsulas de óleo de peixe contendo 60% de EPA e DHA (37% e 23%, respectivamente).

Destaca-se que o uso de suplementos encapsulados foi escolhido devido à facilidade no controle e individualização da intervenção ao longo do estudo. O fornecimento de alimentos fonte foi excluído, pois poderiam favorecer condutas como divisão do alimento em preparações familiares, difícil controle de consumo

individual (quantidade) e, ainda, o desenvolvimento de respostas que poderiam ser atribuídas ao alimento (efeito sinérgico de nutrientes e compostos bioativos) e não ao conteúdo do ácido graxo presente, dentre outros.

5.5 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo indivíduos de ambos os sexos, que apresentaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido devidamente preenchido e assinado, e com as seguintes características clínicas:

1. Indivíduos de ambos os sexos com idade de 30 a 74 anos;
2. Indivíduos com risco cardiovascular baixo, intermediário e alto estratificados, conforme classificação do Escore de Risco de Framingham (ERF), que calcula o risco absoluto de eventos cardiovasculares em 10 anos, segundo sexo, conforme atualização da *American Heart Association* (**Anexo 3**) (D'AGOSTINO et al., 2008; MOSCA et al., 2011).

5.6 Critérios de Não Inclusão

Os indivíduos que preencheram algum dos critérios abaixo não participaram do estudo:

1. Pacientes desnutridos;
2. Grávidas ou lactantes;
3. Indivíduos que participam de outros protocolos de intervenção;
4. Evento cardiovascular prévio. Esse critério foi avaliado por meio de história clínica e realização de eletrocardiograma (ECG);

5. Portadores de doenças agudas ou crônicas graves. Doenças agudas foram avaliadas por meio de avaliação clínica e as doenças graves por meio de avaliação clínica e pesquisa de prontuário sugestiva de sobrevida inferior a 6 meses;
6. Usuários de drogas ilícitas;
7. Alcoolistas;
8. Pessoas alérgicas ou intolerantes a algum componente da intervenção;
9. Pacientes com alterações psiquiátricas não controladas, que foram avaliadas por meio de avaliação clínica.

5.7 Avaliação Socioeconômica e Clínica

O perfil socioeconômico foi avaliado com questionário previamente estruturado (**Anexo 4**), e que abordou os itens sexo, idade, raça, renda familiar e número de indivíduos que moram na casa. A avaliação clínica foi constituída pelas informações sobre a história clínica atual, antecedentes familiares de doenças crônicas (pai e mãe), uso regular de medicamentos ou vitaminas, prática de atividade física (**Anexo 5**), além da aferição da pressão arterial sistêmica com esfigmomanômetro (**Anexo 6**), a qual foi realizada em duplicata no braço direito do paciente deitado após repouso de 5 minutos.

5.8 Avaliação Antropométrica

A avaliação dos parâmetros antropométricos foi feita por meio da coleta de massa corporal (kg), estatura (m), circunferência da cintura (cm) (**Anexo 7**) e dados de gordura corporal (**Anexos 6**).

A massa corporal foi determinada com os participantes utilizando o mínimo de roupas e descalços, com uma balança digital da marca Toledo, modelo 2096PP/2[®] (Toledo, São Paulo, Brasil) com limite de capacidade de 200,0 kg e precisão de 50,0 g. A medida da estatura foi determinada com o estadiômetro fixo Seca[®] (TBW, São Paulo, Brasil) com limite de 2,1 m e precisão de 1,0 mm, no qual os indivíduos estavam descalços, em posição ereta, com os pés paralelos, calcanhares, panturrilha, glúteos, ombros e cabeça encostados no estadiômetro e com a cabeça sob o plano horizontal de Frankfurt (LOHMAN et al., 1988). Esses dados foram utilizados para cálculo do índice de massa corporal (IMC), definido como a massa corporal em quilogramas pela estatura em metros quadrados (kg/m^2). O valor do IMC foi classificado de acordo com a OMS (2000) para os indivíduos adultos (sem distinção do grau de obesidade) e conforme proposto pela Organização Pan-Americana de Saúde (2001) para os indivíduos idosos. Ambos encontram-se descritos no **Quadro 2**.

QUADRO 2 – Valores de Referência para o Índice de Massa Corporal (IMC) em adultos e idosos.

Adultos (kg/m^2)	Idosos (kg/m^2)	Classificação
<18,5	$\leq 23,0$	Baixo peso
18,5-24,9	23,0-27,9	Eutrofia
25,0-29,9	28,0-29,9	Sobrepeso
$\geq 30,0$	$\geq 30,0$	Obesidade

Fonte: Organização Mundial da Saúde (OMS, 2000) e Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS, 2001).

Utilizando uma fita inelástica, flexível, com precisão 1,0 mm (TBW, São Paulo, Brasil), foi coletada a medida da circunferência da cintura (CC), adotando-se como referencial anatômico o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. O

indivíduo foi orientado a ficar em pé, mantendo os braços paralelos ao corpo e pés unidos e permanecer com o abdômen relaxado. Os valores de circunferência da cintura foram classificados considerando os valores propostos pela OMS (2000), conforme **Quadro 3**.

QUADRO 3 – Valores de Referência de Circunferência da Cintura (CC) para classificação de complicações metabólicas associadas à obesidade.

Risco	Circunferência da Cintura (cm)	
	Homens	Mulheres
Elevado	≥94	≥80
Muito elevado	≥102	≥88

Fonte: Organização Mundial da Saúde (OMS, 2000).

Para a realização da impedância bioelétrica (BIA), foi utilizado o aparelho *Bioelectrical Body Composition Analyzer*[®], modelo Quantum II (RJL Systems, Michigan, EUA), o qual é aplica uma corrente de 425 µA a uma frequência de 50 KHz. As medidas de impedância bioelétrica foram tomadas do lado direito do indivíduo, que foi orientado a manter-se deitado em posição supina, com os braços em ângulo de 30° em relação ao seu corpo e as pernas sem contato entre si. Calçados e meias foram retirados e durante o teste o indivíduo permaneceu imóvel. O equipamento apresentou os valores brutos de resistência (R) e reactância (Xc). O cálculo do percentual de gordura corporal foi realizado com auxílio do programa Cyprus[®] (RJL Systems, Michigan, EUA), onde foram considerados sexo, idade, peso, altura, resistência e reactância. Os valores normais de porcentagem de gordura corporal considerados foram de 15 a 25% para o sexo masculino e de 20 a 30% para o sexo feminino (ARMATRUDA, 2001).

5.8.1 Composição Corporal segundo vetores bioelétricos (BIVA)

A partir dos dados de resistência e reactância obtidos com a BIA, foi realizada a análise vetorial pelo gráfico RXc, onde as medidas de R e Xc foram padronizadas pela altura dos pacientes. Deste modo, as variáveis de impedância ajustadas pela altura foram comparadas entre os tempos T0 e T8, utilizando-se o teste Hotelling's T^2 pareado, sendo também desenhadas elipses com 95% de confiança para se verificar a mudança de estado entre os dois tempos. Os dados do momento basal de cada grupo foram comparados por meio do teste Hotelling's T^2 . Tais análises foram conduzidas com auxílio do programa *Bivaconfidente file* (BIVA[®]) (PICCOLI e PASTORI, 2002).

5.9 Avaliação do Consumo Alimentar

A avaliação do consumo alimentar foi realizada por meio da aplicação de dois Recordatórios alimentar de 24 horas (R24h) em cada momento da intervenção (**Anexo 8**). Os R24h foram aplicados em dias alternados (um dia durante a semana e um dia no final de semana), sendo um aplicado via telefone, para contemplar variações diárias inter- e intra- indivíduos e melhor descrever o hábito alimentar dos participantes.

Utilizou-se um formulário padrão para a aplicação dos 2 R24h, e o seu preenchimento foi baseado no método *multiple pass* (JOHNSON et al., 1996; GUENTHER et al., 1996). Este método consiste em três etapas: listagem rápida dos alimentos, descrição detalhada e revisão. Com base nessa técnica foi possível definir e quantificar todos os alimentos e as bebidas consumidos nas últimas 24 horas, em cada R24h.

A energia (Kcal) e os seguintes nutrientes foram calculados: carboidratos, lipídeos, proteínas, gorduras saturadas, mono e poli-insaturadas, ácidos oleico, linoleico, linolênico, palmítico e esteárico, colesterol, sódio, fibras totais, solúveis e insolúveis.

A energia e os nutrientes brutos foram analisados no Programa *The Food Processor* versão 10.11.0 (COX et al., 2012). Os recordatórios que apresentaram valores de ingestão energética menor que 500 ou superior a 5000 kcal/dia foram excluídos do estudo por falta de sensibilidade do método de inquérito nutricional ou por representarem valores de consumo considerados extraordinários.

A partir do nutriente na sua forma bruta, realizou-se o ajuste quanto à variabilidade intrapessoal. Nesse sentido, os resultados obtidos nos 2 R24h foram processados por meio do programa *The Multiple Source Method* versão 1.0.1 (DifE, Nuthetal, Alemanha), que corrige essa variabilidade.

Posteriormente, realizou-se o ajuste dos nutrientes pela energia. Nesse ajuste, o total de calorias ingeridas foi considerado variável independente e o valor absoluto do nutriente variável dependente em um modelo de regressão linear. Todos os nutrientes que apresentaram coeficiente de correlação (r) próximo de um e significância de $p < 0,05$ foram ajustados pelo método residual, proposto por WILLETT e STAMPFER (1998) e MACKERRAS (1996).

Portanto, os resultados finais referentes ao consumo alimentar apresentados estão sob a forma ajustada pela variabilidade intrapessoal e pela energia.

5.10 Avaliação da Adesão à Intervenção

A aderência de cada participante ao estudo foi avaliada por meio da contagem das cápsulas restantes em cada momento da intervenção, o que refletiu indiretamente o número de vezes que o paciente deixou de ingerir o suplemento; assim como por meio da análise do perfil de ácidos graxos no plasma do indivíduo.

5.11 Avaliação Bioquímica

5.11.1 Obtenção de sangue

Nos momentos basal e T=8, e após jejum de 12-15 horas, amostras de sangue foram coletadas (20 mL). O sangue foi coletado em tubos tipo *vacutainer* contendo ácido etileno-diaminotetraacético (EDTA) (1,0 mg/mL) (BD, Brasil), utilizado como anticoagulante e antioxidante (obtenção plasma) ou em tubos secos (obtenção soro) e foi mantido em gelo e protegido da luz até a separação do plasma e do soro. A estes (3000 rpm, 15 min, a 5°C) foram acrescentados os seguintes inibidores de proteases: aprotinina (10 µg/mL), benzamidina (10 µM) e fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) (5 µM), além do antioxidante 2,6-di-tert-butil-p-hidroxitolueno (BHT) (100 µM). Todas as amostras permaneceram armazenadas a -80°C até o momento das análises.

5.11.2 Determinação da concentração plasmática de glicose e insulina de jejum

A determinação da glicose plasmática foi realizada com kit comercial, enzimático e colorimétrico *Glicose PAP Liquiform*[®] (Labtest, Minas Gerais, Brasil) e a detecção da insulina plasmática por meio do kit comercial *Insulin Human Direct ELISA Kit*[®] (Life Technologies, Grand Island, NY, EUA).

A resistência à insulina foi calculada pelo índice HOMA-IR (*homeostasis model assessment – insulin resistance*), onde $HOMA-IR = [\text{concentração da insulina de jejum } (\mu\text{IU/mL}) \times \text{glicemia de jejum } (\text{mmol/L})] / 22,5$ (MATTHEWS et al., 1985). A resistência à insulina foi definida como $HOMA-IR > 4,65$ (STERN et al., 2005). Já a estimativa de sensibilidade à insulina (HOMA 2-%S) foi calculada com o auxílio do programa *HOMA calculator*, tendo como padrão a sensibilidade de 100% (The Oxford Centre for Diabetes, 2004).

5.11.3 Marcadores do metabolismo lipídico

Com a aplicação manual de reagentes enzimáticos, foram analisadas as concentrações no plasma de colesterol total (CT), triacilgliceróis (TG) e colesterol associado a lipoproteína de alta densidade (HDL-C) (Labtest, Minas Gerais, Brasil). O conteúdo de colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) foi determinado por meio da fórmula de Friedewald (1972), onde: $LDL-C = CT - HDL-C - TG/5$. Essa fórmula só foi aplicada para os indivíduos com $TG < 400,0 \text{ mg/dL}$.

As apolipoproteínas AI (Apo AI) e B (Apo B) foram determinadas por meio de kits comerciais, utilizando o Autokit APO A1 e APO B[®] (Wako Chemicals EUA Inc., Richmond, VA, EUA).

5.11.4 Análise de Ácidos Graxos no Plasma

Visando avaliar a aderência dos indivíduos ao protocolo de intervenção, foi determinado o perfil de ácidos graxos no plasma. Inicialmente, os lipídios foram extraídos utilizando o método de Bligh & Dyer (BLIGH e DYER, 1959), utilizando-se 100µL de plasma, 50µL de hidróxido de sódio (NaOH) 10M, 50µL de ácido heptadecanoico (padrão interno), 350µL de etanol (ETOH) com antioxidante BHT – a 150µM para evitar oxidações dos lipídeos durante o procedimento – e 50µL de H₂O com 100 µM de Ácido dietileno triamino pentacético (DTPA). Esta mistura ficou em repouso por 90 minutos em ambiente escuro e após este período, os ácidos graxos livres foram extraídos utilizando-se 2mL de acetato de etila com BHT e hexano (1:9) e 1ml de NaCl 1% com 100 µM de DTPA. Após esta etapa, as amostras foram vortexadas por 2 minutos e ficaram em gelo comum por 5 minutos. Retirou-se o sobrenadante somente com lipídeos. A quantificação dos ácidos graxos foi realizada utilizando o probe fluorescente 9-antrildiazometano (ADAM) (NIMURA e KINOSHITA, 1980). Os lipídios extraídos foram secos sob fluxo de nitrogênio. A partir das amostras secas e hidrolisadas, foi realizada a reação de derivatização. Os lipídios ficaram resuspendidos em 50µL de acetato de etila e derivatizados com 50µL de ADAM (0,25 mg/mL) em temperatura ambiente e escuro e mantidos por 30 minutos em gelo comum. Os ácidos graxos derivatizados foram analisados por Cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) utilizando uma coluna Kinetex C18 (50x3,0mm com 2,6µm de tamanho de partícula) e pré-coluna de C18. Para cada

corrida de amostras do plasma no HPLC, correu também uma amostra de branco apenas com padrão interno (ácido heptadecanoico), uma amostra de ADAM puro e uma amostra de padrão externo (mix de ácidos graxos separados – EPA, DHA, araquidônico, palmitoleico, palmítico, linoleico, linolênico, esteárico) para determinar o tempo de retenção dos ácidos graxos em cada corrida e proceder a integração dos mesmos de acordo com este tempo. Para a separação dos ácidos graxos, utilizou-se um gradiente de acetonitrila (ACN) e H₂O, partindo de um gradiente de 79% de ACN, chegando a 93%, com fluxo de 1,45mL/min e 12 minutos para cada análise. A fluorescência foi monitorada em 350nm e analisada sua emissão em 450nm. Após integração dos picos obtidos em cada corrida, foi calculada o percentual de área de cada pico e o número absoluto de $\mu\text{M/mL}$ plasma.

As cápsulas de ω -3 e ω -6, após finalização da coleta de dados, também foram analisadas em HPLC para certificação do conteúdo das mesmas (**Figura 5**).

FIGURA 5 - Análise do conteúdo de ácidos graxos das cápsulas e padrões externos.

A – Cápsula ω -3. B – Cápsula ω -6. C – Padrões externos.

5.12 Análises Estatísticas

Todas as análises foram conduzidas em duplicata e foram apresentadas sob a forma de tabelas e gráficos. Para as variáveis qualitativas utilizou-se o teste χ^2 e apresentado no formato de porcentagem. Para a apresentação dos dados quantitativos, assim como para a determinação dos testes que foram utilizados, considerou-se o tipo de distribuição dessas variáveis (teste *Kolmogorov-Smirnov*; $p > 0,05$). As variáveis com distribuição normal foram apresentadas sob a forma de média e desvio padrão, bem como, realizados testes *t-Student* ou *t-Student* para amostras dependentes. Para as demais variáveis, a apresentação foi por mediana (p50) e intervalos interquartis (p25 e p75) e utilização de testes não paramétricos como *Mann-Whitney* e *Wilcoxon*. Todos os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*® (SPSS), versão 20.0 (SPSS Incorporation, 2010). O valor de significância considerado foi de $p < 0,05$.

5.13 Aspectos Éticos

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública (COEP/FSP) (**Anexo 9**) e do Hospital Universitário da USP (CEP-HU/USP) (**Anexo 10**).

6. RESULTADOS

6.1 Caracterização da amostra e perfil clínico

A população do presente estudo foi composta predominantemente pela população feminina, sendo a média de idade de 51 anos em ambas as intervenções. A maioria se classificou como pertencente a raça branca. Constatou-se maior prevalência de indivíduos com ensino médio completo, seguido por indivíduos com ensino superior completo. A renda familiar esteve entre 1 e 5 salários mínimos (SM) em 34,9% dos pacientes do grupo ω -6 e 38,6% dos pacientes do grupo ω -3.

TABELA 1 – Caracterização da população do estudo, segundo tipo de intervenção.

		ω -6 (n=86)		ω -3 (n=88)		<i>p</i>	
Variáveis		n	%	n	%		
<i>Idade, anos</i>		51 (10,7)		51 (9,8)		0,669	
<i>Sexo</i>						0,369	
	Masculino	37	43,0	32	36,4	0,730	
	Feminino	49	57,0	56	63,6		
<i>Raça</i>							0,730
	Branco	57	66,3	62	70,5		
	Negro	9	10,5	9	10,2		
	Pardo	19	22,1	17	19,3		
	Amarelo	1	1,2	0	0,0	0,929	
<i>Escolaridade</i>							
	Fundamental Incompleto	14	16,3	13	14,8		
	Fundamental Completo	2	2,3	5	5,7		
	Médio Incompleto	2	2,3	1	1,1		
	Médio Completo	28	32,6	26	29,5		
	Superior Incompleto	8	9,3	8	9,1		
	Superior Completo	21	24,4	22	25,0		
	Pós-graduação	11	12,8	13	14,8	0,934	
<i>Renda familiar</i>							
	< 1 SM	1	1,2	1	1,1		
	1 ≤ 5 SM	30	34,9	34	38,6		
	6 ≤ 10 SM	29	33,7	30	34,1		
	> 10 SM	26	30,2	23	26,1		

Variáveis qualitativas analisadas pelo teste χ^2 ou teste Exato de Fisher. Variável quantitativa analisada pelo teste *t-Student*.

SM – salário mínimo

Resultados expressos em número e porcentagem, idade média em anos e desvio padrão.

Nível de significância $p < 0,05$.

A descrição do perfil clínico dos pacientes, bem como os medicamentos utilizados por esta população, está demonstrada na **Tabela 2**. Nos dois grupos, o tabagismo esteve presente em pequena parcela da população. Mais de 80% dos indivíduos em ambos os grupos apresentavam doenças prévias, tais como hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemias (DLP) e diabetes *mellitus* (DM). Em concordância com a alta prevalência de doenças, mais de 70% dos indivíduos faziam uso de algum tipo medicamento, sem diferenças entre os grupos ω -6 e ω -3.

Quanto ao histórico familiar de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), 95,3% do grupo ω -6 e 90,9% do grupo ω -3 apresentaram pelo menos um antecedente paterno e/ou materno.

TABELA 2 – Perfil clínico, uso de medicamentos da população e antecedentes familiares, segundo tipo de intervenção.

		ω-6 (n=86)		ω-3 (n=88)		p
Variáveis		n	%	n	%	
<i>Tabagismo</i>						
	Sim	16	18,6	17	19,3	0,889
	Não	47	54,7	45	51,1	
	Ex-tabagista	23	26,7	26	29,5	
<i>Doenças atuais</i>		74	86,0	75	85,2	0,878
	Diabetes <i>mellitus</i>	18	20,9	15	17,0	0,525
	Hipertensão Arterial	51	59,3	48	54,5	0,525
	Hipotireoidismo	8	9,3	9	10,2	0,819
	Doença hepática	3	3,5	1	1,1	0,367
	Insuficiência renal crônica	1	1,2	0	0,0	0,497
	Dislipidemias	46	53,5	46	52,3	0,548
	Doença Auto-Imune	1	1,2	2	2,3	1,000
<i>Medicamentos</i>		65	75,6	65	73,9	0,794
	Estatinas	20	23,3	18	20,5	0,700
	Anti-hipertensivos	48	55,8	42	47,7	0,254
	Hipoglicemiantes	18	20,9	15	17,0	0,545
	Suplemento vitamínico	7	8,1	3	3,4	0,188
	Fibratos	2	2,3	2	2,3	1,000
	Ansiolíticos	3	3,5	5	5,7	0,718
	Hormônios tireoidianos	8	9,3	8	9,1	1,000
<i>Antecedentes familiares</i>		82	95,3	80	90,9	0,248
	Obesidade	19	22,1	17	19,3	0,651
	Hipertensão Arterial	60	69,8	58	65,9	0,586
	Infarto agudo do miocárdio	25	29,1	29	33,0	0,580
	Acidente vascular cerebral	14	16,3	16	18,2	0,740
	Diabetes <i>mellitus</i>	37	43,0	33	37,5	0,458
	Doença vascular periférica	9	10,5	8	9,1	0,760

Variáveis qualitativas analisadas pelo teste χ^2 ou teste Exato de Fisher.

Resultados expressos em número e porcentagem.

Nível de significância $p < 0,05$.

6.2 Avaliação da adesão à intervenção

Na **Tabela 3**, encontra-se a avaliação da adesão à intervenção por meio da análise de ácidos graxos no plasma. Nota-se, em ambos os grupos, diminuição significativa, em relação ao momento basal (T=0), do percentual do ácido graxo araquidônico + palmitoleico, com concomitante aumento dos ácidos graxos linoleico, linolênico e esteárico. O grupo suplementado com ω -3 também apresentou aumento do percentual do ácido graxo docosahexaenoico (DHA) e do ácido graxo palmítico. Já no grupo suplementado com ω -6, nota-se aumento do percentual do ácido graxo eicosapentaenoico (EPA).

TABELA 3 – Perfil de ácidos graxos no plasma, segundo tempo e tipo de intervenção.

