

EFICÁCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÔMEGA 3 NA HIPERTROFIA E NA ATIVAÇÃO DE VIAS DE SÍNTESE PROTEICA DO MÚSCULO ESQUELÉTICO EM ADULTOS SAUDÁVEIS

Palavras-Chave: ÔMEGA 3 - MÚSCULO ESQUELÉTICO - ADULTOS SAUDÁVEIS

Autores(as):

MARINA DE OLIVEIRA BUENO, FCA– UNICAMP

Prof^a. Dr^a. FABIANA BENATTI (orientadora), FCA– UNICAMP

HELOISA CASTANHEIRA SANTO ANDRÉ (co-orientadora), FCA– UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O ômega 3 (n-3 PUFA) é um ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa que medeia diversos processos biológicos (Burdge and Calder 2014). Seus principais representantes são o ácido alfa linolênico (ALA [C18:3]), de origem vegetal (soja, canola, linhaça, chia), e o ácido eicosapentaenoico EPA [C20:5] e docosaexaenoico (DHA [C22:6]), presentes em peixes e crustáceos de águas frias e no óleo de krill. Considerado essencial, o n-3 PUFA deve ser obtido pela alimentação. EPA e DHA podem ser convertidos endogenamente por ação enzimática de dessaturases e elongases sobre o ALA, mas essa conversão é limitada (Izar et al., 2021).

Evidências disponíveis até o momento sugerem que a ingestão de n-3 PUFA poderia apresentar um potencial de aumentar o anabolismo do músculo esquelético, embora seus mecanismos ainda não sejam claros (Rossato, Schoenfeld, and de Oliveira 2019; McGlory, Calder, and Nunes, 2019). Uma hipótese é que EPA e DHA melhorem a fluidez da membrana celular, aumentando a captação e o transporte de aminoácidos, tornando a célula mais sensível a síntese proteica (McGlory et al. 2016), além de reduzirem a degradação de proteínas musculares e melhorar a cinética da respiração mitocondrial (Miotto et al. 2019). Estudos demonstraram que a suplementação com n-3 PUFA pode aumentar a incorporação de ácidos graxos nas membranas fosfolipídicas do músculo esquelético (Calder, 2006; Smith, 2010; Gerling et al., 2019).

Os resultados publicados até o momento sobre os efeitos da suplementação com n-3 PUFA na hipertrofia muscular e nas vias de síntese proteica permanecem inconclusivos, visto que a heterogeneidade entre os estudos é um fator que dificulta a consistência dos achados. De acordo com uma revisão de revisões publicada recentemente, Nunes et al. (2025), não encontrou dados suficientes para apoiar a suplementação de n-3 PUFA para ganho ou retenção de massa magra ou melhora de força e função muscular. Ele demonstrou que as populações investigadas variam, incluindo desde jovens saudáveis (ativos ou sedentários), atletas e idosos com ou sem comorbidades, até pacientes com sarcopenia, osteopenia, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e câncer. Também apresentou que há variações consideráveis na forma de suplementação, com o uso de EPA, DHA ou óleo de peixe na maioria dos estudos, e ALA em menor escala, bem como nas doses administradas, que variaram entre 0,12 e 4,9 g/dia para EPA e entre 0,12 e ~2,1 g/dia para DHA, e na duração dos protocolos, indo de menos de uma semana a até três anos (Nunes et al., 2025).

Portanto, este estudo, tem como objetivo avaliar os efeitos do n-3 PUFA a nível molecular, nas vias de síntese proteica, e na hipertrofia muscular do músculo esquelético em jovens saudáveis com ingestão proteica adequada e treinados em força.

