

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

EDUARDO PORTO DOS SANTOS

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE OMEGA-3 NO PROCESSO
INFLAMATÓRIO E DANO MUSCULAR INDUZIDOS POR ESTRESSE FÍSICO E
RESTRIÇÃO ALIMENTAR EM MILITARES**

João Pessoa
2010

EDUARDO PORTO DOS SANTOS

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE OMEGA-3 NO PROCESSO
INFLAMATÓRIO E DANO MUSCULAR INDUZIDOS POR ESTRESSE FÍSICO E
RESTRICÇÃO ALIMENTAR EM MILITARES**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de mestre. Linha de Pesquisa: Nutrição e Atividade Física.

Orientadores: Prof^ª. Dra. Luiza Sonia Rios Ascitti
Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva

João Pessoa
2010

S237e Santos, Eduardo Porto dos.

Efeitos da suplementação de Omega-3 no processo inflamatório e dano muscular induzidos por estresse físico e restrição alimentar em militares / Eduardo Porto dos Santos. - - João Pessoa: [s.n.], 2010.

67f.

Orientadora: Luiza Sonia Rios Ascitti.

Orientador: Alexandre Sérgio Silva.

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCS.

1.Nutrição. 2.Ácido Eicosapentaenóico. 3.Ácido docosahexaenóico. 4.Proteína C- reativa. 5. Ômega 3 - Exercício.

EDUARDO PORTO DOS SANTOS

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE OMEGA-3 NO PROCESSO
INFLAMATÓRIO E DANO MUSCULAR INDUZIDOS POR ESTRESSE FÍSICO E
RESTRICÇÃO ALIMENTAR EM MILITARES**

Aprovada em ____ / ____ / 2010

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Luiza Sonia Rios Ascitti – UFPB – Professora do PPGCN/ Prof^ª. Faculdade de Ciências
Médicas da Paraíba.
Orientadora/ Presidente

Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva – UFPB – Departamento de Educação Física
Orientador

Prof^ª. Dra. Maria da Conceição Rodriguez Gonçalves – UFPB – Departamento de Nutrição
Examinador Interno - Titular

Prof. Dr. Cláudio Alexandre Gobatto – Prof. Associado da Faculdade de Educação Física - UNICAMP
Examinador Externo - Titular

Prof^ª. Dra. Maria José de Carvalho Costa – UFPB – Departamento de Nutrição
Examinador Interno - Suplente

Prof. Ms. Cláudio Luiz de Souza Meireles – UFPB – Departamento de Educação Física
Examinador Externo – Suplente

*Dedico este trabalho aos
meus pais, familiares, amigos
e a Maricota, com todo
carinho.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus pela oportunidade de usufruir dessa experiência tão enriquecedora em minha vida profissional e pessoal.

A minha orientadora Profa. Dra. Luiza Sonia Rios Ascitti, pela presteza durante este período.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Alexandre Sérgio Silva por todos os seus ensinamentos e pelo seu imensurável incentivo e apoio.

À Profa. Dra. Maria José de Carvalho Costa pela concepção do tema e ajuda com o projeto.

À Prof^a. Maria da Conceição Rodriguez Gonçalves, pela paciência e confiança depositada em mim.

Ao Prof. Dr. Cláudio Alexandre Gobatto, pela contribuição nas correções e participação como membro da banca examinadora.

Aos coordenadores do programa pela confiança e oportunidade.

Aos funcionários do Programa pela atenção e paciência com todos os mestrandos.

A todos os professores pela competência e por todo conhecimento proporcionado.

Aos meus colegas de turma pela troca de experiências e amizade.

Aos membros da banca, pela sua honrosa contribuição.

A James, Gisele e Elton pela contribuição na coleta de dados.

Ao Ten. Wagner pela colaboração e apoio, que foram fundamentais à realização da pesquisa.

A todos os militares que participaram do estudo.

Aos meus pais pelo amor, apoio e paciência.

Aos demais membros da minha família e meus amigos pelo carinho e incentivo.

A Maricota que me alegrava nas horas difíceis e se foi deixando muita saudade.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização dessa pesquisa.

Obrigado!

Quando vires um homem bom, tenta imitá-lo; quando vires um homem mau, examina-te a ti mesmo. (Confúcio (551 a.C. - 479 a.C.))

RESUMO

A literatura dispõe de vários estudos que comprovam o efeito antiinflamatório e protetor contra doenças cardiovasculares, que os ácidos graxos poliinsaturados Ômega-3 possuem. A ingestão destes ácidos graxos tem sido recomendada, como forma de prevenir doenças cardíacas e melhorar a função cardíaca. Existem poucas pesquisas associando o efeito antiinflamatório dos ácidos graxos Ômega-3, com o processo inflamatório desencadeado pelo estresse físico de grande magnitude. O efeito da suplementação de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) omega-3 (n-3) na resposta imunológica e ocorrência de dano muscular em militares foi investigado. Vinte sujeitos foram divididos em dois grupos e receberam cápsulas contendo AGPI n-3 (SUP) (n=10) ou placebo (PLA) (n=10) durante quatro semanas. No decorrer da quarta semana de suplementação, os militares foram submetidos a um acampamento militar com ingestão calórica e repouso restrito e elevado estresse físico e psicológico. A concentração de proteína C-reativa ultra-sensível (PCR-us) foi utilizada como marcador inflamatório e a ocorrência de dano muscular pela atividade da enzima creatinoquinase (CK). Amostras sanguíneas foram coletadas em quatro momentos: 1) pré-suplementação; 2) pré-acampamento; 3) durante o acampamento; 4) pós-acampamento. Durante as três semanas de suplementação e que antecederam o regime de acampamento foi observada uma redução significativa na concentração sérica de PCR-us apenas no grupo SUP. Um aumento significativo da atividade da CK no pós-acampamento confirmou o caráter extenuante deste procedimento. Apesar de não impedir a elevação da PCR-us, o grupo SUP apresentou uma concentração de PCR-us significativamente menor em comparação com o grupo PLA ao final do acampamento. Estes resultados sugerem que a suplementação de AGPI n-3 exercem um efeito protetor contra o processo inflamatório induzido por um regime de treinamento físico intenso e restrição alimentar.

Palavras chave: Ácido Eicosapentaenóico e ácido docosahexaenóico, ômega-3 e proteína C-reativa, ômega-3 e exercício.

ABSTRACT

The literature has several studies showing the anti-inflammatory and protective against cardiovascular disease, the polyunsaturated fatty acids are omega-3 intake of fatty acids has been recommended as a way to prevent heart disease and improve heart function. There are few studies involving the anti-inflammatory effect of fatty acids omega-3, with the inflammatory process triggered by physical stress of great magnitude. The effect of supplementation of polyunsaturated fatty acids (PUFA) omega-3 (n-3) in the immune response and occurrence of muscle damage in soldiers were investigated. Twenty males were divided in two groups and they received capsules contains PUFA n-3 (SUP) (n=10) or placebo (PLA) (n=10) during four weeks. In elapsing of the fourth week of supplementation, the military were submitted to a military camp with caloric ingestion and restricted rest, and elevated physical and psychological stress. The concentration of C-reactive protein (CRP-hs) was used as inflammatory marker and the occurrence of muscle damage by creatine kinase's (CK) activity. Sanguine samples were taken in four moments: 1) before supplementation; 2) before camp; 3) during camp; 4) after camp. During the three weeks of supplementation that preceded the camp's routine, was observed a significant reduction in serum CRP-hs's concentration only in group SUP. A significant increase of CK activity in the after camp, confirmed the character strenuous of this procedure. In spite of not impeding the PCR-us's increase, SUP presented a concentration of PCR-hs significantly smaller than PLA at the end of camp. These results suggest that PUFA n-3 supplementation exercises a protecting effect against the inflammatory process induced by intense physical training and alimentary restriction.

Keywords: Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid, omega-3 and C-reactive protein-hs, omega-3 and exercise.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de um triacilglicerol.....	14
Figura 2 – Estrutura química e sistema de taquigrafia do ácido α -linolênico, do ácido eicosapentaenóico (EPA) e do ácido docosahexaenóico (DHA).....	16
Figura 3 - Diferentes tipos de ácidos graxos.....	17
Figura 4 - Estrutura do Ácido araquidônico e do EPA com suas respectivas duplas ligações.....	18
Figura 5 - Diferentes espécies de peixes e seus respectivos teores de EPA e de DHA em cada 100g.....	19
Figura 6 - Via bioquímica para a interconversão de AGPI n-6 e AGPI n-3.....	20

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ω-3	Omega-3
AGPI	Ácidos Graxos Poliinsaturados
TNF-α	Tumor Necrosis Factor - α (Fator de Necrose Tumoral – α)
IL-1	Interleukin – 1 (Interleucina – 1)
IL-6	Interleukin – 6 (Interleucina – 6)
ALA	α – Linolenic Acid (Ácido α -linolênico)
AL	Ácido Linolêico
ω-6	Omega-6
EPA	Eicosapentaenoic Acid (Ácido Eicosapentaenóico)
DHA	Docosahexaenoic Acid (Ácido Docosahexaenóico)
GLA	γ – Linolenic Acid (Ácido γ -linolêico)
PCR	Proteína C-reativa
EIDM	Exercícios Indutores de Dano Muscular
DMIR	Dor Muscular de Início Retardado
CK	Creatinoquinase
LDH	Lactato Desidrogenase
QQFA	Questionário quantitativo de frequência alimentar
NPOR	Núcleo de Preparação de Oficiais da Reserva
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

	Pg
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Lipídios	14
2.2 Estrutura química e função biológica dos ácidos graxos	15
2.3 AGPI de cadeia longa n-3 e n-6	17
2.4 Os AGPI n-3 na alimentação humana	21
2.5 Sistema Imunológico e processo inflamatório.....	23
2.6 Sistema Imunológico, processo inflamatório e os AGPI.....	24
2.7 Sistema Imunológico, processo inflamatório e exercício físico.....	26
2.8 AGPI n-3, processo inflamatório e exercício.....	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1 Caracterização e desenho do estudo.....	32
3.2 População e Local do Estudo.....	32
3.3 Questões Éticas	32
3.4 Avaliação do Consumo Alimentar.....	33
3.5 Avaliação da composição corporal.....	33
3.6 Suplementação: obtenção e dosagem do suplemento e do placebo.....	34
3.7 Regime Militar durante o Curso de Formação de Oficiais da Reserva.....	34
3.8 Dosagens Bioquímicas.....	35
3.8.1 Coleta de sangue para as dosagens.....	35
3.8.2 Análise da CK.....	35
3.8.3 Análise da PCR-us.....	36
3.8.4 Análise do colesterol total.....	36
3.9 Análise Estatística.....	36
REFERÊNCIAS	38
ANEXO	44
APÊNDICES.....	47
ARTIGO	50

1 Introdução

O consumo demasiado de gorduras está diretamente associado a fatores de risco para doenças crônicas do tipo resistência à insulina, diabetes, disfunção endotelial, inflamação sistêmica, câncer e obesidade. A gordura é o nutriente que mais preocupa os órgãos ligados à saúde, como a *American Heart Association* e a *American Cancer Society*, sendo as concentrações séricas de colesterol LDL e o consumo de ácidos graxos trans, as gorduras de maior risco para a saúde (WILLIAMS, 2002; TEEGALA et al., 2009).

Apesar de ser considerado um dos principais fatores de risco para as doenças crônicas degenerativas, os lipídios desempenham papéis fundamentais na fisiologia humana, com atividades ligadas a: 1 - estabilidade de membrana; 2 - formação de hormônios; 3 - fornecimento de colesterol; 4 - são isolantes térmicos; 5 - são constituintes da bainha de mielina, dentre outros (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2003).

Na década de 70, alguns tipos de gorduras passaram a ser consideradas saudáveis. O aumento do interesse pelos aspectos saudáveis das gorduras deu-se a partir da constatação epidemiológica de que, apesar de apresentarem sobrepeso e uma dieta rica em gorduras, os índices de mortes por problemas cardíacos entre os esquimós da Groenlândia eram muito baixos. Observou-se, então, que os lipídios que faziam parte do cardápio dessa população eram advindos da gordura de baleia, focas e peixes de águas profundas, que são as principais fontes de ácidos graxos ômega-3 (ω -3) (DYERBERG et al., 1978).

Desde então, tem-se demonstrado que os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) de cadeia longa ω -3 promovem benefícios para a saúde, e sua inserção no cardápio da população mundial é hoje bastante recomendada (SIMOPOULOS, 2002; BRESLOW, 2006; VON SCHACKY; HARRIS 2007). As propriedades moleculares dos ω -3, bem como os mecanismos pelos quais eles promovem proteção cardiovascular ainda precisam ser, melhor elucidadas. No entanto, já está comprovado que esses ácidos graxos possuem a capacidade de diminuir a produção das citocinas inflamatórias, dentre elas o fator de necrose tumoral (TNF- α), a interleucina-1 (IL-1) e interleucina-6 (IL-6) e a expressão de moléculas de adesão na interação inflamatória entre leucócitos e células endoteliais (CALDER, 2001). De fato, pessoas em situação de risco cardiovascular apresentam marcadores inflamatórios aumentados na corrente sanguínea (BLAKE; RIDKER, 2001). Sendo assim, as ações antiinflamatórias do ácido graxo de cadeia longa ω -3 podem ser de uso terapêutico em situações de inflamação aguda ou crônica (CALDER, 2006).

A despeito de um razoável volume de pesquisas estarem sendo realizadas bem como revisões publicadas com os ω -3 nos aspectos cardiovasculares (HARRIS et al., 2007; VON SCHACKY, 2007), pesquisadores passaram a investigar uma possível relação dos benefícios do consumo de ω -3 em atletas (ANDRADE; TAVARES DO CARMO, 2004). A fundamentação para esta nova linha de investigação é o fato de que exercícios físicos intensos podem promover várias alterações imunológicas, acarretando a produção de substâncias inflamatórias, das quais as prostaglandinas e as citocinas se destacam (WOODS; VIEIRA; KEYLOCK, 2009).

Uma das hipóteses para explicar as possíveis causas do fenômeno do exercício físico induzindo inflamação é a relação lesão/citocinas/inflamação. A ocorrência de microlesões durante os treinos, também chamadas de microtraumas adaptativos, desencadearia o processo inflamatório natural no local lesionado. Caso uma recuperação adequada não seja proporcionada ao indivíduo, a inflamação, antes local e aguda, pode evoluir para um estágio crônico e sistêmico, afetando diretamente a saúde e o desempenho do atleta (SMITH, 2000).

Apesar da relação existente entre treinamento e produção de marcadores inflamatórios e do fato de os ω -3 serem capazes de minimizar este problema, ainda não se dispõe de evidências consistentes relacionando os ω -3 com a performance e a saúde de pessoas que praticam atividades físicas com altos volumes e intensidades. São exemplos destas populações não somente os atletas, mas também trabalhadores que se submetem a uma rotina diária de bastante esforço físico (operários da construção civil, estivadores, dentre outros) e militares em período de formação, que realizam treinamentos sob severas condições de grande restrição calórica, aliado a esforços físicos por períodos prolongados. Este fato justifica a pertinência de investigações, integrando os campos da nutrição e do exercício físico.

Os primeiros autores que alertaram para um possível efeito antiinflamatório do ω -3 relacionado ao exercício físico foram Andrade e Tavares do Carmo (2004). Posteriormente, Andrade et al. (2007) demonstraram que atletas tinham redução dos marcadores inflamatórios, mas essa pesquisa não deixou claro se os resultados obtidos foram devido a uma simples melhoria da função endotelial dos atletas, ou se a suplementação com ω -3 realmente atenuou o processo inflamatório induzido pelo treinamento físico.

Para verificar se os efeitos antiinflamatórios observados na pesquisa de Andrade et al. (2007) foram apenas a nível endotelial ou provocados realmente por ação direta na inibição do processo inflamatório induzido pelo exercício físico extenuante, seria necessária a inclusão de um grupo controle, de não praticantes de exercício, o que não aconteceu neste

estudo. Além disso, seria preciso investigar outras populações de sujeitos não atletas, mas que realizam exercícios intensos, para que se estabeleça uma aproximação mais real da participação do ω -3 na inibição do processo inflamatório induzido pelo treinamento severo.

Um exemplo disto são os militares que, em alguns momentos de seus períodos de treinamento, são expostos a situações de intensas atividades físicas e restrição alimentar por vários dias seguidos. No entanto, até o momento existem poucas investigações científicas a respeito das repercussões metabólicas deste regime de treinamento, particularmente sobre o processo inflamatório desencadeado pela relação excesso de treino/ restrição alimentar. Do mesmo modo, não se sabe se, assim como para atletas, a suplementação de ω -3 poderia influenciar este processo inflamatório.