Variáveis	ω -6 (n=63)			ω -3 (n=68)		
	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
ARAPAL, %	19,1 (4,5)	17,4 (3,6)	0,009	19,8 (6,0)	16,3 (3,1)	0,000
DHA, %	5,8 (2,4)	5,6 (1,8)	0,431	6,3 (2,7)	10,8 (3,0)	0,000
EPA, %	2,4 (0,1 - 6,3)	5,0 (2,5 - 7,0)	0,026	2,2 (0,0 - 6,4)	3,3 (1,2 - 5,7)	0,173
EPA+DHA, %	9,6 (5,1)	10,4 (4,3)	0,133	9,8 (4,9)	14,6 (4,7)	0,000
Linoleico, %	31,2 (7,4)	28,5 (5,7)	0,003	31,4 (7,8)	27,8 (5,8)	0,000
Linolênico, %	1,2 (0,0 - 1,6)	1,9 (1,3 - 2,4)	0,000	1,1 (0,0 - 1,5)	1,4 (1,1 - 2,2)	0,000
Oleico, %	28,6 (5,0)	29,1 (4,5)	0,176	28,7 (6,5)	28,2 (5,1)	0,170
Palmítico, %	5,3 (3,6 - 8,3)	6,9 (5,0 - 8,8)	0,329	5,0 (3,2 - 8,2)	6,5 (4,5 - 9,4)	0,045
Esteárico, %	3,0 (2,1 - 5,1)	4,2 (3,2 - 6,1)	0,016	2,5 (1,5 - 4,6)	4,2 (2,3 - 6,0)	0,005

Variáveis não paramétricas expressas em mediana e interquartil (p25 e p75) e variáveis paramétricas expressas em média e desvio padrão.

Diferença estatística por Wilcoxon e teste t-Student pareado para variáveis não paramétricas e variáveis paramétricas, respectivamente.

ARAPAL – ácido araquidônico + ácido palmitoleico, EPA – eicosapentaenoico, DHA – docosahexaenoico.

De maneira similar, a variação no percentual (T=8 – T=0) de DHA e da somatória EPA + DHA também apresentou diferenças significativas do grupo ω -3 em relação ao grupo ω -6 (**Figura 6**), demonstrando a boa adesão ao tratamento proposto neste protocolo de pesquisa. O percentual de cápsulas consumidas (acima de 90% nos dois grupos) também reflete boa adesão à intervenção.

FIGURA 6 – Variação do percentual de ácidos graxos no plasma, segundo intervenção.

Diferença estatística por Man-Whitney ou teste t-Student, conforme a distribuição da variável.

ARAPAL – ácido araquidônico + ácido palmitoleico, EPA – eicosapentaenoico, DHA – docosahexaenoico.

* $p < 0,05$ vs ω -6.

6.3 Avaliação da atividade física e do consumo alimentar

Os resultados da aplicação do questionário de Baecke encontram-se na **Tabela 4**. Nota-se que, apesar das diferenças encontradas nos itens de atividade física ocupacional (AFO), exercícios físico de lazer (EFL) e de locomoção (ALL), a pontuação total dos dois grupo nos 2 tempos não apresentou diferenças com significância em função do tempo e da intervenção, chegando-se a conclusão que esta é a uma variável que pouco interferiu nos resultados encontrados.

TABELA 4 - Resultados de atividade física ocupacional, de lazer e de locomoção da população, segundo tempo e tipo de intervenção.

Variáveis	ω-6 (n=86)			ω-3 (n=88)		
	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
AFO	2,4 (0,6)	2,3 (0,6)	0,035	2,5 (0,6)	2,4 (0,5)	0,010
EFL	2,3 (1,5 - 2,8)	2,0 (1,5 - 2,5)	0,011	2,0 (1,5 - 2,8)	2,0 (1,5 - 2,6)	0,007
ALL	2,3 (1,8 - 2,8)	2,3 (2,0 - 2,8)	0,002	2,3 (2,0 - 2,9)	2,5 (2,0 - 2,5)	0,261
TOTAL	6,9 (1,3)	6,8 (1,2)	0,416	7,1 (1,4)	6,9 (1,3)	0,117

Variáveis não paramétricas expressas em mediana e interquartil (p25 e p75) e variáveis paramétricas expressas em média e desvio padrão.

Diferença estatística por Wilcoxon para variáveis não paramétricas e para as variáveis paramétricas o teste t-Student pareado.

AFO – Atividade física ocupacional, EFL – Exercício físico no lazer, ALL – Atividade física de lazer e locomoção.

A **Tabela 5** mostra os valores do consumo de calorias, macronutrientes, ácidos graxos, sódio e fibras, caracterizando o consumo alimentar da população no momento inicial e ao final do estudo, com a finalidade de controlar possíveis mudanças na dieta que poderiam interferir nos desfechos estudados.

No grupo ω-6, embora os indivíduos participantes do estudo tenham sido orientados a manter seus hábitos alimentares, observou-se redução significativa no consumo de lipídios totais, ácidos graxos saturados e poli-insaturados, ômega-6, sódio e de fibras solúveis e insolúveis. Também foi observado aumento no consumo

de DHA. Destaca-se que a redução no consumo de alguns nutrientes foi compatível com o menor percentual do ácido linoleico observado no plasma dos indivíduos.

No grupo ω -3, constata-se diminuição no consumo de carboidratos, ômega-6, fibras totais, solúveis e insolúveis, com concomitante aumento do consumo de EPA e DHA. Na análise de biomarcadores de ácidos graxos no plasma observou-se perfil semelhante quanto ao aumento da biodisponibilidade de DHA, EPA+DHA e ácido graxo linolênico. Isso se deve também ao impacto da intervenção na dieta, visto que a suplementação de ω -3 rica em EPA e DHA aumentou a ingestão destes nutrientes em 1386%.

Para os demais nutrientes, não foram observadas mudanças no padrão alimentar. O consumo energético permaneceu sem alterações ao longo do estudo, inclusive quando analisado segundo sexo.

TABELA 5 – Avaliação do consumo alimentar, segundo tempo e intervenção.

Variáveis	ω-6 (n=86)			ω-3 (n=88)		
	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
Energia (kcal)	1647,5 (394,8)	1459,4 (417,1)	0,073	1649,5 (469,0)	1513,1 (414,7)	0,294
Proteínas (g)	74,0 (13,5)	72,2 (13,9)	0,542	71,6 (14,9)	71,5 (14,1)	0,803
Carboidratos (g)	220,5 (32,1)	215,1 (32,2)	0,095	221,1 (27,7)	207,0 (32,0)	<0,001
Fibras totais (g)	15,8 (3,8)	15,1 (3,8)	0,090	15,7 (4,4)	14,1 (3,8)	0,004
Fibras solúveis (g)	1,6 (0,7)	0,8 (0,6)	<0,001	1,6 (0,8)	0,8 (0,6)	<0,001
Fibras insolúveis (g)	4,5 (2,2)	3,9 (1,3)	0,007	4,5 (2,4)	3,7 (1,4)	0,015
Lipídios (g)	53,2 (10,8)	51,0 (9,8)	0,049	53,9 (11,5)	53,3 (8,9)	0,630
Ác. graxo saturados (g)	16,6 (15,2 - 19,9)	16,2 (13,6 - 18,1)	0,003	18,0 (14,4 - 21,1)	16,2 (14,0 - 19,2)	0,127
Ác. graxo monoinsaturados (g)	12,4 (4,7)	13,2 (2,9)	0,756	13,3 (4,3)	14,2 (3,2)	0,491
Ác. graxo poli-insaturados (g)	6,1 (2,1)	5,7 (1,5)	0,029	5,9 (2,0)	5,9 (1,5)	0,908
Ác. graxo trans (g)	1,4 (0,6)	1,1 (1,1)	0,966	1,4 (0,5)	1,4 (0,9)	0,902
Ác. palmítico (g)	5,6 (2,1)	5,7 (2,1)	0,967	6,1 (2,1)	6,0 (1,7)	0,912
Ác. esteárico (g)	2,5 (1,0)	2,6 (0,8)	0,932	2,8 (1,1)	2,8 (0,9)	0,948
Ác. oleico (g)	8,9 (3,3)	9,4 (2,4)	0,358	9,3 (3,4)	9,7 (2,5)	0,425
Ác. linoleico (g)	4,1 (1,7)	4,1 (1,2)	0,928	3,7 (1,6)	4,1 (1,1)	0,510
Ác. linolênico (g)	0,5 (0,2)	0,5 (0,2)	0,377	0,4 (0,2)	0,5 (0,2)	0,683
Ác. graxo ômega-3 (g)	0,5 (0,4 - 0,7)	0,6 (0,5 - 0,6)	0,110	0,5 (0,4 - 0,7)	0,6 (0,5 - 0,8)	0,264
Ác. graxo ômega- 6 (g)	4,0 (1,7)	3,2 (0,9)	<0,001	4,0 (1,5)	3,3 (0,9)	0,005
ω-6:ω-3	7,2 (1,9)	5,8 (1,2)	<0,001	7,2 (2,4)	5,6 (1,3)	<0,001
EPA (mg)	20,0 (10,0 - 40,0)	30,0 (15,0 - 45,0)	0,219	20,0 (10,0 - 40,0)	30,0 (20,0 - 52,5)	0,049
DHA (mg)	50,0 (25,0 - 90,0)	90,0 (50,0 - 155,0)	0,002	60,0 (25,0 - 110,0)	110,0 (67,5 - 222,5)	0,003
EPA + DHA (mg)	70,0 (50,0 - 110,0)	110,0 (80,0 - 195,0)	0,004	80 (40,0 - 140,0)	140,0 (90,0 - 300,0)	0,006
EPA + DHA + suplemento (mg)	70,0 (50,0 - 110,0)	110,0 (80,0 - 195,0)	0,004	80 (40,0 - 140,0)	1940,0 (1890,0 - 2100,0)	<0,001
Colesterol (mg)	203,2 (154,3 - 250,4)	205,0 (175,8 - 243,2)	0,702	195,7 (161,1 - 230,6)	215,0 (186,4 - 238,4)	0,333
Sódio (mg)	2301,6 (552,1)	2183,4 (379,8)	0,039	2193,0 (501,9)	2080,0 (445,4)	0,197

Variáveis não paramétricas expressas em mediana e interquartil (p25 e p75) e variáveis paramétricas expressas em média e desvio padrão.

Diferença estatística por Wilcoxon para variáveis não paramétricas e para as variáveis paramétricas o teste t-Student pareado.

Kcal – calorias, mg – miligramas, g – gramas, ác. – ácidos, EPA – eicosapentaenoico, DHA – docosahexaenoico

6.4 Perfil bioquímico e pressão arterial sistêmica

O perfil bioquímico e os valores de pressão arterial sistólica e diastólica, segundo tempo e intervenção encontram-se descritos na **Tabela 6**. Nota-se que em ambos os grupos, após as 8 semanas, houve diminuição significativa dos valores de pressão arterial sistêmica (PAS) e diastólica (PAD), do colesterol total (CT), do colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e dos valores de triacilgliceróis (TG). Nota-se também aumento significativo dos valores de colesterol associado à lipoproteína de alta densidade (HDL-C). Não foram encontradas diferenças em relação ao efeito da intervenção (**Figura 7**). Ressalta-se que os grupos não se diferiam no momento basal.

TABELA 6 – Valores de pressão arterial e do perfil bioquímico da população, segundo tempo e tipo de intervenção.

Variáveis	Ω-6 (n=86)			Ω-3 (n=88)		
	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
PAS (<i>mmHg</i>)	135 (19)	131 (17)	0,019	133 (19)	129 (18)	<0,001
PAD (<i>mmHg</i>)	82 (10)	78 (9)	0,001	82 (11)	78 (10)	<0,001
CT (<i>mg/dL</i>)	199 (45)	187 (47)	0,001	205 (38)	187 (38)	<0,001
HDL-C (<i>mg/dL</i>)	35 (9)	40 (11)	<0,001	38 (11)	41 (11)	<0,001
LDL-C (<i>mg/dL</i>)	132 (40)	121 (44)	<0,001	140 (37)	124 (36)	<0,001
TG (<i>mg/dL</i>)	138 (101 - 189)	104 (86 - 159)	<0,001	122 (93,0 - 171)	94 (69 - 126)	<0,001
Apo AI (<i>mg/dL</i>)	127 (26)	130 (22)	0,060	132 (27)	135 (33)	0,226
Apo B (<i>mg/dL</i>)	103 (25)	106 (27)	0,287	104 (24)	107 (27)	0,188

Variáveis não paramétricas expressas em mediana e interquartil (p25 e p75) e variáveis paramétricas expressas em média e desvio padrão.

Diferença estatística por Wilcoxon e teste t-Student pareado para variáveis não paramétricas e variáveis paramétricas respectivamente.

PAS – Pressão arterial sistólica, PAD – Pressão arterial diastólica, CT – colesterol total, HDL-C – colesterol associado à lipoproteína de alta densidade, LDL-C – colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade, TG – triacilgliceróis, Apo AI – Apolipoproteína AI, Apo B – Apolipoproteína B.

FIGURA 7 – Variação dos valores de pressão arterial e perfil bioquímico da população, segundo intervenção.

Diferença estatística pelos teste t-Student ou Man-Whitney conforme distribuição da variável.
Nível de significância $p < 0,05$.

Além disso, quando realizada a análise das relações entre as variáveis do perfil lipídico (TG/HDL-C, CT/HDL-C, LDL-C/HDL-C, não-HDL-C), foram observadas reduções significativas destas variáveis em função do tempo, tanto no grupo ω -3, como no grupo ω -6, porém, sem diferenças em função da intervenção.

6.5 Escore de Risco de Framingham

Na **Tabela 7**, estão descritas as prevalências dos diferentes estratos de risco cardiovascular, segundo Escore de Risco Framingham (ERF). No momento basal, os grupos não diferiam em relação à proporção de indivíduos classificados com baixo, intermediário e alto risco cardiovascular. ($p=0,993$). Após 8 semanas de intervenção, nota-se mudança da proporção de indivíduos com alto risco cardiovascular, com

aumento da proporção do risco intermediário e baixo. Porém, tais mudanças não foram significativas.

Tais mudanças provavelmente estão relacionadas à redução encontrada nos valores de CT e aumento nos valores de HDL-C, visto que essas são variáveis que perfazem o cálculo do ERF.

TABELA 7 – Estratificação do Escore de Risco de Framingham, segundo tempo e tipo de intervenção.

	ω-6 (n=86)			ω-3 (n=88)		
	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
Baixo	23,3	25,7	ref	23,9	29,9	ref
Intermediário	30,2	37,1 ^a	0,125	29,5	32,5 ^a	0,508
Alto	46,5	37,1 ^a	1,000	46,6	37,7 ^a	1,000

Variável qualitativa analisada pelo teste Mc Nemar.

Resultados expressos porcentagem.

^a *versus* grupo de baixo risco cardiovascular

Intermediário *versus* Alto – ω-6: p=0,109; ω-3: p=0,109

6.6 Glicemia, Insulina, HOMA-IR e HOMA 2-%S

As variáveis relacionadas à homeostase glicêmica encontram-se descritas na **Tabela 8**. O efeito do tempo foi benéfico no grupo ω-6, onde observou-se redução significativa dos valores da glicemia de jejum. Para as variáveis insulina, HOMA-IR e HOMA 2-%S não foram observadas mudanças após 8 semanas de intervenção.

TABELA 8 – Valores de glicemia, insulina, HOMA-IR e HOMA 2-%S da população, segundo tempo e tipo de intervenção.

Variáveis	ω-6 (n=86)			ω-3 (n=88)		
	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
Glicemia (mg/dL)	97,0 (91,0 - 107,3)	95,0 (89,8 - 105,0)	0,048	97,0 (89,3 - 108,0)	96,0 (89,0 - 103,5)	0,558
Insulina (μIU/ml) [†]	16,3 (13,8 - 19,6)	16,5 (12,6 - 20,6)	0,843	17,0 (12,3 - 22,7)	15,2 (13,0 - 23,0)	0,960
HOMA-IR [†]	3,9 (3,2 - 5,5)	3,9 (2,9 - 5,5)	0,979	4,0 (2,9 - 6,1)	3,8 (3,1 - 5,6)	0,992
HOMA 2-%S [†]	49,1 (16,9)	49,4 (18,2)	0,852	47,7 (17,5)	48,1 (16,4)	0,918

Variáveis não paramétricas expressas em mediana e interquartil (p25 e p75) e variáveis paramétricas expressas em média e desvio padrão.

Diferença estatística por Wilcoxon e teste t-Student pareado para variáveis não paramétricas e variáveis paramétricas respectivamente.

[†] Ω-6 n=56, Ω-3 n=65

Contudo, a análise da variação do valores (T=8 – T=0) das quatro variáveis estudadas demonstrou que não houve diferenças significativas em função da intervenção (ω-6 *versus* ω-3). Os grupos não se diferiam no momento basal.

Após a estratificação da população segundo a classificação pelo ERF do momento basal (**Tabela 9**), nota-se que a redução da glicemia encontrada no grupo suplementado com ω-6 ocorreu principalmente nos indivíduos com risco cardiovascular intermediário. Quando se avaliou o grupo ω-3, observou-se redução significativa na concentração de insulina plasmática e do índice HOMA-IR nos indivíduos com risco cardiovascular intermediário.

TABELA 9 - Valores de glicêmico, insulina, HOMA-IR e HOMA2-%S da população, segundo tempo, tipo de intervenção e escore de risco de Framingham.

Variáveis	ω-6			ω-3		
	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
Baixo Risco Cardiovascular						
Glicemia (mg/dL)	93,5 (86,5 - 108,8)	92,0 (87,8 - 96,5)	0,929	92,0 (86,5 - 98,5)	92,0 (89,0 - 97,8)	0,952
Insulina (μIU/ml)	14,2 (11,8 - 17,4)	14,1 (11,2 - 19,8)	0,753	14,8 (11,4 - 23,6)	14,8 (12,6 - 24,1)	0,469
HOMA-IR	3,4 (2,4 - 4,4)	3,4 (2,4 - 4,7)	0,650	3,7 (2,5 - 5,8)	3,6 (2,8 - 5,4)	0,478
HOMA 2-%S	53,7 (16,4)	54,3 (19,8)	0,878	49,7 (18,7)	48,4 (16,3)	0,804
Intermediário Risco Cardiovascular						
Glicemia (mg/dL)	97,0 (90,8 - 107,3)	95,0 (86,5 - 102,8)	0,049	97,5 (89,0 - 111,3)	96,0 (86,5 - 103,8)	0,134
Insulina (μIU/ml)	15,2 (13,3 - 18,2)	15,4 (12,7 - 19,4)	0,322	18,2 (12,6 - 25,1)	15,2 (12,6 - 21,7)	0,049
HOMA-IR	3,6 (3,1 - 4,7)	3,6 (2,6 - 4,8)	0,548	5,0 (3,0 - 7,1)	3,8 (3,4 - 5,5)	0,049
HOMA 2-%S	52,9 (15,8)	51,0 (18,3)	0,496	43,8 (15,6)	47,5 (12,9)	0,265
Alto Risco Cardiovascular						
Glicemia (mg/dL)	98,5 (91,3 - 123,3)	96,5 (93,0 - 116,3)	0,332	102,0 (92,0 - 111,5)	98,0 (91,0 - 105,0)	0,718
Insulina (μIU/ml)	18,8 (15,9 - 22,6)	17,9 (13,4 - 23,3)	0,355	16,9 (11,9 - 21,4)	17,1 (13,1 - 23,5)	0,393
HOMA-IR	4,9 (3,7 - 6,9)	4,4 (3,4 - 7,3)	0,458	4,0 (3,3 - 5,9)	3,9 (3,1 - 6,1)	0,275
HOMA 2-%S	42,9 (16,9)	45,2 (16,9)	0,356	48,8 (17,9)	48,3 (18,8)	0,772

Variáveis não paramétricas expressas em mediana e interquartil (p25 e p75)
Diferença estatística por Wilcoxon.

O efeito da intervenção foi evidenciado no grupo ω-3 com risco cardiovascular intermediário, cujas reduções nos valores de insulina (p=0,031) e HOMA-IR (p=0,036) foram superiores as observadas no grupo ω-6. As demais variáveis não apresentaram alterações em função do risco cardiovascular (**Figura 8**).

Destaca-se que os grupos com o mesmo nível de risco cardiovascular não se diferiam no momento basal.

FIGURA 8 – Variação nos valores de glicemia, insulina, HOMA-IR e HOMA 2-%S segundo tipo de intervenção e escore de risco de Framingham

Diferença estatística por Man-Whitney.
*p<0,05 vs w-6

Não foram encontradas mudanças na proporção de indivíduos com valores de glicemia, insulina e HOMA-IR alterados (**Tabela 10**), mesmo quando conduzida a análise segundo o ERF desta população.

TABELA 10 – Classificação dos valores de glicemia, insulina e HOMA-IR, segundo tempo e tipo de intervenção.

ω -6 (n=86)				ω -3 (n=88)		
Variáveis	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
<i>Glicemia</i>						
Normal	59,3	67,1	0,180	60,2	67,5	0,607
Alterado	40,7	32,9		39,8	32,5	
<i>Insulina</i>						
Normal	91,5	84,7	0,289	81,5	84,1	0,754
Alterado	8,5	15,3		18,5	15,9	
<i>HOMA-IR</i>						
Normal	62,7	69,5	0,219	58,5	63,5	0,581
Alterado	37,3	30,5		41,5	36,5	

Variável qualitativa analisada pelo teste Mc Nemar.
Resultados expressos em percentual.

6.7 Composição Corporal

Na **Tabela 11**, encontram-se descritos os resultados obtidos para as variáveis relacionadas à antropometria e composição corporal. Após 8 semanas de intervenção, os indivíduos suplementados com ω -6 não apresentaram nenhuma alteração significativa nos parâmetros de peso, circunferência da cintura (CC) e percentual de massa gorda (%MG), independente do sexo. Em relação aos IMC, constata-se que a população do sexo feminino apresentou pequeno aumento, porém significativo, desta variável.

Já os indivíduos suplementados com ω -3 apresentaram discreto aumento de peso e do IMC – resultado este encontrado apenas entre os indivíduos do sexo masculino. Em relação à CC e ao %MG, as mudanças encontradas no grupo ω -3 ocorreram apenas no sexo feminino, onde houve aumento da CC e redução do %MG.

TABELA 11 – Valores de peso, índice de Massa Corporal, Circunferência da Cintura e percentual de massa gorda, segundo sexo, tempo e tipo de intervenção.

Variáveis	ω-6 (n=86)			ω-3 (n=88)		
	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
Peso ♂ (kg)	94,0 (19,1)	93,5 (18,0)	0,530	91,9 (16,1)	92,4 (17,6)	0,024
Peso ♀ (kg)	76,8 (16,7)	76,8 (16,6)	0,152	77,6 (17,4)	77,6 (17,6)	0,217
IMC ♂ (kg/m ²)	31,3 (5,7)	31,1 (5,1)	0,926	30,6 (5,1)	30,9 (5,6)	0,004
IMC ♀ (kg/m ²)	31,5 (5,9)	31,6 (6,0)	0,027	31,1 (6,7)	31,0 (6,7)	0,077
CC ♂ (cm)	105,3 (13,1)	106,1 (12,2)	0,119	106,2 (12,4)	105,2 (12,1)	0,562
CC ♀ (cm)	100,5 (14,3)	101,3 (14,2)	0,762	97,5 (12,7)	98,5 (13,0)	0,047
MG ♂ (%)	23,9 (4,5)	23,9 (4,2)	0,870	23,8 (4,1)	23,6 (4,6)	0,975
MG ♀ (%)	44,2 (7,8)	44,1 (7,9)	0,244	43,9 (8,1)	43,3 (7,7)	0,044

Variáveis paramétricas expressas em média e desvio padrão.