METODOLOGIA:

Desenho Experimental: Trata-se de um estudo duplo cego, randomizado e controlado por placebo, seguindo os critérios descritos pelo CONSORT (Altman, 1996). Quatorze (14) participantes foram randomizados igualmente em um dos dois grupos: suplementação de 9g/dia de óleo de peixe, contendo 6.3g de n-3PUFAs (grupo W3); ou suplementação de 9g/dia de óleo de girassol (grupo PLA). No início do protocolo (T1), os participantes foram avaliados quanto à ingestão habitual de proteínas (recordatórios alimentares de 24 horas), e foram submetidos a biópsias do músculo vasto lateral, coletadas antes e após uma sessão aguda de treinamento resistido, a fim de avaliar a incorporação de n-3PUFAs nos miócitos, ativação das vias de síntese proteica, e área de secção transversa ASTf das fibras musculares. O protocolo experimental teve duração de 14 semanas, onde os indivíduos suplementaram ômega 3 ou placebo e foram submetidos à treinamentos resistidos duas vezes por semana, com foco nos membros inferiores. A ingestão diária de proteína foi monitorada

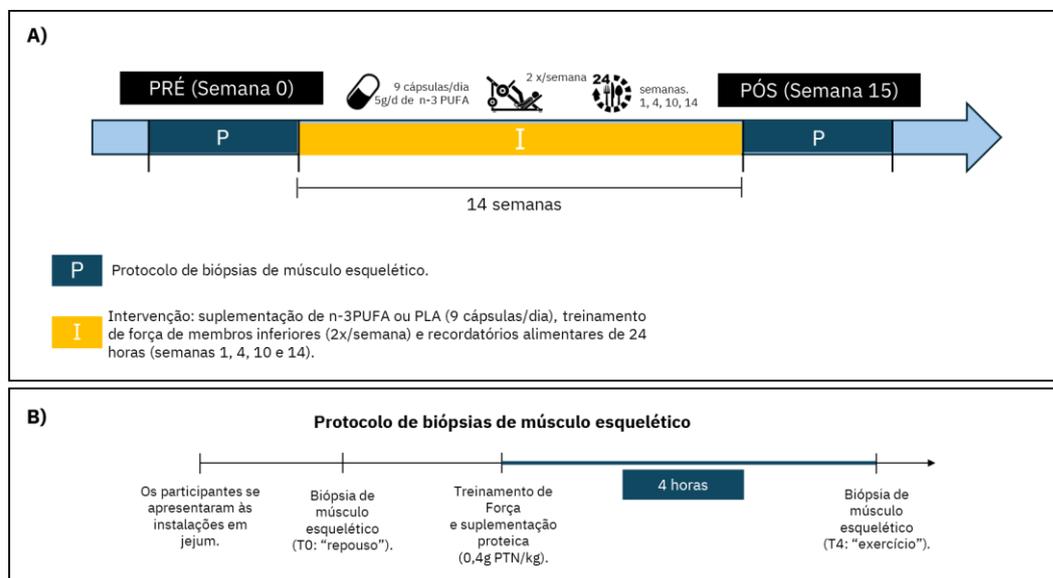


Figura 1: A: Desenho experimental do estudo. B: Protocolo de biópsias de músculo esquelético.

a cada quatro semanas por meio de recordatórios alimentares de 24 horas. Ao final da intervenção (T2), os participantes foram novamente submetidos às biópsias. A figura 1 ilustra o desenho experimental do estudo.

Análise cromatográfica: As frações lipídicas do tecido muscular foram extraídas a frio pela técnica modificada de Folch, Less & Sloane Stanley (1957), com trituração em Polytron® em rotação máxima e centrifugações adicionais. Foram adicionados 30 µL de BHT e 50 µL de ácido graxo tridecanóico (C13:0) como padrão interno. A mistura foi homogeneizada em vórtex e os ácidos graxos metilados diretamente conforme Shirai, Suzuki e Wada (2005), com adaptação do aquecimento em bloco seco no lugar do banho-maria. Após adição de 1 mL de isooctano e 5 mL de NaCl saturado, a fase sobrenadante foi coletada, seca em gás nitrogênio e ressuspensa em 250 µL de hexano ultrapuro. A análise foi feita em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (GCMS-QP2010 Ultra; Shimadzu®), com injetor automático (AOC-20i®) e coluna Stabilwax (Restek®), de 100 m × 0,25 mm × 0,25 µm. Utilizou-se gás hélio ultrapuro (1,3 mL/min) e injeção de 1 µL (split 1:10). O injetor foi mantido a 250 °C e o forno programado de 80 °C a 230 °C com rampas de 5 °C/min e 3 °C/min, respectivamente, mantendo-se a 230 °C por 20 min. O espectrômetro operou com 70 eV, fonte a 200 °C, varredura de 35–500 m/z a 0,2 s/scan. A quantificação lipídica foi expressa em µg/mg de tecido, pela razão entre áreas dos picos da amostra e do padrão.