Dessa maneira, esta pesquisa tem como objetivo confirmar a ocorrência de processo inflamatório induzido pelo exercício em militares submetidos a treinamento de guerra caracterizado por intensos exercícios, poucas horas de descanso e restrição alimentar, por vários dias seguidos, e verificar os efeitos da suplementação de ω -3 nos marcadores inflamatórios e de dano muscular, do Núcleo de Preparação de Oficiais da Reserva (NPOR).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lipídios

Lipídios é um termo geral que deriva da palavra *lipos*, que em grego quer dizer gordura. O termo lipídio é bastante amplo e pode se referir a uma variedade de componentes que compartilham propriedades hidrofóbicas similares (FRITSCHÉ, 2006). Esse macronutriente é formado por um grupo heterogêneo de compostos que incluem os óleos, as gorduras, as ceras e compostos correlatos. Os lipídios representam a maior fonte de energia potencial que pode ser utilizada como acionador do trabalho biológico do nosso corpo. Além de serem excelentes isolantes térmicos e protetores dos órgãos vitais, eles também atuam como carreadores das vitaminas lipossolúveis A, D, E e K (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2003).

Os lipídios podem ser encontrados em um dos três grupos principais: lipídios simples (triacilgliceróis), lipídios compostos (fosfolipídios, glicolipídios e lipoproteínas), e lipídios derivados (ácidos graxos, esteróides e hidrocarbonetos) (WILLIAMS, 2002). As gorduras simples, ou neutras, são encontradas principalmente na forma de triacilglicerol (triglicerídeos), que é o lipídio mais abundante encontrado no corpo e nas células adiposas. A molécula de triacilglicerol é formada por duas outras substâncias, sendo uma dessas o glicerol, solúvel em água que contém três carbonos em sua estrutura. Ligados à molécula de glicerol existem três aglomerados de átomos na forma de cadeias de carbono, geralmente com número par, chamados de ácidos graxos (conforme mostrado na figura 1) (FOSS; KETEYIAN, 2000).

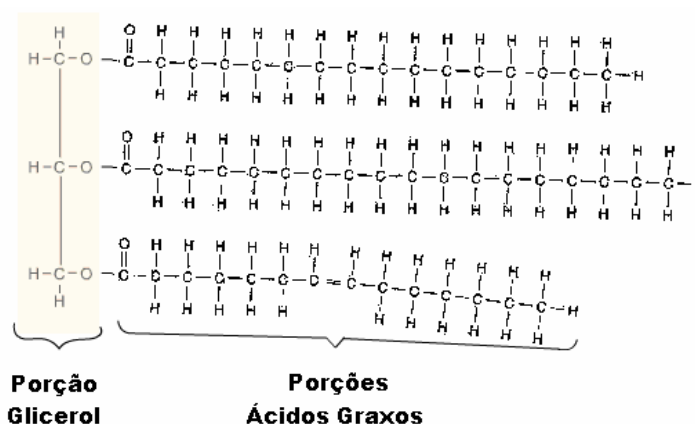


Figura 1 - Diagrama de um triacilglicerol. É mostrada a interação entre as moléculas de ácidos graxos e glicerol.

Os fosfolipídios possuem uma base de glicerol, um ou dois ácidos graxos acoplados e um grupo fosfato adicional. O organismo é capaz de sintetizar fosfolipídios a partir dos triacilgliceróis e sua principal função é formar a bicamada lipídica, uma verdadeira barreira atravessada apenas por moléculas lipossolúveis pequenas e moléculas polares. O colesterol, substância perolada, tem aparência de gordura e é encontrada nos tecidos animais. É produzido no fígado a partir de ácidos graxos e dos produtos da decomposição dos carboidratos, da proteína-glicose e dos aminoácidos. O colesterol faz parte da composição de vários hormônios, como testosterona e estrógeno, mas a maior parte do colesterol é utilizada no fígado para produção de sais biliares (WILLIAMS, 2002).

2.2 Estrutura química e função biológica dos ácidos graxos

Assim como os carboidratos, os ácidos graxos contêm átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio. Existem vários tipos de ácidos graxos, entretanto, o ácido esteárico, o ácido oléico e o ácido palmítico são os mais comuns. Os ácidos graxos são alifáticos monocarboxilicácidos que podem ter várias duplas ligações, mas geralmente não ultrapassam seis. Os ácidos graxos com duas ou mais duplas ligações são chamados AGPI; com uma única dupla ligação são ácidos graxos monoinsaturados e quando não possuem duplas ligações, são chamados ácidos graxos saturados. Os ácidos graxos podem ser sintetizados pelo organismo, com exceção dos essenciais, dos quais, as melhores fontes são as gorduras dietéticas (HEIRD; LAPILLONNE, 2005).

Os ácidos graxos possuem nomes comuns, mas também são identificados por um sistema de “taquigrafia” indicando o número de átomos de carbono que contém a sua molécula, o número de duplas ligações e o local da primeira dupla ligação a partir do grupo metil terminal (Figura 2). Por exemplo, o ácido palmítico, um ácido graxo saturado com 16 carbonos, é designado 16:0 e o ácido oléico, um ácido graxo monoinsaturado com 18 carbonos, cuja única dupla ligação localiza-se entre o nono e o décimo carbono a partir do grupo metil terminal, é designado 18:1 n-9. O ácido linoléico e o ácido α -linolênico, ambos AGPI com 18 carbonos, são designados 18:2 ω -6 e 18:3 ω -3 respectivamente (HEIRD; LAPILLONNE, 2005).

Existem dois tipos de ácidos graxos que são necessários para garantir a integridade das membranas plasmáticas, para o crescimento, a reprodução, o funcionamento geral do organismo e que apresentam propriedades dermatológicas. Entretanto, eles não podem ser sintetizados pelo organismo, são os ácidos α -linolênico (ALA) e o linoléico (AL), os quais

pertencem às famílias dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 respectivamente e são adquiridos na alimentação de origem vegetal (MOYAD, 2005). A figura 3 mostra uma representação da estrutura química de diferentes ácidos graxos.

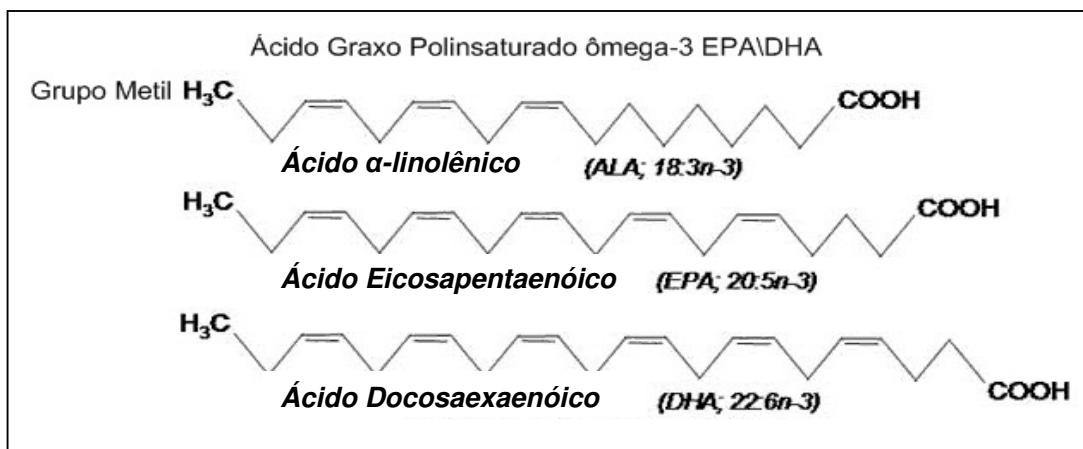


Figura 2. Estrutura química e sistema de taquigrafia do ácido α -linolênico (ALA), do ácido eicosapentaenóico (EPA) e do ácido docosaexaenóico (DHA).

De acordo com Calder (2007), os ácidos graxos desempenham uma variedade de papéis entre as células imunes. Eles atuam como: 1 - combustível para geração de energia; 2 - componentes das membranas das células dos fosfolipídios contribuindo para as propriedades físicas e funcionais dessas membranas; 3 - modificadores covalentes das estruturas das proteínas, influenciando a localização celular e função das proteínas; 4 - reguladores da expressão gênica, (por seu efeito na atividade dos receptores no processo de sinalização intracelular, ou na ativação do fator de transcrição); 5 - precursores para a síntese de mediadores lipídicos bioativos tipo prostaglandinas, leucotrienos, lipoxinas e outros.

Mais recentemente, a função de alguns ácidos graxos na atividade do sistema imune tem sido confirmada. Os mecanismos propostos são alterações na composição da membrana fosfolipídica dos ácidos graxos que podem influenciar as funções das células imunes de várias maneiras. O leque de possibilidades inclui: 1) alterações nas propriedades físicas das membranas; 2) efeitos nas vias de sinalização celular, modificando a expressão, atividade e avidade dos receptores de membrana, ou por alteração nos mecanismos de transdução, resultando na modificação da transcrição gênica; 3) alterações no padrão de mediadores lipídicos produzidos com diferentes atividades e potências biológicas (CALDER, 2007). A suplementação de AGPI, também aprimora os efeitos do exercício na sinapse, plasticidade e

cognição. Efeito associado com uma maior produção de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), promovendo saúde mental e reduzindo os riscos de desordens neurológicas (WU, 2008).

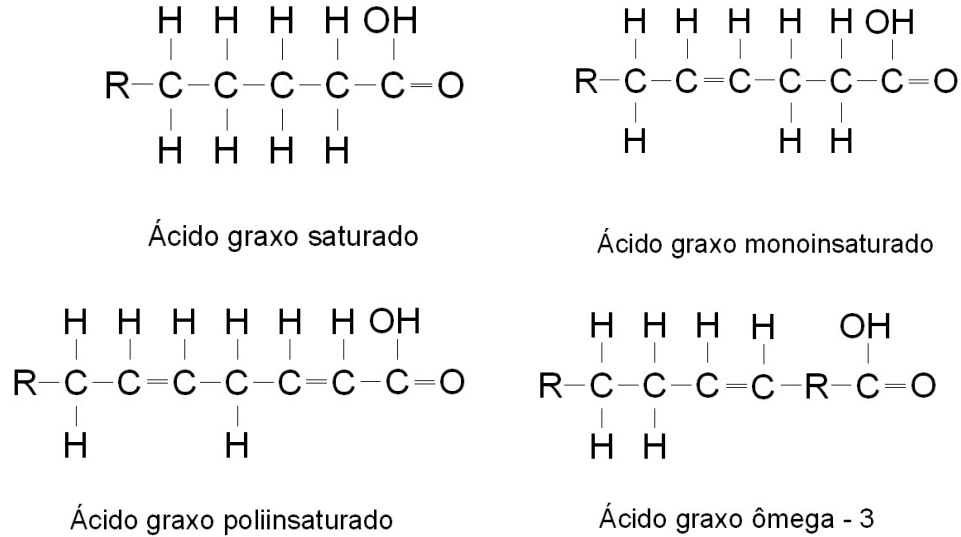


Figura 3. Diferentes tipos de ácidos graxos: Ácido graxo saturado cujas ligações com o carbono estão plenas; ácido graxo monoinsaturado, que possui apenas uma dupla ligação; ácido graxo poliinsaturado, com duas ou mais ligações duplas e o ácido graxo ômega-3, com sua primeira dupla ligação no terceiro carbono, a partir do grupo terminal metil.

2.3 AGPI de cadeia longa ω -3 e ω -6

De acordo com Moyad (2005), existem duas famílias de ácidos graxos essenciais: os AGPI ω -3 e os ω -6. O ALA e o AL, que são respectivamente ω -3 e ω -6, são sintetizados pelas plantas. Suas principais fontes são as sementes e óleos, que são especialmente ricos no ácido linoléico (CALDER; DECKELBAUM, 2008). Curiosamente, o corpo humano não é capaz de formar carbonos com duplas ligações antes do 9º carbono contando a partir da posição ômega, ou grupo metil terminal. Entretanto, o corpo humano possui as enzimas necessárias para converter o ALA em outros ácidos graxos ω -3 que têm duplas ligações adicionais, o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA). Não obstante, a capacidade dos humanos em converter o ALA em EPA e especialmente em DHA parece ser limitada, embora possa haver significativas variações entre diferentes grupos e subgrupos de uma população (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006; CALDER E DECKELBAUM 2008).

A numeração ω -3 e ω -6 refere-se a real posição da primeira dupla ligação nesses ácidos graxos insaturados, contando a partir do carbono no radical metil (ômega ou nth) terminal, conforme mostrado na figura 4.

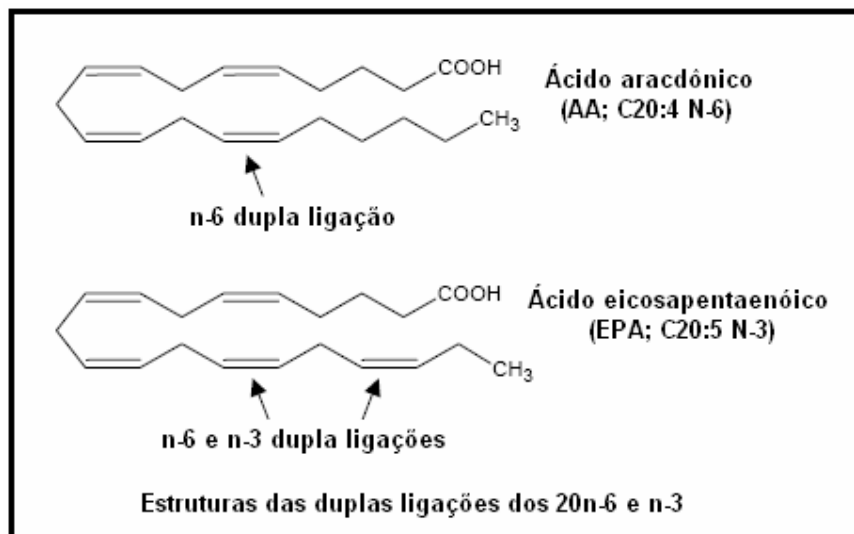


Fig. 4 Estrutura do Ácido araquidônico e do EPA com suas respectivas duplas ligações. O corpo humano só é capaz de sintetizar carbonos com dupla ligação a partir do carbono 9 (JAMES; PROUDMAN; CLELAND, 2003).

A primeira descrição sobre a baixa incidência de doenças coronarianas entre os esquimós da Groelândia foi feita por Sinclair (1953). Ele observou que, apesar de uma dieta rica em gorduras de baleia, de focas e de peixes, o número de mortes por complicações cardíacas nessa população era muito baixo. Três décadas mais tarde, Bang, Dyerberg e Hjoorne (1976) relataram que mesmo consumindo grandes quantidades de gordura e colesterol, e pequenas quantidades de frutas, vegetais e carboidratos complexos, os esquimós apresentavam taxas de colesterol e de triglicerídeos menores do que seus congêneres residentes na Dinamarca. Além disso, os riscos de infarto do miocárdio também eram bem menores.

Desde então, aumentaram consideravelmente as especulações e a quantidade de estudos a cerca do potencial dos AGPI ω -3, também chamado de o “Efeito Esquimó” protetor (WILLIAM, 2008), e as pesquisas com essa classe de AGPI e suas fontes naturais têm sido realizadas no âmbito da saúde (DAS, 2000; THIES et al., 2001; KEW et al., 2003; MOYAD, 2005; BORTOLOTTI; TAPPY; SCHNEITER, 2007; YUSOF; MILES; CALDER,

2008). Na figura 5 são mostradas algumas espécies de peixes com os seus teores de EPA e de DHA.

O retículo endoplasmático do fígado é responsável pela primeira etapa da interconversão do ALA em EPA e DHA e envolve uma serie de enzimas que adicionam dois carbonos ao ácido graxo e enzimas de dessaturação que inserem duplas ligações nas moléculas. Como as enzimas envolvidas na síntese de ω -3 são as mesmas responsáveis pela conversão do AL ω -6 em ácido araquidônico, a dieta pode influenciar a conversão desses ácidos graxos (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006). A cascata de conversão dos ω -3 e ω -6 está representada na figura 7.

O DHA é o ácido graxo ω -3 mais abundante nas membranas e está presente em todos os órgãos. Sua concentração é variável entre órgãos e é particularmente abundante nos tecidos neurais (cérebro e retina) (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006).