Diferença estatística por teste t-Student pareado.

IMC – Índice de Massa Corporal, CC – Circunferência da Cintura, %MG – percentual de massa gorda, ♂ - sexo masculino, ♀ - sexo feminino.

Em concordância, o efeito da intervenção ω-6 *versus* ω-3 (**Figura 9**), também foi demonstrado pela variação dos valores de %MG na população total e no sexo feminino, onde o grupo suplementado com ω-3 apresentou redução do %MG, enquanto o grupo ω-6 apresentou aumento de %MG, sendo esta diferença significativa.

FIGURA 9 – Variação dos valores de peso, índice de massa corporal, circunferência da cintura e percentual de gordura corporal, segundo sexo e intervenção.

Diferença estatística por teste t-Student.

IMC – Índice de Massa Corporal, CC – Circunferência da Cintura, %MG – percentual de massa gorda.

* $p < 0,05$ vs $\omega-6$.

Na análise destas mesmas variáveis, porém na população estratificada pelo ERF, observa-se que o grupo de alto risco cardiovascular, que recebeu suplementação de $\omega-3$ apresentou redução do percentual de gordura corporal após as 8 semanas de estudo (-0,82%), enquanto os indivíduos que receberam $\omega-6$ apresentaram aumento médio de 0,16%, diferença esta significativa ($p=0,021$). Os demais grupos não apresentaram alterações significativas.

Em relação as suas classificações, nota-se que inicialmente, independente da intervenção recebida, a população do estudo era composta por mais de dois terços de indivíduos com excesso de peso, alto percentual de gordura corporal e circunferência

da cintura elevada. Estas proporções não diminuíram após a intervenção (**Tabela 12**).

Resultados similares foram vistos quando estratificada a população pelo ERF.

TABELA 12 – Valores alterados do Índice de Massa Corporal, percentual de Gordura Corporal e Circunferência da Cintura da população de estudo, segundo tempo e intervenção.

	ω-6 (n=86)			ω-3 (n=88)		
Variáveis	T=0	T=8	p	T=0	T=8	p
<i>Índice de Massa Corporal</i>						
Eutrofia	19,8	17,1	0,500	17,0	15,4	0,625
Excesso de peso	80,2	82,9		83,0	84,6	
<i>% Gordura Corporal</i>						
Normal	26,7	26,1	1,000	29,1	26,3	1,000
Elevada	72,6	73,9		70,9	73,7	
<i>Circunferência da Cintura</i>						
Normal	11,5	10,9	1,000	13,4	11,8	1,000
Elevada	88,5	89,1		86,6	88,2	

Variável qualitativa analisada pelo teste Mc Nemar.
Resultados expressos porcentagem.

6.7.1 Composição Corporal segundo vetores bioelétricos (BIVA)

Na **Figura 10** as variáveis da impedância bioelétrica estão demonstradas em elipses de 95% de confiança depois de ajustadas pela altura. Pode-se observar que no tempo basal (**Figura 10 – 1A, 2A, 3A**), os grupos não diferiam entre si, tanto na população total, como na população estratificada por sexo.

Após 8 semanas de intervenção, o deslocamento do vetor da população (**Figura 10 – 1B**) que recebeu suplementação com ω -3 é diferente de zero ($p<0,05$; a elipse de confiança de 95% não sobrepõe o zero), devido à diminuição dos componentes R/H e Xc/H. Após a análise segundo sexo, observa-se que esta alteração ocorreu principalmente no sexo feminino (**Figura 10 – 3B**). Assim, no grupo de mulheres que receberam suplementação de ω -3, pode-se afirmar que houve aumento tanto da celularidade, como do fluído corporal; parâmetros indicativos de melhora na proporção de massa magra.

FIGURA 10 – Análise vetorial da impedância bioelétrica.

A – Vetores de impedância média com suas elipses de confiança de 95% no momento basal
 B – Deslocamento dos vetores após 8 semanas
 1 – População total, 2 – Sexo masculino, 3- Sexo Feminino
 R – resistência, Xc – reactância, H – altura.

7. DISCUSSÃO

A obesidade é uma doença em expansão global, trazendo com ela aumento do risco para as doenças cardiovasculares (DCV) e metabólicas, como o diabetes *mellitus* (DM).

As recomendações atuais propostas pela maioria dos órgãos de saúde pública são baseadas no binômio aumento da atividade física e melhoria da qualidade da alimentação (OMS, 2000). No entanto, muitas pessoas têm dificuldade em cumprir essas mudanças de estilo de vida, especialmente em longo prazo. De fato, Curioni et al. (2005) em sua meta-análise demonstraram que quase metade de qualquer perda de peso inicial alcançada por meio de dieta ou exercício físico é recuperada após um ano. Assim, apesar das recomendações difundidas, a prevalência da obesidade continua aumentando. Neste cenário, estratégias que atuem como coadjuvantes na redução da gordura corporal devem ser encorajadas.

O presente estudo é a primeira investigação científica conduzida no Brasil que teve por hipótese principal que o aumento da ingestão de ácido graxos ômega-3 (ω -3), especificamente EPA e DHA, resultaria em perda de peso ou modificação da composição corporal, levando também à melhora das variáveis relacionadas à homeostase glicêmica em uma população acima dos 30 anos de idade com diferentes níveis de risco cardiovascular.

Inicialmente, no presente estudo, foram observados efeitos benéficos da suplementação com ω -3 rico em EPA e DHA no perfil lipídico, com redução no colesterol total (CT), no colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e nos valores de triacilgliceróis (TG), com o concomitante aumento dos

valores de colesterol associado à lipoproteína de alta densidade (HDL-C). Consistente com estes resultados, Ebrahimi et al. (2009) relataram que após 6 meses de suplementação com 180mg de EPA + 120mg de DHA/dia, em pacientes com síndrome metabólica, foram encontrados decréscimo de 13%, 21% e 18% nos valores de CT, LDL-C e TG, respectivamente. Contudo, não foram observadas modificações significativas no HDL-C. Kabir et al. (2007) encontraram resultados semelhantes apenas para o conteúdo de TG (redução de 12%) em mulheres diabéticas com suplementação de 1,08g EPA + 0,72g DHA/dia durante 8 semanas.

Progressos substanciais foram feitos na última década para tentar compreender os efeitos do ω -3 nas DCV (WEITZ et al., 2010) e perfil lipídico, incluindo TG e LDL-C (WEI et al., 2011; JACOBSON et al., 2012). Atualmente, têm sido bem reconhecido os potenciais benefícios do EPA e DHA sobre as DCV, com ambos apresentando papel importante na redução do TG (KRIS-ETHERTON et al., 2003). Entretanto, as evidências relacionadas quanto aos efeitos diferenciais destes dois ácidos graxos sobre outros parâmetros lipoproteicos ainda seguem em estudo, especialmente relacionado ao LDL-C. Resultados de diversos ensaios clínicos, em diferentes populações, sugerem que o EPA não eleva o LDL-C (ANDO et al., 1999; KURABAYASHI et al., 2000; NESTEL et al., 2002). Recentemente, essas observações foram confirmadas por duas meta-análises (WEI et al., 2011; JACOBSON et al., 2012). Na primeira, Wei et al. (2011) realizaram uma meta-análise com ensaios clínicos randomizados, placebo-controle, onde foi utilizada a monoterapia com EPA (10 estudos), DHA (17 estudos) ou a comparação entre EPA e DHA (6 estudos). Os autores descreveram que, enquanto ambos (EPA e DHA) reduziram os TG, o DHA foi capaz de aumentar o LDL-C, enquanto o EPA não.

Jacobson et al. (2012) também em sua meta-análise com 22 ensaios clínicos, controlados e randomizados (6 estudos comparando EPA *versus* DHA, 12 estudos com DHA isolado e 4 estudos com EPA isolado), demonstraram que a suplementação com DHA esteve associada com aumento do LDL-C, bem como, que o EPA com redução ou menor aumento do LDL-C. Em adição a estes efeitos diferenciais sobre a partícula de LDL-C, ambas as meta-análises encontraram aumento do HDL-C associado somente à suplementação com DHA.

No presente estudo, a suplementação de ω -3 rico em EPA e DHA foi realizada de forma concomitante, de forma a fornecer 1,11g de EPA e 0,69g de DHA por dia. Desta forma, não foi possível avaliar os potenciais efeitos diferenciais destes dois ácidos graxos. Vale ressaltar que o conteúdo de EPA e DHA do presente estudo foi semelhante ou maior ao utilizado em estudos que tinham como objetivo desfechos semelhantes ao aqui proposto (COUET et al., 1997; KREBS et al., 2006; KUNEŠOVÁ et al., 2006; THORDSDOTTIR et al., 2007; KABIR et al., 2007; HILL et al., 2007; EBRAHIMI et al., 2009; DEFINA et al., 2011).

Quando analisado o percentual de destes ácidos graxos no plasma em função do tempo, constatou-se aumento percentual somente para o DHA, e não para o EPA, no grupo que recebeu suplementação com ω -3, assim como aumento de EPA no grupo que recebeu a suplementação com óleo de girassol. Essa alteração no perfil de ácidos graxos no grupo ω -6 pode estar associada às modificações encontradas no consumo alimentar deste grupo. Apesar da orientação para que os hábitos de vida não fossem modificados ao longo do estudo, este grupo diminuiu seu consumo de lipídios totais, de ácidos graxos saturados, de ácidos graxos poli-insaturados, bem como, apresentou aumento no consumo de DHA.

Talvez, tais resultados tenham contribuído para o aumento no percentual plasmático de EPA no grupo ω -6, o que possivelmente poderia contribuir para a diminuição de TG e LDL-C nesta população, conforme descrito nas meta-análises de Wie et al. (2011) e Jacob et al. (2012). Entretanto, estas alterações apresentam discrepâncias ao encontrado por Krebs et al. (2006) e Hill et al. (2007) onde a suplementação do grupo controle com 2,8g de ácido linoleico + 1,4g de ácido oleico (24 semanas) e 6g de óleo de girassol (12 semanas), respectivamente, não foi suficiente para modificar os parâmetros do perfil lipídico da população estudada. Além disso, nestes estudos, também foram descritos aumento no percentual de EPA e DHA no plasma e no tecido adiposo (KREBS et al., 2006) e de DHA em eritrócitos (HILL et al., 2007) somente com a suplementação de óleo de peixe, e não com o óleo de girassol.

Nossos resultados sugerem também que a suplementação com ω -3, rica em EPA e DHA, pode promover benefícios na pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), apesar de resultados semelhantes terem sido observados no grupo ω -6 em função do tempo. Em relação ao grupo ω -3, os resultados corroboram o observado em outros estudos clínicos, onde a suplementação com 5,1g/dia de EPA+DHA durante 10 semanas diminuiu de maneira significativa a pressão arterial sistólica (-4,6mmHg) e diastólica (-3,0mmHg) em indivíduos hipertensos (BØNAA et al., 1990) e a suplementação com 180mg de EPA + 120mg de DHA/dia durante 6 meses diminuiu a pressão arterial sistólica (-7,1mmHg) em indivíduos com síndrome metabólica (EBRAHIMI et al., 2009).

Em três diferentes meta-análises com ensaios clínicos controlados, conclui-se que os ácidos graxos poli-insaturados da família ω -3 (3-15g/dia), principalmente

EPA e DHA, podem promover reduções pequenas, mas clinicamente relevantes, na pressão arterial (2-5 mmHg) em indivíduos hipertensos não tratados (APPEL et al., 1993; MORRIS et al., 1993; GELEIJNSE et al., 2002).

No início da década de 90, em sua meta-análise, Morris et al. (1993) concluíram que o efeito hipotensivo do óleo de peixe, quando utilizado em doses maiores, pode trazer maiores benefícios para indivíduos hipertensos ou com doença aterosclerótica estabelecida, ou hipercolesterolemia; ou seja, indivíduos com perfil clínico semelhante ao da população inclusa no presente estudo. Além disso, Bao et al. (1998) descreveram que a incorporação de peixes em um programa de redução de peso apresentou efeitos adicionais na redução da pressão arterial ambulatorial, assim como, efeitos positivos na frequência cardíaca em indivíduos hipertensos com sobrepeso. Este efeito anti-hipertensivo também foi associado com melhoras na função plaquetária, conteúdo de TG plasmáticos e citocinas inflamatórias (BAO et al., 1998). Em nosso estudo, não se pode afirmar exatamente por quais mecanismos foi observada a diminuição da PAS e PAD no grupo ω -3.

Além disso, apesar das modificações nas variáveis significativas de CT, HDL-C e PAS observadas, a suplementação com ω -3 não foi capaz de modificar o risco cardiovascular global estimado pelo Escore de Risco de Framingham (ERF).

Quanto às variáveis relacionadas à homeostase glicêmica, o presente estudo não encontrou benefício da suplementação de ω -3 quando analisada a população total. Tais resultados estão em concordância ao existente na literatura, onde são descritos que doses moderadas de óleo de peixe não estão associadas com efeitos positivos, nem negativos, em mulheres adultas e idosas com excesso de peso e

hiperinsulinêmicas (KREBS et al., 2006) ou diabéticas (KABIR et al., 2007), e em mulheres e homens adultos, com excesso de peso e sem nenhuma doença prévia (DEFINA et al., 2011).

Estudos com óleo de peixe e a homeostase da glicose e resistência à insulina com seres humanos e animais são inconsistentes. Enquanto dados promissores têm sido descritos a partir de estudos experimentais, (STORLIEN et al., 1987; ROSSI et al., 2005; SENER et al., 2009), não somente com EPA e DHA, mas também com o ácido alfa-linolênico, estudos clínicos sugerem que esses ácidos graxos não são capazes de melhorar a sensibilidade à insulina.

Em indivíduos obesos e hipertensos, o consumo de peixes na dieta (3,65g de ω -3/dia) (MORI et al., 1999) não demonstrou efeitos independentes sobre a insulina ou a glicose, assim como, também não foram constatadas alterações na glicemia e insulina de jejum com a suplementação com 30mL de óleo de peixe ao dia, contendo 3,8g de EPA e 2,5g de DHA, em indivíduos obesos e com intolerância à glicose (FASCHING et al., 1991). Em indivíduos com obesidade leve, 15 mL/dia de óleo de peixe (3,1g de ω -3/dia) não alterou as taxas de depuração metabólica de glicose durante o clamp euglicêmico hiperinsulinêmico (PELIKÁNOVÁ et al., 1993). Em pacientes idosos saudáveis, o ajuste da relação ω -6: ω -3 por meio da substituição de ω -6 por ácido alfa-linolênico, EPA, DHA ou uma mistura de EPA+DHA (mantendo-se constante o consumo dietético de ácidos graxos saturados e monoinsaturado de forma a promover aproximadamente 6% da energia por meio dos ácidos graxos poli-insaturado) não produziu diferenças na glicemia e insulina de jejum ou no HOMA-IR (GRIFFIN et al., 2006). Em indivíduos saudáveis observou-se que, o consumo de óleo de peixe (3,6g de ω -3/dia), apresentou efeitos mínimos sobre a sensibilidade à

insulina, a liberação rápida de insulina (primeira fase) e a tolerância à glicose (GIACCO et al., 2007).

Entretanto, o presente estudo mostrou que após estratificação da população pelo Escore de Risco de Framingham (ERF), isto é, de acordo com o risco cardiovascular dos indivíduos (baixo, intermediário ou alto), verificou-se que a suplementação de ω -3 rica em EPA e DHA foi capaz de promover alterações significativas na insulinemia de jejum e no HOMA-IR na população que apresentava risco intermediário, apesar de não ter sido observada mudanças na sensibilidade à insulina e na glicemia de jejum destes indivíduos. Tais resultados podem estar relacionados à melhoras no perfil inflamatório destes indivíduos, com o EPA e DHA atuando diretamente sobre citocinas e marcadores inflamatórios (KREBS et al., 2006; ITOH et al., 2007; PÉREZ-ECHARRI et al., 2008; KUDA et al., 2009; PÉREZ-ECHARRI et al., 2009; KALUPAHANA et al., 2010; PUGLISI et al., 2011), atenuando o processo inflamatório e contribuindo para a diminuição da resistência à insulina. Entretanto, em nosso estudo, não foi possível a avaliação de nenhuma variável relacionada à inflamação.

Postula-se que as alterações foram encontradas somente nos indivíduos com risco cardiovascular intermediário, pois talvez esta seja uma população que apresente alterações importantes (e não tão pequenas como o grupo de baixo risco cardiovascular), porém passíveis de modificações – o que talvez não ocorra com os indivíduos com o risco cardiovascular mais elevado. Contudo, mais investigações sobre o tema são necessárias, pois até o presente momento não está claro se o ω -3 tem efeitos clinicamente relevantes sobre a resistência à insulina ou o risco de diabetes em seres humanos.

Na última década, também se tem destacado o possível o papel do ω -3 na perda de peso, com estudos observacionais mostrando relação direta entre o *status* de ω -3 com Índice de Massa Corporal (IMC) (MICALLEF et al. 2009) e composição corporal (GARAULET et al., 2001).

No presente estudo, apesar do aumento do percentual plasmático de EPA+DHA observado no grupo suplementado com ω -3, o peso corporal desta população não diminuiu. Contudo, foi observada redução significativa no percentual de massa gorda, principalmente entre os indivíduos do sexo feminino. Estes resultados estão em concordância ao descrito em estudos prévios, onde também foram encontrados efeitos benéficos da suplementação destes ácidos graxos na gordura corporal, mas não no peso (COUET et al., 1997) em 5 mulheres e 1 homem saudáveis com a substituição de 6g de lipídios da dieta por 6g óleo de peixe (1,1g/d EPA + 0,7g/d DHA) durante 3 semanas e em mulheres diabéticas com suplementação de 1,08g EPA + 0,72g DHA/dia durante 8 semanas (KABIR et al. 2007).

Estudos que apresentem o mesmo delineamento e objetivos que a intervenção conduzida por nosso grupo são escassos, o que torna difícil a comparação com outros resultados encontrados na literatura, onde o óleo de peixe tem sido utilizado como coadjuvante no tratamento de perda de peso. Nestes estudos, o EPA e o DHA foram capazes de promover maior redução do peso corporal nos indivíduos praticantes de atividade física que receberam durante 3 semanas 2,8g de EPA+DHA, em comparação com aqueles que apenas praticavam atividade física (KUNEŠOVÁ et al. 2006) e em indivíduos que receberam orientação nutricional e suplementação de 180mg EPA + 120mg DHA durante 6 meses, em comparação com aqueles que

apenas tiveram a orientação (EBRAHIMI et al., 2009). De modo contrário, DeFina et al. (2011) ao utilizar a suplementação com ω -3 (3g EPA + DHA) em um programa conjunto de exercícios aeróbicos e aconselhamento dietético, não encontraram nenhum benefício na redução do peso em comparação ao grupo suplementado com óleo de soja e milho em uma proporção de 1:1.

Em estudos anteriores, Warner et al., (1989) investigaram o efeito de 12 semanas de treinamento aeróbio (caminhada ou corrida 3 dias por semana por 45-50 min a 75 - 80% da FC máxima) sobre o perfil lipídico em indivíduos hiperlipidêmicos alocados para 1 dos 4 seguintes grupos: exercício físico + óleo de peixe (50mL), óleo de peixe (50mL), óleo de milho (50mL) ou grupo controle (sem suplementação e exercício). Em relação às variáveis de composição corporal, o percentual de massa gorda foi reduzido somente no grupo óleo de peixe e exercício físico combinado. No entanto, o desenho do estudo não permitiu identificar a contribuição isolada de cada componente, pois o estudo não incluiu um grupo controle apenas com atividade física. Brilla e Landerholm (1990) investigaram os efeitos da suplementação com óleo de peixe e exercício em indivíduos saudáveis, do sexo masculino previamente sedentários, com idades entre 19-34 anos. Trinta e dois indivíduos foram distribuídos em quatro grupos: controle (sem intervenção), consumo de peixes e óleo de peixe (4g/dia de ω -3), exercício físico, exercício físico + consumo de peixes e óleo de peixe (4g/dia de ω -3). Após 10 semanas não foram observadas mudanças na gordura corporal com uma combinação de peixes e óleo de peixe. Entretanto, Thordsdottir et al. (2007) descreveram efeitos adicionais positivos no peso corporal em um programa de perda de peso, quando comparado ao grupo placebo, com aumento do consumo de EPA e DHA por meio do consumo peixes

(150g salmão 3x/semana) ou suplementação com óleo de peixe (1,5g/dia de ω -3) em indivíduos adultos, saudáveis, do sexo masculino, porém com sobrepeso. Contrariamente, em nosso trabalho, quando estratificada a população segundo sexo, constatou-se que o aumento de peso significativo, apesar de pequeno, foi observado apenas em homens. Entre as mulheres, não foram observadas alterações no peso.

Em relação aos dados do IMC e circunferência da cintura (CC), a literatura também tem resultados conflitantes. Estudos que têm a suplementação com o EPA e DHA associada com a atividade física e/ou reeducação alimentar descreveram redução, tanto do IMC, como da CC, porém nem sempre superior ao observado nos respectivos controles, isto é, submetido à intervenção, mas sem associação da suplementação (KREBS et al., 2006; EBRAHIMI et al, 2009; DEFINA et al. 2011). Hill et al. (2007) não constataram redução no IMC no grupo de indivíduos com excesso de peso e com fatores de risco para DCV suplementado com 1,9g óleo de peixe/dia durante 12 semanas, sem associação com atividade física.

No entanto, em um trabalho recente, Crochemore et al. (2012) observaram que a suplementação durante 30 dias com 1,5g/dia de óleo de peixe, contendo 328,5mg de EPA e 211,5mg de DHA, foi capaz de reduzir o IMC e a CC em mulheres diabéticas, não fumantes, na menopausa e com hipertensão grau 1 ou 2. Tal efeito não foi visto no grupo controle que recebeu cápsulas contendo gelatina e no grupo que recebeu dose maior de óleo de peixe (2,5g/dia, contendo 547,5mg de EPA e 352,5mg de DHA).

Em nosso estudo, foi observado pequeno aumento no IMC entre os homens (em concordância ao aumento de peso da população masculina), bem como nos

valores de CC entre a população feminina que recebeu a suplementação de ω -3 rica em EPA e DHA ao longo do tempo. Entretanto, o efeito da intervenção não diferiu entre os grupos ω -6 e ω -3 para estas variáveis. Além disso, não foram vistas modificações na proporção de indivíduos com excesso de peso ou com circunferência da cintura elevada.