Análises da ASTf por imunofluorescência: Para a análise da ASTf, amostras congeladas de tecido muscular foram seccionadas a 20 µm em criostato (Leica, CM1850), colocadas em lâminas e armazenadas a -20°C até o início do experimento. Para tal, as lâminas foram levadas à temperatura ambiente, lavadas com tampão fosfato-salino (PBS), submersas em PFA 4%, lavadas com PBS-T, imersas em solução tampão de ácido cítrico a 95 °C e novamente lavadas com PBS-T. Em seguida, foram bloqueadas com duas soluções tampão (1ª: 1% PBS, 3% albumina sérica bovina -BSA, 5% soro de rato; 2ª: 1% PBS, 3% de albumina sérica bovina – BSA, 5% soro de cabra), e então incubadas overnight a 4 °C com anticorpo primário (Anti-rabbit Laminin [1:200, Sigma]. No dia seguinte, foram incubadas com anticorpo secundário (Alexa Fluor® 594-AffiniPure Donkey Anti-Rabbit [1:250, Thermo Fisher Scientific]), protegido da luz, por 60 minutos. Por último, foi aplicada uma solução de Suddan Black B, seguida de lavagens com etanol 50% e PBS. As lâminas foram montadas com Vectashield® com DAPI e analisadas em microscópio de fluorescência Leica DMi8 (5x). As imagens foram calibradas no ImageJ e a ASTf quantificada com o software MyoVision, com a função "excluir regiões" ativada.

Análise de vias de síntese proteica por Western Blot: Para a extração de proteínas, foram utilizados 0,02 a 0,03 g de músculo do vasto lateral, tratados com HIPA + inibidores, macerados, centrifugados e o sobrenadante coletado para quantificação pelo método de Bradford. Os géis de eletroforese graduados de 4-20% de acrilamida foram utilizados para a quantificação das proteínas fosforiladas e os géis de 10% de acrilamida para quantificação das proteínas totais. Amostras com 40 µg de proteína foram submetidas à eletroforese, seguidas por transferência úmida para membrana de nitrocelulose, bloqueio com BSA, incubação com anticorpos primários (overnight) e secundários. A detecção das bandas foi feita por quimioluminescência (ECL/SuperSignal - ThermoFisher) e os sinais foram analisados no Software ImageJ®, com controle por GAPDH e cálculo da razão de fosforilação. As proteínas analisadas foram mTOR, p70s6K, 4E-BP1 e GAPDH, sendo esta última utilizada como controle de loading.

Análise estatística: Os dados foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Diferenças basais entre grupos foram verificadas com teste t de Student. Os efeitos da suplementação de n-3 PUFA foram analisados por modelo misto para medidas repetidas, com “grupo” e “tempo” como fatores fixos e “sujeitos” como fator aleatório. Quando necessário, aplicou-se teste post-hoc de Tukey. O teste t de Student para medidas independentes foi usado para comparar a adesão ao protocolo e ao volume total de treinamento. As análises seguiram o princípio de maneira-de-intenção-de-tratar e foram realizadas no SAS Studio, com significância adotada de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

1. Análise Cromatográfica

O grupo W3 demonstrou uma incorporação significativa de n-3 PUFA no tecido muscular, aumentando de $1,48 \pm 1,38$ µg/mg no pré-intervenção para $4,04 \pm 1,47$ µg/mg no pós-intervenção. Enquanto isso, o grupo PLA passou de $0,84 \pm 0,37$ µg/mg no pré para $0,92 \pm 0,37$ µg/mg no pós. Houve, portanto, um efeito de interação estatisticamente significativo ($p = 0,017$; Fig. 2A).

Consequentemente, a razão entre n-6 e n-3 PUFA também foi significativamente menor no grupo W3 após a intervenção (grupo W3: $29,72 \pm 20,47$ no pré para $8,92 \pm 7,92$ no pós; grupo PLA: $43,48 \pm 39,66$ no pré para $39,48 \pm 27,13$ no pós; efeito de interação $p = 0,041$; Fig. 2B). No conjunto, essa incorporação confirma a eficácia do protocolo de suplementação.