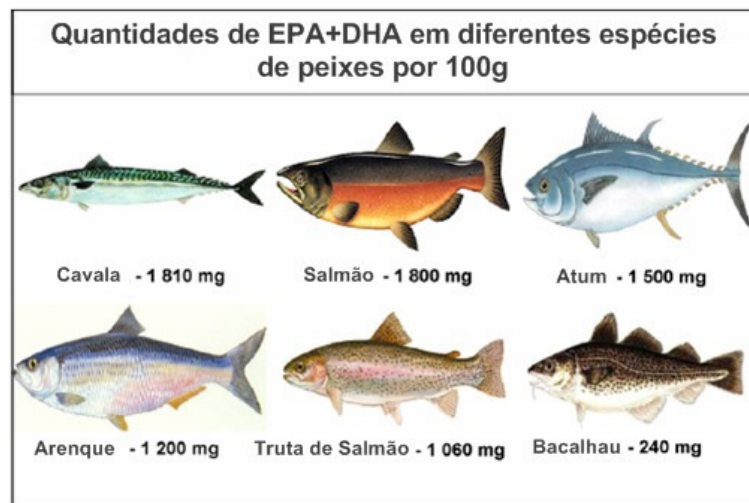


Figura 5: Diferentes espécies de peixes e seus respectivos teores de EPA e de DHA em cada 100g. Fonte: (FEDAČKO et al., 2007).

Apenas poucas quantidades de ALA e EPA estão presentes nos tecidos e o DHA geralmente excede o EPA em uma proporção de 5:30 na maioria dos órgãos. Os AGPI ω -3 estão presentes nas membranas das células e são incorporados primariamente nos fosfolípidios. Estes ácidos graxos podem influenciar as propriedades biofísicas da membrana (fluidez e plasticidade) e afetar a atividade das suas proteínas (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006).

O DHA e o EPA, sintetizados a partir do ALA e do γ -linolólico (GLA) e o ácido araquidônico a partir do AL, desempenham importante papel na fluidez da membrana,

peroxidação dos lipídios, produção de eicosanóides e expressão gênica. Alterações nos conteúdos de fosfolipídios das membranas neurais podem resultar em mudanças no sinal de transdução, liberação de neurotransmissores, atividades enzimáticas e nos receptores dos neurotransmissores. Estas mudanças implicam na etiologia de desordens de humor e respostas ao estresse em humanos e mudanças comportamentais em animais (SONG et al., 2003).

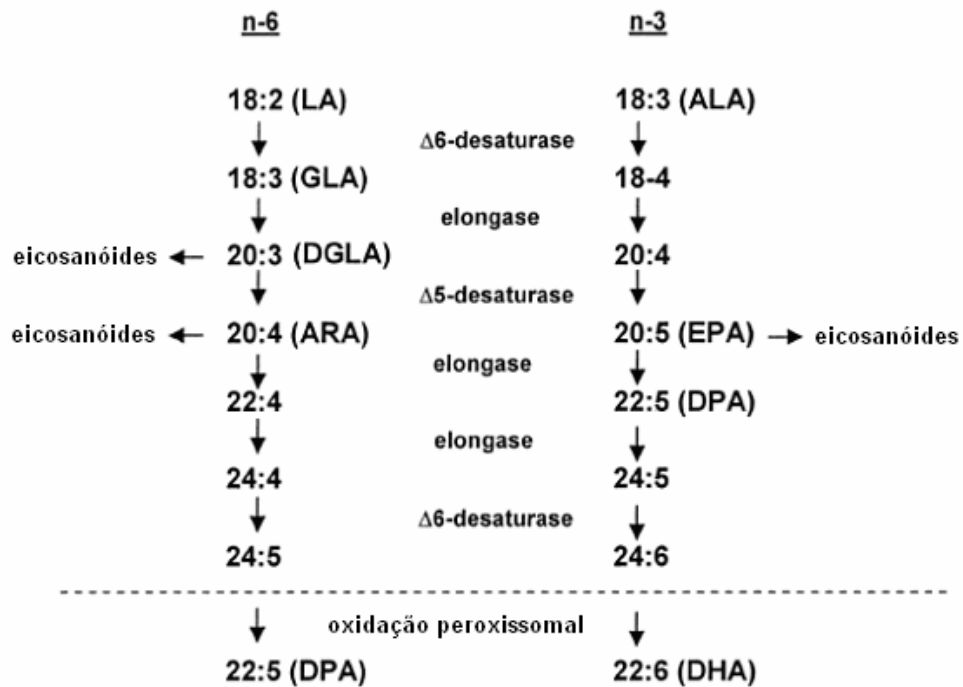


Figura 6. Via bioquímica para a interconversão de AGPI ω-6 e AGPI ω-3. Sequência de conversões até a formação do ácido docosapentaenóico (DPA) e do DHA, ω-6 e ω-3 respectivamente. Fonte: (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006).

A constatação de que é possível modificar a composição dos ácidos graxos da membrana dos fosfolipídios das células imunes por meio da alimentação tem sido obtida a partir de estudos em animais e em humanos. Animais alimentados com uma dieta modificada apresentaram alterações na composição dos ácidos graxos das células imunes, de acordo com a quantidade de ácidos graxos que a dieta apresentava (KEW et al., 2003). Em humanos, a composição da membrana das células imunes varia da mesma maneira que em animais, de acordo com o maior teor de um tipo específico de ácido graxo da dieta. Pessoas alimentadas

com uma dieta tipicamente ocidental apresentaram cerca de 20% dos ácidos graxos da membrana dos fosfolípidios compostos por ácido araquidônico e aproximadamente 1% de EPA e 2,5% de DHA (KEW et al., 2004).

Os AGPI da família do ω -3, particularmente os de cadeia longa, são importantes nutrientes ao longo do ciclo da vida. Crianças necessitam do DHA para o desenvolvimento visual e cognitivo, e são beneficiadas do ponto de vista cardiovascular. O DHA e o EPA são importantes para a prevenção de doenças cardiovasculares e na diminuição da mortalidade cardíaca. Recentes estudos epidemiológicos e pré-clínicos também sugerem que o DHA pode proteger contra o mal de Alzheimer e outros tipos de demências, além disso, os AGPI ω -3 de cadeia longa podem proteger contra a degeneração macular relacionada à idade, desempenhando um papel único na saúde do cérebro e dos olhos em adultos e idosos (ALNAJJAR et al., 2006).

O consumo de AGPI ω -3 principalmente DHA, tem a capacidade de melhorar vários fatores de risco cardiovasculares, incluindo pressão arterial elevada, concentrações sanguíneas elevadas de triacilgliceróis, agregação plaquetária, disfunção endotelial e arritmia (MORI; WOODMAN, 2006). Das (2000), afirma que os mecanismos sugeridos para proteção cardíaca envolvem o metabolismo de eicosanóides, o processo inflamatório, a β -oxidação, a disfunção endotelial, as citocinas e a expressão gênica das moléculas de adesão. Já no que diz respeito à ação do ω -3 na variabilidade cardíaca, produz modificações nos canais de sódio por meio de ligação direta com as proteínas, previne a isquemia induzida por fibrilação ventricular e morte súbita.

Pessoas diagnosticadas com a síndrome coronariana aguda possuem menores quantidades de EPA e DHA na corrente sanguínea do que indivíduos congêneres. Portanto, concentrações séricas de ω -3, podem ser utilizadas como indicador de risco modificável para a síndrome coronariana aguda (HARRIS et al., 2007).

2.4 Os AGPI ω -3 na alimentação humana

A importância dos AGPI na alimentação humana e prevenção de doenças foi cientificamente reconhecida três décadas atrás. No final da década de 20, pesquisadores como Burr; Burr (1929) já relatavam os problemas relacionados a uma dieta com exclusão rígida de lípidios e alertava para os benefícios à saúde e função dos órgãos promovidos pela ingestão de AGPI ω -3.

A produção de concentrados de ômega-3 desperta atualmente grande interesse para a indústria farmacêutica e de alimentos funcionais. Tanto o ω -3 quanto o ω -6 são precursores de combinações hormonais tipo eicosanóides, que estão envolvidos em vários processos biológicos importantes no corpo humano (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1998).

Quando administrados oralmente, os ω -3 incorporam-se rapidamente às plaquetas e competem com o ácido araquidônico pela mesma posição (2-acil) da membrana fosfolipídica e como substrato para o complexo enzimático cicloxigenase e lipoxigenase. O ácido araquidônico é uma substância pró - inflamatória e o que determinará as quantidades desses ácidos graxos nas membranas será o seu teor na alimentação. Uma maior quantidade de ω -3 nas células tem como resultado uma menor produção de eicosanóides pro-inflamatórios (DAS 2000).

Os ácidos graxos EPA e DHA contidos em óleos de peixe são precursores dos mediadores lipídicos, leucotrienos e prostaglandinas. A competição entre o EPA e o DHA contra o ácido araquidônico pela síntese desses mediadores, levam ao aumento da síntese de prostaglandinas e leucotrienos que têm propriedades menos inflamatórias que os eicosanóides formados a partir do ácido araquidônico (CALDER, 2006).

Atualmente, a indústria alimentícia vem tentando por meio da modificação genética, adicionar AGPI ω -3 nos alimentos. Os ácidos graxos de óleos tradicionais como soja e canola estão sendo alterados, para que estes se tornem boas fontes de ω -3. Se por um lado essa nova tendência facilitará o acesso da população aos AGPI ω -3, por ser uma fonte mais barata que o peixe, por outro lado, a velocidade no avanço das pesquisas precisa ser proporcional ao lançamento de novos produtos e seus derivados pela indústria alimentícia. Assim, a busca pelos benefícios da ingestão do ω -3 não provocará exatamente o oposto, isto é, a oferta de alimentos considerados benéficos, mas que na realidade não possuem benefício adicional algum, devido à falta de precisão e acompanhamento dessa evolução (WHELAN; RUST, 2006).

Thies et al. (2001) verificaram os efeitos de uma suplementação com moderados níveis de ácido ALA, GLA, ácido araquidônico, DHA ou óleo de peixe, no número e na função de células inflamatórias e nos níveis circulantes de moléculas solúveis de adesão. Sujeitos saudáveis com idade entre 55 e 75 anos, consumiram nove cápsulas por dia durante 12 semanas, totalizando 4g de gorduras ingeridas por dia. Ao término da pesquisa os autores verificaram que a suplementação não diminuiu o número de células inflamatórias. Entretanto, a suplementação de ALA e de óleo de peixe diminuiu a concentração de moléculas solúveis

de adesão, demonstrando que quantidades moderadas dessas substâncias podem diminuir alguns marcadores de ativação endotelial.

Willemsen et al. (2008) investigaram os efeitos dos AGPI ω -3 (ALA, EPA e DHA) e ω -6 (AL, GLA, ácido dihomo- γ -linolênico, ácido araquidônico) na barreira intestinal. Os pesquisadores avaliaram a integridade da barreira pela mensuração da resistência e da permeabilidade transepitelial, e a composição da membrana fosfolipídica foi determinada por cromatografia. Com base nos resultados obtidos os autores concluíram que os AGPI de cadeia longa DGLA, ácido araquidônico, EPA e DHA foram particularmente efetivos em manter a integridade da barreira por melhorar a resistência e reduzir a permeabilidade a interleucina-4 contribuindo para a proteção contra infecções e doenças alérgicas.

2.5 Sistema imunológico e processo inflamatório

Os leucócitos, também conhecidos como glóbulos brancos, se dividem em duas grandes categorias: os fagócitos, que incluem os monócitos, macrófagos (neutrófilos, basófilos e eosinófilos) e os linfócitos. Existem três diferentes tipos de linfócitos: linfócitos T e B e as células *natural killer*. Todas as células do sistema imune são produzidas na medula óssea e podem ser encontradas dispersas pelo corpo, ou em órgãos específicos como o baço, o timo e os nodos linfáticos (CALDER, 2001; CALDER et al., 2002).

A inflamação faz parte de uma resposta inata imune do corpo, que responde imediatamente a infecções ou lesões por meio do processo inflamatório. Esse processo se caracteriza por vermelhidão, inchaço, calor e dor. Fluxo sanguíneo aumentado, bem como uma maior permeabilidade dos capilares, promove o deslocamento de grandes moléculas (complementos, citocinas, anticorpos) que deixam a corrente sanguínea e atravessam a barreira epitelial instalando-se nos tecidos adjacentes (CALDER, 2001).

A comunicação entre o sistema imune inato e o adquirido é feita por meio de mensageiros químicos chamados de citocinas e com a participação das moléculas de adesão. As citocinas são proteínas que podem atuar na regulação da atividade da própria célula que a produziu e/ou em outras células. Cada citocina pode ter várias funções em diferentes tipos de células. Elas atuam por meio da ligação com seus receptores específicos localizados na superfície das células alvo, promovendo alterações no crescimento, no desenvolvimento e na atividade daquela célula (CALDER, 2001).

Dentre os vários tipos de citocinas produzidas pelos monócitos e macrófagos, as mais importantes são o TNF- α , IL-1 e IL-6. Estas citocinas estimulam a destruição das bactérias e

tumores pela ativação dos neutrófilos, monócitos e macrófagos. Além disso, os linfócitos T e B que também são estimulados por estas citocinas, iniciam a produção de outras citocinas. Devido a esta importante associação entre o sistema inato e o adquirido, é que o TNF- α , a IL-1 e IL-6 são considerados mediadores de ambos os sistemas (OSTROWSKY et al., 1999; CALDER, 2001).

Por se tratar de um processo natural de defesa contra agentes infecciosos, a produção de TNF- α , IL-1 e IL-6 torna-se benéfica ao organismo. Entretanto, quantidades inapropriadas ou até mesmo uma superprodução dessas moléculas, podem se transformar num risco à saúde do indivíduo, pois tais citocinas, em especial o TNF- α , estão envolvidas nas causas de algumas respostas patológicas como câncer, Alzheimer, disfunção endotelial e artrite, que ocorrem no processo inflamatório (ABBAS; LICHTMAN; PODER, 2003). É importante salientar que a IL-6 não é classificada como inflamatória ou pró-inflamatória, mas como sendo uma citocina que responde à inflamação, já que ela por si só, não induz o processo inflamatório (OSTROWSKY et al., 1999). Além disso, a IL-6 pode antagonizar os efeitos pro inflamatórios do TNF- α possuindo características antiinflamatórias (PEDERSEN et al., 2003).

Além das citocinas pró-inflamatórias, existem as citocinas antiinflamatórias, que têm o papel de contra regular as ações das citocinas pró-inflamatórias. Dentre estas, pode-se citar a interleucina-4, interleucina-10, e as citocinas inibidoras tais como: receptor antagonista de IL-1 e receptores solúveis de TNF (ABBAS; LICHTMAN; PODER, 2003).

Desde o final da década passada e início da década atual tem sido postulado que as doenças cardiovasculares apresentam um forte componente inflamatório. Tracy et al. (1997), foram um dos primeiros a descrever que sujeitos cardiopatas apresentavam elevados níveis plasmáticos de proteína-C reativa (PCR). De fato, a doença aterosclerótica é um processo inflamatório, do mesmo modo que a ação das lipoproteínas LDL no dano endotelial se dá por meio da oxidação destas lipoproteínas por macrófagos (LIBBY, 2002).

2.6 Sistema imunológico, processo inflamatório e os AGPI

Os eicosanóides são mensageiros químicos sintetizados a partir do carbono 20 dos AGPI, ácido dihomo- γ -linolênico (20:3 ω -6), ácido araquidônico (20:4 ω -6) e EPA (20:5 ω -3). Os eicosanóides incluem as prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, lipoxinas, ácido hidroperoxieicosatetraenoico e o ácido hidroxieicosatetraenoico. O ácido graxo precursor para a síntese de eicosanóide é lançado da membrana das células dos fosfolipídios,

geralmente por ação da fosfolipase A₂ ativada em resposta a um estímulo celular. Como a maioria das membranas das células imunes contém maiores quantidades de ácido araquidônico, comparado com o ácido dihomo- γ -linolênico e EPA, ele é geralmente o principal precursor para a síntese de eicosanóides (CALDER, 2001; CALDER et al., 2002; CALDER, 2006).