Os resultados encontrados no presente estudo por meio da análise da composição corporal segundo vetores bioelétricos (BIVA) vão ao encontro dos resultados observados na análise da composição corporal com o uso de equações preditivas. A abordagem pela BIVA tem ganho atenção como uma ferramenta para avaliar e monitorar a hidratação e estado nutricional de pacientes em hemodiálise (PICCOLI, 1998; PICCOLI e CODOGNOTTO, 2004; NESCOLARDI et al., 2004; JHA et al., 2006) ou diálise peritoneal ambulatorial contínua (PICCOLI, 2004), com cirrose hepática (GUGLIELMI et al., 1999), em pacientes graves (PICCOLI et al., 2000) e em pacientes obesos sem mudanças de peso (PICCOLI et al., 1998), uma vez que é independente de equações de regressão para o cálculo da massa corporal magra e gorda, bem como independente da medição de peso corporal, fornecendo informações sobre o estado de hidratação e massa celular corporal sem erros inerentes a algoritmos. Desenvolvida por Piccoli et al. (1994), a BIVA utiliza parâmetros de resistência e reactância normalizadas pela altura do indivíduo, resultando em uma medida qualitativa do tecido mole que não depende da estatura.

Até o presente momento, nenhum estudo que avaliou o efeito do EPA e DHA sobre a composição corporal, analisou pela abordagem da BIVA os resultados de resistência e reactância obtidos com a impedância elétrica. No presente estudo, observou-se que a suplementação com ω -3 levou ao aumento da celularidade e do

fluido corporal na população feminina, o que possivelmente é indicativo de melhora da massa magra corpórea. Tal resultado vai ao encontro à redução significativa do percentual de massa gorda (estimada por meio de equação preditiva) observada na população feminina.

Deste modo, os dados encontrados em nosso estudo confirmam, em parte, as investigações prévias realizadas em outros países, onde a suplementação com ω -3 rica em EPA e DHA em uma dose de 1,8g/dia durante 8 semanas não possui efeitos positivos, nem negativos, sobre a homeostase glicêmica em indivíduos adultos e idosos, contudo, é capaz de reduzir o percentual de massa gorda em indivíduos do sexo feminino, mesmo não alterando o peso corporal.

8. CONCLUSÃO

Considerando os objetivos do presente estudo, os resultados obtidos nos permitem apresentar que a suplementação com ω -3 na população estudada:

- I. Foi capaz de promover modificações no perfil bioquímico, com diminuição do CT, LDL-C e TG, e aumento do HDL-C, bem como redução da PAS e PAD, porém de maneira similar ao observado com a suplementação com ω -6;
- II. Modificou a insulina de jejum e HOMA-IR nos indivíduos com risco cardiovascular intermediário;
- III. Reduziu o percentual de gordura corporal na população total, sendo esse perfil associado ao sexo feminino e indivíduos com alto risco cardiovascular;
- IV. Não levou a modificações na classificação do risco cardiovascular, segundo o Escore de Risco de Framingham.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACKMAN, R.G.; EATON, C.A.; DYERBERG, J. Marine docosenoic acid isomer distribution in the plasma of Greenland Eskimos. **Amer J Clin Nutr**, v. 33, n. 8, p. 1814-1817, ago. 1980.
2. ALEXAKI, V.I.; NOTAS, G.; PELEKANOU, V.; KAMPA, M.; VALKANOU, M.; THEODOROPOULOS, PL, ET AL. Adipocytes as immune cells: differential expression of TWEAK, BAFF, and APRIL and their receptors (Fn14, BAFF-R, TACI, and BCMA) at different stages of normal and pathological adipose tissue development. **J Immunol**, v. 183, n. 9, p. 5948-5956, nov. 2009.
3. ALWAN, A.; MACLEAN, D.R.; RILEY, L.M.; D'ESPAIGNET, E.T.; MATHERS, C. D.; ET AL. Monitoring and surveillance of chronic non-communicable diseases: progress and capacity in high-burden countries. **The Lancet Chronic Diseases Series**, v. 376, n. 9755, p. 1861-1868, nov. 2010.
4. ANDO. M.; SANAKA, T.; NIHEI, H. Eicosapentanoic acid reduces plasma levels of remnant lipoproteins and prevents in vivo peroxidation of LDL in dialysis patients. **J Am Soc Nephrol**, v. 10, n. 10, p. 2177-2184, out. 1999.
5. APPEL, L.J.; MILLER, E.R. 3rd.; SEIDLER, A.J.; WHELTON, P.K. Does supplementation of diet with 'fish oil' reduce blood pressure? A meta-analysis of controlled clinical trials. **Arch Intern Med**, v. 153, n. 12, p. 1429-1438, jun. 1993.
6. ARMATRUDA, J. M.; LINEMEYER, D. L. Obesity. In: Felig P.Frohmann LA. **Endocrinology Metabolism**. 4 ed. USA: Mc Graw Hill, 2001. p. 945-979.
7. ARTINIAN, N.T.; FLETCHER, G.F.; MOZAFFARIAN, D.; KRIS-ETHERTON, P.; VAN HORN, L.; LICHTENSTEIN, A.H., ET AL. Interventions to promote physical activity and dietary lifestyle changes for cardiovascular risk factor reduction in adults: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 122, n. 4, p. 406-441, jul. 2010.

8. BAILLIE, R.; TAKADA, R.; NAKAMURA, M.; CLARKE S. Coordinate induction of peroxisomal acyl-CoA oxidase and UCP-3 by dietary fishoil: a mechanism for decreased body fat deposition. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 60, n. 5-6, p. 351–56, mai/jun. 1999.
9. BANG, H.O.; DYERBERG, J. Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic west coast Eskimos. **Acta Med Scand**, v. 192, n. 1-2, p. 85-94, ago. 1972.
10. BANG, H.O.; DYERBERG, J.; HJORNE, N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. **Acta Med Scand**, v. 200, n. 1-2, p. 69-73. 1976.
11. BANG, H.O.; DYERBERG, J.; SINCLAIR, H.M. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. **Amer J Clin Nutr**, v. 33, n. 12, p. 2657-2661, dez. 1980.
12. BANG, H.O.; DYERBERG, J. The bleeding tendency in Greenland Eskimos. **Dan Med Bul**, v. 127, n. 4, p. 202-205, set. 1980.
13. BAO, D.Q.; MORI, T.A.; BURKE, V.; PUDDEY, I.B.; BEILIN, L.J. Effects of dietary fish and weight reduction on ambulatory blood pressure in overweight hypertensives. **Hypertension**, v. 32, n. 2, p. 710–7, out. 1998.
14. BELALCAZAR, L.M.; REBOUSSIN, D.M.; HAFFNER, S.M.; ET AL. Marine omega-3 fatty acid intake: associations with cardiometabolic risk and response to weight loss intervention in the Look AHEAD (Action for Health in Diabetes) study. **Diabetes Care**, v. 33, n. 1, p. 197–9, jan. 2010.
15. BELZUNG, F.; RACLOT, T.; GROSCOLAS, R. Fish oil n-3 fatty acids selectively limit the hypertrophy of abdominal fat depots in growing rats fed high-fat diets. **Am J Physiol**, v. 264, n. 6, p. R1111-18, jun. 1993.
16. BERRINGTON DE GONZALEZ, A.; HARTGE, P.; CERHAN, J.R.; FLINT, A.J.; HANNAN, L.; MACINNIS, R.J.; ET AL. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. **N Engl J Med**, v. 363, n. 22, p. 2211-2219, dez. 2010.
17. BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can J Biochem Physiol**, v. 37, n. 8, p. 911-917, ago. 1959.

18. BORKMAN, M.; CHISHOLM, D.; FURLER, S. Effects of fish oil supplementation on glucose and lipid metabolism in NIDDM. **Diabetes**, v. 38, n. 10, p. 1314-9, out. 1989.
19. BØNAA, K.H.; BJERVE, K.S.; STRAUME, B.; GRAM, I.T.; THELLE D. Effect of Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids on Blood Pressure in Hypertension — A Population-Based Intervention Trial from the Tromsø Study. **N Engl J Med**, v. 322, n. 12, p. 795-801, mar. 1990.
20. BRANDT, J.M.; DJOUADI, F.; KELLY, D.P. Fatty acids activate transcription of the muscle carnitine palmitoyltransferase I gene in cardiac myocytes via the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. **J Biol Chem**, v. 273, n. 37, p. 23786–23792, set. 1998.
21. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. Vigitel Brasil 2011: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico /Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. – Brasília : Ministério da Saúde, 2012.
22. BRASIL. Resolução nº 292 de 08 de julho de 1999. Regulamenta as pesquisas coordenadas do exterior ou com participação estrangeira e pesquisas que envolvam remessa de material biológico para o exterior. **Brasília**, CNS: 1999.
23. BRAVATA, D.M.; SANDERS, L.; HUANG, J.; KRUMHOLZ, H.M.; OLKIN, I., BRAVATA, D.A.M. Efficacy and safety of low-carbohydrate diets. **JAMA** v. 289, n. 14, p. 1837–50, abr. 2003.
24. BRILLA, L.R.; LANDERHOLM, T.E. Effect of fish oil supplementation and exercise on serum lipids and aerobic fitness. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 30, n. 2, p. 173-180, jun. 1990.
25. BROWNER, W.S.; NEWMAN, T.B.; CUMMUNHGS, S.R.; HULLEY, S.B. Estimando o tamanho de amostra e o poder estatístico: aplicações e exemplos. In: HULLEY, S.B.; CUMMUNHGS, S.R.; BROWNER, W.S.; GRANDY, D.G.; HEARTS, N.;

- NEWMAN, T.B. **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed; 2003. p. 83 a 110.
26. BROWNING, L.M.; KREBS, J.D.; MOORE, C.S.; MISHRA, G. D.; O'CONNELL, M.A.; JEBB, S. A. The impact of long chain n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on inflammation, insulin sensitivity and CVD risk in a group of overweight women with an inflammatory phenotype. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 9, n. 1, p. 70-80, jan. 2007.
 27. CLARKE, S. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. **J Nutr**, v. 131, n. 4, p. 1129–32, abr. 2001.
 28. CORNIER, M.A.; DESPRE'S, J.P.; DAVIS, N.; GROSSNIKLAUS, D.A.; KLEIN, S.; LAMARCHE, B.; ET AL. Assessing adiposity: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 124, n. 18, p. 1996-2019, nov. 2011.
 29. COUET, C.; DELARUE, J.; RITZ, P.; ANTOINE, J.-M.; LAMISSE, F. Effect of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxidation in healthy adults. *Int. J Obes*, v. 21, n. 8, p. 637-643, ago. 1997.
 30. COX, K.; GOLDEN, J.; HOHNSTEIN, J.; KING, M.; LUTH, J.; MANDIBLE, D.; MURPHY, P. The Food Processor Software. Version 10.11.0. ESHA Research, Salem, Oregon; 2012.
 31. CROCHEMORE, I.C.; SOUZA, A.F.; DE SOUZA, A.C.; ROSADO, E.L. ω -3 polyunsaturated fatty acid supplementation does not influence body composition, insulin resistance, and lipemia in women with type 2 diabetes and obesity. **Nutr Clin Pract**, v. 27, n. 4, p. 553-560, ago. 2012.
 32. CUNNANE, S.; MCADOO, K.; HORROBIN, D. n-3 essential fatty acids decrease weight gain in genetically obese mice. **Br. J. Nutr**, v. 56, n. 1, p. 87-95, jul. 1986.
 33. CURIONI, C.C.; LOURENÇO, P.M. Long-term weight loss after diet and exercise: A systematic review. **Int J Obes**, v. 29, n. 10, p. 1168-1174, out. 2005.

34. D'AGOSTINO, R.B.; VASAN, R.S.; PECINE, M.J., WOLF, P.A., COBAIN, M., MASSARO, J.M., KANEL, W.B. General cardiovascular risk profile for use in primary care: The Framingham Heart Study. **Circulation**, v.117, n.6, p. 743-753, 2008.
35. DAWBER, T.R.; MOORE, F.E. Jr; MANN, G.V. Coronary heart disease in the Framingham Study. **Am J Public Health**, v. 47, n. 4, p.4-24, abr. 1957.
36. DAWBER, T.R.; KANNEL, W.B.; REVOTSKIE, N.; STOKES, J.; KAGAN, A.; GORDON, T. Some factors associated with the development of coronary heart disease: six years' follow-up experience in the Framingham study. **Am J Public Health**, v. 49, n. 10, p. 1349-1356, out. 1959.
37. DAWBER, T.R.; KANNEL, W.B. The Framingham study: an epidemiological approach to coronary heart disease. **Circulation**, v. 34, n. 4, p. 553-555, out. 1966.
38. DEFINA, L.F; MARCOUX, L.G.; DEVERS, S.M.; CLEAVER, J.P; WILLIS, B.L. Effects of omega-3 supplementation in combination with diet and exercise on weight loss and body composition. **Am J Clin Nutr**, v. 93, n. 2, p. 455-62, fev. 2011.
39. DOYLE, J.T.; DAWBER, T.R.; KANNEL, W.B.; KINCH, S.H.; KAHN, H.A. The relationship of cigarette smoking to coronary heart disease. **JAMA**, v. 190, n. 10, p. 886-890, nov. 1964.
40. DYERBERG, J.; BANG, H.O.; HJORNE, N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. **Amer J Clin Nutr**, v. 28, n. 9, p. 958-966, set. 1975.
41. DYERBERG, J.; BANG, H.O.; HJORNE, N. Plasma cholesterol concentration in Caucasian Danes and Greenland west coast Eskimos **Dan Med Bull**, v. 24, n. 2, p. 52-55, abr. 1977.
42. DYERBERG, J.; BANG, H.O.; STOFFERSEN, E.; MONCADA, S.; VANE, J.R. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? **Lancet**, v. 2, n. 8081, p. 117-119, jul. 1978.
43. DYERBERG, J.; BANG, H.O. Dietary fat and thrombosis. **Lancet**, v. 311, n. 8056, p. 152, jan. 1978.

44. DYERBERG, J.; BANG, H.O. Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. **Lancet**, v. 2, n. 81410, p. 433-435, set. 1979.
45. EBRAHIMI, M.; GHAYOUR-MOBARHAN, M.; REZAIEAN, S.; HOSEINI, M.; PARIZADE, S.M.; FARHOUDI, F.; et al. Omega-3 fatty acid supplements improve the cardiovascular risk profile of subjects with metabolic syndrome, including markers of inflammation and auto-immunity. **Acta Cardiol**, v. 64, n. 3, p. 321–327, jun. 2009.
46. EDWARDS, I.J.; O’FLAHERTY, J.T. Omega-3 Fatty Acids and PPAR gamma in Cancer. **PPAR Res**, v. 2008, Article ID 358052. 2008.
47. FASCHING, P.; RATHEISER, K.; WALDHÄUSL, W.; ROHAC, M.; OSTERRODE, W.; NOWOTNY, P.; VIERHAPPER, H. Metabolic effects of fish-oil supplementation in patients with impaired glucose tolerance. **Diabetes**, v. 40, n. 5, p. 583-589, mai. 1991.
48. FAKHRZADEH, H.; GHADERPANAHI, M.; SHARIFI, F.; MIRAREFIN, M.; BADAMCHIZADE, Z.; KAMRANI, A.A.; ET AL. The effects of low dose n-3 fatty acids on serum lipid profiles and insulin resistance of the elderly: a randomized controlled clinical trial. **Int J Vitam Nutr Res** v. 80, n. 2, p. 107–116, abr. 2010.
49. FLACHS, P.; HORAKOVA, O.; BRAUNER, P.; ROSSMEISL, M.; PECINA, P.; FRANSSEN-VAN HAL, N.; ET AL. Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce β -oxidation in white fat. **Diabetologia**, v. 48, n. 11, p. 2365-2375, nov. 2005.
50. FLORINDO, AA.; LATORRE, M.R.D.O. Validação e Reprodutibilidade do Questionário de Baecke de avaliação da atividade física habitual em homens adultos. **Rev Bras Med Esporte**, v. 9, n. 3, p. 121-128, mai/jun. 2003.
51. FORD, E.S.; AJANI, U.A.; CROFT, J.B.; CRITCHLEY, J.A.; LABARTHE, D.R.; KOTTKE, T.E.; ET AL. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980–2000. **N Engl J Med**, v. 356, n. 23, p. 2388-2398, jun. 2007.

52. FRIDAY, K.E.; CHILDS, M.T.; TSUNEHARA, C.H.; FUJIMOTO, W.Y.; BIERMAN, E.L.; ENSINCK, J.W. Elevated plasma glucose and lowered triglyceride levels from omega-3 fatty acid supplementation in type II diabetes. **Diabetes Care**, v. 12, n. 4, p. 276-81, abr. 1989.
53. FRIEDBERG, C.H.; JANSSEN, M.; HEINE, R.; GROBBEE, D. Fish oil and glycemic control in diabetes. A meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 21, n. 4, 494-500, abr. 1998.
54. FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**, v. 18, n. 6, p. 499-502, jun. 1972.
55. GANI, O.A. Are fish oil omega-3 long-chain fatty acids and their derivatives peroxisome proliferator-activated receptor agonists? **Cardiovasc Diabetol**, v. 7, n. 6, mar. 2008.
56. GANI, O.A.; SYLTE, I. Molecular recognition of docosahexaenoic acid by peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid-X receptor alpha. **J Mol Graph Model**, v. 27, n. 2, p. 217–124, set. 2008.
57. GARAULET, M.; PEREZ-LLAMAS, F.; PEREZ-AYALA, M.; MARTINEZ, P.; DE MEDINA, F.S.; TEBAR, F.J.; ZAMORA, S. Site-specific differences in the fatty acid composition of abdominal adipose tissue in an obese population from a Mediterranean area: relation with dietary fatty acids, plasma lipid profile, serum insulin, and central obesity. **Am J Clin Nutr**, v. 74, n. 5, p. 585-591, nov. 2001.
58. GELEIJNSE, J.M.; GILTAY, E.J.; GROBBEE, D.E.; DONDEERS, A.R.; KOK, F.J. Blood pressure response to fish oil supplementation: metaregression analysis of randomized trials. **J Hypertens**, v. 20, n. 8, p. 1493–1499, ago. 2002.
59. GIACCO, R.; CUOMO, V.; VESSBY, B.; UUSITUPA, M.; HERMANSEN, K.; MEYER, B.J.; RICCARDI, G.; RIVELLESE, A.A. Fish oil, insulin sensitivity, insulin secretion and glucose tolerance in healthy people: is there any effect of fish oil

- supplementation in relation to the type of background diet and habitual dietary intake of n-6 and n-3 fatty acids? **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v. 18, n. 8, p. 572-580, out. 2007.
60. GRIFFIN, M.D.; SANDERS, T.A.; DAVIES, I.G.; MORGAN, L.M.; MILLWARD, D.J.; LEWIS, F.; SLAUGHTER, S.; COOPER, J.A.; MILLER, G.J.; GRIFFIN, B.A. Effects of altering the ratio of dietary n-6 to n-3 fatty acids on insulin sensitivity, lipoprotein size, and postprandial lipemia in men and postmenopausal women aged 45–70 y: the OPTILIP Study. **Am J Clin Nutr**, v. 84, n. 6, p. 1290-1298, dez. 2006.
 61. GUENTHER, P.M. et al. Questionnaire design and data collection procedures. In: **Design and Operation: The Continuing Survey of Food Intakes by Individuals and the Diet and Health Knowledge Survey**. U.S.: 1994-1996, chapter 4, p. 42-63.
 62. GUGLIELMI, F.W.; MASTRONUZZI, T.; PIETRINI, L.; PANARESE, A.; PANELLA, C.; FRANCAVILLA, A. The RXc graph in evaluating and monitoring fluid balance in patients with liver cirrhosis. **Ann N Y Acad Sci**, v. 873, p. 105-11, abr. 1999.
 63. HASLAM, D.W.; JAMES W.P.T. Obesity. **Lancet**, v. 366, n. 9492, p. 1197-209, Out. 2005.
 64. HAINAULT, I.; CARLOTTI, M.; HAJDUCH, E.; GUICHARD, C.; LAVAU, M. Fish oil in a high lard diet prevents obesity, hyperlipidemia, and adipocyte insulin resistance in rats. **Ann. N. Y. Acad. Sci**, v. 683, n. 14, p. 98-101, jun. 1993.
 65. HE, K.; RIMM, E.; MERCHANT, A.; ROSNER, B.; STAMPFER, M.; WILLETT, W.; ASCHERIO, A. Fish consumption and risk of stroke in men. **JAMA**, v. 288, n. 24, p. 3130-6, dez. 2002.
 66. HENDRICH, S. (n-3) Fatty acids: clinical trials in people with type 2 diabetes. **Advances in Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 3-7, nov. 2010.
 67. HILL, M.A.; BUCKLEY, J.D.; MURPHY, K.J.; HOWE P.R.C. Combining fish-oil supplements with regular aerobic exercise improves body composition and cardiovascular disease risk factors. **Am J Clin Nutr**, v. 85, n. 5, p. 1267–74, mai. 2007.

68. HOTAMISLIGIL G.S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 860-867, dec. 2006.
69. HU, E.; LIANG, P.; SPIEGELMAN, B.M. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. **J Biol Chem**, v. 271, n. 18, p. 10697-10703, mai. 1996.
70. HUANG, X.F.; XIN, X.; MCLENNAN, P.; STORLIEN, L. Role of fat amount and type in ameliorating diet-induced obesity: Insights at the level of hypothalamic arcuate nucleus leptin receptor, neuropeptide Y and pro-opiomelanocortin mRNA expression. **Diabetes Obes Metab**, v. 6, n. 1, p. 35-44, jan. 2004.
71. IBRAHIM, MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. **Obes Rev**, v. 11, n. 1, p. 11-18, jan. 2010.
72. IDE, T. Interaction of fish oil and conjugated linoleic acid in affecting hepatic activity of lipogenic enzymes and gene expression in liver and adipose tissue. **Diabetes**, v. 54, n. 2, p. 412–123, fev. 2005.
73. ISO, H.; REXRODE, K.M.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E.; COLDITZ, G.A.; SPEIZER, F.E.; ET AL. Intake of fish and omega-3 fatty acids and risk of stroke in women. **JAMA**, v. 285, n. 3, p. 304-12, jan. 2001.
74. ITOH, M.; SUGANAMI, T.; SATOH, N.; TANIMOTO-KOYAMA, K.; YUAN, X.; TANAKA, M.; ET AL. Increased adiponectin secretion by highly purified eicosapentaenoic acid in rodent models of obesity and human obese subjects. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 27, n. 9, p. 1918–1925, set. 2007.
75. JACOBSON, T.A.; GLICKSTEIN, S.B.; ROWE, J.D; SONI, P.N. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on low-density lipoprotein cholesterol and other lipids: a review. **J Clin Lipidol**, v. 6, n. 1, p. 5-18, jan-fev. 2012.
76. JHA, V.; JAIRAM, A.; SHARMA, M.C.; SAKHUJA, V.; PICCOLI, A.; PARTHASARATHY, S. Body composition analysis with bioelectric impedance in adult Indians with ESRD: comparison with healthy population. **Kidney Int**, v. 69, n. 9, p. 1649-1653, mai. 2006.