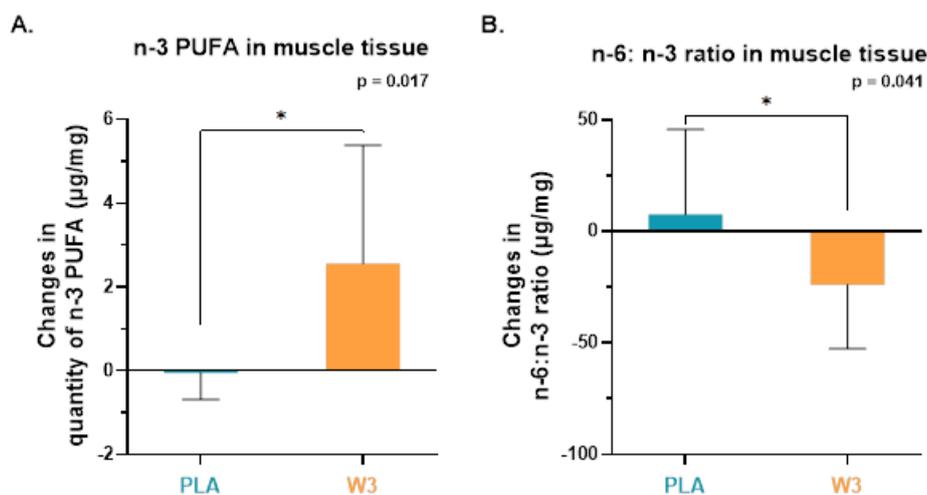


Figura 2: Incorporação de n-3 PUFAs no tecido muscular. A: Alterações na quantidade de n-3 PUFAs no tecido muscular. B: Alterações na proporção de n-6 para n-3 PUFAs no tecido muscular. Dados apresentados como variação delta.

1.2 Análises da ASTf por imunofluorescência:

A área de secção transversa (ASTf) do músculo vasto lateral mudou significativamente ao longo do tempo em ambos os grupos ($p = 0,018$; Fig. 3A), com valores aumentando de $3203,82 \pm 495,71$ para $3704,93 \pm 332,76 \mu\text{m}^2$ no grupo placebo (PLA) e de $3292,14 \pm 446,56$ para $3571,90 \pm 328,88 \mu\text{m}^2$ no grupo ômega 3 (W3). Um efeito significativo do tempo foi observado para o diâmetro mínimo de Feret ($p = 0,0137$; Fig.3B), que aumentou de $54,14 \pm 3,02$ para $58,75 \pm 3,21 \mu\text{m}$ no grupo PLA e de $55,02 \pm 4,08$ para $56,83 \pm 2,18 \mu\text{m}$ no grupo W3. Nenhum efeito de grupo ou interação foi observado para ASTf ($p=0,479$) ou para diâmetro mínimo de Feret ($p=0,258$).

1.3 Análise de vias de síntese proteica por Western Blot:

Não foram identificados efeitos significativos do grupo, do tempo ou da interação grupo \times tempo para nenhuma das proteínas analisadas ($p > 0,05$ em todas as comparações). Apesar de pequenas variações, especialmente para a proteína p70S6K no grupo W3 em T4 ($2,662 \pm 2,890$), as respostas ao exercício agudo e crônico, bem como à suplementação, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. A Figura 4 apresenta as razões de fosforilação das proteínas alvo e os blots representativos para cada uma delas (A: mTOR; B: p70S6K e C: 4E-BP1).

Os resultados desse estudo mostram que a suplementação com W3 não apresentou efeitos na hipertrofia muscular, uma vez que não foram observadas diferenças significativas na área da secção transversa das fibras musculares (ASTf) ou no diâmetro de Feret, em comparação ao grupo PLA. Isso também foi observado para os marcadores moleculares de síntese proteica, onde o grupo W3 não apresentou maior ativação das vias de síntese proteica muscular em comparação com o grupo PLA. Esses achados sugerem que, em condições de ingestão proteica adequada e treinamento resistido, a suplementação com ácidos graxos n-3 PUFA não proporciona benefícios adicionais em termos de ganho de massa muscular ou força em homens jovens saudáveis.