Alguns eicosanóides produzidos a partir do ω -6 podem elevar a coagulação sanguínea, a pressão arterial, a frequência cardíaca e as inflamações. Entretanto, os eicosanóides, formados a partir dos AGPI ω -3, possuem efeitos opostos e saudáveis. Os AGPI ω -3 podem competir com os ω -6 pelas mesmas enzimas ciclooxigenase, lipoxigenase e epoxigenase na formação de diferentes classes de eicosanóides, que podem competir ou antagonizar os efeitos dos eicosanóides dos AGPI ω -6 (MOAYAD, 2005). De acordo com Simopoulos (2002), quantidades excessivas de ácidos graxos ω -6 e uma relação muito alta de ω -6/ ω -3, como encontrada atualmente na dieta ocidental, promovem patogênese de várias doenças, incluindo doença cardiovascular, câncer e doenças inflamatórias e auto-imunes, enquanto que um aumento nos níveis de ω -3 (baixa relação ω -6/ ω -3) exerce um efeito supressivo.

Uma dieta rica em EPA e seu derivado DHA, resulta na diminuição de ácido araquidônico na membrana dos fosfolipídios das células envolvidas na inflamação e na imunidade. Além disso, os AGPI ω -3 parecem inibir a liberação de ácido araquidônico da membrana dos fosfolipídios pela inibição das fosfolipases. Por competirem pelos mesmos sítios ativos da ciclooxigenase e 5-lipoxigenase, o EPA suprime a produção dos derivados do ácido araquidônico e conseqüentemente eleva a produção de eicosanóides produzidos a partir do EPA. Os eicosanóides derivados do EPA atuam como antagonistas dos mediadores derivados do ácido araquidônico por compartilharem do mesmo receptor das células alvo (CALDER, 2001).

A competição entre os AGPI ω -3 e ω -6 pelas mesmas enzimas disponibilizará maiores quantidades dessas substâncias e de seus metabólitos de acordo com a quantidade de cada um na dieta da pessoa. Assim, um indivíduo que consome regularmente concentrações de ω -3 elevadas, comparado com ω -6, aumentará as quantidades sanguíneas e teciduais de ω -3 (MOYAD, 2005).

A produção de eicosanóides a partir do ácido araquidônico origina as prostaglandinas da série 2 e tromboxanos e leucotrienos da série 4. Estes eicosanóides são biologicamente ativos em pequenas quantidades, mas se grandes quantidades forem formadas, eles

contribuirão para a formação de trombos, ateromas, desordens alérgicas e inflamatórias e proliferação de células (SIMOPUOLUS, 2002).

Para Erdogan et al. (2004), a suplementação de ω -3 pode aumentar a resistência aos ataques de radicais livres e reduzir a peroxidação dos lipídios. Resultados obtidos a partir de estudos com ratos suplementados durante 30 dias com ω -3, apóiam a idéia de que estes ácidos graxos podem ser suplementos dietéticos efetivos no tratamento de varias doenças em que os mecanismos de defesa oxidante/antioxidante estão desacelerados.

Song et al. (2003) administraram IL-1 β , uma citocina pro-inflamatória, via injeção intracerebroventricular em grupos de ratos suplementados com AGPI ω -3 ethyl-EPA e AGPI ω -6 ethyl-GLA e ácido araquidônico. Após seis semanas o ácido graxo ethyl-EPA foi capaz de atenuar o estresse/ansiedade, reduzir o aumento sérico de corticosterona e prostaglandina E2 induzido pela interleucina-1b. Além disso, o ethyl-EPA e o ethyl-GLA induziram a produção da citocina antiinflamatória interleucina-10 por todas as células sanguíneas. Entretanto, a suplementação de ácido araquidônico não teve efeito sobre o comportamento, imunidade e mudanças endócrinas induzidas pela IL-1 β . A suplementação apenas de ácido araquidônico aumentou as respostas inflamatórias basais, as concentrações séricas de corticosterona e induziu ansiedade comportamental durante um teste comportamental em um labirinto suspenso na forma de “x”.

2.7 Sistema imunológico, processo inflamatório e exercício físico

Atividades físicas incomuns, ou de grande intensidade e/ou duração, são os principais causadores de lesão tecidual e são conhecidas como exercícios indutores de dano muscular (EIDM) (TEE et al., 2007). O processo inflamatório no tecido lesionado tem início, a partir da ocorrência do dano muscular provocado principalmente por contrações musculares excêntricas. Como resultado do dano muscular, é verificada uma migração em massa dos monócitos para o local lesionado, onde serão convertidos em macrófagos, para desencadear o processo de remoção do tecido necrótico e produção de prostaglandinas. As prostaglandinas atuam sobre os receptores de dor, intensificando a sensação dolorosa. O surgimento tardio da sensação de dor seria justificado pelo tempo necessário, para que todo o mecanismo acima descrito promovesse a produção da prostaglandina pelos macrófagos (MIZUMURA, 2009).

Os sintomas dos EIDM são caracterizados por rigidez, inchaço, força de contração muscular diminuída e dor muscular de inicio retardado (DMIR). Elevação nas concentrações séricas de troponina I, mioglobina e miosina de cadeia pesada, são apontadas como principais

características dos EIDM, bem como o surgimento de enzimas intramusculares na corrente sanguínea, tais como, creatinoquinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aldase entre outras (NIKOLAIDIS et al., 2008; PASCHALIS et al., 2007). Desta maneira, o surgimento de enzimas musculares na corrente sanguínea após o exercício físico é bastante utilizado como marcador da ocorrência de dano muscular. A concentração ou a atividade de enzimas musculares observada na corrente sanguínea após um exercício incomum e/ou intenso aumenta de duas a dez vezes acima das concentrações normais (BALNAVE; THOMPSON, 1993).

De acordo com Ostrowski et al. (1999), atualmente reconhece-se que substâncias liberadas dos músculos lesados podem agir como “hormônios da lesão”, dando início ao processo inflamatório. Células mononucleares do músculo são ativadas pela lesão, fornecendo o estímulo químico às células inflamatórias circulantes. Citocinas são liberadas pelos neutrófilos invasores do local lesionado, que atraem e ativam mais células inflamatórias.

Prestes et al. (2008) verificaram os efeitos de exercícios de curta duração e diferentes intensidades na função dos linfócitos e citocinas em ratos Wistar com dois meses de idade. Todos os grupos exercitados apresentaram significativo aumento no número total de leucócitos, linfócitos teciduais e circulantes em comparação com o controle. Nenhuma alteração na função dos linfócitos foi observada. Entretanto, nos grupos que realizaram exercício moderado (15m e 5m com adição de 5% do peso corporal dos animais) ocorreu diminuição nos níveis de TNF- α .

A síndrome do overtraining é um fenômeno que acomete atletas que treinam com altos volumes e/ou intensidades sem um tempo de recuperação adequado. O overtraining caracteriza-se pelo acúmulo de estresse advindo do treinamento ou não, resultando num longo período de diminuição da performance com ou sem sinais e sintomas fisiológicos ou psicológicos, no qual a restauração da performance pode levar várias semanas ou meses (HALSON; JEUKENDRUP, 2004).

Uma das teorias aceitas para explicar as causas do surgimento da síndrome do overtraining é a interação lesão-inflamação-citocinas. Segundo essa teoria, as microlesões observadas nos músculos, tendões e ossos, ocasionados pelo exercício físico irão se adaptar e se regenerar, caso um período de recuperação adequado seja proporcionado ao atleta. Esses tecidos lesionados uma vez adaptados recebem a denominação de microtraumas adaptativos. Entretanto, quando sobrecargas sucessivas são impostas ao indivíduo com um curto período

de recuperação, esses microtraumas evoluem de uma inflamação local e aguda, para uma inflamação sistêmica e crônica (SMITH et al., 2004).

Uma característica comum observada em atletas com diagnóstico de overtraining é a presença de marcadores inflamatórios na corrente sanguínea (ROGERO; MENDES; TIRAPEGUI, 2005). Dentre esses marcadores estão as citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 e IL-6 (CALDER, 2006).

A proteína C-reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda reagente que atua no sistema imune inato como um padrão de reconhecimento molecular. Tradicionalmente, a PCR era vista como um mero espectador do processo inflamatório, sem desempenhar um papel direto na cascata inflamatória. Entretanto, evidências recentes sugerem que a PCR pode contribuir diretamente para o estado pró-inflamatório. A PCR emergiu como o marcador inflamatório de risco cardiovascular mais efetivo e com ótima acurácia. Sua produção ocorre no fígado, estimulada pela presença de IL-6. Elevados níveis basais de PCR são um forte indicador independente de risco vascular (BLAKE; RIDKER, 2001).

Por se tratar de um dos melhores e mais modernos marcadores inflamatórios, a PCR despertou a atenção dos pesquisadores e fisiologistas no campo do treinamento desportivo sendo incluída nas análises bioquímicas de pesquisas com atletas (ALBERT; GLYNN; RIDKER, 2004; MASTALLOUDIS et al., 2004; TAKASHIMA et al., 2007). Seu uso passou a ser rotina nos exames bioquímicos dos atletas, para avaliar a magnitude do estresse físico e uma ferramenta a mais na tentativa de diagnosticar precocemente o estado de overtraining.

Albert, Glynn e Ridker (2004) demonstraram que existe uma associação inversa entre atividade física e marcadores inflamatórios. Quanto mais alto for o nível de condicionamento físico de uma pessoa, menor é a produção de PCR. A diminuição do índice de massa corporal e redução na produção de IL-6 pelos adipócitos podem ser as possíveis causas para a existência dessa relação inversamente proporcional entre o nível de condicionamento físico e a produção de PCR.

Após um evento esportivo de ultramaratona, caracterizado por grande estresse físico, foi observada elevação da PCR, bem como do TNF- α e da IL-6. Como já era de se esperar, o aumento das concentrações de PCR foi acompanhado da elevação no número de citocinas, principalmente a IL-6 que estimula o fígado a produzir esse marcador inflamatório (MASTALLOUDIS et al., 2004).

Takashima et al. (2007) mensuraram as concentrações de vários marcadores de dano muscular e a PCR como marcador inflamatório em atletas de esqui moderadamente treinados, nos quais, 24 horas após um evento de 50km, a PCR sofreu um aumento

significativo, permanecendo, porém, no limite dos valores de referência, e normalizando em 72 horas.

2.8 AGPI ω -3, processo inflamatório e exercício

Os ω -3 têm sido primeiramente associados a processos inflamatórios, derivados de doenças cardiovasculares, porém, tem sido demonstrado que além dos benefícios na função cardíaca, a suplementação de EPA e DHA também pode beneficiar atletas e pessoas que se submetem a rotinas diárias de esforços físicos extenuantes. Tais benefícios incluem redução da frequência cardíaca de repouso durante exercício submáximo (NINIO et al. 2008; BUCKLEY et al. 2008), variabilidade da frequência cardíaca (NINIO et al., 2008), redução da pressão arterial diastólica (BUCKLEY et al., 2008), da pressão arterial média de repouso, aumento do volume de ejeção, aumento do débito cardíaco e aumento da variabilidade da frequência cardíaca (WALSER; STEBBINS, 2008). Portanto, o transporte de oxigênio durante o exercício pode ser positivamente influenciado pela suplementação de ω -3, podendo gerar benefícios tanto para indivíduos cardiopatas e com baixa tolerância ao exercício, quanto para pessoas saudáveis praticantes de exercício físico (WALSER; STEBBINS, 2008; NINIO et al., 2008; BUCKLEY et al., 2008).

Com relação à frequência cardíaca, os resultados ainda são bastante controversos. Ninio et al. (2008) demonstraram redução na frequência cardíaca de repouso e durante exercício submáximo, enquanto que Walser e Stebbins, (2008) não observaram alteração nos valores da frequência cardíaca durante o repouso e exercício físico de baixa ou moderada intensidade, em resposta à suplementação de ω -3.

Mancardi et al. (2008), observaram que o tratamento com uma dieta enriquecida com ω -3, melhorou a proteção cardíaca contra eventos isquêmicos, em ratos Wistar submetidos a um protocolo de exercício forçado. Entretanto, os ratos submetidos ao protocolo de exercício, apresentaram uma menor tolerância cardíaca para eventos isquêmicos, a qual não pode ser revertida pela suplementação de ω -3.

Segundo Thomas et al., (2004), a suplementação com ω -3 em homens jovens, elevou a concentração do colesterol HDL, enquanto o grupo que realizou uma sessão de exercício aeróbio na esteira (60 minutos a do 60% VO_2 máx) elevou as concentrações tanto do HDL, quanto do LDL. No grupo que combinou a suplementação de ω -3 com exercício, as concentrações do colesterol HDL foram maiores do que as encontradas no exercício isolado,

havendo uma tendência a ser maior que a suplementação sem exercício. A combinação de exercício mais suplementação com ω -3, não produziu efeitos sobre o LDL nesta pesquisa.

Foi com base nas pesquisas que demonstravam melhorias na função cardíaca de atletas, que Buckley et al. (2008), examinaram os efeitos do ω -3 no desempenho de endurance, recuperação e fatores de risco cardiovascular em 25 jogadores de futebol. O estudo foi conduzido num modelo duplo-cego, com apenas 5 semanas de suplementação e treinamento, no qual 12 atletas ingeriam 6g/d de DHA, enquanto o grupo controle (n=13) consumia a mesma quantidade sendo de cápsulas contendo óleo de semente de girassol. A suplementação elevou as quantidades sanguíneas de ω -3 e reduziu as de triacilglicerol, a pressão arterial diastólica e a frequência cardíaca durante exercício submáximo na esteira. Portanto, cinco semanas de suplementação com DHA melhorou a função cardiovascular e seus fatores de risco, mas não foi capaz de melhorar a endurance nem a recuperação dos atletas.

A possibilidade dos AGPI ω -3 possuírem a capacidade de gerar citocinas antiinflamatórias e conseqüentemente, influenciar, a resposta inflamatória induzida pelo exercício foi levantada por Andrade e Tavares do Carmo (2004). Mais tarde, Andrade et al., (2007) suplementaram AGPI ω -3 em nadadores de elite, durante seis semanas. A suplementação foi capaz de atenuar a produção de prostaglandinas da classe E2 em sujeitos suplementados, em relação a um grupo placebo. Entretanto, uma redução nas concentrações de TNF- α foi observada tanto no grupo experimental, quanto no placebo. Estes resultados sugerem que a suplementação de ω -3 influencia o exercício associado à resposta imunológica em atletas submetidos a treinamentos extenuantes.

Homens brancos (n=18), com histórico de infarto do miocárdio e fração de ejeção <40% foram randomicamente distribuídos em grupo placebo e grupo com suplementação de ω -3. Os AGPI ω -3 reduziram a frequência cardíaca de repouso e melhoraram o tempo de recuperação de 1 minuto após o exercício. Porém, não houve efeitos significantes na pressão arterial, complacência arterial, concentrações sanguíneas de lipídios nem de marcadores inflamatórios (O'KEEFE et al., 2006).

Apesar de afirmarem que não foi verificado efeito da suplementação de ω -3 nos marcadores inflamatórios, O'Keefe et al. (2006) tomaram como base apenas os valores após o período de suplementação, comparando o grupo placebo com o grupo experimental. Os pesquisadores chegaram a esta conclusão sem valores prévios de referencia dos marcadores inflamatórios dos sujeitos da pesquisa. Esse erro metodológico não deixa claro se a

suplementação de ω -3 realmente não interferiu nos marcadores inflamatórios, já que não existiram valores prévios para tal comparação.

Os fosfolipídios plasmáticos sofrem alterações de composição por meio da suplementação de AGPI ω -3. Apesar de não existir um período mínimo pré - determinado, em pesquisas cuja metodologia incluía-se a administração de suplementos alimentares de ω -3, demonstrou-se que poucas semanas de suplementação são o bastante para aumentar a quantidade dessas substâncias na corrente sanguínea, podendo ocorrer variações entre três e 12 semanas (MICKLEBOROUGH et al., 2003; ANDRADE et al., 2007; NINIO et al., 2008; BUCKLEY et al., 2008).