77. JOHNSON, R.K.; DRISCOLL, P.; GORAN, M.I. Comparison of multiple-pass 24-hour recall estimates of energy intake with total energy expenditure determined by doubly labeled water method in young children. **J Am Diet Assoc**, v. 96, n. 11, p. 1140-1144, nov. 1996.
78. JOHNSTON, C.S.; DAY, C.S.; SWAN, P.D. Postprandial thermogenesis is increased 100% on a high- protein, low-fat diet versus a high-carbohydrate, low-fat diet in healthy, young women. **J Am Coll Nutr**, v. 21, n. 1, p. 55-61, fev. 2002.
79. KABIR, M.; SKURNIK, G.; NAOUR, N.; PECHTNER, V.; MEUGNIER, E.; ROME, S.; ET AL. Treatment for 2 mo with n₃ polyunsaturated fatty acids reduces adiposity and some atherogenic factors but does not improve insulin sensitivity in women with type 2 diabetes: a randomized controlled study. **Am J Clin Nutr**, v. 86, n. 6, p. 1670-9, dez. 2007.
80. KALUPAHANA, N.S.; CLAYCOMBE, K.; NEWMAN, S.J.; STEWART, T.; SIRIWARDHANA, N.; MATTHAN, N.; ET AL. Eicosapentaenoic acid prevents and reverses insulin resistance in high-fat diet- induced obese mice via modulation of adipose tissue inflammation. **J Nutr**, v. 140, n. 11, p. 1915–1922, nov. 2010.
81. KALUPAHANA, N.S.; CLAYCOMBE, K.J.; MOUSTAID-MOUSSA, N. n-3 fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insights. **Adv Nutr**, v. 2, p. 304-316, jul. 2011.
82. KANNEL, W.B.; DAWBER, T.R.; KAGAN, A.; REVOTSKIE, N.; STOKES, J. Factors of risk in the development of coronary heart disease – six years follow-up experience: the Framingham Study. **Ann Intern Med**, v. 55, n. 1, p. 33-50, jul. 1961.
83. KIM, S.; MOUSTAID-MOUSSA, N. Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte. **J Nutr**, v. 130, n. 2, p. S3110-S3115, dec. 2000.
84. KLEIN, S.; BURKE, L.E.; BRAY, G.A.; BLAIR, S.; ALLISON, D.B.; PI-SUNYER, X.; ET AL. Clinical implications of obesity with specific focus on cardiovascular disease: a statement for professionals from the American Heart Association Council on

- Nutrition, Physical Activity, and Metabolism: endorsed by the American College of Cardiology Foundation. **Circulation**, v. 110, n. 18, p. 2952-2967, nov. 2004.
85. KRAGELUND, C.; HASSAGER, C.; HILDEBRANDT, P.; TORP-PEDERSEN, C.; KOBER L. TRACE study group. Impact of obesity on long-term prognosis following acute myocardial infarction. **Int J Cardiol**, v. 98, n. 1, p.123-131, jan. 2005.
 86. KREBS, J.D; BROWNING, L.M.; MCLEAN, N.K.; ROTHWELL, J.L.; MISHRA, G.D.; MOORE, C.S.; JEBB, S.A. Additive benefits of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and weight-loss in the management of cardiovascular disease risk in overweight hyperinsulinaemic women. **Int J Obes**, v. 30, n. 10, p. 1535–1544, out. 2006.
 87. KREY, G.; BRAISSANT, O.; L'HORSET, F.; KALKHOVEN, E.; PERROUD, M.; PARKER, M.G.; ET AL. Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. **Mol Endocrinol**, v. 11, n. 6, p. 779–791, jun. 1997.
 88. KRIS-ETHERTON, P.M.; HARRIS, W.S.; APPEL, L.J. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, n. 2, p. 151-153, fev. 2003.
 89. KUDA, O.; JELENIK, T.; JILKOVA, Z.; FLACHS, P.; ROSSMEISL, M.; HENSLER, M.; ET AL. n-3 fatty acids and rosiglitazone improve insulin sensitivity through additive stimulatory effects on muscle glycogen synthesis in mice fed a high-fat diet. **Diabetologia**, v. 52, n. 5, p. 941–951, mai. 2009.
 90. KUNEŠOVÁ, M.; BRAUNEROVÁ, R.; HLAVATÝ, P.; TVRZICKÁ, E.; STANĀKOVÁ, B.; ŠKRHA, J.; ET AL. The influence of n-3 polyunsaturated fatty acids and very low calorie diet during a short-term weight reducing regimen on weight loss and serum fatty acid composition in severely obese women. **Physiol Res**, v. 55, n. 1, p. 63–72. 2006.
 91. KURABAYASHI, T.; OKADA, M.; TANAKA, K. Eicosapentaenoic acid effect on hyperlipidemia in menopausal Japanese women. The Niigata Epadel Study Group. **Obstet Gynecol**, v. 96, n. 4, p. 521-528, out. 2000.

92. LAYMAN, D.K.; BOILEAU, R.A.; ERICKSON, D.J.; PAINTER, J.; SHIUE, H.; SATHER, C.; ET AL. A reduced ratio of dietary carbohydrate to protein improves body composition and blood lipid profiles during weight loss in adult women. **J Nutr**, v. 133, n. 2, p. 411-17, fev. 2003.
93. LAYMAN, D.K.; SHIUE, H.; SATHER, C.; ERICKSON, D.J.; BAUM, J. Increased dietary protein modifies glucose and insulin homeostasis in adult women during weight loss. **J Nutr**, v. 133, n. 2, p. 405-10, fev. 2003b.
94. LICHTENSTEIN, A.H.; APPEL, L.J.; BRANDS, M.; CARNETHON, M.; DANIELS, S.; FRANCH, H.A., ET AL. American Heart Association Nutrition Committee Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. **Circulation**, v. 114, n. 1, p. 82-96, jul. 2006.
95. LOHMAN, T.G.; MARTORELL, R.; ROCHE A.F. Anthropometric standardization Reference Manual: The Airlie Consensus Report. **Champaign III: Human Kinetics**; 1988.
96. MACKERRAS, D. Energy adjustment the concepts underlying the debate. **J. Clin. Epidemiol**, v. 49, n. 9, p. 957-962, 1996.
97. MANSON, J.E.; COLDITZ, G.A.; STAMPFER, M.J.; WILETT, W.C.; ROSNER, B., MONSON, R.R.; ET AL. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. **N Engl J Med**, v. 322, n. 13, p. 882-889, mar. 1990.
98. MANSON, J.E.; WILLET, W.C.; STAMPFER, M.J.; COLDITZ, G.A.; HUNTER, D.J., HANKINSON S.E.; ET AL. Body weight and mortality among women. **N Engl J Med**, v. 333, n. 11, p. 677-678, set. 1995.
99. MANSUR, P.M.; FAVARATO, D. Mortalidade por Doenças Cardiovasculares no Brasil e na Região Metropolitana de São Paulo: Atualização 2011. **Arq Bras Cardiol**, v. 99, n. 2, p. 755-7612, jun. 2012.
100. MATTHEWS, D.R.; HOSKER, J.P.; RUDENSKI, A.S.; NAYLOR, B.A.; TREACHER, D.F.; TURNER, R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and

- beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-419, jul. 1985.
- 101.
 102. MCTERNAN, C.L.; MCTERNAN, P.G.; HARTE, A.L.; LEVICK, P.L.; BARNETT, A.H.; KUMAR, S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. **Lancet**, v. 359, n. 9300, p. 46-47, jan. 2002.
 103. MICALLEF, M.; MUNRO, I.; PHANG, M.; GARG, M. Plasma n-3 polyunsaturated fatty acids are negatively associated with obesity. **Br J Nutr**, v. 102, n. 9, p. 1370-1374, nov. 2009.
 104. MISTÉRIO DA SAÚDE. Informações de saúde do DataSus. [acesso em 03/09/2012]. Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205>
 105. MONTORI, V.; FARMER, A.; WOLLAN, P.; DINNEEN, S. Fish oil supplementation in type 2 diabetes: a quantitative systematic review. **Diabetes Care**, v. 23, n. 9, 1407-15, sep. 2000.
 106. MORI, T.A.; BAO, D.Q.; BURKE, V.; PUDDEY, I.B.; WATTS, G.F.; BEILIN, L.J. Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: effect on serum lipids, glucose, and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects. **Am J Clin Nutr**, v. 70, n. 5, p. 817-25, nov. 1999.
 107. MORI, T.A.; BURKE, V.; PUDDEY, I.B.; ET AL. Purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids have differential effects on serum lipids and lipoproteins, LDL particle size, glucose, and insulin in mildly hyperlipidemic men. **Am J Clin Nutr**, v. 71, n. 5, p. 1085-94, mai. 2000.
 108. MORI, T.A.; WOODMAN, R.J. The independent effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular risk factors in humans. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 9, n. 2, p. 95-104, mar. 2006.

109. MORI, T.; KONDO, H.; HASE, T.; TOKIMITSU, I.; MURASE, T. Dietary Fish Oil Upregulates Intestinal Lipid Metabolism and Reduces Body Weight Gain in C57BL/6J Mice. **J Nutr**, v. 137, n. 12, p. 2629-2634, dez. 2007.
110. MORRIS, M.C.; SACKS, F.; ROSNER, B. Does fish oil lower blood pressure? A meta- analysis of controlled trials. **Circulatio**, v. 88, n. 2, p. 523-533, ago. 1993.
111. MOSCA, L.; BENJAMIN E.J. Effectiveness-Based Guidelines for the Prevention of Cardiovascular Disease in Women 2011 Update: A Guideline From the American Heart Association. **Circulation**, v.123, n. 11, p. 1243-62, mar. 2011.
112. MOZAFFARIAN, D.; RIMM, E.B. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. **JAMA**, v. 296, n. 18, p. 1885–99, out. 2006.
113. MSM - The Multiple Source Method [software disponível na internet]. Version 1.0.1. Potsdam: Department of Epidemiology of the German Institute of Human Nutrition; 2008-2011 [atualizado em 20 fev 2012; acesso em 07 jan 2013]. Disponível em <https://msm.dife.de/>.
114. NCSS Statistical Software. **Power Analysis Sample Size**. Kaysville, 2005.
115. NESCHEN, S.; MORINO, K.; DONG, J.; WANG-FISCHER, Y.; CLINE, G.W.; ROMANELLI, A.J.; ET AL. N-3 Fatty acids preserve insulin sensitivity in vivo in a peroxisome proliferator-activated receptor-alpha-dependent manner. **Diabetes**, v. 56, n. 4, p.1034–1041, abr. 2007.
116. NESCOLARDE, L.; PICCOLI, A.; ROMÁN, A.; NÚÑEZ, A.; MORALES, R.; TAMAYO, J.; DOÑATE, T.; ROSELL, J. Bioelectrical impedance vector analysis in haemodialysis patients: relation between oedema and mortality. **Physiol Meas**, v. 25, n. 5, p. 1271-1280, out. 2004.
117. NESTEL, P.; SHIGE, H.; POMEROY, S.; CEHUN, M.; ABBEY, M.; RAEDERSTORFF, D. The n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid increase systemic arterial compliance in humans. **Am J Clin Nutr**, v. 76, n. 2, p. 326-330, ago. 2002.

118. NI MHURCHU, C.; RODGERS, A.; PAN, W.H.; GU, D.F.; WOODWARD, M. Body mass index and cardiovascular disease in the Asia-Pacific Region: an overview of 33 cohorts involving 310,000 participants. **Int J Epidemiol**, v. 33, n. 4, p. 751-759, ago. 2004.
119. NIMURA, N., KINOSHITA, T. Fluorescent Labeling Of Fatty Acids With 9-Anthryldiazomethane (ADAM) For High-Performance Liquid -Chromatography. **Anal Lett**, v.13, n. 3, p. 191 - 202. 1980.
120. OLEFSKY, J.M.; GLASS, C.K. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. **Annu Rev Physiol**, v. 72, p. 219-246, mar. 2010.
121. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. The problem of overweight and obesity. In obesity: preventing and managing the global epidemic. **Série de Relatos Técnicos**. Genebra, 2000.
122. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global status report on noncommunicable diseases 2010. **Série de Relatos Técnicos**. Genebra, 2010.
123. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global Atlas on Cardiovascular Disease, Prevention and Control. **Série de Relatos Técnicos**. Genebra, 2011.
124. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Noncommunicable diseases country profiles. **Série de Relatos Técnicos**. Genebra, 2011b.
125. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. Salud, bienestar y envejecimiento (SABE) en américa latina y Caribe. **Informe preliminar**. Washington, 2001.
126. PARRA, D.; RAMEL, A.; BANDARRA, N.; KIELY, M.; MARTINEZ, J.; THORSODOTTIR, I. A diet rich in long chain omega 3 fatty acids modulates satiety in overweight and obese volunteers during weight loss. *Appetite*, v. 51, n. 3, p. 676-680, nov. 2008.
127. PELIKÁNOVÁ, T.; KOHOUT, M.; VÁLEK, J.; KAZDOVÁ, L.; BASE, J. Metabolic effects of omega-3 fatty acids in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. **Ann NY Acad Sci**, v. 683, p. 272-278, jun. 1993.

128. PEREZ-ECHARRI, N.; PEREZ-MATUTE, P.; MARCOS-GOMEZ, B.; BAENA, M.J.; MARTI, A.; MARTINEZ, J.A.; MORENO-ALIAGA, M.J. Differential inflammatory status in rats susceptible or resistant to diet-induced obesity: effects of EPA ethyl ester treatment. **Eur J Nutr**, v. 47, n. 7, p. 380–386, out. 2008.
129. PEREZ-ECHARRI, N.; PEREZ-MATUTE, P.; MARCOS-GOMEZ, B.; MARTINEZ, J.A.; MORENO-ALIAGA, M.J. Effects of eicosapentaenoic acid ethyl ester on vis- fatin and apelin in lean and overweight (cafeteria diet-fed) rats. **Br J Nutr**, v. 101, n. 2, p.1059–1067, abr. 2009.
130. PÉREZ-MATUTE, P.; PÉREZ-ECHARRI, N.; MARTÍNEZ, J.A.; MARTI, A.; MORENO-ALIAGA, M.J. Eicosapentaenoic acid actions on adiposity and insulin resistance in control and high-fat-fed rats: role of apoptosis, adiponectin and tumour necrosis factor- α . **Br J Nutr**, v. 97, n. 2, p. 389-98, fev. 2007.
131. PICCOLI, A.; ROSSI, B.; PILLON, L.; BUCCIANTE, G. A new method for monitoring body fluid variation by bioimpedance analysis: the RXc graph. **Kidney Int**, v. 46, n. 2, p. 534-539, ago. 1994.
132. PICCOLI, A. Identification of operational clues to dry weight prescription in hemodialysis using bioimpedance vector analysis. The Italian Hemodialysis-Bioelectrical Impedance Analysis (HD-BIA) Study Group. **Kidney Int**, v. 53, n. 4, p. 1036-1043, abr. 1998.
133. PICCOLI, A.; BRUNANI, A.; SAVIA, G.; PILLON, L.; FAVARO, E.; BERSELLI, M.; CAVAGNINI, F. Discriminating between body fat and fluid changes in the obese adult using bioimpedance vector analysis. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 22, n. 2, p. 97-104, feb. 1998.
134. PICCOLI, A.; PITTONI, G.; FACCO, E.; FAVARO, E.; PILLON, L. Relationship between central venous pressure and bioimpedance vector analysis in critically ill patients. **Crit Care Med**, v. 28, n. 1, p. 132-137, jan. 2000.

135. PICCOLI, A.; PASTORI, G. BIVA software. Department of Medical Surgical Sciences, University of Padova, Italy; 2002.
136. PICCOLI, A.; CODOGNOTTO, M. Bioimpedance vector migration up to three days after the hemodialysis session. **Kidney Int**, v. 66, n. 5, p. 2091-2092, nov. 2004.
137. PICCOLI, A. Bioelectric impedance vector distribution in peritoneal dialysis patients with different hydration status. **Kidney Int**, v. 65, n. 3, p. 1050-1063, mar. 2004.
138. POIRIER, P.; GILES, T.D.; BRAY, G.A.; HONG, Y.; STERN, J.S.; PI-SUNYER, F.X.; ET AL. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**, v. 113, n. 6, p. 898-918, fev. 2006.
139. POWER, G.; NEWSHOLME, E. Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle. **J Nutr**, v. 127, n. 11, p. 2142-2150, nov. 1997.
140. PRICE, P.T.; NELSON, C.M.; CLARKE, S.D. Omega-3 polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. **Curr Opin Lipidol**, v. 11, n. 1 p. 3–7, fev. 2000.
141. PUGLISI, M.J.; HASTY, A.H.; SARASWATHI, V. The role of adipose tissue in mediating the beneficial effects of dietary fish oil. **J Nutr Biochem**, v. 22, n. 2, p. 101–108, fev. 2011.
142. RODRIGUEZ, J.C.; GIL-GOMEZ, G.; HEGARDT, F.G.; HARO, D. Peroxisome proliferator- activated receptor mediates induction of the mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase gene by fatty acids. **J Biol Chem**, v. 269, n. 29, p. 18767–18772, jul. 1994.
143. ROSSI, A.; LOMBARDO, Y.; LACORTE, J.; ET AL. Dietary fish oil positively regulates plasma leptin and adiponectin levels in sucrose-fed, insulin-resistant rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 289, n. 2, p. R486-94, ago. 2005.

144. RUZICKOVA, J.; ROSSMEISL, M.; PRAZAK, T.; FLACHS, P.; SPONAROVA, J.; VECK, M.; ET AL. Omega-3 PUFA of marine origin limit diet-induced obesity in mice by reducing cellularity of adipose tissue. **Lipids**, v. 39, n. 12, p. 1177-1185, dez. 2004.
145. SAMAHA, F.F.; IQBAL, N.; SESHADRI, P.; CHICANO, K.L.; DAILY, D.A.; MCGRORY, J.; ET AL. A low- carbohydrate as compared with a low-fat diet in severe obesity. **N Engl J Med**, v. 348, n. 21, p. 2074–81, mai. 2003.
146. SCHOONJANS, K.; STAELS, B.; AUWERX, J. Role of the peroxisome proliferator- activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. **J Lipid Res**, v. 37, n. 5, p. 907–925, mai. 1996.
147. SCHOONJANS, K.; PEINADO-ONSURBE, J.; LEFEBVRE, A.M.; HEYMAN, R.A.; BRIGGS, M.; DEEB, S.; ET AL. PPAR alpha and PPAR gamma activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPRE in the lipoprotein lipase gene. **EMBO J**, v. 15, n. 19, p. 5336–5348, out. 1996b.
148. SCHRAUWEN, P.; WALDER, K.; RAVUSSIN, E. Human uncoupling proteins and obesity. **Obes Res**, v. 7, n.1, p. 97–105, jan. 1999.
149. SENER, A.; ZHANG, Y.; BULUR, N.; LOUCHAMI, K.; MALAISSE, W.J.; CARPENTIER, Y.A. The metabolic syndrome of omega3-depleted rats II. Body weight, adipose tissue mass and glycemic homeostasis. **Int J Mol Med**, v. 24, n. 1, p. 125–129, jul. 2009.
150. SPSS INCORPORATION. Statistical Package for the Social Sciences for Windows Student Version/ SPSS [computer program]. Release 20.0. Chicago: Marketing Department; 2010.
151. STERN, S.E.; WILLIAMS, K.; FERRANNINI, E.; DEFRONZO, R.A.; BOGARDUS, C.; STERN, MP. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. **Diabetes**, v. 54, n. 2, p. 333-339, fev. 2005.

152. STORLIEN, L.H.; KRAEGEN, E.W.; CHISHOLM, D.J.; FORD, G.L.; BRUCE, D.G.; PASCOE, W.S. Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats. **Science**, v. 237, n. 4817, p. 885-888, ago. 1987.
153. TAKAHASHI, Y.; IDE, T. Dietary n-3 fatty acids affect mRNA level of brown adipose tissue uncoupling protein 1, and white adipose tissue leptin and glucose transporter 4 in the rat. **Br J Nutr**, v. 84, n. 2, p. 175-84, ago. 2000.
154. THE OXFORD CENTRE FOR DIABETES: HOMA Calculator. Versão 2.2.2. Oxford. Endocrinology & Metabolism. Diabetes Trial Unit, 2004. Disponível em: <<http://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/download.php>>. Acesso em 01 fev 2014.
155. THORSODOTTIR, I.; TOMASSON, H.; GUNNARSDOTTIR, I.; GISLADOTTIR, E.; KIELY, M.; PARRA, M.; BANDARRA, N.; SCHAAFSMA, G.; MARTINE, J. Randomized trial of weight-loss-diets for young adults varying in fish and fish oil content. **Int J Obes**, v. 31, n. 10, p. 1560-66, out. 2007.
156. TODORIC, J.; LÖFFLER, M.; HUBER, J.; BILBAN, M.; REIMERS, M.; KADL, A.; ET AL. Adipose tissue inflammation induced by high-fat diet in obese diabetic mice is prevented by n-3 polyunsaturated fatty acids. **Diabetologia**, v. 49, n. 9, p. 2109-2119, set. 2006.
157. UESHIMA, H.; STAMLER, J.; ELLIOTT, P.; CHAN, Q.; BROWN, I.J.; CARNETHON, M.R.; ET AL. Food omega-3 fatty acid intake of individuals (total, linolenic acid, long-chain) and their blood pressure: INTERMAP study. **Hypertension**, v. 50, n. 2, p. 313-319, ago. 2007.
158. VARANASI, U.; CHU, R.; HUANG, Q.; CASTELLON, R.; YELDANDI, A.V.; REDDY, J.K. Identification of a peroxisome proliferator-responsive element upstream of the human peroxisomal fatty acyl coenzyme A oxidase gene. **J Biol Chem**, v. 271, n.4, p. 2147-2155, jan. 1996.