Os resultados desse estudo corroboram os achados de McGlory et al. (2016), que demonstraram que, em homens jovens saudáveis submetidos a oito semanas de suplementação com n-3 PUFA, a síntese de proteína muscular

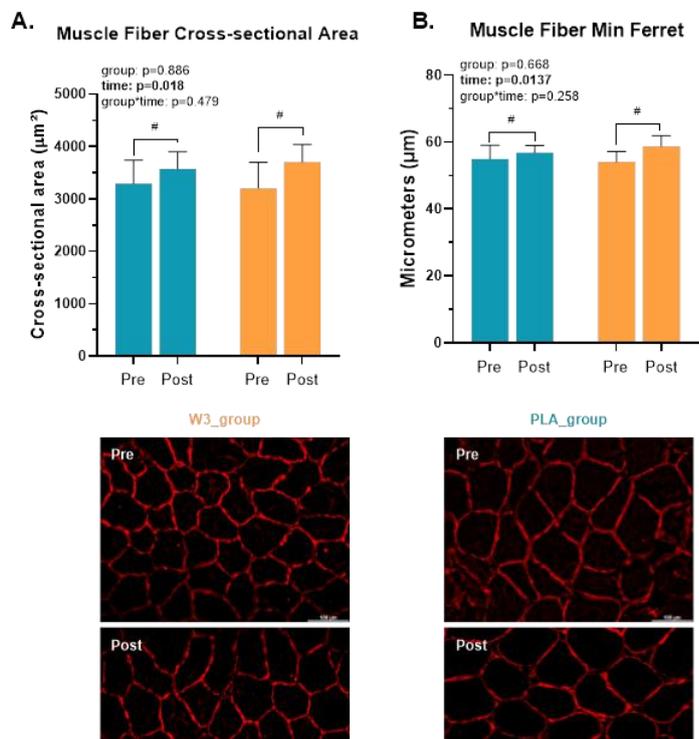


Figura 3: A e B. Dados histológicos. Dados apresentados como média e desvio padrão.

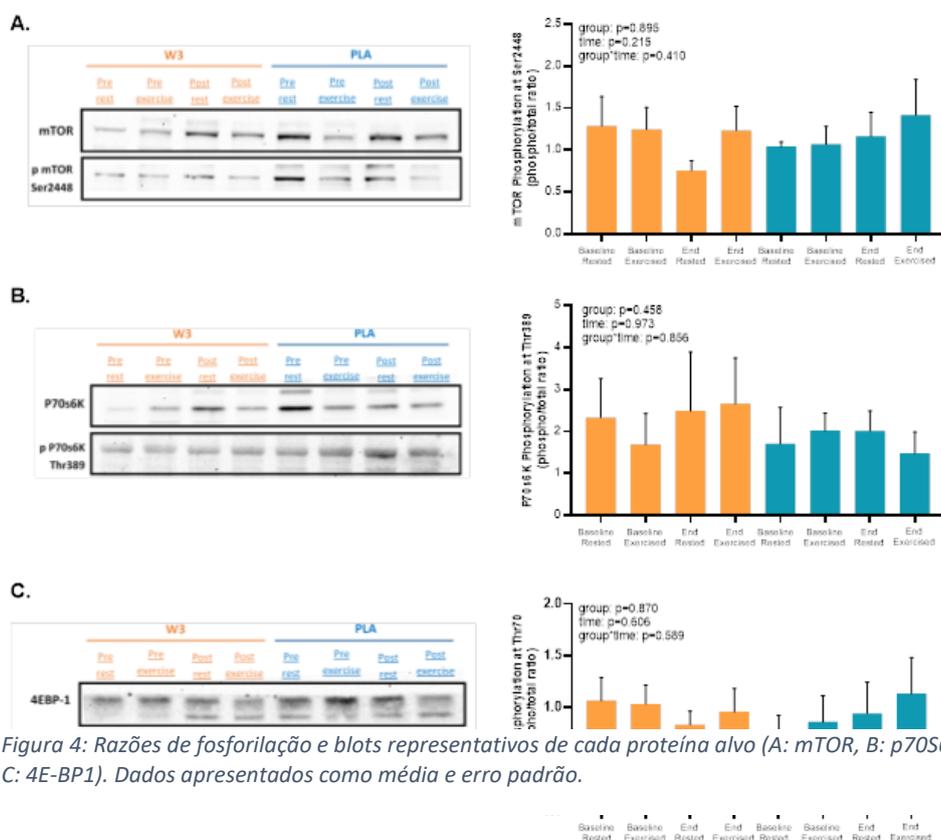


Figura 4: Razões de fosforilação e blots representativos de cada proteína alvo (A: mTOR, B: p70S6K, C: 4E-BP1). Dados apresentados como média e erro padrão.