Kew et al. (2004) verificaram que a suplementação de 42 sujeitos com EPA (4,7g/d) ou DHA (4,9g/d) por apenas quatro semanas, foi suficiente para promover alterações significativas na composição dos fosfolipídios plasmáticos e dos neutrófilos. Embora o estudo tenha sido conduzido com sujeitos aparentemente saudáveis, a idade variou de 23 a 65 anos, de modo que os sujeitos mais velhos teoricamente poderiam apresentar uma atividade pró-inflamatória em relação aos seus congêneres mais novos. Já em ratos Sprague-Dawley, Kaur et al. (2009) observaram que a administração de EPA, DHA e DPA pelo método de gavagem em apenas sete dias, foi capaz de alterar o perfil lipídico dos animais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Caracterização e desenho do estudo

Trata-se de um estudo descritivo quanto ao objetivo, experimental, longitudinal, de caráter quantitativo. Os participantes tiveram seu consumo alimentar de ω -3 previamente determinado, bem como sua composição corporal. Após isso, receberam suplementação de ω -3 ou placebo por quatro semanas. No início da quarta semana de suplementação, os militares realizaram um acampamento militar de sobrevivência, com duração de cinco dias, caracterizado por esforços físicos constantes ao longo do dia e da noite, restrição alimentar e de sono. Coletas sanguíneas foram feitas antes do início da suplementação e imediatamente antes, durante e no final do acampamento. Durante as três semanas de suplementação que não ocorreram simultaneamente com o acampamento, as atividades físicas dos sujeitos foram supervisionadas, seguindo o macrociclo anual definido na programação de treinamento físico militar daquela unidade.

3.2 População e local do estudo

A pesquisa foi realizada com militares do 16º Regimento de Cavalaria Mecanizado localizado na cidade de Bayeux - PB. A amostra foi constituída por 20 rapazes, alunos do Núcleo de Preparação de Oficiais da Reserva (NPOR), distribuídos em dois grupos: grupo Suplementado (SUP) com 10 alunos suplementados com ômega-3 e grupo Placebo (PLA) com 10 alunos que receberam cápsulas contendo maltodextrina.

Os participantes do estudo foram escolhidos de maneira intencional, com divisão intra-grupos de maneira aleatória e de forma alternada entre eles. Foram adotados os seguintes critérios de inclusão: ser do gênero masculino; ter entre 18 anos e 20 anos de idade; realizar exercício físico numa frequência de pelo menos cinco vezes por semana e há pelo menos seis meses; apresentar dieta normocalórica, normoglicídica.

3.3 Questões éticas

Em um primeiro momento, os pesquisadores entraram em contato com o militar responsável pelo esquadrão do NPOR, a fim de obter a sua autorização para a realização da pesquisa. Em seguida, o projeto foi encaminhado para a apreciação do Comitê de Ética em

Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, com a finalidade de avaliar as questões éticas, no intuito de preservar os direitos dos participantes, sendo aprovado sob protocolo de nº 0051 conforme certidão do CEP (Anexo A).

Após a aprovação, foi realizada uma apresentação didática do projeto na organização militar, com todos os alunos e militares responsáveis para explicar-lhes os objetivos da pesquisa, esclarecer sobre os procedimentos e para obter consentimento, por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A), conforme determina a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que regulamenta os aspectos éticos de pesquisas envolvendo seres humanos. Embora fizessem parte de uma corporação militar, foi enfaticamente esclarecido que a participação no estudo era voluntária, podendo o participante desistir a qualquer momento. Durante o estudo, três militares manifestaram o desejo de não mais participar da pesquisa, o que foi prontamente atendido.

3.4 Avaliação do consumo alimentar

O consumo alimentar foi avaliado pelo método do recordatório de 24 horas (Anexo B) que consiste em definir e quantificar todos os alimentos e bebidas ingeridos no período anterior ao da entrevista, que pode ser de 24h precedentes ou, mais comumente, o dia anterior (FISBERG et al., 2005). Optou-se por esse método por ser considerado o instrumento mais empregado para avaliação da ingestão de alimentos e nutrientes no Brasil e no mundo (FISBERG et al., 2005). Aplicou-se durante uma semana o questionário, três vezes para cada sujeito, sendo que, dois dias foram representativos do consumo alimentar referente a dias da semana e um dia referente ao consumo do final de semana e, para caracterizar a dieta habitual dos sujeitos e o consumo de ácidos graxos, tomou-se uma média dos três valores. Para a análise dos recordatórios utilizou-se o software NutWin (versão 1.5 2002).

3.5 Avaliação da composição corporal

Para a caracterização da amostra, os sujeitos selecionados foram submetidos a aferições de medidas antropométricas. Para mensuração da massa corporal (kg), os sujeitos foram posicionados em pé, mantendo o afastamento lateral dos pés, em posição ereta, com roupas leves e foi utilizada uma balança digital MIControl II, Plena, Brasil, com capacidade de 150kg e graduação de 100g. Para a mensuração da estatura, os sujeitos foram mantidos em posição ereta, em pé, braços estendidos ao longo do corpo, descalços, pés unidos, procurando

pôr em contato com o instrumento de medida as superfícies posteriores do calcanhar, cintura pélvica e região occipital. A medida foi realizada com o sujeito em apnéia inspiratória, com a cabeça orientada segundo o plano de Frankfurt, paralela ao solo e com o cursor em ângulo de 90° em relação à escala (NORTON; OLDS, 2000), e foi utilizado um estadiômetro telescópico personal Sanny, Brasil, com capacidade de 110cm a 204cm e precisão de 1cm.

A composição corporal foi quantificada por meio das medidas de espessura das dobras cutâneas do lado direito do avaliado, em uma série de três medidas sucessivas, num mesmo local, considerando a média das três como sendo o valor adotado para esse ponto. Foram mensuradas as dobras cutâneas tricipital, subescapular, bicipital, supra-ilíaca, supraespinhal, abdominal, coxa, panturrilha medial e axilar média (NORTON; OLDS, 2000), utilizando-se um adipômetro científico Sanny, Brasil, com capacidade de 0mm a 78mm.

3.6 Suplementação: obtenção e dosagem do suplemento e do placebo

A suplementação consistiu de cápsulas contendo 1000mg de ω -3 (180mg de EPA e 120mg de DHA) cobertas por gelatina para o grupo experimental (Vitamin Life, Matão, Brasil). O placebo foi composto por cápsulas de formato similar aquelas do ω -3, contendo 80mg de maltodextrina as quais foram produzidas em uma farmácia de manipulação (Farmafórmula, João Pessoa, Brasil). Os sujeitos consumiram três cápsulas por dia (540g/dia de EPA e 360g/dia de DHA). Assim, todos os participantes do grupo experimental consumiram 3,0g/dia de ω -3 enquanto que os sujeitos do grupo placebo consumiram 80mg/dia de maltodextrina.

Todo o estudo foi desenvolvido conforme o modelo duplo-cego. Apenas o Coordenador da coleta de dados conhecia os códigos de cada grupo, os quais, só foram revelados aos demais pesquisadores após o final das análises bioquímica e estatística. Nas três primeiras semanas, o pesquisador responsável pelo estudo entregou as cápsulas diretamente a cada sujeito do estudo e orientou-os para as ingerissem à sua frente. Na quarta semana, durante o acampamento, as cápsulas foram entregues por um tenente responsável pelo grupamento, que estava participando da pesquisa como colaborador.

3.7 Regime militar durante o Curso de Formação de Oficiais da Reserva (NPOR)

Quando se iniciou o protocolo de suplementação, os sujeitos do estudo estavam na 23ª semana do Curso de Formação de Oficiais da Reserva e o acampamento ocorreu na 26ª.

Até o início da suplementação, os militares já haviam passado por um regime de treinamento físico prescrito por um profissional de educação física, não militar, o qual foi baseado na teoria de planejamento do treinamento de Mtaveiev (1991), seguindo os preceitos científicos do treinamento desportivo. No programa, foram encontrados aspectos de ondulação das cargas de treinamento e aplicação de conceitos de ciclos (mesociclos e microciclos). Deste modo, os microciclos foram organizados para conter fases de choque (semanas de treinamento intenso), fases de recuperação (semanas de treinamento leves, regenerativos), e fases de treinamento ordinário (semanas de treinamento de acordo com a capacidade atual dos militares). Portanto, quando do início do estudo, os militares já realizavam um programa racional e equilibrado de treinamento.

O regime de acampamento foi constituído por cinco dias com ingestão calórica controlada e abaixo das exigências nutricionais tanto em termos de aporte calórico quanto em quantidades de refeições, poucas horas de sono e intenso estresse físico. No primeiro dia de acampamento, cada militar recebeu um kit de Ração Operacional de Combate. Este kit tem a finalidade de alimentar uma pessoa, durante 24 horas, em situações de campanha. Cada unidade completa é composta por quatro refeições: desjejum, almoço, jantar e ceia. No entanto, os sujeitos só consumiram as porções estabelecidas no planejamento das atividades (ver tabela 1) As refeições foram constituídas por alimentos termoprocessados de pronto consumo em embalagens flexíveis esterilizáveis, quando se tratou das refeições principais (almoço e jantar), e em menor quantidade por alimentos liofilizados e/ou desidratados de fácil reconstituição empregados no desjejum. O valor calórico total do kit varia de 3.000 a 3.600 kcal, sendo nutricionalmente equilibrada perfazendo uma média de 12 a 15% para proteína, 20 a 35% para lipídios e 50 a 70% para carboidratos, do Valor Calórico Total.

3.8 Dosagens bioquímicas

Os sujeitos foram submetidos a quatro coletas de sangue: antes do início da suplementação, antes do início do acampamento, durante o acampamento e imediatamente após o acampamento.

3.8.1 Coleta de sangue para as dosagens

Todo o procedimento de coleta sanguínea foi realizado por uma profissional de enfermagem experiente. As coletas foram realizadas em tubo vácuo BD Vacutainer® de uso

único, com anticoagulante EDTA/K2. Foram retirados 5 ml de sangue venoso a partir da veia antecubital utilizando-se seringas a vácuo descartáveis (vacutainer) e o sangue foi imediatamente transportado para o laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley. O soro foi obtido por centrifugação a 3000rpm por 10 minutos a 4°C e refrigerado a 4° até o momento das análises, que aconteceram no mesmo dia ou no dia seguinte à coleta.

3.8.2 Análise da CK

Para a análise de CK foi utilizado um kit comercial (Labtest, Minas Gerais, Brasil). Um volume de 20ul de plasma foi adicionado a 1 ml do reagente de trabalho, conforme instruções do kit, e a leitura foi feita em um espectrofotômetro, modelo SP 22, a um comprimento de onda de 340nm.

3.8.3 Análise da Proteína C-reativa ultra-sensível (PCR-us).

A PCR-us foi analisada pelo método ultra-sensível, com uso do kit comercial Biosystems (Barcelona, Espanha) utilizando um fotômetro automático Biosystems A25 (Barcelona, Espanha). Após preparo do reagente de trabalho e das amostras, o reagente de trabalho e as porta cubetas do fotômetro foram aquecidas a 37°C. Um volume de 1,5ml de reagente de trabalho foi misturado a 20ul de amostra, branco ou padrão. Um cronômetro foi acionado e a leitura foi feita a 540nm aos 10 segundos e aos cinco minutos. O cálculo da PCR foi feito contra uma curva de calibração

3.8.4 Análise do colesterol total

A análise foi realizada seguindo as recomendações do kit comercial da marca Labtest (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Um volume de 10µl de amostra foi adicionado a 1ml do reagente de trabalho em tubos ependorf. Em seguida, os tubos foram colocados em banho-maria a 37°C por 10 minutos, sendo, finalmente, feita a leitura em espectrofotômetro, em um comprimento de onda de 500nm, previamente zerado contra um branco contendo apenas o reagente de trabalho.

3.9 Análise Estatística

Os dados foram apresentados como média e desvio padrão da média. Os testes de Smirnov-Kolmogorov e de Barlet foram utilizados para testar a normalidade dos dados de cada grupo e as diferenças entre os desvios padrão entre os conjuntos de dados que estavam sendo comparados. Com base nestes resultados, o teste *t*-student para amostras independentes, o teste T para amostras pareadas e o teste de ANOVA foram adotados. Quando os dados não permitiram o uso de testes paramétricos foram utilizados testes de Mann-Whitney, Wilcoxon e Kruskal-Wallis respectivamente. Todos estes procedimentos foram realizados no software GraphPad InStat versão 3.03 (GraphPad, San Diego, CA, USA).

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PODER, J.S. Citocinas. In: **Imunologia celular e molecular**. 4 ed. Rio de Janeiro: Revinter, cap.11, p.235-240, 2003
- ALBERT, M. A.; GLYNN, R. J.; RIDKER, P. M. Effect of Physical Activity on Serum C-Reactive Protein. **The American Journal of Cardiology**, v. 93, p. 221–225, 2004.
- ALNAJJAR, A.; et al. Effect of n-3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids on lymphocyte proliferation, interleukin production and phospholipid fatty acids composition in type 2 diabetic and healthy subjects in Jordan people. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**. v. 74, p. 347–356, 2006.
- ANDRADE, P. M. M.; TAVARES do CARMO, M. G. Dietary long chain N-3 fatty acids and anti-inflammatory action: potential application in the field of physical exercise, **Nutrition**, v. 20, p. 243, 2004.
- ANDRADE, P. M. M.; et al. Effects of the fish-oil supplementation on the immune and inflammatory responses in elite swimmers. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 77, p. 139–145, 2007.
- ARTERBURN, L. M.; HALL, E. B.; OKEN, H. Distribution, interconversion, and dose response of n₃ fatty acids in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83 (suppl), p.1467S–76S, 2006.
- BALNAVE, C. D.; THOMPSON, M. W. Effect of training on eccentric exercise-induced muscle damage. **Journal of Applied Physiology**, v. 75, p. 1545-1551, 1993.
- BANG, H. O.; DYERBERG, J.; HJOORNE, N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. **Acta Medica Scandinavica**, v. 200, p. 69 – 73, 1976.
- BLAKE ,G J.; RIDKER, P. M. Novel Clinical Markers of Vascular Wall Inflammation. **Circulation research**, v. 89, p. 763-771, 2001.
- BORTOLOTTI, M.; TAPPY, L.; SCHNEITER, P. Fish oil supplementation does not alter energy efficiency in healthy males. **Clinical Nutrition**, v. 26, p. 225–230, 2007.
- BRESLOW, J. L. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83 (suppl), p. 1477S– 82S, 2006.
- BUCKLEY, J. D.; et al. DHA-rich fish oil lowers heart rate during submaximal exercise in elite Australian Rules footballers. **Journal of Science and Medicine in Sport and exercise**, v. 12, p. 503–507, 2008.
- BURR, G. O.; BURR, M. M. A new deficiency disease produced by rigid exclusion of fat from the diet. **F. Biol. Chem**, v. 82, p. 345-367, 1929.
- CALDER, P. C. Immunomodulation by omega-3 fatty acids. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 77, p. 327–335, 2007.

CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity, **Lipids**, v. 36, n. 9, p. 1007–1024, 2001.

CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, p.197–202, 2006.

CALDER, P. C.; DECKELBAUM, R. J. Omega-3 fatty acids: time to get the messages right! **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 11, p. 91–93, 2008.

CALDER, P. C.; et al. Fatty acids and lymphocyte functions. **British Journal of Nutrition**, v. 87 (Suppl.), n. 1, p. S31–S48, 2002.

DAS, U.N. Beneficial effect(s) of n-3 fatty acids in cardiovascular diseases: but, why and how? **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 63, n. 6, p. 351-362, 2000.

DYERBERG J.; et al. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? **Lancet**, v. 15, p. 117-9, 1978.

ERDOGAN H.; et al. Effect of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids** v. 71, p.149–152, 2004.

FEDAČKO, J.; et al. *n*-3 PUFAs—From dietary supplements to medicines. **Pathophysiology**, v. 14, p. 127–132, 2007

FISBERG, R. M.; et al. **Inquéritos alimentares: métodos e bases científicas**. Barueri, SP: Manole, 2005.

FRITSCHKE, K. Fatty acids as modulators of the immune response. **Annual Reviews Nutrition**. V. 26, p. 45–73, 2006

FOSS, M L; KETEYIAN, S J. **Bases fisiológicas do exercício e do esporte**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000.

HALSON, S. L.; JEUKENDRUP, A. E. Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. **Sports Med** v. 34, p. 967-981, 2004

HARRIS, W. S.; et al. Blood Omega-3 and Trans Fatty Acids in Middle-Aged Acute Coronary Syndrome Patients. **The American Journal of Cardiology**, v. 99, p. 154 –158, 2007.

HEIRD W. C.; LAPILLONNE, A. The role of essential fatty acids in development. **Annual Review of Nutrition**, v. 25, p. 549–71, 2005.

JAMES, M. J.; PROUDMAN, M. S.; CLELAND, L. G. Dietary n-3 fats as adjunctive therapy in a prototypic inflammatory disease: issues and obstacles for use in rheumatoid arthritis. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 68, p. 399–405, 2003.

KAUR, G.; et al. Short-term docosapentaenoic acid (22 : 5 n-3) supplementation increases tissue docosapentaenoic acid, DHA and EPA concentrations in rats. : **The British Journal of Nutrition**, v. 4, p.1-6, 2009.