159. WANG, H.; STORLIEN, L.H.; HUANG, X-F. Effects of dietary fat types on body fatness, leptin and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 282, n. 6, p. 1352E–59E, jun. 2002.
160. WARNER, J.G.; ULLRICH, I.H.; ALBRINK, M.J.; YEATER, R.A. Combined effects of aerobic exercise and omega-3 fatty acids in hyperlipidemic persons. **Med Sci Sports Exerc**, v. 21, n. 5, p. 498-505, out. 1989.
161. WEI, M.Y.; JACOBSON, T.A. Effects of eicosapentaenoic acid versus docosahexaenoic acid on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. **Curr Atheroscler Rep**, v. 13, n. 6, p. 474-483, dez. 2011.
162. WEITZ, D.; WEINTRAUB, H.; FISHER, E.; SCHWARTZBARD, A.Z. Fish oil for the treatment of cardiovascular disease. **Cardiol Rev**, v. 18, n. 5, p. 258-263, set. 2010.
163. WELLEN, K.E.; HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammation, stress, and diabetes. **J Clin Invest**, v. 115, n. 5, p. 1111-1119, mai. 2005.
164. WILLET, W., STAMPFER, M. Implications of total energy intake for epidemiologic analyses. **Nutritional epidemiology**. 2 ed. New York: Oxford University Press. 1998.
165. XU, H.; BARNES, G.T.; YANG, Q.; TAN, G.; YANG, D.; CHOU, C.J.; ET AL. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **J Clin Invest**, v. 112, n. 12, p. 1821-1830, dec. 2003.
166. ZIMMERMANN, R.; STRAUSS, J.G.; HAEMMERLE, G.; SCHOISWOHL, G.; BIRNER-GRUENBERGER, R.; RIEDERER, M.; ET AL. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. **Science**, v. 306, n. 5700, p. 1383–1386, nov. 2004.

10. ANEXOS

Anexo 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **Propriedades físico-químicas da LDL e da HDL, marcadores cardiometabólicos e oxidativos podem ser modulados pelo consumo de ômega-3, ômega-6 e ômega-9 em indivíduos com risco cardiovascular intermediário?**

O motivo que nos leva a estudar esses pacientes é o fato de que as doenças do coração e das veias são um dos principais problemas de Saúde Pública no mundo, sendo provável que os hábitos alimentares mudem a ocorrência dessas doenças. A pesquisa se justifica pela necessidade de avaliar o efeito do consumo de diferentes tipos de gordura sobre os fatores de risco (colesterol alto, pressão e outros parâmetros clínicos e laboratoriais). Portanto, o objetivo desse projeto é avaliar o efeito do consumo de cápsulas de ômega-3, ômega-6 ou ômega-9 sobre fatores de risco cardíacos de indivíduos sob atendimento ambulatorial. O procedimento de coleta de material será da seguinte forma: será coletada uma amostra de sangue e também serão aplicados questionários para avaliar seu nível socioeconômico, clínico, nível de atividade física habitual e sua dieta. Esses questionários serão aplicados em três momentos (Basal, 4 semanas e 8 semanas). Após a coleta dos dados basais, cada indivíduo será incluído aleatoriamente num dos quatro grupos de intervenção (Ômega-3, Ômega-6, Ômega-9, Placebo).

DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS: Existem desconfortos e riscos mínimos que envolvem mudanças no hálito, coceira e eventualmente pequeno aumento no tempo necessário para parar um sangramento. Além disso, pequenas manchas no local de punção, relacionada a coleta de sangue. Entretanto, esses desconfortos se justificam pelo benefício que essa pesquisa trará se identificarmos o papel desses ácidos graxos nos fatores de risco para doença do coração. O risco com a intervenção é considerado mínimo, pois as gorduras a serem fornecidas já fazem parte do hábito alimentar da população brasileira. Além da disponibilização de meios de contato 24h com a equipe de pesquisadores, ao término do estudo, você receberá os resultados de todos os exames, assim como será oferecida orientação nutricional verbal e documentada de modo a permitir que você incorpore a melhor intervenção ao seu hábito alimentar.

FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA: Em caso de algum efeito adverso a sua saúde, os pesquisadores devem ser avisados imediatamente e esses darão orientação e assistência clínica e nutricional a você.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões éticos de sigilo. Os resultados dos exames clínicos e laboratoriais não serão revelados. Seu nome ou o material que indique a sua participação não

será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e outra será fornecida a você.

RESSARCIMENTO: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será oferecida nenhuma compensação financeira adicional. Os eventuais gastos com transporte serão ressarcidos a você e ao término de cada etapa será oferecido gratuitamente um lanche, pois em todos os dias de coleta você precisará vir ao hospital em jejum.

DECLARAÇÃO DA(O) PARTICIPANTE: Eu, _____, sexo _____, residente à rua _____, tel.: _____, data de nascimento ____/____/____, CPF nº _____, fui informada(o) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações ou desistir de participar desta pesquisa se assim o desejar. A professora coordenadora do estudo Profa. Dra. Nagila Raquel Teixeira Damasceno ou um dos membros da equipe certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Em caso de dúvidas, intercorrências clínicas ou reações adversas poderei chamar qualquer membro da equipe ou a coordenadora do estudo Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno nos telefones (11) 3061-7865, 3091 9538, 2369 8581 (disponível 24h) ou pelo email cardionutri@gmail.com, localizada na Faculdade de Saúde Pública, Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira Cesar, CEP 01246-904, São Paulo. Declaro ainda que fui informado(a) que esse protocolo de pesquisa esta de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública (CEP FSP, tel.: 3061 7779 ou 3061 7742) e do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário (CEP HU, tel: 30919457).

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

Nome	Assinatura do Participante	Data
Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
Nome	Assinatura da Testemunha	Data

Anexo 2: Livro do Paciente

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Saúde Pública

Hospital Universitário

Departamento de Nutrição

Serviço de Nutrição e Dietética

Nome: _____

ID: _____

Pesquisador: _____

DIÁRIO DO PARTICIPANTE

Prezado Sr(a).,

O projeto CARDIONUTRI tem como objetivo avaliar o efeito do consumo de determinados tipos de gorduras (ômega-3, ômega-6, ômega-9 ou placebo) sobre diversos parâmetros cardiometabólicos, ou seja, sobre variáveis relacionadas com a saúde do seu coração. Portanto, sua colaboração por meio do uso correto das cápsulas, comparecimento em todas as consultas e registro de todas as informações solicitadas neste diário é fundamental para a veracidade dos resultados obtidos. Desde já, agradecemos sua participação e nos colocamos à disposição para esclarecer todas as dúvidas que possam surgir durante o desenvolvimento desse estudo. Lembramos que ao término do estudo, o participante receberá todos os resultados dos seus exames.

Data início: _____ / _____ / _____

Data final: _____ / _____ / _____

OBS.: Não esqueça de trazer na próxima consulta o frasco e as cápsulas que sobrarem.

CONTATOS: Faculdade de Saúde Pública da USP – 3061 7865

Hospital Universitário da USP – 3091 9538

Pesquisadora Profa. Dra. Nágila Damasceno – 2369 8581

E-mail: cardionutri@gmail.com

SEMANA ____

Registre as intercorrências ocorridas durante o estudo. Preencha as questões abaixo:

1. O Sr.(a) dividiu o suplemento com outra pessoa? () Sim () Não

Se sim, com quem? _____

Por qual motivo? _____

2. O Sr.(a) consumiu a cápsula de qual forma?

() Puro

() Adicionado em _____

3. Preencha a tabela abaixo:

DIA / DATA	CÁPSULA 1	CAPSULA 2	CAPSULA 3
1 ____/____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____
2 ____/____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____
3 ____/____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____
4 ____/____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____
5 ____/____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____
6 ____/____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____
7 ____/____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____	Sr.(a) tomou? () S () N Se sim, horário _____ Se não, motivo _____

4. Sr.(a) apresentou algum dos sintomas abaixo?

DIA	AZIA	VÔMITO	GASES	DIARRÉIA
1	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
2	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
3	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
4	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
5	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
6	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
7	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N

DIA	CONSTIPAÇÃO	COCEIRA	SANGRAMENTO	OUTROS
1	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
2	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
3	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
4	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
5	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
6	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N
7	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N	☐ S ☐ N

Como esteve sua saúde no último mês?

Você sentiu/apresentou?

() febre

() dor de cabeça

() tontura

() desmaio

() mais fome

() maior disposição para realizar tarefas do dia-a-dia

() maior apetite sexual

() outros _____

Você fez alguma cirurgia?

() Sim () Não

Quando? _____

Qual(is): _____

Está tomando/ tomou algum medicamento, além do habitual?

() Sim () Não

Qual(is):

Por quê?

Quando?

Quanto?

Anexo 3: Cálculo de Escore de Risco de Framingham

Pontuação dos fatores de risco para doenças cardiovasculares em homens e mulheres

Pt	Idade, anos		HDL		Colesterol total		PAS não tratada		PAS tratada		Fumo		Diabetes	
	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H	M	H
-3							< 120	< 120						
-2			60+	60+										
-1			50-59	50-59					<120	<120				
0	30-34	30-34	45-49	45-49	< 160	< 160	120-129	120-129			Não	Não	Não	Não
1			35-44	35-44	160-199	160-199	130-139	130-139						
2	35-39	35-39	< 35	< 35		200-239	140-149	140-159	120-129	120-129				
3					200-239	240-279		160+	130-139	130-139	Sim			Sim
4	40-44				240-279	280+	150-159			140-159		Sim	Sim	
5	45-49	40-44			280+		160+		140-149	160+				
6		45-49							150-159					
7	50-54								160+					
8	55-59	50-54												
9	60-64													
10	65-69	55-59												
11	70-74	60-64												
12	75+	65-69												
13														
14		70-74												
15		75+												

Fonte: D'AGOSTINO et al., 2008; MOSCA et al., 2011.

M – Masculino; F – Feminino; Pt – Pontos.

Porcentagem de risco de doenças cardiovasculares para homens e mulheres

SEXO FEMININO				SEXO MASCULINO			
Pontos	Risco, %	Pontos	Risco, %	Pontos	Risco, %	Pontos	Risco, %
≤-2	<1	10	6,3	≤-3 or less	<1	9	7,9
-1	1,0	11	7,4	≤-2	1,1	10	9,4
0	1,1	12	8,6	-1	1,4	11	11,2
1	1,5	13	10,0	0	1,6	12	13,2
2	1,8	14	11,6	1	1,9	13	15,6
3	2,1	15	13,5	2	2,3	14	18,4
4	2,5	16	15,6	3	2,8	15	21,6
5	2,9	17	18,1	4	3,3	16	25,3
6	3,4	18	20,9	5	3,9	17	29,4
7	3,9	19	24,0	6	4,7	18+	>30
8	4,6	20	27,5	7	5,6		
9	5,4	21+	>30	8	6,7		

Fonte: D'AGOSTINO et al., 2008; MOSCA et al., 2011.

Anexo 4: Questionário Socioeconômico e Clínico

QUESTIONÁRIO SÓCIO-ECONÔMICO E CLÍNICO

A00 () Nº Cardionutri:	
A0 Data: / /	
A1 Nome:	A2 Data de nascimento: / /
Endereço:	
Bairro:	CEP:
Cidade:	Telefone Res:
Telefone Recado:	Telefone Celular:
A3 Sexo: 1()M 2()F	A4 Idade:
A9 Escolaridade: 1() Analfabeto 5() Ensino Médio Completo 2() Ensino Fundamental Incompleto 6() Ensino Superior Incompleto 3() Ensino Fundamental Completo 7() Ensino Superior Completo 4() Ensino Médio Incompleto 9() Outros:_____	
A6 Estado Civil: 1() Solteiro 2() Casado 3() Viúvo 4() Divorciado 5() Outros	
A7 Trabalha atualmente: 1() SIM 2() NÃO 3() Aposentado 4() Outros:_____	
A8 Profissão:_____	
A9 Escolaridade: 1() Analfabeto 5() Ensino Médio Completo 2() Ensino Fundamental Incompleto 6() Ensino Superior Incompleto 3() Ensino Fundamental Completo 7() Ensino Superior Completo 4() Ensino Médio Incompleto 9() Outros:_____	
A10 Quantas pessoas moram na sua casa?_____ A11 Quantas crianças?_____	
A12 Renda familiar mensal: 1() Menos que 1 SM 3() Entre 6 e 10 SM 2() Entre 1 e 5 SM 4() Mais que 10 SM	
A13 Fumante: 1() SIM 2() NÃO 3() EX-FUMANTE	
A14 Consome bebida alcoólica: 1() SIM 2() NÃO	
A15 Tipos de bebidas alcoólicas mais consumidas: 1() Cerveja 2() Vinho 3() Vodka 4() Cachaça 5() Outras:_____	
A16 Frequência de Consumo: 1() Diário 2() Semanal:_____ 3() Mensal:_____	
A17 Quantidade de bebida alcoólica ingerida no intervalo acima? _____	
A18 Consumo de outros tipos de drogas: 1() SIM 2() NÃO	
A19 Qual (s):_____	

A20 Possui alguma doença? 1() SIM 2() NÃO

A21 Qual doença:

1() Diabetes Mellitus 6() Insuficiência Renal Crônica
2() Hipertensão Arterial 7() Dislipidemia
3() Hipotireoidismo 8() Doença Auto-Imune
4() Doença Hepática 9() Doença Coronariana
5() Outras Qual (is)? _____

A22 Diagnóstico Clínico de DAC ou equivalente: 1() SIM 2() NÃO

A23 Qual diagnóstico:

1() História de Infarto do Miocárdio 7() Revascularização do Miocárdio
2() Angina 8() Angioplastia
3() Alterações eletrocardiográficas isquêmicas 9() Aterosclerose
4() Doença Arterial Periférica 10() Aneurisma de Aorta Abdominal
5() Doença Arterial Carotídea (ataque isquêmico transitório ou Acidente Vascular Cerebral de origem carotídea ou obstrução da carótida >50%)
6() Diabetes Mellitus 11() Outros: _____

A24 Fez algum tipo de cirurgia? 1() SIM 2() NÃO

A25 Qual (is)? _____

A26 Quando? _____

A27 Está usando algum Medicamento e/ou Suplemento? 1() SIM 2() NÃO

A28 Qual:

1() Estatinas 4() Ferro/Zinco
2() Anti-hipertensivo 5() Vitamina
3() Hipoglicemiante 6() Fibrato
7() Outro: _____

A29 Qual(is)? _____

A30 Posologia: _____

A31 Indicação: _____

A32 Você tem alguma alergia ou intolerância alimentar? 1() SIM 2() NÃO

A33 Qual (is): _____

A34 Antecedentes familiares de doenças crônicas? 1() SIM 2() NÃO

1() Pai
1() Obesidade 4() AVC
2() Hipertensão 5() Diabetes
3() Infarto 6() Doença vascular periférica 7() Outro: _____
2() Mãe
1() Obesidade 4() AVC
2() Hipertensão 5() Diabetes
3() Infarto 6() Doença vascular periférica 7() Outro: _____

A35 Gestante ou Lactante? 1() SIM 2() NÃO

A36 Está recendo algum tipo de orientação Nutricional? 1() SIM 2() NÃO

A37 Qual frequência? 1() Esporádica 2() Mensal 3() Trimestral 4() Semestral 5() Outras

Entrevistador: _____

Anexo 5: Questionário de Avaliação de Atividade Física Habitual

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL

NOME: _____ Nº CARDIONUTRI: _____

ENTREVISTADOR: _____

DATA: ____/____/____

Nos últimos doze meses:					
ATIVIDADE FÍSICA OCUPACIONAL					
1. Qual tem sido sua principal ocupação? _____	1		3		5
2. No trabalho o Sr(a) senta: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre	1	2	3	4	5
3. No trabalho o Sr(a) fica em pé: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre	1	2	3	4	5
4. No trabalho o Sr(a) anda: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre	1	2	3	4	5
5. No trabalho o Sr(a) carrega carga pesada: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre	1	2	3	4	5
6. Após o trabalho o Sr(a) carrega carga pesada: muito freqüentemente / freqüent. / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
7. No trabalho o Sr(a) sua: muito freqüentemente / freqüent. / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
8. Em comparação com outros da sua idade, o Sr(a) pensa que seu trabalho é fisicamente: muito mais pesado / mais pesado / tão pesado quanto / mais leve / muito mais leve	5	4	3	2	1
<i>Escore de AFO</i>					
EXERCÍCIO FÍSICO NO LAZER					
9. O Sr(a) pratica ou praticou esporte ou exercício físico nos últimos 12 meses: Sim / Não					
9.1 Qual esporte ou exercício você pratica ou praticou mais freqüentemente? _____	1		3		5
9.2 Quantas horas por semana? <1 1-2 2-3 3-4 >4	1	2	3	4	5
9.3 Quantos meses por ano? <1 1-3 4-6 7-9 >9	1	2	3	4	5
9.4 Se você faz ou fez um segundo esporte ou exercício físico, qual o tipo? _____	1		3		5
9.5 Quantas horas por semana? <1 1<2 2<3 3-4 >4	1	2	3	4	5
9.6 Quantos meses por ano? <1 1-3 4-6 7-9 >9	1	2	3	4	5
9.7 Resultado Final da Questão 9 0	1	2	3	4	5
10. Em comparação com outros da sua idade o Sr(a) pensa que sua atividade física durante as horas de lazer é: muito maior / maior / a mesma / menor / muito menor	5	4	3	2	1

11. Durante a horas de lazer o Sr(a) sua: muito freqüentemente / freqüentemente / algumas vezes / raramente / nunca	5	4	3	2	1
12. Durante as horas de lazer o Sr(a) pratica esporte ou exercício físico: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente	1	2	3	4	5
<i>Escore de EFL</i>					
ATIVIDADE FÍSICA DE LAZER E LOCOMOÇÃO					
13. Durante as horas de lazer o Sr(a) vê televisão: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente	1	2	3	4	5
14. Durante as horas de lazer o Sr(a) anda: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente	1	2	3	4	5
15. Durante as horas de lazer o Sr(a) anda de bicicleta: nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente	1	2	3	4	5
16. Durante quantos minutos por dia o Sr(a) anda a pé ou de bicicleta indo e voltando do trabalho, escola ou compras? <5 / 5-15 / 16-30 / 31-45 / >45	1	2	3	4	5
<i>Escore de ALL</i>					
<i>17. Somatória Total dos Pontos</i>					
<i>18. ESCORE TOTAL</i>					

Anexo 6: Composição Corporal, Eletrocardiograma e Pressão Arterial

COMPOSIÇÃO CORPORAL, ELETROCARDIOGRAMA E PRESSÃO ARTERIAL

NOME: _____ N° CARDIONUTRI: _____

DATA: ____/____/____

Composição corporal:

	T=0		T=8S	
Resistência	<u>A52</u>		<u>A60</u>	
Reactância	<u>A53</u>		<u>A61</u>	
% MG (BIA)	<u>A54</u>		<u>A62</u>	
%MM (BIA)	<u>A55</u>		<u>A63</u>	

Eletrocardiograma:

A64 Valor do ponto E no Heart Square: _____, _____ cm

A65 Valor de V4 no HeartSquare: _____, _____ cm

A66 Tempo (mm:ss): _____: _____

A67 Qualidade do traçado (1 – péssimo a 5 – excelente): [] 1 [] 2 [] 3 [] 4 [] 5

A68 Se a qualidade for abaixo de 4, descreva quais os problemas e em quais derivações estes ocorreram:

Pressão arterial:

	T=0		T=8S	
PAD1 x PAS 1	<u>A69</u>		<u>A81</u>	
PAD2 x PAS 2	<u>A70</u>		<u>A82</u>	
PAD3 x PAD3	<u>A71</u>		<u>A83</u>	
FC1	<u>A72</u>		<u>A84</u>	
FC2	<u>A73</u>		<u>A85</u>	
FC3	<u>A74</u>		<u>A86</u>	

Entrevistador (T=0): _____

Entrevistador (T=8S): _____

Anexo 7: Parâmetros Antropométricos

PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS

NOME: _____ Nº CARDIONUTRI: _____

DATA: ____/____/____

	T=0		T=8	
Altura (m)	<u>A40</u>			
Peso (kg)	<u>A41</u>		<u>A49</u>	
IMC (kg/m ²)	<u>A42</u>		<u>A50</u>	
CC (cm)	<u>A43</u>		<u>A51</u>	

Entrevistador (T=0): _____

Entrevistador (T=8S): _____

Anexo 8: Recordatório Alimentar de 24h

RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24H

NOME: _____ N° CARDIONUTRI: _____

RECORDATÓRIO: 1 () 2 ()

DATA: ____/____/____ DIA DA SEMANA: ()dom ()seg ()ter ()qua ()qui ()sex ()Sab

Refeição/Horário	Alimentos ou Preparações	Quantidade (g,mL)	Medida Caseira	Marca Comercial

Entrevistador: _____

Tempo da entrevista: _____

Anexo 9: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP
Faculdade de Saúde Pública
Universidade de São Paulo

OF.COEP/208/12

27 de novembro de 2012.

Prezada pesquisadora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, em sua 10.ª/12 Sessão Extraordinária, realizada em 23/11/2012, analisou de acordo com a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares, o protocolo de pesquisa n.º 2264, intitulado "PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA LDL E DA HDL, MARCADORES CARDIOMETABÓLICOS E OXIDATIVOS PODEM SER MODULADOS PELO CONSUMO DE ÔMEGA-3, ÔMEGA-6 E ÔMEGA-9 EM INDIVÍDUOS COM RISCO CARDIOVASCULAR INTERMEDIÁRIO?", do grupo III, sob responsabilidade da pesquisadora Nágila Raquel Teixeira Damasceno, considerando APROVADO a inclusão de novas análises no projeto.

Cabe lembrar que, de acordo com a Res. CNS 196/96, são deveres do(a) pesquisador(a): 1) Comunicar de imediato qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste Comitê de Ética em Pesquisa para dar continuidade à pesquisa; 2) Manter sob sua guarda e em local seguro, pelo prazo de 5 (cinco) anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo COEP, no caso eventual auditoria; 3) Comunicar formalmente a este Comitê por ocasião do encerramento da pesquisa; 4) Elaborar e apresentar relatórios parciais e final; 5) Justificar perante o COEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Atenciosamente,

Prof. Tit. Claudio Leone
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa - FSP/USP

Ilm.ª Sr.ª
Prof.ª Dr.ª Nágila Raquel Teixeira Damasceno
Departamento de Nutrição
Faculdade de Saúde Pública/USP

Av. Dr. Arnaldo, 715 – Cerqueira César – CEP 01246-904 – São Paulo – SP
Contato: (55 11) 3061 7779 | coep@fsp.usp.br | www.fsp.usp.br

Anexo 10: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário

Fls. nº 109
CEPI/HU-USP

USP 75 ANOS

30 anos
hospital universitário
universidade de são paulo

São Paulo, 6 de agosto de 2011.

Ilmo(a) Sr(a),

Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno
Serviço de Nutrição e Dietética do Hospital Universitário
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

REFERENTE: **Projeto de Pesquisa** "Propriedade físico-químicas da LDL e da HDL, marcadores cardiometabólicos e oxidativos podem ser modulados pelo consumo de ômega-3, ômega-6 e ômega-9 em indivíduos com risco cardiovascular intermediário?" - **Pesquisador(a) responsável:** Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno - **Co-Autor(es):** Dr. Antonio Figueiredo, Dr. Magnus Ake Gidlund, Dra. Sayuri Miyamoto, Dr. Raul Cavalcante Maranhão, Dra. Dulcineia S. P. Abdalla, Dr. Rodrigo Diaz Olmos, Marlene Nuñez Aldin, Adriane Bueno Marangoni, Caröline Pappiane, Cláudia Assef Sanibal - **Registro CEP-HU/USP:** 1126/11 - **SISNEP CAAE:** 0063.0.207.198-11.