após uma única sessão de exercício resistido seguida de ingestão proteica aumentou significativamente, de forma semelhante ao grupo placebo. Isso se deve ao fato de que ambos os grupos estavam expostos a condições já otimizadas para a síntese proteica muscular. Em contrapartida, Smith et al. (2015), demonstraram que a suplementação com n-3 PUFA promoveu um efeito anabólico em idosos saudáveis, evidenciado pelo aumento significativo no volume muscular da coxa, além de efeitos positivos no desempenho físico. Desse modo, podemos entender que o potencial efeito benéfico dos n-3 PUFA pode ser evidente em populações e/ou condições em que o processo anabólico não está maximizado, como no envelhecimento por exemplo.

CONCLUSÕES:

Os resultados deste estudo mostram que a suplementação com ácidos graxos n-3 PUFA não tem efeito sobre a hipertrofia muscular, ou a ativação de vias anabólicas em adultos jovens saudáveis e submetidos ao treinamento de resistido, associado a uma ingestão proteica adequada. Indicando que os estímulos anabólicos gerados pelo exercício resistido e pela ingestão de proteínas adequada já são suficientes, sendo que o ômega 3 não confere efeitos adicionais, mesmo com sua incorporação nas membranas celulares dos miócitos.

BIBLIOGRAFIA

BURDGE, Graham C.; CALDER, Philip C. Introduction to Fatty Acids and Lipids. **World Rev Nutr Diet**, v. 112, n. 1, p. 1–16, 2014.

CALDER, Philip C. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, n. 3, p. 197–202, 2006.

GERLING, Christopher J. et al. Incorporation of Omega-3 Fatty Acids Into Human Skeletal Muscle Sarcolemmal and Mitochondrial Membranes Following 12 Weeks of Fish Oil Supplementation. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. MAR, p. 348, 2019.

IZAR, M. C. O. et al. Posicionamento sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. São Paulo: **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 1. p. 160–212, 2021.

MCGLORY, Chris et al. Fish oil supplementation suppresses resistance exercise and feeding-induced increases in anabolic signaling without affecting myofibrillar protein synthesis in young men. **Physiological Reports**, v. 4, n. 6, p. 1–11, 2016.

MCGLORY, Chris.; CALDER, Philip C.; NUNES, Everson A. The Influence of Omega-3 Fatty Acids on Skeletal Muscle Protein Turnover in Health, Disuse, and Disease. **Frontiers in Nutrition**, v.6, 2019.

MIOOTTO, Paula M. et al. Supplementation with Dietary ω -3 Mitigates Immobilization-Induced Reductions in Skeletal Muscle Mitochondrial Respiration in Young Women. **FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 33, n. 7, p. 8232–8240, 2019.

NUNES, Everson A. et al. Lack of evidence for Omega-3 fatty acid supplementation in enhancing fat-free mass, muscle strength, and physical function in healthy adults and clinical populations: An overview of reviews. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 67, p. 155–165, 2025.

ROSSATO, Luana T.; SCHOENFELD, Brad J.; DE OLIVEIRA, Erick, P. Is There Sufficient Evidence to Supplement Omega-3 Fatty Acids to Increase Muscle Mass and Strength in Young and Older Adults? **Clinical Nutrition**, 2019.

SMITH, Gordon I. et al. Dietary omega-3 fatty acid supplementation increases the rate of muscle protein synthesis in older adults: a randomized controlled trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, n. 2, p. 402-412, 2010.

SMITH, Gordon I. et al. Fish oil-derived n-3 PUFA therapy increases muscle mass and function in healthy older adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 102, n. 1, p. 115–122, 2015.