KEW, S.; et al. Effects of oils rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on immune cell composition and function in healthy humans. **American journal of clinical nutrition**, v. 79, p. 674–681, 2004.

KEW, S.; et al. The Effect of Eicosapentaenoic Acid on Rat Lymphocyte Proliferation Depends Upon Its Position in Dietary Triacylglycerols. **The British Journal of Nutrition**, v. 133, p. 4230–4238, 2003.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, p. 868 – 874, 2002.

LIPPI, G.; et al. Acute variation of biochemical markers of muscle damage following a 21-km, half-marathon run. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 15, p. 1-6, 2008.

MANCARDI, D.; et al.; Omega 3 has a beneficial effect on ischemia/reperfusion injury, but cannot reverse the effect of stressful forced exercise. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v.19, n. 1, p. 20-26, 2008.

MASTALOUDIS, A.; et al. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation but not inflammation in ultramarathon runners. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, n. 10, p. 1329-1341, 2004.

MATVEEV, L P. **Fundamentos do treino desportivo**. Lisboa: Livros Horizonte, 1991.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

MICKLEBOROUGH, T. D.; et al. Fish Oil Supplementation Reduces Severity of Exercise-induced Bronchoconstriction in Elite Athletes. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 168, 2003

MIZUMURA, K. Peripheral mechanism of muscle pain: An update. **Current Anaesthesia & Critical Care** v. 20, p. 183–187, 2009.

MORI, T. A.; WOODMAN, R. J. The independent effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular risk factors in humans. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**; v.9, p. 95–104, 2006.

MOYAD, M. A. An introduction to dietary/supplemental omega-3 fatty acids for general health and prevention: Part I. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 23, p. 28–35, 2005.

MOYAD, M. A. An introduction to dietary/supplemental omega-3 fatty acids for general health and prevention: Part II. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 23, p. 36–48, 2005.

NIKOLAIDIS, M. G.; et al. The Effect of Muscle-Damaging Exercise on Blood and Skeletal Muscle Oxidative Stress: Magnitude and Time-Course Considerations. **Sports Medicine**, v. 38, p. 579-606, 2008.

NIKOLAIDIS, M. G.; et al.; Decreased blood oxidative stress after repeated muscle-damaging exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 7, p. 1080-1089, 2007.

NINIO, D. M.; et al. Docosahexaenoic acid-rich fish oil improves heart rate variability and heart rate responses to exercise in overweight adults. **The British Journal of Nutrition**, v. 100, p. 1097-103, 2008.

NORTON, K.; OLDS, T. **Antropometrica**. Argentina: Biosystem, 2000.

O'KEEFE, J. H.; et al. Effects of Omega-3 Fatty Acids on Resting Heart Rate, Heart Rate Recovery After Exercise, and Heart Rate Variability in Men With Healed Myocardial Infarctions and Depressed Ejection Fractions. **The American Journal of Cardiology**, v. 97, p. 1127–1130, 2006.

OSTROWSKI, K.; et al. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. **Journal of Physiology**, v. 515, n. 1, p. 287—291, 1999.

PASCHALIS, V.; et al.; Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise. **In Vivo**, v. 21, n. 5, p. 877-83, 2007.

PEDERSEN, B. K; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the Immune System: Regulation, Integration, and Adaptation. **Physiological reviews**, v. 80, p. 1055-1081, 2000.

PEDERSEN B K.; et al. Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. **Pflugers Arch**; v.446, p. 9–16, 2003.

PRESTES, J.; et al. Lymphocyte and cytokines after short periods of exercise. **International Journal of Sports Medicine**; v. 29 p. 1–5, 2008.

ROGERO, M. M.; MENDES, R. R.; TIRAPEGUI, J. Aspectos neuroendócrinos e nutricionais em atletas com overtraining. **Arquivo Brasileiro Endocrinol Metab** v. 49, p. 359-368, 2005.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, U. N.; Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, p. 230 – 240, 1998.

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

SINCLAIR, H M. The diet of Canadian Indians and Eskimos. **Proc Nutr Soc**. v. 12, p. 69 – 82, 1953.

SMITH, B K.; et al. Exercise Plus n-3 Fatty Acids: Additive Effect on Postprandial Lipemia. **Metabolism**, v. 53, n. 10, p. 1365-137, 2001.

SMITH, L. L. Cytokines hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 32, p. 32: 317-31, 2000.

SMITH BK.; et al. Exercise Plus n-3 Fatty Acids: Additive Effect on Postprandial Lipemia. **Metabolism**; v. 53, p. 1365-1371, 2004.

SONG, C.; et al. Effects of dietary n-3 or ω -6 fatty acids on interleukin-1 β -induced anxiety, stress, and inflammatory responses in rats. **Journal of Lipid Research**, v. 44, p. 1984 – 1991, 2003.

TAKASHIMA, W.; et al. Muscle damage and soreness following a 50-km cross-country ski race. **European Journal of Sport Science**, v. 7, n. 1, p. 27-33, 2007.

TEE, J. C.; BOSCH, A. N.; LAMBERT, M. Metabolic Consequences of Exercise-Induced Muscle Damage. **Sports Medicine**, v. 37, p. 827-836, 2007.

TEEGALA, S. M, WILLETT, W. C, MOZAFFARIAN, D. Consumption and health effects of trans fatty acids: a review. **Journal of AOAC International**, v. 92, n. 5, p.1250-7, 2009.

THIES, F.; et al. Influence of Dietary Supplementation with Long-Chain n-3 or ω -6 Polyunsaturated Fatty Acids on Blood Inflammatory Cell Populations and Functions and on Plasma Soluble Adhesion Molecules in Healthy Adults. **Lipids**, v. 36, n. 11, 2001.

THOMAS, T. R.; et al. Effects of exercise and n-3 fatty acids on postprandial lipemia. **Journal of Applied Physiology**, v. 88, p. 2199-2204, 2004.

TRACY, R P.; et al. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly: results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 17, p. 1121 – 7, 1997.

VON SCHACKY, C.; HARRIS, W. S. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. **Cardiovascular Research**, v. 73, p. 310–315, 2007.

VON SCHACKY, C. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care** v. 10, p.129–135, 2007.

WALSER, B.; STEBBINS, C. L. Omega-3 fatty acid supplementation enhances stroke volume and cardiac output during dynamic exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 104, p.455-61, 2008.

WHELAN, J.; RUST, C. Innovative dietary sources of n-3 fatty acids. **Annual Review of Nutrition**, v. 26, p.75–103, 2006.

WILLEMSEN, L. E. M.; et al. Polyunsaturated fatty acids support epithelial barrier integrity and reduce IL-4 mediated permeability in vitro. **European Journal of Nutrition**, DOI 10.1007/s00394-008-0712-0, 2008.

WILLIAM, H. Omega-3 fatty acids: the “Japanese” factor? **J Am Coll Cardiol**, v. 52, p. 425 – 7, 2008.

WILLIAMS, M. H.; **Nutrição para saúde, condicionamento físico & desempenho desportivo.** São Paulo: Manole, 2002.

WILMORE, J. H.; COSTIL, D. L. **Fisiologia do esporte e do exercício.** Barueri-SP: Manole, 2001.

WOODS J A, VIEIRA V J, KEYLOCK K T. Exercise, Inflammation, and Innate Immunity, **Immunol Allergy Clin N Am**, v. 29, p. 381–393, 2009.

WU, A.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Docosaehaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition. **Neuroscience**, v. 155, p. 751–759, 2008.

YUSOF, H. M.; MILES, E. A.; CALDER, P.; Influence of very long-chain n-3 fatty acids on plasma markers of inflammation in middle-aged men. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 78, p. 219 – 128, 2008.

ANEXO

ANEXO A – Certidão do CEP

ANEXO B - Recordatório de 24h

Local/Horário	Alimentos	Quantidades

Fonte: FISBERG et al. (2005).

APÊNDICES

Apêndice A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE OMEGA-3 NO PROCESSO INFLAMATÓRIO E DANO MUSCULAR INDUZIDOS POR ESTRESSE FÍSICO E RESTRIÇÃO ALIMENTAR EM MILITARES.

Pesquisador Responsável: Eduardo Porto dos Santos (Mestrando)

Orientadora: Luiza Sonia Rios Ascitti

Prezado Senhor:

Sou mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição da Universidade Federal da Paraíba e pretendo realizar um estudo cujo objetivo é verificar os efeitos da suplementação de Omega-3 no processo inflamatório e dano muscular induzidos por estresse físico e restrição alimentar e gostaria da sua colaboração no sentido de participar do mesmo. Neste trabalho, o Sr. será avaliado com toda a técnica, segurança e higiene de acordo com normas da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do Ministério da Saúde. O estudo será feito coletando-se informações antropométricas como peso, altura e dobras cutâneas, aplicação de um questionário de inquérito alimentar, coletas sanguíneas para quantificação dos mediadores bioquímicos da inflamação, enzimas musculares e colesterol. Haverá suplementação em dois dos três grupos do estudo, que consistirá de cápsulas contendo 1.0g de n-3 (800mg de EPA e 200mg de DHA) para o grupo experimental e cápsulas similares contendo 1000mg de l-arginina. As cápsulas utilizadas serão constituídas de 0.5g de óleo coberto por gelatina, adquiridas em uma farmácia de manipulação da cidade de João Pessoa. A distribuição das participantes nos diferentes grupos será por sorteio. Informamos que esta pesquisa não oferecerá riscos previsíveis a sua saúde, já que se trata de um nutriente e a dose não é nociva, e informamos, ainda, que a sua participação é voluntária, que não receberá pagamento para isto, e que não será prejudicada de forma alguma caso não queira participar do estudo, sendo-lhe também garantido o direito de desistir da pesquisa, em qualquer tempo, sem que essa decisão a prejudique.

Caso o Sr. consinta, será necessário assinar este termo como é exigido na Resolução nº. 196, de 10 de outubro de 1996, do conselho nacional de saúde, que regulamenta as pesquisas envolvendo seres humanos.

Solicitamos o seu consentimento também para a publicação e divulgação dos resultados, garantindo o seu anonimato, nos veículos científicos e/ou de divulgação (jornais, revistas, congressos, dentre outros), que os pesquisadores acharem convenientes. Esperamos contar com seu apoio, e desde já agradecemos sua colaboração.

Contato com o pesquisador responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre a pesquisa, favor ligar para o pesquisador.
Telefones: (83) 3045-3277; 8879-3199

Endereço: Rua Tabela João Nunes Travassos, 202, Castelo Branco 3.

CONSENTIMENTO

Após ter sido informada sobre a pesquisa, consinto em participar da mesma.

Assinatura do voluntário da pesquisa

Assinatura do pesquisador responsável

João Pessoa, ____/_____/____

APÊNDICE B - Ficha individual para coleta de dados

Data da entrevista: ____/____/____

Identificação

Nome: _____

Sexo: _____ Data de nascimento: ____/____/____

Mensuração de medidas antropométricas

Massa corporal (kg)	
Estatura (m)	
D. C. tricipital	
D. C. bicipital	
D. C. subescapular	
D. C. supraílica	
D. C. abdominal	
D. C. coxa	
D. C. peitoral	
D. C. panturrilha	
D. C. axilar média	
D. C. supraespinhal	

ARTIGO

**SUPPLEMENTATION OF OMEGA-3 ATTENUATES THE INFLAMMATORY
PROCESS INDUCED BY FIVE DAYS OF INTENSE PHYSICAL TRAINING AND
DIETARY RESTRICTION ON SOLDIERS.**

Eduardo Porto dos Santos ¹, Alexandre Sérgio Silva ², Maria José de Carvalho Costa ¹, James Silva Moura Júnior ², Elton Lopes de Oliveira Quirino ², Gisele Augusta Maciel Franca ¹, Luiza Sonia Rios Ascianti ^{1,3}

¹ Post-graduation program in Nutrition Sciences – Department of Health Sciences – Paraíba Federal University.

² Laboratory for Physical Training Studies Applied to Performance and Health - LETFADS, Department of Health Sciences – Paraíba Federal University.

³ Paraíba Medical Sciences Faculty.

Corresponding author:

Alexandre Sérgio Silva

Rua Monteiro Lobato, 501/408. Bairro Tambaú. João Pessoa-PB. Brazil. CEP: 58039-170.

Telephone: (83) 32266017. Fax (83) 3216-7030. e-mail: ass974@yahoo.com.br

Periódico: **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.**

Qualis: B1 Medicina 2

RESUMO

O efeito da suplementação de ácidos graxos poliinsaturados omega-3 na resposta imunológica e ocorrência de dano muscular em militares foi investigado. Vinte sujeitos foram divididos em dois grupos e receberam cápsulas contendo omega-3 (SUP) (n=10) ou placebo (PLA) (n=10) durante quatro semanas. No decorrer da quarta semana de suplementação, os militares foram submetidos a um acampamento militar com ingestão calórica e repouso restrito e elevado estresse físico e psicológico. A concentração de proteína C-reativa ultra-sensível (PCR-us) foi utilizada como marcador inflamatório e a ocorrência de dano muscular pela atividade da enzima creatinoquinase (CK). Amostras sanguíneas foram coletadas em quatro momentos: 1) pré-suplementação; 2) pré-acampamento; 3) durante o acampamento; 4) pós-acampamento. Durante as três semanas de suplementação e que antecederam o regime de acampamento foi observada uma redução significativa na concentração sérica de PCR-us apenas no grupo SUP. Um aumento significativo da atividade da CK no pós-acampamento confirmou o caráter extenuante deste procedimento. Apesar de não impedir a elevação da PCR-us, o grupo SUP apresentou uma concentração de PCR-us significativamente menor em comparação com o grupo PLA ao final do acampamento. Estes resultados sugerem que a suplementação de AGPI n-3 exercem um efeito protetor contra o processo inflamatório induzido por um regime de treinamento físico intenso e restrição alimentar.

Palavras chave: Ácido Eicosapentaenóico e ácido docosahexaenóico, ômega-3 e proteína C-reativa, ômega-3 e exercício.

ABSTRACT

The effect of polyunsaturated fatty acids (PUFA) omega-3 (n-3) supplementation in the immunologic response was investigated. Twenty males were divided in two groups and they received capsules contains PUFA n-3 (SUP) ($n=10$) or placebo (PLA) ($n=10$) during four weeks. In elapsing of the fourth week of supplementation, the military were submitted to a military camp with caloric ingestion and restricted rest, and elevated physical and psychological stress. The concentration of C-reactive protein (CRP-hs) was used as inflammatory marker and the occurrence of muscle damage by creatine kinase's (CK) activity. Sanguine samples were taken in four moments: 1) before supplementation; 2) before camp; 3) during camp; 4) after camp. During the three weeks of supplementation that preceded the camp's routine, was observed a significant reduction in serum CRP-hs's concentration only in group SUP. A significant increase of CK activity in the after camp, confirmed the character strenuous of this procedure. In spite of not impeding the PCR-us's increase, SUP presented a concentration of PCR-hs significantly smaller than PLA at the end of camp. These results suggest that PUFA n-3 supplementation exercises a protecting effect against the inflammatory process induced by intense physical training and alimentary restriction.

Keywords: Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid, n-3 and C-reactive Protein, n-3 and exercise.

INTRODUÇÃO

As gorduras dietéticas, em especial o colesterol LDL e os ácidos graxos trans são os nutrientes de maior risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e metabólicas como resistência à insulina, diabetes, disfunção endotelial, inflamação sistêmica, câncer e obesidade. Nas últimas décadas, foi observado um aumento do consumo destes tipos de gorduras nas populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento [1].

No entanto, na década de 70, alguns tipos de gorduras passaram a ser considerados saudáveis a partir da constatação epidemiológica de que os esquimós da Groenlândia apresentavam índices de morte por problemas cardíacos muito baixos, mesmo apresentando uma dieta rica em gorduras e estando em sua maioria com altos níveis de sobrepeso/obesidade. Foi constatado que os lipídios consumidos por essa população eram advindos da gordura de baleia, focas e peixes de águas profundas, que são as principais fontes de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) ômega-3 (n-3) [2].

As propriedades moleculares dos n-3, bem como os mecanismos pelos quais eles promovem proteção cardiovascular ainda precisam ser, melhor elucidadas. No entanto, já se sabe que esses ácidos graxos, possuem a capacidade de diminuir a produção das citocinas inflamatórias, dentre elas o fator de necrose tumoral (TNF- α), a interleucina-1 (IL-1) e

interleucina-6 (IL-6) e são substratos para produção de eicosanóides da serie 3 (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) cuja resposta inflamatória é menos potente que os eicosanóides originados a partir do ácido araquidônico [3, 4].