Prezado(a) Senhor(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em reunião ordinária realizada no dia 5 de agosto de 2011, analisou o Projeto de Pesquisa acima citado, considerando-o como **APROVADO**, bem como o seu **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**.

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final, em função da duração da pesquisa), de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, inciso IX.2, letra "c".

O primeiro relatório está previsto para 5 de agosto de 2012.

Atenciosamente,

Dr. Mauricio Seckler
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário da USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP
Avenida Professor Lineu Prestes, 2565 - Cidade Universitária - 05508-000 - São Paulo - SP
Tels.: (11) 3091-9457 - Fax: (11) 3091-9479 - E-mail: cep@hu.usp.br

Anexo 11: Artigo – The Lipid Accumulation Product is associated with classical and new cardiovascular biomarkers

Flávia De Conti Cartolano¹, Caroline Pappiani¹, Maria Camila Prupper de Freitas¹, Antônio Augusto Ferreira Carioca¹, Nágila Raquel Teixeira Damasceno^{1*}

FDCC fdeconti@usp.br

CP c.pappiani@usp.br

MCPF camilaprupper@usp.br

AAFC dr.augusto@usp.br

NRTD nagila@usp.br

¹ Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil

* Correspondence: Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno; Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição; Av Doutor Arnaldo, 715; 01246-904, São Paulo, SP, Brasil; Phone number: +(55-11) 3061-7865; Fax number: +(55-11) 3061-7130; e-mail address: nagila@usp.br

Abstract

Background: Lipid accumulation product (LAP) index represents a simple tool able to identify individuals with traditional cardiovascular risk factors. However, its association with potential new biomarkers was not described in literature. **Objective:** The aim of this study was to correlate LAP index with classic and new biomarkers in Brazilian individuals. **Methods:** From a subsample (n=287) of the CARDIONUTRI study, a cross-sectional sample including patients of both genders and ages between 30-74 years was selected. Complete clinical, socio-demographic and familial history disease data were performed by validated methods. Blood samples were collected after 12h of fasting. Lipid profile (TC, LDL, HDL and TG, APO AI, APO B), NEFAs, PON1 and lipoprotein subclasses (size and concentration) were monitored. The particle size of LDL and HDL were analyzed by Lipoprint System® (Quantimetrix Corporation). Correlations of LAP index and cardiometabolic biomarkers were performed through Spearman's rank correlation and adjusted partial correlations. Statistical analysis was tested in the Statistical Package for the Social Sciences® (SPSS) 20.0 and the significance level was $p < 0.05$. **Results:** Results showed predominance of females (>60%), high prevalence of chronic disease (>85%) and high use of drugs (>75%). Women had significantly greater values for HDL-C, Apo AI, NEFAs, percentage of large LDL and body fat. Men, in turn, had significantly higher TG levels, percentage of small LDL, small and intermediate HDL, weight, and LAP index. The LAP index showed a robust positive correlation with Apo B, percentage of small LDL, fasting glucose and HOMA-IR, and a negative correlation with percentage of large HDL and LDL size, after the adjustment for age, sex, smoking and drugs use. **Conclusion:** LAP index may be regarded as a reliable marker for emerging cardiovascular risk factors in Brazilian individuals.

Keywords: LAP index, lipoprotein size, cardiovascular risk.

INTRODUCTION

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of premature morbidity and mortality worldwide, contributing significantly in the resources allocated to public policy programs. In general, atherosclerosis is the pathophysiological basis for the primary and secondary clinical events. This develops over decades insidiously and the first signs can be fatal or highly limiting (WHO, 2007).

In this context, public policy programs have proposed greater focus on prevention and modification of traditional risk factors - including hypertension, dyslipidemia, smoking and diabetes *mellitus* (DM) - which are the basis of all models of cardiovascular risk prediction. In addition, there is substantial interest in identifying novel risk factors for CVD, with a view to better understanding of diseases and cases that cannot be explained by classical risk factors. These cardiovascular risk factors involve measurable biochemical markers in serum or plasma (WANG, 2008).

High-density lipoproteins associated with cholesterol (HDL-C) and low-density lipoprotein associated cholesterol (LDL-C) have been amply used as a biochemical marker to estimate cardiovascular risk in adult. However, currently, functionality of these particles from their structural and physical characteristics that include oxidative changes and the size of the particles are focus of many studies (SVIRIDOV e NESTEL, 2002; RADER, 2002; MEYERS e KSHYAP, 2004; HIRAYAMA e MIDA, 2012; NIKOLIC et al., 2013).

The Lipid Accumulation Product (LAP), proposed in 2005, innovates by combining of anthropometric (waist circumference - WC) and biochemical (fasting

triglycerides - TG) parameters in its formula. The LAP was proposed by Kahn (2005) as the best indicator to follow adults with cardiovascular risk, conform observed among adults participating in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III).

Whereas WC is a measure of body fat deposit and plasma levels of TG is related to central obesity, this finding supports the idea that this index reflects the combination of anatomical and physiological changes associated with increased accumulation of lipids in adults. The LAP index, developed to estimate the risk associated with changes in the relationship between the accumulation of visceral adipose tissue and lipid metabolism, has been used as a marker of morbidities associated with obesity, being more related to cardiovascular risk and mortality than body mass index (BMI) (KAHN, 2005).

Few articles about LAP index in Brazilian population are found (WILTGEN et al., 2009; COSTA et al., 2010; WEHR et al., 2011; MATURANA et al., 2011; PONTES et al., 2012). Moreover, they all correlate index LAP only with classic risk factors for CVD. Researches correlating this index with emerging risk factors such as the size and functionality of lipoproteins are necessary.

Therefore, given the lack of research in this population with investigative focus on evaluation of LAP index, the aim of this study was to correlate LAP with classic and emerging cardiovascular risk factors in Brazilian adults.

METHODS

Subjects and Methods

For the present study, it was selected a sub-sample with 287 adults at baseline time from CARDIONUTRI trial (a controlled, randomized, double blind, 8-week follow-up, based on nutritional intervention). The population consisted of adults and both sexes. Individuals were recruited from University Hospital at University of Sao Paulo in Sao Paulo between August 2011 and July 2012. Inclusion criteria were: 30 to 74 years old and presence of at least one of these risk factors for cardiovascular diseases (dyslipidemia, diabetes *mellitus* and/or hypertension). Pregnant or lactating; individuals who participate in other intervention protocols; previous cardiovascular event (assessed by ECG), illicit drug users and alcoholics were not enrolled in this protocol. This study was approved by the Ethics Committee in Research of the University Hospital (n° 1126/11) and School of Public Health – University of Sao Paulo (n° 2264). All subjects gave their written informed consent.

Demographic and clinic profile

The demographic profile was evaluated using a pre-structured questionnaire addressing the items gender, age and ethnicity. The clinical evaluation consisted of the current information on medical history, family history of chronic diseases (father and mother) and regular use of medication.

Anthropometric parameters

Weight and height were taken to the nearest 0.1 kg and 0.1 cm, respectively, with method and equipment standardized. Body mass index (BMI) was calculated as

weight (kg) divided by the square of the standing height (m^2). Using an inelastic tape, flexible, precision 1.0 mm (TBW[®], Sao Paulo, Brazil) the measurement of waist circumference (WC) was obtained. Body composition was evaluated by bioelectrical impedance (BIA) (Analyzer[®] model Quantum II, RJL Systems, Michigan, USA). The calculation of body fat percentage was performed using the Cyprus program, version 2.5 - Body Composition Analysis System (RJL Systems[®], Detroit, USA), which were considered sex, age, weight, height, level of physical activity, resistance and reactance.

Blood samples

After 12h of fasting, 20 mL blood samples were collected. For analyzes using serum, blood was collected in dry tubes with separation gel. For plasma glucose, blood was collected in tubes with sodium fluoride. For analyzes using plasma, blood was collected in vacutainer tubes containing ethylenediamine tetraacetic acid - EDTA (1.0 μ g/mL). In the samples, the following protease inhibitors were added: aprotinin (10.0 μ g/ml), benzamidine (10.0 μ M) and phenylmethylsulfonyl fluoride - PMSF (5.0 μ M) plus the antioxidant butylated hydroxytoluene – BHT (100.0 μ M). Plasma and serum was separated by centrifugation at 3000rpm for 10 minutes at 4°C and samples were kept frozen at –80°C until analysis.

Biochemical Analysis

Plasma triacylglycerols (TG), total cholesterol (TC), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels were measured using commercial kits from Labtest[®] (Minas Gerais, Brazil). Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was calculated using the Friedewald (1972) equation. The apolipoprotein Apo B and Apo

AI were determined by standard methods, using the Autokit APO A1 and APO B[®] (Wako Chemicals USA Inc., Richmond, VA, USA). Non-esterified fatty acids (NEFA) levels were determined using commercial kit (Free Fatty Acid Quantification Kit[®], Wako Chemicals USA Inc., Richmond, VA, USA). Paraoxonase-1 (PON1) activity was determined by adding 500 µl of 0.1M Tris-HCl buffer and pH 8.05, containing 2mmol/L CaCl₂ and 1.1mmol/L paraoxon[®] (Sigma Chemical Co.) in 25µl of serum, according Mackness *et al.* (1991), and the results were expressed in nmol min⁻¹. ml⁻¹. The size of the lipoproteins (HDL, LDL) was determined by the Lipoprint[®] system based on the separation and quantification of lipoprotein subfractions through non denaturing polyacrylamide gel. The system uses a lipophilic dye, which binds to cholesterol in lipoprotein particles. After electrophoresis samples are scanned to determine the relative area of each lipoprotein sub fraction that is multiplied by total sample cholesterol to calculate the relative amount of cholesterol in each sub fraction. The results allow the identification of seven sub fractions of LDL, and the LDL1 and LDL2 sub fraction were classified as large LDL and sub fractions LDL3 to LDL7, were classified as a smaller and denser particles. For HDL, were identified ten sub fractions, that it was classified in large (HDL1 to HDL3), intermediate (HDL4 to HDL7) and small (HDL8 to HDL10). Glucose level was analyzed by the commercial, enzymatic and colorimetric kit (Glucose PAP Liquiform[®], Labtest, Minas Gerais, Brazil). The detection of plasma insulin was performed by commercial kit Insulin Human Direct ELISA Kit[®] (Life Technologies, Grand Island, NY). Insulin resistance was calculated by homeostasis model assessment-insulin resistance, where $HOMA-IR = \frac{[fasting\ insulin\ concentration\ (U/mL) \times fasting\ glucose\ (mmol/L)]}{22.5}$ (MATTHEWS *et al.*, 1985).

All analyzes were conducted in duplicate and coefficient of variance intra and inter assay were 1-5.8% and 0.5-15%, respectively.

Lipid Accumulation Product (LAP)

The index was calculated using the following formula, for women: $(WC_{[cm]} - 58) \times (TG_{[mmol/l]})$ and men: $(WC_{[cm]} - 65) \times (TG_{[mmol/l]})$. The formula includes the minimum sex-specific WC values for both sexes (KAHN, 2003).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®), version 20.0. A two-sided P value < 0.05 was considered statistically significant. The Kolmogorov-Smirnov test ($p > 0.05$) was applied to assess normality of data. Continuous variables that were normally distributed are presented as mean values and their standard deviations (SD) whilst non-normally distributed data are presented as medians and 25th and 75th percentiles. Categorical variables are presented as absolute values (n) and percentage (%). Comparison between groups was performed using the Student's t-test for normally distributed data. Non-normally distributed data were analyzed using non-parametric Mann-Whitney U tests. Categorical variables were compared using the Pearson Chi-Square or Fisher's Exact Test. Relationships between LAP and raw data of the biochemical variables were evaluated using Spearman's rank correlation. Adjusted partial correlations were conducted for the following models: A was adjusted only for sex and B, for sex, age, smoking, and use of statin, fibrate and hypoglycaemic drugs.

RESULTS

The characteristics of the 287 subjects are shown in **Table 1**. The average age of the subjects was 49.8 years for men (range: 30–72 years) and 55.1 years for women (range: 30–74 years). More than 80% of the total population had a prior disease at the time of screening. The percentage of women receiving drug therapy was significantly higher than in men. Prevalence of family history of chronic diseases was higher in men.

In **Table 2** are described biochemical and anthropometric parameters of the subjects. The waist circumference values were significantly higher in men, as well as triacylglycerol levels, percentage of small LDL, small and intermediate HDL, weight, and LAP index. The women, in turn, had significantly greater body fat, HDL-C, Apo AI, NEFAs, LDL size and percentage of large LDL.

The results of the correlations between LAP index and biochemical variables are shown in **Table 3**. In unadjusted model (raw data), there were positive correlations between LAP and percentage of small LDL, percentage of small and intermediate HDL, fasting glucose, fasting insulin and HOMA-IR. In addition, there were significant negative correlations between LAP and HDL-C, percentage of large HDL and LDL size. The positive correlation with TC, Apo B and NEFAs and the negative correlation with Apo AI and percentage of large LDL were both significant, but weak.

In Model A, effect of sex was observed in correlations between LAP and Apo AI and percentage of large LDL. However, there was an improvement in the

correlation with TC, Apo B, NEFAs, percentage of small LDL and small HDL, LDL size and fasting glucose after sex-adjust.

The adjustment for sex, age, smoking, use of statin, fibrate and hypoglycaemic (Model B) followed the same pattern of results, indicating that even with adjustment for variables known to interfere with lipid metabolism and glucose, the correlation between LAP index and cardiometabolic biomarkers were independent of these confounders.

DISCUSSION

The present study shows that, in general population and sex-stratified, LAP has significant association with classical and new cardiovascular biomarkers. These associations were particularly robust when LAP was related to size of LDL and HDL lipoparticles.

Previously, Kahn and Valdez (2003) evaluating a transversal sample from National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) described that individuals with elevate waist circumference (WC) and triacylglycerol (TG) were more likely to adverse levels of HDL-C, Apo B, insulin and glucose. After two years, the LAP index showed to be a better predictor of the incidence of cardiovascular disease (CVD) than body mass index (BMI) in terms of ability to identify cardiovascular risk in adults (KAHN, 2005). Later, Kahn (2006) confirmed that LAP index was superior to BMI for recognize adults with diabetes *mellitus* (DM) and for predicting unbalance in glucometabolic variables (HOMA-IR, fasting glucose and glycated hemoglobin). Similar results were found in studies performed in Brazil, Iran and Korea, in which LAP index was a better marker for abnormal glucose regulation

and stronger predictor of DM than BMI (WILTGEN et al., 2009; BOZORGMANESH et al., 2010; OH et al., 2013). The present study confirms the sensibility of LAP index to identify dysfunctions related to glucose metabolism (increase of glucose, insulin and HOMA-IR), even after the adjustment for use of drugs.

Currently, there is substantial interest in identifying novel risk factors for CVD, in an effort to improve CVD risk prediction, as well, to better understand diseases and cases that cannot be explained by classic cardiovascular risk factors. It has been proposed that cardiometabolic risk includes not only WC, blood pressure, HDL-C, LDL-C, TG and other classic risk factors (age, sex, ethnicity, physical activity, smoking), but also biochemical markers measurable in serum or plasma, like apolipoproteins (Apo AI and B) (CHEUNG, et al., 1991; CHEN et al., 1994), non-esterified fatty acids (NEFAs) (PAOLISSO et al., 1995; MORITA et al., 2012), and size of lipoproteins (HIRAYAMA e MIIDA, 2012)

The importance of LDL-C in the development of atherosclerosis has been recognized, however, some individuals with normal LDL-C levels show cardiovascular events, indicating that other risk factors related or not with LDL-C exert a role in atherosclerosis. Epidemiological evidence shows that increased proportion of small and dense LDL particles is strongly associated with the risk of coronary heart disease (CHD) (CHEUNG et al., 1991; ASZTALOS et al., 2004; KRAUSS, 2010). Individuals with elevated plasma concentrations of small and dense LDL-C are at risk 3-7 times greater risk of developing coronary artery disease (CAD), independent of LDL-C in plasma (NIKOLIC et al., 2013).

Smaller and denser LDL, named phenotype A, has been proposed such as sub fraction of LDL more atherogenic than large LDL. This particle remains for more long time in plasma (KOBAYASHI et al., 2002; YOSHIDA et al., 2004), not bind to B/E receptor, in opposite the high affinity to scavenger receptor (TENG et al., 1986; GALEANO et al., 1994; CHEN et al., 1994; GALEANO et al., 1998), be more susceptible to oxidation (DE GRAAF et al., 1991; DEJAGER et al., 1993; TAN et al., 1999), and migrate to sub endothelial space more easily (NORDESTGAARD e ZILVERSMIT, 1989; BJORNHEDEN et al., 1996). Despite of this, relation between LAP and LDL size was not described previously in literature.

Reinforcing the negative role of small and dense LDL, Kwon et al. (2006) described that in a Korean population this particle was independently associated with the incidence and extend of CAD, confirming previous studies (CAMPOS et al., 1992; LAMARCHE et al., 1999). Several reports have also suggested a negative correlation between LDL size and risk of acute myocardial infarction (AUSTIN et al., 1988; STAMPFER et al., 1996). The similar way, small and dense LDL was associated with increased TG and decreased HDL-C levels (YOKOTA et al., 1996). Therefore, results presented in this study demonstrated for the first time that, in a Brazilian population above 30 years of age, the LAP index was significantly and robustly correlated with small LDL particle.

Contrary to high LDL-C level, low HDL-C level is accepted an independent risk factor of CVD (GORDON et al., 1977). In the last years, the role of HDL-C has been expanded on CVD and now, other properties of HDL-C are investigated as their action antithrombotic (VISWAMBHARAN et al., 2004) and modulate endothelial function (O'CONNELL e GENEST, 2001), probably by stimulating endothelial

nitric oxide (NO) production (ZEIHER e SCHACHINGER, 1994). HDL-C also possesses antioxidant and anti-inflammatory activities (NAVAB et al., 2000). Regarding size of the HDL-C, the larger HDL-C particles have a higher content Apo AI and are described as more effective in reverse cholesterol transport (RYE; CLAY; BARTER, 1999). Asztalos et al. (2004) showed a predominance of small rather than large of HDL-C particles among patients with CHD compared with control subjects. It was recently also suggested that small HDL-C particle size was associated with several features of the metabolic syndrome and risk of CAD (EL HARCHAOUI et al., 2009). In previous studies, Ballatyne et al. (1982) showed that an inverse correlation exist between larger HDL-C levels and myocardial infarction and Patsch et al. (1983) demonstrated a negative relationship between larger HDL-C levels and postprandial lipemia. Our results showed significant inverse relation between sub fractions of large HDL-C particles with LAP index. This is in agreement to the previously described, since the greater the LAP index, the higher the values of WC and TG, and thus, higher the cardiovascular risk – and probably lower the proportion of large HDL-C particles.

Our results also demonstrated a weak, but significant, correlation between NEFAs and LAP index. Epidemiological studies have reported positive associations between NEFAs and the risk of DM (PAOLISSO et al., 1995; BYRNE et al., 1999; CHARLES et al., 1997; PANKOW et al., 2004). Increased concentrations of NEFAs in individuals with visceral obesity were described to contribute to the development of various disorders such as peripheral insulin resistance, dyslipidemia and β -cell apoptosis (SARAFIDIS e BAKRIS, 2007). Our data showed values greater than or equal to NEFAs described in the literature (DJOUSSÉ et al., 2012; MORITA et al.,

2012), and this is compatible with the high values seen for HOMA-IR. However, no strong association with the values of LAP was observed, despite the good correlation between LAP index and HOMA-IR. Regarding that high content of NEFAs contributes to generation LDL(-), according proposed by SANCHEZ-QUESADA et al. (2004), its association with LAP confirms the influence of WC on metabolic disorders related to CVD.

Therefore, these results together show that LAP represents an easy, simple and low cost tool robustly associated with classical and emerging biomarkers for CVD risk factors. It is important to mention that the emerging risk factors are not easy to measure and have a high cost, and it almost impossible to apply on large scale. Thus, this cheap and easily measured parameter should be encouraged, principally in clinical practice. Despite of this, the transversal design of study impossibility to establish causal effect on clinical outcome, however, the positive results showed stimulate new approaches based in clinical trials and prospective cohorts.

CONCLUSION

In conclusion, LAP index is a simple, fast and cheap tool robustly correlated with classical and emerging markers of CVD, while shows potential clinical use. Therefore, further research should be undertaken in larger sample sizes and different ethnic groups aiming to confirm the advantages of LAP.

Statement of Authorship

FDCC, CP and MCPF wrote the manuscript, FDCC and AAFC performed data analysis, AAFC reviewed the manuscript and NRTD designed, drafted and critically reviewed the manuscript. All authors approved the final version of the manuscript.

Conflict of Interest

The authors declare no competing interests.

Statement and Funding sources

This study was partially supported by the National Institute of Science and Technology for Complex Fluids (INCT-FCx), NAP-FCx-USP, São Paulo Research Foundation (FAPESP 2011/12523-2, 2013/14863-0, 2011/15026-0, 2011/15590-2) and National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

REFERENCES

1. ASZTALOS, B.F.; CUPPLES, L.A.; DEMISSIE, S.; HORVATH, K.V.; COX, C.E.; BATISTA, M.C.; SCHAEFER, E.J. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 24, n. 11, p. 2181-2187, nov. 2004.
2. AUSTIN, M.A.; BRESLOW, J.L.; HENNEKENS, C.H.; BURING, J.E.; WILLETT, W.C.; KRAUSS, R.M. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. **JAMA**, v. 260, n. 13, p. 1917-1921, oct. 1988.
3. BALLANTYNE, F.C.; CLARK, R.S.; SIMPSON, H.S.; BALLATINE, D. High Density and Low Density Lipoprotein Subfraction in Survivors of Myocardial Infarction and in Control Subjects. **Metabolism**, v. 31, n. 5, p. 433-437, may. 1982.
4. BJÖRNHEDEN, T.; BABYI, A.; BONDJERS, G.; WIKLUND, O. Accumulation of lipoprotein fractions and subfractions in the arterial wall, determined in an in vitro perfusion system. **Atherosclerosis**, v. 123, n.1-2, p. 43-56, jun. 1996.
5. BOZORGMANESH, M.; HADAEGH, F.; AZIZI, F. Diabetes prediction, lipid accumulation product, and adiposity measures; 6-year follow-up: Tehran lipid and glucose study. **Lipids in Health and Disease**, v. 9, n. 45, 2010. doi: 10.1186/1476-511X-9-45.
6. BYRNE, C.D.; MAISON, P.; HALSALL, D.; MARTENSZ, N.; HALES, C.N.; WAREHAM, N.J. Cross-sectional but not longitudinal associations between non-esterified fatty acid levels and glucose intolerance and other features of the metabolic syndrome. **Diabet Med**, v. 16, n. 12, p. 1007-1015, dec. 1999.
7. CAMPOS, H.; BLIJLEVENS, E.; MCNAMARA, J.R.; ORDOVAS, J.M.; POSNER, B.M.; WILSON, P.W.; CASTELLI, W.P.; SCHAEFER, E.J. LDL particle size distribution. Results from the Framingham Offspring Study. **Arterioscler Thromb**, v. 12, n. 12, p. 1410-1419, dec. 1992.
8. CHARLES, M.A.; ESCHWEGE, E.; THIBULT, N.; CLAUDE, J.R.; WARNET, J.M.; ROSSELIN, G.E.; GIRARD, J.; BALKAU, B. The role of non-esterified fatty acids in the deterioration of glucose tolerance in Caucasian subjects: results of the Paris Prospective Study. **Diabetologia**, v. 40, n. 9, p. 1101-1106, sep. 1997.
9. CHEN, G.C.; LIU, W.; DUCHATEAU, P.; ALLAART, J.; HAMILTON, R.L.; MENDEL, C.M.; LAU, K.; HARDMAN, D.A.; FROST, P.H.; MALLOY, M.J.; ET AL. Conformational differences in human apolipoprotein B-100 among subspecies

- of low density lipoproteins (LDL). Association of altered proteolytic accessibility with decreased receptor binding of LDL subspecies from hypertriglyceridemic subjects. **J Biol Chem**, v. 269, n. 46, p. 29121-29128, nov. 1994.
10. CHEUNG, M.C.; BROWN, B.G.; WOLF, A.C.; ALBERS, J.J. Altered particle size distribution of apolipoprotein A-I-containing lipoproteins in subjects with coronary artery disease. **J Lipid Res**, v. 32, n. 3, p. 383-394, mar. 1991.
 11. COSTA, E.C.; FERREZINI DE SÁ, J.C.; SOARES, E.M.; LEMOS, T.M. A. M; MARANHÃO, T.M.O.; AZEVEDO, G.D. Avaliação do risco cardiovascular por meio do índice LAP em pacientes não obesas com síndrome dos ovários policísticos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 54, n. 7, p. 630-635, oct. 2010.
 12. DE GRAAF, J.; HAK-LEMMERS, H.L.; HECTORS, M.P.; DEMACKER, P.N.; HENDRIKS, J.C.; STALENHOF, A.F. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. **Arterioscler Thromb**, v. 11, n. 2, p. 298-306, mar-apr. 1991.
 13. DEJAGER, S.; BRUCKERT, E.; CHAPMAN, M.J. Dense low density lipoprotein subspecies with diminished oxidative resistance predominate in combined hyperlipidemia. **J Lipid Res**, v. 34, n. 2, p. 295-308, feb. 1993.
 14. DJOISSÉ, L.; BIGGS, M.L.; IX, J.H.; KIZER, J.R.; LEMAITRE, R.N.; SOTOODEHNIA, N.; ZIEMAN, S.J.; MOZAFFARIAN, D.; TRACY, R.P.; MUKAMAL, K.J.; SISCOVICK, D.S. Nonesterified fatty acids and risk of sudden cardiac death in older adults. **Circ Arrhythm Electrophysiol**, v. 5, n. 2, p. 273-278, apr. 2012.
 15. EL HARCHAOU, K.; ARSENAULT, B.J.; FRANSSSEN, R.; DESPRÉS, J.P.; HOVINGH, G.K.; STROES, E.S.; OTVOS, J.D.; WAREHAM, N.J.; KASTELEIN, J.J.; KHAW, K.T.; BOEKHOLDT, S.M. High-density lipoprotein particle size and concentration and coronary risk. **Ann Intern Med**, v. 150, n. 2, p. 84-93, jan. 2009.
 16. GALEANO, N.F.; MILNE, R.; MARCEL, Y.L.; WALSH, M.T.; LEVY, E.; NGUYEN, T.D.; GLEESON, A.; ARAD, Y.; WITTE, L.; AL-HAIDERI, M.; RUMSEY, S.C.; DECKELBAUM, R.J.; ET AL. Apoprotein B structure and receptor recognition of triglyceride-rich low density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. **J Biol Chem**, v. 269, n. 1, p. 511-519, jan. 1994.
 17. GALEANO, N.F.; AL-HAIDERI, M.; KEYSERMAN, F.; RUMSEY, S.C.; DECKELBAUM, R.J. Small dense low density lipoprotein has increased affinity for

- LDL receptor-independent cell surface binding sites: a potential mechanism for increased atherogenicity. **J Lipid Res**, v. 39, n. 6, p. 1263-1273, jun. 1998.
18. GORDON, T.; CASTELLI, W.P.; HJORTLAND, M.C.; KANNEL, W.B.; DAWBER, T.R. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. **Am J Med**, v. 62, n. 5, p. 707-714, may. 1977.
 19. HIRAYAMA, S.; MIIDA, T. Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 414, p. 215-224, dec. 2012. ISSN 0009-8981.
 20. KAHN, H.S; VALDEZ, R. Metabolic risks identified by the combination of enlarged waist and elevated triacylglycerol concentration. **Am J Clin Nutr**, v. 78, n. 5, p. 928-934, nov. 2003.
 21. KAHN, H. S. The “lipid accumulation product” performs better than the body mass index for recognizing cardiovascular risk: a population-based comparison. **BMC Cardiovasc Disord**, v. 5, n. 26, sep. 2005. doi:10.1186/1471-2261-5-26.
 22. KAHN, H.S. The lipid accumulation product is better than BMI for identifying diabetes: a population-based comparison. **Diabetes Care**, v. 29, n. 1, p. 151-153, jan. 2006.
 23. KOBAYASHI, S.; HIRANO, T.; KONDO, T.; SHIBATA, M.; SUZUKI, H.; MURAKAMI, M.; GESHI, E.; KATAGIRI, T. Significance of small dense low-density lipoproteins and other risk factors in patients with various types of coronary heart disease. **Am Heart J**, v. 144, n. 6, p. 1026-1035, dec. 2002.
 24. KRAUSS, R.M. Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk. **Curr Opin Lipidol**, v. 21, n. 4, p. 305-311, aug. 2010.
 25. KWON, S.W.; YOON, S.J.; KANG, T.S.; KWON, H.M.; KIM, J.H.; RHEE, J.; LEE, S.J.; PARK, J.K.; LIM, J.Y.; YOON, Y.W.; HONG, B.K. Significance of small dense low-density lipoprotein as a risk factor for coronary artery disease and acute coronary syndrome. **Yonsei Med J**, v. 47, n. 3, p. 405-414, jun. 2006.
 26. LAMARCHE, B.; LEMIEUX, I.; DESPRÉS, J.P. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. **Diabetes Metab**, v. 25, n. 3, p. 199-211, sep. 1999.
 27. MACKNESS, M.I.; HARTY, D.; BHATNAGAR, D.; WINOCOUR, P.H.; ARROL, S.; ISHOLA, M.; DURRINGTON, P.N. Serum paraoxonase activity in familial

- hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. **Atherosclerosis**, v.86, n. 2-3, p. 193-199, feb. 1991.
28. MATTHEWS, D.R.; HOSKER, J.P.; RUDENSKI, A.S.; NAYLOR, B.A.; TREACHER, D.F.; TURNER, R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-419, jul. 1985.
 29. MATURANA, M. A.; MOREIRA, R. M. C.; SPRITZER, P.M. Lipid accumulation product (LAP) is related to androgenicity and cardiovascular risk factors in postmenopausal women. **Maturitas**, v. 70, n. 4, p. 395-399, dec. 2011.
 30. MEYERS, C.D.; KASHYAP, M.L. Pharmacologic elevation of high-density lipoproteins: recent insights on mechanism of action and atherosclerosis protection. **Curr Opin Cardiol**, v. 19, n. 4, p. 366-373, jul. 2004. ISSN 0268-4705.
 31. MORITA, S.; SHIMAJIRI, Y.; SAKAGASHIRA, S.; FURUTA, M.; SANKE, T. Effect of exposure to non-esterified fatty acid on progressive deterioration of insulin secretion in patients with Type 2 diabetes: a long-term follow-up study. **Diabet Med**, v. 29, n. 8, p. 980-985, aug. 2012.
 32. NAVAB, M.; HAMA, S.Y.; COOKE, C.J.; ANANTHARAMAIAH, G.M.; CHADDHA, M.; JIN, L.; SUBBANAGOUNDER, G.; FAULL, K.F.; REDDY, S.T.; MILLER, N.E.; FOGELMAN, A.M. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. **J Lipid Res**, v. 41, n. 9, p. 1481-1494, sep. 2000.
 33. NIKOLIC, D.; KATSIKI, N.; MONTALTO, G.; ISENOVIC, E.R.; MIKHAILIDIS, D. P.; RIZZO M. Lipoprotein Subfractions in Metabolic Syndrome and Obesity: Clinical Significance and Therapeutic Approaches. **Nutrients**, v. 5, n. 3, p. 928-948, mar. 2013. ISSN 2072-6643.
 34. NORDESTGAARD, B.G.; ZILVERSMIT, D.B. Comparison of arterial intimal clearances of LDL from diabetic and nondiabetic cholesterol-fed rabbits. Differences in intimal clearance explained by size differences. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 9, n. 2, p. 176-183, mar. 1989.
 35. O'CONNELL, B.J.; GENEST JR, J. High-density lipoproteins and endothelial function. **Circulation**, v. 104, n. 16, p. 1978-1983, oct. 2001.
 36. OH, J.Y.; SUNG, Y.A.; LEE, H. J. The lipid accumulation product as a useful index for identifying abnormal glucose regulation in young Korean women. **Diabet Med**, v. 30, n. 4, p. 436-442, apr. 2013.

37. PANKOW, J.S.; DUNCAN, B.B.; SCHMIDT, M.I.; BALLANTYNE, C.M.; COUPER, D.J.; HOOGVEEN, R.C.; GOLDEN, S.H. Fasting plasma free fatty acids and risk of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. **Diabetes Care**, v. 27, n. 1, p. 77-82, jan. 2004.
38. PAOLISSO, G.; TATARANNI, P.A.; FOLEY, J.E.; BOGARDUS, C.; HOWARD, B.V.; RAVUSSIN, E. A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. **Diabetologia**, v. 38, n. 10, p. 1213-1217, oct. 1995.
39. PATSCH, J.; KARLIN, J.B.; SCOTT, L.W.; SMOTH, L.C.; GOTTO JR, A.M. Inverse Relationship Between Blood Levels of High Density Lipoprotein Subfraction 2 and Magnitude of Postprandial Lipemia. **Proc Natl Acad Sci**, v. 80, n. 5, p. 1449-1453, mar. 1983.
40. PONTES, A.G.; REHME, M.F.B; MARTINS, A.M.V.C.; MICUSSI, M.T.A.B.C, MARANHÃ, T.M.O.; PIMENTA, W.P.; PONTE A.G. Resistência à insulina em mulheres com síndrome dos ovários policísticos: relação com as variáveis antropométricas e bioquímicas. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 34, n. 2, p. 74-79, feb. 2012. ISSN 0100-7203.
41. RADER, D. J. High-density lipoproteins and atherosclerosis. **The American journal of cardiology**, v. 90, n. 8A, p. 62i-70i, oct. 2002. ISSN 0002-9149.
42. RYE, K.A.; CLAY, M.A.; BARTER, P.J. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. **Atherosclerosis**, v. 145, n. 2, p. 227-238, aug. 1999.
43. SÁNCHEZ-QUESADA, J.L.; BENÍTEZ, S.; ORDÓÑEZ-LLANOS, J. Eletronegative low-density lipoprotein. **Curr Opin Lipidol**, v. 15, n. 3, p. 329-335, jun. 2004.
44. SARAFIDIS, P.A.; BAKRIS, G.L. Non-esterified fatty acids and blood pressure elevation: a mechanism for hypertension in subjects with obesity/insulin resistance? **J Hum Hypertens**, v. 21, n. 1, p. 12-19, jan. 2007.
45. SPSS INCORPORATION. Statistical Package for the Social Sciences for Windows Student Version/ SPSS [computer program]. Release 20.0. Chicago: Marketing Department; 2010.
46. STAMPFER, M.J.; KRAUSS, R.M.; MA, J.; BLANCHE, P.J.; HOLL, L.G.; SACKS, F.M.; HENNEKENS, C.H. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. **JAMA**, v. 276, n. 11, p. 882-888, sep. 1996.

47. SVIRIDOV, D.; NESTEL, P. Dynamics of reverse cholesterol transport: protection against atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 161, n. 2, p. 245-254, apr. 2002. ISSN 0021-9150.
48. TAN, K.C.; AI, V.H.; CHOW, W.S.; CHAU, M.T.; LEONG, L.; LAM, K.S. Influence of low density lipoprotein (LDL) subfraction profile and LDL oxidation on endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 84, n. 9, p. 3212-3216, sep. 1999.
49. TENG, B.; SNIDERMAN, A.D.; SOUTAR, A.K.; THOMPSON, G.R. Metabolic basis of hyperapobetalipoproteinemia. Turnover of apolipoprotein B in low density lipoprotein and its precursors and subfractions compared with normal and familial hypercholesterolemia. **J Clin Invest**, v. 77, n. 3, p. 663-672, mar. 1986.
50. VISWAMBHARAN, H.; MING, X.F.; ZHU, S.; HUBSCH, A.; LERCH, P.; VERGERES, G.; RUSCONI, S.; YANG, Z. Reconstituted high-density lipoprotein inhibits thrombin-induced endothelial tissue factor expression through inhibition of RhoA and stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase but not Akt/endothelial nitric oxide synthase. **Circ Res**, v. 94, n. 7, p. 918-925, apr. 2004.
51. WANG, Y.; BEYDOUN, M.A.; LIANG, L.; CABALLERO, B.; KUMANYIKA, S.K. Will All Americans Become Overweight or Obese? Estimating the progression and cost of the US Obesity Epidemic. **Obesity**, v. 16, n. 10, p. 2323-2330, oct. 2008.
52. WEHR, E.; PILZ, S.; BOEHM, B.O.; MÄRZ, W.; OBERMAYER-PIETSCH, B. The Lipid Accumulation Product Is Associated With Increased Mortality in Normal Weight Postmenopausal Women. **Obesity**, v. 19, n. 9, p. 1873-1880, sep. 2011.
53. WILTGEN, D.; BENEDETTO, I.G.; MASTELLA, L.S.; SPRITZER, P.M. Lipid accumulation product index: a reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome. **Human Reproduction**, v. 24, n.7 p. 1726–1731, jul. 2009.
54. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prevention of Cardiovascular Disease – Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk. Series of Technical Reports. Geneva, 2007.
55. YOKOTA, C.; NONOGI, H.; MIYAZAKI, S.; GOTO, Y.; HAZE, K.; HARA, Y.; SHINOZAKI, K.; IKEBUCHI, M.; SUZUKI, M.; HARANO, Y. Lipoprotein analyses in patients with stable angina and acute coronary syndrome. **Int J Cardiol**, v. 57, n. 2, p. 161-166, dec. 1996.
56. YOSHIDA, A.; KOUWAKI, M.; MATSUTANI, Y.; FUKUCHI, Y.; NAITO, M. Usefulness of serum total cholesterol/triglyceride ratio for predicting the presence of small, dense LDL. **J Atheroscler Thromb**, v. 11, n. 4, p. 215-219, sep. 2004.

57. ZEIHNER, A.M.; SCHACHINGER, V. Coronary endothelial vasodilator dysfunction: clinical relevance and therapeutic implications. **Z Kardiol**, v. 83, suppl 4, p. 7-17, 1994.

Table 1 – Demographic and clinical characteristics of subjects (n=287)

Variables	Total		Men (n=105)		Women (n=182)		p
	n	%	n	%	n	%	
<i>Age (years)</i> **	53.1 (10.1)		49.8 (10.5)		55.1 (9.3)		<0.001
<i>Smoking</i>							
Yes	49	17.1	24	22.9	25	13.7	0.004
No	157	54.7	44	41.9	113	62.1	
Former smoker	51	28.2	37	35.2	44	24.2	
<i>Current illnesses</i>	255	88.9	92	87.6	163	89.6	0.615
Diabetes mellitus	56	22.0	23	25.0	33	20.1	0.378
Hypertension	164	64.3	59	64.1	105	64.4	0.963
Dyslipidemia	160	62.7	57	62.0	103	63.2	0.845
<i>Drugs</i>	225	78.4	73	69.5	152	83.5	0.006
Statin	79	35.1	20	27.4	59	38.8	0.093
Antihypertensive	149	66.2	50	68.5	99	65.1	0.618
Hypoglycaemic	62	27.6	23	31.5	39	25.7	0.358
Fibrate §	8	3.6	3	4.1	5	3.3	0.716
<i>Family history of diseases</i>	263	91.6	101	96.2	162	89.0	0.034
Obesity	53	18.5	22	21.0	31	17.0	0.410
Hypertension	183	63.8	66	62.9	117	64.3	0.808
Acute myocardial infarction	81	28.2	32	30.5	49	26.9	0.519
Stroke	58	20.2	22	21.0	36	19.8	0.812
Diabetes mellitus	110	38.3	40	38.1	70	38.5	0.951
Peripheral vascular disease	19	6.6	7	6.7	12	6.6	0.981

A comparative analysis for categorical variables was performed by Pearson Chi-Square or Fisher's Exact Test (§) (p <0.05).

** Data presented as mean and standard deviation. A comparative analysis for continuous variables was performed by t-Student test (p <0.05).

Table 2 - Biochemical and anthropometric characteristics of subjects (n=287)

Variable	Total	Men (n=105)	Women (n=182)	p
TC (mg/dL)	206.0 (42.0)	200.0 (39.0)	209.0 (44.0)	0.067
HDL-C (mg/dL)	37.0 (10.0)	32.0 (7.0)	40.0 (10.0)	<0.001
LDL-C (mg/dL)	139.0 (38.0)	133.0 (22.0)	41.0 (40.0)	0.092
TG (mg/dL)*	128.0 (94.0 - 188.0)	145.0 (10.06 - 213.0)	121.0 (90.0 - 172.0)	0.001
Apo AI (mg/dL)	132.0 (25.0)	123.0 (33.0)	137.0 (26.0)	<0.001
Apo B (mg/dL)	104.0 (25.0)	103.0 (23.0)	105.0 (26.0)	0.400
NEFAs (mEq/dl)	0.6 (0.3)	0.6 (0.3)	0.7 (0.3)	0.016
PON1 (nmol.min-1.ml-1)*	53.9 (23.8 - 81.4)	50.1 (21.5 - 79.8)	58.9 (26.4 - 82.1)	0.093
Small LDL (%)*	1.6 (0.8 - 4.5)	2.1 (1.0 - 6.3)	1.4 (0.6 - 3.6)	0.003
Large LDL (%)	26.3 (5.4)	26.6 (4.9)	26.1 (5.6)	0.491
Small HDL (%)	19.8 (7.1)	21.1 (6.5)	19.1 (7.4)	0.022
Inter HDL (%)	50.3 (5.1)	51.1 (4.5)	49.8 (5.3)	0.039
Large HDL (%)	29.9 (8.6)	27.8 (7.8)	31.0 (8.8)	0.002
LDL size* (nm)	27.0 (26.5 - 27.2)	26.9 (26.4 - 27.1)	27.0 (26.7 - 27.2)	0.001
Glucose (mg/dL)*	97 (91 - 108)	98 (91 - 113)	97 (91 - 105)	0.358
Insulin (μ IU/ml)*	16.3 (12.6 - 22.1)	15.6 (12.7 - 22.5)	16.7 (12.4 - 22.0)	0.791
HOMA-IR *	4.0 (2.9 - 5.9)	4.2 (3.1 - 5.9)	4.0 (2.9 - 5.8)	0.596
Weight (kg)	77.9 (68.8 - 93.9)	89.7 (75.8 - 101.7)	72.9 (64.1 - 86.5)	<0.001
WC (cm)	100.5 (13.5)	104.2 (12.7)	98.4 (13.5)	<0.001
Body fat (%)	37.8 (25.2 - 46.0)	23.4 (20.7 - 26.9)	43.4 (38.4 - 49.2)	<0.001
BMI (kg/m ²)	30.8 (5.9)	30.6 (5.4)	30.9 (6.2)	0.628
LAP *	57.7 (35.4 - 87.2)	68.4 (40.5 - 105.0)	53.2 (35.2 - 81.6)	0.026

n = 287. Data presented as mean (SD) and median (p25-p75). Comparative analysis was performed by Student's t-Tests or Mann-Whitney test (*) (p <0.05).

TC – total cholesterol, HDL-C – high density lipoprotein cholesterol, LDL-C – low density lipoprotein cholesterol, TG – triacylglycerol, Apo AI – apolipoprotein AI, Apo B – apolipoprotein B, NEFAS – non-esterified fatty acids, PON1 – paraoxonase1, BMI – body mass index, LAP – lipid accumulation product, WC – waist circumference

Table 3 - Correlation between LAP index and biochemical variables.

Variables	Raw data		Model A		Model B	
	r	p	r	p	r	p
TC (<i>mg/dL</i>)	0.166	0.005	0.217	0.001	0.337	<0.001
HDL-C (<i>mg/dL</i>)	-0.422	<0.001	-0.340	<0.001	-0.349	<0.001
LDL-C (<i>mg/dL</i>)	-0.022	0.712	-0.004	0.952	0.130	0.092
Apo AI (<i>mg/dL</i>)	-0.179	0.002	-0.124	0.062	-0.086	0.267
Apo B (<i>mg/dL</i>)	0.269	<0.001	0.326	<0.001	0.416	<0.001
NEFAs (<i>mEq/dl</i>)	0.148	0.015	0.237	<0.001	0.231	0.003
PON1 (<i>nmol.min-1.ml-1</i>)	0.020	0.741	0.041	0.537	0.084	0.277
Small LDL (%)	0.533	<0.001	0.612	<0.001	0.630	<0.001
Large LDL (%)	-0.121	0.040	-0.116	0.082	-0.108	0.164
Small HDL (%)	0.305	<0.001	0.353	<0.001	0.347	<0.001
Inter HDL (%)	0.419	<0.001	0.335	<0.001	0.349	<0.001
Large HDL (%)	-0.508	<0.001	-0.469	<0.001	-0.486	<0.001
LDL size (nm)	-0.604	<0.001	-0.641	<0.001	-0.649	<0.001
Glucose (<i>mg/dL</i>)	0.344	<0.001	0.489	<0.001	0.466	<0.001
Insulin (μ <i>IU/ml</i>)	0.431	<0.001	0.295	<0.001	0.269	<0.001
HOMA-IR	0.509	<0.001	0.462	<0.001	0.430	<0.001

Model A: adjusted for sex

Model B: adjusted for sex, age, smoking, statin, fibrate, hypoglycaemic

TC – total cholesterol, HDL-C – high density lipoprotein cholesterol, LDL-C – low density lipoprotein cholesterol, Apo AI – apolipoprotein AII, Apo B – apolipoprotein B, NEFAs – non-esterified fatty acids, PON – paraoxonase-1.