A despeito de muitas pesquisas estarem sendo realizadas com os n-3 quanto aos aspectos cardiovasculares, passou-se a investigar uma possível relação dos benefícios do consumo de n-3 também em atletas [5]. A fundamentação para esta nova linha de investigação é o fato de que exercícios físicos intensos produzem microlesões musculares, que desencadeiam um processo inflamatório natural no local lesionado. Caso o período de recuperação seja insuficiente, a inflamação, antes local e aguda, pode evoluir para um estágio crônico e sistêmico, mediado pela ação de prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α). A IL-6 controla a liberação de cortisol, catecolaminas, hormônios gonadais e estimula o fígado a produzir proteína C-reativa. Como resultado, ocorre alterações nos eixos hipotálamo-hipófise-gônada e hipotálamo-hipófise-adrenal, provocando os vários sintomas observados em atletas diagnosticados com *overtraining* [6].

Apesar de os AGPI n-3 serem capazes de diminuir a produção de citocinas pró-inflamatórias, ainda não se dispõe de evidências consistentes quanto a relação dos n-3 com a prevenção do *overtraining* e a saúde de pessoas que se submetem a exercícios de grande estresse físico.

Militares em período de formação são expostos a cargas diárias de exercícios físicos com características tanto aeróbias, quanto anaeróbias. Em determinados períodos do ano de formação, são realizados acampamentos com o objetivo de preparar os sujeitos para situações adversas. Durante a realização desses acampamentos que duram aproximadamente uma semana, a ingestão calórica e o descanso são bastante restritos, enquanto que os estresses físicos e psicológicos são bem acentuados.

Dessa maneira, este estudo teve como objetivos: confirmar a ocorrência de processo inflamatório induzido pelo exercício em militares submetidos a um acampamento caracterizado por intenso estresse físico, poucas horas de descanso e restrição alimentar por vários dias seguidos; e verificar os efeitos da suplementação de n-3 nos marcadores inflamatórios e de dano muscular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sujeitos do estudo: a pesquisa foi realizada com militares do 16º Regimento de Cavalaria Mecanizado localizado na cidade de Bayeux – PB. Participaram do estudo 20 rapazes, com idade entre 18 e 20 anos, alunos do Núcleo de Preparação de Oficiais da Reserva (NPOR). Os militares foram distribuídos em dois grupos: Suplementação (SUP, $n=10$) e Placebo (PLA, $n=10$). Os participantes do estudo foram escolhidos de maneira intencional, com divisão aleatória intra-grupos. Todos os militares participavam de um mesmo programa de exercícios físicos, cinco vezes por semana, como parte do treinamento militar e apresentavam dieta normocalórica, normoglicídica.

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, sendo aprovado sob o protocolo de nº 0051. Após a aprovação, foi realizada uma apresentação didática do projeto na organização militar, com todos os alunos e militares responsáveis para explicar-lhes os objetivos da pesquisa, esclarecer sobre os procedimentos e para obter consentimento, por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), conforme 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Embora fizessem parte de uma corporação militar, foi enfaticamente esclarecido que a participação no estudo era completamente voluntária e uma possível desistência também. Durante o estudo, três militares manifestaram o desejo de não mais participar da pesquisa, no que foi prontamente atendido.

Desenho do estudo: os participantes tiveram seu consumo alimentar de n-3 previamente determinado, bem como sua composição corporal. Após isso, receberam suplementação de n-3 ou placebo por quatro semanas. No início da quarta semana de suplementação, os militares realizaram um acampamento militar de sobrevivência, com duração de cinco dias, caracterizado por esforços físicos constantes ao longo do dia e da noite, restrição alimentar e de sono. Coletas sanguíneas foram feitas antes do início da suplementação e imediatamente antes, durante e no final do acampamento. Durante todo o período do estudo, as atividades físicas dos sujeitos foram supervisionadas, seguindo o macrociclo anual definido na programação de treinamento físico militar daquela unidade.

Avaliação do consumo alimentar: o consumo alimentar foi avaliado pelo método do recordatório de 24 horas, que consiste em definir e quantificar todos os alimentos e bebidas ingeridas no período anterior à entrevista, que pode ser de 24h precedentes ou, mais

comumente, o dia anterior [7]. Optou-se por esse método por ser considerado o instrumento mais empregado para avaliação da ingestão de alimentos e nutrientes [7]. Aplicou-se o questionário três vezes para cada sujeito, sendo que dois dias foram representativos do consumo alimentar referente a dias da semana e um dia referente ao consumo de um dia do final de semana. Para caracterizar a dieta habitual dos sujeitos e o consumo de ácidos graxos, tomou-se uma média dos valores dos três questionários. Para a análise dos recordatórios utilizou-se o software NutWin (versão 1.5, 2002).

Avaliação da composição corporal: os sujeitos selecionados foram submetidos a aferições de medidas antropométricas de peso, estatura e percentual de gordura antes do início do período de suplementação. Peso e estatura foram medidos conforme protocolo proposto por Tritschler [8]. Para o percentual de gordura foi utilizado o protocolo de três dobras de Jackson e Pollock [9].

Protocolo de suplementação: todo o estudo foi desenvolvido conforme o modelo duplo-cego. A suplementação consistiu de três cápsulas diárias contendo 1000mg de n-3 (180mg de EPA e 120mg de DHA) cada, cobertas por gelatina (Vitamin Life, Matão, Brasil) totalizando 540mg/dia de EPA e 360mg/dia de DHA. O equivalente ingerido na forma de placebo, que consistiu de cápsulas de formato similar às n-3, contendo 80mg de maltodextrina, confeccionadas em uma farmácia de manipulação (Farmafórmula, João Pessoa, Brasil). Nas três primeiras semanas, o pesquisador responsável pelo estudo entregou as cápsulas diretamente a cada sujeito do estudo e orientou para que os sujeitos ingerissem à sua frente. Na quarta semana, durante o acampamento, as cápsulas foram entregues por um tenente responsável pelo grupamento, que estava participando da pesquisa como colaborador.

Regime militar: Quando se iniciou o protocolo de suplementação, os sujeitos do estudo estavam na 23ª semana de regime militar. Até este momento, o treinamento físico dos militares havia sido prescrito por um profissional de educação física, não militar. Foi baseado na teoria de planejamento do treinamento de Matvéiev [10], seguindo os preceitos científicos do treinamento desportivo. No programa, foram encontrados aspectos de ondulação das cargas de treinamento e aplicação de conceitos de ciclos (mesociclos e microciclos). Deste modo, os microciclos foram organizados para conter fases de choque (semanas de treinamento intenso), fases de recuperação (semanas de treinamento leves, regenerativos), e fases de treinamento ordinário (semanas de treinamento de acordo com a capacidade atual dos

militares). Portanto, os militares estavam expostos a um programa racional e equilibrado de treinamento que contava com práticas desportivas, corridas regulares e musculação.

O regime de acampamento foi constituído por cinco dias com ingestão calórica controlada e abaixo das exigências nutricionais tanto em termos de aporte calórico quanto em quantidades de refeições, poucas horas de sono e intenso estresse físico. No primeiro dia de acampamento, cada militar recebeu um kit de Ração Operacional de Combate. Este kit tem a finalidade de alimentar uma pessoa, durante 24 horas, em situações de campanha. Cada unidade completa é composta por quatro refeições: desjejum, almoço, jantar e ceia. No entanto, os sujeitos só consumiram as porções estabelecidas no planejamento das atividades (ver tabela 1)

As refeições foram constituídas por alimentos termoprocessados de pronto consumo em embalagens flexíveis esterilizáveis, quando se tratou das refeições principais (almoço e jantar), e em menor quantidade por alimentos liofilizados e/ou desidratados de fácil reconstituição empregados no desjejum. O valor calórico total do kit varia de 3.000 a 3.600 kcal, sendo nutricionalmente equilibrada perfazendo uma média de 12 a 15% para proteína, 20 a 35% para lipídios e 50 a 70% para carboidratos, do Valor Calórico Total.

Tabela 1: Refeições realizadas pelos militares durante a semana de acampamento.

Refeição	Momentos	Valor Calórico
Café da manhã	1º dia	~ 1000 kcal
Almoço	1º 2º e 3º dias	~ 700 kcal
Jantar	2º e 3º dias	~ 700 kcal

Coleta sanguínea: os sujeitos foram submetidos a quatro coletas sanguíneas: antes do início da suplementação, antes do início do acampamento, durante o acampamento e imediatamente após o acampamento. Todo o procedimento de coleta sanguínea foi realizado por uma profissional de enfermagem experiente. As coletas foram realizadas em tubos vácuo BD Vacutainer® de uso único. Foram retirados 5 ml de sangue venoso a partir da veia antecubital e o sangue foi imediatamente transportado para o laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley. O plasma foi obtido por centrifugação a 3000rpm por 10 minutos a 4°C e refrigerados a 4° até as análises, que aconteceram no mesmo dia ou no dia seguinte à coleta.

Análise de creatinoquinase: para análise de CK foi utilizado um kit comercial, (Labtest, Minas Gerais, Brasil). Um volume de 20 µl de soro foi adicionado a 1 ml do reagente de trabalho, conforme instruções do kit, e a leitura foi feita em um espectrofotômetro, modelo SP 22, a um comprimento de onda de 340 nm.

Análise da Proteína C-reativa ultra sensível: a PCR-us foi avaliada pelo método ultrasensível, através do kit comercial Biosystems (Barcelona, Espanha) utilizando um fotômetro automático Biosystems A25 (Barcelona, Espanha). Após preparo do reagente de trabalho e das amostras, o reagente de trabalho e as porta cubetas do fotômetro foram aquecidas a 37°. Um volume de 1,5 ml de reagente de trabalho foi misturado a 20 µl de amostra, branco ou padrão. Um cronômetro foi acionado e a leitura foi feita a 540 nm aos 10 segundos e aos cinco minutos. O cálculo da PRC foi feito contra uma curva de calibração.

Análise do colesterol total: a análise foi realizada, seguindo as recomendações do kit comercial da marca Labtest (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). Um volume de 10 µl de amostra foi adicionado a 1 ml do reagente de trabalho em tubos ependorfs. Em seguida, os tubos foram colocados em banho Maria à 37° por 10 minutos. Finalmente, foi feita a leitura em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 500 nm, previamente zerado contra um branco contendo apenas o reagente de trabalho.

Análise Estatística: os dados estão apresentados como média e desvio padrão da média. Os testes de Smirnov-Kolmogorov e de Barlet foram utilizados para testar a normalidade dos dados de cada grupo e as diferenças entre os desvios padrões entre os conjuntos de dados que estavam sendo comparados. Com base nestes resultados, foram adotados o teste *t*-student para amostras independentes, o teste T para amostras pareadas e o teste de ANOVA. Quando os dados não permitiram o uso de testes paramétricos eles foram substituídos pelos testes de Mann-Whitney, Wilcoxon e Kruskal-Wallis respectivamente. Todos estes procedimentos foram realizados no software GraphPad InStat versão 3.03 (GraphPad, San Diego, CA, USA).

RESULTADOS

Características dos sujeitos: os grupos SUP e PLA se mostraram estatisticamente similares em termos de estatura, peso e percentual de gordura. Do mesmo modo, os níveis pré-

suplementação de colesterol total, CK e PCR-us eram similares entre os dois grupos (Tabela 2).

Tabela 2: Características dos sujeitos da pesquisa.

	SUP	PLA
Idade	18,6 ± 0,5	18,6 ± 0,5
Peso	69,7 ± 6,5	70,3 ± 7,3
Estatura	174,3 ± 4,8	175,6 ± 6,8
IMC	23,01 ± 1,8	22,45 ± 1,8
Percentual de gordura	7,2 ± 5,2	7,2 ± 4,1

Os dados são média e desvio padrão da média. Não foram encontradas diferenças entre os dois grupos para nenhuma das variáveis.

Inquérito alimentar: Os ácidos graxos saturados e insaturados consumido nas dietas dos militares estão apresentados na tabela 3. Adicionalmente foi avaliado o consumo dos nutrientes que foram as variáveis deste estudo. O consumo de ácidos graxos poliinsaturados e o dos ácidos linoléico, α -linolênico, docosahexaenóico e araquidônico, mostrou-se estatisticamente similar entre os dois grupos envolvidos no estudo.

Tabela 3: Padrão de ingestão alimentar de gorduras e dos derivados dos ácidos graxos poliinsaturados.

	SUP	PLA
Ácido graxo poliinsaturado (g)	20,7 ± 12,7	13,3 ± 10,02
Ácido α -linoléico (g)	18,7 ± 11,5	11,8 ± 9,1
Ácido linolênico (g)	1,7 ± 0,9	1,3 ± 0,9
Ácido Docosahexaenóico (g)	0,064 ± 0,053	0,033 ± 0,05
Ácido araquidônico (g)	0,23 ± 0,16	0,15 ± 0,14

Os dados são média e desvio padrão da média. Não foram encontradas diferenças entre os dois grupos para nenhuma das variáveis.

Efeito da suplementação de n-3 no colesterol total: as três semanas de suplementação de ômega-3 que antecederam o regime de acampamento não foram capazes de alterar significativamente os valores séricos de colesterol total. No entanto, a análise realizada ao final do acampamento, mostrou que em apenas cinco dias, o regime adotado neste período promoveu uma redução significativa nos níveis de colesterol total em relação aos valores

encontrados na noite anterior ao início do acampamento. Este fenômeno foi observado tanto no grupo SUP (-10,1%) quanto no PLA (-17,1%) (Tabela 4).

Tabela 4: Níveis de colesterol dos sujeitos antes do procedimento de suplementação (pré-suplementação), na noite anterior ao regime de acampamento (pré-acampamento), no quarto dia de acampamento (acampamento) e duas horas após o final do acampamento (pós-acampamento)

	Colesterol total (MG/dl)	
	SUP	PLA
Pré-suplementação	160,4 ± 28	134,8 ± 43
Pré-acampamento	165,5 ± 3	137 ± 27
Acampamento	165 ± 25	134 ± 30
Pós-acampamento	144,2 ± 26 [†]	111,8 ± 22 [†]

Os dados são média e desvio padrão da média. † indica diferença estatística entre os valores pós-acampamento em comparação com os demais momentos.

Comportamento da CK: a tabela 5 mostra que os valores da CK sofreram uma significativa redução ao longo das três semanas que antecederam o início do acampamento, comparados com os valores iniciais, tanto no grupo SUP (-50,32%), quanto no PLA (-45,6%). O regime de acampamento promoveu aumento significativo da CK nos dois grupos, sendo este aumento de 99,9% durante e 103,9% após acampamento, no grupo SUP, 241,1% durante e 225,5% após acampamento, no grupo PLA. Em nenhum dos momentos avaliados foi observada diferenças entre os grupos SUP e PLA.

Atividade inflamatória: na tabela 6 estão expostos os valores pré-suplementação de PCR-us. Verifica-se que os resultados encontram-se dentro dos valores de referência adequados para ambos os grupos. A suplementação com n-3 nas três semanas que antecederam o regime de acampamento promoveu uma redução significativa na concentração sérica de PCR-us, enquanto que o grupo PLA não apresentou nenhuma alteração desta variável, neste mesmo período. Na análise que foi realizada no período de acampamento, ambos os grupos tiveram aumento significativo na concentração de PCR-us em relação aos valores pré-acampamento, mas ambos conseguiram permanecer com os valores ainda dentro dos limites de normalidade. Neste momento não foram encontradas diferenças significativas entre os valores dos dois grupos. Ao término do acampamento, ambos os grupos apresentaram valores de PCR-us significativamente maiores do que aqueles encontrados no momento pré-acampamento e

durante o acampamento. Entretanto, o grupo SUP terminou o acampamento apresentando status inflamatório significativamente menor do que o grupo PLA.

Tabela 5: Níveis de CK dos sujeitos antes do procedimento de suplementação (pré-suplementação), na noite anterior ao regime de acampamento (pré-acampamento), no quarto dia de acampamento (acampamento) e duas horas após o final do acampamento (pós-acampamento).

	Creatinoquinase (U/l)	
	SUP	PLA
Pré-suplementação (U/L)	336 ± 148	282,3 ± 206
Pré-acampamento (U/L)	166,9 ± 39 ‡	153,5 ± 109 ‡
Acampamento (U/L)	333,7 ± 76 †	523,6 ± 521 †
Pós-acampamento (U/L)	340,4 ± 87 †	499,6 ± 435 †

Os dados são média e desvio padrão da média. ‡ indica diferença estatística entre os valores pré-suplementação e pré-acampamento; † indica diferença estatística em relação aos valores pré-acampamento.

Tabela 6: Níveis de PCR-us dos sujeitos antes do procedimento de suplementação (pré-suplementação), na noite anterior ao regime de acampamento (pré-acampamento), no quarto dia de acampamento (acampamento) e duas horas após o final do acampamento (pós-acampamento).

	SUP	PLA
Pré-suplementação (mg/l)	1,30 ± 0,4	1,41 ± 0,8
Pré-acampamento (MG/l)	0,86 ± 0,5 ‡	1,49 ± 1,4
Acampamento (mg/l)	2,04 ± 1,5 †	2,65 ± 1,6 †
Pós-acampamento (mg/l)	6,18 ± 2,6 † *	8,6 ± 2,1 †

Os dados são média e desvio padrão da média. ‡ indica diferença estatística entre os valores pré-suplementação e pré-acampamento; † indica diferença estatística entre os valores durante o acampamento e pós-acampamento em comparação com o momento pré-acampamento. * indica diferenças entre os grupos suplementação e placebo.

DISCUSSÃO

Os resultados indicam que a suplementação de AGPI n-3: 1) resultou na diminuição da PCR-us em três semanas de suplementação sem alterar os valores de colesterol total; 2) atenuou a atividade inflamatória induzida por um regime de cinco dias de acampamento militar com grande esforço físico e privação de sono e alimentação; 3) não foi capaz de atenuar a ocorrência de dano muscular durante o regime de acampamento. Adicionalmente,

apenas cinco dias de regime de acampamento militar foi capaz de promover uma significativa redução nos níveis séricos de colesterol total.

A redução das concentrações do colesterol total em apenas cinco dias de regime de acampamento foi um dado que chamou a atenção. Resultados anteriores têm demonstrado que o colesterol sofre pouca influência do treinamento em tão pouco tempo. Os estudos que mostram efeitos benéficos do exercício apontam para uma pequena redução do colesterol LDL e aumento no HDL após várias semanas de exercício físico [11]. É consenso que a combinação de dieta com exercício é mais eficaz tanto na redução do LDL quanto no aumento do HDL [12]. Estas informações prévias nos levam a crer que um protocolo agudo de privação alimentar somado a intensos exercícios promoveram esta importante redução do colesterol total.

Como a dosagem do colesterol total era apenas para controle da variável da ingestão de n-3, não se pode determinar as participações das frações HDL, LDL e VLDL nesta redução do colesterol total. Hill et al. [13] examinaram o efeito individual e combinado da suplementação com n-3 (1560g de DHA e 360g de EPA) e exercícios regulares na composição corporal e saúde cardiovascular. Apenas a suplementação de n-3 mostrou ser capaz de melhorar os fatores de risco cardiovasculares investigados, como o colesterol HDL, que apresentou um aumento de ~10%. Essa resposta do colesterol à suplementação de n-3 também foi observada em outros estudos, apesar de divergirem quanto à quantidade de n-3 administrado [14 – 16].

A função dos AGPI n-3 como influenciador da resposta inflamatória induzido pela obesidade e várias outras doenças cardiovasculares e metabólicas tem sido vastamente investigada [13, 16, 17], devido ao fato dos AGPI n-3 serem substratos para a produção de mediadores inflamatórios (eicosanóides e citocinas) menos potentes do que aqueles formados a partir do ácido araquidônico [4]. A suplementação de cápsulas de AGPI n-3, resulta no surgimento de EPA e DHA nos lipídios plasmáticos, plaquetas, eritrócitos, leucócitos, tecido cardíaco e em outras células e tecidos [18]. Uma vez incorporados na membrana dos fosfolipídios, os AGPI n-3 são capazes de inibir a produção de eicosanóides e das citocinas pró-inflamatórias clássicas, TNF- α , IL-1 β e IL-6 [4].

Recentemente, a função antiinflamatória dos AGPI n-3 foi ampliada para âmbito desportivo [5, 19]. O fundamento para esta linha de investigação é que o treinamento físico intenso promove um processo inflamatório na musculatura treinada, mediada pelo sistema imunológico, que pode evoluir para um processo inflamatório sistêmico, com produção de citocinas, alteração na modulação do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas e hipotálamo-

hipófise-adrenais com produção de enzimas inflamatórias e proteínas de fase aguda [6]. Então, a relação entre AGP n-3 e a síndrome do overtraining está no fato de que o desequilíbrio entre estresse físico, dieta e períodos de recuperação aos quais atletas e não atletas são submetidos são mediados pelos mesmos fatores pró-inflamatórios que são inibidos pelos AGPI n-3. A este respeito, não existem estudos que tenham investigado o efeito protetor dos n-3 em situações de grande estresse físico, privação de sono e alimentação que caracterizam a rotina do treinamento de militares em acampamento.

Os níveis de PCR-us encontrada nesta pesquisa que antecedeu o regime de acampamento confirmam a função antiinflamatória dos n-3. Estes dados corroboram com vários estudos prévios que também mostraram efeito protetor dos AGPI n-3, seja pela redução da atividade de citocinas [19 – 22], PCR-us [23], ou ambas [24]. No entanto, outros estudos não confirmam a influencia dos n-3 na atividade da PCR-us [21, 25 – 28], mesmo quando doses tão elevadas quanto 5,2g diárias e por um período tão grande quanto 12 semanas foram utilizados [28].

Com relação ao procedimento do acampamento, o expressivo aumento na atividade sérica de CK confirmou o caráter extenuante do regime que foi adotado durante o acampamento. O aumento na atividade da CK foi tão grande quanto o encontrado por Takashima et al. [29] após uma prova de 50 km de esqui *cross-country*, ou por Rosen et al. [30] que verificaram um aumento de 86% na atividade da CK após uma corrida de 50km de esqui, levando em conta que as provas de esqui são consideradas um dos eventos mais árduos no âmbito desportivo. Nestes dois estudos, ocorreram aumentos significativos da PCR-us em concomitância com o aumento observado na atividade de CK. Segundo Eston et al. [31], a atividade da CK aumenta de acordo com a intensidade do exercício físico e pode ser atenuada com a evolução do condicionamento físico. Mesmo considerando que os militares já contavam com 26 semanas de treinamento físico sistematizado, este pré-condicionamento não foi suficiente para evitar danos musculares tão intensos quanto os das mais duras provas atléticas. Ao mesmo tempo em que confirmou o caráter estressante do acampamento, os dados da CK indicaram que a suplementação de n-3 não foi capaz de minimizar o estresse muscular induzido por este regime, mesmo considerando que esta mesma suplementação foi capaz de atenuar a atividade da CK nas três semanas que antecederam o acampamento.

Embora tenha ocorrido um aumento significativo de PCR-us durante o regime de acampamento para os grupos SUP e PLA, a suplementação com AGPI n-3 foi capaz de atenuar significativamente o aumento deste marcador inflamatório. Alguns autores investigaram a influencia da suplementação de AGPI n-3 no âmbito do treinamento

desportivo [19, 32 – 35]. De maneira geral estes estudos apontam para alterações positivas, relacionadas à saúde, na ingestão de AGPI n-3, como acentuada redução na severidade da broncoconstrição em atletas [32], redução mais eficiente da lipemia posprandial quando combinada com exercício físico [33], menor disponibilidades de ácido araquidônico e conseqüentemente menor produção de prostaglandinas [19], melhora da função cardiovascular e redução dos fatores de riscos cardíacos em atletas, mas sem melhora no tempo de corrida na esteira até exaustão e nem no tempo de recuperação nos atletas suplementados [34].

Sendo assim, este estudo reforça a perspectiva de uma nova linha de pesquisa na área dos AGPI n-3, com dados que ampliam as possibilidades de função deste nutriente, transcendendo da proteção cardiovascular e metabólica para a proteção a indivíduos expostos a regimes de atividades físicas intensas e /ou inadequação nutricional, situações que podem ser encontradas em atletas, militares em período de formação e algumas várias categorias de trabalhadores. São necessários novos estudos com proposta de investigar os efeitos dos AGPI n-3 no exercício físico. A utilização de mais variáveis bioquímicas como citocinas pró e antiinflamatórias, sub-frações do colesterol e marcadores de dano muscular, poderá confirmar, os resultados obtidos nesse trabalho. Assim, não só atletas ou militares se beneficiaram do consumo de AGPI n-3, mas todas as pessoas que tenham rotinas diárias parecidas com as do grupo investigado.

Agradecimentos

Agradecemos ao 16º Regimento de Cavalaria Mecanizado, ao Tenente Wagner, ao Hospital Universitário Lauro Wanderley e a CAPES.

Referencias

1. S. M. Teegala, W. C. Willett, D. Mozaffarian, Consumption and health effects of trans fatty acids: a review. *J AOAC Int.* (2009) 92 1250-7.
2. J. Dyerberg, H. O. Bang, E. Stoffersen, S. Moncada, J. R. Vane, Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet.* (1978) 15 117-9.
3. P. C. Calder, Polyunsaturated Fatty Acids, Inflammation, and Immunity. *Lipids* (2001) 36 1007 – 1024.
4. P. C. Calder, Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prost.Leuk.Esent.FattyAcids* (2006) 75 197–202.

5. P. M. M. Andrade, M. G. Tavares do Carmo, Dietary long chain N-3 fatty acids and anti-inflammatory action: potential application in the field of physical exercise. *Nutrition* (2004) 20 243.
6. L. L. Smith, Cytokines hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Med Sci Sports Exerc* (2000) 32 317 – 31.
7. R. M. Fisberg, B. Slater, D. M. L. Marchioni, L. A. Martini, *Inquéritos alimentares: métodos e bases científicos*, Manole Press, Barueri, 2005
8. K. A. Tritschler, *Medida e avaliação em Educação Física e esportes de Barrow & McGee*. Manole Press, Barueri, 2003, pp. 236 – 244.
9. A. S. Jackson, M. L. Pollock, *Practical assessment of body composition*. Physician and Sports medicine 1985.
10. L. P. Matveev, *Fundamentos do treino desportivo*. Livros Horizonte, Lisboa, 1991.
11. I. Shaw, B. S. Shaw, O. Krasilshchikov, Comparison of aerobic and combined aerobic and resistance training on low-density lipoprotein cholesterol concentrations in men. *Cardiovasc J Afr* (2009) 20 290–295.
12. D. E. Larson-Meyer, L. Redman, L. K. Heilbronn, C. K. Martin, E. Ravussin, and The Pennington CALERIE Team, Caloric Restriction with or without Exercise: The Fitness vs. Fatness Debate. *Med Sci Sports Exerc.* (2010) 42 152–159.
13. A. M. Hill, J. D. Buckley, K. J. Murphy, P. R. C. Howe, Combining fish-oil supplements with regular aerobic exercise improves body composition and cardiovascular disease risk factors. *Am J Clin Nutr* (2007) 85 1267–74.
14. Y. K. Lungershausen, M. Abbey, P. J. Nestel, et al. Reduction of blood pressure and plasma triglycerides by omega-3 fatty acids in treated hypertensives. *Journal Hypertens.* (1994) 12 1041 – 1045.
15. M. H. Davidson, K. C. Maki, J. Kalkowski, et al. Effects of docosahexaenoic acid on serum lipoproteins in patients with combined hyperlipidemia: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Journal Am Coll Nutr*, (1997) 16 236 – 243.
16. T. R. Thomas, et al. Effects of exercise and n-3 fatty acids on postprandial lipemia. *J. Appl. Physiol.* (2004) 88 2199-2204.
17. D. Mancardi, F. Tullio, A. Crisafulli, et al. Omega 3 has a beneficial effect on ischemia/reperfusion injury, but cannot reverse the effect of stressful forced exercise. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, (2008)19 20-26.
18. P. C. Calder, P. Yaqoob. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcomes. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Inc.* (2009) 35 266–272.

19. P. M. M. Andrade, B. G. Ribeiro, M. T. Bozza, L. F. B. C. Rosa, M. G. Tavares do Carmo, Effects of the fish-oil supplementation on the immune and inflammatory responses in elite swimmers. *Prost.Leuk.Esent.FattyAcids* (2007) 77 139–145.
20. F. Thies, E. A. Miles, G. Nebe-von-Caron, J. R. Powell, T. L. Hurst, E. A. Newsholme, P. C. Calder, Influence of Dietary Supplementation with Long-Chain n-3 or n-6 Polyunsaturated Fatty Acids on Blood Inflammatory Cell Populations and Functions and on Plasma Soluble Adhesion Molecules in Healthy Adults. *Lipids* (2001) 36 1183 – 1193.
21. H. M. Yusof, E. A Miles, P. C. Calder, Influence of very long-chain n-3 fatty acids on plasma markers of inflammation in middle-aged men *Prost.Leuk.Esent.FattyAcids* (2008) 78 219–228.
22. R. J. Bloomer, D. E. Larson, K. H. Fisher-Wellman, A. J. Galpin, B. K. Schilling, Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on resting and exercise-induced inflammatory and oxidative stress biomarkers: a randomized, placebo controlled, cross-over study. *Lipids in Health and Disease* (2009) 8 1 – 12.
23. I. Ciubotaru, Y. S. Lee, R. C. Wander, Dietary fish oil decreases C-reactive protein, interleukin-6, and triacylglycerol to HDL-cholesterol ratio in postmenopausal women on HRT. *J Nutr Biochem.* (2003) 14 513-21.
24. L. S. Rallidis, G. Pschos, G. K. Liakos et al. Dietary alpha-linolenic acids decreases C-reactive protein, serum amyloid A and inteleukin-6 in dyslipidaemic patients, *Atherosclerosis*, (2003) 167 237 – 242.
25. T. A. Mori, R. J. Woodman, V. Burke, I. B. Puddey, K. D. Croft, L. J. Beilin, Effect of eicosapentaenoic acid docosahexaenoic acid on oxidative stress and inflammatory markers in treated-hypertensive type 2 diabetic subjects. *Free Radic Biol Med* (2003) 35 772 – 781.
26. T. Madsen, J. H. Christensen, M. Blom, E. B. Schmidt, The effect of dietary n-3 fatty acids on serum concentrations of C-reactive protein: a dose-response study. *Br J Nutr.* (2003) 89 517-22.
27. A. Geelen, I. A. Brouwer, E. G. Schouten, C. Klufft, M. B. Katan, P. L. Zock, Intake of n-3 fatty acids from fish does not lower serum concentration of C-reactive protein in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr* (2004) 58: 1440-1442.
28. T. Madsen, J. H. Christensen, E. B. Schmidt, C-reactive protein and n–3 fatty acids in patients with a previous myocardial infarction. *Eur J Nutr* (2007) 46 428–430.
29. W. Takashima, K. Ishii, K. Takizawa, T. Yamaguchi, K. Nosaka, Muscle damage and soreness following a 50-km cross-country ski race. *Eur. J. Sports Sci.* (2007) 7 27 – 33.
30. O. Rosen, E. Borsheim, R. Bahr, B. Klarlund Pedersen, E. Haug, J. Kjeldsen-Kragh, et al. Immuno-endocrine and metabolic responses to long distance ski racing in world-class male and female cross-country skiers. *Scandinavian J. medicine and Sci Sports* (2004) 14 39 – 48.
31. R. G. Eston, S. Finney, S. Baker, V. Baltzopoulos, Muscle tenderness and peak torque changes after downhill running following a prior bout of isokinetic eccentric exercise. *J. Sports Sci.* (1996) 14: 291-299.

32. T. D. Mickleborough, R. L. Murray, A. A. Ionescu, M. R. Lindley, Fish Oil Supplementation Reduces Severity of Exercise-induced Bronchoconstriction in Elite Athletes. *Am J Respir Crit Care Med* (2003) 168 1181 – 1189.
33. B. K. Smith, G. Y. Sun, O. M. Donahue, T. R. Thomas, Exercise Plus n-3 Fatty Acids: Additive Effect on Postprandial Lipemia. *Metabolism* (2004) 53 1365-1371.
34. J. D. Buckley, S. Burgess, K. J. Murphy, P. R. C. Howe, DHA-rich fish oil lowers heart rate during submaximal exercise in elite Australian Rules footballers. *J Sci Med Sport* (2009) 12 503–507.
35. D. C. Nieman, D. A. Henson, S. R. McAnulty, F. Jin, K. R. Maxwell, n-3 polyunsaturated fatty acids do not alter immune and inflammation measures in endurance athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metabolism* (2009) 19 536 – 546.